(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116724118 A
(43)申请公布日 2023.09.08

(21)申请号 202180064754.1
(22)申请日 2021.07.26
(30)优先权数据
63/056,465 2020.07.24 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.03.22
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/043213 2021.07.26
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/020810 EN 2022.01.27
(71)申请人 利兰斯坦福初级大学董事会
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 R·利维 O·A·W·哈贝特
A·萨莱茨 T·R·布莱克
P·温德 R·M·韦茂思
D·切尔文斯基
I·萨基夫-巴尔菲 J·J·洛迈尔
(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 72002
专利代理师 安琪 张晓威
(51)Int.Cl.
C12N 15/115(2006.01)

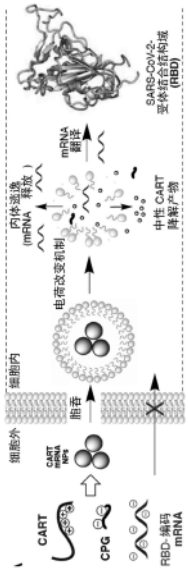
权利要求书7页 说明书171页
序列表6页 附图71页

(54)发明名称

COVID-19的三组分疫苗

(57)摘要

本发明特别提供了用于COVID-19的疫苗的复合物、组合物和方法。本文提供的细胞穿透复合物可包含与阳离子两亲聚合物非共价结合的核酸，所述阳离子两亲聚合物包含pH敏感性解聚结构域。本文提供的细胞穿透复合物可特别用于疫苗，其中所述疫苗包含本文(包括其实施方案)提供的核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物，所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。



CN 116724118 A

1.细胞穿透复合物,其包含核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

2.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述核糖核酸与所述阳离子两亲聚合物非共价结合。

3.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是呼吸道合胞病毒(RSV)蛋白、人偏肺病毒(hMPV)蛋白、3型副流感病毒(PIV3)蛋白、H10N8流感病毒蛋白、H7N9流感病毒蛋白、巨细胞病毒(CMV)蛋白、寨卡病毒蛋白、基孔肯亚病毒蛋白或严重急性呼吸系统综合征(SARS)相关冠状病毒(CoV)蛋白。

4.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是SARS-CoV-1蛋白或SARS-CoV-2蛋白。

5.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是SARS-CoV-2刺突蛋白或其片段。

6.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是SARS-CoV-2刺突蛋白的可溶性受体结合域(RBD)。

7.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述核糖核酸包含SEQ ID NO:3的序列。

8.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂是DNA佐剂。

9.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂是toll样受体(TLR)激动剂。

10.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂包括一种或多种未甲基化的CpG寡核苷酸。

11.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂是TLR-9激动剂。

12.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂具有SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的序列。

13.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物包含pH敏感性解聚结构域和亲脂性聚合物结构域。

14.根据权利要求1的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:

R^{1A}-[L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(LP^2)_{z3}$-$(IM)_{z2}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}]$_{z5}$(I)

其中

R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

IM是所述pH-敏感性解聚结构域；

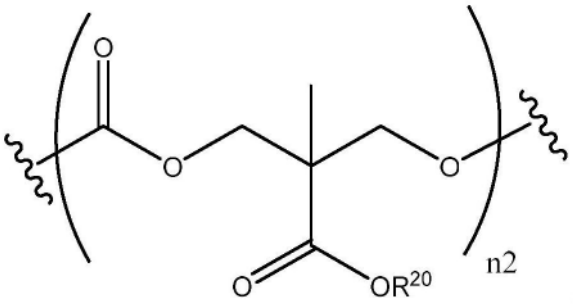
z5是1至10的整数；

z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；

z4是1至100的整数；且

z2是2至100的整数。

15.根据权利要求14的细胞穿透复合物，其中所述亲脂性聚合物结构域具有下式：

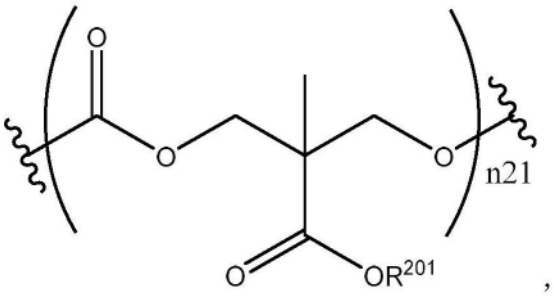


其中

n2是1至100的整数；

R^{20}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

16.根据权利要求14的细胞穿透复合物，其中LP^1具有下式：



其中

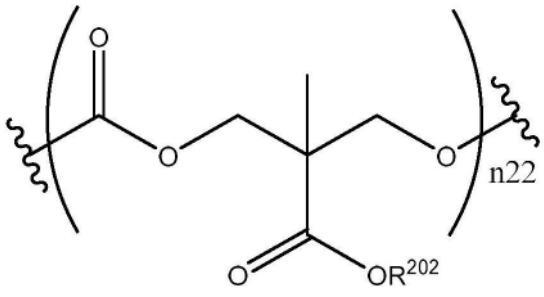
n21是1至100的整数；

R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

17.根据权利要求16的细胞穿透复合物，其中n21是5，且R^{201}是未取代的C_{18}烯基。

18.根据权利要求17的细胞穿透复合物，其中所述未取代的C_{18}烯基是油烯基。

19.根据权利要求14的细胞穿透复合物，其中LP^2具有下式：



其中

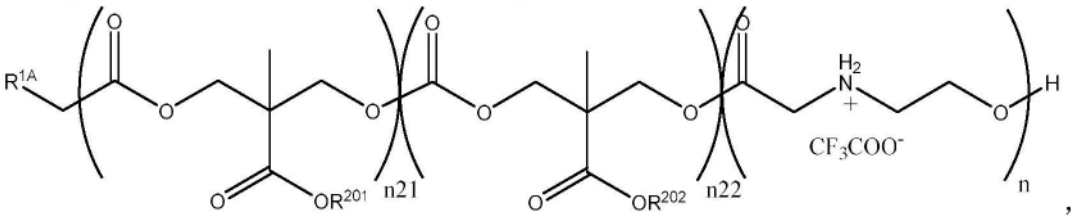
n22是1至100的整数；

R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

20.根据权利要求19的细胞穿透复合物，其中n22是5，且R^{202}是未取代的C_9烯基。

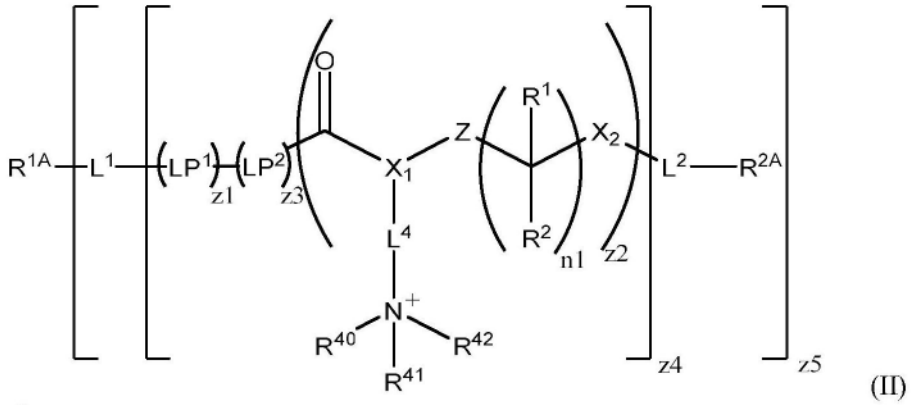
21.根据权利要求20的细胞穿透复合物，其中所述未取代的C_9烯基是壬烯基。

22.根据权利要求14的细胞穿透复合物，其中所述阳离子两亲聚合物具有下式：



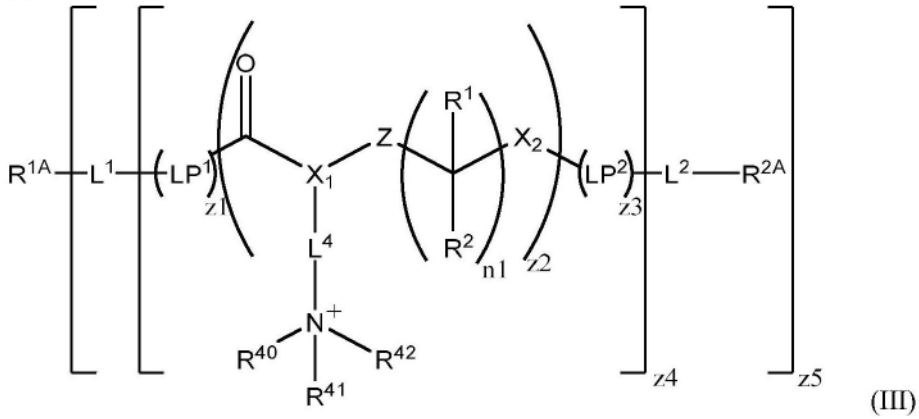
其中n21是5，R^{201}是油烯基，n22是5，R^{202}是壬烯基，且n是7。

23.根据权利要求1的细胞穿透复合物，其中所述阳离子两亲聚合物具有下式：



(II)

或



(III)

其中

R^{1A}独立地是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

R^{2A}独立地是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、独立地是-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、独立地是-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

X^1是键、$-C(R^5)(R^6)-$、$-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$、$-O-C(R^5)(R^6)-$或$-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$；

X^2是-O-或-S-；

R^1、R^2、R^5、R^6、R^7和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

L^4独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基；

R^{40}、R^{41}和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或者取代或未取代的杂烷基；

Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$或$-N^+(R^{13})(H)-$；

R^{13}是氢、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、-CN、-OH、=O、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_2NH_2$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

n1是0至50的整数；

z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；

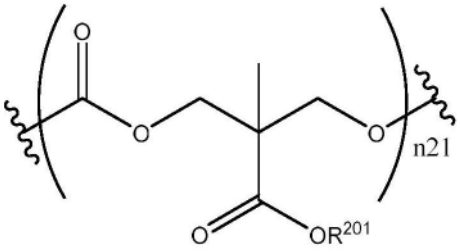
z2是2至100的整数；

z4是1至100的整数；

且

z5是1至10的整数。

24.根据权利要求23的细胞穿透复合物，其中LP^1具有下式：



,

其中

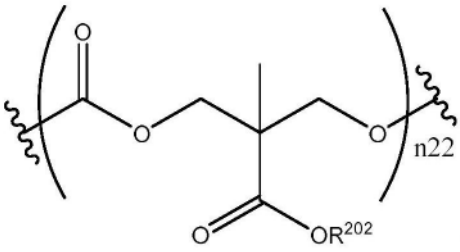
n21是1至100的整数;

R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

25.根据权利要求24的细胞穿透复合物,其中n21是10-40。

26.根据权利要求24的细胞穿透复合物,其中R^{201}是未取代的C_{12}烷基。

27.根据权利要求24的细胞穿透复合物,其中LP^2具有下式:



,

其中

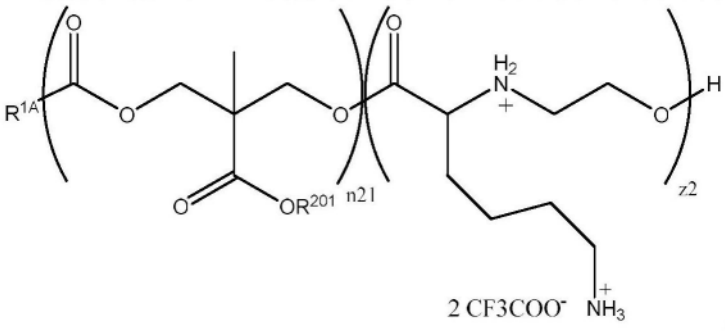
n22是1至100的整数;

R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

28.根据权利要求27的细胞穿透复合物,其中n22是10-35。

29.根据权利要求27的细胞穿透复合物,其中R^{202}是未取代的C_{12}烯基。

30.根据权利要求23的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:



,

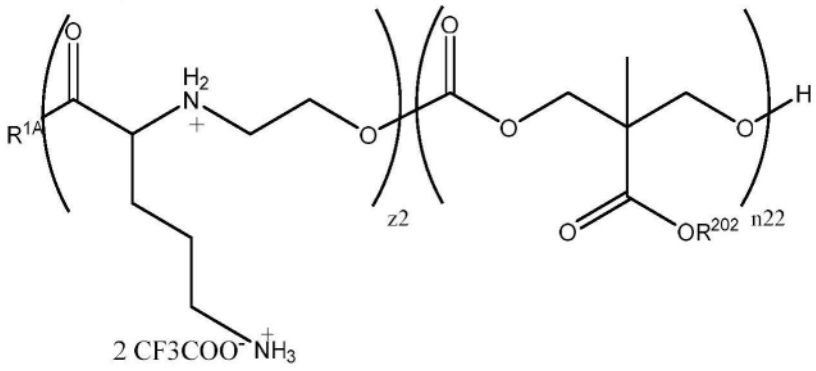
其中n21是10至20的整数;

R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;且

z2独立地是3至10的整数。

31.根据权利要求30的细胞穿透复合物,其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

32.根据权利要求31的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:



,

其中n22是10至35的整数；

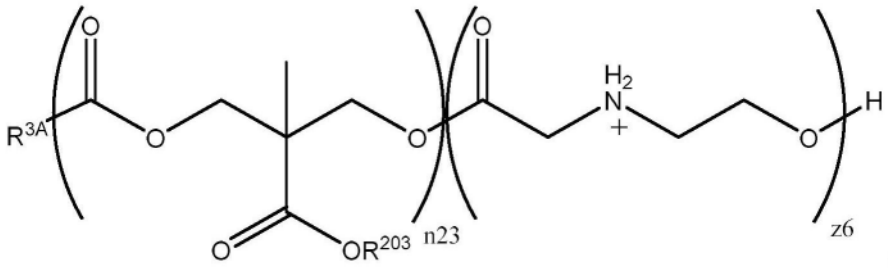
R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；且

z2独立地是5至20的整数。

33.根据权利要求32的细胞穿透复合物，其中n22是14，R^{202}是十二烷基，且z2是7。

34.根据权利要求23的细胞穿透复合物，其进一步包含第二阳离子两亲聚合物，其中所述第二阳离子两亲聚合物不同于所述阳离子两亲聚合物。

35.根据权利要求34的细胞穿透复合物，其中所述第二阳离子两亲聚合物具有下式：



,

n23是1至100的整数；

z6是5至15的整数；

R^{3A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；且

R^{203}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

36.根据权利要求35的细胞穿透复合物，其中n23是13，z6是11，且R^{203}是十二烷基。

37.疫苗组合物，其包含权利要求1的细胞穿透复合物。

38.药物组合物，其包含治疗有效量的权利要求1的细胞穿透复合物和药学上可接受的赋形剂。

39.治疗或预防需要此类治疗或预防的个体中的病毒性疾病的方法，所述方法包括向所述个体给药治疗或预防有效量的权利要求1的细胞穿透复合物。

40.治疗有此需要的个体的病毒性疾病的方法，其包括向所述个体给药治疗有效量的

权利要求1的细胞穿透复合物和药物载体,从而治疗所述个体的病毒性疾病。

41.对易患病毒性疾病的宿主进行免疫的方法,其包括向宿主给药权利要求1的细胞穿透复合物,使得产生针对所述病毒蛋白或其功能片段的抗体。

42.根据权利要求41的方法,其中所述抗体是IgG2抗体。

43.根据权利要求40的方法,其中所述病毒性疾病是SARS。

44.根据权利要求40的方法,其中所述病毒性疾病是COVID-19。

45.根据权利要求40的方法,其中所述病毒性疾病是MERS。

COVID-19的三组分疫苗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2020年7月24日提交的美国临时申请第63/056,465号的优先权,出于所有目的,该申请的全部内容援引加入本文。

[0003] 对作为ASCII文本文件提交的序列表、表格或计算机程序列表附录的引用

[0004] 写入文件041243-561001WO_SL_ST25.txt的序列表创建于2021年7月22日,8,192字节,机器格式IBM-PC,MS Windows操作系统,其援引加入本文。

[0005] 发明背景

[0006] 目前尚无有效的治疗方法或疫苗可用于由SAR-CoV-2病毒引起的疾病。需要开发安全有效的疫苗来预防由新型冠状病毒SARS-CoV-2引起的COVID-19。本文提供了对本领域中的这些和其它问题的解决方案。

[0007] 发明概述

[0008] 一方面,提供了一种细胞穿透复合物,其包含核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[0009] 一方面,提供了一种疫苗组合物,其包含如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物。

[0010] 一方面,提供了一种药物组合物,其包含治疗有效量的如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物和药学上可接受的赋形剂。

[0011] 一方面,提供了一种在需要此类治疗或预防的个体中治疗或预防病毒性疾病的方法,所述方法包括向所述个体给药治疗或预防有效量的如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物。

[0012] 一方面,提供了一种在有此需要的个体中治疗病毒性疾病的方法,其包括向所述个体给药治疗有效量的如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物和药物载体,从而治疗所述个体的病毒性疾病。

[0013] 一方面,提供了一种用于对易患病毒性疾病的宿主进行免疫的方法,其包括向宿主给药如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物,使得产生针对病毒蛋白或其功能片段的抗体。

[0014] 附图简述

[0015] 图1A-1B:ELISA测定的检测步骤示例示意图(图1A)和检测抗IgG或IgM抗体的ELISA测定的示例方案(图1B)。

[0016] 图2A-2E:ELISA数据D+4。在接种RBD mRNA-CARTs+CpG的小鼠中早期检测RBD特异性抗体应答。在给药疫苗后4天从小鼠采集样品。示出了接种RBD mRNA-CART(图2A)、mRNA-CART+CpG(图2B)、RBD mRNA-CART+激动性CD40mAb(图2C)和RBD mRNA-CART+激动性CD40mAb+CpG(图2D)的小鼠的结果。叠加来自所有小鼠组的结果以进行比较(图2E)。

[0017] 图3:ELISA数据D+8。接种RBD mRNA-CARTs+CpG的小鼠具有出色的RBD特异性抗体应答。接种疫苗后4天和8天从小鼠采集样品。

[0018] 图4A-4B:特异性测试-疫苗诱导的抗体是RBD特异性的。用于检测RBD特异性抗体

的微孔板的代表性图像(图4A)和示出检测RBD特异性抗体的图表(图4B)。图表进一步示出抗His(His Tag对照)和抗OVA(无关对照)的检测结果。

[0019] 图5A-5E:RBD特异性抗体应答的同种型表征。RBD mRNA-CARTs+CpG疫苗诱导强大的同种型转换。接种疫苗后4天、8天和14天从小鼠采集样品。示出了IgG(图5A)、IgG1(图5B)、IgG2a(图5C)、IgG2b(图5D)和IgG3(图5E)抗体的检测结果。

[0020] 图6A-6E:RBD特异性抗体应答的同种型表征-RBD mRNA-CART+CpG疫苗诱导持久的同种型转换的RBD特异性抗体应答(接种疫苗后>60天)。接种疫苗后4天、8天和14天从小鼠采集样品。示出了IgG(图6A)、IgG3(图6B)、IgG2a(图6C)、IgG1(图6D)和IgG2b(图6E)抗体的检测结果。

[0021] 图7A-7B:支气管肺泡灌洗液(BAL)中的BD特异性抗体应答。示意图显示了用于从肺部收集样品进行测试的BAL程序(图7A)。RBD mRNA-CARTs+CpG疫苗诱导RBD特异性抗体应答,这个应答在接种动物的肺中检测到(图7B)。接种疫苗后4天、8天和14天从小鼠采集样品。

[0022] 图8:示出受体结合抑制测定的示意图。

[0023] 图9A-9C:细胞受体结合抑制测定。RBD mRNA-CARTs+CpG疫苗诱导RBD特异性抗体应答,阻断SARS-CoV-2RBD与ACE-2受体的结合(图9A)。结果示出RBD在疫苗接种后第12天(图9B)和疫苗接种后第26天(图9C)仍然被阻断。

[0024] 图10A-10B:阻断ACE2-刺突RBD相互作用的抗体的测定(图10A)。结果示出接种RBD mRNA-CARTs+CpG的小鼠血清抑制刺突RBD与ACE2受体的结合(图10B)。

[0025] 图11A-11B:假病毒中和试验。RBD mRNA-CARTs+CpG疫苗诱导RBD特异性抗体应答,完全阻断表达假病毒的SARS-CoV-2刺突蛋白进入ACE-2表达细胞(图11A)。结果示出接种RBD mRNA-CARTs+CpG的小鼠血清抑制假病毒进入ACE-2表达细胞(图11B)。

[0026] 图12A-12B:人源化小鼠中的CART-RBD mRNA-CpG疫苗。RBD mRNA-CARTs+CpG疫苗在用人类免疫细胞重建的小鼠中诱导RBD特异性抗体应答(图12A)。结果示出在给药人PBMC的小鼠中检测到RBD特异性IgG(图12B)。

[0027] 图13A-13B:RBD mRNA-CARTs+CpG疫苗独立于TLR9(CpG)来源和给药途径诱导RBD特异性抗体应答(例如,疫苗可通过皮下和肌内给药途径诱导免疫应答)。结果示出mRNA疫苗优于蛋白质疫苗。结果进一步表明,在同一注射器中给药组分优于通过单独注射给药组分。RBD特异性抗体检测在疫苗接种后第14天(图13A)和第21天(图13B)完成。

[0028] 图14:在所有CpG组中观察到早至D+14的同种型转换。测试了包括CpG1826和CpGSD101在内的CpG类别。

[0029] 图15A-15B:早在D+14就观察到部分受体阻断。结果证实,早在D+14,各种CpG类别就诱导RBD-刺突蛋白与ACE-2结合的抑制(图15A)。结果与mRNA疫苗比蛋白质疫苗诱导更高的RBD特异性抗体水平一致。此外,各种给药方法(例如皮下、静脉内和肌内给药)在D+14诱导受体阻断(图15B)。

[0030] 图16:示意图示出电荷改变可释放转运蛋白(CART)有效递送联合配制的SARS-CoV-2RBD mRNA和佐剂。初免及加强免疫导致小鼠产生强力的抗原特异性B和T细胞应答。

[0031] 图17A-17E:CART递送平台方法通过全身和局部给药有效地复合、递送和释放mRNA。(图17A)CART静电配制、细胞摄取、内体逃逸和SARS-CoV-2RBD mRNA的翻译。(图17B)

通过开环聚合的CART合成(DBU＝1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯,TU＝1-(3,5-双(三氟甲基)苯基)-3-环己基硫脲)。(图17C)CART化学结构、降解产物和电荷改变机制。(图17D)通过全身IV给药(左,5μg fLuc mRNA)和局部IM给药(每侧2.5μg fLuc mRNA)的体内荧光素酶报告基因表达。(图17E)给药后4小时体内mRNA表达的定量。

[0032] 图18A-18D:将CpG添加到RBD mRNA-CART引发更强的抗RBD免疫球蛋白应答,并导致更早的同种型转换。(图18A)将BALB/c小鼠用3μg RBD mRNA-CART(n＝5)、3μg RBD mRNA-CART加3μg CpG(n＝5)、3μg CpG CART(n＝5)静脉内免疫或首次实验(Naïve)未处理(n＝5),并在初免后第4天和第8天加强免疫。(图18B)在初免后60天的过程中通过ELISA监测来自RBD mRNA-CART(白色圆圈)、RBD mRNA+CpG-CART(方形)、CpG CART(黑色圆圈)和未经处理(Naïve)(菱形)的小鼠的RBD特异性IgG的血清水平。(图18C)在初免后第14天和第60天,通过ELISA使用抗小鼠IgG1(圆形标记)、IgG2a(黑色)、IgG2b(方形标记)和IgG3(白色)单克隆抗体分析RBD特异性IgG同种型的分布。(图18D)在初免后第14天和第60天,评估抗RBD IgG的绝对浓度。*＝P<0.05未配对Student's t检验(双尾)。数据代表2个单独实验的数据。

[0033] 图19A-19E:RBD mRNA+CpG-CART产生早期高水平的RBD中和抗体。将BALB/c小鼠(n＝5)如图18A中所述进行免疫。(图19A)在D28和D60收集来自用RBD mRNA-CART(圆形)、RBD mRNA+CpG-CART(方形)和CpG CART(菱形)免疫的小鼠的血清,并在商购的RBD-ACE-2抑制试验中检测。在假病毒中和试验中测试了同一组血清样品。将含有zsGreen和萤火虫荧光素酶载体的表达RBD的假病毒颗粒与滴定浓度的热灭活小鼠血清共同温育。(图19B)然后将假病毒颗粒-血清混合物加入含有过表达ACE-2的293F细胞的孔中。在试验开始后48和72小时测量萤火虫荧光素酶表达。在D60,从RBD mRNA-CART(圆形)、RBD mRNA+CpG-CART(方形)和CpG-CART(菱形)免疫的小鼠中收获BAL。(图19C)通过ELISA测定RBD特异性总IgG。(图19D)使用商业ACE-2抑制药盒测试含有免疫球蛋白的BAL抑制RBD与hACE-2结合的能力。(图19E)来自未经处理的小鼠(灰色,n＝3)或在D0和D21经IV接种3μg RBD-mRNA+3μg CpG(黑色,n＝3)的小鼠的肺单细胞悬浮液在D28收集并与单独培养基、RBD蛋白或无关蛋白(CD81-His)[5μg/mL]一起温育48小时,并针对$CD4^+$T细胞上的T细胞活化标记物CD134、CD137和细胞内TNFα进行染色。数据以平均值±SD示出。数据代表3个独立实验(图19B-19D)和1个实验(图19E)的数据。*＝P<0.05,**＝P<0.01,***＝P<0.001,****＝P<0.0001单因素ANOVA(Tukey多重比较检验)(图19D)或双因素ANOVA(Tukey多重比较检验)(图19E)。

[0034] 图20A-20D:RBD mRNA+CpG-CART在经IV和IM疫苗接种后引发中和抗RBD免疫球蛋白应答。(图20A)用3μg RBD mRNA+3μg CpG经静脉内(IV)或肌内(IM)免疫BALB/c小鼠(每组n＝5),并在初免后第21天加强免疫。(图20B、图20C)在第21天和第28天测量和定量血清中的RBD特异性免疫球蛋白滴度。测量显示为(图20B)A450和(图20C)以ng/mL为单位的抗-RBD。(图20D)在第28天,从经IV和IM处理的小鼠收获BAL,并通过ELISA测定抗RBD免疫球蛋白。数据以平均值±SD示出。数据代表2个独立实验的数据。通过Student's t检验(双尾,未配对)评估统计显著性,ns＝P>0.05。

[0035] 图21A-21D:RBD mRNA+CpG疫苗接种诱导持久记忆T_H1 $CD4^+$和$CD8^+$T细胞应答。(图21A、图21B)将BALB/c小鼠(每组n＝5)用3μg ctrl mRNA+3μg CpG或3μg RBD mRNA+3μg CpG在D1经静脉内(IV)或肌内(IM)免疫接种,并在初免后在D21加强免疫。在第10^5天,采集合并的脾细胞,富集$CD4^+$和$CD8^+$T细胞,并用RBD肽混合物单独刺激16小时,用于直接离体IFNγ

ELISpot测定(图21A)。对于ELISpot分析,一式三份测量来自各组的脾细胞。此外,将各小鼠的整个脾细胞(每组n＝5)与培养基或RBD肽池一起温育18小时(图21B)。(图21C、图21D)温育后,收集细胞并对T细胞记忆标记CD44和IFNγ(图21C)或CD44以及细胞内细胞因子IFNγ、TNFα和IL-4(图21D)进行染色。每个点代表个体小鼠的测量值。**＝P<0.01,***＝P<0.001,****＝P<0.0001双因素ANOVA(图21B)或单因素ANOVA(图21D)(Tukey多重比较检验)。

[0036] 图22A-22B:免疫的小鼠的中和抗体水平与接种疫苗的人相当。在第28天收集来自免疫的小鼠(IM-三角形,IV-正方形,n＝5)的血清。接种Pfizer/BioNTech mRNA疫苗的献血者(n＝13)的血清是在加强免疫前7天内(加强前,圆圈)或加强免疫后15±4天(加强免疫后,菱形)收集的(图22A),并使用商购的替代病毒中和试验检测抑制RBD/ACE-2结合的能力(图22B)。*＝P<0.05,****＝P<0.0001单因素ANOVA(Tukey多重比较检验)。

[0037] 图23A-23B:CART寡聚物和CART/mRNA NP表征。(图23A)CART O_6-stat-N_6的^{1}H NMR波谱(CD_3OH,500MHz):A_9。CD_3OD中的相对比率:BnOH端基7.35ppm,5H(C_5H_5);壬烯基片段0.9ppm,18H(CH3);油烯基(oleyl)片段0.85ppm,18H(CH3),氨基酯片段3.5ppm,18H(CH2)。数均分子量(凝胶渗透色谱法相对N-Boc保护的寡聚物上的聚苯乙烯标准品):Mn＝4.3kDa,D＝1.19。比较这些比率表明统计学三嵌段CART的DP为1:6:6:9。(图23B)CART-核苷酸纳米颗粒制剂和物理表征。[a]使用动态光散射(DLS)测量纳米颗粒大小。每个值是使用独立制备的制剂进行的3次试验的平均值,在相同单位具有相应标准偏差。根据对这些样品的分析,散射光强度与纳米颗粒大小的关系图显示出颗粒大小的单一单峰分布。[b]ζ-电位测量是使用电泳光散射(ELS)进行的。每个值是使用独立制备的制剂(对于每个试验,连续获得2个测量值)的3个试验的6个测量值的平均值,在相同单位具有相应标准偏差。[c]包封率通过RNA特异性Qubit RNA BR染料(Q10210;Invitrogen)的荧光测量。RBD-mRNA或RBD-mRNA+CpG使用总共840ng核苷酸载荷和足够的CART进行复合,以获得净10:1(阳离子:阴离子)比率。将其加入含有5μL Qubit试剂的0.75mL无RNase的去离子水中。使用630nm的激发波长(4nm狭缝宽度)和680nm的发射波长(4nm狭缝宽度)立即测量所述溶液的荧光。通过减去单独的Qubit染料(无核苷酸)的荧光并标准化为具有未复合的mRNA的Qubit荧光来确定包封百分比。

[0038] 图24A-24B:用CART-RBD mRNA转染293F细胞。16小时后,通过western印迹分析上清液的RBD-His表达。阴性对照是来自未转染细胞的培养基。100ng纯化的RBD蛋白用作阳性对照(图24A)。使用指示的mRNA在静脉注射mRNA-CART复合物后24小时,循环免疫细胞亚群上CD69上调。非免疫刺激性mRNA EGFP mRNA(5moU)(L-7201Trilink)、免疫刺激性mRNA:CleanCapTM Fluc mRNA(L-7602Trilink)(图24B)。数据是来自多个独立试验的合并数据。通过单因素ANOVA评估统计显著性:P>0.05(ns),P≤0.001(***)。

[0039] 图25A-25B:RBD mRNA+CpG-CART早在初免后4天就引发抗RBD免疫球蛋白应答。将BALB/c小鼠用3μg RBD-CARTS(n＝5)、3μg RBD-CART mRNA+3μg CpG(n＝5)、CpG CART(n＝5)经静脉内注射免疫或Naïve未治疗(n＝5)小鼠,并在第+4天和第+8天加强免疫。在初免后4天通过ELISA测试来自RBD-CART mRNA(圆形)、RBD-CART mRNA+CpG(方形)、CpG CART(菱形)和Naïve(三角形)小鼠的RBD特异性IgG的血清水平(图25A)。使用5μg/ml GFP-His蛋白包被的ELISA板测试相同血清样品与不相关的His标记的GFP(GFP-His)蛋白的交叉反应性,并与抗His抗体阳性板对照(菱形)进行比较(图25B)。

[0040] 图26A-26B:RBD mRNA+CpG-CART诱导早期免疫球蛋白同种型转换并产生高水平的ACE-2-RBD中和抗体。将BALB/c小鼠用3μg RBD-CARTS(n＝5)、3μg RBD-CART mRNA+3μgCpG(n＝5)、CpGCART(n＝5)经静脉内注射免疫或Naïve未治疗小鼠(n＝5),并在初免后在D4和D8加强免疫。在第+14天(图26A)和第+60天(图26B)收集来自RBD-CART mRNA(圆形)、RBD-CART mRNA+CpG(方形)免疫的小鼠的血清,并使用抗小鼠IgG1、IgG2a、IgG2b和IgG3单克隆抗体在ELISA中分析对RBD具有特异性的IgG同种型的分布。

[0041] 图27A-27C:皮下和肌内注射RBD mRNA+CpG-CART疫苗诱导强力的同种型转换的抗RBD免疫球蛋白应答。将每组5只BALB/c小鼠用3μg RBD-CART mRNA+3μg CpG经静脉内(IV)、肌内(IM)或皮下(SC)注射免疫,并在初免后第8天加强免疫(图27A)。在D14和D28测量血清中的RBD特异性免疫球蛋白滴度(图27B)。在第+14天测量RBD特异性IgG1、IgG2a、IgG2b和IgG3(图27C)。数据代表两个单独实验的数据。

[0042] 图28A-28C:中和抗体的诱导与CpG来源无关。使用3种不同来源的CpG(IMO/2055、SD101或ODN2395)用3μg RBD-CART mRNA+3μg CpG对每组5只BALB/c小鼠经静脉内(IV)或肌内(IM)注射免疫,并在初免后于D21加强免疫(图28A)。使用商购的RBD-ACE-2抑制试验测试在D21和D28收获的免疫的小鼠的血清抑制RBD-ACE-2结合的能力(图28B)。通过ELISA测试来自在D21和D28收获的免疫小鼠的血清与完整刺突蛋白的结合能力(图28C)。

[0043] 图29A-29C:如图28A-28C中所述免疫小鼠。在D28(图29A)和D21(图29B)测量血清中的RBD特异性免疫球蛋白滴度。在D21定量血清中RBD特异性抗体的绝对浓度(图29C)。

[0044] 图30:在接种后收获在D1和D21经IV或IM接种3μg RBD-mRNA+3μg CpG-CART或3μg ctrl mRNA+3μg CpG-CART的小鼠的脾细胞,并用RBD肽池或培养基温育18小时。刺激细胞后,通过细胞内细胞因子染色流式细胞术分析IFN、TNF或IL-4的产生。

[0045] 图31A-31N:RBD mRNA-CpG-CART Sars-Cov-2疫苗的安全性评估。给小鼠(每组6只小鼠)注射PBS、用CART配制的3μg GFP mRNA或用CART配制的3μg GFPmRNA+3μg CpG或用CART配制的3μg RBD mRNA+3μg CpG。在第0天(初免)和第21天(加强免疫)将治疗剂注射到尾静脉(IV)或肌肉(IM)中。(图31A)表示注射时间表和安全性测量的示意图。对于IM(图31B)和IV(图31C)治疗的小鼠,在第0天(第一次治疗前)、第1天、第2天、第4天和第7天测量小鼠的体重。在第1天(图31D)、第2天(图31E)和第4天(图31F)评估白细胞(WBC)计数。数据显示相对于对照组的百分比。在第1天和第7天收集血清用于细胞因子测量。在第22天和第26天,处死每组3只小鼠并进行尸检评估和全血细胞计数评估,并收集血清用于细胞因子和肝酶测量。(图31G-31J)在第1天(初免后D1)(图31G)和第7天(初免后1周)(图31H)收获的血清中测量IP10,并且在在第1天(初免后D1)(图31I)和第7天(初免后1周)(图31J)收获的血清中测量IFα。(图31K-31L)在第22天(加强免疫后D1)(图31K)和第26天(加强免疫后D5)(图31L)测量血清中的丙氨酸转移酶(ALT),及(图31M-31N)在第22天(加强免疫后D1)(图31M)和第26天(加强免疫后D5)(图31N)测量血清中的天冬氨酸转移酶(AST)。实验进行了一次。通过单因素ANOVA评估统计显著性:P>0.05(ns),P≤0.05(*),P≤0.01(**),P≤0.001(***),P≤0.0001(****)。

[0046] 图32:CART储存稳定性测定。CART由Fluc mRNA以10:1+/-的比例配制而成。将这些制剂储存在RT、4℃或-20℃。在将CART制剂储存11天后,将样品解冻并注入尾静脉(50μL总体积,每只小鼠5μg mRNA)。同时,制备CART/Fluc mRNA的新鲜制剂并注射到尾静脉中。荧光

素酶表达水平通过BLI(单位:p/s)测定,将功效与新配制的CART/mRNA进行比较。实验进行了一次。通过单因素Anova评估统计显著性:P>0.05(ns),P≤0.05(*),P≤0.01(**),P≤0.001(***),P≤0.0001(****)。

[0047] 发明详述

[0048] 虽然本文显示和描述了本公开的各种实施方案和方面,但是对于本领域技术人员来说显而易见的是,这些实施方案和方面仅作为示例提供。在不脱离本公开的情况下,本领域技术人员可以进行多种变化、改变和替换。应当理解,在实践本公开时可以采用本文描述的本公开的实施方案的各种替代方案。

[0049] 除非上下文另有说明,否则特别意在可以以任何组合使用本文描述的公开内容的各种特征。此外,本公开还预期在一些实施方案中可以排除或省略本文中阐述的任何特征或特征的组合。为了示例说明,如果本说明书声明复合物具有组分A、B和C,则特别意在可以单独或以任何组合形式省略和放弃A、B或C中的任何一个或其组合。

[0050] 必须注意,如本文和所附权利要求中所使用的,单数形式“a”、“an”和“the”包括其指代的复数对象,除非上下文另有明确规定。因此,例如,提及“癌细胞”包括多种癌细胞。在其它实例中,提及“核酸(a nucleic acid)或(nucleic acid)”包括多个核酸分子,即核酸。

[0051] 术语“约”是指包括指定值在内的一系列值,本领域普通技术人员认为这个值与指定值合理相似。在实施方案中,约是指在使用本领域通常可接受的测量的标准偏差内。在实施方案中,约是指延伸至指定值的+/-10%的范围。在实施方案中,约是指指定值。

[0052] 此外,如本文所用,“和/或”是指并涵盖一个或多个相关列出的项目的任何和所有可能组合,以及当以或(“或者”)解释时缺少组合。

[0053] 如本文所用,术语“包含”旨在表示所述组合物和方法包括所列举的要素,但不排除其它要素。如本文所用,连接词“基本上由…组成”(和语法变体)应被解释为包含所列举的材料或步骤“以及那些不实质上影响所列举的实施方案的基本和新颖特征的材料或步骤”。因此,本文所用的术语“基本上由…组成”不应解释为等同于“包含”。“由…组成”是指除外其它成分的微量元素的和用于给药本公开的组合物的实质性方法步骤。由每个这些连接词定义的方面都在本公开的范围内。

[0054] 本文中使用的缩写具有化学和生物学领域内的常规含义。本文所列的化学结构和化学式是根据化学科学中已知的化学价的标准规则构建的。

[0055] 当取代基由其从左到右书写的常规化学式指定时,其同样涵盖得自从右到左书写结构的化学相同的取代基,例如,-CH_2O-等同于-OCH_2-。

[0056] 如本文所用,术语“寡聚物”和“聚合物”是指具有多个重复亚基的化合物(例如,聚合的单体)。术语“共聚寡聚物”或“共聚物”是指包括2个或更多个不同残基(单体单位或单体,其在本文中可互换使用)的寡聚物或聚合物。寡聚物中的单体数通常少于聚合物中的单体数。因此,在一些实例中,寡聚物长度可具有1至约10个单体、1至约20个单体、1至约30个单体、1至约40个单体、1至约50个单体、1至约100个单体、1至约150个单体、1至约200个单体、1至约250个单体、1至约300个单体、1至约350个单体、1至约400个单体、1至约450单体,或1至约500个单体。在一些实例中,寡聚物长度可具有少于约500个单体、少于约450个单体、少于约400个单体、少于约350个单体、少于约300个单体、少于约250个单体、少于约200个单体、少于约150个单体、少于约100个单体、少于约50个单体、少于约40个单体、少于约30

个单体、少于约20个单体或少于约10个单体。在聚合物的情况中，聚合物中单体数通常多于寡聚物中单体数。因此，在一些实例中，聚合物长度可具有约500至约1000个单体、约500至约2000个单体、约500至约3000个单体、约500至约4000个单体、约500至约5000个单体、约500至约6000个单体、约500至约7000个单体、约500至约8000个单体、约500至约9000个单体、约500至约10000个单体、或多于10000个单体。

[0057] 术语“可聚合单体”根据其在高分子化学领域中的含义使用，是指可以与其它单体分子(例如相同或不同的其它可聚合单体)共价化学结合以形成聚合物的化合物。

[0058] 术语“嵌段共聚物”按照其普通含义使用，指的是通过共价键连接的聚合单体的两个或更多部分(例如，嵌段)。在实施方案中，嵌段共聚物是聚合物的重复模式。在实施方案中，所述嵌段共聚物包括呈周期性(例如，重复模式)序列的两种或更多种单体。例如，二嵌段共聚物的分子式为：-B-B-B-B-B-B-A-A-A-A-A-，其中“B”是第一个亚基，“A”是共价结合在一起的第二个亚基。因此，三嵌段共聚物是具有三个不同嵌段的共聚物，其中两个可以相同(例如，-A-A-A-A-A-B-B-B-B-B-B-A-A-A-A-A-)，或者所有三个都不同(例如，-A-A-A-A-A-B-B-B-B-B-C-C-C-C-C-)，其中“A”是第一个亚基，“B”是第二个亚基，“C”是第三个亚基，共价结合在一起。

[0059] 除非另有说明，术语“烷基”本身或作为另一取代基的一部分是指直链(即非支链)或支链碳链(或碳)或其组合，其可以是完全饱和的、单-或多不饱和基团，可以包括单价、二价和多价基团。烷基可包括指定数目的碳(例如，C_1-C_{10}表示1至10个碳)。烷基是未环化的链。饱和烃基的实例包括但不限于诸如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、甲基、其同系物和异构体，例如正戊基、正己基、正庚基、正辛基等基团。不饱和烷基是具有一个或多个双键或三键的烷基。不饱和烷基的实例包括但不限于乙烯基、2-丙烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-(丁二烯基)、2,4-戊二烯基、3-(1,4-戊二烯基)、乙炔基、1-和3-丙炔基、3-丁炔基以及更高级的同系物和异构体。烷氧基是通过氧接头(-O-)连接到分子其余部分的烷基。烷基部分可以是烯基部分。烷基部分可以是炔基部分。烷基部分可以是完全饱和的。除了一个或多个双键之外，烯基还可以包括一个以上的双键和/或一个或多个三键。除了一个或多个三键之外，炔基可包括多于一个的三键和/或一个或多个双键。

[0060] 除非另有说明，术语“亚烷基”本身或作为另一取代基的一部分是指衍生自烷基的二价基团，例如但不限于-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-。通常，烷基(或亚烷基)具有1至24个碳原子，本文优选具有10个或更少碳原子的那些基团。“低级烷基”或“低级亚烷基”是较短链的烷基或亚烷基，通常具有8个或更少的碳原子。除非另有说明，术语“亚烯基”本身或作为另一个取代基的一部分是指衍生自烯烃的二价基团。

[0061] 除非另有说明，术语“杂烷基”本身或与另一术语组合是指稳定的直链或支链或其组合，包括至少一个碳原子和至少一个杂原子(例如，O、N、P、Si和S)，并且其中氮和硫原子可以任选被氧化，并且氮杂原子可以任选被季铵化。杂原子(例如，N、S、Si或P)可位于杂烷基的任何内部位置或位于烷基与分子的其余部分连接的位置。杂烷基是未环化的链。示例包括但不限于：-CH_2-CH_2-O-CH_3、-CH_2-CH_2-NH-CH_3、-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3、-CH_2-S-CH_2-CH_3、-S-CH_2-CH_2、-S(O)-CH_3、-CH_2-CH_2-S(O)$_2$-CH_3、-CH＝CH-O-CH_3、-Si(CH_3)$_3$、-CH_2-CH＝N-OCH_3、-CH＝CH-N(CH_3)-CH_3、-O-CH_3、-O-CH_2-CH_3、和-CN。最多两个或三个杂原子可以是连续的，例如-CH_2-NH-OCH_3和-CH_2-O-Si(CH_3)$_3$。杂烷基部分可包括一个杂原子(例如，O、N、S、Si或P)。杂

烷基部分可以包括两个任选不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可包括三个任选不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可包括四个任选不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可包括五个任选不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。杂烷基部分可包括多达8个任选不同的杂原子(例如,O、N、S、Si或P)。除非另有说明,术语"杂烯基"本身或与另一术语组合是指包括至少一个双键的杂烷基。除一个或多个双键之外,杂烯基可任选包括多于一个双键和/或一个或多个三键。除非另有说明,术语"杂炔基"本身或与另一术语组合是指包括至少一个三键的杂烷基。除一个或多个三键之外,杂炔基可任选包括多于一个的三键和/或一个或多个双键。

[0062] 类似地,除非另有说明,术语"亚杂烷基"本身或作为另一取代基的一部分是指衍生自杂烷基的二价基团,例如但不限于-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-和-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-。对于亚杂烷基,杂原子也可以占据一个或两个链末端(例如,亚烷基氧基、亚烷基二氧基、亚烷基氨基、亚烷基二氨基等)。更进一步地,对于亚烷基和亚杂烷基连接基团,所述连接基团的方向并不由连接基团的式的书写方向暗示。例如,式-$C(O)_2R'$-代表-$C(O)_2R'$-和-$R'C(O)_2$-。如上所述,本文所用的杂烷基包括那些通过杂原子连接到分子其余部分的基团,例如-C(O)R'、-C(O)NR'、-NR'R"、-OR'、-SR'、和/或-SO_2R'。当列举"杂烷基",随后列举具体的杂烷基基团,例如-NR'R"等时,应理解术语杂烷基和-NR'R"不是多余的或相互排斥的。相反,列举具体的杂烷基是为了更加清楚。因此,术语"杂烷基"在本文中不应解释为排除特定的杂烷基基团例如-NR'R"等。

[0063] 除非另有说明,术语"环烷基"和"杂环烷基"本身或与其它术语组合分别表示"烷基"和"杂烷基"的环状形式。环烷基和杂烷基不是芳族的。此外,对于杂环烷基,杂原子可以占据杂环与分子其余部分连接的位置。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。杂环烷基的实例包括但不限于1-(1,2,5,6-四氢吡啶基)、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基、1-哌嗪基、2-哌嗪基等。"亚环烷基"和"亚杂环烷基"单独或作为另一个取代基的一部分,是指分别衍生自环烷基和杂环烷基的二价基团。

[0064] 除非另有说明,术语"卤代"或"卤素"本身或作为另一取代基的一部分是指氟、氯、溴或碘原子。另外,诸如"卤代烷基"的术语意在包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如,术语"卤代(C_1-C_4)烷基"包括但不限于氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、4-氯丁基、3-溴丙基等。

[0065] 除非另有说明,术语"酰基"是指-C(O)R,其中R是取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

[0066] 除非另有说明,术语"芳基"是指多不饱和芳族烃取代基,其可以是单环或稠合在一起(即稠环芳基)或共价连接的多环(优选1至3个环)。稠环芳基是指稠合在一起的多个环,其中至少一个稠环是芳基环。术语"杂芳基"是指含有至少一个杂原子例如N、O或S的芳基(或环),其中氮和硫原子任选被氧化,并且氮原子任选被季铵化。因此,术语"杂芳基"包括稠环杂芳基(即稠合在一起的多个环,其中至少一个稠环是杂芳环)。5,6-稠环亚杂芳基是指两个稠合在一起的环,其中一个环具有5个成员,另一个环具有6个成员,并且其中至少一个环是杂芳基环。同样地,6,6-稠环亚杂芳基是指稠合在一起的两个环,其中一个环具有

6个成员，另一个环具有6个成员，并且其中至少一个环是杂芳基环。以及6,5-稠环亚杂芳基是指稠合在一起的两个环，其中一个环有6个成员，另一个环有5个成员，其中至少一个环是杂芳基环。杂芳基可通过碳或杂原子连接到分子的其余部分。芳基和杂芳基的非限制性实例包括苯基、萘基、吡咯基、吡唑基、哒嗪基、三嗪基、嘧啶基、咪唑基、吡嗪基、噁呤基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、呋喃基、噻吩基、吡啶基、嘧啶基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、吲哚基、异吲哚基、苯并噻吩基、异喹啉基、喹喔啉基、喹啉基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡唑基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-噁唑基、4-噁唑基、2-苯基-4-噁唑基、5-噁唑基、3-异噁唑基、4-异噁唑基、5-异噁唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、噁呤基、2-苯并咪唑基、5-吲哚基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹喔啉基、5-喹喔啉基、3-喹啉基、和6-喹啉基。每个上述芳基和杂芳基环系统的取代基选自下述一组可接受的取代基。“亚芳基”和“亚杂芳基”单独或作为另一个取代基的一部分，分别表示衍生自芳基和杂芳基的二价基团。杂芳基取代基可以是键合到环杂原子氮的-O-。

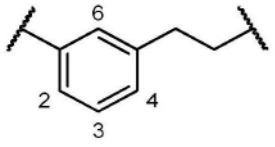
[0067] 为简洁起见，当与其它术语(例如，芳氧基、芳硫氧基、芳基烷基)组合使用时，术语“芳基”包括如上所定义的芳基和杂芳基环。因此，术语“芳基烷基”意在包括其中芳基连接至烷基的那些基团(例如，苄基、苯乙基、吡啶基甲基等)，包括其中碳原子(例如，亚甲基)已被例如氧原子替代(例如，苯氧基甲基、2-吡啶氧基甲基、3-(1-萘氧基)丙基等)的那些烷基。

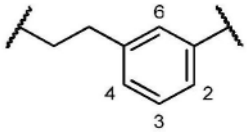
[0068] 符号“〰”表示化学部分与分子或化学式的其余部分的连接点。

[0069] 如本文所用，术语“氧代”是指与碳原子双键结合的氧。

[0070] 如本文所用，术语“烷基磺酰基”是指具有式-S(O_2)-R’的部分，其中R’是如上所定义的烷基。R’可以具有指定数目的碳(例如，“C_1-C_4烷基磺酰基”)。

[0071] 术语“烷基亚芳基”作为与亚烷基部分(本文也称为亚烷基接头)共价键合的亚芳基部分。在实施方案中，所述烷基亚芳基具有下式：

[0072] 

或


。

[0073] 烷基亚芳基部分可以在亚烷基部分或亚芳基接头(例如，在碳2、3、4或6位置)被以下基团取代：卤素、氧代、-N_3、-CF_3、-CCl_3、-CBr_3、-CI_3、-CN、-CHO、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_2CH_3、-SO_3H、-OSO_3H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、取代或未取代的C_1-C_5烷基或取代或未取代的2至5元杂烷基)。在实施方案中，所述烷基亚芳基是未取代的。

[0074] 上述每个术语(例如，“烷基”、“杂烷基”、“环烷基”、“杂环烷基”、“芳基”和“杂芳基”)包括指定基团的取代和未取代形式。下面提供了每种类型基团的优选取代基。

[0075] 烷基和杂烷基基团(包括通常称为亚烷基、烯基、亚杂烷基、杂烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、环烯基和杂环烯基的那些基团)的取代基可以是选自但不限于以下多个基团中的一个或多个：-OR’、=O、=NR’、=N-OR’、-NR’R”、-SR’、卤素、-SiR’R”R”’、-OC(O)R’、-C(O)R’、-CO_2R’、-CONR’R”、-OC(O)NR’R”、-NR”C(O)R’、-NR’-C(O)NR”R”’、-NR”C(O)$_2$R’、-NR-C

(NR'R"R"')=NR""、-NR-C(NR'R")=NR"'、-S(O)R'、-S(O)$_2$R'、-S(O)$_2$NR'R"、-NRSO$_2$R'、-NR'NR"R"'、-ONR'R"、-NR'C(O)NR"NR"'R""、-CN、-NO$_2$、-NR'SO$_2$R"、-NR'C(O)R"、-NR'C(O)-OR"、-NR'OR",数量为0至(2m'+1),其中m'是此类基团中的碳原子总数。R、R'、R"、R"'和R""各自优选独立地指氢,取代或未取代的杂烷基,取代或未取代的环烷基,取代或未取代的杂环烷基,取代或未取代的芳基(例如,被1-3个卤素取代的芳基),取代或未取代的杂芳基,取代或未取代的烷基、烷氧基或硫代烷氧基或芳基烷基。例如,当本文所述的化合物包括多于一个R基团时,每个R基团是独立地选择的,当存在一个以上这些基团时,R基团各自是R'、R"、R"'和R""。当R'和R"连接到相同的氮原子时,其可以与氮原子组合形成4-、5-、6-或7-元环。例如,-NR'R"包括但不限于1-吡咯烷基和4-吗啉基。从以上对取代基的讨论,本领域技术人员将理解术语"烷基"意在包括包括键合于除了氢基团之外的基团的碳原子的基团,例如卤代烷基(例如,-CF$_3$和-CH$_2$CF$_3$)和酰基(例如,-C(O)CH$_3$、-C(O)CF$_3$、-C(O)CH$_2$OCH$_3$等)。

[0076] 类似于针对烷基基团描述的取代基,芳基和杂芳基的取代基是多种多样的并且选自例如:-OR'、-NR'R"、-SR'、卤素、-SiR'R"R"'、-OC(O)R'、-C(O)R'、-CO$_2$R'、-CONR'R"、-OC(O)NR'R"、-NR"C(O)R'、-NR'-C(O)NR"R"'、-NR"C(O)$_2$R'、-NR-C(NR'R"R"')=NR""、-NR-C(NR'R")=NR"'、-S(O)R'、-S(O)$_2$R'、-S(O)$_2$NR'R"、-NRSO$_2$R'、-NR'NR"R"'、-ONR'R"、-NR'C(O)NR"NR"'R""、-CN、-NO$_2$、-R'、-N$_3$、-CH(Ph)$_2$、氟代(C$_1$-C$_4$)烷氧基、及氟代(C$_1$-C$_4$)烷基、-NR'SO$_2$R"、-NR'C(O)R"、-NR'C(O)-OR"、-NR'OR",数量为0至芳环系统上的开放价总数;其中R'、R"、R"'和R""优选独立地选自氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的杂芳基。例如,当本文所述的化合物包括一个以上的R基团时,每个R基团是独立地选择的,当存在一个以上这些基团时,R基团各自是R'、R"、R"'和R""。

[0077] 环(例如,环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基)的取代基可以描述为环上的取代基而不是环的特定原子上的取代基(通常称为浮动取代基)。在这种情况下,所述取代基可以连接到任何环原子上(遵守化学价规则),并且在稠环或螺环的情况下,取代基被描述为与稠环或螺环的一个成员相关联(单环上的浮动取代基),可以是任何稠环或螺环上的取代基(多环上的浮动取代基)。当一个取代基连接于一个环而不是一个特定的原子(浮动取代基),并且所述取代基的下标是大于1的整数时,多个取代基可以在同一个原子、同一个环、不同的原子、不同的稠环、不同的螺环上,且每个取代基可以任选不同。当环与分子其余部分的连接点不限于单个原子(浮动取代基)时,连接点可以是环的任何原子,并且在稠环或螺环的情况下,连接点可以是任何稠环或螺环的任何原子,但要遵守化学价规则。在环、稠环或螺环含有一个或多个环杂原子,并且所述环、稠环或螺环显示为具有一个或多个浮动取代基(包括但不限于与分子其余部分的连接点)时,所述浮动取代基可以键合于杂原子。在环杂原子在具有浮动取代基的结构或式中显示与一个或多个氢结合(例如,环氮与环原子有两个键,第三个键与氢结合)的情况中,当所述杂原子与浮动取代基键合时,所述取代基将被理解为取代氢,同时遵守化学价的规则。

[0078] 两个或多个取代基可任选地连接以形成芳基、杂芳基、环烷基或杂环烷基。这种所谓的成环取代基通常但不一定与环状基础结构相连。在实施方案中,所述成环取代基连接至基础结构的相邻成员。例如,连接到环状基础结构的相邻成员的两个成环取代基产生稠环结构。在另一个实施方案中,所述成环取代基连接至基础结构的单个成员。例如,连接到

环状基础结构的单个成员的两个成环取代基产生螺环结构。在又一个实施方案中，所述成环取代基连接至基础结构的非相邻成员。

[0079] 芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可任选形成式-T-C(O)-(CRR')$_q$-U-的环，其中T和U独立地为-NR-、-O-、-CRR'-或单键，并且q是0至3的整数。或者，芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可任选地被式-A-(CH$_2$)$_r$-B-的取代基取代，其中A和B独立地为-CRR'-、-O-、-NR-、-S-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$NR'-或单键，并且r是1至4的整数。如此形成的新环的单键之一可以任选地被双键取代。或者，芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可任选地被式-(CRR')$_s$-X'-(C"R"R"')$_d$-的取代基取代，其中s和d独立为0-3的整数，并且X'是-O-、-NR'-、-S-、-S(O)-、-S(O)$_2$-或-S(O)$_2$NR'-。取代基R、R'、R"和R"'优选独立地选自氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基及取代或未取代的杂芳基。

[0080] 如本文所用，术语“杂原子”或“环杂原子”意在包括氧(O)、氮(N)、硫(S)、磷(P)和硅(Si)。

[0081] 如本文所用，“取代基”是指选自以下部分的基团：

[0082] (A)氧代、卤素、-CCl$_3$、-CBr$_3$、-CF$_3$、-CI$_3$、-CHCl$_2$、-CHBr$_2$、-CHF$_2$、-CHI$_2$、-CH$_2$Cl、-CH$_2$Br、-CH$_2$F、-CH$_2$I、-CN、-OH、-NH$_2$、-COOH、-CONH$_2$、-NO$_2$、-SH、-SO$_3$H、-SO$_4$H、-SO$_2$NH$_2$、-NHNH$_2$、-ONH$_2$、-NHC(O)NHNH$_2$、-NHC(O)NH$_2$、-NHSO$_2$H、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-OCCl$_3$、-OCF$_3$、-OCBr$_3$、-OCI$_3$、-OCHCl$_2$、-OCHBr$_2$、-OCHI$_2$、-OCHF$_2$、-OCH$_2$Cl、-OCH$_2$Br、-OCH$_2$I、-OCH$_2$F、-N$_3$、未取代的烷基(例如，C$_1$-C$_8$烷基、C$_1$-C$_6$烷基、或C$_1$-C$_4$烷基)、未取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)、未取代的环烷基(例如，C$_3$-C$_8$环烷基、C$_3$-C$_6$环烷基、或C$_5$-C$_6$环烷基)、未取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)、未取代的芳基(例如，C$_6$-C$_{10}$芳基、C$_{10}$芳基、或苯基)、或未取代的杂芳基(例如，5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)，及

[0083] (B)烷基(例如，C$_1$-C$_8$烷基、C$_1$-C$_6$烷基、或C$_1$-C$_4$烷基)、杂烷基(例如，2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)、环烷基(例如，C$_3$-C$_8$环烷基、C$_3$-C$_6$环烷基、或C$_5$-C$_6$环烷基)、杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)、芳基(例如，C$_6$-C$_{10}$芳基、C$_{10}$芳基、或苯基)、杂芳基(例如，5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)，其被选自以下的至少一种取代基取代：

[0084] (i)氧代、卤素、-CCl$_3$、-CBr$_3$、-CF$_3$、-CI$_3$、-CHCl$_2$、-CHBr$_2$、-CHF$_2$、-CHI$_2$、-CH$_2$Cl、-CH$_2$Br、-CH$_2$F、-CH$_2$I、-CN、-OH、-NH$_2$、-COOH、-CONH$_2$、-NO$_2$、-SH、-SO$_3$H、-SO$_4$H、-SO$_2$NH$_2$、-NHNH$_2$、-ONH$_2$、-NHC(O)NHNH$_2$、-NHC(O)NH$_2$、-NHSO$_2$H、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-OCCl$_3$、-OCF$_3$、-OCBr$_3$、-OCI$_3$、-OCHCl$_2$、-OCHBr$_2$、-OCHI$_2$、-OCHF$_2$、-OCH$_2$Cl、-OCH$_2$Br、-OCH$_2$I、-OCH$_2$F、-N$_3$、未取代的烷基(例如，C$_1$-C$_8$烷基、C$_1$-C$_6$烷基、或C$_1$-C$_4$烷基)、未取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)、未取代的环烷基(例如，C$_3$-C$_8$环烷基、C$_3$-C$_6$环烷基、或C$_5$-C$_6$环烷基)、未取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)、未取代的芳基(例如，C$_6$-C$_{10}$芳基、C$_{10}$芳基、或苯基)、或未取代的杂芳基(例如，5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)，及

[0085] (ii)烷基(例如，C$_1$-C$_8$烷基、C$_1$-C$_6$烷基、或C$_1$-C$_4$烷基)、杂烷基(例如，2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)、环烷基(例如，C$_3$-C$_8$环烷基、C$_3$-C$_6$环烷基、或C$_5$-C$_6$环烷

基)、杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)、芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)、杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基),其被选自以下的至少一种取代基取代:

[0086] (a)氧代、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、-N_3、未取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)、未取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)、未取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)、未取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)、未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)、或未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基),及

[0087] (b)烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)、杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)、环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)、杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)、芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)、杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基),其被选自以下的至少一种取代基取代:氧代、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、-N_3、未取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)、未取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)、未取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)、未取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)、未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)、或未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。

[0088] 如本文所用,“大小限制的取代基”或“大小限制的取代基团”是指选自上述“取代基”的所有取代基的基团,其中每个取代或未取代的烷基是取代或未取代的C_1-C_{20}烷基,每个取代或未取代的杂烷基是取代或未取代的2至20元杂烷基,每个取代或未取代的环烷基是取代或未取代的C_3-C_8环烷基,每个取代或未取代的杂环烷基是取代或未取代的3至8元杂环烷基,每个取代或未取代的芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}芳基,且每个取代或未取代的杂芳基是取代或未取代的5至10元杂芳基。

[0089] 如本文所用,“低级取代基”或“低级取代基团”是指选自上述“取代基”的所有取代基的基团,其中每个取代或未取代的烷基是取代或未取代的C_1-C_8烷基,每个取代或未取代的杂烷基是取代或未取代的2至8元杂烷基,每个取代或未取代的环烷基是取代或未取代的C_3-C_7环烷基,每个取代或未取代的杂环烷基是取代或未取代的3至7元杂环烷基,每个取代或未取代的芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}芳基,且每个取代或未取代的杂芳基是取代或未取代的5至9元杂芳基。

[0090] 在一些实施方案中,本文化合物中描述的每个被取代的基团被至少一个取代基取代。更具体地,在一些实施方案中,本文化合物中描述的每个取代的烷基、取代的杂烷基、取

代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基、取代的杂芳基、取代的亚烷基、取代的亚杂烷基、取代的亚环烷基、取代的亚杂环烷基、取代的亚芳基和/或取代的亚杂芳基被至少一个取代基取代。在其它实施方案中，至少一个或所有这些基团被至少一个大小限制的取代基取代。在其它实施方案中，至少一个或所有这些基团被至少一个低级取代基取代。

[0091] 在本文所述化合物的其它实施方案中，每个取代或未取代的烷基可以是取代或未取代的C_1-C_{20}烷基，每个取代或未取代的杂烷基是取代或未取代的2至20元杂烷基，每个取代或未取代的环烷基是取代或未取代的C_3-C_8环烷基，每个取代或未取代的杂环烷基是取代或未取代的3至8元杂环烷基，每个取代或未取代的芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}芳基，和/或每个取代或未取代的杂芳基是取代或未取代的5至10元杂芳基。在本文所述化合物的实施方案中，每个取代或未取代的亚烷基是取代或未取代的C_1-C_{20}亚烷基，每个取代或未取代的亚杂烷基是取代或未取代的2至20元亚杂烷基，每个取代或未取代的亚环烷基是取代或未取代的C_3-C_8亚环烷基，每个取代或未取代的亚杂环烷基是取代或未取代的3至8元亚杂环烷基，每个取代或未取代的亚芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}亚芳基，和/或每个取代或未取代的亚杂芳基是取代或未取代的5至10元亚杂芳基。

[0092] 在实施方案中，每个取代或未取代的烷基是取代或未取代的C_1-C_8烷基，每个取代或未取代的杂烷基是取代或未取代的2至8元杂烷基，每个取代或未取代的环烷基是取代或未取代的C_3-C_7环烷基，每个取代或未取代的杂环烷基是取代或未取代的3至7元杂环烷基，每个取代或未取代的芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}芳基，和/或每个取代或未取代的杂芳基是取代或未取代的5至9元杂芳基。在实施方案中，每个取代或未取代的亚烷基是取代或未取代的C_1-C_8亚烷基，每个取代或未取代的亚杂烷基是取代或未取代的2至8元亚杂烷基，每个取代或未取代的亚环烷基是取代或未取代的C_3-C_7亚环烷基，每个取代或未取代的亚杂环烷基是取代或未取代的3至7元亚杂环烷基，每个取代或未取代的亚芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}亚芳基，和/或每个取代或未取代的亚杂芳基是取代或未取代的5至9元亚杂芳基。在实施方案中，所述化合物是如本文所述化学物质。

[0093] 在实施方案中，取代或未取代的部分(例如，取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、和/或取代或未取代的亚杂芳基)是未取代的(例如，分别是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、未取代的杂芳基、未取代的亚烷基、未取代的亚杂烷基、未取代的亚环烷基、未取代的亚杂环烷基、未取代的亚芳基、和/或未取代的亚杂芳基)。在实施方案中，取代或未取代的部分(例如，取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、和/或取代或未取代的亚杂芳基)是取代的(例如，分别是取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基、取代的杂芳基、取代的亚烷基、取代的亚杂烷基、取代的亚环烷基、取代的亚杂环烷基、取代的亚芳基、和/或取代的亚杂芳基)。

[0094] 在实施方案中，取代的部分(例如，取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取

代的杂环烷基、取代的芳基、取代的杂芳基、取代的亚烷基、取代的亚杂烷基、取代的亚环烷基、取代的亚杂环烷基、取代的亚芳基、和/或取代的亚杂芳基)被至少一种取代基取代,其中如果所述取代的部分是由多个取代基取代,则每个取代基可任选是不同的。在实施方案中,如果取代的部分是由多个取代基取代,则每个取代基是不同的。

[0095] 在实施方案中,取代的部分(例如,取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基、取代的杂芳基、取代的亚烷基、取代的亚杂烷基、取代的亚环烷基、取代的亚杂环烷基、取代的亚芳基、和/或取代的亚杂芳基)由至少一种限制大小的取代基取代,其中如果所述取代的部分是由多个限制大小的取代基取代,则每个限制大小的取代基可以任选是不同的。在实施方案中,如果所述取代的部分是由多个限制大小的取代基取代,则每个限制大小的取代基是不同的。

[0096] 在实施方案中,取代的部分(例如,取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基、取代的杂芳基、取代的亚烷基、取代的亚杂烷基、取代的亚环烷基、取代的亚杂环烷基、取代的亚芳基、和/或取代的亚杂芳基)是由至少一种低级取代基取代,其中如果所述取代的部分是由多个低级取代基取代,则每个低级取代基可以任选是不同的。在实施方案中,如果所述取代的部分是由多个低级取代基取代,则每个低级取代基是不同的。

[0097] 在实施方案中,取代的部分(例如,取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基、取代的杂芳基、取代的亚烷基、取代的亚杂烷基、取代的亚环烷基、取代的亚杂环烷基、取代的亚芳基、和/或取代的亚杂芳基)是用至少一个取代基、限制大小的取代基或低级取代基取代的;其中,如果所述取代的部分被多个选自取代基、限制大小的取代基和低级取代基的基团取代,则每个取代基、限制大小的取代基和/或低级取代基可以任选是不同的。在实施方案中,如果所述取代的部分被多个选自取代基、限制大小的取代基和低级取代基的基团取代,则每个取代基、限制大小的取代基和/或低级取代基是不同的。

[0098] 本公开的某些化合物具有不对称碳原子(光学或手性中心)或双键;根据绝对立体化学,对映异构体、外消旋体、非对映异构体、互变异构体、几何异构体、立体异构形式对于氨基酸可以定义为(R)-或(S)-或者(D)-或(L)-,并且单个异构体包含在本公开的范围内。本公开的化合物不包括本领域已知的太不稳定而不能合成和/或分离的化合物。本公开旨在包括外消旋和光学纯形式的化合物。光学活性的(R)-和(S)-或者(D)-和(L)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备,或使用常规技术拆分。当本文所述的化合物含有烯键或其它几何不对称中心时,除非另有说明,否则意指该化合物包括E和Z几何异构体。

[0099] 如本文所用,术语“异构体”是指具有相同数目和种类的原子并因此具有相同分子量但在原子的结构排列或构型方面不同的化合物。

[0100] 如本文所用,术语“互变异构体”是指两种或更多种结构异构体之一,所述结构异构体平衡存在并且易于从一种异构体形式转化为另一种异构体形式。

[0101] 对于本领域技术人员显而易见的是,本公开的某些化合物可以以互变异构形式存在,所述化合物的所有这种互变异构形式都在本公开的范围内。

[0102] 除非另有说明,本文描述的结构还意在包括该结构的所有立体化学形式;即,每个不对称中心的R和S构型。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映体和非对映

体混合物均在本公开的范围内。

[0103] 除非另有说明，本文描述的结构还意在包括仅在存在一个或多个同位素富集原子时不同的化合物。例如，除了用氘或氚代替氢或用富含^{13}C或^{14}C的碳代替碳以外，具有本发明结构的化合物都在本公开的范围内。

[0104] 本公开的化合物还可在构成此类化合物的一个或多个原子处含有非天然比例的原子同位素。例如，所述化合物可以用放射性同位素进行放射性标记，例如用氚(^{3}H)、碘-125(^{125}I)或碳-14(^{14}C)标记。本公开的化合物的所有同位素变体，无论是否具有放射性，都包含在本公开的范围内。

[0105] 应当注意，在整个申请中，备选方案以马库什集合(Markush group)书写，例如每个氨基酸位置含有多于一种可能的氨基酸。特别考虑到马库什集合的每个成员应该被单独考虑，从而包括另一个实施方案，并且马库什集合不被读作单个单元。

[0106] 如本文所用，术语“生物缀合物”和“生物缀合物接头”是指生物缀合物反应基团或生物缀合物反应部分的原子或分子之间产生的结合。这种结合可以是直接的或间接的。例如，本文提供的第一生物缀合物反应基团(例如，-NH_2、-COOH、-N-羟基琥珀酰亚胺、或-马来酰亚胺)和第二生物缀合物反应基团(例如，巯基、含硫氨基酸、胺、含胺侧链的氨基酸或羧酸盐)的缀合物可以是例如通过共价键或接头(例如，第二接头的第一接头)直接地或例如通过非共价键(例如，静电相互作用(例如，离子键、氢键、卤素键)、范德华相互作用(例如，偶极-偶极、偶极-诱导的偶极、London分散力)、环堆积(π效应)、疏水相互作用等)间接地结合。在实施方案中，生物缀合物或生物缀合物接头是使用生物缀合化学形成的(即，两个生物缀合物反应基团的结合)，包括但不限于亲核取代(例如，胺和醇与酰卤、活性酯的反应)、亲电取代(例如，烯胺反应)及碳-碳和碳-杂原子多键的加成(例如，Michael反应、Diels-Alder加成)。这些和其它有用的反应在例如以下文章中讨论：March，ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY，3rd Ed.，John Wiley&Sons，New York，1985；Hermanson，BIOCONJUGATE TECHNIQUES，Academic Press，San Diego，1996；和Feeney et al.，MODIFICATION OF PROTEINS；Advances in Chemistry Series，Vol.198，American Chemical Society，Washington，D.C.，1982。在实施方案中，第一生物缀合物反应基团(例如，马来酰亚胺部分)共价连接到第二生物缀合物反应基团(例如，巯基)。在实施方案中，第一生物缀合物反应基团(例如，卤代乙酰基部分)共价连接至第二生物缀合物反应基团(例如，巯基)。在实施方案中，第一生物缀合物反应基团(例如，吡啶基部分)共价连接至第二生物缀合物反应基团(例如，巯基)。在实施方案中，第一生物缀合物反应基团(例如，-N-羟基琥珀酰亚胺部分)共价连接到第二生物缀合物反应基团(例如，胺)。在实施方案中，第一生物缀合物反应基团(例如，马来酰亚胺部分)共价连接至第二生物缀合物反应基团(例如，巯基)。在实施方案中，第一生物缀合物反应基团(例如，-磺基-N-羟基琥珀酰亚胺部分)共价连接到第二生物缀合物反应基团(例如，胺)。

[0107] 用于本文生物缀合化学的有用的生物缀合物反应部分包括例如：

[0108] (a)羧基及其各种衍生物，包括但不限于N-羟基琥珀酰亚胺酯，N-羟基苯并三唑酯，酰基卤，酰基咪唑，硫酯，对硝基苯酯、烷基、烯基、炔基和芳族酯；

[0109] (b)可转化为酯、醚、醛等的羟基；

[0110] (c)卤代烷基，其中卤化物随后可以被亲核基团例如胺、羧酸盐阴离子、硫醇阴离

子、碳负离子或醇盐离子置换，从而导致新基团共价连接在卤素原子的位置；

[0111] (d)能够参与Diels-Alder反应的亲二烯体基团，例如马来酰亚胺基或马来酰亚胺基团；

[0112] (e)醛基或酮基，使得随后可能通过形成羰基衍生物例如亚胺、腙、缩氨基脲或肟，或通过诸如Grignard加成或烷基锂加成的机制进行衍生化；

[0113] (f)磺酰卤基团，用于随后与胺反应，例如形成磺胺；

[0114] (g)硫醇基团，可转化为二硫化物，与酰卤反应，或与金等金属键合，或与马来酰亚胺反应；

[0115] (h)氨基或巯基(例如存在于半胱氨酸中)，其可以例如被酰化、烷基化或氧化；

[0116] (i)烯烃，例如可以进行环加成、酰化、Michael加成等；

[0117] (j)环氧化物，可与例如胺和羟基化合物反应；

[0118] (k)亚磷酰胺和其它可用于核酸合成的标准官能团；

[0119] (l)金属氧化硅键合；

[0120] (m)金属键合于反应性磷基团(例如膦)以形成例如磷酸二酯键；

[0121] (n)使用铜催化环加成点击化学与炔烃偶联的叠氮化物；和

[0122] (o)生物素缀合物可以与亲和素或链霉亲和素反应形成亲和素-生物素复合物或链霉亲和素-生物素复合物。

[0123] 可以选择生物缀合物反应基团使其不参与或干扰本文所述缀合物的化学稳定性。或者，可以通过保护基的存在来保护反应性官能团不参与交联反应。在实施方案中，所述生物缀合物包含源自不饱和键如马来酰亚胺和巯基的反应的分子实体。

[0124] “类似物”、“相似物”或“衍生物”按照其在化学和生物学中的普通含义使用，指的是在结构上与另一种化合物(即所谓的“参考”化合物)相似但组成不同的化合物，例如，一个原子被不同元素的原子取代，或存在特定官能团，或一个官能团被另一个官能团取代，或参考化合物的一个或多个手性中心的绝对立体化学。因此，类似物是一种在功能和外观上与参考化合物相似或相当但在结构或来源上不同的化合物。

[0125] 如本文所用，术语“a”或“an”表示一个或多个。此外，如本文所用，短语“被取代基取代”是指指定的基团可以被一个或多个任何或所有指定的取代基取代。例如，如果烷基或杂芳基等基团“被未取代的C_1-C_{20}烷基或未取代的2至20元杂烷基取代”，则该基团可含有一个或多个未取代的C_1-C_{20}烷基，和/或一个或多个未取代的2至20元杂烷基。

[0126] 此外，当某部分被R取代基取代时，该部分可称为“R-取代的”。当某部分是R-取代的时，该部分被至少一个R取代基取代并且每个R取代基任选地不同。当特定的R基团存在于化学属(例如式(I))的描述中时，可以使用罗马字母符号来区分该特定R基团的每次出现。例如，当存在多个R^{13}取代基时，每个R^{13}取代基可以区分为R^{13A}、R^{13B}、R^{13C}、R^{13D}等，其中R^{13A}、R^{13B}、R^{13C}、R^{13D}等中的每一个定义为在R^{13}定义的范围内并且任选是不同的。

[0127] 此外，当某部分被R取代基取代时，该部分可称为“R-取代的”。当某部分是R-取代的时，该部分被至少一个R取代基取代并且每个R取代基任选地不同。当特定的R基团存在于化学属(例如式(I))的描述中时，可以使用罗马字母符号来区分该特定R基团的每次出现。例如，当存在多个R^{201}取代基时，每个R^{201}取代基可区分为R^{201A}、R^{201B}、R^{201C}、R^{201D}等，其中R^{201A}、R^{201B}、R^{201C}、R^{201D}等中的每一个定义为在R^{201}定义的范围内并且任选是不同的。

[0128] 术语“亲核部分”是指能够为亲电体提供一个或多个电子(例如2个)的化学物质或官能团。在实施方案中,亲核部分是指可以在化学反应中将电子提供给亲电体以形成键的化学物质或官能团。

[0129] 术语“亲电部分”是指能够接受一个或多个(例如2个)电子的化学物质或官能团。在实施方案中,亲电部分是指具有空轨道并因此可以接受电子以在化学反应中形成键的化学物质或官能团。

[0130] 术语“低聚乙二醇(oligoglycol)部分”是指具有以下通式的化学实体:R^{400}-O-(CH2-CH2-O)n_{300}-~~~,其中R^{400}是H、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基,并且n300是1或更大的整数。在一些实施方案中,R^{400}是H或烷基。

[0131] 本公开的化合物的描述受到本领域技术人员已知的化学键合原理的限制。因此,当一个基团可以被多个取代基中的一个或多个取代时,选择这种取代以符合化学键合的原则,并产生本质上不稳定的和/或本领域技术人员已知在环境条件如在水、中性和一些已知生理条件下可能不稳定的化合物。例如,将杂环烷基或杂芳基按照本领域技术人员已知的化学键合原理通过环杂原子连接到所述分子的其余部分,从而避免了固有不稳定的化合物。

[0132] 术语“药学上可接受的盐”意在包括根据本文所述化合物上发现的特定取代基用相对无毒的酸或碱制备的活性化合物的盐。当本公开的化合物含有相对酸性的官能团时,碱加成盐可通过使中性形式的这种化合物与足量的所需碱接触而获得,所述碱可以是纯的或在合适的惰性溶剂中。药学上可接受的碱加成盐的实例包括钠盐、钾盐、钙盐、铵盐、有机氨基盐或镁盐,或类似的盐。当本公开的化合物含有相对碱性的官能团时,酸加成盐可通过使中性形式的这种化合物与足量的所需酸接触而获得,所述酸可以是纯的,也可以是在合适的惰性溶剂中。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸的盐,如衍生自盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等的盐,以及衍生自相对无毒的有机酸的盐,如衍生自乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、草酸、甲磺酸等的盐。还包括氨基酸盐,例如精氨酸盐等,以及有机酸盐,例如葡糖醛酸盐或半乳糖糖酸盐等(见例如Berge et al.,“Pharmaceutical Salts”,Journal of Pharmaceutical Science,1977,66,1-19)。本公开的某些特定化合物含有使得所述化合物转变为碱或酸加成盐的碱性和酸性官能团。

[0133] 因此,本公开的化合物可以盐的形式存在,例如药学上可接受的酸的盐。本公开包括这种盐。这种盐的非限制性实例包括盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐、甲磺酸盐、硝酸盐、马来酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、富马酸盐、丙酸盐、酒石酸盐(例如,(+)-酒石酸盐、(-)-酒石酸盐或其混合物,包括外消旋混合物)、琥珀酸盐、苯甲酸盐及氨基酸如谷氨酸的盐以及季铵盐(例如碘甲烷、碘乙烷等)。这些盐可以通过本领域技术人员已知的方法制备。

[0134] 所述中性形式的化合物优选通过以常规方式使所述盐与碱或酸接触并分离母体化合物来再生。所述化合物的母体形式可能在某些物理性质方面不同于各种盐形式,例如在极性溶剂中的溶解度。

[0135] 除了盐形式之外，本公开还提供了前药形式的化合物。本文所述化合物的前药是在生理条件下容易发生化学变化以提供本公开的化合物的那些化合物。本文所述化合物的前药可在给药后在体内转化。此外，前药可在离体环境中通过化学或生化方法转化为本公开的化合物，例如当与合适的酶或化学试剂接触时。

[0136] 本公开的某些化合物可以以非溶剂化形式以及溶剂化形式存在，包括水合形式。通常，溶剂化形式等同于非溶剂化形式并且涵盖在本公开的范围内。本公开的某些化合物可以多结晶或无定形形式存在。一般而言，所有物理形式对于本公开预期用途都是等同的并且旨在在本公开的范围内。

[0137] 除非另有定义，本文使用的技术和科学术语与本领域普通技术人员通常理解的含义相同。见例如Singleton et al.,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology,2nd ed.,J.Wiley&Sons(New York,NY 1994);Sambrook et al.,Molecular Cloning,A Laboratory Manual,Cold Springs Harbor Press(Cold Springs Harbor,NY 1989)。与本文所述的那些类似或等同的任何方法、装置和材料都可以用于实施本公开。提供以下定义是为了便于理解本文中频繁使用的某些术语，并不意味着限制本公开的范围。

[0138] “核酸”是指单链、双链或多链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物，或其互补物。术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“寡聚物”等在通常和惯例的意义上是指核苷酸的线性序列。术语“核苷酸”在通常和惯例的意义上是指多核苷酸的单个单元，即单体。核苷酸可以是核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸或其修饰形式。本文考虑的多核苷酸的实例包括单链和双链DNA、单链和双链RNA，以及具有单链和双链DNA和RNA混合物的杂交分子。核酸例如本文考虑的多核苷酸的实例包括任何类型的RNA，例如信使RNA(mRNA)、小干扰RNA(siRNA)、短发夹RNA(shRNA)、微小RNA(miRNA)、引导RNA(gRNA)、CRISPR RNA(crRNA)、反式激活RNA(tracrRNA)、质粒DNA(pDNA)、小环DNA、基因组DNA(gNDA)及其任何片段。在多核苷酸上下文中的术语“双链体”在通常和惯例的意义上是指双链。核酸可以是线性的或支链的。例如，核酸可以是核苷酸的线性链或者核酸可以是支链的，例如使得核酸具有一个或多个核苷酸臂或分支。任选地，支链核酸是重复分支的以形成更高级的结构，例如树状聚合物等。

[0139] 核酸(包括例如具有硫代磷酸酯主链的核酸)可以包括一个或多个反应性部分。如本文所用，术语反应性部分包括能够通过共价、非共价或其它相互作用与另一分子例如核酸或多肽反应的任何基团。举例来说，所述核酸可以包括氨基酸反应性部分，其通过共价、非共价或其它相互作用与蛋白质或多肽上的氨基酸反应。

[0140] 这些术语还包括含有已知核苷酸类似物或修饰的主链残基或连接的核酸，其是合成的、天然存在的和非天然存在的，具有与参考核酸相似的结合特性，并且以类似于参考核苷酸的方式代谢。这种类似物的实例包括但不限于磷酸二酯衍生物，包括例如氨基磷酸酯、二氨基磷酸酯、硫代磷酸酯(也称为具有双键硫取代磷酸酯中的氧的硫代磷酸酯)、二硫代磷酸酯、膦酰基羧酸、膦酰基羧酸酯、膦酰基乙酸、膦酰基甲酸、膦酸甲酯、膦酸硼或O-甲基亚磷酰胺键连(参见Eckstein,Oligonucleotides and Analogues:A Practical Approach,Oxford University Press)以及对核苷酸碱基的修饰，例如在5-甲基胞苷或假尿苷中；及肽核酸主链和键连。其它类似物核酸包括具有阳离子主链、非离子主链、修饰的糖和非核糖主链的那些核酸(例如本领域已知的磷酰二胺吗啉代寡核苷酸或锁核酸(LNA))，包括在美国专利号5,235,033和5,034,506以及ASC Symposium Series 580,

Carbohydrate Modifications in Antisense Research,Sanghui&Cook,eds.第6章和第7章中描述的那些。含有一或多个碳环糖的核酸也包括在核酸的一个定义中。出于多种原因，可以对核糖-磷酸主链进行修饰，例如为了增加此类分子在生理环境中的稳定性和半衰期或作为生物芯片上的探针。可以制备天然存在的核酸和类似物的混合物；或者，可以制备不同核酸类似物的混合物，以及天然存在的核酸和类似物的混合物。在实施方案中，DNA中的核苷酸间连接是磷酸二酯、磷酸二酯衍生物或两者的组合。

[0141] 核酸可以包括非特异性序列。如本文所用，术语“非特异性序列”是指含有一系列残基的核酸序列，这些残基未被设计为与任何其它核酸序列互补或仅部分互补。举例来说，非特异性核酸序列是当与细胞或生物体接触时不作为抑制性核酸起作用的核酸残基序列。“抑制性核酸”是能够结合靶核酸(例如可翻译成蛋白质的mRNA)并减少靶核酸转录(例如mRNA转录为DNA)或减少靶核酸(例如mRNA)的翻译或改变转录剪接(例如单链吗啉代寡核苷酸)的核酸(例如DNA、RNA或核苷类似物的聚合物)。在实施方案中，所述核酸是RNA(例如mRNA)。在实施方案中，所述核酸的长度为10至100,000个碱基。在实施方案中，所述核酸的长度为50至10,000个碱基。在实施方案中，所述核酸的长度为50至5,000个碱基。在实施方案中，所述核酸的长度为50至1,000个碱基。

[0142] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用，是指氨基酸残基的聚合物，其中所述聚合物可以与不由氨基酸组成的部分偶联。这些术语适用于氨基酸聚合物，其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在氨基酸的人工化学模拟物，以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。这些术语适用于大环肽、用非肽功能修饰的肽、肽模拟物、聚酰胺和大环内酰胺。“融合蛋白”是指编码两个或多个分离的蛋白质序列的嵌合蛋白，其重组表达为单个部分。

[0143] 术语“肽基”和“肽基部分”是指单价肽。

[0144] 术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸，以及以类似于天然存在的氨基酸的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的氨基酸，以及后来被修饰的氨基酸，例如羟脯氨酸、γ-羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指与天然存在的氨基酸具有相同基本化学结构的化合物，即α碳与氢、羧基、氨基和R基团结合，例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砜、甲硫氨酸甲基锍。这种类似物具有修饰的R基团(例如，正亮氨酸)或修饰的肽主链，但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有不同于氨基酸的一般化学结构的结构，但其功能类似于天然存在的氨基酸的化合物。术语“非天然存在的氨基酸”和“非天然氨基酸”是指在自然界中不存在的氨基酸类似物、合成氨基酸和氨基酸模拟物。

[0145] 氨基酸在本文中可以通过其通常已知的三字母符号或通过IUPAC-IUB生化命名委员会推荐的单字母符号来表述。同样，核苷酸可以用其普遍接受的单字母代码来指代。

[0146] “接触”按照其简单的普通含义使用，指的是使至少两种不同的物质(例如，包括生物分子的化合物或细胞)变得足够接近以发生反应、相互作用或物理接触的过程。然而，应当理解，所得反应产物可以直接由加入的试剂之间的反应产生，或者由一种或多种加入的试剂可以在反应混合物中产生的中间体产生。在实施方案中，接触包括例如使核酸与核酸内切酶相互作用。

[0147] “对照”样品或值是指用作参考的样品，通常是已知参考，用于与测试样品进行比

较。例如,测试样品可取自测试条件,例如在存在测试化合物的情况下,并与来自已知条件的样品进行比较,例如在不存在测试化合物(阴性对照)、或在存在已知化合物(阳性对照)的情况下。对照还可以表示从多个测试或结果中收集的平均值。本领域的技术人员将认识到可以设计对照以评估任何数量的参数。例如,可以设计一个对照来比较基于药理学数据(例如半衰期)或治疗措施(例如副作用的比较)的治疗益处。本领域技术人员将理解哪些标准对照在给定情况下最合适并且能够基于与标准对照值的比较来分析数据。标准对照对于确定数据的显著性(例如统计显著性)也很有价值。例如,如果给定参数的值在标准对照中变化很大,则测试样品的变化将不被视为显著。

[0148] “标记”或“可检测部分”是可通过光谱、光化学、生物化学、免疫化学、化学或其它物理方法检测的组合物。例如,可用的标记包括^{32}P、荧光染料、电子致密试剂、酶(例如,通常用于ELISA)、生物素、洋地黄毒苷或半抗原和蛋白质或其它可检测的实体,例如通过在肽或抗体中掺入与靶肽特异性反应的放射性标记。可以采用本领域已知的任何合适的方法将抗体与标记缀合,例如使用Hermanson,Bioconjugate Techniques 1996,Academic Press,Inc.,San Diego中描述的方法。

[0149] “生物样品”或“样品”是指从个体或患者获得或衍生的材料。生物样品包括组织切片,例如活检和尸检样品,以及用于组织学目的冷冻切片。这种样品包括体液,例如血液和血液组分或产物(例如,血清、血浆、血小板、红细胞等)、痰液、组织、培养细胞(例如,原代培养物、外植体和转化的细胞)、粪便、尿液、滑液、关节组织、滑膜组织、滑膜细胞、成纤维细胞样滑膜细胞、巨噬细胞样滑膜细胞、免疫细胞、造血细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、T细胞等。生物样品通常获自真核生物,例如哺乳动物如灵长类动物,例如黑猩猩或人类;奶牛;狗;猫;啮齿动物,例如豚鼠、大鼠、小鼠;兔子;或鸟类;爬虫;或鱼。

[0150] 如本文所用,“细胞”是指执行足以保存或复制其基因组DNA的代谢或其它功能的细胞。可以通过本领域熟知的方法鉴定细胞,包括例如完整膜的存在、特定染料染色、产生后代的能力,或者在配子的情况下,与第二个配子结合以产生有活力的后代的能力。细胞可包括原核细胞和真核细胞。原核细胞包括但不限于细菌。真核细胞包括但不限于酵母细胞和源自植物和动物的细胞,例如哺乳动物、昆虫(例如灰翅夜蛾属(spodoptera))和人细胞。

[0151] 术语“基因”是指参与产生蛋白质的DNA片段;其包括编码区之前和之后的区域(前导序列和尾随序列)以及各个编码区段(外显子)之间的插入序列(内含子)。前导序列、尾随序列和内含子包括在基因转录和翻译期必需的调控元件。此外,“蛋白质基因产物”是由特定基因表达的蛋白质。

[0152] 如本文所用,关于基因的单词“表达”或“表达的”是指该基因的转录和/或翻译产物。细胞中DNA分子的表达水平可以根据细胞内存在的相应mRNA的量或细胞产生的DNA编码的蛋白质的量来决定(Sambrook et al.,1989,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,18.1-18.88)。

[0153] 转染的基因的表达可以在细胞中瞬时或稳定地发生。在“瞬时表达”期间,转染的基因在细胞分裂期间未转移到子细胞中。由于其表达仅限于转染的细胞,因此该基因的表达会随着时间的推移而丧失。相反,当转染的基因与另一个赋予转染的细胞选择优势的基因共转染时,可以发生所述转染的基因的稳定表达。这种选择优势可以是对呈现给细胞的某种毒素的抗性。

[0154] 术语“质粒”是指编码基因和/或基因表达所需的调节元件的核酸分子。质粒的基因表达可以顺式或反式发生。如果基因是顺式表达，则基因和调节元件是由同一质粒编码。反式表达是指其中基因和调节元件由不同质粒编码的情况。

[0155] 术语“外源的”是指源自给定细胞或生物体外的分子或物质(例如，核酸或蛋白质)。相反，术语“内源的”是指天然存在于或起源于给定细胞或生物体的分子或物质。

[0156] “载体”是能够将另一核酸转运进细胞中的核酸。当载体存在于合适的环境中时，载体能够指导由其携带的一个或多个基因编码的一种或多种蛋白质的表达。

[0157] 术语“密码子优化”是针对用于转化各种宿主的基因或核酸分子编码区，是指改变基因或核酸分子编码区中的密码子以反映宿主生物体的典型密码子使用，而不改变由所述DNA编码的多肽。这种优化包括用一种或多种在该生物体的基因中更频繁使用的密码子替换至少一个、或多于一个或大量密码子。鉴于可用于各种动物、植物和微生物物种的大量基因序列，可以计算密码子使用的相对频率。密码子使用表很容易得自例如www.kazusa.or.jp/codon/的“密码子使用数据库Codon Usage Database”中。通过利用关于每个生物体中密码子使用或密码子偏好的知识，本领域的普通技术人员可以将所述频率应用于任何给定的多肽序列，并产生编码所述多肽的密码子优化编码区的核酸片段，但是其使用对于给定物种最佳的密码子。可通过本领域技术人员已知的各种方法设计密码子优化的编码区。

[0158] “细胞培养物”是存在于生物体外部的体外细胞群。所述细胞培养物可以从分离自细胞库或动物中的原代细胞建立，或从衍生自这些来源之一的次级细胞建立，并永生化以用于长期体外培养。

[0159] 术语“转染(transfection)”、“转导(transduction)”、“转染(transfecting)”或“转导(transducing)”可以互换使用并且被定义为将核酸分子和/或蛋白质引入细胞的过程。可以使用非病毒或基于病毒的方法将核酸引入细胞。所述核酸分子可以是编码完整蛋白质或其功能部分的序列。通常，核酸载体具有蛋白质表达所必需的元件(例如，启动子、转录起始位点等)。非病毒转染方法包括不使用病毒DNA或病毒颗粒作为递送系统以将核酸分子引入细胞的任何适当方法。示例性的非病毒转染方法包括磷酸钙转染、脂质体转染、核转染、声孔效应转染、通过热激转染、磁力转染和电穿孔。对于基于病毒的方法，任何可用的病毒载体都可以用于本文所述的方法中。病毒载体的实例包括但不限于逆转录病毒、腺病毒、慢病毒和腺相关病毒载体。在一些方面，按照本领域熟知的标准程序使用逆转录病毒载体将核酸分子引入细胞。术语“转染”或“转导”也指将蛋白质从外部环境引入细胞。通常，蛋白质的转导或转染依赖于能够穿过细胞膜的肽或蛋白质与感兴趣的蛋白质的附着。见例如Ford etal.(2001)Gene Therapy 8:1-4and Prochiantz(2007)Nat.Methods 4:119-20。

[0160] 如本文所用，术语“特异性结合”或“特异性地结合”是指在生理条件下形成相对稳定的复合物的两个分子(例如病毒蛋白和所述病毒蛋白的受体)。

[0161] 用于确定配体是否结合另一物种(例如蛋白质或核酸)和/或这种配体-物种相互作用的亲和力的方法是本领域已知的。例如，可以使用多种技术检测和/或定量配体与蛋白质的结合，例如但不限于Western印迹、斑点印迹、表面等离子体共振方法(例如，BIAcore系统;Pharmacia Biosensor AB,Uppsala,Sweden and Piscataway,N.J.)、等温滴定量热法(ITC)或酶联免疫吸附测定(ELISA)。

[0162] 可用于分析配体的免疫特异性结合和交叉反应性的免疫测定包括但不限于竞争性和非竞争性测定系统,使用诸如Western印迹、RIA、ELISA(酶联免疫吸附测定)、“夹心”免疫测定、免疫沉淀测定、免疫扩散测定、凝集测定、补体固定测定、免疫放射测定和荧光免疫测定等技术。这种测定是常规的并且是本领域熟知的。

[0163] 术语“抗体”是指由特异性结合和识别抗原的免疫球蛋白基因或其功能片段编码的多肽。识别的免疫球蛋白基因包括κ、λ、α、γ、δ、ε和μ恒定区基因,以及无数的免疫球蛋白可变区基因。轻链分为κ或λ。重链分为γ、μ、α、δ或ε,它们又分别定义了免疫球蛋白类别IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。

[0164] 术语“抗原”和“表位”可互换地指被免疫系统的组分特异性识别的分子(例如多肽)的部分,例如抗体、T细胞受体或其它免疫受体例如自然杀伤(NK)细胞上的受体。如本文所用,术语“抗原”涵盖抗原性表位及其抗原性片段。

[0165] 示例的免疫球蛋白(抗体)结构单元可以具有四聚体。每个四聚体由两对相同的多肽链组成,每对链具有一条“轻链”(约25kDa)和一条“重链”(约50-70kDa)。每条链的N末端定义了一个可变区,大约有100至110个或更多的氨基酸,主要负责抗原识别。术语“可变重链”、“V_H”或“VH”是指免疫球蛋白重链的可变区,包括Fv、scFv、dsFv或Fab;而术语“可变轻链”、“V_L”或“VL”是指免疫球蛋白轻链的可变区,包括Fv、scFv、dsFv或Fab。

[0166] 抗体功能片段的实例包括但不限于完整的抗体分子、抗体片段,例如Fv、单链Fv(scFv)、互补决定区(CDR)、VL(轻链可变区)、VH(重链可变区)、Fab、F(ab)2′和那些任何组合或能够结合靶抗原的免疫球蛋白肽的任何其它功能部分(见例如Fundamental Immunology(Paul ed.,4th ed.2001)。如本领域技术人员所理解的,可以通过多种方法获得多种抗体片段,例如用酶如胃蛋白酶消化完整抗体;或从头合成。抗体片段通常通过化学或通过使用重组DNA方法从头合成。因此,如本文所用,术语抗体包括通过修饰整个抗体产生的抗体片段,或使用重组DNA方法从头合成的那些(例如单链Fv)或使用噬菌体展示文库鉴定的那些(见例如,McCafferty et al.,(1990)Nature 348:552)。术语“抗体”还包括二价或双特异性分子、双抗体、三抗体和四抗体。二价和双特异性分子描述于例如Kostelny etal.(1992)J.Immunol.148:1547、Pack and Pluckthun(1992)Biochemistry 31:1579、Hollinger et al.(1993),PNAS.USA 90:6444、Gruber et al.(1994)J Immunol.152:5368、Zhu et al.(1997)Protein Sci.6:781、Hu et al.(1996)Cancer Res.56:3055、Adams et al.(1993)Cancer Res.53:4026和McCartney,et al.(1995)Protein Eng.8:301。

[0167] 如本文所用,术语“解聚(immolation)”、“自解聚(self-immolation)”、“自解聚机制”、“解聚部分”、“”解聚结构域”等在本文中指的是化学基团进行分子内反应从而导致化学基团的化学重排及重排的化学基团从其所连接的化合物的其余部分释放的能力。“pH-敏感性”解聚结构域是指在特定pH范围内经历解聚反应并且在特定pH范围之外基本上不经历解聚反应的化学基团(例如,pH约1-5,pH约5-7或pH约7-10)。在实施方案中,所述特定pH范围是:pH 1-3、pH 2-4、pH 3-5、pH 4-6、pH 5-7、pH 6-8、pH 7-9或pH 8-10。在实施方案中,pH-敏感性解聚区域包括阳离子α氨基酯(低聚(α-氨基酯))。在实施方案中,所述阳离子α氨基酯的阳离子组分是带正电荷的氮原子(例如阳离子胺)。在实施方案中,所述阳离子α氨基酯的阳离子组分不是胍基团。在实施方案中,阳离子α氨基酯的阳离子组分不是哌啶鎓

(piperidinium)基团。

[0168] 术语“细胞穿透复合物”等在通常和习惯的意义上是指能够渗透到细胞(生物细胞,例如真核细胞或原核细胞)中的化学复合物(例如本文公开的复合物或组合物及其实施方案)。在实施方案中,所述细胞穿透复合物包括与阳离子两亲聚合物离子结合的核酸。在实施方案中,在所述阳离子两亲聚合物不存在的情况下,所述核酸不能基本上穿透所述细胞。因此,在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物促进核酸转运到细胞中。如本文所用,术语“阳离子电荷改变可释放转运蛋白”、“CART”等是指本文公开的细胞穿透复合物。所述CART化合物能够通过所述阳离子两亲性聚合物组分内的pH敏感性解聚结构域的作用在细胞内释放所述核酸组分,其响应于细胞内pH而反应从而在细胞内释放核酸。在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物在细胞内快速降解(例如,在pH 7.4小于6小时的T1/2)。至少在一些实施方案中,聚合复合物(polyplex)、复合物、静电复合物、CART/mRNA复合物、CART/寡核苷酸复合物和纳米颗粒可以互换地用于指代细胞穿透复合物。

[0169] 如本文所用,术语“两亲聚合物”是指含有亲水部分和疏水部分的聚合物。在实施方案中,所述亲水部分与疏水部分以1:1的质量比存在。在实施方案中,所述亲水部分与疏水部分以1:2的质量比存在。在实施方案中,所述亲水部分与疏水部分以1:5的质量比存在。在实施方案中,所述亲水部分与疏水部分以2:1的质量比存在。在实施方案中,所述亲水部分与疏水部分以5:1的质量比存在。两亲聚合物可以是二嵌段或三嵌段共聚物。在实施方案中,所述两亲聚合物可包括两个亲水部分(例如嵌段)和一个疏水部分(例如嵌段)。

[0170] 通常称为“脂质嵌段”的术语“亲脂性聚合物结构域”等是指阳离子两亲性聚合物的非亲水性区域(例如,单独不溶于水)。在实施方案中,亲脂性聚合物结构域在水中具有低溶解度。例如,在水中的低溶解度是指亲脂性聚合物结构域在水中的溶解度为约0.0005mg/mL至约10mg/mL。

[0171] 术语“引发剂”是指参与合成阳离子两亲聚合物的反应以引发聚合反应的化合物。因此,引发剂通常合并在合成的聚合物的末端。例如,一种类型(或式)的单体或多于一种类型的单体(例如两种不同类型的单体)的多个分子可以与引发剂反应以提供阳离子两亲聚合物。所述引发剂可存在于所得聚合物的至少一端并且不构成存在于聚合物中的重复(或聚合)单元。

[0172] 术语“疾病”或“病症”是指能够用本文提供的化合物、药物组合物或方法治疗的个体的存在状态或健康状况。所述疾病可以是自身免疫、炎症、癌症、感染、代谢、发育、心血管、肝脏、肠道、内分泌、神经或其它疾病。在一些实例中,所述疾病是癌症(例如乳腺癌、卵巢癌、肉瘤、骨肉瘤、肺癌、膀胱癌、宫颈癌、肝癌、肾癌、皮肤癌(例如默克尔细胞癌)、睾丸癌、白血病、淋巴瘤、头颈癌、结直肠癌、前列腺癌、胰腺癌、黑色素瘤、神经母细胞瘤)。

[0173] 术语“感染”或“感染性疾病”是指可由诸如细菌、病毒、真菌或任何其它病原微生物剂的生物体引起的疾病或病症。

[0174] 术语“病毒”或“病毒颗粒”根据其在生物学领域中的普通含义使用,指的是包括病毒基因组(例如DNA、RNA、单链、双链)、蛋白质保护衣壳(例如衣壳蛋白)和相关蛋白,并且在包膜病毒(例如疱疹病毒)的情况下,包膜包括脂质和任选的宿主细胞膜组分,和/或病毒蛋白。

[0175] 术语“病毒感染”或“病毒性疾病”是指由病毒引起的疾病或病症。病毒感染的非限

制性实例包括肝病毒疾病(例如,甲型、乙型、丙型、丁型、戊型肝炎)、疱疹病毒感染(例如,HSV-1、HSV-2、带状疱疹)、黄病毒感染、寨卡(Zika)病毒感染、巨细胞病毒感染、呼吸道病毒感染(例如腺病毒感染、流感、严重急性呼吸系统综合征、冠状病毒感染(例如SARS-CoV-1、SARS-CoV-2、MERS-CoV、COVID-19、MERS))、胃肠道病毒感染(例如诺如病毒感染、轮状病毒感染、星状病毒感染)、发疹性病毒感染(例如麻疹、带状疱疹、天花、风疹)、病毒性出血性疾病(例如埃博拉病毒、拉沙热、登革热、黄热病)、神经系统病毒感染(例如,西尼罗河病毒感染、脊髓灰质炎、病毒性脑膜炎、病毒性脑炎、日本脑炎、狂犬病)和人乳头瘤病毒感染。

[0176] 术语“感染”或“感染性疾病”是指可由诸如细菌、病毒、真菌或任何其它致病微生物剂的生物体引起的疾病或病症。在实施方案中,感染性疾病病是由病原性病毒引起的。病原性病毒是指可以在细胞(例如人体细胞)内感染和复制并引起疾病的病毒。在实施方案中,所述感染性疾病是病毒相关疾病。非限制性病毒相关疾病包括肝病毒疾病(例如,甲型、乙型、丙型、丁型、戊型肝炎)、疱疹病毒感染(例如,HSV-1、HSV-2、带状疱疹)、黄病毒感染、寨卡病毒感染、巨细胞病毒感染、呼吸道病毒感染(例如腺病毒感染、流感、严重急性呼吸系统综合征、冠状病毒感染(例如SARS-CoV-1、SARS-CoV-2、MERS-CoV、COVID-19、MERS))、胃肠道病毒感染(例如诺如病毒感染、轮状病毒感染、星状病毒感染)、发疹性病毒感染(例如麻疹、带状疱疹、天花、风疹)、病毒性出血性疾病(例如埃博拉病毒、拉沙热、登革热、黄热病)、神经系统病毒感染(例如,西尼罗河病毒感染、脊髓灰质炎、病毒性脑膜炎、病毒性脑炎、日本脑炎、狂犬病)和人乳头瘤病毒感染。

[0177] 如本文所定义,关于分子(例如多核苷酸或蛋白质)的活性和/或功能性的术语“抑制”及其语法变化用词等意指相对于在没有抑制的情况的蛋白质的活性或功能而言负面影响(例如降低或减少)所述分子的活性或功能。因此,抑制至少部分包括部分或完全阻断刺激,减少、防止或延迟激活,或灭活、脱敏或下调信号转导或酶活性或蛋白质或多核苷酸的量。类似地,“抑制剂”是抑制靶生物分子(即核酸、肽、碳水化合物、脂质或可从自然界中发现的任何其它分子)的化合物,例如通过结合、部分或完全阻断、减少、阻止、延迟、灭活、脱敏或下调靶生物分子的活性而进行抑制。在疾病预防治疗的背景下,抑制是指疾病或疾病症状的减少。

[0178] SARS-CoV-2属于β冠状病毒家族,其成员包括另外两种在新千年引起严重疾病暴发的人畜共患病毒:严重急性呼吸系统综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸系统综合征冠状病毒(MERS-CoV))。SARS-CoV-2显示出与SARS-CoV近80％的遗传相似性,SARS-CoV在2002-2003年引发了严重急性呼吸系统综合征(SARS)流行。SARS-CoV-2与MERS-CoV的亲缘关系更远,后者造成中东呼吸综合征(MERS),疫情始于2012年,至今仍在持续。见例如Yuki et al.,2020,Clin.Immun.215,108427;Chen et al.2020,J.Med.Virol.92,418-423。术语“SARS-CoV”是指SARS冠状病毒。术语“SARS-CoV”包括任何冠状病毒,例如SARS-CoV-2、SARS-CoV-1和MERS-CoV。

[0179] “COVID-19”是指由SARS-CoV-2引起的疾病。COVID-19的潜伏期为2至14天,症状包括发热、疲倦、咳嗽和呼吸急促(例如呼吸困难)。

[0180] “MERS-CoV”是指中东呼吸系统综合征相关冠状病毒。见例如Chung et al,Genetic Characterization of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus,South Korea,2018.Emerging Infectious Diseases,25(5):958-962(2019)。

[0181] “中东呼吸系统综合征”或“MERS”是指由MERS-冠状病毒引起的疾病。

[0182] “治疗”及其各种语法变化用词被定义为用药剂作用于疾病、病况或病症以减少或改善疾病、病况或病症和/或其症状的有害或任何其它不良影响。“治疗”病症或有此需要的个体是指(1)采取步骤以获得有益或期望的结果,包括临床结果,例如症状减轻;(2)抑制疾病,例如阻止或减少疾病的发展或其临床症状;(3)缓解疾病,例如使疾病或其临床症状消退;(4)延缓疾病。例如,有益或期望的临床结果包括但不限于减少和/或消除癌细胞以及阻止和/或减少癌细胞转移。

[0183] 在疾病的上下文中,术语“预防”及其各种语法变化用词的“预防”是指使所述疾病的临床症状不在尚未经历或出现所述疾病症状的个体中发生。在一些实例中,这种预防可以应用于被认为易患该疾病的个体,而在一些其它实例中,所述个体可能不一定被认为易患该疾病。

[0184] 如本文所用,“给药”是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统中的任一种将组合物物理地引入个体。本文所述组合物的优选给药途径包括经静脉内、腹膜内、肌内、皮下、椎管或其它非肠道给药途径,例如通过注射或输注。本文所用的短语“非肠道给药途径”是指除肠道和局部给药以外的给药方式,通常通过注射,包括但不限于经静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眼眶内、心内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下腔、椎管内、硬膜外和胸骨内注射和输注,以及体内电穿孔。或者,本文所述的组合物可以通过非肠胃外途径给药,例如局部、表皮或粘膜给药途径,例如鼻内、口服、阴道、直肠、舌下或局部给药。也可以例如一次、多次和/或在一个或多个延长的时期内进行给药。

[0185] 在与疾病相关的物质或物质活性或功能的上下文中,术语“相关”或“相关于”是指所述疾病可能(全部或部分)由或者所述疾病的症状可能(全部或部分)由所述物质或物质活性或功能引起。当该术语用于症状的上下文中时,例如与疾病或病症相关的症状,这意味着症状可以指示表现出该症状的个体中存在的疾病或病症。

[0186] 术语“受试者”、“个体”、“宿主”或“有此需要的个体”是指患有疾病或病症或有可能在未来患上疾病或病症的活生物体。术语“患者”是指已经具有疾病或病症的活生物体,例如已经被诊断患有某种疾病或病症或具有一种或多种与疾病或病症相关症状的患者。非限制性实例包括人类、其它哺乳动物、牛、大鼠、小鼠、狗、猴、山羊、绵羊、牛、鹿和其它非哺乳动物。在一些实施方案中,患者是人。

[0187] 术语“疫苗”是指可以提供针对特定疾病或病原体的主动获得性免疫和/或治疗效果(例如治疗)的组合物。疫苗通常含有一种或多种药剂,其可以在个体中诱导针对病原体或疾病(即靶病原体或疾病)的免疫应答。所述免疫原性制剂刺激机体的免疫系统将该药剂识别为靶病原体或疾病存在的威胁或指示,从而诱导免疫记忆,以便免疫系统在随后接触时更容易识别和消灭任何病原体。疫苗可以是预防性的(例如预防或改善任何自然或病原体未来感染的影响或预期在易感个体中发生癌症的影响)或治疗性的(例如治疗已被诊断患有癌症的个体的癌症))。疫苗的给药称为疫苗接种。在一些实例中,疫苗组合物可以为个体提供核酸,例如编码抗原性分子(例如肽)的mRNA。通过疫苗组合物递送到个体体内的核酸可以表达成抗原性分子并使得个体获得针对所述抗原性分子的免疫力。在针对感染性疾病的疫苗接种的情况下,所述疫苗组合物可以提供编码与特定病原体相关的抗原性分子的

mRNA,所述抗原性分子例如是已知在病原体(例如致病细菌或病毒)中表达的一种或多种肽。在病毒疫苗的情况下,所述疫苗组合物可以提供编码某些病毒肽的mRNA,这些病毒肽是为其寻求免疫力的病毒的特征,例如基本上专有地或高度表达在病毒表面的肽(例如,衣壳蛋白)。个体在接种所述病毒疫苗组合物后,可具有针对所述病毒肽的免疫力,特异性杀死表达其的细胞。

[0188] 术语“佐剂”按照其在免疫学中的普通含义使用,是指通常用作疫苗组分的物质。当作为疫苗的一部分与一种或多种特异性抗原一起给药于个体时,佐剂可以增加个体的抗原特异性免疫应答。在实施方案中,佐剂加速对抗原的免疫应答。在实施方案中,佐剂延长对抗原的免疫应答。在实施方案中,佐剂增强对抗原的免疫应答。

[0189] 本文使用的术语“免疫应答”包括但不限于“适应性免疫应答”,也称为“获得性免疫应答”,其中适应性免疫在对所述免疫应答靶向的特定病原体或特定类型细胞的初始应答后引发免疫记忆,并导致在随后的遭遇中对该靶标的应答增强。免疫记忆的诱导可以为疫苗接种提供基础。

[0190] 术语“免疫原性”或“抗原性”是指诱导免疫应答的化合物或组合物,例如当给药于具有免疫能力的个体时产生细胞毒性T淋巴细胞(CTL)应答、B细胞应答(例如,产生特异性结合表位的抗体)、和NK细胞应答或其任何组合。因此,免疫原性或抗原性组合物是能够在具有免疫能力的个体中引发免疫应答的组合物。例如,免疫原性或抗原性组合物可以包括一个或多个与免疫应答靶向的病原体或特定类型的细胞相关的免疫原性表位。此外,免疫原性组合物可包括分离的核酸构建体(如DNA或RNA),其编码抗原性多肽的一个或多个免疫原性表位,可用于表达表位(并因此用于引发针对此多肽或与靶向的病原体或细胞类型相关的相关多肽的反应免疫应答)。

[0191] 根据本文提供的方法,可以向个体给药本文提供的有效量的一种或多种药剂、组合物或复合物,所有这些在本文中可互换使用(例如细胞穿透复合物或包括其的疫苗组合物)。术语“有效量”和“有效剂量”可互换使用。术语“有效量”定义为产生所需效果(例如,将核酸转染到细胞中并显示转染核酸的预期结果)所必需的任何量。所述制剂的有效量和给药时间表可由本领域技术人员凭经验确定。给药的剂量范围是那些足以产生所需效果的剂量范围,例如核酸转染、基因表达调节、基因编辑、干细胞诱导、免疫应答诱导等。所述剂量不应大到引起显著的不良副作用,例如不希望的交叉反应、过敏反应等。通常,所述剂量可随年龄、状况、性别、疾病类型、疾病或病症的程度、给药途径或给药方案中是否包括其它药物而变化,并且可由本领域技术人员之一确定。在任何禁忌症的情况下,个体医生可以调整剂量。剂量可以变化并且可以每天一次或多次给药,持续一天或几天。可以在文献中找到有关给定类别药品的合适剂量的指导。例如,对于给定的参数,有效量可以显示至少5%、10%、15%、20%、25%、40%、50%、60%、75%、80%、90%,或至少100%的增加或减少。功效也可以表示为增加或减少“-倍”。例如,治疗有效量与对照相比可以具有至少1.2倍、1.5倍、2倍、5倍或更多的效果。确切的剂量和配制可以取决于治疗目的,并且可以由本领域技术人员使用已知技术确定(见例如Lieberman,Pharmaceutical Dosage Forms(vols.1-3,1992);Lloyd,The Art,Science and Technology of Pharmaceutical Compounding(1999);Remington:The Science and Practice of Pharmacy,20th Edition,Gennaro,Editor(2003),and Pickar,Dosage Calculations(1999))。

[0192] 细胞穿透复合物-第一节

[0193] 根据式(I)、(II)、(III)及(IV)的实施方案,所有取代基的定义如下所列。

[0194] 进一步针对本文公开的细胞穿透复合物及其实施方案,在实施方案中,上述阳离子序列的抗衡阴离子可包括本领域已知的常见抗衡离子,例如乙酸根、三氟乙酸根、三氟甲磺酸根、氯离子、溴离子、硫酸根、磷酸根、琥珀酸根或柠檬酸根。在实施方案中,所述抗衡阴离子是乙酸根、三氟乙酸根、三氟甲磺酸根、氯离子、溴离子、硫酸根、磷酸根、琥珀酸根或柠檬酸根。此外,注意到以下第2至4部分中描述的任何细胞穿透复合物可用于第1部分中提供的组合物和方法。例如,这个部分中描述的任何核酸、阳离子两亲聚合物和阳离子两亲聚合物可以形成细胞穿透复合物的一部分,该复合物包括如本文(包括其实施方案)提供的核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[0195] 一方面,提供了一种细胞穿透复合物,其包含核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[0196] 在实施方案中,所述核糖核酸非共价结合于所述阳离子两亲聚合物。

[0197] 在实施方案中,所述病毒蛋白是呼吸道合胞病毒(RSV)蛋白、人偏肺病毒(hMPV)蛋白、3型副流感病毒(PIV3)蛋白、H1ON8流感病毒蛋白、H7N9流感病毒蛋白、巨细胞病毒(CMV)蛋白、寨卡病毒蛋白、基孔肯亚病毒(chikungunya virus)蛋白或严重急性呼吸系统综合征(SARS)相关冠状病毒(CoV)蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是呼吸道合胞病毒(RSV)蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是人偏肺病毒(hMPV)蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是3型副流感病毒(PIV3)蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白H1ON8流感病毒蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是H7N9流感病毒蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是巨细胞病毒(CMV)蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是寨卡病毒蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是基孔肯亚病毒蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是严重急性呼吸系统综合征(SARS)相关冠状病毒(CoV)蛋白。

[0198] 在实施方案中,所述病毒蛋白是SARS-CoV-1蛋白或SARS-CoV-2蛋白。在实施方案中,所述病毒蛋白是SARS-CoV-2刺突蛋白或其片段。在实施方案中,所述病毒蛋白是SARS-CoV-2刺突蛋白的可溶性受体结合域(RBD)。

[0199] 在实施方案中,所述核糖核酸包括SEQ ID NO:3所示序列。在实施方案中,所述核糖核酸是SEQ ID NO:3所示序列。

[0200] 在实施方案中,所述核糖核酸包括SARS-CoV-2刺突蛋白的部分或片段。在实施方案中,所述核糖核酸包括SEQ ID NO:4序列的部分或片段。在进一步的实施方案中,所述部分或片段的长度为至少100、200、300、400、500、600或700个核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段是SEQ ID NO:4的至少100、200、300、400、500、600或700个连续核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段长度为约100、200、300、400、500、600或700个核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段是SEQ ID NO:4的约100、200、300、400、500、600或700个连续核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段长度为约50至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段长度为约100至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段长度为约150至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段长度为约200至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段长度为约250至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中,所述部分或片段长度为约300至约900

个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约350至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约400至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约450至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约500至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约550至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约600至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约650至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约700至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约750至约900个核苷酸。在进一步的实施方案中，所述部分或片段长度为约800至约900个核苷酸。本文提供的部分或片段可包括SEQ ID NO:4的50至约900个连续核苷酸。

[0201] 在实施方案中，所述核酸佐剂是DNA佐剂。

[0202] 在实施方案中，所述核酸佐剂是toll样受体(TLR)激动剂。

[0203] 在实施方案中，所述核酸佐剂包括一或多个未甲基化的CpG寡核苷酸。

[0204] 在实施方案中，所述核酸佐剂是TLR-9激动剂。

[0205] 在实施方案中，所述核酸佐剂具有序列SEQ ID NO:1(tccatgacgttcctgacgtt)或SEQ ID NO:2(tcgaacgttcgaacgttcgaacgttcgaat)。在实施方案中，所述核酸佐剂具有序列SEQ ID NO:1。在实施方案中，所述核酸佐剂具有序列SEQ ID NO:2。

[0206] 在实施方案中，所述核酸佐剂被称作ODN 1826且具有序列SEQ ID NO:1(5’-tccatgacgttcctgacgtt-3’)。所述核酸佐剂可包括全硫代磷酸酯主链。在实施方案中，所述核酸佐剂是核酸酶抗性的。

[0207] 在实施方案中，所述核酸佐剂被称作ODN SD-101且具有序列SEQ ID NO:2(5’-tcgaacgttcgaacgttcgaacgttcgaat 3’)。所述核酸佐剂可包括全硫代磷酸酯主链。在实施方案中，所述核酸佐剂是核酸酶抗性的。

[0208] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物包括pH敏感性解聚结构域和亲脂性聚合物结构域。

[0209] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0210] R^{1A}-[L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(LP^2)_{z3}$-$(IM)_{z2}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}]$_{z5}$(I)，

[0211] 其中

[0212] R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0213] R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0214] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0215] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

[0216] IM是pH敏感性解聚结构域；

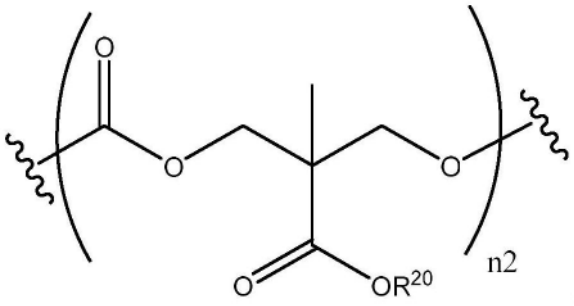
[0217] z5是1至10的整数；

[0218] z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；

[0219] z4是1至100的整数；且

[0220] z2是2至100的整数。

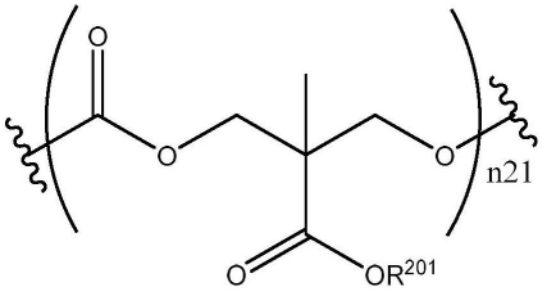
[0221] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域具有下式：

[0222] 

，

其中n2是1至100的整数；R^{20}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0223] 在实施方案中，LP^1具有下式：

[0224] 

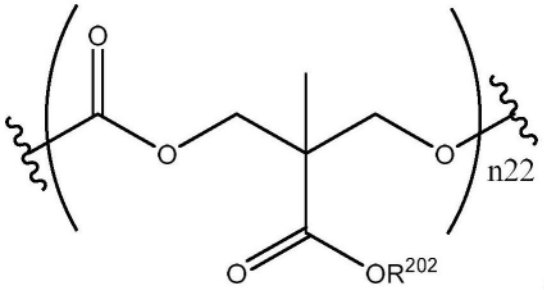
，

其中n21是1至100的整数；R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0225] 在实施方案中，n21是5且R^{201}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中，n21是6且R^{201}是未取代的C_{18}烯基。

[0226] 在实施方案中，所述未取代的C_{18}烯基是油烯基。

[0227] 在实施方案中，LP^2具有式：

[0228] 

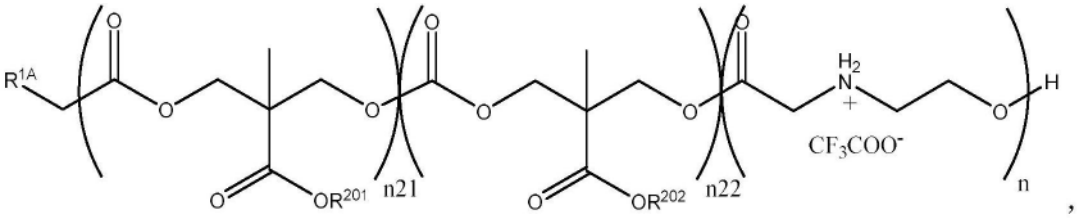
,

其中n22是1至100的整数;R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0229] 在实施方案中,n22是5且R^{202}是未取代的C_9烯基。在实施方案中,n22是6且R^{202}是未取代的C_9烯基。

[0230] 在实施方案中,所述未取代的C_9烯基是壬烯基。

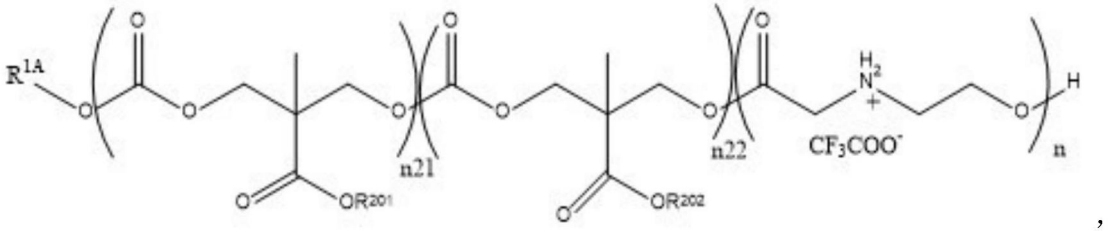
[0231] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有式:

[0232] 

,

其中n21是5,R^{201}是油烯基,n22是5,R^{202}是壬烯基,且n是7。

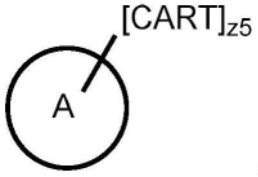
[0233] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有式:

[0234] 

,

其中n21是6,R^{201}是油烯基,n22是6,R^{202}是壬烯基,且n是9。

[0235] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有式:

[0236] 

;

[0237] 其中

[0238] 环A是取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

[0239] CART具有式:$-L^1-[(LP^1)_{z1}-(LP^2)_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^2-R^{2A}$

[0240] 其中

[0241] R^{2A}是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、-

ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-NHSO_2H、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-OCCl_3、-OCF_3、-OCBr_3、-OCI_3、-O$CHCl_2$、-O$CHBr_2$、-OCHI_2、-OCHF_2、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0242] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0243] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

[0244] IM是pH-敏感性解聚结构域；

[0245] z5是1至10的整数；

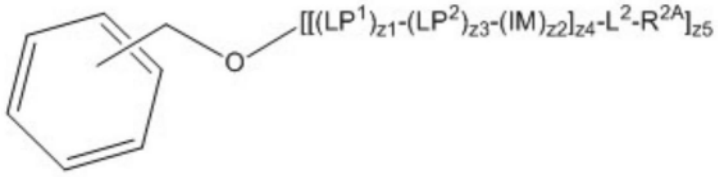
[0246] z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；

[0247] z4是1至100的整数，且

[0248] z2是2至100的整数。

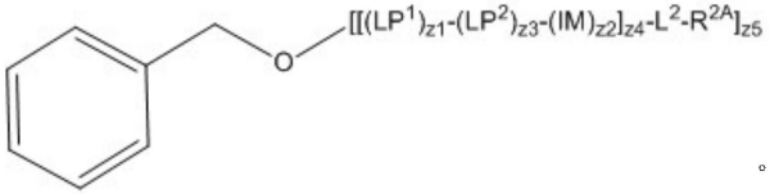
[0249] 在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基或萘基。在实施方案中，环A是取代或未取代的萘基。

[0250] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式：

[0251] 

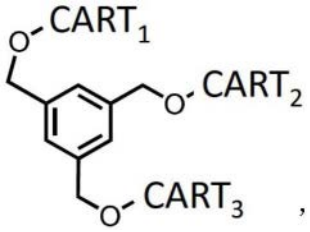
。

[0252] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式：

[0253] 

。

[0254] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式：



，

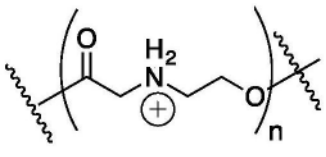
其中$CART_1$、$CART_2$和$CART_3$独立地是如本文定义的CART。

[0255] 在实施方案中，z5是1至3的整数。在实施方案中，z5是1或3。在实施方案中，z5是1。在实施方案中，z5是3。

[0256] 在实施方案中，R^{2A}是氢。

[0257] 在实施方案中，L^2是键。

[0258] 在实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域具有式：

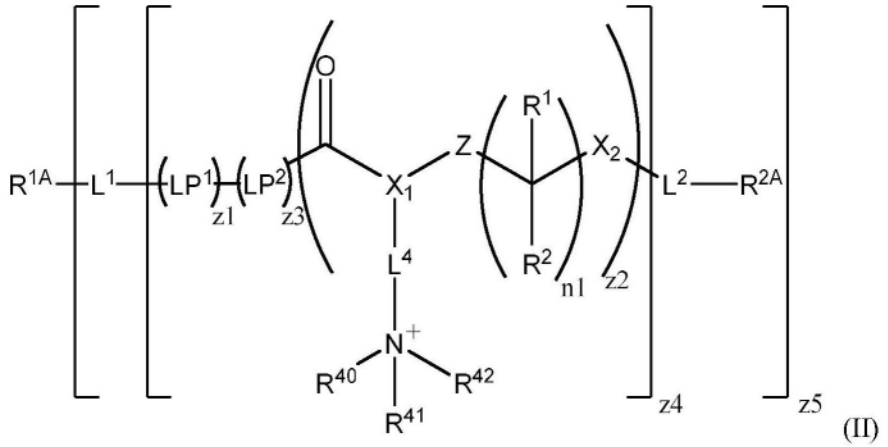


(IV),

其中n是2或更大的整数。

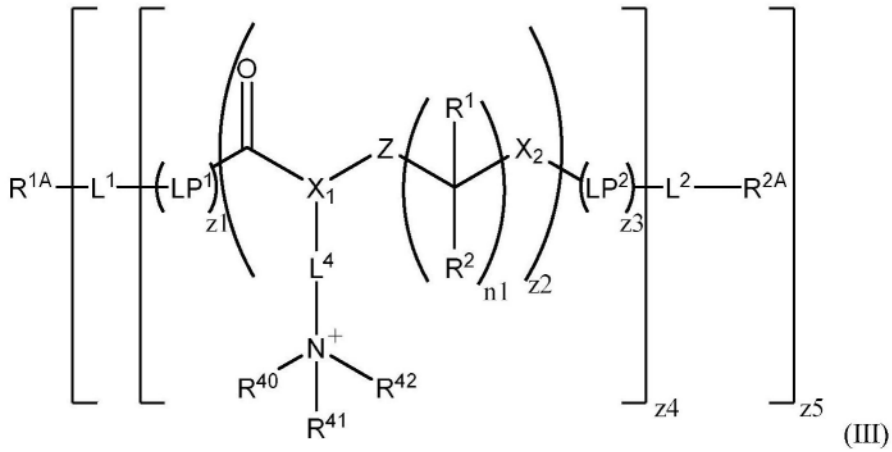
[0259] 在实施方案中，n是在2至50范围内的整数。在实施方案中，n是2至50的整数。在实施方案中，n是7。在实施方案中，n是9。

[0260] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式：



(II)

[0261] 或



(III)

[0262] 其中

[0263] R^{1A}独立地是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0264] R^{2A}独立地是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、独立地是-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、独立地是$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、-

OCH_2Br、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0265] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0266] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

[0267] X^1是键、$-C(R^5)(R^6)-$、$-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$、-O-C($R^5$)($R^6$)-、或$-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$；

[0268] X^2是-O-或-S-；

[0269] R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

[0270] L^4独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基；

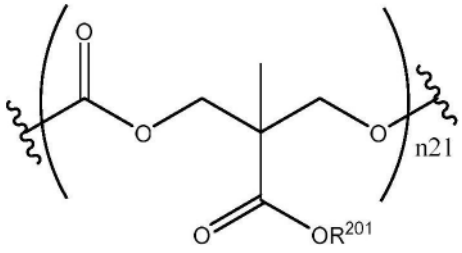
[0271] R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基；

[0272] Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$；

[0273] R^{13}是氢、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、-CN、-OH、=O、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_2NH_2$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

[0274] n1是0至50的整数；z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；z2是2至100的整数；z4是1至100的整数；且z5是1至10的整数。

[0275] 在实施方案中，LP^1具有式：

[0276] 

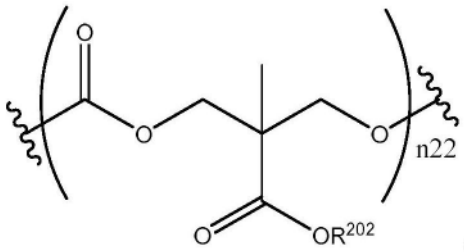
，

其中n21是1至100的整数；R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0277] 在实施方案中，n21是10-40。

[0278] 在实施方案中，R^{201}是未取代的C_{12}烷基。

[0279] 在实施方案中，LP^2具有式：

[0280] 

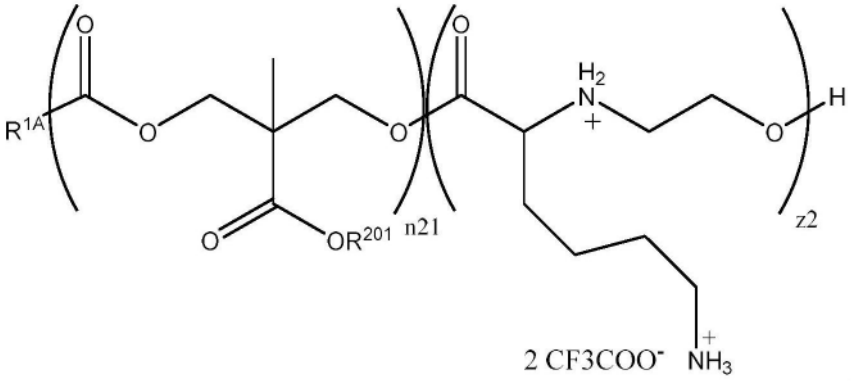
,

其中n22是1至100的整数;R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0281] 在实施方案中,n22是10-35。

[0282] 在实施方案中,R^{202}是未取代的C_{12}烯基。

[0283] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

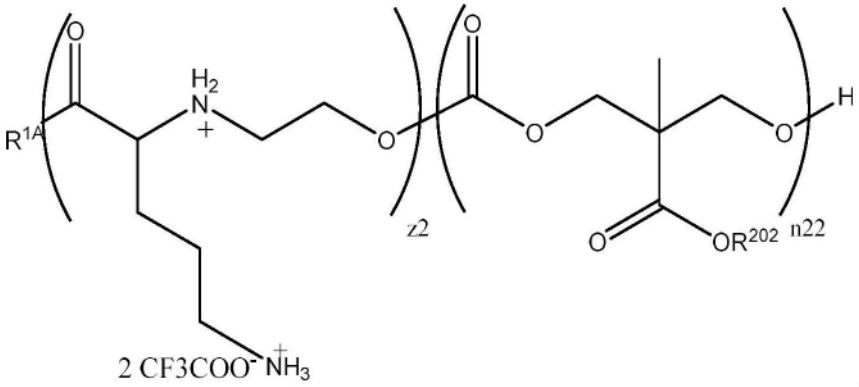
[0284] 

,

其中n21是10至20的整数;R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;且z2独立地是3至10的整数。

[0285] 在实施方案中,n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0286] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0287] 

,

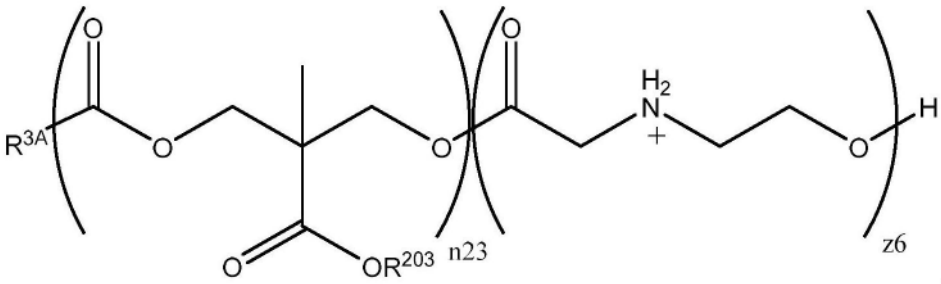
其中n22是10至35的整数;R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;且z2独立地是5至20的整数。

[0288] 在实施方案中,n22是14,R^{202}是十二烷基,且z2是7。

[0289] 在实施方案中,如本文所述,所述细胞穿透复合物进一步包括第二阳离子两亲聚

合物,其中所述第二阳离子两亲聚合物不同于所述阳离子两亲聚合物。

[0290] 在实施方案中,所述第二阳离子两亲聚合物具有式:

[0291] 

[0292] n23是1至100的整数;z6是5至15的整数;R^{3A}独立地是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;且R^{203}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0293] 在实施方案中,n23是13,z6是11,且R^{203}是十二烷基。

[0294] 在实施方案中,X_1是CH_2。

[0295] 在实施方案中,L^4独立地是取代或未取代的C_2-C_8亚烷基。在实施方案中,L^4独立地是未取代的C_2-C_8亚烷基。在实施方案中,L^4独立地是未取代的C_2亚烷基、未取代的C_3亚烷基或未取代的C_4亚烷基。在实施方案中,L^4独立地是未取代的C_3亚烷基或未取代的C_4亚烷基。在实施方案中,L^4独立地是未取代的C_2亚烷基。在实施方案中,L^4独立地是未取代的C_3亚烷基。在实施方案中,L^4独立地是未取代的C_4亚烷基.

[0296] 在实施方案中,R^{40}、R^{41}和R^{42}独立地是氢或取代的杂烷基。在实施方案中,R^{40}、R^{41}和R^{42}独立地是氢或-C(NH)NH_2。在实施方案中,R^{40}、R^{41}和R^{42}中的至少二个是氢且一个是-C(NH)NH_2。

[0297] 在实施方案中,Z是$-N^+(R^{13})(H)-$,且R^{13}是氢。

[0298] 在实施方案中,R^1和R^2独立地是氢或取代或未取代的烷基。

[0299] 在实施方案中,n1是2。

[0300] 在实施方案中,X_2是-O-。

[0301] 在实施方案中,z1或z3独立地是10至40的整数。

[0302] 在实施方案中,z2独立地是3至20的整数。

[0303] 细胞穿透复合物-第二节

[0304] 根据式(I-A)、(II-A)、(III-A)、(IV)、(IV-A)、(V-A)、(Va-A)、(Ia-A)、(VI-A)、(Ib-A)、(Ic-A)、(Id-A)、(VII-A)、(VIII-A)、(IX-A)、(X-A)、and(XI-A)的实施方案,所有取代基的定义见下文。本节所述的任何细胞穿透复合物可用于本文提供的组合物和方法。例如,本节所述的任何核酸、阳离子两亲聚合物和阳离子两亲聚合物可构成细胞穿透复合物的一部分,所述细胞穿透复合物包含如本文(包括其实施方案)提供的核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[0305] 本文提供的细胞穿透复合物可包括与阳离子两亲聚合物非共价结合的核酸，所述阳离子两亲聚合物包括pH-敏感性解聚结构域。在实施方案中，在所述阳离子两亲聚合物中也可以存在一种或多种抗衡离子(例如，阴离子)，作为正电荷的抗衡电荷。在实施方案中，所述核酸非共价结合于所述阳离子两亲聚合物。在实施方案中，所述核酸离子性结合于所述阳离子两亲聚合物。在实施方案中，所述细胞穿透复合物包括多个任选不同的核酸(例如1至10个额外的核酸，1至5个额外的核酸，2个额外的核酸或1个额外的核酸)。在实施方案中，所述核酸是RNA。在实施方案中，所述核酸是mRNA。

[0306] 在实施方案中，所述细胞穿透复合物中存在的阳离子两亲聚合物分子中阳离子的数目与核酸分子上阴离子的数目的比率可以是约0.5:1、约1:1、约5:1、约10:1、约20:1、约30:1、约40:1、约50:1、约60:1、约70:1、约80:1、约90:1、约10^2:1、约10^3:1、约10^4:1、约10^5:1、约10^6:1、约10^7:1、约10^8:1、约10^9:1、约10^{10}:1或更大值或前述值的任何中间范围。在其它实施方案中，所述细胞穿透复合物中存在的核酸分子上阴离子的数目与阳离子两亲聚合物分子上阳离子的数目的比率可以是约0.5:1、约1:1、约5:1、约10:1、约20:1、约30:1、约40:1、约50:1、约60:1、约70:1、约80:1、约90:1、约10:1、约10^2:1、约10^3:1、约10^4:1、约10^5:1、约10^6:1、约10^7:1、约10^8:1、约10^9:1、约10^{10}:1或更大值或前述值的任何中间范围。在一些优选的实施方案中，这个比率是大约所述两亲聚合物分子上10个阳离子电荷与所述核酸上1个阴离子电荷的比率。其它实施方案可以是所述两亲聚合物分子上5个阳离子电荷与所述核酸上1个阴离子电荷的比率或所述两亲聚合物分子上20个阳离子电荷与所述核酸上1个阴离子电荷的比率。

[0307] 在实施方案中，细胞穿透复合物中存在的核酸分子的数目与阳离子两亲聚合物分子的数目的比率可以是约0.5:1、约1:1、约10:1、约10^2:1、约10^3:1、约10^4:1、约10^5:1、约10^6:1、约10^7:1、约10^8:1、约10^9:1、约10^{10}:1或更大值或前述值的任何中间范围。在其它实施方案中，细胞穿透复合物中存在的阳离子两亲聚合物分子的数目与核酸分子的数目的比率可以是约0.5:1、约1:1、约10:1、约10^2:1、约10^3:1、约10^4:1、约10^5:1、约10^6:1、约10^7:1、约10^8:1、约10^9:1、约10^{10}:1或更大值或前述值的任何中间范围。

[0308] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物可以是阳离子电荷改变可释放转运蛋白(CART)。在实施方案中，所述CART可包括含有一系列阳离子序列的低聚链，其经历pH-敏感性改变，电荷从阳离子变为中性或者从阳离子变为阴离子。

[0309] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有pH-敏感性解聚结构域和亲脂性聚合物结构域。在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域可促进细胞穿透、细胞递送和/或转运通过细胞膜。在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域可以是在水中基本上不溶的(例如，在水中溶解度低于约0.0005mg/mL至约10mg/mL)。在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域可促进所述阳离子两亲聚合物聚集为纳米颗粒。在实施方案中，这种纳米颗粒的平均最长直径为约50nm至约500nm。在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域可促进所述阳离子两亲聚合物剩余部分的内体融合，随后进入内体并解聚。在实施方案中，本公开的细胞穿透复合物保护荷载核酸(nucleic acid cargo)免于降解。术语“荷载核酸”等在其通常和习惯含义中是指希望通过本文及其实施方案所述的细胞穿透复合物转运至细胞中的物质。

[0310] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式(I-A)：H-L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(IM)_{z2}$-$(LP^2)_{z3}$]$_{z4}$-L^2-H(I-A)，其中L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC

(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基;LP^1和LP^2独立地是键或亲脂性聚合物结构域,其中LP^1或LP^2中的至少一个是亲脂性聚合物结构域;IM是pH-敏感性解聚结构域;z1、z3和z4独立地是0至100的整数,其中z1或z3中的至少一个不是0;且z2是2至100的整数。

[0311] 在实施方案中,L^1是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基。在实施方案中,L^1是取代或未取代的亚甲基。在实施方案中,L^1是取代或未取代的C_1-C_6亚烷基,或取代或未取代的2至6元亚杂烷基。在实施方案中,L^1是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基,或取代或未取代的2至3元亚杂烷基。

[0312] 在实施方案中,L^1是取代或未取代的亚烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的亚杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的亚环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的亚杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的亚芳基(例如,C_6-C_{10}或亚苯基)、或取代或未取代的亚杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,L^1是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂芳基。在实施方案中,L^1是未取代的亚烷基、未取代的亚杂烷基、未取代的亚环烷基、未取代的亚杂环烷基、未取代的亚芳基、或未取代的亚杂芳基。在实施方案中,L^1是未取代的亚烷基(例如,C_1-C_6亚烷基)。在实施方案中,L^1是键。

[0313] 在实施方案中,L^2是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基。在实施方案中,L^2是取代或未取代的亚甲基。在实施方案中,L^2是取代或未取代的C_1-C_6亚烷基,或取代或未取代的2至6元亚杂烷基。在实施方案中,L^2是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基,或取代或未取代的2至3元亚杂烷基。

[0314] 在实施方案中,L^2是取代或未取代的亚烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的亚杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的亚环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的亚杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的亚芳基(例如,C_6-C_{10}或亚苯基)、或取代或未取代的亚杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,L^2是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂芳基。在实施方案中,L^2是未取代的亚烷基、未取代的亚杂烷基、未取代的亚环烷基、未取代的亚杂环烷基、未

取代的亚芳基、或未取代的亚杂芳基。在实施方案中，L^2是未取代的亚烷基(例如，C_1-C_6亚烷基)。在实施方案中，L^2是键。

[0315] 在实施方案中，z2是2至90(例如5至90、10至90或20至90)、2至80(例如5至80、10至80或20至80)、2至70(例如5至70、10至70或20至70)、2至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25的整数。在实施方案中，z1、z3和z4独立地是0至90(例如5至90、10至90或20至90)、0至80(例如5至80、10至80或20至80)、0至70(例如5至70、10至70或20至70)、0至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25的整数。在实施方案中，z1、z3和z4独立地是2至90(例如5至90、10至90或20至90)、2至80(例如5至80、10至80或20至80)、2至70(例如5至70、10至70或20至70)、2至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25的整数。

[0316] 在所述细胞穿透复合物的实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域包括第一亲核部分和第一亲电部分，其中所述第一亲核部分与所述第一亲电部分在一定pH范围内反应，且在该pH范围外基本不与亲电部分反应(例如，约pH 1-5、约pH 5-7或约pH 7-10)。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是：pH 1-3、pH 2-4、pH 3-5、pH 4-6、pH 5-7、pH 6-8、pH 7-9或pH 8-10。亲核部分是按照其在化学中的普通含义使用的，指的是能捐献电子的基团(例如，官能团)。

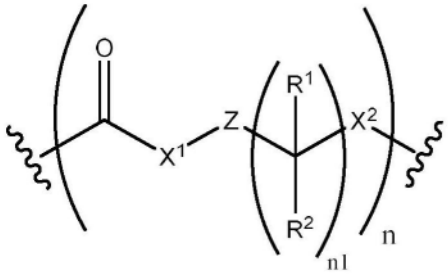
[0317] 在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 1-3。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 2-4。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 3-5。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 4-6。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 5-7。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 6-8。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 7-9。在实施方案中，所述第一亲核部分与所述第一亲电部分最多反应的pH范围是pH 8-10。在实施方案中，所述pH是1。在实施方案中，所述pH是2。在实施方案中，所述pH是3。在实施方案中，所述pH是4。在实施方案中，所述pH是5。在实施方案中，所述pH是6。在实施方案中，所述pH是7。在实施方案中，所述pH是8。在实施方案中，所述pH是9。在实施方案中，所述pH是10。在实施方案中，所述pH是约1。在实施方案中，所述pH是约2。在实施方案中，所述pH是约3。在实施方案中，所述pH是约4。在实施方案中，所述pH是约5。在实施方案中，所述pH是约6。在实施方案中，所述pH是约7。在实施方案中，所述pH是约8。在实施方案中，所述pH是约9。在实施方案中，所述pH是约10。

[0318] 在实施方案中，所述第一亲核部分在低pH(例如，pH为约1至约5)是基本上质子化的。在实施方案中，所述第一亲核部分在pH 5-7范围是基本上质子化的。在实施方案中，所述第一亲核部分是阳离子的。在实施方案中，所述第一亲核部分包括阳离子氮(例如阳离子胺)。

[0319] 在实施方案中，所述第一亲核部分可以连接于pH-不稳定的保护基。术语“pH-不稳定的保护基”等在其通常和习惯含义中是指能保护与其连接的另一功能团的化学部分，作为在特定pH条件下的保护基(例如，降低pH)，所述保护基可被裂解或另外失活。在一个实施方案中，所述pH-不稳定的保护基是-CO_2-t-Bu，这是在酸性条件下(例如，pH低于7)被脱除的基团。另外的亲核保护基也可以包括通过光、热、亲核体和碱等裂解的那些保护基。

[0320] 在上文公开的细胞穿透复合物的实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域具有以

下式(II-A)的结构：

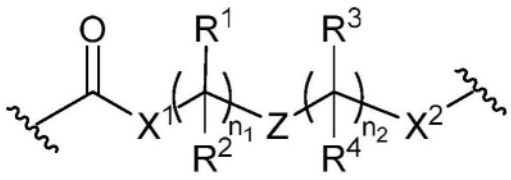
[0321] 

(II-A)，

其中n是2或更大的整数；n1是0至50的整数；Z是亲核部分；X^1是键、-C(R^5)(R^6)-、-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-、-O-C(R^5)(R^6)-、或-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-；X^2是-O-或-S-，且R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，n是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20或2至10范围内的整数。在实施方案中，n1是在0至25、0至10、0至5范围内的整数。在实施方案中，n1是0、1、2、3、4或5。在实施方案中，n1是1或2。

[0322] 在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7和R^8独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8是氢。

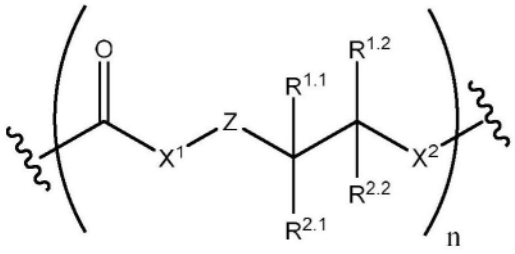
[0323] 在上文及实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域可具有下式的结构：

[0324] 

，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、X^1、Z和X^2如本文所定义，且n1和n2是大于1的整数。

[0325] 在上文及实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(III-A)的结构：

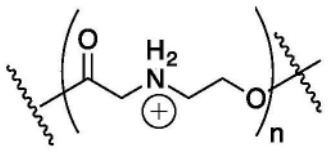
[0326] 

(III-A),

其中n是2或更大的整数;Z是亲核部分;X^1是键、-C(R^5)(R^6)-、-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-、-O-C(R^5)(R^6)-、或-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-;X^2是-O-或-S-,且$R^{1.1}$、$R^{1.2}$、$R^{2.1}$、$R^{2.2}$、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中,n是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至2或2至10范围内的整数。在实施方案中,n是在2至100或2至50范围内的整数。

[0327] 在实施方案中,$R^{1.1}$、$R^{1.2}$、$R^{2.1}$、$R^{2.2}$、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,$R^{1.1}$、$R^{1.2}$、$R^{2.1}$、$R^{2.2}$、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,$R^{1.1}$、$R^{1.2}$、$R^{2.1}$、$R^{2.2}$、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,$R^{1.1}$、$R^{1.2}$、$R^{2.1}$、$R^{2.2}$、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,$R^{1.1}$、$R^{1.2}$、$R^{2.1}$、$R^{2.2}$、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8是氢。

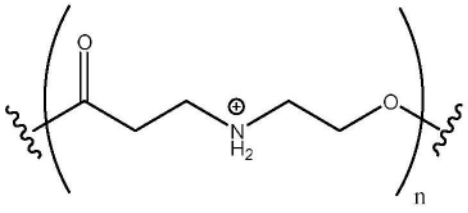
[0328] 在本文及实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(IV)的结构:

[0329] 

(IV),

其中n是2或更大的整数。在实施方案中,n是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围内的整数。在实施方案中,n是在2至100或2至50范围内的整数。在实施方案中,n是2至15。

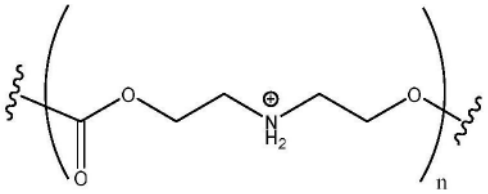
[0330] 在本文及实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(IV-A)的结构:



(IV-A),

其中n是2或更大的整数。在实施方案中,n是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围的整数。在实施方案中,n是在2至100或2至50范围的整数。

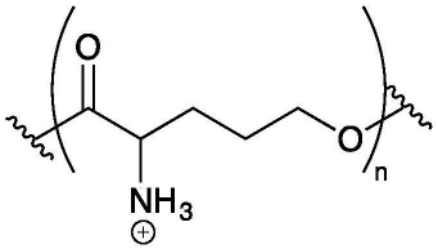
[0331] 在本文及其实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(V-A)结构:

[0332] 

(V-A),

其中n是2或更大的整数。在实施方案中,n是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围的整数。在实施方案中,n是在2至100或2至50范围的整数。

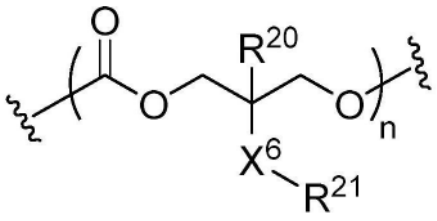
[0333] 在本文及其实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(Va-A)结构:

[0334] 

,

其中n是2或更大的整数。在实施方案中,n是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围的整数。在实施方案中,n是在2至100或2至50范围的整数。

[0335] 在实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有以下结构:

[0336] 

(Ia-A),

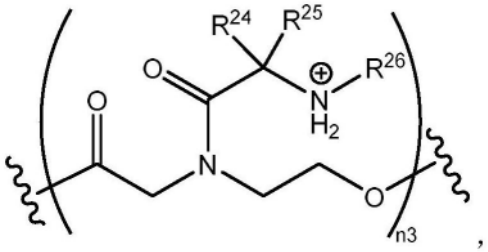
其中X^6是-O-、-NH-、-CONH-、-COO-、-OCO-、-NHCO-,R^{20}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基,且R^{21}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{20}是低聚乙二醇部分。

[0337] 在实施方案中,R^{20}是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6

元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{20}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{20}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{20}是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^{20}是氢。

[0338] 在实施方案中,R^{21}是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{21}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{21}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{21}是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^{21}是氢。

[0339] 在本文及其实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有以下结构:

[0340] 

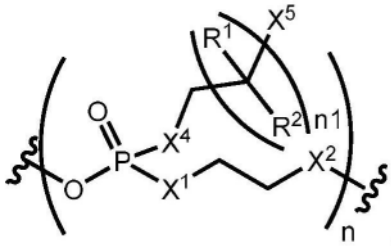
,

其中R^{24}、R^{25}和R^{26}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基,且n3是0至50的整数。

[0341] 在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独

立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,$R^{1.1}$、R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是氢。

[0342] 在本文及其实施方案公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(VI-A)结构:

[0343] 

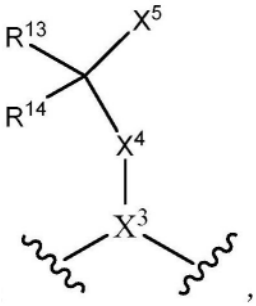
(VI-A),

其中n是2或更大的整数;n1是0至50的整数;X^1是键、-O-、-NR^5-、-C(R^5)(R^6)-或-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-;X^2是键、-O-、-C(R^9)(R^{10})-或-C(R^9)(R^{10})-C(R^{11})(R^{12})-;X^4是键、-NR^{16}-、-O-、-C(R^{16})(R^{17})-或-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-;X^5是亲核部分;且R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0344] 在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}、R^{11}、R^{12}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}是氢。

[0345] 在实施方案中，Z是亲核部分。在实施方案中，Z是-S-、-OR^{13}-、-S^+R^{13}-、-NR^{13}-、或-$N^+(R^{13})(H)$-、其中R^{13}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，Z是-S-。在实施方案中，Z是-S^+R^{13}-。在实施方案中，Z是-NR^{13}-。在实施方案中，Z是-$N^+(R^{13})(H)$-。在实施方案中，Z是-S^+H-。在实施方案中，Z是-NH-。在实施方案中，Z是-N^+H_2-。在实施方案中，Z是-OH-。

[0346] 在实施方案中，R^{13}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{13}独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{13}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{13}独立地是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在实施方案中，R^{13}是氢。

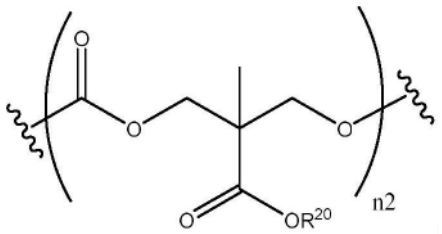
[0347] 在实施方案中，Z是  其中X^3是-$C(R^{15})$-或-N-；X^4是键、-C(O)-、-P(O)$(OR^{16})_2$-、-S(O)$(OR^{17})_2$-、-$C(R^{16})(R^{17})$-或-$C(R^{16})(R^{17})$-$C(R^{18})(R^{19})$-；X^5是亲核部分；且R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，X^3是-CH。

[0348] 在实施方案中，R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代

基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。

[0349] 在实施方案中,X^5是-N^+(R^{13})(H),其中R^{13}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0350] 进一步对于本文及其实施方案公开的细胞穿透复合物,在实施方案中,所述亲脂性聚合物结构域具有下式:

[0351] 

其中、n2是1至100的整数;R^{20}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

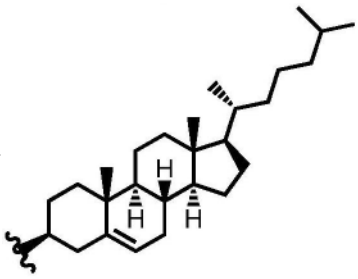
[0352] 在实施方案中,R^{20}是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{20}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{20}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{20}是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。

[0353] 在实施方案中,R^{20}是未取代的C_1-C_{30}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_1-C_{20}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_8-C_{30}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_8-C_{20}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_9-C_{20}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_9-C_{18}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_{18}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_{17}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_{16}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_{15}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_{14}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_{13}烷基。在实施方案中,R^{20}是未取代的C_{12}烷基。在实施方

案中，R^{20}是未取代的C_{11}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{10}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_7烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_6烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_5烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_4烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_3烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_2烷基。

[0354] 在实施方案中，R^{20}是未取代的C_1-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_1-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9-C_{18}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{17}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{16}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{15}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{14}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{13}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{12}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{11}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{10}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_7烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_6烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_5烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_4烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_3烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_2烯基。

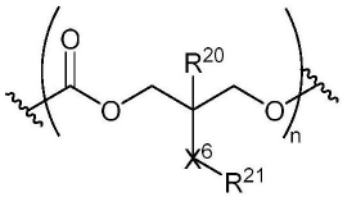
[0355] 在实施方案中，R^{20}是硬脂酰基部分(例如，未取代的C_{18}烷基)。在实施方案中，R^{20}是油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{20}是亚油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{20}是十二烷基部分(例如，未取代的C_{12}烷基)。在实施方案中，R^{20}是壬烯基部分(例如，未取代的C_9烯基)。在实施方案中，R^{20}是



。

[0356] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域是下式(Ia-A)的化合物：

[0357]



(Ia-A)，

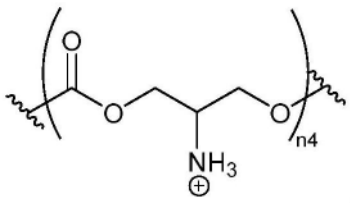
其中X^6可以是-O-、-NH-、-CO_2-、-CONH-、-O_2C-、或-NHCO-，R^{20}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基，R^{21}是氢、取代或未取代的烷基，及n是如本文所定义。在实施方案中，R^{20}是低聚乙二醇部分。

[0358] 在实施方案中，R^{20}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取

代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{20}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{20}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{20}是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。

[0359] 在实施方案中,R^{21}是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{21}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{21}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{21}是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基).

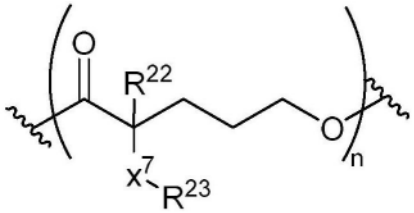
[0360] 在本文及其实施方案中公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有以下结构:

[0361] 

,

其中n4是0至50的整数。在实施方案中,n4是0至10。在实施方案中,n4是1至15的整数。

[0362] 在本文及其实施方案中公开的细胞穿透复合物的实施方案中,所述亲脂性聚合物具有以下结构:

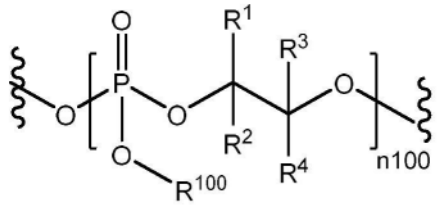
[0363] 

其中X^7是-O-、-NH-、-CO_2-、-CONH-、-O_2C-、或-NHCO-;R^{22}是氢、或取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基,且R^{23}是取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或

未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{22}是低聚乙二醇部分。

[0364] 在实施方案中，R^{22}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{22}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{22}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{22}是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。

[0365] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域可以是具有下式(Ib-A)的化合物：

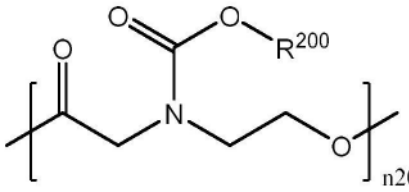
[0366] 

(Ib-A)，

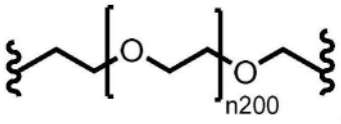
其中R^{100}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。R^1、R^2、R^3、R^4是氢、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基，且n100是2或更大的整数，如本文所定义。

[0367] 在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4是氢。

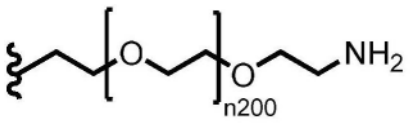
[0368] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域可以是具有下式(Ic-A)的化合物：

[0369] 

(Ic-A)，

其中R^{200}是取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基，n200是2或更大的整数。在实施方案中，R^{200}是低聚乙二醇部分。在实施方案中，R^{200}是端氨基低聚乙二醇部分。术语“低聚乙二醇部分”是指 

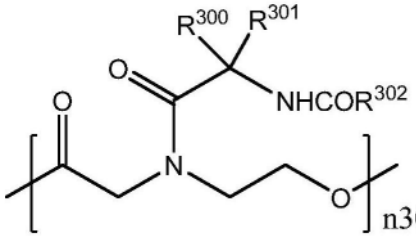
，“端氨基低聚乙二醇部分”是指



，其中n200是2或更大的整数。

[0370] 在实施方案中，R^{200}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{200}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{200}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{200}是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在实施方案中，R^{200}是氢。

[0371] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域可以是具有下式(Id-A)的化合物：

[0372] 

(Id-A)，

其中R是取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基，R^{300}和R^{301}独立地是氢或取代或未取代的烷基，且n300如本文所定义。在实施方案中，R^{302}是低聚乙二醇部分。在实施方案中，R是端氨基低聚乙二醇部分。在实施方案中，R^{300}、R^{301}、和R^{302}是氢。

[0373] 在实施方案中，R^{300}、R^{301}和R^{302}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、

C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{300}、R^{301}、和R^{302}独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{300}、R^{301}、和R^{302}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{300}、R^{301}、和R^{302}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。

[0374] 所述阳离子两亲聚合物可具有pH-敏感性解聚结构域。在一些实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有pH-敏感性解聚结构域和亲脂性聚合物结构域。在一些实施方案中,所述细胞穿透复合物具有下式(VII-A)的阳离子两亲聚合物:

[0375] R^{1A}-[L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(IM)_{z2}$-$(LP^2)_{z3}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}]$_{z5}$

[0376] 其中

[0377] R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

[0378] R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

[0379] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基;

[0380] LP^1和LP^2独立地是键或亲脂性聚合物结构域,其中LP^1或LP^2中的至少一个是亲脂性聚合物结构域;

[0381] IM是pH-敏感性解聚结构域;

[0382] z5是1至10的整数;

[0383] z1、z3和z4独立地是0至100的整数,其中z1或z3中的至少一个不是0;且z2是2至100的整数。

[0384] 在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基，或取代或未取代的杂芳基。

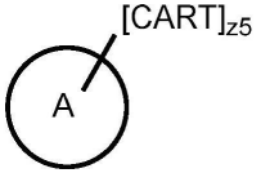
[0385] 在实施方案中，R^{1A}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{1A}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{1A}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。

[0386] 在实施方案中，R^{1A}是氢、取代或未取代的C_1-C_6烷基、取代或未取代的2至6元杂烷基、取代或未取代的C_3-C_6环烷基、取代或未取代的3至6元杂环烷基、取代或未取代的苯基、或取代或未取代的5至6元杂芳基。

[0387] 在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8烷基，C_1-C_6烷基，或C_1-C_4烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的烷基(例如，C_1-C_8烷基，C_1-C_6烷基，或C_1-C_4烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的烷基(例如，C_1-C_8烷基，C_1-C_6烷基，或C_1-C_4烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基，2至6元杂烷基，或2至4元杂烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基，2至6元杂烷基，或2至4元杂烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基，2至6元杂烷基，或2至4元杂烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8环烷基，C_3-C_6环烷基，或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的环烷基(例如，C_3-C_8环烷基，C_3-C_6环烷基，或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的环烷基(例如，C_3-C_8环烷基，C_3-C_6环烷基，或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基，3至6元杂环烷基，或5至6元杂环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基，3至6元杂环烷基，或5至6元杂环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基，3至6元杂环烷基，或5至6元杂环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}芳基，C_{10}芳基，或苯基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的芳基(例如，C_6-C_{10}芳基，C_{10}芳基，或苯基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}芳基，C_{10}芳基，或苯基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元杂芳基，5至9元杂芳基，或5至6元杂芳基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的杂芳基(例如，5至10元杂芳基，5至9元杂芳基，或5至6元杂芳基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的杂芳基(例如，5至10元杂芳基，5至9元杂芳基，或5至6元杂芳基)。

[0388] 在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的苯基。在一些其它实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的苯基或萘基。

[0389] 在一些实施方案中,所述细胞穿透复合物可具有下式(VIII-A)的阳离子两亲聚合物:

[0390] 

;

[0391] 其中

[0392] 环A是取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

[0393] CART可具有式$-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^{2A}$,

[0394] 其中

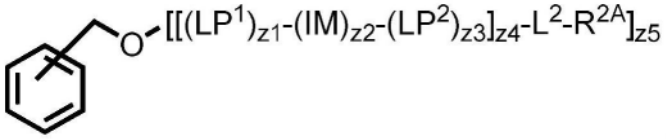
[0395] R^{2A}是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基;LP^1和LP^2独立地是键或亲脂性聚合物结构域,其中LP^1或LP^2中的至少一个是亲脂性聚合物结构域;IM是pH-敏感性解聚结构域;z5是1至10的整数;z1、z3和z4独立地是0至100的整数,其中z1或z3中的至少一个不是0;并且z2是2至100的整数。

[0396] 在一些实施方案中,在上式(VIII-A)中,环A是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中,环A是取代或未取代的苯基。在一些其它实施方案中,环A是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中,环A是取代或未取代的苯基或萘基。

[0397] 在实施方案中,环A是未取代的芳基(即除了CART部分之外未取代的)。在实施方案中,环A是未取代的苯基(即除了CART部分之外未取代的)。在实施方案中,环A是未取代的苯基或萘基(即除了CART部分之外未取代的)。在实施方案中,环A是取代的芳基(即除了CART部分之外取代的)。在实施方案中,环A是取代的苯基(即除了CART部分之外取代的)。在实施方案中,环A是取代的苯基或萘基(即除了CART部分之外取代的).

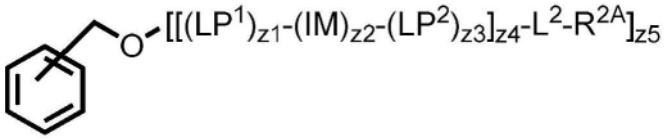
[0398] 在实施方案中,所述细胞穿透聚合物具有可检测剂(例如荧光团)。

[0399] 在实施方案中,R^{1A}是用甲氧基接头取代的芳基。在实施方案中,R^{1A}是用接头(例如,$-CH_2-O-$)取代的芳基。在一个非限制性实例中,其中R^{1A}是用甲氧基接头取代的芳基,其具有下式:

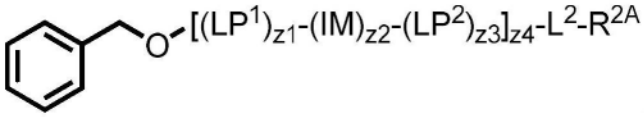
[0400] 

。

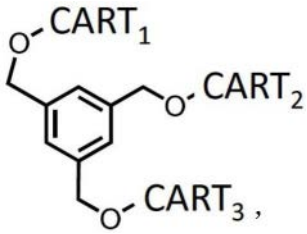
[0401] 在一些实施方案中,阳离子两亲聚合物具有式(IX-A):

[0402] 

[0403] 在一些实施方案中,阳离子两亲聚合物具有式(X-A):

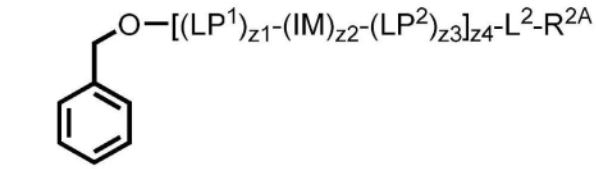
[0404] 

[0405] 在一些实施方案中,阳离子两亲聚合物可具有式(XI-A):

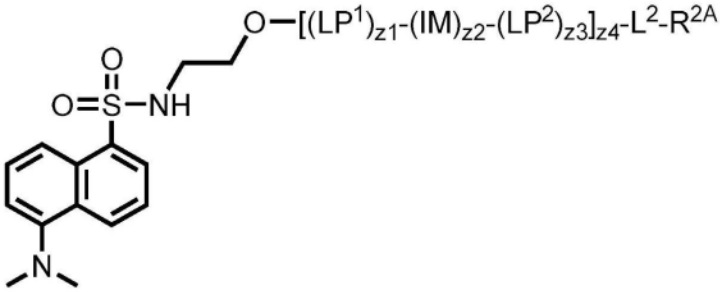
[0406] 

[0407] 其中$CART_1$、$CART_2$和$CART_3$独立地是如式(VIII-A)中所定义的CART部分(例如,$-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^{2A}$)。在实施方案中,每个CART部分任选是不同的。

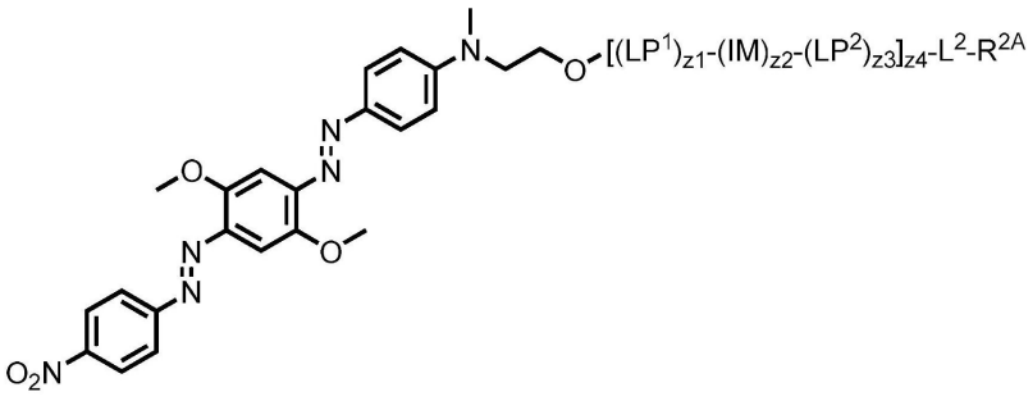
[0408] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:



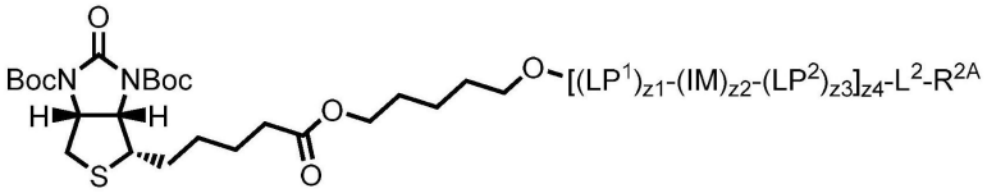
,

[0409] 

,

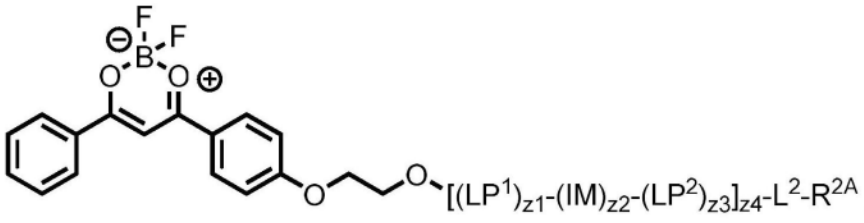


,



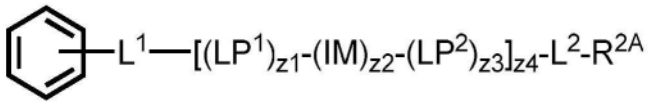
，或

[0410]



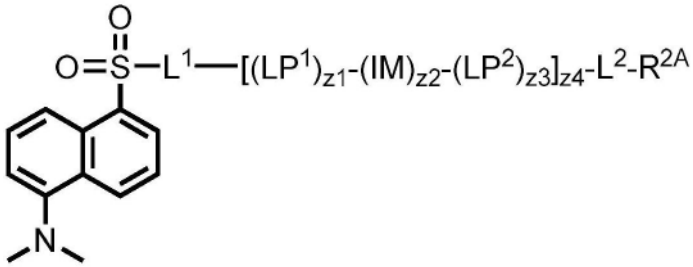
。

[0411] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式



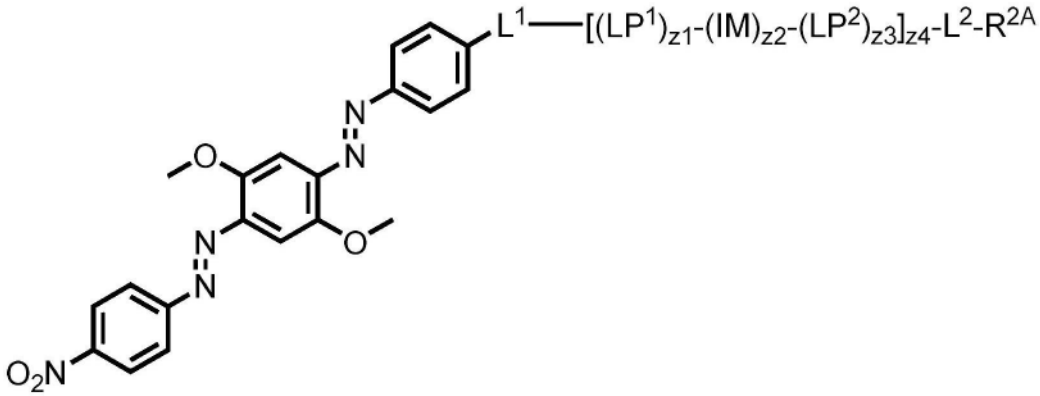
。

在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式



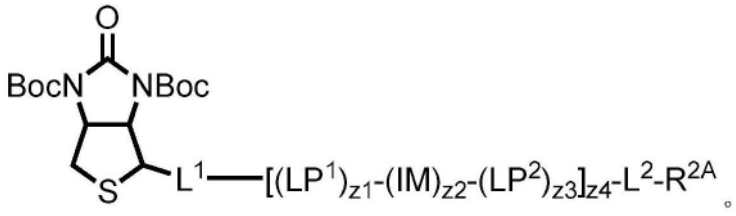
。

在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式



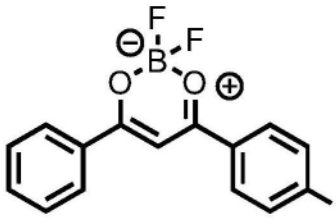
。

在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式



。

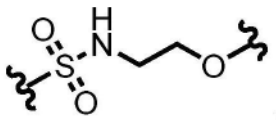
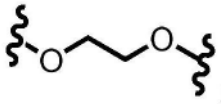
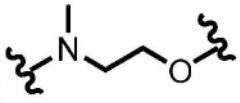
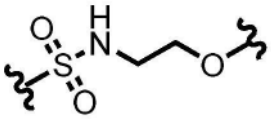
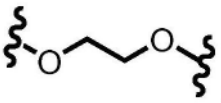
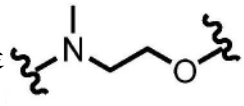
在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式



L^1—[$(LP^1)_{z1}$-$(IM)_{z2}$-$(LP^2)_{z3}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}。

[0412] 在实施方案中，环A是通过接头(例如，键、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基)用可检测剂取代的。

[0413] 在一些实施方案中，所述细胞穿透复合物具有任何前述式的阳离子两亲聚合物，其中L^1是-CH_2-O-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。在实施方案中，L^1是-CH_2-O-。

[0414] 在一些实施方案中，所述阳离子两亲聚合物可具有任何前述式，其中L^1是-CH_2-O-、  、  或  。在实施方案中，L^1是-CH_2-O-。在实施方案中，L^1是  。在实施方案中，L^1是  。在实施方案中，L^1是  。

[0415] 在一些实施方案中，阳离子两亲聚合物可以具有任何前述式，其中z1、z3和z4可以独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0。在一些实施方案中，z1、z3和z4可以独立地是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至2或2至10范围内的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0。在实施方案中，z1、z3和z4可以独立地是在2至100或2至50范围内的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0。

[0416] 在实施方案中，z1是0。在实施方案中，z1是1。在实施方案中，z1是2。在实施方案中，z1是3。在实施方案中，z1是4。在实施方案中，z1是5。在实施方案中，z1是6。在实施方案中，z1是7。在实施方案中，z1是8。在实施方案中，z1是9。在实施方案中，z1是10。在实施方案中，z1是11。在实施方案中，z1是12。在实施方案中，z1是13。在实施方案中，z1是14。在实施方案中，z1是15。在实施方案中，z1是16。在实施方案中，z1是17。在实施方案中，z1是18。在实施方案中，z1是19。在实施方案中，z1是20。在实施方案中，z1是21。在实施方案中，z1是22。在实施方案中，z1是23。在实施方案中，z1是24。在实施方案中，z1是25。在实施方案中，z1是26。在实施方案中，z1是27。在实施方案中，z1是28。在实施方案中，z1是29。在实施方案中，z1是30。在实施方案中，z1是31。在实施方案中，z1是32。在实施方案中，z1是33。在实施方案中，z1是34。在实施方案中，z1是35。在实施方案中，z1是36。在实施方案中，z1是37。在实施方案中，z1是38。在实施方案中，z1是39。在实施方案中，z1是40。在实施方案中，z1是41。在实施方案中，z1是42。在实施方案中，z1是43。在实施方案中，z1是44。在实施方案中，

z1是45。在实施方案中，z1是46。在实施方案中，z1是47。在实施方案中，z1是48。在实施方案中，z1是49。在实施方案中，z1是50。在实施方案中，z1是51。在实施方案中，z1是52。在实施方案中，z1是53。在实施方案中，z1是54。在实施方案中，z1是55。在实施方案中，z1是56。在实施方案中，z1是57。在实施方案中，z1是58。在实施方案中，z1是59。在实施方案中，z1是60。在实施方案中，z1是61。在实施方案中，z1是62。在实施方案中，z1是63。在实施方案中，z1是64。在实施方案中，z1是65。在实施方案中，z1是66。在实施方案中，z1是67。在实施方案中，z1是68。在实施方案中，z1是69。在实施方案中，z1是70。在实施方案中，z1是71。在实施方案中，z1是72。在实施方案中，z1是73。在实施方案中，z1是74。在实施方案中，z1是75。在实施方案中，z1是76。在实施方案中，z1是77。在实施方案中，z1是78。在实施方案中，z1是79。在实施方案中，z1是80。在实施方案中，z1是81。在实施方案中，z1是82。在实施方案中，z1是83。在实施方案中，z1是84。在实施方案中，z1是85。在实施方案中，z1是86。在实施方案中，z1是87。在实施方案中，z1是88。在实施方案中，z1是89。在实施方案中，z1是90。在实施方案中，z1是91。在实施方案中，z1是92。在实施方案中，z1是93。在实施方案中，z1是94。在实施方案中，z1是95。在实施方案中，z1是96。在实施方案中，z1是97。在实施方案中，z1是98。在实施方案中，z1是99。在实施方案中，z1是100。

[0417] 在实施方案中，z3是0。在实施方案中，z3是1。在实施方案中，z3是2。在实施方案中，z3是3。在实施方案中，z3是4。在实施方案中，z3是5。在实施方案中，z3是6。在实施方案中，z3是7。在实施方案中，z3是8。在实施方案中，z3是9。在实施方案中，z3是10。在实施方案中，z3是11。在实施方案中，z3是12。在实施方案中，z3是13。在实施方案中，z3是14。在实施方案中，z3是15。在实施方案中，z3是16。在实施方案中，z3是17。在实施方案中，z3是18。在实施方案中，z3是19。在实施方案中，z3是20。在实施方案中，z3是21。在实施方案中，z3是22。在实施方案中，z3是23。在实施方案中，z3是24。在实施方案中，z3是25。在实施方案中，z3是26。在实施方案中，z3是27。在实施方案中，z3是28。在实施方案中，z3是29。在实施方案中，z3是30。在实施方案中，z3是31。在实施方案中，z3是32。在实施方案中，z3是33。在实施方案中，z3是34。在实施方案中，z3是35。在实施方案中，z3是36。在实施方案中，z3是37。在实施方案中，z3是38。在实施方案中，z3是39。在实施方案中，z3是40。在实施方案中，z3是41。在实施方案中，z3是42。在实施方案中，z3是43。在实施方案中，z3是44。在实施方案中，z3是45。在实施方案中，z3是46。在实施方案中，z3是47。在实施方案中，z3是48。在实施方案中，z3是49。在实施方案中，z3是50。在实施方案中，z3是51。在实施方案中，z3是52。在实施方案中，z3是53。在实施方案中，z3是54。在实施方案中，z3是55。在实施方案中，z3是56。在实施方案中，z3是57。在实施方案中，z3是58。在实施方案中，z3是59。在实施方案中，z3是60。在实施方案中，z3是61。在实施方案中，z3是62。在实施方案中，z3是63。在实施方案中，z3是64。在实施方案中，z3是65。在实施方案中，z3是66。在实施方案中，z3是67。在实施方案中，z3是68。在实施方案中，z3是69。在实施方案中，z3是70。在实施方案中，z3是71。在实施方案中，z3是72。在实施方案中，z3是73。在实施方案中，z3是74。在实施方案中，z3是75。在实施方案中，z3是76。在实施方案中，z3是77。在实施方案中，z3是78。在实施方案中，z3是79。在实施方案中，z3是80。在实施方案中，z3是81。在实施方案中，z3是82。在实施方案中，z3是83。在实施方案中，z3是84。在实施方案中，z3是85。在实施方案中，z3是86。在实施方案中，z3是87。在实施方案中，z3是88。在实施方案中，z3是89。在实施方案中，z3是90。在实施

方案中，z3是91。在实施方案中，z3是92。在实施方案中，z3是93。在实施方案中，z3是94。在实施方案中，z3是95。在实施方案中，z3是96。在实施方案中，z3是97。在实施方案中，z3是98。在实施方案中，z3是99。在实施方案中，z3是100。

[0418] 在实施方案中，z4是0。在实施方案中，z4是1。在实施方案中，z4是2。在实施方案中，z4是3。在实施方案中，z4是4。在实施方案中，z4是5。在实施方案中，z4是6。在实施方案中，z4是7。在实施方案中，z4是8。在实施方案中，z4是9。在实施方案中，z4是10。在实施方案中，z4是11。在实施方案中，z4是12。在实施方案中，z4是13。在实施方案中，z4是14。在实施方案中，z4是15。在实施方案中，z4是16。在实施方案中，z4是17。在实施方案中，z4是18。在实施方案中，z4是19。在实施方案中，z4是20。在实施方案中，z4是21。在实施方案中，z4是22。在实施方案中，z4是23。在实施方案中，z4是24。在实施方案中，z4是25。在实施方案中，z4是26。在实施方案中，z4是27。在实施方案中，z4是28。在实施方案中，z4是29。在实施方案中，z4是30。在实施方案中，z4是31。在实施方案中，z4是32。在实施方案中，z4是33。在实施方案中，z4是34。在实施方案中，z4是35。在实施方案中，z4是36。在实施方案中，z4是37。在实施方案中，z4是38。在实施方案中，z4是39。在实施方案中，z4是40。在实施方案中，z4是41。在实施方案中，z4是42。在实施方案中，z4是43。在实施方案中，z4是44。在实施方案中，z4是45。在实施方案中，z4是46。在实施方案中，z4是47。在实施方案中，z4是48。在实施方案中，z4是49。在实施方案中，z4是50。在实施方案中，z4是51。在实施方案中，z4是52。在实施方案中，z4是53。在实施方案中，z4是54。在实施方案中，z4是55。在实施方案中，z4是56。在实施方案中，z4是57。在实施方案中，z4是58。在实施方案中，z4是59。在实施方案中，z4是60。在实施方案中，z4是61。在实施方案中，z4是62。在实施方案中，z4是63。在实施方案中，z4是64。在实施方案中，z4是65。在实施方案中，z4是66。在实施方案中，z4是67。在实施方案中，z4是68。在实施方案中，z4是69。在实施方案中，z4是70。在实施方案中，z4是71。在实施方案中，z4是72。在实施方案中，z4是73。在实施方案中，z4是74。在实施方案中，z4是75。在实施方案中，z4是76。在实施方案中，z4是77。在实施方案中，z4是78。在实施方案中，z4是79。在实施方案中，z4是80。在实施方案中，z4是81。在实施方案中，z4是82。在实施方案中，z4是83。在实施方案中，z4是84。在实施方案中，z4是85。在实施方案中，z4是86。在实施方案中，z4是87。在实施方案中，z4是88。在实施方案中，z4是89。在实施方案中，z4是90。在实施方案中，z4是91。在实施方案中，z4是92。在实施方案中，z4是93。在实施方案中，z4是94。在实施方案中，z4是95。在实施方案中，z4是96。在实施方案中，z4是97。在实施方案中，z4是98。在实施方案中，z4是99。在实施方案中，z4是100。

[0419] 在实施方案中，n是2。在实施方案中，n是3。在实施方案中，n是4。在实施方案中，n是5。在实施方案中，n是6。在实施方案中，n是7。在实施方案中，n是8。在实施方案中，n是9。在

[0420] 实施方案中，n是10。在实施方案中，n是11。在实施方案中，n是12。在实施方案中，n是13。

[0421] 在实施方案中，n是14。在实施方案中，n是15。在实施方案中，n是16。在实施方案中，n是17。

[0422] 在实施方案中，n是18。在实施方案中，n是19。在实施方案中，n是20。在实施方案中，n是21。

[0423] 在实施方案中,n是22。在实施方案中,n是23。在实施方案中,n是24。在实施方案中,n是25。

[0424] 在实施方案中,n是26。在实施方案中,n是27。在实施方案中,n是28。在实施方案中,n是29。

[0425] 在实施方案中,n是30。在实施方案中,n是31。在实施方案中,n是32。在实施方案中,n是33。

[0426] 在实施方案中,n是34。在实施方案中,n是35。在实施方案中,n是36。在实施方案中,n是37。

[0427] 在实施方案中,n是38。在实施方案中,n是39。在实施方案中,n是40。在实施方案中,n是41。

[0428] 在实施方案中,n是42。在实施方案中,n是43。在实施方案中,n是44。在实施方案中,n是45。

[0429] 在实施方案中,n是46。在实施方案中,n是47。在实施方案中,n是48。在实施方案中,n是49。

[0430] 在实施方案中,n是50。在实施方案中,n是51。在实施方案中,n是52。在实施方案中,n是53。

[0431] 在实施方案中,n是54。在实施方案中,n是55。在实施方案中,n是56。在实施方案中,n是57。

[0432] 在实施方案中,n是58。在实施方案中,n是59。在实施方案中,n是60。在实施方案中,n是61。

[0433] 在实施方案中,n是62。在实施方案中,n是63。在实施方案中,n是64。在实施方案中,n是65。

[0434] 在实施方案中,n是66。在实施方案中,n是67。在实施方案中,n是68。在实施方案中,n是69。

[0435] 在实施方案中,n是70。在实施方案中,n是71。在实施方案中,n是72。在实施方案中,n是73。

[0436] 在实施方案中,n是74。在实施方案中,n是75。在实施方案中,n是76。在实施方案中,n是77。

[0437] 在实施方案中,n是78。在实施方案中,n是79。在实施方案中,n是80。在实施方案中,n是81。

[0438] 在实施方案中,n是82。在实施方案中,n是83。在实施方案中,n是84。在实施方案中,n是85。

[0439] 在实施方案中,n是86。在实施方案中,n是87。在实施方案中,n是88。在实施方案中,n是89。

[0440] 在实施方案中,n是90。在实施方案中,n是91。在实施方案中,n是92。在实施方案中,n是93。

[0441] 在实施方案中,n是94。在实施方案中,n是95。在实施方案中,n是96。在实施方案中,n是97。

[0442] 在实施方案中,n是98。在实施方案中,n是99。在实施方案中,n是100。

[0443] 在实施方案中,n1是0。在实施方案中,n1是1。在实施方案中,n1是2。在实施方案中,n1是3。在实施方案中,n1是4。在实施方案中,n1是5。在实施方案中,n1是6。在实施方案中,n1是7。在实施方案中,n1是8。在实施方案中,n1是9。在实施方案中,n1是10。在实施方案中,n1是11。在实施方案中,n1是12。在实施方案中,n1是13。在实施方案中,n1是14。在实施方案中,n1是15。在实施方案中,n1是16。在实施方案中,n1是17。在实施方案中,n1是18。在实施方案中,n1是19。在实施方案中,n1是20。在实施方案中,n1是21。在实施方案中,n1是22。在实施方案中,n1是23。在实施方案中,n1是24。在实施方案中,n1是25。在实施方案中,n1是26。在实施方案中,n1是27。在实施方案中,n1是28。在实施方案中,n1是29。在实施方案中,n1是30。在实施方案中,n1是31。在实施方案中,n1是32。在实施方案中,n1是33。在实施方案中,n1是34。在实施方案中,n1是35。在实施方案中,n1是36。在实施方案中,n1是37。在实施方案中,n1是38。在实施方案中,n1是39。在实施方案中,n1是40。在实施方案中,n1是41。在实施方案中,n1是42。在实施方案中,n1是43。在实施方案中,n1是44。在实施方案中,n1是45。在实施方案中,n1是46。在实施方案中,n1是47。在实施方案中,n1是48。在实施方案中,n1是49。在实施方案中,n1是50。

[0444] 在实施方案中,n2是1。在实施方案中,n2是2。在实施方案中,n2是3。在实施方案中,n2是4。在实施方案中,n2是5。在实施方案中,n2是6。在实施方案中,n2是7。在实施方案中,n2是8。在实施方案中,n2是9。在实施方案中,n2是10。在实施方案中,n2是11。在实施方案中,n2是12。在实施方案中,n2是13。在实施方案中,n2是14。在实施方案中,n2是15。在实施方案中,n2是16。在实施方案中,n2是17。在实施方案中,n2是18。在实施方案中,n2是19。在实施方案中,n2是20。在实施方案中,n2是21。在实施方案中,n2是22。在实施方案中,n2是23。在实施方案中,n2是24。在实施方案中,n2是25。在实施方案中,n2是26。在实施方案中,n2是27。在实施方案中,n2是28。在实施方案中,n2是29。在实施方案中,n2是30。在实施方案中,n2是31。在实施方案中,n2是32。在实施方案中,n2是33。在实施方案中,n2是34。在实施方案中,n2是35。在实施方案中,n2是36。在实施方案中,n2是37。在实施方案中,n2是38。在实施方案中,n2是39。在实施方案中,n2是40。在实施方案中,n2是41。在实施方案中,n2是42。在实施方案中,n2是43。在实施方案中,n2是44。在实施方案中,n2是45。在实施方案中,n2是46。在实施方案中,n2是47。在实施方案中,n2是48。在实施方案中,n2是49。在实施方案中,n2是50。在实施方案中,n2是51。在实施方案中,n2是52。在实施方案中,n2是53。在实施方案中,n2是54。在实施方案中,n2是55。在实施方案中,n2是56。在实施方案中,n2是57。在实施方案中,n2是58。在实施方案中,n2是59。在实施方案中,n2是60。在实施方案中,n2是61。在实施方案中,n2是62。在实施方案中,n2是63。在实施方案中,n2是64。在实施方案中,n2是65。在实施方案中,n2是66。在实施方案中,n2是67。在实施方案中,n2是68。在实施方案中,n2是69。在实施方案中,n2是70。在实施方案中,n2是71。在实施方案中,n2是72。在实施方案中,n2是73。在实施方案中,n2是74。在实施方案中,n2是75。在实施方案中,n2是76。在实施方案中,n2是77。在实施方案中,n2是78。在实施方案中,n2是79。在实施方案中,n2是80。在实施方案中,n2是81。在实施方案中,n2是82。在实施方案中,n2是83。在实施方案中,n2是84。在实施方案中,n2是85。在实施方案中,n2是86。在实施方案中,n2是87。在实施方案中,n2是88。在实施方案中,n2是89。在实施方案中,n2是90。在实施方案中,n2是91。在实施方案中,n2是92。在实施方案中,n2是93。在实施方案中,n2是94。在实施方案中,n2是95。在

实施方案中，n2是96。在实施方案中，n2是97。在实施方案中，n2是98。在实施方案中，n2是99。在实施方案中，n2是100。

[0445] 在实施方案中，z2是2。在实施方案中，z2是3。在实施方案中，z2是4。在实施方案中，z2是5。在实施方案中，z2是6。在实施方案中，z2是7。在实施方案中，z2是8。在实施方案中，z2是9。在实施方案中，z2是10。在实施方案中，z2是11。在实施方案中，z2是12。在实施方案中，z2是13。在实施方案中，z2是14。在实施方案中，z2是15。在实施方案中，z2是16。在实施方案中，z2是17。在实施方案中，z2是18。在实施方案中，z2是19。在实施方案中，z2是20。在实施方案中，z2是21。在实施方案中，z2是22。在实施方案中，z2是23。在实施方案中，z2是24。在实施方案中，z2是25。在实施方案中，z2是26。在实施方案中，z2是27。在实施方案中，z2是28。在实施方案中，z2是29。在实施方案中，z2是30。在实施方案中，z2是31。在实施方案中，z2是32。在实施方案中，z2是33。在实施方案中，z2是34。在实施方案中，z2是35。在实施方案中，z2是36。在实施方案中，z2是37。在实施方案中，z2是38。在实施方案中，z2是39。在实施方案中，z2是40。在实施方案中，z2是41。在实施方案中，z2是42。在实施方案中，z2是43。在实施方案中，z2是44。在实施方案中，z2是45。在实施方案中，z2是46。在实施方案中，z2是47。在实施方案中，z2是48。在实施方案中，z2是49。在实施方案中，z2是50。在实施方案中，z2是51。在实施方案中，z2是52。在实施方案中，z2是53。在实施方案中，z2是54。在实施方案中，z2是55。在实施方案中，z2是56。在实施方案中，z2是57。在实施方案中，z2是58。在实施方案中，z2是59。在实施方案中，z2是60。在实施方案中，z2是61。在实施方案中，z2是62。在实施方案中，z2是63。在实施方案中，z2是64。在实施方案中，z2是65。在实施方案中，z2是66。在实施方案中，z2是67。在实施方案中，z2是68。在实施方案中，z2是69。在实施方案中，z2是70。在实施方案中，z2是71。在实施方案中，z2是72。在实施方案中，z2是73。在实施方案中，z2是74。在实施方案中，z2是75。在实施方案中，z2是76。在实施方案中，z2是77。在实施方案中，z2是78。在实施方案中，z2是79。在实施方案中，z2是80。在实施方案中，z2是81。在实施方案中，z2是82。在实施方案中，z2是83。在实施方案中，z2是84。在实施方案中，z2是85。在实施方案中，z2是86。在实施方案中，z2是87。在实施方案中，z2是88。在实施方案中，z2是89。在实施方案中，z2是90。在实施方案中，z2是91。在实施方案中，z2是92。在实施方案中，z2是93。在实施方案中，z2是94。在实施方案中，z2是95。在实施方案中，z2是96。在实施方案中，z2是97。在实施方案中，z2是98。在实施方案中，z2是99。在实施方案中，z2是100。

[0446] 在实施方案中，z5是1。在实施方案中，z5是2。在实施方案中，z5是3。在实施方案中，z5是4。在实施方案中，z5是5。在实施方案中，z5是6。在实施方案中，z5是7。在实施方案中，z5是8。在实施方案中，z5是9。在实施方案中，z5是10。

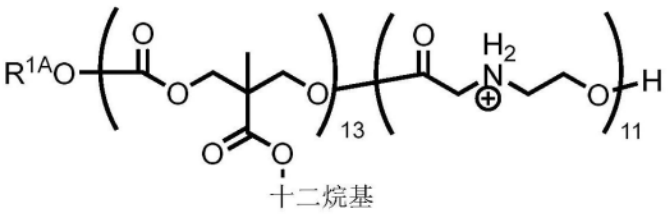
[0447] 在一些实施方案中，所述阳离子两亲聚合物可具有任何前述式，其中z2是2至100的整数。在一些实施方案中，z2可以是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围内的整数。在实施方案中，z2可以是在2至100或2至50范围内的整数。

[0448] 在一些实施方案中，所述阳离子两亲聚合物可具有任何前述式，其中z5是1至3的整数。在一些其它实施方案中，z5是1或3。在一些其它实施方案中，z5是1。在一些其它的实施方案中，z5是3。

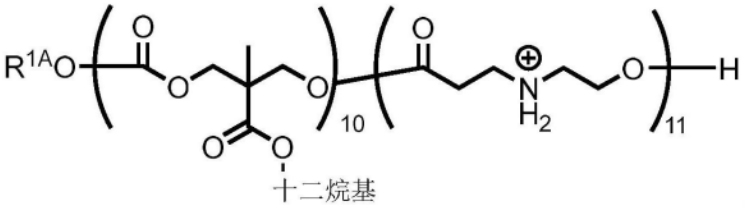
[0449] 在一些实施方案中,所述阳离子两亲聚合物可具有任何前述式,其中R^2是氢。

[0450] 在一些实施方案中,所述阳离子两亲聚合物可具有任何前述式,其中L^2是键。

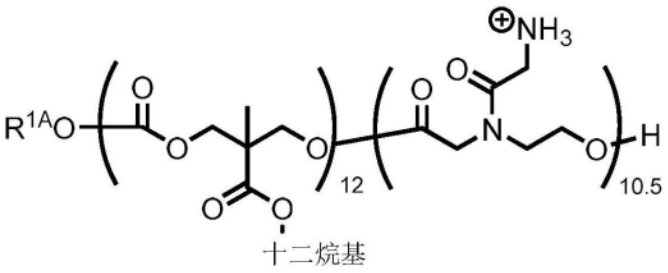
[0451] 在实施方案中,CART具有式:



,

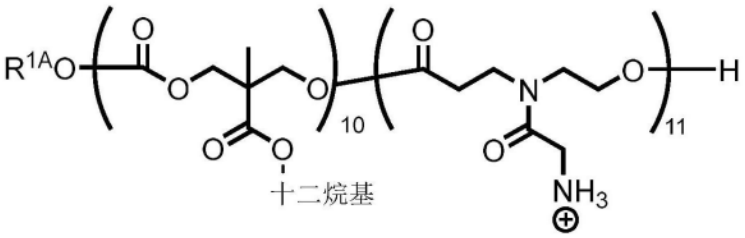


,

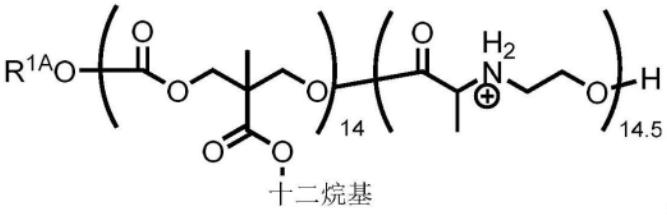


,

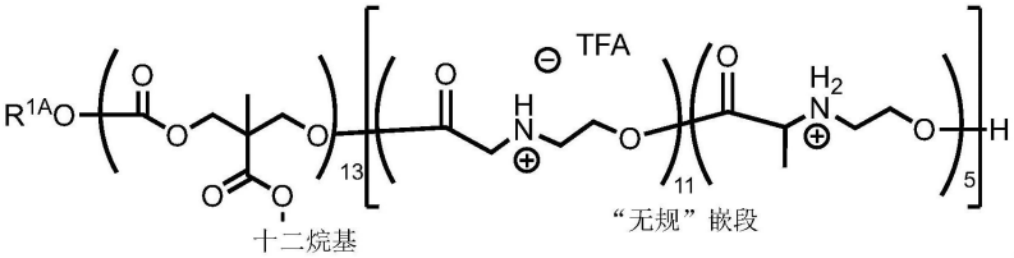
[0452]



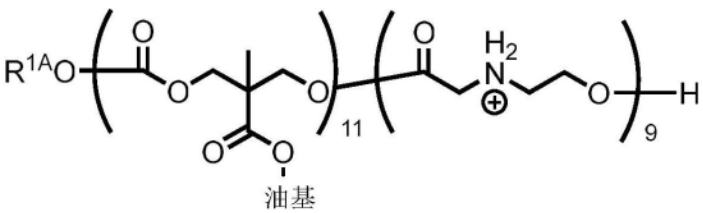
,



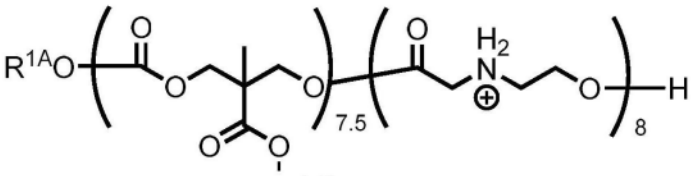
,



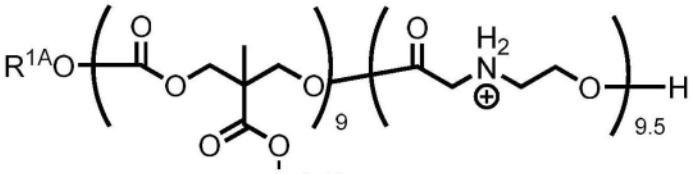
,



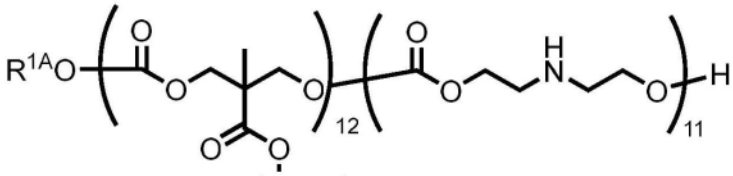
,



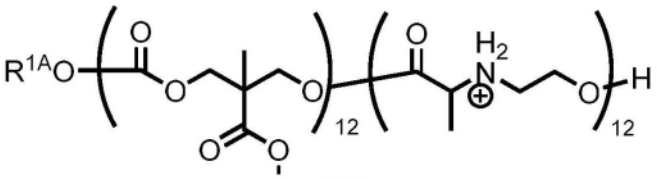
亚油基，



硬脂基，

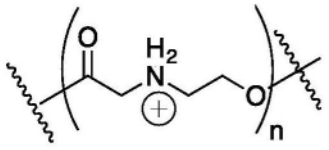
[0453] 

十二烷基，或



十二烷基。

[0454] 在一些实施方案中，pH-敏感性解聚结构域可具有下式：

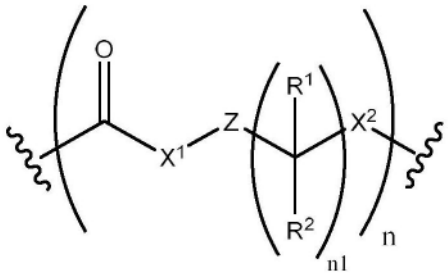
[0455] 

(IV-A)，

其中是2或更大的整数。在实施方案中，n是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20或2至10范围内的整数。在实施方案中，n是在2至100或2至50范围内的整数。

[0456] 在一些实施方案中，在前述式(IV-A)中，n是在2至50范围内的整数。

[0457] 在一些实施方案中，pH-敏感性解聚结构域可以具有下式：

[0458] 

[0459] 其中

[0460] n是2或更大的整数；

[0461] n1是0至50的整数；

[0462] Z是亲核性部分；

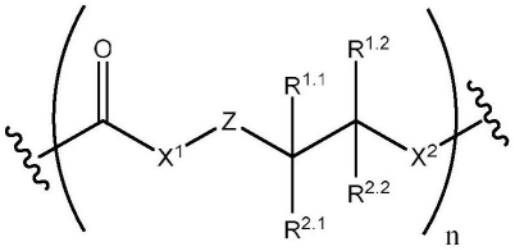
[0463] X^1是键、-C(R^5)(R^6)-、-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-、-O-C(R^5)(R^6)-、或-O-C(R^5)(R^6)-C

(R^7) (R^8) -；

[0464] X^2是-O-或-S-；且

[0465] R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0466] 在一些实施方案中，pH-敏感性解聚结构域可具有下式：

[0467] 

[0468] 其中

[0469] n1是2或更大的整数；

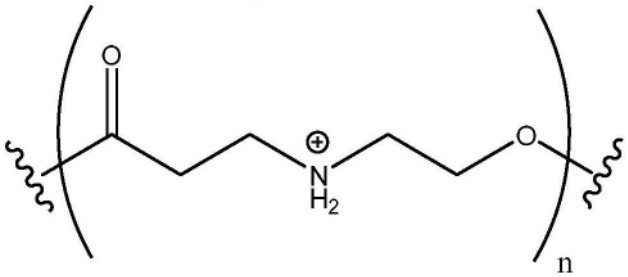
[0470] Z是亲核性部分；

[0471] X^1是键、-C (R^5) (R^6) -、-C (R^5) (R^6) -C (R^7) (R^8) -、-O-C (R^5) (R^6) -、或-O-C (R^5) (R^6) -C (R^7) (R^8) -；

[0472] X^2是-O-或-S-；且

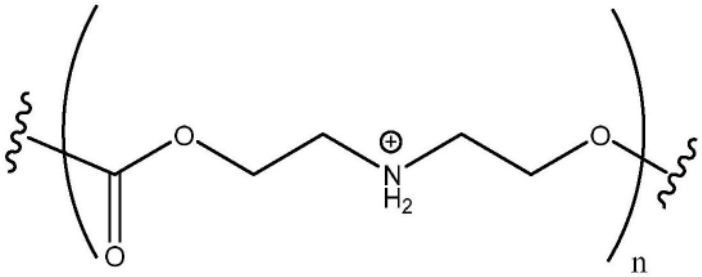
[0473] $R^{1.1}$、$R^{1.2}$、$R^{2.1}$、$R^{2.2}$、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0474] 在一些实施方案中，pH-敏感性解聚结构域可具有下式：

[0475] 

其中n是2或更大的整数。在实施方案中，n是2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围内的整数。在实施方案中，n是在2至100或2至50范围内的整数。

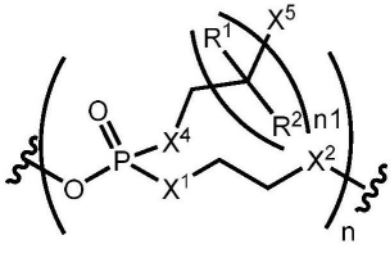
[0476] 在一些实施方案中，pH-敏感性解聚结构域可具有下式：

[0477] 

其中n是2或更大的整数。在实施方案中，n是2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至

40、2至30、2至20、或2至10范围内的整数。在实施方案中，n是在2至100或2至50范围内的整数。

[0478] 在一些实施方案中，a pH-敏感性解聚结构域可具有下式：

[0479] 

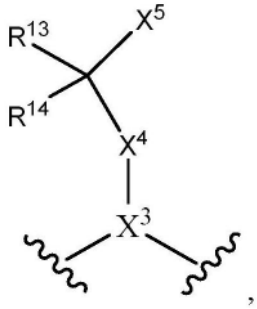
，

其中n是2或更大的整数；n1是0至50的整数；X^1是键、-O-、$-NR^5-$、$-C(R^5)(R^6)-$或$-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$；$X^2$是键、-O-、$-C(R^9)(R^{10})-$或$-C(R^9)(R^{10})-C(R^{11})(R^{12})-$；$X^4$是键、-C(O)-、$-P(O)(OR^{16})_2-$、$-S(O)(OR^{17})_2-$、$-C(R^{16})(R^{17})-$或$-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-$；$X^5$是亲核性部分；并且$R^1$、$R^2$、$R^5$、$R^6$、$R^7$、$R^8$、$R^9$、$R^{10}$、$R^{11}$、$R^{12}$、$R^{15}$、$R^{16}$、$R^{17}$、$R^{18}$和$R^{19}$独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0480] 在一些实施方案中，在具有任何指定的前式的pH-敏感性解聚结构域中，Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$，其中R^{13}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0481] 在一些实施方案中，在具有任何指定的前式的pH-敏感性解聚结构域中，Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$、其中R^{13}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0482] 在一些实施方案中，在具有任何指定的前式的pH-敏感性解聚结构域中，Z是

[0483] 

，

[0484] 其中

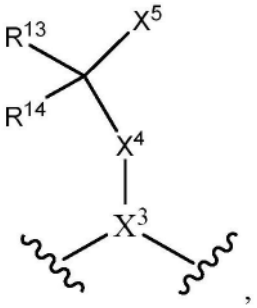
[0485] X^3是$C(R^{15})$或N；

[0486] X^4是键、-C(O)-、$-P(O)(OR^{16})_2-$、$-S(O)(OR^{17})_2-$、$-C(R^{16})(R^{17})-$或$-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-$；

[0487] X^5是亲核性部分；并且

[0488] R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0489] 在一些实施方案中，在具有任何指定的前式的pH-敏感性解聚结构域中，Z是

[0490] 

[0491] 其中

[0492] X^3是C(R^{15})或N；

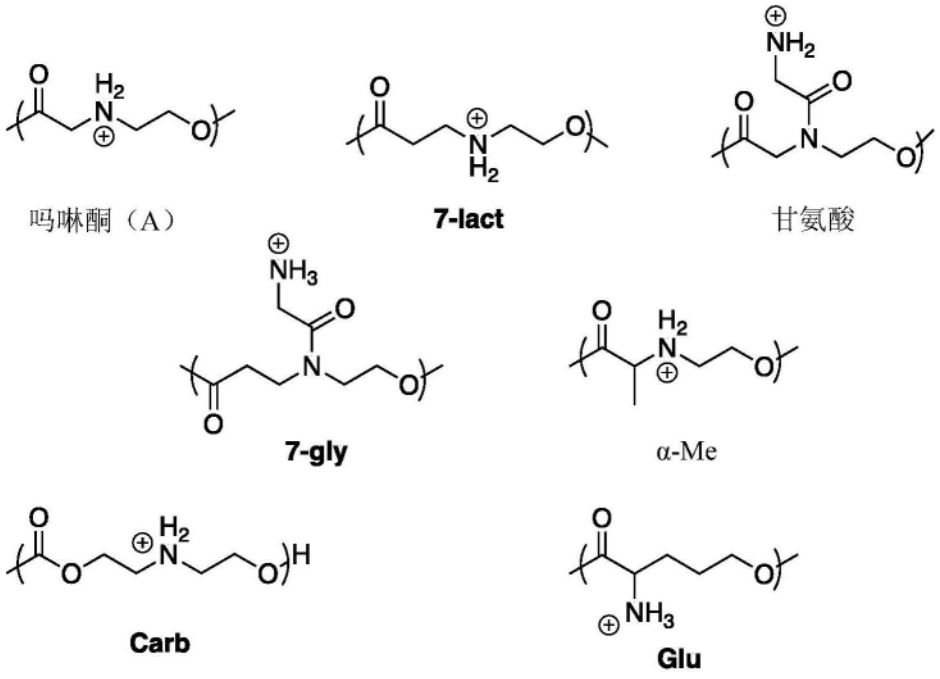
[0493] X^4是键、-C(O)-、-P(O)(OR^{16})$_2$-、-S(O)(OR^{17})$_2$-、-C(R^{16})(R^{17})-或-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-；

[0494] X^5是亲核性部分；并且

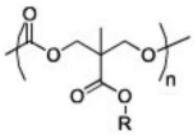
[0495] R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

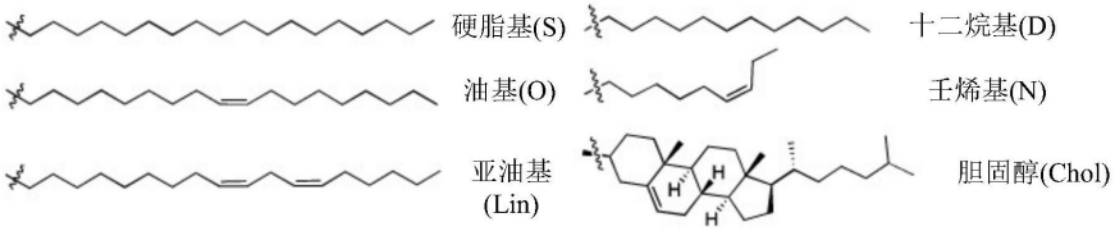
[0496] 在一些实施方案中，在具有任何指定的前式的pH-敏感性解聚结构域中，X^5是-N^+(R^{13})(H)-，其中R^{13}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0497] 在一些实施方案中，pH-敏感性解聚结构域可以具有以下式之一：在本文及其实施方案中公开的细胞穿透复合物的实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域具有以下式(IV)的结构：

[0498] 

[0499] 在一些实施方案中，亲脂性聚合物结构域(或可互换地称作亲脂性聚合物域)可具有R基团的以下变化之一：



[0500] 

[0501] 进一步地，在本文及其实施方案中公开的细胞渗透复合物的实施方案中，所述核酸可以是DNA或RNA，例如信使RNA(mRNA)、小干扰RNA(siRNA)、短发夹RNA(shRNA)、微RNA(miRNA)、引导RNA(gRNA)、CRISPR RNA(crRNA)、反式激活RNA(tracrRNA)、质粒DNA(pDNA)、微环DNA、基因组DNA(gNDA)。所述细胞穿透复合物可进一步包括蛋白质或肽。

[0502] 进一步地，在本文及其实施方案公开的细胞渗透复合物的实施方案中，所述细胞渗透复合物进一步包括多个亲脂性部分。

[0503] 进一步地，在本文及其实施方案中公开的细胞穿透复合物的实施方案中，所述细胞穿透复合物进一步包括多个解聚结构域。

[0504] 进一步地，在本文及其实施方案中公开的细胞渗透复合物的实施方案中，上述阳离子序列的平衡阴离子可以包括本领域中已知的常见抗衡离子，例如乙酸根、三氟乙酸根、三氟甲磺酸根、氯离子、溴离子、硫酸根、磷酸根、琥珀酸根或柠檬酸根。在实施方案中，所述平衡阴离子是乙酸根、三氟乙酸根、三氟酸根、氯离子、溴离子、硫酸根、磷酸根、琥珀酸根、或柠檬酸根。

[0505] 细胞穿透复合物-第三节

[0506] 根据式(I)和(IV)的实施方案，所有取代基的定义如下。本节所述的任何细胞穿透复合物可用于本文提供的组合物和方法。例如，本节所述的任何核酸、阳离子两亲聚合物和阳离子两亲聚合物可构成细胞穿透复合物的一部分，该复合物包括如本文(包括其实施方案)提供的核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物，所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[0507] 如上所述，本文(包括其实施方案)提供的阳离子两亲聚合物可以具有下式：

[0508] R^{1A}-[L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(LP^2)_{z3}$-$(IM)_{z2}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}]$_{z5}$(I)

[0509] 其中

[0510] R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0511] R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-

$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0512] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0513] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；IM是pH-敏感性解聚结构域；z5是1至10的整数；z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；z4是1至100的整数，并且z2是2至100的整数。

[0514] 上式中的取代基的定义如整个申请中所述。因此，在本文化合物的其它实施方案中，每个取代或未取代的烷基是取代或未取代的C_1-C_{20}烷基，每个取代或未取代的杂烷基是取代或未取代的2至20元杂烷基，每个取代或未取代的环烷基是取代或未取代的C_3-C_8环烷基，每个取代或未取代的杂环烷基是取代或未取代的3至8元杂环烷基，每个取代或未取代的芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}芳基，和/或每个取代或未取代的杂芳基是取代或未取代的5至10元杂芳基。在本文化合物的一些实施方案中，每个取代或未取代的亚烷基是取代或未取代的C_1-C_{20}亚烷基，每个取代或未取代的亚杂烷基是取代或未取代的2至20元亚杂烷基，每个取代或未取代的亚环烷基是取代或未取代的C_3-C_8亚环烷基，每个取代或未取代的亚杂环烷基是取代或未取代的3至8元亚杂环烷基，每个取代或未取代的亚芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}亚芳基，和/或每个取代或未取代的亚杂芳基是取代或未取代的5至10元亚杂芳基。在一些实施方案中，所述化合物是在下文实施例部分、图或表中所述的化学物质。

[0515] 在一些实施方案中，每个取代或未取代的烷基是取代或未取代的C_1-C_8烷基，每个取代或未取代的杂烷基是取代或未取代的2至8元杂烷基，每个取代或未取代的环烷基是取代或未取代的C_3-C_7环烷基，每个取代或未取代的杂环烷基是取代或未取代的3至7元杂环烷基，每个取代或未取代的芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}芳基，和/或每个取代或未取代的杂芳基是取代或未取代的5至9元杂芳基。在一些实施方案中，每个取代或未取代的亚烷基是取代或未取代的C_1-C_8亚烷基，每个取代或未取代的亚杂烷基是取代或未取代的2至8元亚杂烷基，每个取代或未取代的亚环烷基是取代或未取代的C_3-C_7亚环烷基，每个取代或未取代的亚杂环烷基是取代或未取代的3至7元亚杂环烷基，每个取代或未取代的亚芳基是取代或未取代的C_6-C_{10}亚芳基，和/或每个取代或未取代的亚杂芳基是取代或未取代的5至9元亚杂芳基。在一些实施方案中，所述化合物是在下文实施例部分、图或表中所述的化学物质。

[0516] R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

[0517] R^{1A}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-

OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、或-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{1A}独立地是R^{1A1}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、R^{1A1}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{1A1}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{1A1}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{1A1}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{1A1}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0518] R^{1A1}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{1A1}独立地是R^{1A2}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、R^{1A2}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{1A2}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{1A2}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{1A2}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{1A2}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0519] R^{1A2}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{1A2}独立地是R^{1A3}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、R^{1A3}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{1A3}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{1A3}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{1A3}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{1A3}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0520] R^{1A3}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{1A3}独立地是未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0521] R^{2A}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、或-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{2A}独立地是R^{2A1}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、R^{2A1}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{2A1}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{2A1}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{2A1}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{2A1}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0522] R^{2A1}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-

$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{2A1}独立地是R^{2A2}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、R^{2A2}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{2A2}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{2A2}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{2A2}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{2A2}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0523] R^{2A2}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{2A2}独立地是R^{2A3}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、R^{2A3}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{2A3}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{2A3}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{2A3}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{2A3}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

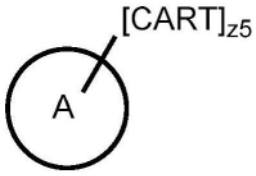
[0524] R^{2A3}可以独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、或-OCH_2F。在实施方案中，R^{2A3}独立地是未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0525] L^1独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。在实施方案中，L^1是未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)亚烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)亚杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)亚环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)亚杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)亚芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)亚杂芳基。在实施方案中，L^1是R^{L1}-取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)亚烷基、R^{L1}-取代的(例如，2至20元或2至6元)亚杂烷基、R^{L1}-取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)亚环烷基、R^{L1}-取代的(例如，3至8元或3至6元)亚杂环烷基、R^{L1}-取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)亚芳基、或R^{L1}-取代的(例如，5至10元或5至6元)亚杂芳基。R^{L1}可以独立地是氢、卤素、=O、=S、-CF_3、-CN、-CCl_3、-COOH、-CH_2COOH、-$CONH_2$、-OH、-SH、-SO_2Cl、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-NO_2、-NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC=(O)$NHNH_2$、未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0526] L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。在实施

方案中，L^2是未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)亚烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)亚杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)亚环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)亚杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)亚芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)亚杂芳基。在实施方案中，L^2是R^{L2}-取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)亚烷基、R^{L2}-取代的(例如，2至20元或2至6元)亚杂烷基、R^{L2}-取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)亚环烷基、R^{L2}-取代的(例如，3至8元或3至6元)亚杂环烷基、R^{L2}-取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)亚芳基、或R^{L2}-取代的(例如，5至10元或5至6元)亚杂芳基。R^{L2}可以独立地是氢、卤素、=O、=S、-CF_3、-CN、-CCl_3、-COOH、-CH_2COOH、-$CONH_2$、-OH、-SH、-SO_2Cl、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-NO_2、-NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、未取代的(例如，C_1-C_{20}或C_1-C_6)烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0527] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

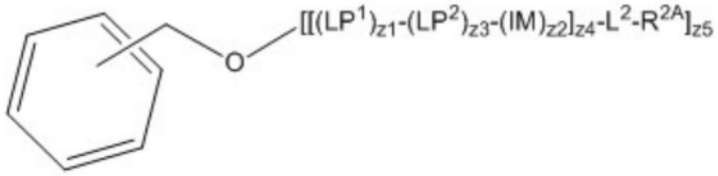
[0528] 

；

[0529] 其中环A是取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；CART具有式-L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(LP^2)_{z3}$-$(IM)_{z2}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}，其中R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；IM是pH-敏感性解聚结构域；z5是1至10的整数；z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；z4是1至100的整数，并且z2是2至100的整数。

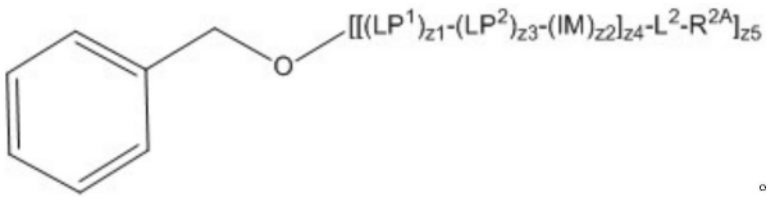
[0530] 在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基。在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基或萘基。

[0531] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0532] 

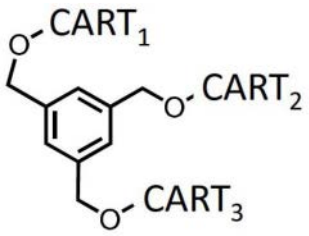
。

在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0533] 

。

在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

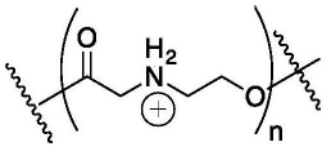
[0534] 

，

其中$CART_1$、$CART_2$和$CART_3$独立地是如本文定义的CART。

[0535] 在实施方案中，z5是1至3的整数。在实施方案中，z5是1或3。在实施方案中，z5是1。在实施方案中，z5是3。在实施方案中，R^{2A}是氢。在实施方案中，L^2是键。

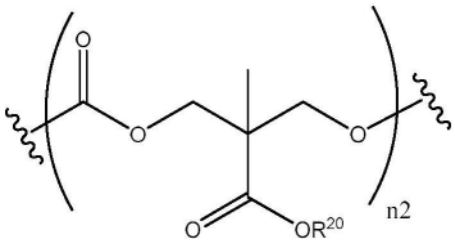
[0536] 在实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域具有式：

[0537] 

(IV)，

[0538] 其中n是2或更大的整数。在实施方案中，n是在2至50范围内的整数。在实施方案中，n是7。在实施方案中，n是9。

[0539] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域具有式：

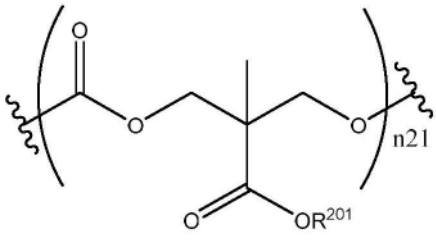
[0540] 

，

其中n2是1至100的整数；

[0541] R^{20}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0542] 在实施方案中，LP^1具有式：

[0543] 

，

其中n21是1至100的整数；

[0544] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0545] 在实施方案中，R^{201}独立地是R^{201A}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{30}或C_1-C_6)烷基、R^{201A}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{201A}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{201A}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{201A}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{201A}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0546] 在实施方案中，R^{201A}独立地是R^{201B}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{30} or C_1-C_6)烷基、R^{201B}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{201B}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8 or C_5-C_7)环烷基、R^{201B}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{201B}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{201B}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

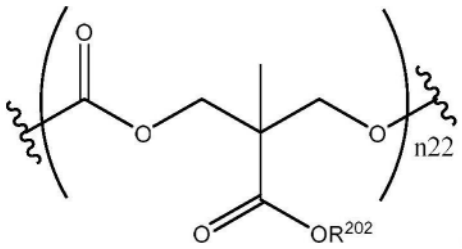
[0547] 在实施方案中，R^{201B}独立地是未取代的(例如，C_1-C_{30}或C_1-C_6)烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0548] 在实施方案中，n21是5且R^{201}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中，n21是6且R^{201}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中，所述未取代的C_{18}烯基是油烯基。

[0549] 在实施方案中，n21是0至100的整数。在实施方案中，n21是0至90的整数。在实施方案中，n21是0至80的整数。在实施方案中，n21是0至70的整数。在实施方案中，n21是0至60的整数。在实施方案中，n21是0至50的整数。在实施方案中，n21是0至40的整数。在实施方案中，n21是0至30的整数。在实施方案中，n21是0至20的整数。在实施方案中，n21是0至10的整数。在实施方案中，n21是5至100的整数。在实施方案中，n21是15至100的整数。在实施方案中，n21是25至100的整数。在实施方案中，n21是35至100的整数。在实施方案中，n21是45至100的整数。在实施方案中，n21是55至100的整数。在实施方案中，n21是65至100的整数。在实施方案中，n21是75至100的整数。在实施方案中，n21是85至100的整数。在实施方案中，n21是95至100的整数。在实施方案中，n21是0。在实施方案中，n21是1。在实施方案中，n21是2。在实施方案中，n21是3。在实施方案中，n21是4。在实施方案中，n21是5。在实施方案中，n21是6。在实施方案中，n21是7。在实施方案中，n21是8。在实施方案中，n21是9。在实施方案中，n21是10。在实施方案中，n21是11。在实施方案中，n21是12。在实施方案中，n21是13。在实施方案中，n21是14。在实施方案中，n21是15。在实施方案中，n21是16。在实施方案中，n21是17。在实施方案中，n21是18。在实施方案中，n21是19。在实施方案中，n21是20。在实施方案中，n21是21。在实施方案中，n21是22。在实施方案中，n21是23。在实施方案中，n21是24。在实施方案中，n21是25。在实施方案中，n21是26。在实施方案中，n21是27。在实施方案中，n21是28。在实施方案中，n21是29。在实施方案中，n21是30。在实施方案中，n21是31。在实施方案中，n21是32。在实施方案中，n21是33。在实施方案中，n21是34。在实施方案中，n21是35。在实施方案中，n21是36。在实施方案中，n21是37。在实施方案中，n21是38。在实施方案中，n21是39。在实施方案中，n21是40。在实施方案中，n21是41。在实施方案中，n21是42。在实施方案中，n21是43。在实施方案中，n21是44。在实施方案中，n21是45。在实施方案中，n21是46。在实施方案中，n21是47。在实施方案中，n21是48。在实施方案中，n21是49。在实施方案中，n21是50。在实施方案中，n21是51。在实施方案中，n21是52。在实施方案中，n21是53。

在实施方案中，n21是54。在实施方案中，n21是55。在实施方案中，n21是56。在实施方案中，n21是57。在实施方案中，n21是58。在实施方案中，n21是59。在实施方案中，n21是60。在实施方案中，n21是61。在实施方案中，n21是62。在实施方案中，n21是63。在实施方案中，n21是64。在实施方案中，n21是65。在实施方案中，n21是66。在实施方案中，n21是67。在实施方案中，n21是68。在实施方案中，n21是69。在实施方案中，n21是70。在实施方案中，n21是71。在实施方案中，n21是72。在实施方案中，n21是73。在实施方案中，n21是74。在实施方案中，n21是75。在实施方案中，n21是76。在实施方案中，n21是77。在实施方案中，n21是78。在实施方案中，n21是79。在实施方案中，n21是80。在实施方案中，n21是81。在实施方案中，n21是82。在实施方案中，n21是83。在实施方案中，n21是84。在实施方案中，n21是85。在实施方案中，n21是86。在实施方案中，n21是87。在实施方案中，n21是88。在实施方案中，n21是89。在实施方案中，n21是90。在实施方案中，n21是91。在实施方案中，n21是92。在实施方案中，n21是93。在实施方案中，n21是94。在实施方案中，n21是95。在实施方案中，n21是96。在实施方案中，n21是97。在实施方案中，n21是98。在实施方案中，n21是99。在实施方案中，n21是100。

[0550] 在实施方案中，LP^2具有下式：

[0551] 

，

其中n22是1至100的整数；R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，n22是5且R^{202}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，n22是6且R^{202}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，所述未取代的C_9烯基是壬烯基。

[0552] 在实施方案中，R^{202}独立地是R^{202A}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{30}或C_1-C_6)烷基、R^{202A}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{202A}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{202A}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{202A}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{202A}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

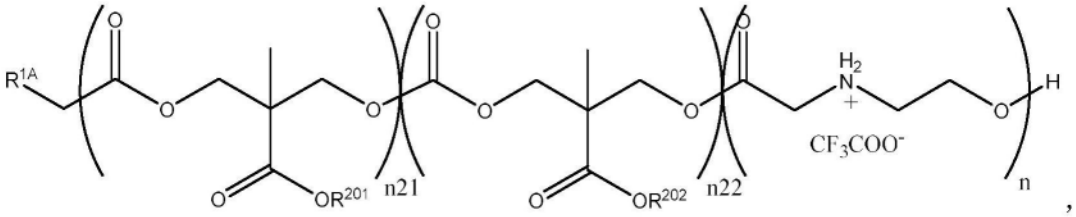
[0553] 在实施方案中，R^{202A}独立地是R^{202B}-取代或未取代的(例如，C_1-C_{30}或C_1-C_6)烷基、R^{202B}-取代或未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、R^{202B}-取代或未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、R^{202B}-取代或未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、R^{202B}-取代或未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或R^{202B}-取代或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0554] 在实施方案中，R^{202B}独立地是未取代的(例如，C_1-C_{30}或C_1-C_6)烷基、未取代的(例如，2至20元或2至6元)杂烷基、未取代的(例如，C_3-C_8或C_5-C_7)环烷基、未取代的(例如，3至8元或3至6元)杂环烷基、未取代的(例如，C_5-C_{10}或C_5-C_6)芳基、或未取代的(例如，5至10元或5至6元)杂芳基。

[0555] 在实施方案中，n22是0至100的整数。在实施方案中，n22是0至90的整数。在实施方

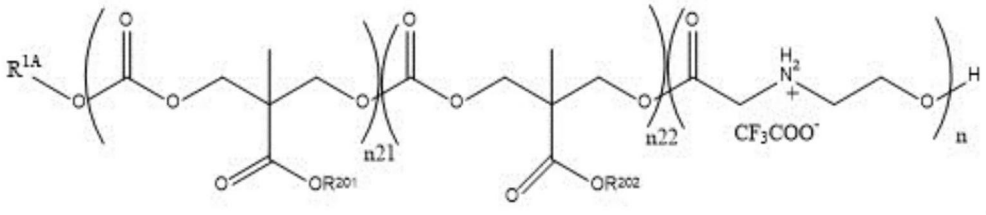
案中，n22是0至80的整数。在实施方案中，n22是0至70的整数。在实施方案中，n22是0至60的整数。在实施方案中，n22是0至50的整数。在实施方案中，n22是0至40的整数。在实施方案中，n22是0至30的整数。在实施方案中，n22是0至20的整数。在实施方案中，n22是0至10的整数。在实施方案中，n22是5至100的整数。在实施方案中，n22是15至100的整数。在实施方案中，n22是25至100的整数。在实施方案中，n22是35至100的整数。在实施方案中，n22是45至100的整数。在实施方案中，n22是55至100的整数。在实施方案中，n22是65至100的整数。在实施方案中，n22是75至100的整数。在实施方案中，n22是85至100的整数。在实施方案中，n22是95至100的整数。在实施方案中，n22是0。在实施方案中，n22是1。在实施方案中，n22是2。在实施方案中，n22是3。在实施方案中，n22是4。在实施方案中，n22是5。在实施方案中，n22是6。在实施方案中，n22是7。在实施方案中，n22是8。在实施方案中，n22是9。在实施方案中，n22是10。在实施方案中，n22是11。在实施方案中，n22是12。在实施方案中，n22是13。在实施方案中，n22是14。在实施方案中，n22是15。在实施方案中，n22是16。在实施方案中，n22是17。在实施方案中，n22是18。在实施方案中，n22是19。在实施方案中，n22是20。在实施方案中，n22是21。在实施方案中，n22是22。在实施方案中，n22是23。在实施方案中，n22是24。在实施方案中，n22是25。在实施方案中，n22是26。在实施方案中，n22是27。在实施方案中，n22是28。在实施方案中，n22是29。在实施方案中，n22是30。在实施方案中，n22是31。在实施方案中，n22是32。在实施方案中，n22是33。在实施方案中，n22是34。在实施方案中，n22是35。在实施方案中，n22是36。在实施方案中，n22是37。在实施方案中，n22是38。在实施方案中，n22是39。在实施方案中，n22是40。在实施方案中，n22是41。在实施方案中，n22是42。在实施方案中，n22是43。在实施方案中，n22是44。在实施方案中，n22是45。在实施方案中，n22是46。在实施方案中，n22是47。在实施方案中，n22是48。在实施方案中，n22是49。在实施方案中，n22是50。在实施方案中，n22是51。在实施方案中，n22是52。在实施方案中，n22是53。在实施方案中，n22是54。在实施方案中，n22是55。在实施方案中，n22是56。在实施方案中，n22是57。在实施方案中，n22是58。在实施方案中，n22是59。在实施方案中，n22是60。在实施方案中，n22是61。在实施方案中，n22是62。在实施方案中，n22是63。在实施方案中，n22是64。在实施方案中，n22是65。在实施方案中，n22是66。在实施方案中，n22是67。在实施方案中，n22是68。在实施方案中，n22是69。在实施方案中，n22是70。在实施方案中，n22是71。在实施方案中，n22是72。在实施方案中，n22是73。在实施方案中，n22是74。在实施方案中，n22是75。在实施方案中，n22是76。在实施方案中，n22是77。在实施方案中，n22是78。在实施方案中，n22是79。在实施方案中，n22是80。在实施方案中，n22是81。在实施方案中，n22是82。在实施方案中，n22是83。在实施方案中，n22是84。在实施方案中，n22是85。在实施方案中，n22是86。在实施方案中，n22是87。在实施方案中，n22是88。在实施方案中，n22是89。在实施方案中，n22是90。在实施方案中，n22是91。在实施方案中，n22是92。在实施方案中，n22是93。在实施方案中，n22是94。在实施方案中，n22是95。在实施方案中，n22是96。在实施方案中，n22是97。在实施方案中，n22是98。在实施方案中，n22是99。在实施方案中，n22是100。

[0556] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0557] 

[0558] 其中n21是5，R^{201}是油烯基，n22是5，R^{202}是壬烯基，并且n是7。

[0559] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0560] 

[0561] 其中n21是6，R^{201}是油烯基，n22是6，R^{202}是壬烯基，并且n是9。

[0562] 在实施方案中，所述核酸是信使RNA(mRNA)、小干扰RNA(siRNA)、短发夹RNA(shRNA)、微小RNA(miRNA)、引导RNA(gRNA)、CRISPR RNA(crRNA)。在实施方案中，所述核酸包括编码嵌合抗原受体(CAR)的序列。

[0563] 一方面，提供了一种纳米颗粒组合物，其包括本文(包括其实施方案)提供的多个细胞穿透复合物。

[0564] 一方面，提供了一种药物组合物，其包括本文(包括其实施方案)提供的复合物和药学上可接受的载体。

[0565] 一方面，提供了将核酸转染到细胞中的方法，所述方法包括将细胞与本文(包括其实施方案)提供的复合物接触。

[0566] 在实施方案中，使得所述阳离子两亲聚合物在细胞内降解，从而形成降解产物。在实施方案中，所述降解产物是取代或未取代的二酮哌嗪。

[0567] 在实施方案中，所述核酸包括编码信使RNA(mRNA)的CAR。

[0568] 本文提供的mRNA可以在细胞中表达。在实施方案中，所述细胞是真核细胞。在实施方案中，所述细胞是哺乳动物细胞或人细胞。在实施方案中，所述细胞构成生物体的一部分。在实施方案中，所述生物体是人。在实施方案中，所述细胞是淋巴细胞或骨髓细胞。在实施方案中，所述细胞是T细胞。在实施方案中，所述细胞是骨髓细胞。

[0569] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0570] R^{1A}-[L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(IM)_{z2}$-$(LP^2)_{z3}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}]$_{z5}$

[0571] 其中

[0572] R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

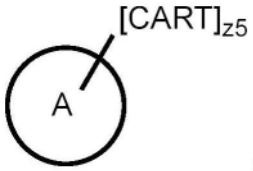
[0573] R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-

CH_2Br、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0574] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0575] LP^1和LP^2独立地是键或亲脂性聚合物结构域，其中LP^1或LP^2中的至少一个是亲脂性聚合物结构域；IM是pH-敏感性解聚结构域；z5是1至10的整数；z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；z4是1至100的整数，z2是2至100的整数。

[0576] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0577] 

；

其中环A是取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基，或取代或未取代的杂芳基；CART具有下式：$-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^{2A}$，

[0578] 其中，

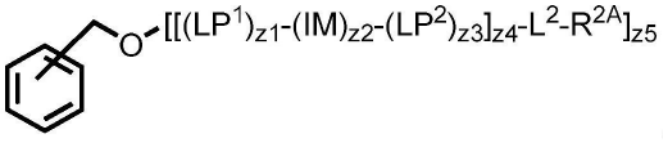
[0579] R^{2A}是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基，或取代或未取代的杂芳基；

[0580] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0581] LP^1和LP^2独立地是键或亲脂性聚合物结构域，其中LP^1或LP^2中的至少一个是亲脂性聚合物结构域；

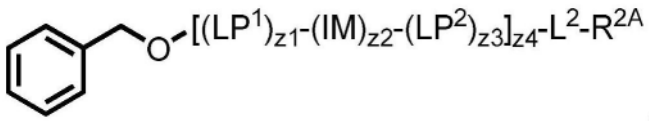
[0582] IM是pH-敏感性解聚结构域；z5是1至10的整数；z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；z4是1至100的整数，并且z2是2至100的整数。

[0583] 在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基。在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基或萘基。在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

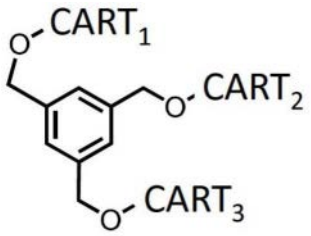
[0584] 

。

在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0585] 

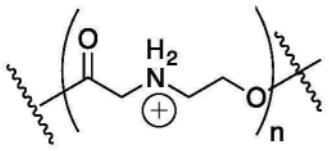
在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0586] 

其中$CART_1$、$CART_2$和$CART_3$独立地是如本文定义的CART。

[0587] 在实施方案中,L^1是$-CH_2-O-$、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。

[0588] 在实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式:

[0589]  (IV),

[0590] 其中n是2或更大的整数。

[0591] 细胞穿透复合物-第四节

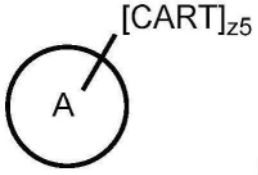
[0592] 根据式(Ia-C)、(Ib-C)、(Ic-C)、(Id-C)、(VIII-C)、(IX-C)、(X-C)、(XI-C)、(II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C)、(XVII-C)、(XVIII-C)、(XIX-C)、(XX-C)、(XXb-C)、(XXI-C)、和(XXIa-C)的实施方案,所有取代基均如下文列出所定义。本节所述的任何细胞穿透复合物可用于本文提供的组合物和方法。例如,本节所述的任何核酸、阳离子两亲性聚合物和阳离子两亲性聚合物可构成细胞穿透复合物的一部分,所述复合物包括如本文(包括其实施方案)提供的核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲性聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[0593] 本文(包括其实施方案)提供的细胞穿透复合物包括非共价结合于阳离子两亲性聚合物(例如,具有式(II)、(III)、(XIV-C)和(XV-C))的核酸。本文(包括其实施方案)提供的细胞穿透复合物可进一步包括多种(多于一种,例如两种)阳离子两亲聚合物类型(例如,第一种阳离子两亲聚合物和第二种两亲聚合物的混合物),其中每种所述阳离子两亲聚合物类型在化学上是不同的。

[0594] 本文提供的细胞穿透复合物可包括非共价结合于阳离子两亲聚合物(例如,具有式(II)、(III)、(XIV-C)和(XV-C))的核酸,所述阳离子两亲聚合物包括pH敏感性解聚结构域(例如,具有式(XVI-C)、(XVII-C)、(XVIII-C)、(XIX-C)、(XX-C)和(XXI-C))。在实施方案中,所述阳离子两性聚合物中也可以存在一个或多个抗衡离子(例如,阴离子)以抗衡正电荷。在实施方案中,所述核酸与阳离子两亲性聚合物非共价结合。在实施方案中,所述核酸与阳离子两亲性聚合物离子结合。在实施方案中,所述细胞穿透复合物包括多个任选不同的核酸(例如1至10个额外的核酸、1至5个额外的核酸、1至5个额外的核酸、2个额外的核酸

或1个额外的核酸)。在实施方案中,所述核酸是DNA。在实施方案中,所述核酸是RNA。在实施方案中,所述核酸是mRNA。

[0595] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

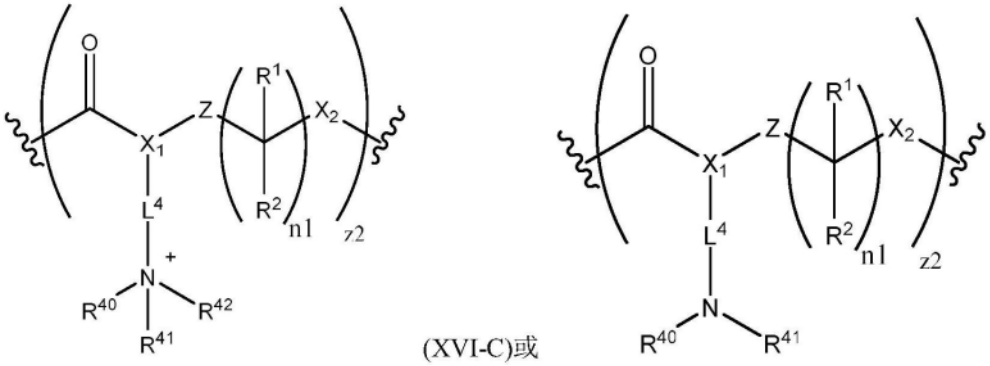
[0596] 

;

[0597] 其中环A是取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基,或取代或未取代的杂芳基;

[0598] CART具有下式:$-L^1-[(LP^1)_{z1}-(LP^2)_{z3}-(IM)_{z2}]_{z4}-L^2-R^{2A}$;

[0599] 其中,R^{2A}是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基;LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域,其中LP^1或LP^2中的至少一个是亲脂性聚合物结构域;IM具有下式:

[0600] 

(XVI-C)或 (XVII-C);

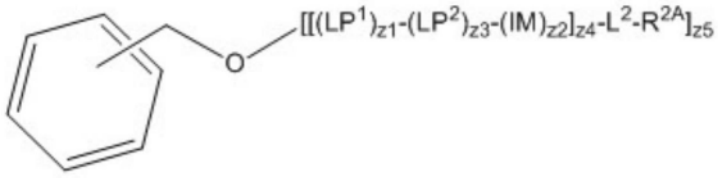
[0601] z5是1至10的整数;z1和z3独立地是0至100的整数,其中z1或z3中的至少一个不是0;z4是1至100的整数,并且z2是2至100的整数。

[0602] 在式(XVI-C)和(XVII-C)中,X^1可以是键、$-C(R^5)(R^6)-$、$-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$、$-O-C(R^5)(R^6)-$、或$-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$。$X^2$是-O-或-S-。$R^1$和$R^2$独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。L^4是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基。R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基。Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$。R^{13}是氢、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、-CN、-OH、=O、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_2NH_2$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环

烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。n1是0至50的整数。z2是2至100的整数;且z5是1至10的整数。

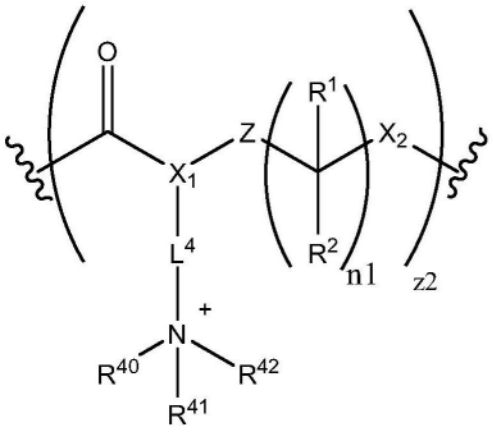
[0603] 在实施方案中,环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中,环A是取代或未取代的苯基。在实施方案中,环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中,环A是取代或未取代的苯基或萘基。

[0604] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

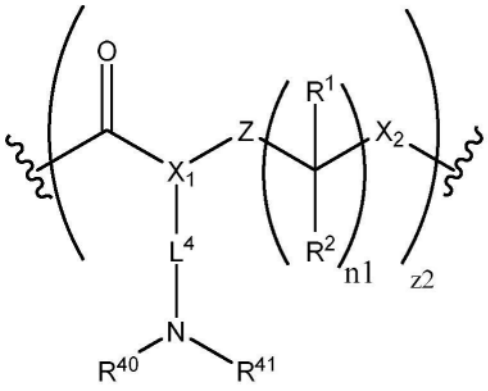
[0605] 

;

其中IM具有下式:

[0606] 

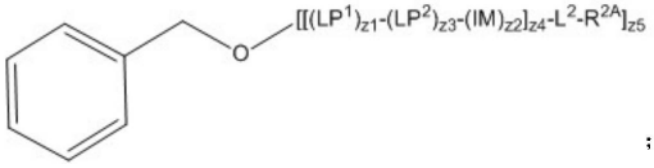
(XVI-C),或

[0607] 

(XVII-C),

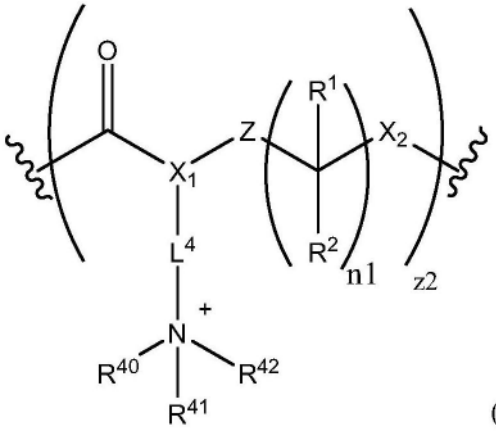
并且其中取代基和变量的定义如本文所述。

[0608] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

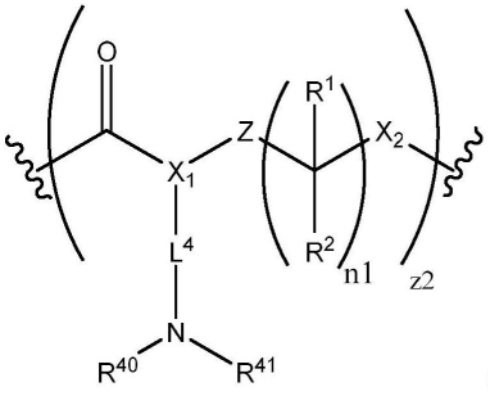
[0609] 

;

其中IM具有下式:



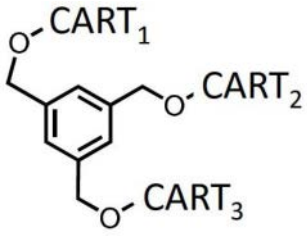
(XVI-C)或



(XVII-C),

其中取代基和变量的定义如本文所述。

[0610] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

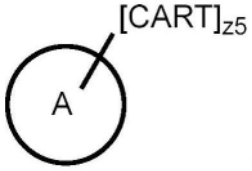
[0611] 

,

其中$CART_1$、$CART_2$和$CART_3$独立地是如本文定义的CART。

[0612] 在实施方案中,z5是1至3的整数。在实施方案中,z5是1或3。在实施方案中,z5是1。在实施方案中,z5是3。在实施方案中,R^{2A}是氢。在实施方案中,L^2是键。

[0613] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

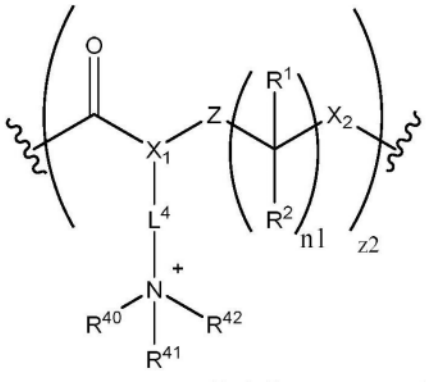
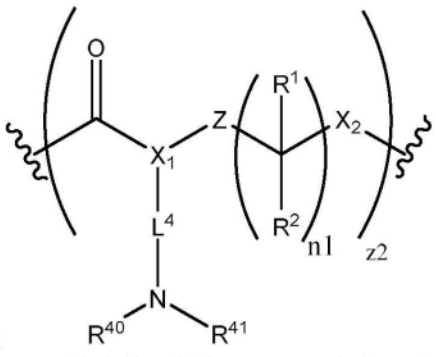
[0614] 

;

其中环A是取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基,或取代或未取代的杂芳基;CART具有下式:$-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^{2A}$;

[0615] 其中,R^{2A}是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、-

OCF_3、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；LP^1和LP^2独立地是键或亲脂性聚合物结构域，其中LP^1或LP^2中的至少一个是亲脂性聚合物结构域；IM具有下式：

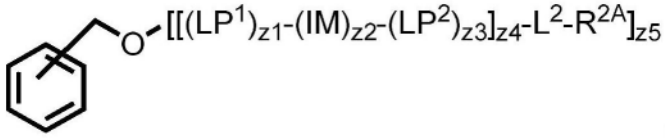
[0616]  (XVI-C)或  (XVII-C)；

[0617] z5是1至10的整数；z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；z4是1至100的整数；且z2是2至100的整数。

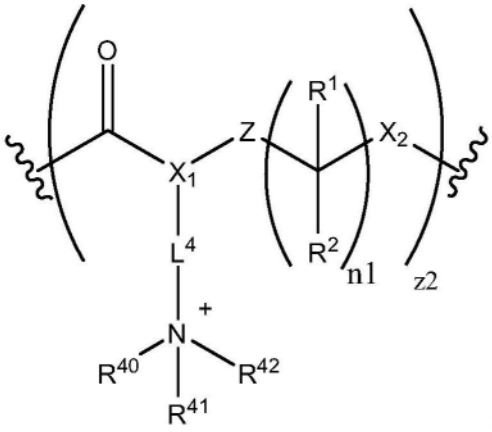
[0618] 在式(XVI-C)和(XVII-C)中，X_1可以是键、$-C(R^5)(R^6)-$、$-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$、$-O-C(R^5)(R^6)-$、或$-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$。$X^2$是-O-或-S-。$R^1$和$R^2$独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。L^4是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基。R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基。Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$。R^{13}是氢、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、-CN、-OH、=O、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_2NH_2$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。n1是0至50的整数。z2是2至100的整数；z5是1至10的整数。

[0619] 在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基。在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在实施方案中，环A是取代或未取代的苯基或萘基。

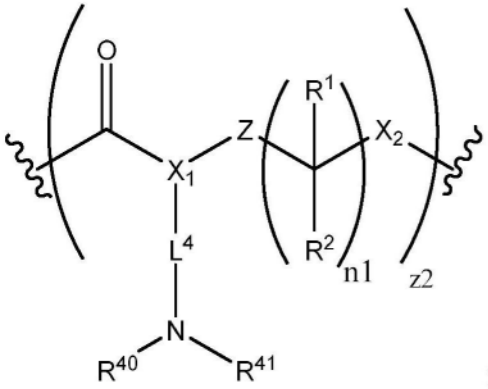
[0620] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0621]  ；

[0622] 其中IM具有下式：

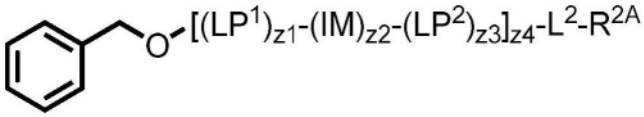
[0623] 

(XVI-C)或



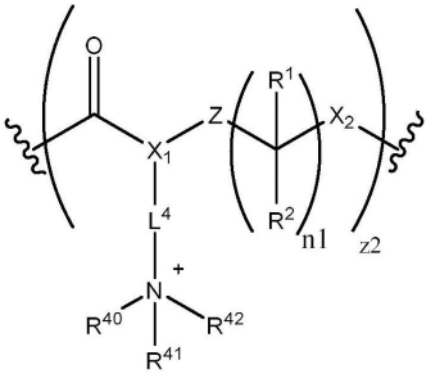
(XVII-C)。

[0624] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

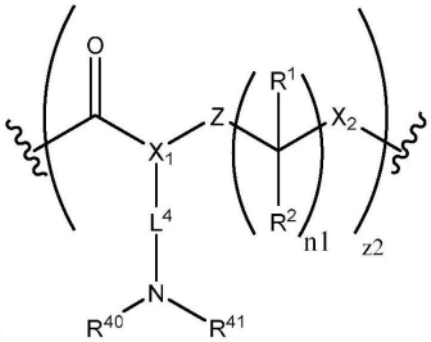
[0625] 

,

[0626] 其中IM具有下式:

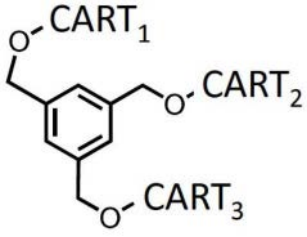
[0627] 

(XVI-C)或



(XVII-C)。

[0628] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0629] 

,

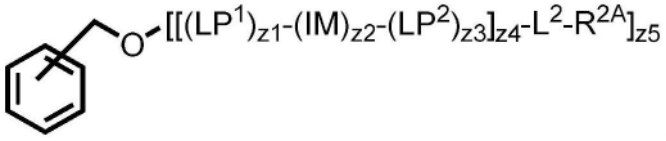
其中$CART_1$、$CART_2$和$CART_3$独立地是如本文定义的CART。

[0630] 在实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中，环A是取代或未取代的苯基。在一些其它实施方案中，环A是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中，环A是取代或未取代的苯基或萘基。

[0631] 在实施方案中，环A是未取代的芳基(即除了CART部分之外未取代的)。在实施方案中，环A是未取代的苯基(即除了CART部分之外未取代的)。在实施方案中，环A是未取代的苯基或萘基(即除了CART部分之外未取代的)。在实施方案中，环A是取代的芳基(即除了CART部分之外取代的)。在实施方案中，环A是取代的苯基(即除了CART部分之外取代的)。在实施方案中，环A是取代的苯基或萘基(即除了CART部分之外取代的)。

[0632] 在实施方案中，所述细胞穿透复合物具有可检测剂(例如，荧光团)。

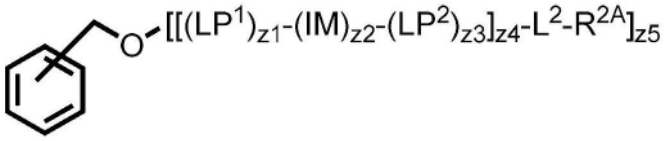
[0633] 在实施方案中，R^{1A}是由甲氧基接头取代的芳基。在实施方案中，R^{1A}是由接头(例如，$-CH_2-O-$)取代的芳基。在一个非限制性实例中，R^{1A}是由甲氧基接头取代的芳基，其具有式



，

其中LP^1、LP^2、IM、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、z4和z5如本文所定义。

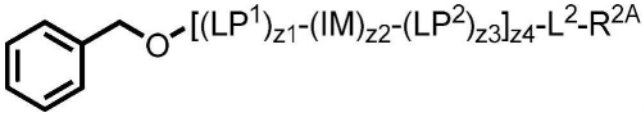
[0634] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式(IX-C)：

[0635] 

，

其中LP^1、LP^2、IM、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、z4和z5如本文所定义。

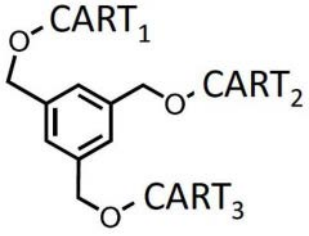
[0636] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式(X-C)：

[0637] 

，

其中LP^1、LP^2、IM、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、z4和z5如本文所定义。

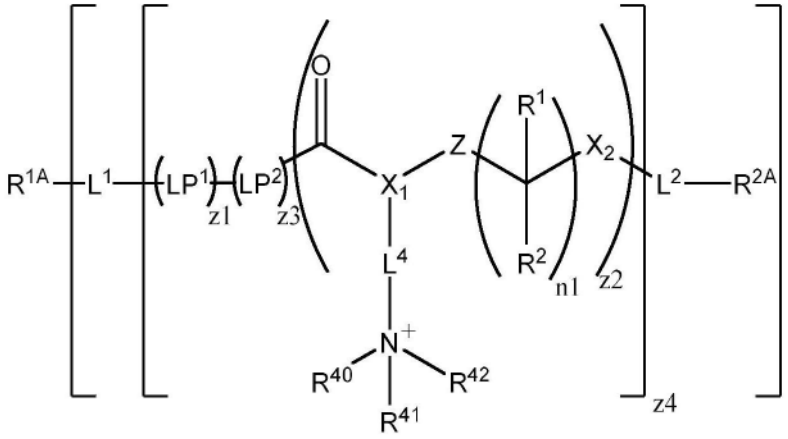
[0638] 在一些实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有式(XI-C)：

[0639] 

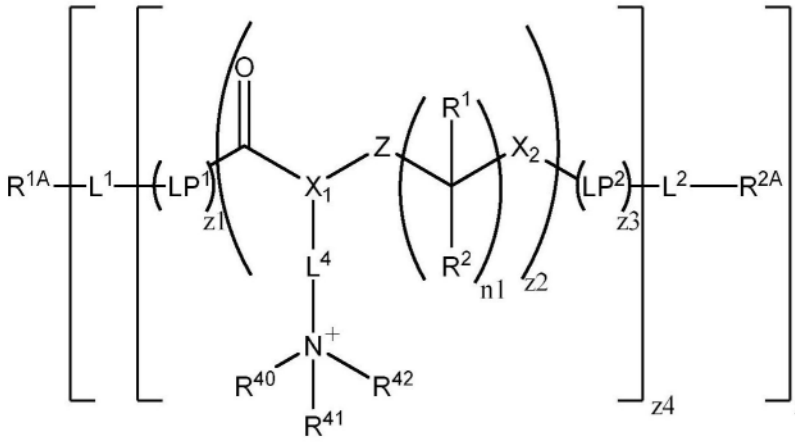
[0640] 其中$CART_1$、$CART_2$和$CART_3$独立地是如在式(VIII-C)中定义的CART部分(例如，$-L^1-[(LP^1)_{z1}-(IM)_{z2}-(LP^2)_{z3}]_{z4}-L^2-R^{2A}$)。在实施方案中，每个CART部分任选是不同的。

[0641] 在实施方案中，L^1是$-CH_2-O-$、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。

[0642] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0643] 

II)或

[0644] 

(III)。

[0645] 在(II)和(III)中,R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

[0646] R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

[0647] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。

[0648] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域。

[0649] X^1是键、-C(R^5)(R^6)-、-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-、-O-C(R^5)(R^6)-、或-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-。

[0650] X^2是-O-或-S-。

[0651] R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0652] L^4是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基。

[0653] R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基。

[0654] Z是-S-、-S^+R^{13}-、-NR^{13}-、或-$N^+(R^{13})$(H)-。

[0655] R^{13}是氢、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-CN、-OH、=O、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-SH、-SO_3H、-SO_2NH_2、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

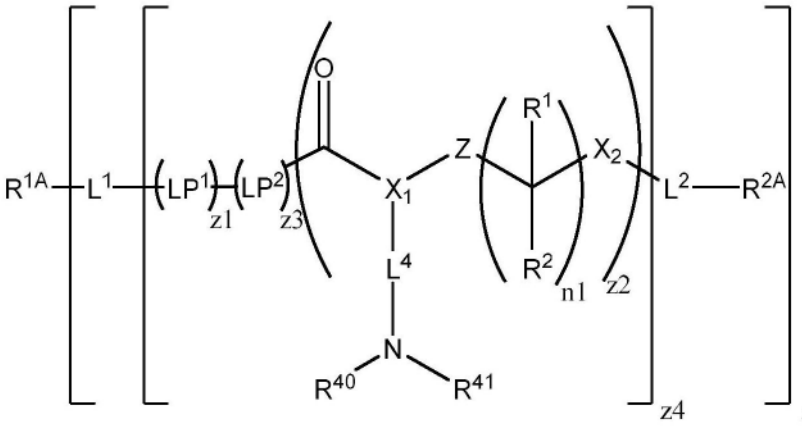
[0656] n1是0至50的整数。

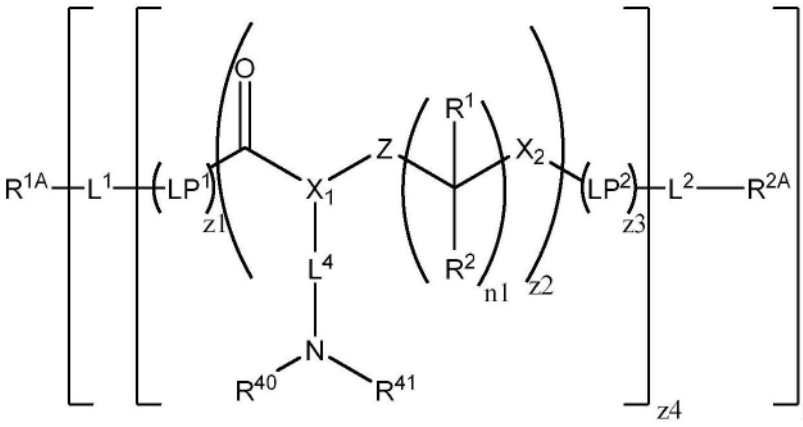
[0657] z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0。

[0658] z4是1至100的整数。

[0659] z2是2至100的整数；且z5是1至10的整数。

[0660] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0661]

(XIV-C) 或


(XV-C)。

[0662] 在式(XIV-C)和(XV-C)中，R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-$NHC(O)NHNH_2$、-$NHC(O)NH_2$、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-

OCH_2I、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

[0663] R^{2A}是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

[0664] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。

[0665] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

[0666] X^1是键、$-C(R^5)(R^6)-$、$-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$、-O-$C(R^5)(R^6)-$、或$-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-$。

[0667] X^2是-O-或-S-。

[0668] R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0669] L^4是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基。

[0670] R^{40}和R^{41}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基。

[0671] Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$。

[0672] R^{13}是氢、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、-CN、-OH、=O、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_2NH_2$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0673] n1是0至50的整数。

[0674] z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0。z4是1至100的整数。z2是2至100的整数；z5是1至10的整数。

[0675] 在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_2-C_8亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_8亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_7亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_6亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_5亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_4亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_3亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_2亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_2-C_8亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_8亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_7亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_6亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_5亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_4亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_3亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_2亚烷基。在实施方案中，L^4是未取代的C_2亚烷基、未取代的C_3亚烷基或未取代的C_4亚烷基。

[0676] 在实施方案中，L^4是取代的(例如，用至少一种取代基、大小限制的取代基或低级

取代基取代的)或未取代的C_2-C_8亚烷基(例如,C_2-C_8、C_2-C_6、C_2-C_4或C_2)。在实施方案中,L^4是未取代的C_2-C_8亚烷基(例如,C_2-C_8、C_2-C_6、C_2-C_4或C_2)。在实施方案中,L^4是未取代的C_2亚烷基、未取代的C_3亚烷基或未取代的C_4亚烷基。

[0677] 在实施方案中,取代的L^4(例如,取代的亚烷基、取代的亚杂烷基、取代的亚环烷基、取代的亚杂环烷基、取代的亚芳基和/或取代的亚杂芳基)是用至少一种取代基、大小限制的取代基或低级取代基取代的;其中如果取代的L^4是用选自取代基、大小限制的取代基和低级取代基的多个基团取代的,每个取代基、大小限制的取代基和/或低级取代基可以任选是不同的。在实施方案中,当L^4是取代的时,其是用至少一种取代基取代的。在实施方案中,当L^4是取代的时,其是用至少一种大小限制的取代基取代的。在实施方案中,当L^4是取代的时,其是用至少一种低级取代基取代的。

[0678] 在实施方案中,R^{40}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基。在实施方案中,R^{40}独立地是氢、取代的(例如,用至少一种取代基、大小限制的取代基或低级取代基取代的)或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4或C_1-C_2)或取代的(例如,用至少一种取代基、大小限制的取代基或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元或4至5元)。

[0679] 在实施方案中,取代的R^{40}(例如,取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基、和/或取代的杂芳基)是用至少一种取代基、大小限制的取代基或低级取代基取代的;其中如果取代的R^{40}是用选自取代基、大小限制的取代基和低级取代基的多个基团取代的,每个取代基、大小限制的取代基和/或低级取代基可以任选是不同的。在实施方案中,当R^{40}是取代的时,其是用至少一种取代基取代的。在实施方案中,当R^{40}是取代的时,其是用至少一种大小限制的取代基取代的。在实施方案中,当R^{40}是取代的时,其是用至少一种低级取代基取代的。

[0680] 在实施方案中,R^{41}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基。在实施方案中,R^{41}独立地是氢、取代的(例如,用至少一种取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)或取代的(例如,用至少一种取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)。

[0681] 在实施方案中,取代的R^{41}(例如,取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基和/或取代的杂芳基)是用至少一种取代基、大小限制的取代基或低级取代基取代的;其中如果取代的R^{41}是用选自取代基、大小限制的取代基和低级取代基的多个基团取代的,每个取代基、大小限制的取代基和/或低级取代基可以任选是不同的。在实施方案中,当R^{41}是取代的时,其是用至少一种取代基取代的。在实施方案中,当R^{41}是取代的时,其是用至少一种大小限制的取代基取代的。在实施方案中,当R^{41}是取代的时,其是用至少一种低级取代基取代的。

[0682] 在实施方案中,R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基。在实施方案中,R^{42}独立地是氢、取代的(例如,用至少一种取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)或取代的(例如,用至少一种取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)。

[0683] 在实施方案中，取代的R^{42}(例如，取代的烷基、取代的杂烷基、取代的环烷基、取代的杂环烷基、取代的芳基、和/或取代的杂芳基)是用至少一种取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的；其中如果取代的R^{42}是由选自取代基、大小限制的取代基和低级取代基的多个基团取代的，则每个取代基、大小限制的取代基和/或低级取代基可以任选是不同的。在实施方案中，当R^{42}是取代的时，其是用至少一种取代基取代的。在实施方案中，当R^{42}是取代的时，其是用至少一种大小限制的取代基取代的。在实施方案中，当R^{42}是取代的时，其是用至少一种低级取代基取代的。

[0684] 在实施方案中，R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢或取代的杂烷基。在实施方案中，R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢或-C(NH)NH_2。在实施方案中，R^{40}、R^{41}、和R^{42}中的至少二个是氢且一个是-C(NH)NH_2。

[0685] 在实施方案中，R^{1A}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{1A}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{1A}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。

[0686] 在实施方案中，R^{1A}是氢、取代或未取代的C_1-C_6烷基、取代或未取代的2至6元杂烷基、取代或未取代的C_3-C_6环烷基、取代或未取代的3至6元杂环烷基、取代或未取代的苯基、或取代或未取代的5至6元杂芳基。

[0687] 在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的烷基(例如，C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的烷基(例如，C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的杂烷基(例如，2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的环烷基(例如，C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的环烷基(例如，C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是未取代的杂环烷基(例如，3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中，R^{1A}是取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}芳

基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{1A}是取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{1A}是未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{1A}是取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。在实施方案中,R^{1A}是取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。在实施方案中,R^{1A}是未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。

[0688] 在实施方案中,R^{1A}是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中,R^{1A}是取代或未取代的苯基。在再一些其它实施方案中,R^{1A}是取代或未取代的芳基。在再一些其它实施方案中,R^{1A}是取代或未取代的苯基或亚萘基。

[0689] 在实施方案中,R^{2A}独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{2A}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{2A}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。

[0690] 在实施方案中,R^{2A}是氢、取代或未取代的C_1-C_6烷基、取代或未取代的2至6元杂烷基、取代或未取代的C_3-C_6环烷基、取代或未取代的3至6元杂环烷基、取代或未取代的苯基、或取代或未取代的5至6元杂芳基。

[0691] 在实施方案中,R^{2A}是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中,R^{2A}是未取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中,R^{2A}是未取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中,R^{2A}是未取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中,R^{2A}是未取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中,R^{2A}是取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{2A}是取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{2A}是未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{2A}

是取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。在实施方案中,R^{2A}是取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。在实施方案中,R^{2A}是未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。

[0692] 在实施方案中,R^{3A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{3A}独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{3A}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{3A}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。

[0693] 在实施方案中,R^{3A}是氢、取代或未取代的C_1-C_6烷基、取代或未取代的2至6元杂烷基、取代或未取代的C_3-C_6环烷基、取代或未取代的3至6元杂环烷基、取代或未取代的苯基、或取代或未取代的5至6元杂芳基.

[0694] 在实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的芳基。在一些其它实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的苯基。在再一些其它实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的芳基。在再一些其它实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的苯基或亚萘基。

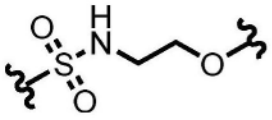
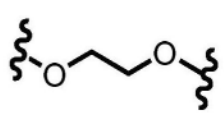
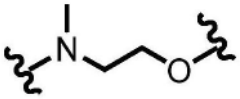
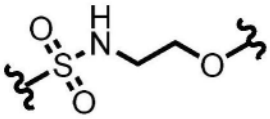
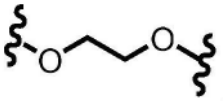
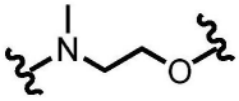
[0695] 在实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中,R^{3A}是未取代的烷基(例如,C_1-C_8烷基、C_1-C_6烷基、或C_1-C_4烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中,R^{3A}是未取代的杂烷基(例如,2至8元杂烷基、2至6元杂烷基、或2至4元杂烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中,R^{3A}是未取代的环烷基(例如,C_3-C_8环烷基、C_3-C_6环烷基、或C_5-C_6环烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中,R^{3A}是未取代的杂环烷基(例如,3至8元杂环烷基、3至6元

杂环烷基、或5至6元杂环烷基)。在实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{3A}是取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{3A}是未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}芳基、C_{10}芳基、或苯基)。在实施方案中,R^{3A}是取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。在实施方案中,R^{3A}是取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。在实施方案中,R^{3A}是未取代的杂芳基(例如,5至10元杂芳基、5至9元杂芳基、或5至6元杂芳基)。

[0696] 在如本文(包括其实施方案)提供的式II、III、XIV-C、和XV-C中,L^1可以是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基。在实施方案中,L^1是取代或未取代的亚甲基。在实施方案中,L^1是取代或未取代的C_1-C_6亚烷基、或取代或未取代的2至6元亚杂烷基。在实施方案中,L^1是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基、或取代或未取代的2至3元亚杂烷基。

[0697] 在实施方案中,L^1是取代或未取代的亚烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的亚杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的亚环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的亚杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的亚芳基(例如,C_6-C_{10}或亚苯基)、或取代或未取代的亚杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,L^1是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂芳基。在实施方案中,L^1是未取代的亚烷基、未取代的亚杂烷基、未取代的亚环烷基、未取代的亚杂环烷基、未取代的亚芳基、或未取代的亚杂芳基。在实施方案中,L^1是未取代的亚烷基(例如,C_1-C_6亚烷基)。在实施方案中,L^1是键。

[0698] 在实施方案中,L^1是-CH_2-O-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基。在实施方案中,L^1是-CH_2-O-。

[0699] 在实施方案中,L^1是-CH_2-O-、  、  、或  。在实施方案中,L^1是-CH_2-O-。在实施方案中,L^1是  。在实施方案中,L^1是  。在实施方案中,L^1是  。

[0700] 在如本文(包括其实施方案)提供的式II、III、(XIV-C)和(XV-C)中,L^2可以取代或未取代的C_1-C_3亚烷基。在实施方案中,L^2是取代或未取代的亚甲基。在实施方案中,L^2是取代或未取代的C_1-C_6亚烷基、或取代或未取代的2至6元亚杂烷基。在实施方案中,L^2是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基、或取代或未取代的2至3元亚杂烷基。

[0701] 在实施方案中，L^2是取代或未取代的亚烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的亚杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的亚环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的亚杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的亚芳基(例如，C_6-C_{10}或亚苯基)、或取代或未取代的亚杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，L^2是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂芳基。在实施方案中，L^2是未取代的亚烷基、未取代的亚杂烷基、未取代的亚环烷基、未取代的亚杂环烷基、未取代的亚芳基、或未取代的亚杂芳基。在实施方案中，L^2是未取代的亚烷基(例如，C_1-C_6亚烷基)。在实施方案中，L^2是键。

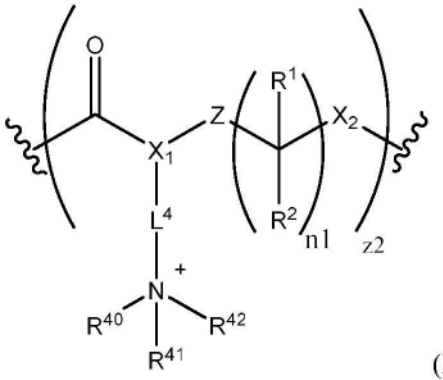
[0702] 在如本文(包括其实施方案)提供的式(II)、(III)、(XIV-C)和(XV-C)中，L^4可以是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的亚甲基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_1-C_6亚烷基、或取代或未取代的2至6元亚杂烷基。在实施方案中，L^4是取代或未取代的C_1-C_3亚烷基、或取代或未取代的2至3元亚杂烷基。

[0703] 如本文所提供，L^4可以是脂肪族接头、肽接头或聚乙二醇化接头。在实施方案中，L^4是取代或未取代的亚烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的亚杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的亚环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的亚杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的亚芳基(例如，C_6-C_{10}或亚苯基)、或取代或未取代的亚杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，L^4是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的亚杂芳基。在实施方案中，L^4是未取代的亚烷基、未取代的亚杂烷基、未取代的亚环烷基、未取代的亚杂环烷基、未取代的亚芳基、或未取代的亚杂芳基。在实施方案中，L^4是未取代的亚烷基(例如，C_1-C_6亚烷基)。在实施方案中，L^4是键。

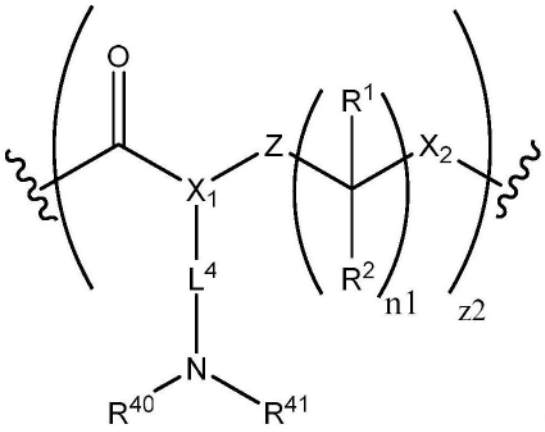
[0704] 在如本文包括其实施方案中提供的式(II)、(III)、(XIV-C)、和(XV-C)中，z2可以是2至90的整数(例如5至90、10至90或20至90)、2至80(例如5至80、10至80或20至80)、2至70(例如5至70、10至70或20至70)、2至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25。在实施方案中，z1和z3独立地是0至90的整数(例如5至90、10至90或20至90)、0至80(例如5至80、10至80或20至80)、0至70(例如5至70、10至70或20至70)、0至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25。在实施方案中，z1和z3独立地是2至90的整数(例如5至90、10至90或20至90)、2至80

(例如5至80、10至80或20至80)、2至70(例如5至70、10至70或20至70)、2至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25。在实施方案中,z4独立地是从1至90的整数(例如5至90、10至90或20至90)、1至80(例如5至80、10至80或20至80)、1至70(例如5至70、10至70或20至70)、1至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25。在实施方案中,z4独立地是2至90的整数(例如5至90、10至90或20至90)、2至80(例如5至80、10至80或20至80)、2至70(例如5至70、10至70或20至70)、2至50(例如5至50、10至50或20至50)或2至25。

[0705] 在实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式的结构:

[0706] 

(XVI-C) 或

[0707] 

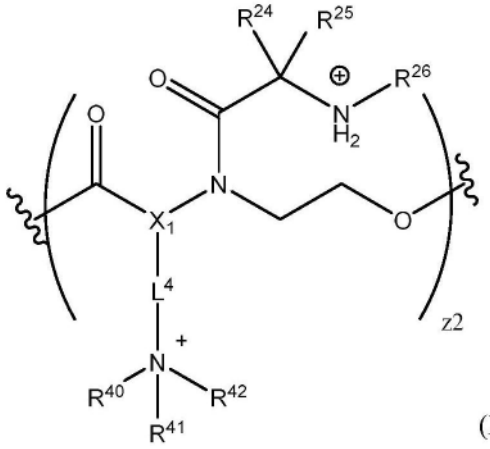
(XVII-C)。

[0708] 在式(XVI-C)或(XVII-C)中,X^1是键、-C(R^5)(R^6)-、-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-、-O-C(R^5)(R^6)-或-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-。X^2是-O-或-S-;R^1和R^2独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;L^4是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基。R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基;Z是-S-、-$S^+$$R^{13}$-、-$NR^{13}$-、或-$N^+$($R^{13}$)(H)-;$R^{13}$是氢、-$CCl_3$、-$CBr_3$、-$CF_3$、-$CI_3$、-CN、-OH、=O、-$NH_2$、-COOH、-$CONH_2$、-SH、-$SO_3H$、-$SO_2NH_2$、-$OCCl_3$、-$OCF_3$、-$OCBr_3$、-$OCI_3$、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;n1是0至50的整数;z2是2至100的整数;且z5是1至10的整数。

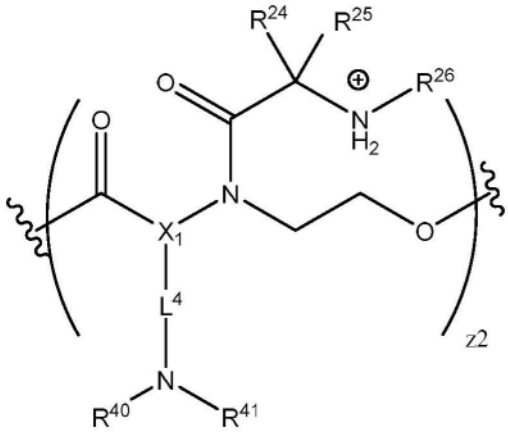
[0709] 在式(II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C)和(XVII-C)中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8可以独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、

C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8是氢。

[0710] 在实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式:

[0711] 

(XVIII-C)或

[0712] 

(XIX-C),

其中R^{24}、R^{25}和R^{26}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基,z2是1至50的整数。

[0713] 在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或

取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,$R^{1.1}$、R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^{24}、R^{25}和R^{26}独立地是氢。

[0714] 在本文(包括其实施方案)提供的式(II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C)、(XVII-C)、(XVIII-C)、和(XIX-C)中,R^1、R^{1A}、R^{2A}、R^{3A}、R^5、R^6、R^7、R^8、R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}、R^{19}、R^{24}、R^{25}、R^{26}、R^{40}、R^{41}、R^{42}、R^{201}、R^{202}和R^{203}可以独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^1、R^{1A}、R^{2A}、R^{3A}、R^5、R^6、R^7、R^8、R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}、R^{19}、R^{24}、R^{25}、R^{26}、R^{40}、R^{41}、R^{42}、R^{201}、R^{202}和R^{203}独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^1、R^{1A}、R^{2A}、R^{3A}、R^5、R^6、R^7、R^8、R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}、R^{19}、R^{24}、R^{25}、R^{26}、R^{40}、R^{41}、R^{42}、R^{201}、R^{202}和R^{203}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^1、R^{1A}、R^{2A}、R^{3A}、R^5、R^6、R^7、R^8、R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}、R^{19}、R^{24}、R^{25}、R^{26}、R^{40}、R^{41}、R^{42}、R^{201}、R^{202}和R^{203}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^1、R^{1A}、R^{2A}、R^{3A}、R^5、R^6、R^7、R^8、R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}、R^{19}、R^{40}、R^{41}、R^{42}、R^{201}、R^{202}和R^{203}是氢。

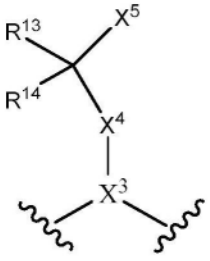
[0715] 在本文(包括其实施方案)提供的式(II)、(III)、(XIV-C)、(XV-C)、(XVI-C)、(XVII-C)、(XVIII-C)、和(XIX-C)中,R^{40}、R^{41}、和R^{42}可以独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)或取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)。在实施方案中,R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基。在实施方案中,R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是未取代的烷基或未取代的杂烷基。在实施方案中,R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^{40}、R^{41}、和R^{42}是氢。

[0716] 在实施方案中,Z是亲核部分。在实施方案中,Z是-S-、-OR^{13}-、-S^+R^{13}-、-NR^{13}-、或-N^+

$(R^{13})(H)-$，其中R^{13}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，Z是-S-。在实施方案中，Z是$-S^{+}R^{13}-$。在实施方案中，Z是$-NR^{13}-$。在实施方案中，Z是$-N^{+}(R^{13})(H)-$。在实施方案中，Z是$-S^{+}H-$。在实施方案中，Z是-NH-。在实施方案中，Z是$-N^{+}H_2-$。在实施方案中，Z是-OH-。在实施方案中，Z是$-N^{+}(R^{13})(H)-$，且R^{13}是氢。

[0717] 在实施方案中，R^{13}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{13}独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{13}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{13}独立地是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在实施方案中，R^{13}是氢。在实施方案中，R^{13}是$-NH_3^{+}$。在实施方案中，R^{13}是$-NH_2$。

[0718] 在实施方案中，R^{13A}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代的或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{13A}独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{13A}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{1A3}独立地是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在实施方案中，R^{13A}是氢。在实施方案中，R^{13A}是$-NH_3^{+}$。在实施方案中，R^{13A}是$-NH_2$。

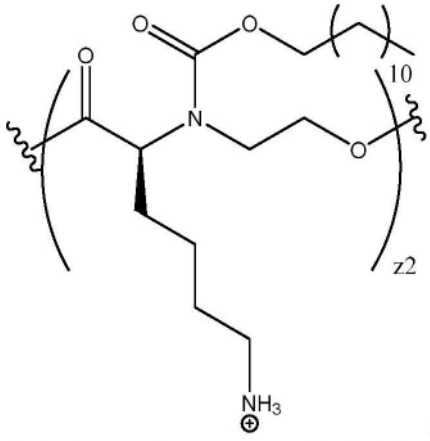
[0719] 在实施方案中，Z是  其中X^3是$-C(R^{15})-$或-N-；X^4是键、-C(O)-、-P(O)

$(OR^{16})_2$-、-S(O)$(OR^{17})_2$-、-C(R^{16})(R^{17})-或-C(R^{16})(R^{17})-C(R^{18})(R^{19})-；X^5是亲核部分；且R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，X^3是-CH。

[0720] 在实施方案中，R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{13}、R^{14}、R^{15}、R^{16}、R^{17}、R^{18}和R^{19}独立地是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。

[0721] 在实施方案中，X^5是-N^+(R^{13})(H)，其中R^{13}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

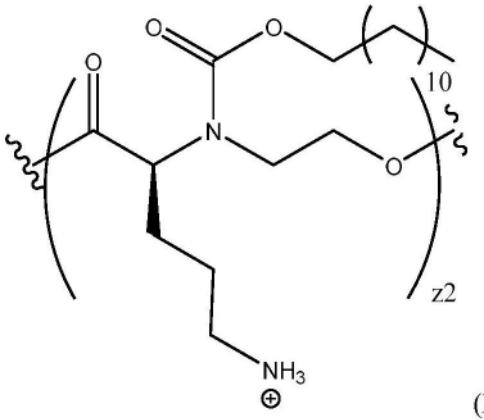
[0722] 在实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(XX-C)：

[0723] 

(XX-C)，

其中z2是如本文所定义。

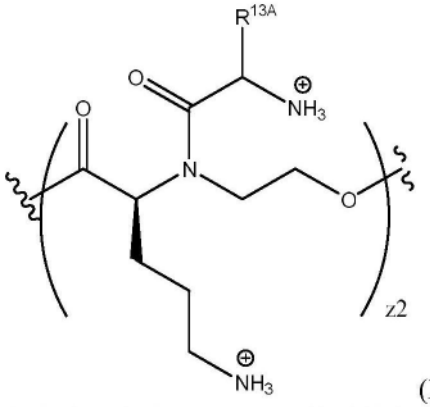
[0724] 在实施方案中，所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(XXb-C)：

[0725] 

(XXb-C),

其中z2是如本文所定义。

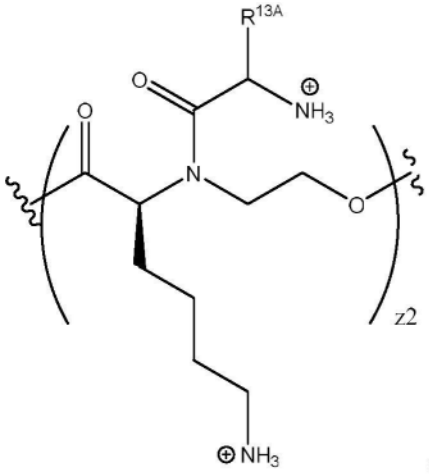
[0726] 在实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(XXI-C):

[0727] 

(XXI)-C,

其中z2和R^{13A}如本文所定义。

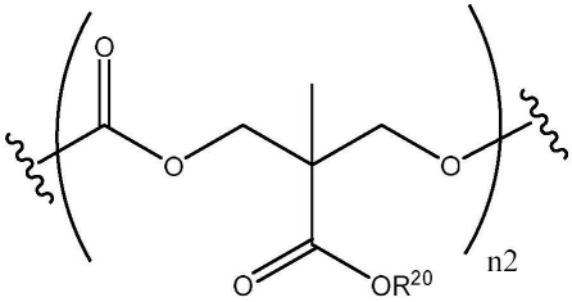
[0728] 在实施方案中,所述pH-敏感性解聚结构域具有下式(XXIa-C):

[0729] 

(XXIa-C),

其中z2和R^{13A}如本文所定义。

[0730] 在实施方案中,所述亲脂性聚合物结构域(LP^1或LP^2)具有下式:

[0731] 

其中，n2是1至100的整数；R^{20}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。

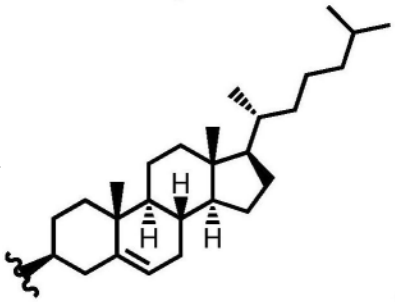
[0732] 在实施方案中，R^{20}是取代或未取代的烷基（例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2）、取代或未取代的杂烷基（例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元）、取代或未取代的环烷基（例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6）、取代或未取代的杂环烷基（例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元）、取代或未取代的芳基（例如，C_6-C_{10}或苯基）、或取代或未取代的杂芳基（例如，5至10元、5至9元、或5至6元）。在实施方案中，R^{20}是取代的（例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的）或未取代的烷基、取代的（例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的）或未取代的杂烷基、取代的（例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的）或未取代的环烷基、取代的（例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的）或未取代的杂环烷基、取代的（例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的）或未取代的芳基、或取代的（例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的）或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{20}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{20}是氢或未取代的烷基（例如，C_1-C_6烷基）。

[0733] 在实施方案中，R^{20}是未取代的C_1-C_{30}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_1-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8-C_{30}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9-C_{18}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{18}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{17}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{16}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{15}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{14}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{13}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{12}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{11}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{10}烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_7烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_6烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_5烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_4烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_3烷基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_2烷基。

[0734] 在实施方案中，R^{20}是未取代的C_1-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_1-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9-C_{18}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{17}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{16}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{15}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{14}烯

基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{13}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{12}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{11}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_{10}烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_8烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_7烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_6烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_5烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_4烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_3烯基。在实施方案中，R^{20}是未取代的C_2烯基。

[0735] 在实施方案中，R^{20}是硬脂酰基部分(例如，未取代的C_{18}烷基)。在实施方案中，R^{20}是油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{20}是亚油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{20}是十二烷基部分(例如，未取代的C_{12}烷基)。在实施方案中，R^{20}是壬烯基部分(例如，未取代的C_9烯基)。在实施方案中，R^{20}是



。

[0736] 在实施方案中，R^1和R^2独立地是氢或取代或未取代的烷基。

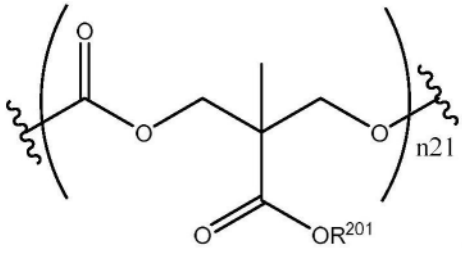
[0737] 在实施方案中，n1是2。

[0738] 在实施方案中，X_2是-O-。

[0739] 在实施方案中，z1或z3独立地是10至40的整数。

[0740] 在实施方案中，z2独立地是3至20的整数。

[0741] 在实施方案中，LP^1具有下式：

[0742] 

，

[0743] 其中n21是1至100的整数；

[0744] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，n21是10-40。在实施方案中，R^{201}是未取代的C_{12}烷基。

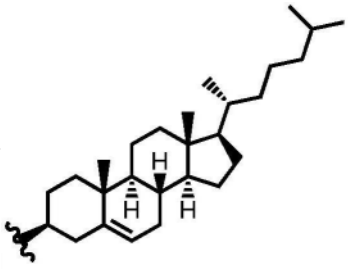
[0745] 在实施方案中，R^{201}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{201}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限

制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{201}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{201}是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。

[0746] 在实施方案中,R^{201}是未取代的C_1-C_{30}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_1-C_{20}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_8-C_{30}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_8-C_{20}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_9-C_{20}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_9-C_{18}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{18}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{17}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{16}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{15}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{14}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{13}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{12}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{11}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{10}烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_9烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_8烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_7烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_6烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_5烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_4烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_3烷基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_2烷基。

[0747] 在实施方案中,R^{201}是未取代的C_1-C_{30}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_1-C_{20}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_8-C_{30}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_8-C_{20}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_9-C_{20}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_9-C_{18}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{17}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{16}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{15}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{14}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{13}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{12}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{11}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_{10}烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_9烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_8烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_7烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_6烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_5烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_4烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_3烯基。在实施方案中,R^{201}是未取代的C_2烯基。

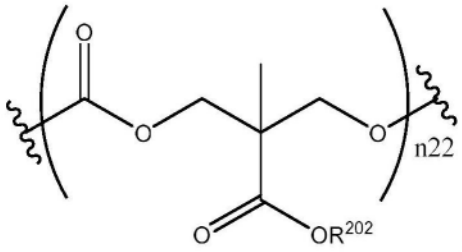
[0748] 在实施方案中,R^{201}是硬脂酰基部分(例如,未取代的C_{18}烷基)。在实施方案中,R^{201}是油烯基部分(例如,未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中,R^{201}是亚油烯基部分(例如,未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中,R^{201}是十二烷基部分(例如,未取代的C_{12}烷基)。在实施方案中,R^{201}是壬烯基部分(例如,未取代的C_9烯基)。在实施方案中,R^{201}是



。

[0749] 在实施方案中,n21是5,R^{201}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中,n21是6,R^{201}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中,未取代的C_{18}烯基是油烯基。

[0750] 在实施方案中,LP^2具有下式:

[0751] 

n22是1至100的整数。R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

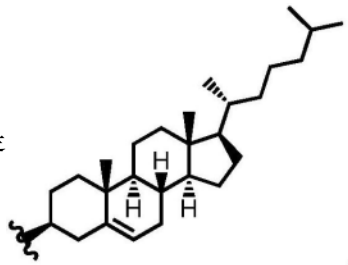
[0752] 在实施方案中，R^{202}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{202}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{202}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{202}是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。

[0753] 在实施方案中，R^{202}是未取代的C_1-C_{30}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_1-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_8-C_{30}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_8-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_9-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_9-C_{18}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{18}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{17}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{16}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{15}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{14}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{13}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{12}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{11}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{10}烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_9烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_8烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_7烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_6烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_5烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_4烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_3烷基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_2烷基。

[0754] 在实施方案中，R^{202}是未取代的C_1-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_1-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_8-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_8-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_9-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_9-C_{18}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{17}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{16}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{15}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{14}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{13}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{12}烯基。在

实施方案中，R^{202}是未取代的C_{11}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{10}烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_8烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_7烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_6烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_5烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_4烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_3烯基。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_2烯基。

[0755] 在实施方案中，R^{202}是硬脂酰基部分(例如，未取代的C_{18}烷基)。在实施方案中，R^{202}是油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{202}是亚油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{202}是十二烷基部分(例如，未取代的C_{12}烷基)。在实施方案中，R^{202}是壬烯基部分(例如，未取代的C_9烯基)。在实施方案中，R^{202}是



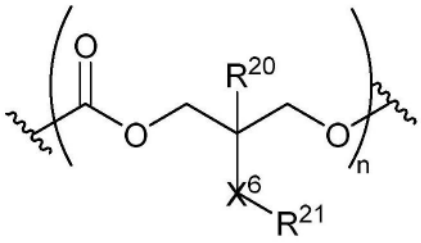
。

[0756] 在实施方案中，n22是10-35。在实施方案中，R^{202}是未取代的C_{12}烯基。

[0757] 在实施方案中，n22是5，R^{202}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，n22是6，R^{202}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，未取代的C_9烯基是壬烯基。

[0758] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域是下式(Ia-C)的化合物：

[0759]



(Ia-C)，

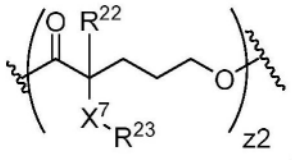
其中X^6可以是-O-、-NH-、-CO_2-、-CONH-、-O_2C-、or-NHCO-、R^{20}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基，R^{21}是氢、取代或未取代的烷基，n是1至100的整数。在实施方案中，R^{20}是低聚乙二醇部分。

[0760] 在实施方案中，R^{20}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{20}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{20}是未取代的烷基、未

取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{20}是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。

[0761] 在实施方案中，R^{21}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{21}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{21}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{21}是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。

[0762] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物具有以下结构：

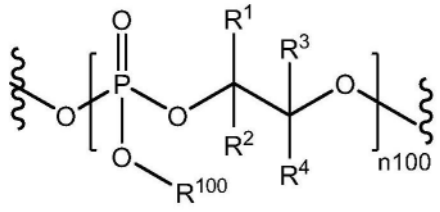
[0763] 

，

其中X^7是-O-、-NH-、-CO_2-、-CONH-、-O_2C-、或-NHCO-；R^{22}是氢、或取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基，R^{23}是取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{22}是低聚乙二醇部分。

[0764] 在实施方案中，R^{22}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{22}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{22}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{22}是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。

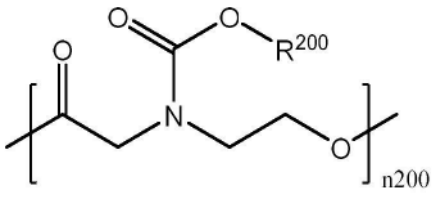
[0765] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域(例如，LP^1、LP^2)具有下式：

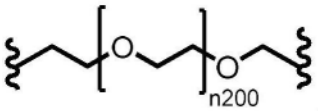
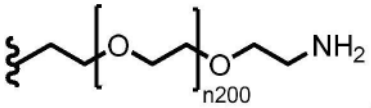
[0766] 
(Ib-C),

其中R^{100}是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基。R^1、R^2、R^3、R^4是氢、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基，且n100是2或如本文所定义的更大的整数。

[0767] 在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4独立地是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。在实施方案中，R^1、R^2、R^3、R^4是氢。

[0768] 在实施方案中，所述亲脂性聚合物结构域具有下式(Ic-C)：

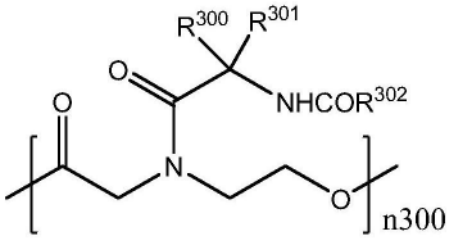
[0769] 
(Ic-C),

其中，R^{200}是取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基，n200是2或更大的整数。在实施方案中，R^{200}是低聚乙二醇部分。在实施方案中，R^{200}是端氨基低聚乙二醇部分。术语“低聚乙二醇部分”是指  ，且“端氨基低聚乙二醇部分”是指  ，其中n200是2或更大的整数。

[0770] 在实施方案中，R^{200}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的

环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{200}是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{200}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{200}是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。在实施方案中,R^{200}是氢。

[0771] 在实施方案中,所述亲脂性聚合物结构域具有下式:

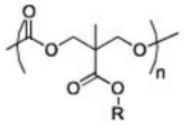
[0772] 

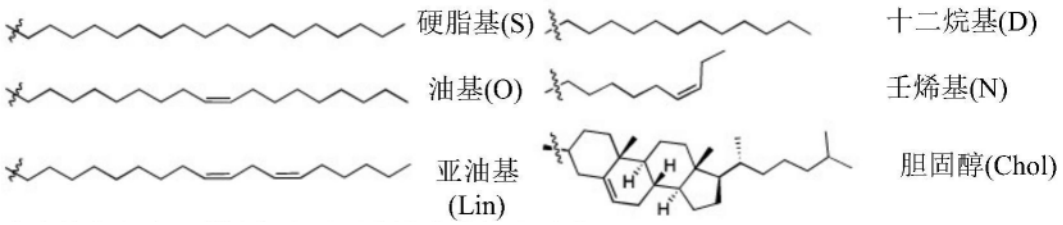
(Id-C),

其中R是取代或未取代的烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基,R^{300}和R^{301}独立地是氢或取代或未取代的烷基,n300是如本文所定义。在实施方案中,R^{302}是低聚乙二醇部分。在实施方案中,R是端氨基低聚乙二醇部分。在实施方案中,R^{300}、R^{301}和R^{302}是氢。

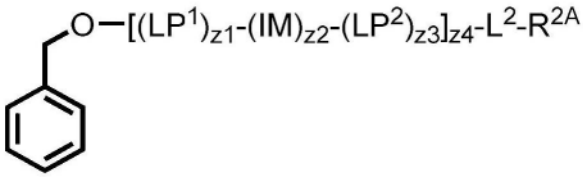
[0773] 在实施方案中,R^{300}、R^{301}、和R^{302}独立地是取代或未取代的烷基(例如,C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如,2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如,C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如,3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如,C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如,5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中,R^{300}、R^{301}、和R^{302}独立地是取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如,用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{300}、R^{301}、和R^{302}独立地是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中,R^{300}、R^{301}、和R^{302}独立地是氢或未取代的烷基(例如,C_1-C_6烷基)。

[0774] 在实施方案中,所述亲脂性聚合物结构域具有下式,其中R是如本文所定义的硬脂酰基、油烯基、亚油烯基、十二烷基、壬烯基和胆固醇:

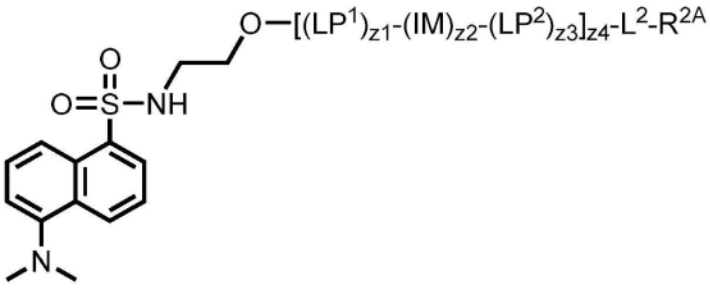


[0775] 

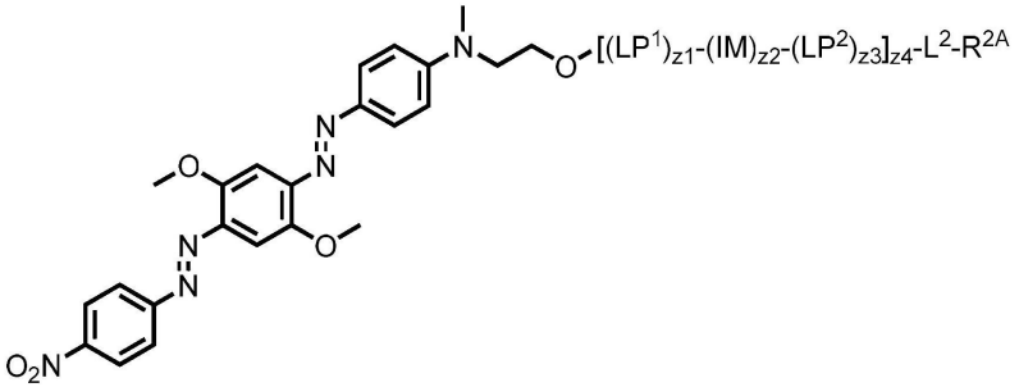
[0776] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0777] 

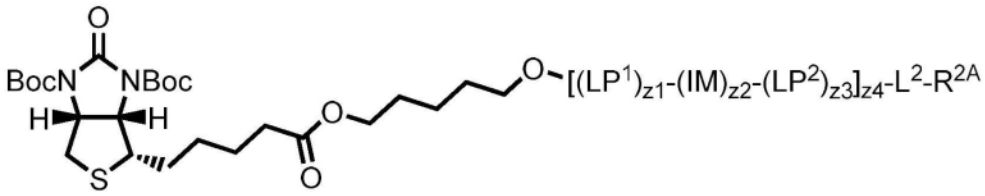
,



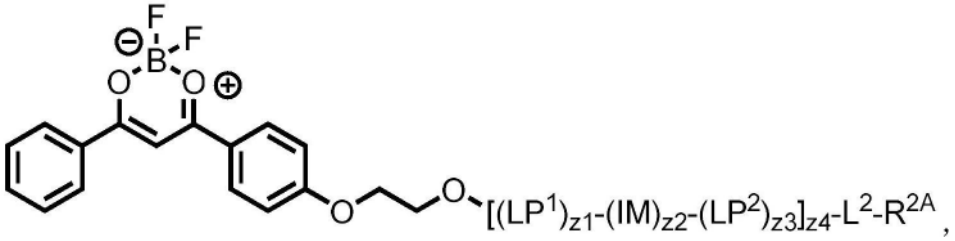
,

[0778] 

,



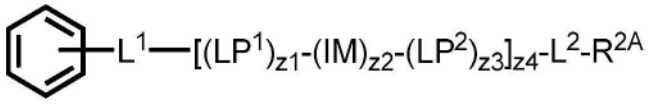
, 或

[0779] 

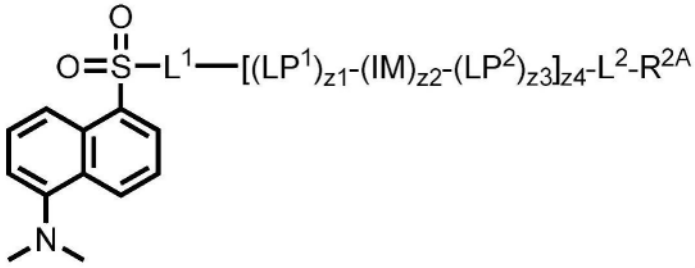
,

其中LP^1、LP^2、IM、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、和z4如本文所定义。

[0780] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

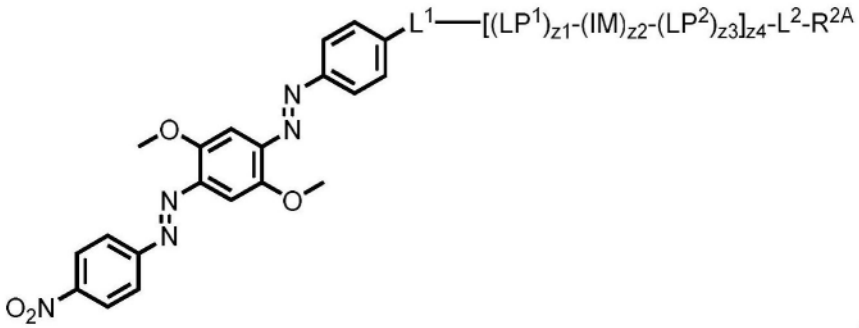
[0781] 

其中LP^1、LP^2、IM、L^1、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、和z4如本文所定义。在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：



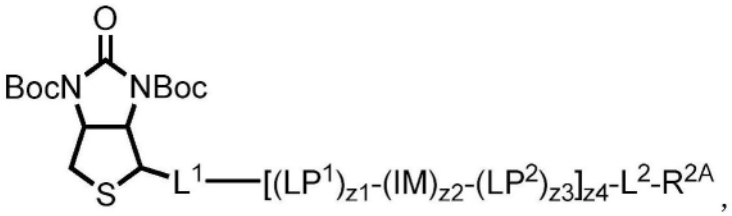
，

其中LP^1、LP^2、IM、L^1、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、和z4如本文所定义。在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0782] 

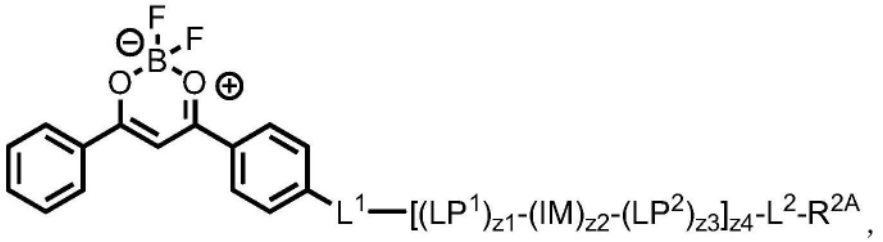
，

其中LP^1、LP^2、IM、L^1、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、和z4如本文所定义。在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0783] 

，

其中LP^1、LP^2、IM、L^1、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、和z4如本文所定义。在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0784] 

，

其中LP^1、LP^2、IM、L^1、L^2、R^{2A}、z1、z2、z3、和z4如本文所定义。

[0785] 在实施方案中，z1、z3和z4可独立地是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0。在实施方案中，z1、z3和z4可独立地是在2至100或2至50范围的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0。

[0786] 在实施方案中，z1是0。在实施方案中，z1是1。在实施方案中，z1是2。在实施方案

中，z1是3。在实施方案中，z1是4。在实施方案中，z1是5。在实施方案中，z1是6。在实施方案中，z1是7。在实施方案中，z1是8。在实施方案中，z1是9。在实施方案中，z1是10。在实施方案中，z1是11。在实施方案中，z1是12。在实施方案中，z1是13。在实施方案中，z1是14。在实施方案中，z1是15。在实施方案中，z1是16。在实施方案中，z1是17。在实施方案中，z1是18。在实施方案中，z1是19。在实施方案中，z1是20。在实施方案中，z1是21。在实施方案中，z1是22。在实施方案中，z1是23。在实施方案中，z1是24。在实施方案中，z1是25。在实施方案中，z1是26。在实施方案中，z1是27。在实施方案中，z1是28。在实施方案中，z1是29。在实施方案中，z1是30。在实施方案中，z1是31。在实施方案中，z1是32。在实施方案中，z1是33。在实施方案中，z1是34。在实施方案中，z1是35。在实施方案中，z1是36。在实施方案中，z1是37。在实施方案中，z1是38。在实施方案中，z1是39。在实施方案中，z1是40。在实施方案中，z1是41。在实施方案中，z1是42。在实施方案中，z1是43。在实施方案中，z1是44。在实施方案中，z1是45。在实施方案中，z1是46。在实施方案中，z1是47。在实施方案中，z1是48。在实施方案中，z1是49。在实施方案中，z1是50。在实施方案中，z1是51。在实施方案中，z1是52。在实施方案中，z1是53。在实施方案中，z1是54。在实施方案中，z1是55。在实施方案中，z1是56。在实施方案中，z1是57。在实施方案中，z1是58。在实施方案中，z1是59。在实施方案中，z1是60。在实施方案中，z1是61。在实施方案中，z1是62。在实施方案中，z1是63。在实施方案中，z1是64。在实施方案中，z1是65。在实施方案中，z1是66。在实施方案中，z1是67。在实施方案中，z1是68。在实施方案中，z1是69。在实施方案中，z1是70。在实施方案中，z1是71。在实施方案中，z1是72。在实施方案中，z1是73。在实施方案中，z1是74。在实施方案中，z1是75。在实施方案中，z1是76。在实施方案中，z1是77。在实施方案中，z1是78。在实施方案中，z1是79。在实施方案中，z1是80。在实施方案中，z1是81。在实施方案中，z1是82。在实施方案中，z1是83。在实施方案中，z1是84。在实施方案中，z1是85。在实施方案中，z1是86。在实施方案中，z1是87。在实施方案中，z1是88。在实施方案中，z1是89。在实施方案中，z1是90。在实施方案中，z1是91。在实施方案中，z1是92。在实施方案中，z1是93。在实施方案中，z1是94。在实施方案中，z1是95。在实施方案中，z1是96。在实施方案中，z1是97。在实施方案中，z1是98。在实施方案中，z1是99。在实施方案中，z1是100。

[0787] 在实施方案中，z3是0。在实施方案中，z3是1。在实施方案中，z3是2。在实施方案中，z3是3。在实施方案中，z3是4。在实施方案中，z3是5。在实施方案中，z3是6。在实施方案中，z3是7。在实施方案中，z3是8。在实施方案中，z3是9。在实施方案中，z3是10。在实施方案中，z3是11。在实施方案中，z3是12。在实施方案中，z3是13。在实施方案中，z3是14。在实施方案中，z3是15。在实施方案中，z3是16。在实施方案中，z3是17。在实施方案中，z3是18。在实施方案中，z3是19。在实施方案中，z3是20。在实施方案中，z3是21。在实施方案中，z3是22。在实施方案中，z3是23。在实施方案中，z3是24。在实施方案中，z3是25。在实施方案中，z3是26。在实施方案中，z3是27。在实施方案中，z3是28。在实施方案中，z3是29。在实施方案中，z3是30。在实施方案中，z3是31。在实施方案中，z3是32。在实施方案中，z3是33。在实施方案中，z3是34。在实施方案中，z3是35。在实施方案中，z3是36。在实施方案中，z3是37。在实施方案中，z3是38。在实施方案中，z3是39。在实施方案中，z3是40。在实施方案中，z3是41。在实施方案中，z3是42。在实施方案中，z3是43。在实施方案中，z3是44。在实施方案中，z3是45。在实施方案中，z3是46。在实施方案中，z3是47。在实施方案中，z3是48。在实施方案

中，z3是49。在实施方案中，z3是50。在实施方案中，z3是51。在实施方案中，z3是52。在实施方案中，z3是53。在实施方案中，z3是54。在实施方案中，z3是55。在实施方案中，z3是56。在实施方案中，z3是57。在实施方案中，z3是58。在实施方案中，z3是59。在实施方案中，z3是60。在实施方案中，z3是61。在实施方案中，z3是62。在实施方案中，z3是63。在实施方案中，z3是64。在实施方案中，z3是65。在实施方案中，z3是66。在实施方案中，z3是67。在实施方案中，z3是68。在实施方案中，z3是69。在实施方案中，z3是70。在实施方案中，z3是71。在实施方案中，z3是72。在实施方案中，z3是73。在实施方案中，z3是74。在实施方案中，z3是75。在实施方案中，z3是76。在实施方案中，z3是77。在实施方案中，z3是78。在实施方案中，z3是79。在实施方案中，z3是80。在实施方案中，z3是81。在实施方案中，z3是82。在实施方案中，z3是83。在实施方案中，z3是84。在实施方案中，z3是85。在实施方案中，z3是86。在实施方案中，z3是87。在实施方案中，z3是88。在实施方案中，z3是89。在实施方案中，z3是90。在实施方案中，z3是91。在实施方案中，z3是92。在实施方案中，z3是93。在实施方案中，z3是94。在实施方案中，z3是95。在实施方案中，z3是96。在实施方案中，z3是97。在实施方案中，z3是98。在实施方案中，z3是99。在实施方案中，z3是100。

[0788] 在实施方案中，z4是1。在实施方案中，z4是2。在实施方案中，z4是3。在实施方案中，z4是4。在实施方案中，z4是5。在实施方案中，z4是6。在实施方案中，z4是7。在实施方案中，z4是8。在实施方案中，z4是9。在实施方案中，z4是10。在实施方案中，z4是11。在实施方案中，z4是12。在实施方案中，z4是13。在实施方案中，z4是14。在实施方案中，z4是15。在实施方案中，z4是16。在实施方案中，z4是17。在实施方案中，z4是18。在实施方案中，z4是19。在实施方案中，z4是20。在实施方案中，z4是21。在实施方案中，z4是22。在实施方案中，z4是23。在实施方案中，z4是24。在实施方案中，z4是25。在实施方案中，z4是26。在实施方案中，z4是27。在实施方案中，z4是28。在实施方案中，z4是29。在实施方案中，z4是30。在实施方案中，z4是31。在实施方案中，z4是32。在实施方案中，z4是33。在实施方案中，z4是34。在实施方案中，z4是35。在实施方案中，z4是36。在实施方案中，z4是37。在实施方案中，z4是38。在实施方案中，z4是39。在实施方案中，z4是40。在实施方案中，z4是41。在实施方案中，z4是42。在实施方案中，z4是43。在实施方案中，z4是44。在实施方案中，z4是45。在实施方案中，z4是46。在实施方案中，z4是47。在实施方案中，z4是48。在实施方案中，z4是49。在实施方案中，z4是50。在实施方案中，z4是51。在实施方案中，z4是52。在实施方案中，z4是53。在实施方案中，z4是54。在实施方案中，z4是55。在实施方案中，z4是56。在实施方案中，z4是57。在实施方案中，z4是58。在实施方案中，z4是59。在实施方案中，z4是60。在实施方案中，z4是61。在实施方案中，z4是62。在实施方案中，z4是63。在实施方案中，z4是64。在实施方案中，z4是65。在实施方案中，z4是66。在实施方案中，z4是67。在实施方案中，z4是68。在实施方案中，z4是69。在实施方案中，z4是70。在实施方案中，z4是71。在实施方案中，z4是72。在实施方案中，z4是73。在实施方案中，z4是74。在实施方案中，z4是75。在实施方案中，z4是76。在实施方案中，z4是77。在实施方案中，z4是78。在实施方案中，z4是79。在实施方案中，z4是80。在实施方案中，z4是81。在实施方案中，z4是82。在实施方案中，z4是83。在实施方案中，z4是84。在实施方案中，z4是85。在实施方案中，z4是86。在实施方案中，z4是87。在实施方案中，z4是88。在实施方案中，z4是89。在实施方案中，z4是90。在实施方案中，z4是91。在实施方案中，z4是92。在实施方案中，z4是93。在实施方案中，z4是94。在实施方案中，z4是95。在

实施方案中,z4是96。在实施方案中,z4是97。在实施方案中,z4是98。在实施方案中,z4是99。在实施方案中,z4是100。

[0789] 在实施方案中,n是2。在实施方案中,n是3。在实施方案中,n是4。在实施方案中,n是5。在实施方案中,n是6。在实施方案中,n是7。在实施方案中,n是8。在实施方案中,n是9。在实施方案中,n是10。在实施方案中,n是11。在实施方案中,n是12。在实施方案中,n是13。在实施方案中,n是14。在实施方案中,n是15。在实施方案中,n是16。在实施方案中,n是17。在实施方案中,n是18。在实施方案中,n是19。在实施方案中,n是20。在实施方案中,n是21。在实施方案中,n是22。在实施方案中,n是23。在实施方案中,n是24。在实施方案中,n是25。在实施方案中,n是26。在实施方案中,n是27。在实施方案中,n是28。在实施方案中,n是29。在实施方案中,n是30。在实施方案中,n是31。在实施方案中,n是32。在实施方案中,n是33。在实施方案中,n是34。在实施方案中,n是35。在实施方案中,n是36。在实施方案中,n是37。在实施方案中,n是38。在实施方案中,n是39。在实施方案中,n是40。在实施方案中,n是41。在实施方案中,n是42。在实施方案中,n是43。在实施方案中,n是44。在实施方案中,n是45。在实施方案中,n是46。在实施方案中,n是47。在实施方案中,n是48。在实施方案中,n是49。在实施方案中,n是50。在实施方案中,n是51。在实施方案中,n是52。在实施方案中,n是53。在实施方案中,n是54。在实施方案中,n是55。在实施方案中,n是56。在实施方案中,n是57。在实施方案中,n是58。在实施方案中,n是59。在实施方案中,n是60。在实施方案中,n是61。在实施方案中,n是62。在实施方案中,n是63。在实施方案中,n是64。在实施方案中,n是65。在实施方案中,n是66。在实施方案中,n是67。在实施方案中,n是68。在实施方案中,n是69。在实施方案中,n是70。在实施方案中,n是71。在实施方案中,n是72。在实施方案中,n是73。在实施方案中,n是74。在实施方案中,n是75。在实施方案中,n是76。在实施方案中,n是77。在实施方案中,n是78。在实施方案中,n是79。在实施方案中,n是80。在实施方案中,n是81。在实施方案中,n是82。在实施方案中,n是83。在实施方案中,n是84。在实施方案中,n是85。在实施方案中,n是86。在实施方案中,n是87。在实施方案中,n是88。在实施方案中,n是89。在实施方案中,n是90。在实施方案中,n是91。在实施方案中,n是92。在实施方案中,n是93。在实施方案中,n是94。在实施方案中,n是95。在实施方案中,n是96。在实施方案中,n是97。在实施方案中,n是98。在实施方案中,n是99。在实施方案中,n是100。

[0790] 在实施方案中,n1是0。在实施方案中,n1是1。在实施方案中,n1是2。在实施方案中,n1是3。在实施方案中,n1是4。在实施方案中,n1是5。在实施方案中,n1是6。在实施方案中,n1是7。在实施方案中,n1是8。在实施方案中,n1是9。在实施方案中,n1是10。在实施方案中,n1是11。在实施方案中,n1是12。在实施方案中,n1是13。在实施方案中,n1是14。在实施方案中,n1是15。在实施方案中,n1是16。在实施方案中,n1是17。在实施方案中,n1是18。在实施方案中,n1是19。在实施方案中,n1是20。在实施方案中,n1是21。在实施方案中,n1是22。在实施方案中,n1是23。在实施方案中,n1是24。在实施方案中,n1是25。在实施方案中,n1是26。在实施方案中,n1是27。在实施方案中,n1是28。在实施方案中,n1是29。在实施方案中,n1是30。在实施方案中,n1是31。在实施方案中,n1是32。在实施方案中,n1是33。在实施方案中,n1是34。在实施方案中,n1是35。在实施方案中,n1是36。在实施方案中,n1是37。在实施方案中,n1是38。在实施方案中,n1是39。在实施方案中,n1是40。在实施方案中,n1是41。在实施方案中,n1是42。在实施方案中,n1是43。在实施方案中,n1是44。在实施方案中,

n1是45。在实施方案中，n1是46。在实施方案中，n1是47。在实施方案中，n1是48。在实施方案中，n1是49。在实施方案中，n1是50。

[0791] 在实施方案中，n2是1。在实施方案中，n2是2。在实施方案中，n2是3。在实施方案中，n2是4。在实施方案中，n2是5。在实施方案中，n2是6。在实施方案中，n2是7。在实施方案中，n2是8。在实施方案中，n2是9。在实施方案中，n2是10。在实施方案中，n2是11。在实施方案中，n2是12。在实施方案中，n2是13。在实施方案中，n2是14。在实施方案中，n2是15。在实施方案中，n2是16。在实施方案中，n2是17。在实施方案中，n2是18。在实施方案中，n2是19。在实施方案中，n2是20。在实施方案中，n2是21。在实施方案中，n2是22。在实施方案中，n2是23。在实施方案中，n2是24。在实施方案中，n2是25。在实施方案中，n2是26。在实施方案中，n2是27。在实施方案中，n2是28。在实施方案中，n2是29。在实施方案中，n2是30。在实施方案中，n2是31。在实施方案中，n2是32。在实施方案中，n2是33。在实施方案中，n2是34。在实施方案中，n2是35。在实施方案中，n2是36。在实施方案中，n2是37。在实施方案中，n2是38。在实施方案中，n2是39。在实施方案中，n2是40。在实施方案中，n2是41。在实施方案中，n2是42。在实施方案中，n2是43。在实施方案中，n2是44。在实施方案中，n2是45。在实施方案中，n2是46。在实施方案中，n2是47。在实施方案中，n2是48。在实施方案中，n2是49。在实施方案中，n2是50。在实施方案中，n2是51。在实施方案中，n2是52。在实施方案中，n2是53。在实施方案中，n2是54。在实施方案中，n2是55。在实施方案中，n2是56。在实施方案中，n2是57。在实施方案中，n2是58。在实施方案中，n2是59。在实施方案中，n2是60。在实施方案中，n2是61。在实施方案中，n2是62。在实施方案中，n2是63。在实施方案中，n2是64。在实施方案中，n2是65。在实施方案中，n2是66。在实施方案中，n2是67。在实施方案中，n2是68。在实施方案中，n2是69。在实施方案中，n2是70。在实施方案中，n2是71。在实施方案中，n2是72。在实施方案中，n2是73。在实施方案中，n2是74。在实施方案中，n2是75。在实施方案中，n2是76。在实施方案中，n2是77。在实施方案中，n2是78。在实施方案中，n2是79。在实施方案中，n2是80。在实施方案中，n2是81。在实施方案中，n2是82。在实施方案中，n2是83。在实施方案中，n2是84。在实施方案中，n2是85。在实施方案中，n2是86。在实施方案中，n2是87。在实施方案中，n2是88。在实施方案中，n2是89。在实施方案中，n2是90。在实施方案中，n2是91。在实施方案中，n2是92。在实施方案中，n2是93。在实施方案中，n2是94。在实施方案中，n2是95。在实施方案中，n2是96。在实施方案中，n2是97。在实施方案中，n2是98。在实施方案中，n2是99。在实施方案中，n2是100。

[0792] 在实施方案中，z2是2。在实施方案中，z2是3。在实施方案中，z2是4。在实施方案中，z2是5。在实施方案中，z2是6。在实施方案中，z2是7。在实施方案中，z2是8。在实施方案中，z2是9。在实施方案中，z2是10。在实施方案中，z2是11。在实施方案中，z2是12。在实施方案中，z2是13。在实施方案中，z2是14。在实施方案中，z2是15。在实施方案中，z2是16。在实施方案中，z2是17。在实施方案中，z2是18。在实施方案中，z2是19。在实施方案中，z2是20。在实施方案中，z2是21。在实施方案中，z2是22。在实施方案中，z2是23。在实施方案中，z2是24。在实施方案中，z2是25。在实施方案中，z2是26。在实施方案中，z2是27。在实施方案中，z2是28。在实施方案中，z2是29。在实施方案中，z2是30。在实施方案中，z2是31。在实施方案中，z2是32。在实施方案中，z2是33。在实施方案中，z2是34。在实施方案中，z2是35。在实施方案中，z2是36。在实施方案中，z2是37。在实施方案中，z2是38。在实施方案中，z2是39。在

实施方案中，z2是40。在实施方案中，z2是41。在实施方案中，z2是42。在实施方案中，z2是43。在实施方案中，z2是44。在实施方案中，z2是45。在实施方案中，z2是46。在实施方案中，z2是47。在实施方案中，z2是48。在实施方案中，z2是49。在实施方案中，z2是50。在实施方案中，z2是51。在实施方案中，z2是52。在实施方案中，z2是53。在实施方案中，z2是54。在实施方案中，z2是55。在实施方案中，z2是56。在实施方案中，z2是57。在实施方案中，z2是58。在实施方案中，z2是59。在实施方案中，z2是60。在实施方案中，z2是61。在实施方案中，z2是62。在实施方案中，z2是63。在实施方案中，z2是64。在实施方案中，z2是65。在实施方案中，z2是66。在实施方案中，z2是67。在实施方案中，z2是68。在实施方案中，z2是69。在实施方案中，z2是70。在实施方案中，z2是71。在实施方案中，z2是72。在实施方案中，z2是73。在实施方案中，z2是74。在实施方案中，z2是75。在实施方案中，z2是76。在实施方案中，z2是77。在实施方案中，z2是78。在实施方案中，z2是79。在实施方案中，z2是80。在实施方案中，z2是81。在实施方案中，z2是82。在实施方案中，z2是83。在实施方案中，z2是84。在实施方案中，z2是85。在实施方案中，z2是86。在实施方案中，z2是87。在实施方案中，z2是88。在实施方案中，z2是89。在实施方案中，z2是90。在实施方案中，z2是91。在实施方案中，z2是92。在实施方案中，z2是93。在实施方案中，z2是94。在实施方案中，z2是95。在实施方案中，z2是96。在实施方案中，z2是97。在实施方案中，z2是98。在实施方案中，z2是99。在实施方案中，z2是100。

[0793] 在实施方案中，z5是1。在实施方案中，z5是2。在实施方案中，z5是3。在实施方案中，z5是4。在实施方案中，z5是5。在实施方案中，z5是6。在实施方案中，z5是7。在实施方案中，z5是8。在实施方案中，z5是9。在实施方案中，z5是10。

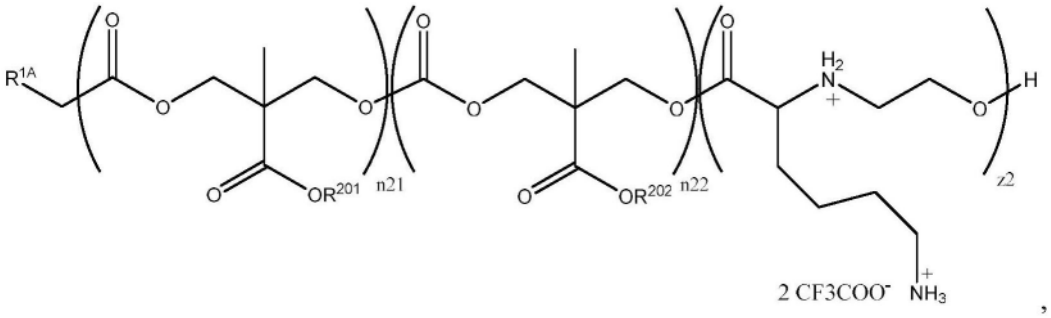
[0794] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有任何前述式，其中z2是2至100的整数。在实施方案中，z2可以是在2至100、2至90、2至80、2至70、2至60、2至50、2至40、2至30、2至20、或2至10范围内的整数。在实施方案中，z2是2至100或2至50的整数。

[0795] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有任何前述式，其中z5是1至3的整数。在其它实施方案中，z5是1或3。在一些其它实施方案中，z5是1。在一些其它实施方案中，z5是3。

[0796] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有任何前述式，其中R^2是氢。

[0797] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有任何前述式，其中L^2是键。

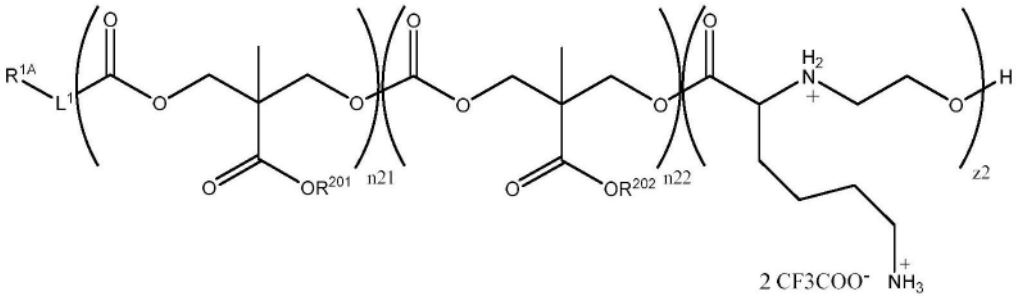
[0798] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0799] 

，

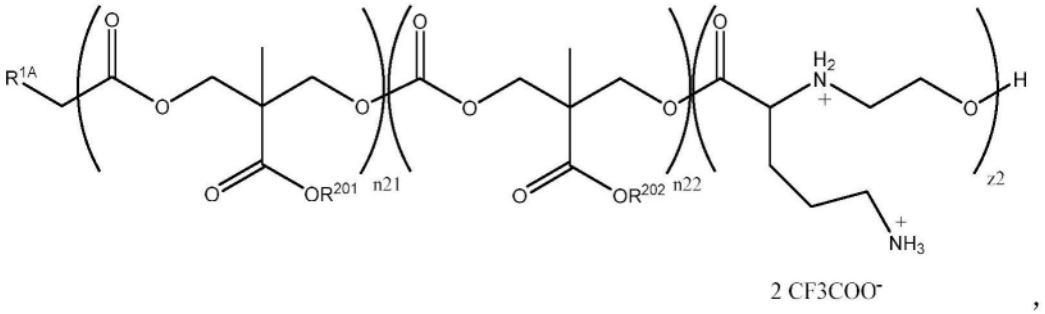
[0800] 其中n21是5，R^{201}是油烯基，n22是5，R^{202}是壬烯基，且z2是7。

[0801] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0802] 

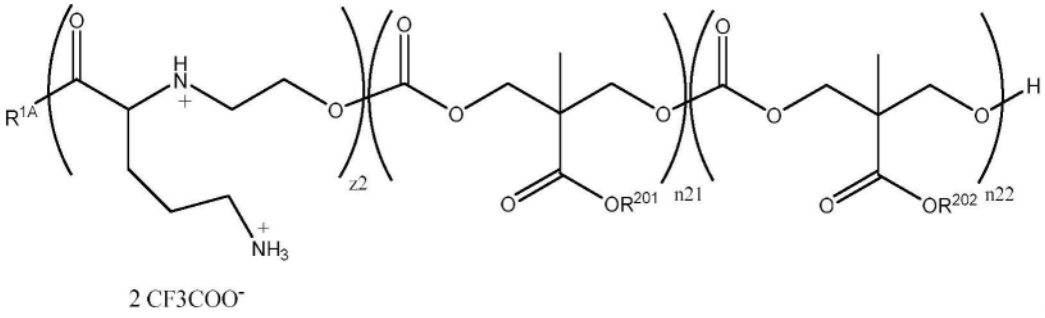
[0803] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,L^1是-O-,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。

[0804] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0805] 

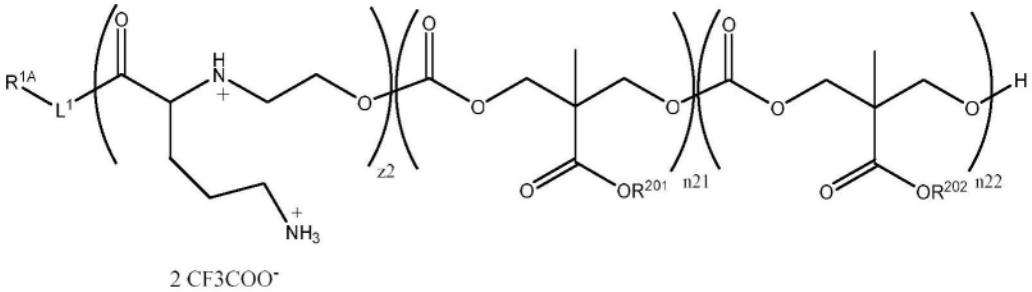
[0806] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。

[0807] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

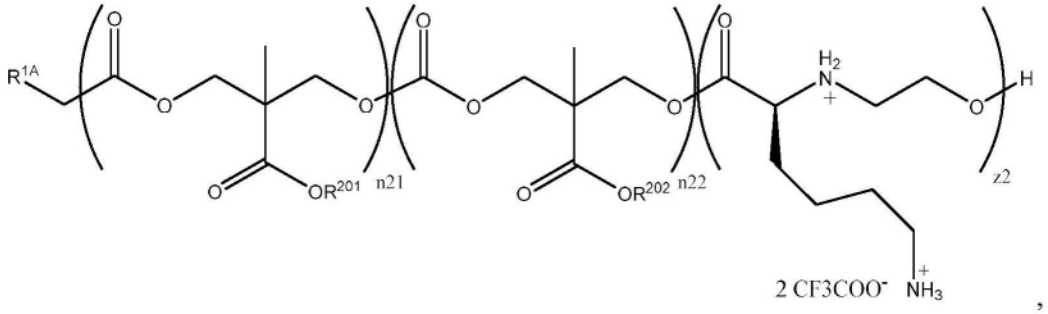
[0808] 

[0809] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。

[0810] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

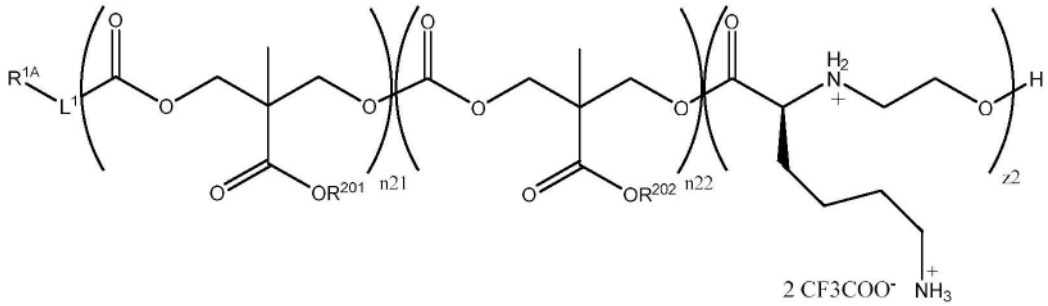
[0811] 

[0812] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,L^1是-O-,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

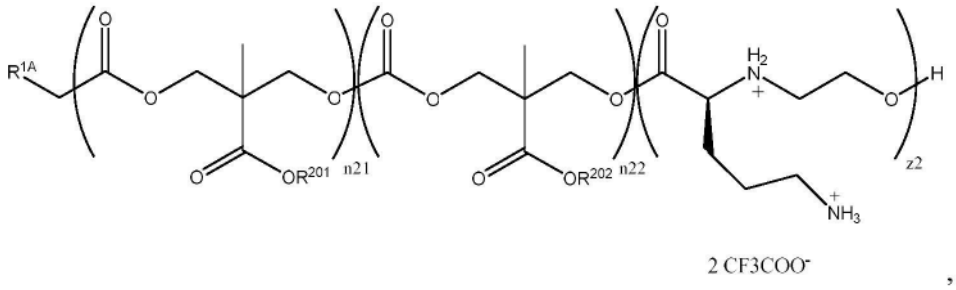
[0813] 

[0814] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。

[0815] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

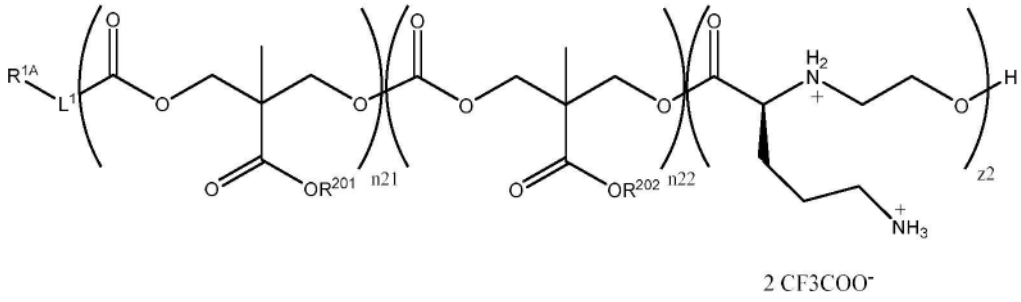
[0816] 

[0817] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,L^1是-O-,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

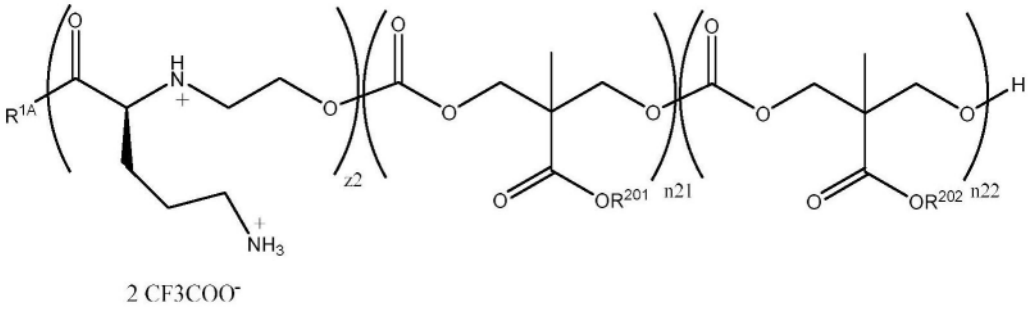
[0818] 

[0819] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。

[0820] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

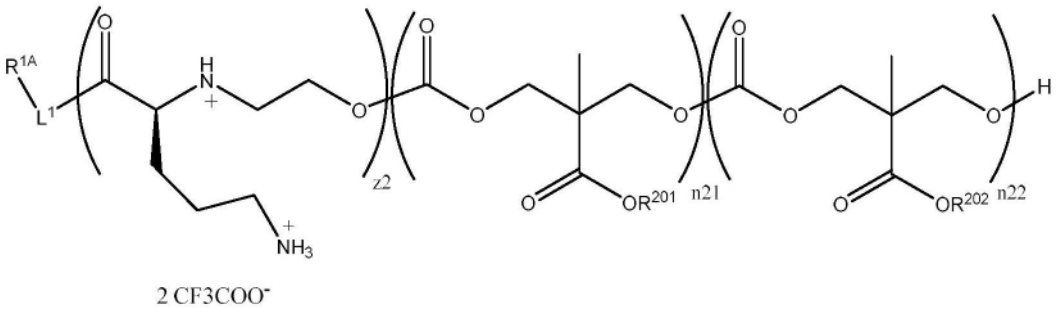
[0821] 

[0822] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,L^1是-O-,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

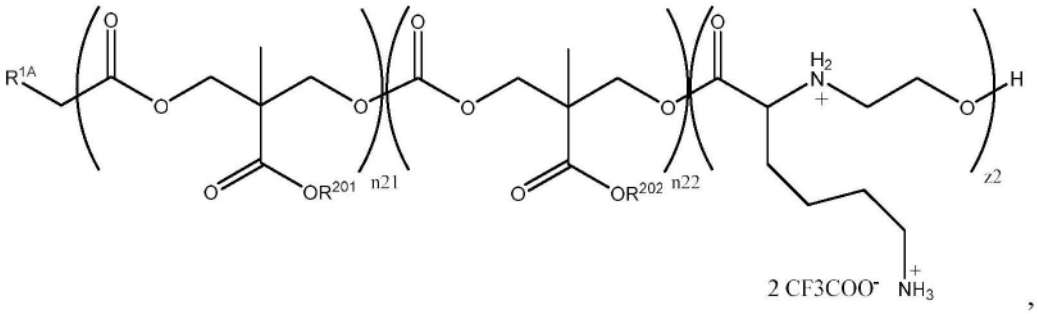
[0823] 

[0824] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,n22是5,R^{202}是壬烯基,且z2是7。

[0825] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0826] 

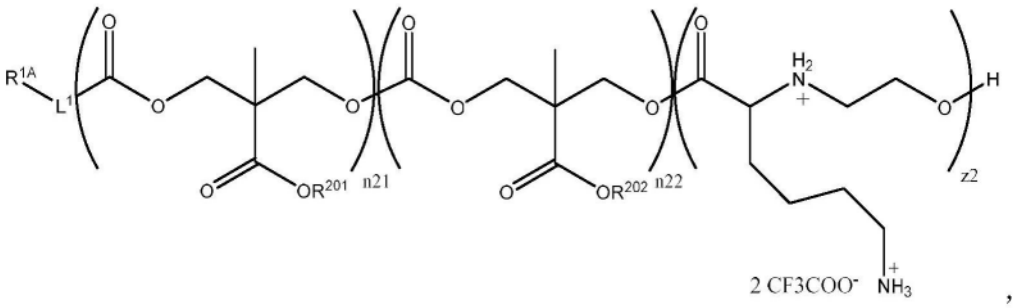
[0827] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,L^1是-O-,n22是5,R^{202}是壬烯基且,z2是7。在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0828] 

,

[0829] 其中n21是4,n22是4,且z2是8。

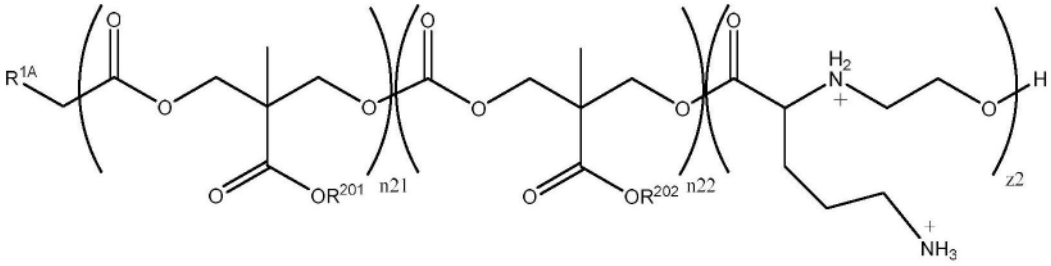
[0830] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0831] 

,

[0832] 其中n21是4,n22是4,且z2是8。

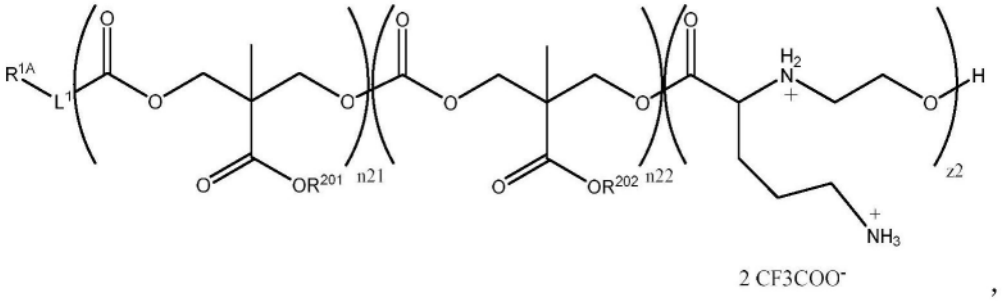
[0833] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0834] 

,

[0835] 其中n21是4,n22是4,且z2是8。

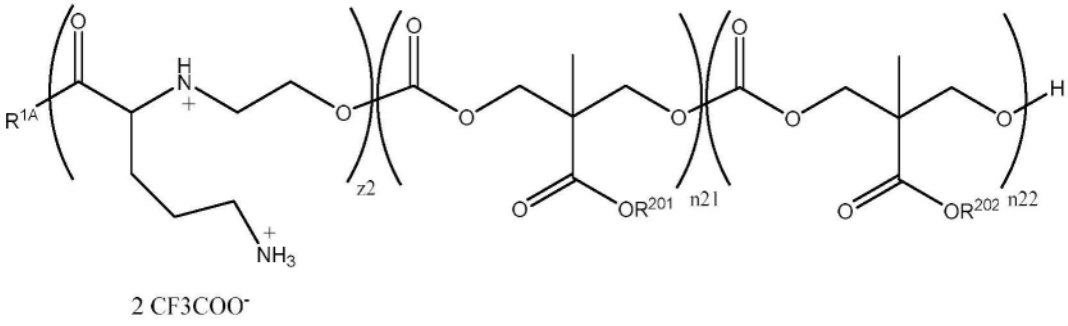
[0836] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0837] 

,

[0838] 其中n21是4,L^1是-O-,n22是4,且z2是8。

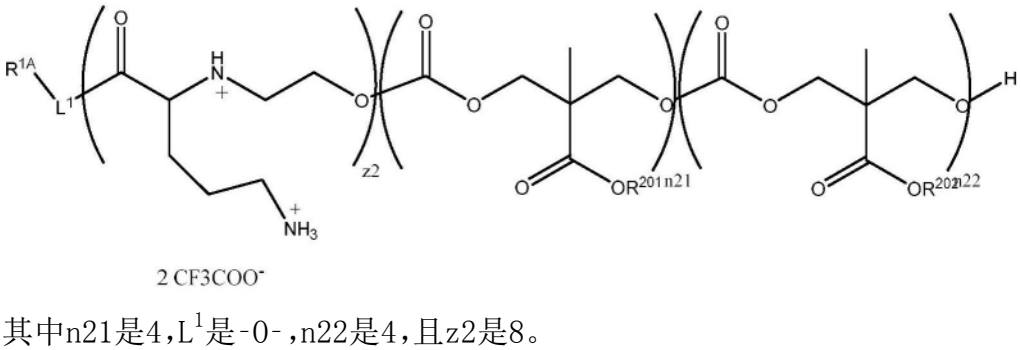
[0839] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0840] 

,

[0841] 其中n21是4,n22是4,且z2是8。

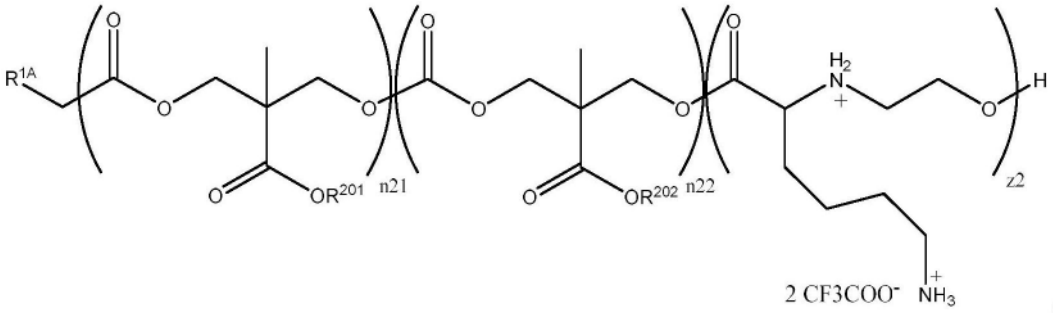
[0842] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0843] 

,

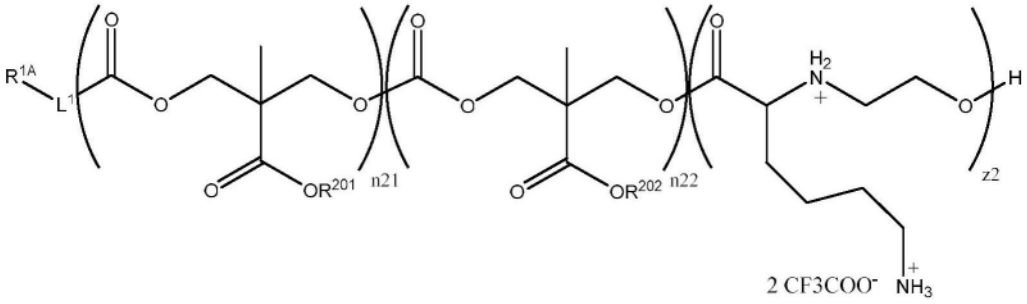
[0844] 其中n21是4,L^1是-O-,n22是4,且z2是8。

[0845] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0846] 

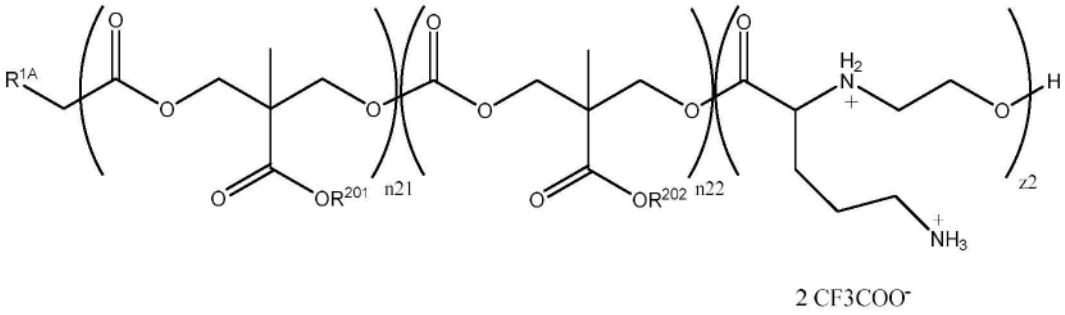
[0847] 其中n21是5,n22是6,且z2是10。

[0848] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0849] 

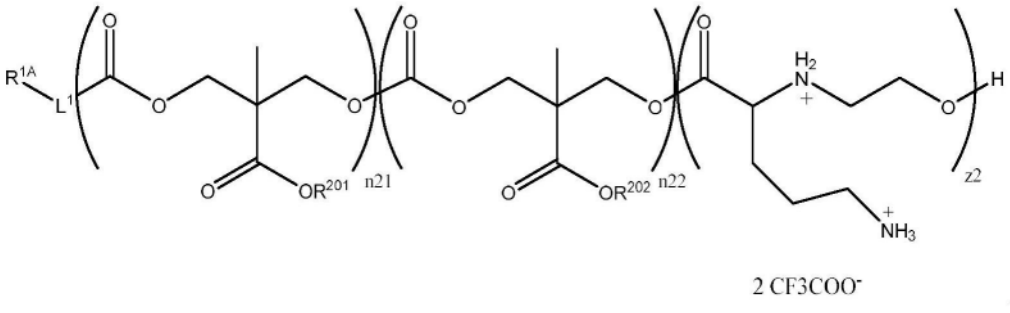
[0850] 其中n21是5,L^1是-O-,n22是6,且z2是10。

[0851] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0852] 

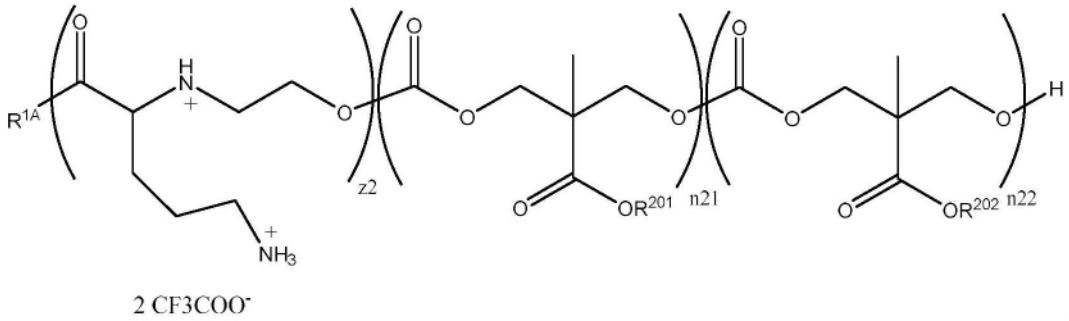
[0853] 其中n21是5,n22是6,且z2是10。

[0854] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0855] 

[0856] 其中n21是5,L^1是-O-,n22是6,且z2是10。

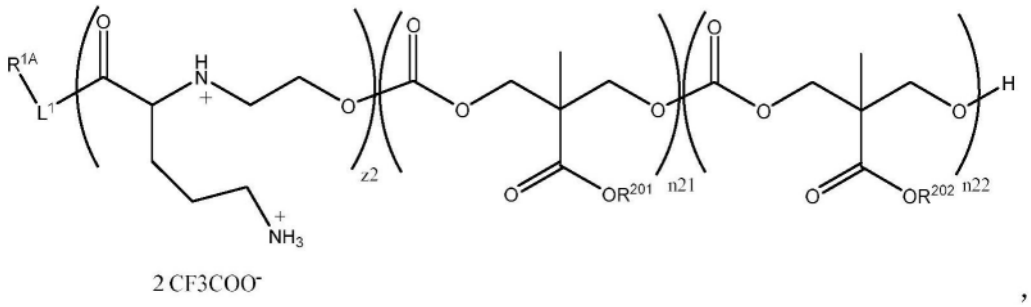
[0857] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0858] 

,

[0859] 其中n21是5,n22是6,且z2是10。

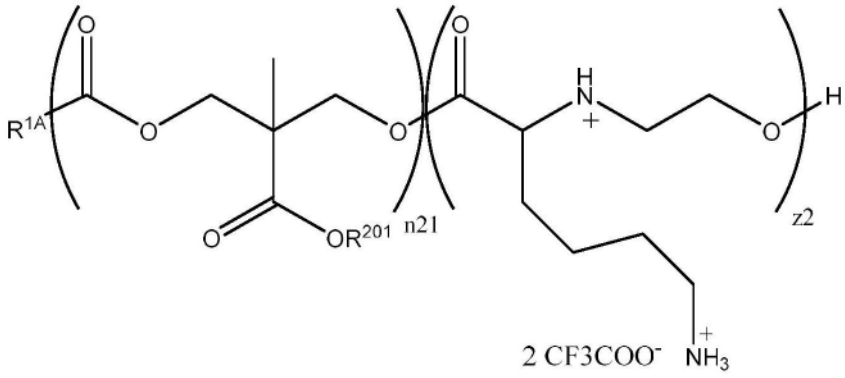
[0860] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0861] 

,

[0862] 其中n21是5,L^1是-O-,n22是6,且z2是10。

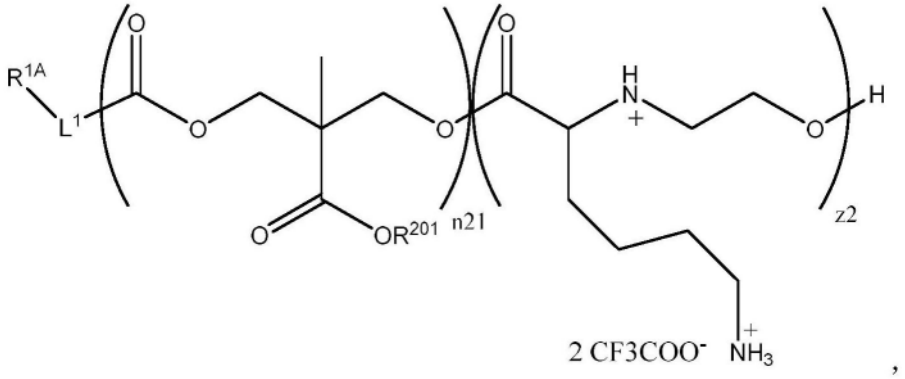
[0863] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0864] 

,

[0865] 其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

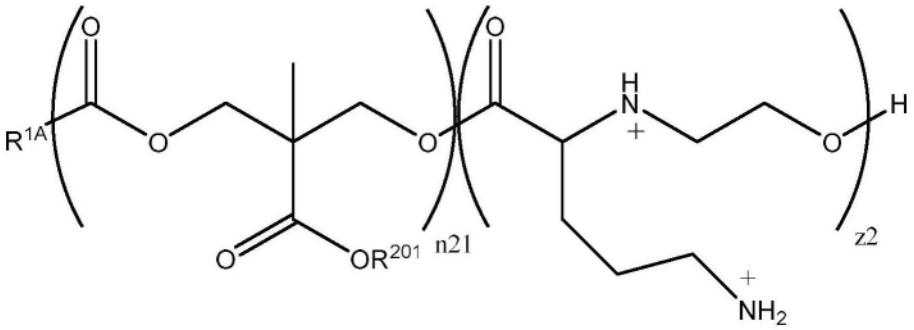
[0866] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0867] 

,

[0868] 其中n21是14,L^1是-O-,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0869] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

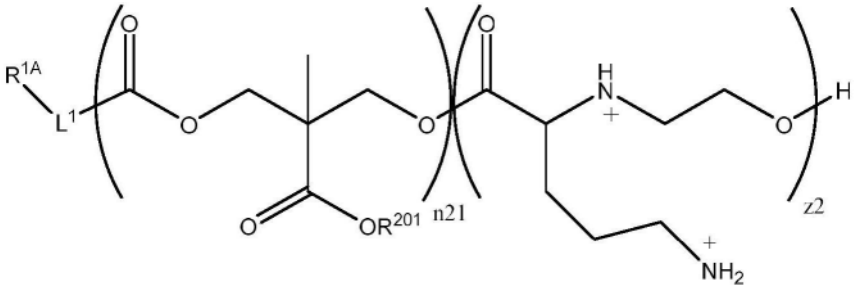
[0870] 

2 CF3COO-

,

[0871] 其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0872] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

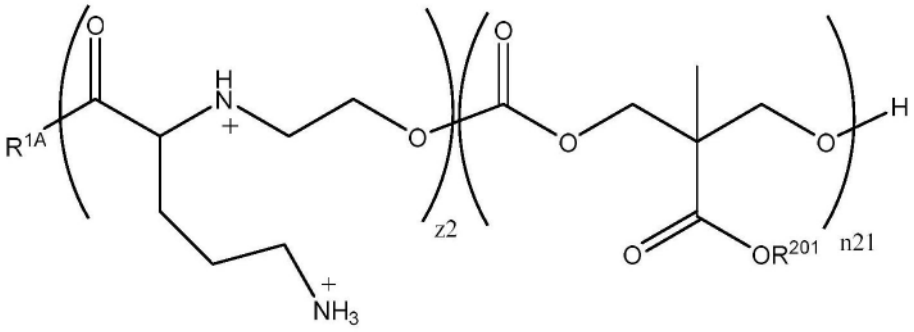
[0873] 

2 CF3COO-

,

[0874] 其中n21是14,L^1是-O-,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0875] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

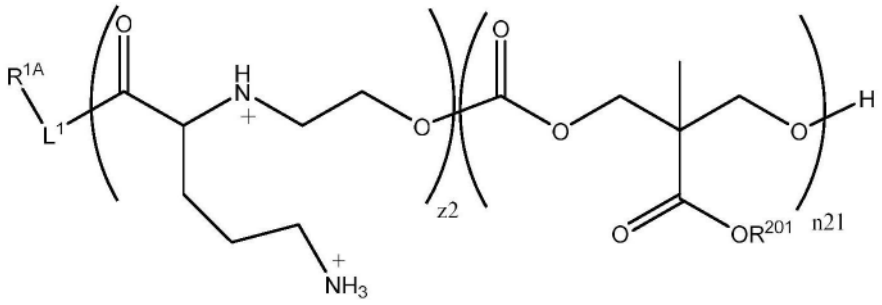
[0876] 

2 CF3COO-

,

[0877] 其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

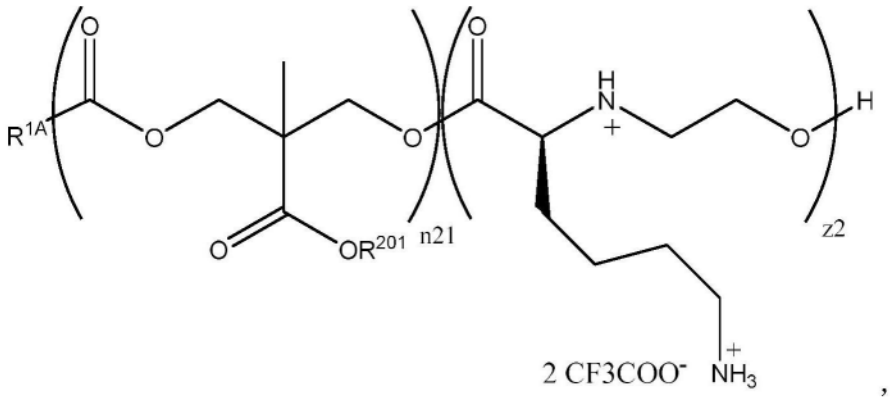
[0878] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0879] 

,

[0880] 其中n21是14,L^1是-O-,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

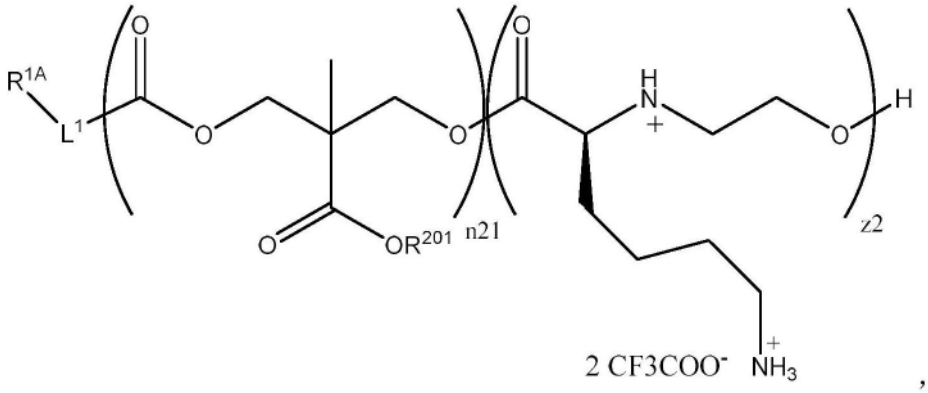
[0881] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0882] 

,

[0883] 其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

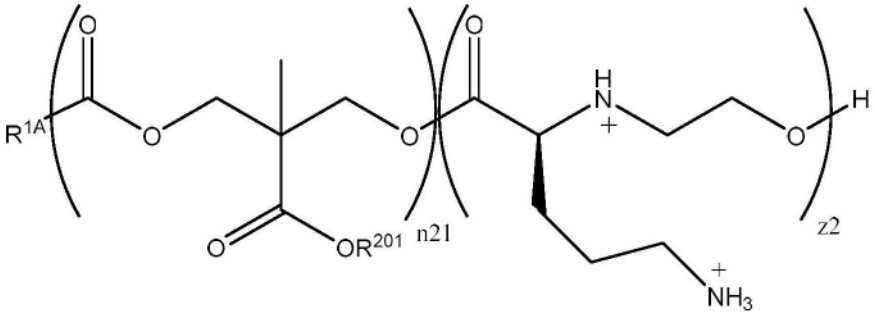
[0884] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0885] 

,

[0886] 其中n21是14,L^1是-O-,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0887] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

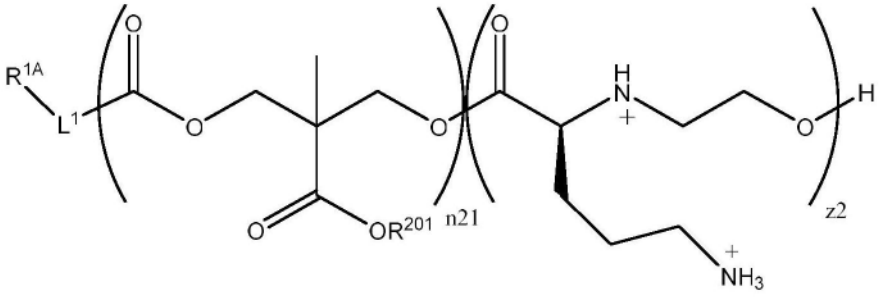
[0888] 

2 CF3COO-

,

[0889] 其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0890] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

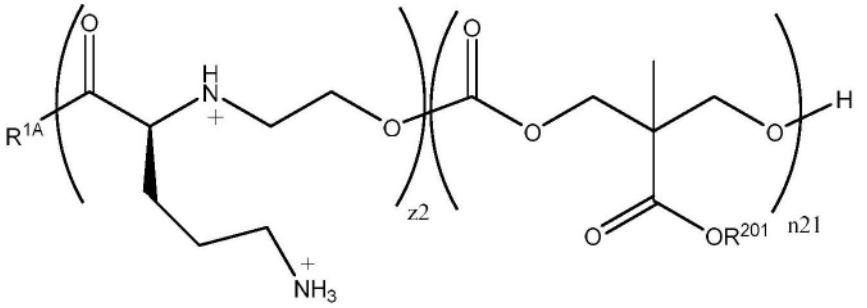
[0891] 

2 CF3COO-

,

[0892] 其中n21是14,L^1是-O-,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0893] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

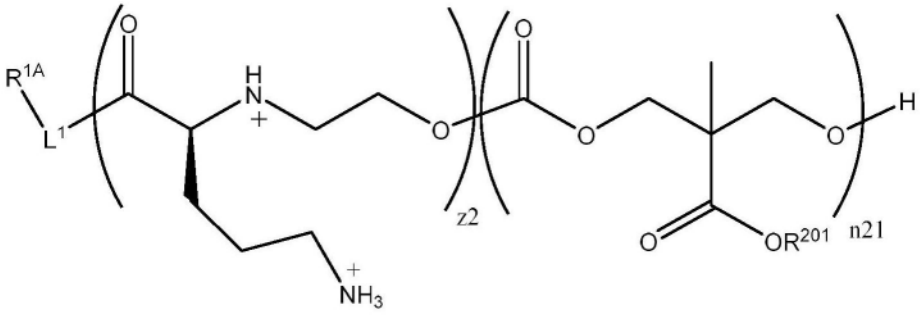
[0894] 

2 CF3COO-

,

[0895] 其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

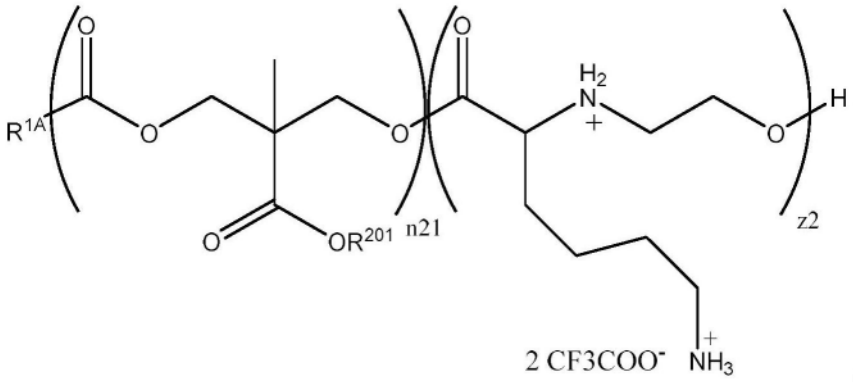
[0896] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0897] 

,

[0898] 其中n21是14,L^1是-O-,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0899] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0900] 

,

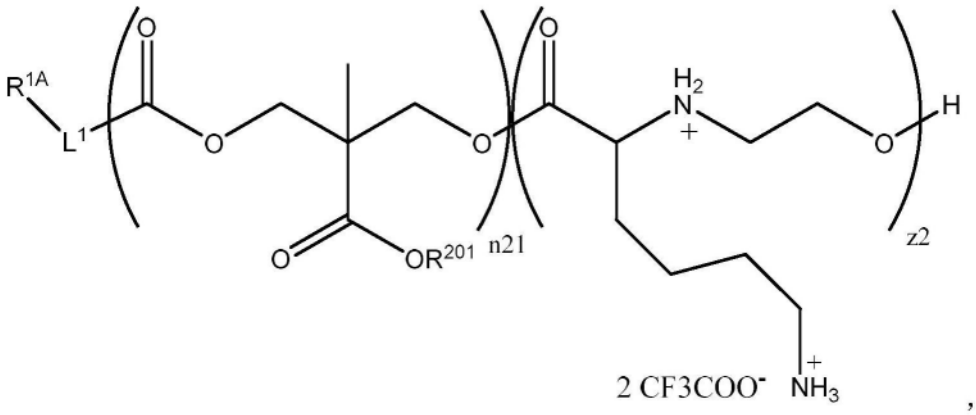
[0901] 其中n21是10至20的整数;

[0902] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;且

[0903] z2独立地是3至10的整数。

[0904] 在实施方案中,n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

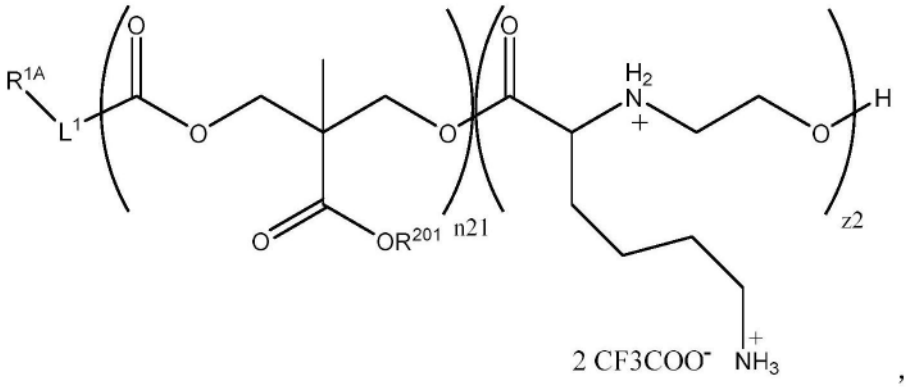
[0905] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0906] 

,

[0907] 其中R^{1A}是如本文所述,n21是10至20的整数,且L^1是如本文所述;

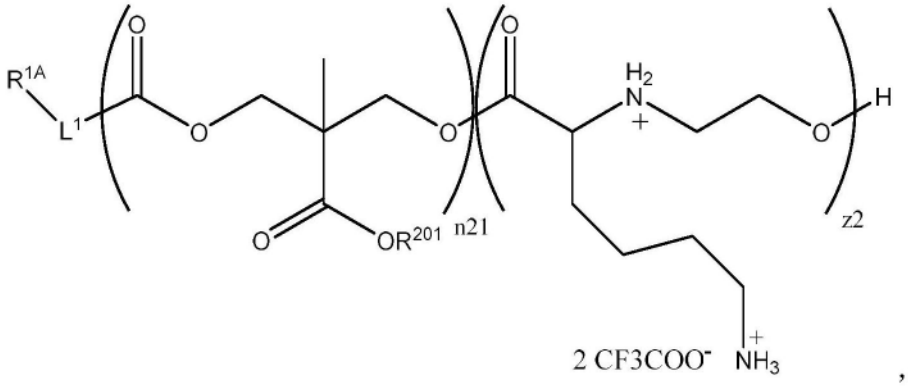
[0908] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0909] 

,

[0910] 其中R^{1A}是如本文所述,n21是14;L^1是-O-,R^{201}是$C_{12}H_{25}$,且z2是8。

[0911] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0912] 

,

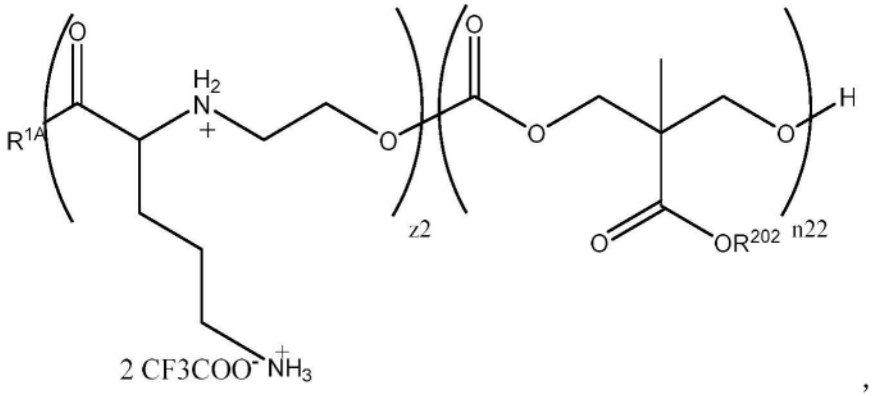
[0913] 其中R^{1A}是如本文所述,n21是12;L^1是-O-,R^{201}是$C_{12}H_{25}$,且z2是6。

[0914] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;且

[0915] z2独立地是3至10的整数。

[0916] 在实施方案中,n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[0917] 在实施方案中,所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[0918] 

,

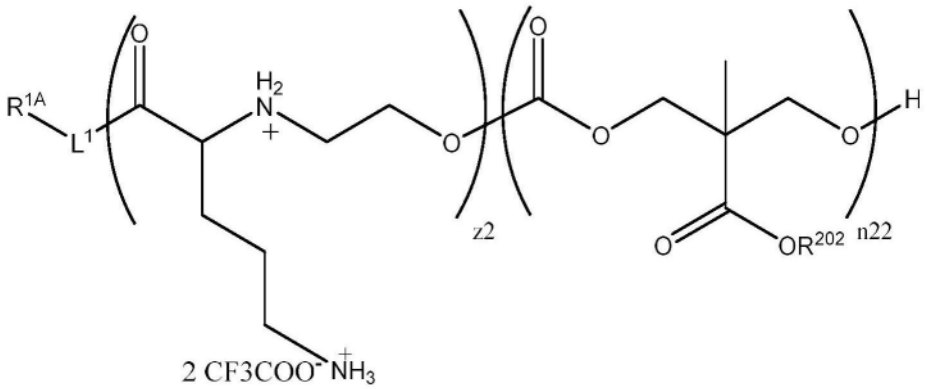
[0919] 其中n22是10至35的整数;

[0920] R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;且

[0921] z2独立地是5至20的整数。

[0922] 在实施方案中,n22是14,R^{202}是十二烷基,且z2是7。

[0923] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0924] 

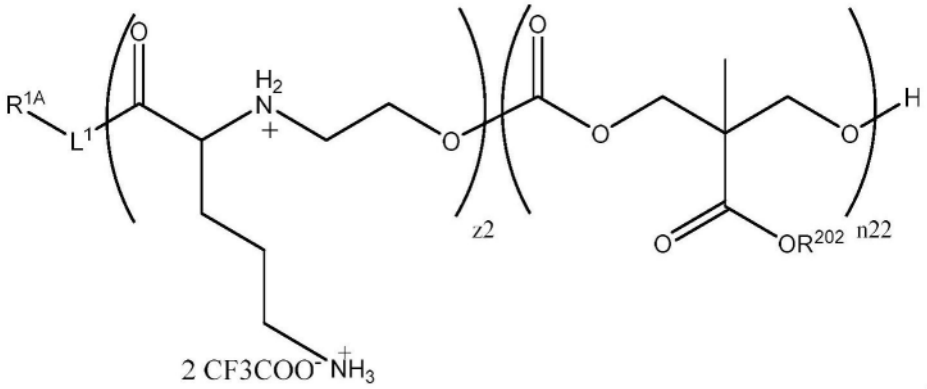
[0925] 其中n22是10至35的整数；L^1是如本文所定义；

[0926] R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；及

[0927] z2独立地是5至20的整数。

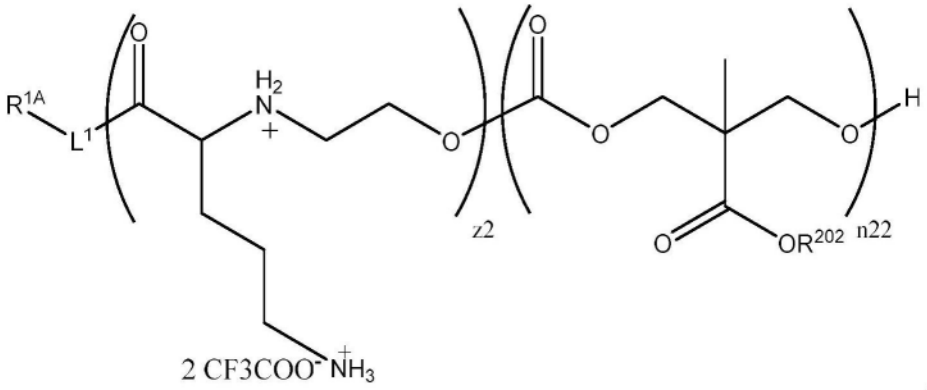
[0928] 在实施方案中，n22是14，R^{202}是十二烷基，且z2是7。

[0929] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0930] 

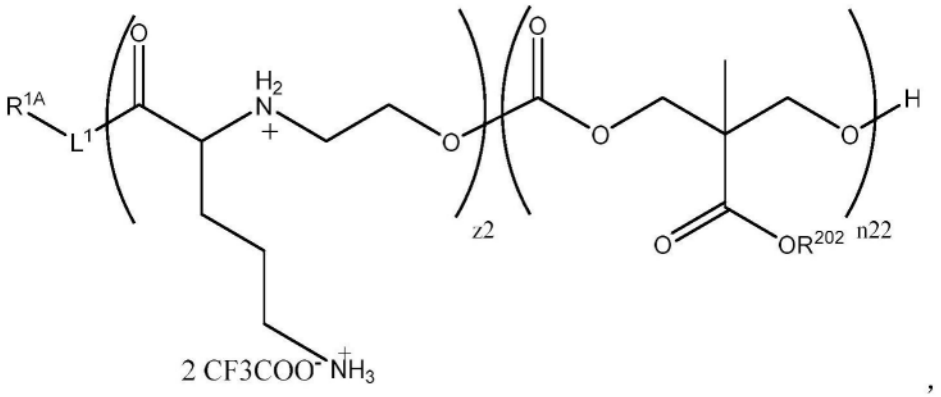
[0931] 其中R^{1A}是如本文所述，n22是31；L^1是-O-，R^{202}是$C_{12}H_{25}$且z2是10。

[0932] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0933] 

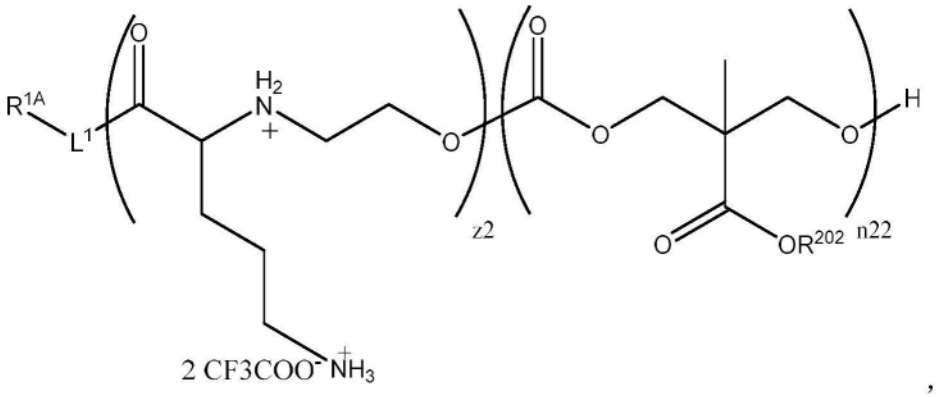
[0934] 其中R^{1A}是如本文所述，n22是15；L^1是-O-，R^{202}是$C_{12}H_{25}$，且z2是5。

[0935] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0936] 

[0937] 其中R^{1A}是如本文所述，n22是14；L^1是-O-，R^{202}是$C_{12}H_{25}$，且z2是7。

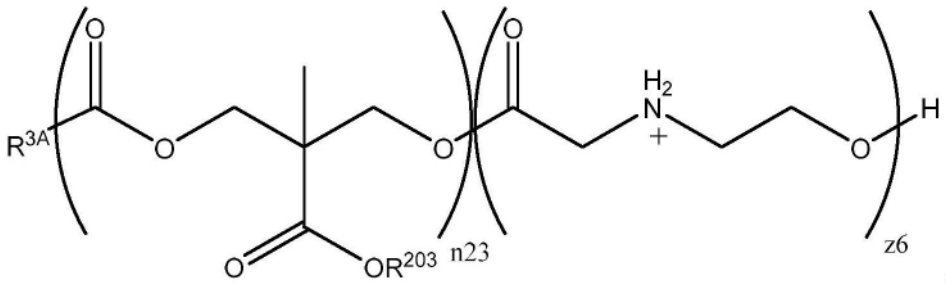
[0938] 在实施方案中，所述阳离子两亲聚合物具有下式：

[0939] 

[0940] 其中R^{1A}是如本文所述，n22是16；L^1是-O-，R^{202}是$C_{12}H_{25}$，且z2是15。

[0941] 在实施方案中，所述细胞穿透复合物进一步包括第二阳离子两亲聚合物，其中所述第二阳离子两亲聚合物不同于所述阳离子两亲聚合物。

[0942] 在实施方案中，所述第二阳离子两亲聚合物具有下式：

[0943] 

[0944] n23是1至100的整数；

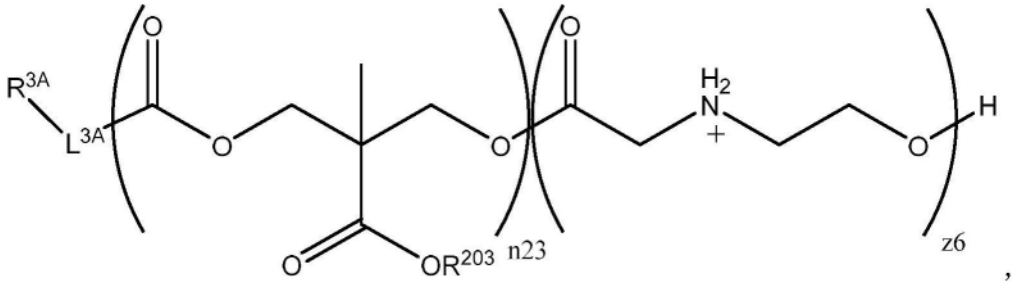
[0945] z6是5至15的整数；

[0946] R^{3A}独立地是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、$-NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；且

[0947] R^{203}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的

环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[0948] 在实施方案中，所述第二阳离子两亲聚合物具有下式：

[0949] 

[0950] n23是1至100的整数；

[0951] z6是5至15的整数；

[0952] L^{3A}是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0953] R^{3A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；且

[0954] R^{203}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

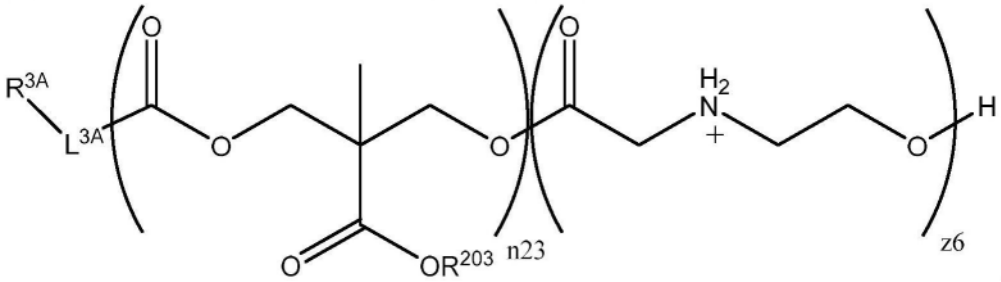
[0955] 在实施方案中，R^{203}是取代或未取代的烷基(例如，C_1-C_8、C_1-C_6、C_1-C_4、或C_1-C_2)、取代或未取代的杂烷基(例如，2至8元、2至6元、4至6元、2至3元、或4至5元)、取代或未取代的环烷基(例如，C_3-C_8、C_3-C_6、C_4-C_6、或C_5-C_6)、取代或未取代的杂环烷基(例如，3至8元、3至6元、4至6元、4至5元、或5至6元)、取代或未取代的芳基(例如，C_6-C_{10}或苯基)、或取代或未取代的杂芳基(例如，5至10元、5至9元、或5至6元)。在实施方案中，R^{203}是取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂环烷基、取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的芳基、或取代的(例如，用取代基、大小限制的取代基、或低级取代基取代的)或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{203}是未取代的烷基、未取代的杂烷基、未取代的环烷基、未取代的杂环烷基、未取代的芳基、或未取代的杂芳基。在实施方案中，R^{203}是氢或未取代的烷基(例如，C_1-C_6烷基)。

[0956] 在实施方案中，R^{203}是未取代的C_1-C_{30}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_1-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_8-C_{30}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_8-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_9-C_{20}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_9-C_{18}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{18}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{17}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{16}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{15}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的

C_{14}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{13}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{12}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{11}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{10}烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_9烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_8烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_7烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_6烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_5烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_4烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_3烷基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_2烷基。

[0957] 在实施方案中，R^{203}是未取代的C_1-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_1-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_8-C_{30}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_8-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_9-C_{20}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_9-C_{18}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{18}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{17}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{16}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{15}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{14}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{13}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{12}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{11}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_{10}烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_9烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_8烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_7烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_6烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_5烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_4烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_3烯基。在实施方案中，R^{203}是未取代的C_2烯基。

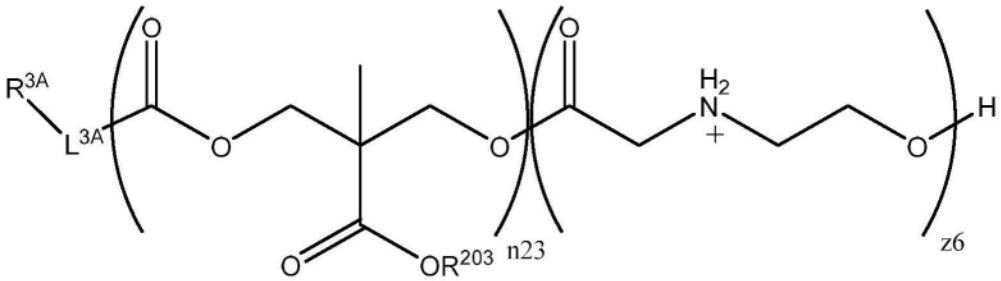
[0958] 在实施方案中，所述第二阳离子两亲聚合物具有下式：

[0959] 

，

[0960] 其中R^{3A}是如本文所述，L^{3A}是-O-，z6是16，R^{203}是$C_{12}H_{25}$，且n23是15。

[0961] 在实施方案中，所述第二阳离子两亲聚合物具有下式：

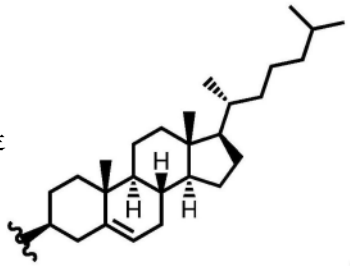
[0962] 

，

[0963] 其中R^{3A}是如本文所述，L^{3A}是-O-，z6是11，R^{203}是$C_{12}H_{25}$，且n23是13。

[0964] 在实施方案中，R^{203}是硬脂酰基部分(例如，未取代的C_{18}烷基)。在实施方案中，R^{203}是油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{203}是亚油烯基部分(例如，未取代的C_{18}烯基)。在实施方案中，R^{203}是十二烷基部分(例如，未取代的C_{12}烷基)。在实施方案中，

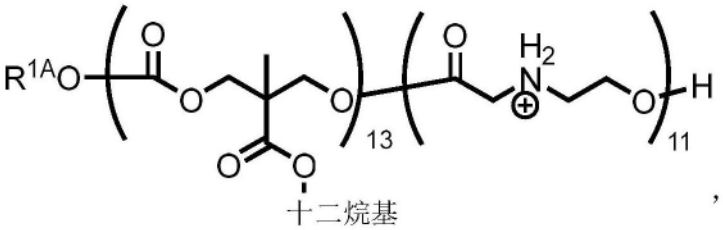
R^{203}是壬烯基部分(例如,未取代的C_9烯基)。在实施方案中,R^{203}是



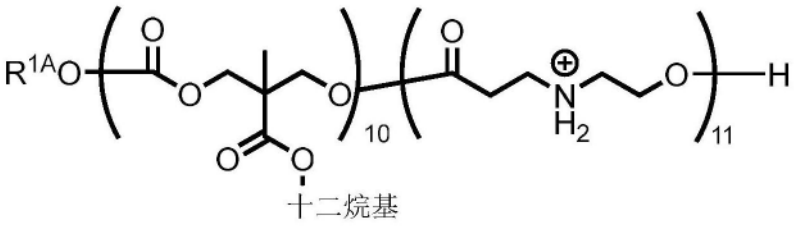
。

[0965] 在实施方案中,n23是13,z6是11,且R^{203}是十二烷基。

[0966] 在实施方案中,CART具有下式:

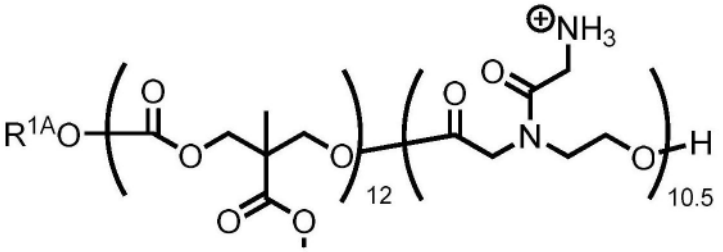


,

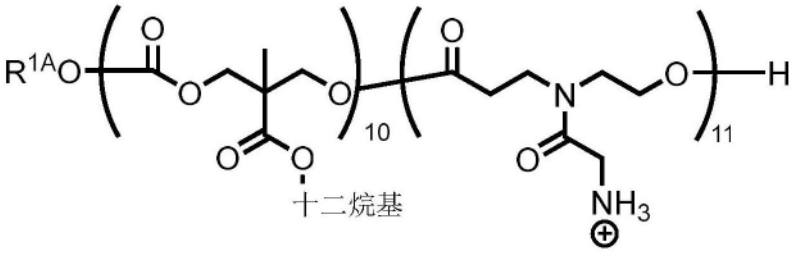


,

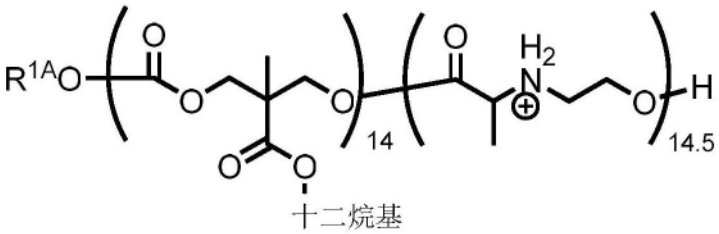
[0967]



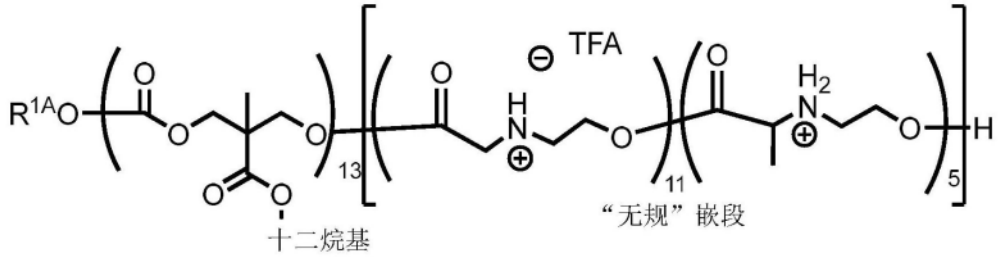
,



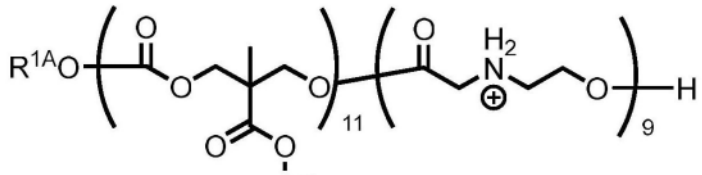
,



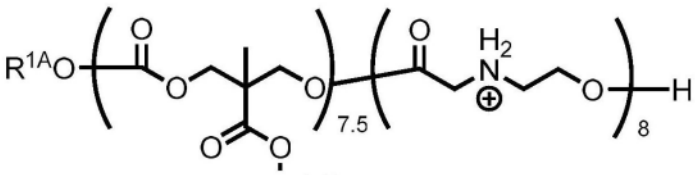
,



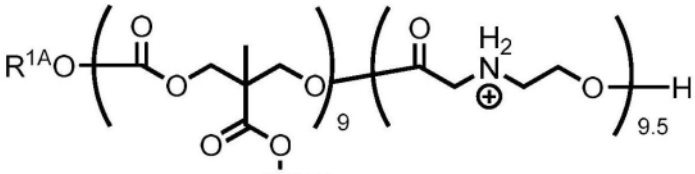
十二烷基，



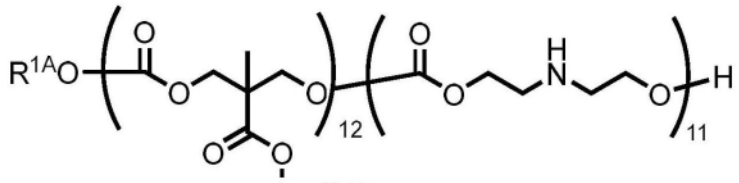
油基，



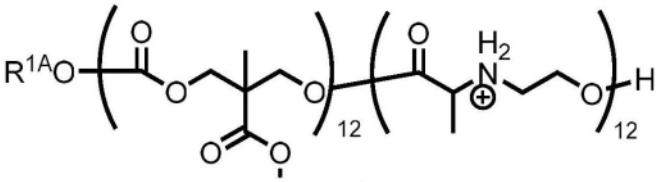
[0968] 亚油基，



硬脂基，



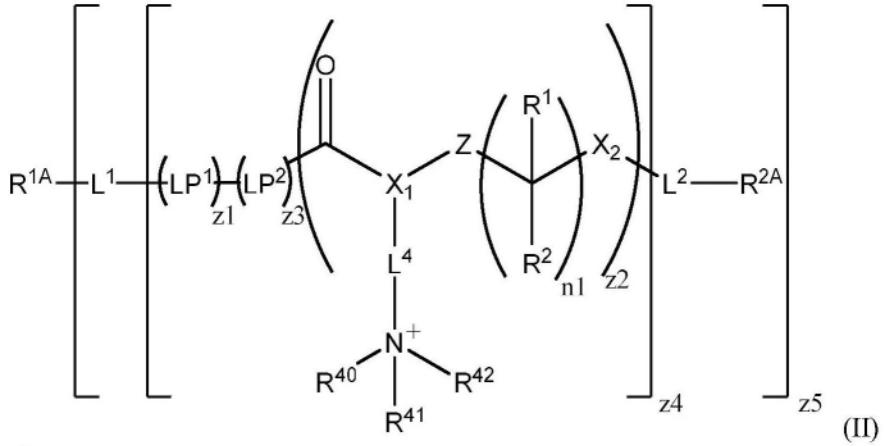
十二烷基，或



十二烷基。

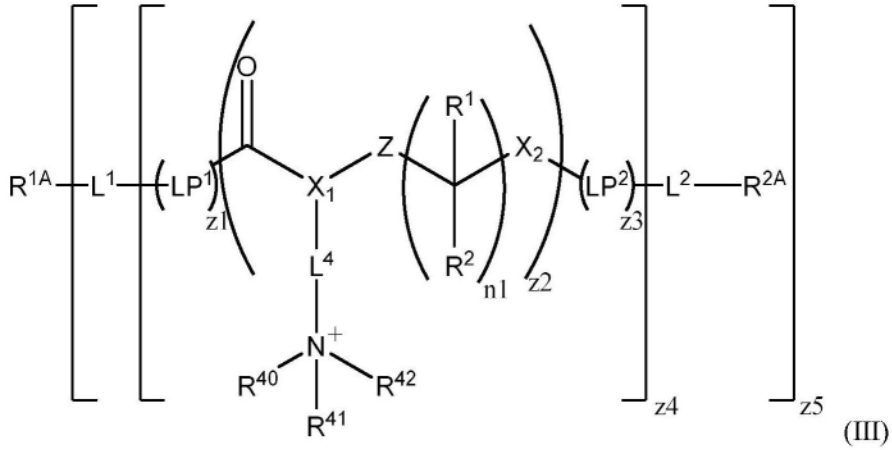
[0969] 所述核酸(例如,包含编码病毒蛋白的序列的核糖核酸)可以非共价结合于第一阳离子两亲聚合物和第二两亲聚合物，

[0970] 其中所述第一阳离子两亲聚合物具有下式：



(II)

[0971] 或



(III)

[0972] 其中

[0973] R^{1A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0974] R^{2A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、独立地是-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、独立地是-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[0975] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[0976] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

[0977] X^1是键、-C(R^5)(R^6)-、-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-、-O-C(R^5)(R^6)-、或-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-；

[0978] X^2是-O或-S-；

[0979] R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

[0980] L^4独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基；

[0981] R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基；

[0982] Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$；

[0983] R^{13}是氢、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、-CN、-OH、=O、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_2NH_2$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

[0984] n1是0至50的整数；

[0985] z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；

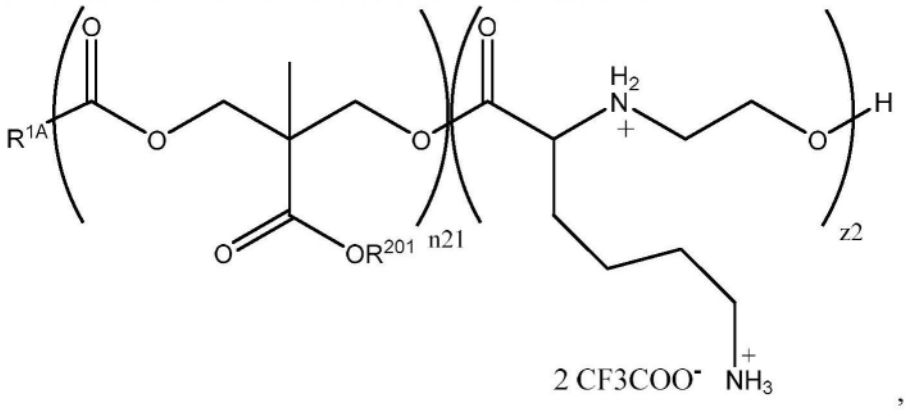
[0986] z2是2至100的整数；

[0987] z4是1至100的整数；

[0988] z5是1至10的整数；且其中所述第一阳离子两亲聚合物和第二两亲聚合物是不同的。

[0989] 所述第一阳离子两亲聚合物可以是本文(包括其实施方案)提供的任何阳离子两亲聚合物。所述第二阳离子两亲聚合物可以是本文(包括其实施方案)提供的阳离子两亲聚合物，或者其可以是可用于本文提供的复合物的任何其它阳离子两亲聚合物。在实施方案中，所述第二阳离子两亲聚合物是以WO 2018/022930公开的PCT申请系列号PCT/US17/44238所述的任何所述阳离子两亲聚合物，所述专利以其全部内容和所有目的援引加入本文。

[0990] 在实施方案中，所述第一阳离子两亲聚合物具有下式：

[0991] 

，

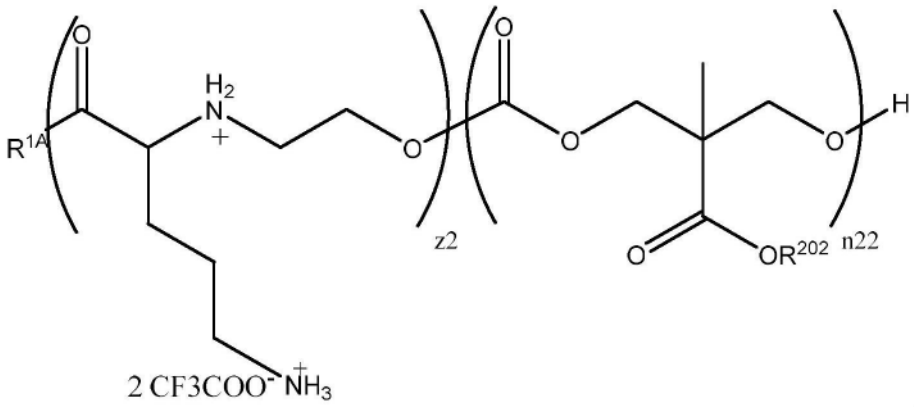
[0992] 其中n21是10至20的整数；

[0993] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；及

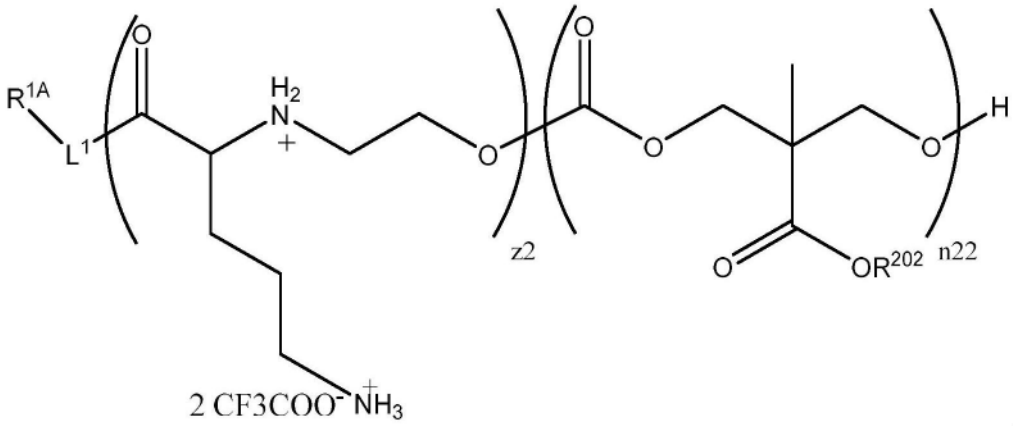
[0994] z2独立地是3至10的整数。

[0995] 在实施方案中，n21是14，R^{201}是十二烷基，且z2是8。

[0996] 在实施方案中,所述第一阳离子两亲聚合物具有下式:

[0997] 

,或

[0998] 

,

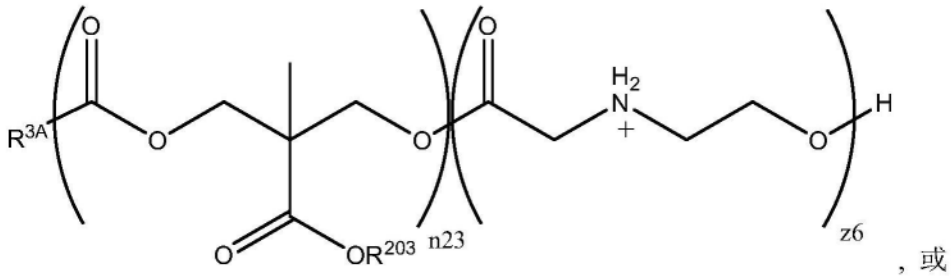
[0999] 其中n22是10至35的整数;

[1000] R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;且

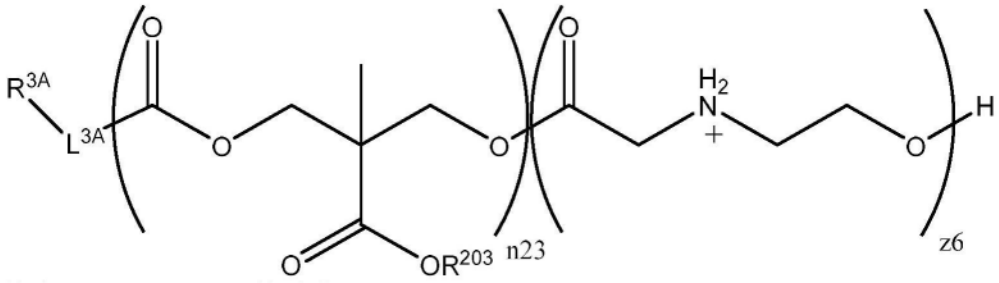
[1001] z2独立地是5至20的整数。

[1002] 在实施方案中,n22是14,R^{202}是十二烷基,且z2是7。

[1003] 在实施方案中,所述第二阳离子两亲聚合物具有下式:

[1004] 

,或



[1005] 其中n23是1至100的整数;

[1006] z6是5至15的整数;且

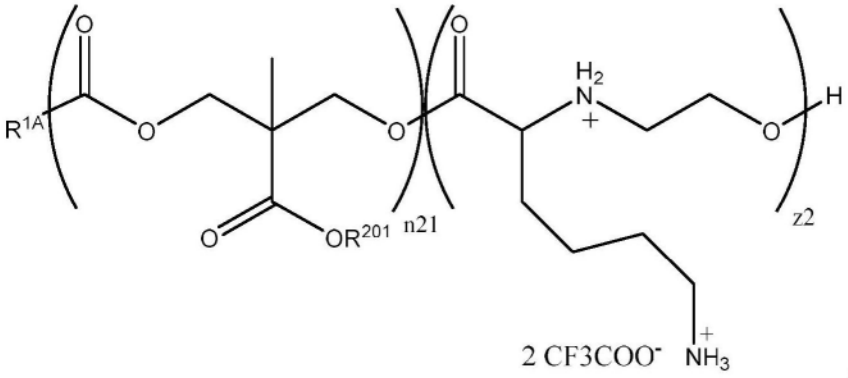
[1007] R^{3A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

[1008] L^{3A}是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基;且

[1009] R^{203}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

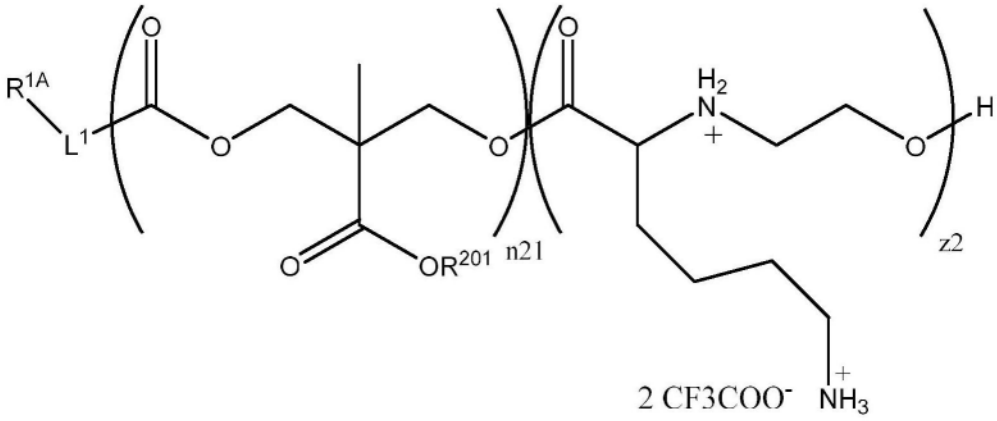
[1010] 在实施方案中,n23是13,z6是11,且R^{203}是十二烷基。

[1011] 在实施方案中,所述第一阳离子两亲聚合物具有下式:



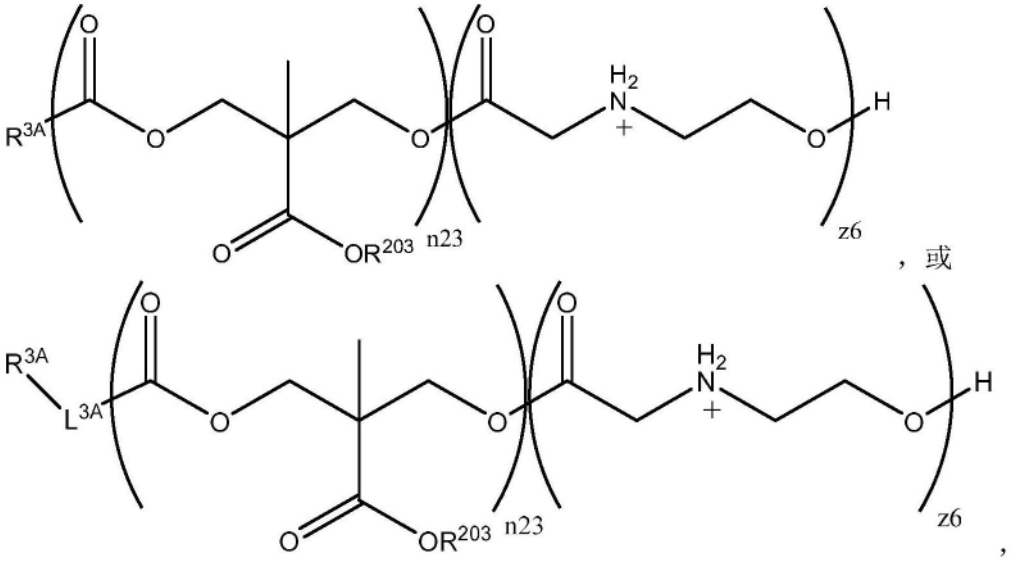
，或

[1012]



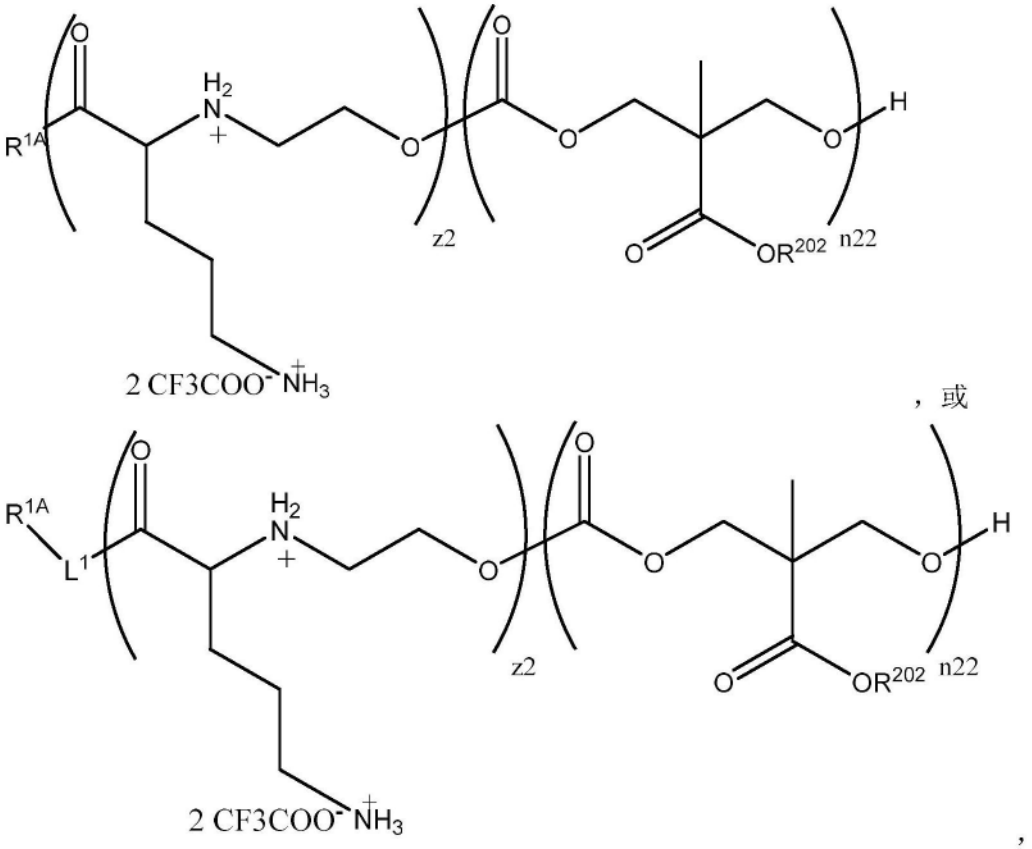
，

[1013] 其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8;且其中所述第二阳离子两亲聚合物具有下式:

[1014] 
，或

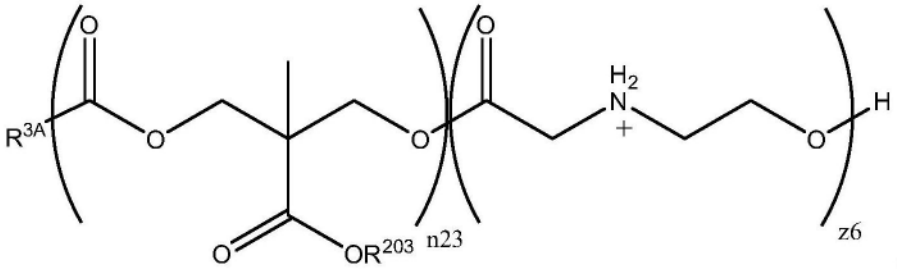
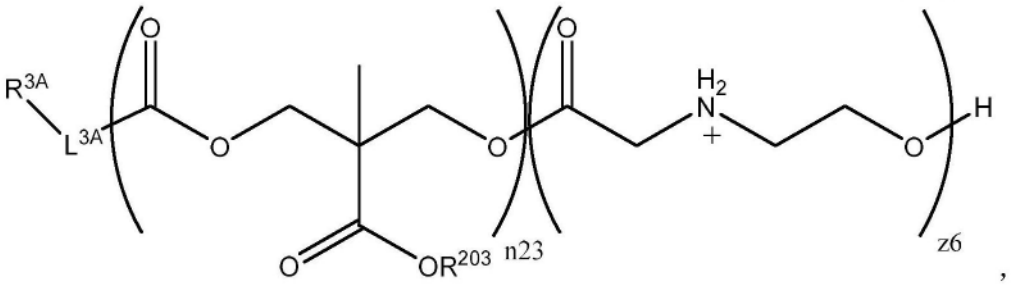
[1015] 其中n23是13，R^{203}是十二烷基，且z6是11。

[1016] 在实施方案中，所述第一阳离子两亲聚合物具有下式：

[1017] 
，或

[1018] 其中n22是10至35的整数，R^{202}是十二烷基，且z2是3-15；且

[1019] 其中所述第二阳离子两亲聚合物具有下式：

[1020] 
，或

，

[1021] 其中n23是13，R^{203}是十二烷基，且z6是11。

[1022] 一方面，提供了一种纳米颗粒组合物，其包含如本文(包括实施方案)所述的多种细胞穿透复合物。

[1023] 一方面，提供了一种药物组合物，其包含如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物及药物赋形剂。

[1024] 在实施方案中，所述核酸是DNA或RNA，例如信使RNA(mRNA)(例如，包含编码病毒蛋白的序列的核糖核酸)、小干扰RNA(siRNA)、短发夹RNA(shRNA)、微小RNA(miRNA)、向导RNA(gRNA)、CRISPR RNA(crRNA)、反式激活RNA(tracrRNA)、质粒DNA(pDNA)、微环DNA、基因组DNA(gNDA)。所述细胞穿透复合物还可包括蛋白质或肽。

[1025] 本文公开的细胞穿透复合物及其实施方案可包括多个亲脂性部分。

[1026] 本文公开的细胞穿透复合物及其实施方案可包括多个解聚结构域。

[1027] 进一步地，对于本文公开的细胞穿透复合物及其实施方案，在实施方案中，上述阳离子序列的平衡阴离子可包括本领域已知的常见抗衡离子，例如乙酸根、三氟乙酸根、三氟甲磺酸根、氯离子、溴离子、硫酸根、磷酸根、琥珀酸根或柠檬酸根。在实施方案中，所述抗衡阴离子是乙酸根、三氟乙酸根、三氟甲磺酸根、氯离子、溴离子、硫酸根、磷酸根、琥珀酸根或柠檬酸根。

[1028] 另一方面，提供了将核酸转染到细胞中的方法，所述方法包括使细胞与本文或其实施方案公开的细胞穿透复合物接触。

[1029] 在实施方案中，所述方法进一步包括使所述阳离子两亲聚合物在细胞内降解从而形成降解产物。在实施方案中，所述降解产物是取代或未取代的二酮哌嗪。

[1030] 进一步关于将核酸转染到细胞中的方法的任何实施方案，在实施方案中，所述核酸是mRNA。在实施方案中，所述方法进一步包括使所述mRNA在细胞中表达。在实施方案中，所述细胞构成生物体的一部分。在实施方案中，所述生物体是人。

[1031] 特别地，本文提供的是能够或增强寡核苷酸和聚阴离子荷载(例如信使RNA(mRNA))在体外和体内复合、保护、递送和释放到靶细胞、组织和器官中的新材料和策略。

[1032] 例如，本文公开的一种用于mRNA递送的策略是使用可生物降解的聚(碳酸酯-共-氨基酯)低聚物及其变体实现的，这些低聚物被发现与聚阴离子如mRNA静电复合，产生保护

mRNA荷载的非共价大分子颗粒，容易进入细胞并独特地释放寡核苷酸荷载。细胞中释放的mRNA然后通过细胞过程转化为肽和蛋白质，其序列和活性由所述mRNA序列决定。

[1033] 因此，提供了例如与使用核酸本身和已知的基因递送载体相比大大提高的改进的细胞转染效率。用于递送mRNA的材料和策略也可用于递送其它寡核苷酸，例如siRNA、pDNA、shRNA和gDNA。它们还可用于递送其它阴离子生物分子，例如肝素、无机聚磷酸盐和肌醇聚磷酸盐(例如IP3、IP7、IP8)。这种递送可以用多种人和非人细胞系以及通过多种体内给药方式实现，包括但不限于经肌内、静脉内、腹膜内、眼内、鼻内、皮下、口腔和局部给药。本文公开的聚(碳酸酯-共-氨基酯)可用作例如可定制的、可生物降解的、生物相容的材料，用于生物医学治疗、成像和装置中。与可生物降解的无毒性化合物材料(如戊内酯、己内酯、丙交酯和环状碳酸酯)的共聚可以调整物理和生物学特性，包括荷载核酸的释放速率、疏水性、靶向配体的掺入、生物分布和毒性。

[1034] 因此，在一些实施方案中，本文提供的药剂包括可衍生自环状氨基酯和环状甲基三亚甲基碳酸酯(MTC)单体的低聚物、聚合物、共聚低聚物和共聚物。环状氨基酯具有吗啉-2-酮及其同系物的基本结构，具有可能包括以下的多种取代模式：

[1035] (1)与各种疏水基团(例如，R＝烷基、烯基、芳基、包括类固醇的多环、杂环)、阳离子基团(例如，铵、磷鎓、锍、胍鎓，包括与氨基酸如甘氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、精氨酸的酰化)、阴离子基团(例如羧酸根、硫酸根、磷酸根)或亲水性基团(例如PEG)氨基甲酸酯的N-乙酰化。用N-Boc或N-Cbz基团保护吗啉氮，随后进行有机催化开环低聚或聚合，可以在脱保护后提供阳离子聚合物或低聚物主链。

[1036] (2)选择在具有上述可能的官能团的酯羰基旁边进行α-烷基化或官能化，以使荷载核酸复合及随后通过生物降解释放荷载核酸。

[1037] (3)具有上述官能团的吗啉氮近端的烷基化。

[1038] (4)以上修饰的组合。

[1039] 此外，通过混合两种或多种吗啉-2-酮单体、或通过一种或多种吗啉-2-酮单体与本文所述的一种或多种环状碳酸酯单体的共聚(或共低聚)，可以制成共聚物或共低聚物(嵌段或统计)。这些碳酸酯单体可以掺入相似种类的侧链官能团，特别是亲脂性基团或阳离子基团，以调节寡核苷酸的稳定性、递送和释放性质。此外，可以使用各种其它可商购的环酯单体，包括但不限于丙交酯、乙交酯、戊内酯和/或己内酯以并入亲脂性官能团。

[1040] 聚氨基酯和聚(碳酸酯-共-氨基酯)的合成是通过吗啉-2-酮和环状碳酸酯单体的开环聚合和/或共聚实现的。使用有机催化系统，N-Boc保护的吗啉酮(MBoc)聚合成高转化率(>85％)、可调Mn(1kDa-20kDa)和低分子量分布(Mw/Mn-1.1-1.3)。Boc基团的聚合后脱保护提供阳离子(双质子、仲胺)水溶性聚合物(-在D20中0.5M，稳定>3天)。此外，MBoc与MTC-十二烷基碳酸酯单体共聚，然后脱保护，以高收率(>60％)和窄多分散性<1.4PDI)和可调嵌段长度产生适度带电的阳离子材料。嵌段长度由引发剂与单体的比例控制。

[1041] 聚氨基酯和聚(碳酸酯-共-氨基酯)是生物相容的和可生物降解的。阳离子聚氨基酯通过一种新的pH和缓冲剂依赖性解聚机制快速降解，在一个实施方案中生成双-N-羟乙基-2,5-哌嗪二酮双-羟乙基甘氨酸。这种无法预料的降解会产生一种在处理浓度下无毒性的产物，并且单体形式(进一步水解的预期产物)是Maillard反应中磷脂修饰的天然生物标志物。氨基酯/碳酸酯共聚物的碳酸酯片段通过水解和脱羧作用降解，其副产物先前已被证

明是无毒性的。由于其独特的降解机制，新的多聚和低聚(碳酸酯-共-氨基酯)呈现出作为基因递送剂的意想不到的性能。这些新材料以适度的理论电荷比(例如，约10:1)非共价地复合、保护、递送和释放mRNA，从而导致出色的转染效率(在某些情况下>99％)及体外和体内基因表达的稳健诱导。这种策略对于递送不同长度的mRNA分子是有效的(测试了1000和2000个核苷酸转录物)。在一个实施方案中，基因递送通过阳离子聚(碳酸酯-共-氨基酯)与阴离子荷载的配制以形成尺寸为200-400nm的自组装颗粒来实现。这些颗粒在细胞内基因传递所需的时间尺度上是稳定的，然后一旦进入细胞，它们就会释放寡核苷酸荷载。虽然不受任何特定理论的束缚，但这些材料会降解为双-N-羟乙基-1-2,5-哌嗪二酮产物双羟乙基甘氨酸。通过多种给药途径(测试了肌内和静脉内给药途径)用mRNA/两亲复合物处理多种人类和非人类细胞系(例如，HeLa、HaCaT、J774、HEK293)，导致在体外和体内诱导了蛋白质表达(例如，GFP、荧光素酶)。

[1042] 已通过流式细胞术和荧光显微镜(GFP)以及生物发光(萤火虫荧光素酶)使用编码荧光报告基因的mRNA测量蛋白质表达。所述聚(碳酸酯-共-氨基酯)已被证明是比商业标准Lipofectamine 2000以及先前描述的用于siRNA递送的许多其它先导化合物更有效的转染剂。

[1043] 在实施方案中，基因递送是通过在选择的第三组分存在下配制混合的两亲性低聚物和mRNA荷载来实现的，选择第三组分以调节所得复合物的稳定性和大小、增加细胞摄取、调节mRNA从所述复合物释放的速率，并增强荷载mRNA的表达。三元组分包括但不限于如Zn^{+2}、Mg^{+2}、Ca^{+2}等配位金属；动态非共价交联剂，例如碳水化合物，抗衡离子例如Cl^-、AcO^-、琥珀酸根和柠檬酸根；和溶解度调节剂，如脂质和聚乙二醇。

[1044] 这种技术的应用可以包括：临床应用：(1a)核酸转染载体：虽然多年来一直建议利用DNA和RNA治疗遗传性疾病，但基因治疗临床应用的最大障碍仍然是寡核苷酸荷载的有效递送。(1b)用于预防感染性疾病的RNA疫苗接种：基于mRNA的疫苗与DNA疫苗相比显示出强大的安全优势，但它们目前在临床上受到mRNA递送到细胞中的限制。这种应用目前正在临床研究中，但最先进的技术需要从患者体内取出原代细胞，以通过电穿孔在体外转染，然后将转化后的细胞重新导入患者体内。使用我们的递送技术在体内直接诱导mRNA表达，可以显著改进这种方法。(1c)干细胞诱导：通过使用我们的技术诱导4种已知转录因子的表达，可以在未分化的干细胞中诱导多能性。聚(碳酸酯-共-氨基酯)递送载体的模块化性质使得能够同时轻松递送所有四种必需的mRNA转录物。(1)基础研究应用包括但不限于：培养的细胞的体外转染，使用CRISPR/Cas9进行基因编辑，使用组合基因表达(mRNA翻译)和基因敲低(RNAi)进行通路验证。癌症免疫疗法、过敏耐受、蛋白质替代疗法、基因编辑、诊断学。

[1045] 本文公开的复合物、组合物和方法的优点可包括，例如：

[1046] (1)比可商购的转染剂如Lipofectamine 2000更高的体外mRNA转染效率，即使在如J774巨噬细胞等难以转染的细胞系中也是如此，从而提高疗效，同时增加耐受性。

[1047] (2)稳健的体内基因表达(BALB/c小鼠)，证明了这种技术的临床适用性，从而避免了如lipofectamine等阳离子载体的毒性，并为基因递送和表达的离体方法提供了临床替代方案。

[1048] (3)使用不同的给药途径可以实现差异化的体内基因表达，在静脉注射时肝脏和脾脏表达占主导地位，而通过肌内(例如)递送时在给药部位持续局部表达。经鼻递送提供

了粘膜和/或肺摄取的途径。

[1049] (4)快速降解为已知代谢物(双羟乙基甘氨酸),从而实现有效的基因表达。

[1050] (5)以pH依赖性方式释放mRNA,例如带有寡核苷酸的颗粒在低pH环境(如皮肤或肠道)中表现出稳定性,但在较高pH环境中降解。

[1051] (6)材料很容易通过无金属合成获得,以制备具有靶定分子量和高度可控分散性的低聚物、聚合物或嵌段/统计共聚物或共聚低聚物。

[1052] (7)通过在形成的颗粒表面添加靶向配体如叶酸或生物素或通过附着于单克隆抗体,使所述材料可以靶向。

[1053] (8)阳离子聚氨基酯结构域与可分离的中性小分子的特异性解聚机制导致形成生物相容性/生物可降解产物双-N-羟乙基-2,5-哌嗪二酮,这是一种羟乙基甘氨酸的环状二聚体。

[1054] 所述复合物、组合物和方法的特征包括以下内容。在实施方案中,聚(碳酸酯-共-氨基酯)聚(氨基酯)和衍生自其的阳离子材料可表现出至少一种以下性质和功能:

[1055] (1)阳离子聚氨基酯的特异性pH应答性解聚机制,可产生生物相容性/可生物降解的羟乙基甘氨酸二聚体;导致寡核苷酸荷载释放的这些材料的结构域是独特的,即使在其它应答性生物材料中也是如此,因为它是通过无法预料的分子内键形成事件发生的,该事件导致阳离子铵的不可逆中和,从而迅速触发阴离子荷载的释放。

[1056] (2)分子内降解的可分离产物,如双-N-羟乙基-2,5-哌啶-7-二酮,其进一步降解为羟乙基甘氨酸。

[1057] (3)提供活性的时间窗口,使阴离子荷载静电地包装成颗粒进行递送,然后在细胞内化后迅速释放。

[1058] (4)通过控制大分子结构实现多种内酯单体的共聚。功能化单体可以聚合为嵌段或统计结构,这进一步允许组合多种单体类型,例如环状碳酸酯或磷酸酯。

[1059] (5)即使在局部或全身给药时,这些材料在体内的使用也可能没有急性毒性,这表明在治疗反应所需的浓度下具有高耐受性。

[1060] (6)用作基因递送载体,聚(碳酸酯-共-氨基酯)能够有效递送和释放包括信使RNA的寡核苷酸。MTC-十二烷基碳酸酯和N-Boc吗啉-2-酮单体的两亲嵌段共聚低聚物可以与大的阴离子荷载(如mRNA)一起配制,以形成稳定的亚400nm颗粒。这些所得颗粒可以有效地被细胞吸收并释放其mRNA荷载,从而导致强大的基因表达。这一概念已在体外多种细胞系中以及在小鼠体内研究中得到证实。这些材料的功效已被证明是由于阳离子氨基酯嵌段的pH应答性重排以形成中性小分子双-N-羟乙基-2,5-哌啶二酮双-羟乙基甘氨酸所致。虽然之前曾报道过其它阳离子基因递送载体,但这些低聚(碳酸酯-共-氨基酯)是独特的,并且由于其独特可以在适于细胞摄取的时间尺度释放mRNA(或其它寡核苷酸)荷载的能力及其耐受性是性能最好的载体。

[1061] (7)凭经验确定的mRNA递送的最佳长度与我们的现有技术不同,MTC-十二烷基碳酸酯和N-Boc吗啉-2-酮结构域的平均DP 12的二嵌段表现最佳。这个长度比可商购的阳离子聚胺载体如PEI短得多;它也比我们之前发现的siRNA递送载体更长(参考文献WO2013036532 A1和PNAS 2012,109(33),13171-13176)。

[1062] 一方面,本文提供了一种将核酸转染到细胞(例如,肺细胞)中的方法。所述方法包

括使细胞与本文(包括其实施方案)所述的细胞穿透复合物接触。在实施方案中,所述方法引起细胞中的基因编辑。在实施方案中,所述基因编辑可以涵盖基因组-编辑或基因组编辑,这是一种基因工程,其中使用分离的或工程化的核酸酶系统在活生物体的基因组中插入、缺失或置换DNA。在某些实施方案中,本文公开的方法可用于递送可在转染的细胞中引起基因编辑的遗传工具或系统。用于基因编辑的遗传工具或系统的一些非限制性实例包括CRISPR-Cas系统和转座子系统。

[1063] 一方面,通过根据一些实施方案的转染方法转染的核酸(即荷载核酸)可以具有一个或多个载体,所述载体具有编码CRISPR-Cas系统向导RNA(其与细胞的基因组中靶序列杂交)的第一核苷酸序列及编码Cas9蛋白的第二核苷酸序列。在某些实施方案中,所述第一和第二核苷酸序列可以位于相同或不同的载体上。

[1064] 一般来说,采用CRISPR/Cas9的系统提供了高度的保真度和相对简单的基因编辑构建。该系统的特异性取决于两个因素:靶序列和原型间隔区相邻基序(PAM)。所述靶序列可以是,例如作为crRNA阵列中每个CRISPR基因座的一部分,长度为20个碱基。一个crRNA阵列可以有多个独特的靶序列。Cas9蛋白可以通过利用序列与宿主DNA上的碱基对结合来选择宿主基因组上的正确位置。宿主基因组上的PAM序列可以被Cas9识别。一旦元件组装为例如一个或多个质粒并转染到细胞中,Cas9蛋白在crRNA的帮助下可以在宿主细胞的DNA中找到正确的序列,并且-根据Cas9变体-在DNA中产生单链或双链断裂。宿主DNA中适当间隔的断裂可以触发同源定向修复。提供DNA修复模板可以允许在基因组内的预期位置插入特定的DNA序列。一旦合并,新序列现在是细胞遗传物质的一部分,可以传递到其子细胞中。本领域有许多在线工具可用于帮助设计有效的sgRNA序列。根据一些实施方案,根据本文某些实施方案的方法和组合物可以递送或转染编码CRISPR-Cas系统向导RNA的核苷酸序列和编码Cas9蛋白的核苷酸序列以在转染的细胞中诱导基因编辑。

[1065] 在一些实施方案中,通过根据某些实施方案的转染方法转染的荷载核酸可具有CRISPR RNA(crRNA)。在一些实施方案中,这种crRNA可以与编码CRISPR-Cas系统向导RNA的第一核苷酸序列在相同的载体中。

[1066] 在一些实施方案中,通过根据某些实施方案的转染方法转染的荷载核酸可以具有反式激活RNA(tracrRNA)。在一些实施方案中,这种tracrRNA可以与编码Cas9蛋白的第二核苷酸序列在相同的载体中。

[1067] 在一些实施方案中,在根据一些实施方案的转染方法中使用的Cas9蛋白可以是密码子优化的,以在转染的细胞中表达。

[1068] 另一方面,通过根据一些实施方案的转染方法转染的核酸(即荷载核酸)可以具有一个或多个载体,所述载体具有编码转座酶的第一核苷酸序列和具有两侧是转座酶识别位点的感兴趣的基因的核酸序列的第二核苷酸序列。在一些实施方案中,所述第一和第二核苷酸序列可以位于相同或不同的载体上。

[1069] 转座因子(或转座子)通常是指可以改变其在基因组中的位置的DNA序列,有时会产生或逆转突变并改变细胞的遗传组成和基因组大小。转座酶通常是指可以结合转座子并催化转座子移动到基因组另一部分的酶,例如通过剪切和粘贴机制或复制转座机制。在细胞中引入转座酶和两侧是转座酶识别位点的感兴趣的基因可以诱导感兴趣的基因插入细胞基因组。根据一些实施方案,根据本文某些实施方案的方法和组合物可以递送或转染编

码转座酶和感兴趣的基因的核酸以在转染的细胞中诱导基因编辑。

[1070] 在实施方案中,根据一些实施方案的转染方法中使用的转座酶可以识别和切除基因组序列。在一些其它实施方案中,可以将通过所述转染方法转染的感兴趣基因的核酸序列整合到转染的细胞的基因组中。

[1071] 在实施方案中,通过根据一些实施方案的转染方法完成的基因编辑可以导致以下一种或多种结果:DNA缺失、基因破坏、DNA插入、DNA倒位、点突变、DNA置换、敲入和敲低。

[1072] 一方面,提供了将核酸转染到细胞中的方法。所述方法包括使细胞与本文(包括其实施方案)提供的细胞穿透复合物接触。在实施方案中,所述细胞是肺细胞。

[1073] 疫苗组合物及治疗病毒性疾病的方法

[1074] 一方面,提供了一种疫苗组合物,其包含如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物。本文提供的细胞穿透复合物在疫苗中特别有用,其中所述疫苗包含如本文(包括其实施方案)提供的核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[1075] 一方面,提供了一种在需要此类治疗或预防的个体中治疗或预防病毒性疾病的方法,所述方法包括向所述个体给药治疗或预防有效量的本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物。

[1076] 一方面,提供了一种在有此需要的个体中治疗病毒性疾病的方法,其包括向所述个体给药治疗有效量的如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物和药物载体,从而治疗所述个体的病毒性疾病。

[1077] 本文提供的细胞穿透复合物在疫苗中特别有用,其中所述疫苗包含如本文(包括其实施方案)提供的核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。因此,在一个方面,提供了一种用于对易患病毒性疾病的宿主进行免疫的方法,其包括向所述宿主给药如本文(包括其实施方案)所述的细胞穿透复合物,使得产生所述病毒蛋白或其功能片段的抗体。基于疫苗中组合使用的佐剂和阳离子两亲聚合物,在给药了疫苗的个体中产生特定类别的IgG同种型。在实施方案中,所述核酸佐剂具有序列SEQ ID NO:1(tccatgacgttcctgacgtt),并且产生的抗体是小鼠IgG2抗体(例如,IgG2a和IgG2b)。在实施方案中,所述核酸佐剂具有序列SEQ ID NO:1(tccatgacgttcctgacgtt),并且产生的抗体是人IgG1抗体。在进一步的实施方案中,所述细胞穿透复合物是经静脉内给药的。

[1078] 在实施方案中,所述核酸佐剂具有SEQ ID NO:2(tcgaacgttcgaacgttcgaacgttcgaat)的序列,并且产生的抗体是IgG1、IgG2a、IgG2b和IgG3抗体,其中IgG1抗体的量相对于IgG2a和IgG2b抗体的量较少。在进一步的实施方案中,所述细胞穿透复合物是经静脉内给药的。

[1079] 在实施方案中,所述抗体是IgG2抗体。

[1080] 在实施方案中,所述病毒性疾病是SARS。在实施方案中,所述病毒性疾病是COVID-19。在实施方案中,所述病毒性疾病是MERS。

[1081] 药物组合物

[1082] 一方面,提供了药物组合物,其包含治疗有效量的如本文(包括实施方案)所述的细胞穿透复合物及和药学上可接受的赋形剂。

[1083] 在实施方案中，本文提供的组合物用于治疗目的。在一些实施方案中，治疗目的涵盖预防目的(预防疾病或病症发生的目的)和治疗目的(治疗现有疾病或病症的目的)。当所述组合物具有阳离子两亲聚合物但没有荷载核酸时，可以在向个体给药之前将表现出治疗效果的荷载核酸非共价结合于所述阳离子两亲聚合物。

[1084] 在一些实施方案中，组合物可以是疫苗或其组合物，即含有疫苗和任选的药学上可接受的载体的组合物。所述疫苗或疫苗组合物可用于预防和/或治疗感染性疾病(例如COVD-19)或病症或与所述疾病或病症相关的病原体。在一些实施方案中，所述疫苗或疫苗组合物含有具有阳离子两亲聚合物和荷载核酸的细胞穿透复合物。在一些实施方案中，所述细胞穿透复合物在给药于个体时可以诱导免疫应答，即免疫原性。当由所述荷载核酸编码的一种或多种抗原肽在转染的细胞中表达时，可以至少部分地诱导这种免疫原性。

[1085] 一方面，本文公开的阳离子两亲聚合物或细胞穿透复合物可以配制在药物组合物中。所述阳离子两亲聚合物可以具有pH敏感性解聚结构域。在一个实施方案中，所述药物组合物还可以含有药学上可接受的赋形剂和/或药学上可接受的载体。

[1086] 在一些实施方案中，药物组合物可以具有细胞穿透复合物，其具有作为活性成分的非共价结合于阳离子两亲聚合物的核酸、核酸佐剂并且进一步含有药学上可接受的赋形剂或添加剂，这取决于给药途径。这种赋形剂或添加剂的实例包括水、药学上可接受的有机溶剂、胶原蛋白、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、羧乙烯基聚合物、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸钠、海藻酸钠、水溶性葡聚糖、羧甲基淀粉钠、果胶、甲基纤维素、乙基纤维素、黄原胶、阿拉伯树胶、酪蛋白、明胶、琼脂、双甘油(diglycerin)、甘油、丙二醇、聚乙二醇、凡士林、石蜡、硬脂醇、硬脂酸、人血清白蛋白(HSA)、甘露醇、山梨糖醇、乳糖、药学上可接受的表面活性剂等。根据本公开的剂型，所使用的添加剂可以选自但不限于上述或其组合，视情况而定。

[1087] 在一些实施方案中，所述药学上可接受的载体是核酸佐剂。在一些实例中，所述核酸佐剂可包括但不限于Toll样受体(TLR)的激动剂，STING途径激动剂，针对CD40、OX40、CTLA4、PD1或PD1-L的激动抗体，Freund's佐剂，苔藓虫素及CD40、OX40、CD137、PD1、CTLA4的配体，及其任何组合。在一些实施方案中，所述核酸佐剂可以增加免疫原性，当细胞穿透复合物与所述复合物共同给药于个体时，该免疫原性被诱导。在一些实施方案中，所述核酸佐剂在与所述复合物共同给药于个体时可以诱导抗体类别转换。

[1088] 本公开的药物组合物的制剂可以根据选择的给药途径而不同(例如，溶液剂、乳剂)。给药途径可以是例如经肌内、皮下、静脉内、淋巴管内、皮下、肌内、眼内、局部皮肤、局部结膜、口腔、膀胱内(膀胱)、肛门内和阴道内给药。

[1089] 在一些实施方案中，所述组合物可包含冷冻保护剂。冷冻保护剂的非限制性实例包括二醇(例如，乙二醇、丙二醇和甘油)、二甲亚砜(DMSO)、甲酰胺、蔗糖、海藻糖、葡萄糖及其任何组合。

[1090] 在一些实施方案中，所述制剂是控释制剂。术语“控释制剂”包括持续释放和定时释放制剂。控释制剂是本领域众所周知的。这些制剂包含使得所述组合物持续、周期性、脉冲或延迟释放的赋形剂。控释制剂包括但不限于将组合物包埋到基质中；肠溶衣；微囊化；凝胶和水凝胶；植入物；以及使得能够控制释放组合物的任何其它制剂。

[1091] 一方面，提供了具有细胞穿透复合物或其组合物的药盒。另一方面，提供了具有未结合于核酸的阳离子两亲聚合物或其组合物的药盒。所述药盒还可以包含描述使用阳离子

两亲聚合物和荷载核酸制备细胞穿透复合物的方案的文件或说明书。所述药盒的文件或说明书还可以描述将组合物给药于有此需要的个体的方案。

[1092] 可以通过将活性成分(即具有所需纯度的免疫原性制剂)与任选的生理学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂混合来制备本文所述的治疗制剂用于储存。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在使用的剂量和浓度下对接受者无毒性,并包括如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸等缓冲剂;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(例如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵、苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(小于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;聚乙烯吡咯烷酮等亲水性高分子;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;EDTA等螯合剂;蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇等糖类;成盐抗衡离子,例如钠;金属络合物(例如,锌-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂,例如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

[1093] 本文的制剂还可以含有一种以上的活性化合物(例如,除了具有细胞穿透复合物的免疫原性制剂之外的第二活性制剂),可以对其进行选择以互补活性但相互不产生不利影响。这种分子可以以可有效用于预期目的量适当地组合存在。

[1094] 诱导免疫应答的方法

[1095] 另一方面,本文提供了在个体中诱导免疫应答的方法。在一些实施方案中,所述方法可以使用细胞穿透复合物治疗和/或预防疾病或病症。所述方法通常包括单独(例如在单一疗法中)或与一种或多种其它成分组合(例如在联合疗法中)向有此需要的个体给药治疗有效量的本文所述的细胞穿透复合物或具有所述细胞穿透复合物的药物组合物,所述一种或多种其它成分例如是药学上可接受的赋形剂和/或其它治疗剂。

[1096] 在一些实施方案中,细胞穿透复合物或具有细胞穿透复合物的药物组合物可用作疫苗,其可在给药了所述细胞穿透复合物或其药物组合物的个体中诱导免疫应答。

[1097] 在一些实施方案中,所述疫苗可具有预防活性,由此所述疫苗可预防或降低个体中疾病或病症发生的可能性。在实施方案中,当所述疫苗用于预防目的时,个体可以是没有所述疾病或病症的动物,例如未被诊断出患有该疾病或病症或没有与该疾病或病症相关的明显症状的人。在一些其它实施方案中,所述疫苗具有治疗效果,由此疫苗可用于治疗疾病或病症(例如,病毒性疾病)。治疗性疫苗的一些实例可以包括但不限于可以给药于患有或处于发生病毒性疾病(例如COVID-19)风险的患者的病毒疫苗。所述病毒疫苗可以表现出一种或多种抗病毒活性,例如减少病毒颗粒数量,减少和/或抑制病毒复制和感染性。在一些其它实施方案中,病毒疫苗用于预防目的,特别是在被认为易感染但目前还未患有所述病毒性疾病的个体中。可将预防性疫苗给药于易感个体并预防或降低个体中所述病毒性疾病发生的可能性。

[1098] 一方面,本公开内容提供了一种在有此需要的个体中诱导针对疾病的免疫应答的方法。所述方法可以包括向个体给药有效量的细胞穿透复合物。

[1099] 在一些实施方案中,细胞穿透复合物可用作疫苗,其可在被给药该复合物的个体中诱导免疫应答。所述复合物可含有与阳离子两亲聚合物非共价结合的核酸,且所述阳离子两亲聚合物可具有pH-敏感性解聚结构域。

[1100] 在实施方案中,所述疫苗或其组合物中含有的核酸可以是编码病毒蛋白或其片段的核酸序列。例如,当涉及感染性疾病时,所述疫苗中含有的核酸可以编码已知在感染性疾病的病原体(如致病病毒)中表达的一种或多种肽,并且在给药于个体时可以诱导免疫应答。在实施方案中,所述病毒蛋白是SARS-CoV-2刺突蛋白的可溶性受体结合结构域(RBD)。当编码病毒蛋白的核酸被给药到个体并递送(即转染)至个体的某些细胞中时,转染的核酸最终可以被翻译并表达为抗原肽。由于表达的肽是抗原性或免疫原性的,因此可以在个体中诱导针对所述表达的肽的免疫应答。个体可以通过这种疫苗接种产生获得性免疫应答,其中适应性免疫可以在对所述免疫应答靶向的免疫原性肽的初始应答后引起免疫记忆,并在随后的遭遇中导致对该靶的增强应答,表现出预防作用。

[1101] 在一些实施方案中,通过在单一的疫苗组合物中递送两种单独类型的核酸(或序列),疫苗接种可以提供治疗和预防的双重活性。这两种单独的核酸可以编码两种不同的免疫原性肽。因此,在一些实施方案中,所述疫苗组合物可以转染(1)编码第一免疫原性肽的第一核酸,其可以对现有的疾病或病症产生更即时的治疗效果;(2)编码不同的第二免疫原性肽的第二核酸,其目的是在个体中诱导对未来发生的不同疾病或病症的适应性免疫力。在一些实施方案中,所述疫苗可以向个体递送两种或更多种不同的核酸,并且每种核酸分别独立表现出治疗或预防效果。

[1102] 在实施方案中,所述疫苗组合物可以具有两种或更多不同类型(或不同配方)的阳离子两亲聚合物。或者,疫苗组合物可以只有单一类型(或单一配方)的阳离子两亲聚合物。在一些实施方案中,单一类型的阳离子两亲聚合物可以非共价地结合于一种类型的核酸(序列)。或者,单一类型的阳离子两亲聚合物可以与两种或多种类型的核酸(序列)非共价结合。因此,在实施方案中,可以将不同类型的阳离子两亲聚合物的混合物一起给药于个体以递送两种或更多种核酸序列(或类型),其中每一种阳离子两亲聚合物都与不同的核酸序列结合。另外,可以将与多种类型(或序列)的核酸结合的单一类型(或配方)的阳离子两亲聚合物给药于个体,以递送两种或更多(或类型)核酸序列。另外,也可以将与单一核酸序列(或类型)结合的单一类型(或配方)的阳离子两亲聚合物给药于个体。

[1103] 在一些实施方案中,所述疫苗或其组合物中含有的核酸可以是mRNA。在一些实施方案中,通过疫苗接种将核酸转染到个体的一个或多个细胞中。在一些实施方案中,可以通过疫苗组合物转染一个或多个核酸序列。因此,在一些实施方案中,疫苗组合物含有两种不同的核酸,每种核酸分别编码不同的抗原肽。因此,当疫苗被给药于需要接种的个体体内时,两种或更多类型的抗原表位可以被表达并在个体体内诱导免疫应答。在另一个实施方案中,一种类型的核酸可以通过接种转染,从而使一种类型的表位可以被表达并在个体中诱导免疫应答。

[1104] 给药

[1105] 在某些方面,提供了将本文(包括其实施方案)提供的组合物递送至细胞或个体,以便为所述细胞或个体提供所需的活性的方法。在一些实施方案中,所述组合物含有具有与阳离子两亲聚合物非共价地结合的荷载核酸的细胞穿透复合物。当将所述荷载核酸转染到细胞或给药于个体时,可以提供各种预期效果,这取决于所述核酸序列的性质。预期效果的一些非限制性实例包括调节基因表达、调节细胞途径、基因组编辑和诱导免疫应答。在一些实施方案中,所述组合物可以以有效量给药于个体,该有效量足以在个体中实现至少部

分预期效果。

[1106] 当与组合物相关使用时，“给药”、“施用”等既指直接给药(其可以是在体外给药于细胞、在体内给药于细胞、由医疗专业人员给药于个体或由个体自我给药)和/或指间接给药(其可以是开处本公开的组合物的行为)。当本文用于提及细胞时，指的是将组合物引入细胞。通常给药有效量，该量可由本领域技术人员确定。可以使用任何给药方法。化合物(例如，药物和抗体)可以通过例如将化合物加入细胞培养基或体内注射的方式给药于细胞。给药于个体的可以通过例如血管内注射、直接瘤内给药等方式实现。

[1107] 给药可指口服给药、作为栓剂给药、局部接触、经静脉内、腹膜内、肌内、鞘内、鼻内或皮下途径给药，或为个体植入缓释装置例如微型渗透泵。给药是通过任何途径，包括肠外和经粘膜(例如含服、舌下、腭部、齿龈、鼻腔、阴道、直肠或经皮)给药。肠外给药包括例如静脉内、肌内、动脉内、皮内、皮下、腹膜内、静脉内和颅内给药。其它给药方式包括但不限于使用脂质体制剂、静脉输注、透皮贴剂等。所谓“联合给药”是指本文所述的组合物是在一种或多种额外疗法例如癌症疗法如化疗、激素疗法、放疗或免疫疗法同时、之前或之后给药。本发明的化合物可以单独给药，也可以联合给药于患者。联合给药是指包括同时或相继单独或组合给药化合物(一个以上的化合物)。

[1108] 给药于个体的剂量和频率(单剂量或多剂量)可以根据各种因素而变化，例如个体是否患有其它疾病，其给药途径；个体的大小、年龄、性别、健康状况、体重、体重指数和饮食；治疗的疾病的症状的性质和程度、并行治疗的种类、治疗的疾病的并发症或其它健康相关问题。其它治疗方案或制剂可与本文(包括其实施方案)所述的方法和组合物一起使用。对既定剂量(例如，频率和持续时间)的调整和操作完全在本领域技术人员的能力范围之内。

[1109] 利用本文提供的教导，可以计划有效的预防或治疗方案，该方案不会引起实质性的毒性，但却能有效地治疗特定患者表现出的临床症状。这种计划应包括通过考虑如化合物的效力、相对生物利用度、患者体重、不良副作用的存在和严重程度、优选的给药方式和所选制剂的毒性特征等因素来谨慎选择活性化合物。

[1110] 在一些实施方案中，所述个体是哺乳动物，例如人类、非人灵长类动物、鼠(即小鼠和大鼠)、犬、猫或马。在一个实施方案中，个体是人类。

[1111] 在一些实施方案中，可以以如下剂量(或量)给药组合物：约1ng/kg个体体重，约10ng/kg个体体重，约50ng/kg个体体重，约100ng/kg个体体重，约500ng/kg个体体重，约1ug/kg个体体重，约10μg/kg个体体重，约50ug/kg个体体重，约100μg/kg个体体重，约150μg/kg个体体重，约200μg/kg个体体重，约250μg/kg个体体重，约300μg/kg个体体重，约350μg/kg个体体重，约375μg/kg个体体重，约400μg/kg个体体重，约450μg/kg个体体重，约500μg/kg个体体重，约550μg/kg个体体重，约600μg/kg个体体重，约650μg/kg个体体重，约700μg/kg个体体重，约750μg/kg个体体重，约800μg/kg个体体重，约850μg/kg个体体重，约900μg/kg个体体重，约1mg/kg个体体重，约10mg/kg个体体重，约50mg/kg个体体重，约100mg/kg个体体重，约500mg/kg个体体重，约1g/kg个体体重，或更高剂量或前述剂量的任何中间范围。在一些实施方案中，可以以如下剂量(或量)给药组合物：约0.5μg，约1.0μg，约1.5μg，约2.0μg，约2.5μg，约3.0μg，约3.5μg，约4.0μg，约4.5μg约5.0μg，约5.5μg，约6.0μg，约6.5μg，约7.0μg，约7.5μg，约8.0μg，约8.5μg，约9.0μg，约9.5μg，约1.0mg，约1.5mg，约2.0mg，约

2.5mg,约3.0mg,约3.5mg,约4.0mg,约4.5mg约5.0mg,约5.5mg,约6.0mg,约6.5mg,约7.0mg,约7.5mg,约8.0mg,约8.5mg,约9.0mg,约9.5mg,约1g或更高剂量或前述剂量的任何中间范围。在一些实施方案中,可以以约7.5μg或约0.375mg/kg个体体重的剂量(或量)给药组合物。可以在所需的时间段内重复给药,例如在约1天至约5天的时间段内重复给药,或每隔几天给药一次,例如约5天、约1个月、约2个月等等给药一次。这里的重量可以是细胞穿透复合物的重量或其组合物或药物制剂的重量。

[1112] 在一个实施方案中,可以以6小时、12小时、每天或每隔一天或每周或每月的间隔对组合物进行全身或局部给药(例如,瘤内注射、静脉注射),以引起所需的益处或以其它方式提供治疗效果。

[1113] 在一个实施方案中,与基线参考或对照参考相比,可以降低对组合物、特别是癌症疫苗的应答率。术语"应答率"是在本文的习惯意义上使用的,表示治疗后有癌症衰退应答的患者的百分比。应答率包括例如部分或完全衰退。部分应答包括癌细胞的约5%、约10%、约15%、约20%、约25%、约30%、约35%、约40%、约45%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约97%、约98%或约99%的衰退。在一些实施方案中,对照参考得自健康个体、癌症个体(例如,正被治疗的癌症个体或另一癌症个体),或其任何群体。

[1114] 应当理解的是,本文描述的实施例和实施方案仅用于示例说明目的,并且根据其进行的各种修改或变化会被提示给本领域技术人员,并且将被纳入本申请的精神和权限以及所附权利要求的范围。本文引用的所有出版物、专利和专利申请在此均以其全部内容援引加入本文来达到所有目的。

[1115] 在实施方案中,使所述阳离子两亲聚合物在细胞内降解,从而形成降解产物。在实施方案中,所述降解产物是取代或未取代的二酮哌嗪。

[1116] 在实施方案中,所述方法进一步包括使mRNA在所述细胞中表达。在实施方案中,所述细胞是真核细胞。在实施方案中,所述细胞是哺乳动物或人细胞。在实施方案中,所述细胞构成生物体的一部分。在实施方案中,所述生物体是人。在实施方案中,所述细胞是淋巴细胞或骨髓细胞。在实施方案中,所述细胞是T细胞。在实施方案中,所述细胞是骨髓细胞。

[1117] 在一个方面提供了一种在有此需要的个体中诱导免疫应答的方法,所述方法包括给药有效量的本文(包括其实施方案)提供的复合物。

[1118] P实施方案

[1119] P实施方案1:一种细胞穿透复合物,其包含核糖核酸、核酸佐剂和阳离子两亲聚合物,所述核糖核酸包含编码病毒蛋白的序列。

[1120] P实施方案2:P实施方案1的细胞穿透复合物,其中所述核糖核酸与所述阳离子两亲聚合物非共价结合。

[1121] P实施方案3:P实施方案1或2的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是呼吸道合胞病毒(RSV)蛋白、人偏肺病毒(hMPV)蛋白、3型副流感病毒(PIV3)蛋白、H1ON8流感病毒蛋白、H7N9流感病毒蛋白、巨细胞病毒(CMV)蛋白、寨卡病毒蛋白、基孔肯亚病毒蛋白或严重急性呼吸系统综合征(SARS)相关冠状病毒(CoV)蛋白。

[1122] P实施方案4:P实施方案1至3之一的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是SARS-CoV-1蛋白或SARS-CoV-2蛋白。

[1123] P实施方案5:P实施方案1至3之一的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是SARS-CoV-2刺突蛋白或其片段。

[1124] P实施方案6:P实施方案1至3之一的细胞穿透复合物,其中所述病毒蛋白是SARS-CoV-2刺突蛋白的可溶性受体结合结构域(RBD)。

[1125] P实施方案7:P实施方案1至6之一的细胞穿透复合物,其中所述核糖核酸包含SEQ ID NO:3的序列。

[1126] P实施方案8:P实施方案1至7之一的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂是DNA佐剂。

[1127] P实施方案9:P实施方案1至7之一的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂是toll样受体(TLR)激动剂。

[1128] P实施方案10:P实施方案1至7之一的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂包括一种或多种未甲基化的CpG寡核苷酸。

[1129] P实施方案11:P实施方案1至7之一的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂是TLR-9激动剂。

[1130] P实施方案12:P实施方案1至7之一的细胞穿透复合物,其中所述核酸佐剂具有SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的序列。

[1131] P实施方案13:P实施方案1至12之一的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物包含pH敏感性解聚结构域和亲脂性聚合物结构域。

[1132] P实施方案14:P实施方案1至12之一的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[1133] R^{1A}-[L^1-[$(LP^1)_{z1}$-$(LP^2)_{z3}$-$(IM)_{z2}$]$_{z4}$-L^2-R^{2A}]$_{z5}$(I)

[1134] 其中

[1135] R^{1A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

[1136] R^{2A}是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;

[1137] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基;

[1138] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域;

[1139] IM是所述pH-敏感性解聚结构域;

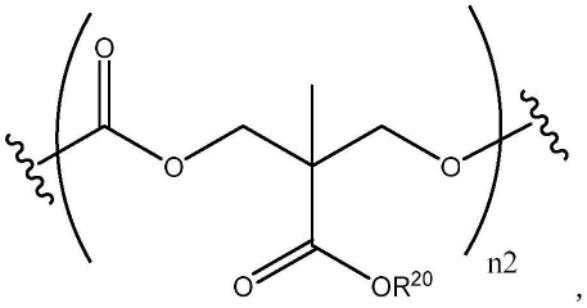
[1140] z5是1至10的整数；

[1141] z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；

[1142] z4是1至100的整数；并且

[1143] z2是2至100的整数。

[1144] P实施方案15：P实施方案14的细胞穿透复合物，其中所述亲脂性聚合物结构域具有下式：

[1145] 

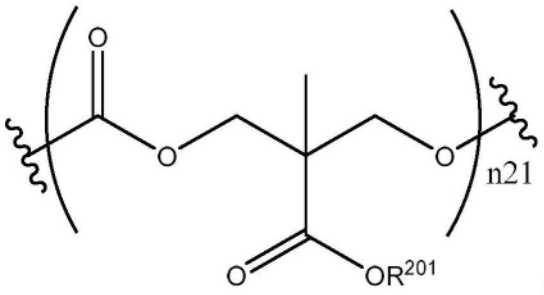
，

[1146] 其中

[1147] n2是1至100的整数；

[1148] R^{20}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[1149] P实施方案16：P实施方案14的细胞穿透复合物，其中LP^1具有下式：

[1150] 

，

[1151] 其中

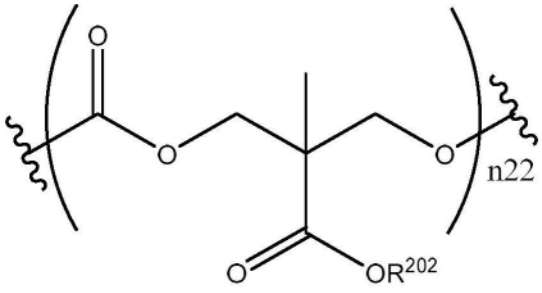
[1152] n21是1至100的整数；

[1153] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[1154] P实施方案17：P实施方案16的细胞穿透复合物，其中n21是5，且R^{201}是未取代的C_{18}烯基。

[1155] P实施方案18：P实施方案17的细胞穿透复合物，其中所述未取代的C_{18}烯基是油烯基。

[1156] P实施方案19：P实施方案14的细胞穿透复合物，其中LP^2具有下式：

[1157] 

,

[1158] 其中

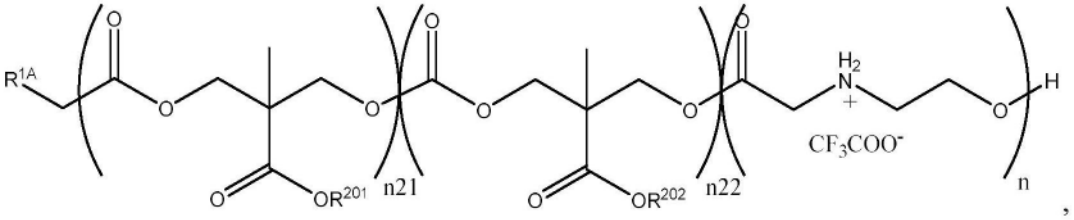
[1159] n22是1至100的整数;

[1160] R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[1161] P实施方案20:P实施方案19的细胞穿透复合物,其中n22是5,且R^{202}是未取代的C_9烯基。

[1162] P实施方案21:P实施方案20的细胞穿透复合物,其中所述未取代的C_9烯基是是壬烯基。

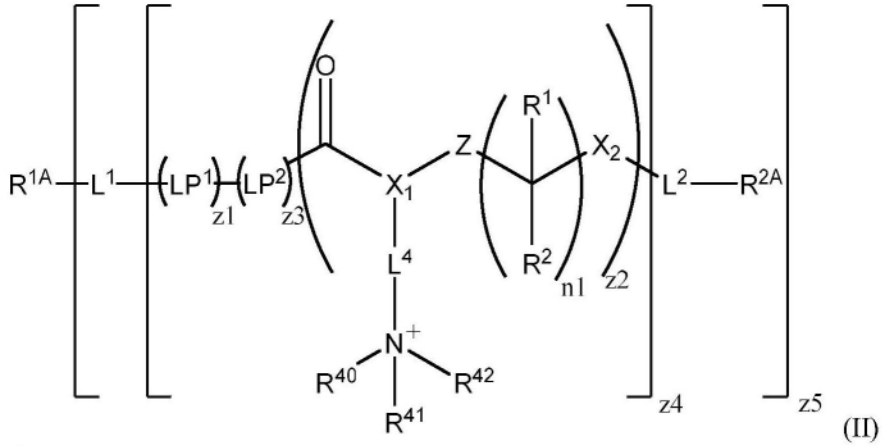
[1163] P实施方案22:P实施方案14的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[1164] 

,

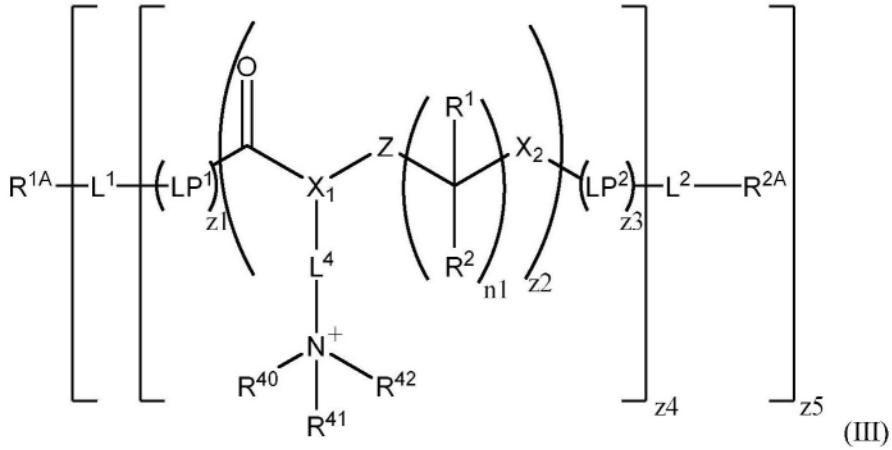
[1165] 其中n21是5,R^{201}是油烯基,n22是5,R^{202}是壬烯基,且n是7。

[1166] P实施方案23:P实施方案1至12之一的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:



(II)

[1167] 或



(III)

[1168] 其中

[1169] R^{1A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[1170] R^{2A}独立地是氢、卤素、-CCl_3、-CBr_3、-CF_3、-CI_3、-$CHCl_2$、-$CHBr_2$、-CHF_2、-CHI_2、-CH_2Cl、-CH_2Br、-CH_2F、-CH_2I、-CN、-OH、-NH_2、独立地是-COOH、-$CONH_2$、-NO_2、-SH、-SO_3H、-SO_4H、-SO_2NH_2、-$NHNH_2$、-ONH_2、独立地是-NHC(O)$NHNH_2$、-NHC(O)NH_2、-$NHSO_2H$、-NHC(O)H、-NHC(O)OH、-NHOH、-$OCCl_3$、-OCF_3、-$OCBr_3$、-OCI_3、-$OCHCl_2$、-$OCHBr_2$、-$OCHI_2$、-$OCHF_2$、-OCH_2Cl、-OCH_2Br、-OCH_2I、-OCH_2F、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基；

[1171] L^1和L^2独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、-$S(O)_2$-、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、取代或未取代的亚杂烷基、取代或未取代的亚环烷基、取代或未取代的亚杂环烷基、取代或未取代的亚芳基、或取代或未取代的亚杂芳基；

[1172] LP^1和LP^2独立地是亲脂性聚合物结构域；

[1173] X^1是键、-C(R^5)(R^6)-、-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-、-O-C(R^5)(R^6)-、或-O-C(R^5)(R^6)-C(R^7)(R^8)-；

[1174] X^2是-O-或-S-；

[1175] R^1、R^2、R^5、R^6、R^7、和R^8独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

[1176] L^4独立地是键、-C(O)O-、-O-、-S-、-NH-、-C(O)NH-、-NHC(O)-、$-S(O)_2-$、-S(O)NH-、-NHC(O)NH-、取代或未取代的亚烷基、或取代或未取代的亚杂烷基；

[1177] R^{40}、R^{41}、和R^{42}独立地是氢、取代或未取代的烷基或取代或未取代的杂烷基；

[1178] Z是-S-、$-S^+R^{13}-$、$-NR^{13}-$、或$-N^+(R^{13})(H)-$；

[1179] R^{13}是氢、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、-CN、-OH、=O、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_2NH_2$、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、-OCHF、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基；

[1180] n1是0至50的整数；

[1181] z1和z3独立地是0至100的整数，其中z1或z3中的至少一个不是0；

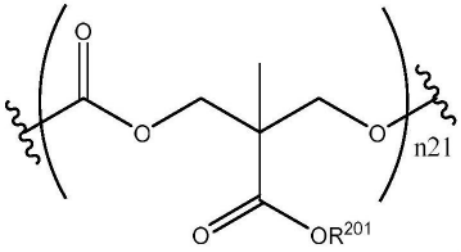
[1182] z2是2至100的整数；

[1183] z4是1至100的整数；

[1184] 并且

[1185] z5是1至10的整数。

[1186] P实施方案24：P实施方案23的细胞穿透复合物，其中LP^1具有下式：

[1187] 

，

[1188] 其中

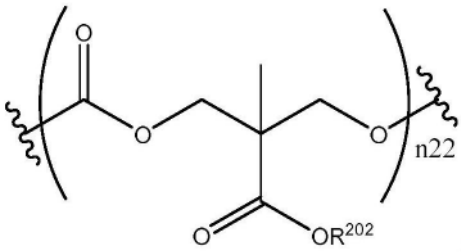
[1189] n21是1至100的整数；

[1190] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[1191] P实施方案25：P实施方案24的细胞穿透复合物，其中n21是10-40。

[1192] P实施方案26：P实施方案24的细胞穿透复合物，其中R^{201}是未取代的C_{12}烷基。

[1193] P实施方案27：P实施方案24的细胞穿透复合物，其中LP^2具有下式：

[1194] 

，

[1195] 其中

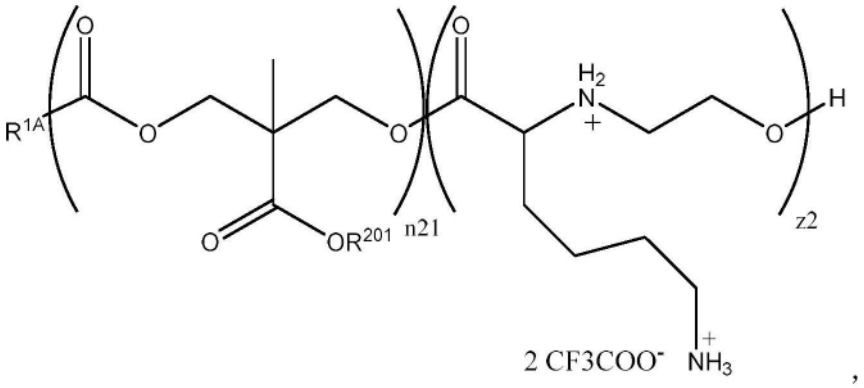
[1196] n22是1至100的整数；

[1197] R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[1198] P实施方案28:P实施方案27的细胞穿透复合物,其中n22是10-35。

[1199] P实施方案29:P实施方案27的细胞穿透复合物,其中R^{202}是未取代的C_{12}烯基。

[1200] P实施方案30:P实施方案23至29任一项的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[1201] 

,

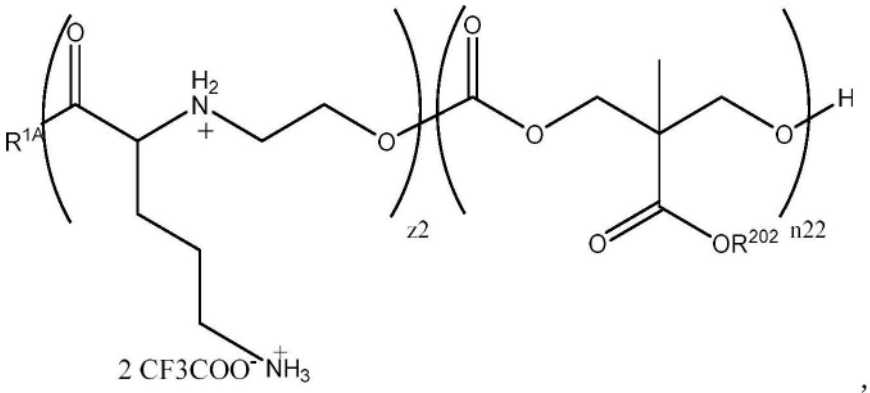
[1202] 其中n21是10至20的整数;

[1203] R^{201}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;并且

[1204] z2独立地是3至10的整数。

[1205] P实施方案31:P实施方案30的细胞穿透复合物,其中n21是14,R^{201}是十二烷基,且z2是8。

[1206] P实施方案32:P实施方案31的细胞穿透复合物,其中所述阳离子两亲聚合物具有下式:

[1207] 

,

[1208] 其中n22是10至35的整数;

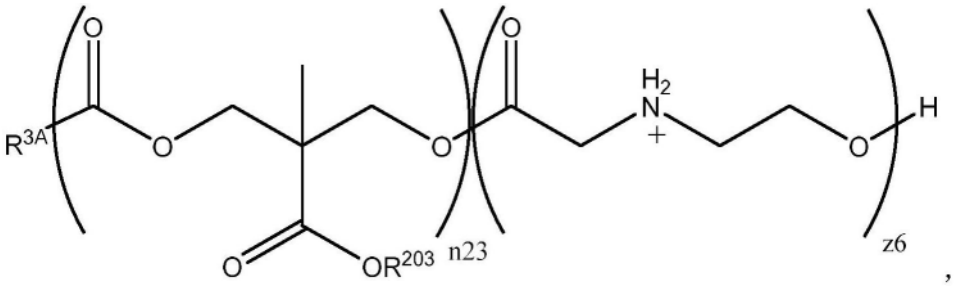
[1209] R^{202}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基;并且

[1210] z2独立地是5至20的整数。

[1211] P实施方案33:P实施方案32的细胞穿透复合物,其中n22是14,R^{202}是十二烷基,且z2是7。

[1212] P实施方案34:P实施方案23的细胞穿透复合物,其进一步包含第二阳离子两亲聚合物,其中所述第二阳离子两亲聚合物不同于所述阳离子两亲聚合物。

[1213] P实施方案35:P实施方案34的细胞穿透复合物,其中所述第二阳离子两亲聚合物具有下式:

[1214] 

[1215] n23是1至100的整数;

[1216] z6是5至15的整数;

[1217] R^{3A}独立地是氢、卤素、$-CCl_3$、$-CBr_3$、$-CF_3$、$-CI_3$、$-CHCl_2$、$-CHBr_2$、$-CHF_2$、$-CHI_2$、$-CH_2Cl$、$-CH_2Br$、$-CH_2F$、$-CH_2I$、-CN、-OH、$-NH_2$、-COOH、$-CONH_2$、$-NO_2$、-SH、$-SO_3H$、$-SO_4H$、$-SO_2NH_2$、$-NHNH_2$、$-ONH_2$、$-NHC(O)NHNH_2$、$-NHC(O)NH_2$、$-NHSO_2H$、$-NHC(O)H$、$-NHC(O)OH$、-NHOH、$-OCCl_3$、$-OCF_3$、$-OCBr_3$、$-OCI_3$、$-OCHCl_2$、$-OCHBr_2$、$-OCHI_2$、$-OCHF_2$、$-OCH_2Cl$、$-OCH_2Br$、$-OCH_2I$、$-OCH_2F$、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基、或取代或未取代的杂芳基;且

[1218] R^{203}独立地是氢、取代或未取代的烷基、取代或未取代的杂烷基、取代或未取代的环烷基、取代或未取代的杂环烷基、取代或未取代的芳基或取代或未取代的杂芳基。

[1219] P实施方案36:P实施方案35的细胞穿透复合物,其中n23是13,z6是11,且R^{203}是十二烷基。

[1220] P实施方案37:一种疫苗组合物,其包含P实施方案1至36中任一项的细胞穿透复合物。

[1221] P实施方案38:一种药物组合物,其包含治疗有效量的P实施方案1至36中任一项的细胞穿透复合物和药学上可接受的赋形剂。

[1222] P实施方案39:一种治疗或预防需要此类治疗或预防的个体中的病毒性疾病的方法,所述方法包括向所述个体给药治疗性或预防性有效量的P实施方案1至36中任一项的细胞穿透复合物。

[1223] P实施方案40:一种治疗有此需要的个体的病毒性疾病的方法,其包括向所述个体给药治疗有效量的P实施方案1至36中任一项的细胞穿透复合物和药物载体,从而治疗所述个体的病毒性疾病。

[1224] P实施方案41:一种对易患病毒性疾病的宿主进行免疫的方法,其包括向宿主给药P实施方案1至36中任一项的细胞穿透复合物,使得产生针对所述病毒蛋白或其功能片段的抗体。

[1225] P实施方案42:P实施方案41的方法,其中所述抗体是IgG2抗体。

[1226] P实施方案43:P实施方案40至42之一的方法,其中所述病毒性疾病是SARS。

[1227] P实施方案44:P实施方案40至42之一的方法,其中所述病毒性疾病是COVID-19。

[1228] P实施方案45:P实施方案40至42之一的方法,其中所述病毒性疾病是MERS。

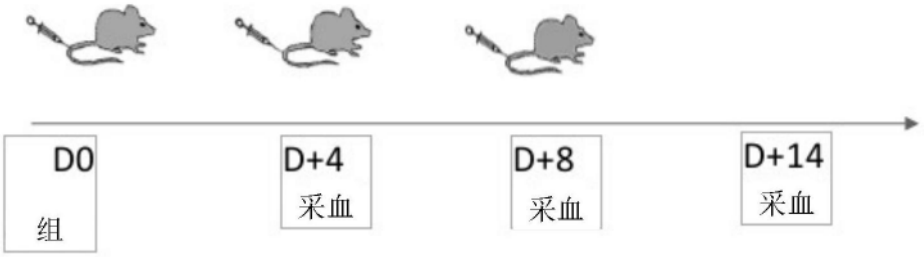
实施例

[1229] 实施例1:mRNA疫苗

[1230] 我们使用了编码SARS-CoV-2刺突蛋白的可溶性受体结合域的mRNA。免疫应答集中在SARS-CoV-2刺突蛋白的基本部分,它是细胞进入和感染性所需的。在以前的冠状病毒流行病SARS-CoV-1和中东呼吸综合征(MERS)中用完整刺突蛋白疫苗观察到的抗体介导的"疾病增强",通过使用病毒蛋白的片段和特定结构域(如RBD)来防止。TLR9激动剂可用作佐剂。TLR9激动剂可以被共配制,以便有效地被共递送到接受RBD编码mRNA的相同细胞。TLR9激动剂可激活先天性免疫应答,进而帮助和激发适应性免疫应答。此前,它还被证明有助于抗体同种型转换和成熟B细胞应答。TLR9激动剂可进一步增强T细胞应答。本文提供的组合物可用于将核酸高效地递送给活体动物的免疫细胞,并具有希望的毒性和免疫原性谱。

[1231] CART RBD-mRNA第一个实验-佐剂测试,检测RBD特异性Ab的ELISA,T细胞测定,受体结合抑制/竞争和假病毒中和测定:

[1232]



[1233] • 组1:3ug RBD mRNA-CART I.V.

[1234] • 组2:3μg RBD mRNA-CART+3μg CpG(共配制的)I.V.

[1235] • 组3:3μg RBD mRNA-CART+30μg激动性CD40mAb(共配制的)I.V.

[1236] • 组4:3μg RBD mRNA-CART+30μg激动性CD40mAb+3μg CpG(共配制的)I.V.

[1237] • 组5:3μg CpG-CART+30μg激动性CD40mAb(共配制的)I.V CTR组

[1238] • 组6:首次实验小鼠(Naïvemice)CTR组

[1239] 我们开发了一种三组分mRNA疫苗,其诱导同种型转换的中和抗体应答,在活体动物的血液循环和肺部都可以检测到。三组分是:编码SARS-CoV-2刺突蛋白受体结合域(RBD)的可溶性版本的mRNA,基于DNA的寡核苷酸(如CpG)形式的TLR9激动剂,以及改变电荷的可释放转运体(Charge-Altering Releasable Transporters,CART)。CART配制mRNA和TLR9激动剂,制成纳米颗粒,有效地将TLR9激动剂和RBD mRNA递送到活体动物的细胞。

[1240] 我们开发了一种在近交系小鼠和人源化小鼠中都有效的疫苗。CART技术已经在啮齿动物模型中进行了安全性评估。该疫苗在临床前模型中给出了希望的应答。

[1241] 实施例2:采用改变电荷的可释放转运体和TLR-9激动剂的mRNA SARS-CoV-2疫苗诱导中和抗体和T细胞记忆

[1242] SARS-CoV-2大流行使得有必要快速开发预防疫苗。两种mRNA疫苗已被美国食品和药物管理局批准紧急使用,并显示出非凡的有效性。这些mRNA疫苗的成功确立了mRNA的开发速度和治疗潜力。这些被批准的疫苗编码SARS-CoV-2刺突蛋白的全长版本。它们用具有内在免疫刺激特性的脂质纳米颗粒(LNP)递送载体配制。为了确保未来代次的SARS-CoV-2疫苗的灵活性和总体上mRNA疫苗的开发,会希望有不同的疫苗接种策略和替代的mRNA递送载体。

[1243] 在此,我们报告了一种替代性的mRNA疫苗方法的开发,其使用一种称为改变电荷的可释放转运体(CART)的递送载体。利用这些固有的非免疫原性载体,我们可以通过加入共配制的佐剂,如带有CpG基序的寡脱氧核苷酸(CpG-ODN)来调整疫苗的免疫原性。用我们的mRNA-CART疫苗接种的小鼠在血液循环和肺部支气管液中都产生了治疗相关水平的RBD特异性中和抗体(图16)。此外,我们的疫苗引起了强烈和持久的RBD特异性T_H1 T细胞应答,包括$CD4^+$和$CD8^+$T细胞记忆。

[1244] 介绍

[1245] 十多年来,冠状病毒大流行一直是人们日益关注的问题,人们已经多次尝试开发针对SARS-CoV-1和中东呼吸综合征(MERS)的疫苗[1]。SARS-CoV-2病毒的全球蔓延刺激了全世界的努力,利用以前对冠状病毒疫苗的认识来开发安全、有效和可扩展的疫苗,以缓解COVID-19大流行。虽然全世界都在研究各种候选疫苗和方法[2],但mRNA疫苗[3-6]的开发和实施速度非同寻常,说明了这种新兴技术的潜力。美国食品和药物管理局批准的针对SARS-Cov-2的mRNA疫苗的紧急使用代表了基础科学和应用科学的胜利,因为这些进展使得疫苗从概念到临床试验的最快速转化。[5,6]mRNA是瞬时表达的,不会整合到基因组中,并通过体内的自然降解机制被消除。mRNA疫苗提供了灵活和快速的设计,这将使后续代次产品能够应对新病毒变体的出现。

[1246] 目前批准的由体外转录产生的mRNA疫苗[5,6]使用化学修饰的核苷酸掺入编码全长病毒刺突蛋白的mRNA,通常包含2个结构表位突变,配制在脂质纳米颗粒(LNPs)中,并经肌内给药。尽管它们取得了非凡的成功,但促成针对COVID-19的最有效、安全和可扩展的疫苗的基础科学仍在不断发展。对mRNA的修饰和序列优化以及运载体的特定组分会影响免疫应答[7]。以前对SARS-CoV和MERS的研究表明,编码的抗原的正确选择是至关重要的[8],以避免来自疾病的抗体依赖性增强(ADE)的潜在并发症[9]。递送载体的化学性质也很重要,因为作为LNP组分之一的可离子化脂质作为佐剂起作用,但可诱导不良事件[10],而且LNP制剂中使用聚乙二醇(PEG)可导致过敏反应[11,12]。

[1247] 这些持续的挑战以及COVID-19大流行病在全球范围内对现有LNP技术的供应链造成的压力,突出了开发替代方法的必要性,既要加强面对这种和未来大流行病的全球反应能力,又要测试可能导致最有效和最持久的免疫反应的替代方法,以及能够对新出现的病毒变体作出快速反应[13]。

[1248] 在这项研究中,我们提出了一种替代性的三组分mRNA疫苗,其使用编码SARS-CoV-2刺突蛋白的受体结合域(RBD)的mRNA,与称为改变电荷的可释放转运体(CART)[14-16]的高效、无毒、不含PEG的mRNA递送平台以及作为共配制佐剂的TLR9激动剂(CpG)[16,17]一起配制(图17A)。先前的研究表明,RBD是一个有希望的抗原靶点[18-20],因为针对该靶点激发的抗体通常具有强烈的中和作用。CART提供了一个有前途的新基因递送平台,并在临床前小鼠研究中被证明是有效的mRNA疫苗递送者[16,21]。CART是单组分的两亲性二嵌段低聚物,其含有一串脂质单体和一串阳离子单体(图17B,23A-23B)。它们很容易在两步有机催化低聚过程中大规模生产。CART静电封装mRNA(或其它共配制的核苷酸如CpG)并将基因载荷递送入细胞。CART的一个独特特征是它们能够经历改变电荷的重排,产生中性的二酮哌嗪小分子(DKP)。这种转变有利于mRNA的释放(图17C),并消除与持久性阳离子有关的任何毒性问题[22]。以前的观察表明,静脉内注射后,含有羟乙基甘氨酸重复阳离子单元的CART选择性地将mRNA递

送到脾[14-16]，而肌内注射(IM)这些相同的产品会导致mRNA在肌肉中局部翻译(图17D)。用fLuc mRNA进行的生物发光研究表明，静脉内注射后脾中蛋白质的表达量大于肌内注射后肌肉中的表达量。在任何一个部位，表达在4-6小时后达到高峰(图17E)，并在3-4天内下降。此外，含有不饱和脂质嵌段的CART表现出增强的抗原呈递细胞的转染[15]，这促使我们选择这样的CART用于COVID-19疫苗。CART递送载体本身不会诱导非特异性的免疫刺激[16,21]。这一特性允许共配制寡脱氧核苷酸佐剂如TLR9激动剂CpG-ODN，以调整诱导的免疫应答。

[1249] 在此，我们证明将CART与编码SARS-CoV-2RBD的mRNA和TLR9激动剂CpG(RBD mRNA+CpG-CART)共同配制，在小鼠体内诱导强大的中和抗体和RBD特异性T细胞应答。此外，我们在接种疫苗的动物的脾和肺检测到显著水平的这些抗体和记忆T细胞。

[1250] 结果

[1251] RBD mRNA+CpG-CART接种在免疫后第4天引发抗RBD特异性抗体

[1252] 编码SARS-CoV-2受体结合域(RBD)[23]的mRNA是通过体外转录并根据该病毒的公开序列制备的。包括一个His标签作为质量控制步骤，以使得对翻译的mRNA产物进行蛋白质检测。所得的mRNA含有最佳的CAP-1结构；尿苷被替换为修饰的N1-甲基假尿苷，而胞苷被替换为5-甲基胞苷，以最大限度地提高mRNA的稳定性和翻译。在转染的293F和HeLa细胞中通过Western Blot验证了蛋白质的表达(图24A)。为了证明mRNA-CART复合物的给药在用优化修饰的mRNA配制时不会导致非特异性免疫刺激效应[24]，给小鼠静脉注射mRNA-CART并监测先天性免疫细胞的激活，我们发现这种测试是最敏感的。然而，当用未修饰的mRNA配制时，可以观察到先天免疫细胞亚群的非特异性激活，表明非特异性免疫刺激的特性取决于载荷而不是CART(图24B)。然后，我们能够通过将mRNA-CART复合物与触发抗原呈递细胞中的内体TLR9受体的CpG寡核苷酸共配制来指导我们候选疫苗的免疫应答。已知这些CpG实体是安全和有效的疫苗佐剂[17]。

[1253] 我们评估了添加或不添加CpG作为佐剂的RBD mRNA-CART疫苗接种的效果。静脉注射CART有效地将载荷递送到抗原呈递细胞(APC)如脾中的B细胞、巨噬细胞和树突状细胞[15,16](图17D)。这种mRNA-CART疫苗接种的给药途径在以前的治疗性癌症疫苗接种研究中被证明是有效的[16]。基于这一知识，我们首先通过静脉注射评估了我们的疫苗。小鼠在第0天被初免，并在第4天和第8天接受两次用或不用3g CpG配制的3g RBD mRNA-CART的加强注射(图18A)。作为对照，还包括一个单独接受3g CpG-CART而不含mRNA的组和一个用磷酸盐缓冲盐水(PBS)处理的对照组。接种RBD mRNA-CART加CpG的小鼠在接种后4天就产生了可检测水平的抗RBD IgG和IgM(图25A)。随着时间的推移，我们观察到与对照组相比，两个mRNA处理组的血清中的抗RBD抗体水平都有增加(图18B)。重要的是，我们的疫苗所诱导的抗体对RBD是特异性的，并且与不相关的His标记的蛋白质(GFP-His)没有交叉反应(图25B)。值得注意的是，用包括CpG的制剂接种的小鼠的RBD特异性抗体应答始终超过在没有CpG处理的小组中观察到的应答(图18B，18D)。

[1254] 添加CpG导致RBD特异性抗体应答的早期同种型转换。

[1255] 到第14天，我们观察到CpG共配制的疫苗诱导了RBD特异性Ig应答，该应答经历了从IgG1到IgG2a、IgG2b和IgG3的同种型转换。相比之下，接受不含共配制CpG的疫苗制剂的小鼠主要产生未转换的IgG1(图18C、26A和26B)。到第60天，这些差异就不那么明显了；然而，我们在接种含CpG疫苗的小鼠血清中检测到更高水平的全类别RBD特异性抗体(图18C，

26B)。

[1256] RBD mRNA+CpG-CART接种诱导的抗体抑制RBD-ACE2结合并中和假型病毒进入。

[1257] 接下来测试了诱导的抗血清抑制RBD-ACE2相互作用的能力(图19A)和阻止假型病毒进入表达ACE2的靶细胞的能力(图19B)。针对RBD蛋白与表达ACE2的靶细胞的结合,通过流式细胞仪(数据未显示)和通过与ACE2蛋白包被的固相结合,对功能性RBD-ACE2受体阻断进行了测定。在第28天,我们观察到接受含有CpG的疫苗组与没有佐剂的疫苗组之间的中和抗体水平有明显的差异。虽然来自RBD mRNA+CpG-CART接种的小鼠的抗血清显示了高度受体阻断和假型病毒中和,IC50分别为1:500和1:18000,但来自RBD mRNA-CART接种的小鼠的抗血清只是勉强高于背景的阳性(图19A、19B)。然而,到第60天,来自接种RBD mRNA-CART的小鼠的抗血清能够阻断RBD-ACE2受体的结合并中和假型病毒的进入,尽管其程度低于接种RBD mRNA+CpG-CART的小鼠的抗血清(图19A,19B)。受体相互作用阻断测定和假型病毒中和测定的结果有很好的相关性。

[1258] 免疫接种小鼠的支气管肺泡灌洗液中的RBD特异性抗体

[1259] 为了评估RBD特异性免疫球蛋白在接种小鼠肺部的存在,我们在治疗后第60天收集了支气管肺泡灌洗液(BAL)。通过ELISA,在RBD mRNA+CpG-CART和RBD mRNA-CART接种小鼠的BAL中都检测到RBD特异性Ig(图19C)。值得注意的是,由于BAL是用2mL无菌PBS冲洗肺部收集的,Ig效价代表了高度稀释的样品。重要的是,尽管被稀释,但来自两个接种组的BAL的这些免疫球蛋白在第60天阻断RBD-ACE2结合(图19D)。

[1260] 在免疫接种小鼠肺中的RBD特异性CD4+T细胞

[1261] 在小鼠中,Ig类别转换与TH1 T细胞应答有关[25,26]。为了评估疫苗诱导的T细胞应答,我们在第28日从静脉内接种的小鼠肺部制备了单细胞悬浮液,并将细胞在仅培养基中培养48小时或在可溶性RBD-His蛋白或对照蛋白(hCD81-His)存在下培养48小时。然后收集细胞并通过流式细胞仪检测T细胞的活化,使用荧光色素缀合的单克隆抗体检测记忆和活化特异性表面蛋白和细胞内细胞因子。值得注意的是,在RBD蛋白再刺激后,在来自用RBD mRNA+CpG-CART接种的小鼠的肺细胞悬液中可以鉴别明确的RBD特异性$CD4^+/CD44^{high}/CD134^+$和$CD4^+/CD44^{high}/TNF\alpha^+$活化T细胞亚群,而当细胞单独用培养基或在有对照蛋白的情况下培养时未能检测到(图19E)。$CD4^+$T细胞分泌的TNFα与T_H1极化有关。

[1262] 通过静脉注射、肌肉注射和皮下注射的给药途径RBD mRNA+CpG-CART疫苗引发强大的抗RBD Ig应答。

[1263] 为了测试我们的疫苗与给药途径(ROA)相关的功效,我们比较了通过静脉内(IV)、肌内(IM)或皮下(SC)给予免疫接种诱导的RBD特异性Ig应答。小鼠在第0天用配制在CART中的3μg RBD mRNA和3μg cPG初免,并在第8天接受加强免疫(图27A)。在分析的时间点D14和D28,所有的给药途径都导致可检测的中和抗体效价,IM和SC给药之间没有显著差异(图27B)。在IV免疫小鼠中,有一种更高效价的趋势。同种型转换的发生与给药途径无关(图27C)。

[1264] RBD mRNA+CpG-CART疫苗在临床相关的初免-加强方案中诱导强RBD特异性Ig应答,并且与CpG来源无关。

[1265] 在目前批准的SARS-CoV-2疫苗所选择的免疫方案的指导下[27],小鼠在D0用疫苗初免,D21加强免疫。小鼠用3μg的RBD mRNA+CpG-CART经IV或IM免疫接种(图20A)。证实了以前

的观察，两组都观察到了强有力的应答。IV免疫的小鼠在D21和D28的血清和BAL中显示出较高的但统计学上并不显著的抗RBD抗体(图20B-20D)。两组的抗血清在D21都有效地抑制RBD-ACE2的结合(图28B)，但在D28的效果明显更有效，反映了两组之间观察到的总RBD特异性IgG的差异(图20C)。此外，在两组中都观察到针对完整刺突蛋白的强抗体应答，但静脉注射组的抗体应答更高(图28C)。因此，疫苗诱导的抗RBD应答主要针对完整刺突蛋白中暴露的RBD表位。重要的是，尽管CpG是强同种型转换的抗RBD免疫球蛋白所必需的，但该应答与CpG的来源无关。我们测试了4种不同的CpG来源，其中三种是CpG的C亚类(CpG-C)，一种是B亚类(CpG-B)。不同的CpG-C之间没有观察到显著差异(图28A-28C和29A-29C)，而B亚类CpG与CpG-C相比表现不佳(数据未显示)。

[1266] RBD mRNA+CpG-CART疫苗诱导长久TH1 CD4+和CD8+T细胞记忆。

[1267] 免疫接种后第105天，从在D1和D21静脉内或肌内接受3μg RBD-mRNA+3μg CpG-CART或者3μg Ctrl mRNA+3μg CpG-CART的小鼠中采集脾细胞，并通过IFNγ酶联免疫吸附斑点测定(ELISpot)对T细胞应答进行鉴定。在该测定中，汇集的脾细胞被富集为CD4+或CD8+T细胞，并与SARS-CoV-2RBD肽集合或仅培养基培养过夜。通过IV和IM免疫接种，在CD4+和CD8+T细胞中都检测到显著的IFNγ应答。由于IV免疫接种小鼠的给药途径靶向脾，所以预计脾T细胞会给出更强的应答。另一方面，值得注意的是在免疫接种105天后检测到有应答的T细胞(图21A和21B)。

[1268] 为了进一步评估疫苗诱导的T细胞的功能和极化，我们将来自同一实验中各小鼠的脾细胞在RBD肽集合或仅培养基存在下进行保温。保温18小时后，用流式细胞仪分别检测$CD4^+$和$CD8^+$T细胞的记忆标志物CD44的表达以及细胞内细胞因子IFNγ、TNFα和IL-4的表达。即使在接种后的这个晚期时间点，在RBD-mRNA+CpG-CART静脉内免疫接种组中也可以鉴别显著的产生RBD特异性IFNγ的$CD4^+$和$CD8^+$T细胞群和产生TNFα的$CD8^+$T细胞群。产生IL-4的$CD4^+$T细胞没有增加，表明T细胞记忆主要是T_H1(图21C，21D和30)。与IFNγELISpot结果相反，我们无法通过流式细胞仪在IM免疫接种小鼠中鉴别这些低频群($CD4^+$和$CD8^+$富集条件下，平均每5×10^5个细胞分别有28和55个IFNγ斑点)。

[1269] 免疫接种小鼠的中和抗体水平与免疫接种的人类中达到的水平相当

[1270] 临床试验的结果表明，辉瑞/BioNTech的mRNA疫苗和Moderna疫苗都可以在给予第二剂加强疫苗之前提供对有症状感染的保护[28,29]，这意味着人类在加强疫苗之前的早期抗体水平足以提供疾病保护。因此，我们比较了我们的免疫接种的小鼠与免疫接种的人类在加强剂之前和之后所达到的中和抗体水平。BALB/c小鼠在D1和D21接受IM或IV给予的3μg RBD mRNA+3μg CpG-CART的免疫接种，并在D28收集血清。然后将这些小鼠血清与13名辉瑞/BioNTech的mRNA-LNP疫苗接种者的血清进行比较，这些血清是在初免接种15-21天后收集的，然后在加强疫苗接种15±4天后再次收集。我们的IM和IV免疫接种小鼠的加强后血清达到的RBD-ACE2抑制水平与人类加强前血清达到的水平相似或更高。接受静脉免疫接种的小鼠的抑制性抗体水平与人类加强后的水平相当(图22A和22B)。

[1271] RBD mRNA+CpG-CART免疫显示有利的安全性

[1272] 为了评估疫苗的安全性，在D0和D21日用PBS、3μg GFP mRNA-CART、3μg GFP mRNA+3μgCpG-CART或3μg RBD mRNA+3μg CpG-CART处理小鼠(图31A)。处理后没有观察到体重的差异(图31B和31C)。含有CpG的制剂的静脉给药在处理24小时后诱发了白细胞(WBC)计数的

瞬时下降，并在D2恢复。这是由CpG驱动的；注射不含CpG的mRNA-CART并没有改变白细胞计数(图31D-31F)。处理后1天和1周测量的血清TNFα和IL-6水平不受免疫接种的影响。IM和IV免疫接种导致血清IP10和IFNα水平在初免后1天瞬时增加。血清细胞因子水平在第二个分析时间点即初免后7天处于正常范围。同样，瞬时效应是由CpG介导的；与未经处理的小鼠相比，用不含CpG的mRNA-CART处理的小鼠在处理后显示出未改变的细胞因子谱(图31G-31J)。在加强免疫后，观察到白细胞计数和细胞因子谱都有类似的动态变化(数据未显示)。根据血清中丙氨酸转移酶(ALT)、天冬氨酸转移酶(AST)(图31K-31N)和碱性磷酸酶(AP)的水平评估，处理并没有诱发肝毒性。此外，在加强免疫后的第1天和第5天进行的大体组织病理学检查显示，在主要器官的大体评估中没有病理发现。

[1273] 讨论

[1274] 基于mRNA的治疗剂首次被美国食品和药物管理局批准，两种基于mRNA的SARS-CoV-2疫苗的成功既令人瞩目又能相互验证。然而，SARS-CoV-2疫苗的生产、部署和供应方面的挑战依然存在。一般来说，基于mRNA的治疗剂的持续成功和完善的一个重要方面是创造对具有不同化学和生物学特性的安全递送载体的多样化选择的可及性。在这里，我们展示了一种针对临床上相关的SARS-CoV-2的RBD抗原有效的mRNA接种策略，使用一种替代的mRNA递送平台，而不是临床上使用的脂质纳米颗粒。我们观察到有效的SARS-CoV-2特异性免疫应答，该免疫应答通过加入TLR9激动剂CpG作为佐剂而增强。我们进一步表明，由此产生的抗RBD血清能够中和假病毒进入表达ACE2的细胞。聚焦SARS-CoV-2病毒的ACE2受体结合域，我们能够在免疫动物的血清和肺中产生大量的同种型转换的RBD-特异性中和抗体。此外，我们还比较了使用已获批准的辉瑞/BioNTech mRNA-LNP疫苗接种的人类血清中的中和抗体水平与mRNA-CART疫苗接种小鼠的中和抗体水平。完全免疫的小鼠的中和抗体水平类似于(IM)或高于(IV)用辉瑞/BioNTech的mRNA疫苗接种的人的加强前血液样品中测得的中和抗体水平。由于已经证明这种被批准的mRNA疫苗最早在接种后第12天就能提供保护，这表明我们的疫苗诱导的中和抗体水平足以提供保护[28]。当然，为了进一步验证这些结果，需要在较大的动物如非人灵长类动物中进行免疫接种研究。最后，RBD mRNA+CpG-CART疫苗诱导了RBD特异性$CD4^+$和$CD8^+$T细胞反应，并诱导了T_H1极化的长效T细胞记忆。此外，以IgG2a和IgG2b为主的IgG同种型谱证实了T_H1极化的T细胞应答。

[1275] 与LNP相比，CART具有独特的生物分布，无需靶向配体，只需通过CART结构的改变，就可以将mRNA选择性地递送到脾或其他器官。CART可以很容易地制备并以任何所需的核苷酸组合来配制多种mRNA[21]，只需要一个与mRNA混合的结构组分，并且不需要专门的微流控仪器来制造它们。这就允许了替代性药物应用策略。初步实验表明，与mRNA配制的CART在-20℃下可稳定11天(图32)。然而，由于配制不需要特定的设备，可以采用混合后注射给予疫苗的方式。我们的初步实验表明，未配制的CART在DMSO中在-20℃下稳定12个月以上。因此，CART和mRNA可以被分到双室注射器的两个独立的室中，这样就可以在给药时进行混合和形成mRNA-CART，避免预配复合物的热稳定性问题。与LNP相反，CART没有非特异性的免疫刺激作用，这使得疫苗的设计更加灵活，当与mRNA共递送时，可以选择改变寡脱氧核苷酸佐剂的数量，而不是依赖LNP固有的免疫性。当肌内注射CART时，基因表达只位于注射部位，不扩散到其他器官。在一项使用肌内注射LNP的SARS-CoV-2疫苗研究中，肝脏显示出最高水平的报告基因和抗原表达[19]。此外，静脉注射CART使mRNA表达只在脾，这可以解释IV免疫比IM更有

效。虽然IV给予疫苗诱导了更强的抗体和T细胞应答,但通过两种给药途径都能诱导显著的应答。令人感兴趣的是,最近显示,与既定的皮内或气雾剂给药相比,抗结核病的BCG疫苗的IV免疫接种显著改变了非人灵长类动物的保护结果,血液、脾、BAL和肺淋巴结中抗原应答性$CD4^+$和$CD8^+$T细胞增加[30]。另外,在临床前小鼠模型和治疗性癌症免疫接种的I期临床研究中已证实IV给予的mRNA脂质纳米颗粒的效力[31,32]。

[1276] 我们选择使我们的疫苗专门针对RBD而不是整个刺突蛋白序列。在使用SARS-CoV-2全长刺突蛋白和RBD的临床试验中,已经观察到有效的体液和细胞免疫应答[6]。此外,在美国和德国进行的1/2期临床试验中,RBD mRNA定向疫苗被证明是安全的[27,33]。此外,RBD为体液和细胞免疫应答提供了必要的可靶向性。Piccoli等人的研究表明,来自暴露患者的血清90%的中和活性是针对RBD的[34]。RBD也是T细胞对SARS-CoV-2S蛋白应答的一个表位[35]。在英国发现了一种快速传播的具有RBD中的突变(N501Y)的突变体(B.1.1.7),其引起了人们对目前基于mRNA的疫苗覆盖率的担忧[6]。这种N501Y突变似乎并不影响RBD疫苗的效力,因为针对原始RBD序列接种的小鼠能够清除含有特定突变的SARS-CoV-2变体[36]。然而,最近的数据表明,其它的临床相关的RBD和非RBD突变可以介导对疫苗诱导的体液免疫的逃逸[13,37],这突出了对灵活和快速适应的疫苗平台的迫切需求。

[1277] mRNA+CpG-CART免疫接种的安全性数据看起来是有利的。检测到的白细胞计数和细胞因子谱的变化是由CpG介导的。然而,在其他疫苗的临床研究中,CpG有众所周知的安全性记录。我们相信,在我们的疫苗中配制像CpG这样的TLR激活分子的能力,将有助于在免疫系统能力较差、更容易出现COVID19严重症状的人群中诱导保护性免疫应答。CpG直接激活pDC和B细胞,有助于诱导先天和适应性免疫应答。由CpG启动的一系列事件间接支持自然杀伤细胞、T细胞和单核细胞/巨噬细胞的成熟、分化和增殖[38-41]。由CpG激活的B细胞上调其Fc受体(FcR)和包括MHC II类、CD40、CD80和CD86在内的共刺激分子的表达[42-44]。随后,CpG刺激的B细胞增殖并分化为浆细胞和记忆B细胞[45]。我们的研究支持CpG的佐剂作用,其中加入CpG导致免疫应答更迅速,血清和支气管肺泡灌洗液中的抗RBD效价更高,ACE2-RBD抑制和假型病毒中和更有效,T细胞应答增加,同种型转换更明显。

[1278] 总之,我们的研究证明了这种mRNA-CART疫苗平台对临床相关的SARS-CoV-2RBD抗原的效力和灵活性。通过不同的给药途径对B细胞和T细胞应答的强力诱导值得进一步探索,并将其作为临床批准的脂质纳米颗粒的替代品,用于对抗传染病的基于mRNA的治疗剂的普遍发展。

[1279] 材料和方法

[1280] 重组蛋白

[1281] 编码来自GenBank accession No.MN908947基因组序列(GenBank MN9089473)的可溶性RBD-His(残基319-541)和Spike-His(残基1-1213)的pCAGGS质粒是Florian Krammer教授(Icahn School of Medicine at Mount Sinai)惠赠[23]。编码可溶性ACE2-hIgA FC融合蛋白的pcDNA3质粒购自addgene(ID 145154)。使用One Shot TOP10化学相容性大肠杆菌(ThermoFisher Scientific)和ZymoPURE II Plasmid Maxiprep药盒(Zymo Research)扩增质粒。使用Expi293F细胞(Thermo Fisher Scientific)生产重组蛋白,方法是使用ExpiFectamine 293转染药盒(Thermo Fisher Scientific)用纯化的DNA转染200×10^6个这些细胞。转染后3天,通过300g离心10分钟并通过22微米过滤器过滤,收获转染细胞

的上清液。使用HisPur Ni-NTA树脂(Thermo-Fisher Scientific)对含有RBD-His和Spike-His的上清液进行批量纯化。上清液与6mL树脂在室温(RT)下保温1小时。然后,通过离心(700g,2分钟)回收树脂,清洗,最后按照制造商的建议进行洗脱。通过SDS-PAGE和Western印迹分析洗脱级分,以确认RBD-His或Spike-His的纯化,并将阳性级分合并。

[1282] 体外转录

[1283] RBD-6his从pCAGGS表达质粒克隆到含有T7启动子和mRNA合成所需的polyA序列的LF-pLMCT质粒中。LF-pLMCT质粒是Kris Thielemans博士(比利时自由大学)惠赠的。RBD-6his编码序列通过使用PHUSION聚合酶(NEB)和TAAACTTAAGACAACCATGGTCGTGTTTCTGGTGC(SEQ ID NO:5)作为正向引物,GGGGATCCcGTCTTCCTCGAGTTATCAATGGTGATGGTGA(SEQ ID NO:6)作为反向引物经PCR扩增。然后通过NcoI和XhoI将PCR产物插入pLMCT。根据制造商的建议,使用Hiscribe T7(NEB)与共转录CleanCap AG(Trilink)、N1-甲基假尿苷(Trilink)和5-甲基胞苷(Trilink)合成编码RBD的mRNA。体外转录的模板是使用PHUSION高保真DNA聚合酶(NEB),以TGTGGAATTGTGAGCGGATA(SEQ ID NO:7)为正向引物,CTTCACTATTGTCGACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA(SEQ ID NO:8)为反向引物产生的来自pLMCT-RBD-6His的PCR扩增子。

[1284] CART制备和表征

[1285] CART O6-stat-N_6:A_9由油烯基和壬基取代的碳酸酯单体的1:1统计混合物的第一嵌段和随后的a-氨基酯单体的嵌段组成,其制备方法如前所述[14,15]。简而言之,向壬基碳酸酯(29mg,1mmol)和油烯基碳酸酯(40.5mg,1mmol)在甲苯(150μL)中的混合物中加入于50μL甲苯中的TU、DBU和BnOH(5mol%TU/DBU,0.2mmol BnOH)。搅拌反应1.5小时;然后加入固体形式吗啉酮单体(33.4mg,0.16mmol),再搅拌2.5小时。用AcOH淬灭反应,然后在DCM/MeOH中透析过夜(3.5kDa Mw,截断值)。透析后的浓缩得到85mg澄清残余物,用TFA(0.85mL)在干燥的DCM(8.5mL)中脱保护过夜。对脱保护的聚合物进行的端基分析显示,其嵌段长度为6个壬基和6个油烯基碳酸酯单元和9个阳离子氨基酯单元。

[1286] CART寡核苷酸配制

[1287] 为了制备CART-疫苗,CART与CpG和RBD mRNA的混合物以10:1的阳离子:阴离子比例配制,假设CART完全质子化,寡核苷酸完全去质子化(CpG和mRNA核苷酸的质量比为1:1)。制剂的制备方法是将试剂在酸性PBS(通过添加0.1M HCl将pH值调整到5.5)中混合20秒,总体积为50-100μL,然后在台式离心机中进行短暂旋转。该制剂在5分钟内用于体外或体内实验。

[1288] 小鼠免疫接种

[1289] 雌性BALB/c小鼠(8-12周龄)购自Jackson Laboratory,饲养在斯坦福大学医学中心的实验动物设施中。所有的实验都得到了斯坦福大学实验动物管理小组的批准,并按照斯坦福大学动物设施和NIH指南进行。如上所述,RBD-mRNA和CpG与CART聚合物在pH5.5的PBS中配制。给小鼠注射3μg RBD-mRNA和2.6μL CART(5mM),或者3μg CpG和2.6μL CART(5mM),或者3μgRBD-mRNA加3μg CpG和5.2μL CART(5mM)。小鼠通过IV、IM或SC注射进行接种,并按实验中描述的方法进行加强免疫。CART在50-100μL的总体积中配制指定浓度的mRNA。对于IV给药,每次尾静脉注射给予100μL配制的CART。对于IM注射,在大腿肌肉中注射

50μL配制的CART。SC注射是在小鼠背部靠近尾巴处进行。在指定的时间点,对小鼠进行放血,并收集血清。

[1290] HeLa和293F转染

[1291] HeLa细胞和293F细胞在12孔板中以每孔10^6个细胞在Opti-MEM培养基(ThermoFisher Scientific)中铺板。将2μg的RBD-his mRNA或GFP mRNA(Trilink)与1.37μL的5mM CART配制在6.6μL的PBS pH 5.5中,并加入细胞中。转染4小时后,用含有10% FCS和青霉素-链霉素1000U/mL的RPMI培养基替换Opti-MEM培养基。转染后12小时,分别用Western印迹和荧光显微镜监测RBD和GFP的表达。

[1292] Western印迹

[1293] 将15μL来自HeLa或293F转染细胞的培养基与4×样品上样缓冲液(Invitrogen)混合,并上样到4-12%的NuPAGE凝胶(Invitrogen)上。在MES缓冲液中在200V电泳35分钟。使用iBLOT系统(Invitrogen)将蛋白质转移到纤维素膜上。用Ponceau红对膜进行染色以验证蛋白质的转移,然后在含有0.1% Tween 20及含有5%的脱脂奶粉的TBS缓冲液(TBST)中封闭膜1小时。膜用TBST洗3次,并在含有5%脱脂奶粉和1:1000小鼠抗His(Biolegend)的TBST中保温过夜。在TBST中洗3次后,膜与1:10000的抗小鼠Ig(Southern Biotech)在含5%脱脂奶粉的TBST中保温1小时。使用BioRad公司的Chemidoc MP成像系统对膜进行成像。

[1294] 血清制备

[1295] 对于人样品,在抽血前已获得个体的知情同意。血液收集在Eppendorf管中,在室温下凝结60分钟。在1000g离心10分钟后,收集上清液。将血清在56℃下热灭活30分钟。

[1296] ELISA

[1297] Nunc-Immuno MicroWell 96孔ELISA平板(MilliporeSigm)每孔用50μL 2μg/mL RBD-His或Spike-His蛋白在pH9的碳酸盐缓冲液中包被过夜。在ELISA洗涤缓冲液(含0.1% Tween 20的PBS)中洗涤3次后,用100μL在含0.1% Tween 20的TBS缓冲液(TBST)中稀释的5%脱脂奶粉在室温下封闭板1小时。在含有1%脱脂奶粉的TBST中制备血清、BAL和抗体稀释液。去除封闭溶液,将50μL每个系列稀释液加入到平板上,室温放置1小时。洗涤平板三次,与HRP缀合的抗人Ig(1:5000,BioSource)、抗小鼠Ig(1:5000,Cell Signaling)、抗小鼠IgG2a(1:5000,Southern Biotech)、抗小鼠IgG2b(1:5000,Southern Biotech),抗小鼠IgG1(1:5000,Southern Biotech)、抗小鼠IgG3(1:5000,Southern Biotech)、抗小鼠IgA(1:5000,Invitrogene)或抗小鼠IgM(1:5000,Southern Biotech)保温。洗板三次,并在每个孔中加入100μL TMB ELISA底物(Abcam)。ELISA显影10分钟,然后在每个孔中加入50μL TMB底物的终止溶液(ThermoFisher Scientific)来停止反应。在一些测定中,使用已知抗体浓度的人抗RBD(Invivogene)作为标准。使用SpectraMax Paradigm酶标仪(Molecular devices)测量450纳米处的光密度(OD450)。

[1298] RBD-ACE2相互作用阻断测定ELISA.

[1299] RBD-ACE2相互作用的阻断测定用三种方法进行了评估:来自Genescript的商业药盒、内部开发的ELISA和流式细胞术。

[1300] 对于商业药盒,我们按照制造商的说明使用了SARS-CoV-2代用病毒中和试验(sVNT)药盒(Genescript)。简而言之,用稀释缓冲液将样品和对照组按指定比例稀释,并与HRP-RBD以1:1的比例在37℃下预保温30分钟。然后将样品加入到捕获平板的用hACE2预包

被的孔中。在37℃下保温15小时后，用洗涤缓冲液洗孔四次。加入TMB溶液并在室温下黑暗中保温15小时。15小时后，向孔中加入终止溶液，并立即进行分析。使用SpectraMax Paradigm酶标仪(Molecular devices)测量450nm处的光密度(OD450)。

[1301] 对于内部开发的ELISA，Nunc-Immuno Micro-Well 96孔ELISA板(Millipore)用每孔50μL的在pH9的碳酸盐缓冲液中的2μg/mL RBD-His或Spike-His蛋白包被过夜。在ELISA洗涤缓冲液(具有0.1% Tween 20的PBS)中洗涤3次后，平板用100μL在含有0.1% Tween 20的TBS缓冲液(TBST)中稀释的5%的脱脂奶粉在室温下封闭1小时。在含有1%脱脂奶粉的TBST中制备血清、BAL和抗体稀释液。去除封闭液，在室温下将50μL每个连续稀释液加入平板中1小时。洗板三次，并在每个孔中加入50μL 2倍稀释的ACE2-hIgA上清液，放置1小时。洗3次后，平板与HRP缀合的抗人IgA(1:1000，Thermo Scientific)在具有1%脱脂奶粉的TBST中保温1小时。洗板三次，并在每个孔中加入100μL TMB ELISA底物(Abcam)。使ELISA显影10分钟，然后向每个孔中加入50μL TMB底物的终止溶液(ThermoFisher Scientific)停止反应。在一些测定中，使用已知抗体浓度的人抗RBD(Invivogen)作为标准。使用SpectraMax Paradigm酶标仪(Molecular devices)测量450nm的光密度(OD450)。

[1302] 对于流式细胞术分析，RBD-His 2μg/mL与血清保温1小时。然后，将4×10^5个表达ACE2的HEK293T细胞加入RBD-His/血清混合物中，在RT下保温30分钟。然后用含有1%BSA的PBS洗细胞2次。然后用Alexa Fluor 488缀合的抗His抗体(克隆J099B1，Biolegend)检测RBD。细胞通过流式细胞术(BD)进行分析。

[1303] 假病毒测定

[1304] 如前所述[46,47]，在HEK293T细胞中产生了表达Sars-Cov-2刺突蛋白和萤光素酶的假型慢病毒。转染前一天，在含有10%FCS、2mM L-谷氨酰胺、链霉素和青霉素的RPMI中，将6×10^6个HEK293T细胞接种在10cm培养板中。随后使用TransIT(Mirus)，细胞用10μg慢病毒包装载体(pHAGE_Luc2_IRES_ZsGreen)、3.4μg SARS-CoV-2spike和慢病毒辅助质粒(2.2μg HDM-Hgpm2、2.2μg HDM-Tat1b和2.2μg pRC-CMV_Rev1b)转染。spike载体含有来自SARS-CoV-2的GenBank accession No.MN908947毒株的全长野生型刺突序列(GenBank NC_045512)。这5个质粒由Jesse Bloom博士(Fred Hutch Seattle，University of Washington)惠赠。转染后72小时，收获含病毒的上清液，300g离心5分钟，用0.45μm过滤器过滤，等份，并在-80℃冷冻。

[1305] 为了进行病毒中和测定，在感染前1天，将表达ACE2的HEK293T47细胞以12500个细胞/孔的数量，接种在聚赖氨酸包被的白壁透明底96孔板上。小鼠血清在2000g下离心15分钟，在56℃下热灭活30分钟，并在D10培养基(补充有10% FCS的DMEM培养基)中稀释。病毒在补加多杀霉素(5微克/毫升)的D10培养基中稀释，然后加入到血清稀释液中。将病毒/血清混合物在37℃下预保温1小时，然后加入到细胞中，在37℃下保温约48小时。加入BriteLite检测读出溶液(PerkinElmer)裂解细胞，用SpectraMax Paradigm酶标仪(Molecular devices)测量发光值。作为阳性对照，使用中和人抗SARS-Cov-2 IgG1抗体(Acro)。

[1306] 支气管肺泡灌洗液

[1307] 处死小鼠，按照以前描述的程序[48]用1mL的PBS膨胀肺部2次。合并灌洗级分，在1200rpm下离心5分钟。收集上清液并通过ELISA检测抗RBD抗体。

[1308] 肺的T细胞应答测定

[1309] 在免疫接种后的指定天数收获小鼠肺。为了制备肺单细胞悬液,将肺切成小块,在含有胶原酶D(2mg/mL,Sigma)和DNA酶(50μg/mL,Sigma)的RPMI中于37℃保温30分钟。然后,消化混合物被稀释5倍,并通过70微米细胞过滤器处理肺制备物。使用ACK缓冲液(ThermoFisher Scientific)裂解脾或肺单细胞悬液中的红细胞。单细胞悬液在冰上保存,直到进一步处理用于T细胞应答测定。细胞在96孔板(Corning,V型底)中以1×10^6个细胞/孔培养,用5μg/mL RBD-His或hCD81-His或单独培养基(RPMI+5% FCS)在抗小鼠CD28抗体[0.5g/mL](Southern Biotech)的存在下刺激48小时。作为阳性对照,用抗小鼠CD3[0.05g/mL](Southern Biotech)刺激细胞。对于细胞内染色,在染色前用GolgiStop(BD Biosciences)处理细胞5小时。刺激后,洗涤细胞,用PBS中的Aqua live/dead存活性染料(Thermo Fisher)染色,再洗涤两次,然后用单克隆抗体和Fc阻断剂的混合物染色:CD16/32,CD4BV605 RM4-5,CD8 FITC 53-6.7,CD44 APC IM7,CD69 PE-Cy7 H1.2F3,CD134 BV786 OX-86,CD137 PE 1AH2,和CD45R/B220 Per-CP 5.5RA3-6B2(均为BD Bioscience)。根据制造商的方案(BD Biosciences)对细胞进行固定和透化,并用aTNFαBV650 MP6-XT22(BD Bioscience)进行染色。洗涤细胞,用2%的甲醛固定,在BD LSR II上采集,并使用Cytobank V7.3.0进行分析。

[1310] 脾的T细胞应答测定

[1311] 在免疫接种后的第105天采集小鼠脾,通过70微米细胞过滤器(BD Biosciences)加工而制备单细胞悬液。然后将细胞在FACS试管中以每管6×10^5个细胞保温,用2g/mL的RBD肽混合物[PepMix SARS-CoV-2(S-RBD)Protein ID:PODTC2 PM-WCPV-S-RBD-1,JPT]或单独培养基刺激18小时。作为阳性对照,用抗小鼠CD3[0.05g/mL](Southern Biotech)和抗小鼠CD28抗体[0.5g/mL](Southern Biotech)来刺激细胞。在试验的最后10小时,加入GolgiStop(BD Biosciences)。刺激后,洗细胞,用在PBS中的Aqua live/dead存活力染料(Thermo Fisher)染色,再洗两次,用单克隆抗体和Fc阻断剂的混合物染色:CD16/32、CD4 Ax700 RM4-5、CD8 APC-H7 53-6.7和CD44 APC IM7(均为BD Bioscience)。根据制造商的方案(BD Biosciences)固定和透化细胞,并用IFNγPE-Cy7 XMG1.2、TNFαBV650 MP6-XT22和IL-4BV786 11B11(BD Bioscience)对细胞内细胞因子进行染色。洗细胞,用2%的甲醛固定,在Cytek Aurora(Northern Lights)上采集,并用Cytobank V7.3.0进行分析。

[1312] IFNγELISpot

[1313] 测定按照制造商的说明进行(R&D Systems,小鼠IFNγ药盒目录号EL485)。简而言之,IFNγELISpot分析是离体进行的(无需进一步体外培养扩增),使用通过MACS分选(Miltenyi $CD4^+$或$CD8^+$微珠,遵循制造商的说明)耗竭$CD4^+$并富含$CD8^+$T细胞的PBMC或耗竭$CD8^+$并富含$CD4^+$T细胞的PBMC。测试以一式三份进行,并使用阳性对照[抗CD3单克隆抗体(0.05g/mL;Southern Biotech)]。用IFNγ特异性抗体预包被的PVDF衬底的微板(R&D Systems,小鼠IFNγ药盒目录号EL485)用PBS清洗,用含有5%FCS的RPMI培养基(康宁)在室温下封闭20分钟。每孔5×10^5个效应细胞用2g/mL的RBD肽混合物[PepMix SARS-CoV-2(S-RBD)蛋白质ID:PODTC2 PM-WCPV-S-RBD-1,JPT]刺激16小时。刺激后,洗孔并与生物素化的抗IFNγ抗体(R&D systems,小鼠IFNγ药盒,目录号EL485)在4℃下保温过夜。第二天,洗孔并与链霉蛋白-AP(R&D systems,小鼠IFNγ药盒,目录号EL485)在RT下保温2小时。洗涤后,

用5-溴-4-氯-3'-吲哚磷酸酯(BCIP)/硝基蓝四氮唑(NBT)底物(R&Dsystems,小鼠IFNγ药盒,目录号EL485)保温孔。使用ImmunoSpot微量分析仪对平板进行扫描和分析。

[1314] 体内生物发光成像

[1315] 为了进行生物发光评估,在注射和成像过程中用异氟烷气体(2%异氟烷在氧气中,1升/分钟)对小鼠进行麻醉。腹腔内注射D-荧光素(Biosynth AG),剂量为150mg/kg,为Fluc酶提供饱和底物浓度(荧光素可穿过血脑屏障)。在不透光室中使用配备了冷却电荷耦合器件相机的体内光学成像系统(AMI HT;Spectral Instruments imaging)对小鼠进行成像。在图像记录期间,小鼠通过鼻锥吸入异氟烷,其体温在摄像系统的暗盒中保持在37℃。生物发光图像是在荧光素给药后10至20分钟内获得的。小鼠通常在成像后2分钟内从麻醉中恢复过来。

[1316] 白细胞计数

[1317] 采集5L血液,与45L具有亚甲基蓝(Stemcell)的3%乙酸混合,用血细胞仪计数细胞核。

[1318] 细胞因子分析

[1319] 使用Biolegend公司的LEGENDplex珠基免疫测定法按照制造商的方案测量血清样品中的IP10、IFNa、TNFa和IL6。测定在BD FACSCalibur仪器上分析。

[1320] 全血细胞计数

[1321] 全血细胞计数(CBC)分析由斯坦福大学的动物诊断实验室进行。自动化血液学在Sysmex XN-1000V分析系统上进行。所有CBC样品都做了血涂片,并由临床实验室科学家进行审查。根据种类和自动化分析所示,进行人工分类。

[1322] 肝酶分析

[1323] 肝酶是由斯坦福大学的动物诊断实验室分析的。化学分析是在Siemens Dimension EXL200/LOCI分析仪上进行的。一位临床实验室科学家进行了所有的测试,包括所指明的稀释和重复测试,并审查了所有数据。

[1324] 安全性声明

[1325] 对于所有的小鼠实验,没有遇到意外或异常高的安全性危险。

[1326] 实施例2的参考文献

[1327] (1)Padron-Regalado,E.Vaccines for SARS-CoV-2:Lessons from Other Coronavirus Strains.Infect Dis Ther 2020,9,255-274.

[1328] (2)Zhao,J.;Zhao,S.;Ou,J.;Zhang,J.;Lan,W.;Guan,W.;et al.COVID-19:Coronavirus Vaccine Development Updates.Front.Immunol.2020,11,602256.

[1329] (3)Alberer,M.;Gnad-Vogt,U.;Hong,H.S.;Mehr,K.T.;Backert,L.;Finak,G.;et al.Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults:an open-label,non-randomised,prospective,first-in-human phase 1clinical trial.Lancet 2017,390,1511-1520.

[1330] (4)Feldman,R.A.;Fuhr,R.;Smolenov,I.;Mick Ribeiro,A.;Panther,L.;Watson,M.;et al.mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1randomized clinical trials.Vaccine 2019,37,3326-3334.

[1331] (5)Anderson,E.J.;Rouphael,N.G.;Widge,A.T.;Jackson,L.A.;Roberts,P.C.;Makhene,M.;et al.Safety and Immunogenicity of SARS-CoV-2mRNA-1273Vaccine in Older Adults.N.Engl.J.Med.2020,383,2427-2438.

[1332] (6)Walsh,E.E.;Frenck,R.W.;Falsey,A.R.;Kitchin,N.;Absalon,J.;Gurtman,A.;et al.Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates.N.Engl.J.Med.2020,383,2439-2450.

[1333] (7)Ura,T.;Yamashita,A.;Mizuki,N.;Okuda,K.;Shimada,M.New vaccine production platforms used in developing SARS-CoV-2vaccine candidates.Vaccine 2021,39,197-201.

[1334] (8)Dai,L.;Gao,G.F.Viral targets for vaccines against COVID-19.Nat.Rev.Immunol.2021,21,73-82.

[1335] (9)Lee,W.S.;Wheatley,A.K.;Kent,S.J.;DeKosky,B.J.Antibody-dependent enhancement andSARS-CoV-2 vaccines and therapies.Nat.Microbiol 2020,5,1185-1191.

[1336] (10)Liang,F.;Lindgren,G.;Lin,A.;Thompson,E.A.;Ols,S.;Röhss,J.;et al.Efficient Targetingand Activation of Antigen-Presenting Cells In Vivo after Modified mRNA Vaccine Admin-istration inRhesus Macaques.Mol.Ther.2017,25,2635-2647.

[1337] (11)Zhu,Z.;Gao,P.;Hu,Y.;Wang,J.;Wang,H.;Yang,J.;et al.PEGylated versus non-PEGylateddrugs:A cross-sectional analysis of adverse events in the FDA Adverse Event Reporting System(FAERS)Database.Int.J.Clin.Pharmacol.Ther.2020,58,332-342.

[1338] (12)Castells,M.C.;Phillips,E.J.Maintaining Safety with SARS-CoV-2 Vaccines.N.Engl.J.Med.2021,384,643-649.

[1339] (13)Chen,R.E.;Zhang,X.;Case,J.B.;Winkler,E.S.;Liu,Y.;VanBlargan,L.A.;et al.Resistanceof SARS-CoV-2 variants to neutralization by monoclonal and serum-derived polyclonal antibod-ies.Nat.Med.2021,27,717-726.

[1340] (14)McKinlay,C.J.;Vargas,J.R.;Blake,T.R.;Hardy,J.W.;Kanada,M.;Contag,C.H.;et al.Charge-altering releasable transporters(CARTs)for the delivery and release of mRNA in living animals.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2017,114,E448-E456.

[1341] (15)McKinlay,C.J.;Benner,N.L.;Haabeth,O.A.;Waymouth,R.M.;Wender,P.A.EnhancedmRNAdelivery into lymphocytes enabled by lipid-varied libraries of charge-altering releasabletrans-porters.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2018,115,E5859-E5866.

[1342] (16)Haabeth,O.A.W.;Blake,T.R.;McKinlay,C.J.;Waymouth,R.M.;Wender,P.A.;Levy,R.mRNA vaccination with charge-altering releasable transporters elicits human T cell responses and curesestablished tumors in mice.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.2018,115,E9153-E9161.

[1343] (17)Bode,C.;Zhao,G.;Steinhagen,F.;Kinjo,T.;Klinman,D.M.CpG DNA as a vaccine adjuvant.Expert Rev.Vaccines 2011,10,499-511.

[1344] (18)Amanat,F.;Krammer,F.SARS-CoV-2 Vaccines:Status Report.Immunity 2020,52,583-589.

[1345] (19)Zhang,N.-N.;Li,X.-F.;Deng,Y.-Q.;Zhao,H.;Huang,Y.-J.;Yang,G.;et al.A ThermostablemRNA Vaccine against COVID-19.Cell 2020,182,1271-1283.

[1346] (20)Huang,Q.;Ji,K.;Tian,S.;Wang,F.;Huang,B.;Tong,Z.;et al.A single-dose mRNA vaccineprovides a long-term protection for hACE2 transgenic mice from SARS-CoV-2.Nat.Commun.2021,12,12.

[1347] (21)Haabeth,O.A.W.;Blake,T.R.;McKinlay,C.J.;Tveita,A.A.;Sallets,A.;Waymouth,R.M.;et al.Local Delivery of Ox40l,Cd80,and Cd86 mRNA Kindles Global Anticancer Immunity.Cancer Res.2019,79,1624-1634.

[1348] (22)Xue,H.Y.;Liu,S.;Wong,H.L.Nanotoxicity:a key obstacle to clinical translation ofsiRNA-based nanomedicine.Nanomedicine(London,U.K.)2014,9,295-312.

[1349] (23)Amanat,F.;Stadlbauer,D.;Strohmeier,S.;Nguyen,T.H.O.;Chromikova,V.;McMahon,M.;et al.A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans.Nat.Med.2020,26,1033-1036.

[1350] (24)Vaidyanathan,S.;Azizian,K.T.;Haque,A.K.M.A.;Henderson,J.M.;Hendel,A.;Shore,S.;et al.Uridine Depletion and Chemical Modification Increase Cas9 mRNA Activity and ReduceImmunogenicity without HPLC Purification.Mol.Ther.-Nucleic Acids 2018,12,530-542.

[1351] (25)Toellner,K.-M.;Luther,S.A.;Sze,DM-Y;Choy,RK-W;Taylor,D.R.;MacLennan,I.C.M.;et al.T Helper 1(Th1)and Th2 Characteristics Start to Develop During T Cell Priming and AreAssociated with an Immediate Ability to Induce Immunoglobulin Class Switching.J.Exp.Med.1998,187,1193-1204.

[1352] (26)Reinhardt,R.L.;Liang,H.-E.;Locksley,R.M.Cytokine-secreting follicular T cells shapethe antibody repertoire.Nat.Immunol.2009,10,385-393.

[1353] (27)Mulligan,M.J.;Lyke,K.E.;Kitchin,N.;Absalon,J.;Gurtman,A.;Lockhart,S.;et al.Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults.Nature 2020,586,589-593.

[1354] (28)Polack,F.P.;Thomas,S.J.;Kitchin,N.;Absalon,J.;Gurtman,A.;Lockhart,S.;et al.Safetyand Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine.N.Engl.J.Med.2020,383,2603-2615.

[1355] (29)Baden,L.R.;El Sahly,H.M.;Essink,B.;Kotloff,K.;Frey,S.;Novak,R.;et al.Efficacyand Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine.N.Engl.J.Med.2021,384,403-416.

[1356] (30)Darrah,P.A.;Zeppa,J.J.;Maiello,P.;Hackney,J.A.;Wadsworth,M.H.;Hughes,T.K.;et al.Prevention of tuberculosis in macaques after intravenous

BCG immunization.Nature 2020,577,95-102.

[1357] (31)Grunwitz,C.;Salomon,N.;Vascotto,F.;Selmi,A.;Bukur,T.;Diken,M.;et al.HPV16RNA-LPX vaccine mediates complete regression of aggressively growing HPV-positive mouse tumors andestablishes protective T cell memory.Oncoimmunology 2019,8,e1629259.

[1358] (32)Sahin,U.;Oehm,P.;Derhovanessian,E.;Jabulowsky,R.A.;Vormehr,M.;Gold,M.;et al.AnRNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma.Nature 2020,585,107-112.

[1359] (33)Sahin,U.;Muik,A.;Derhovanessian,E.;Vogler,I.;Kranz,L.M.;Vormehr,M.;et al.COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses.Nature 2020,586,594-599.

[1360] (34)Piccoli,L.;Park,Y.-J.;Tortorici,M.A.;Czudnochowski,N.;Walls,A.C.;Beltramello,M.;etal.Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-BindingDomain by Structure-Guided High-Resolution Serology.Cell 2020,183,1024-1042.

[1361] (35)Smith,T.R.F.;Patel,A.;Ramos,S.;Elwood,D.;Zhu,X.;Yan,J.;et al.Immunogenicity ofa DNA vaccine candidate for COVID-19.Nat.Commun.2020,11,2601.

[1362] (36)Gu,H.;Chen,Q.;Yang,G.;He,L.;Fan,H.;Deng,Y.-Q.;et al.Adaptation of SARS-CoV-2 inBALB/c mice for testing vaccine efficacy.Science 2020,369,1603-1607.

[1363] (37)Garcia-Beltran,W.F.;Lam,E.C.;St.Denis,K.;Nitido,A.D.;Garcia,Z.H.;Hauser,B.M.;et al.Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity.Cell 2021,184,2372.

[1364] (38)Ballas,Z.K.;Rasmussen,W.L.;Krieg,A.M.Induction of NK activity in murine andhuman cells by CpG motifs in oligodeox-ynucleotides and bacterial DNA.J.Immunol 1996,157(5),1840-1845.

[1365] (39)Klinman,D.M.;Yi,A.K.;Beaucage,S.L.;Conover,J.;Krieg,A.M.CpG motifspresent in bacteria DNA rapidly induce lymphocytes to secrete interleukin 6,interleukin 12,and interferongamma.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.1996,93,2879-2883.

[1366] (40)Sun,S.;Zhang,X.;Tough,D.F.;Sprent,J.Type I interferon-mediated stimulation of T cellsby CpG DNA.J.Exp.Med.1998,188,2335-2342.

[1367] (41)Stacey,K.J.;Sweet,M.J.;Hume,D.A.Macrophages ingest and are activated by bacterialDNA.J.Immunol 1996,157(5),2116-2122.

[1368] (42)Krieg,A.M.;Yi,A.K.;Matson,S.;Waldschmidt,T.J.;Bishop,G.A.;Teasdale,R.;et al.CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation.Nature 1995,374,546-549.

[1369] (43)Davis,H.L.;Weeratna,R.;Waldschmidt,T.J.;Tygrett,L.;Schorr,J.;

Krieg,A.M.;et al.CpG DNA is a potent enhancer of specific immunity in mice immunized with recombinant hepatitis Bsurface antigen.J.Immunol 1998,160(2),870-876.

[1370] (44)Kobayashi,H.;Horner,A.A.;Takabayashi,K.;Nguyen,M.D.;Huang,E.;Cinman,N.;et al.Immunostimulatory DNA pre-priming:a novel approach for prolonged Th1-biased immunity.Cell.Immunol.1999,198,69-75.

[1371] (45)Jung,J.;Yi,A.-K.;Zhang,X.;Choe,J.;Li,L.;Choi,Y.S.Distinct response of human B cellsubpopulations in recognition of an innate immune signal,CpG DNA.J.Immunol.2002,169,2368-2373.

[1372] (46)Crawford,K.H.D.;Eguia,R.;Dingens,A.S.;Loes,A.N.;Malone,K.D.;Wolf,C.R.;et al.Protocol and Reagents for Pseudotyping Lentiviral Particles with SARS-CoV-2 Spike Protein forNeutralization Assays.Viruses 2020,12,513.

[1373] (47)Rogers,T.F.;Zhao,F.;Huang,D.;Beutler,N.;Burns,A.;He,W.;et al.Isolation of potentSARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model.Science 2020,369,956-963.

[1374] (48)Sun,F.;Xiao,G.;Qu,Z.Murine Bronchoalveolar Lavage.Bio Protoc 2017,7,7.

[1375] 非正式序列列表

[1376] SEQ ID NO:1(ODN 1826):tccatgacgttcctgacgtt

[1377] SEQ ID NO:2(ODN SD-101):tcgaacgttcgaacgttcgaacgttcgaat

[1378] SEQ ID NO:3(编码刺突蛋白的SARS-CoV-2 RBD的mRNA):

[1379] (atggTCGTGTTTCTGGTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCAGCCAGCGGGTGCAGCCCACCGAATC
CATCGTGCGGTTCCCCAATATCACCAATCTGTGCCCCTTCGGCGAGGTGTTCAATGCCACCAGA
TTCGCCTCTGTGTACGCCTGGAACCGGAAGCGGATCAGCAATTGCGTGGCCGACTACTCCGTGC
TGTACAACTCCGCCAGCTTCAGCACCTTCAAGTGCTACGGCGTGTCCCCTACCAAGCTGAACG
ACCTGTGCTTCACAAACGTGTACGCCGACAGCTTCGTGATCCGGGGAGATGAAGTGCGGCAGA
TTGCCCCTGGACAGACAGGCAAGATCGCCGACTACAACTACAAGCTGCCCGACGACTTCACCG
GCTGTGTGATTGCCTGGAACAGCAACAACCTGGACTCCAAAGTCGGCGGCAACTACAATTACC
TGTACCGGCTGTTCCGGAAGTCCAATCTGAAGCCCTTCGAGCGGGACATCTCCACCGAGATCTA
TCAGGCCGGCAGCACCCCTTGTAACGGCGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTTCCCACTGCAGTC
CTACGGCTTTCAGCCCACAAATGGCGTGGGCTATCAGCCCTACAGAGTGGTGGTGCTGAGCTTC
GAACTGCTGCATGCCCCTGCCACAGTGTGCGGCCCTAAGAAAAGCACCAATCTCGTGAAGAAC
AAATGCGTGAACTTCcaccatcaccatcaccatTGATAA)

[1380] SEQ ID NO:4(编码SARS-CoV-2刺突蛋白的mRNA):

[1381]

atggTCGTGTTTCTGGTGCTGCTGCCTCTGGTGTCCAGCCAGTGTGTGAACCTGACCACAAG
AACCCAGCTGCCTCCAGCCTACACCAACAGCTTTACCAGAGGCGTGTACTACCCCGACAAGGT
GTTCAGATCCAGCGTGCTGCACTCTACCCAGGACCTGTTCCTGCCTTTCTTCAGCAACGTGACC
TGGTTCCACGCCATCCACGTGTCCGGCACCAATGGCACCAAGAGATTCGACAACCCCGTGCTG
CCCTTCAACGACGGGGTGTACTTTGCCAGCACCGAGAAGTCCAACATCATCAGAGGCTGGATC
TTCGGCACCACACTGGACAGCAAGACCCAGAGCCTGCTGATCGTGAACAACGCCACCAACGT
GGTCATCAAAGTGTGCGAGTTCCAGTTCTGCAACGACCCCTTCCTGGGCGTCTACTATCACAAG
AACAACAAGAGCTGGATGGAAAGCGAGTTCCGGGTGTACAGCAGCGCCAACAACTGCACCTT
CGAGTACGTGTCCCAGCCTTTCCTGATGGACCTGGAAGGCAAGCAGGGCAACTTCAAGAACCT
GCGCGAGTTCGTGTTCAAGAACATCGACGGCTACTTCAAGATCTACAGCAAGCACACCCCTATC
AACCTCGTGCGGGATCTGCCTCAGGGCTTCTCTGCTCTGGAACCCCTGGTGGATCTGCCCATCG
GCATCAACATCACCCGGTTTCAGACACTGCTGGCCCTGCACAGAAGCTACCTGACACCTGGCG
ATAGCAGCAGCGGATGGACAGCTGGTGCCGCCGCTTACTATGTGGGCTACCTGCAGCCTAGAAC
CTTTCTGCTGAAGTACAACGAGAACGGCACCATCACCGACGCCGTGGATTGTGCTCTGGATCCT
CTGAGCGAGACAAAGTGCACCCTGAAGTCCTTCACCGTGGAAAAGGGCATCTACCAGACCAG
CAACTTCCGGGTGCAGCCCACCGAATCCATCGTGCGGTTCCCCAATATCACCAATCTGTGCCCC
TTCGGCGAGGTGTTCAATGCCACCAGATTCGCCTCTGTGTACGCCTGGAACCGGAAGCGGATC
AGCAATTGCGTGGCCGACTACTCCGTGCTGTACAACTCCGCCAGCTTCAGCACCTTCAAGTGCT
ACGGCGTGTCCCCTACCAAGCTGAACGACCTGTGCTTCACAAACGTGTACGCCGACAGCTTCG
TGATCCGGGGAGATGAAGTGCGGCAGATTGCCCCTGGACAGACAGGCAAGATCGCCGACTACA
ACTACAAGCTGCCCGACGACTTCACCGGCTGTGTGATTGCCTGGAACAGCAACAACCTGGACT
CCAAAGTCGGCGGCAACTACAATTACCTGTACCGGCTGTTCCGGAAGTCCAATCTGAAGCCCTT
CGAGCGGGACATCTCCACCGAGATCTATCAGGCCGGCAGCACCCCTTGTAACGGCGTGGAAGG
CTTCAACTGCTACTTCCCACTGCAGTCCTACGGCTTTCAGCCCACAAATGGCGTGGGCTATCAG
CCCTACAGAGTGGTGGTGCTGAGCTTCGAACTGCTGCATGCCCCTGCCACAGTGTGCGGCCCT
AAGAAAAGCACCAATCTCGTGAAGAACAAATGCGTGAACTTCAACTTCAACGGCCTGACCGG
CACCGGCGTGCTGACAGAGAGCAACAAGAAGTTCCTGCCATTCCAGCAGTTTGGCCGGGATAT
CGCCGATACCACAGACGCCGTTAGAGATCCCCAGACACTGGAAATCCTGGACATCACCCCTTGC
AGCTTCGGCGGAGTGTCTGTGATCACCCCTGGCACCAACACCAGCAATCAGGTGGCAGTGCTG
TACCAGGACGTGAACTGTACCGAAGTGCCCGTGGCCATTCACGCCGATCAGCTGACACCTACAT
GGCGGGTGTACTCCACCGGCAGCAATGTGTTTCAGACCAGAGCCGGCTGTCTGATCGGAGCCG
AGCACGTGAACAATAGCTACGAGTGCGACATCCCCATCGGCGCTGGCATCTGTGCCAGCTACCA
GACACAGACAAACAGCCCCGCCTCTGTGGCCAGCCAGAGCATCATTGCCTACACAATGTCTCT
GGGCGCCGAGAACAGCGTGGCCTACTCCAACAACTCTATCGCTATCCCCACCAACTTCACCATC
AGCGTGACCACAGAGATCCTGCCTGTGTCCATGACCAAGACCAGCGTGGACTGCACCATGTAC
ATCTGCGGCGATTCCACCGAGTGCTCCAACCTGCTGCTGCAGTACGGCAGCTTCTGCACCCAGC
TGAATAGAGCCCTGACAGGGATCGCCGTGGAACAGGACAAGAACACCCAAGAGGTGTTCGCC
CAAGTGAAGCAGATCTACAAGACCCCTCCTATCAAGGACTTCGGCGGCTTCAATTTCAGCCAGA
TTCTGCCCGATCCTAGCAAGCCCAGCAAGCGGAGCTTCATCGAGGACCTGCTGTTCAACAAAG
TGACACTGGCCGACGCCGGCTTCATCAAGCAGTATGGCGATTGTCTGGGCGACATTGCCGCCA
GGGATCTGATTTGCGCCCAGAAGTTTAACGGACTGACAGTGCTGCCTCCTCTGCTGACCGATGA
GATGATCGCCCAGTACACATCTGCCCTGCTGGCCGGCACAATCACAAGCGGCTGGACATTTGGA
GCTGGCGCCGCTCTGCAGATCCCCTTTGCTATGCAGATGGCCTACCGGTTCAACGGCATCGGAG
TGACCCAGAATGTGCTGTACGAGAACCAGAAGCTGATCGCCAACCAGTTCAACAGCGCCATCG
GCAAGATCCAGGACAGCCTGAGCAGCACAGCAAGCGCCCTGGGAAAGCTGCAGGACGTGGTC
AACCAGAATGCCCAGGCACTGAACACCCTGGTCAAGCAGCTGTCCTCCAACTTCGGCGCCATC
AGCTCTGTGCTGAACGATATCCTGAGCAGACTGGACcctcctGAAGCCGAGGTGCAGATCGACAG
ACTGATCACCGGAAGGCTGCAGTCCCTGCAGACCTACGTTACCCAGCAGCTGATCAGAGCCGC
CGAGATTAGAGCCTCTGCCAATCTGGCCGCCACCAAGATGTCTGAGTGTGTGCTGGGCCAGAG
CAAGAGAGTGGACTTTTGCGGCAAGGGCTACCACCTGATGAGCTTCCCTCAGTCTGCCCCTCA
CGGCGTGGTGTTTCTGCACGTGACATACGTGCCCGCTCAAGAGAAGAATTTCACCACCGCTCC
AGCCATCTGCCACGACGGCAAAGCCCACTTTCCTAGAGAAGGCGTGTTCGTGTCCAACGGCAC

CCATTGGTTCGTGACCCAGCGGAACTTCTACGAGCCCCAGATCATCACCACCGACAACACCTTC
GTGTCTGGCAACTGCGACGTCGTGATCGGCATTGTGAACAATACCGTGTACGACCCTCTGCAGC
CCGAGCTGGACAGCTTCAAAGAGGAACTGGATAAGTACTTTAAGAACCACACAAGCCCCGAC
GTGGACCTGGGCGATATCAGCGGAATCAATGCCAGCGTCGTGAACATCCAGAAAGAGATCGAC
CGGCTGAACGAGGTGGCCAAGAATCTGAACGAGAGCCTGATCGACCTGCAAGAACTGGGGAA
GTACGAGCAGTACATCAAGTGGCCCAGCGGCCGCTTGGTCCCACGTGGCTCACCCGGATCTGG
ATACATCCCGGAGGCCCCTAGGGACGGTCAAGCTTACGTGAGAAAGGACGGCGAATGGGTTCT
GCTGTCGACCTTCTTGGGACATCATCATCATCATCACTAATGA

[1382] SEQ ID NO:5(BD-6his编码序列的正向引物)

[1383] TAAACTTAAGACAACCATGGTCGTGTTTCTGGTGC

[1384] SEQ ID NO:6(BD-6his编码序列的反向引物)

[1385] GGGGATCCcGTCTTCCTCGAGTTATCAATGGTGATGGTGA

[1386] SEQ ID NO:7(pLMCT-RBD-6His的扩增子的正向引物)

[1387] TGTGGAATTGTGAGCGGATA

[1388] SEQ ID NO:8(pLMCT-RBD-6His的扩增子的反向引物)

[1389] CTTCACTATTGTCGACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAA

序列表

<110> 利兰斯坦福初级大学董事会

<120> COVID-19的三组分疫苗

<130> 041243-561001WO

<150> US 63/056,465
<151> 2020-07-24

<160> 8

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
[0001] <223> 合成多核苷酸

<400> 1
tccatgacgt tcctgacgtt 20

<210> 2
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 2
tcgaacgttc gaacgttcga acgttcgaat 30

<210> 3
<211> 735
<212> DNA
<213> 严重急性呼吸综合征冠状病毒2型

<400> 3
atggtcgtgt ttctggtgct gctgcctctg gtgtccagcc agcgggtgca gcccaccgaa 60

tccatcgtgc ggttccccaa tatcaccaat ctgtgcccct tcggcgaggt gttcaatgcc 120

accagattcg cctctgtgta cgcctggaac cggaagcgga tcagcaattg cgtggccgac 180

tactccgtgc tgtacaactc cgccagcttc agcaccttca agtgctacgg cgtgtcccct 240

accaagctga acgacctgtg cttcacaaac gtgtacgccg acagcttcgt gatccgggga 300

gatgaagtgc ggcagattgc ccctggacag acaggcaaga tcgccgacta caactacaag 360

ctgcccgacg acttcaccgg ctgtgtgatt gcctggaaca gcaacaacct ggactccaaa 420

gtcggcggca actacaatta cctgtaccgg ctgttccgga agtccaatct gaagcccttc 480

gagcgggaca tctccaccga gatctatcag gccggcagca ccccttgtaa cggcgtggaa 540

ggcttcaact gctacttccc actgcagtcc tacggctttc agcccacaaa tggcgtgggc 600

[0002] tatcagccct acagagtggt ggtgctgagc ttcgaactgc tgcatgcccc tgccacagtg 660

tgcggcccta agaaaagcac caatctcgtg aagaacaaat gcgtgaactt ccaccatcac 720

catcaccatt gataa 735

<210> 4
<211> 3774
<212> DNA
<213> 严重急性呼吸综合征冠状病毒2型

<400> 4
atggtcgtgt ttctggtgct gctgcctctg gtgtccagcc agtgtgtgaa cctgaccaca 60

agaacccagc tgcctccagc ctacaccaac agctttacca gaggcgtgta ctaccccgac 120

aaggtgttca gatccagcgt gctgcactct acccaggacc tgttcctgcc tttcttcagc 180

aacgtgacct ggttccacgc catccacgtg tccggcacca atggcaccaa gagattcgac 240

aaccccgtgc tgcccttcaa cgacggggtg tactttgcca gcaccgagaa gtccaacatc 300

[0003]

atcagaggct ggatcttcgg caccacactg gacagcaaga cccagagcct gctgatcgtg 360

aacaacgcca ccaacgtggt catcaaagtg tgcgagttcc agttctgcaa cgacccccttc 420

ctgggcgtct actatcacaa gaacaacaag agctggatgg aaagcgagtt ccgggtgtac 480

agcagcgcca acaactgcac cttcgagtac gtgtcccagc ctttcctgat ggacctggaa 540

ggcaagcagg gcaacttcaa gaacctgcgc gagttcgtgt tcaagaacat cgacggctac 600

ttcaagatct acagcaagca cacccctatc aacctcgtgc gggatctgcc tcagggcttc 660

tctgctctgg aacccctggt ggatctgccc atcggcatca acatcacccg gtttcagaca 720

ctgctggccc tgcacagaag ctacctgaca cctggcgata gcagcagcgg atggacagct 780

ggtgccgccg cttactatgt gggctacctg cagcctagaa cctttctgct gaagtacaac 840

gagaacggca ccatcaccga cgccgtggat tgtgctctgg atcctctgag cgagacaaag 900

tgcaccctga agtccttcac cgtggaaaag ggcatctacc agaccagcaa cttccgggtg 960

cagcccaccg aatccatcgt gcggttcccc aatatcacca atctgtgccc cttcggcgag 1020

gtgttcaatg ccaccagatt cgcctctgtg tacgcctgga accggaagcg gatcagcaat 1080

tgcgtggccg actactccgt gctgtacaac tccgccagct tcagcacctt caagtgctac 1140

ggcgtgtccc ctaccaagct gaacgacctg tgcttcacaa acgtgtacgc cgacagcttc 1200

gtgatccggg gagatgaagt gcggcagatt gcccctggac agacaggcaa gatcgccgac 1260

tacaactaca agctgcccga cgacttcacc ggctgtgtga ttgcctggaa cagcaacaac 1320

ctggactcca aagtcggcgg caactacaat tacctgtacc ggctgttccg gaagtccaat 1380

ctgaagccct tcgagcggga catctccacc gagatctatc aggccggcag cacccttgt 1440

aacggcgtgg aaggcttcaa ctgctacttc ccactgcagt cctacggctt tcagcccaca 1500

aatggcgtgg gctatcagcc ctacagagtg gtggtgctga gcttcgaact gctgcatgcc 1560

cctgccacag tgtgcggccc taagaaaagc accaatctcg tgaagaacaa atgcgtgaac 1620

[0004]

ttcaacttca acggcctgac cggcaccggc gtgctgacag agagcaacaa gaagttcctg 1680

ccattccagc agtttggccg ggatatcgcc gataccacag acgccgttag agatccccag 1740

acactggaaa tcctggacat caccccttgc agcttcggcg gagtgtctgt gatcacccct 1800

ggcaccaaca ccagcaatca ggtggcagtg ctgtaccagg acgtgaactg taccgaagtg 1860

cccgtggcca ttcacgccga tcagctgaca cctacatggc gggtgtactc caccggcagc 1920

aatgtgtttc agaccagagc cggctgtctg atcggagccg agcacgtgaa caatagctac 1980

gagtgcgaca tccccatcgg cgctggcatc tgtgccagct accagacaca gacaaacagc 2040

cccgcctctg tggccagcca gagcatcatt gcctacacaa tgtctctggg cgccgagaac 2100

agcgtggcct actccaacaa ctctatcgct atccccacca acttcaccat cagcgtgacc 2160

acagagatcc tgcctgtgtc catgaccaag accagcgtgg actgcaccat gtacatctgc 2220

ggcgattcca ccgagtgctc caacctgctg ctgcagtacg gcagcttctg cacccagctg 2280

aatagagccc tgacagggat cgccgtggaa caggacaaga acacccaaga ggtgttcgcc 2340

caagtgaagc agatctacaa gacccctcct atcaaggact tcggcggctt caatttcagc 2400

cagattctgc ccgatcctag caagcccagc aagcggagct tcatcgagga cctgctgttc 2460

aacaaagtga cactggccga cgccggcttc atcaagcagt atggcgattg tctgggcgac 2520

attgccgcca gggatctgat ttgcgcccag aagtttaacg gactgacagt gctgcctcct 2580

ctgctgaccg atgagatgat cgcccagtac acatctgccc tgctggccgg cacaatcaca 2640

agcggctgga catttggagc tggcgccgct ctgcagatcc cctttgctat gcagatggcc 2700

taccggttca acggcatcgg agtgacccag aatgtgctgt acgagaacca gaagctgatc 2760

gccaaccagt tcaacagcgc catcggcaag atccaggaca gcctgagcag cacagcaagc 2820

gccctgggaa agctgcagga cgtggtcaac cagaatgccc aggcactgaa caccctggtc 2880

aagcagctgt cctccaactt cggcgccatc agctctgtgc tgaacgatat cctgagcaga 2940

ctggaccctc ctgaagccga ggtgcagatc gacagactga tcaccggaag gctgcagtcc 3000

ctgcagacct acgttaccca gcagctgatc agagccgccg agattagagc ctctgccaat 3060

ctggccgcca ccaagatgtc tgagtgtgtg ctgggccaga gcaagagagt ggacttttgc 3120

ggcaagggct accacctgat gagcttccct cagtctgccc ctcacggcgt ggtgtttctg 3180

cacgtgacat acgtgcccgc tcaagagaag aatttcacca ccgctccagc catctgccac 3240

gacggcaaag cccactttcc tagagaaggc gtgttcgtgt ccaacggcac ccattggttc 3300

gtgacccagc ggaacttcta cgagccccag atcatcacca ccgacaacac cttcgtgtct 3360

ggcaactgcg acgtcgtgat cggcattgtg aacaataccg tgtacgaccc tctgcagccc 3420

gagctggaca gcttcaaaga ggaactggat aagtacttta agaaccacac aagccccgac 3480

gtggacctgg gcgatatcag cggaatcaat gccagcgtcg tgaacatcca gaaagagatc 3540

gaccggctga acgaggtggc caagaatctg aacgagagcc tgatcgacct gcaagaactg 3600

[0005] gggaagtacg agcagtacat caagtggccc agcggccgct tggtcccacg tggctcaccc 3660

ggatctggat acatcccgga ggcccctagg gacggtcaag cttacgtgag aaaggacggc 3720

gaatgggttc tgctgtcgac cttcttggga catcatcatc atcatcacta atga 3774

<210> 5
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 5
taaacttaag acaaccatgg tcgtgtttct ggtgc 35

<210> 6
<211> 40
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 6
ggggatcccg tcttcctcga gttatcaatg gtgatggtga 40

<210> 7
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

[0006] <400> 7
tgtggaattg tgagcggata 20

<210> 8
<211> 127
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多核苷酸

<400> 8
cttcactatt gtcgacaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 120

aaaaaaa 127

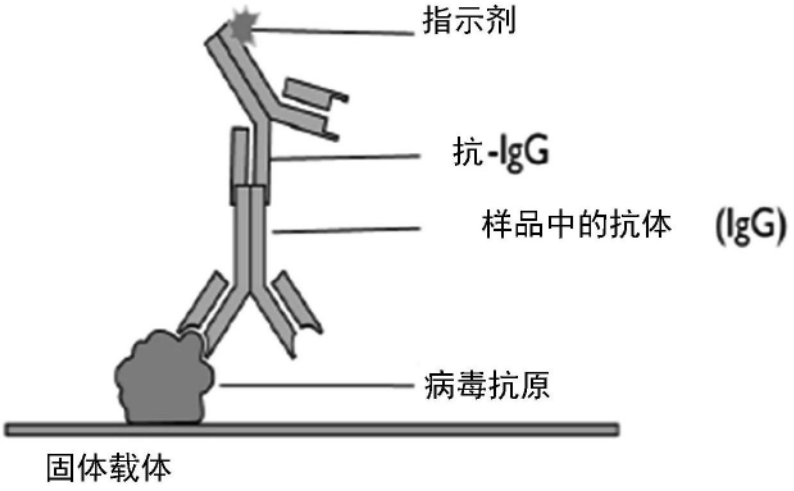

指示剂
抗-IgG
样品中的抗体 (IgG)
病毒抗原
固体载体

图1A

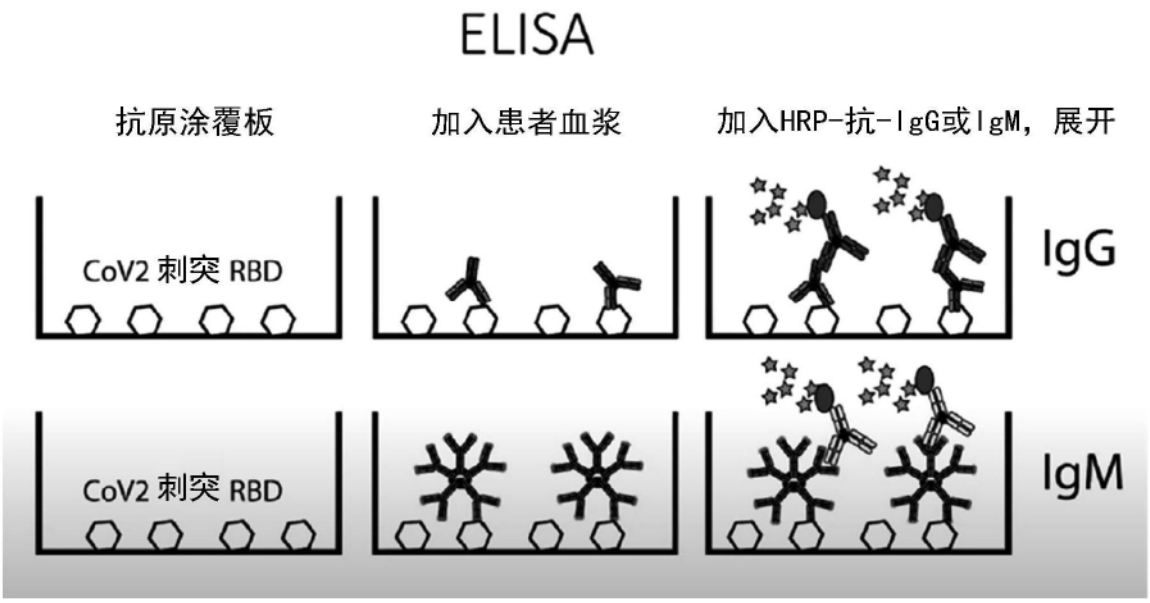

ELISA
抗原涂覆板
加入患者血浆
加入HRP-抗-IgG或IgM，展开
CoV2 刺突 RBD
IgG
CoV2 刺突 RBD
IgM

图1B

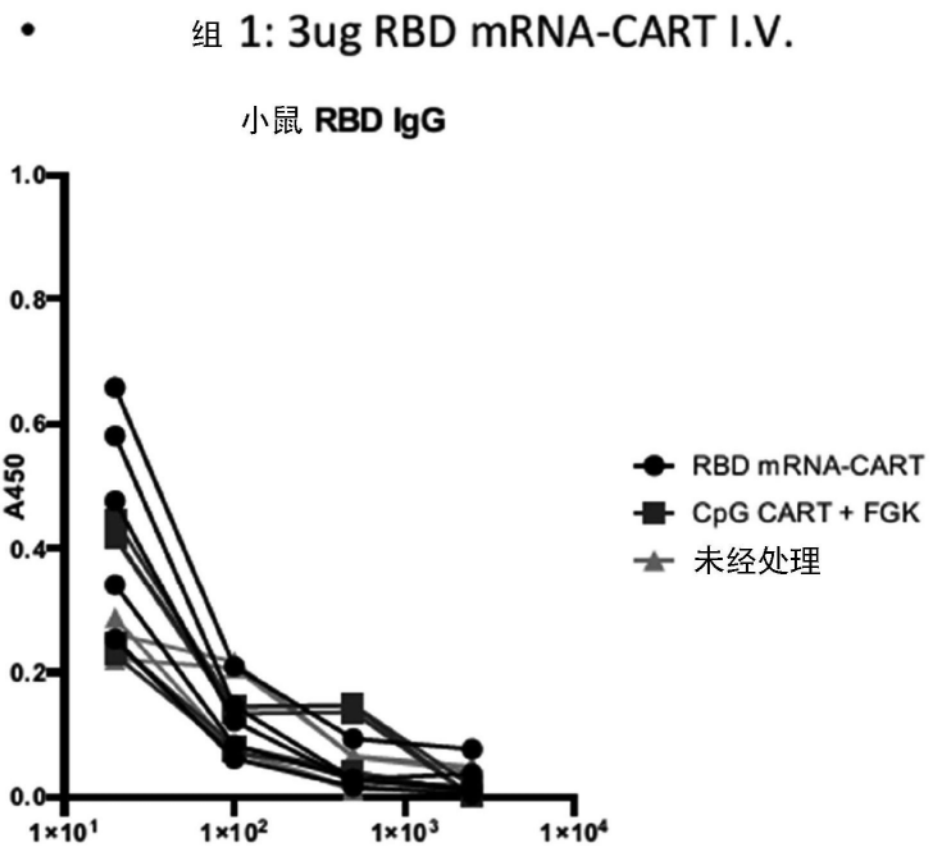

组 1: 3ug RBD mRNA-CART I.V.
小鼠 RBD IgG
A450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
RBD mRNA-CART
CpG CART + FGK
未经处理

图2A

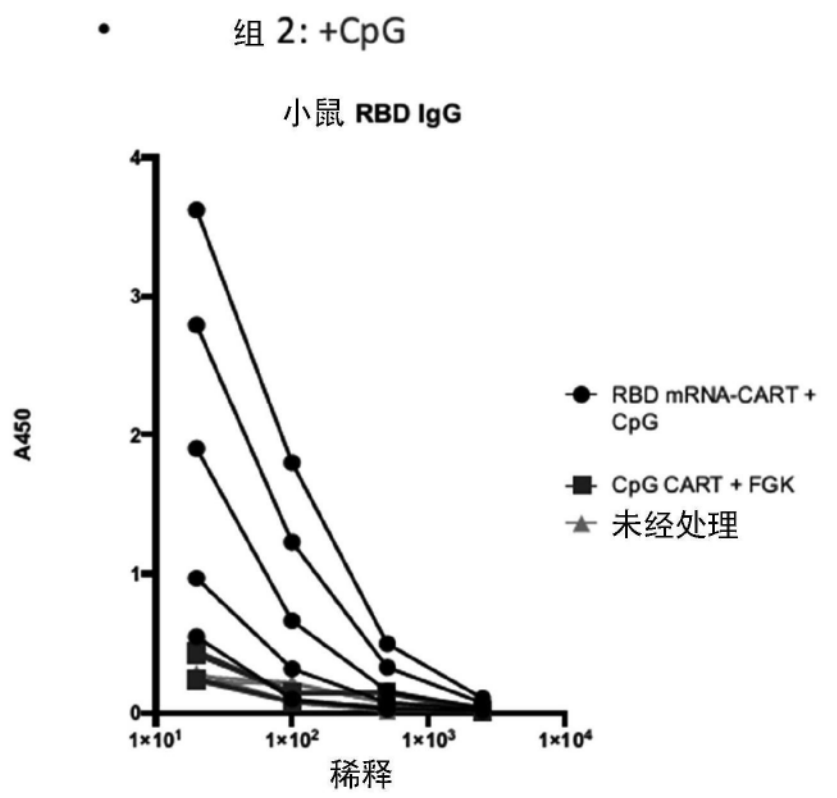

组 2: +CpG
小鼠 RBD IgG
A450
4
3
2
1
0
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
稀释
RBD mRNA-CART + CpG
CpG CART + FGK
未经处理

图2B

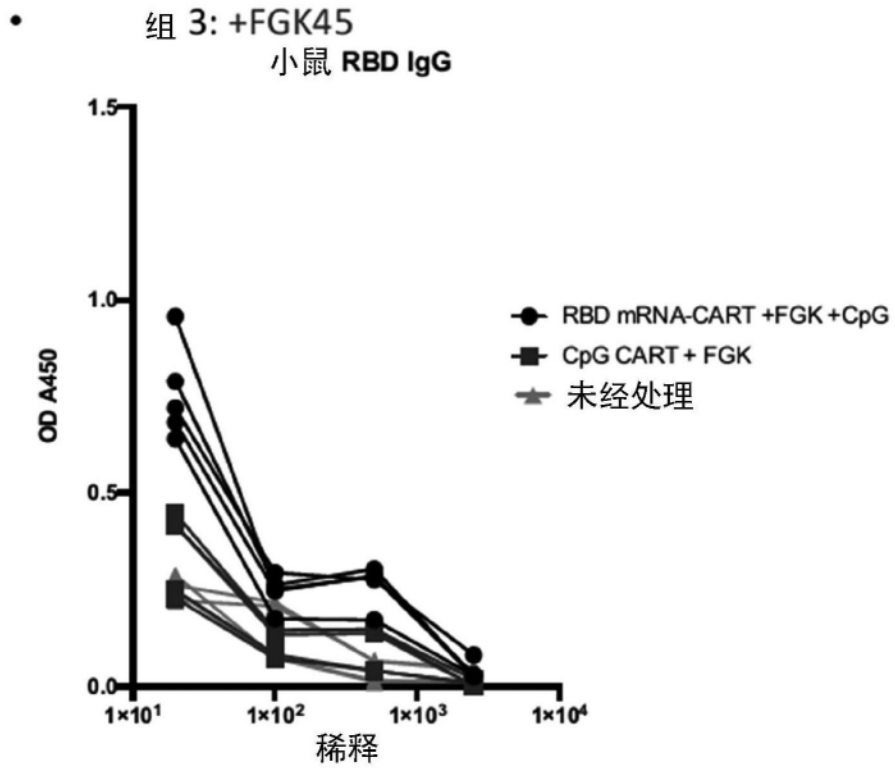

组 3: +FGK45
小鼠 RBD IgG
OD A450
1.5
1.0
0.5
0.0
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
稀释
RBD mRNA-CART +FGK +CpG
CpG CART + FGK
未经处理

图2C

• 组 4: +CpG +FGK45

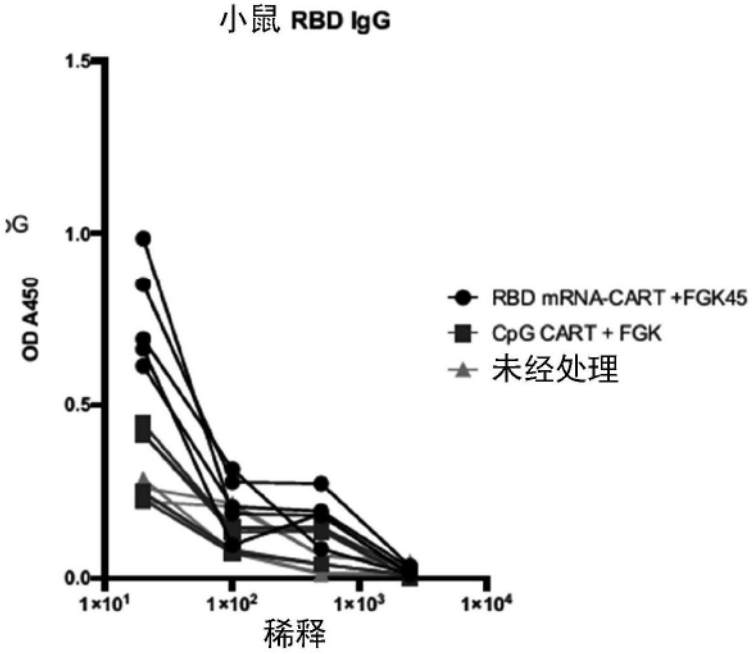


图2D

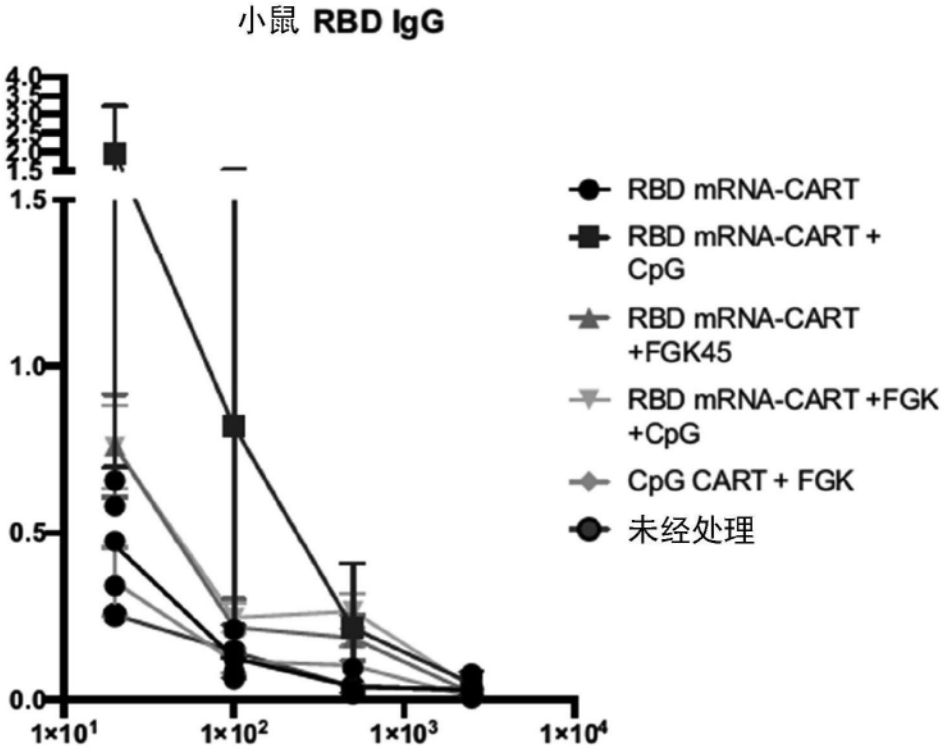


图2E

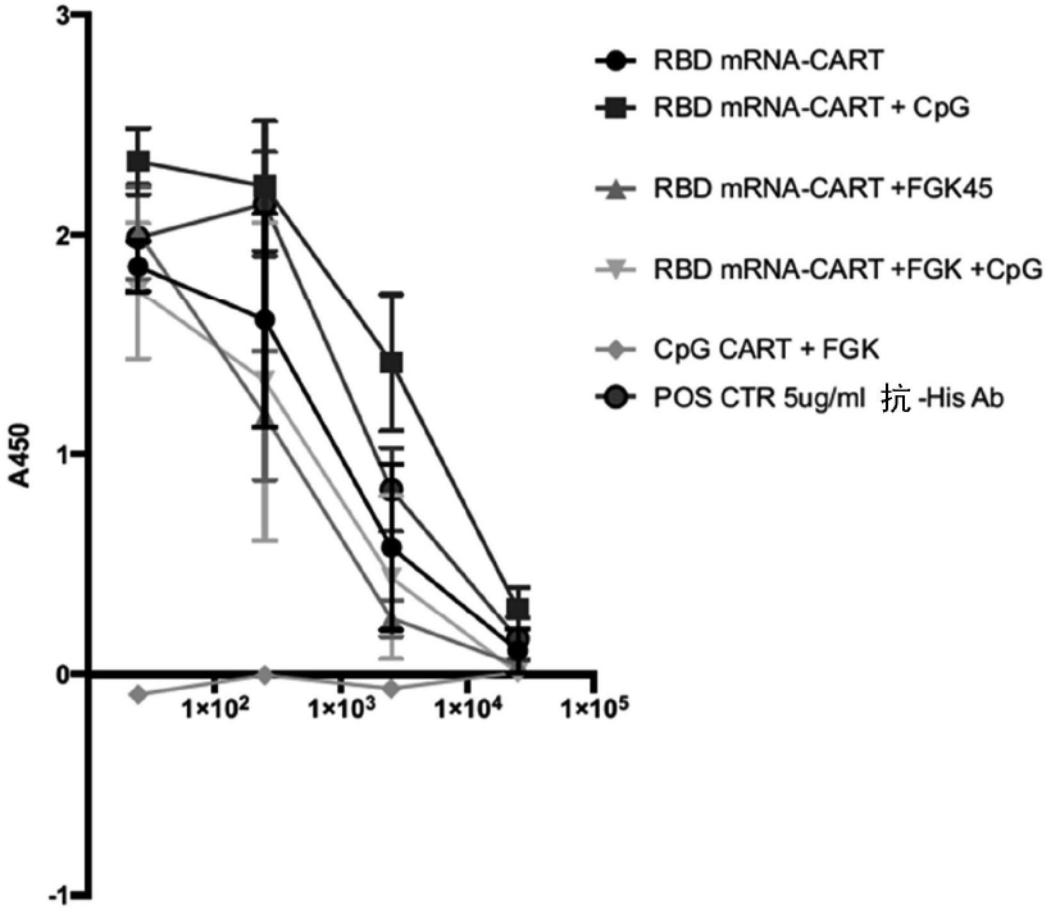

3
2
1
0
-1
A450
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART +FGK45
RBD mRNA-CART +FGK +CpG
CpG CART + FGK
POS CTR 5ug/ml 抗 -His Ab

图3

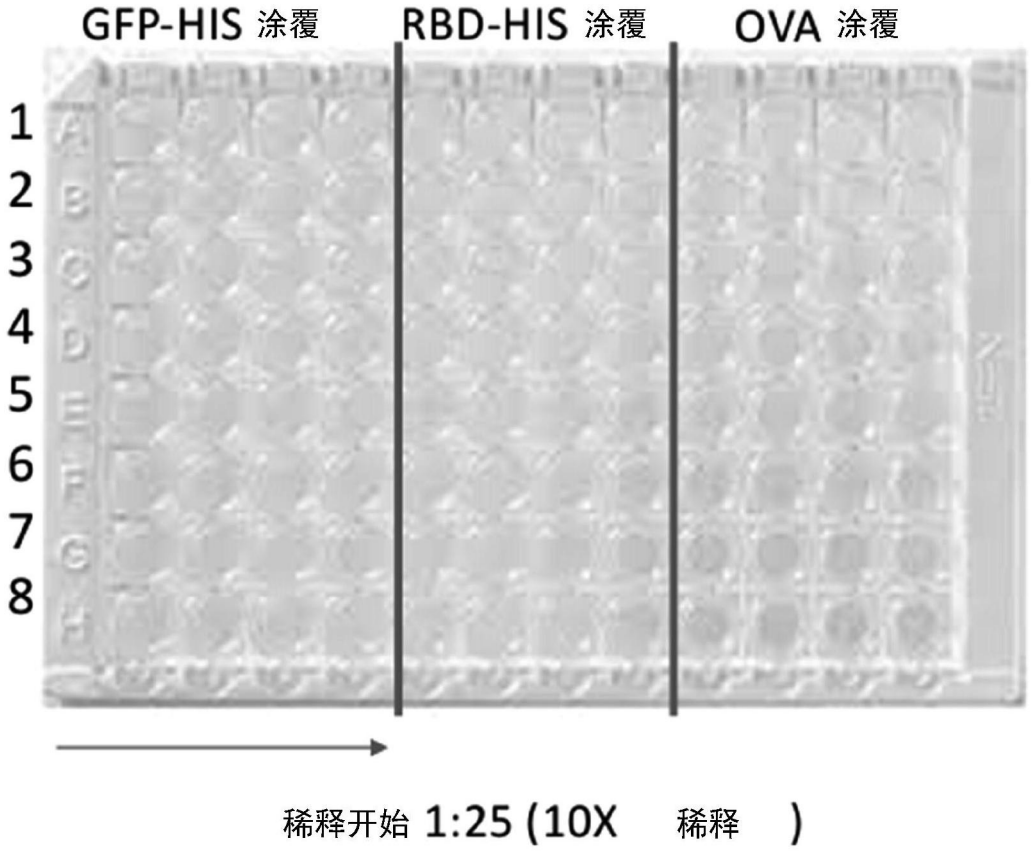


图4A

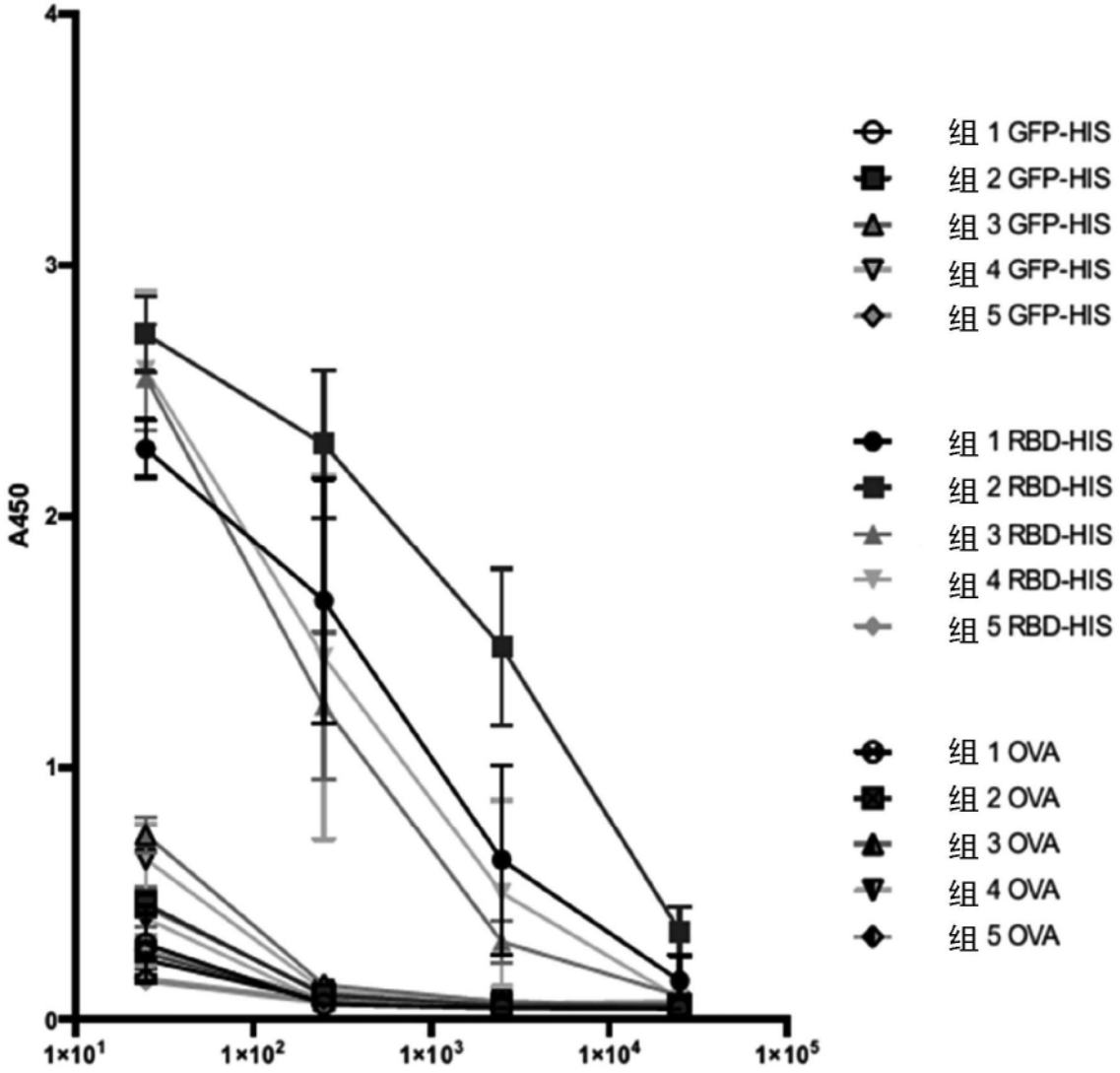

A450
4
3
2
1
0
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
组 1 GFP-HIS
组 2 GFP-HIS
组 3 GFP-HIS
组 4 GFP-HIS
组 5 GFP-HIS
组 1 RBD-HIS
组 2 RBD-HIS
组 3 RBD-HIS
组 4 RBD-HIS
组 5 RBD-HIS
组 1 OVA
组 2 OVA
组 3 OVA
组 4 OVA
组 5 OVA

图4B

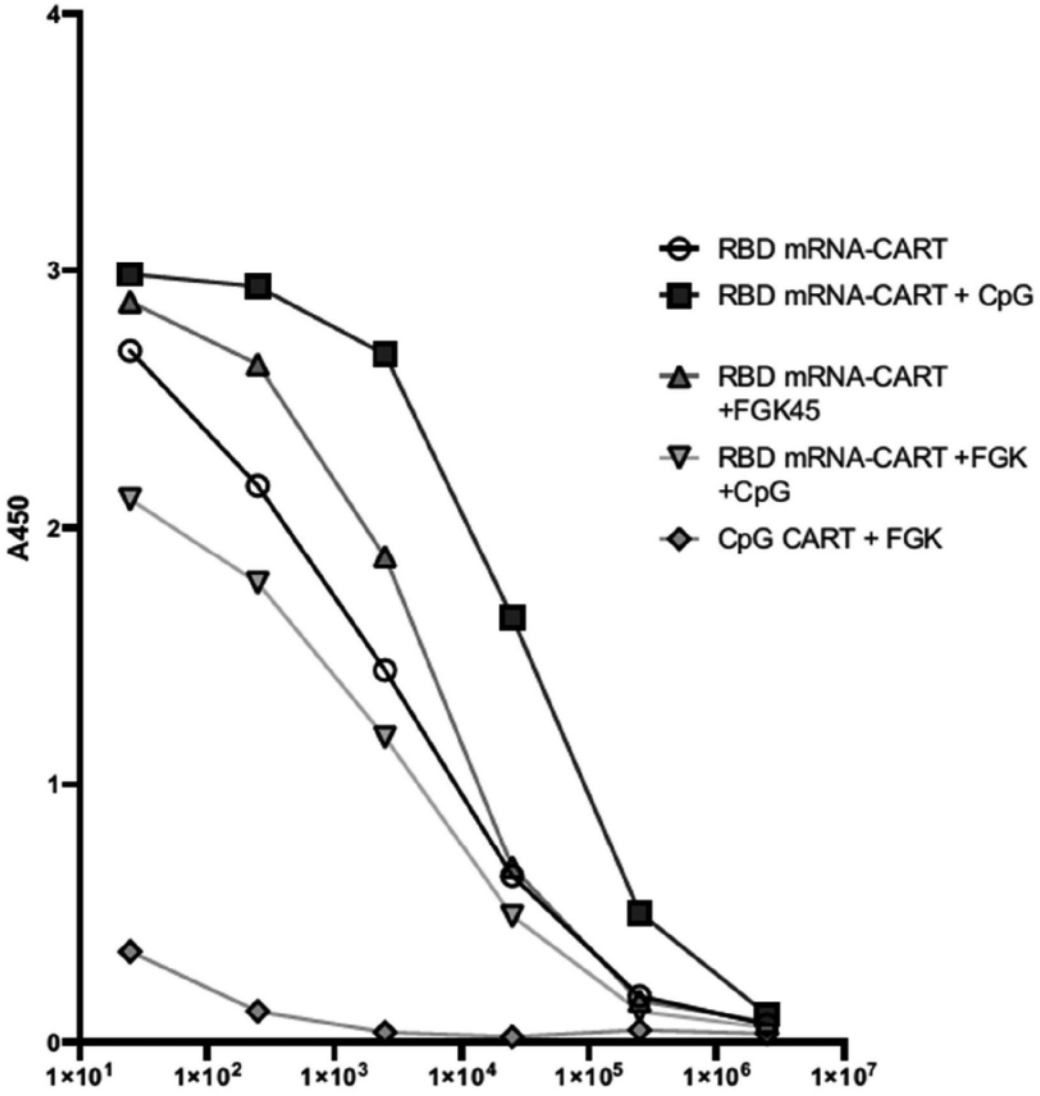

A450
4
3
2
1
0
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART +FGK45
RBD mRNA-CART +FGK +CpG
CpG CART + FGK

图5A

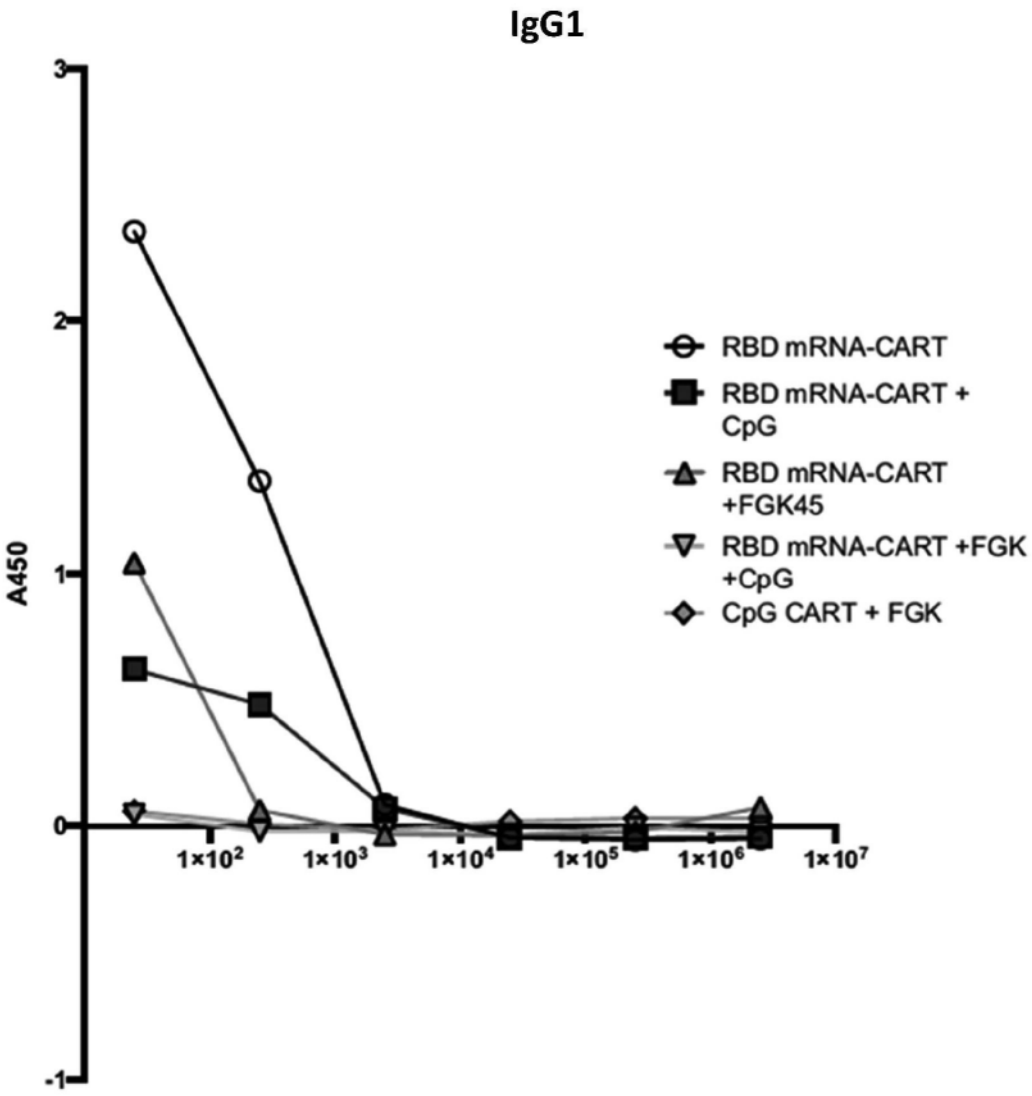

IgG1
A450
3
2
1
0
-1
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART +FGK45
RBD mRNA-CART +FGK +CpG
CpG CART + FGK

图5B

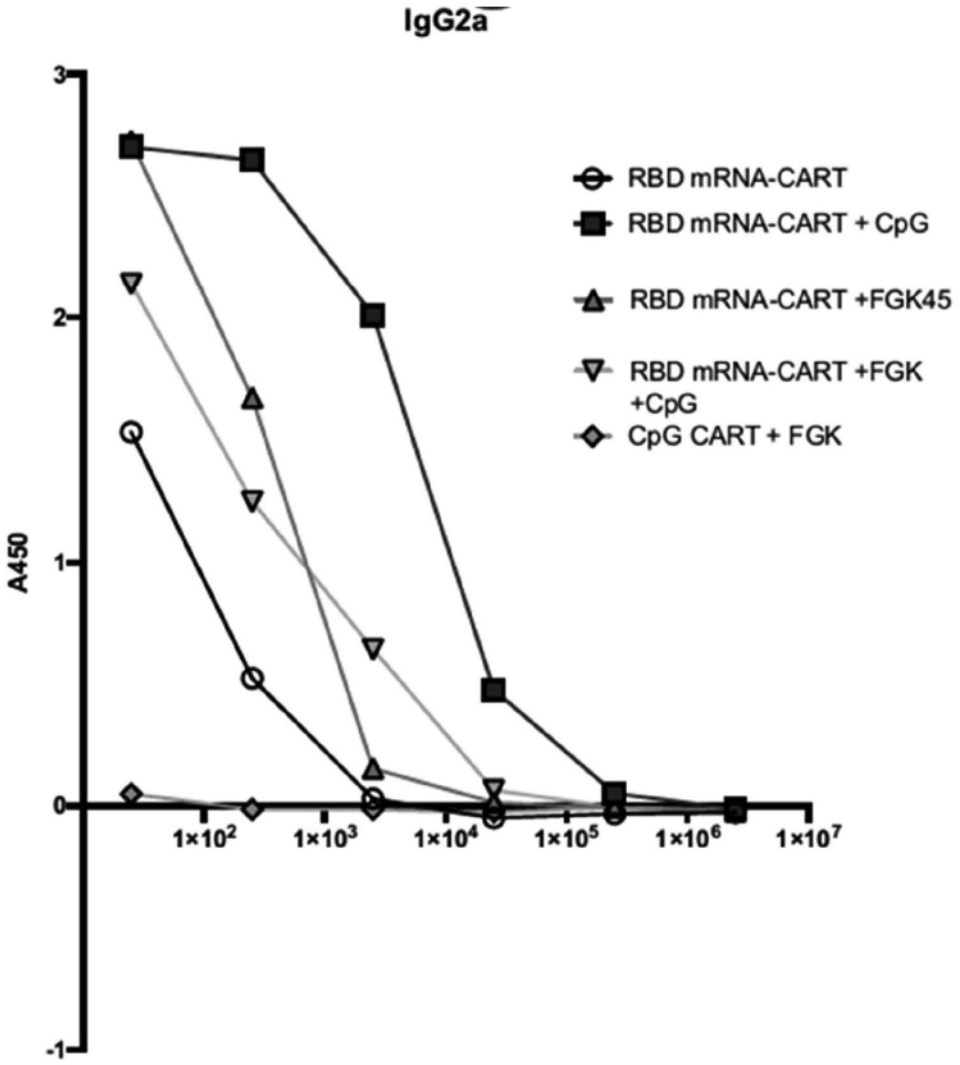

IgG2a
A450
3
2
1
0
-1
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART +FGK45
RBD mRNA-CART +FGK +CpG
CpG CART + FGK

图5C

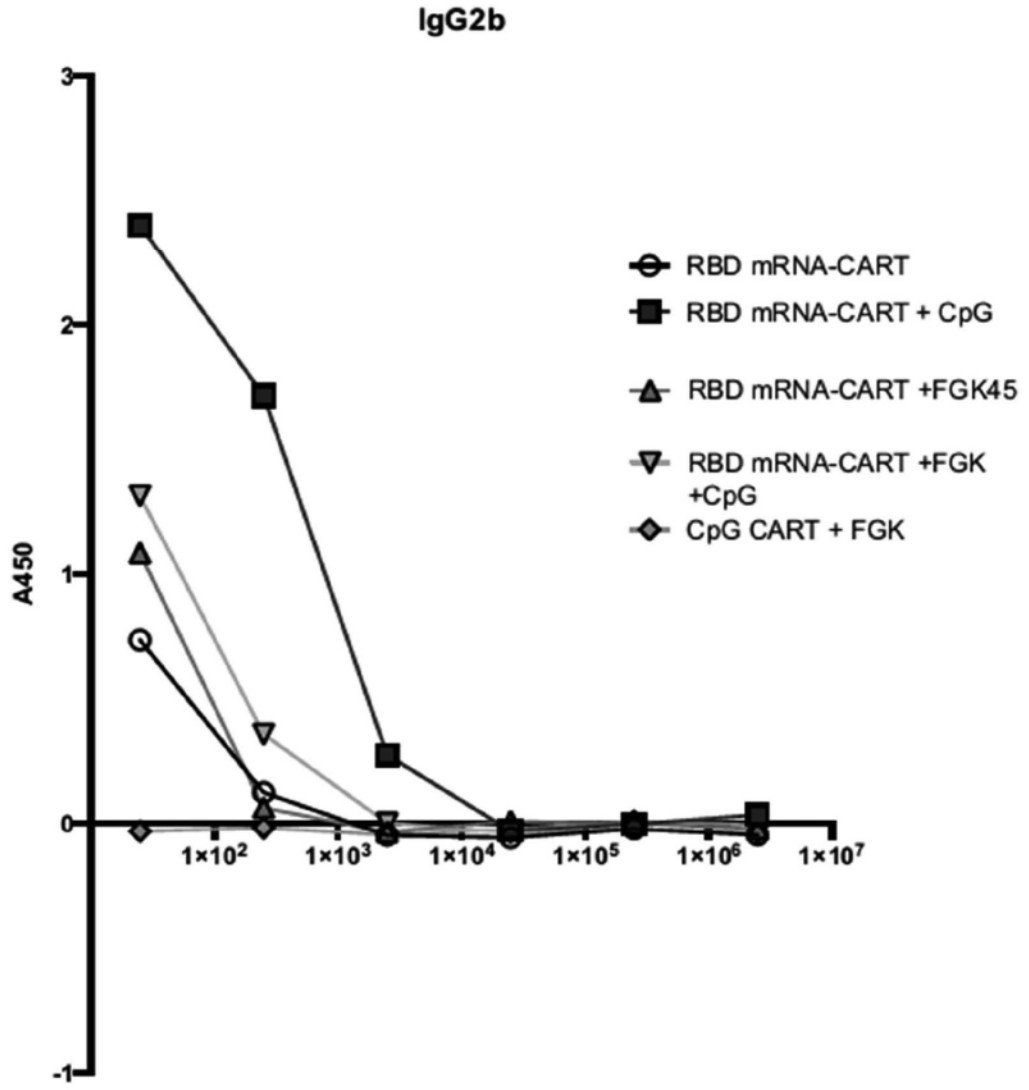

IgG2b
A450
3
2
1
0
-1
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART +FGK45
RBD mRNA-CART +FGK +CpG
CpG CART + FGK

图5D

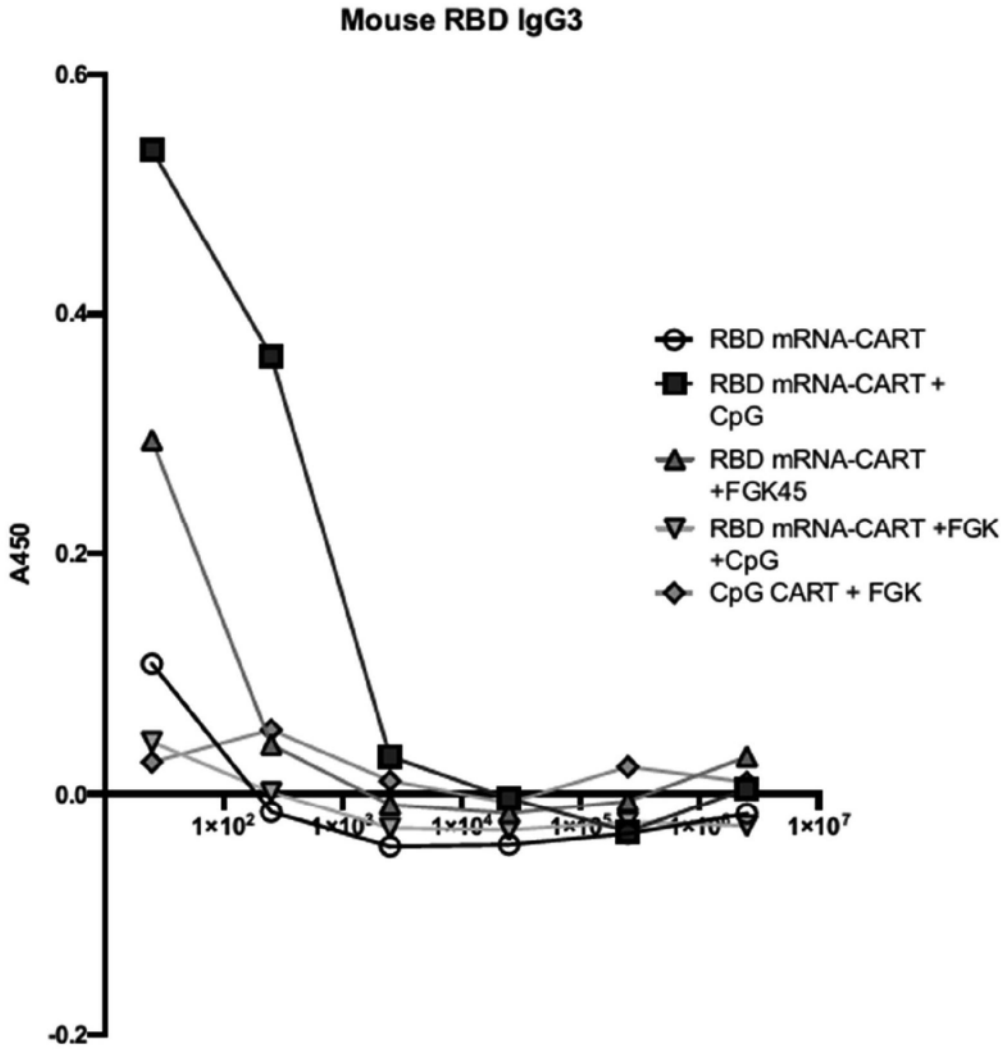

Mouse RBD IgG3
A450
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART +FGK45
RBD mRNA-CART +FGK +CpG
CpG CART + FGK

图5E

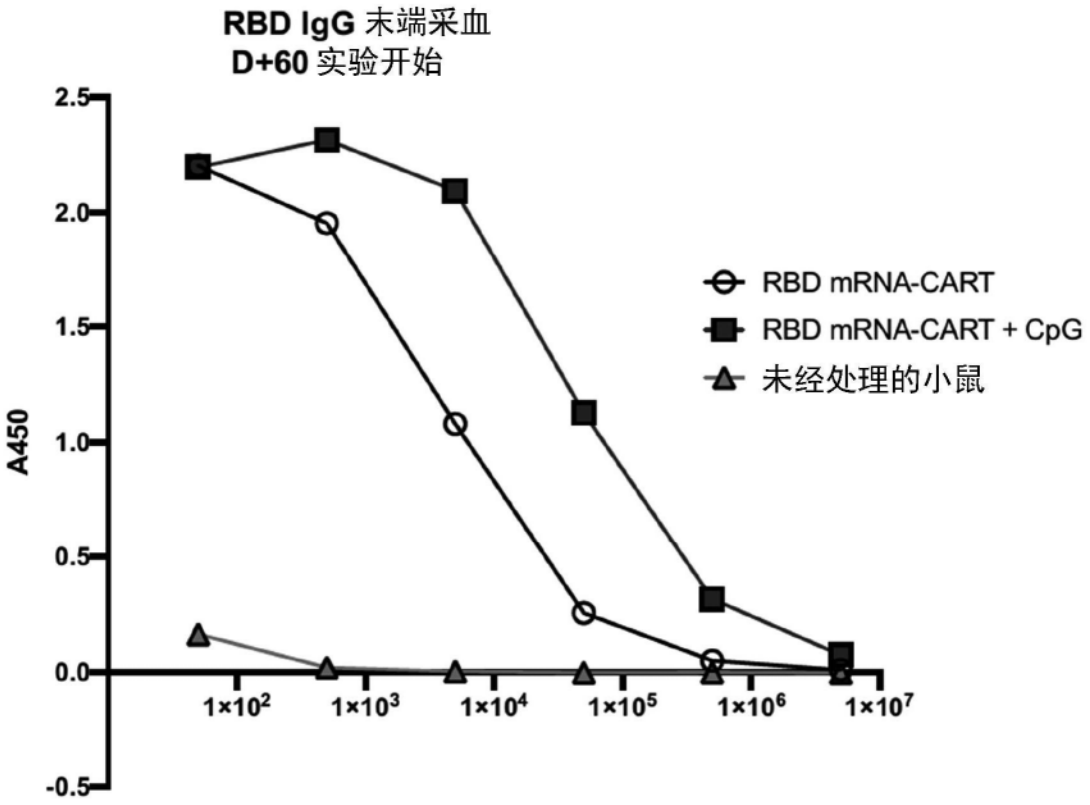

RBD IgG 末端采血
D+60 实验开始
A450
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
未经处理的小鼠

图6A

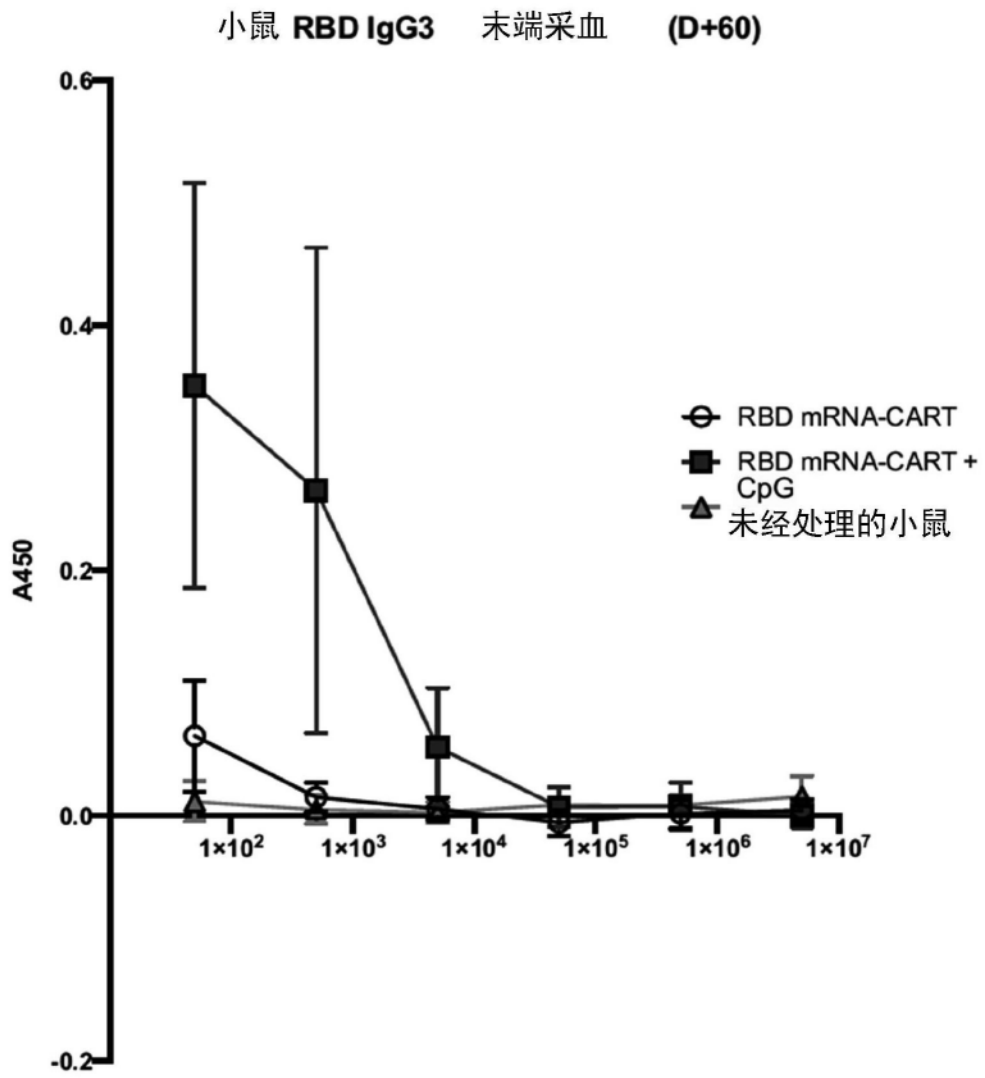

小鼠 RBD IgG3 末端采血 (D+60)
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
A450
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
未经处理的小鼠

图6B

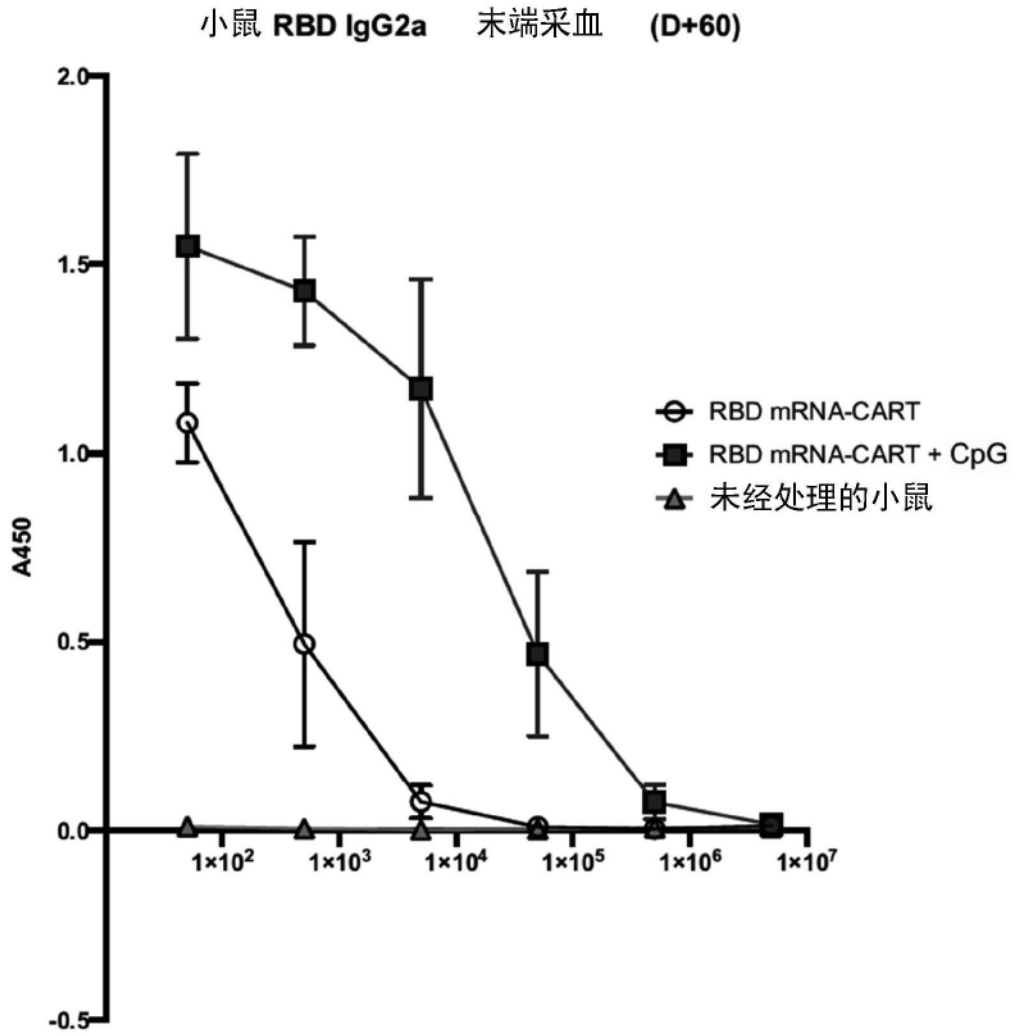

小鼠 RBD IgG2a 末端采血 (D+60)
A450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
未经处理的小鼠

图6C

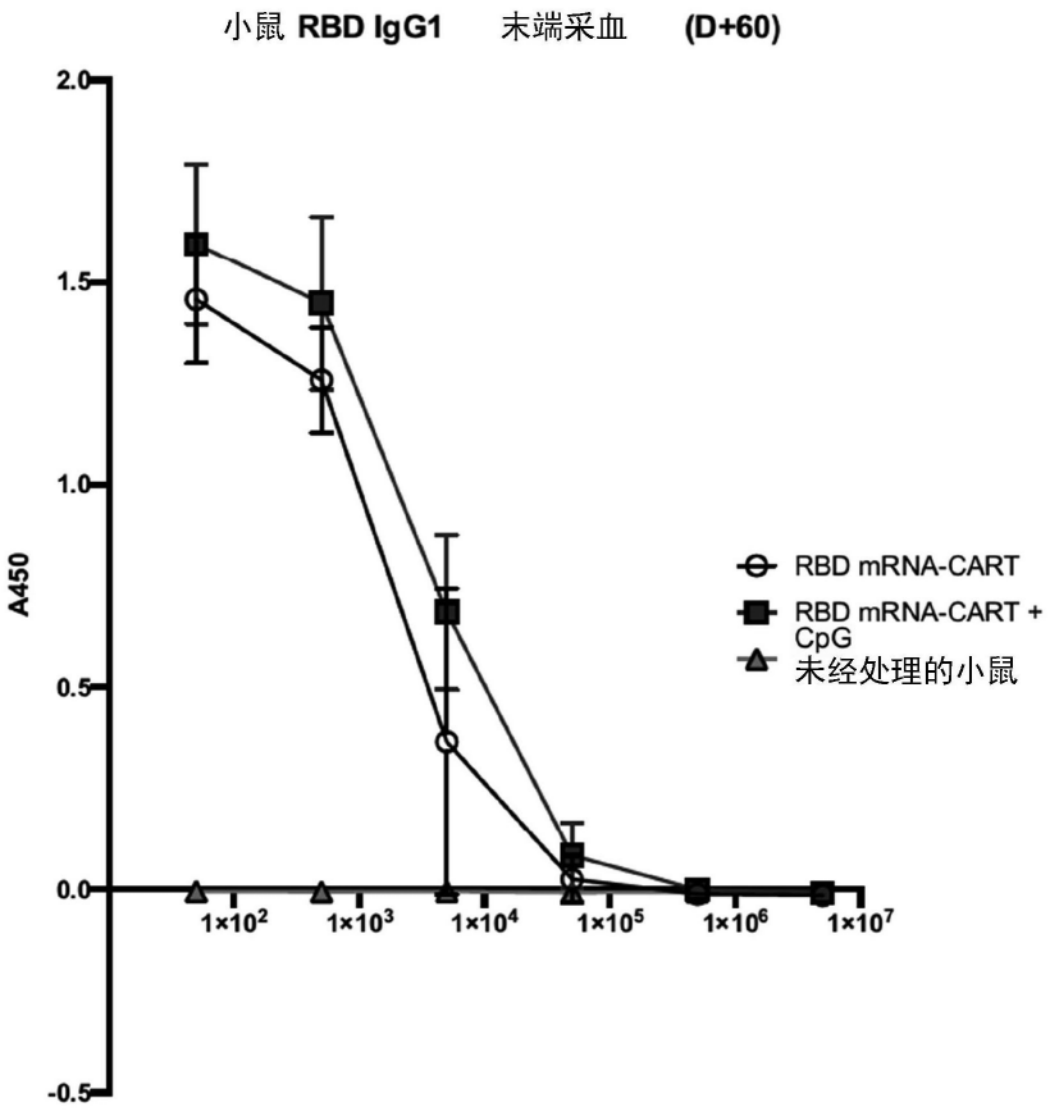

小鼠 RBD IgG1 末端采血 (D+60)
A450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
未经处理的小鼠

图6D

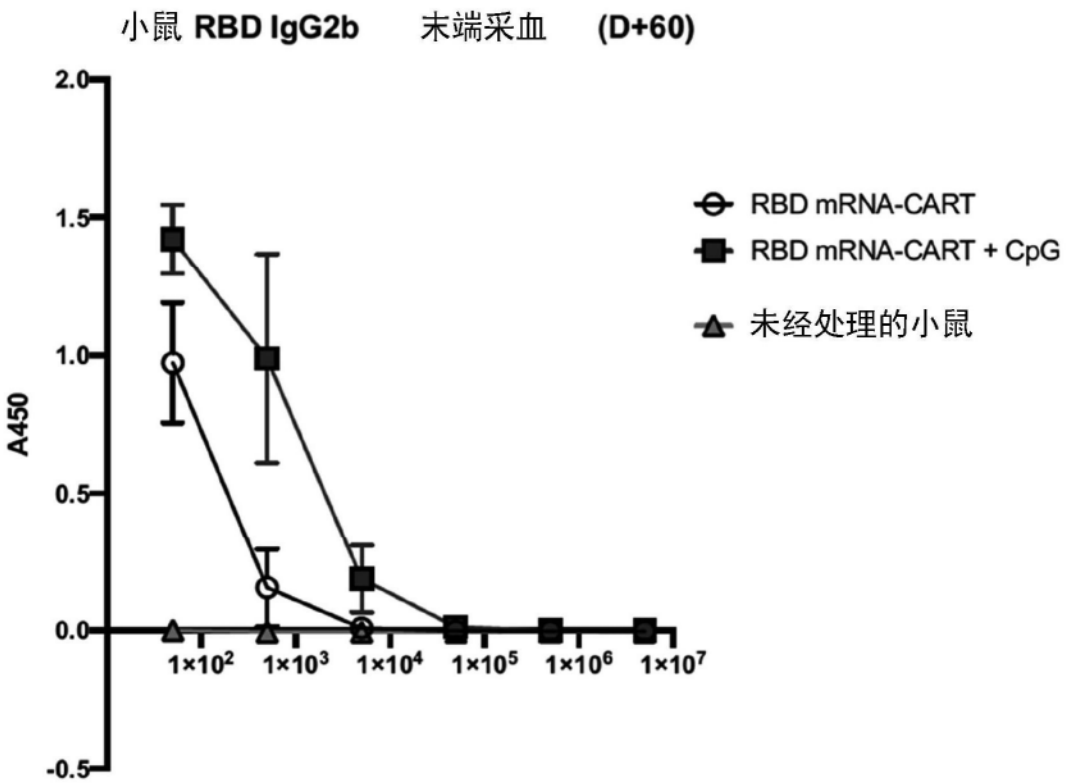

小鼠 RBD IgG2b 末端采血 (D+60)
A450
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
未经处理的小鼠

图6E

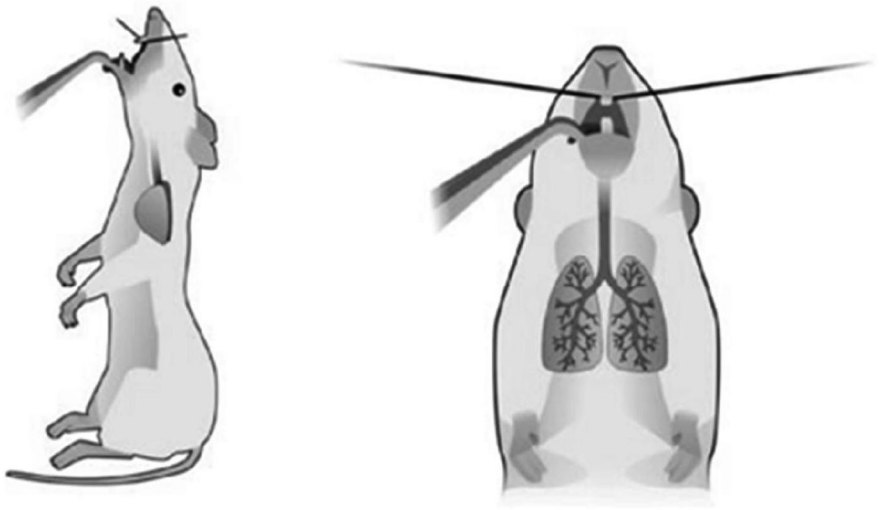


图7A

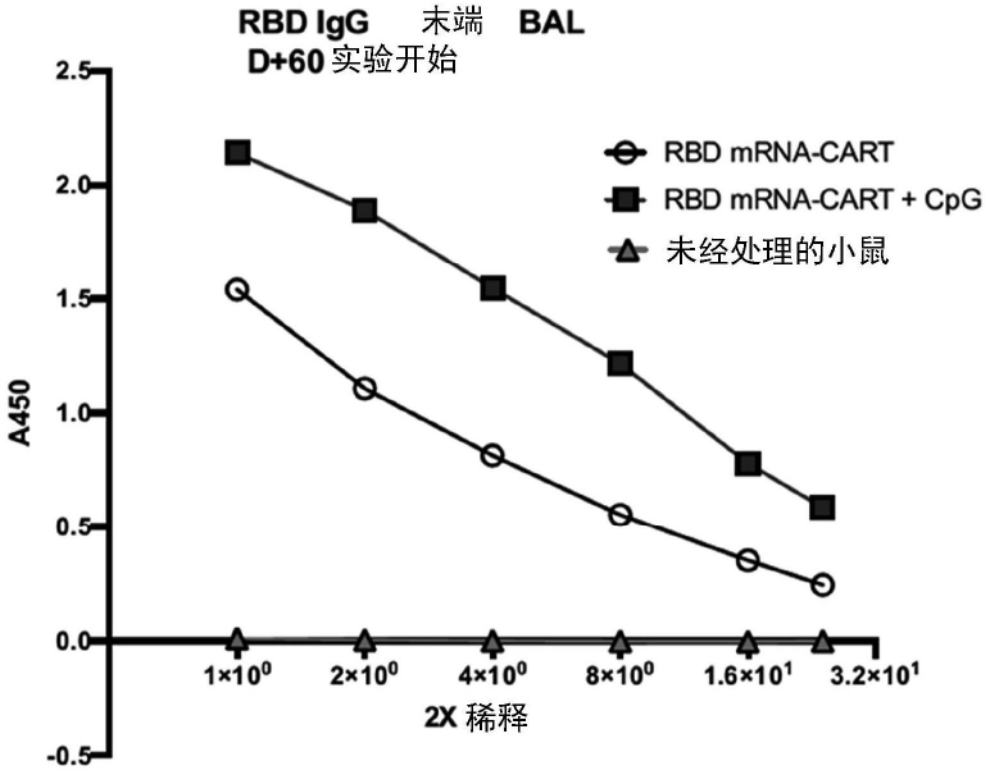

RBD IgG 末端 BAL
D+60 实验开始
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
未经处理的小鼠
A450
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
1×10⁰
2×10⁰
4×10⁰
8×10⁰
1.6×10¹
3.2×10¹
2X 稀释

图7B

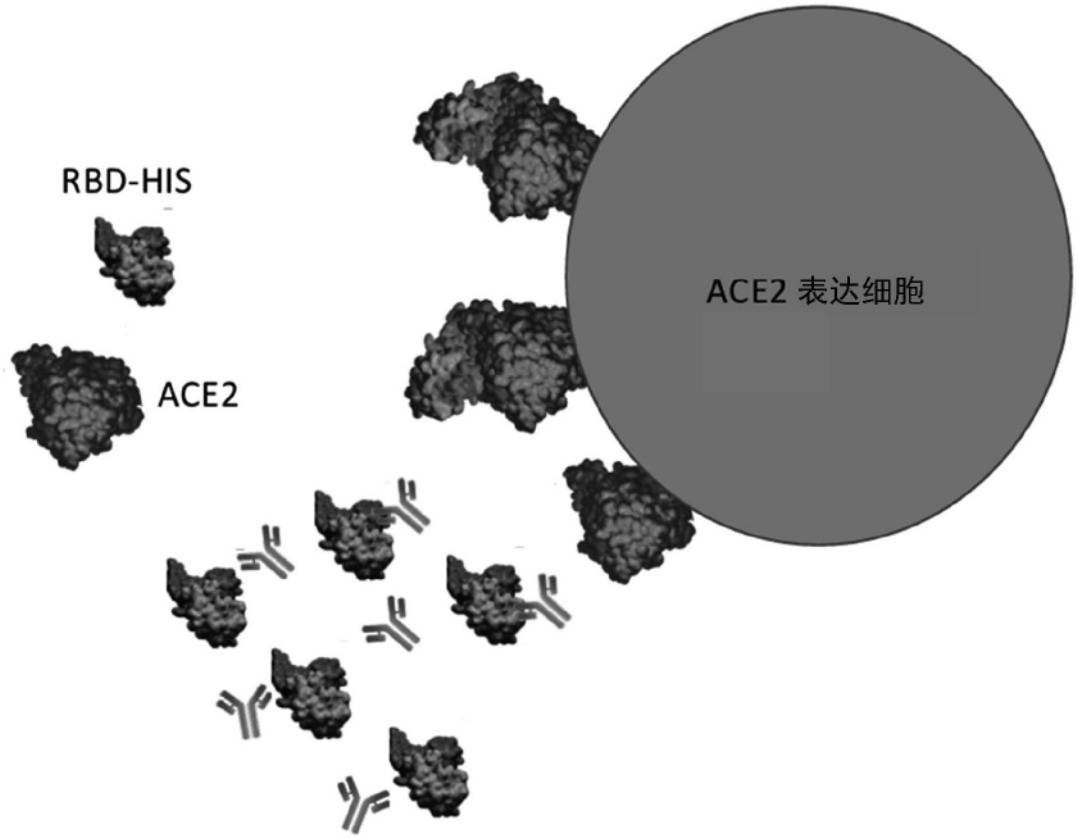
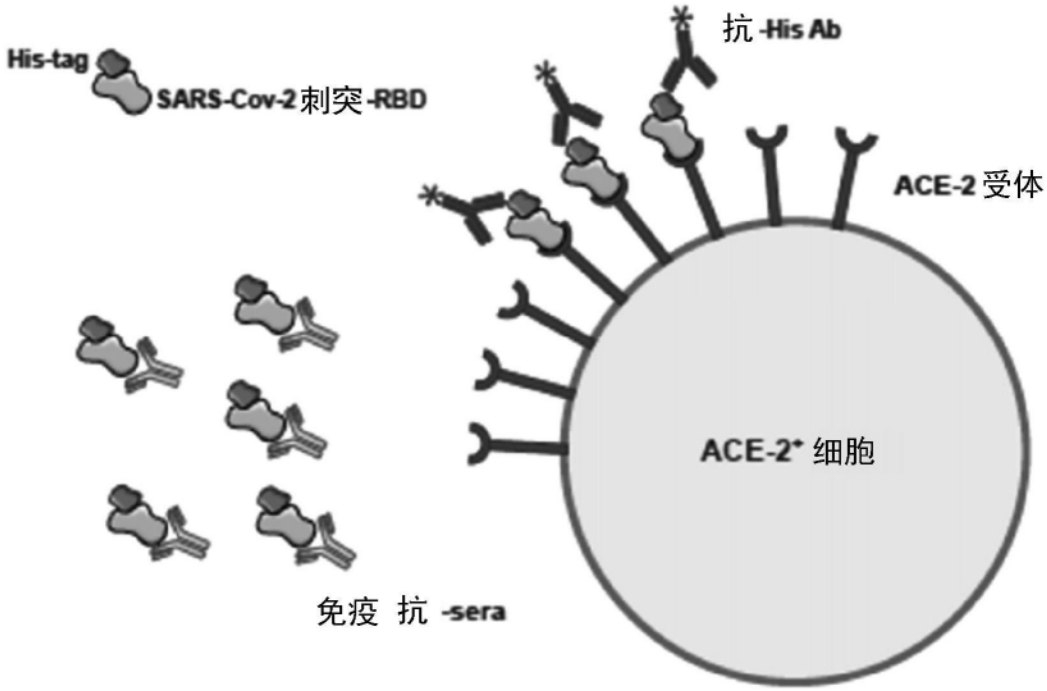


图8


His-tag
SARS-Cov-2刺突-RBD
抗-His Ab
ACE-2受体
ACE-2+细胞
免疫 抗 -sera

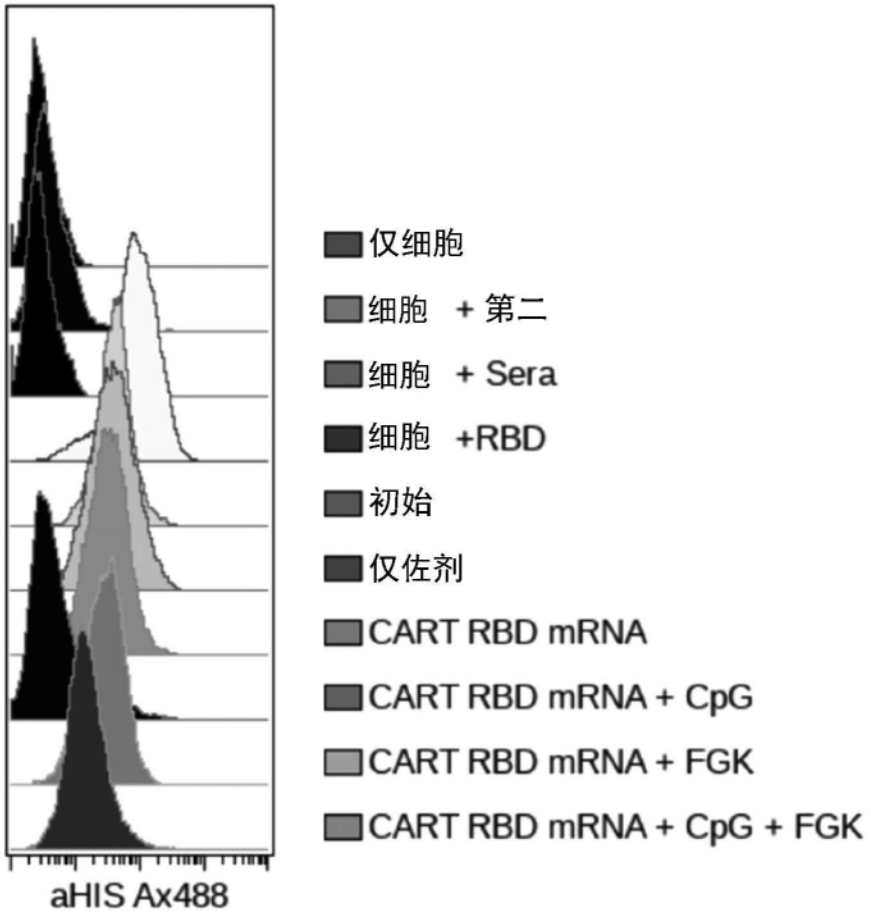

仅细胞
细胞 + 第二
细胞 + Sera
细胞 +RBD
初始
仅佐剂
CART RBD mRNA
CART RBD mRNA + CpG
CART RBD mRNA + FGK
CART RBD mRNA + CpG + FGK
aHIS Ax488

图9A

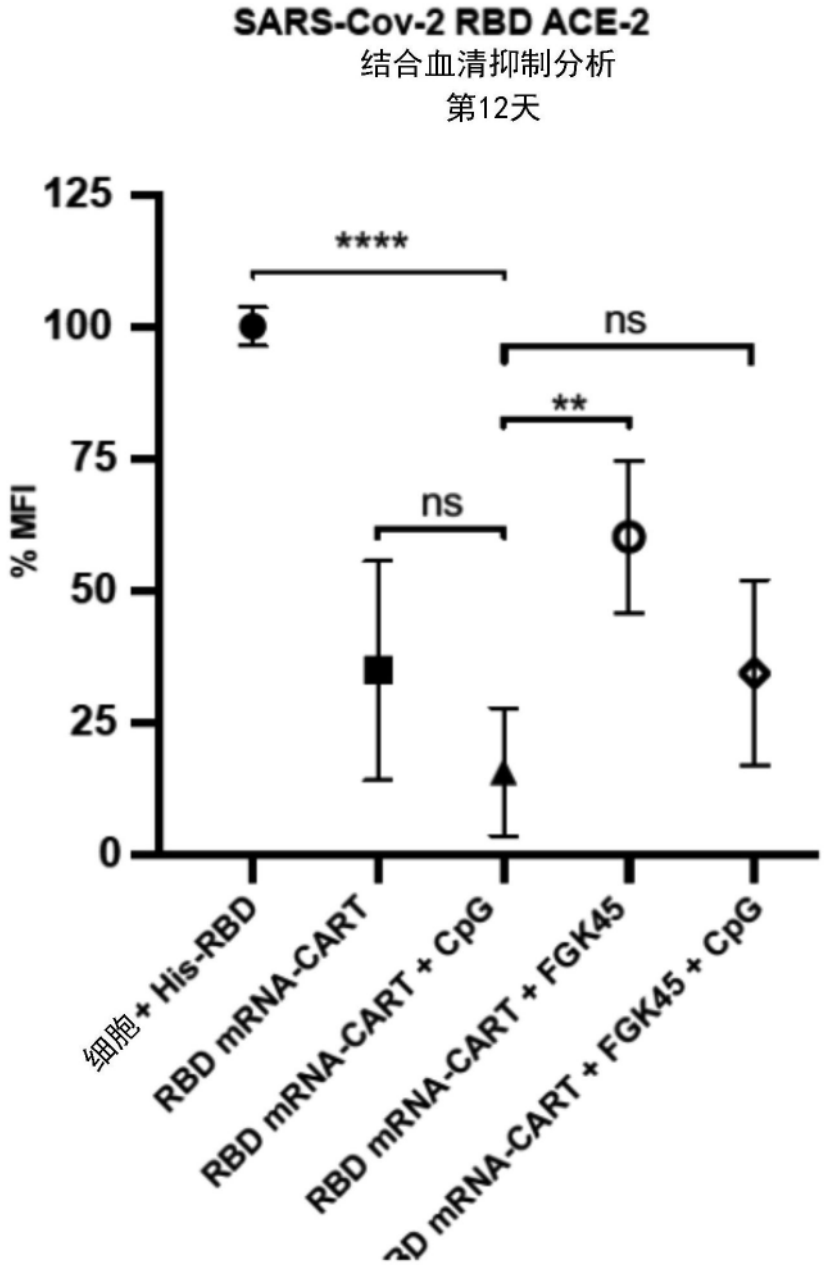

SARS-Cov-2 RBD ACE-2
结合血清抑制分析
第12天
% MFI
125
100
75
50
25
0
****
ns
**
ns
细胞+ His-RBD
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART + FGK45
RBD mRNA-CART + FGK45 + CpG

图9B

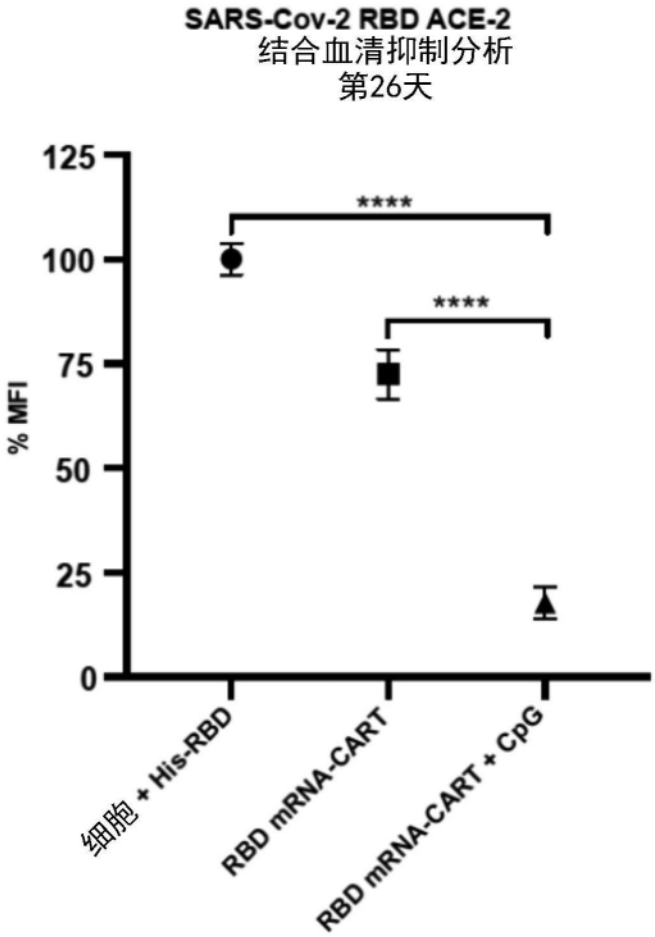

SARS-Cov-2 RBD ACE-2
结合血清抑制分析
第26天
% MFI
125
100
75
50
25
0
****
****
细胞 + His-RBD
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG

图9C

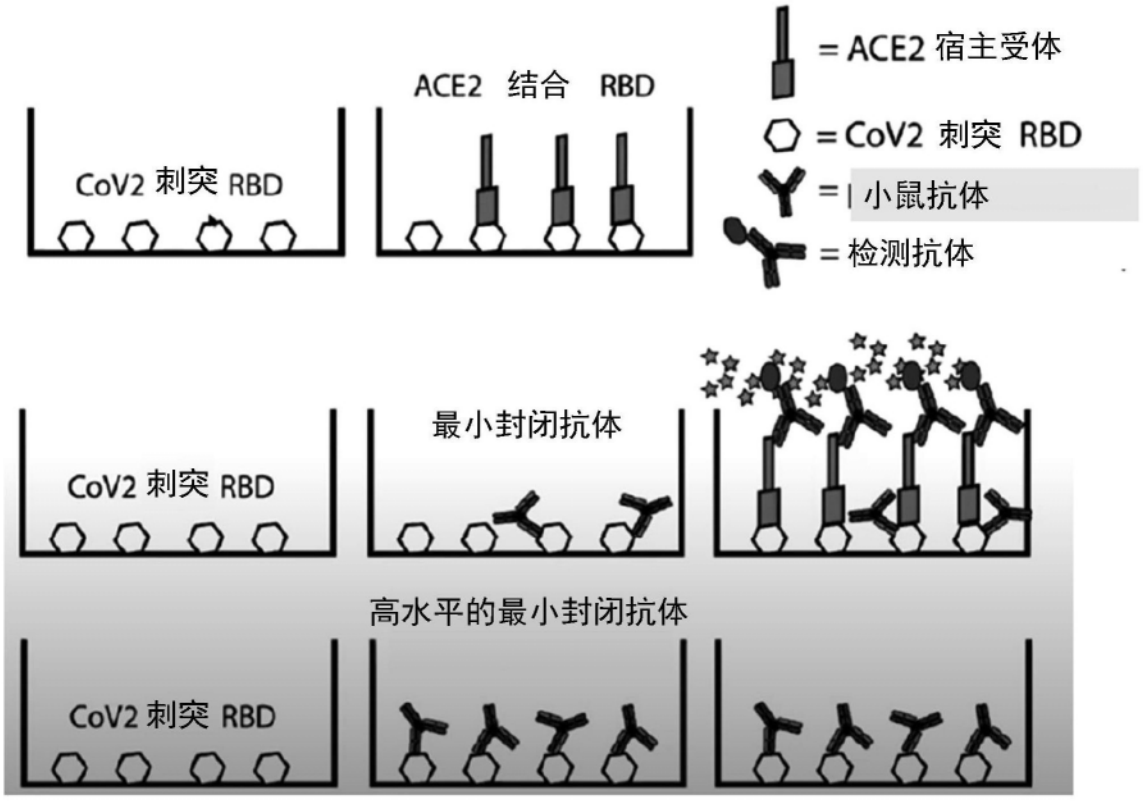

= ACE2 宿主受体
= CoV2 刺突 RBD
= 小鼠抗体
= 检测抗体
ACE2 结合 RBD
CoV2 刺突 RBD
最小封闭抗体
CoV2 刺突 RBD
高水平的最小封闭抗体
CoV2 刺突 RBD

图10A

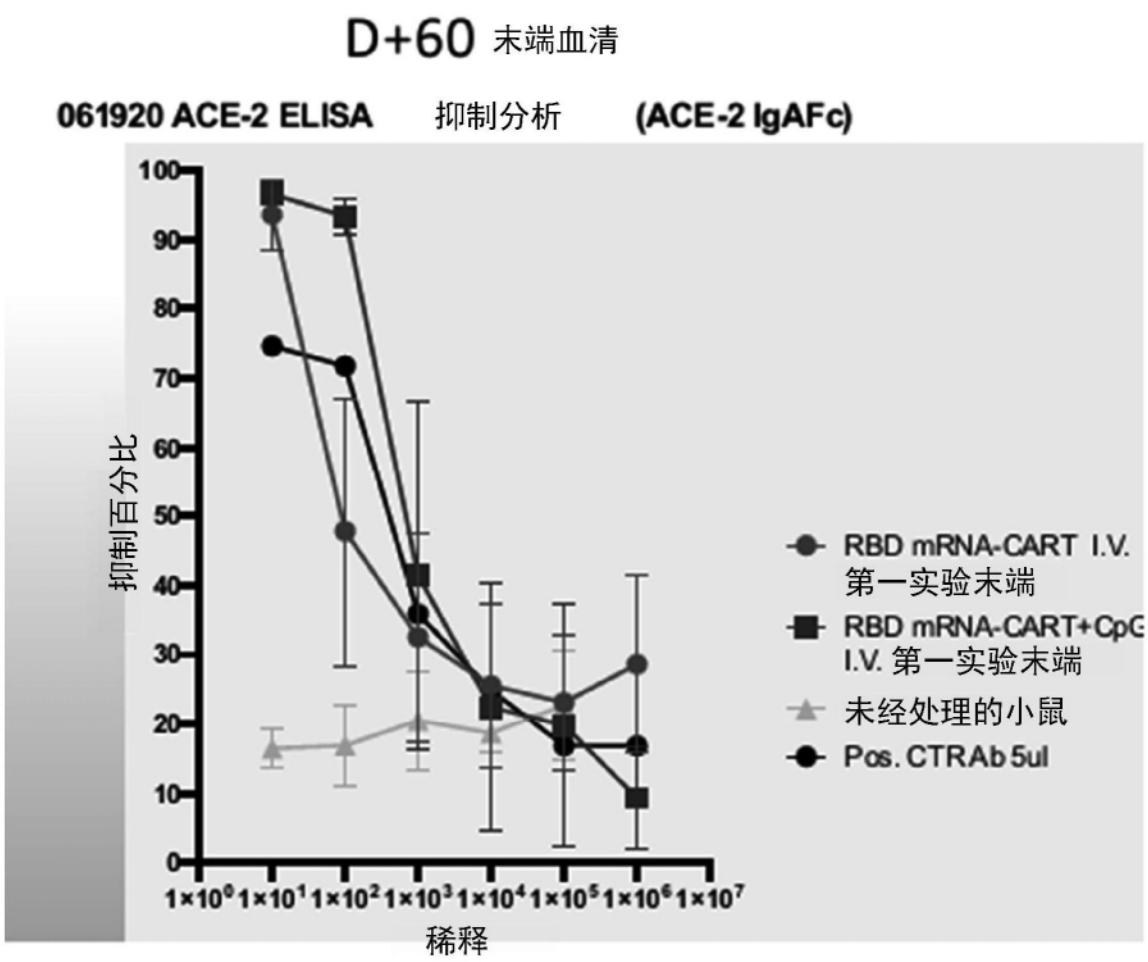

D+60 末端血清
061920 ACE-2 ELISA 抑制分析 (ACE-2 IgAFc)
抑制百分比
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1×10⁰ 1×10¹ 1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶ 1×10⁷
稀释
RBD mRNA-CART I.V. 第一实验末端
RBD mRNA-CART+CpG I.V. 第一实验末端
未经处理的小鼠
Pos. CTRAb 5ul

图10B

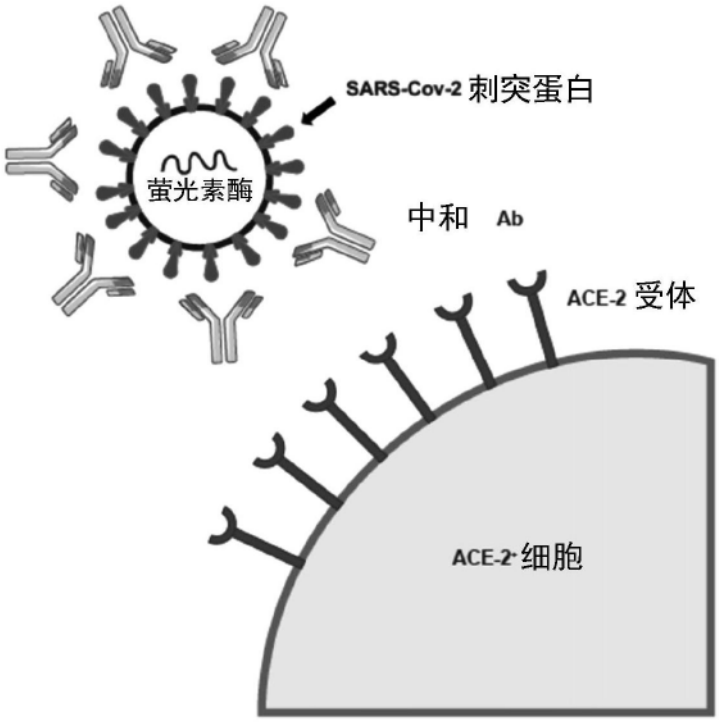

SARS-Cov-2 刺突蛋白
萤光素酶
中和 Ab
ACE-2 受体
ACE-2+ 细胞

图11A

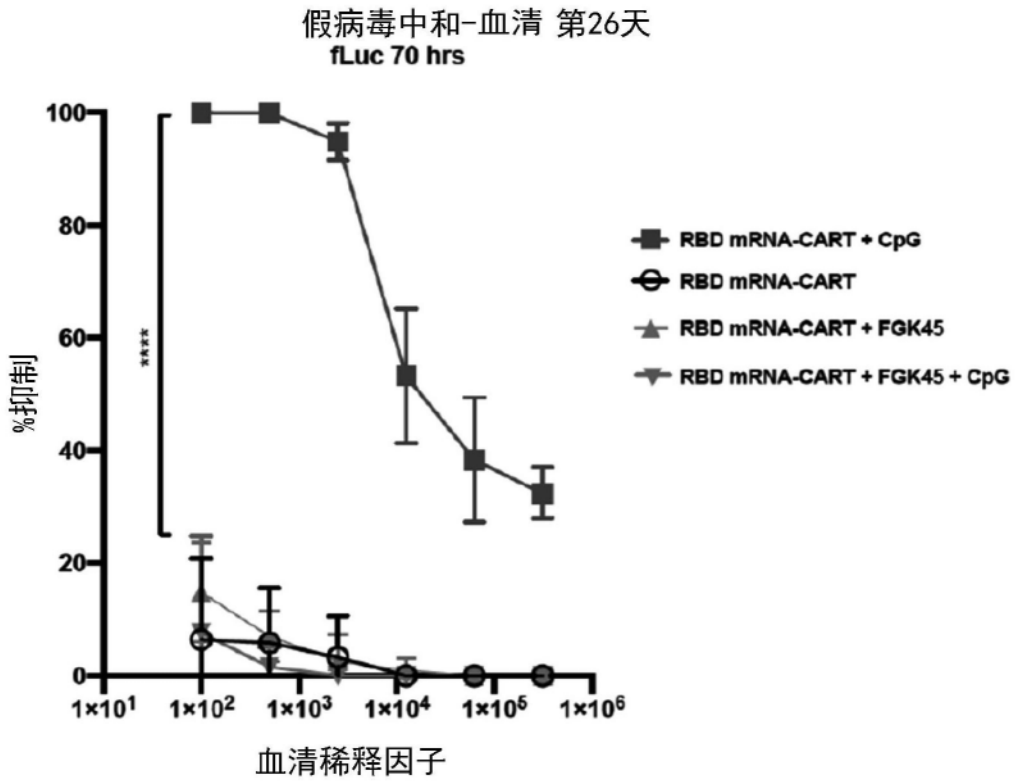

假病毒中和-血清 第26天
fLuc 70 hrs
%抑制
100
80
60
40
20
0
****
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
血清稀释因子
RBD mRNA-CART + CpG
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + FGK45
RBD mRNA-CART + FGK45 + CpG

图11B

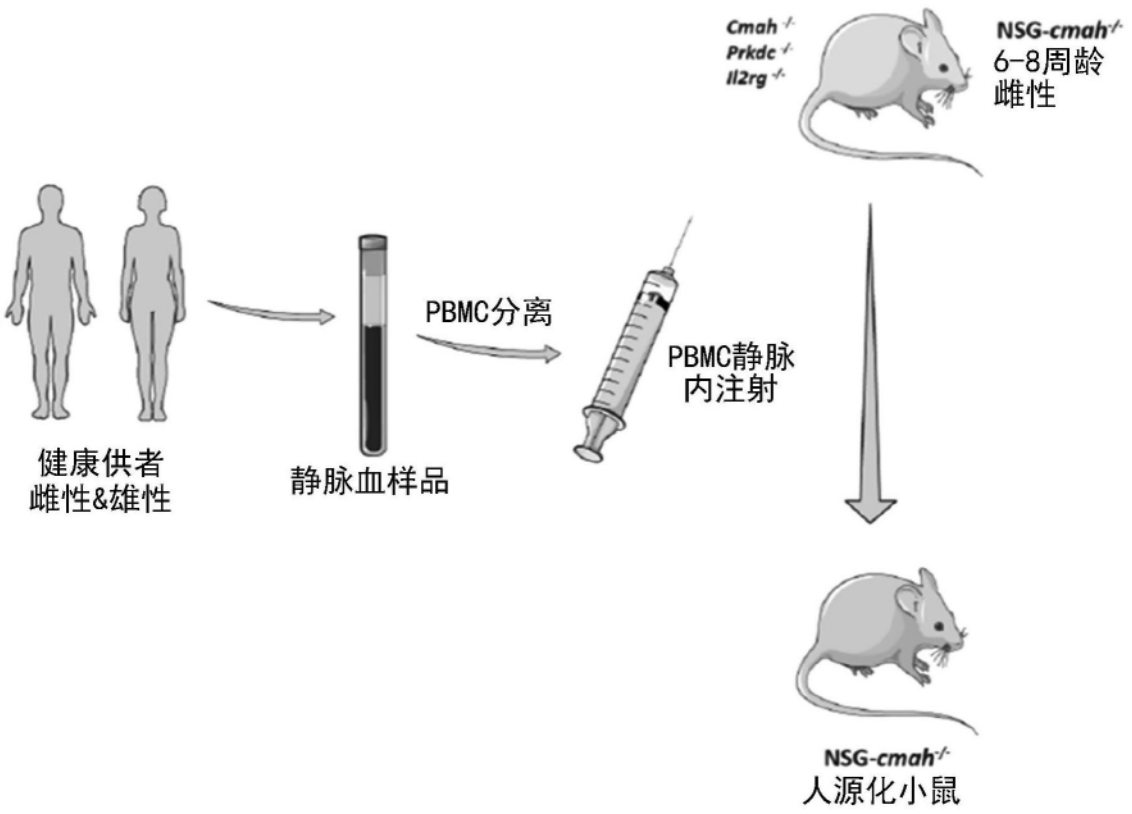

Cmah -/-
Prkdc -/-
Il2rg -/-
NSG-cmah-/-
6-8周龄
雌性
健康供者
雌性&雄性
静脉血样品
PBMC分离
PBMC静脉
内注射
NSG-cmah-/-
人源化小鼠

图12A

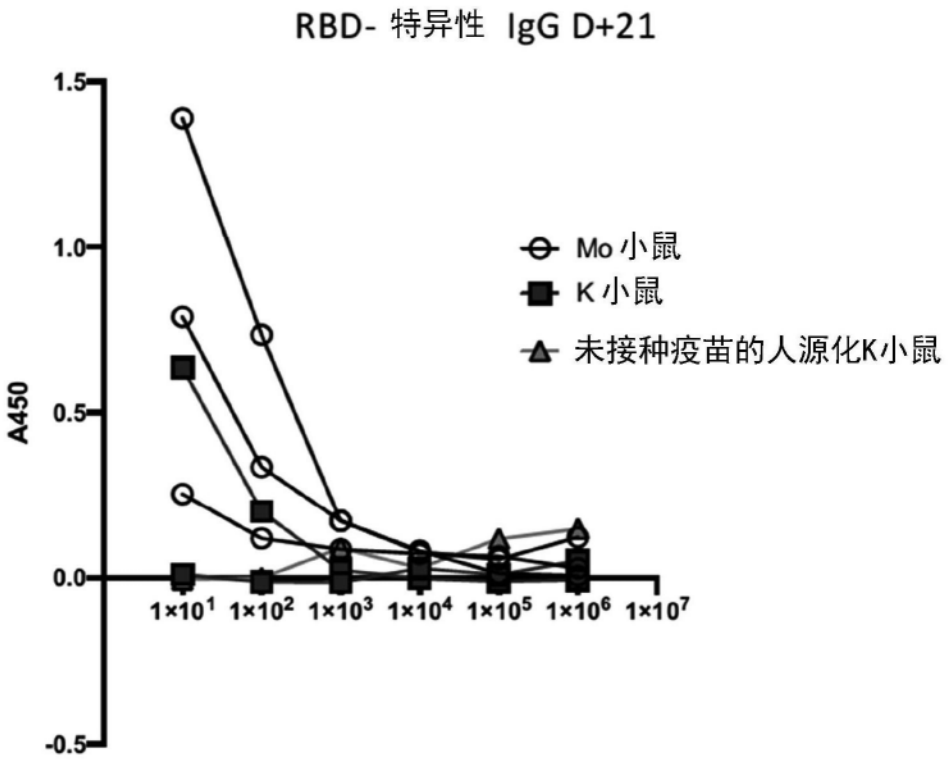

RBD- 特异性 IgG D+21
A450
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
1×10¹ 1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶ 1×10⁷
Mo 小鼠
K 小鼠
未接种疫苗的人源化K小鼠

图12B

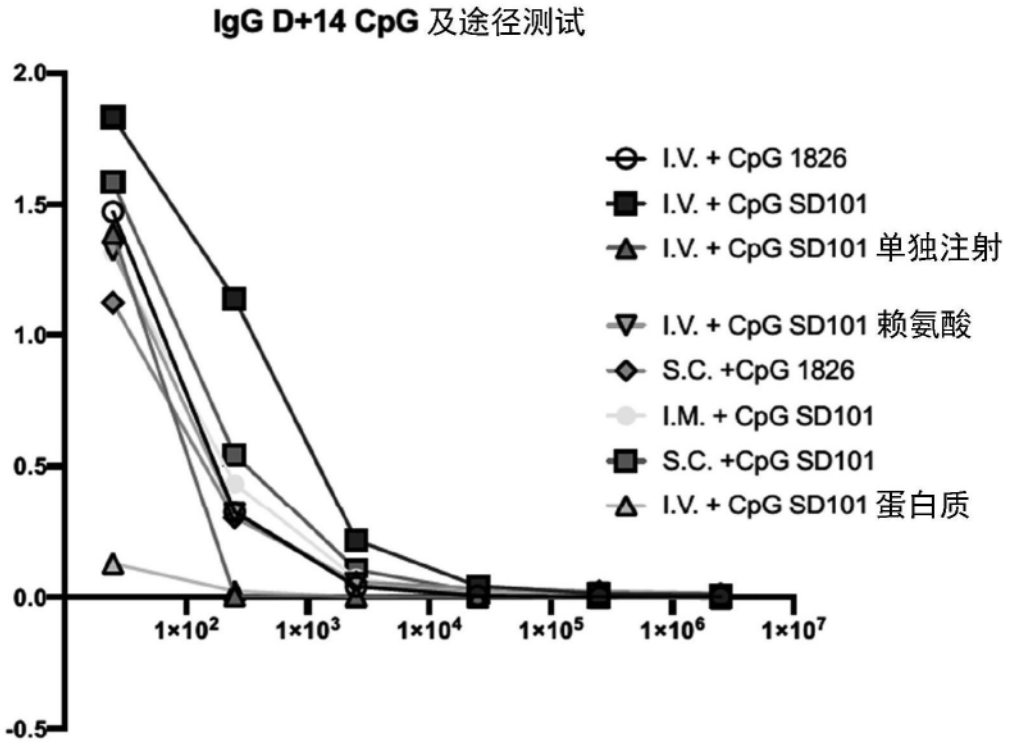

IgG D+14 CpG 及途径测试
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶ 1×10⁷
I.V. + CpG 1826
I.V. + CpG SD101
I.V. + CpG SD101 单独注射
I.V. + CpG SD101 赖氨酸
S.C. +CpG 1826
I.M. + CpG SD101
S.C. +CpG SD101
I.V. + CpG SD101 蛋白质

图13A

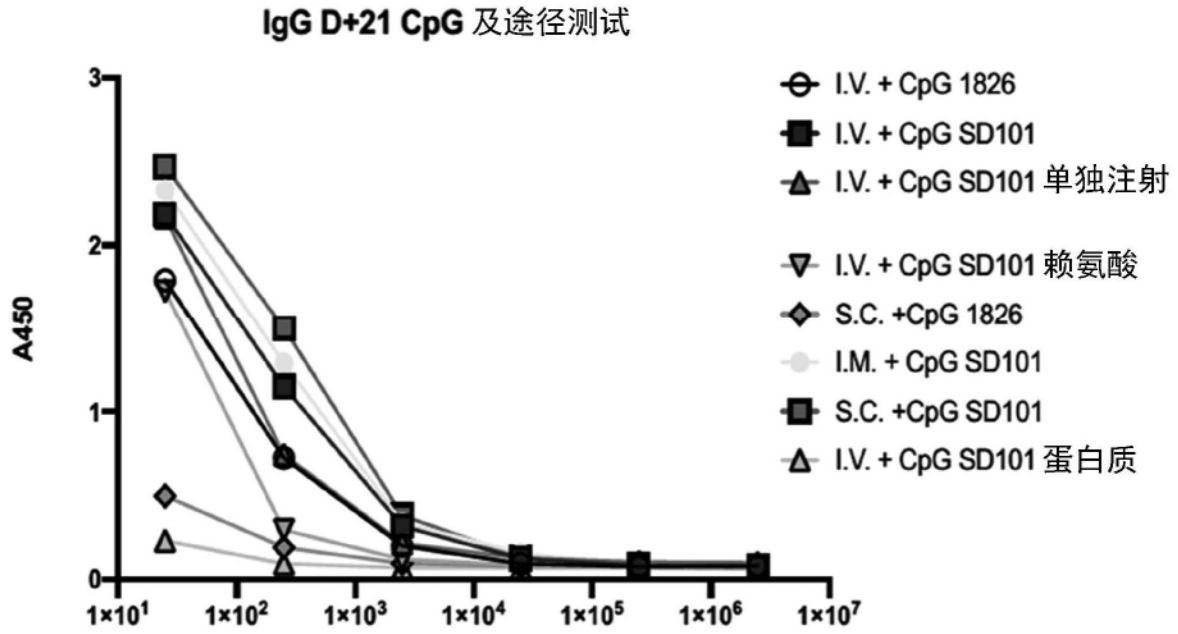

IgG D+21 CpG 及途径测试
A450
3
2
1
0
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵
1×10⁶
1×10⁷
I.V. + CpG 1826
I.V. + CpG SD101
I.V. + CpG SD101 单独注射
I.V. + CpG SD101 赖氨酸
S.C. +CpG 1826
I.M. + CpG SD101
S.C. +CpG SD101
I.V. + CpG SD101 蛋白质

图13B

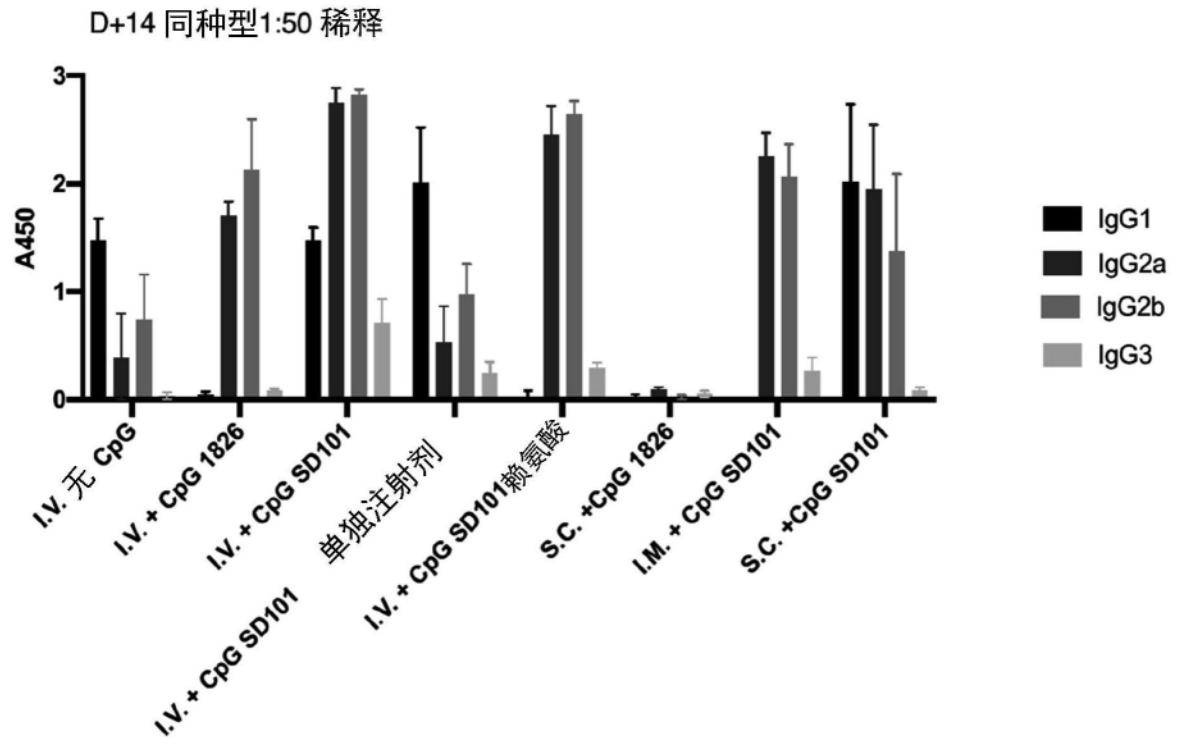

D+14 同种型1:50 稀释
A450
3
2
1
0
IgG1
IgG2a
IgG2b
IgG3
I.V. 无 CpG
I.V. + CpG 1826
I.V. + CpG SD101
单独注射剂
I.V. + CpG SD101赖氨酸
S.C. +CpG 1826
I.M. + CpG SD101
S.C. +CpG SD101
I.V. + CpG SD101

图14

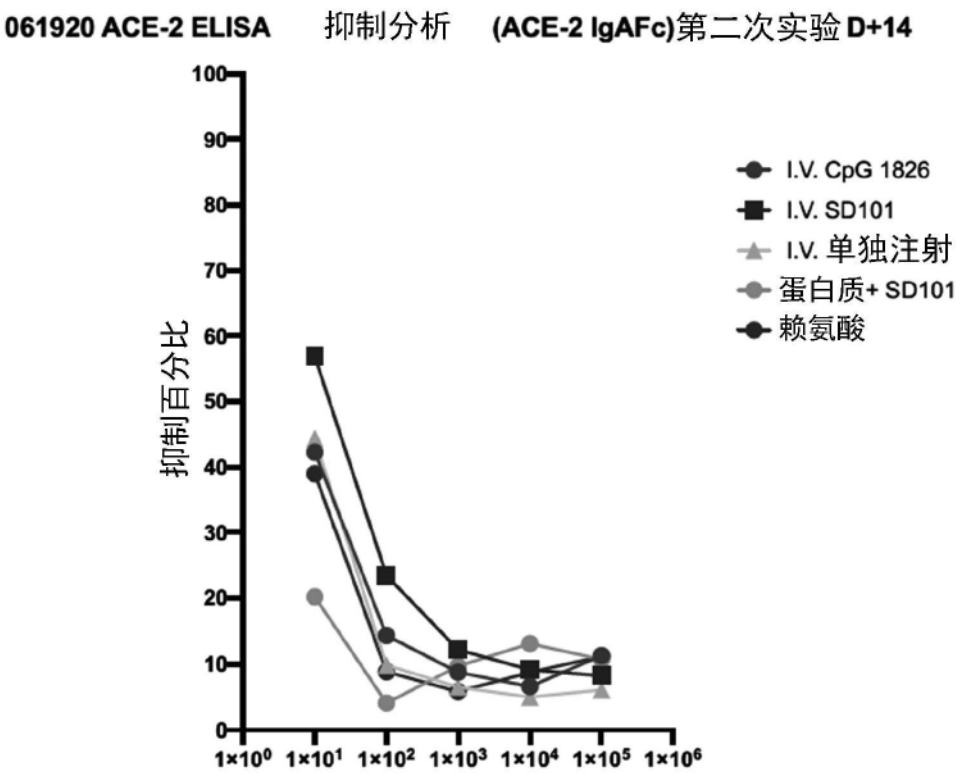

061920 ACE-2 ELISA 抑制分析 (ACE-2 IgAFc)第二次实验 D+14
抑制百分比
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1×10⁰ 1×10¹ 1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶
I.V. CpG 1826
I.V. SD101
I.V. 单独注射
蛋白质+ SD101
赖氨酸

图15A

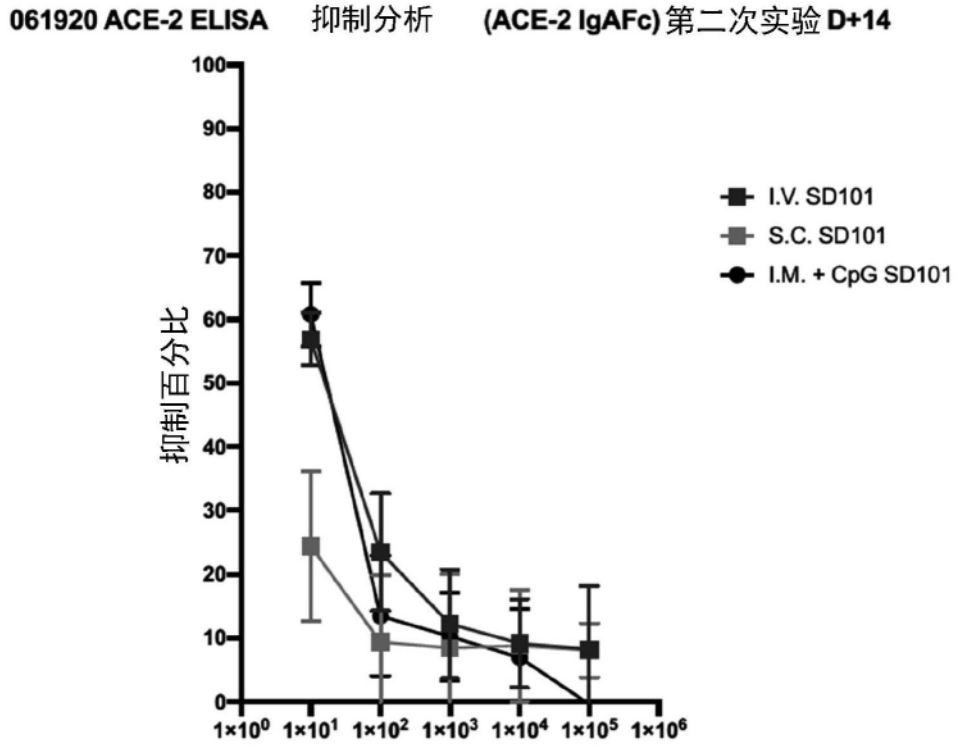

061920 ACE-2 ELISA 抑制分析 (ACE-2 IgAFc) 第二次实验 D+14
抑制百分比
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1×10⁰ 1×10¹ 1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶
I.V. SD101
S.C. SD101
I.M. + CpG SD101

图15B

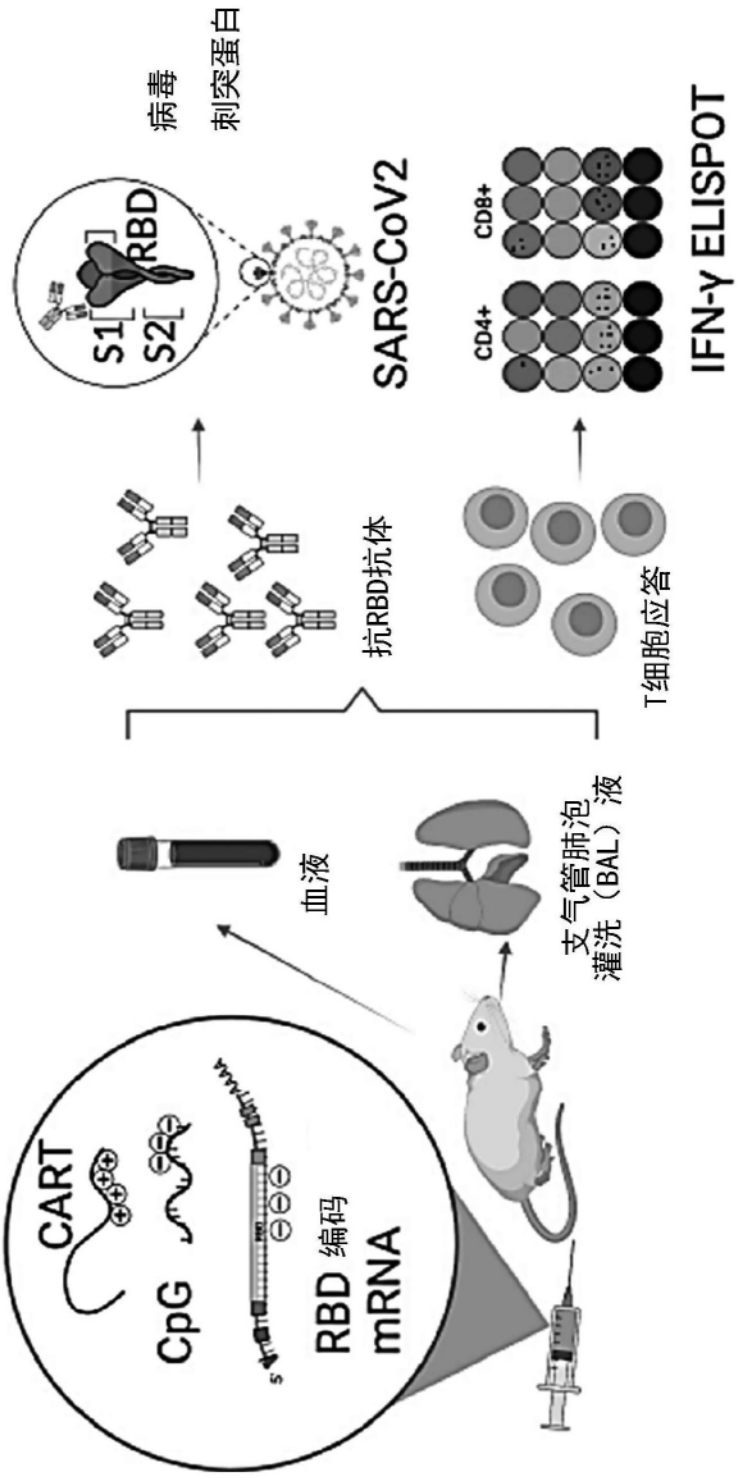

CART
CpG
RBD 编码
mRNA
血液
支气管肺泡
灌洗（BAL）液
抗RBD抗体
T细胞应答
病毒
刺突蛋白
S1
S2
RBD
SARS-CoV2
CD4+
CD8+
IFN-γ ELISPOT

图16

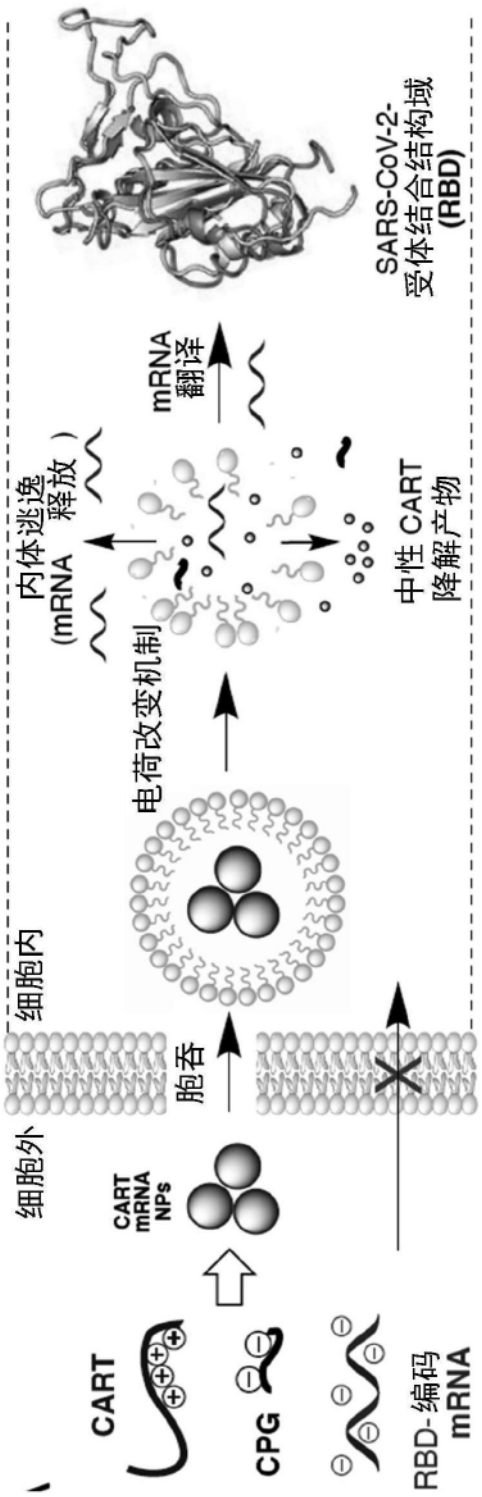

SARS-CoV-2-
受体结合结构域
(RBD)
mRNA
翻译
内体逃逸
(mRNA 释放)
电荷改变机制
中性 CART
降解产物
细胞内
胞吞
细胞外
CART
mRNA
NPs
CART
CPG
RBD-编码
mRNA

图17A

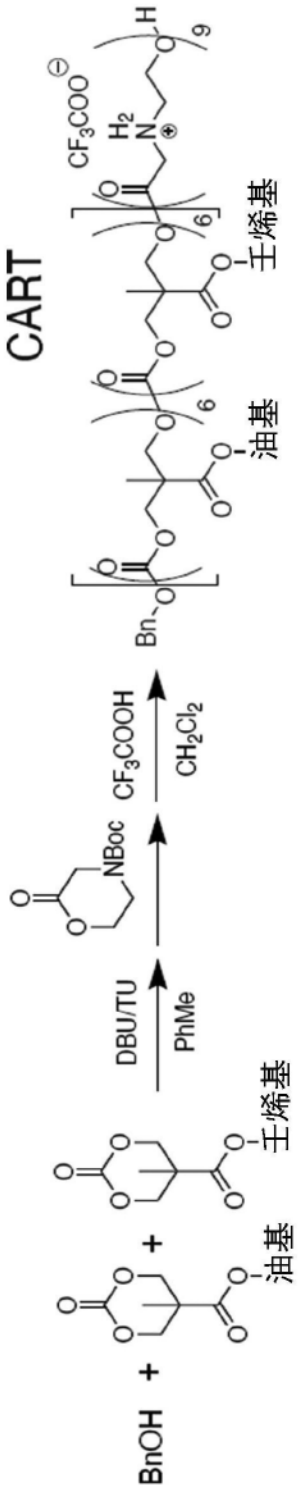

BnOH
+
油基
+
壬烯基
DBU/TU
PhMe
NBoc
CF3COOH
CH2Cl2
CART
Bn
油基
壬烯基
CF3COO
H2
N

图17B

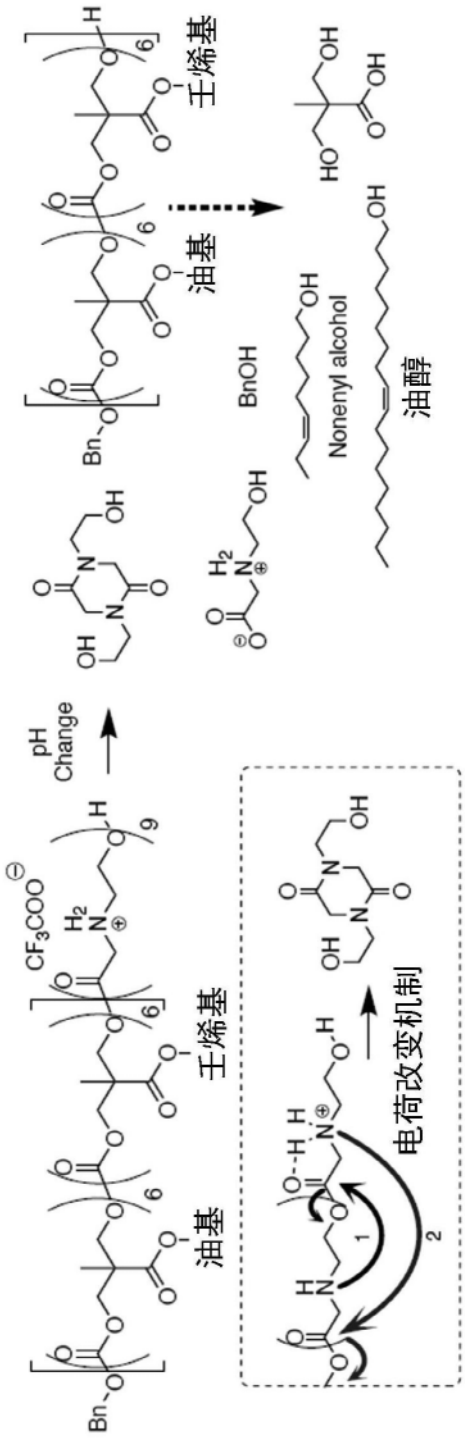


图17C

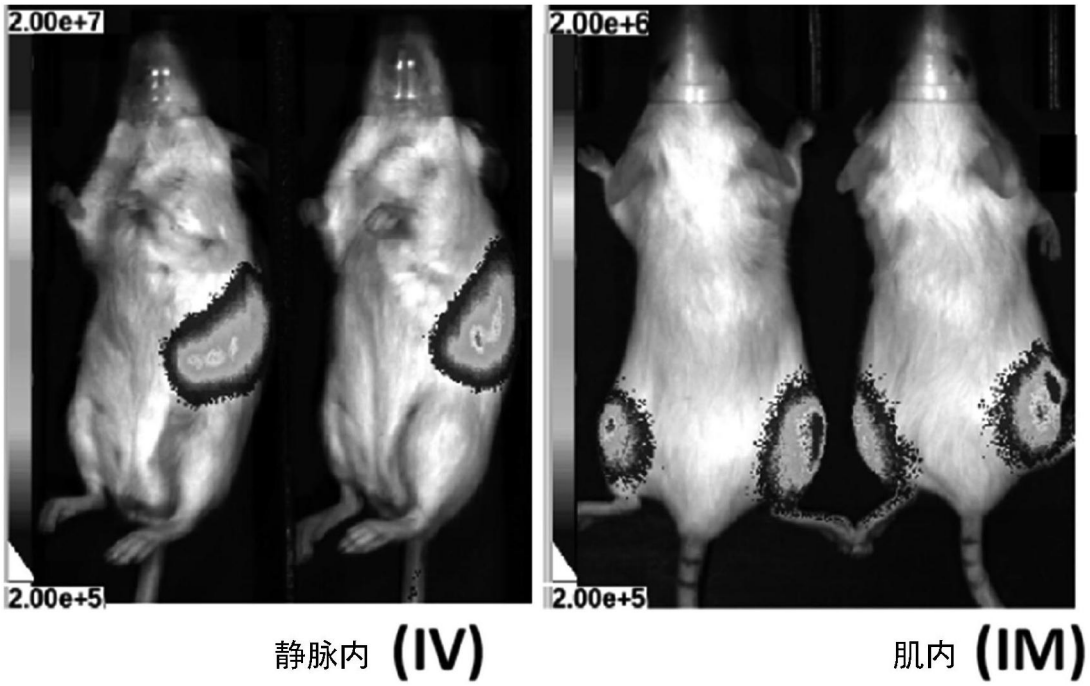

2.00e+7
2.00e+5
2.00e+6
2.00e+5
静脉内 (IV)
肌内 (IM)

图17D

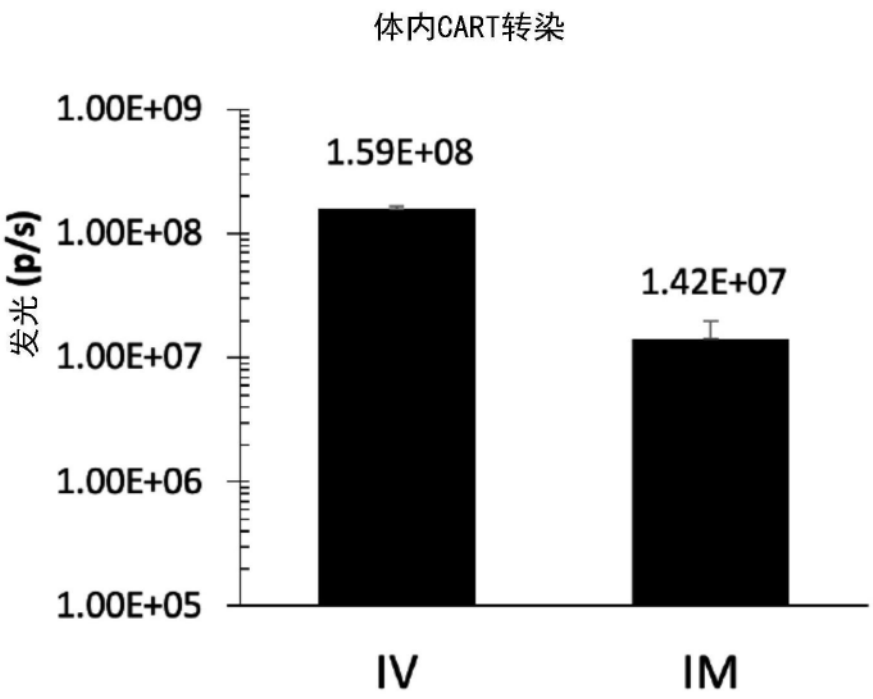

体内CART转染
1.00E+09
1.00E+08
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
发光 (p/s)
1.59E+08
1.42E+07
IV
IM

图17E

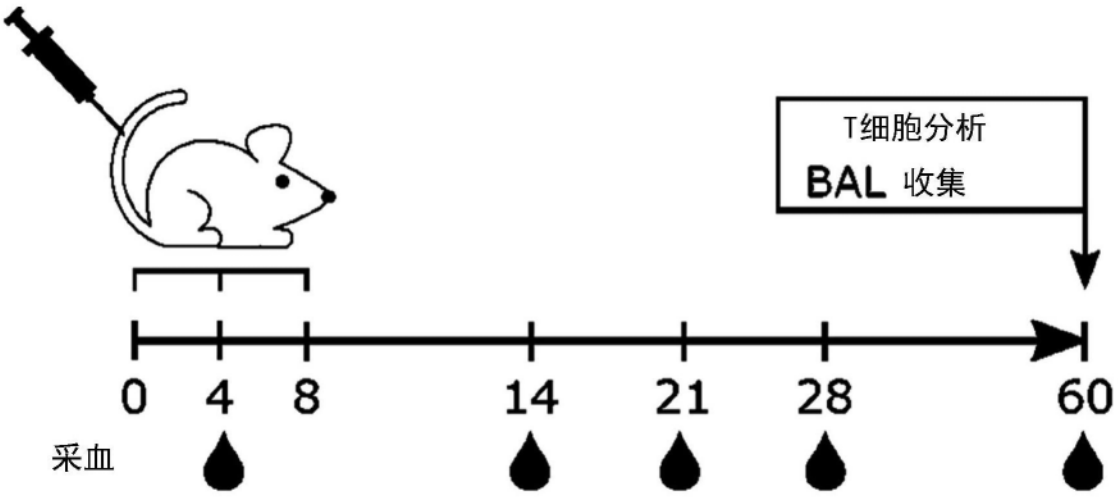


图18A

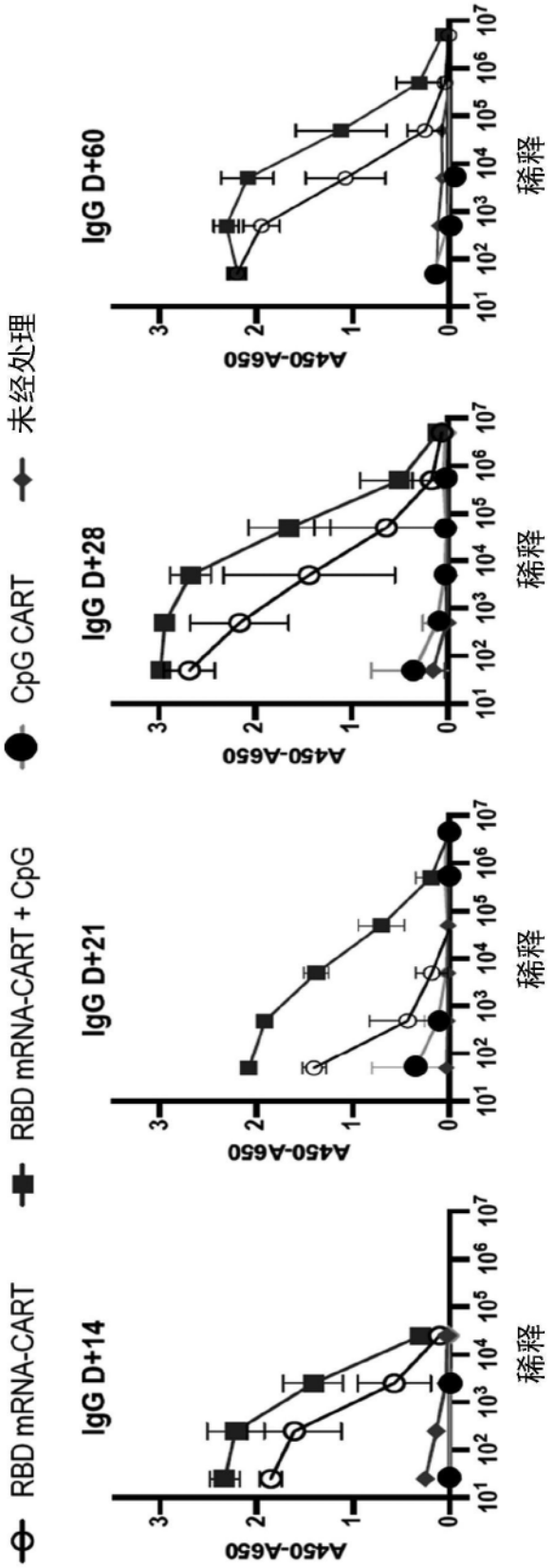

RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
CpG CART
未经处理
IgG D+14
IgG D+21
IgG D+28
IgG D+60
A450-A650
稀释

图18B

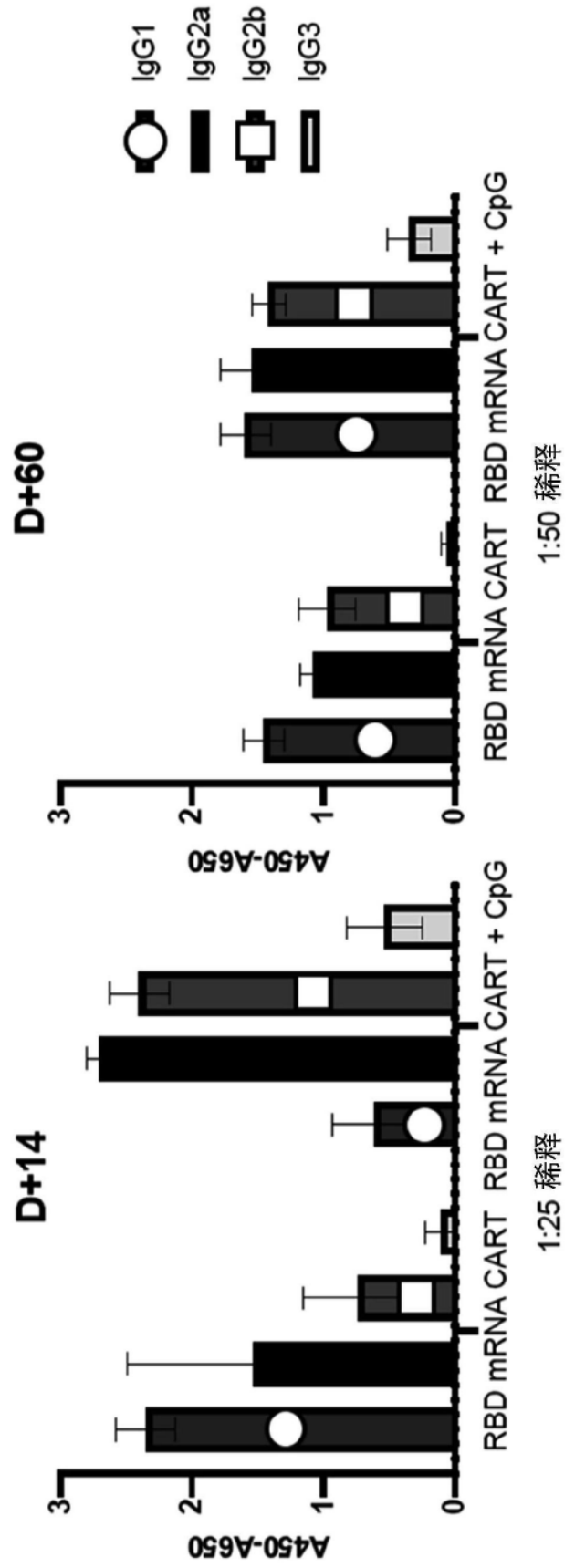

IgG1
IgG2a
IgG2b
IgG3
D+60
D+14
A450-A650
0
1
2
3
RBD mRNA CART
RBD mRNA CART + CpG
1:50 稀释
1:25 稀释

图18C

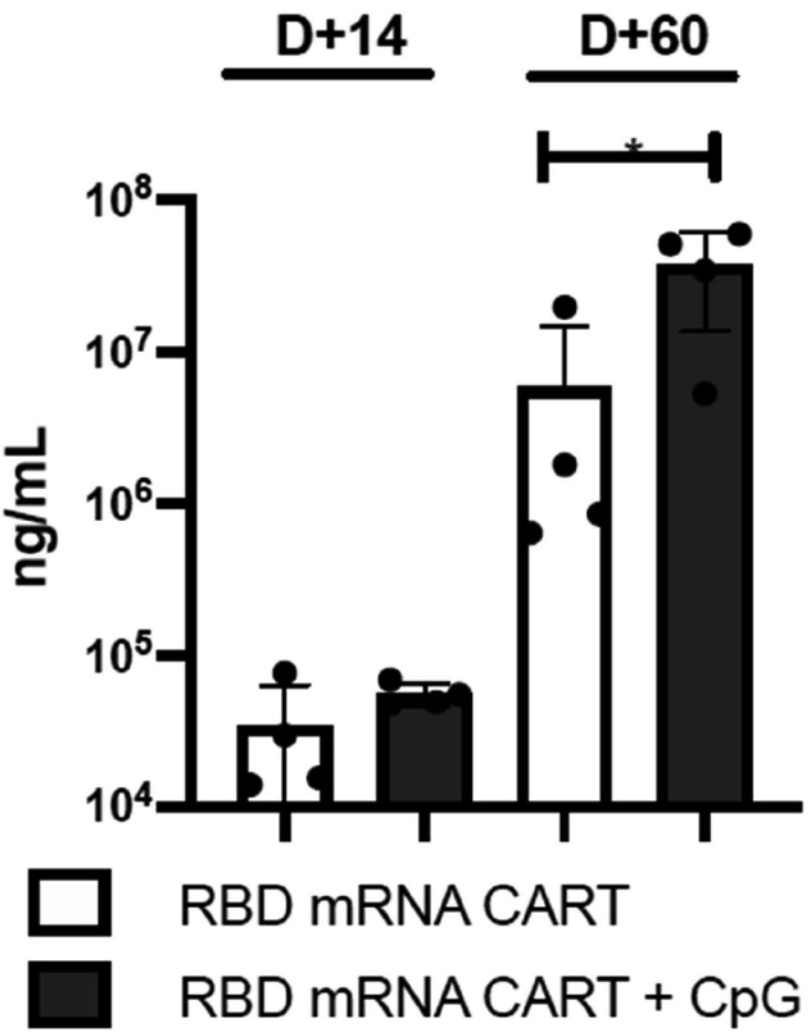

D+14
D+60
*
10^8
10^7
10^6
10^5
10^4
ng/mL
RBD mRNA CART
RBD mRNA CART + CpG

图18D

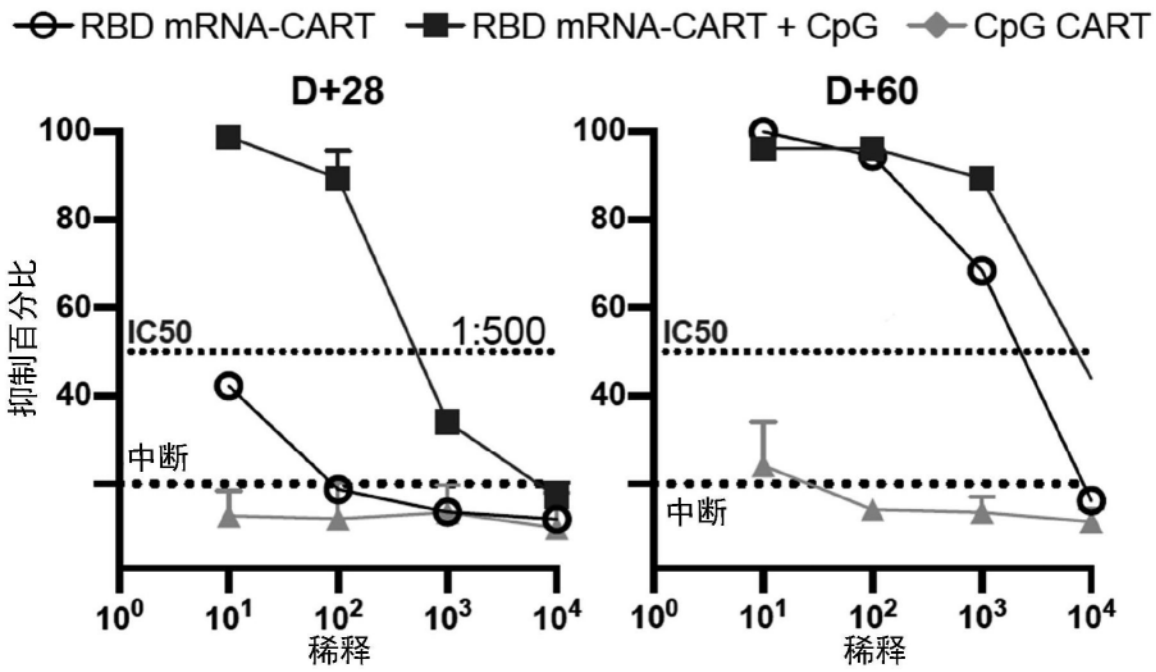

RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
CpG CART
D+28
D+60
抑制百分比
IC50
1:500
中断
稀释

图19A

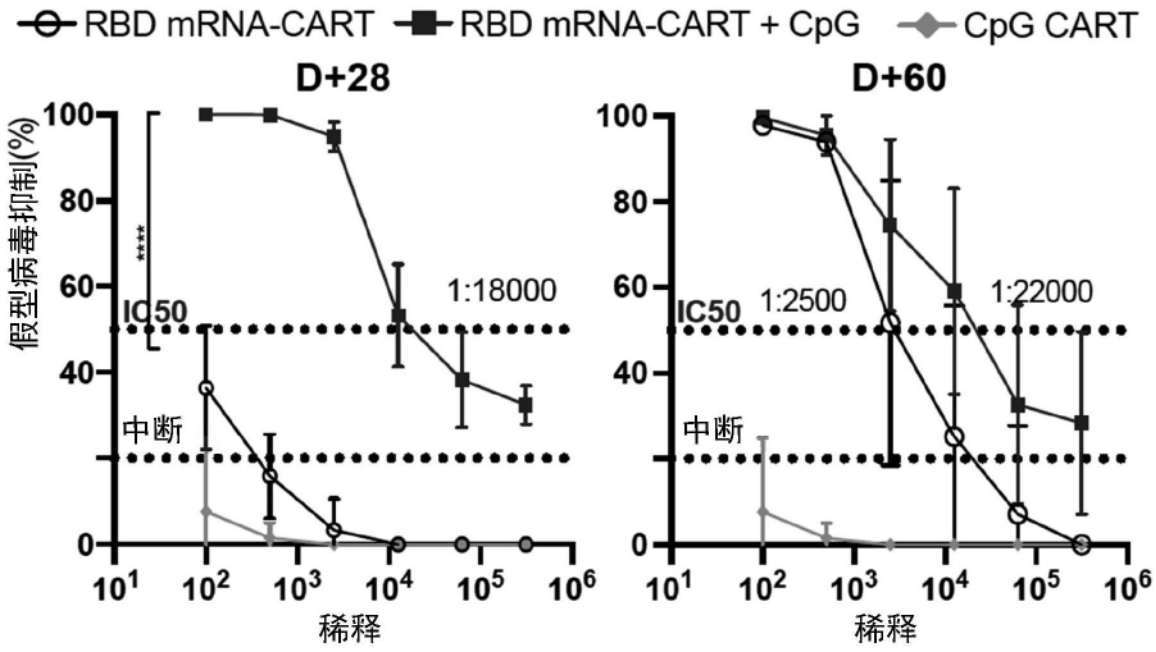

RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
CpG CART
D+28
D+60
假型病毒抑制(%)
IC50
1:18000
1:2500
1:22000
中断
稀释

图19B

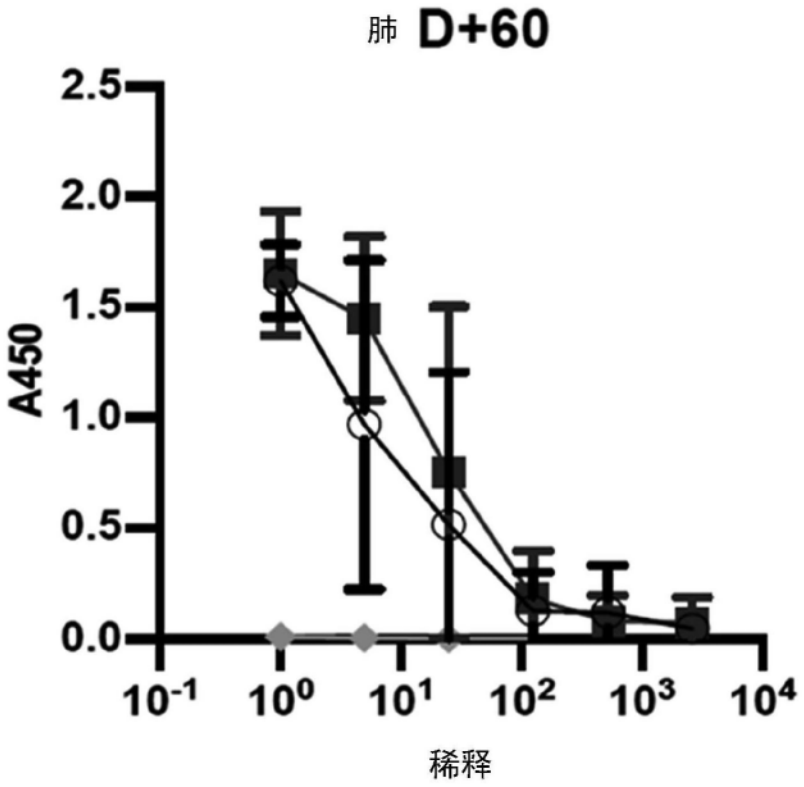


图19C

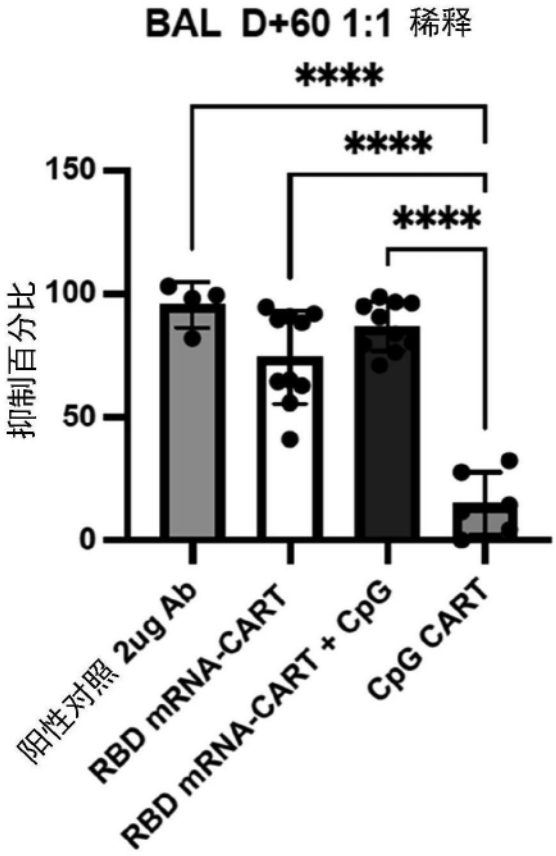

BAL D+60 1:1 稀释
****
****
****
150
100
50
0
抑制百分比
阳性对照 2ug Ab
RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
CpG CART

图19D

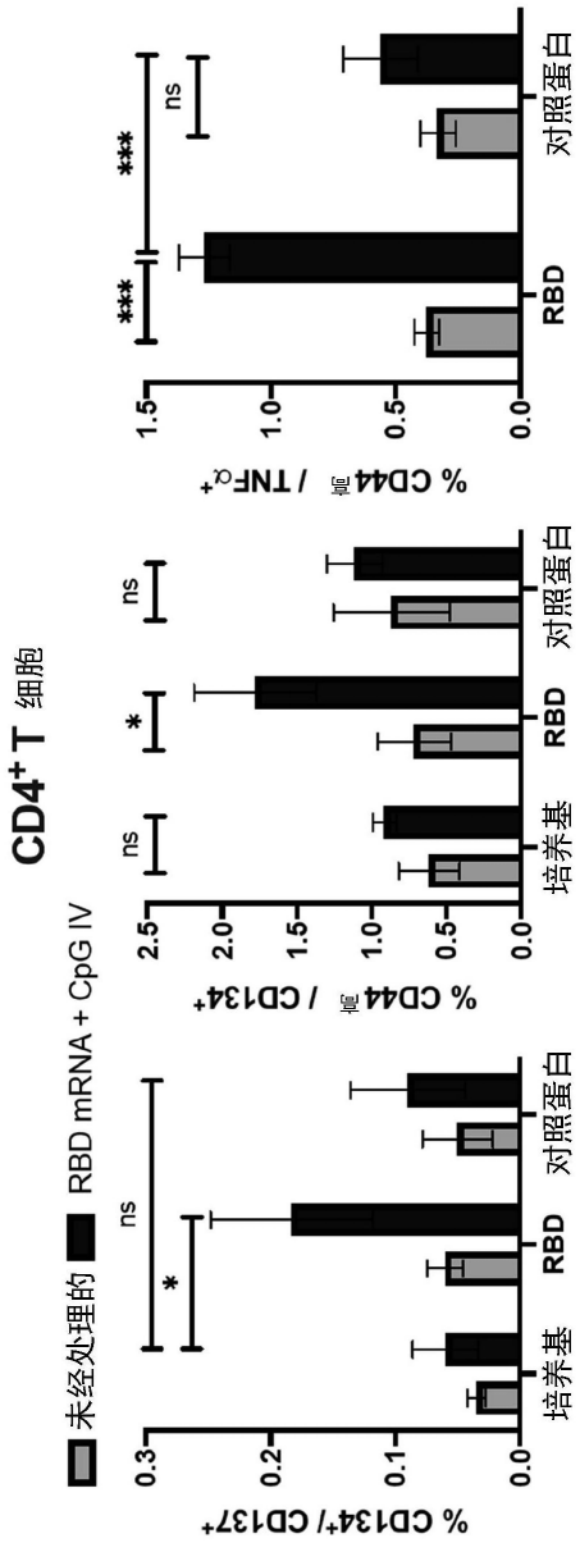

CD4+ T 细胞
未经处理的
RBD mRNA + CpG IV
% CD134+/ CD137+
% CD44高 / CD134+
% CD44高 / TNFα+
培养基
RBD
对照蛋白
ns
*
***

图19E

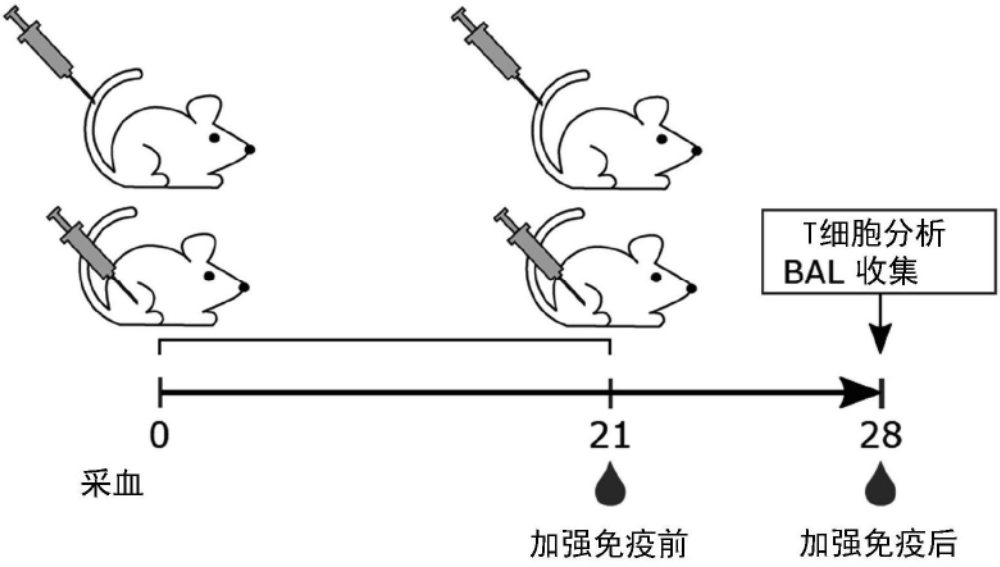


图20A

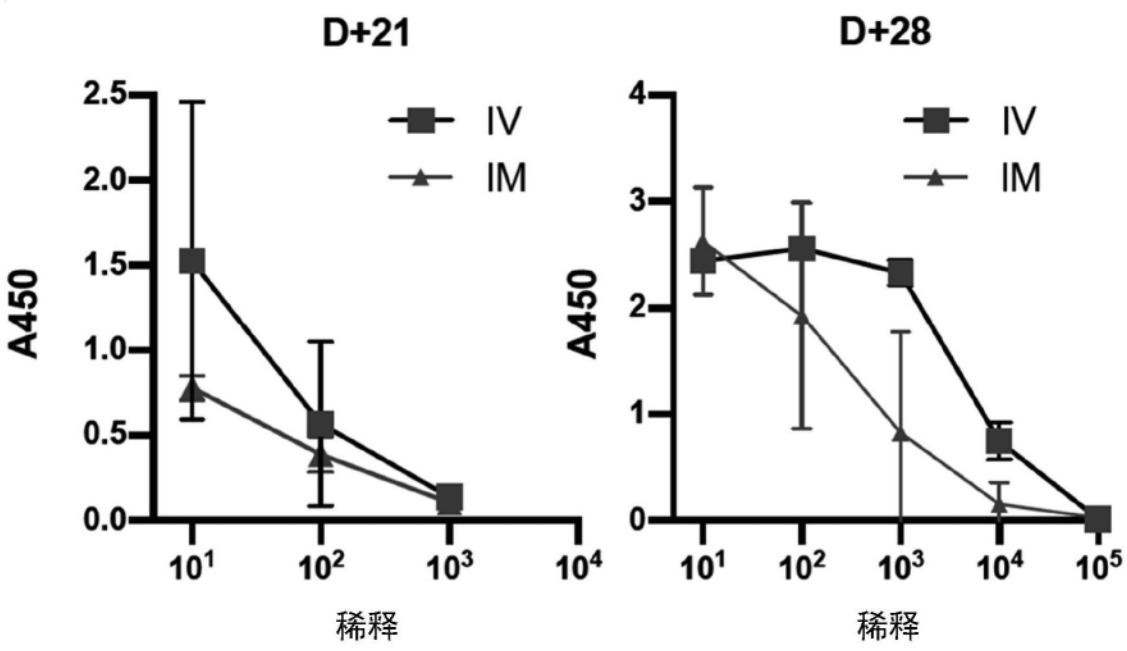


图20B

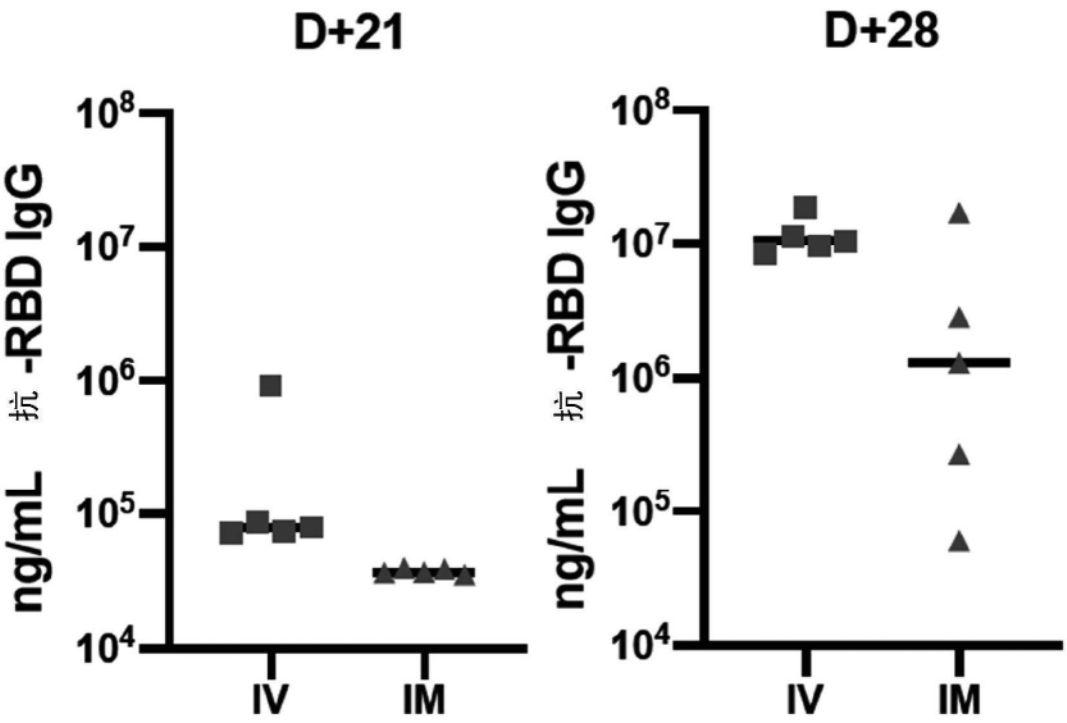

D+21
D+28
抗 -RBD IgG
ng/mL
10^8
10^7
10^6
10^5
10^4
IV
IM

图20C

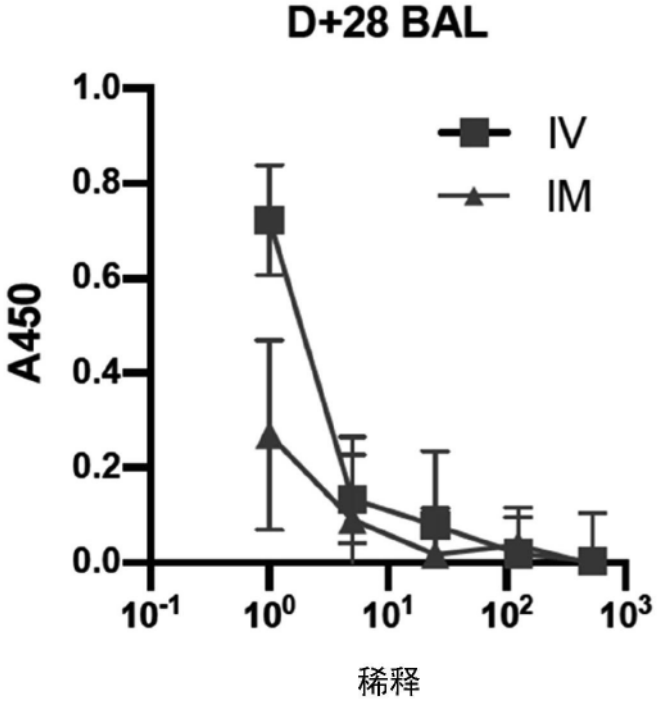

D+28 BAL
A450
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
IV
IM
10^{-1}
10^0
10^1
10^2
10^3
稀释

图20D

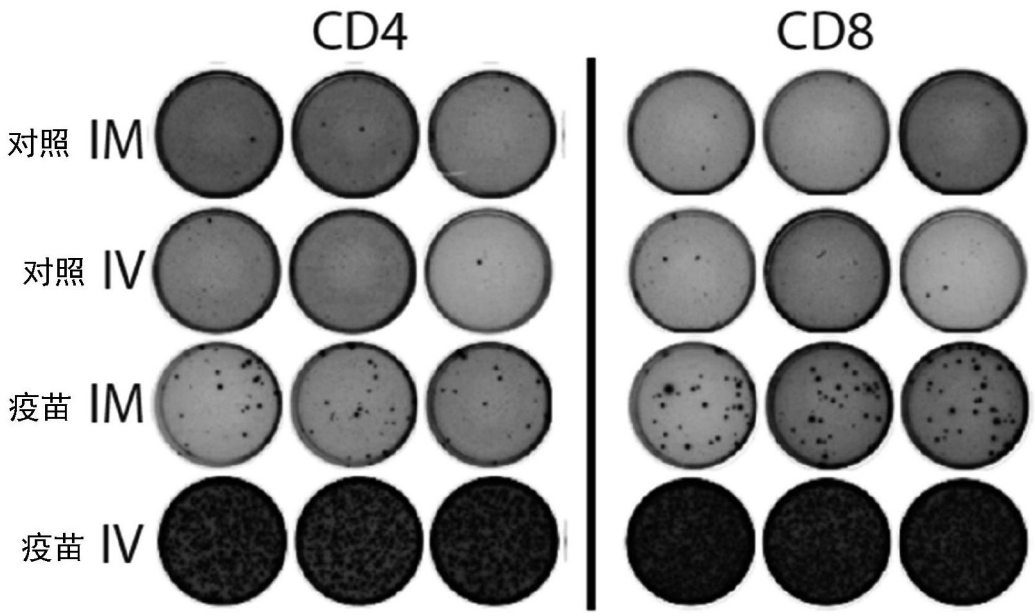


图21A

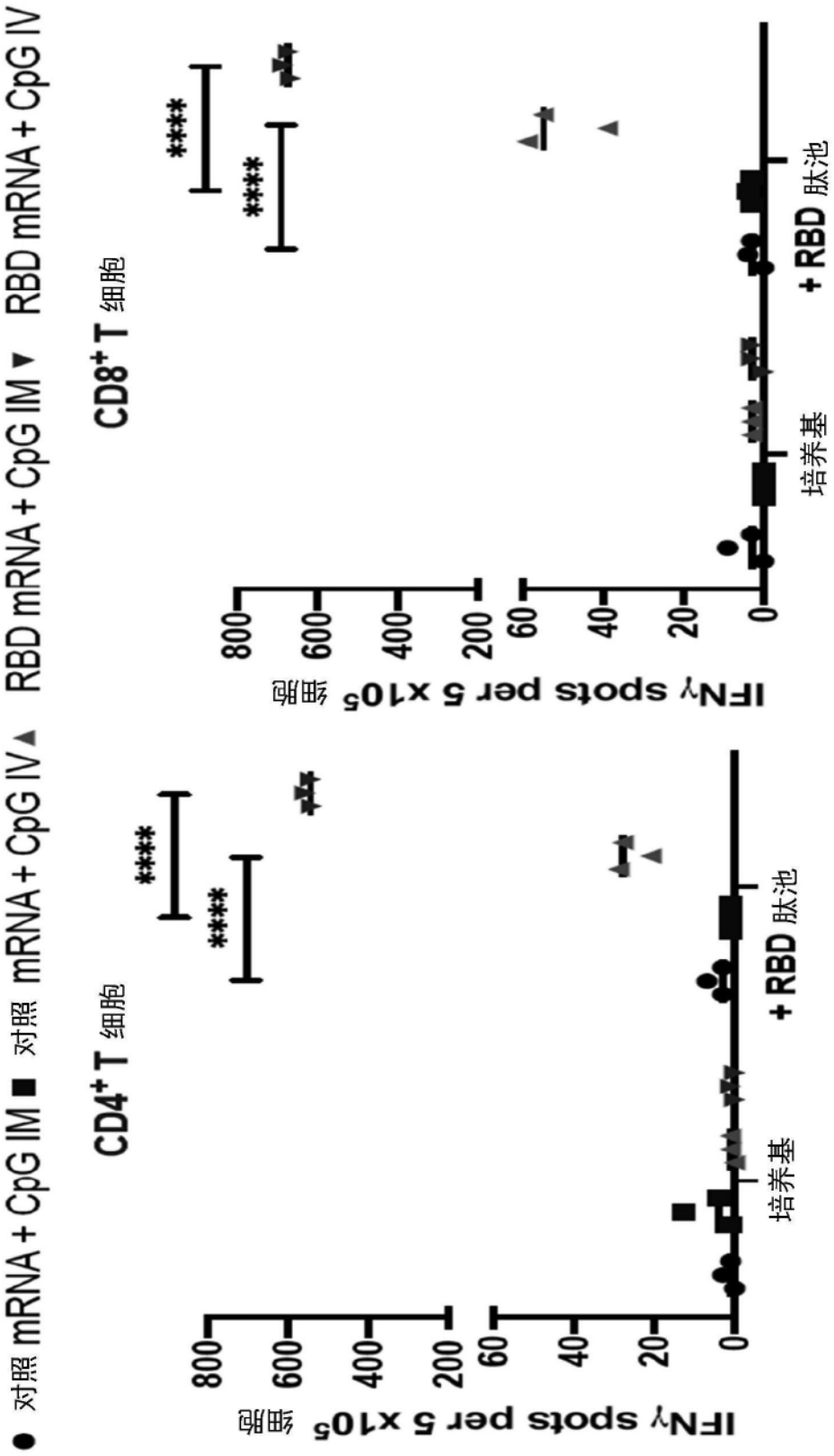

● 对照 mRNA + CpG IM ■ 对照 mRNA + CpG IV ▲ RBD mRNA + CpG IM ▼ RBD mRNA + CpG IV
CD4+ T 细胞
CD8+ T 细胞
IFNγ spots per 5 x10^5 细胞
培养基
+ RBD 肽池
****

图21B

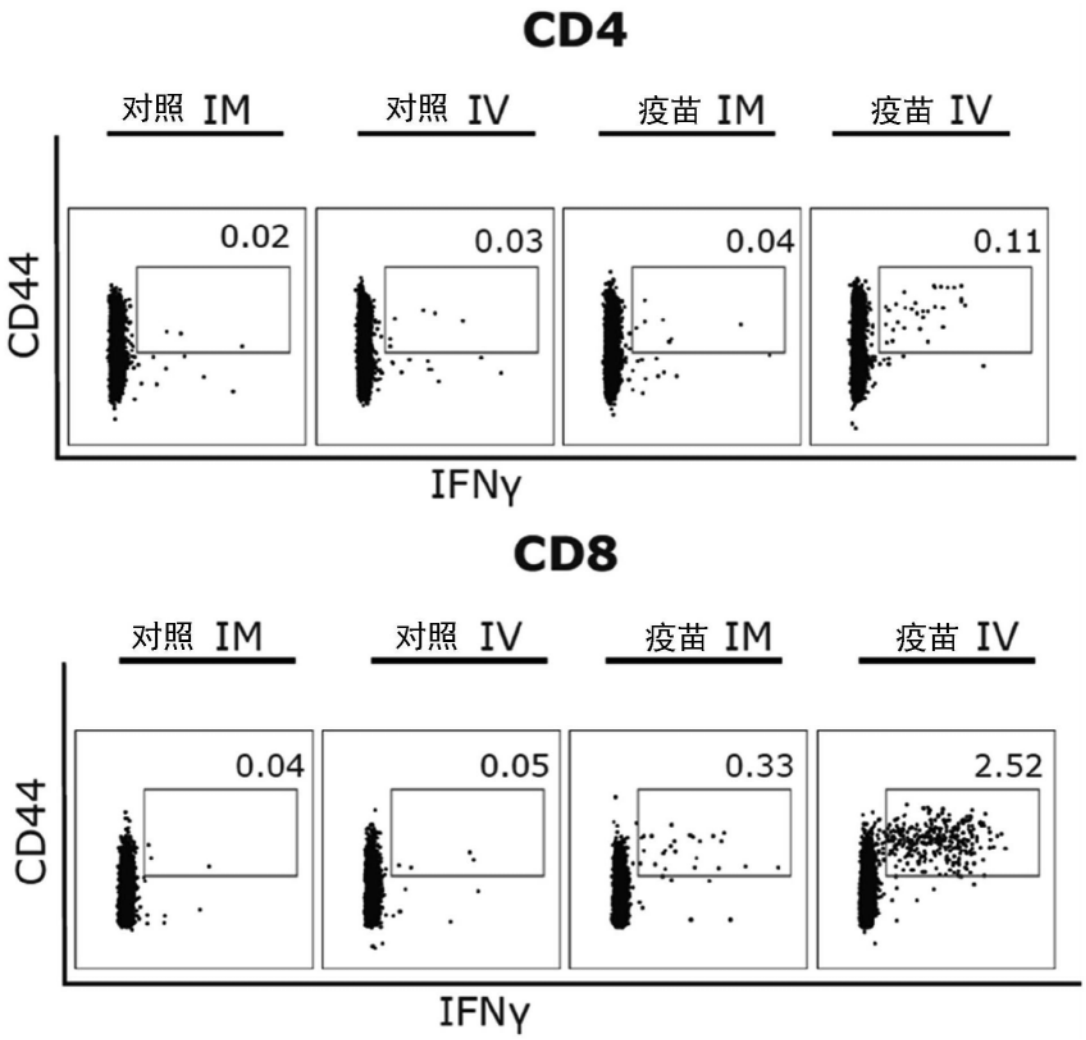

CD4
对照 IM
对照 IV
疫苗 IM
疫苗 IV
0.02
0.03
0.04
0.11
CD44
IFNγ
CD8
对照 IM
对照 IV
疫苗 IM
疫苗 IV
0.04
0.05
0.33
2.52
CD44
IFNγ

图21C

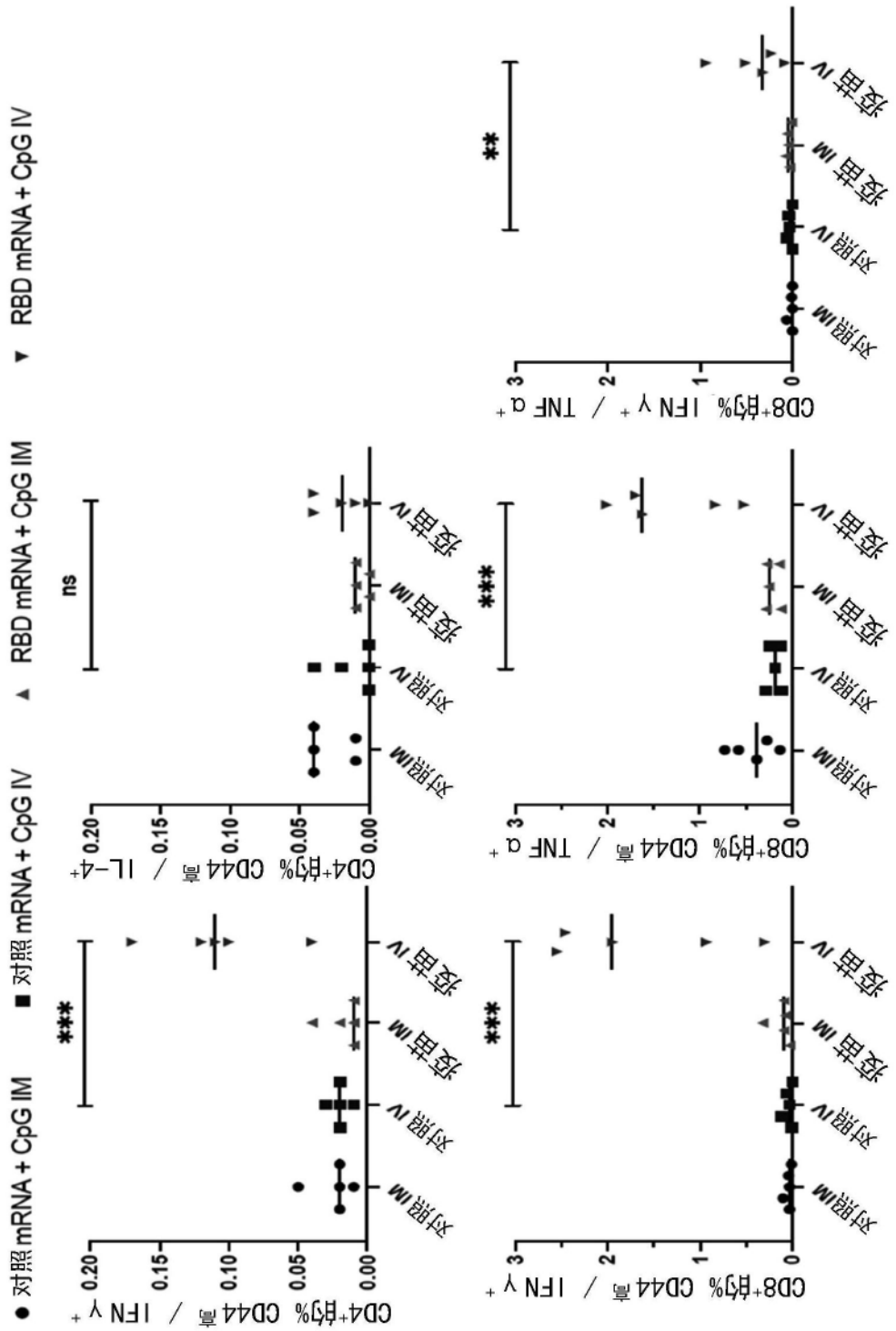

● 对照 mRNA + CpG IM
■ 对照 mRNA + CpG IV
▲ RBD mRNA + CpG IM
▼ RBD mRNA + CpG IV
CD4+的% CD44高 / IFN γ+
CD4+的% CD44高 / IL-4+
CD8+的% CD44高 / IFN γ+
CD8+的% CD44高 / TNF α+
CD8+的% IFN γ+ / TNF α+
对照IM
对照IV
疫苗IV
疫苗IM
***
**
ns

图21D

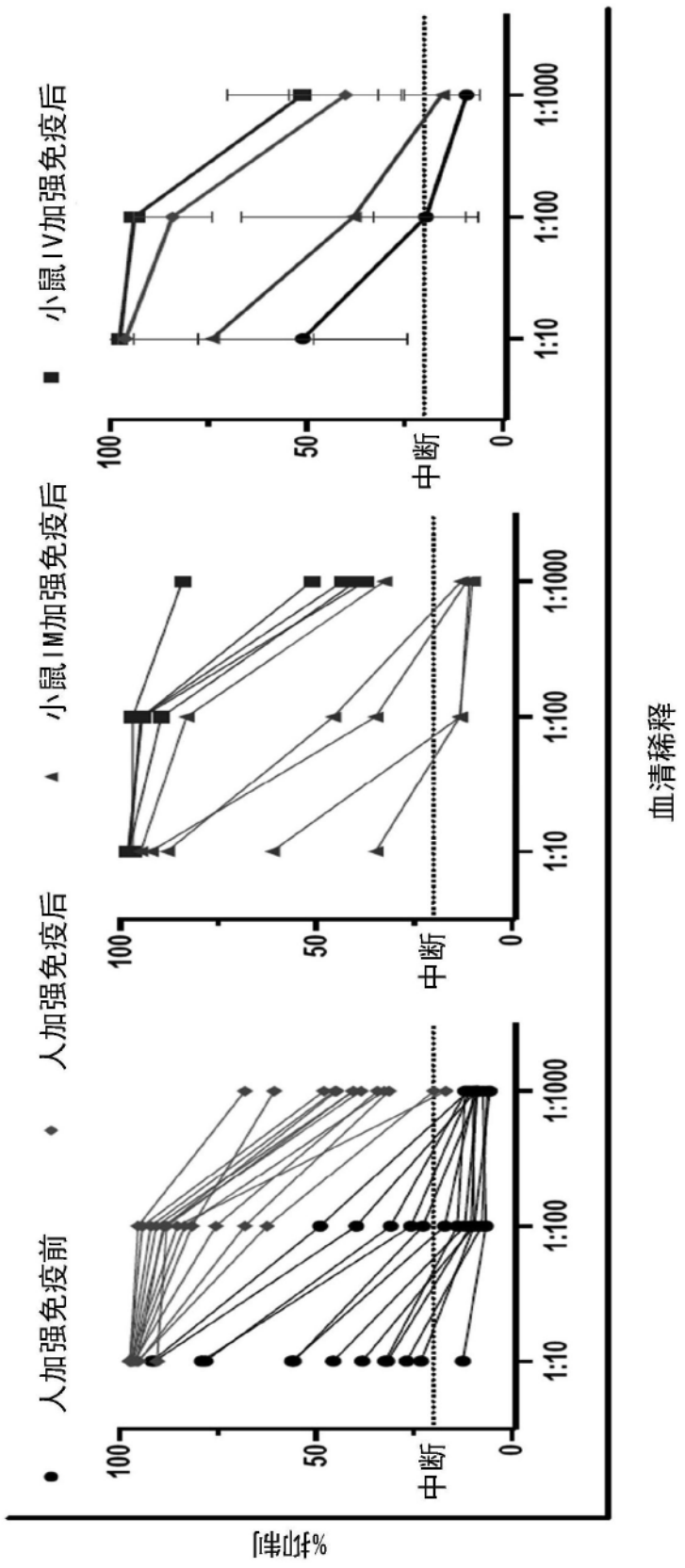

人加强免疫前
人加强免疫后
小鼠IM加强免疫后
小鼠IV加强免疫后
%抑制
血清稀释
100
50
0
中断
1:10
1:100
1:1000

图22A

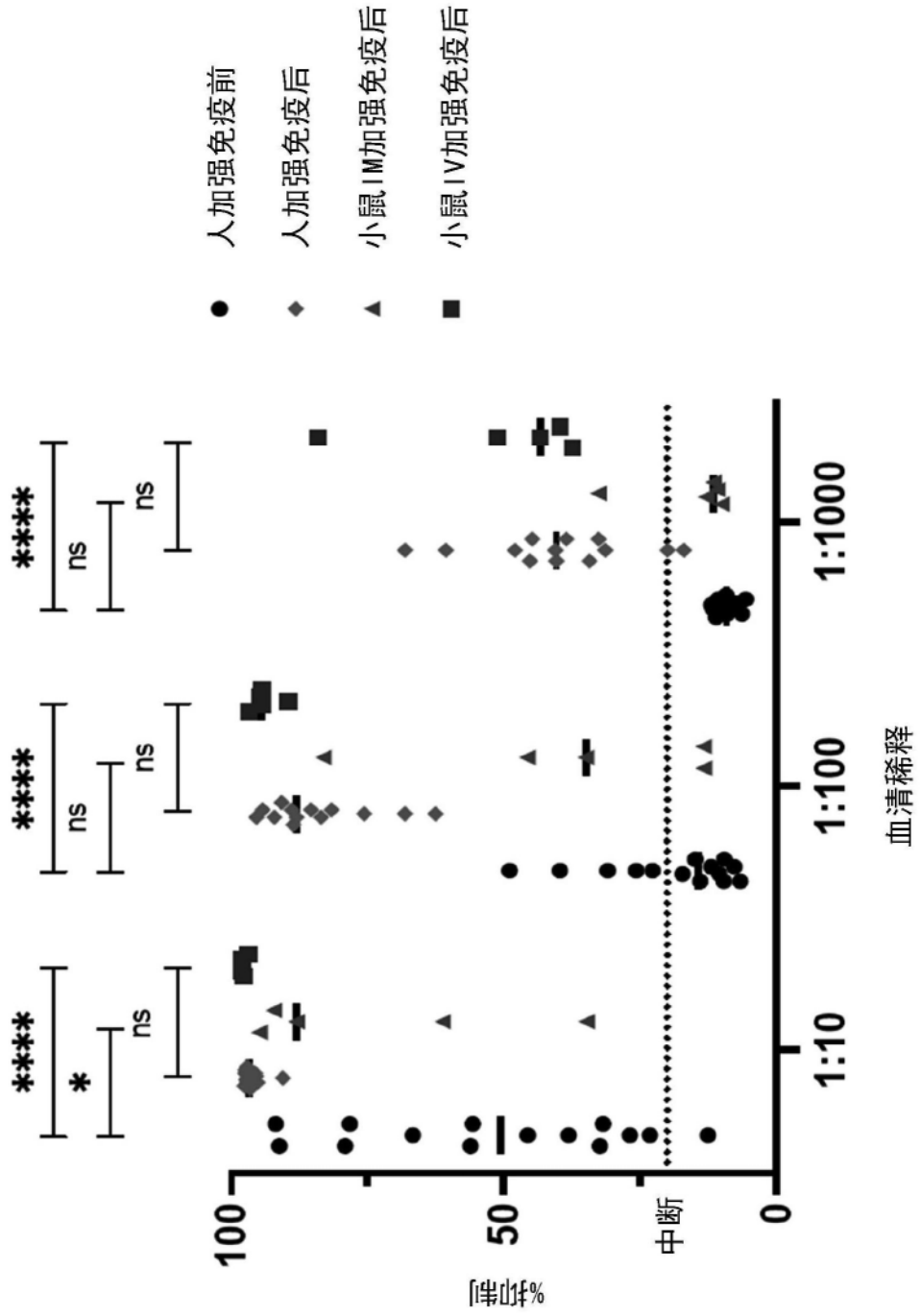

人加强免疫前
人加强免疫后
小鼠IM加强免疫后
小鼠IV加强免疫后
%抑制
100
50
0
中断
1:10
1:100
1:1000
血清稀释
****
*
ns
****
ns
ns
****
ns
ns

图22B

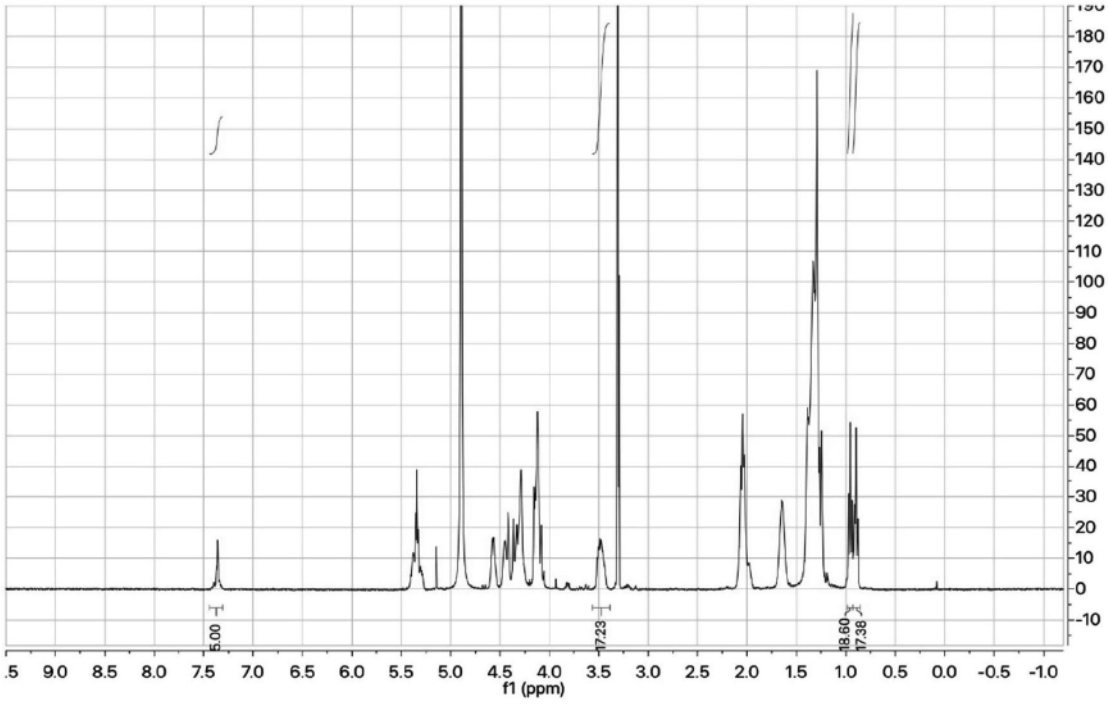


图23A



CART/核苷酸	[a]分布平均大小 (nm)	[b]ζ电位 (mV)	[c]包封效率
CART RBD-mRNA	194 +/- 41	41 +/- 5	89 %
CART RBD-mRNA + CpG	327 +/- 28	22 +/- 9	91 %

图23B

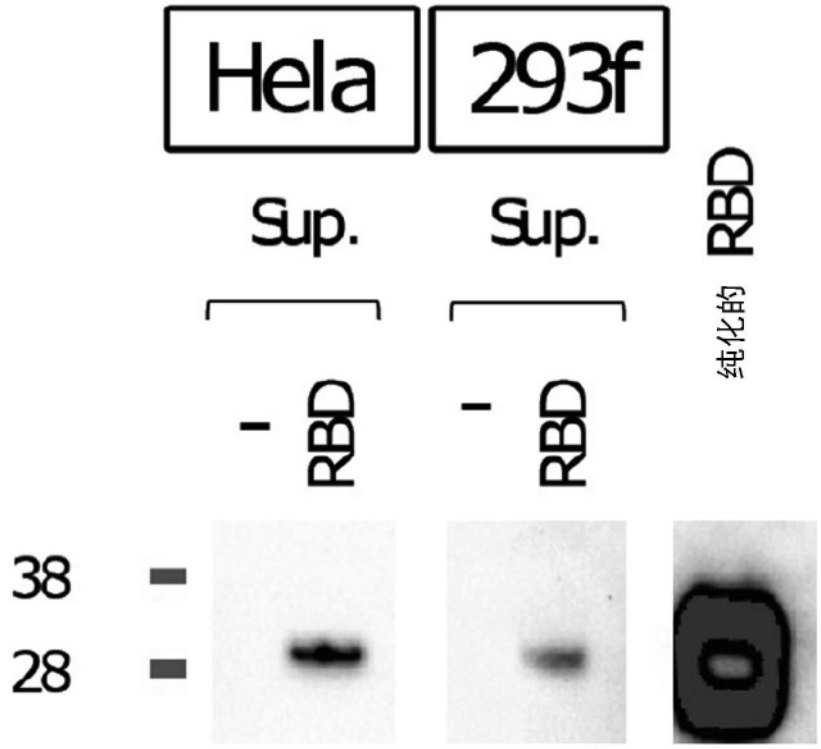

Hela
293f
Sup.
Sup.
RBD
纯化的
-
RBD
-
RBD
38
28

图24A

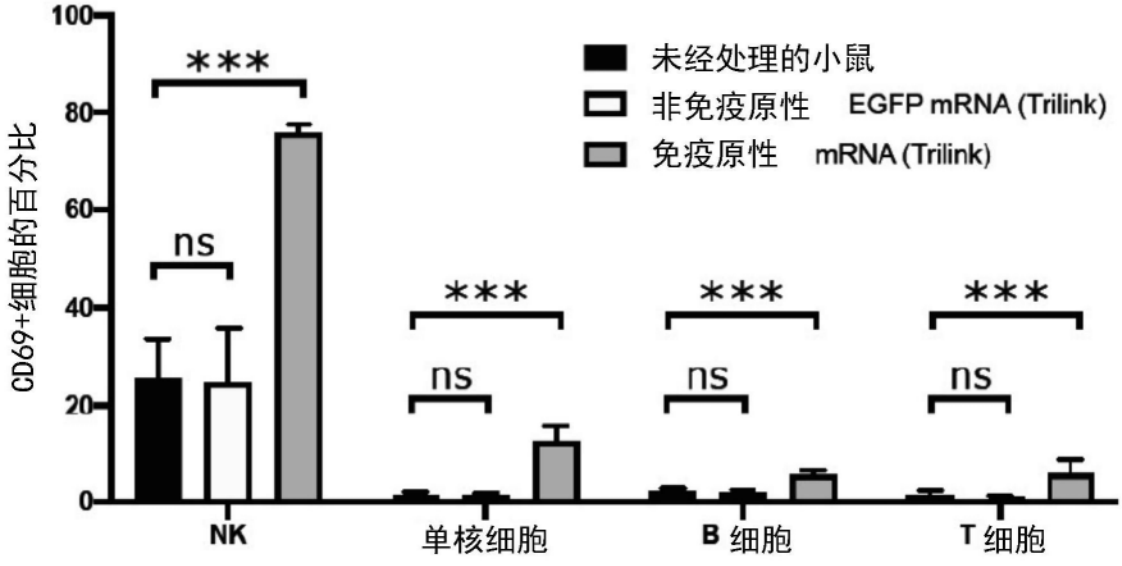

CD69+细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
***
ns
***
ns
***
ns
***
ns
未经处理的小鼠
非免疫原性 EGFP mRNA (Trilink)
免疫原性 mRNA (Trilink)
NK
单核细胞
B 细胞
T 细胞

图24B

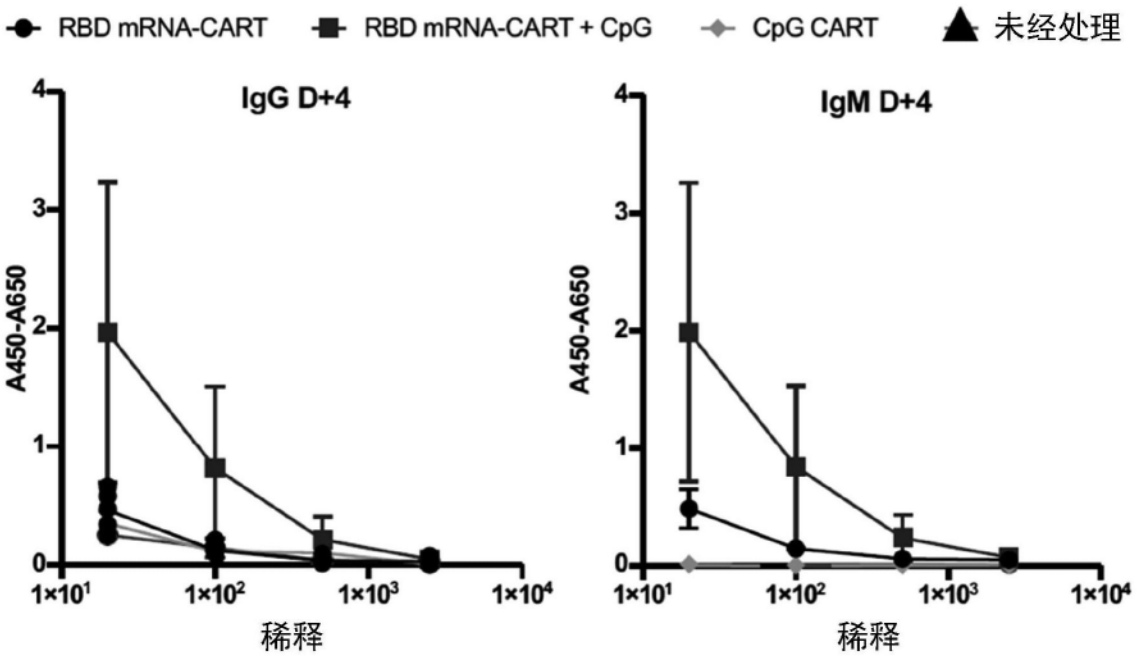

RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
CpG CART
未经处理
IgG D+4
IgM D+4
A450-A650
稀释
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴

图25A

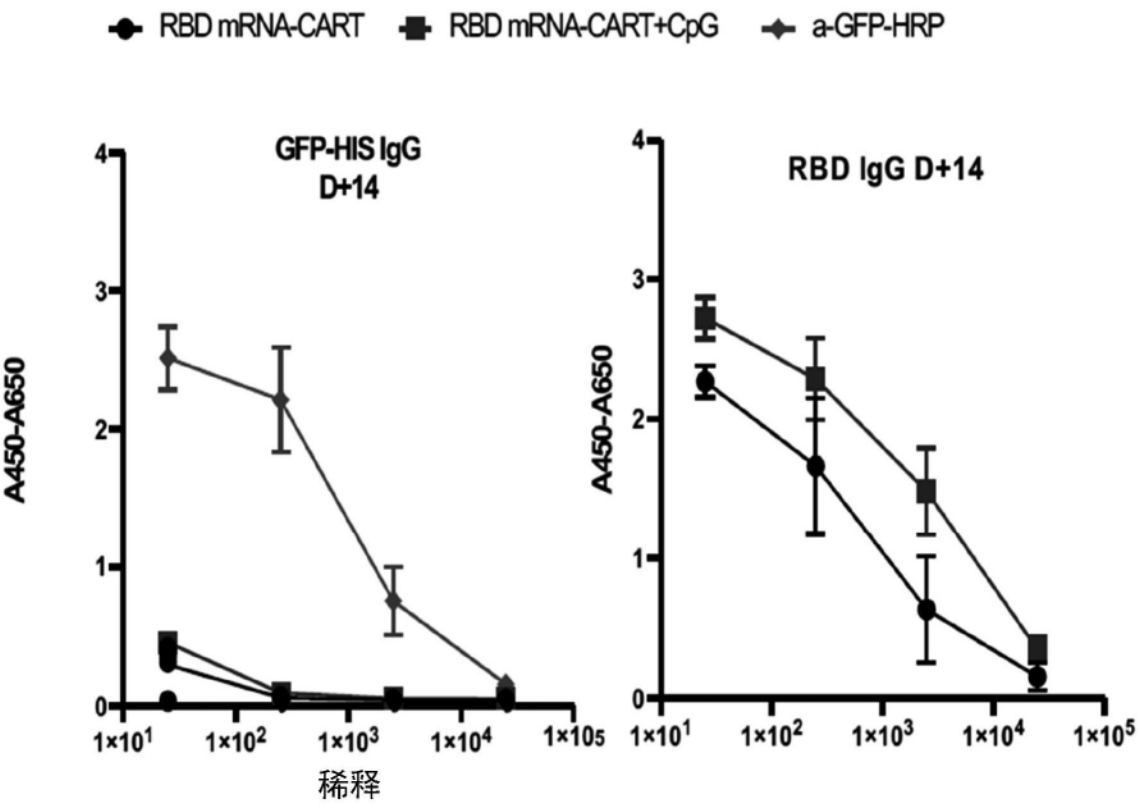

RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART+CpG
a-GFP-HRP
GFP-HIS IgG D+14
RBD IgG D+14
A450-A650
稀释
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵

图25B

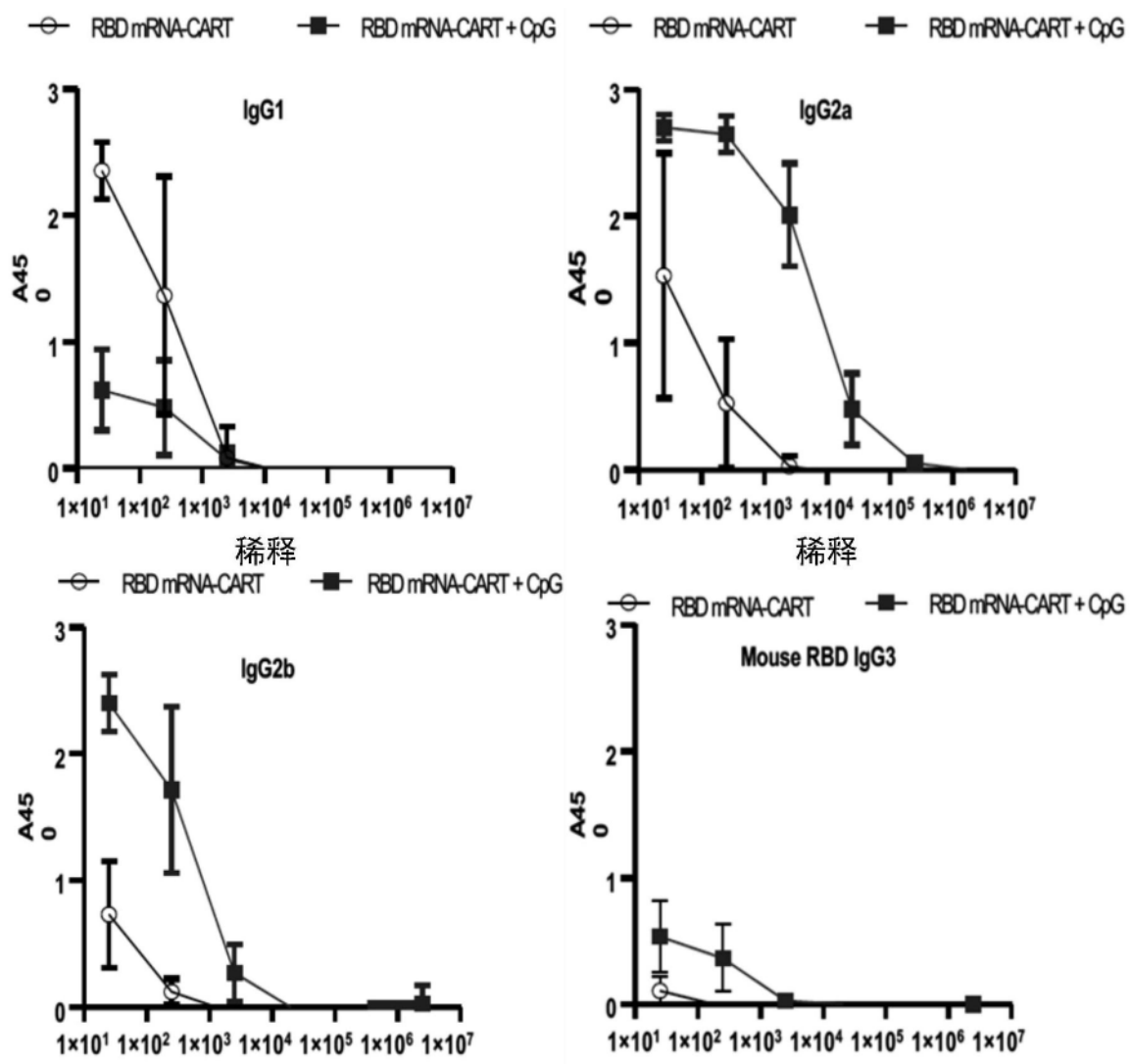

RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
IgG1
IgG2a
IgG2b
Mouse RBD IgG3
A450
稀释
1×10¹ 1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶ 1×10⁷

图26A

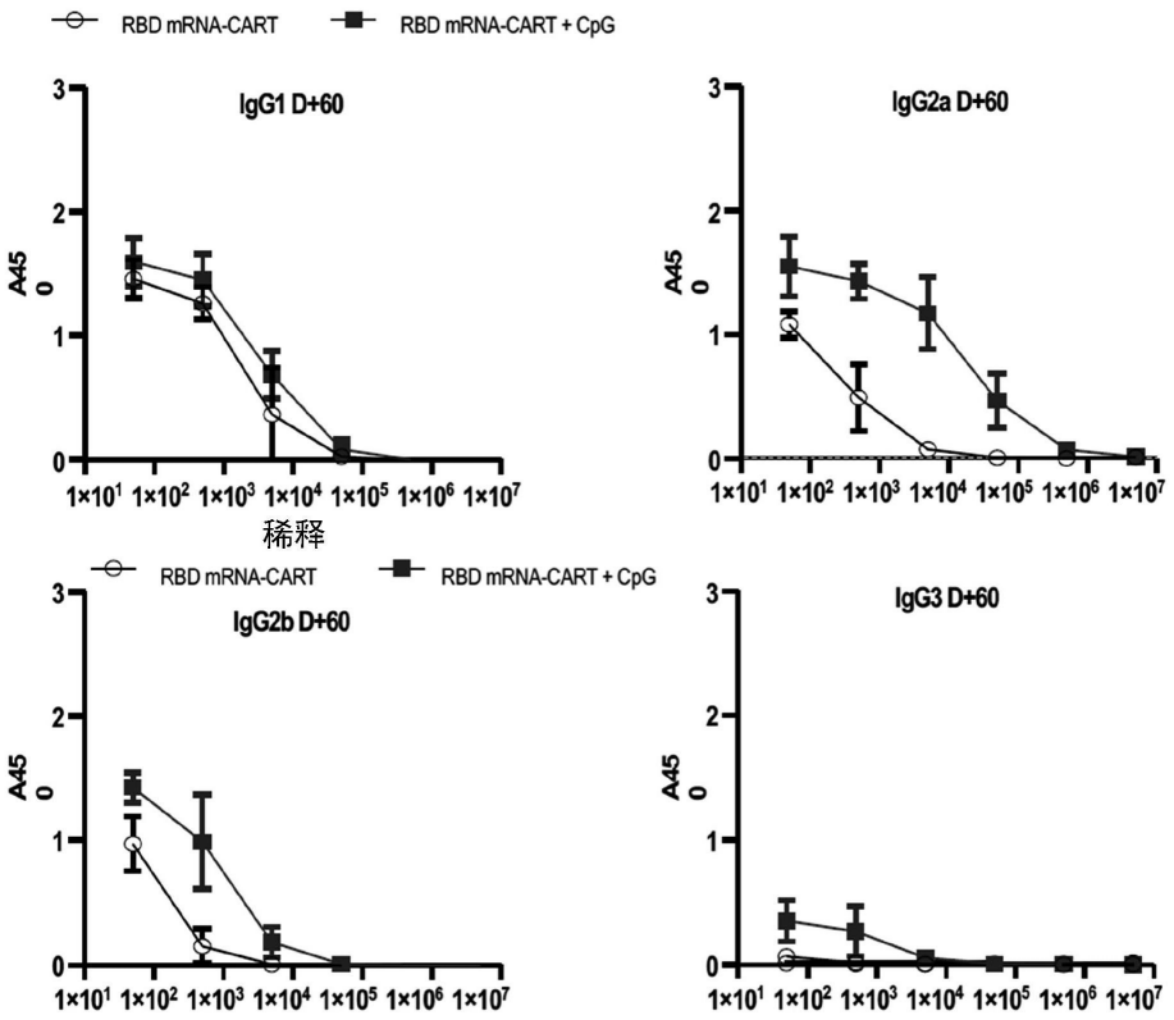

RBD mRNA-CART
RBD mRNA-CART + CpG
IgG1 D+60
IgG2a D+60
IgG2b D+60
IgG3 D+60
A450
1×10¹ 1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶ 1×10⁷
稀释

图26B

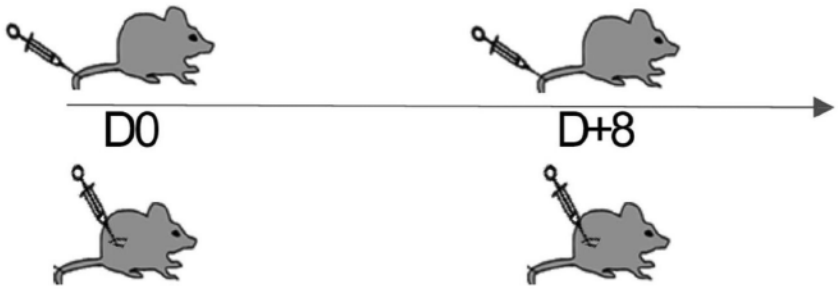

D0
D+8

图27A

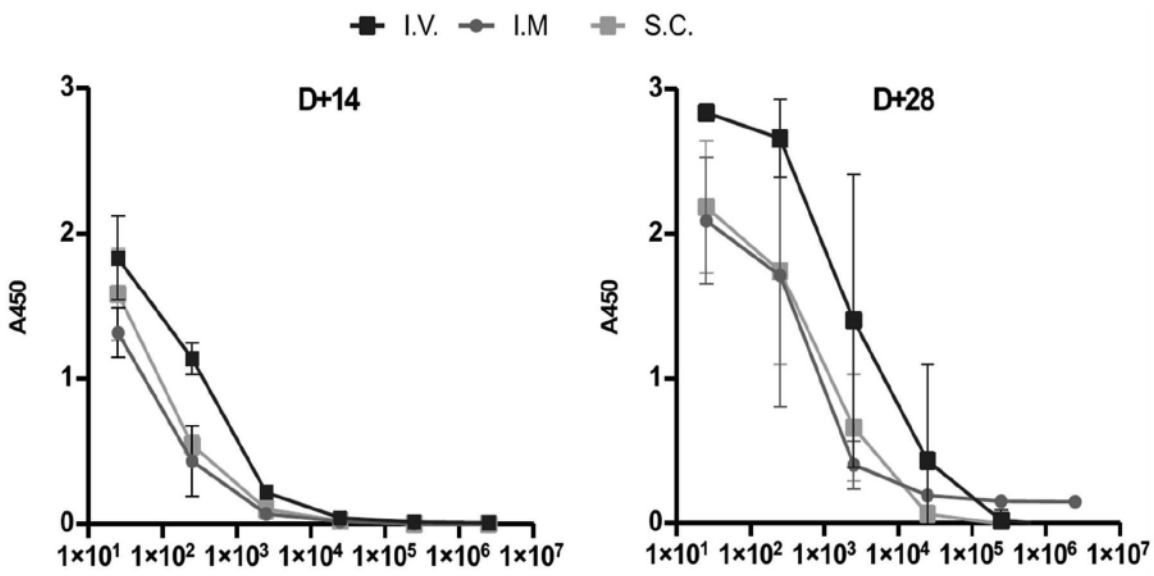

I.V.
I.M
S.C.
D+14
D+28
A450
3
2
1
0
1×10¹ 1×10² 1×10³ 1×10⁴ 1×10⁵ 1×10⁶ 1×10⁷

图27B

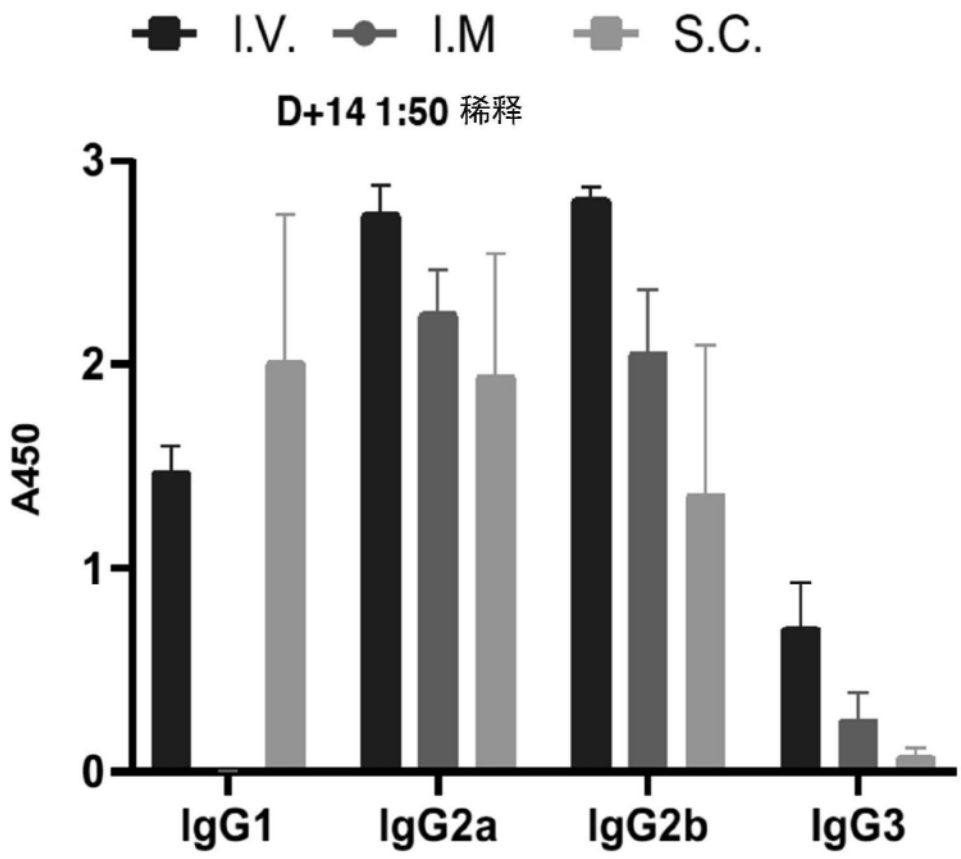

I.V.
I.M
S.C.
D+14 1:50 稀释
A450
3
2
1
0
IgG1
IgG2a
IgG2b
IgG3

图27C

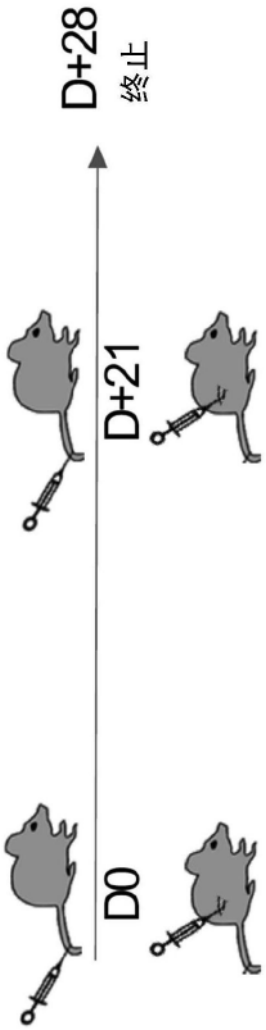


图28A

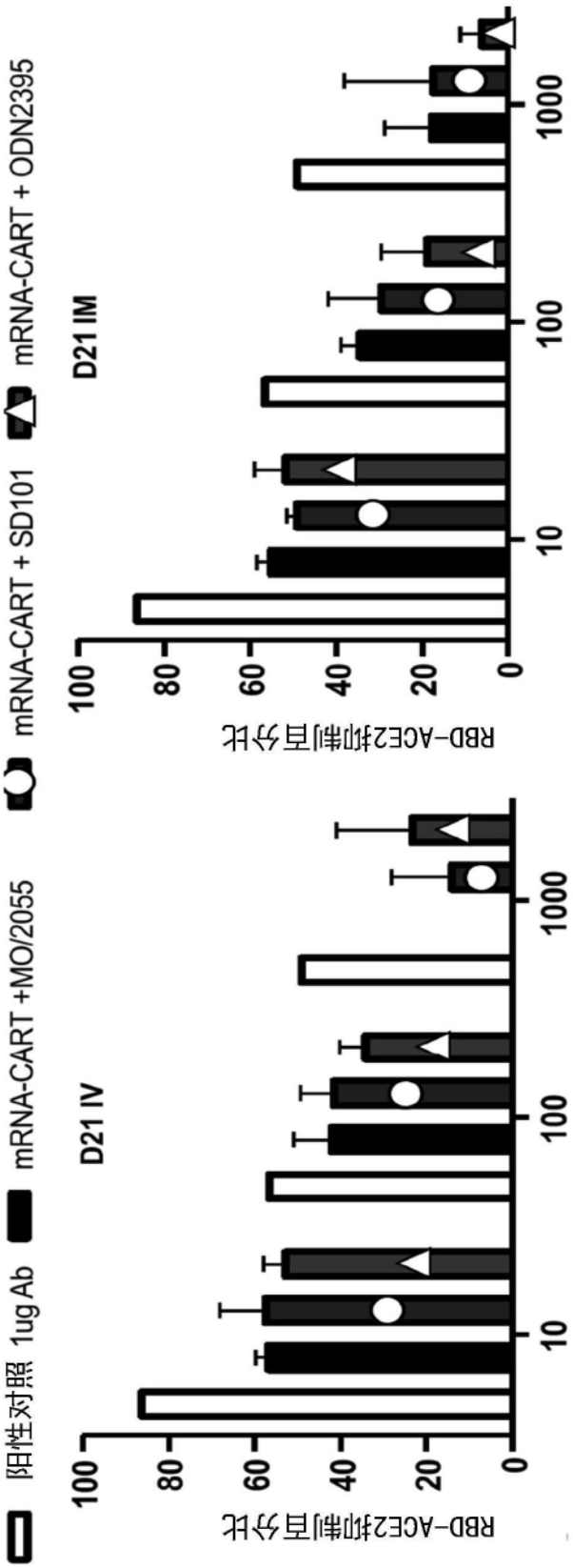

阳性对照 1ug Ab
mRNA-CART +MO/2055
mRNA-CART + SD101
mRNA-CART + ODN2395
D21 IV
D21 IM
RBD-ACE2抑制百分比
0
20
40
60
80
100
10
100
1000

图28B

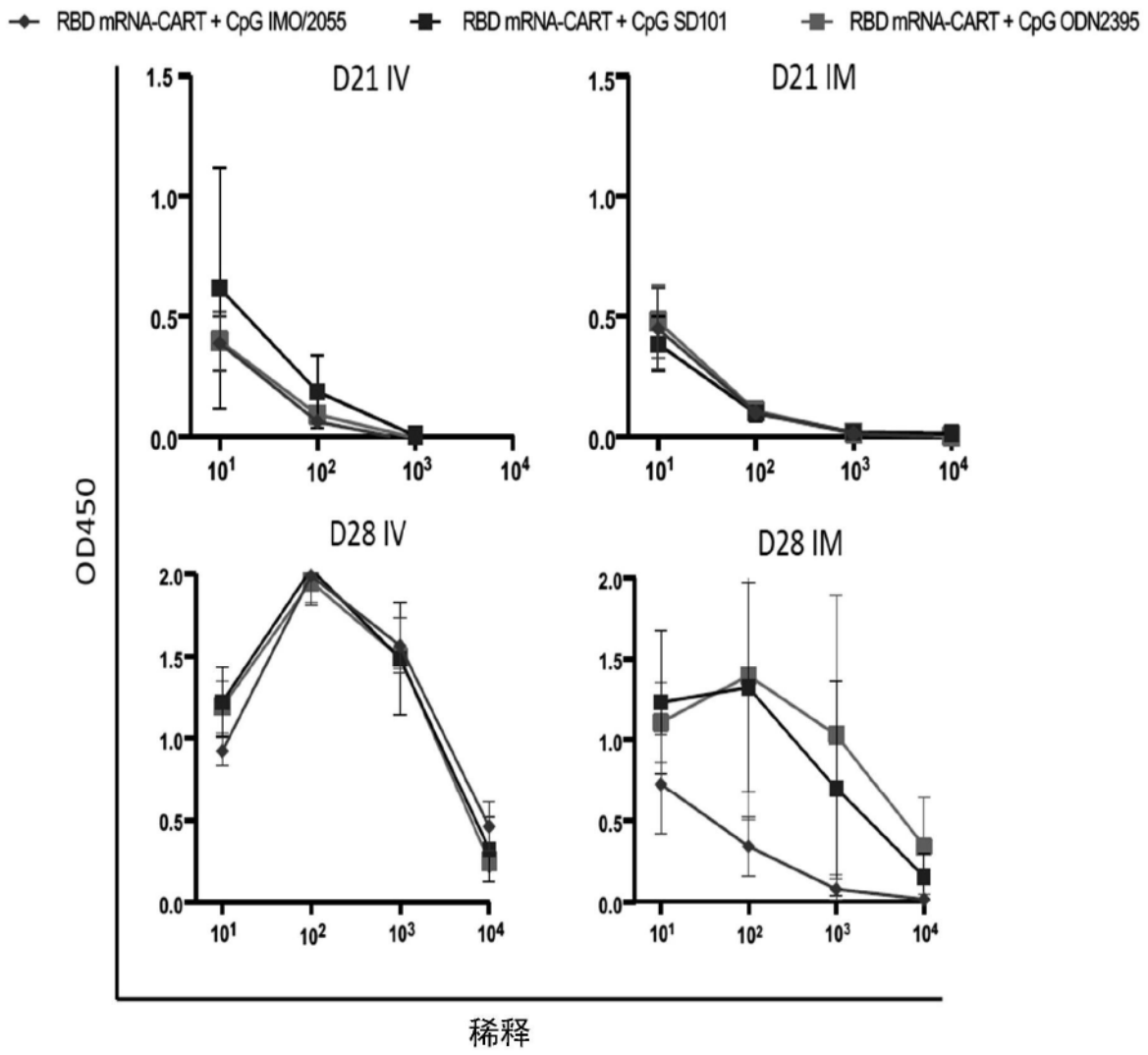

RBD mRNA-CART + CpG IMO/2055
RBD mRNA-CART + CpG SD101
RBD mRNA-CART + CpG ODN2395
D21 IV
D21 IM
D28 IV
D28 IM
OD450
稀释

图28C

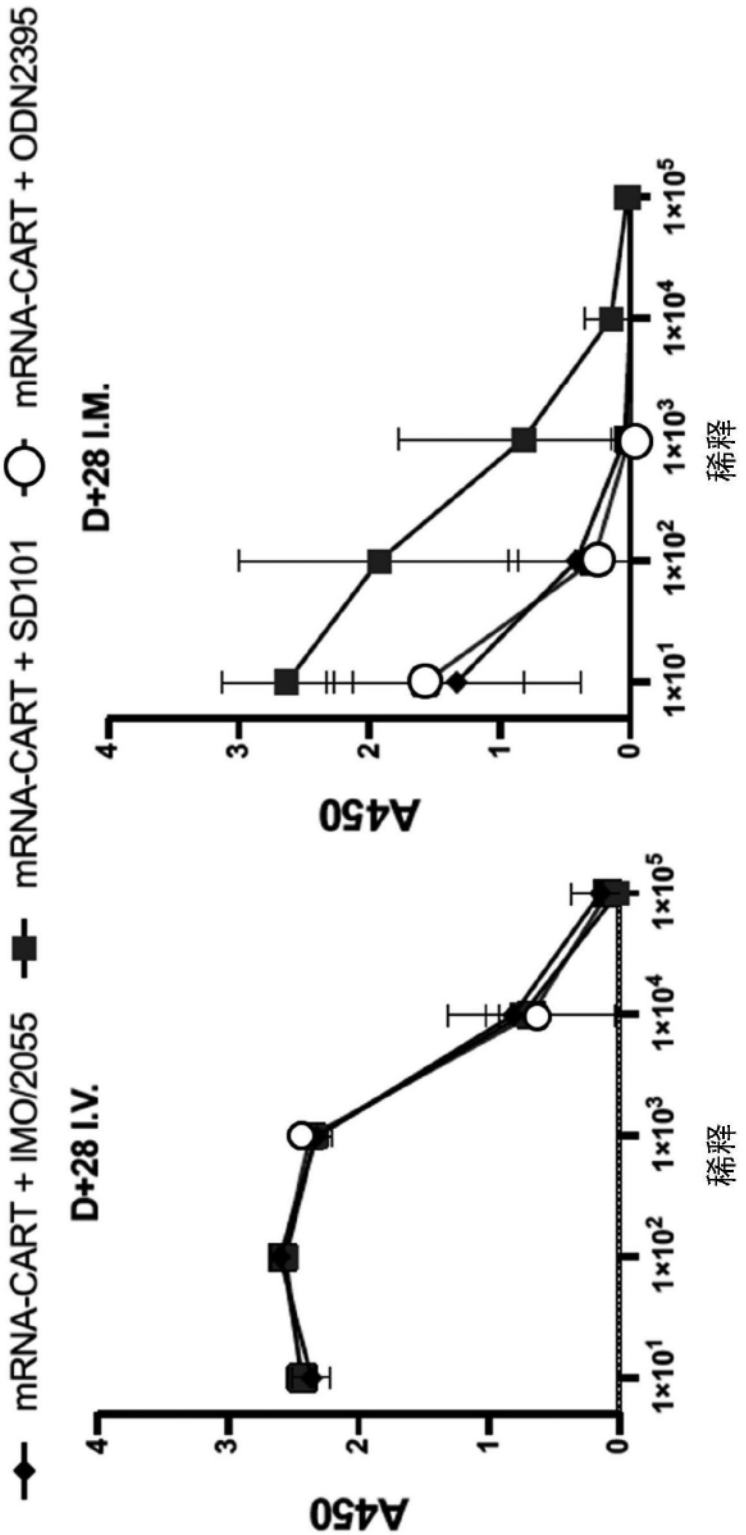

mRNA-CART + IMO/2055
mRNA-CART + SD101
mRNA-CART + ODN2395
D+28 I.V.
D+28 I.M.
A450
稀释
0
1
2
3
4
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴
1×10⁵

图29A

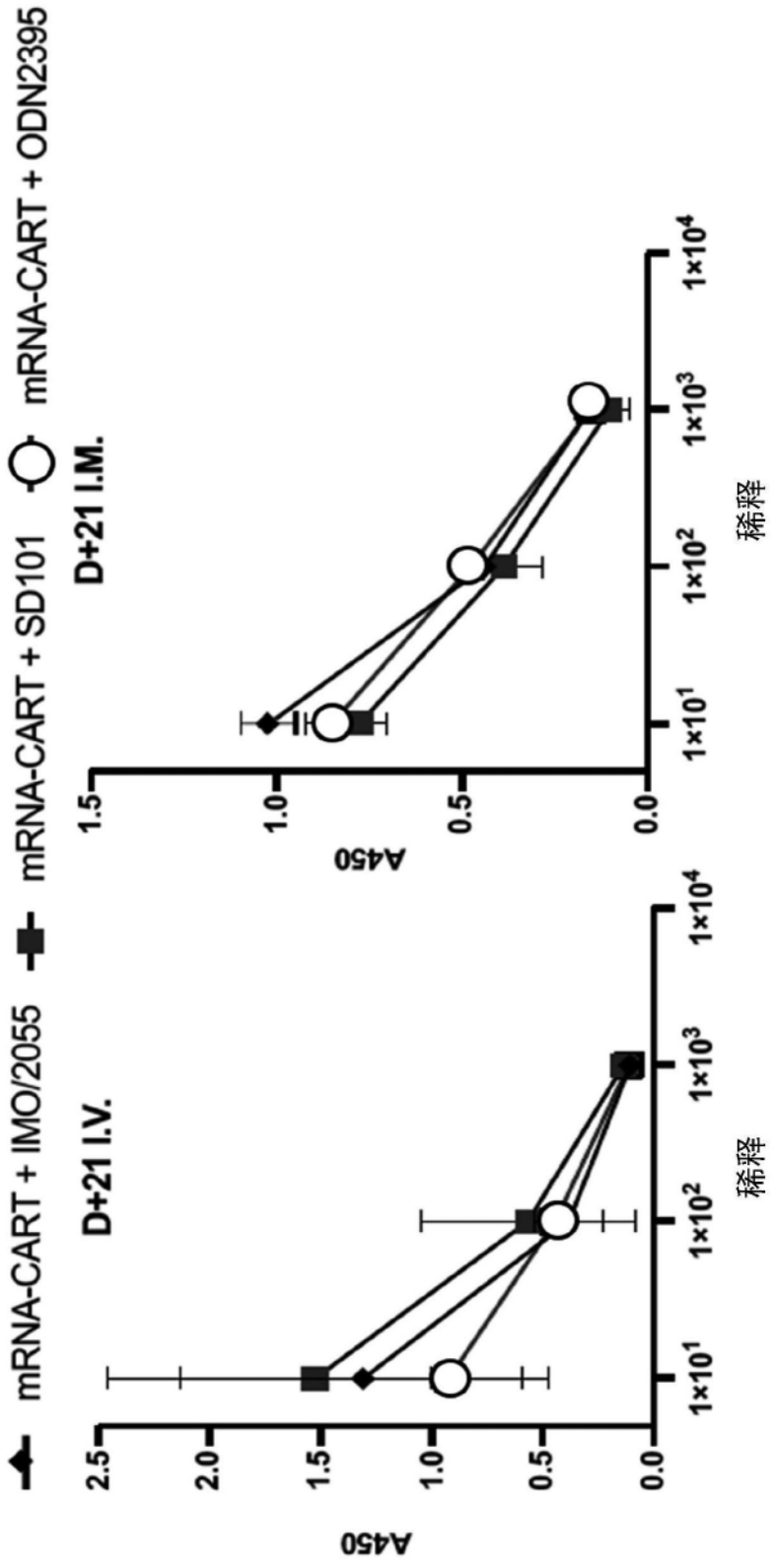

mRNA-CART + IMO/2055
mRNA-CART + SD101
mRNA-CART + ODN2395
D+21 I.V.
D+21 I.M.
A450
稀释
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
1×10¹
1×10²
1×10³
1×10⁴

图29B

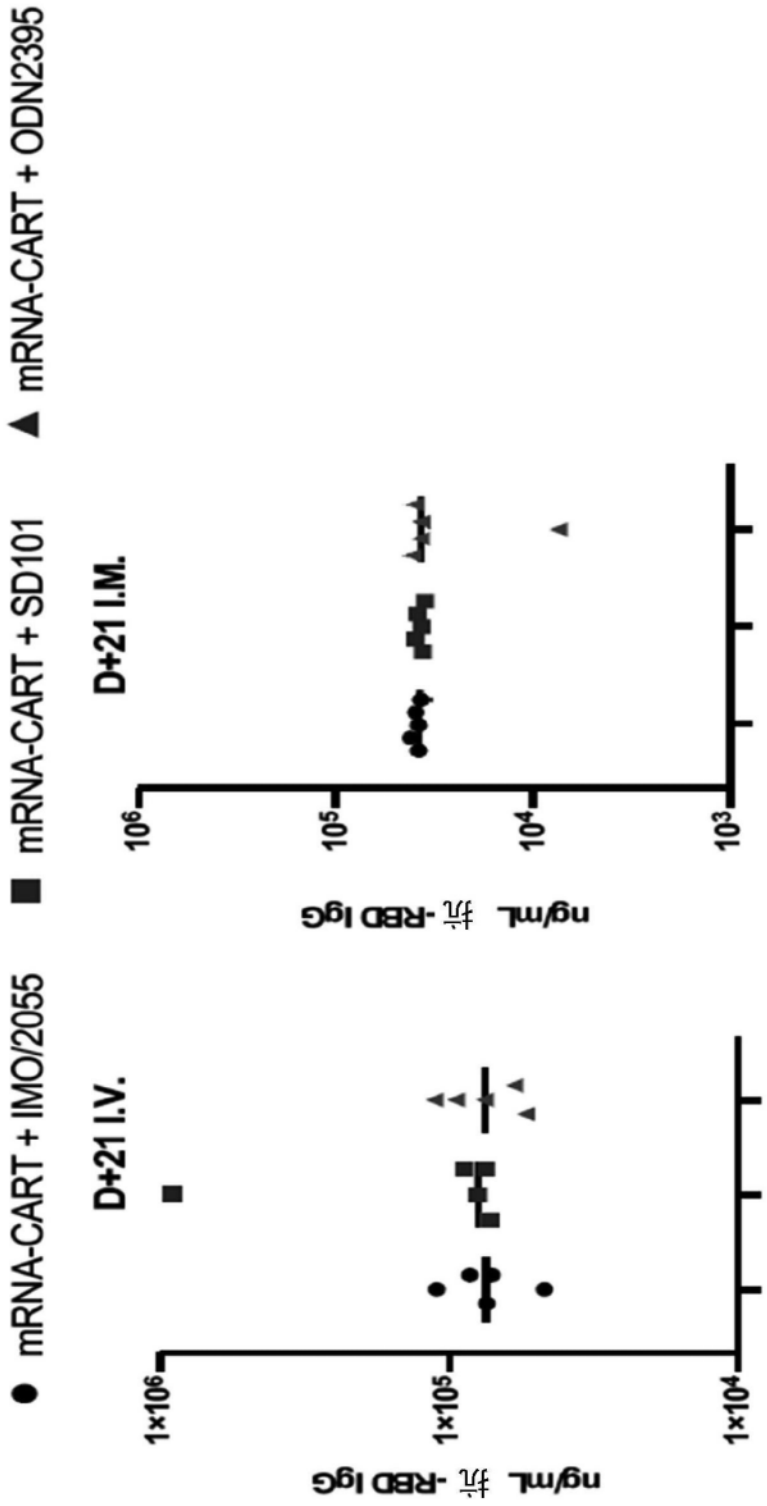

● mRNA-CART + IMO/2055
■ mRNA-CART + SD101
▲ mRNA-CART + ODN2395
D+21 I.V.
D+21 I.M.
ng/mL 抗-RBD IgG
1×10⁶
1×10⁵
1×10⁴
10⁶
10⁵
10⁴
10³

图29C

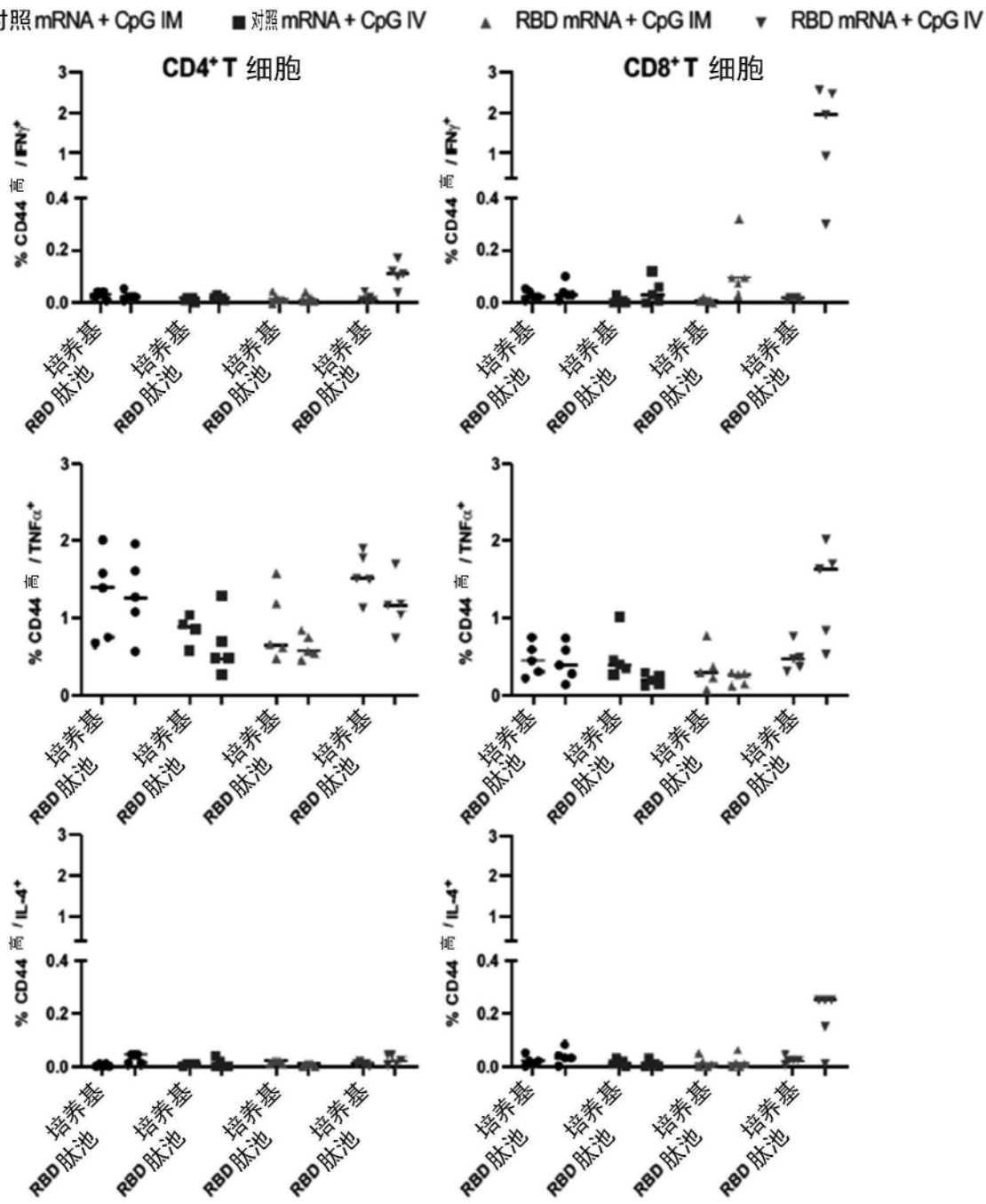

● 对照 mRNA + CpG IM
■ 对照 mRNA + CpG IV
▲ RBD mRNA + CpG IM
▼ RBD mRNA + CpG IV
CD4+ T 细胞
CD8+ T 细胞
% CD44 高 / IFNγ+
% CD44 高 / TNFα+
% CD44 高 / IL-4+
培养基
RBD 肽池

图30

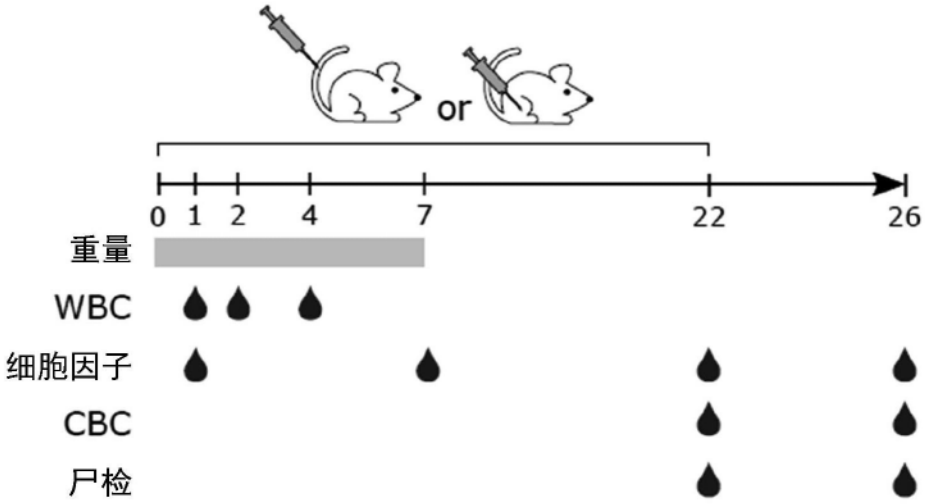

or
0 1 2 4 7 22 26
重量
WBC
细胞因子
CBC
尸检

图31A

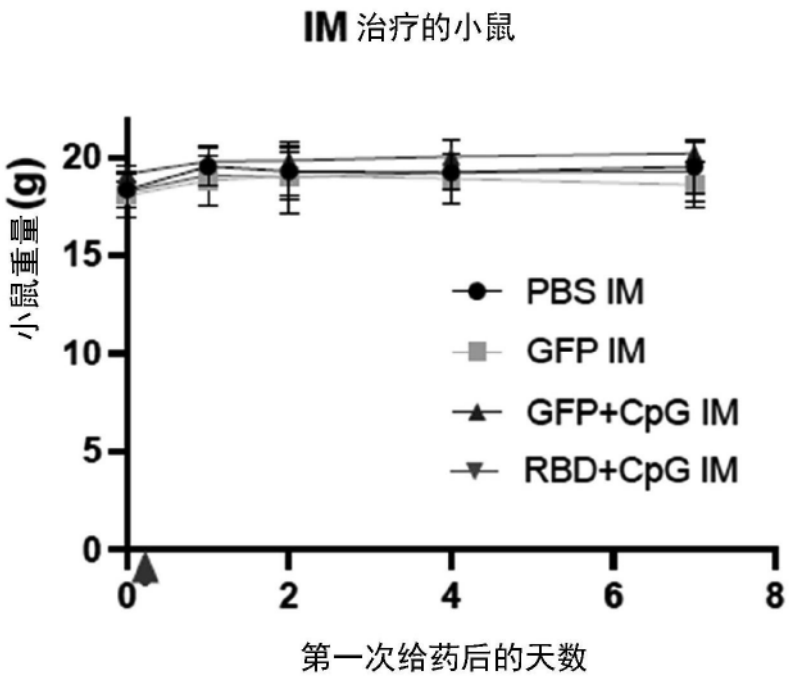

IM 治疗的小鼠
小鼠重量(g)
20
15
10
5
0
0 2 4 6 8
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM
第一次给药后的天数

图31B

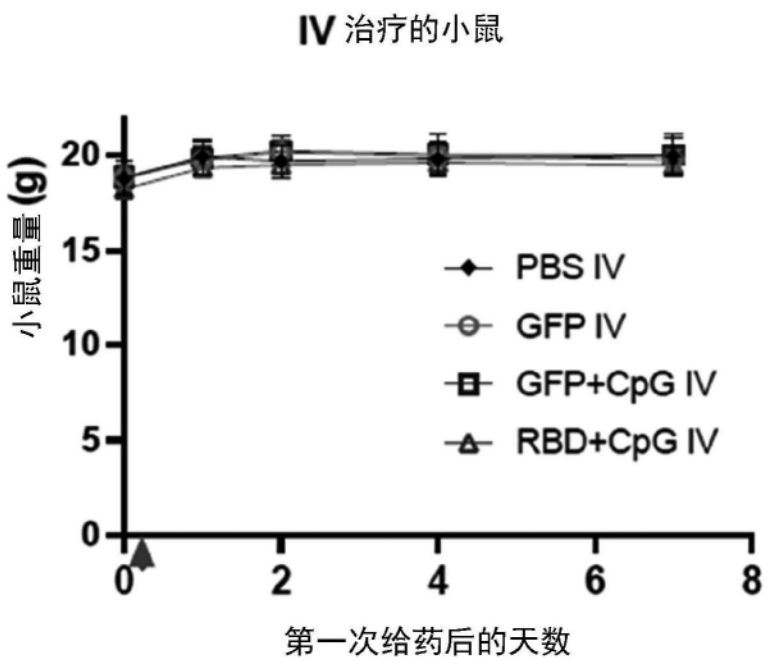

IV 治疗的小鼠
小鼠重量(g)
20
15
10
5
0
0
2
4
6
8
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV
第一次给药后的天数

图31C

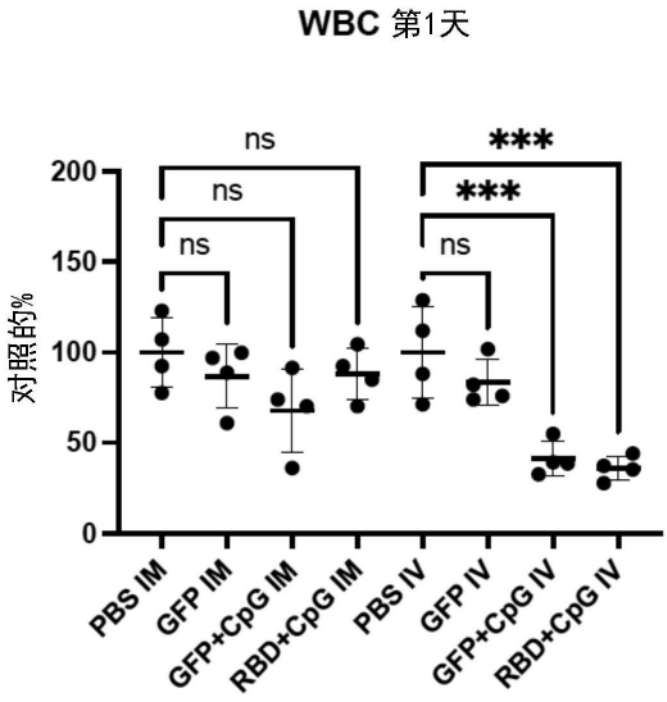

WBC 第1天
对照的%
200
150
100
50
0
ns
ns
ns
***
***
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31D

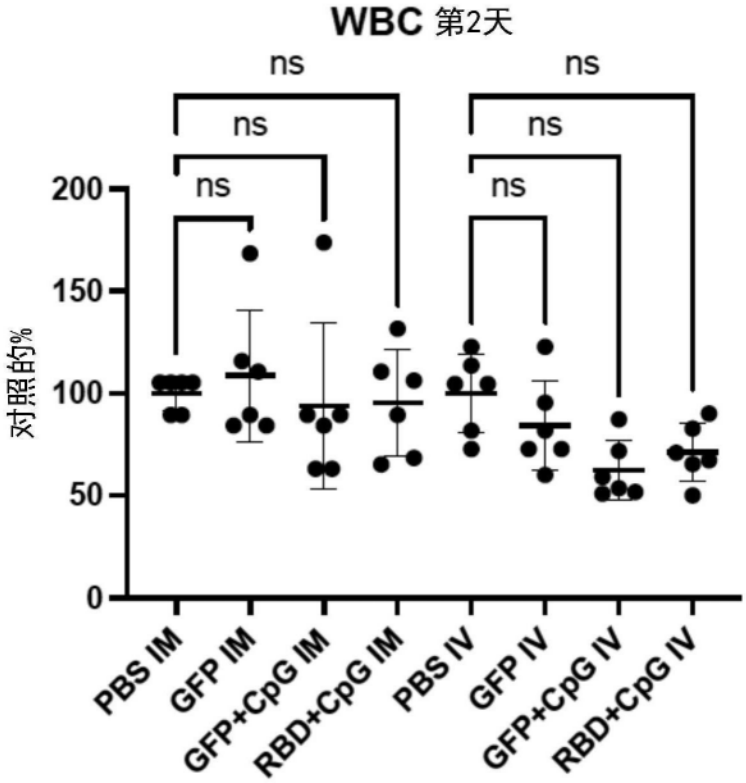

WBC 第2天
ns
ns
ns
ns
ns
ns
200
150
100
50
0
对照的%
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31E

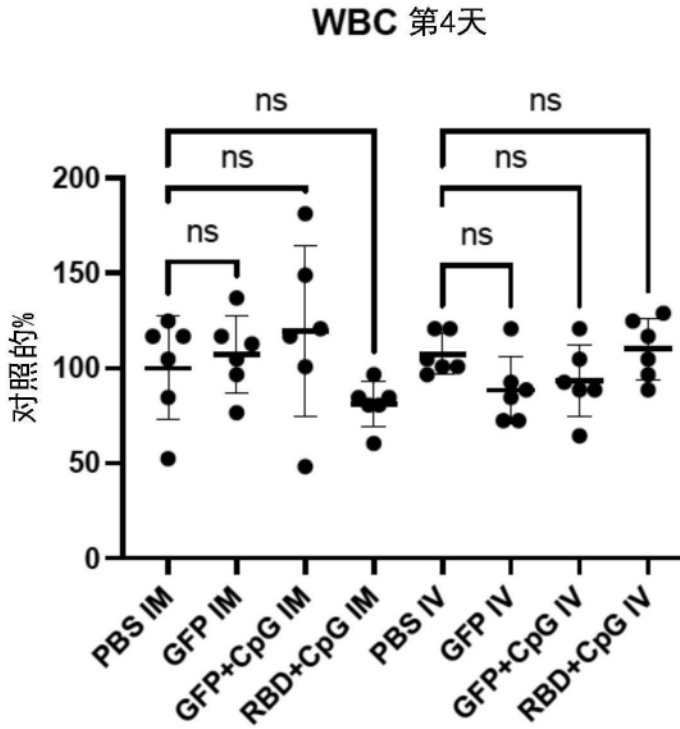

WBC 第4天
ns
ns
ns
ns
ns
ns
200
150
100
50
0
对照的%
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31F

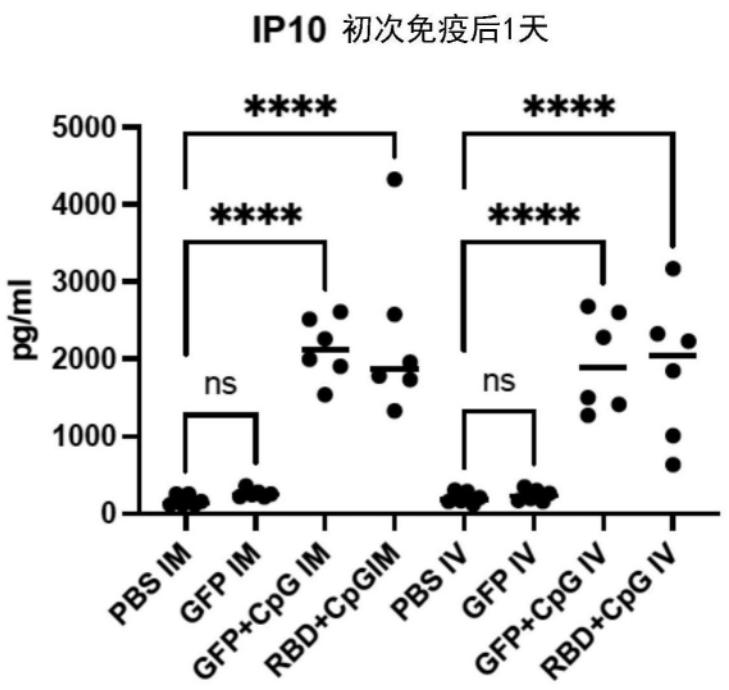

IP10 初次免疫后1天
pg/ml
5000
4000
3000
2000
1000
0
****
****
****
****
ns
ns
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpGIM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31G

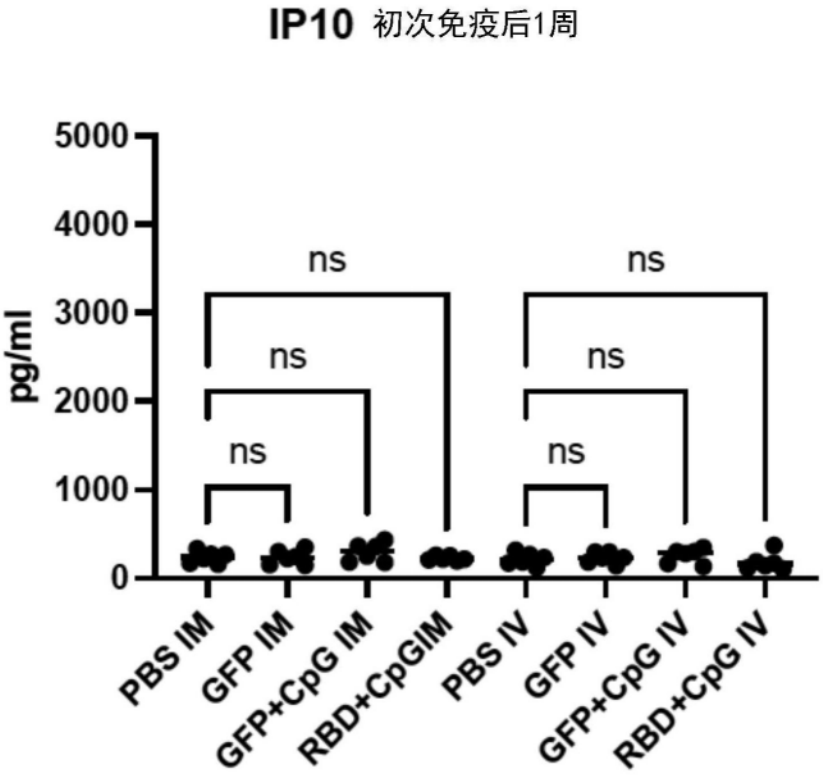

IP10 初次免疫后1周
pg/ml
5000
4000
3000
2000
1000
0
ns
ns
ns
ns
ns
ns
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpGIM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31H

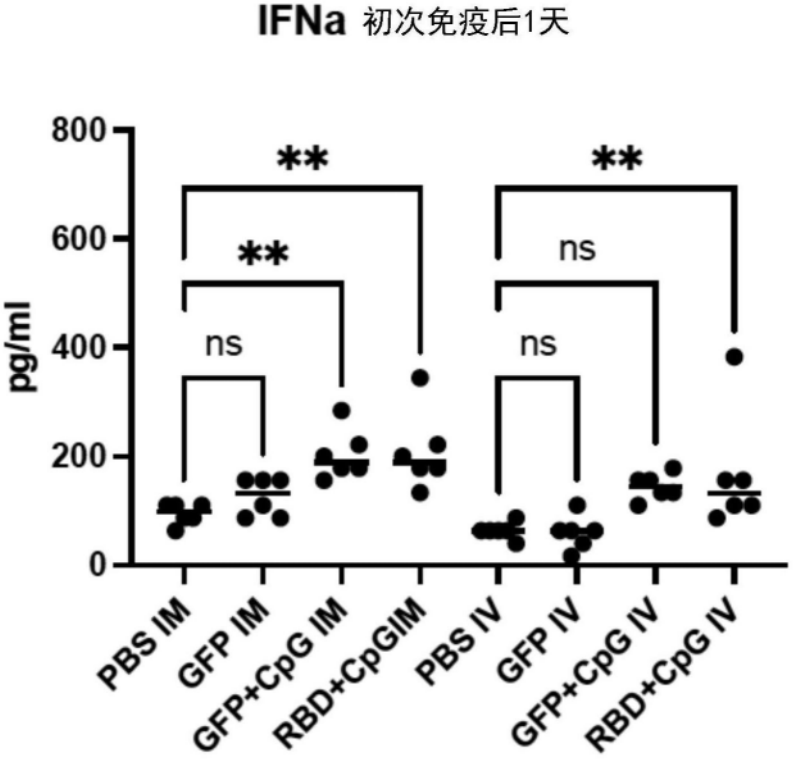

IFNa 初次免疫后1天
800
600
400
200
0
pg/ml
**
**
**
ns
ns
ns
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpGIM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31I

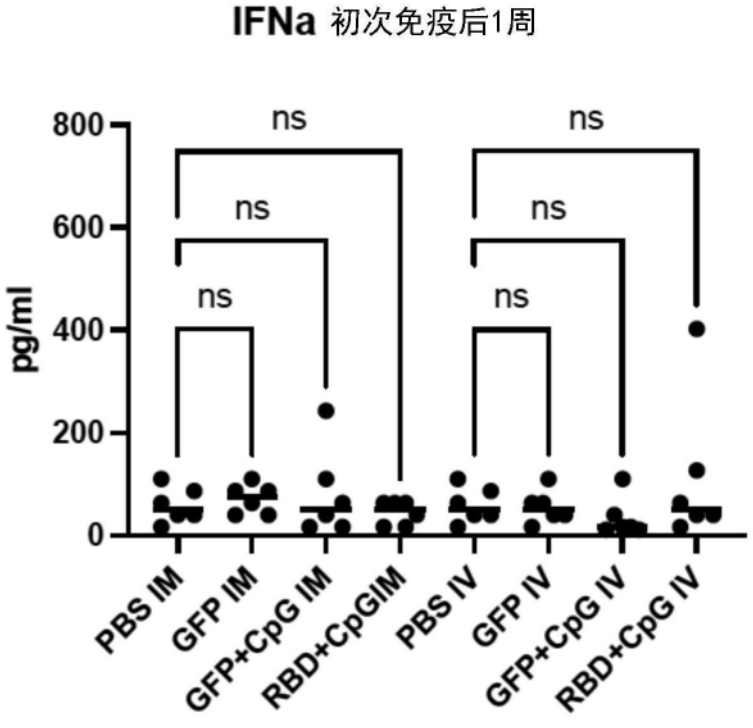

IFNa 初次免疫后1周
800
600
400
200
0
pg/ml
ns
ns
ns
ns
ns
ns
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpGIM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31J

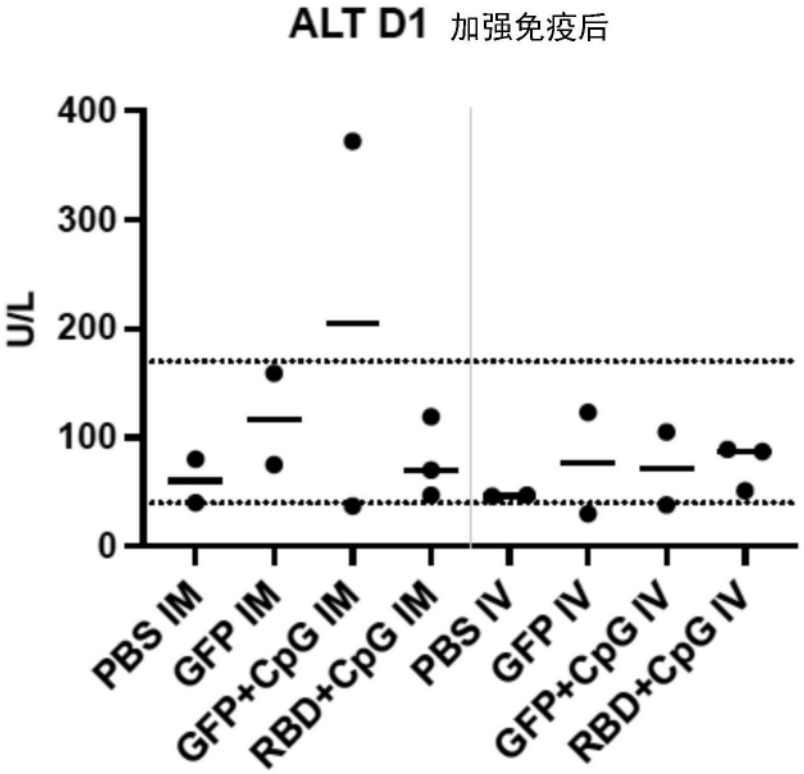

ALT D1 加强免疫后
U/L
400
300
200
100
0
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31K

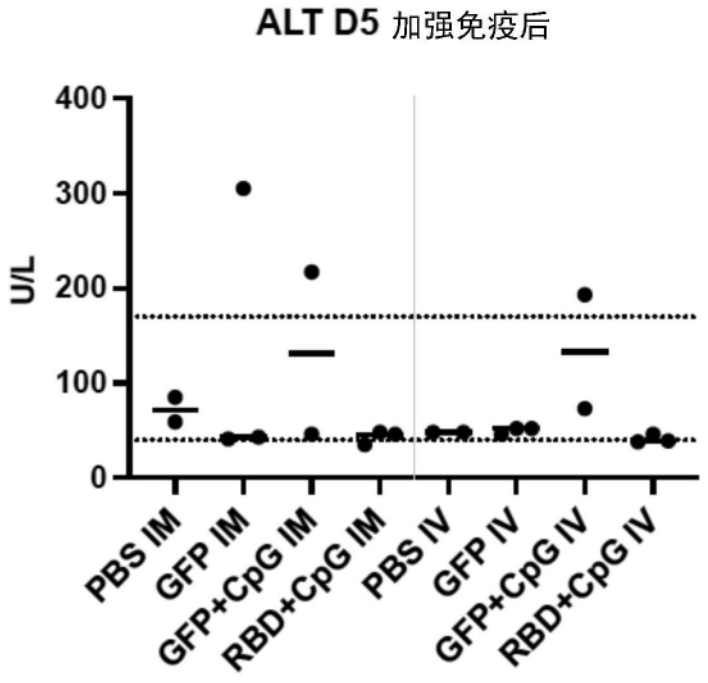

ALT D5 加强免疫后
U/L
400
300
200
100
0
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31L

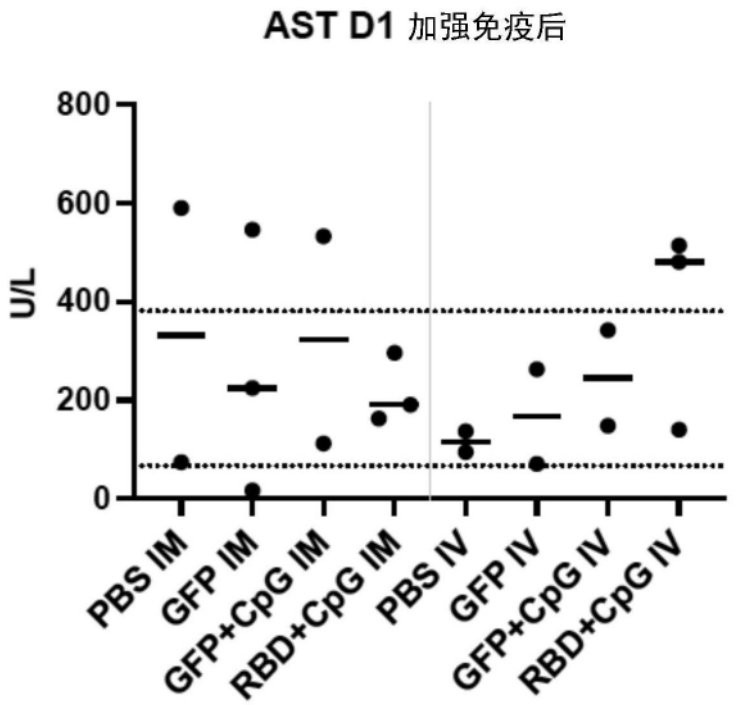

AST D1 加强免疫后
800
600
400
200
0
U/L
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV

图31M

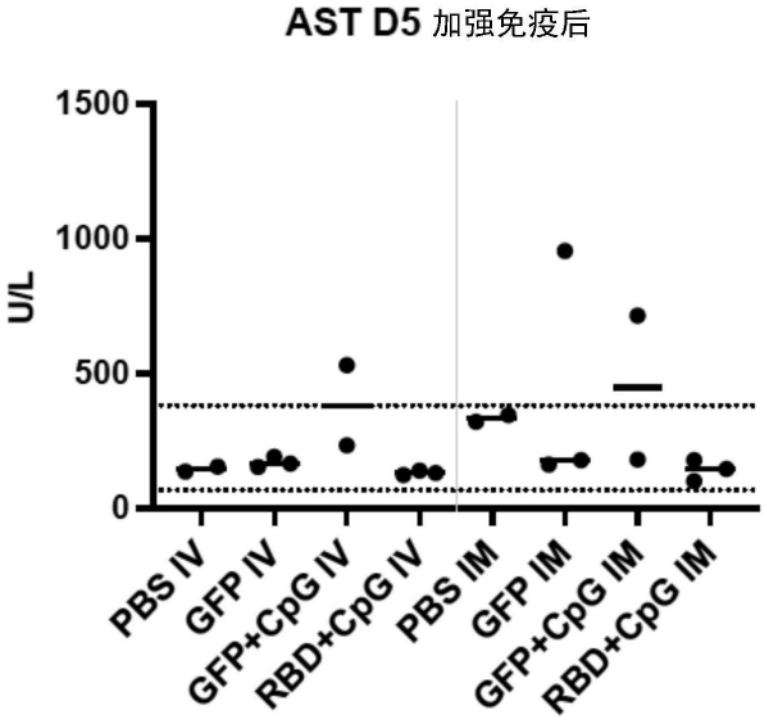

AST D5 加强免疫后
1500
1000
500
0
U/L
PBS IV
GFP IV
GFP+CpG IV
RBD+CpG IV
PBS IM
GFP IM
GFP+CpG IM
RBD+CpG IM

图31N

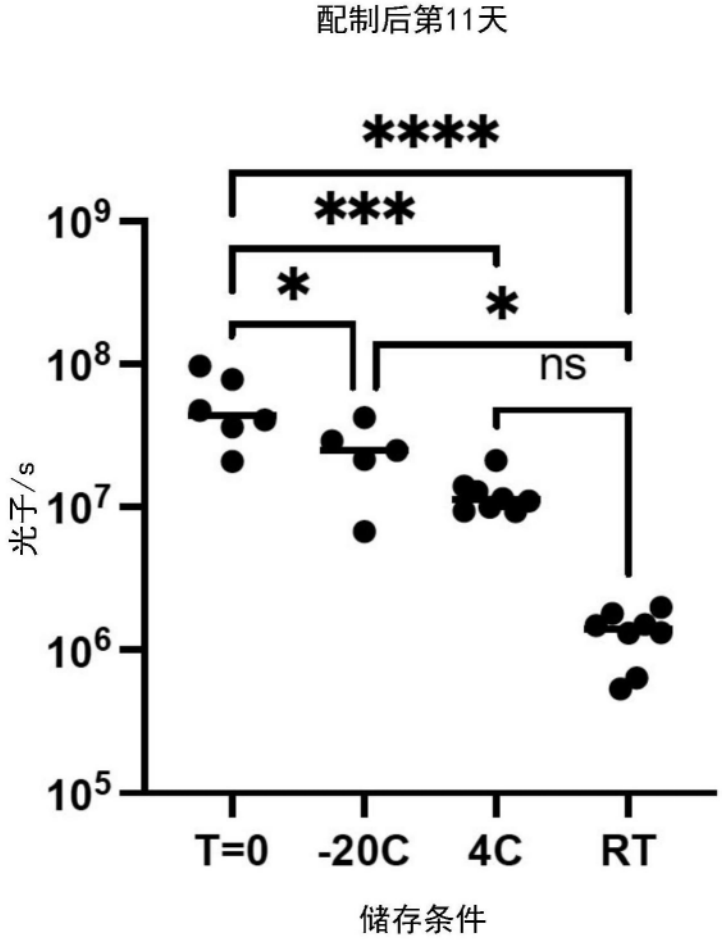


图32