



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116963729 A

(43) 申请公布日 2023. 10. 27

(21) 申请号 202280009720.7

(22) 申请日 2022.01.19

(30) 优先权数据

63/139,732 2021.01.20 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.07.11

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/012954 2022.01.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/159475 EN 2022.07.28

(71) 申请人 比姆医疗股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 格雷戈里·劳伦斯·汉密尔顿

米娜·法兹·谢哈塔

科里·戴恩·萨戈

尼拉杰·纳伦德拉·帕特沃汉

米拉尼·巴尔万特库马尔·查布拉

(74) 专利代理机构 深圳鹰翅知识产权代理有限

公司 44658

专利代理师 王怡瑾 黄幸兒

(51) Int.Cl.

A61K 31/216 (2006.01)

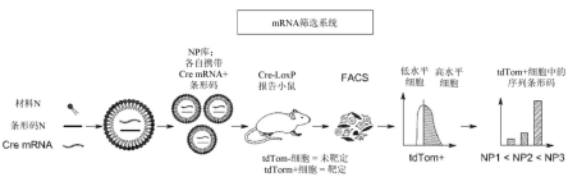
权利要求书6页 说明书121页 附图8页

(54) 发明名称

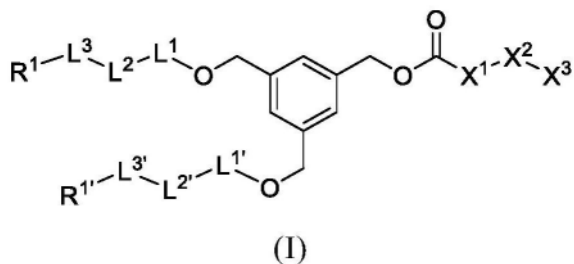
包括可电离脂质的纳米材料

(57) 摘要

本公开描述组合物、制剂、纳米粒子(如脂质纳米粒子)和/或纳米材料及其使用方法。



1. 一种式I化合物:



或其药学上可接受的盐,其中:

L^1 及 $L^{1'}$ 各自独立地为 $-C(O)-$ 或 $-C(O)O-$;

L^2 及 $L^{2'}$ 各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12}

烃链或 $\left[(-)_m Cy^A (-)_m\right]$;

各 Cy^A 独立地为选自亚苯基和3至7元饱和或部分不饱和亚碳环基的任选地被取代的环;

各 m 独立地为0、1或2;

L^3 及 $L^{3'}$ 各自独立地为共价键、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 或 $-OC(O)O-$;

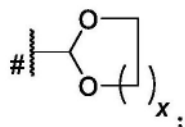
R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团:饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;3至12元饱和或部分不

饱和碳环;1-金刚烷基;2-金刚烷基;甾醇基;苯基;和 $\left[(-)_m L^4 \begin{array}{l} O-A^1 \\ O-A^2 \end{array} (-)_m\right]$;

各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链;

A^1 及 A^2 各自独立地为任选地被取代的 C_1-C_{20} 脂肪族基或 $-L^5-R^5$;

或 A^1 及 A^2 与其中间原子一起能够形成任选地被取代的环:



其中

x 选自1或2;及

#表示与 L^4 的连接点;

各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

各 R^5 独立地为选自5至10元芳基环及3至8元碳环的任选地被取代的基团;

X^1 为共价键、 $-O-$ 或 $-NR-$;

X^2 为共价键或任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

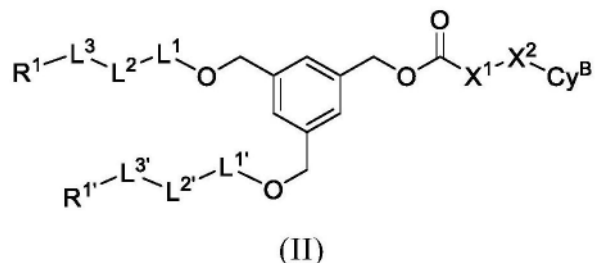
X^3 为氢或 $-Cy^B$;

Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环:3至7元饱和或部分饱和碳环基、苯基、具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3至7元饱和或部分饱和杂环基,及具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元杂芳基;及

各R独立地为氢或任选地被取代的C₁-C₆脂肪族基团；前提是当X³为氢时，R¹或R¹'中的至少一者为

$$\text{---L}^4 \begin{array}{l} \text{O-A}^1 \\ \text{O-A}^2 \end{array} \text{。}$$

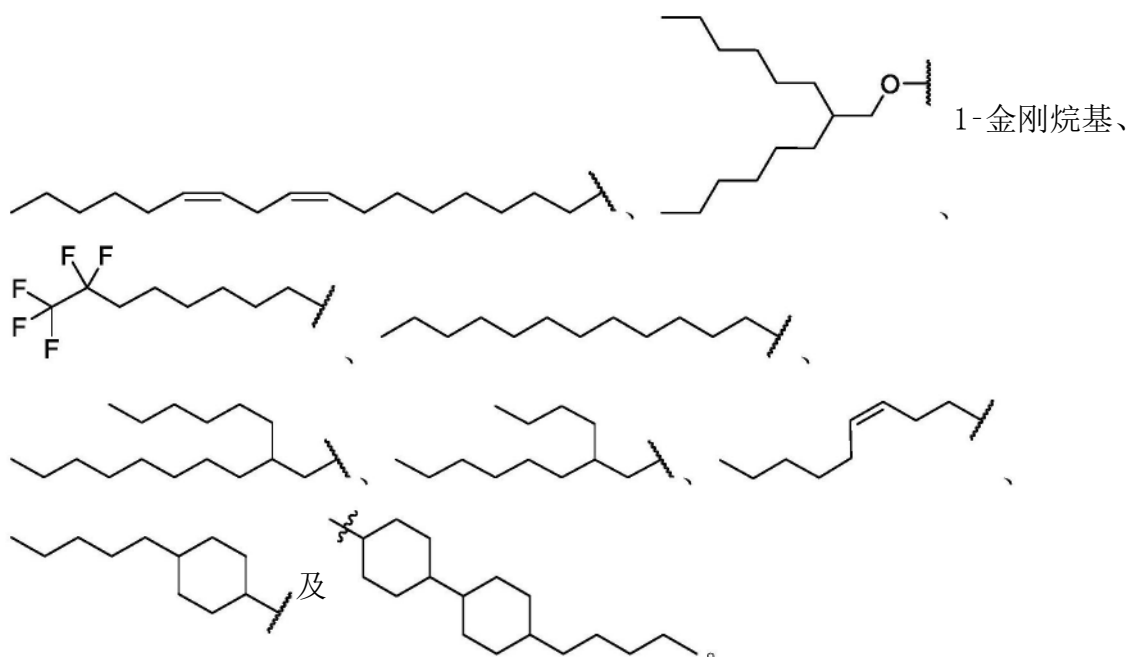
2. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述化合物具有式(II):



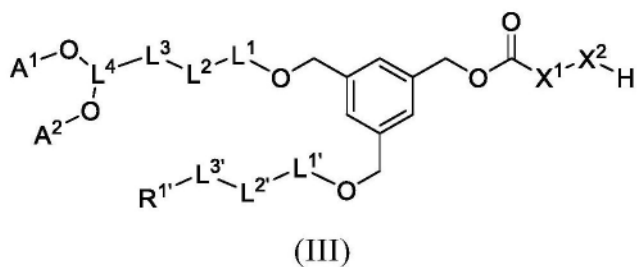
或其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团: 饱和或不饱和直链或支链 C_1 - C_{20} 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-0-或-NR-置换; 3至7元饱和或部分不饱和碳环; 1-金刚烷基; 2-金刚烷基; 甾醇基; 及苯基。

4. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地选自:



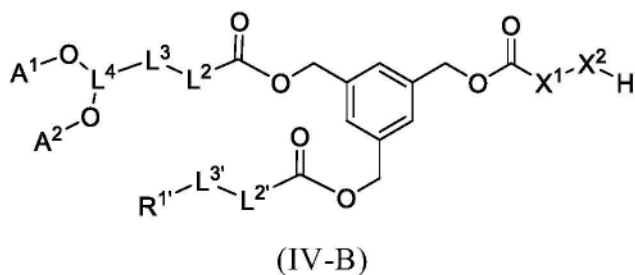
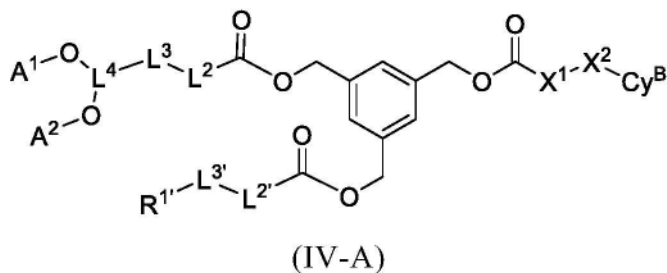
5. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述化合物具有式(III):



或其药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 L^1 及 L^1' 为 $-C(O)-$ 。

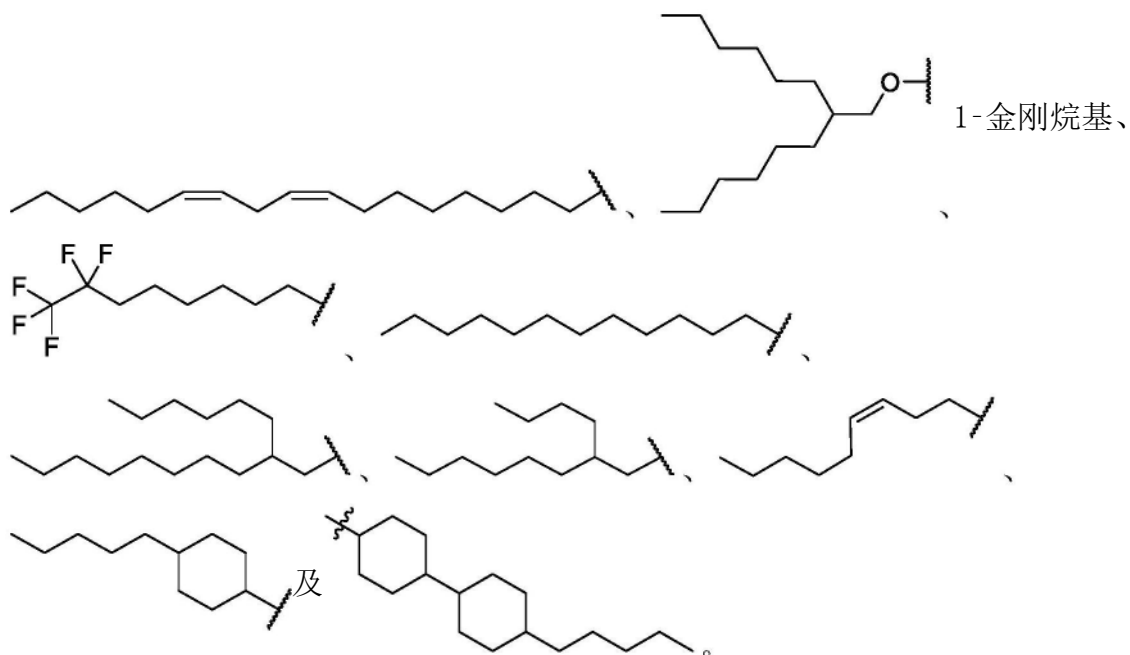
7. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有式(IV-A)或(IV-B):



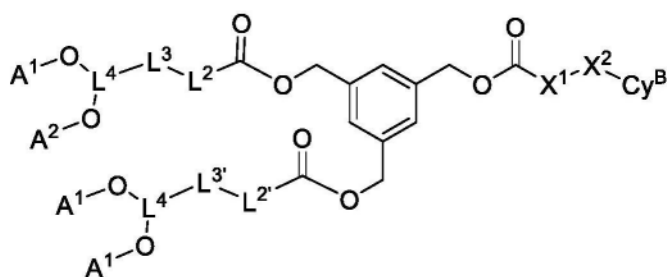
或其药学上可接受的盐。

8. 根据权利要求7所述的化合物,其中R^{1'}为选自以下的任选地被取代的基团:饱和或不饱和直链或支链C₁-C₂₀烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换;3至7元饱和或部分不饱和碳环;1-金刚烷基;2-金刚烷基;甾醇基;苯基。

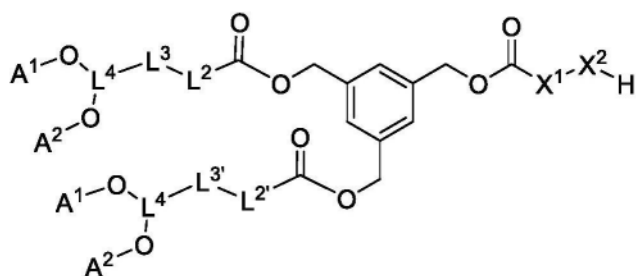
9. 根据权利要求7所述的化合物,其中R^{1'}选自:



10. 根据权利要求1所述的化合物,其中所述化合物具有式(V-A)或(V-B):



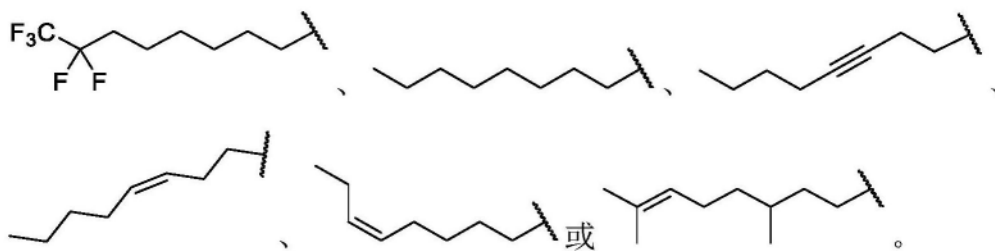
(V-A)



(V-B)

或其药学上可接受的盐。

11. 根据权利要求1所述的化合物,其中 X^1 为 $-NR^-$ 。
12. 根据权利要求11所述的化合物,其中 X^1 为 $-NH^-$ 。
13. 根据权利要求1所述的化合物,其中 X^1 为 $-O^-$ 。
14. 根据权利要求1所述的化合物,其中 X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链。
15. 根据权利要求14所述的化合物,其中 X^2 为亚甲基、亚乙基或亚丙基。
16. 根据权利要求1所述的化合物,其中 L^2 及 $L^{2'}$ 各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链或 $\left[\text{---} \left(\text{---} \right)_m \text{---} \text{Cy}^A \text{---} \left(\text{---} \right)_m \text{---} \right]$ 。
17. 根据权利要求16所述的化合物,其中 Cy^A 为亚环己基或亚苯基。
18. 根据权利要求1所述的化合物,其中 L^2 及 $L^{2'}$ 各自独立地为共价键、亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基或亚己基。
19. 根据权利要求18所述的化合物,其中 L^2 及 $L^{2'}$ 为共价键。
20. 根据权利要求1所述的化合物,其中 L^3 及 $L^{3'}$ 各自独立地为共价键或 $-C(O)O^-$ 。
21. 根据权利要求20所述的化合物,其中 L^3 及 $L^{3'}$ 为共价键。
22. 根据权利要求20所述的化合物,其中 L^3 为共价键,并且 $L^{3'}$ 为 $-C(O)O^-$ 。
23. 根据权利要求1所述的化合物,其中各 L^4 独立地为亚甲基、亚乙基或亚丙基。
24. 根据权利要求1所述的化合物,其中 A^1 及 A^2 各自独立地选自任选地被取代的 C_1-C_{20} 脂肪族基。
25. 根据权利要求1所述的化合物,其中 A^1 及 A^2 各自独立地选自任选地被取代的 C_8 脂肪族基。
26. 根据权利要求1所述的化合物,其中 A^1 及 A^2 各自独立地选自:



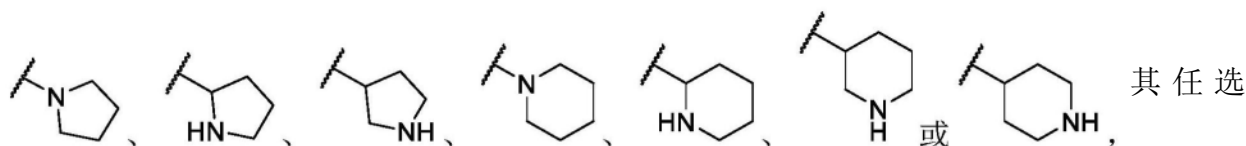
27. 根据权利要求1所述的化合物, 其中各 A^1 和 A^2 相同。

28. 根据权利要求1所述的化合物, 其中 Cy^B 为具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的任选地被取代的3至7元饱和或部分不饱和杂环基。

29. 根据权利要求28所述的化合物, 其中 Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基或哌啶基, 其中 Cy^B 内的碳原子结合于 X^2 。

30. 根据权利要求28所述的化合物, 其中 Cy^B 任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代。

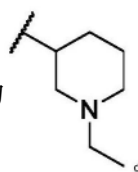
31. 根据权利要求28所述的化合物, 其中 Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环:



地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代。

32. 根据权利要求28所述的化合物, 其中 Cy^B 为

33. 根据权利要求28所述的化合物, 其中 Cy^B 为



34. 根据权利要求1所述的化合物, 其中所述化合物选自表1中列出的化合物或其药学上可接受的盐。

35. 一种脂质纳米粒子 (LNP) 制剂, 其包括根据权利要求1至34中任一权利要求所述的可电离脂质。

36. 一种脂质纳米粒子 (LNP) 制剂, 其包括:

根据权利要求1至34中任一权利要求所述的可电离脂质;

磷脂;

胆甾醇; 及

缀合物-连接子脂质 (例如聚乙二醇脂质)。

37. 根据权利要求35所述的LNP制剂, 其进一步包括治疗剂和/或预防剂。

38. 根据权利要求37所述的LNP制剂, 其中所述治疗剂和/或预防剂为或包括一种或多种核酸。

39. 根据权利要求38所述的LNP制剂, 其中所述一种或多种核酸为或包括RNA。

40. 根据权利要求38所述的LNP制剂, 其中所述一种或多种核酸为或包括DNA。

41. 根据权利要求35所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂被调配成将所述治疗剂和/或预防剂递送到靶细胞。

42. 根据权利要求41所述的LNP制剂,其中所述靶细胞为或包括脾细胞(例如,脾B细胞、脾T细胞、脾单核细胞)、肝脏细胞(例如,肝细胞)、骨髓细胞(例如,骨髓单核细胞)、免疫细胞、肌肉细胞(例如,肌细胞)、心脏细胞(例如,心肌细胞)、肾细胞或中枢神经系统中的细胞。

43. 根据权利要求41所述的LNP制剂,其中所述靶细胞为或包括造血干细胞。

44. 一种药物组合物,其包含根据权利要求35所述的LNP制剂和药学上可接受的赋形剂。

45. 一种向有需要个体施用治疗剂和/或预防剂的方法,所述方法包括向所述个体施用根据权利要求35所述的LNP制剂。

46. 一种治疗有需要个体的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述个体施用根据权利要求35所述的LNP制剂,其中所述治疗剂和/或预防剂能够有效治疗所述疾病。

47. 一种在有需要个体中延迟和/或遏制疾病或病症进展的方法,所述方法包括向所述个体施用根据权利要求35所述的LNP制剂,其中所述治疗剂和/或预防剂能够有效治疗所述疾病。

48. 一种将治疗剂和/或预防剂递送到来源于个体的哺乳动物细胞的方法,所述方法包括接触已施用根据权利要求35所述的LNP制剂的所述个体的所述细胞。

49. 一种在哺乳动物细胞中产生所关注多肽的方法,所述方法包括使所述细胞与根据权利要求35所述的LNP制剂接触,其中所述治疗剂和/或预防剂为或包括mRNA,并且其中所述mRNA编码所述所关注多肽,由此所述mRNA能够在所述细胞中翻译以产生所述所关注多肽。

50. 一种抑制在哺乳动物细胞中产生所关注多肽的方法,所述方法包括使所述细胞与根据权利要求35所述的LNP制剂接触,其中所述治疗剂和/或预防剂为或包括RNA,由此所述RNA能够抑制所述所关注多肽产生。

51. 一种将治疗剂和/或预防剂特异性递送到哺乳动物器官的方法,所述方法包括使哺乳动物器官与根据权利要求35所述的LNP制剂接触,由此将所述治疗剂和/或预防剂递送到所述器官。

52. 根据权利要求51所述的方法,其包括向所述个体施用根据权利要求35所述的LNP制剂。

53. 一种接种疫苗的方法,其通过施用根据权利要求35所述的LNP制剂进行。

54. 一种诱导个体的适应性免疫反应的方法,其包括向所述个体施用有效量的包括至少一种RNA的组合物;其中所述组合物包括LNP制剂,所述LNP制剂包括根据权利要求1至34中任一权利要求所述的化合物或其药学上可接受的盐。

包括可电离脂质的纳米材料

[0001] 相关申请案的交叉引用

[0002] 本申请案要求保护2021年1月20日申请的美国临时申请案第63/139,732号的权益,所述申请案的全部内容特此以引用的方式并入。

背景技术

[0003] 药物递送系统的递送在化学、生物学和医学领域带来了挑战。例如,由于对于系统的分子特性如何控制向组织的递送和赋予药物功效的理解不足,药物递送系统受到阻碍。

发明内容

[0004] 本发明认识到需要组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料及其使用方法。此外,本公开认识到,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的结构特点影响体内、体外和离体功能反应(例如,通过影响一个或多个特征,例如,生物相容性、降解性、可制造性、稳定性、向性等)。

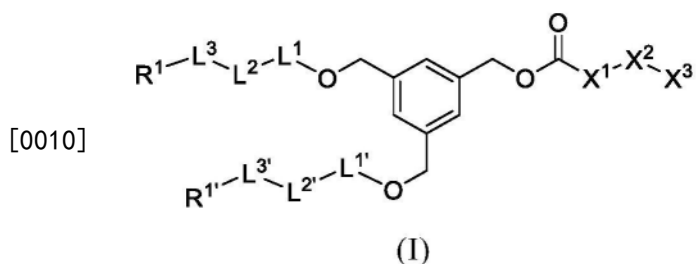
[0005] 本公开提供一种特别见解,即在一些实例中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料可受益于包含一种或多种脂质,所述脂质所具有的立体中心的数目相对于某些替代性脂质化合物(例如,具有包含一个或多个立体中心的核心部分的在其它方面类似的脂质化合物)减少。在一些实施方案中,提供和/或利用一种或多种具有大体上不含或完全不含立体中心的核心部分的脂质。

[0006] 此外,本公开了解,通过减少立体化学提供的优点可包含脂质化合物制剂和/或包含所述脂质化合物制剂的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的更便利合成、更大纯度和/或稠度。例如,在一些实施方案中,益处源自所制备和/或利用的化合物的提高的均一性和/或源自省略一个或多个立体异构体分离步骤。

[0007] 或者或另外,在一些实施方案中,优点可以包含生物和/或功能特征的更大均一性。例如,本公开提供一种见解,即与一种或多种脂质和/或包含所述脂质的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料相互作用的生物(例如在细胞、组织或生物体内)机制可以与一种或多种立体异构体以不同方式相互作用,和/或偏好相对于其它立体异构体的一种或多种立体异构体。因此,根据本公开,具有较大立体异构均一性的制剂可提高可比较性、可靠性和/或有效性。

[0008] 此外,本公开尤其描述了本文所述的一种或多种组分的选择和组合会影响脂质纳米粒子的功能活性。在一些实施方案中,例如,功能活性可指期望的向性、稳定性和/或药物递送功效。在一些实施方案中,本公开尤其描述了一种或多种组分的不同比率影响本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的一种或多种功能活性。

[0009] 此外,本公开认识到,与本领域中已知的传统脂质结构相比,脂质的化学结构赋予改进的特征(例如,功效、稳定性、生物相容性等)。例如,本公开提供式I化合物:



[0011] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0012] L^1 及 $L^{1'}$ 各自独立地为 $-C(O)-$ 或 $-C(O)O-$;

[0013] L^2 及 $L^{2'}$ 各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链

C_1-C_{12} 烃链或 $\left[\left(\text{---} \right)_m \text{Cy}^A \left(\text{---} \right)_m \right]$;

[0014] 各 Cy^A 独立地为选自亚苯基和3至7元饱和或部分不饱和亚碳环基的任选地被取代的环;

[0015] 各 m 独立地为0、1或2;

[0016] L^3 及 $L^{3'}$ 各自独立地为共价键、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 或 $-OC(O)O-$;

[0017] R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团:饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;3至12元饱和或部分

不饱和碳环;1-金刚烷基;2-金刚烷基;甾醇基;苯基;和 $\left[\text{---} L^4 \begin{array}{c} \text{O}-A^1 \\ \text{O}-A^2 \end{array} \right]$;

[0018] 各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链;

[0019] A^1 及 A^2 各自独立地为任选地被取代的 C_1-C_{20} 脂肪族基或 $-L^5-R^5$;

[0020] 或 A^1 及 A^2 与其中间原子一起可形成任选地被取代的环: $\# \left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \text{---} \end{array} \right]_x$;

[0021] 其中

[0022] x 选自1或2;及

[0023] $\#$ 表示与 L^4 的连接点;

[0024] 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

[0025] 各 R^5 独立地为选自5至10元芳基环及3至8元碳环的任选地被取代的基团;

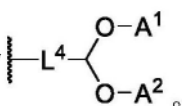
[0026] X^1 为共价键、 $-O-$ 或 $-NR-$;

[0027] X^2 为共价键或任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

[0028] X^3 为氢或 $-Cy^B$;

[0029] Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环:3至7元饱和或部分不饱和碳环基、苯基、具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3至7元饱和或部分不饱和杂环基,及具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元杂芳基;及

[0030] 各 R 独立地为氢或任选地被取代的 C_1-C_6 脂肪族基团;

[0031] 前提是当 X^3 为氢时, R^1 或 $R^{1'}$ 中的至少一者为.

[0032] 此外,本公开认识到包括一种或多种可电离脂质的脂质纳米粒子(LNP)组合物可显示出人意料特性。例如,本公开提供,包含一种或多种所公开的可电离脂质的LNP组合物和/或制剂赋予出人意料的向性。

[0033] 在一些实施方案中,所提供的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料适用于治疗方法、递送方法、产生多肽的方法或延迟/遏制疾病或病症进展的方法。

[0034] 在一些实施方案中,所提供的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料适用于制造方法。

[0035] 在一些实施方案中,所提供的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料适用于表征方法。

[0036] 涉及本发明的一个方面(例如方法)的实施方案的要素可应用于涉及本发明的其它方面的实施方案中,且反之亦然。

附图说明

[0037] 图1描绘根据本公开的实施方案的LNP制剂的示范性mRNA筛选系统。

[0038] 图2描绘根据本公开的实施方案的LNP制剂的示范性siRNA筛选系统。

[0039] 图3描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5)的平均直径(nm)的柱状图。

[0040] 图4描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5)的平均多分散性(%)的柱状图。

[0041] 图5描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5)至肝脏的有效递送的柱状图。

[0042] 图6描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5)至脾脏的有效递送的柱状图。

[0043] 图7描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5)至骨髓的有效递送的柱状图。

[0044] 图8描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5)至肾脏的有效递送的柱状图。

[0045] 图9描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质6)在非人类灵长类动物(NHP)模型中递送hEPO mRNA的功效的柱状图。在跨越各个时间点(0、4、6、24、48、72小时)施用媒剂(生理食盐水对照)和示范性脂质6之后,测量血浆中hEPO的量(ng/mL)。

[0046] 图10描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质6)的耐受性的柱状图。在跨越各个时间点(2、4和6小时)施用媒剂(生理食盐水对照)和示范性脂质6之后,测量血浆中IL-6的量(pg/mL)。

[0047] 图11描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质6)至肝脏的有效递送的柱状图。

[0048] 图12描绘了显示在将示范性LNP制剂(示范性脂质6)递送到肝脏之后在肝脏细胞中进行碱基编辑的柱状图。

[0049] 定义

[0050] 施用(administration):如本文中所述的术语“施用”通是指向个体或系统施用组合物。本领域的普通技术人员将清楚可以在适当的情况下用于向个体(例如人类)施用的各种途径。例如,在一些实施方案中,施用可以是经眼、口服、肠胃外、局部施用等。在一些特定实施方案中,施用可以是经支气管(例如,通过支气管滴注)、经颊、经皮(其可为或包括例如局部至真皮、皮内、皮间、经皮等中的一种或多种)、肠内、动脉内、脑室内(intracerebral ventricular)、脑池内(intracisterna magna)、皮内、胃内、髓内、肌肉内、鼻内、腹膜内、鞘内、静脉内、脑室内、特定器官内(例如,肝内)、经粘膜、经鼻、口服、经直肠、皮下、舌下、局部、经气管(例如,通过气管内滴注)、经阴道、经玻璃体、通过雾化施用等。在一些实施方案中,施用可能涉及间歇给药(例如,间隔一定时间的多个剂量)和/或定期给药(例如,各个剂量间隔共同的一段时间)。在一些实施方案中,施用可能涉及至少选定的一段时间内的持续给药(例如,灌注)。在一些实施方案中,包括脂质纳米粒子的药物组合物可调配成通过肠胃外(肌肉内、腹膜内、静脉内(IV)或皮下注射)、经皮(被动地或使用离子电渗疗法或电穿孔)或经粘膜(经鼻、经阴道、经直肠或舌下)施用途径或使用生物溶蚀性插入物施用,且可以按适于每一种施用途径的剂型调配。

[0051] 脂肪族基(aliphatic):如本文所使用的术语“脂肪族基”或“脂肪族基团(aliphatic group)”意指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元的直链(即无支链)或支链型被取代或未被取代的烃链,或完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但不是芳香族的单环烃或双环烃(在本文中也称作“碳环(carbocycle)”、“碳环基(carbocyclic)”“环脂族基(cycloaliphatic)”或“环烷基(cycloalkyl)”),其与分子的其余部分具有单个连接点。除非另有规定,否则脂肪族基团含有1至6个脂肪族碳原子。在一些实施方案中,脂肪族基团含有1至5个碳原子。在一些实施方案中,脂肪族基团含有1至4个碳原子。在一些实施方案中,脂肪族基团含有1至3个碳原子,且在一些实施方案中,脂肪族基团含有1至2个碳原子。在一些实施方案中,“碳环基”(或“环脂族基”或“碳环”或“环烷基”)是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元、但不是芳香族的单环 C_3 - C_8 烃,其具有与分子的其余部分的单个连接点。合适的脂肪族基团包含但不限于直链或支链型被取代或未被取代的烷基、烯基、炔基基团及其混合物,如(环烷基)烷基、(环烯基)烷基或(环烷基)烯基。

[0052] 烯基(alkenyl):单独使用或作为较大部分的一部分使用的术语“烯基”是指具有至少一个双键且(除非另有规定)否则具有2至20个、2至18个、2至16个、2至14个、2至12个、2至10个、2至8个、2至6个、2至4个或2至3个碳原子(例如, C_{2-20} 、 C_{2-18} 、 C_{2-16} 、 C_{2-14} 、 C_{2-12} 、 C_{2-10} 、 C_{2-8} 、 C_{2-6} 、 C_{2-4} 或 C_{2-3})的任选地被取代的直链或支链烃链。示范性烯基基团包含乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基以及庚烯基。

[0053] 亚烯基(alkenylene):术语“亚烯基”是指二价烯基基团。经取代的亚烯基链是含有至少一个双键的聚亚甲基基团,其中一个或多个氢原子被取代基置换。合适的取代基包含下文关于经取代的脂肪族基团所描述的取代基。

[0054] 烷基(alkyl):如本文所使用的术语“烷基”具有其在本领域中的普通含义,并且可包含饱和脂肪族基团,包含直链烷基基团、支链烷基基团、环烷基(脂环族)基团、经烷基取代的环烷基基团以及经环烷基取代的烷基基团。在一些实施方案中,烷基具有1至100个碳原子。在某些实施方案中,直链或支链烷基在其主链中具有约1至20个碳原子(例如,对于直

链烷基为 C_1-C_{20} ,对于支链烷基为 C_2-C_{20}),并且或者,在其主链中具有约1至10个碳原子。在一些实施方案中,环烷基环在其环结构中具有约3至10个碳原子,其中这些环是单环或双环,并且或者,在环结构中具有约5、6或7个碳。在一些实施方案中,烷基基团可以是低级烷基基团,其中低级烷基基团包括1至4个碳原子(例如,对于直链低级烷基为 C_1-C_4)。

[0055] 亚烷基(alkylenyl):术语“亚烷基”是指直链(即无支链)或支链型被取代或未被取代的二价烷基基团。“亚烷基”是聚亚甲基基团,即 $-(CH_2)_n-$,其中n为正整数,优选地为1至10、1至9、1至8、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3、1至2、2至5或4至8。经取代的亚烷基是其中一个或多个亚甲基氢原子被取代基置换的聚亚甲基基团。合适的取代基包含下文关于经取代的脂肪族基团所描述的取代基。

[0056] 炔基(alkynyl):单独使用或作为较大部分的一部分使用的术语“炔基”是指具有至少一个三键且(除非另有规定)否则具有2至20个、2至18个、2至16个、2至14个、2至12个、2至10个、2至8个、2至6个、2至4个或2至3个碳原子(例如, C_{2-20} 、 C_{2-18} 、 C_{2-16} 、 C_{2-14} 、 C_{2-12} 、 C_{2-10} 、 C_{2-8} 、 C_{2-6} 、 C_{2-4} 或 C_{2-3})的任选地被取代的直链或支链烃基。示范性炔基基团包含乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基以及庚炔基。

[0057] 氨基酸(amino acid):如本文所使用,在其最广泛意义上是指任何可例如通过一个或多个肽键的形成而被并入多肽链中的化合物和/或物质。在一些实施方案中,氨基酸具有通用结构 $H_2N-C(H)(R)-COOH$ 。在一些实施方案中,氨基酸是天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,氨基酸是合成氨基酸;在一些实施方案中,氨基酸是D-氨基酸;在一些实施方案中,氨基酸是L-氨基酸。“标准氨基酸”是指天然存在的肽中常见的二十种标准L-氨基酸中的任一种。“非标准氨基酸”是指除标准氨基酸以外的任何氨基酸,不管其是以合成方式制备的还是从天然来源获得的。在一些实施方案中,氨基酸,包含多肽中的羧基端和/或氨基端氨基酸,与上述通用结构相比,可以含有结构修饰。例如,在一些实施方案中,与通用结构相比,氨基酸可以通过甲基化、酰胺化、乙酰化、聚乙二醇化、糖基化、磷酸化和/或取代(例如氨基基团、羧酸基、一个或多个质子和/或羟基基团的取代)来修饰。在一些实施方案中,与含有其它方面相同的未修饰氨基酸的多肽相比,此类修饰可以例如改变含有经修饰氨基酸的多肽的循环半衰期。在一些实施方案中,与含有其它方面相同的未修饰氨基酸的多肽相比,此类修饰不会显著改变含有经修饰氨基酸的多肽的相关活性。如将从上下文显而易见,在一些实施方案中,术语“氨基酸”:可以用于指游离氨基酸;在一些实施方案中,其可以用于指多肽的氨基酸残基。

[0058] 动物(animal):如本文中所用,是指动物界的任何成员。在一些实施方案中,“动物”是指任何性别和处于任何发育阶段的人类。在一些实施方案中,“动物”是指处于任何发育阶段的非人类动物。在某些实施方案中,非人类动物为哺乳动物(例如啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、绵羊、牛、灵长类动物和/或猪)。在一些实施方案中,动物包括但不限于哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类、昆虫和/或蠕虫。在一些实施方案中,动物可以是转基因动物、基因工程动物和/或克隆。

[0059] 芳基:术语“芳基”是指具有总共六个到十四个环成员(例如 C_{6-14})的单环及双环系统,其中所述系统中的至少一个环是芳香族的并且其中所述系统中的每个环含有三个到七个环成员。术语“芳基”可与术语“芳基环”互换使用。在一些实施方案中,“芳基”是指包含但不限于苯基、萘基、蒽基等的芳香族环系统,其可以带有一个或多个取代基。除非另有规

定,否则“芳基”基团为烃。

[0060] 大约(approximately):如本文中所用的术语“大约”或“约(about)”在应用于所关注的一个或多个值时是指与所述参考值类似的值。一般来说,熟悉上下文的本领域技术人员应了解在所述上下文中“约”或“大约”所涵盖的相关偏差度。在某些实施方案中,术语“大约”或“约”是指处于在任一方向上(大于或小于)所述参考值的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小的值的范围,除非另有说明或从上下文可以明显看出(除非该数字将超过一个可能的值的100%)。

[0061] 适体(aptamer):如本文所使用的术语“适体”是指由与特定分子标靶(例如,伞形拓扑聚糖)紧密结合的核酸(例如, RNA、DNA)构成的大分子。特定适体可用直链核苷酸序列来描述并且长度通常为约15至60个核苷酸。以不受任何理论约束为前提,预期适体中的核苷酸链形成分子内相互作用,使分子折叠成复杂的三维形状,并且此三维形状使适体紧密结合于其靶分子的表面。鉴于存在于所有可能的核苷酸序列范围内的分子形状的非凡多样性,可以获得用于大量分子标靶(包含蛋白质和小分子)的适体。除高特异性以外,适体通常对其标靶具有极高亲和力(例如对于蛋白质的亲和力在皮摩尔到低纳摩尔范围内)。在许多实施方案中,适体具有化学稳定性并且可以煮沸或冷冻而不损失活性。因为适体是合成分子,所以可对适体进行多种修饰,从而优化其关于特定应用的功能。例如,可以修饰适体以显著降低其用于体内应用时在血液中被酶降解的灵敏度。另外,可以修饰适体以改变其生物分布或血浆滞留时间。

[0062] 关联(associated):如本文所使用的该术语,如果一个事件或实体的存在、水平、程度、类型和/或形式与另一个事件或实体相关,那么两个事件或实体彼此“相关”。例如,如果特定实体(例如,多肽、遗传特征(genetic signature)、代谢物、微生物等)的存在、水平和/或形式与特定疾病、病症或病状的发病率和/或对特定疾病、病症或病状的易感性相关(例如,在相关群体内),那么认为所述特定实体与所述疾病、病症或病状相关。在一些实施方案中,如果两个或更多个实体直接或间接相互作用,使得其彼此具有和/或保持物理接近性,那么其在物理上彼此“相关”。在一些实施方案中,在物理上彼此相关的两个或更多个实体彼此共价连接;在一些实施方案中,在物理上彼此相关的两个或更多个实体彼此不共价连接,而是非共价关联,例如借助于氢键、凡得瓦尔力相互相用(van der Waals interaction)、疏水性相互作用、磁性和其组合相关联。

[0063] 生物相容性(biocompatible):如本文所用的术语“生物相容性”是指材料在放置成与活组织接触(例如,体内)时不会对所述组织造成显著伤害。在某些实施方案中,如果材料对细胞无毒,那么其具有“生物相容性”。在某些实施方案中,如果材料体外添加到细胞导致低于或等于20%的细胞死亡,和/或体内施用材料未诱发明显的发炎或其它此类不良作用,那么所述材料具有“生物相容性”。

[0064] 可生物降解的(biodegradable):如本文所用的术语“可生物降解的”是指当材料被引入细胞中时,材料被分解(例如通过细胞机制,如通过酶促降解、通过水解和/或通过其组合分解)成如下组分:细胞可以重新使用或处理而不会对细胞产生明显毒性作用。在某些实施方案中,通过可生物降解的材料的分解产生的组分是生物相容的,并且因此不会在体内诱发明显的发炎和/或其它不良作用。在一些实施方案中,可生物降解的聚合物材料分解

成其组成性单体。在一些实施方案中,可生物降解的材料(包含例如可生物降解的聚合物材料)的分解涉及酯键的水解。或者或另外,在一些实施方案中,可生物降解的材料(包含例如可生物降解的聚合物材料)的分解涉及氨基甲酸酯键的裂解。示范性可生物降解的聚合物包含例如羟基酸(如乳酸和乙醇酸)的聚合物,包含但不限于聚(羟基酸)、聚(乳酸)(poly(lactic acid), PLA)、聚(乙醇酸)(poly(glycolic acid), PGA)、聚(乳酸-共-乙醇酸)(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)和与PEG的共聚物、聚酸酐、聚(原酸)酯、聚酯、聚氨基甲酸酯、聚(丁酸)、聚(戊酸)、聚(己内酯)、聚(羟基烷酸酯)、聚(丙交酯-共-己内酯)、其共混物和共聚物。许多天然存在的聚合物也是可生物降解的,包含例如:蛋白质,如白蛋白、胶原蛋白、明胶和谷醇溶蛋白(例如玉米蛋白);及多糖,如海藻酸酯、纤维素衍生物和聚羟基烷酸酯(例如聚羟基丁酸酯)、其共混物和共聚物。本领域的技术人员将了解或能够确定这类聚合物何时是其生物相容的和/或可生物降解的衍生物(例如,与母体聚合物有关,其结构大体上相同,仅在如本领域中已知的特定化学基团的取代或添加方面不同)。

[0065] 具生物活性(biologically active):如本文所使用,是指通过所关注的试剂或实体实现的可观测的生物效应或结果。例如,在一些实施方案中,特异性结合相互作用是一种生物活性。在一些实施方案中,生物路径或事件的调节(例如诱导、增强或抑制)是一种生物活性。在一些实施方案中,生物活性的存在或程度通过检测由所关注的生物路径或事件产生的直接或间接产物评估。

[0066] 生物样品(biological sample):如本文所使用的术语“生物样品”通常是指获自或来源于如本文所述的所关注生物来源(例如组织或生物体或细胞培养物)的样品。在一些实施方案中,所关注的来源包括生物体,如动物或人类。在一些实施方案中,生物样品是或包括生物组织或流体。在一些实施方案中,生物样品可以是或包括骨髓;血液;血细胞;腹水;组织或细针活检样品;含有细胞的体液;自由浮动的核酸;痰;唾液;尿液;脑脊液;腹膜液;胸腔积液;粪便;淋巴液;妇科积液;皮肤拭子;阴道拭子;口腔拭子;鼻拭子;冲洗液或灌洗液,如导管灌洗液或支气管肺泡灌洗液;吸出物;刮片;骨髓样本;组织活检样本;外科手术样本;粪便、其它体液、分泌物和/或排泄物;和/或由此产生的细胞等。在一些实施方案中,生物样品是或包括从个体获得的细胞。在一些实施方案中,获得的细胞是或包含从其获得样品的个体的细胞。在一些实施方案中,样品是通过任何适当的方式直接从所关注的来源获得的“初级样品”。例如,在一些实施方案中,通过选自由以下组成的群组的方法获得初级生物样品:活检(例如,细针抽吸或组织活检)、手术、采集体液(例如,血液、淋巴液、粪便等)等。在一些实施方案中,如将从上下文显而易见,术语“样品”是指通过处理初级样品(例如,通过去除初级样品中的一种或多种组分和/或通过向初级样品中添加一种或多种试剂)而获得的制剂。例如,使用半渗透膜进行过滤。此“经处理的样品”可以包括例如从样品中提取的或通过对初级样品进行诸如mRNA的扩增或逆转录、某些组分的分离和/或纯化等技术而获得的核酸或蛋白质。

[0067] 二价(bivalent):如本文所使用的术语“二价”是指具有两个连接点的化学部分。例如,术语“二价 C_{1-8} (或 C_{1-6})饱和或不饱和的直链或支链烃链”是指如本文所定义的直链或支链的二价亚烷基链、亚烯基链和亚炔基链。

[0068] 癌症(cancer):术语“癌症”、“恶性肿瘤”、“赘瘤”、“肿瘤”及“癌瘤”在本文中用以指展现相对较异常、不受控制和/或自主性生长,使其展现以明显失去控制的细胞增殖为特

征的异常生长表型的细胞。在一些实施方案中,肿瘤可以是或包括癌前(例如良性)、恶性、转移前、转移性和/或非转移性的细胞。本公开明确地鉴别其教导内容可能尤其与其相关的某些癌症。在一些实施方案中,相关癌症可以通过实体肿瘤表征。在一些实施方案中,相关癌症可以通过血液系统肿瘤表征。一般来说,本领域中已知的不同类型的癌症的实例例如包含:血液系统癌症,包括白血病;淋巴瘤(霍奇金氏和霍奇金氏);骨髓瘤和骨髓增生性病症;肉瘤;黑色素瘤;腺瘤;实体组织癌瘤;口腔、咽、喉和肺的鳞状细胞癌;肝癌;泌尿生殖道癌,如前列腺癌、子宫颈癌、膀胱癌、子宫癌和子宫内膜癌;以及肾细胞癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、皮肤或眼内黑色素瘤、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、头颈癌、乳腺癌、胃肠道癌和神经系统癌、良性病变,如乳头状瘤等。

[0069] 碳环基(carbocyclyl):如本文所使用的术语“碳环基”、“碳环(carbocycle)”及“碳环(carbocyclic ring)”是指如本文所述的具有3至14个成员的饱和或部分不饱和的环状脂肪族单环、双环或多环环系统,其中所述脂肪族环系统如本文所述任选地经取代。碳环基团包含但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环庚烯基、环辛基、环辛烯基、降冰片烷基、金刚烷基和环辛二烯基。在一些实施方案中,“碳环基”(或“环脂肪族基”)是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但不是芳香族的任选地被取代的单环 C_3 - C_8 烃或任选地被取代的 C_7 - C_{10} 双环烃,其具有与分子的其余部分的单个连接点。术语“环烷基”是指具有约3至约10个环碳原子的任选地被取代的饱和环系统。在一些实施方案中,环烷基基团具有3至6个碳。示范性单环环烷基环包含环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。术语“环烯基”是指含有至少一个碳-碳双键并具有约3至约10个碳原子的任选地被取代的非芳香族单环或多环环系统。示范性单环环烯基包含环戊烯基、环己烯基和环庚烯基。

[0070] 载剂(carrier):如本文中所用,是指随着组合物一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒剂。在一些示范性实施方案中,载剂可以包含无菌液体,例如水和油,包含石油、动物、植物或合成来源的油,例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。在一些实施方案中,载剂是或包含一种或多种固体组分。

[0071] 类似的(comparable):如本文所使用的术语“类似的”是指两种或更多种试剂、实体、情形、条件集等,其可能彼此不相同,但是足够相似以允许能够在其间进行比较,使得本领域的普通技术人员将了解,可以基于所观测到的差异或相似性,合理地得出结论。在一些实施方案中,通过多个大体上一致的特征和一种或少量变化特征来表征类似的条件、情形、个体或群体的集合。本领域的技术人员将结合上下文了解,在待视为类似的两种或两种此类试剂、实体、情形、条件集的任何既定情况中需要何种程度的一致性。例如,本领域的普通技术人员将了解,情形、个体或群体的集合当特征在于足够数量和类型的大体上相同的特征以确保以下合理结论时是彼此类似的:在情形、个体或群体的不同集合下或使用情形、个体或群体的不同集合获得的结果或观测到的现象的差异是由有所变化的那些特征的变化引起的或指示有所变化的那些特征的变化。

[0072] 组合物(composition):本领域的普通技术人员将了解,术语“组合物”可以用于指包含一种或多种指定组分的离散物理实体。一般来说,除非另有规定,否则组合物可为任何形式,例如气体、凝胶、液体、固体等。

[0073] 包括(comprising):本文中被描述为“包括”一个或多个指定的要素或步骤的组合

物或方法是开放式的,意指指定的要素或步骤是必需的,但是可以在组合物或方法的范围内加入其它要素或步骤。为了避免冗长,还应理解,任何被描述为“包括”(或其“包括(comprises)”)一个或多个指定的要素或步骤的组合物或方法也描述了“基本上由(consisting essentially of)”相同的指定的要素或步骤“组成”(或其“基本上由(consists essentially of)”相同的指定的要素或步骤“组成”)的相应更有限的组合物或方法,意指所述组合物或方法包含指定的基本要素或步骤,并且还可以包含不会实质上影响所述组合物或方法的基本和新颖特征的额外要素或步骤。还应理解,任何在本文中被描述为“包括”一个或多个指定的要素或步骤或“基本上由”一个或多个的指定要素或步骤“组成”的组合物或方法也描述了“由”指定的要素或步骤“组成”(consisting of/consists of)但不包括任何其它未指定要素或步骤的相应更有限的和封闭式的组合物或方法。在本文中所公开的任何组合物或方法中,可以用任何指定的基本要素或步骤的已知或所公开的等效物取代所述要素或步骤。

[0074] “改善(improve)”、“增加(increase)”、“抑制(inhibit)”或“减少(reduce)”：如本文所使用的术语“改善”、“增加”、“抑制”、“减少”或其语法同等成分指示相对于基线或其它参考测量的值。在一些实施方案中,适当的参考测量可以是或包括在不存在(例如,之前和/或之后)特定药剂或治疗的其它方面类似的条件下或在存在适当的类似参考药剂的情况下在特定系统中(例如,在单一个体中)的测量。在一些实施方案中,适当的参考测量可以是或包括在已知或预期以特定方式在相关药剂或治疗存在下作出反应的类似系统中的测量。

[0075] 测定(determine):本文所述的许多方法包含“测定”步骤。本领域技术人员在阅读本说明书后将了解,这种“测定”可以通过使用本领域技术人员可用的各种技术中的任一种来利用或实现,包含例如本文中明确提到的特定技术。在一些实施方案中,测定涉及对物理样品的操作。在一些实施方案中,测定涉及对数据或信息的考量和/或操作,例如利用计算机或其它适合执行相关分析的处理单元。在一些实施方案中,测定涉及从来源接收相关信息和/或材料。在一些实施方案中,测定涉及比较样品或实体与类似参考物的一个或多个特征。

[0076] 包裹(encapsulated):术语“包裹”在本文中用以指物质完全被另一种材料包围。

[0077] 赋形剂(excipient):如本文中所用,是指可被包含在药物组合物中,例如用以提供或促成所期望的稠度或稳定作用的非治疗剂。合适的药物赋形剂包含例如淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙稀、乙二醇、水、乙醇等。

[0078] 表达(expression):如本文所使用的术语核酸序列的“表达”是指从核酸序列产生任何基因产物。在一些实施方案中,基因产物可以是转录物。在一些实施方案中,基因产物可以是多肽。在一些实施方案中,核酸序列的表达涉及以下一项或多项:(1)从DNA序列(例如通过转录)产生RNA模板;(2)处理RNA转录物(例如通过剪接、编辑、5'帽形成和/或3'端形成);(3)将RNA翻译成多肽或蛋白质;和/或(4)多肽或蛋白质的翻译后修饰。

[0079] 杂芳基(heteroaryl):单独使用或作为较大部分的一部分使用的术语“杂芳基”和“杂芳-(heteroar-)",例如“杂芳烷基(heteroaralkyl)”或“杂芳烷氧基(heteroaralkoxy)",是指如下单环或双环基团:具有5至10个环原子(例如,5至6元单环杂芳基或9至10元双环杂芳基);在环状阵列中共享6、10或14个 π 电子;并且除碳原子以外,具

有一到五个杂原子。示范性杂芳基基团包括但不限于噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡啶基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡啶基、吡啶酮基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、𠄎𦉳𦉰基、嘌呤基、茶啖基、蝶啖基、咪唑并[1,2-a]嘧啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、噻吩并嘧啶基、三唑并吡啶基及苯并异噁唑基。如本文所使用的术语“杂芳基”和“杂芳-”还包含其中杂芳族环与一个或多个芳基、环脂肪族或杂环基环稠合的基团，其中连接基团或连接点位于杂芳族环(即，具有1至3个杂原子的双环杂芳基环)上。非限制性实例包含𠄎𦉳𦉰基、异𠄎𦉳𦉰基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、𠄎𦉰基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、苯并噻二唑基、苯并噁唑基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、4H-喹嗒基、𦉰𦉰基、𦉰𦉰基、𦉰𦉰基、𦉰𦉰基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、吡啶并[2,3-b]-1,4-噁𦉰-3(4H)-𦉰及苯并异噁唑基。术语“杂芳基(heteroaryl)”与术语“杂芳基环(heteroaryl ring)”、“杂芳基基团(heteroaryl group)”或“杂芳香族基(heteroaromatic)”可以互换使用，这些术语中的任一个都包含任选地被取代的环。

[0080] 杂原子:术语“杂原子”意指氧、硫、氮、磷或硅中的一种或多种(包含氮、硫、磷或硅的任何氧化形式;任何碱性氮的季铵化形式;或杂环的可取代氮,例如N(如3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如吡咯烷基中)或NR⁺(如经N取代的吡咯烷基中))。

[0081] 杂环(heterocycle):术语“杂环(heterocycle)”、“杂环基(heterocyclyl)”、“杂环基(heterocyclic radical)”和“杂环(heterocyclic ring)”在本文中可互换地使用,并且是指稳定的3至8元单环、7至12元双环或10至16元多环杂环部分,其为饱和或部分不饱和的并且除碳原子外还具有一个或多个(如一个至四个)杂原子,如上文所定义。当关于杂环的环原子使用时,术语“氮”包含经取代的氮。例如,在具有0至3个选自氧、硫或氮的杂原子的饱和或部分不饱和环中,氮可为N(如3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如吡咯烷基中)或NR⁺(如N取代的吡咯烷基中)。杂环可以在任何杂原子或碳原子处连接到其侧基,从而产生稳定结构,并且任何环原子可以任选地经取代。此类饱和或部分不饱和杂环基团的实例包含但不限于氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、哌啶基、十氢喹啉基、噁唑烷基、哌嗪基、四氢吡喃基、二氧杂环己烷基、二氧戊环基、二氮呼基、噁氮呼基、

噻氮呋基、吗啉基、硫吗啉基和/或  杂环基基团可以是单环、双环、三环或多环的，

优选地是单环、双环或三环的,更优选地是单环或双环的。双环杂环还包含其中杂环与一个或多个芳基环稠合的基团。示范性双环杂环基团包含吡啶基、异吡啶基、苯并间二氧杂环戊烯基、1,3-二氢异苯并呋喃基、2,3-二氢苯并呋喃基和四氢喹啉基。双环杂环还可以是螺环系统(例如,除碳原子以外还具有一个或多个如上文所定义的杂原子(例如一个、两个、三个或四个杂原子)的7至11元螺环稠合杂环)。双环杂环还可以是桥环系统(例如,具有一个、两个或三个桥接原子的7至11元桥接杂环)。

[0082] 抑制剂(inhibitory agent):如本文所使用的术语“抑制剂”是指其存在、水平或程度与标靶的水平或活性降低相关的实体、条件或事件)。在一些实施方案中,抑制剂可以直接起作用(在这种情况下,例如通过与标靶结合直接对其标靶施加影响);在一些实施方案中,抑制剂可以间接起作用(在这种情况下,通过与标靶的调节剂相互作用和/或以其它

方式改变标靶的调节剂以使标靶的水平和/或活性降低而施加其影响)。在一些实施方案中,抑制剂是其存在或水平与相对于特定参考水平或活性(例如,在适当的参考条件,如存在已知的抑制剂,或不存在所讨论的抑制剂等条件下观测到的水平或活性)降低的标靶水平或活性相关的抑制剂。

[0083] 体外(in vitro):如本文所使用的术语“体外”是指在人工环境,例如在试管或反应器中、在细胞培养物中等,而非在多细胞生物体内发生的事件。

[0084] 经分离(isolated):如本文中所用,“经分离”是指物质和/或实体(1)已与最初产生时与其相关的至少一些组分分离(无论在自然界中和/或在实验环境中),和/或(2)通过人力设计、产生、制备和/或制造。经分离的物质和/或实体可与约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或超过约99%的与其最初缔合的其它组分分离。在一些实施方案中,经分离的试剂的纯度为约80%、约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或超过约99%。如本文所用,如果物质基本上不含其它组分,则其为“纯的”。在一些实施方案中,如本领域的技术人员将理解,一种物质在已经与某些其它组分(例如一种或多种载剂或赋形剂(例如缓冲液、溶剂、水等))合并之后仍然可以被视为“经分离的”或甚至“纯的”;在此类实施方案中,所述物质的分离或纯度百分比的计算不包含此类载剂或赋形剂。仅举一例,在一些实施方案中,当出现以下情况时,天然存在的如多肽或多核苷酸等生物聚合物被认为是“经分离的”,a)由于其衍生起源或来源,所述生物聚合物在自然界中不与在所述生物聚合物的天然状态下伴随所述生物聚合物的一些或全部组分相缔合;b)大体上不含来自自然界产生所述生物聚合物的物种的同一物种的其它多肽或核酸;c)由来自细胞或其它表达系统的组分表达或以其它方式与其缔合,所述细胞或其它表达系统不是在自然界中产生所述生物聚合物的物种。因此,举例来说,在一些实施方案中,经化学合成或在不同于在自然界中产生多肽的细胞系统中合成的多肽被视为“经分离”多肽。或者或另外,在一些实施方案中,已经受一种或多种纯化技术的多肽就其已与a)在自然界中相关;和/或b)在起初产生时相关的其它组分分离来说可被视为“经分离”多肽。

[0085] 体内:如本文中所用,是指在多细胞生物体,如人类和非人类动物内发生的事件。在基于细胞的系统的情况下,所述术语可用于指代在活细胞(与例如体外系统相反)内发生的事件。

[0086] 连接子:如本文所使用,用以指代将不同元件彼此连接的多元件多肽的部分。例如,本领域的普通技术人员将理解,其结构包含两个或更多个功能性结构域或组织结构域的多肽通常包含此类结构域之间的将其彼此连接的一段氨基酸。在一些实施方案中,多肽包括具有一般形式S1-L-S2的总体结构的连接子元件,其中S1和S2可相同或不同且表示两个通过连接子彼此缔合的结构域。在一些实施方案中,多肽连接子的长度为至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100个或更多个氨基酸。在一些实施方案中,连接子的特征在于,其不采用刚性三维结构,而是采用能为多肽提供柔性的三维结构。在工程改造多肽(例如融合多肽)时可恰当地使用的多种不同连接子元件为本领域中已知的(参见例如 Holliger, P. 等人(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J. 等人

(1994)Structure 2:1121-1123)。

[0087] 纳米粒子:如本文所使用的术语“纳米粒子”是指直径小于1000纳米(nm)的粒子。在一些实施方案中,如由美国国家科学基金会(National Science Foundation)定义,纳米粒子的直径小于300nm。在一些实施方案中,如由美国国家卫生研究院(National Institutes of Health)定义,纳米粒子的直径小于100nm。在一些实施方案中,纳米粒子为微胞,这在于其包括通过微胞膜自本体溶液分离的闭合区室,所述膜通常包括包围且围封一空间或区室(例如,以界定一内腔)的两亲实体。在一些实施方案中,微胞膜包括至少一种聚合物,例如可生物相容的和/或可生物降解的聚合物。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子的平均流体动力学直径可为约30到约170nm。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子平均流体动力学直径可为约30nm、35nm、40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm、150nm、155nm、160nm、165nm、170nm或具有由前述各值中的任何两个限定的端点的任何范围。举例来说,在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子的平均流体动力学直径在50nm到100nm之间。

[0088] 纳米粒子组合物(Nanoparticle composition):如本文所使用的术语“纳米粒子组合物”是指含有至少一种纳米粒子和至少一种额外试剂或成分的组合。在一些实施方案中,纳米粒子组合物含有如本文所述的纳米粒子的大体上均一集合。

[0089] 核酸(Nucleic acid):如本文所使用,在其最广泛意义上是指并入或可以并入寡核苷酸链中的任何化合物和/或物质。在一些实施方案中,核酸是通过磷酸二酯键并入或可以通过磷酸二酯键并入寡核苷酸链中的化合物和/或物质。如将从上下文显而易见,在一些实施方案中,“核酸”是指个别核酸残基(例如,核苷酸和/或核苷);在一些实施方案中,“核酸”是指包括个别核酸残基的寡核苷酸链。在一些实施方案中,“核酸”为或包括RNA;在一些实施方案中,“核酸”为或包括DNA。在一些实施方案中,核酸是一个或多个天然核酸残基、包括一个或多个天然核酸残基或由一个或多个天然核酸残基组成。在一些实施方案中,核酸是一个或多个核酸类似物、包括一个或多个核酸类似物或由一个或多个核酸类似物组成。在一些实施方案中,核酸类似物与核酸的不同之处在于其不利用磷酸二酯主链。例如,在一些实施方案中,核酸是一个或多个“肽核酸”、包括一个或多个“肽核酸”或由一个或多个“肽核酸”组成,其在本领域中是已知的并且在主链中具有代替磷酸二酯键的肽键,被视为处于本发明的范围内。或者或另外,在一些实施方案中,核酸具有一个或多个硫代磷酸酯和/或5'-N-氨基亚磷酸酯键而非磷酸二酯键。在一些实施方案中,核酸为以下、包括以下或由以下组成:一个或多个天然核苷(例如腺苷、胸苷、鸟苷、胞苷、尿苷、脱氧腺苷、脱氧胸苷、脱氧鸟苷和脱氧胞苷)。在一些实施方案中,“核酸”为以下、包括以下或由以下组成:一个或多个核苷类似物(例如2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞苷、C-5丙炔基-胞苷、C-5丙炔基-尿苷、2-氨基腺苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基-尿苷、C5-丙炔基-胞苷、C5-甲基胞苷、2-氨基腺苷、7-脱氮腺苷、7-脱氮鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、0(6)-甲基鸟嘌呤、2-硫代胞苷、甲基化碱基、嵌入的碱基及其组合)。在一些实施方案中,与天然核酸中的糖类相比,核酸包括一种或多种经修饰的糖(例如2'-氟核糖、核糖、2'-脱氧核苷、阿拉伯糖和己糖)。在一些实施方案中,核酸具有对如RNA或蛋白质等功能性基因产物进行编码的核苷酸序列。在一些实施方案中,核酸包含一个或多个内含

子。在一些实施方案中,通过以下中的一种或多种制备核酸:从天然来源分离、基于互补模板的聚合进行酶促合成(体内或体外)、在重组细胞或系统中繁殖和化学合成。在一些实施方案中,核酸的长度为至少3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000个或更多个残基。在一些实施方案中,核酸为部分或完全单链的;在一些实施方案中,核酸为部分或完全双链的。在一些实施方案中,核酸具有包括对多肽进行编码的至少一个元件的核苷酸序列,或者是对多肽进行编码的互补序列。在一些实施方案中,核酸具有酶活性。

[0090] 可操作地连接(Operably linked):如本文所用,是指所描述的组分处于准许其以其预期方式作用的关系中的并接。“可操作地连接”于功能元件的控制元件以使得功能元件的表达和/或活动在与控制元件相容的条件下实现的方式相关联。在一些实施方案中,“可操作地连接”的控制元件与所关注的编码元件邻接(例如,共价连接);在一些实施方案中,控制元件反作用于所关注的功能元件,或以其它方式作用于所关注的功能元件。

[0091] 肠胃外(Parenteral):如本文中所述的短语“肠胃外施用(parenteral administration)”和“经肠胃外施用(administered parenterally)”具有其在本领域中所理解的含义,是指除肠内和局部施用以外的施用模式,通常是通过注射,并且包含但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内以及胸骨内注射和输注。

[0092] 患者(Patient):如本文中所述的术语“患者”是指例如出于实验、诊断、预防、美容和/或治疗目的而施用或可以施用所提供的组合物的任何生物体。典型的患者包含动物(例如哺乳动物,如小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物和/或人类)。在一些实施方案中,患者是人类。在一些实施方案中,患者患有或易患一种或多种病症或病状。在一些实施方案中,患者表现出病症或病状的一种或多种症状。在一些实施方案中,患者已被诊断为患有一种或多种病症或病状。在一些实施方案中,病症或病状是或包含癌症,或存在一种或多种肿瘤。在一些实施方案中,患者正在接受或已经接受某些疗法以诊断和/或治疗疾病、病症或病状。

[0093] 药物组合物(Pharmaceutical composition):如本文所使用的术语“药物组合物”是指与一种或多种药学上可接受的载剂一起调配的活性剂。在一些实施方案中,活性剂以适于在治疗方案中施用的单位剂量的量存在,当向相关群体施用,所述治疗方案显示出达到预定治疗作用的统计学上显著的概率。在一些实施方案中,可将药物组合物专门调配成用于按固体或液体形式施用,包含适合于以下施用方式的药物组合物:口服,例如灌服药(水性或非水溶液或悬浮液)、片剂,例如靶向颊内、舌下和全身吸收的片剂、应用于舌部的大丸剂、粉末剂、颗粒剂、糊剂;肠胃外施用,例如以(例如)无菌溶液或悬浮液或持续释放调配物的形式通过皮下、肌肉内、静脉内或硬膜外注射施用;局部施用,例如以乳膏、软膏或控制释放贴片或喷雾剂的形式应用于皮肤、肺或口腔;阴道内或直肠内,例如作为子宫托、乳膏或泡沫;经舌下;经眼;经皮;或经鼻、经肺以及经其它粘膜表面。

[0094] 药学上可接受的(Pharmaceutically acceptable):如本文所使用,短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内,适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的益处/风险比相匹配的那些化合物、材料、组

合物和/或剂型。

[0095] 药学上可接受的载剂(Pharmaceutically acceptable carrier):如本文所使用的术语“药学上可接受的载剂”意指药学上可接受的材料、组合物或媒剂,如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂或溶剂包裹材料,其参与将本发明化合物从身体的一个器官或部分携带或运输到身体的另一个器官或部分。在与调配物的其它成分相容并且对患者无害的意义上讲,每种载剂必须是“可接受的”。可以用作药学上可接受的载剂的材料的一些实例包含:糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;粉状黄蓍胶;麦芽;明胶;滑石粉;赋形剂,如可可脂和栓剂蜡类;油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;二醇,如丙二醇;多元醇,如丙三醇、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;藻酸;无热原水;等渗盐水;林格氏溶液(Ringer's solution);乙醇;pH缓冲溶液;聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐;以及药物调配物中所用的其它无毒可相容物质。

[0096] 药学上可接受的盐(Pharmaceutically acceptable salt):如本文所使用的术语“药学上可接受的盐”是指适合于在药学背景中使用的这类化合物的盐,即在合理的医学判断范围内,适合与人类和低等动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应等,并且与合理的益处/风险比相匹配的盐。药学上可接受的盐是本领域中熟知的。例如,S.M.Berge等人在J.Pharmaceutical Sciences,66:1-19(1977)中详细描述了药学上可接受的盐。在一些实施方案中,药学上可接受的盐包含但不限于无毒的酸加成盐,其是氨基与无机酸或与有机酸形成的盐,所述无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸以及高氯酸,所述有机酸如乙酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸,或通过使用本领域中所用的其它方法,如离子交换法形成的盐。在一些实施方案中,药学上可接受的盐包含但不限于:己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘化物、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐(lactobionate)、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、扑酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。代表性碱金属盐或碱土金属盐包含钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等。在一些实施方案中,适当时,药学上可接受的盐包含使用抗衡离子形成的无毒的铵、季铵以及胺阳离子,抗衡离子例如是卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、具有1至6个碳原子的烷基、磺酸根以及芳基磺酸根。

[0097] 预防(prevent/prevention):如本文所使用,当结合疾病、病症和/或病状的存在使用时,是指降低患上疾病、病症和/或病状的风险和/或延迟疾病、病症或病状的一个或多个特征或症状的发作。当疾病、病症或病状的发作已被延迟预定一段时间时,可以认为预防完成。

[0098] 多肽(Polypeptide):如本文所使用的术语“多肽”通常具有作为至少三个氨基酸的聚合物的本领域公认的含义。本领域的普通技术人员将理解,术语“多肽”旨在足够一般,以便涵盖具有本文所列举的完整序列的多肽,同时涵盖表示此类完整多肽的功能性片段

(例如,保留至少一种活性的片段)的多肽。此外,本领域的普通技术人员将理解,蛋白质序列通常可以在不破坏活性的情况下进行一些取代。因此,如本文所使用的相关术语“多肽”涵盖保留活性并与同一类别的另一种多肽共享至少约30至40% (通常大于约50%、60%、70%或80%)的总体序列一致性,并且进一步通常包含至少一个具有更高一致性的区(在一个或多个高度保守区中,所述一致性通常大于90%或甚至95%、96%、97%、98%或99%),一般涵盖至少3至4个以及通常高达20个或更多个氨基酸的任何多肽。多肽可含有L-氨基酸、D-氨基酸或其两者,且可含有本领域中已知的多种氨基酸修饰或类似物中的任一种。适用的修饰包含例如末端乙酰化、酰胺化、甲基化等。在一些实施方案中,蛋白质可包括天然氨基酸、非天然氨基酸、合成氨基酸及其组合。术语“肽”一般用于指长度小于约100个氨基酸、小于约50个氨基酸、小于20个氨基酸或小于10个氨基酸的多肽。在一些实施方案中,蛋白质是抗体、抗体片段、其生物活性部分和/或其特征部分。

[0099] 预防(Prevention):如本文所使用的术语“预防”是指延迟特定疾病、病症或病状的一种或多种症状的发作,和/或降低其频率和/或严重程度。在一些实施方案中,在群体基础上评估预防,使得如果在易患疾病、病症或病状的群体中观测到疾病、病症或病状的一种或多种症状的发展、频率和/或强度的统计学上显著降低,那么认为药剂会“预防”特定疾病、病症或病状。当疾病、病症或病状的发作已被延迟预定一段时间时,可以认为预防完成。

[0100] 保护基(Protecting Group):如本文中所述的短语“保护基”是指避免潜在在反应性官能团发生不希望的化学转化的临时取代基。这类保护基的实例包含羧酸酯、醇的硅醚以及醛和酮各自的缩醛和缩酮。“Si保护基”是包括Si原子的保护基,如Si-三烷基(例如,三甲基硅基、三丁基硅基、叔丁基二甲基硅基)、Si-三芳基、Si-烷基-二苯基(例如,叔丁基二苯基硅基)或Si-芳基-二烷基(例如,Si-苯基二烷基)。一般来说,Si保护基与氧原子连接。保护基化学的领域已有综述(Greene,T.W.;Wuts,P.G.M.Protective Groups in Organic Synthesis,第2版;Wiley:New York,1991)。下文详细描述了这类保护基(和相关的保护部分)。

[0101] 羟基保护基是本领域中众所周知的,并且包含Protecting Groups in Organic Synthesis,T.W.Greene及P.G.M.Wuts,第3版,John Wiley&Sons,1999中详细描述羟基保护基,所述文献的全部内容以引用的方式并入本文中。适当保护的羟基的实例进一步包含但不限于酯、碳酸酯、磺酸酯、烯丙基醚、醚、硅醚、烷基醚、芳基烷基醚和烷氧基烷基醚。合适的酯的实例包含甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、戊酸酯、巴豆酸酯和苯甲酸酯。合适的酯的具体实例包含甲酸酯、苯甲酰甲酸酯、氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、对氯苯氧基乙酸酯、3-苯基丙酸酯、4-氧代戊酸酯、4,4-(亚乙基二硫基)戊酸酯、新戊酸酯(三甲基乙酸酯)、巴豆酸酯、4-甲氧基-巴豆酸酯、苯甲酸酯、对苯甲基苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯。合适的碳酸酯的实例包含碳酸9-苄基甲酯、碳酸乙酯、碳酸2,2,2-三氯乙酯、碳酸2-(三甲基硅基)乙酯、碳酸2-(苯磺酰基)乙酯、碳酸乙烯酯、碳酸烯丙酯以及碳酸对硝基苯甲酯。合适的硅醚的实例包含三甲基硅醚、三乙基硅醚、叔丁基二甲基硅醚、叔丁基二苯基硅醚、三异丙基硅醚和其它三烷基硅醚。合适的烷基醚的实例包括甲基醚、苯甲基醚、对甲氧基苯甲基醚、3,4-二甲氧基苯甲基醚、三苯甲基醚、叔丁基醚以及烯丙醚或其衍生物。烷氧基烷基醚包含缩醛,如甲氧基甲醚、甲硫基甲醚、(2-甲氧基乙氧基)甲醚、苯甲氧基甲醚、 β -(三甲基硅基)乙氧基甲醚和四氢吡喃-2-基醚。合适的芳基烷基醚的实例包含苯

甲醚、对甲氧基苯甲基 (MPM) 醚、3,4-二甲氧基苯甲醚、邻硝基苯甲醚、对硝基苯甲醚、对卤基苯甲醚、2,6-二氯苯甲醚、对氰基苯甲醚、2-吡啶甲基醚和4-吡啶甲基醚。

[0102] 被保护的胺是本领域中众所周知的并且包含Greene (1999) 中详细描述的被保护的胺。合适的单保护胺进一步包含但不限于芳烷基胺、氨基甲酸酯、烯丙基胺、酰胺等。合适的单保护氨基部分的实例包含叔丁氧基羰基氨基 (-NHBOC)、乙氧基羰基氨基、甲氧基羰基氨基、三氯乙氧基羰基氨基、烯丙氧基羰基氨基 (-NHAlloc)、苯甲氧基羰基氨基 (-NHCBZ)、烯丙基氨基、苯甲基氨基 (-NHBn)、苄基甲基羰基 (-NHFmoc)、甲酰胺基、乙酰胺基、氯乙酰胺基、二氯乙酰胺基、三氯乙酰胺基、苯基乙酰胺基、三氟乙酰胺基、苯甲酰胺基、叔丁基二苯基硅基等。合适的双保护胺包含被两个独立地选自上文描述为单保护胺的取代基的取代基取代的胺,并进一步包含环酰亚胺,例如邻苯二甲酰亚胺、马来酰亚胺、琥珀酰亚胺等。合适的双保护胺还包含吡咯等、2,2,5,5-四甲基-[1,2,5]氮杂二硅杂环戊烷等、以及叠氮化合物。

[0103] 被保护的醛是本领域中众所周知的并且包含Greene (1999) 中详细描述的被保护的醛。合适的被保护的醛进一步包含但不限于非环缩醛、环缩醛、腙、亚胺等。这类基团的实例包含二甲基缩醛、二乙基缩醛、二异丙基缩醛、二苯甲基缩醛、双(2-硝基苯甲基)缩醛、1,3-二噁烷、1,3-二氧杂环戊烷、缩氨基脲和其衍生物。

[0104] 被保护的羧酸是本领域中众所周知的并且包括Greene (1999) 中详细描述的被保护的羧酸。合适的被保护羧酸进一步包含但不限于任选地被取代的C₁₋₆脂肪族基酯、任选地被取代的芳基酯、硅基酯、活化酯、酰胺、酰肼等。这类酯基的实例包含甲酯、乙酯、丙酯、异丙酯、丁酯、异丁酯、苯甲酯及苯基酯,其中每个基团任选地被取代。其它合适的被保护的羧酸包括噁唑啉和原酸酯。

[0105] 被保护的硫醇是本领域中众所周知的并且包含Greene (1999) 中详细描述的被保护的硫醇。合适的被保护的硫醇进一步包含但不限于二硫化物、硫醚、硅基硫醚、硫酯、硫代碳酸酯及硫代氨基甲酸酯等。这类基团的实例包含但不限于烷基硫醚、苯甲基硫醚和经取代的苯甲基硫醚、三苯甲基硫醚和三氯乙氧基羰基硫酯等等。

[0106] 蛋白质:如本文所使用的术语“蛋白质”是指一种或多种作为离散单元发挥作用的多肽。如果单个多肽为离散功能单元且不需要与其它多肽进行永久或暂时的物理缔合以形成离散功能单元,那么术语“多肽”和“蛋白质”可以互换地使用。如果离散功能性单元包括彼此物理缔合的超过一个多肽,那么术语“蛋白质”可以用于指物理缔合且作为离散单元共同发挥作用的多个多肽。在一些实施方案中,蛋白质可包啊很难除氨基酸之外的部分(例如可为糖蛋白、蛋白多糖等)和/或可以其它方式处理或修饰。本领域的普通技术人员将了解,在一些实施方案中,术语“蛋白质”可以指由细胞产生的完整多肽链(例如,具有或不具有信号序列),和/或指在细胞内具有活性的形式(例如,截短或复合形式)。在蛋白质包括多个多肽链的一些实施方案中,这类链可以例如通过一个或多个二硫键彼此共价结合,或可以通过其它方式缔合。

[0107] 纯(Pure):如本文所用,如果试剂或实体大体上不含其它组分,那么其为“纯”的。例如,含有超过约90%特定试剂或实体的制剂通常被认为是纯的制剂。在一些实施方案中,试剂或实体是至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%纯的。

[0108] 参考(Reference):如本文中所用,描述了一种标准或对照,以此为基础进行比较。例如,在一些实施方案中,将所关注药剂、动物、个体、群体、样品、序列或值与参考或对照药剂、动物、个体、群体、样品、序列或值进行比较。在一些实施方案中,基本上在进行所关注的测试或确定的同时测试和/或确定参考或对照。在一些实施方案中,参考或对照是任选地体现在有形介质中的历史参考或对照。通常,如本领域技术人员所理解,在与评估中的条件或环境类似的条件下确定或表征参考或对照。本领域的技术人员将理解何时存在足够的相似性来证明对特定可能的参考或对照的依赖和/或比较。

[0109] 样品(Sample):如本文所使用的术语“样品”通常是指从所关注来源获得或源自所述来源的材料等分试样,如本文所述。在一些实施方案中,所关注的来源为生物或环境来源。在一些实施方案中,所关注的来源可以是或包括细胞或生物体,例如微生物、植物或动物(例如人类)。在一些实施方案中,所关注的来源为或包括生物组织或流体。在一些实施方案中,生物组织或流体可以是或包括羊水、房水、腹水、胆汁、骨髓、血液、母乳、脑脊髓液、耳垢、乳糜、食糜、射出的精液(ejaculate)、内淋巴液、渗出液、粪便、胃酸、胃液、淋巴液、粘液、心包液、外淋巴液、腹膜液、胸膜液、脓汁、发炎性分泌物(rheum)、唾液、皮脂、精液、血清、包皮垢、痰液、滑液、汗液、泪液、尿液、阴道分泌物、玻璃体液、呕吐物、和/或其组合或组分。在一些实施方案中,生物流体可以是或包括胞内液、胞外液、血管内液(血浆)、间质液、淋巴液和/或跨细胞液。在一些实施方案中,生物流体可以是或包括植物渗出液。在一些实施方案中,生物组织或样品可以例如通过抽吸、活检(例如,细针或组织活检)、拭子(例如,口拭子、鼻拭子、皮肤拭子或阴道拭子)、刮擦、手术、洗涤或灌洗(例如,支气管肺泡、导管、鼻、眼部、口腔、子宫、阴道或其它洗涤或灌洗)获得。在一些实施方案中,生物样品是或包括从个体获得的细胞。在一些实施方案中,样品是通过任何适当的方式直接从所关注的来源获得的“初级样品”。在一些实施方案中,如将从上下文显而易见,术语“样品”是指通过处理初级样品(例如,通过去除初级样品中的一种或多种组分和/或通过向初级样品中添加一种或多种试剂)而获得的制剂。例如,使用半渗透膜进行过滤。此“经处理的样品”可以包括例如从样品中提取的或通过对初级样品进行一种或多种诸如核酸的扩增或逆转录、某些组分的分离和/或纯化等技术而获得的核酸或蛋白质。

[0110] 稳定的纳米粒子组合物(Stable Nanoparticle Composition):当应用于本文中的组合物时,术语“稳定”意指组合物在一段时间内维持其物理结构(例如粒子的大小范围和/或分布)的一个或多个方面。在一些实施方案中,稳定的纳米粒子组合物是其平均粒度、最大粒度、粒度范围和/或粒度分布(即,高于指定尺寸和/或在指定尺寸范围外的粒子百分比)在指定条件下维持一段时间的组合物。在一些实施方案中,所提供的稳定组合物是生物学相关活性维持一段时间的组合物。在一些实施方案中,这段时间是至少约一小时;在一些实施方案中,这段时间是约5小时、约10小时、约一(1)天、约一(1)周、约两(2)周、约一(1)个月、约两(2)个月、约三(3)个月、约四(4)个月、约五(5)个月、约六(6)个月、约八(8)个月、约十(10)个月、约十二(12)个月、约二十四(24)个月、约三十六(36)个月或更久。在一些实施方案中,这段时间在约一(1)天到约二十四(24)个月、约两(2)周到约十二(12)个月、约两(2)个月到约五(5)个月等范围内。例如,如果一群纳米粒子经受延长储存、温度改变和/或pH变化,并且组合物中的大部分纳米粒子维持在所述范围内的直径,那么纳米粒子组合物是稳定的。在一些实施方案中,稳定组合物在环境条件下是稳定的。在一些实施方案中,

稳定组合物在生物条件(即37℃,在磷酸盐缓冲盐水中)下是稳定的。

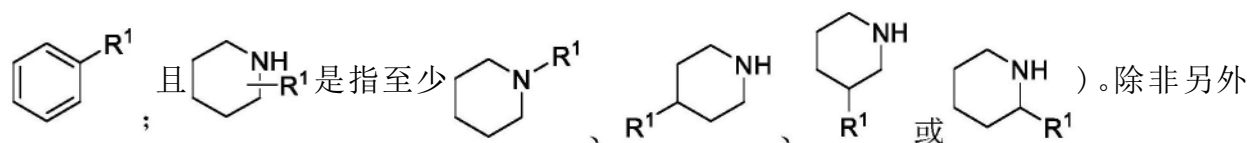
[0111] 甾醇基(Sterolyl):如本文所使用的术语“甾醇基”是指饱和或部分不饱和并且被至少一个羟基取代的17元稠合多环部分,并且具有与任何可取代的碳或氧原子处的分子的其余部分的单个连接点。在一些实施方案中,甾醇基是胆甾醇基或其变体或衍生物。在一些实施方案中,胆甾醇基经修饰。在一些实施方案中,胆甾醇基是氧化的胆甾醇基(例如在β环结构上或烃尾结构上氧化)。在一些实施方案中,胆甾醇基是酯化的胆甾醇基。在一些实施方案中,甾醇基是植物甾醇基。示范性甾醇基基团包含但不限于25-羟基胆甾醇基(25-OH)、20α-羟基胆甾醇基(20α-OH)、27-羟基胆甾醇基、6-酮基-5α-羟基胆甾醇基、7-酮基胆甾醇基、7β-羟基胆甾醇基、7α-羟基胆甾醇基、7β-25-二羟基胆甾醇基、β-谷甾醇基、豆甾醇基、菜籽甾醇基、菜油甾醇基。

[0112] 个体:如本文所使用的术语“个体”是指生物体,通常是指哺乳动物(例如人类,在一些实施方案中包含出生前的人类形式)。在一些实施方案中,个体患有相关疾病、病症、或病状。在一些实施方案中,个体易患疾病、病症或病状。在一些实施方案中,个体显示出疾病、病症或病状的一种或多种症状或特征。在一些实施方案中,个体未显示出疾病、病症或病状的任何症状或特征。在一些实施方案中,个体是指具有以下一个或多个特征的个体,其特征易于患或有风险患疾病、病症或病状。在一些实施方案中,个体是患者。在一些实施方案中,个体是正在和/或已经对其进行诊断和/或治疗的个体。

[0113] 大体上(substantially):如本文所使用的术语“大体上”是指展现全部或接近全部范围或程度的所关注特征或性质的定性条件。生物学领域的普通技术人员应理解,生物学和化学现象很少(如果有的话)达到完全和/或进行到完全或者实现或避免绝对结果。因此,术语“大体上”在本文中用于捕获许多生物学和化学现象中所固有的潜在完全性缺乏。

[0114] 经取代(Substituted)或任选地经取代(optionally substituted):如本文所述,本公开的化合物可以含有任选地被取代的部分和/或经取代的部分。一般来说,术语“经取代”无论前面有还是没有术语“任选地”,都意指指定部分的一个或多个氢经合适的取代基

置换。“经取代”适用于一个或多个从结构中明确或暗示的氢(例如 -R¹是指至少



指示,否则“任选地被取代的”基团可以在基团的每个可取代位置处具有合适的取代基,并且当任何既定结构中的超过一个位置可以经一个以上选自指定基团的取代基取代时,在每一位置处取代基可以是相同或不同的。本公开所设想的取代基组合优选是能使稳定的或化学上可行的化合物形成的取代基组合。如本文所使用的术语“稳定”是指化合物在经历允许其产生、检测和在某些实施方案中其回收、纯化和用于本文中所公开的一种或多种目的条件时大体上不发生改变。被描述为“经取代的”基团优选地具有介于1至6个之间的取代基,更优选地1或2个取代基。被描述为“任选地被取代的”基团可以是未被取代的或“经取代的”,如上文所述。

[0115] 合适的单价取代基包含卤素;- (CH₂)₀₋₄R⁰; - (CH₂)₀₋₄OR⁰; -O(CH₂)₀₋₄R⁰; -O-(CH₂)₀₋₄C

(O)OR⁰; -(CH₂)₀₋₄CH(OR⁰)₂; -(CH₂)₀₋₄Ph, 其可被R⁰取代; -(CH₂)₀₋₄O(CH₂)₀₋₁Ph, 其可被R⁰取代; -CH=CHPh, 其可被R⁰取代; -(CH₂)₀₋₄O(CH₂)₀₋₁-吡啶基, 其可被R⁰取代; -NO₂; -CN; -N₃; -(CH₂)₀₋₄N(R⁰)₂; -(CH₂)₀₋₄N(R⁰)C(O)R⁰; -N(R⁰)C(S)R⁰; -(CH₂)₀₋₄N(R⁰)C(O)NR⁰₂; -N(R⁰)C(S)NR⁰₂; -(CH₂)₀₋₄N(R⁰)C(O)OR⁰; -N(R⁰)N(R⁰)C(O)R⁰; -N(R⁰)N(R⁰)C(O)NR⁰₂; -N(R⁰)N(R⁰)C(O)OR⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)R⁰; -C(S)R⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)OR⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)SR⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)OSiR⁰₃; -(CH₂)₀₋₄OC(O)R⁰; -OC(O)(CH₂)₀₋₄SR⁰; -SC(S)SR⁰; -(CH₂)₀₋₄SC(O)R⁰; -(CH₂)₀₋₄C(O)NR⁰₂; -C(S)NR⁰₂; -C(S)SR⁰; -(CH₂)₀₋₄OC(O)NR⁰₂; -C(O)N(OR⁰)R⁰; -C(O)C(O)R⁰; -C(O)CH₂C(O)R⁰; -C(NOR⁰)R⁰; -(CH₂)₀₋₄SSR⁰; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂R⁰; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂OR⁰; -(CH₂)₀₋₄OS(O)₂R⁰; -S(O)₂NR⁰₂; -(CH₂)₀₋₄S(O)R⁰; -N(R⁰)S(O)₂NR⁰₂; -N(R⁰)S(O)₂R⁰; -N(OR⁰)R⁰; -C(NH)NR⁰₂; -P(O)₂R⁰; -P(O)R⁰₂; -OP(O)R⁰₂; -OP(O)(OR⁰)₂; -SiR⁰₃; -OSiR⁰₃; -(C₁₋₄直链或支链亚烷基)O-N(R⁰)₂; 或-(C₁₋₄直链或支链亚烷基)C(O)O-N(R⁰)₂, 其中各R⁰可如下文所定义被取代且独立地为氢、C₁₋₆脂肪基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph、-CH₂-(5至6元杂芳基环)或具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5至6元饱和、部分不饱和或芳基环, 或尽管以上定义如此, 但R⁰在两次独立出现时与其中间原子结合在一起形成可如下文所定义被取代的具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3至12元饱和、部分不饱和、或芳基单环或双环。

[0116] R⁰ (或通过使两次独立出现的R⁰与其中间原子结合在一起形成的环)上的合适的单价取代基独立地为卤素、-(CH₂)₀₋₂R[•]、-(卤基R[•])、-(CH₂)₀₋₂OH、-(CH₂)₀₋₂OR[•]、-(CH₂)₀₋₂CH(OR[•])₂、-O(卤基R[•])、-CN、-N₃、-(CH₂)₀₋₂C(O)R[•]、-(CH₂)₀₋₂C(O)OH、-(CH₂)₀₋₂C(O)OR[•]、-(CH₂)₀₋₂SR[•]、-(CH₂)₀₋₂SH、-(CH₂)₀₋₂NH₂、-(CH₂)₀₋₂NHR[•]、-(CH₂)₀₋₂NR[•]₂、-NO₂、-SiR[•]₃、-OSiR[•]₃、-C(O)SR[•]、-(C₁₋₄直链或支链亚烷基)C(O)OR[•]或-SSR[•], 其中个R[•]未被取代或当前面有“卤基”时, 仅被一个或多个卤素取代, 且独立地选自C₁₋₄脂肪族基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph或具有0至4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元饱和、部分不饱和或芳基环。R⁰的饱和碳原子上的合适的二价取代基包含=O和=S。

[0117] 合适的二价取代基包括以下: =O、=S、=NNR^{*}₂、=NNHC(O)R^{*}、=NNHC(O)OR^{*}、=NNHS(O)₂R^{*}、=NR^{*}、=NOR^{*}、-O(C(R^{*})₂)₂₋₃O-或-S(C(R^{*})₂)₂₋₃S-, 其中R^{*}在每次独立出现时选自氢、可如下文所定义被取代的C₁₋₆脂肪族基、或具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未被取代的5至6元饱和、部分不饱和或芳基环。结合于“任选地被取代的”基团的邻位可取代碳的合适的二价取代基包含:-O(CR^{*})₂₋₃O-, 其中R^{*}在每次独立出现时选自氢、可如下文所定义被取代的C₁₋₆脂肪族基、或具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未被取代的5至6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0118] R^{*}的脂肪族基团上的合适的取代基包含卤素、-R[•]、-(卤基R[•])、-OH、-OR[•]、-O(卤基R[•])、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR[•]、-NH₂、-NHR[•]、-NR[•]₂或-NO₂, 其中各R[•]为未被取代的, 或当前面有“卤基”时仅被一个或多个卤素取代, 并且独立地为C₁₋₄脂肪族基、-CH₂Ph、-O(CH₂)₀₋₁Ph或具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5至6元饱和、部分不饱和或芳基环。

[0119] 在一些实施方案中, 可取代氮上的合适的取代基包含-R[†]、-NR[†]₂、-C(O)R[†]、-C(O)OR[†]、-C(O)C(O)R[†]、-C(O)CH₂C(O)R[†]、-S(O)₂R[†]、-S(O)₂NR[†]₂、-C(S)NR[†]₂、-C(NH)NR[†]₂或-N(R[†])S(O)₂R[†]; 其中各R[†]独立地为氢、可如下文所定义被取代的C₁₋₆脂肪族基、未被取代的-OPh、或具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未被取代的5至6元饱和、部分不饱

和或芳基环,或,尽管以上定义如此,但 $R^{\dagger}$ 在两次独立出现时与其中间原子一起形成具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的未被取代的3至12元饱和、部分不饱和或芳基单环或双环。

[0120] $R^{\dagger}$ 的脂肪族基团上的合适的取代基独立地为卤素、 $-R^{\bullet}$ 、 $-(\text{卤基}R^{\bullet})$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}^{\bullet}$ 、 $-\text{O}(\text{卤基}R^{\bullet})$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{\bullet}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^{\bullet}$ 、 $-\text{NR}_2^{\bullet}$ 或 $-\text{NO}_2$,其中各 $R^{\bullet}$ 为未被取代的,或当前面有“卤基”时仅被一个或多个卤素取代,并且独立地为 C_{1-4} 脂肪族基、 $-\text{CH}_2\text{Ph}$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ 、或具有0至4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的5至6员饱和、部分不饱和芳基环。

[0121] 易患... (Susceptible to): “易患”疾病、病症或病状的个体处于所述疾病、病症或病状发展的风险下。在一些实施方案中,易患疾病、病症或病状的个体没有显示出所述疾病、病症或病状的任何症状。在一些实施方案中,易患疾病、病症或病状的个体尚未诊断患有所述疾病、病症和/或病状。在一些实施方案中,易患疾病、病症或病状的个体是已暴露于与疾病、病症或病状的发展相关的条件的个体。在一些实施方案中,疾病、病症和/或病状发展的风险是基于群体的风险(例如患有所述疾病、病症或病状的个体的家族成员)。

[0122] 全身性 (Systemic): 如本文所用的短语“全身性施用”、“全身性地施用 (administered systemically)”、“外周施用 (peripheral administration)”以及“外周地施用 (给药 peripherally)”具有其在本领域中所理解的含义,是指施用化合物或组合物,使其进入接受者的系统。

[0123] 互变异构形式 (Tautomeric form): 如本文中所用的短语“互变异构形式”用于描述有机化合物的能够容易地相互转化的不同异构形式。互变异构体的特征可以在于氢原子或质子的形式迁移,伴随着单键和相邻双键的转换。在一些实施方案中,互变异构体可以由质子互变异构(即,质子的重新定位)产生。在一些实施方案中,互变异构体可以由价互变异构(即,成键电子的快速重组)产生。所有这类互变异构形式均旨在包含在本公开的范围。在一些实施方案中,化合物的互变异构形式彼此以动态平衡存在,因此尝试制备单独物质时会形成混合物。在一些实施方案中,化合物的互变异构形式是可分开的和可分离的化合物。在本公开的一些实施方案中,可以提供如下化学组合物:其是或包含化合物的单一互变异构形式的纯制剂。在一些实施方案中,化学组合物可以按化合物的两种或更多种互变异构形式的混合物形式提供。在某些实施方案中,这类混合物含有等量的不同互变异构形式;在某些实施方案中,这类混合物含有化合物的不同量的至少两种不同的互变异构形式。在本公开的一些实施方案中,化学组合物可以含有化合物的所有互变异构形式。在本公开的一些实施方案中,化学组合物可以含有化合物的不到全部的互变异构形式。在本公开的一些实施方案中,化学组合物可以含有化合物的一种或多种互变异构形式,其量因为相互转化而随时间推移改变。在本公开的一些实施方案中,互变异构是酮-烯醇互变异构。化学领域的技术人员将想到,酮-烯醇互变异构体可以使用化学领域中已知的任何合适的试剂“捕获”(即,化学改性以使其保持“烯醇”形式)以提供随后可以使用本领域中已知的一种或多种合适的技术分离的烯醇衍生物。除非另有指示,否则本公开涵盖相关化合物的所有互变异构形式,无论是纯形式还是彼此混合。

[0124] 治疗剂 (Therapeutic agent): 如本文中所用的短语“治疗剂”是指当施用于个体时具有治疗作用和/或引发所期望的生物学和/或药理学作用的药剂。在一些实施方案中,治疗剂是任何可用于缓解、改善、减轻、抑制、预防疾病、病症和/或病状的一个或多个症状

或特征、延迟其发作、降低其严重程度,和/或降低其发病率的物质。

[0125] 治疗有效量(Therapeutically effective amount):如本文中所用的术语“治疗有效量”意指物质(例如,治疗剂、组合物和/或调配物)的在作为治疗方案的一部分施用时能引发所期望的生物反应的量。在一些实施方案中,物质的治疗有效量是当向患有或易患疾病、病症和/或病状的个体施用时足以治疗、诊断、抑制、缓解、预防所述疾病、病症和/或病状和/或延迟其发作的量。如本领域的普通技术人员将理解,物质的有效量可以根据如期望的生物学端点、要递送的物质、靶细胞或组织等因素而变化。例如,治疗疾病、病症和/或病状的调配物中化合物的有效量为缓解、改善、减轻、抑制、预防疾病、病症和/或病状的一种或多种症状或特征,延迟其发作,降低其严重程度,和/或降低其发病率的量。在一些实施方案中,治疗有效量以单剂量施用;在一些实施方案中,需要多个单位剂量来递送治疗有效量。精确剂量将根据各种因素变化,如个体相关性变量(例如,年龄、免疫系统健康等)、疾病和所进行治疗。

[0126] “组织(Tissue)”和/或“器官(Organ)”:如本文所使用,除非另有规定,否则术语“组织”和/或“器官”是指呈聚合形式的存活细胞材料,例如小部分器官,以及分散细胞,例如从肌肉、心肌、肝脏或肾脏分散、分离和/或生长的细胞,包含骨髓细胞和子代细胞、血源干细胞和子代以及各种其它血液元件。在一些实施方案中,组织和/或器官是指肾、心脏、肝、胃、脾、胰腺、肺、大脑、眼睛、肠道、膀胱、皮肤或皮肤组织、血管、静脉、动脉、心脏瓣膜、精子和卵母细胞。如本文所使用的术语“器官”涵盖实体器官,例如肾、心脏、肝、肺,以及器官的功能部分,例如皮肤段、动脉段、静脉段、可移植肝叶、肾叶、肺叶等。

[0127] 治疗(Treatment):如本文所使用的术语“治疗(treatment)”(还有“治疗(treat/treating)”)是指施用一种疗法,其部分或完全缓解、改善、减轻、抑制特定疾病、病症和/或病状的一种或多种症状、特征和/或成因,延迟其发作,降低其严重程度和/或降低其发病率。在一些实施方案中,治疗可针对未出现相关疾病、病症和/或病状的病征的个体和/或仅出现疾病、病症和/或病状的早期病征的个体。或者或另外,这种治疗可以是针对出现相关疾病、病症和/或病状的一种或多种确定病征的个体。在一些实施方案中,治疗可针对已诊断为患有相关疾病、病症和/或病状的个体。在一些实施方案中,治疗可针对已知具有一种或多种易感因素的个体,所述易感因素在统计学上与相关疾病、病症和/或病状的发展风险增加相关。因此,在一些实施方案中,治疗可以是预防性的;在一些实施方案中,治疗可以是治疗性的。

[0128] 某些实施方案的详细描述

[0129] 本公开描述了如本文所述的一种或多种组分的选择和组合会影响脂质纳米粒子的功能活性,如期望的向性、稳定性和药物递送功效。此外,本发明提供用于将治疗剂和/或预防剂递送到靶细胞和/或组织的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。例如,本公开描述适用于组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的脂质化合物。在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括携带运载物到指定靶细胞、组织和/或器官的LNP。

[0130] I. 脂质纳米粒子(Lipid nanoparticle;LNP)

[0131] 本发明提供包括脂质纳米粒子的组合物、制剂和/或纳米材料。在一些实施方案中,脂质纳米粒子包括一种或多种组分。在一些实施方案中,脂质纳米粒子包括一种或多种组分,如化合物、可电离脂质、甾醇、缀合物-连接子脂质和磷脂。此外,本公开描述如本文所

述的组分中的一种或多种的选择和组合会影响脂质纳米粒子的特征,如直径、pKa、稳定性和可电离性。

[0132] 此外,本公开描述如本文所述的组分中的一种或多种的选择和组合会影响脂质纳米粒子的功能活性,如向性、稳定性和药物递送功效。例如,本公开描述组分的组合可以更好地适合siRNA的递送。作为另一实例,本公开描述组分的组合可以更好地适合mRNA的递送。作为另一实例,本公开描述组分的组合可以更好地适合DNA的递送。

[0133] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子包括一种或多种如本文所述的化合物。在一些实施方案中,脂质纳米粒子包括一种或多种如本文所述的可电离脂质。在一些实施方案中,脂质纳米粒子包括一种或多种如本文所述的甾醇。在一些实施方案中,脂质纳米粒子包括一种或多种如本文所述的缀合物-连接子脂质。在一些实施方案中,脂质纳米粒子包括一种或多种如本文所述的磷脂。

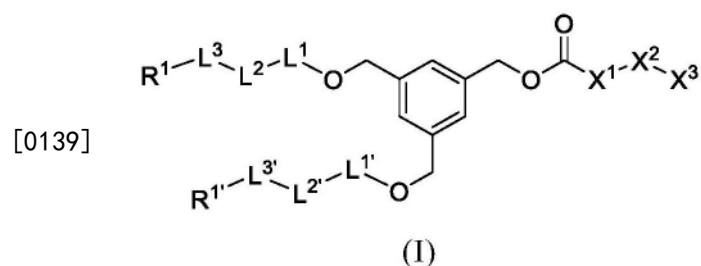
[0134] 在一些实施方案中,本公开提供特征在于核心部分大体上不含或完全不含立体中心(例如苯核心部分)的可电离脂质。以不受任何理论约束为前提,本公开提供了一种见解,即通过不对称合成来制备含有具有一个或多个立体中心的某些非平面核心部分的大体上纯的可电离脂质的立体异构体可能特别具有挑战性。尽管手性分离可用于实验室规模的合成,但其可能不适用于工业合成(例如,大规模合成)。本公开中提供的某些可电离脂质的一个优点是通入并大体上不含或完全不含立体中心(例如,苯核心部分)的核心部分而避免了这种担忧。因此,此外,某些所提供的脂质可能特别适合大规模制造,并可能在这些情况下提供某些优点。

[0135] 在一些实施方案中,本公开提供以平面核心部分(例如,苯核心部分)为特征的可电离脂质。以不受任何理论约束为前提,此类平面特点可影响相应组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料内的脂质双层结构的硬度,这将可能影响相应组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的包裹效率、直径和/或融合性。

[0136] A. 化合物

[0137] 此外,本公开描述包括一种或多种如本文所述的化合物的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。

[0138] 在一些实施方案中,本公开提供一种式I化合物:



[0140] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0141] L^1 及 $L^{1'}$ 各自独立地为 $-C(O)-$ 或 $-C(O)O-$;

[0142] L^2 及 $L^{2'}$ 各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链

C_1-C_{12} 烃链或 $\left(\text{---} \right)_m \text{Cy}^A \left(\text{---} \right)_m$;

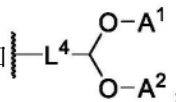
[0143] 各 Cy^A 独立地为选自亚苯基和3至7元饱和或部分不饱和亚碳环基的任选地被取代

的环;

[0144] 各 m 独立地为0、1或2;

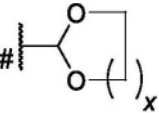
[0145] L^3 及 $L^{3'}$ 各自独立地为共价键、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 或 $-OC(O)O-$;

[0146] R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团:饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;3至12元饱和或部分

不饱和碳环;1-金刚烷基;2-金刚烷基;甾醇基;苯基;和;

[0147] 各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链;

[0148] A^1 及 A^2 各自独立地为任选地被取代的 C_1-C_{20} 脂肪族基或 $-L^5-R^5$;

[0149] 或 A^1 及 A^2 与其中间原子一起可形成任选地被取代的环:;

[0150] 其中

[0151] x 选自1或2;及

[0152] #表示与 L^4 的连接点;

[0153] 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

[0154] 各 R^5 独立地为选自5至10元芳基环及3至8元碳环的任选地被取代的基团;

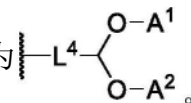
[0155] X^1 为共价键、 $-O-$ 或 $-NR-$;

[0156] X^2 为共价键或任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

[0157] X^3 为氢或 $-Cy^B$;

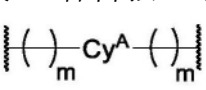
[0158] Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环:3至7元饱和或部分不饱和碳环基、苯基、具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3至7元饱和或部分不饱和杂环基,及具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元杂芳基;及

[0159] 各 R 独立地为氢或任选地被取代的 C_1-C_6 脂肪族基团;

[0160] 前提是当 X^3 为氢时, R^1 或 $R^{1'}$ 中的至少一者为.

[0161] 在一些实施方案中,本公开提供一种式I化合物或其药学上可接受的盐,其中:

[0162] L^1 及 $L^{1'}$ 各自独立地为 $-C(O)-$ 或 $-C(O)O-$;

[0163] L^2 及 $L^{2'}$ 各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链或;

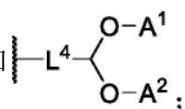
[0164] 各 Cy^A 独立地为选自亚苯基和3至7元饱和或部分不饱和亚碳环基的任选地被取代的环;

[0165] 各 m 独立地为0、1或2;

[0166] L^3 及 $L^{3'}$ 各自独立地为共价键、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 或 $-OC(O)O-$;

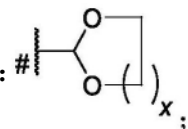
[0167] R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团:饱和或不饱和直链或支链

C₁-C₂₀烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换;3至7元饱和或部分

不饱和碳环;1-金刚烷基;2-金刚烷基;甾醇基;苯基;和 ;

[0168] 各L⁴独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₆烃链;

[0169] A¹及A²各自独立地为任选地被取代的C₁-C₂₀脂肪族基或-L⁵-R⁵;

[0170] 或A¹及A²与其中间原子一起可形成任选地被取代的环: ;

[0171] 其中

[0172] x选自1或2;及

[0173] #表示与L⁴的连接点;

[0174] 各L⁵独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₂₀烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换;

[0175] 各R⁵独立地为选自5至10元芳基环及3至8元碳环的任选地被取代的基团;

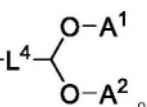
[0176] X¹为共价键、-O-或-NR-;

[0177] X²为共价键或任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₁₂烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换;

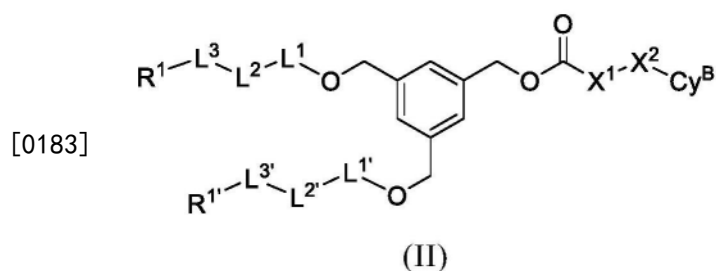
[0178] X³为氢或-Cy^B;

[0179] Cy^B为选自以下的任选地被取代的环:3至7元饱和或部分不饱和碳环基、苯基、具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3至7元饱和或部分不饱和杂环基,及具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元杂芳基;及

[0180] 各R独立地为氢或任选地被取代的C₁-C₆脂肪族基团;

[0181] 前提是当X³为氢时,R¹或R^{1'}中的至少一者为 .

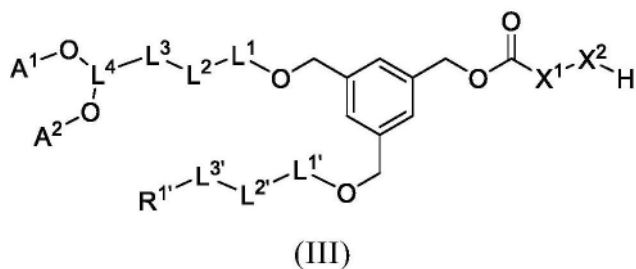
[0182] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(II)化合物:



[0184] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下,L¹、L^{1'}、L²、L^{2'}、L³、L^{3'}、R¹、R^{1'}、X¹、X²和Cy^B均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。

[0185] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(III)化合物:

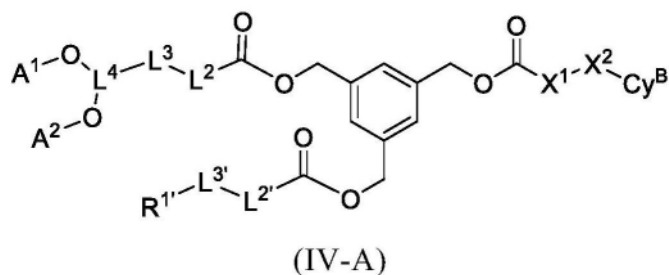
[0186]



[0187] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, L^1 、 $L^{1'}$ 、 L^2 、 $L^{2'}$ 、 L^3 、 $L^{3'}$ 、 L^4 、 A^1 、 A^2 、 $R^{1'}$ 、 X^1 和 X^2 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。

[0188] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(IV-A)化合物:

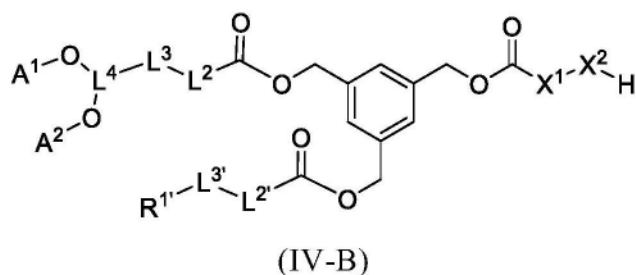
[0189]



[0190] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, L^2 、 $L^{2'}$ 、 L^3 、 $L^{3'}$ 、 L^4 、 A^1 、 A^2 、 $R^{1'}$ 、 X^1 、 X^2 和 Cy^B 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。

[0191] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(IV-B)化合物:

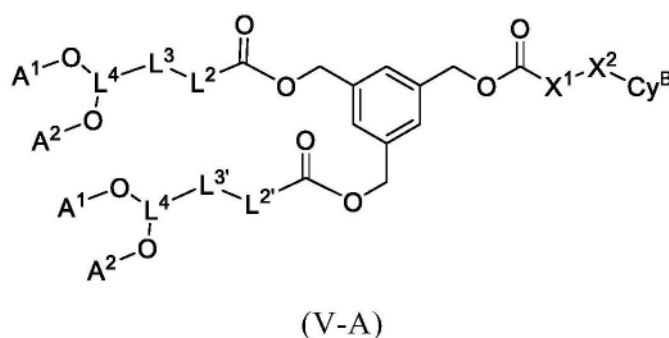
[0192]



[0193] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, L^2 、 $L^{2'}$ 、 L^3 、 $L^{3'}$ 、 L^4 、 A^1 、 A^2 、 $R^{1'}$ 、 X^1 和 X^2 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。

[0194] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(V-A)化合物:

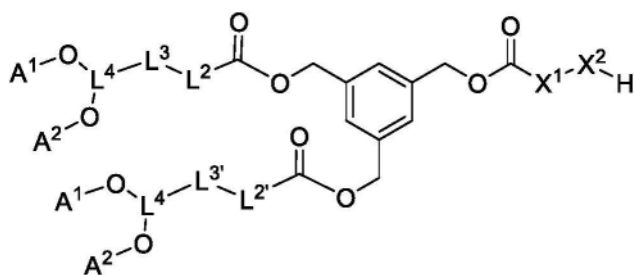
[0195]



[0196] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, L^2 、 $L^{2'}$ 、 L^3 、 $L^{3'}$ 、 L^4 、 A^1 、 A^2 、 X^1 、 X^2 和 Cy^B 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。

[0197] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(V-B)化合物:

[0198]

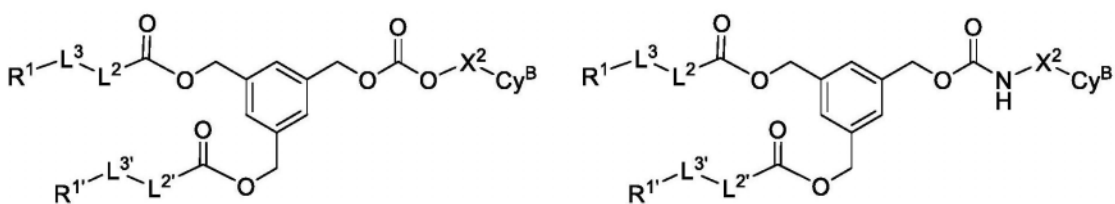


(V-B)

[0199] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, L^2 、 $L^{2'}$ 、 L^3 、 $L^{3'}$ 、 L^4 、 A^1 、 A^2 、 X^1 和 X^2 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。

[0200] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(VI-A)或(VI-B)化合物:

[0201]



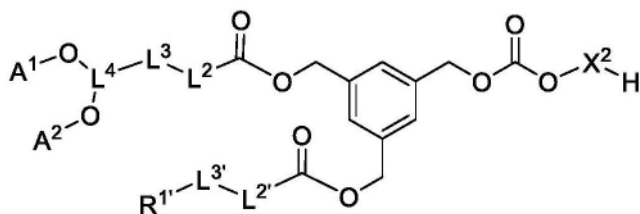
(VI-A)

(VI-B)

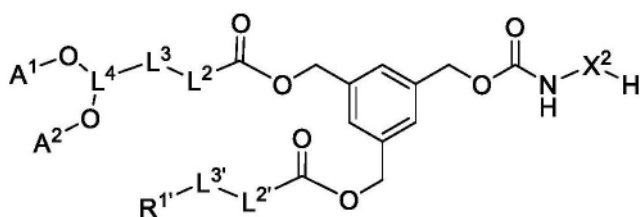
[0202] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, L^2 、 $L^{2'}$ 、 L^3 、 $L^{3'}$ 、 R^1 、 $R^{1'}$ 、 X^2 和 Cy^B 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。在一些实施方案中,本公开提供式(VI-A)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供式(VI-B)化合物或其药学上可接受的盐。

[0203] 在一些实施方案中,本公开提供一种式(VII-A)或(VII-B)化合物:

[0204]



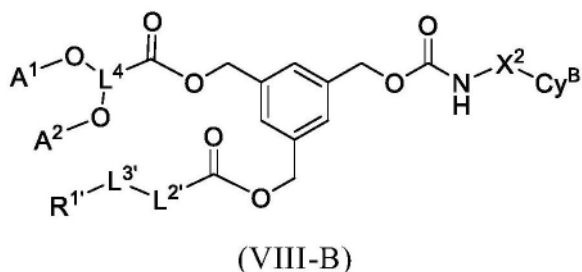
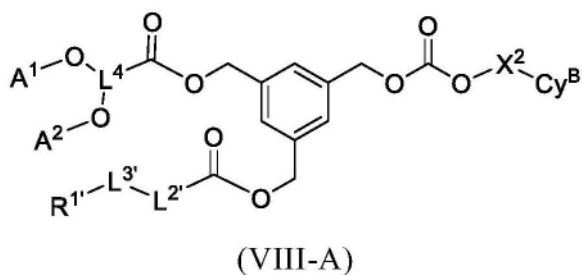
(VII-A)



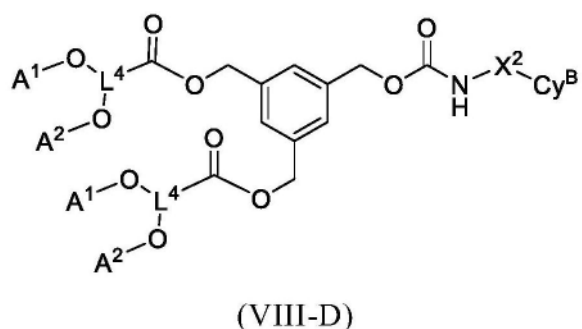
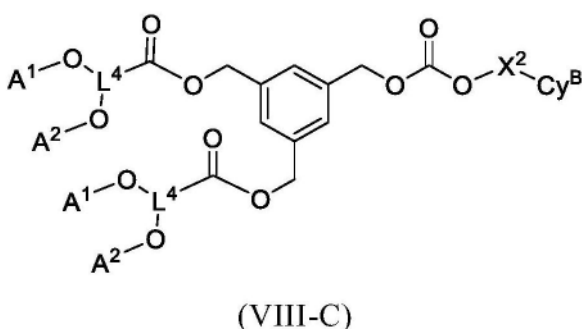
(VII-B)

[0205] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, L^2 、 $L^{2'}$ 、 L^3 、 $L^{3'}$ 、 L^4 、 R^1 、 A^1 、 A^2 和 X^2 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。在一些实施方案中,本公开提供式(VII-A)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供式(VII-B)化合物或其药学上可接受的盐。

[0206] 在一些实施方案中,本公开提供式(VIII-A)、(VIII-B)、(VIII-C)或(VIII-D)化合物:

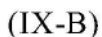
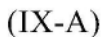


[0207]

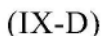


[0208] 或其药学上可接受的盐,其中在单独及组合的情况下, $L^{2'}$ 、 $L^{3'}$ 、 $R^{1'}$ 、 L^4 、 A^1 、 A^2 、 X^2 和 Cy^B 均如上文关于式I所定义,并且在本文的类别和子类别中进行描述。在一些实施方案中,本公开提供式(VIII-A)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供式(VIII-B)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供式(VIII-C)化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,本公开提供式(VIII-D)化合物或其药学上可接受的盐。

[0209] 在一些实施方案中,本公开提供式(IX-A)、(IX-B)、(IX-C)或(IX-D)化合物:



(IX-C)



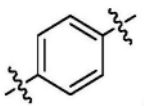
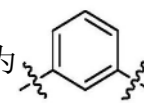
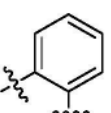
开中, $\left| \left(\right)_m \text{Cy}^A \left(\right)_m \right|$ 旨在指代与 $-(\text{CH}_2)_m - \text{Cy}^A - (\text{CH}_2)_m -$ 相同的部分, 并且其可互换使用。

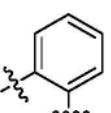
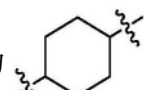
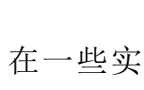
[0214] 在一些实施方案中, L^2 为共价键。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_{12} 烃链。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_9 烃链。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_6 烃链。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_3 烃链。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的 $-CH_2-$ 。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, L^2 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, L^2 为 $\left[\left(\text{---} \right)_m \text{Cy}^A \left(\text{---} \right)_m \right]$ 。

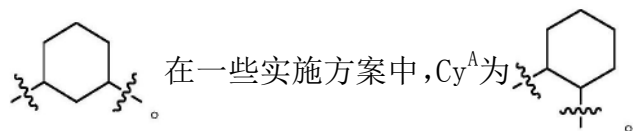
[0215] 在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为共价键。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_{12} 烃链。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_9 烃链。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_6 烃链。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_3 烃链。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的 $-CH_2-$ 。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为任选地被取代的 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, $L^{2'}$ 为 $\left[\left(\text{---} \right)_m \text{Cy}^A \left(\text{---} \right)_m \right]$ 。

[0216] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, 各 m 独立地为 0、1 或 2。在一些实施方案中, 至少一个 m 为 0。在一些实施方案中, 至少一个 m 为 1。在一些实施方案中, 至少一个 m 为 2。在一些实施方案中, 两个 m 均为 0。在一些实施方案中, 两个 m 均为 1。在一些实施方案中, 两个 m 均为 2。

[0217] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, Cy^A 为选自亚苯基和 3 至 7 元饱和或部分不饱和亚碳环基的任选地被取代的环。在一些实施方案中, Cy^A 为任选地被取代的亚苯基。

在一些实施方案中, Cy^A 为 。在一些实施方案中, Cy^A 为 。在一些实施方案中, Cy^A 为 。

在一些实施方案中, Cy^A 为 。在一些实施方案中, Cy^A 为任选地被取代的 3 至 7 元饱和或部分不饱和亚碳环基。在一些实施方案中, Cy^A 为任选地被取代的 5 至 6 元饱和或部分不饱和亚碳环基。在一些实施方案中, Cy^A 为任选地被取代的 5 至 6 元饱和亚碳环基。在一些实施方案中, Cy^A 为任选地被取代的亚环己基。在一些实施方案中, Cy^A 为 。在一些实施方案中, Cy^A 为 。

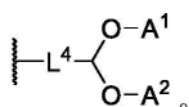


[0218] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, L^3 及 $L^{3'}$ 各自独立地为共价键、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 或 $-OC(O)O-$ 。在一些实施方案中, L^3 为共价键。在一些实施方案中, L^3 为 $-C(O)O-$ 。在一些实施方案中, L^3 为 $-OC(O)-$ 。在一些实施方案中, L^3 为 $-O-$ 。在一些实施方案中, L^3 为 $-OC(O)O-$ 。在一些实施方案中, $L^{3'}$ 为共价键。在一些实施方案中, $L^{3'}$ 为 $-C(O)O-$ 。在一些实施方案中, $L^{3'}$ 为 $-OC(O)-$ 。在一些实施方案中, $L^{3'}$ 为 $-O-$ 。在一些实施方案中, $L^{3'}$ 为 $-OC(O)O-$ 。

[0219] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团: 饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{20} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换; 3 至 12 元饱和或部分不饱和碳环; 1-金刚烷基; 2-金刚烷基; 甾醇基; 苯基; 和 。在一些实施方案中, R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基

团: 饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{20} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换; 3 至 7 元饱和或部分不饱和碳环; 1-金刚烷基; 2-金刚烷基; 甾醇基; 苯基; 和 。

基; 和 。在一些实施方案中, R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基



[0220] 在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{20} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{15} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_9 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链, 其中 1 至 2 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_6-C_{20} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_9-C_{20} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 $C_{12}-C_{20}$ 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 $C_{15}-C_{20}$ 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_6-C_{15} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和直链或支链 C_8-C_{17} 烃链, 其中 1 至 3 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。

[0221] 在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_6 烃链, 其中 1 至 2 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_7 烃链, 其中 1 至 2 个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或

至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{12} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{13} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{14} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{15} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{16} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{17} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{18} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{19} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为被1至6个氟原子取代的饱和或不饱和的直链或支链 C_{20} 烃链。

[0232] 在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_{20} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_{15} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_{12} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_9 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_6 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_6 - C_{20} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_9 - C_{20} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{12} - C_{20} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{15} - C_{20} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_6 - C_{15} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_8 - C_{17} 烃链。

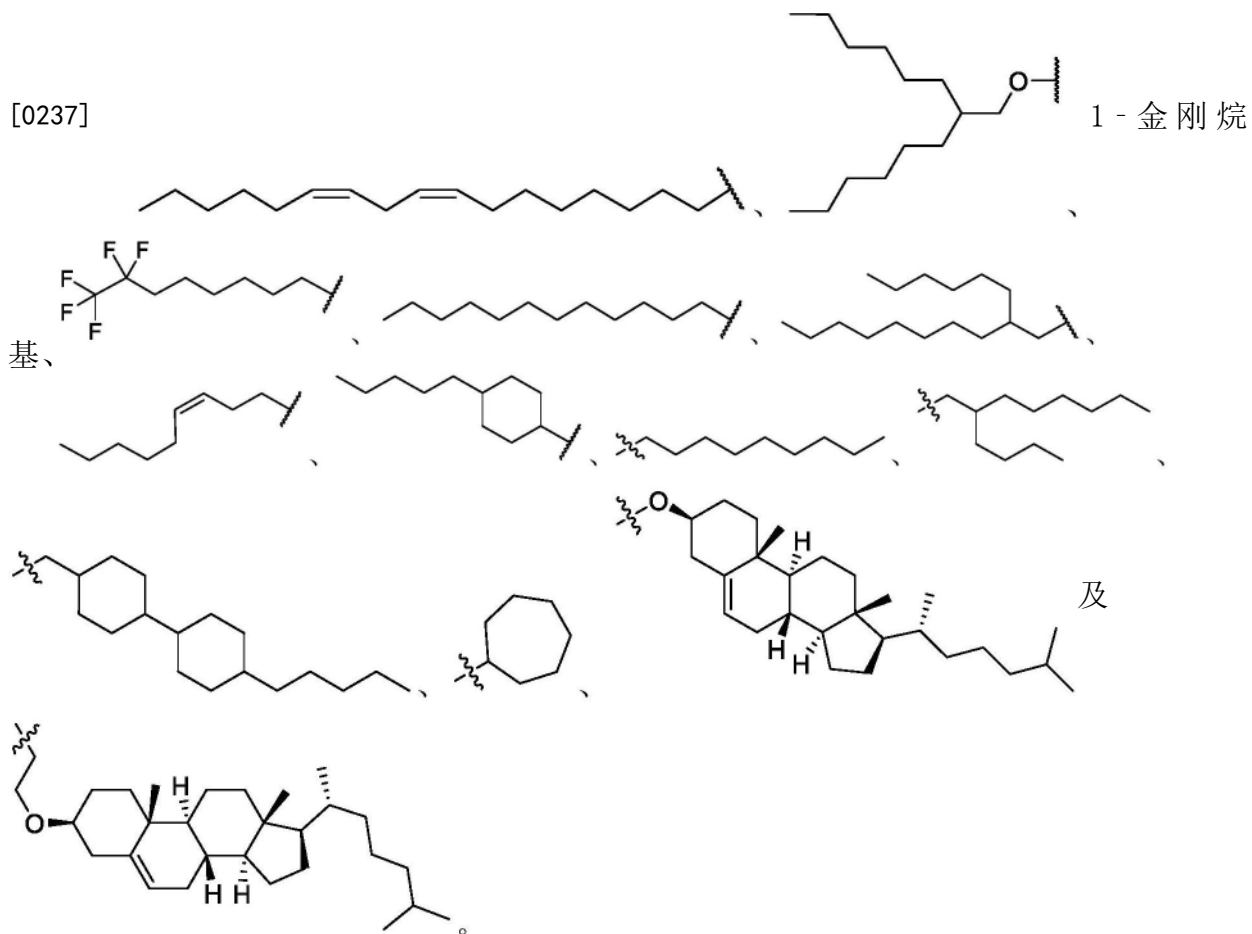
[0233] 在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_6 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_7 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_8 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_9 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{10} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{11} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{12} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{13} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{14} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{15} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{16} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{17} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{18} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{19} 烃链。在一些实施方案中, R^1 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{20} 烃链。

[0234] 在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的3至12元饱和或部分不饱和碳环基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的3至7元饱和或部分不饱和碳环基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的5至6元饱和或部分不饱和碳环基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的环丙基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的环丁基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的环戊基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的环己基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的环庚基。在一些实施方案中, R^1 为环己基,其任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基(例如 C_{1-6} 烷基)取代。

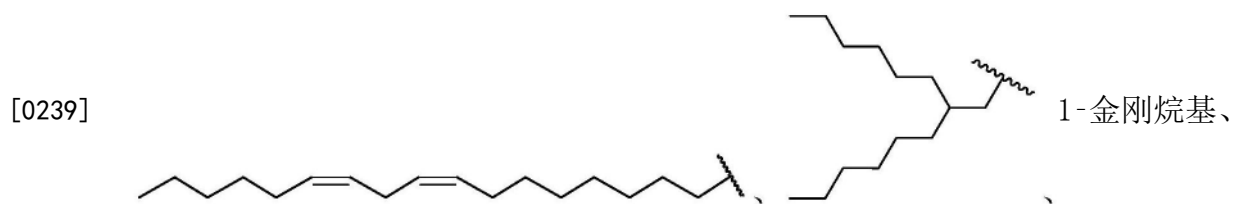
[0235] 在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的1-金刚烷基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的2-金刚烷基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的甾醇基。在一些实施方案中, R^1 为任选地被取代的苯基。在一些实施方案中, R^1 为1-金刚烷基。在一些实施方案中, R^1 为2-金刚烷基。在一些实施方案中, R^1 为甾醇基。在一些实施方案中, R^1 为苯基。在一些实

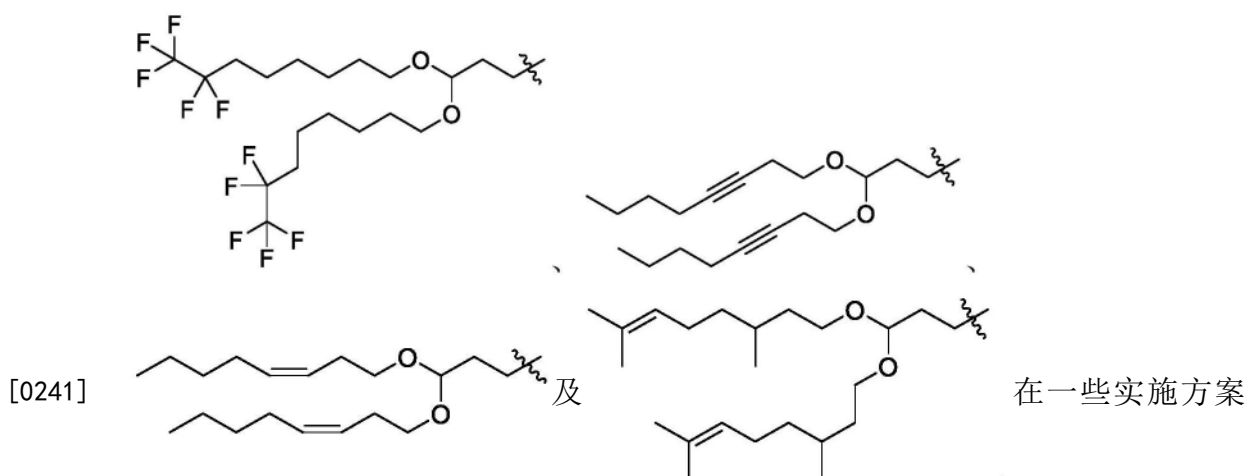
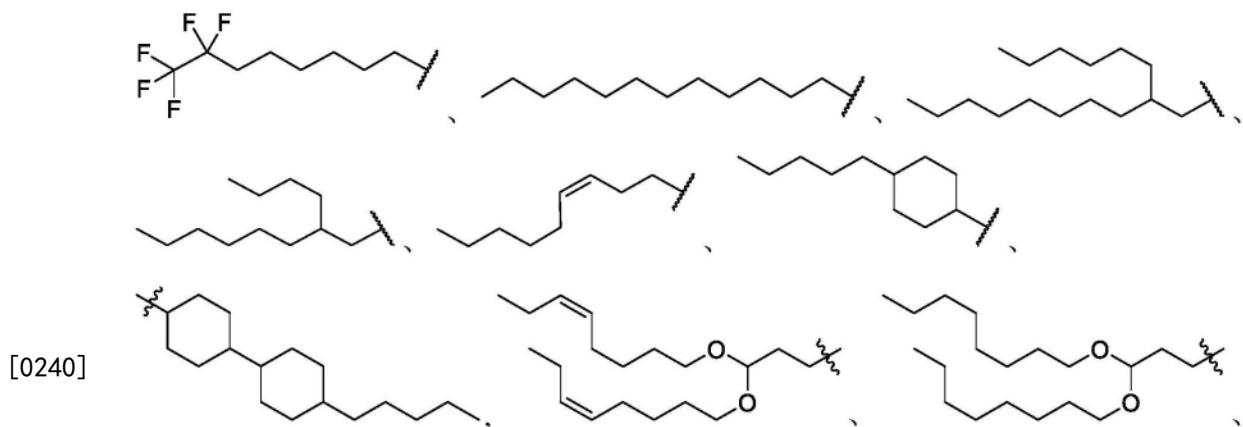
施方案中, R^1 为 $\begin{array}{c} \text{O}-A^1 \\ | \\ -L^4- \\ | \\ \text{O}-A^2 \end{array}$ 。

[0236] 在一些实施方案中, R^1 选自由以下组成的群组:

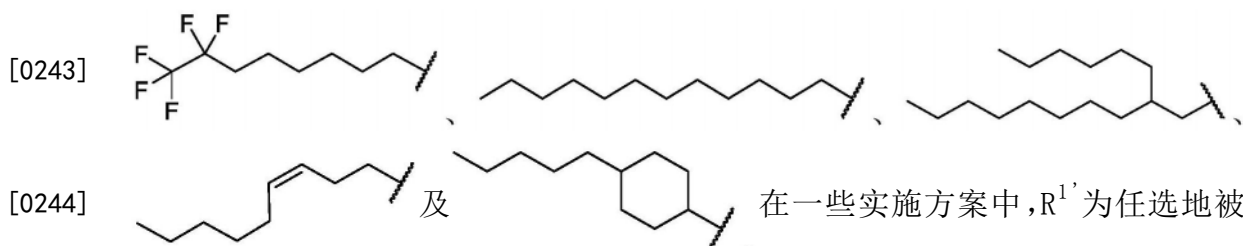
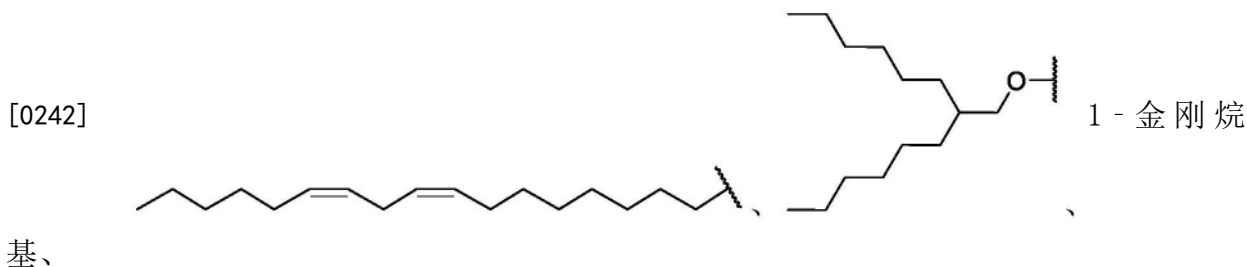


[0238] 在一些实施方案中, R^1 选自由以下组成的群组:





中, R¹选自由以下组成的群组:



取代的饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₂₀烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换。在一些实施方案中, R¹'为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₁₅烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换。在一些实施方案中, R¹'为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₁₂烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换。在一些实施方案中, R¹'为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₉烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换。在一些实施方案中, R¹'为任选地被取代的饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₆烃链, 其中1至2个亚甲基单元任

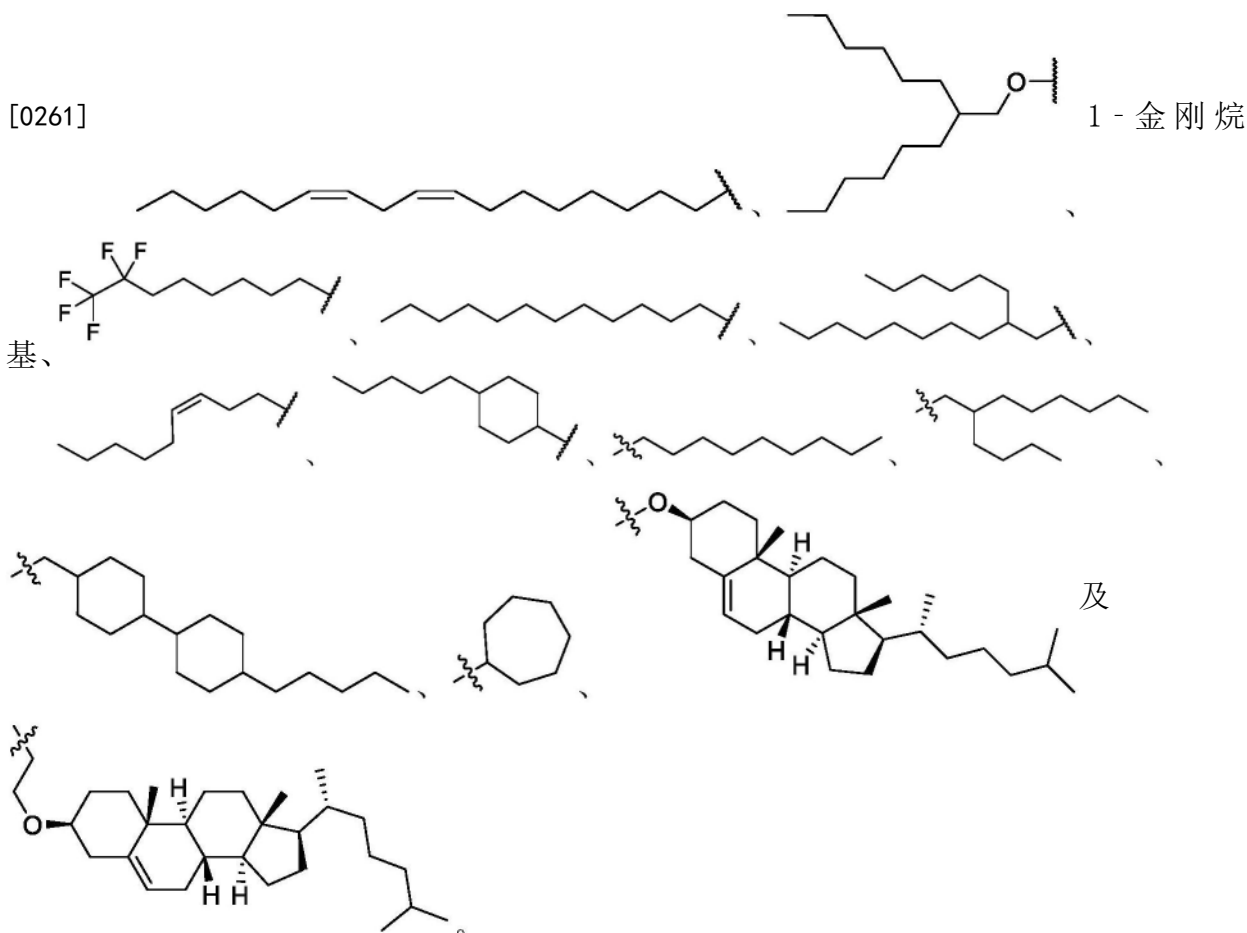
一些实施方案中, $R^{1'}$ 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{16} 烃链。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{17} 烃链。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{18} 烃链。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{19} 烃链。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为饱和或不饱和的直链或支链 C_{20} 烃链。

[0258] 在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的3至12元饱和或部分不饱和碳环基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的3至7元饱和或部分不饱和碳环基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的5至6元饱和或部分不饱和碳环基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的环丙基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的环丁基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的环戊基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的环己基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的环庚基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为环己基, 其任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基(例如 C_{1-6} 烷基)取代。

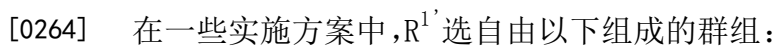
[0259] 在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的1-金刚烷基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的2-金刚烷基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的甾醇基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为任选地被取代的苯基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为1-金刚烷基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为2-金刚烷基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为甾醇基。在一些实施方案中, $R^{1'}$ 为苯基。在

一些实施方案中, $R^{1'}$ 为 $\text{---L}^4\text{---}\begin{matrix} \text{O-A}^1 \\ \text{O-A}^2 \end{matrix}$ 。

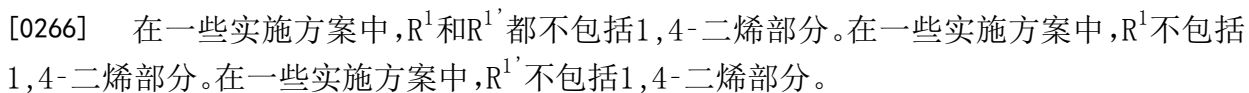
[0260] 在一些实施方案中, $R^{1'}$ 选自由以下组成的群组:



1-金刚烷基、



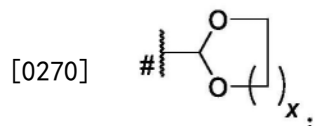
1 - 金 刚 烷



[0267] 在本文所述的任何式的一些实施方案中,各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_6 烃链。在一些实施方案中,各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_5 烃链。在一些实施方案中,各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_4 烃链。在一些实施方案中,各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_3 烃链。在一些实施方案中,各 L^4 独立地为 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。在一些实施方案中,各 L^4 为 $-\text{CH}_2-$ 。在一些实施方案中,各 L^4 为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。在一些实施方案中,各 L^4 为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

[0268] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, A^1 及 A^2 各自独立地为任选地被取代的 C_1 - C_{20} 脂肪族基或 $-\text{L}^5-\text{R}^5$;

[0269] 或 A^1 及 A^2 与其中间原子一起可形成任选地被取代的环:



[0271] 其中 x 及 $\#$ 如上文及本文中所述。

[0272] 在一些实施方案中, A^1 与 A^2 相同。在一些实施方案中, A^1 与 A^2 不同。

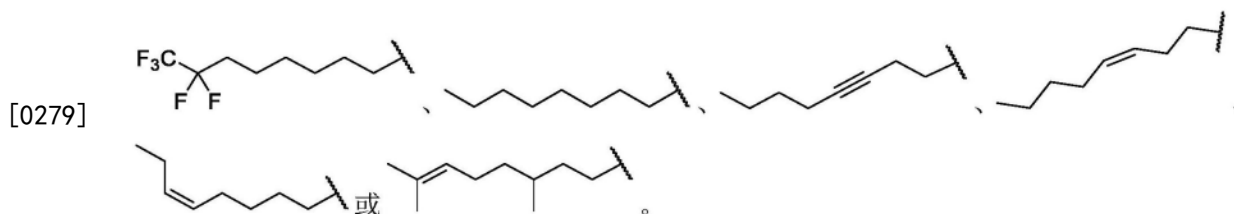
[0273] 在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_1 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_1 - C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_1 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_1 - C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_1 - C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_6 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_6 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{12} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{15} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_7 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_8 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{10} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{11} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{13} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{14} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被取代的 C_{16} 脂肪族基。

[0274] 在一些实施方案中, A^1 为 C_1 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_1 - C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_1 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_1 - C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_1 - C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_6 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_6 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{12} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{15} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_7 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_8 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{10} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{11} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{13} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{14} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为 C_{16} 脂肪族基。

[0275] 在一些实施方案中, A^1 为任选地被1至6个卤素原子取代的 C_1 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被1至6个卤素原子取代的 C_1 - C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被1至6个卤素原子取代的 C_1 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^1 为任选地被1至6个

子取代的C₉脂肪族基。在一些实施方案中，A¹为被1至6个氟原子取代的C₁₀脂肪族基。在一些实施方案中，A¹为被1至6个氟原子取代的C₁₁脂肪族基。在一些实施方案中，A¹为被1至6个氟原子取代的C₁₂脂肪族基。在一些实施方案中，A¹为被1至6个氟原子取代的C₁₃脂肪族基。在一些实施方案中，A¹为被1至6个氟原子取代的C₁₄脂肪族基。在一些实施方案中，A¹为被1至6个氟原子取代的C₁₅脂肪族基。在一些实施方案中，A¹为被1至6个氟原子取代的C₁₆脂肪族基。

[0278] 在一些实施方案中, A^1 为:



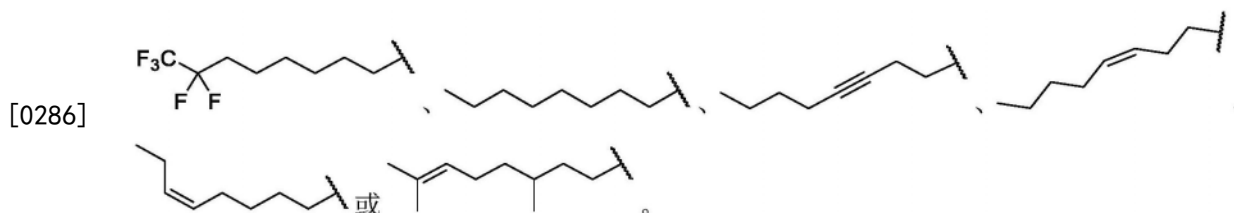
[0280] 在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_1 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_1 - C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_1 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_1 - C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_1 - C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_6 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_6 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{12} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{15} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_7 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_8 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{10} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{11} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{13} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{14} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为任选地被取代的 C_{16} 脂肪族基。

[0281] 在一些实施方案中, A^2 为 C_1 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_1 - C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_1 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_1 - C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_1 - C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_6 - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_6 - C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{12} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{15} - C_{20} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_6 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_7 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_8 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_9 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{10} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{11} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{12} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{13} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{14} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为 C_{16} 脂肪族基。

[0282] 在一些实施方案中, A²为任选地被1至6个卤素原子取代的C₁-C₂₀脂肪族基。在一些实施方案中, A²为任选地被1至6个卤素原子取代的C₁-C₁₅脂肪族基。在一些实施方案中, A²为任选地被1至6个卤素原子取代的C₁-C₁₂脂肪族基。在一些实施方案中, A²为任选地被1至6个卤素原子取代的C₁-C₉脂肪族基。在一些实施方案中, A²为任选地被1至6个卤素原子取代的C₁-C₆脂肪族基。在一些实施方案中, A²为任选地被1至6个卤素原子取代的C₆-C₂₀脂肪族基。在一些实施方案中, A²为任选地被1至6个卤素原子取代的C₆-C₁₂脂肪族基。在一些实施方案

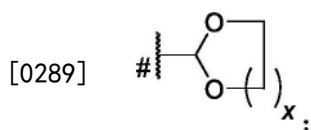
些实施方案中, A^2 为被1至6个氟原子取代的 C_{14} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为被1至6个氟原子取代的 C_{15} 脂肪族基。在一些实施方案中, A^2 为被1至6个氟原子取代的 C_{16} 脂肪族基。

[0285] 在一些实施方案中, A^2 为:



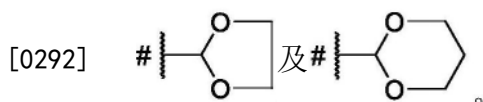
[0287] 在一些实施方案中, A^1 为 $-L^5-R^5$ 。在一些实施方案中, A^2 为 $-L^5-R^5$ 。

[0288] 在一些实施方案中, A^1 及 A^2 与其中间原子一起可形成任选地被取代的环:

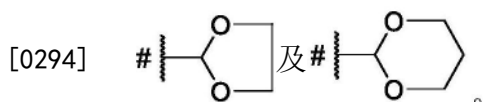


[0290] 其中 x 及 $\#$ 如上文及本文中所描述。

[0291] 在一些实施方案中, A^1 及 A^2 与其中间原子一起可形成选自以下组成之群组的任选地被取代的环:



[0293] 在一些实施方案中, A^1 及 A^2 与其中间原子一起可形成选自以下组成的群组的环:



[0295] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{20} 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。在一些实施方案中, 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 $C_{12}-C_{20}$ 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换。

[0296] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{20} 烃链。在一些实施方案中, 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链。在一些实施方案中, 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 $C_{12}-C_{20}$ 烃链。

[0297] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, 各 R^5 独立地为选自6至10元芳基或饱和或部分不饱和3至8元碳环基的任选地被取代的基团。在一些实施方案中, 各 R^5 独立地为任选地被取代的6至10元芳基(例如苯基)。在一些实施方案中, 各 R^5 独立地为任选地被取代的饱和或部分不饱和的3至8元碳环基(例如环己基)。

[0298] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, X^1 为共价键、 $-O-$ 或 $-NR-$ 。在一些实施方案中, X^1 为共价键。在一些实施方案中, X^1 为 $-O-$ 。在一些实施方案中, X^1 为 $-NR-$ 。在一些实施方案中, X^1 为 $-NH-$ 。

[0299] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, X^2 为共价键或任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置

换。在一些实施方案中, X^2 为共价键。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 -O- 或 -NR- 置换。

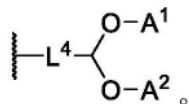
[0300] 在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_9 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 -O- 或 -NR- 置换。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 -O- 或 -NR- 置换。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_4 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 -O- 或 -NR- 置换。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_3 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 -O- 或 -NR- 置换。

[0301] 在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链, 其中1个亚甲基单元任选地且独立地被 -O- 或 -NR- 置换。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链, 其中1个亚甲基单元被 -O- 或 -NR- 置换。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_9 烃链, 其中1个亚甲基单元被 -O- 或 -NR- 置换。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链, 其中1个亚甲基单元被 -O- 或 -NR- 置换。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_3 烃链, 其中1个亚甲基单元被 -O- 或 -NR- 置换。

[0302] 在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{12} 烃链。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_9 烃链。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_6 烃链。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_3 烃链。在一些实施方案中, X^2 为任选地被取代的 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2-$ 。

[0303] 在一些实施方案中, X^2 为二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{12} 烃链。在一些实施方案中, X^2 为二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_9 烃链。在一些实施方案中, X^2 为二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_6 烃链。在一些实施方案中, X^2 为二价饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_3 烃链。在一些实施方案中, X^2 为 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, X^2 为 $-CH_2-$ 。在一些实施方案中, X^2 为 $-CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, X^2 为 $-CH_2CH_2CH_2-$ 。

[0304] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, X^3 为氢或 $-Cy^B$ 。在一些实施方案中, X^3 为氢。在一些实施方案中, X^3 为 $-Cy^B$ 。在一些实施方案中, 当 X^3 为氢时, R^1 或 $R^{1'}$ 中的至少一个为



[0305] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环: 3至7元饱和或部分不饱和碳环基、苯基、具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3至7元饱和或部分不饱和杂环基和具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元杂芳基。

[0306] 在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的3至7元饱和或部分不饱和碳环基。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的苯基。在一些实施方案中, Cy^B 为具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的任选地被取代的3至7元饱和或部分不饱和杂环基。在一些实施方

案中, Cy^B 为具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的任选地被取代的5至6元杂芳基。

[0307] 在一些实施方案中, Cy^B 为选自环丙基、环丁基、环戊基、环己基及环庚基的任选地被取代的环。在一些实施方案中, Cy^B 选自环丙基、环丁基、环戊基、环己基及环庚基。

[0308] 在一些实施方案中, Cy^B 为选自氮丙啶基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基及哌啶基的任选地被取代的环。在一些实施方案中, Cy^B 为选自吡咯烷基及哌啶基的任选地被取代的环。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的哌啶基。

[0309] 在一些实施方案中, Cy^B 选自任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代的氮丙啶基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基及哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 选自任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代的吡咯烷基及哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代的吡咯烷基。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代的哌啶基。

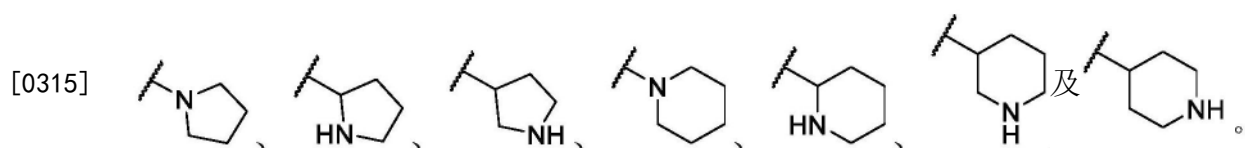
[0310] 在一些实施方案中, Cy^B 选自任选地被 C_1 - C_3 脂肪族基取代的氮丙啶基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基及哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 选自任选地被 C_1 - C_3 脂肪族基取代的吡咯烷基及哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被 C_1 - C_3 脂肪族基取代的吡咯烷基。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被 C_1 - C_3 脂肪族基取代的哌啶基。

[0311] 在一些实施方案中, Cy^B 选自氮丙啶基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基及哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 选自吡咯烷基和哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 为吡咯烷基。在一些实施方案中, Cy^B 为哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 为甲基吡咯烷基。在一些实施方案中, Cy^B 为甲基哌啶基。在一些实施方案中, Cy^B 为乙基吡咯烷基。在一些实施方案中, Cy^B 为乙基哌啶基。

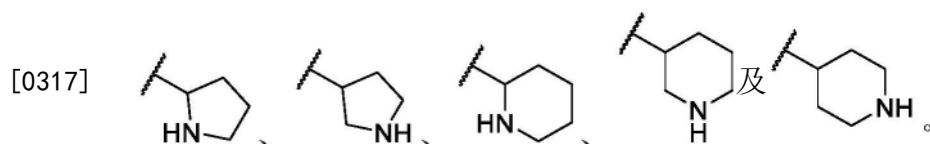
[0312] 在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基或哌啶基, 其中 Cy^B 内的碳原子结合于 X^2 。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基, 其中 Cy^B 内的碳原子结合于 X^2 。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的哌啶基, 其中 Cy^B 内的碳原子结合于 X^2 。

[0313] 在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基或哌啶基, 其中 Cy^B 内的氮原子结合于 X^2 。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基, 其中 Cy^B 内的氮原子结合于 X^2 。在一些实施方案中, Cy^B 为任选地被取代的哌啶基, 其中 Cy^B 内的氮原子结合于 X^2 。

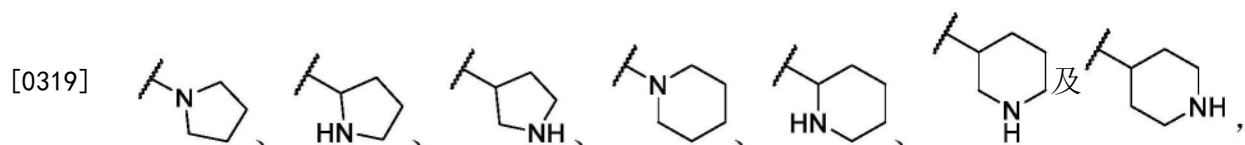
[0314] 在一些实施方案中, Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环:



[0316] 在一些实施方案中, Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环:

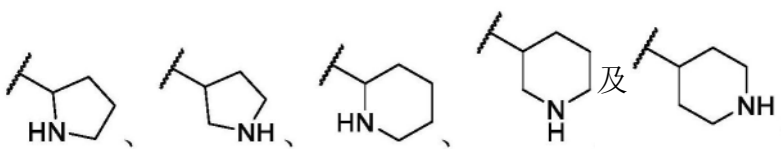


[0318] 在一些实施方案中, Cy^B 为选自以下的环:

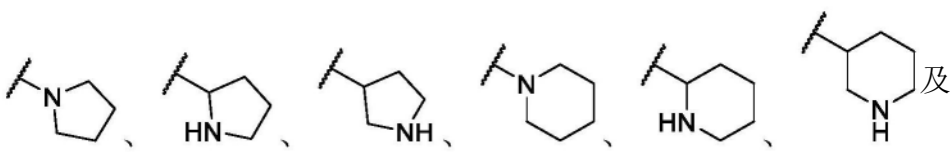


其任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代。

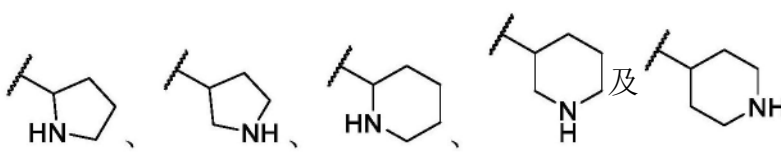
[0320] 在一些实施方案中, Cy^B 选自:

[0321]  其任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代。

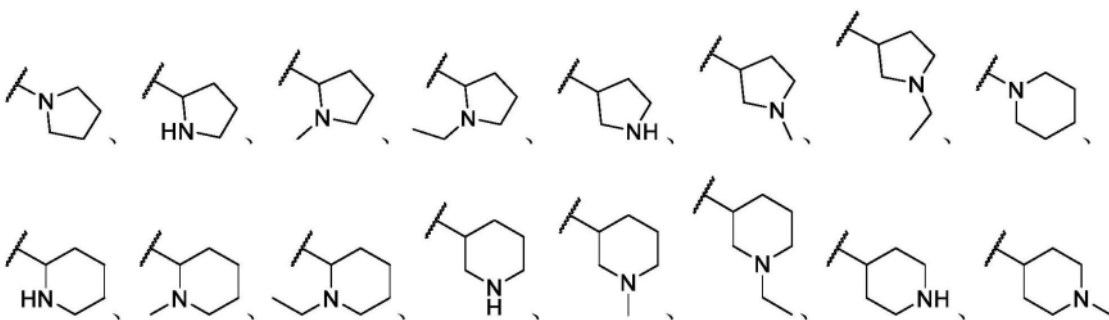
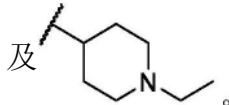
[0322] 在一些实施方案中, Cy^B 为选自以下的环:

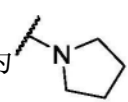
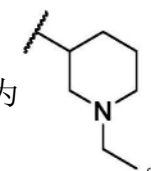
[0323]  其任选地被甲基或乙基取代。

[0324] 在一些实施方案中, Cy^B 选自:

[0325]  其任选地被甲基或乙基取代。

[0326] 在一些实施方案中, Cy^B 选自:

[0327]  及 。

[0328] 在一些实施方案中, Cy^B 为 。 在一些实施方案中, Cy^B 为 。

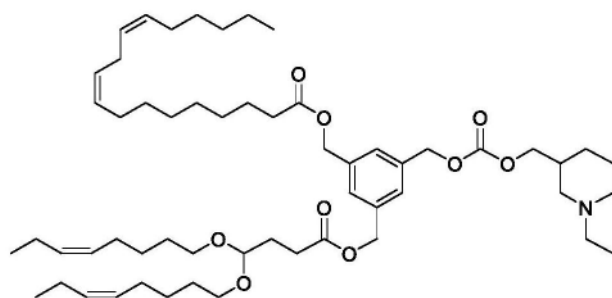
[0329] 在本文所述的任何式的一些实施方案中, 各R独立地为氢或任选地被取代的 C_1 - C_6 脂肪族基团。在一些实施方案中, 各R为氢。在一些实施方案中, 各R独立地为任选地被取代的 C_1 - C_6 脂肪族基团。在一些实施方案中, 各R独立地为任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基基团。在一些实施方案中, 各R独立地为任选地被取代的 C_1 - C_4 烷基。在一些实施方案中, 各R独立地为任选地被取代的 C_1 - C_2 烷基基团。在一些实施方案中, 各R独立地为 C_1 - C_6 烷基基团。在一些实施方案中, 各R独立地为 C_1 - C_4 烷基基团。在一些实施方案中, 各R独立地为 C_1 - C_2 烷基基团。在一

些实施方案中,R为甲基。在一些实施方案中,R为乙基。

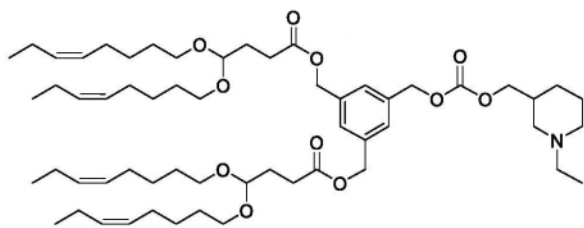
[0330] 在一些实施方案中,化合物或其药学上可接受的盐选自表1中列出的那些。

[0331] 表1

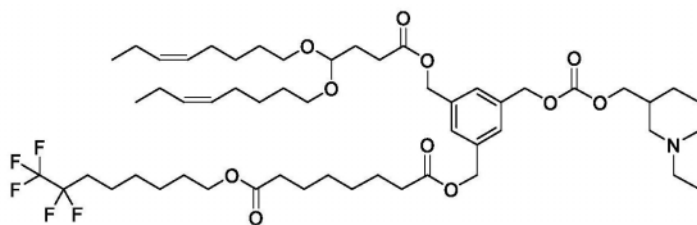
[0332]



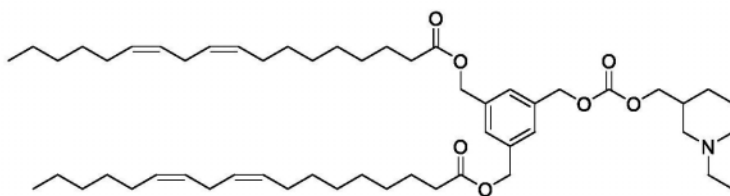
实例 5-1



实例 5-2

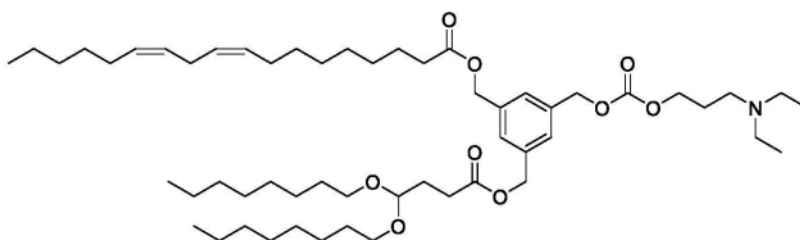


实例 5-3

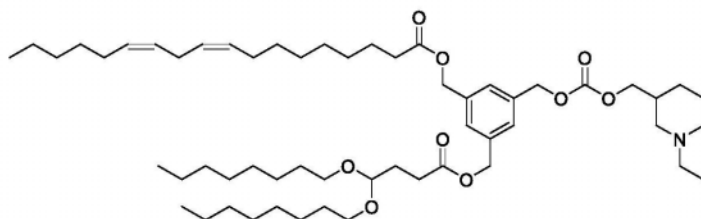


实例 5-4

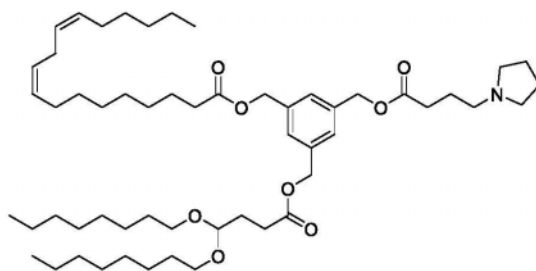
[0333]



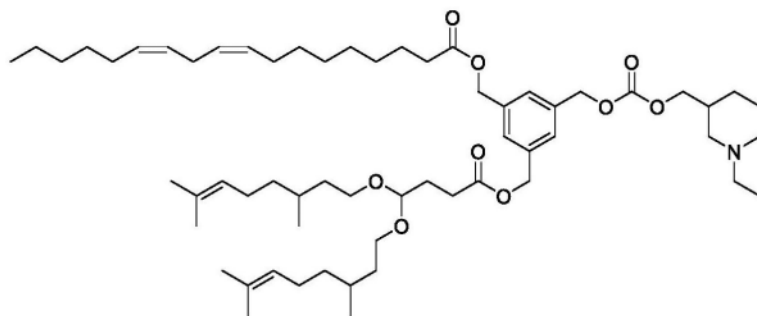
实例 5-5



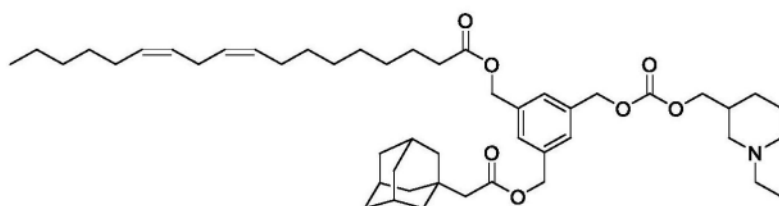
实例 5-6



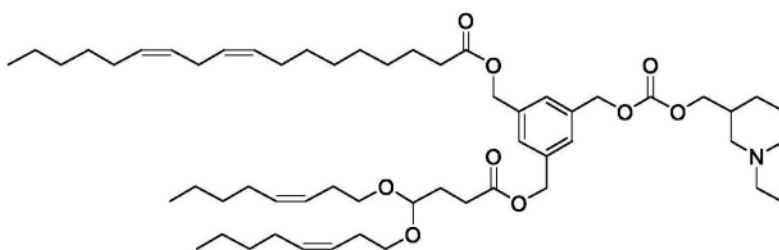
实例 5-7



实例 5-8

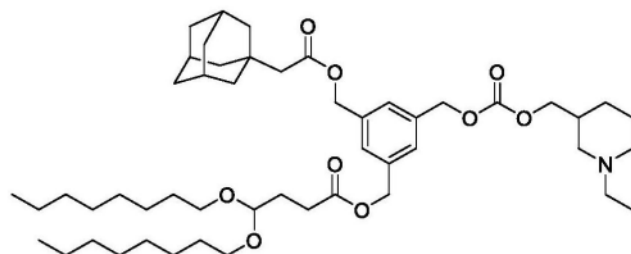


实例 5-9

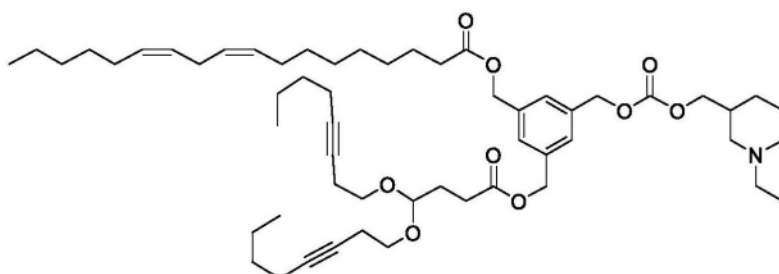


[0334]

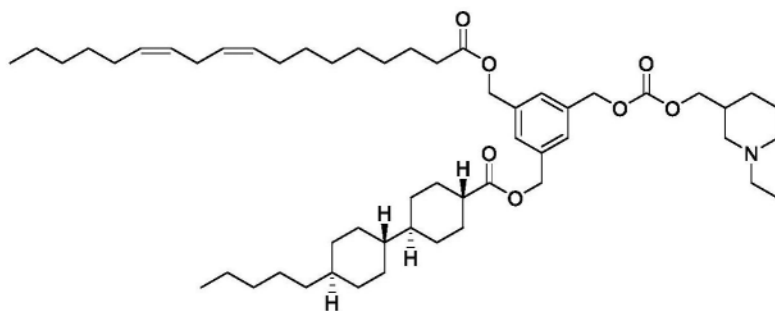
实例 5-10



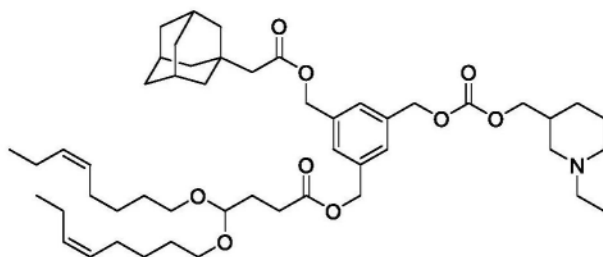
实例 5-11



实例 5-12

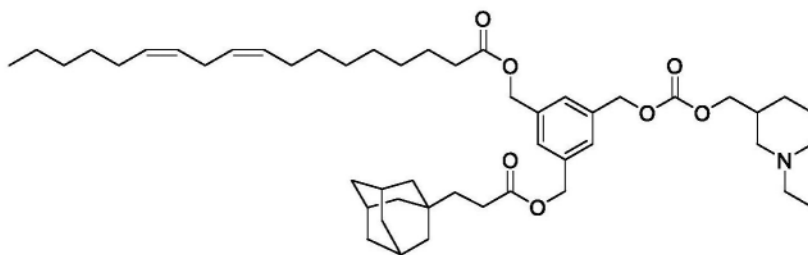


实例 5-13

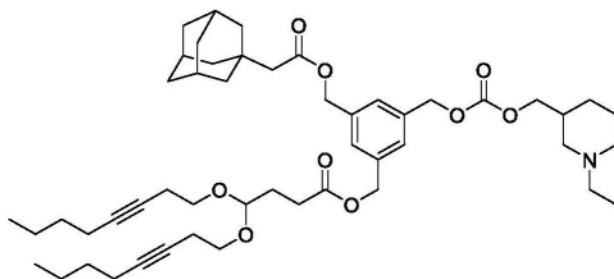


实例 5-14

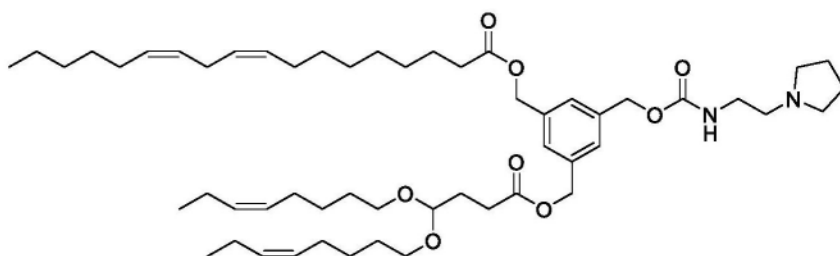
[0335]



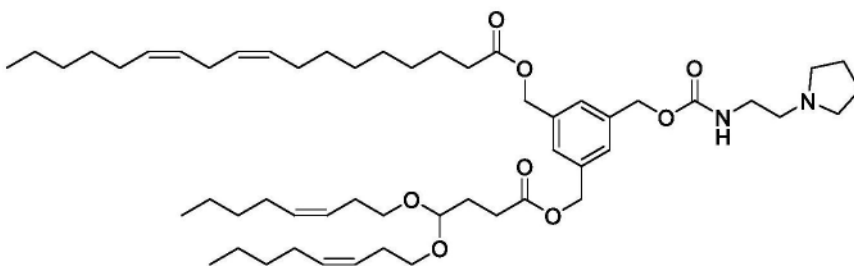
实例 5-15



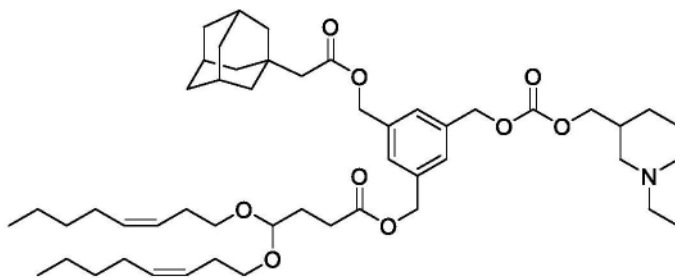
实例 5-16



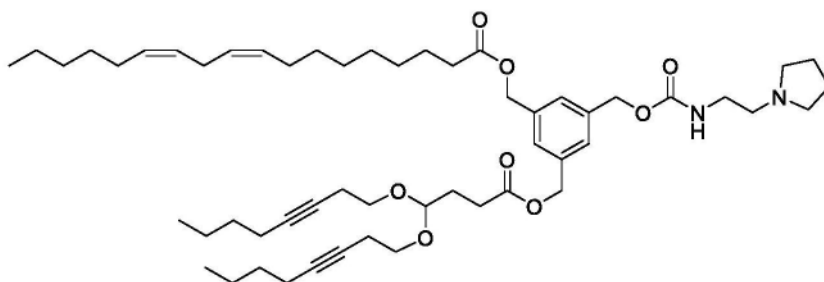
实例 5-17



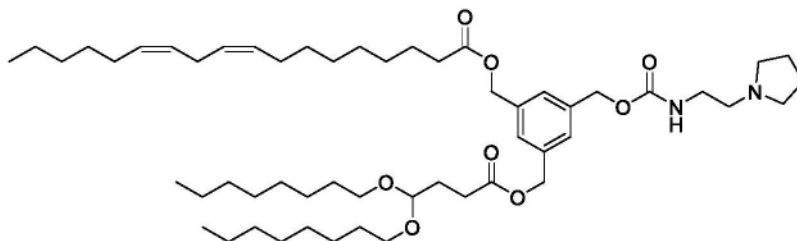
实例 5-18



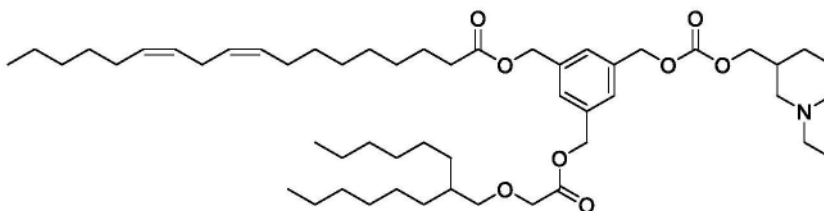
实例 5-19



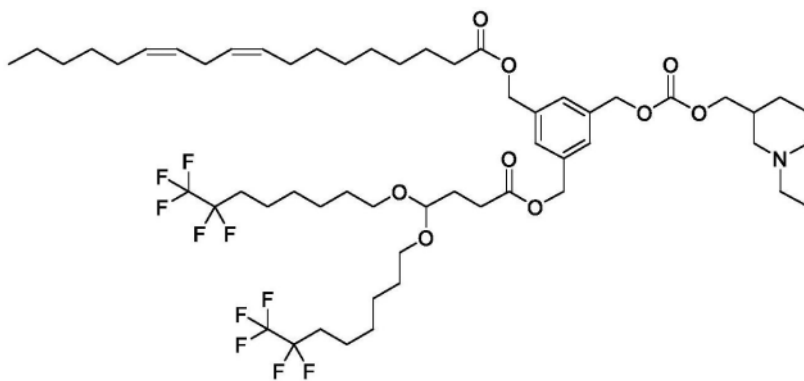
实例 5-20



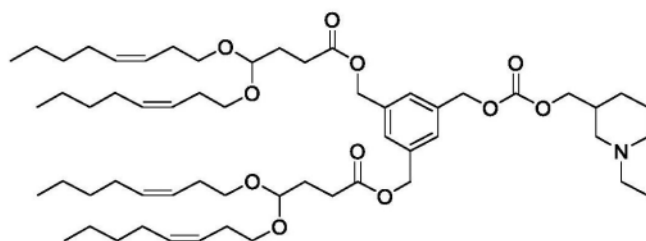
实例 5-21



实例 5-22

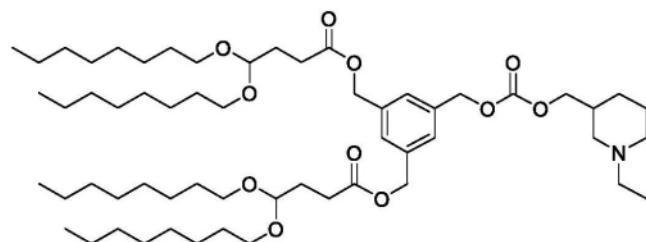


实例 5-23

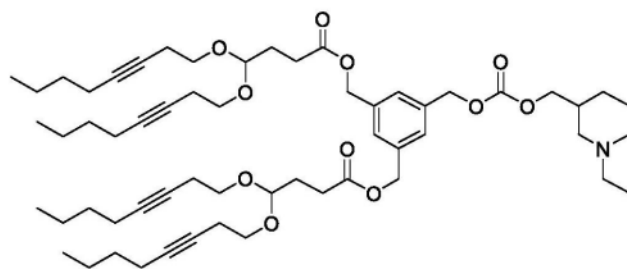


实例 5-24

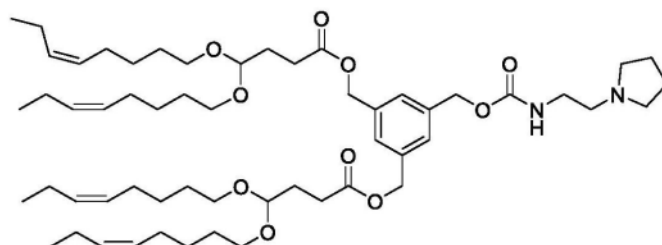
[0337]



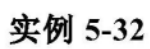
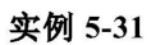
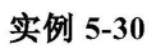
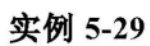
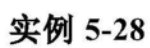
实例 5-25

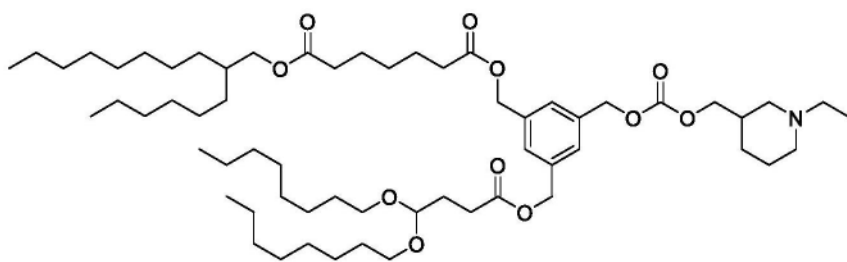


实例 5-26

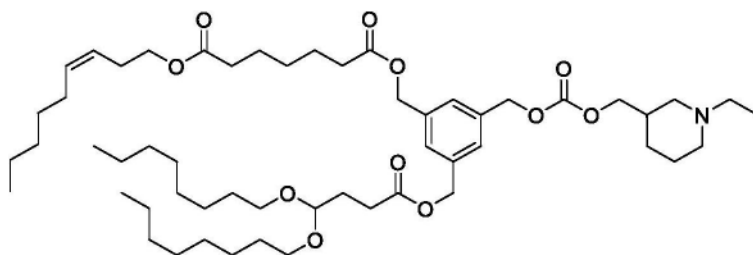


实例 5-27

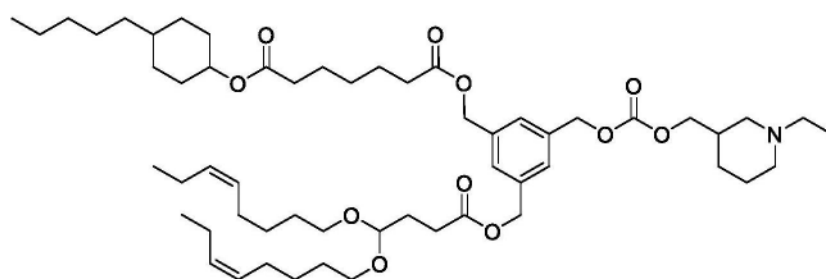




实例 5-33

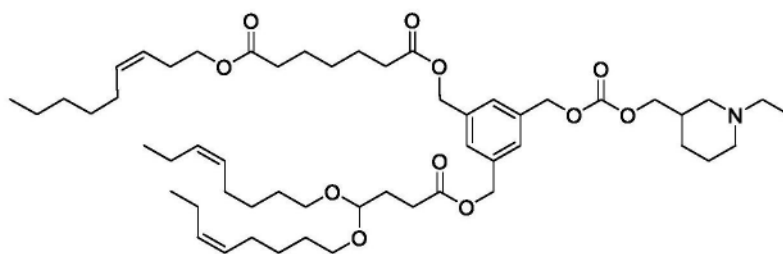


实例 5-34

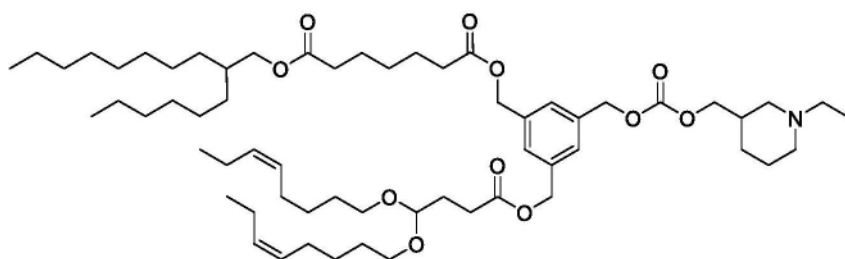


[0339]

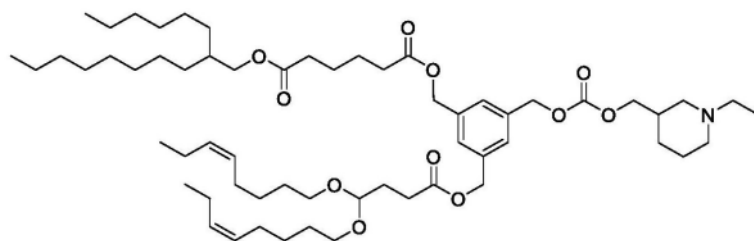
实例 5-35



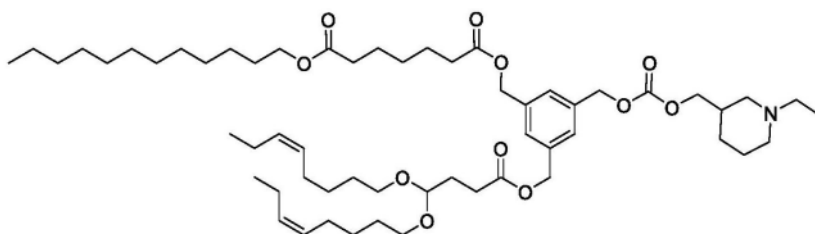
实例 5-36



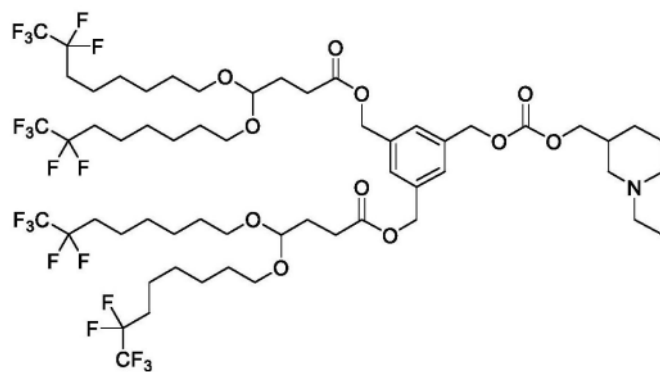
实例 5-37



实例 5-38

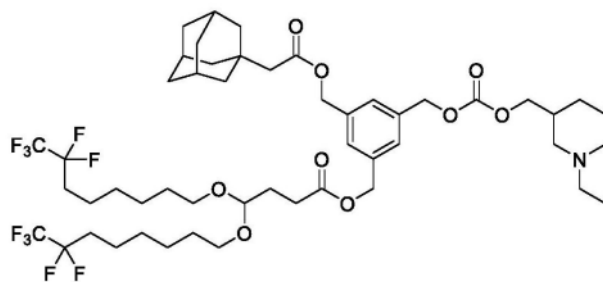


实例 5-39

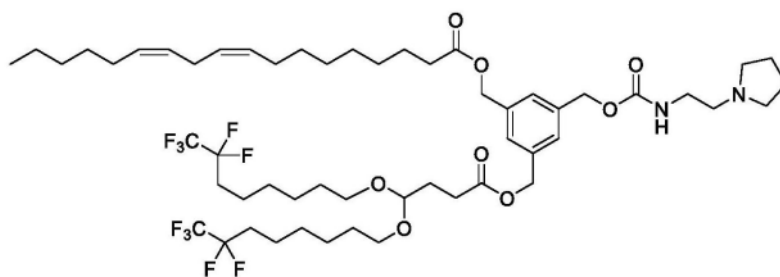


[0340]

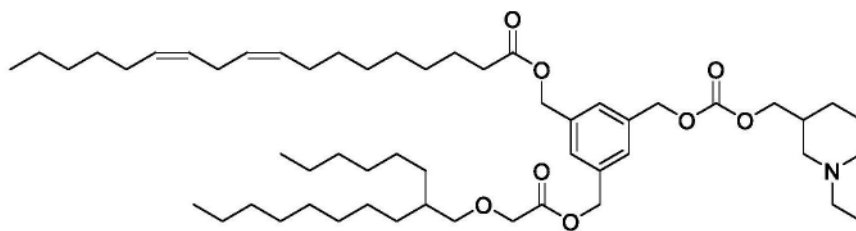
实例 5-40



实例 5-41

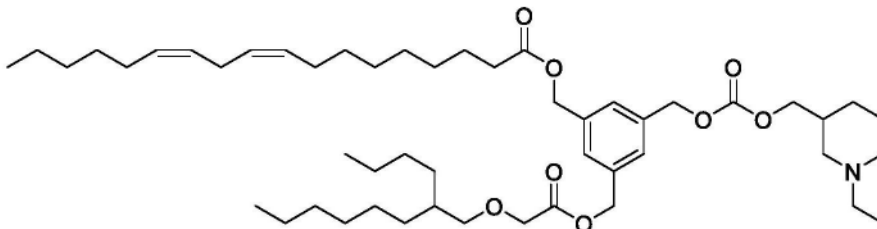


实例 5-42



实例 5-43

[0341]



实例 5-44

[0342] 出于本发明的目的,根据元素周期表,CAS版本,化学与物理手册 (Handbook of Chemistry and Physics),第75版来识别化学元素。另外,有机化学的一般原理描述于“有机化学(Organic Chemistry)”,Thomas Sorrell,University Science Books,Sausalito:1999和“马奇高等有机化学(March's Advanced Organic Chemistry)”,第5版,编辑:Smith,M.B.和March,J. John Wiley&Sons,New York:2001中,这些文献的全部内容特此以引用的方式并入。

[0343] 除非另外说明,否则本文中所描绘的结构还意味着包含所述结构的所有异构(例如,对映异构、非对映异构和几何异构(或构象异构))形式;例如,对每个不对称中心的R和S构型、Z和E双键异构体以及Z和E构象异构体。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构、非对映异构和几何异构(或构象异构)混合物都在本发明的范围内。除非另有说明,否则本发明化合物的所有互变异构形式都在本发明的范围内。另外,除非另外说明,否则本文中所描绘的结构还意味着包含不同之处仅在于存在一个或多个同位素增浓原子的化合物。例如,具有本发明结构(包含由氘或氚置换氢或由 ^{13}C 或 ^{14}C 增浓的碳置换碳)的化合物在本发明的范围内。这类化合物适用作例如分析工具,用作生物分析中的探针,或用作根据本发明的治疗剂。

[0344] 应理解,除非另有规定或被式I、II、III、IV-A、IV-B、V-A、V-B、VI-A、VI-B、VII-A、VII-B、VIII-A、VIII-B、VIII-C、VIII-D、IX-A、IX-B、IX-C和IX-D中的任一者的前述定义所禁止,否则在单独及组合的情况下,如上文所定义及本文中的类别和子类别中所描述的变量 A^1 、 A^2 、 L^1 、 $\text{L}^{1'}$ 、 L^2 、 $\text{L}^{2'}$ 、 L^3 、 $\text{L}^{3'}$ 、 L^4 、 L^5 、 R 、 R^1 、 $\text{R}^{1'}$ 、 R^5 、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 Cy^{A} 、 Cy^{B} 、 m 和 x 的实施方案都适用于式I、II、III、IV-A、IV-B、V-A、V-B、VI-A、VI-B、VII-A、VII-B、VIII-A、VIII-B、VIII-C、VIII-D、IX-A、IX-B、IX-C和IX-D中的任一者的化合物。

[0345] 在一些实施方案中,所提供的化合物以盐形式(例如药学上可接受的盐形式)提供和/或利用所提供的化合物。除非另外指明,否则对本文所提供的化合物的提及应理解为包含对其盐的提及。

[0346] 应了解,在整个本公开中,除非另外指明,否则对式I化合物的提及旨在还包含式II、III、IV-A、IV-B、V-A、V-B、VI-A、VI-B、VII-A、VII-B、VIII-A、VIII-B、VIII-C、VIII-D、

IX-A、IX-B、IX-C和IX-D,以及本文所公开的此类式的化合物物质。

[0347] 在一些实施方案中,本公开涵盖如下认识:例如与参考化合物或其它已知化合物相比,所提供的化合物显示某些所需特征。例如,在一些实施方案中,所提供的化合物在本文所述的一项或多项实验中表现出更有效地递送至各种细胞类型,和/或具有一种或多种使得其比起其它已知化合物更适合于递送诸如治疗剂或预防剂等运载物的其它特征。以不受任何理论约束为前提,本公开涵盖以下认识:所提供的特征在于包含数目减少的立体中心的化合物与具有一个或多个立体中心的对应化合物相比具有某些更为期望的特征(例如,在本文所述的一项或多项实验中向不同细胞类型的更有效传递和/或更容易制造)。

[0348] B. 可电离脂质

[0349] 此外,本公开描述包括一种或多种如本文所述的可电离脂质的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。

[0350] 此外,出人意料地发现,可电离脂质的不同比率会影响一种或多种功能活性,如本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的所需向性、稳定性和药物递送功效。例如,本公开展示了一个令人惊讶的发现,即可电离脂质的量不同于本领域中描述的那些量(例如,参见美国专利第8,058,069B2号,或参见例如美国专利第9,364,435号,两者的内容特此通过全文引用的方式并入本文中)对于本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的一种或多种功能活性很重要,和/或会影响所述一种或多种功能活性。例如,在一些实施方案中,发现具有以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计约50mol%或更少的可电离脂质的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料对脂质纳米粒子的功能活性(诸如本文所述的所需向性、稳定性和药物递送功效)有用和/或至关重要。

[0351] 在一些实施方案中,可电离脂质可包含头部基团上的含胺基团。在一些实施方案中,可电离脂质为或包括本文所述的化合物(例如式I、II、III、IV-A、IV-B、V-A、V-B、VI-A、VI-B、VII-A、VII-B、VIII-A、VIII-B、VIII-C、VIII-D、IX-A、IX-B、IX-C或IX-D的化合物)。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约30摩尔%至约70摩尔%存在于脂质纳米粒子(LNP)制剂中。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约33摩尔%至约60摩尔%存在。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约34摩尔%至约55摩尔%存在。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约33摩尔%至约51摩尔%存在。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约34.7摩尔%存在。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约47.5摩尔%存在。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约50摩尔%存在。

[0352] 此外,在一些实施方案中,脂质纳米粒子组合物包括可电离脂质。在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括:可电离脂质;磷脂;缀合物-连接子脂质;和胆甾醇。在一些实施方案中,可电离脂质为或包括本文所述的化合物(例如式I、II、III、IV-A、IV-B、V-A、V-B、VI-A、VI-B、VII-A、VII-B、VIII-A、VIII-B、VIII-C、VIII-D、IX-A、IX-B、IX-C或IX-D的化合物)。在一些实施方案中,以脂质纳米粒子组分的总摩尔数计,可电离脂质以约30摩尔%至约70摩尔%存在于LNP制剂中。

[0353] C. 甾醇

[0354] 此外,本公开描述包括一种或多种如本文所述的甾醇的组合物、制剂、纳米粒子

和/或纳米材料。

[0355] 在一些实施方案中,甾醇为胆甾醇或其变体或衍生物。在一些实施方案中,胆甾醇经过改性。在一些实施方案中,胆甾醇为氧化胆甾醇。在一些实施方案中,胆甾醇为酯化胆甾醇。未经改性的胆甾醇可以通过酶作用形成侧链或环氧化的变体。在一些实施方案中,胆甾醇可在 β 环结构上或烃尾结构上氧化。在一些实施方案中,甾醇为植物甾醇。被视为适用于所公开的脂质纳米粒子的示范性甾醇包括但不限于25-羟基胆甾醇(25-OH)、20 α -羟基胆甾醇(20 α -OH)、27-羟基胆甾醇、6-酮基-5 α -羟基胆甾醇、7-酮基胆甾醇、7 β -羟基胆甾醇、7 α -羟基胆甾醇基、7 β -25-二羟基胆甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、菜籽甾醇、菜油甾醇或其组合。在一些实施方案中,侧链氧化胆甾醇相对于其它胆甾醇变体可以增强运载物递送。在一些实施方案中,胆甾醇为未经改性的胆甾醇。

[0356] 在一些实施方案中,LNP组合物包括约20mol%至约50mol%甾醇。在一些实施方案中,LNP组合物包括约38mol%甾醇。在一些实施方案中,LNP组合物包括约38.5mol%甾醇。在一些实施方案中,LNP组合物包括约33.8mol%胆甾醇。在一些实施方案中,LNP组合物包括约40%mol%胆甾醇。

[0357] D. 缀合物-连接子脂质

[0358] 此外,本公开描述包括一种或多种如本文所述的缀合物-连接子脂质的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。

[0359] 在一些实施方案中,缀合物-连接子脂质为或包括聚乙二醇(PEG)-脂质或PEG修饰的脂质。在一些实施方案中,PEG或PEG修饰的脂质可替代地被称作聚乙二醇化脂质或PEG-脂质。包含聚乙二醇化脂质可用于增强体外脂质纳米粒子的胶体稳定性和体内循环时间。在一些实施方案中,因为PEG部分在血液循环中逐步释放,所以聚乙二醇化是可逆的。示范性PEG脂质包括但不限于与长度为C6-C20的饱和或不饱和烷基链缀合的PEG。PEG修饰的磷脂酰乙醇胺、PEG修饰的磷脂酸、PEG修饰的神经酰胺(PEG-CER)、PEG修饰的二烷基胺、PEG修饰的二酰基甘油(PEG-DAG)、PEG修饰的二烷基甘油及其混合物。例如,在一些实施方案中,PEG脂质可以是PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPE、PEG-DSG或PEG-DSPE脂质。

[0360] 在一些实施方案中,缀合物-连接子脂质包括聚乙二醇脂质。在一些实施方案中,缀合物-连接子脂质包括二肉豆蔻基甘油(DMG)、1,2-二棕榈酰基-rac-甘油、甲氧基聚乙二醇(DPG-PEG)或1,2-二硬脂酰基-rac-甘油-3-甲基聚氧乙烯(DSG-PEG)。在一些实施方案中,缀合物-连接子脂质的平均分子量为约500Da至约5000Da。在一些实施方案中,缀合物-连接子脂质的平均分子量为约2000Da。在一些实施方案中,LNP组合物包括约0mol%至约5mol%的缀合物-连接子脂质。在一些实施方案中,LNP组合物包括约1.5mol%缀合物-连接子脂质。在一些实施方案中,LNP组合物包括约2.5mol%缀合物-连接子脂质。在一些实施方案中,LNP组合物包括约3mol%缀合物-连接子脂质。

[0361] E. 磷脂

[0362] 此外,本公开描述包括一种或多种如本文所述的磷脂的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中,本公开描述包括一种或多种(多)不饱和脂质的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。

[0363] 在一些实施方案中,一种或多种磷脂可组装成一种或多种脂质双层。在一些实施

方案中,一种或多种磷脂可包含磷脂部分。在一些实施方案中,一种或多种磷脂可包含一种或多种脂肪酸部分。在一些实施方案中,一种或多种磷脂可包含磷脂部分和一种或多种脂肪酸部分。在一些实施方案中,磷脂部分包含但不限于磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、磷脂酸、2-溶血磷脂酰胆碱和鞘磷脂。在一些实施方案中,脂肪酸部分包含但不限于月桂酸、肉豆蔻酸、肉豆蔻油酸、棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚麻酸、 α -亚麻酸、芥酸、植烷酸、花生酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸、山萘酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸。还涵盖非天然物质,包含具有包括分支、氧化、环化和炔烃的改性和取代的天然物质。例如,磷脂可以用一个或多个炔烃(例如一个或多个双键被三键置换的烯基)官能化或与其交联。在适当反应条件下,炔基可在暴露于叠氮化物时进行铜催化的环加成。此类反应可适用于官能化纳米粒子组合物的脂质双层以促进膜渗透或细胞识别,或适用于将纳米粒子组合物与有用组分,如靶向或成像部分(例如染料)缀合。

[0364] 示范性磷脂包含不限于1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DUPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-二-0-十八碳烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(18:0二酰PC)、1-油酰基-2-胆甾醇半琥珀酰基1-sn-甘油-3-磷酸胆碱(OChemSPC)、1-十六烷基sn-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰-乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(DMPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、1-硬脂酰基-2油酰基磷脂酰胆碱(SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)或其组合。在一些实施方案中,磷脂为DSPC。在一些实施方案中,磷脂为DMPC。

[0365] 在一些实施方案中,磷脂包括1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰基)(琥珀酰基PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、胆甾醇、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DSPE)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰基)(琥珀酰基-DPPE)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)或其组合。

[0366] 在一些实施方案中,LNP组合物包括约0mol%到约15mol%磷脂。在一些实施方案中,LNP组合物包括约9mol%磷脂。在一些实施方案中,LNP组合物包括约10mol%磷脂。

[0367] F. 直径

[0368] 此外,本公开描述了平均流体动力学直径为约30至约220nm的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中,本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材

料的平均流体动力学直径为约30nm、35nm、40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm、150nm、155nm、160nm、165nm、170nm、175nm、180nm、185nm、190nm、195nm、200nm、205nm、210nm、215nm、220nm或具有由前述各值中的任何两个限定的端点的任何范围。例如，在一些实施方案中，本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的平均流体动力学直径在50nm到200nm之间。

[0369] 在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的平均流体动力学直径可为约30至约220nm。在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的平均流体动力学直径可为约30nm、35nm、40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm、150nm、155nm、160nm、165nm、170nm、175nm、180nm、185nm、190nm、195nm、200nm、205nm、210nm、215nm、220nm或具有由前述各值中的任何两个限定的端点的任何范围。例如，在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的平均流体动力学直径在50nm至200nm之间。

[0370] G. 多分散性

[0371] 此外，本公开描述多分散指数(PDI)为约0.01至约0.3的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中，本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的PDI为约0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3或具有由前述各值中的任何两个限定的端点的任何范围。例如，在一些实施方案中，本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的PDI为约0.05至约0.2、约0.06至约0.1或约0.07至约0.09。

[0372] 在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的PDI为约0.01至约0.3。在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的PDI为约0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3或具有由前述各值中的任何两个限定的端点的任何范围。例如，在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的PDI为约0.05至约0.2、约0.06至约0.1、或约0.07至约0.09。

[0373] H. 包裹效率

[0374] 此外，本公开描述了组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料，其中所提供的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的包裹效率为约80%至约100%。在一些实施方案中，本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的包裹效率为约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、95.5%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%、99.5%、100%或具有由前述各值中的任何两个定义的端点的任何范围。例如，在一些实施方案中，本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的包裹效率为约90%至约100%、约95%至约100%、约95%至约98%、或约95.5%至约97.5%。在一些实施方案中，本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的包裹效率为至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0375] 在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的包裹效率为约80%至约100%。在一些实施方案中，本文所述的脂质纳米粒子的包裹效率为约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、95.5%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%、99.5%、100%或具有由前述各值中的任何两个所限定的端点的任何范围。例如，在一些实施方案中，本文所

述的脂质纳米粒子的包裹效率为约90%至约100%、约95%至约100%、约95%至约98%、或约95.5%至约97.5%。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子的包裹效率为至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0376] I. pKa

[0377] 此外,本公开描述pKa为约5至约9的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中,本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的pKa为约5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5或具有由前述各值中的任何两个所限定的端点的任何范围。在一些实施方案中,本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的pKa为约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0或具有由前述各值中的任何两个所限定的端点的任何范围。

[0378] 在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子的pKa为约5至约9。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子的pKa为约5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5或具有由前述各值中的任何两个所限定的端点的任何范围。在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子的pKa为约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0或具有由前述各值中的任何两个所限定的端点的任何范围。

[0379] II. 示范性LNP制剂

[0380] 本发明提供包括脂质纳米粒子的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括约30摩尔百分比至约70摩尔百分比的可电离脂质、约5摩尔百分比至约25摩尔百分比的磷脂、约25摩尔百分比至约45摩尔百分比的胆甾醇和约0摩尔百分比至约5摩尔百分比的缀合物-连接子脂质。

[0381] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括约45摩尔百分比的可电离脂质、约9摩尔百分比的磷脂、约44摩尔百分比的胆甾醇和约2摩尔百分比的缀合物-连接子脂质。在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括约50摩尔百分比的可电离脂质、约9摩尔百分比的磷脂、约38摩尔百分比的胆甾醇和约3摩尔百分比的缀合物-连接子脂质。

[0382] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括约47.5摩尔百分比的可电离脂质、约10摩尔百分比的磷脂、约40摩尔百分比的胆甾醇和约2.5摩尔百分比的缀合物-连接子脂质。

[0383] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括按以下四种成分的总摩尔数计约40摩尔百分比至约60摩尔百分比的式I、II、III、IV-A、IV-B、V-A、V-B、VI-A、VI-B、VII-A、VII-B、VIII-A、VIII-B、VIII-C、VIII-D、IX-A、IX-B、IX-C和X-D中任一者的可电离脂质、约5摩尔百分比至约15摩尔百分比的1-2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、约1摩尔百分比至约5摩尔百分比的C14PEG2000和约30摩尔百分比至约47摩尔百分比的胆甾醇。

[0384] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子(LNP)制剂包括质量比为约2:1至50:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):mRNA。在一些实施方案中,LNP制剂包括质量比为约2:1、约3:1、约4:1、约5:1、约6:1、约7:1、约8:1、约9:1、约10:1、约11:1、约12:1、约13:1、约14:1、约15:1、约16:1、约17:1、约18:1、约19:1、约20:1、约21:1、约22:1、约23:1、约24:1、约25:1、约26:1、约27:1、约28:1、约29:1、约30:1、约31:1、约32:1、约33:1、约34:1、约35:1、约36:1、

约37:1、约38:1、约39:1、约40:1、约41:1、约42:1、约43:1、约44:1、约45:1、约46:1、约47:1、约48:1、约49:1、约50:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):mRNA。在一些实施方案中,脂质纳米粒子(LNP)制剂包括质量比为约11.7:1及19:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):mRNA。

[0385] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括质量比为约2:1至50:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):siRNA。在一些实施方案中,LNP制剂包括质量比为约2:1、约3:1、约4:1、约5:1、约6:1、约7:1、约8:1、约9:1、约10:1、约11:1、约12:1、约13:1、约14:1、约15:1、约16:1、约17:1、约18:1、约19:1、约20:1、约21:1、约22:1、约23:1、约24:1、约25:1、约26:1、约27:1、约28:1、约29:1、约30:1、约31:1、约32:1、约33:1、约34:1、约35:1、约36:1、约37:1、约38:1、约39:1、约40:1、约41:1、约42:1、约43:1、约44:1、约45:1、约46:1、约47:1、约48:1、约49:1、约50:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):siRNA。在一些实施方案中,脂质纳米粒子(LNP)制剂包括质量比为约11.7及19:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):siRNA。

[0386] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子制剂包括质量比为约2:1至50:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):NA。在一些实施方案中,LNP制剂包括质量比为约2:1、约3:1、约4:1、约5:1、约6:1、约7:1、约8:1、约9:1、约10:1、约11:1、约12:1、约13:1、约14:1、约15:1、约16:1、约17:1、约18:1、约19:1、约20:1、约21:1、约22:1、约23:1、约24:1、约25:1、约26:1、约27:1、约28:1、约29:1、约30:1、约31:1、约32:1、约33:1、约34:1、约35:1、约36:1、约37:1、约38:1、约39:1、约40:1、约41:1、约42:1、约43:1、约44:1、约45:1、约46:1、约47:1、约48:1、约49:1、约50:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):NA。在一些实施方案中,脂质纳米粒子(LNP)制剂包括质量比为约11.7及40:1的(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂):NA。

[0387] 在一些实施方案中,NA包括如本文所述的碱基编辑器和sgRNA。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为2:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为3:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为4:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为5:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为6:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为7:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为8:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为9:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为10:1。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:2。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:3。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:4。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:5。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:6。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:7。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:8。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:9。在一些实施方案中,碱基编辑器:gRNA的质量比为1:10。

[0388] III. 药物组合物

[0389] 本发明提供包括药物组合物的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。此外,在一些实施方案中,药物组合物包括本文所述的脂质纳米粒子和脂质纳米粒子制剂。例如,在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子和脂质纳米粒子制剂可整体或部分调配为药物组

合物。

[0390] 在一些实施方案中,药物组合物可包含本文所述的一种或多种纳米粒子组合物。例如,药物组合物可包括一种或多种纳米粒子组合物(包含一种或多种不同的治疗剂和/或预防剂,包含但不限于一种或多种不同类型的核酸)或编码不同药剂。在一些实施方案中,药物组合物包括一种或多种药学上可接受的赋形剂或助剂,包含但不限于药学上可接受的载剂。

[0391] 可以向个体施用药物组合物。在一些实施方案中,如本文所述施用药物组合物。在一些体内方法中,以如本文所述的治疗有效量向个体施用本文所公开的纳米粒子组合物。

[0392] 在一些实施方案中,考虑到接受者的治疗表环境、年龄和一般健康状况,普通技术人员将能够使用本文所述的药物组合物设计适当剂量水平和给药方案以治疗各种患者的各种病状。例如,在一些实施方案中,所选择的剂量取决于所需的治疗效果、施用途径和所需治疗的持续时间。在一些实施方案中,通常以每剂每公斤体重约0.001mg至约5mg核酸的剂量水平向哺乳动物施用。更具体地说,在一些实施方案中,所公开的纳米粒子内核酸的优选剂量为约0.1mg/kg至约1.0mg/kg。对于所公开的纳米粒子,通常将每公斤体重约0.2mg至约100mg四种组分(可电离脂质、胆甾醇、缀合物-连接缀合物和磷脂)的剂量水平施加至哺乳动物。更具体地说,在一些实施方案中,所公开的纳米粒子的优选剂量为每公斤体重约0.5mg/kg至约5mg/kg四种组分。

[0393] 在一些实施方案中,局部施用本文所述的药物组合物,例如通过直接注射到待治疗部位中施用。通常,注射引起组合物的局部浓度增加,其大于可以通过全身性施用实现的局部浓度。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物可与本文所述的基质组合,以通过减少多肽被动扩散出待治疗部位来帮助产生局部浓度增加的多肽组合物。

[0394] A. 用于肠胃外施用的制剂

[0395] 在一些实施方案中,本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料(包含含有脂质纳米粒子的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料)以水溶液形式通过肠胃外注射施用。在一些实施方案中,制剂还可呈悬浮液或乳液的形式。一般来说,提供药物组合物,其包含有效量的脂质纳米粒子,并且任选地包含药学上可接受的稀释剂、防腐剂、增溶剂、乳化剂、佐剂和/或载剂。此类组合物任选地包含以下一种或多种:稀释剂、无菌水、具有各种缓冲液内含物(例如,Tris-HCl、乙酸盐、磷酸盐)、pH和离子强度的缓冲盐水;和添加剂,如清洁剂和增溶剂(例如,TWEEN 20(聚山梨醇酯-20)、TWEEN80(聚山梨醇酯-80))、抗氧化剂(例如,抗坏血酸、偏亚硫酸氢钠)和防腐剂(例如,硫柳汞、苯甲醇)以及增量物质(例如乳糖、甘露糖醇)。非水溶剂或媒剂的实例为丙二醇;聚乙二醇;植物油,如橄榄油和玉米油;明胶;以及可注射有机酯,如油酸乙酯。调配物可以冻干并在即将使用之前再溶解/再悬浮。可以通过例如经由细菌截留过滤器过滤、通过将灭菌剂并入到组合物中、通过照射组合物或通过加热组合物对调配物灭菌。

[0396] B. 控制递送聚合基质

[0397] 在一些实施方案中,本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料还可以控制释放调配物形式施用。在一些实施方案中,可以制造控制释放聚合装置,用于在植入聚合装置(如棒、圆柱、膜、盘)或注射(如微米粒子)之后长期全身性地释放。在一些实施方案中,基质可呈微米粒子(如微球)的形式。在一些实施方案中,药剂分散于固体聚合基质或微

胶囊内。在一些实施方案中,核是与所描述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料中的任一者的聚合物壳不同的材料。在一些实施方案中,肽分散或悬浮于所描述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料中的任一种的核中,核本质上可以是液体或固体。除非本文中特别地定义,否则微米粒子、微球和微胶囊可互换地使用。在一些实施方案中,聚合物可以浇铸成范围为几纳米到四厘米的薄板或薄膜、通过研磨或其它标准技术产生的粉末或甚至凝胶(如水凝胶)。

[0398] 在一些实施方案中,不可生物降解的基质用于递送所描述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中,可生物降解的基质用于递送所描述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中,可生物降解的基质为优选的。在一些实施方案中,可生物降解的基质包括天然或合成聚合物。在一些实施方案中,由于能更好地表征降解和释放曲线,所以合成聚合物是优选的。在一些实施方案中,基于期望释放的时间段来选择聚合物。在一些实施方案中,线性释放可以是最有用的,但在其它实施方案中,脉冲释放或“批量释放(bulk release)”可以提供更有效的结果。在一些实施方案中,聚合物可呈水凝胶(通常吸收高达约90重量%的水)的形式,且可任选地与多价离子或聚合物交联。

[0399] 基质可以通过溶剂蒸发、喷雾干燥、溶剂萃取以及本领域的普通技术人员已知的其它方法形成。可以使用为制得用于药物递送的微球而开发的任何方法来制备可生物降解的微球,例如,如Mathiowitz及Langer, *J. Controlled Release*, 5:13-22 (1987); Mathiowitz等人, *Reactive Polymers*, 6:275-283 (1987); 以及Mathiowitz等人, *J. Appl. Polymer Sci.*, 35:755-774 (1988) 所描述,所述参考文献的公开内容通过全文引用的方式并入本文中。

[0400] 在一些实施方案中,所描述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料可调配成用于局部释放以治疗植入或注射区域,这将通常递送比用于治疗整个身体或全身递送的剂量小得多的剂量。这些可以植入或皮下注射到肌肉、脂肪中或被吞咽。

[0401] C. 运载物

[0402] 此外,本发明提供包括如本文所述的运载物的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包含用于递送到个体的治疗剂或预防剂。在一些实施方案中,治疗剂或预防剂被脂质纳米粒子包裹。在一些实施方案中,脂质纳米粒子负载有一种或多种核酸。

[0403] D. 治疗剂和/或预防剂

[0404] 通过LNP组合物递送的运载物可以是生物活性剂。在一些实施方案中,运载物是或包括一种或多种生物活性剂,如mRNA、向导RNA(gRNA)、核酸、RNA导向的DNA结合剂、表达载体、模板核酸、抗体(例如,单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、纳米抗体及其片段等)、胆甾醇、激素、肽、蛋白质、化学治疗剂和其它类型的抗肿瘤剂、低分子量药物、维生素、辅因子、核苷、核苷酸、寡核苷酸、酶性核酸、反义核酸、三链体形成寡核苷酸、反义DNA或RNA组合物、嵌合DNA:RNA组合物、同种异型酶、适体、核糖酶、陷阱(decoy)及其类似物、质粒和其它类型的体、及小核酸分子、RNAi剂、短干扰核酸(siNA)、短干扰RNA(siRNA)、双链RNA(dsRNA)、微小RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)和“自我复制RNA”(编码复制酶活性并能够引导其自身在体内复制或扩增)分子、肽核酸(PNA)、锁核酸核糖核苷酸(LNA)、吗啉代核苷酸、苏糖核酸(TNA)、乙二醇核酸(GNA)、sisRNA(小型内部分段干扰RNA),以及RNA(不对称干扰RNA)。以

上生物活性剂列表仅为示范性的,且并不旨在是限制性的。此类化合物可以经纯化或部分纯化,并且可以是天然存在或合成的,并且可以经化学改性。

[0405] 通过LNP组合物递送的运载物可以是RNA,例如编码所关注蛋白质的mRNA分子。例如,在一些实施方案中,本文描述用于表达如绿色荧光蛋白(GFP)、RNA引导的DNA结合剂或Cas核酸酶等蛋白质的mRNA。提供LNP组合物,其包含Cas核酸酶mRNA,例如允许在2类Cas核酸酶(如Cas9或Cpf1蛋白)的细胞中表达的2类Cas核酸酶mRNA。此外,运载物可以含有一种或多种编码向导RNA的向导RNA或核酸。模板核酸(例如用于修复或重组)还可以包含在组合物中,或模板核酸可以用于本文所述的方法中。在一些实施方案中,运载物包括编码任选的化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*)Cas9和化脓性链球菌gRNA的mRNA。在一些实施方案中,运载物包括编码任选的脑膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitidis*)Cas9和nme gRNA的mRNA。

[0406] “mRNA”是指多核苷酸并且包括可以翻译成多肽的开放阅读框架(即,可以用作通过核糖体和氨基酰化tRNA进行翻译的底物)。mRNA可以包括磷酸-糖骨架,其包含核糖残基或其类似物,例如2'-甲氧基核糖残基。在一些实施方案中,mRNA磷酸-糖骨架的糖基本上由核糖残基、2'-甲氧基核糖残基或其组合组成。一般来说,mRNA不含有大量的胸苷残基(例如,0个残基或少于30、20、10、5、4、3或2个胸苷残基;或小于10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%或0.1%的胸苷含量)。mRNA可以在其一些或全部尿苷位置含有修饰的尿苷。

[0407] E. CRISPR/Cas运载物

[0408] 在一些实施方案中,所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括编码RNA引导的DNA结合剂(如Cas核酸酶)的mRNA。在特定实施方案中,所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括编码2类Cas核酸酶(如化脓性链球菌Cas9)的mRNA。

[0409] 如本文所使用,“RNA引导的DNA结合剂”意指具有RNA和DNA结合活性的多肽或多肽复合物,或此类复合物的DNA结合亚单元,其中DNA结合活性具有序列特异性并取决于RNA的序列。示范性RNA引导的DNA结合剂包含Cas切割酶/切口酶及其失活形式(“dCas DNA结合剂”)。如本文所使用,“Cas核酸酶”涵盖Cas切割酶、Cas切口酶和dCas DNA结合剂。Cas切割酶/切口酶和dCas DNA结合剂包含III型CRISPR系统的Csm或Cmr复合物、其Cas10、Csm1或Cmr2亚单位、I型CRISPR系统的级联复合物、其Cas3亚单位和2类Cas核酸酶。如本文所使用,“2类Cas核酸酶”是具有RNA引导的DNA结合活性的单链多肽。2类Cas核酸酶包含:2类Cas切割酶/切口酶(例如,H840A、D10A或N863A变体),所述切割酶/切口酶进一步具有RNA引导的DNA切割酶/切口酶活性;以及2类dCas DNA结合剂,其中切割酶/切口酶活性失活。2类Cas核酸酶包含例如Cas9、Cpf1、C2c1、C2c2、C2c3、HF Cas9(例如,N497A、R661A、Q695A、Q926A变体)、HypaCas9(例如,N692A、M694A、Q695A、H698A变体)、eSPCas9(1.0)(例如,K810A、K1003A、R1060A变体)和eSPCas9(1.1)(例如,K848A、K1003A、R1060A变体)蛋白及其修饰。Cpf1蛋白(Zetsche等人,Cell,163:1-13(2015))与Cas9同源,并含有RuvC样核酸酶域。Zetsche的Cpf1序列通过全文引用的方式并入本文中。参见例如,Zetsche,表S1和S3。参见例如Makarova等人,Nat Rev Microbiol,13(11):722-36(2015);Shmakov等人,Molecular Cell 60:385-397(2015),其内容特此全文并入本文中。

[0410] 如本文所使用,“核糖核蛋白”(RNP)或“RNP复合物”是指向导RNA以及RNA引导的

DNA结合剂,如Cas核酸酶、例如Cas切割酶、Cas切口酶或dCas DNA结合剂(例如,Cas9)。在一些实施方案中,向导RNA将RNA引导的DNA结合剂(如Cas9)引导到靶序列,并且向导RNA与靶序列杂交并且所述结合剂与靶序列结合;在结合剂是切割酶或切口酶的情况下,结合之后可以进行切割或切口。

[0411] 在一些实施方案中,LNP组合物的运载物包含至少一种包括引导序列的向导RNA,所述引导序列将RNA引导的DNA结合剂导向至靶DNA,所述RNA引导的DNA结合剂可以是核酸酶(例如Cas核酸酶,如Cas9)。gRNA可以将Cas核酸酶或2类Cas核酸酶引导至靶核酸分子上的靶序列。在一些实施方案中,gRNA与2类Cas核酸酶结合并且通过2类Cas核酸酶提供切割的特异性。在一些实施方案中,gRNA和Cas核酸酶可以形成核糖核蛋白(RNP),例如,CRISPR/Cas复合物,如CRISPR/Cas9复合物。在一些实施方案中,CRISPR/Cas复合物可以是II型CRISPR/Cas9复合物。在一些实施方案中,CRISPR/Cas复合物可以是V型CRISPR/Cas复合物,如Cpf1/向导RNA复合物。Cas核酸酶和同源gRNA可以配对。与每个2类Cas核酸酶配对的gRNA支架结构随特定的CRISPR/Cas系统变化。

[0412] “向导RNA”、“gRNA”和简单的“向导”在本文中可互换使用以指代crRNA(也被称为CRISPR RNA),或crRNA和trRNA的组合(也被称为tracrRNA)。向导RNA可以包含如本文所述的经修饰的RNA。crRNA和trRNA可以作为单个RNA分子(单向导RNA、sgRNA)或在两个单独的RNA分子(双向导RNA、dgRNA)中缔合。“向导RNA”或“gRNA”是指每种类型。trRNA可以是天然存在的序列,或与天然存在的序列相比具有修饰或变异的trRNA序列。

[0413] 如本文所使用,“向导序列”是指在向导RNA内与靶序列互补并且用作将向导RNA导向到靶序列以通过RNA引导的DNA结合剂进行结合或修饰(例如,切割)的序列。“向导序列”也可以被称为“靶向序列”或“间隔序列”。向导序列的长度可以是20个碱基对,例如,在酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*) (即Spy Cas9)和相关的Cas9同源物/直系同源物的情况下。较短或较长的序列还可以用作向导,例如,长度为15个、16个、17个、18个、19个、21个、22个、23个、24个或25个核苷酸。在一些实施方案中,靶序列例如是位于基因中或染色体上,并且与向导序列互补。在一些实施方案中,向导序列与其对应靶序列之间的互补性或一致性程度可为约或至少75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,向导序列和靶区在至少15、16、17、18、19或20个连续核苷酸的区域内可以是100%互补或一致的。在其它实施方案中,向导序列和靶区可以含有至少一个错配。例如,向导序列和靶序列可以含有1个、2个、3个或4个错配,其中靶序列的总长度为至少17个、18个、19个、20个或更多个碱基对。在一些实施方案中,向导序列和靶区可以含有1至4个错配,其中向导序列包括至少17个、18个、19个、20个或更多个核苷酸。在一些实施方案中,向导序列和靶区可以含有1个、2个、3个或4个错配,其中向导序列包括20个核苷酸。

[0414] RNA引导的DNA结合蛋白(如Cas蛋白)的靶序列包含基因组DNA的正链和负链两者(即,给定的序列和所述序列的反向补体),因为Cas蛋白的核酸底物是双链核酸。因此,在向导序列被称为“与靶序列互补”的情况下,应当理解,向导序列可以将向导RNA引导为与靶序列的反向补体结合。因此,在一些实施方案中,在向导序列结合靶序列的反向补体的情况下,除了向导序列中的U取代T之外,向导序列与靶序列的某些核苷酸(例如,不包含PAM的靶序列)一致。

[0415] 靶向序列的长度可以取决于CRISPR/Cas系统和所使用的组分。例如,来自不同细

菌物种的不同的2类Cas核酸酶具有不同的最佳靶向序列长度。因此,靶向序列的长度可以包括5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个、30个、35个、40个、45个、50个或超过50个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列长度比天然存在的核苷酸序列的向导序列长或短0、1、2、3、4或5个核苷酸。

[0416] CRISPR/Cas系统。在某些实施方案中,Cas核酸酶和gRNA支架将来源于同一CRISPR/Cas系统。在一些实施方案中,靶向序列可以包括18至24个核苷酸或由18至24个核苷酸组成。在一些实施方案中,靶向序列可以包括19至21个核苷酸或由19至21个核苷酸组成。在一些实施方案中,靶向序列可以包括20个核苷酸或由20个核苷酸组成。

[0417] 在一些实施方案中,sgRNA是能够通过Cas9蛋白介导RNA引导的DNA切割的“Cas9 sgRNA”。在一些实施方案中,sgRNA是能够通过Cpf1蛋白介导RNA引导的DNA切割的“Cpf1 sgRNA”。在一些实施方案中,gRNA包括足以与Cas9蛋白形成活性复合物并介导RNA引导的DNA切割的crRNA和tracrRNA。在一些实施方案中,gRNA包括足以与Cpf1蛋白形成活性复合物并介导RNA引导的DNA切割的crRNA。参见Zetsche2015。

[0418] 本发明的某些实施方案还提供了编码本文所述的gRNA的核酸,例如,表达盒。本文所使用的“向导RNA核酸”是指向导RNA(例如,sgRNA或dgRNA)和向导RNA表达盒,其是编码一个或多个向导RNA的核酸。

[0419] 本公开的某些实施方案还提供了使用本文所述的LNP组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料递送腺嘌呤碱基编辑器(“ABE”)。ABE及其使用方法描述于例如美国专利第10,113,163号和美国专利公开案第2021/0130805号中,其中每一者的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0420] 本公开的某些实施方案还提供了使用本文所述的LNP组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料递送胞嘧啶碱基编辑器(“CBE”)。ABE及其使用方法描述于例如美国专利第10,167,457号和第9,840,699号中,其中每一者的内容以全文引用的方式并入本文中。

[0421] 术语“碱基编辑器(BE)”或“核碱基编辑器(NBE)”是指包括能够对核酸序列(例如DNA或RNA)内的碱基(例如A、T、C、G或U)进行修饰的多肽的试剂。在一些实施方案中,碱基编辑器能够使核酸内的碱基脱氨基。在一些实施方案中,碱基编辑器能够使DNA分子内的碱基脱氨基。在一些实施方案中,碱基编辑器能够使DNA内的腺嘌呤(A)脱氨基。在一些实施方案中,脱氨酶为胞嘧啶脱氨酶或胞苷脱氨酶。在一些实施方案中,碱基编辑器为融合蛋白,其包括与腺苷脱氨酶融合的核酸可编程DNA结合蛋白(napDNAbp)。在一些实施方案中,碱基编辑器为与腺苷脱氨酶融合的Cas9蛋白。在一些实施方案中,碱基编辑器为与腺苷脱氨酶融合的Cas9切口酶(nCas9)。在一些实施方案中,碱基编辑器为与腺苷脱氨酶融合的无核酸酶活性的Cas9(dCas9)。在一些实施方案中,碱基编辑器与碱基切除修复抑制剂(例如UGI结构域或dISN结构域)融合。在一些实施方案中,融合蛋白包括与脱氨酶融合的Cas9切口酶和碱基切除修复抑制剂,如UGI或dISN结构域。术语“核酸可编程的DNA结合蛋白”或“napDNAbp”是指与核酸(例如DNA或RNA)(如将napDNAbp引导到特定核酸序列的向导核酸)缔合的蛋白质。例如,Cas9蛋白可与向导RNA缔合,所述向导RNA将Cas9蛋白引导到与向导RNA互补的特定DNA序列。在一些实施方案中,napDNAbp为2类微生物CRISPR-Cas效应子。在一些实施方案中,napDNAbp为Cas9域,例如核酸酶活性Cas9、Cas9切口酶(nCas9)或无核酸酶活性的Cas9

(dCas9)。核酸可编程的DNA结合蛋白的实例包括但不限于Cas9(例如,dCas9和nCas9)、CasX、CasY、Cpf1、C2c1、C2c2、C2C3和阿高蛋白(Argonaute)。然而,应了解,核酸可编程的DNA结合蛋白还包含结合RNA的核酸可编程蛋白。例如,napDNAbp可以与将napDNAbp引导到RNA的核酸缔合。其它核酸可编程的DNA结合蛋白也在本公开的范围,但其可能未在本公开中具体列出。

[0422] F. 经修饰的RNA

[0423] 在某些实施方案中,所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括经修饰的核酸,包含经修饰的RNA。

[0424] 经修饰的核苷或核苷酸可以存在于RNA,例如gRNA或mRNA中。包括一个或多个经修饰的核苷或核苷酸的gRNA或mRNA例如被称为“经修饰的”RNA,用以描述一个或多个非天然和/或天然存在的用于替代或除了规范的A、G、C和U残基之外使用的组分或构型的存在。在一些实施方案中,经修饰的RNA是用非规范核苷或核苷酸合成的,这里称为“经修饰的”。

[0425] 经修饰的核苷和核苷酸可以包含以下中的一种或多种:(i) 磷酸二酯骨架键中的非连接磷酸氧中的一个或两个和/或连接磷酸氧中的一个或多个的改变,例如,置换(示范性骨架修饰);(ii) 核糖糖,例如,核糖糖上的2'羟基的组成的改变,例如置换(示范性糖修饰);(iii) 用“脱磷酸”连接子大规模置换磷酸盐部分(示范性骨架修饰);(iv) 天然存在的核碱基(包含用非规范的核碱基进行)的修饰或置换(示范性碱基修饰);(v) 核糖-磷酸骨架的置换或修饰(示范性骨架修饰);(vi) 寡核苷酸3'端或5'端的修饰,例如末端磷酸基团的去除、修饰或置换,或部分、帽或连接子的缀合(此类3'或5'帽修饰可以包括糖和/或骨架修饰);以及(vii) 糖的修饰或置换(示范性糖修饰)。某些实施方案包括对mRNA、gRNA或核酸的5'端修饰。某些实施方案包括对mRNA、gRNA或核酸的3'端修饰。经修饰的RNA可以含有5'端和3'端修饰。经修饰的RNA可以在非末端位置处含有一个或多个经修饰的残基。在某些实施方案中,gRNA包含至少一个经修饰的残基。在某些实施方案中,mRNA包含至少一个经修饰的残基。

[0426] 未经修饰的核酸可能易于被例如胞内核酸酶或在血清中发现的核酸酶降解。例如,核酸酶可以水解核酸磷酸二酯键。因此,在一方面,本文所述的RNA(例如mRNA、gRNA)可以含有一种或多种经修饰的核苷或核苷酸,例如用以引入对胞内或基于血清的核酸酶的稳定性。在一些实施方案中,本文所述的经修饰的gRNA分子在被体内和离体引入细胞群体时可表现出降低的先天免疫反应。术语“先天免疫应答”包含对外源性核酸的细胞应答,所述外源性核酸包含单链核酸,所述细胞应答涉及诱导细胞因子表达和释放,特别是干扰素和细胞死亡。

[0427] 因此,在一些实施方案中,所公开所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料中的RNA或核酸包括至少一种修饰,其赋予核酸增加或增强的稳定性,包含例如改善的核酸酶体内消化抗性。如本文所使用的术语“修饰”和“经修饰的”当与本文所提供的核酸相关时,此类术语包含至少一种改变,其优选增强稳定性并使RNA或核酸比野生型或天然存在的RNA或核酸型式更稳定(例如,对核酸酶消化具有抗性)。如本文所使用的术语“稳定的(stable)”和“稳定性(stability)”当与本发明的核酸相关并且特别是关于RNA时,此类术语是指例如通过通常能够降解此类RNA的核酸酶(即,核酸内切酶或核酸外切酶)使降解抗性增加或增强。稳定性增加可以包含例如对由内源性酶(例如核酸内切酶或核酸外切酶)或

靶细胞或组织内的条件引起的水解或其它破坏的敏感性降低,从而增加或增强此类RNA在靶细胞、组织、个体和/或细胞质中的停留。本文提供的稳定RNA分子相对于其天然存在的未修饰对应物(例如mRNA的野生型型式)表现出更长的半衰期。术语“修饰”和“经修饰的”当与本文所公开的LNP组合物的mRNA相关时,此类术语还涵盖改善或增强mRNA核酸翻译的改变,包含例如:包含在蛋白质翻译起始中起作用的序列(例如Kozac共有序列)。(Kozak, M., *Nucleic Acids Res* 15(20):8125-48(1987),其内容特此通过全文引用的方式并入本文中)。

[0428] 在一些实施方案中,本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的RNA或核酸已经历化学或生物改性以使得其更稳定。对RNA的示范性修饰包含碱基耗尽(例如,通过缺失或通过一个核苷酸取代另一个)或碱基修饰,例如碱基的化学修饰如本文所使用的短语“化学修饰”包含引入与天然存在的RNA中可见的化学物质的化学物质的修饰,例如共价修饰,如引入经修饰的核苷酸(例如,核苷酸类似物,或包含并非天然存在于此类RNA分子中的侧基)。

[0429] 在骨架修饰的一些实施方案中,可以通过用不同的取代基置换一个或多个氧来修饰经修饰的残基的磷酸基团。另外,经修饰的残基(例如经修饰的核酸中存在的经修饰的残基)可以包含用如本文所述的经修饰的磷酸基团大规模置换未经修饰的磷酸部分。在一些实施方案中,磷酸骨架的骨架修饰可以包含导致不带电荷的连接子或具有不对称电荷分布的带电荷连接子的改变。经修饰的磷酸基团的实例包含硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、硼烷磷酸(borano phosphate)、硼烷磷酸酯(borano phosphate ester)、磷酸氢酯、氨基磷酸酯、烷基或芳基磷酸酯和磷酸三酯。未经修饰的磷酸基团中的磷原子是非手性的。然而,用上述原子或原子基团中的一个置换非桥氧中的一个可以使磷原子具有手性。立构磷原子可以具有“R”构型(此处为Rp)或“S”构型(此处为Sp)。还可以通过用氮(桥接的氨基磷酸酯)、硫(桥接的硫代磷酸酯)和碳(桥接的亚甲基磷酸酯)置换桥氧(即,连接磷酸酯与核苷的氧)来修饰骨架。置换可以发生在任一连接氧处或两个连接氧处。在某些骨架修饰中,磷酸基团可以被不含磷的接头置换。在一些实施方案中,带电荷的磷酸基团可以被中性部分置换。可以置换磷酸基团的部分的实例可以包含但不限于,例如磷酸甲酯、羟氨基、硅氧烷、碳酸酯、羧甲基、氨基甲酸酯、酰胺、硫醚、环氧乙烷连接子、磺酸盐、磺酰胺、硫代甲缩醛化物、甲缩醛化物、肟、亚甲基亚氨基、亚甲基甲亚氨基、亚甲基亚肼基(methylenehydrazo)、亚甲基二甲亚肼基(methylenedimethylhydrazo)和亚甲基氧甲亚氨基。

[0430] G.mRNA

[0431] 在一些实施方案中,所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括mRNA,所述mRNA包括编码RNA引导的DNA结合剂的开放阅读框架(ORF),如本文所述的Cas核酸酶或2类Cas核酸酶。在一些实施方案中,提供、使用或施用包括编码RNA引导的DNA结合剂(如Cas核酸酶或2类Cas核酸酶)的ORF的mRNA。mRNA可以包括5'帽、5'非翻译区(UTR)、3'UTR和聚腺嘌呤尾中的一个或多个。mRNA可以包括经修饰的开放阅读框架,例如用以编码核定位序列或使用替代密码子编码蛋白质。

[0432] 所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料中的mRNA可以编码例如所分泌的激素、酶、受体、多肽、肽或正常所分泌的其它所关注蛋白质。在本发明的一个实施方面中,mRNA可以任选地具有化学或生物修饰,其例如改善此类mRNA的稳定性和/或半衰期,或改善

或以其它方式促进蛋白质产生。

[0433] 此外,适合的修饰包含密码子的一个或多个核苷酸的改变,使得所述密码子编码相同氨基酸,但比在mRNA的野生型型式中发现的密码子更稳定。例如,已证明RNA的稳定性与更多的胞苷(C)和/或尿苷(U)残基之间存在反比关系,并且发现不含C和U残基的RNA对大多数RNA酶都是稳定的(Heidenreich等人,J Biol Chem 269,2131-8(1994),其公开内容通过全文引用的方式并入本文中)。在一些实施方案中,mRNA序列中的C和/或U残基的数量减少。在另一个实施方案中,通过用编码特定氨基酸的一个密码子取代编码相同或相关氨基酸的另一个密码子来减少C和/或U残基的数量。对本发明的mRNA核酸的预期修饰还包括并入假尿苷。将假尿苷并入本发明的mRNA核酸中可以增强稳定性和翻译能力,以及降低体内免疫原性。参见例如Kariko,K.等人,Molecular Therapy 16(11):1833-1840(2008),其内容特此以全文引用的方式并入本文中。可以通过本领域的普通技术人员容易了解的方法对本发明的mRNA进行取代和修饰。

[0434] 与非翻译区相比,对于减少序列中C和U残基数量的限制在mRNA编码区内可能更多(即,可能无法消除所有存在于消息中的C和U残基,同时仍保留消息编码所需氨基酸序列的能力)。然而,遗传密码的简并提供了如下机会:使序列中存在的C和/或U残基的数量减少,同时保持相同的编码能力(即,取决于哪些氨基酸由密码子编,可能有几种不同的RNA序列修饰可能性)。

[0435] 术语修饰还包含,例如,将非核苷酸键或经修饰的核苷酸并入本发明的mRNA序列中(例如,对编码功能性分泌蛋白或酶的mRNA分子的3'端和5'端中的一个或两个进行修饰)。此类修饰包含向mRNA序列添加碱基(例如,包含poly A尾或更长的poly A尾)、改变3'UTR或5'UTR、使mRNA与试剂(例如、蛋白质或互补核酸分子)复合,以及包含改变mRNA分子结构的元件(例如,其形成二级结构)。

[0436] poly A尾被认为可以稳定自然信使。因此,在一个实施方案中,长poly A尾可以添加到mRNA分子中,因此使mRNA更稳定。可使用多种本领域公认的技术添加Poly A尾。例如,可以使用poly A聚合酶将长poly A尾添加到合成或体外转录的mRNA中(Yokoe等人Nature Biotechnology.1996;14:1252-1256,其内容特此以全文引用的方式并入本文中)。转录载体还可编码长poly A尾。此外,可以通过直接从PCR产物转录来添加poly A尾。在一个实施方案中,poly A尾的长度为至少约90个、200个、300个、400个、至少500个核苷酸。在一个实施方案中,调节poly A尾的长度以控制本发明的经修饰mRNA分子的稳定性,并且因此控制蛋白质的转录。例如,由于poly A尾的长度可影响mRNA分子的半衰期,因此可调节poly A尾的长度以改变mRNA对核酸酶的抗性水平,且由此控制细胞中蛋白质表达的时程。在一个实施方案中,稳定mRNA分子对体内降解(例如通过核酸酶降解)具有足够抗性,使得其可以在无转移媒剂的情况下递送到靶细胞。

[0437] 在一些实施方案中,可以通过并入并非天然存在于野生型mRNA中的3'和/或5'非翻译(UTR)序列来修饰mRNA。在一个实施方案中,天然侧接mRNA并编码第二个不相关蛋白的3'和/或5'侧接序列可以并入到编码治疗性或功能性蛋白的mRNA分子的核苷酸序列中以便对其进行修饰。例如来自稳定的mRNA分子(例如球蛋白、肌动蛋白、GAPDH、微管蛋白、组蛋白或柠檬酸循环酶)的3'或5'序列可以并入到有义mRNA核酸分子的3'和/或5'区中,以增加有义mRNA分子的稳定性。参见例如US2003/0083272,其内容特此以全文引用的方式并入本文

中。mRNA修饰的更详细描述可以见US2017/0210698A1的第57至68页,所述内容以全文引用的方式并入本文中。

[0438] H. 模板核酸

[0439] 本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料和方法可以包含模板核酸。模板可以用于改变或插入RNA引导的DNA结合蛋白(如Cas核酸酶,例如2类Cas核酸酶)的靶位点处或附近的核酸序列。在一些实施方案中,所述方法包括将模板引入细胞。在一些实施方案中,可以提供单个模板。在一些实施方案中,可以提供两个或更多个模板,使得可以在两个或更多个靶位点处进行编辑。例如,可以提供不同的模板来编辑细胞中的单个基因或细胞中的两个不同基因。

[0440] 在一些实施方案中,模板可以用于同源重组。在一些实施方案中,同源重组可以使模板序列或模板序列的一部分合并到靶核酸分子中。在一些实施方案中,模板可以用于同源性定向修复,其涉及核酸中的切割位点处的DNA链侵入。在一些实施方案中,同源性定向修复可以导致在经编辑的靶核酸分子中包含模板序列。在一些实施方案中,模板可以用于由非同源末端连接介导的基因编辑。在一些实施方案中,模板序列与切割位点附近的核酸序列没有相似性。在一些实施方案中,并入模板或模板序列的一部分。在一些实施方案中,模板包含侧接反向末端重复(ITR)序列。

[0441] 在一些实施方案中,模板序列可以对应于靶细胞的内源性序列、包括所述内源性序列或由所述内源性序列组成。其还可以或可替代地对应于靶细胞的外源性序列、包括所述外源性序列或由所述外源性序列组成。如本文所使用的术语“内源性序列”是指细胞固有的序列。术语“外源性序列”是指不是细胞固有的序列,或其在细胞基因组中的固有位置处于不同位置的序列。在一些实施方案中,内源性序列可以是细胞的基因组序列。

[0442] 在一些实施方案中,内源性序列可以是染色体或染色体外序列。在一些实施方案中,内源性序列可以是细胞的质粒序列。

[0443] 在一些实施方案中,模板包含含有侧接反向末端重复(ITR)序列的ssDNA或dsDNA。在一些实施方案中,模板作为载体、质粒、微环、纳米环或PCR产物提供。

[0444] 在一些实施方案中,核酸经纯化。在一些实施方案中,使用沉淀方法(例如,LiCl沉淀、醇沉淀或等效方法,例如,如本文所述)纯化核酸。在一些实施方案中,使用基于色谱的方法,如基于HPLC的方法或等效方法(例如,如本文所述)纯化核酸。在一些实施方案中,使用沉淀方法(例如,LiCl沉淀)和基于HPLC的方法两者纯化核酸。在一些实施方案中,通过切向流动过滤(tangential flow filtration;TFF)纯化核酸。

[0445] IV. 制造LNP的方法

[0446] 制造脂质纳米粒子的方法为本领域中已知的。在一些实施方案中,使用微流体制造所描述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。例如,Leung,A.K.K等人,J Phys Chem, 116:18440-18450(2012)、Chen,D.等人,J Am Chem Soc,134:6947-6951(2012)和Belliveau,N.M.等人,Molecular Therapy-Nucleic Acids,1:e37(2012)中描述了使用微流体形成脂质纳米粒子的示范性方法,所述文献的公开内容特此以全文引用的方式并入。

[0447] 简单来说,在第一缓冲溶液中制备运载物,如本文所述的运载物。在第二缓冲溶液中制备其它脂质纳米粒子组分(如可电离脂质、缀合物-连接子脂质、胆甾醇和磷脂)。在一些实施方案中,注射器泵将两种溶液引入微流体装置中。两种溶液在微流体装置内接触,形

成包裹运载物的脂质纳米粒子。

[0448] 筛选所公开的脂质纳米粒子的方法描述于国际专利申请案第PCT/US2018/058171号中,所述申请案是以全文引用的方式并入本文中。图1描绘根据本公开的实施方案的LNP制剂的示范性mRNA筛选系统。图2描绘根据本公开的实施方案的LNP制剂的示范性siRNA筛选系统。在一些实施方案中,筛选方法表征递送制剂,以识别具有所需向性并将功能性运载物递送到特定细胞的细胞质的制剂。在一些实施方案中,筛选方法使用具有当递送到细胞时可以检测到的功能性的报告基因(reporter)。例如,检测到细胞中的功能性报告基因表明LNP制剂将功能性运载物递送至细胞。此外,在一些实施方案中,化学成分标识符包含在每种不同的递送制剂调配物中,以跟踪特定于每种不同递送制剂调配物的化学组成。在一些实施方案中,化学组成标识符是核酸条形码。在一些实施方案中,使核酸条形码序列与用于调配其中负载化学组分的LNP制剂的所述化学组分配对,以便在测序核酸条形码时识别递送条形码的递送制剂的化学组成。代表性条形码包括但不限于由Sago, 2018PNAS, Sago, JACS 2018描述的条形码,其公开内容特此以全文引用的方式并入。代表性报告基因包括但不限于siRNA、mRNA、核酸酶蛋白质、核酸酶mRNA、小分子、表观遗传修饰剂和表型修饰剂。DNA(基因组和DNA条形码)可以使用QuickExtract (Lucigen)分离,并使用Illumina MiniSeq测序,如Sago等人PNAS 2018, Sago等人JACS 2018, Sago、Lokugamage等人Nano Letters 2018中所描述,其公开内容特此通过全文引用的方式并入)。

[0449] V. 使用方法

[0450] 此外,本公开描述使用本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的方法。例如,在一些实施方案中,本公开描述使用组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料将运载物传递到如本文所述的特定细胞、组织或器官的方法。作为另一实例,在一些实施方案中,本公开描述使用如本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料治疗疾病或病症和/或延迟和/或遏制疾病或病症进展的方法。在一些实施方案中,本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料适用于医学。

[0451] 在一些实施方案中,本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料将治疗剂或预防剂递送到有需要个体的特定细胞或器官。在一些实施方案中,所述组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料在不存在靶向配体的情况下将治疗剂或预防剂递送到有需要个体的特定细胞或器官。在一些实施方案中,所述组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料适用于治疗或预防有需要个体的疾病。

[0452] A. 将运载物传递到细胞、组织或器官的方法

[0453] 此外,在一些实施方案中,本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料靶向特定类型或类别的细胞(例如,特定器官或其系统的细胞)、组织和/器官。在一些实施方案中,本公开提供向有需要个体递送本文所述的一种或多种运载物的方法。在一些实施方案中,此类方法包括体内和/或体外递送。在一些实施方案中,此类方法包括体内递送。在一些实施方案中,此类方法包括体外递送。在一些实施方案中,本公开提供本文描述向有需要个体递送一种或多种治疗性和/或预防性核酸的方法。

[0454] 在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括可以特异性地递送到个体的肝脏细胞的所关注的治疗剂和/或预防剂。示范性肝脏细胞包括但不限于肝细胞(hepatocyte)。

[0455] 在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括可以特异性递送到个体的脾细胞的所关注的治疗剂和/或预防剂。示范性脾细胞包含但不限于脾单核细胞、脾T细胞、脾记忆B细胞或脾B细胞。

[0456] 在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括可以特异性地递送到个体的骨髓细胞的所关注的治疗剂和/或预防剂。示范性骨髓细胞包含但不限于骨髓单核细胞、骨髓B细胞、骨髓记忆B细胞或骨髓T细胞。

[0457] 在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括可以特异性递送到个体的免疫细胞的所关注的治疗剂和/或预防剂。示范性免疫细胞包含但不限于CD8+、CD4+或CD8+CD4+细胞。

[0458] 在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括可以特异性地递送到个体的造血干细胞的所关注的治疗剂和/或预防剂。除非另有规定,否则应理解,术语“造血干细胞(HSC)”和“造血干/祖细胞(HSPC)”在本公开中可互换地使用。

[0459] 在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括可以特异性传递到心脏细胞(例如心肌细胞)的所关注的治疗剂和/或预防剂。

[0460] 在一些实施方案中,组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括可以特异性递送到肌肉细胞(例如肌细胞)的所关注的治疗剂和/或预防剂。

[0461] 在一些实施方案中,脂质纳米粒子可以调配成在不存在靶向配体的情况下递送到哺乳动物肝脏肝细胞、肝脏免疫细胞、脾T细胞或肺内皮细胞。特异性递送至特定类别或类型的细胞表明更高比例的脂质纳米粒子被递送至目标类型或类别的细胞。在一些实施方案中,特异性递送可以导致比使用常规纳米粒子系统(例如,含有MC3的LNP)的递送大2倍、5倍、10倍、15倍或20倍。

[0462] B.产生多肽的方法

[0463] 此外,在一些实施方案中,本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的使用方法被用于产生多肽的方法。此外,在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子可以用于在有需要个体的靶细胞中产生多肽。例如,在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子可以用于在有需要个体的靶细胞中产生多肽。在一些实施方案中,本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料包括一种或多种待递送到细胞的核酸序列。

[0464] 在一些实施方案中,一种或多种核酸表达于细胞中。在一些实施方案中,核酸序列的表达涉及以下一项或多项:(1)从DNA序列(例如通过转录)产生RNA模板;(2)处理RNA转录物(例如通过剪接、编辑、5'帽形成和/或3'端形成);(3)将RNA翻译成多肽或蛋白质;和/或(4)多肽或蛋白质的翻译后修饰。

[0465] C.基因调节方法

[0466] 此外,在一些实施方案中,本文所公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的使用方法被用于基因调节。此外,在一些实施阿发能干中,本文所述的脂质纳米粒子可用于减少和/或增加有需要个体的靶细胞中的基因表达。例如,在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子可以在没有靶向配体的情况下将一种或多种核酸递送到个体的靶细胞。在一些实施方案中,核酸为抑制剂核酸。在一些实施方案中,抑制性核酸为siRNA。在一些实施方案中,核酸为本文所述的核酸。作为另一实例,在一些实施方案中,本文所述的脂质纳米粒子可以在没有靶向配体的情况下将运载物递送到个体的靶细胞。在一些实施方案中,运载

物是本文所述的任何运载物。

[0467] 此外,在一些实施方案中,使用本文公开的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料来编辑有需要个体的细胞中的基因的方法。

[0468] 在一些实施方案中,靶向用于基因调节的细胞是免疫细胞。免疫细胞可以是T细胞,如CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞或T调节细胞。用于基因编辑的其它示范性免疫细胞包括但不限于巨噬细胞、树突状细胞、B细胞或自然杀伤细胞。在一些实施方案中,靶向用于在肝细胞中进行基因调节的细胞。

[0469] 可被靶向的示范性基因包括但不限于T细胞受体、B细胞受体、CTLA4、PD1、FOXO1、FOXO3、AKTs、CCR5、CXCR4、LAG3、TIM3、杀伤免疫球蛋白样受体、GITR、BTLA、LFA-4、T4、LFA-1、Bp35、CD27L受体、TNFRSF8、TNFRSF5、CD47、CD52、ICAM-1、LFA-3、L-选择蛋白、Ki-24、MB1、B7、B70、M-CSFR、TNFR-II、IL-7R、OX-40、CD137、CD137L、CD30L、CD40L、FasL、TRAIL、CD257、LIGHT、TRAIL-R1、TRAILR2、TRAIL-R4、TWEAK-R、TNFR、BCMA、B7DC、BTLA、B7-H1、B7-H2、B7-H3、ICOS、VEGFR2、NKG2D、JAG1、GITR、CD4、CCR2、GATA-3、MTORC1、MTORC2、RAPTOR、GATOR、FOXP3、NFAT、IL2R和IL7。可被靶向的其它示范性基因包括但不限于OCT、G6Pase、Mut、PCCA、PCCB和PAH。可以由T细胞识别并且考虑用于靶向的示范性肿瘤相关抗原包括但不限于MAGE1、MAGE3、MAGE6、BAGE、GAGE、NYESO-1、MART1/Melan A、MC1R、GP100、酪氨酸酶、TRP-1、TRP-2、PSA、CEA、Cyp-B、Her2/Neu、hTERT、MUC1、PRAME、WT1、RAS、CDK-4、MUM-1、KRAS、MSLN和 β -连环蛋白。

[0470] D. 待治疗的个体

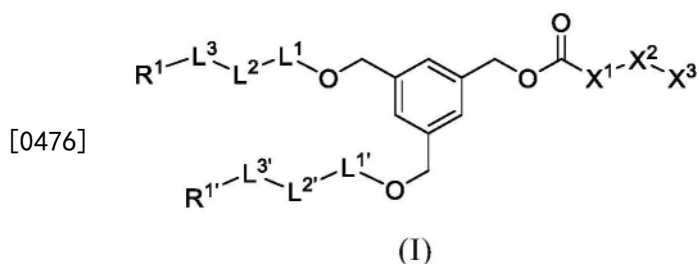
[0471] 在一些实施方案中,被治疗的个体是患有癌症、自体免疫疾病、感染性疾病、器官移植、器官衰竭、蛋白质缺乏或其组合的哺乳动物。在一些实施方案中,个体为人类。在一些实施方案中,本文所述的方法可使肝细胞翻译某些蛋白质。在一些实施方案中,本文所述的方法可以用于将一种或多种DNA、mRNA、sgRNA或siRNA递送到肝细胞。在一些实施方案中,本文所述的方法可以用于将一种或多种DNA、mRNA、sgRNA或siRNA递送到脾T细胞。在一些实施方案中,本文所述的方法可以用于将一种或多种DNA、mRNA、sgRNA或siRNA递送到脾B细胞。在一些实施方案中,本文所述的方法可以用于将一种或多种DNA、mRNA、sgRNA或siRNA递送到脾单核细胞。在一些实施方案中,本文所述的方法可以用于将一种或多种DNA、mRNA、sgRNA或siRNA递送到骨髓细胞。

[0472] 应理解,只要本发明仍然可操作,步骤的顺序或执行某个动作的顺序就是不重要的。此外,两个或更多个步骤或动作可以同时进行。

[0473] 虽然本发明已经参考特定的优选实施方案进行了具体的展示和描述,但本领域的技术人员应理解,在不偏离由所附权利要求书所界定的本发明的精神和范围的情况下,可以在本文中进行形式和细节的各种变化。

[0474] 示范性实施方案

[0475] 1. 一种式I化合物:



[0477] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0478] L^1 及 L^1' 各自独立地为 $-C(O)-$ 或 $-C(O)O-$;

[0479] L^2 及 L^2' 各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链

C_1-C_{12} 烃链或 $\left[\left(\text{---} \right)_m \text{Cy}^A \left(\text{---} \right)_m \right]$;

[0480] 各 Cy^A 独立地为选自亚苯基或3至7元饱和或部分不饱和亚碳环基的任选地被取代的环;

[0481] 各 m 独立地为0、1或2;

[0482] L^3 及 L^3' 各自独立地为共价键、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-O-$ 或 $-OC(O)O-$;

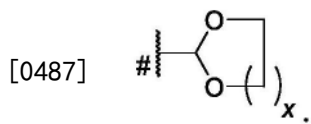
[0483] R^1 及 R^1' 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团:饱和或不饱和直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;3至12元饱和或部分

不饱和碳环;1-金刚烷基;2-金刚烷基;甾醇基;苯基;和 $\left[\text{---} L^4 \begin{array}{l} \text{O}-A^1 \\ \text{O}-A^2 \end{array} \right]$;

[0484] 各 L^4 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_6 烃链;

[0485] A^1 及 A^2 各自独立地为任选地被取代的 C_1-C_{20} 脂肪族基或 $-L^5-R^5$;

[0486] 或 A^1 及 A^2 与其中间原子一起可形成任选地被取代的环:



[0488] 其中

[0489] x 选自1或2;及

[0490] #表示与 L^4 的连接点;

[0491] 各 L^5 独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{20} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

[0492] 各 R^5 独立地为选自5至10元芳基环及3至8元碳环的任选地被取代的基团;

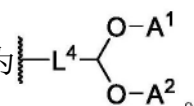
[0493] X^1 为共价键、 $-O-$ 或 $-NR-$;

[0494] X^2 为共价键或任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1-C_{12} 烃链,其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被 $-O-$ 或 $-NR-$ 置换;

[0495] X^3 为氢或 $-Cy^B$;

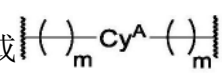
[0496] Cy^B 为选自以下的任选地被取代的环:3至7元饱和或部分不饱和碳环基、苯基、具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3至7元饱和或部分不饱和杂环基,及具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元杂芳基;及

[0497] 各R独立地为氢或任选地被取代的C₁-C₆脂肪族基团；

[0498] 前提是当X³为氢时，R¹或R^{1'}中的至少一者为。

[0499] 2. 根据实施方案1所述的化合物，其中：

[0500] L¹及L^{1'}各自独立地为-C(O)-或-C(O)O-；

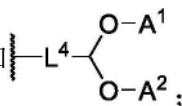
[0501] L²及L^{2'}各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₁₂烃链或；

[0502] 各Cy^A独立地为选自亚苯基和3至7元饱和或部分不饱和亚碳环基的任选地被取代的环；

[0503] 各m独立地为0、1或2；

[0504] L³及L^{3'}各自独立地为共价键、-C(O)O-、-OC(O)-、-O-或-OC(O)O-；

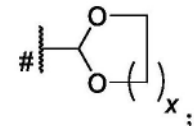
[0505] R¹及R^{1'}各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团：饱和或不饱和直链或支链C₁-C₂₀烃链，其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换；3至7元饱和或部分

不饱和碳环；1-金刚烷基；2-金刚烷基；甾醇基；苯基；和；

[0506] 各L⁴独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₆烃链；

[0507] A¹及A²各自独立地为任选地被取代的C₁-C₂₀脂肪族基或-L⁵-R⁵；

[0508] 或A¹及A²与其中间原子一起可形成任选地被取代的环：

[0509] ；

[0510] 其中

[0511] x选自1或2；及

[0512] #表示与L⁴的连接点；

[0513] 各L⁵独立地为二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₂₀烃链，其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换；

[0514] 各R⁵独立地为选自5至10元芳基环及3至8元碳环的任选地被取代的基团；

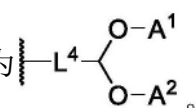
[0515] X¹为共价键、-O-或-NR-；

[0516] X²为共价键或任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₁₂烃链，其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被-O-或-NR-置换；

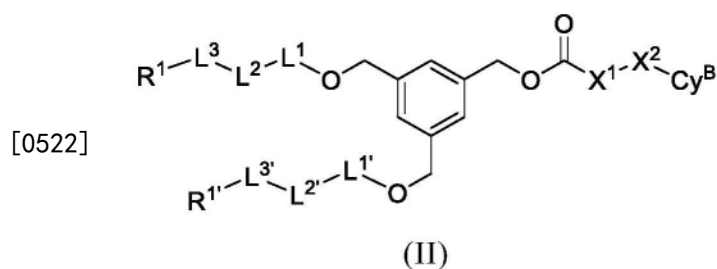
[0517] X³为氢或-Cy^B；

[0518] Cy^B为选自以下的任选地被取代的环：3至7元饱和或部分不饱和碳环基、苯基、具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3至7元饱和或部分不饱和杂环基，及具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5至6元杂芳基；及

[0519] 各R独立地为氢或任选地被取代的C₁-C₆脂肪族基团；

[0520] 前提是当 X^3 为氢时, R^1 或 $R^{1'}$ 中的至少一者为 .

[0521] 3. 根据实施方案1或2所述的化合物, 其中所述化合物具有式(II):



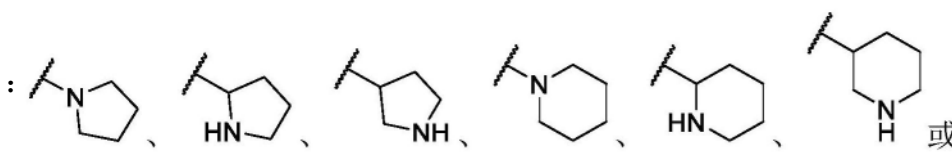
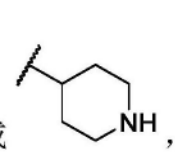
[0523] 或其药学上可接受的盐。

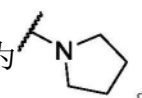
[0524] 4. 根据实施方案1至3中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的任选地被取代的3至7元饱和或部分不饱和杂环基。

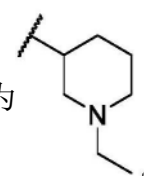
[0525] 5. 根据实施方案1至4中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基或哌啶基, 其中 Cy^B 内的碳原子结合于 X^2 。

[0526] 6. 根据实施方案1至5中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代。

[0527] 7. 根据实施方案1至6中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为选自以下的任选地被取

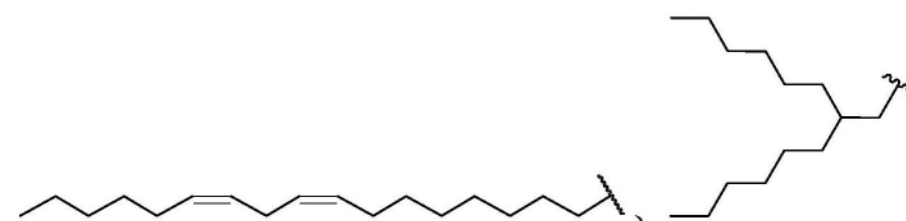
代的环:  或 ,
其任选地被 C_1 - C_6 脂肪族基取代。

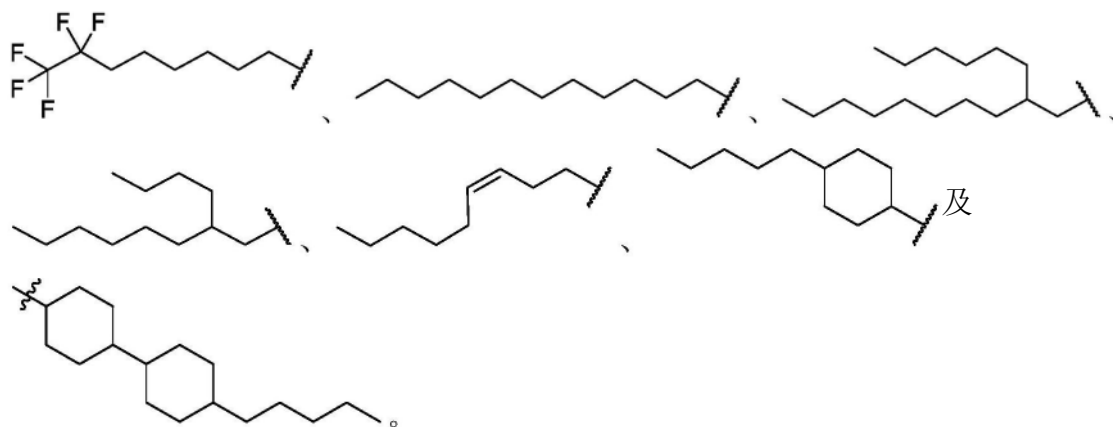
[0528] 8. 根据实施方案1至7中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为 .

[0529] 9. 根据实施方案1至7中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为 .

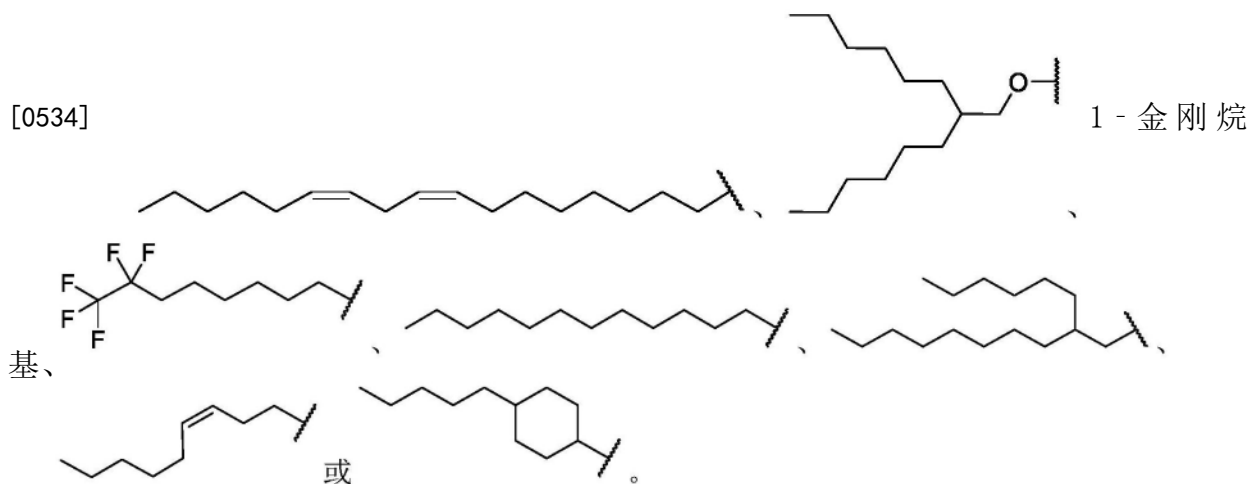
[0530] 10. 根据实施方案1至9中任一者所述的化合物, 其中 R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地为选自以下的任选地被取代的基团: 饱和或不饱和直链或支链 C_1 - C_{20} 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被O-或-NR-置换; 3至7元饱和或部分不饱和碳环; 1-金刚烷基; 2-金刚烷基; 甾醇基; 和苯基。

[0531] 11. 根据实施方案1至10中任一者所述的化合物, 其中 R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地选自:

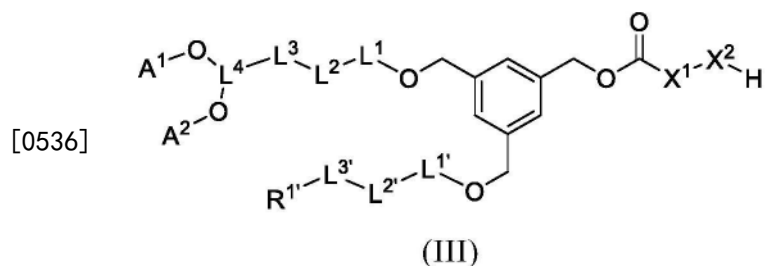
[0532]  1-金刚烷基、



[0533] 12. 根据实施方案1至10中任一者所述的化合物, 其中 R^1 及 $R^{1'}$ 各自独立地选自:



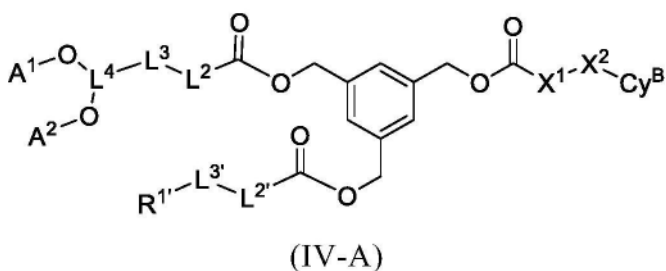
[0535] 13. 根据实施方案1或2所述的化合物, 其中所述化合物具有式(III):



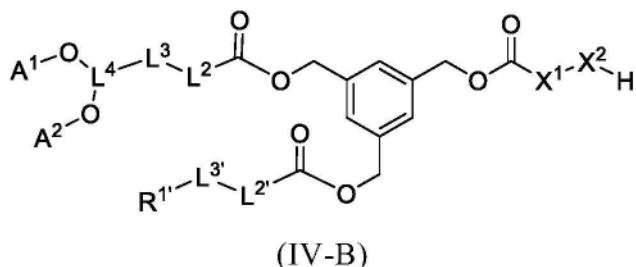
[0537] 或其药学上可接受的盐。

[0538] 14. 根据实施方案1至13中任一者所述的化合物, 其中 L^1 和 $L^{1'}$ 为 $-C(O)-$ 。

[0539] 15. 根据实施方案1或2所述的化合物, 其中所述化合物具有式(IV-A)或(IV-B):



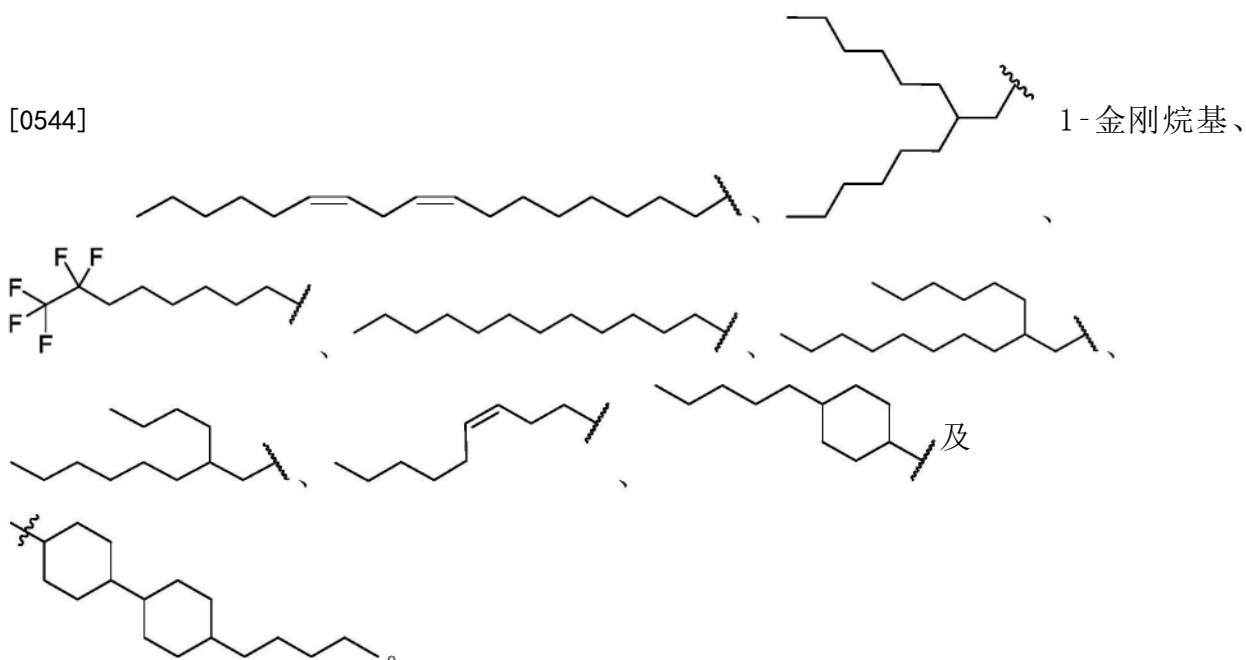
[0540]



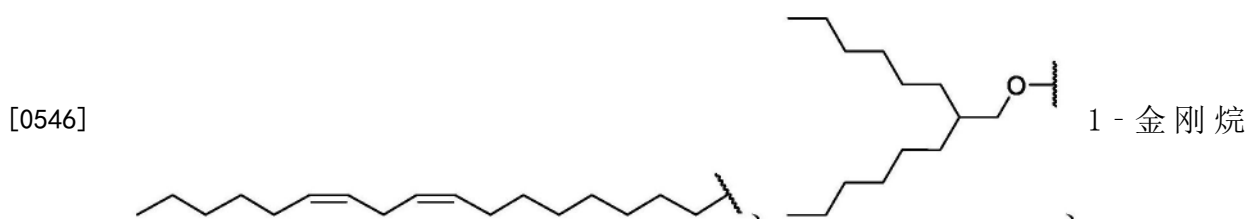
[0541] 或其药学上可接受的盐。

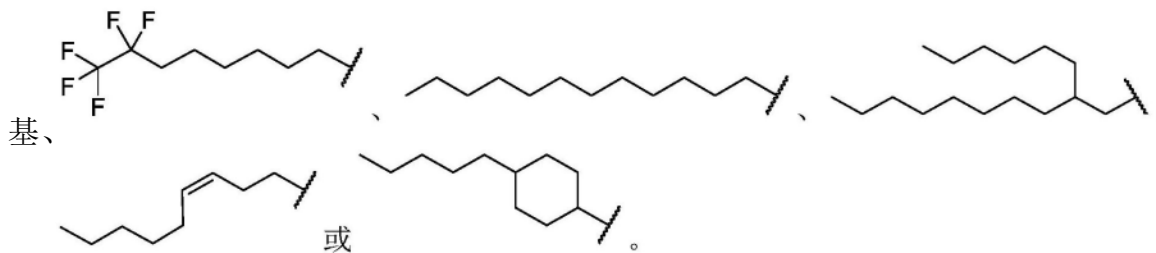
[0542] 16. 根据实施方案13至15中任一者所述的化合物, 其中 $R^{1'}$ 为选自以下的任选地被取代的基团: 饱和或不饱和直链或支链 C_1 - C_{20} 烃链, 其中1至3个亚甲基单元任选地且独立地被O-或-NR-置换; 3至7元饱和或部分不饱和碳环; 1-金刚烷基; 2-金刚烷基; 甾醇基; 和苯基。

[0543] 17. 根据实施方案13至16中任一者所述的化合物, 其中 $R^{1'}$ 选自:

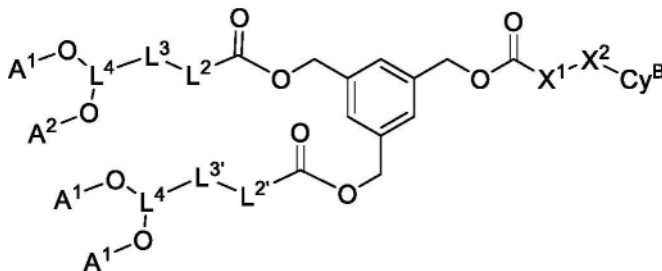


[0545] 18. 根据实施方案13至16中任一者所述的化合物, 其中 $R^{1'}$ 选自:



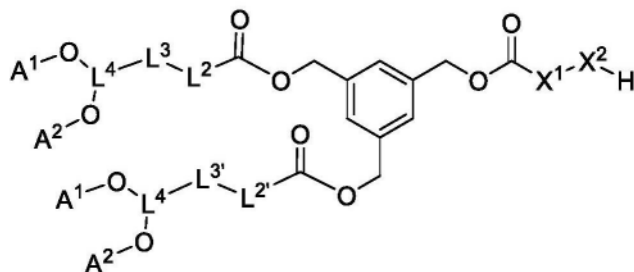


[0547] 19. 根据实施方案1或2所述的化合物,其中所述化合物具有式(V-A)或(V-B):



(V-A)

[0548]



(V-B)

[0549] 或其药学上可接受的盐。

[0550] 20. 根据实施方案1至19中任一者所述的化合物, 其中 X^1 为-NR-。

[0551] 21. 根据实施方案1至20中任一者所述的化合物, 其中 X^1 为-NH-。

[0552] 22. 根据实施方案1至19中任一者所述的化合物, 其中 X^1 为-0-。

[0553] 23. 根据实施方案1至22中任一者所述的化合物, 其中X²为任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链C₁-C₁₀烃链。

[0554] 24. 根据实施方案1至23中任一者所述的化合物, 其中 X^2 为亚甲基、亚乙基或亚丙基。

[0555] 25. 根据实施方案1至24中任一者所述的化合物, 其中 L^2 及 $L^{2'}$ 各自独立地为共价键、任选地被取代的二价饱和或不饱和的直链或支链 C_1 - C_6 烃链, 或 $\text{---}(\text{---})_m\text{---}C_y^A\text{---}(\text{---})_m\text{---}$ 。

[0556] 26. 根据实施方案25所述的化合物, 其中C_y^A为亚环己基或亚苯基。

[0557] 27. 根据实施方案1至26中任一者所述的化合物, 其中 L^2 及 L^2 , 各自独立地为共价键、亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基或亚己基。

[0558] 28. 根据实施方案1至24中任一者所述的化合物, 其中 L^2 及 L^2 '为共价键。

[0559] 29. 根据实施方案1至28中任一者所述的化合物, 其中 L^3 及 L^3 , 各自独立地为共价键或 $-C(O)O^-$ 。

[0560] 30. 根据实施方案1至29中任一者所述的化合物, 其中 L^3 和 L^3' 为共价键。

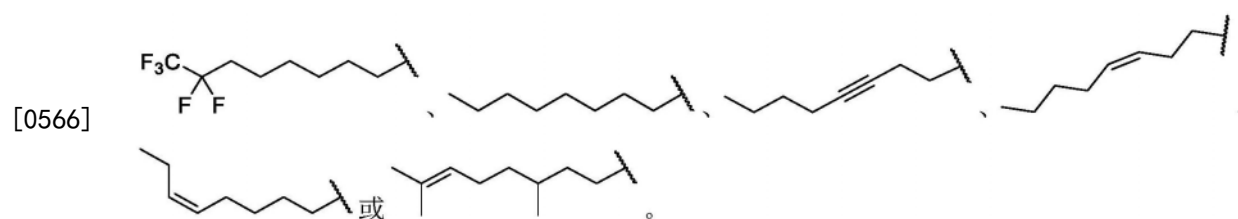
[0561] 31. 根据实施方案1至29中任一者所述的化合物, 其中 L^3 为共价键, 并且 $L^{3'}$ 为 $-C(O)O-$ 。

[0562] 32. 根据实施方案1至9或13至31中任一者所述的化合物, 其中各 L^4 独立地为亚甲基、亚乙基或亚丙基。

[0563] 33. 根据实施方案1至9或13至32中任一者所述的化合物, 其中 A^1 及 A^2 各自独立地选自任选地被取代的 C_1-C_{20} 脂肪族基。

[0564] 34. 根据实施方案1至9或13至33中任一者所述的化合物, 其中 A^1 及 A^2 各自独立地选自任选地被取代的 C_8 脂肪族基。

[0565] 35. 根据实施方案1至9或13至34中任一者所述的化合物, 其中 A^1 及 A^2 各自独立地选自:



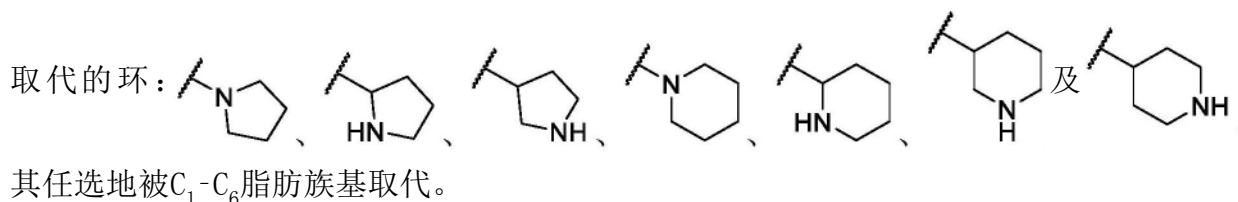
[0567] 36. 根据实施方案1至9或13至35中任一者所述的化合物, 其中各 A^1 及 A^2 均相同。

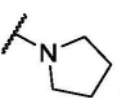
[0568] 37. 根据实施方案15至36中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为具有1至3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的任选地被取代的3至7元饱和或部分不饱和杂环基。

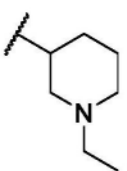
[0569] 38. 根据实施方案15至37中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为任选地被取代的吡咯烷基或哌啶基, 其中 Cy^B 内的碳原子结合于 X^2 。

[0570] 39. 根据实施方案15至38中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 任选地被 C_1-C_6 脂肪族基取代。

[0571] 40. 根据实施方案15至37中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为选自以下的任选地被

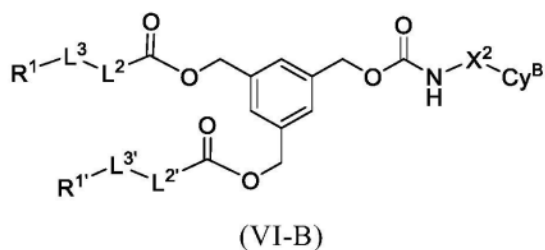
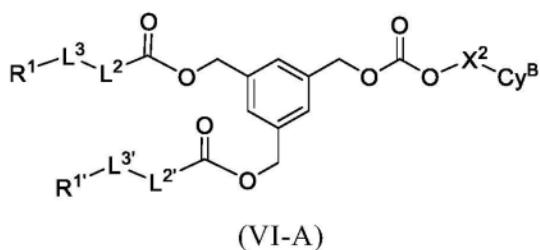


[0572] 41. 根据实施方案15至37中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为 .

[0573] 42. 根据实施方案15至40中任一者所述的化合物, 其中 Cy^B 为 .

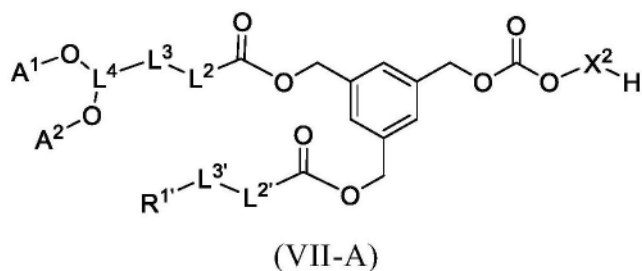
[0574] 43. 根据实施方案1至42中任一者所述的化合物, 其中所述化合物具有式 (VI-A) 或 (VI-B):

[0575]

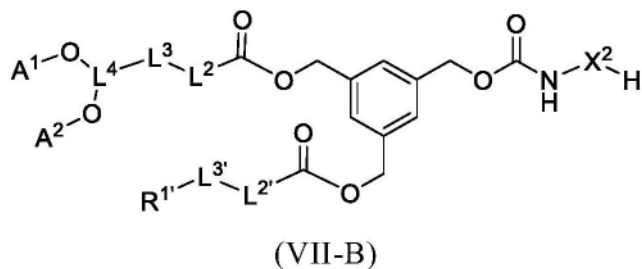


[0576] 或其药学上可接受的盐。

[0577] 44. 根据实施方案1至42中任一者所述的化合物, 其中所述化合物具有 (VII-A) 或 (VII-B) :

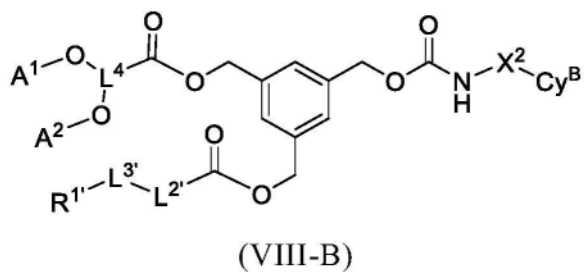
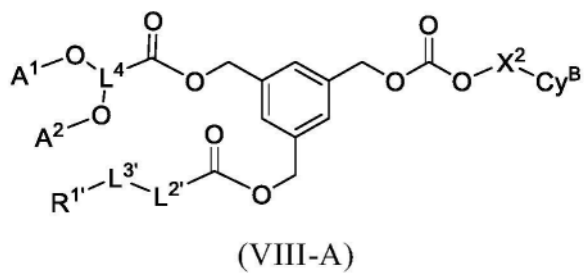


[0578]

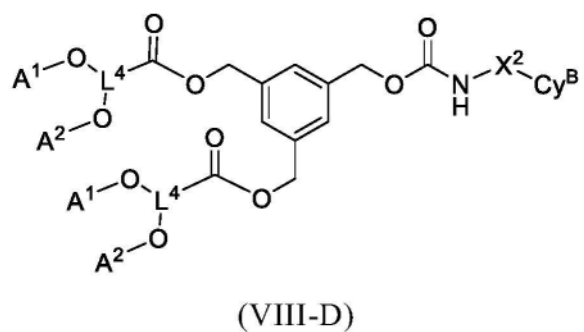
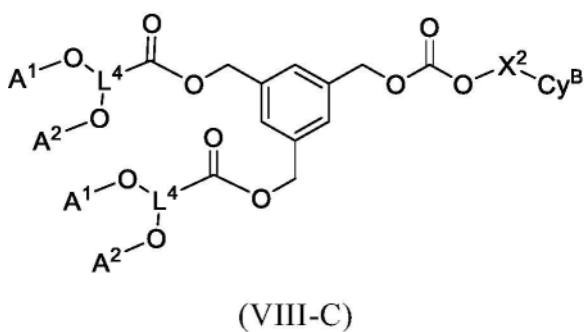


[0579] 或其药学上可接受的盐。

[0580] 45. 根据实施方案1至42中任一者所述的化合物, 其中所述化合物具有式 (VIII-A)、(VIII-B)、(VIII-C) 或 (VIII-D) :



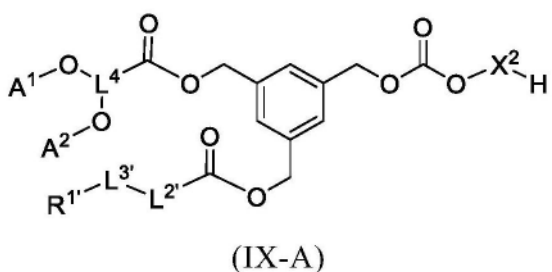
[0581]

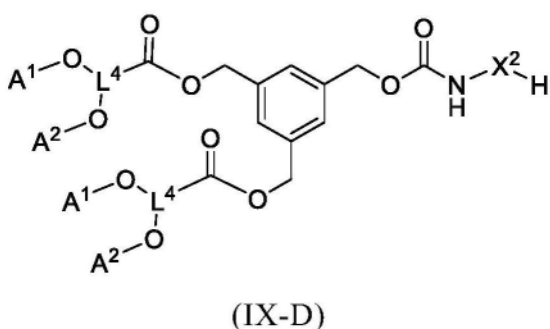
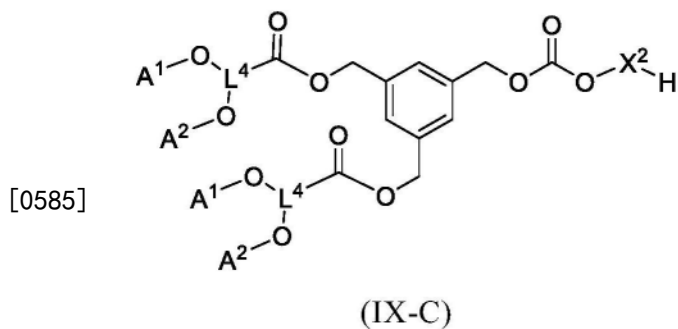
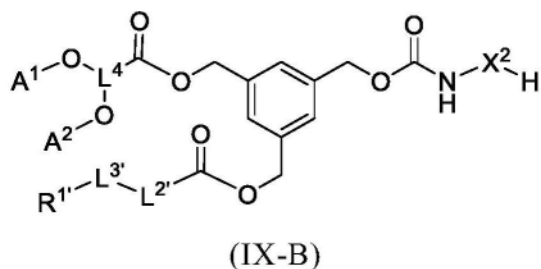


[0582] 或其药学上可接受的盐。

[0583] 46. 根据实施方案1至42中任一者所述的化合物,其中所述化合物具有式 (IX-A)、(IX-B)、(IX-C) 或 (IX-D) :

[0584]





[0586] 或其药学上可接受的盐。

[0587] 47. 根据实施方案1所述的化合物, 其中所述化合物选自表1中列出的化合物或其药学上可接受的盐。

[0588] 48. 一种脂质纳米粒子 (LNP) 制剂, 其包括根据实施方案1至47中任一者所述的可电离脂质。

[0589] 49. 一种脂质纳米粒子 (LNP) 制剂, 其包括:

[0590] 根据实施方案1至47中任一者所述的可电离脂质;

[0591] 磷脂;

[0592] 胆甾醇; 以及

[0593] 缀合物-连接子脂质 (例如聚乙二醇脂质)。

[0594] 50. 根据实施方案49所述的LNP, 其进一步包括一种或多种污染物和/或降解物。

[0595] 51. 根据实施方案49所述的LNP, 不包括一种或多种污染物和/或降解物。

[0596] 52. 根据实施方案48或49所述的LNP制剂, 其进一步包括治疗剂和/或预防剂。

[0597] 53. 根据实施方案52所述的LNP制剂, 其中所述治疗剂和/或预防剂为或包括一种或多种核酸。

[0598] 54. 根据实施方案53所述的LNP制剂, 其中所述一种或多种核酸为或包括RNA。

[0599] 55. 根据实施方案54所述的LNP制剂, 其中所述RNA为或包括mRNA、反义RNA、siRNA、shRNA、miRNA、gRNA或其组合。

- [0600] 56. 根据实施方案53所述的LNP制剂,其中所述一种或多种核酸为或包括DNA。
- [0601] 57. 根据实施方案53至56中任一者所述的LNP制剂,其中所述一种或多种核酸包括RNA和DNA两者。
- [0602] 58. 根据实施方案52至57中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂经调配成将所述治疗剂和/或预防剂递送到靶细胞。
- [0603] 59. 根据实施方案58所述的LNP制剂,其中所述靶细胞为或包括脾细胞(例如,脾B细胞、脾T细胞、脾单核细胞)、肝脏细胞(例如,肝细胞)、骨髓细胞(例如,骨髓单核细胞)、免疫细胞、肌肉细胞(例如,肌细胞)、心脏细胞(例如,心肌细胞)、肾细胞或中枢神经系统中的细胞。
- [0604] 60. 根据实施方案58所述的LNP制剂,其中所述靶细胞为或包括造血干细胞。
- [0605] 61. 根据实施方案48至60中任一者所述的LNP制剂,其中所述可电离脂质包括根据实施方案1至47中任一者所述的化合物或其组合。
- [0606] 62. 根据实施方案48至61中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括小于约70mol%或更少的所述可电离脂质。
- [0607] 63. 根据实施方案48至62中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约30mol%到约70mol%的可电离脂质。
- [0608] 64. 根据实施方案48至63中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约50mol%的可电离脂质。
- [0609] 65. 根据实施方案48至63中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约35mol%的可电离脂质。
- [0610] 66. 根据实施方案48至63中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约47.5mol%的可电离脂质。
- [0611] 67. 根据实施方案49至66中任一者所述的LNP制剂,其中磷脂包括1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰基)(琥珀酰基PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、胆甾醇、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DSPE)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-(琥珀酰基)(琥珀酰基-DPPE)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)或其组合。
- [0612] 68. 根据实施方案49至67中任一者所述的LNP制剂,其中所述磷脂为或包括DSPC。
- [0613] 69. 根据实施方案49至68中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约10mol%到约65mol%磷脂。
- [0614] 70. 根据实施方案49至69中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约9mol%磷脂。
- [0615] 71. 根据实施方案49至69中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约10mol%磷脂。
- [0616] 72. 根据实施方案49至69中任一者所述的LNP制剂,其中所述LNP制剂包括约16mol%磷脂。
- [0617] 73. 根据实施方案49至72中任一者所述的LNP制剂,其中所述缀合物-连接子脂质包括聚乙二醇脂质。

[0618] 74. 根据实施方案49至73中任一者所述的LNP制剂, 其中所述缀合物-连接子脂质包括二肉豆蔻基甘油(DMG)、1,2-二棕榈酰基-rac-甘油、1,2-二棕榈酰基-rac-甘油、甲氧基聚乙二醇(DPG-PEG)、1,2-二硬脂酰基-rac-甘油-3-甲基聚氧乙烯(DSG-PEG)或其任何组合。

[0619] 75. 根据实施方案49至74中任一项所述的LNP制剂, 其中所述缀合物-连接子脂质的平均分子量为约500Da到约5000Da。

[0620] 76. 根据实施方案49至75中任一者所述的LNP制剂, 其中所述缀合物-连接子脂质的平均分子量为约2000Da。

[0621] 77. 根据实施方案49至76中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约0mol%到约5mol%的缀合物-连接子脂质。

[0622] 78. 根据实施方案49至77中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约1.5mol%的缀合物-连接子脂质。

[0623] 79. 根据实施方案49至77中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约2.5mol%的缀合物-连接子脂质。

[0624] 80. 根据实施方案49至77中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约3mol%的缀合物-连接子脂质。

[0625] 81. 根据实施方案49至80中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约20mol%到约50mol%的甾醇。

[0626] 82. 根据实施方案49至81中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约46.5mol%甾醇。

[0627] 83. 根据实施方案49至81中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约38mol%甾醇。

[0628] 84. 根据实施方案49至81中任一项所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约38.5mol%甾醇。

[0629] 85. 根据实施方案49至81中任一者所述的LNP制剂, 其中所述LNP制剂包括约40mol%甾醇。

[0630] 86. 根据实施方案49至85中任一者所述的LNP制剂, 其中所述甾醇为胆甾醇或其变体或衍生物。

[0631] 87. 根据实施方案49至86中任一者所述的LNP制剂, 其中所述胆甾醇为氧化胆甾醇。

[0632] 88. 根据实施方案49至86中任一者所述的LNP制剂, 其中所述胆甾醇为酯化胆甾醇。

[0633] 89. 根据实施方案49至85中任一者所述的LNP制剂, 其中所述甾醇为植物甾醇。

[0634] 90. 一种药物组合物, 其包括根据实施方案48至89中任一者所述的LNP制剂和药学上可接受的赋形剂。

[0635] 91. 一种向有需要个体施用治疗剂和/或预防剂的方法, 所述方法包括向所述个体施用根据实施方案48至89中任一者所述的LNP制剂或根据实施方案90所述的药物组合物。

[0636] 92. 一种治疗有需要个体的疾病或病症的方法, 所述方法包括向所述个体施用根据实施方案48至89中任一者所述的LNP制剂或根据实施方案90所述的药物组合物, 其中所

述治疗剂和/或预防剂可有效治疗所述疾病。

[0637] 93. 一种延迟和/或遏制有需要个体中的疾病或病症进展的方法, 所述方法包括向所述个体施用根据实施方案48至89中任一者所述的LNP制剂或根据实施方案90所述的药物组合物, 其中所述治疗剂和/或预防剂可有效治疗所述疾病。

[0638] 94. 一种将治疗剂和/或预防剂递送到来源于个体的哺乳动物细胞的方法, 所述方法包括接触已施用了根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂的所述个体的细胞。

[0639] 95. 根据实施方案94所述的方法, 其包括向所述个体施用根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂。

[0640] 96. 一种在哺乳动物细胞中产生所关注的多肽的方法, 所述方法包括使所述细胞与根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂接触, 其中所述治疗剂和/或预防剂为或包括mRNA, 并且其中所述mRNA编码所述所关注的多肽, 其中所述mRNA能够在所述细胞中翻译以产生所述所关注的多肽。

[0641] 97. 一种抑制在哺乳动物细胞中产生所关注的多肽的方法, 所述方法包括使所述细胞与根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂接触, 其中所述治疗剂和/或预防剂为或包括RNA, 其中所述RNA能够抑制所述所关注的多肽的产生。

[0642] 98. 根据实施方案97所述的方法, 其中所述RNA包括反义RNA、miRNA、shRNA、siRNA或gRNA。

[0643] 99. 一种将治疗剂和/或预防剂特异性递送到哺乳动物器官的方法, 所述方法包括使哺乳动物器官与根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂接触, 其中将所述治疗剂和/或预防剂递送到所述器官。

[0644] 100. 根据实施方案99所述的方法, 其包括向个体施用根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂。

[0645] 101. 一种制备根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂的方法。

[0646] 102. 一种制造根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂的方法。

[0647] 103. 一种制造根据实施方案48至90中任一者所述的中间物(例如, 可存储或装运的任何中间物)的方法。

[0648] 104. 一种表征根据实施方案1至47所述的化合物的方法。

[0649] 105. 一种表征根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂的方法。

[0650] 106. 一种提供根据实施方案48至90中任一者所述的LNP制剂的方法, 其包括评估LNP制剂的一个或多个特征及确定LNP制剂的一个或多个特征(例如, 与参考样品相比)。

[0651] 107. 一种接种疫苗的方法, 其通过施用根据实施方案48至89中任一者所述的LNP制剂或根据实施方案90所述的药物组合物进行。

[0652] 108. 一种诱导个体的适应性免疫反应的方法, 其包括向所述个体施用有效量的包括至少一种RNA的组合物; 其中所述组合物包括LNP制剂, 所述LNP制剂包括根据实施方案1至47中任一者所述的化合物或其药学上可接受的盐。

[0653] 举例说明

[0654] 本公开举例说明本文所述的化合物、组合物、制剂、调配物、纳米粒子和/或纳米材料。本公开还举例说明制备、表征和验证本文所述的组合物、制剂、调配物、纳米粒子和/或纳米材料的方法。

[0655] 实例1:材料和方法

[0656] 本实例提供制备、表征和验证本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的示范性材料和方法。

[0657] LNP制剂

[0658] 此外,本实例提供示范性LNP制剂。

[0659] 脂质纳米粒子组分以指定脂质组分摩尔比溶解于100%乙醇中。将核酸(NA)运载物溶解于10mM柠檬酸盐、100mM NaCl (pH 4.0)中,使得NA运载物的浓度大约为0.22mg/mL。在一些实施方案中,NA运载物包含以1:10到10:1的功能性NA与条形码的质量比混合的功能性NA和报告DNA条形码两者。如本文所述,NA可为siRNA、反义、表达DNA或mRNA。

[0660] LNP是用以下摩尔比摩尔比和11.7比25的总脂质与NA质量比来制备:35%可电离脂质:46.5%胆甾醇:2.5% PEG2000-DMG:16% DSPC、50%可电离脂质:38.5%胆甾醇:1.5% PEG2000-DMG:10% DSPC、或50%可电离脂质:38%胆甾醇:3%PEG2000-DMG:9% DSPC。根据制造商方案,通过使用Precision Nanosystems NanoAssemblr Spark或Benchtop系列仪器对脂质和NA溶液进行微流体混合,形成LNP。在使用不同差分流动速率进行混合期间,水溶液与有机溶剂的比率保持在大约2:1或3:1。在混合之后,收集LNP,稀释于PBS中(约1:1v/v)。以20kDa过滤器为背景,在4℃下使用PBS透析4到24小时进行进一步的缓冲液交换。在此初始透析之后,每一个别LNP制剂通过动态光散射(dynamic light scattering;DLS)表征,以测量大小(例如直径)和多分散性(参见图3和4)。此外,通过2-(对甲苯胺基)-6-萘磺酸(TNS)分析测量LNP亚群的pKa。合并特定直径和多分散范围内的LNP,并且以100kDa透析盒为背景,在4℃下进一步对磷酸盐缓冲盐水(PBS)透析1到4小时。在第二次透析之后,使用0.22μm过滤器无菌过滤LNP且存储在4℃下以供进一步使用。

[0661] LNP表征

[0662] DLS-使用高通量动态光散射(DLS) (DynaPro plate reader II, Wyatt) 测量LNP流体动力学直径和多分散指数(PDI)。用1×PBS将LNP稀释到适当浓度且进行分析。

[0663] 浓度和包裹效率

[0664] 按照制造商说明书,通过Qubit microRNA试剂盒(用于siRNA)或HS RNA试剂盒(用于mRNA)测定NA的浓度。通过测量未裂解和裂解的LNP中的核酸浓度来测定包裹效率。

[0665] pKa

[0666] 制备10mM HEPES (Sigma Aldrich)、10mM MES (Sigma Aldrich)、10mM醋酸钠 (Sigma) 和140nM氯化钠 (Sigma Aldrich) 的储备溶液,并且使用氯化氢和氢氧化钠将pH调节到约pH 4至10的范围。针对每个pH值重复四次,将140μL pH经过调节的缓冲液添加到96孔板中,然后添加5μL 2-(对甲苯胺基)-6-萘磺酸(60μg/mL)。将5μLLNP添加到各孔中。在缓慢摇动下培育5min之后,使用325nm的激发波长和435nm的发射波长 (BioTek Synergy H4 Hybrid) 测量荧光。

[0667] LNP施用

[0668] 将大约8至12周龄的雄性和雌性小鼠用于本实例描述的研究。每只小鼠都被暂时束缚,每次实验向最多五只动物通过尾静脉注射经静脉内(IV)施用合并的LNP。还使用年龄匹配的小鼠通过尾静脉注射向每次实验最多三只动物施用媒剂(1×PBS)。还可以采用另外的施用途径,包含脑室内(ICV)、脑池内(ICM)、鞘内(IT)、肌肉内(IM)、雾化、鼻内(IN)、皮下

(SC)、关节内和皮内(ID)。在给药后72小时,收集包含肝、脾、骨髓、肾、肺、肌肉(例如骨骼和心脏)和血液的组织进行分析。

[0669] 条形码测序

[0670] 使用QuickExtract(Lucigen)分离DNA(基因组和DNA条形码),并使用本文所述的Illumina MiniSeq进行测序,将FACS分离样品中的频率DNA条形码计数标准化为注射输入中的频率。这些数据被绘制为“高于输入的倍数”(参见图5至8)。

[0671] 确认

[0672] 所提供的LNP的结构和功能特征基于本文所述的方案得到确认。

[0673] LNP制备

[0674] 脂质纳米粒子组分以指定脂质组分摩尔比溶解于100%乙醇中。将核酸(NA)运载物溶解于10mM柠檬酸盐、100mM NaCl(pH 4.0)中,使得NA运载物的浓度大约为0.22mg/mL。在一些实施方案中,NA运载物包含功能性NA(例如siRNA、反义、表达DNA、mRNA)。LNP是用以下摩尔比和11.7比25的总脂质与NA的质量比来调配:35%可电离脂质:46.5%胆甾醇:2.5% PEG2000-DMG:16% DSPC;50%可电离脂质:38.5%胆甾醇:1.5% PEG2000-DMG:10% DSPC;或50%可电离脂质:38%胆甾醇:3%PEG2000-DMG:9% DSPC。用11.7比25的总脂质与NA质量比调配LNP。根据制造商方案,通过使用Precision Nanosystems NanoAssemblr Spark或Benchtop系列仪器对脂质和NA溶液进行微流体混合,形成LNP。在使用差分流动速率进行混合期间,水溶液与有机溶剂的比率保持在2:1或3:1。在混合之后,收集LNP,稀释于PBS中(大约1:1v/v),并且以20kDa过滤器为背景,在4℃下使用PBS透析8到24小时进行进一步的缓冲液交换。在此初始透析之后,每一个别LNP调配物通过DLS表征,以测量大小和多分散性,并且通过TNS分析测量LNP亚群的pKa。在透析之后,使用0.22微米的无菌过滤器无菌过滤LNP且存储在4℃下以供进一步使用。

[0675] LNP表征

[0676] DLS

[0677] 使用高通量动态光散射(DLS)(DynaPro plate reader II,Wyatt)测量LNP流体力学直径和多分散指数(PDI)。用1×PBS将LNP稀释到适当浓度且进行分析。

[0678] 浓度和包裹效率

[0679] 按照制造商说明书,通过Qubit microRNA试剂盒(用于siRNA)或HS RNA试剂盒(用于mRNA)测定NA的浓度。通过测量未裂解和裂解的LNP来测定包裹效率。

[0680] pKa

[0681] 制备10mM HEPES(Sigma Aldrich)、10mM MES(Sigma Aldrich)、10mM醋酸钠(Sigma)和140nM氯化钠(Sigma Aldrich)的储备溶液,并且使用氯化氢和氢氧化钠将pH调节到约pH 4至10的范围。针对每个pH重复四次,将140μL pH经过调节的缓冲液添加到96孔板中,然后添加5μL 2-(对甲苯胺基)-6-萘磺酸(60μg/mL)。将5μLLNP添加到各孔中。在轻缓摇动下培育5min之后,使用325nm的激发波长和435nm的发射波长(BioTek Synergy H4 Hybrid)测量荧光。

[0682] LNP施用

[0683] 将大约8至12周龄的雄性和雌性小鼠用于本实例描述的研究。每只小鼠都被暂时束缚,每次实验向最多五只动物通过尾静脉注射IV施用混合的LNP。还使用年龄匹配的小鼠

通过尾静脉注射向每次实验最多三只动物施用媒剂(1×PBS)。在给药后72小时,收集包含肝、脾、骨髓及肾的组织进行分析。

[0684] hEP0表达

[0685] 对于人类EP0 (hEP0) 蛋白表达,小鼠被暂时束缚并在施用后6小时放血(通过尾静脉放血)。将血液收集于肝素管中,处理成血浆,并且存储于-80℃直到准备使用。根据制造商说明书,使用R&D systems ELISA试剂盒(DuoSet;DY286-05),使用适当稀释的血浆来测量hEP0蛋白。

[0686] NHP IL-6

[0687] 在直到使用前都存在-80℃的血浆中,对来自NHP的血浆中的IL-6进行定量。使用制造商说明书,使用MSD U-Plex分析,使用适当稀释的血浆来测量IL-6蛋白。

[0688] 实例2:示范性LNP表征

[0689] 本实例提供示范性组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料,以及用于表征本文所述的此类组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的材料和方法。

[0690] 选择五种LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5,其为示范性的式I化合物和化合物5-1到5-44的示范性化合物),以用于进一步表征和实验。如本文所述测量五种示范性LNP制剂的平均直径(nm)(参见图3)。还如本文所述测量五种示范性LNP制剂的平均LNP多分散性(%) (参见图4)。

[0691] 实例3:将示范性LNP制剂递送到不同细胞类型

[0692] 本实例提供强效递送到如本文所述的各种细胞类型的示范性LNP组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。

[0693] 选择五种LNP制剂(示范性脂质1、示范性脂质2、示范性脂质3、示范性脂质4、示范性脂质5,其为示范性的式I化合物和化合物5-1至5-44的示范性化合物),以评估跨多种组织的递送(参见图5至8)。使用实例1中所述的方法,使用QuickExtract (Lucigen) 分离DNA(基因组和DNA条形码),并使用如本文所述的Illumina MiniSeq进行测序,将FACS分离样品中的频率DNA条形码计数标准化为注射输入中的频率。这些数据被绘制为“高于输入的倍数”(参见图5至8)。

[0694] 出乎意料地,图5至8中的代表性数据表明,本文所述的筛选平台可识别几种高效的LNP制剂,以确定哪种类型的LNP制剂对特定细胞类型最有效。因此,在一些实施方案中,本实例表明以具有苯三醇核心特点为特征的脂质显示出跨多种细胞类型(包含肝细胞、脾细胞、骨髓细胞及肾细胞)的有效递送。

[0695] 实例4:功效实验

[0696] 本实例提供制备、表征和验证本文所述的组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料的示范性材料和方法。

[0697] 选择示范性LNP制剂(示范性脂质6,其为式I的示范性化合物和化合物5-1至5-44的示范性化合物)以确定如本文所述的非人类灵长类动物(NHP)中hEP0 mRNA递送的功效。示范性脂质6的比率为50:38:3:9(可电离脂质、胆甾醇、脂质-PEG和磷脂),并且总脂质与核酸(NA)质量比为25。

[0698] 将含有总脂质与NA的质量比为25的示范性脂质6和1.0mg/kg hEP0 mRNA的示范性LNP制剂注射到非人类灵长类动物中。图9显示在跨越注射后的各个时间点(0、4、6、24、48和

72小时)施用媒剂(生理食盐水对照)和示范性脂质6之后从NHP血浆收集的hEPO的量(ng/mL)。

[0699] 还测量血浆中的IL-6浓度(图10)。图10描绘了显示示范性LNP制剂(示范性脂质6)的耐受性的柱状图。在跨越各个时间点(2、4和6小时)施用媒剂(生理食盐水对照)和示范性脂质6之后,测量血浆中IL-6的量(pg/mL)(参见图10)。

[0700] 示范性脂质6为式I化合物。因此,在一些实施方案中,本实例表明以具有苯三醇核心特点为特征的脂质能够在小鼠中递送功能性mRNA。

[0701] 实例5:可电离脂质的合成

[0702] 本实例提供制备、表征和验证如本文所述的可电离脂质的示范性材料和方法。

[0703] 概述

[0704] 除非另有说明,否则所有反应均使用无水级溶剂在烧瓶或小瓶中在氮气气氛下随着磁力搅拌进行。无水溶剂购自Sigma-Aldrich并且按原样使用。使用带有预包装硅胶筒的Biotage® Selekt或Teledyne-Isco Combiflash® Nextgen300+进行快速柱色谱。使用Merck硅胶60板进行薄层色谱,且使用碘使化合物显色。使用Varian INOVA 500MHz或Bruker AVANCE 400MHz光谱仪进行核磁共振(NMR)光谱;在CDCl₃样品的 $\delta=0.00$ ppm和DMSO样品的残留溶剂峰($\delta=2.50$ ppm)下,参考四甲基硅烷以 δ 百万分之一(ppm)报告化学位移。使用具有QDa检测器(ESI⁺)的Waters Acquity UPLC H-class Plus,使用以下通用方法中的一种进行超高效液相色谱-质谱法(UPLC-MS)。

[0705] 方法A(5min运行):柱-XTERRA RP 18(4.6×50mm),5 μ m,移动相:初始为50% [0.1% HCOOH于水中]和50% [0.1% HCOOH于(70:30)ACN:THF]中;然后在2.65min内达到2% [0.1% HCOOH于水中]和98% [0.1% HCOOH于(70:30)ACN:THF中],保持此移动相组成直到3.75min,且最后恢复初始状态,即在4.90min内为50% [0.1% HCOOH于水中]和50% [0.1% HCOOH于(70:30)ACN:THF中],保持此移动相组成长达5.10min。流量=1.2mL/min。

[0706] 方法B(12min运行):柱-XTERRA RP 18(4.6×50mm),5 μ m,(移动相:初始为80% [0.1% HCOOH于水中]和20% [0.1% HCOOH于(70:30)ACN:THF]中;保持此初始状态0.75min;然后在3.0min内达到65% [0.1% HCOOH于水中]和35% [0.1% HCOOH于(70:30)ACN:THF中],然后在6.0min内达到2% [0.1% HCOOH于水中]和98% [0.1% HCOOH于(70:30)ACN:THF中],保持此移动相组成长达9.0min,且最后恢复初始状态,即在11.00min内为80% [0.1% HCOOH于水中]和20% [0.1% HCOOH于(70:30)ACN:THF中],保持此移动相组成长达12.10min。流量=1.2ml/min。

[0707] 方法C(6min运行):柱-BEH C18(2.1×50mm),1.7 μ m,移动相:最初为90% [0.1% HCOOH于水中]和10% ACN;然后经3min达到5% [0.1% HCOOH于水中]和95% ACN,保持此移动相组成2min,最后在1min内恢复初始状态,即90% [0.1% HCOOH于水中]和10% ACN。流量=0.5mL/min。

[0708] 缩写列表

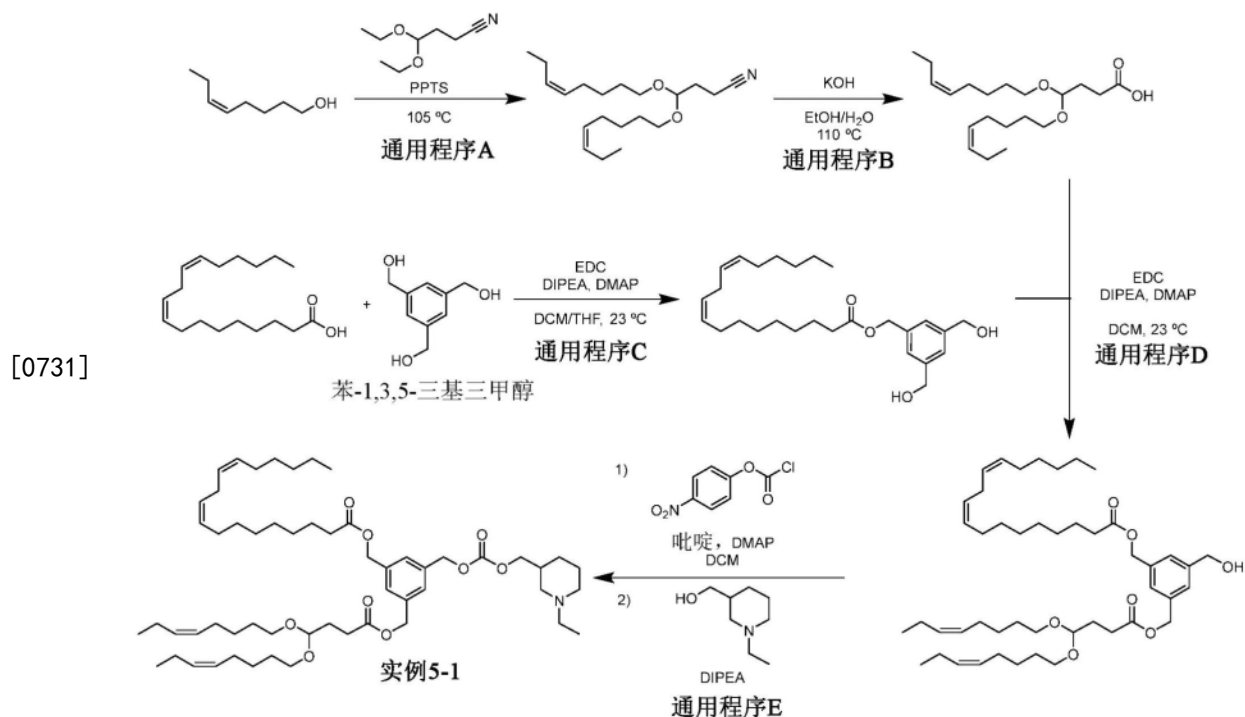
[0709] Ac:乙酰基

[0710] ACN:乙腈

[0711] d:二重峰

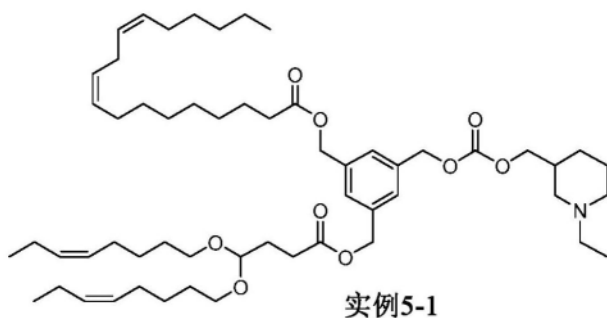
[0712] DCM:二氯甲烷

- [0713] DIPEA: N,N-二异丙基乙胺
 [0714] DMAP: 4-(二甲氨基)吡啶
 [0715] DMSO: 二甲亚砜
 [0716] EDC: N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳化二亚胺盐酸盐
 [0717] Eq或eqv或equiv: 当量
 [0718] Et: 乙基
 [0719] i-Pr: 异丙基
 [0720] m: 多重峰
 [0721] Me: 甲基
 [0722] p: 五重峰
 [0723] PPTS: 对甲苯磺酸吡啶鎓
 [0724] q: 四重峰
 [0725] Rt: 滞留时间
 [0726] s: 单峰
 [0727] t: 三重峰
 [0728] TEA: 三乙胺
 [0729] THF: 四氢呋喃
 [0730] 根据以下通用合成方案制备某些示范性脂质, 使用实例5-1进行说明。



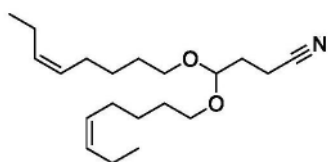
- [0732] 实例5-1: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0733]



[0734] 步骤1: 4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁腈

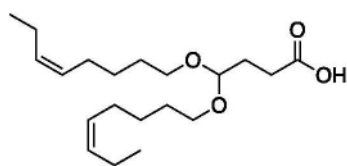
[0735]



[0736] 通用程序A: 向含有对甲苯磺酸吡啶鎓(0.12g, 0.48mmol, 0.05Eq)的小瓶中添加4,4-二乙氧基丁腈(1.5g, 9.5mmol, 1Eq)及顺-5-辛烯-1-醇(3.7g, 29mmol, 3Eq)。将小瓶盖紧且将所得混合物在105℃加热72h。此后,使混合物冷却到室温。通过硅胶柱色谱,使用0到100%二氯甲烷于己烷中的梯度纯化粗物质,得到呈无色油状物的4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁腈(1.14g, 37%)。¹H NMR (500MHz, 氯仿-d) δ5.43-5.27 (m, 4H), 4.56 (t, J=5.3Hz, 1H), 3.61 (dt, J=9.3, 6.6Hz, 2H), 3.44 (dt, J=9.3, 6.6Hz, 2H), 2.42 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.12-1.91 (m, 9H), 1.66-1.54 (m, 5H), 1.49-1.36 (m, 4H), 0.96 (t, J=7.6Hz, 6H)。

[0737] 步骤2: 4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸

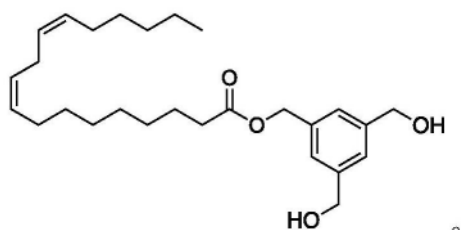
[0738]



[0739] 通用程序B: 向含有4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁腈(1.14g, 3.54mmol, 1Eq)的小瓶中添加氢氧化钾(0.60g, 10.6mmol, 3Eq),接着添加乙醇(3.5mL)和水(3.5mL)。将小瓶盖紧且将反应混合物在110℃加热18h。此后,使混合物冷却到室温。用乙酸乙酯(20mL)稀释混合物,并且通过添加1M HCl将pH调节到约5。分离所得双相混合物,且用乙酸乙酯(2×20mL)再萃取水相两次。合并有机萃取物,经硫酸钠干燥,过滤且浓缩,得到呈粘性白色固体的4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸(1.16g, 96%产率)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ5.41-5.24 (m, 4H), 4.45 (t, J=5.6Hz, 1H), 3.51 (dt, J=9.0, 6.7Hz, 2H), 3.39 (dt, J=9.0, 6.7Hz, 2H), 2.17 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.08-1.98 (m, 8H), 1.81 (q, J=7.3Hz, 2H), 1.59-1.52 (m, 4H), 1.44-1.32 (m, 4H), 0.94 (t, J=7.5Hz, 6H)。

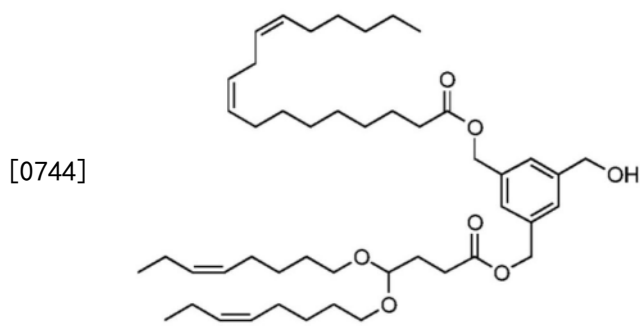
[0740] 步骤3: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯

[0741]



[0742] 通用程序C:在23℃向苯-1,3,5-三甲基三甲醇(1.79g,10.7mmol,3Eq)于DCM(10mL)和THF(5mL)中的溶液中添加亚麻酸(1.0g,3.57mmol,1Eq)、DIPEA(1.9mL,10.7mmol,3Eq)和DMAP(87mg,0.7mmol,0.2Eq)并且搅拌10min。然后,分数份添加EDC(1.02g,5.35mmol,1.5Eq)并且在23℃搅拌16h。完成后,浓缩反应混合物,并且将残余物用水(50mL)稀释且用DCM(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(30mL)、饱和NaHCO₃溶液(25mL×2)和盐水(25mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥且浓缩。通过硅胶柱色谱,使用0到80%乙酸乙酯于己烷中的梯度纯化粗物质,得到呈无色油状物的(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯(440mg,29%)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ0.87(t,J=6.8Hz,3H),1.24-1.38(m,15H),1.52-1.68(m,3H),1.98-2.08(m,4H),2.34(t,J=7.6Hz,2H),2.75(t,J=6.4Hz,2H),4.71(s,4H),5.1(s,2H),5.28-5.36(m,4H),7.27(s,2H),7.33(s,1H)。

[0743] 步骤4:(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯



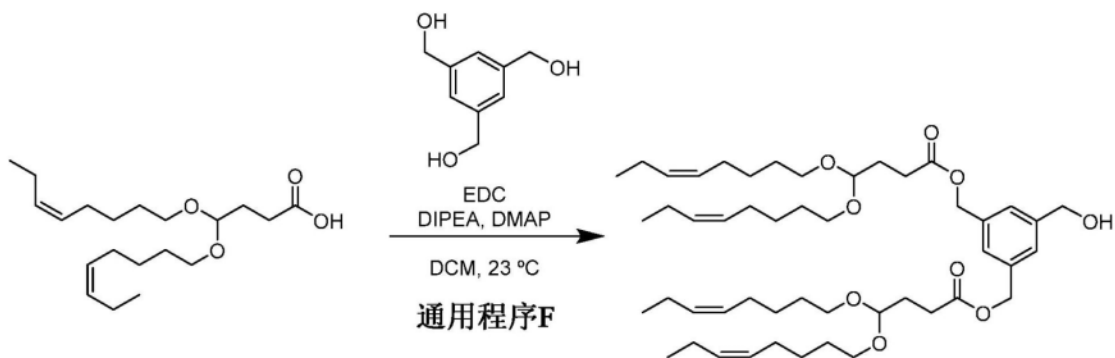
[0745] 通用程序D:在23℃向(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯(44mg,0.10mmol,1Eq)于DCM(2mL)中的经搅拌溶液中添加4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸(31mg,0.09mmol,0.9Eq)、DMAP(1mg,0.01mmol,0.1Eq)和DIPEA(20mg,0.15mmol,1.5Eq)并且搅拌10min。然后添加EDC(25mg,0.13mmol,1.3Eq)并且在23℃搅拌16h。完成后,浓缩反应混合物,并且将残余物用水稀释且用DCM(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(30mL)、饱和NaHCO₃溶液(25mL×2)和盐水(25mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥且浓缩。通过硅胶柱色谱,使用0到30%乙酸乙酯于己烷中的梯度纯化粗物质,得到呈无色油状物的(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯(30mg,39%)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ0.83-0.91(m,3H),0.94(t,J=7.6Hz,5H),1.19-1.46(m,25H),1.90-2.08(m,16H),2.35(t,J=7.7Hz,2H),2.43(t,J=7.6Hz,2H),2.72-2.79(m,2H),3.39(d,J=8.5Hz,2H),3.56(d,J=8.9Hz,1H),4.40-4.55(m,1H),4.70(s,2H),5.10(s,4H),5.28-5.39(m,8H),7.24-7.33(m,3H)。

[0746] 步骤5:(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯(实例5-1)。

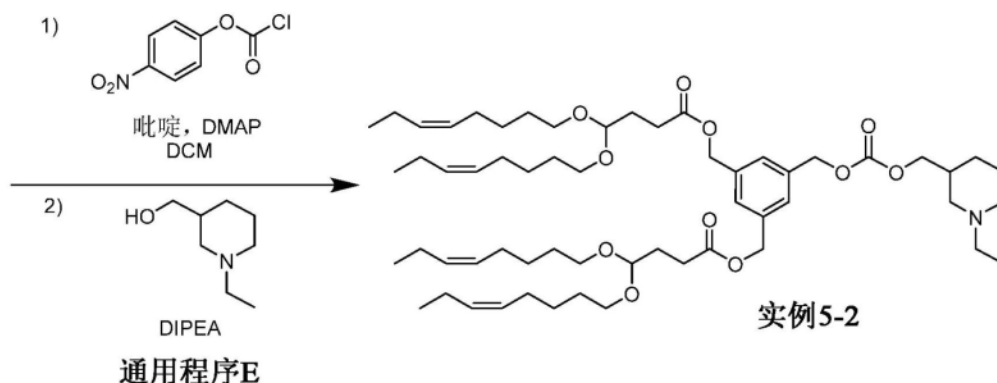
[0747] 通用程序E:向(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯(50mg,0.066mmol,1Eq)于DCM(2mL)中的经搅拌溶液中添加吡啶(10mg,0.011mL,0.13mmol,2Eq)、DMAP(2.4mg,0.02mmol,0.3Eq)和氯甲酸4-硝基苯酯(27mg,0.13mmol,2Eq)。将反应混合物在25℃搅拌1h。然后添加(1-乙基哌啶-3-基)甲醇(38mg,0.26mmol,4Eq)和DIPEA(0.046mL,0.26mmol,4Eq)。将反应混合物在25℃

搅拌16h。完成后,将反应混合物用二氯甲烷(20mL)稀释,用1M Na_2CO_3 水溶液(10mL $\times$ 2)、水(5mL $\times$ 2)和盐水(10mL $\times$ 2)洗涤,接着最后经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤且减压浓缩。通过硅胶柱色谱,使用0到20%甲醇于二氯甲烷中的梯度纯化粗物质,得到呈浅黄色油状物的双(6,6-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)己酸2-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)丙烷-1,3-二基酯)(38mg,62%)。UPLC-MS(方法A):Rt 2.26min,m/z计算值[M+H]:922.67,实验值:923.2。

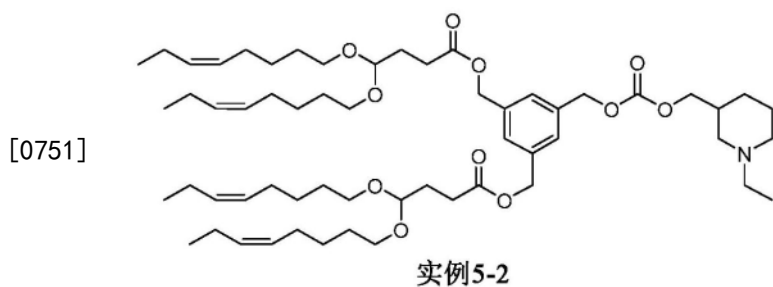
[0748] 根据以下通用合成方案制备某些其它示范性脂质,使用实例5-2进行说明。



[0749]



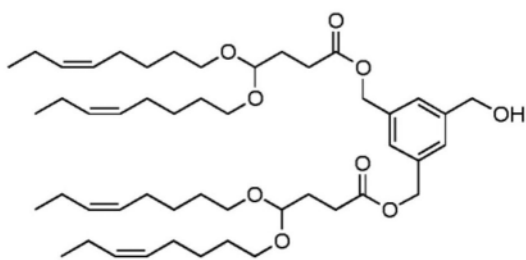
[0750] 实例5-2:双(4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸(5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)



[0751]

[0752] 步骤1:双(4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸(5-(羟甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0753]



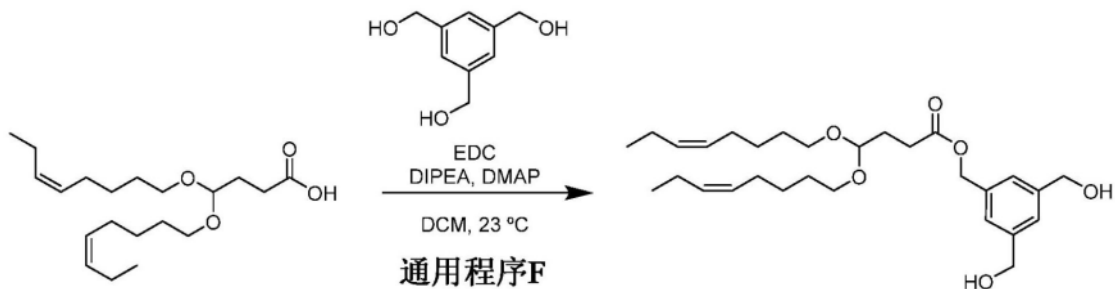
[0754] 通用程序F:在23℃向4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸(204mg,0.60mmol,1Eq)于DCM(10mL)中的经搅拌溶液中添加苯-1,3,5-三基三甲醇(101mg,0.60mmol,1Eq)、DMAP(7mg,0.06mmol,0.1Eq)和DIPEA(116mg,0.90mmol,1.5Eq)并且搅拌10min。然后添加EDC(150mg,0.78mmol,1.3Eq)并且在23℃搅拌16h。完成后,浓缩反应混合物,并且将残余物用水稀释且用DCM(50mL×2)萃取。将合并的有机层用水(30mL)、饱和NaHCO₃溶液(25mL×2)和盐水(25mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥且浓缩。通过硅胶柱色谱,使用0到30%乙酸乙酯于己烷中的梯度纯化粗物质,得到呈无色油状物的双(4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸)(5-(羟甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)(78mg,16%)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d)δ0.94(t,J=7.5Hz,12H),1.18-1.30(m,5H),1.33-1.45(m,9H),1.55-1.62(m,3H),1.89-2.08(m,20H),2.44(t,J=7.5Hz,4H),3.34-3.44(m,4H),3.50-3.61(m,4H),4.48(t,J=5.5Hz,2H),4.70(s,2H),5.10(s,4H),5.24-5.41(m,8H),7.24(s,1H),7.31(s,2H)。

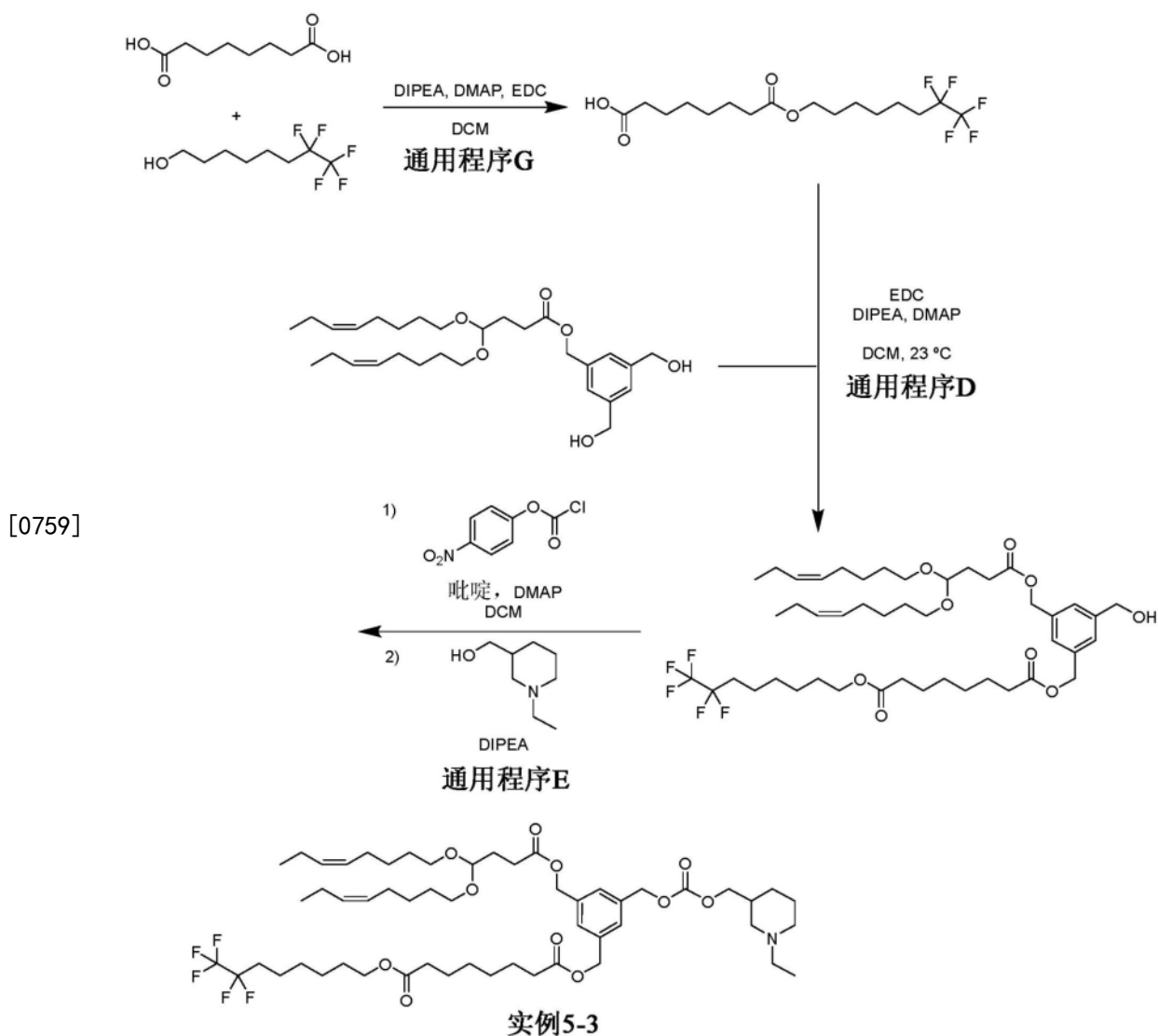
[0755] 步骤2:双(4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸)(5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)(实例5-2)

[0756] 根据通用程序E由双(4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸)(5-(羟甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)制备,产率25mg(52%)。UPLC-MS(方法B):Rt 5.34min,m/z计算值[M+H]:982.69,实验值:981.9。

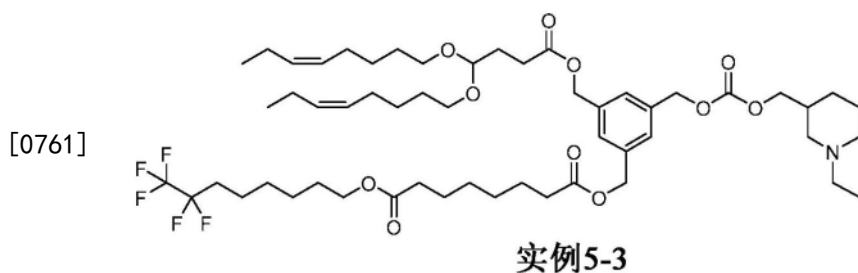
[0757] 根据以下通用合成方案制备某些其它示范性脂质,使用实例5-3进行说明。

[0758]

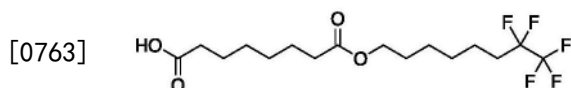




[0760] 实例5-3: 辛二酸1-(3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯)8-(7,7,8,8,8-五氟辛酯)



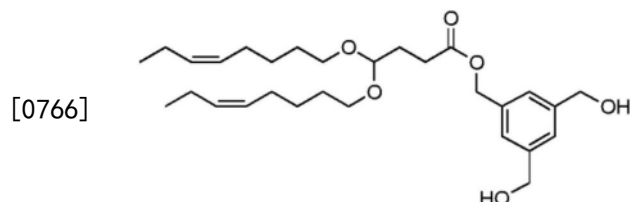
[0762] 步骤1: 8-氧代-8-((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)辛酸。



[0764] 通用程序G: 向7,7,8,8,8-五氟辛-1-醇(4.00g, 27.7mmol, 1Eq)于DCM(140mL)中的溶液中添加辛二酸(9.49g, 54.5mmol, 3Eq)、DIPEA(7.04g, 54.5mmol, 3Eq)、DMAP(0.666g, 5.45mmol, 0.3Eq)和EDC(3.83g, 20.0mmol, 1.1Eq)。将所得混合物在23℃搅拌16h。此后,向

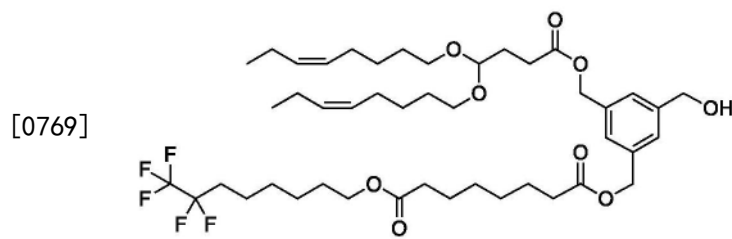
混合物中添加5%柠檬酸水溶液(100mL),并且分离各层。用DCM(2×50mL)再萃取水层两次。合并有机层,经硫酸钠干燥,过滤且浓缩。通过硅胶柱色谱,使用0到100%乙酸乙酯于己烷中的梯度纯化由此获得的粗物质,得到呈白色固体的8-氧代-8-((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)辛酸(3.14g,46%产率)。¹H NMR(500MHz,氯仿-d) δ 4.06(t,J=6.6Hz,2H),2.35(t,J=7.5Hz,2H),2.30(t,J=7.5Hz,2H),2.07-1.96(m,2H),1.67-1.58(m,8H),1.42-1.32(m,8H)。

[0765] 步骤2:4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯



[0767] 根据通用程序F制备,产率100mg(11%)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 0.93(t,J=7.5Hz,6H),1.24(t,J=7.1Hz,1H),1.36-1.42(m,4H),1.51-1.58(m,4H),1.91-2.01(m,3H),1.99-2.05(m,8H),2.43(t,J=7.5Hz,2H),3.33-3.41(m,2H),3.52-3.56(m,2H),4.47(t,J=5.6Hz,1H),4.70(s,4H),5.10(s,2H),5.28-5.37(m,4H),7.27(s,2H),7.32(s,1H)。

[0768] 步骤3:辛二酸1-(3-(((4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯)8-(7,7,8,8,8-五氟辛酯)



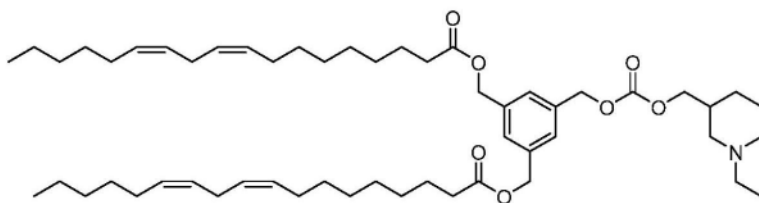
[0770] 根据通用程序D由4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯和8-氧代-8-((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)辛酸制备,产率97mg(61%)。

[0771] 步骤4:辛二酸1-(3-(((4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯)8-(7,7,8,8,8-五氟辛酯)(实例5-3)

[0772] 根据通用程序E由辛二酸1-(3-(((4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯)8-(7,7,8,8,8-五氟辛酯)制备,产率79mg(68%)。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 7.32(s,3H),5.40-5.27(m,4H),5.15-5.10(m,7H),4.06(t,J=6.7Hz,4H),3.57(dt,J=9.4,6.5Hz,2H),3.40(dt,J=9.4,6.7Hz,2H),2.51-2.27(m,8H),2.06-1.90(m,14H),1.67-1.32(m,34H),0.94(t,J=7.6Hz,6H)。UPLC-MS(方法C):Rt 3.41min,m/z计算值[M+H]:1018.60,实验值:1018.67。

[0773] 使用与针对实例5-1所描述的方法相似的方法制备以下实例5-4至5-23。

[0774]

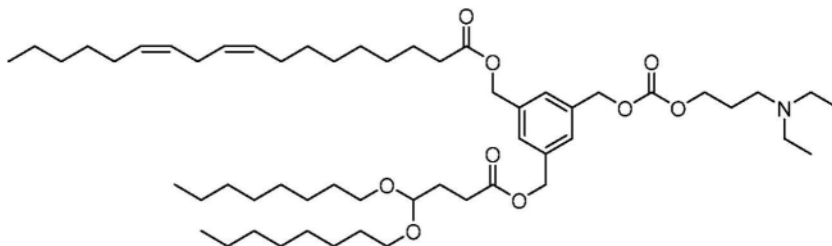


实例5-4

[0775] 实例5-4: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-双(十八碳-9,12-二烯酸) (5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0776] UPLC-MS(方法C): Rt 3.98min, m/z 计算值[M+H]: 862.65, 实验值: 862.72。

[0777]

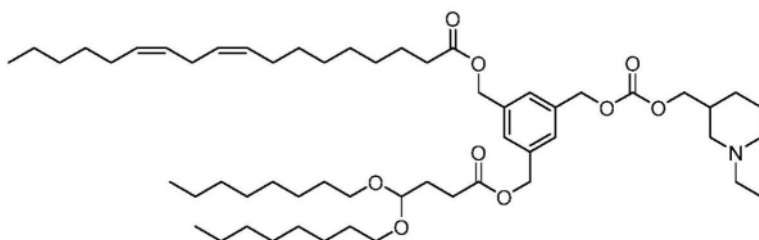


实例5-5

[0778] 实例5-5: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0779] UPLC-MS(方法C): Rt 4.22min, m/z 计算值[M+H]: 914.70, 实验值: 914.75。

[0780]

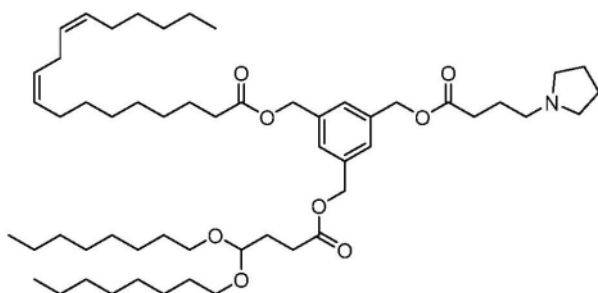


实例5-6

[0781] 实例5-6: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0782] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.41-5.28 (m, 4H), 5.17-5.09 (m, 6H), 4.49 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.55 (dtd, $J=8.3, 6.6, 1.6\text{Hz}$, 2H), 3.39 (dtd, $J=8.3, 6.6, 1.4\text{Hz}$, 2H), 3.04 (s, 1H), 2.76 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 2.44 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 2.35 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 2.04 (q, $J=6.9\text{Hz}$, 4H), 1.95 (td, $J=7.6, 5.5\text{Hz}$, 2H), 1.76 (s, 2H), 1.66-1.60 (m, 2H), 1.58 (p, $J=6.7\text{Hz}$, 4H), 1.36-1.26 (m, 46H), 0.90-0.85 (m, 9H)。UPLC-MS(方法C): Rt 4.06min, m/z 计算值[M+H]: 926.70, 实验值: 926.78。

[0783]

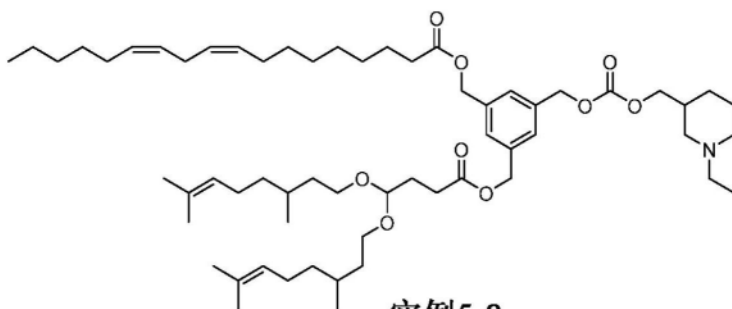


实例5-7

[0784] 实例5-7: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(((4-(吡咯烷-1-基)丁酰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0785] UPLC-MS(方法C):Rt 4.12min,m/z计算值[M+H]:896.69,实验值:896.73。

[0786]

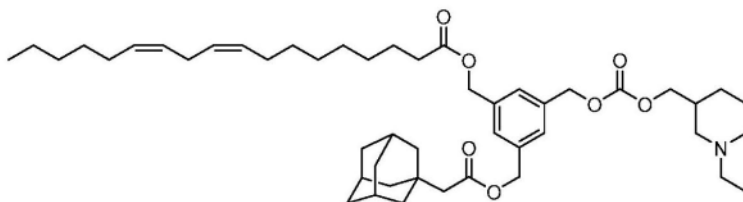


实例5-8

[0787] 实例5-8: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((3,7-二甲基辛-6-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0788] UPLC-MS(方法C):Rt 4.03min,m/z计算值[M+H]:978.73,实验值:978.66。

[0789]

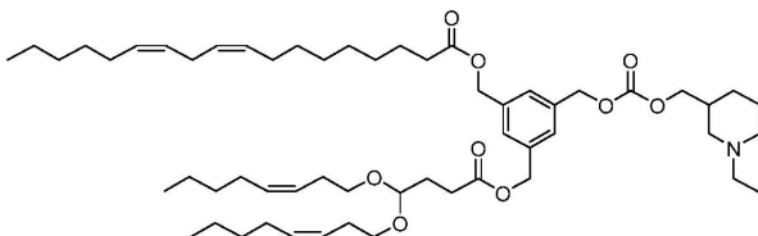


实例5-9

[0790] 实例5-9: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0791] UPLC-MS(方法A):Rt 2.12min,m/z计算值[M+H]:776.54,实验值:776.9。

[0792]

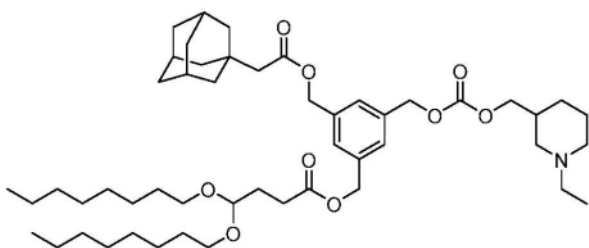


实例5-10

[0793] 实例5-10: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(((Z)-辛-3-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0794] UPLC-MS(方法A):Rt 2.32min,m/z计算值[M+H]:922.67,实验值:923.3。

[0795]

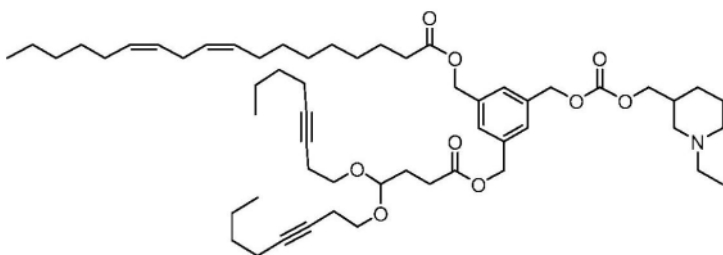


实例5-11

[0796] 实例5-11: 4,4-双(辛基氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0797] UPLC-MS(方法A): Rt 2.12min, m/z 计算值[M+H]: 840.59, 实验值: 841.0。

[0798]

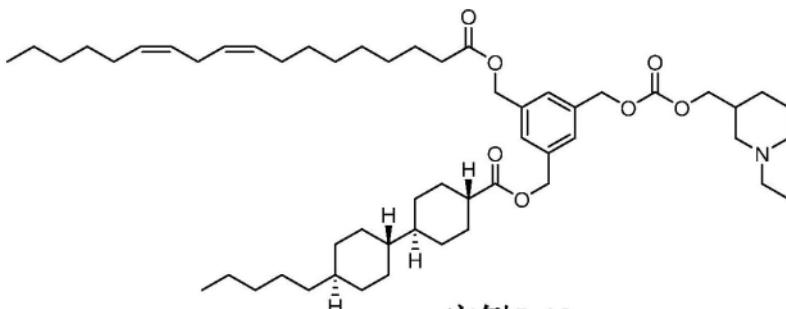


实例5-12

[0799] 实例5-12: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(辛-3-炔-1-基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0800] UPLC-MS(方法A): Rt 2.16min, m/z 计算值[M+H]: 918.64, 实验值: 919.2。

[0801]

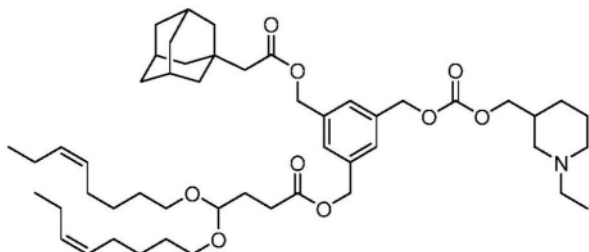


实例5-13

[0802] 实例5-13: (1r,1's,4R,4'R)-4'-戊基-[1,1'-联(环己烷)]-4-甲酸3-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-5-((((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0803] UPLC-MS(方法A): Rt 2.12min, m/z 计算值[M+H]: 862.65, 实验值: 863.1。

[0804]

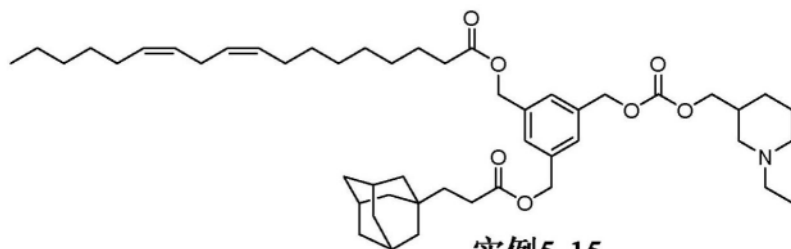


实例5-14

[0805] 实例5-14: 4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0806] UPLC-MS(方法B):Rt 5.11min,m/z计算值[M+H]:836.56,实验值:837.02。

[0807]

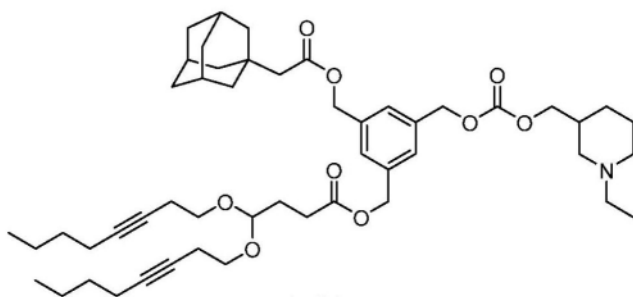


实例5-15

[0808] 实例5-15: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((3-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)丙酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0809] UPLC-MS(方法A):Rt 2.12min,m/z计算值[M+H]:790.55,实验值:790.99。

[0810]

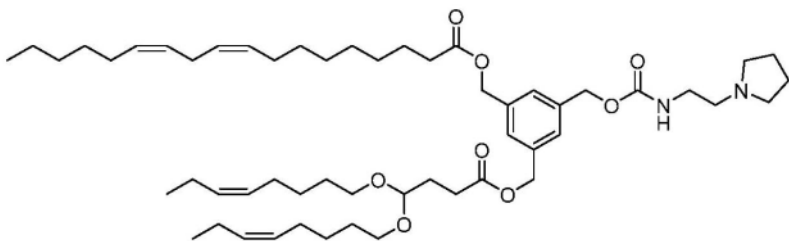


实例5-16

[0811] 实例5-16:4,4-双(辛-3-炔-1-基氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0812] UPLC-MS(方法A):Rt 1.68min,m/z计算值[M+H]:832.53,实验值:832.96。

[0813]

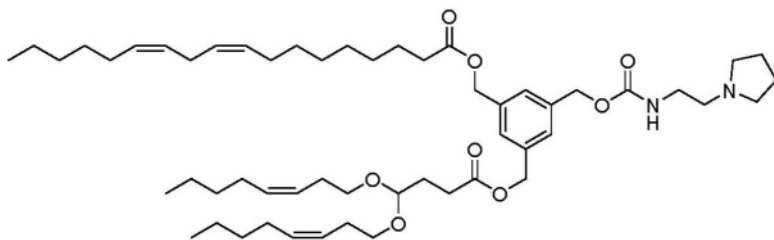


实例5-17

[0814] 实例5-17: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0815] UPLC-MS(方法A):Rt 2.05min,m/z计算值[M+H]:893.65,实验值894.25。

[0816]

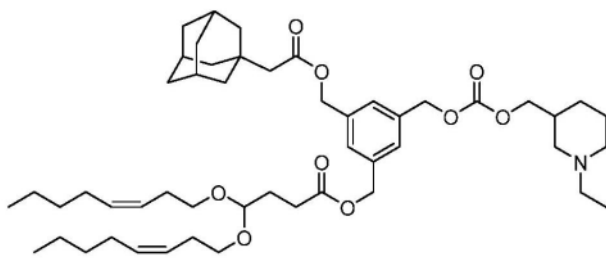


实例5-18

[0817] 实例5-18: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-3-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0818] UPLC-MS(方法A):Rt 2.08min,m/z计算值[M+H]:893.66,实验值894.20。

[0819]

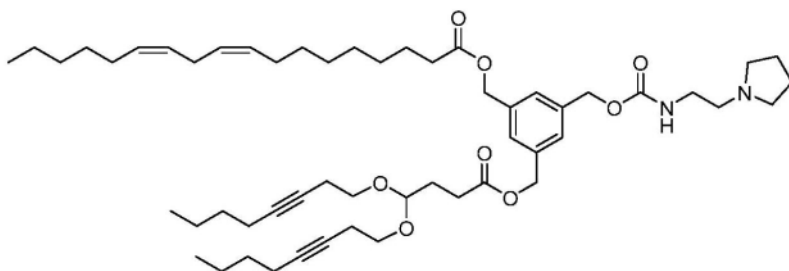


实例5-19

[0820] 实例5-19: 4,4-双(((Z)-辛-3-烯-1-基)氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0821] UPLC-MS(方法A): Rt 1.81min, m/z 计算值[M+H]: 836.56, 实验值: 837.31。

[0822]

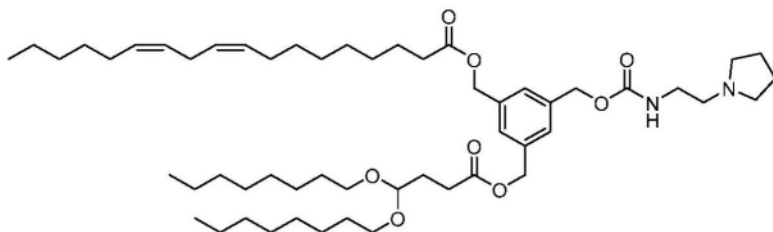


实例5-20

[0823] 实例5-20: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(辛-3-炔-1-基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0824] UPLC-MS(方法A): Rt 1.95min, m/z 计算值[M+H]: 889.63, 实验值 890.44。

[0825]

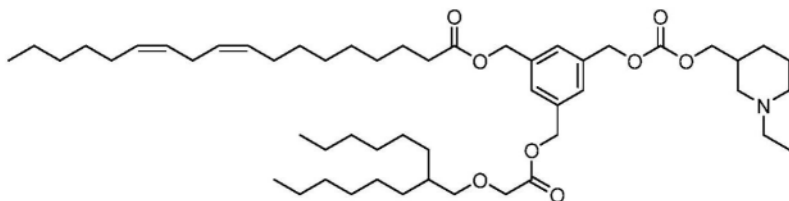


实例5-21

[0826] 实例5-21: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0827] UPLC-MS(方法A): Rt 2.16min, m/z 计算值[M+H]: 897.69, 实验值 898.51。

[0828]

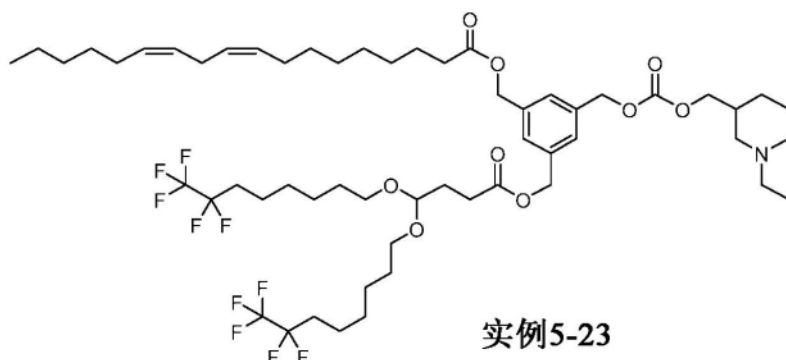


实例5-22

[0829] 实例5-22: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-5-((2-((2-己基辛基)氧基)乙酰氧基)甲基)苯甲酯

[0830] UPLC-MS(方法A): Rt 2.32min, m/z 计算值[M+H]: 853.64, 实验值: 854.9。

[0831]

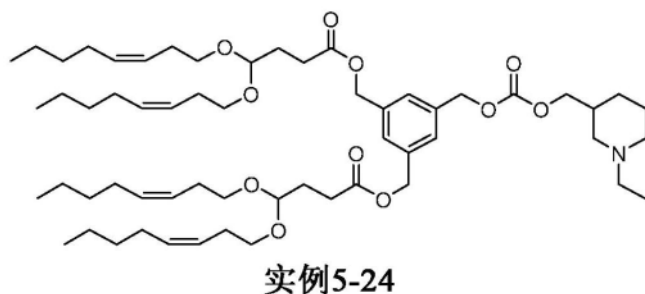


[0832] 实例5-23: (9Z, 12Z) -十八碳-9, 12-二烯酸3-(((4, 4-双((7, 7, 8, 8, 8-五氟辛基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0833] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 0.87 (t, J=6.7Hz, 3H), 1.17-1.42 (m, 23H), 1.57-1.73 (m, 16H), 1.87 (d, J=12.0Hz, 3H), 1.89-2.12 (m, 10H), 2.35 (t, J=7.6Hz, 3H), 2.43 (t, J=7.5Hz, 3H), 2.75 (t, J=6.4Hz, 2H), 3.31-3.49 (m, 4H), 3.51-3.64 (m, 2H), 4.05 (dd, J=5.8, 11.1Hz, 1H), 4.14 (dd, J=4.3, 11.1Hz, 1H), 4.43-4.61 (m, 1H), 5.05-5.16 (m, 6H), 5.25-5.43 (m, 4H), 7.31 (s, 3H)。

[0834] 使用与针对实例5-2所描述的方法相似的方法制备以下实例5-24至5-31。

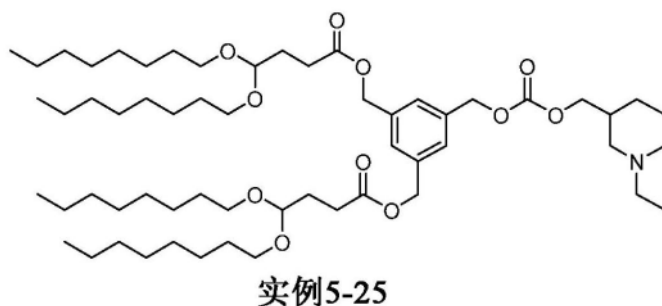
[0835]



[0836] 实例5-24: 双(4, 4-双(((Z) -辛-3-烯-1-基)氧基)丁酸) (5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1, 3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0837] UPLC-MS (方法A): Rt 5.45min, m/z 计算值[M+H]: 982.69, 实验值: 982.1。

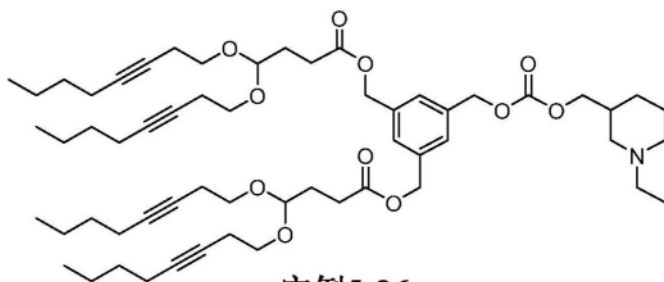
[0838]



[0839] 实例5-25: 双(4, 4-双(辛基氧基)丁酸) (5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1, 3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0840] UPLC-MS (方法A): Rt 2.35min, m/z 计算值[M+H]: 990.46, 实验值: 991.4。

[0841]

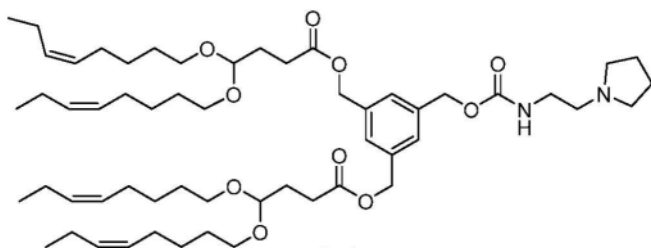


实例5-26

[0842] 实例5-26: 双(4,4-双(辛-3-炔-1-基氧基)丁酸)(5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0843] UPLC-MS(方法A): Rt 2.03min, m/z 计算值[M+H]: 974.63, 实验值: 975.2。

[0844]

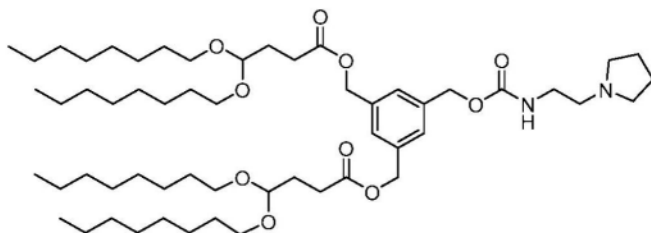


实例5-27

[0845] 实例5-27: 双(4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸)(5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0846] UPLC-MS(方法A): Rt 2.19min, m/z 计算值[M+H]: 953.68, 实验值 954.3。

[0847]

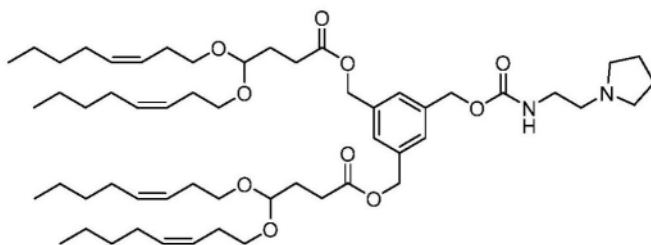


实例5-28

[0848] 实例5-28: 双(4,4-双(辛基氧基)丁酸)(5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0849] UPLC-MS(方法A): Rt 2.35min, m/z 计算值[M+H]: 961.75, 实验值 962.4。

[0850]

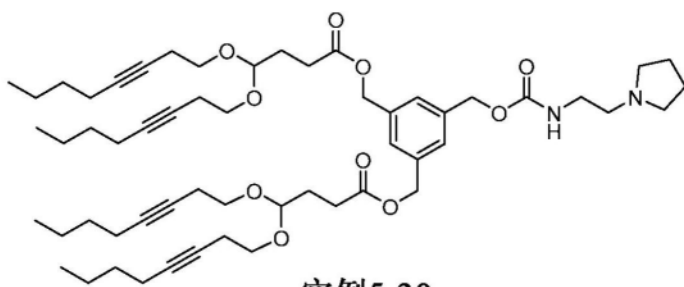


实例5-29

[0851] 实例5-29: 双(4,4-双(((Z)-辛-3-烯-1-基)氧基)丁酸)(5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0852] UPLC-MS(方法A): Rt 2.20min, m/z 计算值[M+H]: 953.68, 实验值 954.24。

[0853]

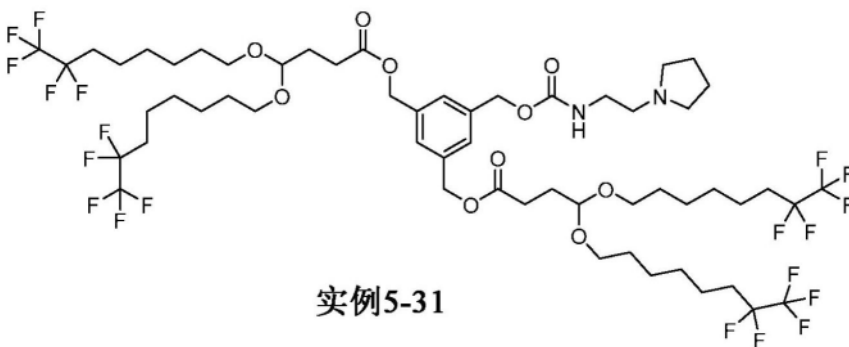


实例5-30

[0854] 实例5-30:双(4,4-双(辛-3-炔-1-基氧基)丁酸)(5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0855] UPLC-MS(方法A):Rt 1.98min,m/z计算值[M+H]:945.62,实验值946.24。

[0856]



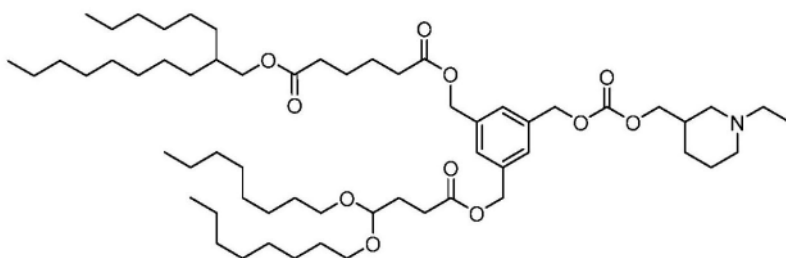
实例5-31

[0857] 实例5-31:双(4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸)(5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

[0858] UPLC-MS(方法A):Rt 2.16min,m/z计算值[M+H]:1321.56,实验值1321.8。

[0859] 使用与针对实例5-3所描述的方法相似的方法制备以下实例5-32至5-39。

[0860]

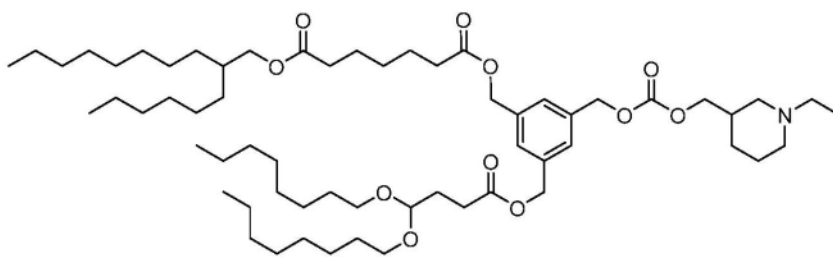


实例5-32

[0861] 实例5-32:己二酸3-(((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基苯甲酯(2-己基癸酯)

[0862] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 7.32(s,3H),5.18-5.10(m,7H),3.96(d,J=5.8Hz,2H),3.64(t,J=6.6Hz,2H),2.85-2.81(m,2H),2.71-2.67(m,2H),2.41-2.37(m,2H),2.34-2.30(m,2H),1.60-1.53(m,18H),1.36-1.26(m,50H),0.89-0.86(m,15H)。UPLC-MS(方法C):Rt 4.09min,m/z计算值[M+H]:1016.77,实验值:1016.77。

[0863]

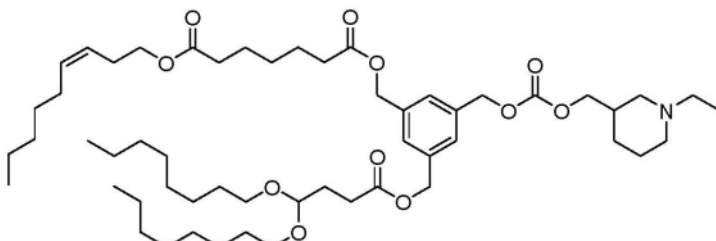


实例5-33

[0864] 实例5-33:庚二酸1-(3-(((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯)7-(2-己基癸酯)

[0865] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.18-5.10 (m, 7H), 3.96 (d, $J=5.8\text{Hz}$, 2H), 3.64 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.71-2.66 (m, 2H), 2.39-2.35 (m, 2H), 2.32-2.27 (m, 2H), 1.58-1.55 (m, 20H), 1.38-1.26 (m, 50H), 0.90-0.86 (m, 15H)。UPLC-MS (方法C): Rt 4.14min, m/z 计算值 $[\text{M}+\text{H}]$: 1030.78, 实验值: 1030.77。

[0866]

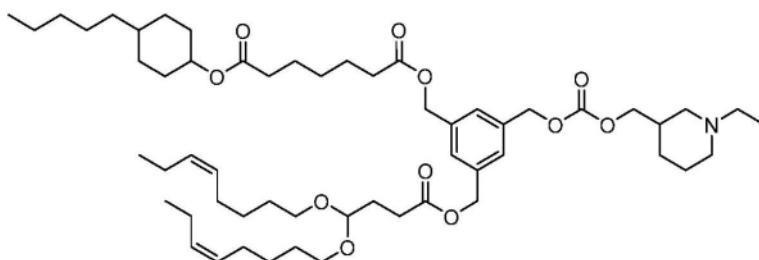


实例5-34

[0867] 实例5-34:庚二酸(Z)-1-(3-(((4,4-双(辛基氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯)7-(壬-3-烯-1-基酯)

[0868] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.53-5.46 (m, 1H), 5.36-5.29 (m, 1H), 5.18-5.10 (m, 7H), 4.07-4.03 (m, 2H), 3.64 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.71-2.66 (m, 2H), 2.39-2.26 (m, 8H), 2.05-2.00 (m, 2H), 1.68-1.53 (m, 22H), 1.38-1.24 (m, 27H), 0.90-0.86 (m, 12H)。UPLC-MS (方法C): Rt 3.59min, m/z 计算值 $[\text{M}+\text{H}]$: 930.66, 实验值: 930.68。

[0869]

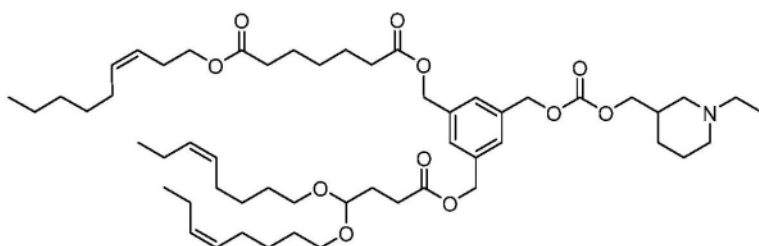


实例5-35

[0870] 实例5-35:庚二酸1-(3-(((4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯)7-(4-戊基环己酯)

[0871] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.42-5.28 (m, 4H), 5.18-5.10 (m, 7H), 3.65 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 3H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.71-2.67 (m, 2H), 2.29-2.23 (m, 6H), 2.09-1.18 (m, 55H), 0.96 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H), 0.88 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 3H)。UPLC-MS (方法C): Rt 3.54min, m/z 计算值 $[\text{M}+\text{H}]$: 954.66, 实验值: 954.78。

[0872]

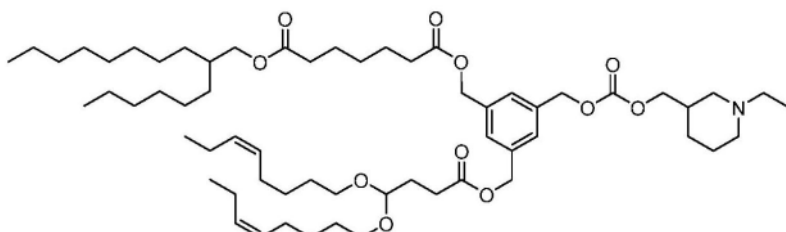


实例5-36

[0873] 实例5-36:庚二酸1-(3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯7-((Z)-壬-3-烯-1-基酯)

[0874] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.53-5.28 (m, 6H), 5.18-5.10 (m, 7H), 4.05 (td, $J=6.9, 1.7\text{Hz}$, 2H), 3.65 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.71-2.67 (m, 2H), 2.39-2.27 (m, 8H), 2.09-2.00 (m, 12H), 1.70-1.25 (m, 34H), 0.96 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H), 0.88 (t, $J=7.1\text{Hz}$, 3H)。UPLC-MS(方法C): Rt 3.42min, m/z 计算值[M+H]: 926.63, 实验值: 926.68。

[0875]

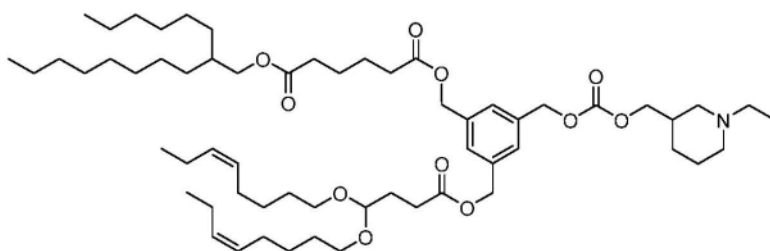


实例5-37

[0876] 实例5-37:庚二酸1-(3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯7-(2-己基癸酯)

[0877] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.42-5.28 (m, 4H), 5.18-5.10 (m, 7H), 3.96 (d, $J=5.9\text{Hz}$, 2H), 3.65 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.71-2.67 (m, 2H), 2.37 (td, $J=7.5, 1.6\text{Hz}$, 2H), 2.30 (td, $J=7.5, 3.7\text{Hz}$, 2H), 2.09-2.00 (m, 8H), 1.69-1.26 (m, 57H), 0.96 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H), 0.88 (t, $J=7.1\text{Hz}$, 6H)。UPLC-MS(方法C): Rt 3.92min, m/z 计算值[M+H]: 1026.75, 实验值: 1026.77。

[0878]

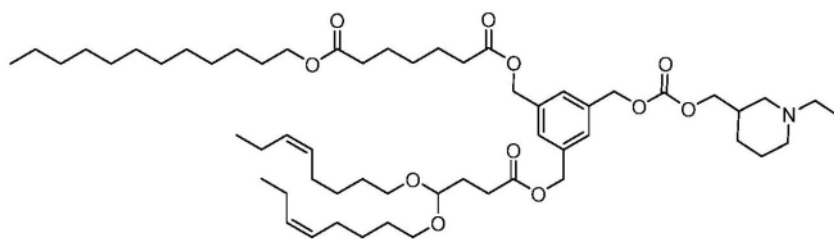


实例5-38

[0879] 实例5-38:己二酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯(2-己基癸酯)

[0880] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.42-5.28 (m, 4H), 5.18-5.10 (m, 7H), 3.96 (dd, $J=5.9, 1.3\text{Hz}$, 2H), 3.65 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 2.85-2.81 (m, 2H), 2.71-2.67 (m, 2H), 2.42-2.30 (m, 4H), 2.09-2.00 (m, 8H), 1.72-1.26 (m, 55H), 0.96 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H), 0.88 (t, $J=7.1\text{Hz}$, 6H)。UPLC-MS(方法C): Rt 3.86min, m/z 计算值[M+H]: 1012.74, 实验值: 1012.77。

[0881]



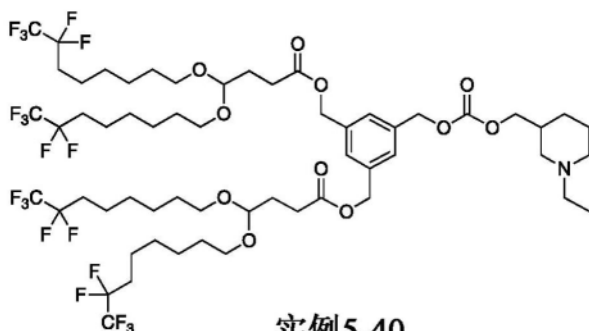
实例5-39

[0882] 实例5-39:庚二酸1-(3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯7-十二烷基酯

[0883] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 7.32 (s, 3H), 5.40-5.27 (m, 4H), 5.17-5.10 (m, 7H), 4.04 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 4H), 3.60-3.50 (m, 2H), 3.43-3.37 (m, 2H), 2.52-2.27 (m, 8H), 2.06-1.78 (m, 12H), 1.71-1.26 (m, 44H), 0.95 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H), 0.88 (t, $J=7.0\text{Hz}$, 3H)。UPLC-MS (方法C): Rt 3.75min, m/z 计算值 $[M+H]^+$: 970.69, 实验值: 970.78。

[0884] 实例5-40:双(4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸)(5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

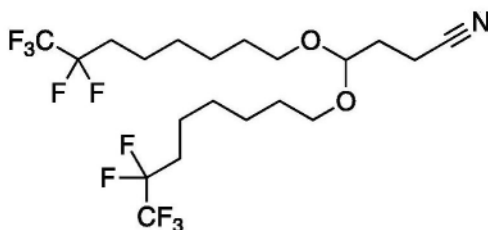
[0885]



实例5-40

[0886] 步骤1:4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁腈

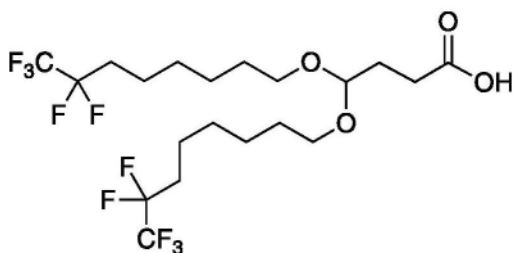
[0887]



[0888] 根据通用程序A,用7,7,8,8,8-五氟辛-1-醇取代顺-5-辛烯-1-醇来制备。分离出320mg, 35%。 ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 1.35-1.44 (m, 8H), 1.55-1.66 (m, 8H), 1.87-2.12 (m, 6H), 2.41 (t, $J=7.1\text{Hz}$, 2H), 3.38-3.48 (m, 2H), 3.55-3.65 (m, 2H), 4.55 (t, $J=5.3\text{Hz}$, 1H)。

[0889] 步骤2:4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸

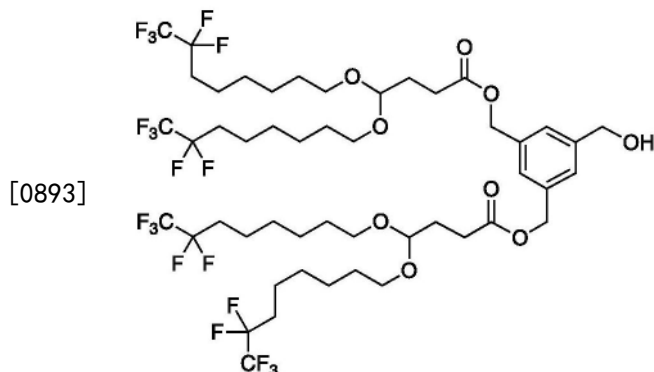
[0890]



[0891] 根据通用程序B,用4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁腈取代4,4-双((Z)-

辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸来制备。分离出1.01g, 97%。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 1.29-1.42 (m, 8H), 1.43-1.56 (m, 8H), 1.73 (q, J=7.1Hz, 2H), 2.06-2.26 (m, 6H), 3.30-3.41 (m, 2H), 3.44-3.55 (m, 2H), 4.46 (t, J=5.6Hz, 1H), 12.04 (s, 1H)。

[0892] 步骤3: 双(4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸)(5-(羟甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)

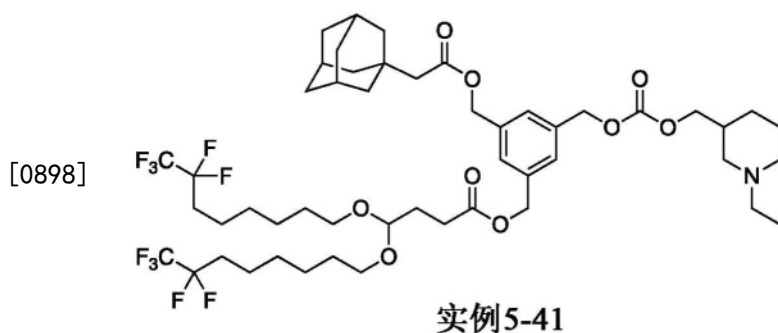


[0894] 根据通用程序F, 用4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸取代4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸来制备。分离出70mg, 10%。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 1.33-1.43 (m, 3H), 1.58-1.71 (m, 27H), 1.89-2.11 (m, 15H), 2.43 (t, J=7.4Hz, 4H), 3.34-3.47 (m, 4H), 3.50-3.63 (m, 4H), 4.45-4.54 (m, 2H), 4.70 (s, 2H), 5.10 (s, 4H), 7.24 (s, 1H), 7.31 (s, 2H)。

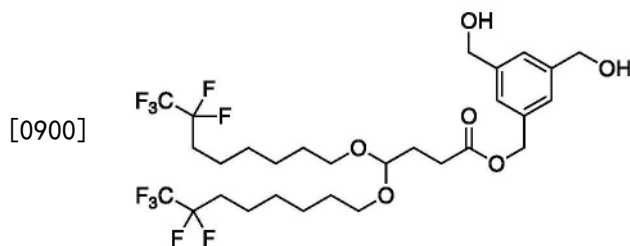
[0895] 步骤4: 双(4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸)(5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯) (实例5-40)

[0896] 根据通用程序E, 用双(4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸)(5-(羟甲基)-1,3-亚苯基)双(亚甲基酯)取代(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯来制备。分离出22mg, 38%。UPLC-MS (方法B): Rt 5.41min, m/z 计算值[M+H]: 1350.6, 实验值: 1351.6。

[0897] 实例5-41: 4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

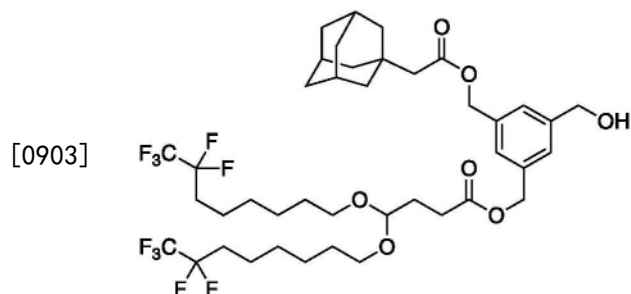


[0899] 步骤1: 4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯



[0901] 根据通用程序F,用4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸取代4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸来制备。分离出110mg,18%。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 1.35-1.39(m,9H),1.54-1.57(m,6H),1.91-2.05(m,7H),2.43(t,J=7.4Hz,2H),3.35-3.41(m,2H),3.52-3.58(m,2H),4.47(t,J=5.52Hz,1H),4.70(s,4H),7.27(s,2H),7.32(s,1H)。

[0902] 步骤2:4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯

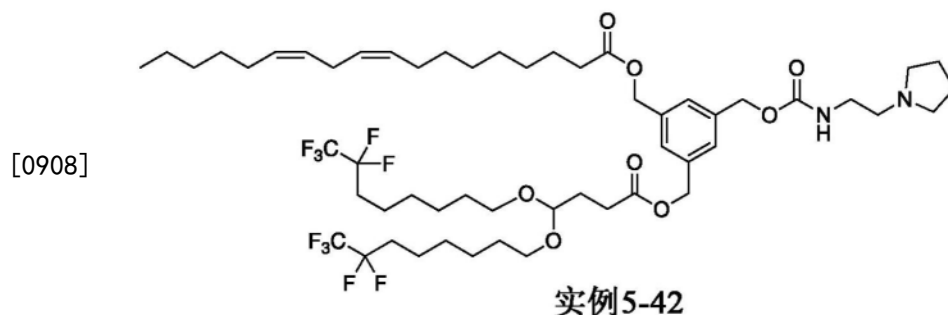


[0904] 根据通用程序E,用4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯取代(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3,5-双(羟甲基)苯甲酯并且用1-金刚烷乙酸取代4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸来制备。分离出55mg,33%。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 1.37(tm,9H),1.57-1.75(m,12H),1.94-2.03(m,11H),2.11(s,2H),2.42(t,J=7.5Hz,2H),3.35-3.41(m,2H),3.52-3.58(m,2H),4.47(t,J=5.68Hz,1H),4.69(s,2H),5.08-5.10(d,J=5.2Hz,4H),7.24(s,1H),7.31(s,2H)。

[0905] 步骤3:4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯(实例5-41)

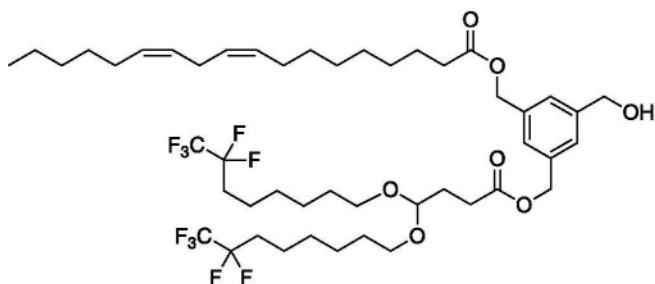
[0906] 根据通用程序E,用4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸3-((2-((3r,5r,7r)-金刚烷-1-基)乙酰氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯取代(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯来制备。分离出32mg,53%。UPLC-MS(方法A):Rt 1.99min,m/z计算值[M+H]:1020.5,实验值:1020.7。

[0907] 实例5-42:(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯甲酯



[0909] 步骤1:(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯

[0910]



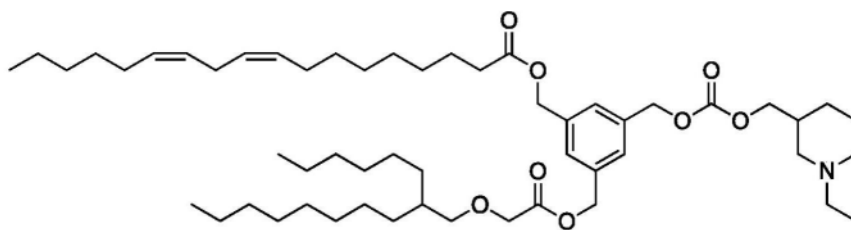
[0911] 根据通用程序D,用4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酸取代4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸来制备。分离出90mg,34%。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 0.87 (t, J=6.3Hz, 3H), 1.16-1.44 (m, 20H), 1.59-1.72 (m, 12H), 1.85-2.13 (m, 11H), 2.34 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.43 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.76 (t, J=6.5Hz, 2H), 3.36-3.47 (m, 2H), 3.58 (d, J=9.0Hz, 2H), 4.50 (t, J=5.4Hz, 1H), 4.70 (s, 2H), 5.10 (d, J=3.7Hz, 4H), 5.22-5.44 (m, 4H), 7.17-7.25 (m, 1H), 7.31 (s, 2H)。

[0912] 步骤2: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(((2-(吡咯烷-1-基)乙基)氨基甲酰基)氧基)甲基)苯甲酯(实例5-42)

[0913] 根据通用程序E,用(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((7,7,8,8,8-五氟辛基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯取代(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯并且用2-(吡咯烷-1-基)乙酸-1-胺取代(1-乙基哌啶-3-基)甲醇来制备。分离出54mg,50%。UPLC-MS (方法A): Rt 2.22min, m/z 计算值[M+H]: 1077.6, 实验值: 1077.8。

[0914] 实例5-43: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-5-((2-((2-己基癸基)氧基)乙酰氧基)甲基)苯甲酯

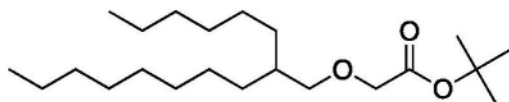
[0915]



实例5-43

[0916] 步骤1: 2-((2-己基癸基)氧基)乙酸叔丁酯

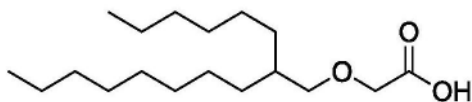
[0917]



[0918] 在氮气气氛下向2-溴乙酸叔丁酯(1.0eqv)于甲苯中的经搅拌溶液中添加2-己基癸-1-醇(1.0eqv)、四丁基氟化铵(1M于THF中, 0.05eqv)和50% NaOH水溶液。将所得混合物在25℃搅拌16h。完成后,真空浓缩反应混合物,将粗物质溶解于EtOAc中且用水洗涤。将有机层经无水Na₂SO₄干燥,过滤并减压浓缩。将由此获得的粗物质通过CombiFlash®柱色谱纯化,用8至10% EtOAc于己烷中洗脱,得到呈无色液体的2-((2-己基癸基)氧基)乙酸叔丁酯(71mg, 49%)。¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ 0.86 (t, J=6.5Hz, 6H), 1.14-1.39 (m, 25H), 1.47 (d, J=6.9Hz, 10H), 3.36 (d, J=5.9Hz, 2H), 3.92 (s, 2H)。

[0919] 步骤2: 2-((2-己基癸基)氧基)乙酸

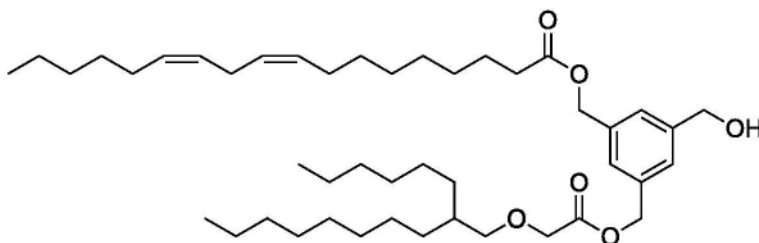
[0920]



[0921] 在0℃经10min向2-((2-己基癸基)氧基)乙酸叔丁酯(1.0equiv)于DCM中的经搅拌溶液中逐滴添加TFA(6.0equiv)。将反应混合物在25℃搅拌4h。完成后,将反应混合物用DCM(5mL)稀释并且用10%饱和NaHCO₃溶液(2×10mL)及水(10mL)和盐水(10mL)洗涤。将合并的有机层经无水Na₂SO₄干燥,过滤,浓缩,浓缩,且接着与甲苯(5mL)共沸蒸发。粗物质直接用于下一步骤。

[0922] 步骤3: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-((2-((2-己基癸基)氧基)乙酰氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯

[0923]



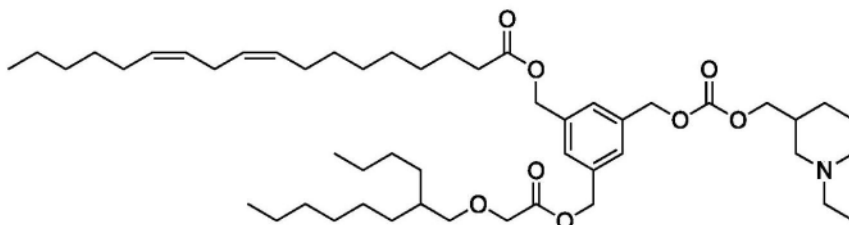
[0924] 根据通用程序D,用2-((2-己基癸基)氧基)乙酸取代4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酸来制备。分离出260mg,43%。¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ0.83-0.92(m,9H),1.22-1.39(m,38H),1.57-1.70(m,4H),2.04(q,J=7.1Hz,4H),2.35(t,J=7.6Hz,2H),2.76(t,J=6.4Hz,2H),3.40(d,J=5.9Hz,2H),4.09(s,2H),4.70(s,2H),5.10(s,2H),5.18(s,2H),5.27-5.42(m,4H),7.24-7.29(m,1H),7.32(s,2H)

[0925] 步骤4: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)-5-((2-((2-己基癸基)氧基)乙酰氧基)甲基)苯甲酯(实例5-43)

[0926] 根据通用程序E,用(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-((2-((2-己基癸基)氧基)乙酰氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯取代(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-(((4,4-双(((Z)-辛-5-烯-1-基)氧基)丁酰基)氧基)甲基)-5-(羟甲基)苯甲酯来制备。分离出105mg,56%。PLC-MS(方法A):Rt 2.34min,m/z计算值[M+H]:882.7,实验值:882.9。

[0927] 实例5-44: (9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯酸3-((2-((2-丁基辛基)氧基)乙酰氧基)甲基)-5-((((1-乙基哌啶-3-基)甲氧基)羰基)氧基)甲基)苯甲酯

[0928]



实例5-44

[0929] 使用与针对实例5-43所描述的方法相似的方法制备。分离出89mg,47%。UPLC-MS(方法A):Rt 2.19min,m/z计算值[M+H]:826.6,实验值:826.9。

[0930] 实例6: 用于将mRNA递送到肝脏的LNP制剂

[0931] 本实例提供递送mRNA至肝脏的示范性LNP组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。

[0932] 选择LNP制剂(示范性脂质6)来测定每种制剂在C57BL6/j小鼠中经静脉内递送功能性mRNA的能力。LNP制剂含有Trilink Fluc mRNA并且以0.3mg/kg的剂量施用。注射后六小时,分离数种组织(包含肝脏),并且使用如本文所述的标准发光分析来测量发光(参见图11)。

[0933] 出人意料的是,图11中的代表性数据表明,本文所述的筛选平台可识别几种高效的LNP制剂,以确定哪种类型的LNP制剂对特定细胞类型最有效。因此,在一些实施方案中,本实例表明,以具有苯三醇特点为特征的脂质显示出跨各种细胞类型(包含肝脏细胞)的有效递送。

[0934] 实例7:利用LNP制剂在肝脏中进行碱基编辑

[0935] 本实例提供在各种细胞类型中赋予基因编辑(例如使用碱基编辑器)的示范性LNP组合物、制剂、纳米粒子和/或纳米材料。

[0936] 方法

[0937] 选择示范性LNP制剂(示范性脂质6)来测定每种制剂在如本文所述的Balb/C小鼠模型中进行碱基编辑的能力。

[0938] 脂质纳米粒子组分以指定脂质组分摩尔比溶解于100%乙醇中。将编码腺嘌呤碱基编辑器和化学改性sgRNA的mRNA以质量比1:1溶解于10mM柠檬酸盐、100mM NaCl中(pH 4.0),使得NA运载物的浓度大约为0.22mg/mL。以47.5%可电离脂质:40%胆甾醇:2.5%PEG2000-DMG:10% DSPC的摩尔比、11.7比40的总脂质与NA质量比来制备LNP制剂。根据制造商方案,通过使用Precision Nanosystems NanoAssemblr Spark或Benchtop系列仪器对脂质和NA溶液进行微流体混合,形成LNP制剂。在使用不同差分流动速率进行混合期间,水溶液与有机溶剂的比率保持在3:1。在混合之后,收集LNP制剂,稀释于PBS中(大约2:1v/v),并且以20kDa过滤器为背景,在4℃使用PBS透析8到24小时进行进一步的缓冲液交换。在此初始透析之后,每一个别LNP制剂通过动态光散射(dynamic light scattering;DLS)表征,以测量大小和多分散性。经由TNS分析测量LNP制剂亚群的pKa。在透析之后,使用0.22微米的无菌过滤器无菌过滤LNP制剂且存储在4℃下以供进一步使用。在一些实施方案中,可根据制造商方案使用100kDa Amicon过滤器浓缩LNP制剂。

[0939] LNP表征

[0940] DLS-使用高通量动态光散射(DLS) (DynaPro plate reader II,Wyatt) 测量LNP制剂流体动力学直径和多分散指数(PDI)。用1×PBS将LNP制剂稀释到适当浓度且进行分析。

[0941] 浓度和包裹效率

[0942] 按照制造商说明书,通过QubitmicroRNA试剂盒(用于siRNA)或HSRNA试剂盒(用于mRNA)测定NA的浓度。通过测量未裂解和裂解的LNP来测定包裹效率。

[0943] LNP施用

[0944] 将大约8至12周龄的雄性Balb/C小鼠用于本文所述的实验中。每只小鼠都被暂时束缚,且通过尾静脉注射IV施用LNP制剂。还使用年龄匹配的小鼠通过尾静脉注射施用媒介(1×PBS)以作为对照。给药后四至六天,收集包含肝、脾和骨髓的组织。使用Nextera DNA Flex Library Prep Kit(Illumina),使用96孔板Nextera indexing primers(Illumina),根据制造商的说明书分离并碎片化基因组DNA,并且进行衔接子接合。通过Fragment Analyzer(Agilent)确认库大小和浓度,且发送到Novogene以便使用Illumina HiSeq进行

全基因组测序。

[0945] 碱基编辑

[0946] 对于碱基编辑,将1:1(质量比)的编码腺嘌呤碱基编辑器(ABE)的mRNA和靶向ALAS1的向导RNA(sgRNA)共同包裹于如本文所述的LNP制剂中。通过尾静脉注射以0.3mg/kg总RNA将LNP制剂施用于Balb/c小鼠。给药后4天,将小鼠安乐死,且收集肝、脾和骨髓。通过使用所提取的基因组DNA在ALAS1靶位点进行靶定深度测序分析来测定碱基编辑。

[0947] 结果

[0948] 图12显示描绘使用含有本文所述的不同示范性脂质的多种LNP制剂在肝脏细胞中进行碱基编辑的柱状图。结果也显示于表2中。

[0949] 表2.

[0950]	小组	治疗	剂量 (mg/kg)	mRNA:sgRNA	途径	N	剖检日期
	1	PBS	-	-	IV	2	4 天
	2	示范性脂质, N/P=6	0.3	1:1	IV	3	4 天

[0951] 出人意料的是,图12中的代表性数据表明,本文所述的筛选平台可以鉴别用于特定细胞类型中的碱基编辑的几种高效LNP制剂。因此,在一些实施方案中,本实例表明,以具有苯三醇特点为特征的脂质可用于跨各种细胞类型(包含肝脏细胞)进行碱基编辑。

[0952] 等效物

[0953] 本领域技术人员将认识到或只使用常规实验就能够确定本文所述的本发明的具体实施方案的许多等效物。本发明的范围并不意图限于以上描述,而是如所附权利要求书中所述。

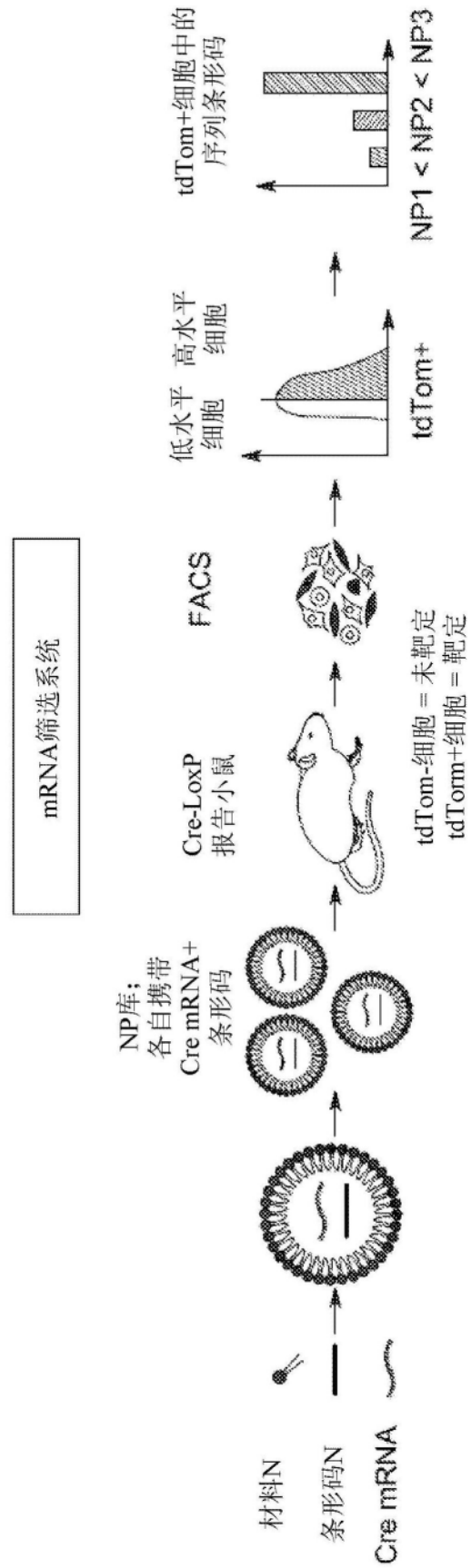


图1

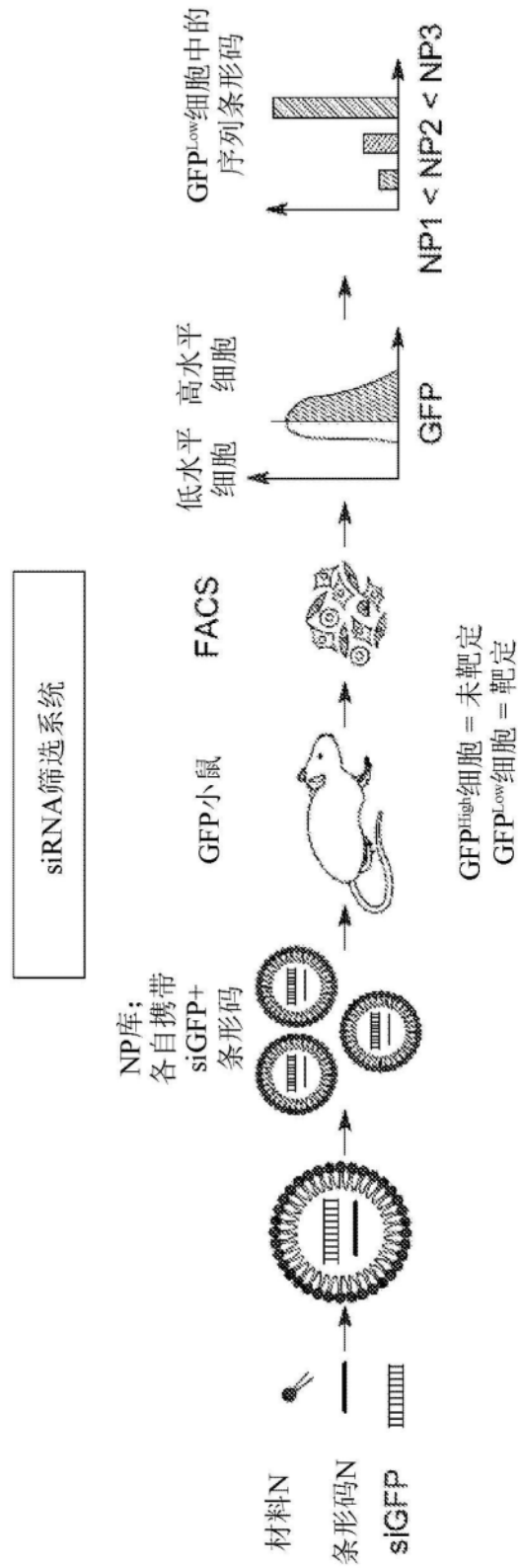


图2

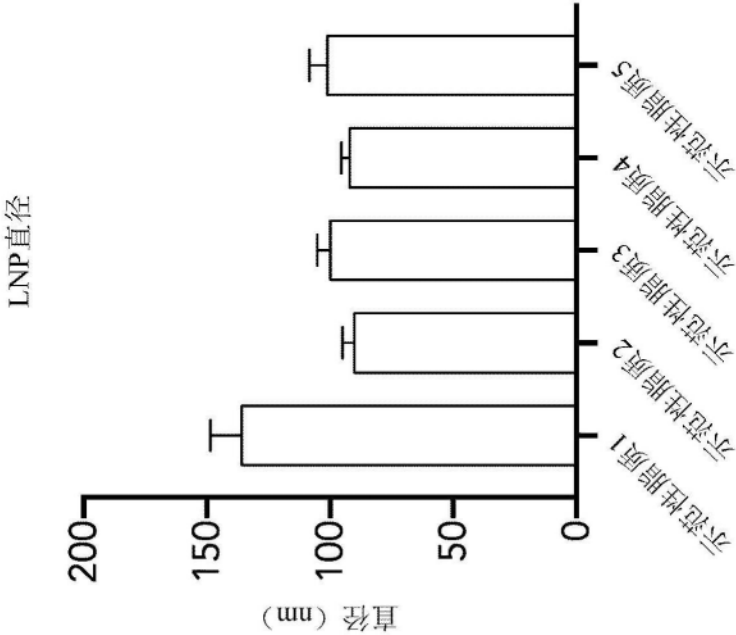


图3

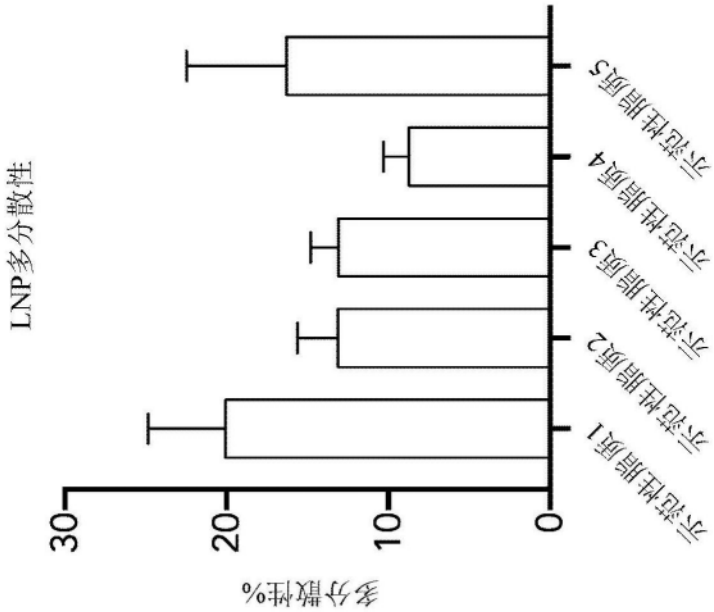


图4

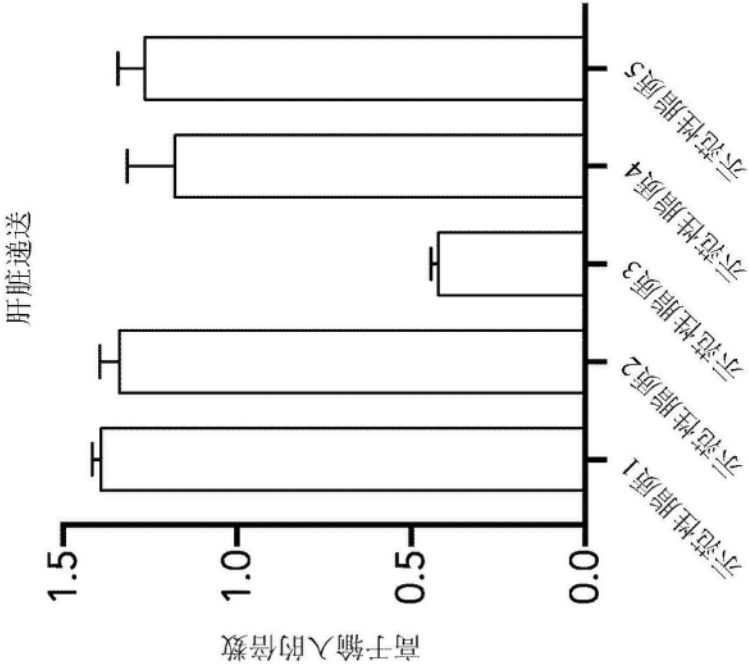


图5

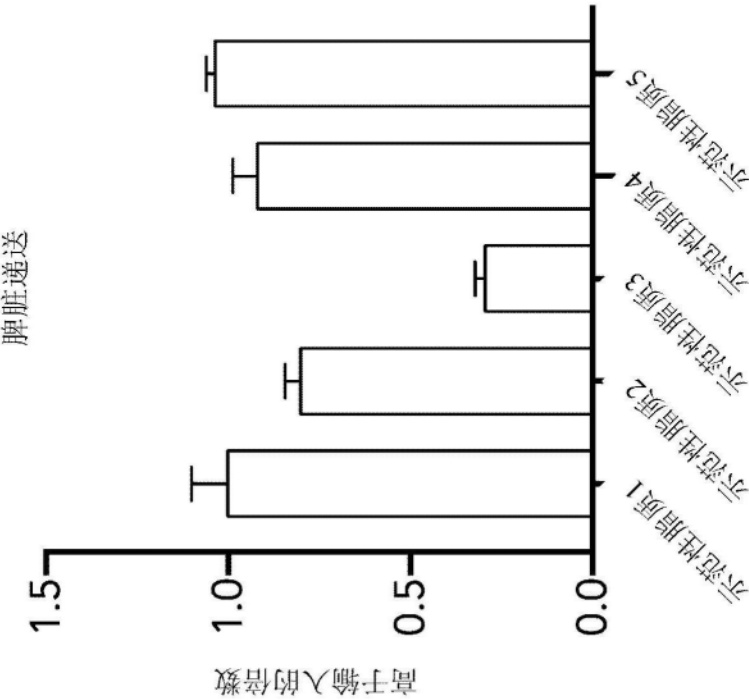


图6

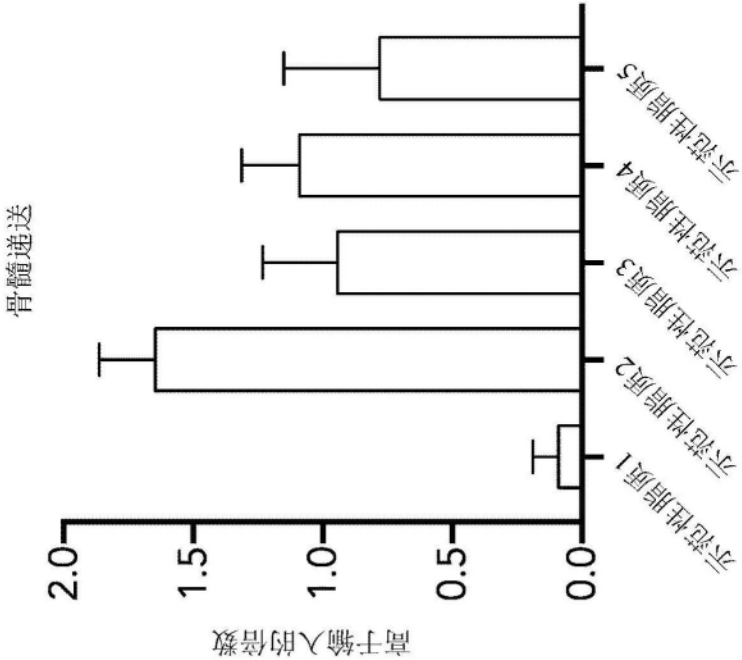


图7

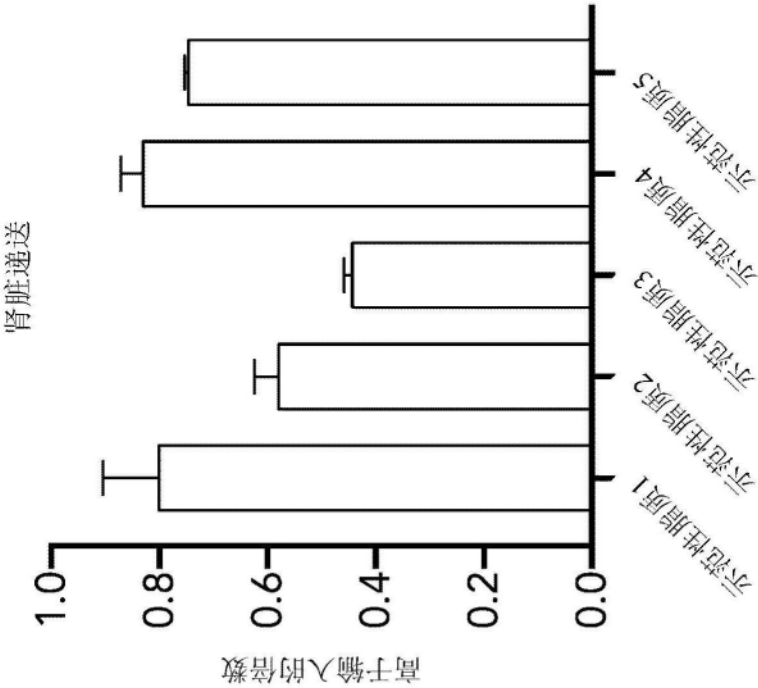


图8

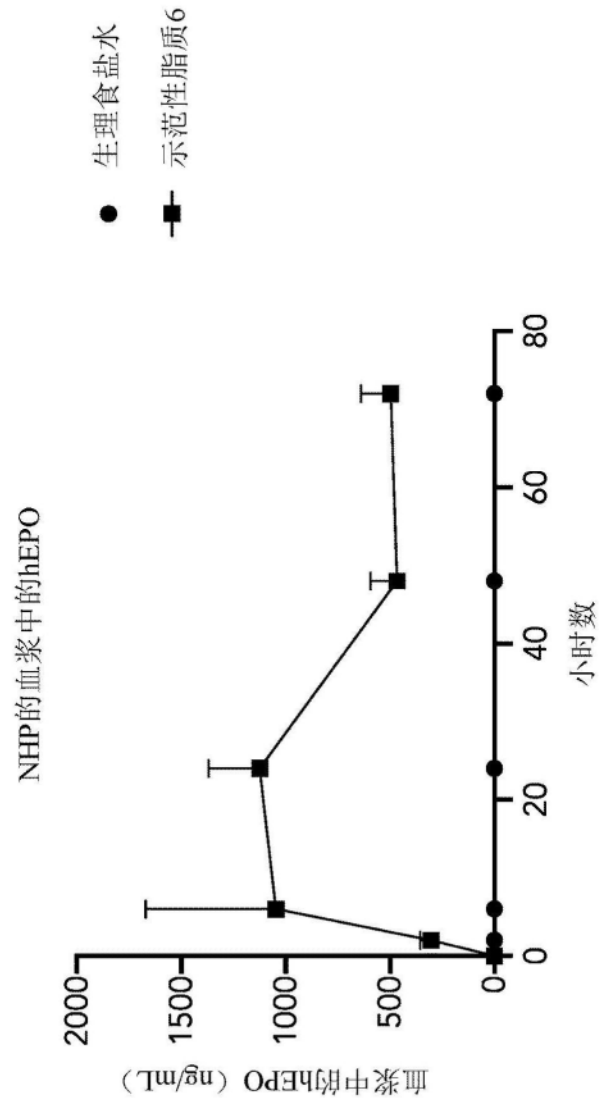


图9

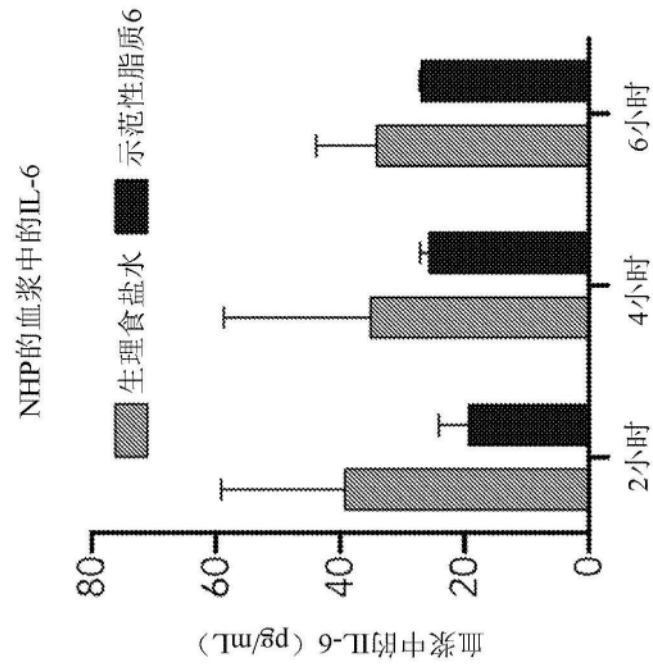


图10

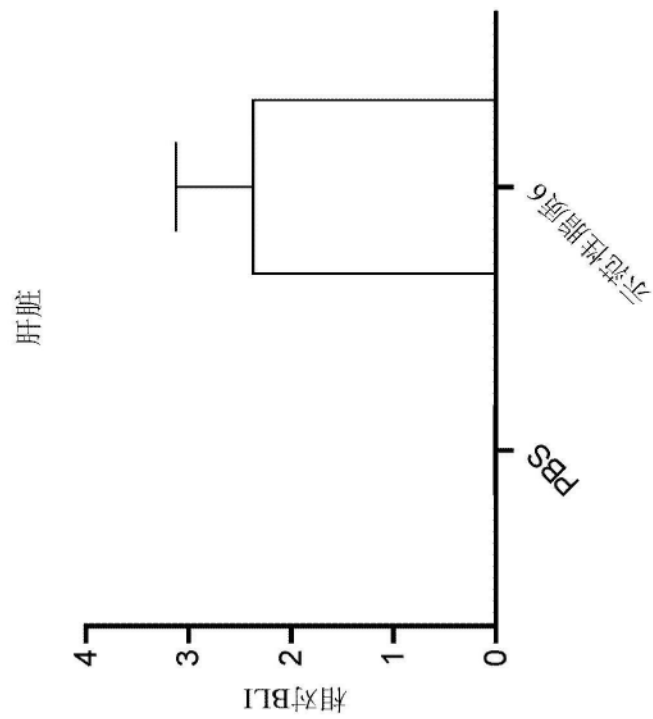


图11

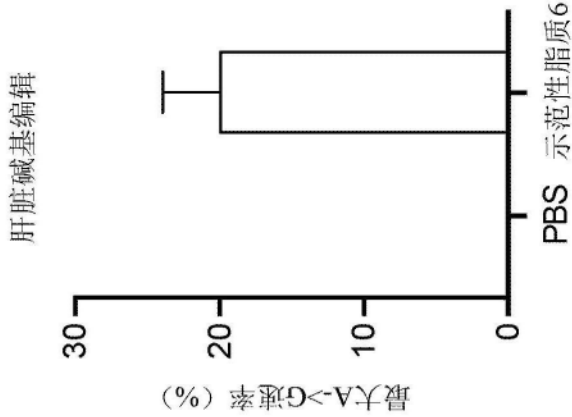


图12