

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2025 年 1 月 9 日 (09.01.2025)



(10) 国际公布号
WO 2025/007907 A1

(51) 国际专利分类号:
C12N 15/113 (2010.01) **A61K 47/54** (2017.01)
A61K 31/713 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/103493

(22) 国际申请日: 2024 年 7 月 4 日 (04.07.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202310814387.3 2023年7月4日 (04.07.2023) CN

(71) 申请人(对除CN外的所有指定国):大睿生物(**RONA BIOSCIENCE, LIMITED**) [CN/CN]; 中国香港特别行政区金钟道 89 号力宝中心 2 栋 4 楼 417 室, Hong Kong (CN)。

(71) 申请人(仅对CN):大睿生物医药科技(上海)有限公司(**SHANGHAI RONA THERAPEUTICS CO., LTD.**) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区自由贸易试验区张江路665号三层, Shanghai 201203 (CN)。

(72) 发明人:黄金宇(**HUANG, Jinyu**); 中国上海市浦东新区康威路795弄3号楼, Shanghai 201315 (CN)。邹昊(**ZOU, Hao**); 中国上海市浦东新区康威路795弄3号楼, Shanghai 201315 (CN)。刘俊凯(**LIU, Junkai**); 中国上海市浦东新区康威路795弄3号楼, Shanghai 201315 (CN)。

(74) 代理人:北京市柳沈律师事务所(**LIU, SHEN & ASSOCIATES**); 中国北京市海淀区彩和坊路10号1号楼10层, Beijing 100080 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,

GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

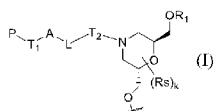
— 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
— 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(54) **Title:** PEPTIDE-CONTAINING OLIGONUCLEOTIDE DELIVERY LIGAND

(54) 发明名称: 包含肽的寡核苷酸递送配体



(57) **Abstract:** Provided is a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt, tautomer or stereoisomer thereof. The compound of formula (I) is contained within an oligonucleotide or at 5' end and/or 3' end, and is used for delivering double-stranded RNA to extrahepatic tissue, such as the eye. Also provided are an oligonucleotide, double-stranded RNA, vector, cell, pharmaceutical composition, and kit comprising the compound of formula (I).

(57) 摘要: 提供式 (I) 化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。所述式 (I) 化合物包含在寡核苷酸内部, 或者在 5' 端和/或 3' 端, 用于将双链 RNA 递送至肝外组织, 例如眼部。还涉及包含式 (I) 化合物的寡核苷酸、双链 RNA、载体、细胞、药物组合物和试剂盒。



WO 2025/007907 A1

包含肽的寡核苷酸递送配体

本发明要求申请日为 2023 年 7 月 4 日、CN202310814387.3 的中国发明专利申请的优先权，将其整体引入本文作为参考。

发明领域

本发明属于医药领域，具体涉及具有将双链 RNA 递送至肝外组织，例如眼部的递送载体，所述递送载体为被疏水性基团修饰的肽，例如式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

背景技术

RNA 干扰是一种由双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA, 也称 siRNA) 诱发的靶标 mRNA 高效特异性降解的现象。

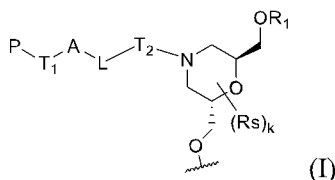
然而，由于血脑屏障的存在，难以将 siRNA 递送到眼部继而发挥作用，这限制了 siRNA 的应用。

本领域对于将 siRNA 递送到眼部进行了一些尝试，例如 WO2004094595A2 公开了在链末端使用单个脂质配体（例如胆固醇或长链烷烃）递送 siRNA，WO2019217459A1 公开了在链内部使用单个脂质配体递送 siRNA，WO2021092371A2 公开了一系列新的脂质配体结构。

本领域仍然需要开发更多的疏水性基团，以更有效地递送 siRNA 到眼部。

发明内容

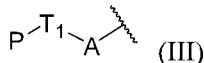
在一个方面，本发明提供了一种寡核苷酸，其包含一个或多个式(I)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体：



其中各基团如下文所定义。

在另一个方面，本发明提供了一种寡核苷酸，其在寡核苷酸内部、5'端和/或 3'端包含一个、两个或多个递送载体，所述递送载体为被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团；

优选地，所述被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团选自式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体：



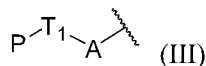
其中各基团如下文所定义。

在另一个方面，本发明提供了一种双链 RNA，其具有正义链和反义链，各链具有 14 至 30 个核苷酸，所述反义链包含与所述正义链和靶标 mRNA 充分互补的序列，其中所述正义链和/或反义链包含一个或多个上述式(I)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

在另一个方面中，本发明提供了一种双链 RNA，其具有正义链和反义链，各链具有 14 至 30 个

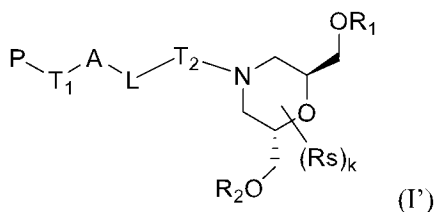
核苷酸，所述反义链包含与所述正义链和靶标 mRNA 充分互补的序列，其中所述正义链和/或反义链在内部、5'端和/或 3'端包含一个、两个或多个递送载体，所述递送载体为被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团；

优选地，所述被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团选自式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体：



其中各基团如下文所定义。

在另一个方面中，本发明提供了式(I')化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体：



其中各基团如下文所定义。

在另一个方面中，本发明提供了载体，其包含编码前述双链 RNA 的核苷酸序列。

在另一个方面中，本发明提供了细胞，其含有前述双链 RNA 或前述载体。

在另一个方面中，本发明提供了药物组合物，其包含前述双链 RNA、前述载体、或前述细胞，以及任选的药学上可接受的载剂或赋形剂。

在另一个方面中，本发明提供了试剂盒，其包含前述双链 RNA、前述载体、或前述细胞。

发明详述

定义

化学定义

下面更详细地描述具体官能团和化学术语的定义。

当列出数值范围时，既定包括每个值和在该范围内的子范围。例如“C₁₋₆ 烷基”包括 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₁₋₆、C₁₋₅、C₁₋₄、C₁₋₃、C₁₋₂、C₂₋₆、C₂₋₅、C₂₋₄、C₂₋₃、C₃₋₆、C₃₋₅、C₃₋₄、C₄₋₆、C₄₋₅ 和 C₅₋₆ 烷基。

“C₁₋₆ 烷基”是指具有 1 至 6 个碳原子的直链或支链饱和烃基团。“C₈₋₃₀ 烷基”是指具有 1 至 30 个碳原子的直链或支链饱和烃基团。在一些实施方案中，C₈₋₂₅ 烷基、C₁₀₋₂₂ 烷基、C₈₋₂₀ 烷基、C₁₋₁₀ 烷基和 C₁₋₆ 烷基是优选的。C₁₋₆ 烷基的例子包括：甲基(C₁)、乙基(C₂)、正丙基(C₃)、异丙基(C₃)、正丁基(C₄)、叔丁基(C₄)、仲丁基(C₄)、异丁基(C₄)、正戊基(C₅)、3-戊基(C₅)、戊基(C₅)、新戊基(C₅)、3-甲基-2-丁基(C₅)、叔戊基(C₅)和正己基(C₆)。术语“C₁₋₆ 烷基”还包括杂烷基，其中一或多个(例如，1、2、3 或 4 个)碳原子被杂原子(例如，氧、硫、氮、硼、硅、磷)替代。烷基基团可以被一或多个取代基任选取代，例如，被 1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基取代。常规烷基缩写包括：Me(-CH₃)、Et(-CH₂CH₃)、iPr(-CH(CH₃)₂)、nPr(-CH₂CH₂CH₃)、n-Bu(-CH₂CH₂CH₂CH₃)或 i-Bu(-CH₂CH(CH₃)₂)。

“C₈₋₃₀ 烯基”是指具有 8 至 30 个碳原子和至少一个碳碳双键的直链或支链烃基团。在一些实施方案中，C₁₀₋₂₂ 烯基、C₁₄₋₂₀ 烯基、C₁₆₋₁₈ 烯基是优选的。烯基基团可以被一或多个取代基任选取代，例如，

被 1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基取代。

“C₈₋₃₀ 炔基”是指具有 8 至 30 个碳原子、至少一个碳-碳叁键以及任选地一个或多个碳-碳双键的直链或支链烃基团。在一些实施方案中，C₁₀₋₂₂ 炔基、C₁₄₋₂₀ 炔基、C₁₆₋₁₈ 炔基是优选的。炔基基团可以被一或多个取代基任选取代，例如，被 1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基取代。

- 5 “C₀₋₁₀ 亚烷基”分别是指化学键或除去 C₁₋₁₀ 烷基的另一个氢而形成的二价基团，并且可以是取代或未取代的。在一些实施方案中，C₂₋₈ 亚烷基、C₃₋₇ 亚烷基、C₁₋₆ 亚烷基、C₄₋₆ 亚烷基、C₁₋₄ 亚烷基、C₂₋₄ 亚烷基和 C₁₋₃ 亚烷基是优选的。未取代的所述亚烷基包括但不限于：亚甲基(-CH₂-)、亚乙基(-CH₂CH₂-)、亚丙基(-CH₂CH₂CH₂-)、亚丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)、亚戊基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-)、亚己基(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-)，等等。示例性的取代的所述亚烷基，例如，被一个或多个烷基(甲基)
- 10 取代的所述亚烷基，包括但不限于：取代的亚甲基(-CH(CH₃)-、-C(CH₃)₂-)、取代的亚乙基(-CH(CH₃)CH₂-、-CH₂CH(CH₃)-、-C(CH₃)₂CH₂-、-CH₂C(CH₃)₂-)、取代的亚丙基(-CH(CH₃)CH₂CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂-、-CH₂CH₂CH(CH₃)-、-C(CH₃)₂CH₂CH₂-、-CH₂C(CH₃)₂CH₂-、-CH₂CH₂C(CH₃)₂-)，等等。

“卤代”或“卤素”是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)和碘(I)。

- 15 因此，“C₁₋₆ 卤代烷基”是指上述“C₁₋₆ 烷基”被一个或多个卤素基团取代。在一些实施方案中，C₁₋₄ 卤代烷基是特别优选的，更优选 C₁₋₂ 卤代烷基。示例性的所述卤代烷基包括但不限于：-CF₃、-CH₂F、-CHF₂、-CHFCH₂F、-CH₂CHF₂、-CF₂CF₃、-CCl₃、-CH₂Cl、-CHCl₂、2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基，等等。卤代烷基基团可以在任何可用的连接点上被取代，例如，1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基。

- 20 术语“疏水性基团”广义上是指对脂质具有亲和力的任何化学基团。表征疏水性基团的疏水性的一种方式是通过辛醇-水分配系数 logK_{ow}，其中 K_{ow} 为二相系统在平衡时化学物质在辛醇相中的浓度与其在水相中的浓度的比率。通常，疏水性部分的 logK_{ow} 超过 1、超过 1.5、超过 2、超过 3、超过 4、超过 5 或超过 10。具体到本发明，疏水性部分即为式 I 化合物中的 R 基团。

本文定义的烷基、烯基和炔基等为任选取代的基团。

- 25 示例性的碳原子上的取代基包括但不限于：卤素、-CN、-NO₂、-N₃、-SO₂H、-SO₃H、-OH、-OR^{aa}、-ON(R^{bb})₂、-N(R^{bb})₂、-N(R^{bb})₃⁺X⁻、-N(OR^{cc})R^{bb}、-SH、-SR^{aa}、-SSR^{cc}、-C(=O)R^{aa}、-CO₂H、-CHO、-C(OR^{cc})₂、-CO₂R^{aa}、-OC(=O)R^{aa}、-OCO₂R^{aa}、-C(=O)N(R^{bb})₂、-OC(=O)N(R^{bb})₂、-NR^{bb}C(=O)R^{aa}、-NR^{bb}CO₂R^{aa}、-NR^{bb}C(=O)N(R^{bb})₂、-C(=NR^{bb})R^{aa}、-C(=NR^{bb})OR^{aa}、-OC(=NR^{bb})R^{aa}、-OC(=NR^{bb})OR^{aa}、-C(=NR^{bb})N(R^{bb})₂、-OC(=NR^{bb})N(R^{bb})₂、-NR^{bb}C(=NR^{bb})N(R^{bb})₂、-C(=O)NR^{bb}SO₂R^{aa}、-NR^{bb}SO₂R^{aa}、-SO₂N(R^{bb})₂、-SO₂R^{aa}、-SO₂OR^{aa}、-OSO₂R^{aa}、-S(=O)R^{aa}、-OS(=O)R^{aa}、-Si(R^{aa})₃、-OSi(R^{aa})₃、-C(=S)N(R^{bb})₂、-C(=O)SR^{aa}、-C(=S)SR^{aa}、-SC(=S)SR^{aa}、-SC(=O)SR^{aa}、-OC(=O)SR^{aa}、-SC(=O)OR^{aa}、-SC(=O)R^{aa}、-P(=O)₂R^{aa}、-OP(=O)₂R^{aa}、-P(=O)(R^{aa})₂、-OP(=O)(R^{aa})₂、-OP(=O)(OR^{cc})₂、-P(=O)₂N(R^{bb})₂、-OP(=O)₂N(R^{bb})₂、-P(=O)(NR^{bb})₂、-OP(=O)(NR^{bb})₂、-NR^{bb}P(=O)(OR^{cc})₂、-NR^{bb}P(=O)(NR^{bb})₂、-P(R^{cc})₂、-P(R^{cc})₃、-OP(R^{cc})₂、-OP(R^{cc})₃、-B(R^{aa})₂、-B(OR^{cc})₂、-BR^{aa}(OR^{cc})、烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基
- 30 和杂芳基，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{dd} 基团取代；

或者在碳原子上的两个偕氢被基团=O、=S、=NN(R^{bb})₂、=NNR^{bb}C(=O)R^{aa}、=NNR^{bb}C(=O)OR^{aa}、=NNR^{bb}S(=O)₂R^{aa}、=NR^{bb}或=NOR^{cc}取代；

- 40 R^{aa} 的每个独立地选自烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，或者两个 R^{aa} 基团结合以形成杂环基或杂芳基环，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和

杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{dd} 基团取代；

R^{bb} 的每个独立地选自：氢、-OH、-OR^{aa}、-N(R^{cc})₂、-CN、-C(=O)R^{aa}、-C(=O)N(R^{cc})₂、-CO₂R^{aa}、-SO₂R^{aa}、-C(=NR^{cc})OR^{aa}、-C(=NR^{cc})N(R^{cc})₂、-SO₂N(R^{cc})₂、-SO₂R^{cc}、-SO₂OR^{cc}、-SOR^{aa}、-C(=S)N(R^{cc})₂、-C(=O)SR^{cc}、-C(=S)SR^{cc}、-P(=O)₂R^{aa}、-P(=O)(R^{aa})₂、-P(=O)₂N(R^{cc})₂、-P(=O)(NR^{cc})₂、烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，或者两个 R^{bb} 基团结合以形成杂环基或杂芳基环，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{dd} 基团取代；

R^{cc} 的每个独立地选自氢、烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，或者两个 R^{cc} 基团结合以形成杂环基或杂芳基环，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{dd} 基团取代；

R^{dd} 的每个独立地选自：卤素、-CN、-NO₂、-N₃、-SO₂H、-SO₃H、-OH、-OR^{cc}、-ON(R^{ff})₂、-N(R^{ff})₂、-N(R^{ff})₃⁺X⁻、-N(OR^{cc})R^{ff}、-SH、-SR^{cc}、-SSR^{cc}、-C(=O)R^{cc}、-CO₂H、-CO₂R^{cc}、-OC(=O)R^{cc}、-OCO₂R^{cc}、-C(=O)N(R^{ff})₂、-OC(=O)N(R^{ff})₂、-NR^{ff}C(=O)R^{cc}、-NR^{ff}CO₂R^{cc}、-NR^{ff}C(=O)N(R^{ff})₂、-C(=NR^{ff})OR^{cc}、-OC(=NR^{ff})R^{cc}、-OC(=NR^{ff})OR^{cc}、-C(=NR^{ff})N(R^{ff})₂、-OC(=NR^{ff})N(R^{ff})₂、-NR^{ff}C(=NR^{ff})N(R^{ff})₂、-NR^{ff}SO₂R^{cc}、-SO₂N(R^{ff})₂、-SO₂R^{cc}、-SO₂OR^{cc}、-OSO₂R^{cc}、-S(=O)R^{cc}、-Si(R^{cc})₃、-OSi(R^{cc})₃、-C(=S)N(R^{ff})₂、-C(=O)SR^{cc}、-C(=S)SR^{cc}、-SC(=S)SR^{cc}、-P(=O)₂R^{cc}、-P(=O)(R^{cc})₂、-OP(=O)(R^{cc})₂、-OP(=O)(OR^{cc})₂、烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{ee} 基团取代，或者两个偕 R^{dd} 取代基可结合以形成=O 或=S；

R^{cc} 的每个独立地选自烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂环基和杂芳基，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{ee} 基团取代；

R^{ff} 的每个独立地选自氢、烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，或者两个 R^{ff} 基团结合形成杂环基或杂芳基环，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{ee} 基团取代；

R^{ee} 的每个独立地是：卤素、-CN、-NO₂、-N₃、-SO₂H、-SO₃H、-OH、-OC₁₋₆ 烷基、-ON(C₁₋₆ 烷基)₂、-N(C₁₋₆ 烷基)₂、-N(C₁₋₆ 烷基)₃⁺X⁻、-NH(C₁₋₆ 烷基)₂⁺X⁻、-NH₂(C₁₋₆ 烷基)⁺X⁻、-NH₃⁺X⁻、-N(OC₁₋₆ 烷基)(C₁₋₆ 烷基)、-N(OH)(C₁₋₆ 烷基)、-NH(OH)、-SH、-SC₁₋₆ 烷基、-SS(C₁₋₆ 烷基)、-C(=O)(C₁₋₆ 烷基)、-CO₂H、-CO₂(C₁₋₆ 烷基)、-OC(=O)(C₁₋₆ 烷基)、-OCO₂(C₁₋₆ 烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)N(C₁₋₆ 烷基)₂、-OC(=O)NH(C₁₋₆ 烷基)、-NHC(=O)(C₁₋₆ 烷基)、-N(C₁₋₆ 烷基)C(=O)(C₁₋₆ 烷基)、-NHCO₂(C₁₋₆ 烷基)、-NHC(=O)N(C₁₋₆ 烷基)₂、-NHC(=O)NH(C₁₋₆ 烷基)、-NHC(=O)NH₂、-C(=NH)O(C₁₋₆ 烷基)、-OC(=NH)(C₁₋₆ 烷基)、-OC(=NH)OC₁₋₆ 烷基、-C(=NH)N(C₁₋₆ 烷基)₂、-C(=NH)NH(C₁₋₆ 烷基)、-C(=NH)NH₂、-OC(=NH)N(C₁₋₆ 烷基)₂、-OC(NH)NH(C₁₋₆ 烷基)、-OC(NH)NH₂、-NHC(NH)N(C₁₋₆ 烷基)₂、-NHC(=NH)NH₂、-NHCO₂(C₁₋₆ 烷基)、-SO₂N(C₁₋₆ 烷基)₂、-SO₂NH(C₁₋₆ 烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂C₁₋₆ 烷基、-SO₂OC₁₋₆ 烷基、-OSO₂C₁₋₆ 烷基、-SOC₁₋₆ 烷基、-Si(C₁₋₆ 烷基)₃、-OSi(C₁₋₆ 烷基)₃、-C(=S)N(C₁₋₆ 烷基)₂、C(=S)NH(C₁₋₆ 烷基)、C(=S)NH₂、-C(=O)S(C₁₋₆ 烷基)、-C(=S)SC₁₋₆ 烷基、-SC(=S)SC₁₋₆ 烷基、-P(=O)₂(C₁₋₆ 烷基)、-P(=O)(C₁₋₆ 烷基)₂、-OP(=O)(C₁₋₆ 烷基)₂、-OP(=O)(OC₁₋₆ 烷基)₂、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 卤代烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、C₃-C₇ 环烷基、C₆-C₁₀ 芳基、C₃-C₇ 杂环基、C₅-C₁₀ 杂芳基；或者两个偕 R^{ee} 取代基可结合形成=O 或=S；其中，X⁻为反离子。

示例性的氮原子上取代基包括但不限于：氢、-OH、-OR^{aa}、-N(R^{cc})₂、-CN、-C(=O)R^{aa}、

-C(=O)N(R^{cc})₂、-CO₂R^{aa}、-SO₂R^{aa}、-C(=NR^{bb})R^{aa}、-C(=NR^{cc})OR^{aa}、-C(=NR^{cc})N(R^{cc})₂、-SO₂N(R^{cc})₂、-SO₂R^{cc}、
-SO₂OR^{cc}、-SOR^{aa}、-C(=S)N(R^{cc})₂、-C(=O)SR^{cc}、-C(=S)SR^{cc}、-P(=O)₂R^{aa}、-P(=O)(R^{aa})₂、-P(=O)₂N(R^{cc})₂、
-P(=O)(NR^{cc})₂、烷基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，或者连接至氮原子的
5 两个 R^{cc} 基团结合形成杂环基或杂芳基环，其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基
和杂芳基独立地被 0、1、2、3、4 或 5 个 R^{dd} 基团取代，且其中 R^{aa}、R^{bb}、R^{cc} 和 R^{dd} 如上所述。

其他定义

本文术语“siRNA”是一类双链 RNA 分子，其可以介导与其互补的靶 RNA (例如 mRNA，例如，
编码蛋白质的基因的转录物)的沉默。siRNA 通常是双链的，包括与靶 RNA 互补的反义链，和与该反
10 义链互补的正义链。为方便起见，这样的 mRNA 在此也被称为有待被沉默的 mRNA。这样的基因也
称为靶基因。通常，有待被沉默的 RNA 是内源基因或病原体基因。另外，除了 mRNA 以外的 RNA (例
如 tRNA)以及病毒 RNA 也可以被靶向。

术语“反义寡核苷酸”即 ASO (Antisense Oligonucleotides)，是一段由 15-25 个核苷酸组成的靶基
因配对的单链 DNA 或 RNA 序列，它通过特异性阻断靶基因的转录或者翻译过程，达到基因调控的
15 目的。

术语“反义链”是指 siRNA 的这样一条链，所述链包含与靶序列完全、充分或基本互补的区域。术
语“正义链”是指 siRNA 的这样一条链，所述链包括与作为在此定义的术语反义链的区域完全、充分或
基本互补的区域。

术语“互补区域”是指反义链上与靶 mRNA 序列完全、充分或基本互补的区域。在互补区域与靶
20 序列不完全互补的情况下，错配可以位于分子的内部或末端区域中。通常，最耐受的错配位于末端区
域中，例如，在 5'和/或 3'端的 5、4、3、2 或 1 个核苷酸内。对错配最敏感的反义链部分被称为“种子
子区”。例如，在包含 19nt 的链的 siRNA 中，第 19 个位置(从 5'向 3')可以耐受一些错配。

术语“互补”是指第一多核苷酸在某些条件例如严格条件下与第二多核苷酸杂交的能力。例如，严
格条件可包括 400mM NaCl、40mM PIPES pH 6.4、1mM EDTA 在 50°C或 70°C下持续 12-16 小时。就
25 满足以上相对于它们杂交的能力而言的要求来说，“互补”序列还可以包括或完全形成自非沃森-克里克
碱基对和/或从非天然的以及经修饰的核苷酸形成的碱基对。此类非沃森-克里克碱基对包括但不限于
G:U 摇摆碱基配对或 Hoogstein 碱基配对。

与信使 RNA(mRNA)的“至少部分互补”、“充分互补”或“基本上互补”的多核苷酸是指与感兴趣的
mRNA 的连续部分基本互补的多核苷酸。例如，如果序列与编码 PCSK9 的 mRNA 的非中断部分基本
30 上互补，则多核苷酸与 PCSK9 mRNA 的至少部分互补。在此的术语“互补”、“完全互补”、“充分互补”
和“基本上互补”可以相对于 siRNA 的正义链与反义链之间，或 siRNA 试剂的反义链与靶序列之间的
碱基配对使用。

“充分互补”是指为了维持分子的整体双链特征，正义链仅需要与反义链互补的程度。换言之，虽
然通常需要完美的互补性，但在一些情况下，特别是在反义链中，可以包括一个或多个，例如 6 个、
35 5 个、4 个、3 个、2 个或 1 个的错配(相对于靶标 mRNA)，但是正义链与反义链仍可以维持分子的整体
双链特征。

“核苷”是由嘌呤碱或嘧啶碱、以及核糖或脱氧核糖两种物质组成的化合物，“核苷酸”则是由嘌呤
碱或嘧啶碱、核糖或脱氧核糖以及磷酸三种物质组成的化合物，“寡核苷酸”是指例如具有少于 100、
200、300 或 400 个核苷酸长度的核酸分子(RNA 或 DNA)。

“碱基”是合成核苷、核苷酸和核酸的基本组成单位，其组成元素中含有氮，也称“含氮碱基”。本

文中，如无特别说明，大写字母 A、U、T、G 和 C 表示核苷酸的碱基组成，分别为腺嘌呤、尿嘧啶、胸腺嘧啶、鸟嘌呤和胞嘧啶。

本文中所述核苷酸的“修饰”包括但不限于甲氧基修饰、氟代修饰、硫代磷酸酯基连接或常规保护基保护等。例如，所述氟代修饰的核苷酸指核苷酸的核糖基 2' 位的羟基被氟取代形成的核苷酸，所述甲氧基修饰的核苷酸指核糖基的 2'-羟基被甲氧基取代而形成的核苷酸。

本文中“修饰的核苷酸”包括但不限于 2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、肌苷核糖核苷酸、脱碱基核苷酸、反向无碱基脱氧核糖核苷酸、包含硫代磷酸酯基团的核苷酸、乙烯基磷酸酯修饰的核苷酸、锁核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-烷基-修饰的核苷酸、吗啉代核苷酸、氨基磷酸酯、包含核苷酸的非天然碱基、以及连接到胆固醇基衍生物或十二烷酸二癸酰胺基团上的末端核苷酸、脱氧核糖核苷酸或常规保护基保护等。例如，所述 2'-氟代修饰的核苷酸指核苷酸的核糖基 2' 位的羟基被氟取代形成的核苷酸。所述 2'-脱氧-修饰的核苷酸指核糖基的 2'-羟基被甲氧基取代而形成的核苷酸。

“反应性磷基团”是指包含在核苷酸单元中或核苷酸类似物单元中的含磷基团，其可以通过亲核攻击反应，与包含在另一个分子中、尤其是另一个核苷酸单元中或另一个核苷酸类似物中的羟基或胺基反应。通常，这样的反应产生将所述第一核苷酸单元或所述第一核苷酸类似物单元与第二核苷酸单元或第二核苷酸类似物单元连接的酯型核苷间键。反应性磷基团可选自亚磷酸酯、H-磷酸酯、烷基-磷酸酯、磷酸酯或磷酸酯模拟物，包括但不限于：天然磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯、硼烷硫代磷酸酯、膦酸酯、卤素取代的膦酸酯和磷酸酯、氨基磷酸酯、磷酸二酯、磷酸三酯、硫代磷酸二酯、硫代磷酸三酯、二磷酸酯和三磷酸酯，优选 $\text{-P}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})(\text{N}(\text{iPr})_2)$ 。

“保护基”是指被添加到分子中以防止分子中现有基团进行不期望的化学反应的任何原子或原子团。“保护基”可为本领域已知的不稳定的化学部分，其用于保护反应性基团，例如羟基、氨基和硫醇基团，以防止在化学合成过程中发生不期望的或不合时宜的反应。保护基通常在其它反应性位点的反应期间选择性地和/或正交地用于保护位点，然后可以被去除以留下未受保护的基团保持原样或可用于进一步的反应。

保护基团的非限制性列表包括苄基；取代的苄基；烷基羰基和烷氧基羰基(例如，叔丁氧基羰基(BOC)、乙酰基或异丁酰基)；芳基烷基羰基和芳基烷氧基羰基(例如，苄基氧基羰基)；取代的甲基醚(例如甲氧基甲基醚)；取代的乙醚；取代的苄基醚；四氢吡喃基醚；甲硅烷基(例如，三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、三-异丙基甲硅烷基氧基甲基、[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲基或叔丁基二苯基甲硅烷基)；酯类(例如苯甲酸酯)；碳酸酯类(例如碳酸甲氧基甲基酯)；磺酸酯类(例如甲苯磺酸酯或甲磺酸酯)；非环缩酮(例如二甲基乙缩醛)；环缩酮(例如，1,3-二噁烷、1,3-二氧戊环以及本文所述的那些)；非环乙缩醛；环乙缩醛(例如，本文所述的那些)；非环半缩醛；环半缩醛；环二硫缩酮(例如，1,3-二噻烷或 1,3-二硫戊环)；原酸酯(例如，本文所述的那些)以及三芳基甲基基团(例如，三苯甲基；单甲氧基三苯甲基(MMTr)；4,4'-二甲氧基三苯甲基(DMTr)；4,4',4''-三甲氧基三苯甲基(TMTr)；以及本文所述的那些)。优选的保护基团选自乙酰基(Ac)、苯甲酰基(Bzl)、苄基(Bn)、异丁酰基(iBu)、苄基乙酰基、苄基氧基甲基乙缩醛(BOM)、 β -甲氧基乙氧基甲基醚(MEM)、甲氧基甲基醚(MOM)、对-甲氧基苄基醚(PMB)、甲基硫代甲基醚、新戊酰基(Piv)、四氢吡喃基(THP)、三苯基甲基(Trt)、甲氧基三苯甲基[(4-甲氧基苄基)二苯基甲基](MMT)、二甲氧基三苯甲基、[双-(4-甲氧基苄基)苄基甲基(DMT)、三甲基甲硅烷基醚(TMS)、叔丁基二甲基甲硅烷基醚(TBDMS)、三-异-丙基甲硅烷基氧基甲基醚(TOM)、三-异丙基甲硅烷基醚(TIPS)、甲基醚、乙氧基乙醚(EE)N,N-二甲基甲脒和 2-氟基乙基(CE)。

“羟基保护基”是指能够避免羟基遭受化学反应，又可以在特定条件下脱除以恢复羟基的基团。主要包括硅烷型保护基、酰基型保护基或醚型保护基，优选以下：

三甲基硅基(TMS)、三乙基硅基(TES)、二甲基异丙基硅基(DMIPS)、二乙基异丙基硅基(DEIPS)、叔丁基二甲基硅基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅基(TBDPS)、三异丙基硅基(TIPS)、乙酰基(Ac)、氯乙酰基、二氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基(TFA)、苯甲酰基、对甲氧基苯甲酰基、9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)、烯丙氧羰基(Alloc)、2,2,2-三氯乙氧羰基(Troc)、苄氧羰基(Cbz)、叔丁氧羰基(Boc)、苯甲基(Bn)、对甲氧基苄基(PMB)、烯丙基、三苯基甲基(Tr)、双对甲氧基三苯甲基(DMTr)、甲氧基甲基(MOM)、苯氧基甲基(BOM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲硫基甲基(MTM)、对甲氧基苄氧基甲基(PMBM)、-C(O)CH₂CH₂C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基，优选 -C(O)CH₂CH₂C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基，更优选-C(O)CH₂CH₂C(O)OH。

本文所用的术语“药学上可接受的盐”表示本发明化合物的那些羧酸盐、氨基酸加成盐，它们在可靠的医学判断范围内适用于与患者组织接触，不会产生不恰当的毒性、刺激作用、变态反应等，与合理的益处/风险比相称，就它们的预期应用而言是有效的，包括(可能的话)本发明化合物的两性离子形式。

本发明包括互变异构体，其为分子中某一原子在两个位置迅速移动而产生的官能团异构体。在不同的互变异构形式存在的化合物，一个所述化合物并不局限于任何特定的互变异构体，而是旨在涵盖所有的互变异构形式。

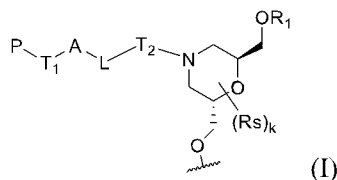
本发明化合物可包括一个或多个不对称中心，且因此可以存在多种立体异构体形式，例如，对映异构体和/或非对映异构体形式。例如，本发明化合物可为单独的对映异构体、非对映异构体或几何异构体(例如顺式和反式异构体)，或者可为立体异构体的混合物的形式，包括外消旋体混合物和富含一种或多种立体异构体的混合物。异构体可通过本领域技术人员已知的方法从混合物中分离，所述方法包括：手性高压液相色谱法(HPLC)以及手性盐的形成和结晶；或者优选的异构体可通过不对称合成来制备。

本发明还包括同位素标记的化合物(同位素变体)，它们等同于式(I)所述的那些，但一个或多个原子被原子质量或质量数不同于自然界常见的原子质量或质量数的原子所代替。可以引入本发明化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟和氯的同位素，分别例如 ²H、³H、¹³C、¹¹C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F 和 ³⁶Cl。含有上述同位素和/或其它原子的其它同位素的本发明化合物、其前体药物和所述化合物或所述前体药物的药学上可接受的盐都属于本发明的范围。某些同位素标记的本发明化合物、例如引入放射性同位素(例如 ³H 和 ¹⁴C)的那些可用于药物和/或底物组织分布测定。氚、即 ³H 和 碳-14、即 ¹⁴C 同位素是特别优选的，因为它们容易制备和检测。进而，被更重的同位素取代，例如氘、即 ²H，由于代谢稳定性更高可以提供治疗上的益处，例如延长体内半衰期或减少剂量需求，因而在有些情况下可能是优选的。同位素标记的本发明式(I)化合物及其前体药物一般可以这样制备，在进行下述流程和/或实施例与制备例所公开的工艺时，用容易得到的同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂。

本发明化合物

本发明具体涉及一种寡核苷酸，其包含一个或多个式(I)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体：

8



其中,

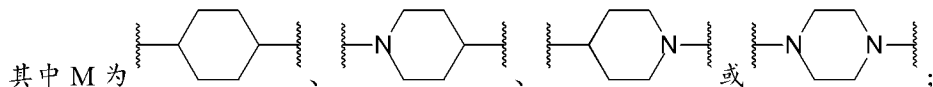
表示 H, 或表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

R_1 表示 H, 或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

5 和 R_1 不同时为 H;

P 为疏水基团, 优选为 C_{8-30} 烷基、 C_{8-30} 烯基或 C_{8-30} 炔基, 其中所述基团中不相邻的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个碳原子可以被选自 O、S 和 N 的杂原子替换, 或者 $-CH_2CH_2-$ 基团可以被 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-NHC(O)-$ 或 $-C(O)NH-$ 替换, 或者一个或多个碳原子上的取代基可以连接成饱和或不饱和环; 所述 C_{8-30} 烷基、 C_{8-30} 烯基或 C_{8-30} 炔基任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代;

T_1 选自化学键、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-O-、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-C(O)-、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-OC(O)-或 $-C_{0-10}$ 亚烷基-M-;



A 为基于肽的连接基团, 所述基于肽的连接基团在内涵体或溶酶体中可被切割;

15 L 选自 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-C(O)-$ 或 $-C(O)O-$;

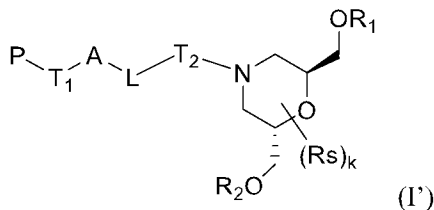
T_2 选自化学键、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-O- C_{0-10} 亚烷基-、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-C(O)- C_{0-10} 亚烷基-、 $-C_{0-10}$ 亚烷基-OC(O)- C_{0-10} 亚烷基-或 $-C_{0-10}$ 亚烷基-C(O)O- C_{0-10} 亚烷基-; 所述 T_2 任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代;

R 选自 H、D、卤素、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 卤代烷基, 其任选地被氘代, 直至完全氘代;

20 R_s 选自 H、D、卤素、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 卤代烷基, 其任选地被氘代, 直至完全氘代;

k 选自 0、1、2、3、4、5 或 6。

本发明具体涉及式(I')化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



25 其中, R_1 和 R_2 独立地选自 H、反应性磷基团、羟基保护基或固相载体;

P、 T_1 、A、L、 T_2 、 R_s 和 k 如前述所定义。

本发明具体涉及一种双链 RNA, 其具有正义链和反义链, 各链具有 14 至 30 个核苷酸, 所述反义链包含与所述正义链和靶标 mRNA 充分互补的序列, 其中所述正义链和/或反义链包含一个或多个如本文所述式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。



在一个实施方案中，表示 H；在另一个实施方案中，表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置。

R₁ 和 R₂

在一个实施方案中，R₁ 表示 H；在另一个实施方案中，R₁ 表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置。

在一个实施方案中，R₁ 为 H；在另一个实施方案中，R₁ 选自反应性磷基团，优选亚磷酰胺、H-膦酸酯、烷基-膦酸酯、磷酸酯或磷酸酯模拟物，例如天然磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯、硼烷硫代磷酸酯、膦酸酯、卤素取代的膦酸酯和磷酸酯、氨基磷酸酯、磷酸二酯、磷酸三酯、硫代磷酸二酯、硫代磷酸三酯、二磷酸酯或三磷酸酯，优选-P(OCH₂CH₂CN)(N(iPr)₂)；在另一个实施方案中，R₁ 选自羟基保护基，例如三甲基硅基(TMS)、三乙基硅基(TES)、二甲基异丙基硅基(DMIPS)、二乙基异丙基硅基(DEIPS)、叔丁基二甲基硅基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅基(TBDPS)、三异丙基硅基(TIPS)、乙酰基(Ac)、氯乙酰基、二氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基(TFA)、苯甲酰基、对甲氧基苯甲酰基、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、烯丙氧羰基(Alloc)、2,2,2-三氯乙氧羰基(Troc)、苄氧羰基(Cbz)、叔丁氧羰基(Boc)、苯甲基(Bn)、对甲氧基苄基(PMB)、烯丙基、三苯基甲基(Tr)、双对甲氧基三苯基甲基(DMTr)、甲氧基甲基(MOM)、苯氧基甲基(BOM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲硫基甲基(MTM)、对甲氧基苄氧基甲基(PMBM)、-C(O)CH₂CH₂C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯基甲基，优选 DMTr；在另一个实施方案中，R₁ 为固相载体。

在一个实施方案中，R₂ 为 H；在另一个实施方案中，R₂ 选自反应性磷基团，优选亚磷酰胺、H-膦酸酯、烷基-膦酸酯、磷酸酯或磷酸酯模拟物，例如天然磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯、硼烷硫代磷酸酯、膦酸酯、卤素取代的膦酸酯和磷酸酯、氨基磷酸酯、磷酸二酯、磷酸三酯、硫代磷酸二酯、硫代磷酸三酯、二磷酸酯或三磷酸酯，优选-P(OCH₂CH₂CN)(N(iPr)₂)；在另一个实施方案中，R₂ 选自羟基保护基，例如三甲基硅基(TMS)、三乙基硅基(TES)、二甲基异丙基硅基(DMIPS)、二乙基异丙基硅基(DEIPS)、叔丁基二甲基硅基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅基(TBDPS)、三异丙基硅基(TIPS)、乙酰基(Ac)、氯乙酰基、二氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基(TFA)、苯甲酰基、对甲氧基苯甲酰基、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、烯丙氧羰基(Alloc)、2,2,2-三氯乙氧羰基(Troc)、苄氧羰基(Cbz)、叔丁氧羰基(Boc)、苯甲基(Bn)、对甲氧基苄基(PMB)、烯丙基、三苯基甲基(Tr)、双对甲氧基三苯基甲基(DMTr)、甲氧基甲基(MOM)、苯氧基甲基(BOM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲硫基甲基(MTM)、对甲氧基苄氧基甲基(PMBM)、-C(O)CH₂CH₂C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯基甲基，优选 DMTr；在另一个实施方案中，R₁ 为固相载体。

P

在一个实施方案中，P 为疏水性基团；在另一个实施方案中，P 为 C₈₋₃₀ 烷基，例如 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基；在另一个实施方案中，P 为 C₁₀₋₂₂ 烷基；在另一个实施方案中，P 为 C₁₀₋₂₂ 烯基。

在一个实施方案中，P 中不相邻的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个碳原子可以被选自 O、S 和 N 的杂原子替换，或者-CH₂CH₂-基团可以被-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-或-C(O)NH-替换，或者一个或多个碳原子上的取代基可以连接成饱和或不饱和环。

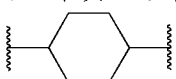
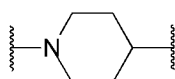
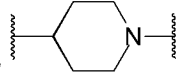
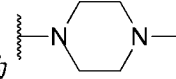
在一个实施方案中，P 未被取代；在另一个实施方案中，P 被 1 个 R 取代；在另一个实施方案中，P 被 2 个 R 取代；在另一个实施方案中，P 被 3 个 R 取代；在另一个实施方案中，P 被 4 个 R 取代；

在另一个实施方案中，P 被 5 个 R 取代；在另一个实施方案中，P 被 6 个 R 取代；在另一个实施方案中，P 被 7 个 R 取代；在另一个实施方案中，P 被 8 个 R 取代；在另一个实施方案中，P 被更多个 R 取代。

5 在一个具体的实施方案中，P 为 $-(CH_2)_{14-20}-CH_3$ ，例如 $-(CH_2)_{14}-CH_3$ 、 $-(CH_2)_{15}-CH_3$ 、 $-(CH_2)_{16}-CH_3$ 、 $-(CH_2)_{17}-CH_3$ 、 $-(CH_2)_{18}-CH_3$ 、 $-(CH_2)_{19}-CH_3$ 或 $-(CH_2)_{20}-CH_3$ ，优选为 $-(CH_2)_{14}-CH_3$ 或 $-(CH_2)_{16}-CH_3$ 。

T_1

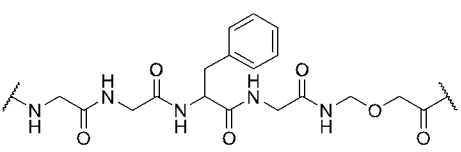
10 在一个实施方案中， T_1 为化学键；在另一个实施方案中， T_1 为 $-C_{0-10}$ 亚烷基-；在另一个实施方案中， T_1 为 $-C_{0-6}$ 亚烷基-，例如 $-(CH_2)_{1-6}-$ 、 $-(CH_2)_{1-4}-$ 或 $-CH_2-$ ；在另一个实施方案中， T_1 为 $-C_{0-10}$ 亚烷基-O-；在另一个实施方案中， T_1 为 $-C_{0-10}$ 亚烷基- $C(O)-$ ，例如 $-C(O)-$ ；在另一个实施方案中， T_1 为 $-C_{0-10}$ 亚烷基- $OC(O)-$ ，例如 $-OC(O)-$ ；在另一个实施方案中， T_1 为 $-C_{0-10}$ 亚烷基-M-。

在一个实施方案中，M 为 ；在另一个实施方案中，M 为 ；在另一个实施方案中，M 为 ；在另一个实施方案中，M 为 .

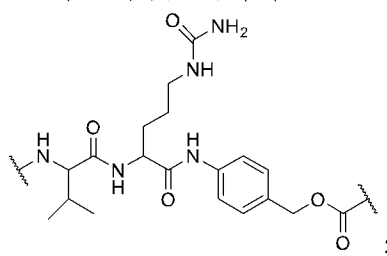
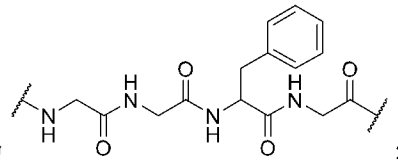
15

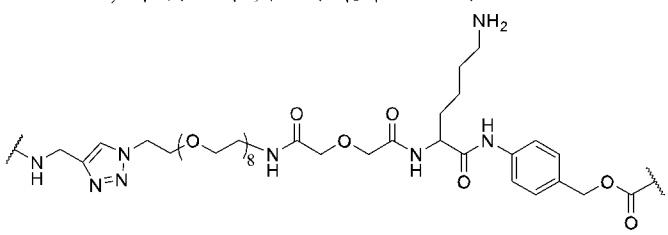
A

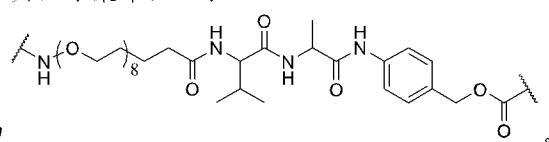
在一个实施方案中，A 为基于肽的连接基团；在另一个实施方案中，A 为基于肽的连接基团，其在内含体或溶酶体中可被切割；在另一个实施方案中，A 包含多肽，例如三肽、四肽或五肽，优选为四肽。

在一个实施方案中，A 为 ；在另一个实施方案中，A 为

20

；在另一个实施方案中，A 为 ；在另

一个实施方案中，A 为 ；在另一个实施方案中，

A 为 .

L

25 在一个实施方案中，L 为 $-NH-$ ；在另一个实施方案中，L 为 $-O-$ ；在另一个实施方案中，L 为 $-CH_2-$ ；在另一个实施方案中，L 为 $-C(O)-$ ；在另一个实施方案中，L 为 $-C(O)O-$ 。

T₂

在一个实施方案中，T₂ 为化学键；在另一个实施方案中，T₂ 为 -C₀₋₁₀ 亚烷基-，例如 -(CH₂)_z-；在另一个实施方案中，T₂ 为 -C₀₋₁₀ 亚烷基-O-C₀₋₁₀ 亚烷基-，例如 -(CH₂)_z-O-；在另一个实施方案中，T₂ 为 -C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)-C₀₋₁₀ 亚烷基-，例如 -(CH₂)_zC(O)-；在另一个实施方案中，T₂ 为 -C₀₋₁₀ 亚烷基-OC(O)-C₀₋₁₀ 亚烷基-，例如 -(CH₂)_zOC(O)-；在另一个实施方案中，T₂ 为 -C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)O-C₀₋₁₀ 亚烷基-，例如 -(CH₂)_zC(O)O-。

在一个实施方案中，T₂ 未被取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 1 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 2 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 3 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 4 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 5 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 6 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 7 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被 8 个 R 取代；在另一个实施方案中，T₂ 被更多个 R 取代。

在一个实施方案中，z 选自 0、1、2、3、4、5 或 6。

R

在一个实施方案中，R 为 H；在另一个实施方案中，R 为 D；在另一个实施方案中，R 为卤素；在另一个实施方案中，R 为 C₁₋₆ 烷基；在另一个实施方案中，R 为 C₁₋₄ 烷基；在另一个实施方案中，R 为 C₁₋₆ 卤代烷基；在另一个实施方案中，R 任选地被氘代，直至完全氘代。

R_s

在一个实施方案中，R_s 为 H；在另一个实施方案中，R_s 为 D；在另一个实施方案中，R_s 为卤素；在另一个实施方案中，R_s 为 C₁₋₆ 烷基；在另一个实施方案中，R_s 为 C₁₋₆ 卤代烷基；在另一个实施方案中，R_s 任选地被氘代，直至完全氘代。

在一个具体的实施方案中，R_s 为 H。

k

在一个实施方案中，k 选自 0、1、2、3、4、5 或 6。

以上任一具体实施方案中的任一技术方案或其任意组合，可以与其它具体实施方案中的任一技术方案或其任意组合进行组合。例如，A 的任一技术方案或其任意组合，可以与 、P、R₁、R₂、L、T₁、T₂、R、R_s、R_s' 和 k 等的任一技术方案或其任意组合进行组合。本发明旨在包括所有这些技术方案的组合，限于篇幅，不再一一列出。

本发明还提供了载体，其包含编码本发明所述的 siRNA 的核苷酸序列。本发明的载体能够扩增或表达与其连接的编码本发明所述的 siRNA 的核苷酸。

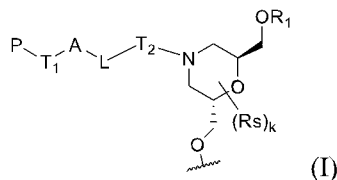
例如，靶向 PCSK9 基因的 siRNA 可以从插入 DNA 或 RNA 载体中的转录单位表达。表达可以是短暂的(数小时至数星期内)或持续的(数星期至数月或更久)，取决于所使用的特定建构体及靶组织或细胞类型。可以将 siRNA 的编码核苷酸引入线性建构体、环状质体或病毒载体中。siRNA 的核苷酸可以被整合到细胞基因组中稳定表达，或者在染色体外稳定遗传而表达。一般来说，siRNA 表达载体通常是 DNA 质粒或病毒载体。

包含 siRNA 的编码序列的病毒载体系统包括但不限于：(a)腺病毒载体；(b)逆转录病毒载体；(c)腺伴随病毒载体；(d)单纯疱疹病毒载体；(e)SV40 载体；(f)多瘤病毒载体；(g)乳头瘤病毒载体；(h)微小核糖核酸病毒载体；(i)痘病毒载体；以及(j)辅助病毒依赖性腺病毒或无肠腺病毒。

本发明还提供了细胞，其含有本发明所述的 siRNA 或载体，其中本发明所述的 siRNA 或载体能够 5 在细胞中转录。

本发明具体涉及以下技术方案：

1. 寡核苷酸，其包含一个或多个式(I)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体：



其中，

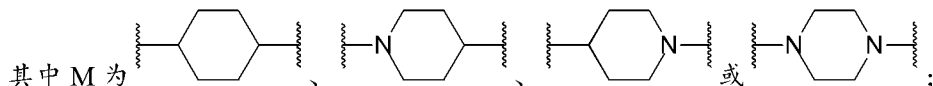
表示 H，或表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

R₁ 表示 H，或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

和 R₁ 不同时为 H；

15 P 为疏水基团，优选为 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基，其中所述基团中不相邻的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个碳原子可以被选自 O、S 和 N 的杂原子替换，或者 -CH₂CH₂- 基团可以被 -OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-或 -C(O)NH- 替换，或者一个或多个碳原子上的取代基可以连接成饱和或不饱和环；所述 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代；

20 T₁ 选自化学键、-C₀₋₁₀ 亚烷基-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-O-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-OC(O)-或 -C₀₋₁₀ 亚烷基-M-；



A 为基于肽的连接基团，所述基于肽的连接基团在内含体或溶酶体中可被切割；

L 选自 -NH-、-O-、-CH₂-、-C(O)-或 -C(O)O-；

25 T₂ 为化学键、-C₀₋₁₀ 亚烷基-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-O-C₀₋₁₀ 亚烷基-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)-C₀₋₁₀ 亚烷基-或 -C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)O-C₀₋₁₀ 亚烷基-；所述 T₂ 任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代；

R 选自 H、D、卤素、C₁₋₆ 烷基或 C₁₋₆ 卤代烷基，其任选地被氘代，直至完全氘代；

R_s 选自 H、D、卤素、C₁₋₆ 烷基或 C₁₋₆ 卤代烷基，其任选地被氘代，直至完全氘代；

30 k 选自 0、1、2、3、4、5 或 6。

2. 技术方案 1 的寡核苷酸，其中，

表示 H，或表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

R₁ 表示 H，或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

和 R₁ 不同时为 H；

P 为疏水基团，优选为 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基；所述 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基

任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代；

R 选自 H、D、卤素、C₁₋₆ 烷基或 C₁₋₆ 卤代烷基；

T₁ 选自 -OC(O)-、-C(O)-或 -(CH₂)₁₋₆-；

A 为基于肽的连接基团，所述基于肽的连接基团在内含体或溶酶体中可被切割，其中包含多肽，

5 例如三肽、四肽或五肽，优选为四肽；

L 选自 -NH-、-O-或 -C(O)O-；

T₂ 为化学键、-(CH₂)_z-、-(CH₂)_z-O-、-(CH₂)_zC(O)-、-(CH₂)_zOC(O)-或 -(CH₂)_zC(O)O-；

z 选自 0、1、2、3、4、5 或 6，优选为 5；

Rs 选自 H、C₁₋₆ 烷基或 C₁₋₆ 卤代烷基；

10 k 选自 0、1、2、3、4、5 或 6。

3. 技术方案 1 或 2 的寡核苷酸，其中，

 表示 H，或表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

R₁ 表示 H，或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

15  和 R₁ 不同时为 H；

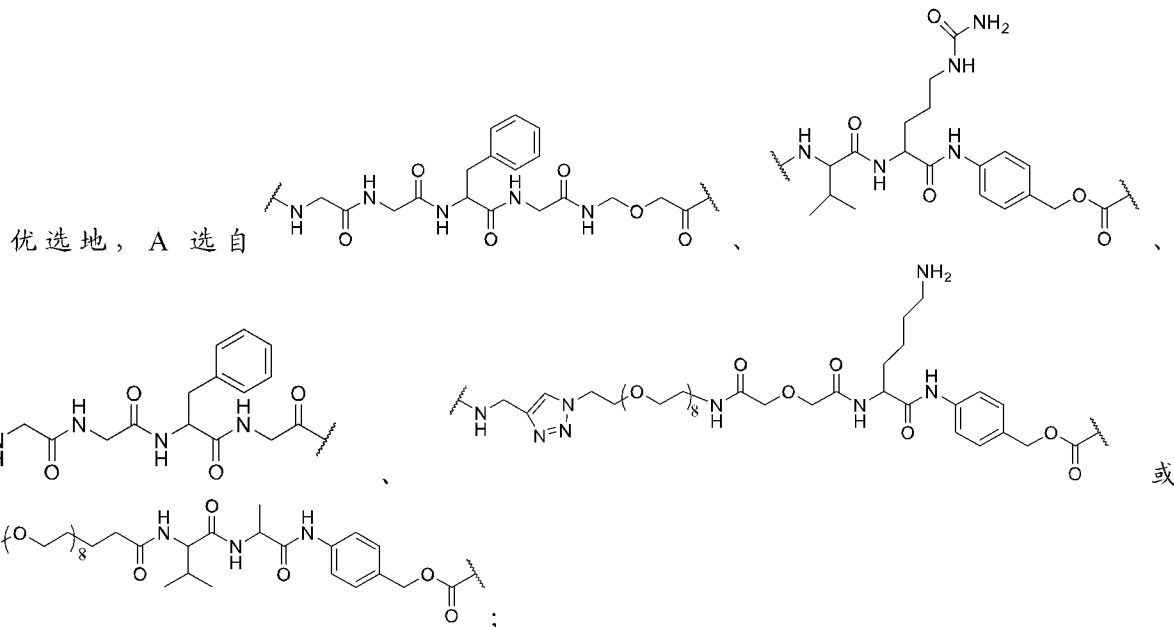
P 选自 C₁₀₋₂₂ 烷基或 C₁₀₋₂₂ 烯基；所述 C₁₀₋₂₂ 烷基和 C₁₀₋₂₂ 烯基任选地被 1 个、2 个或 3 个 R 取代；

R 选自 H、卤素或 C₁₋₄ 烷基；

T₁ 选自 -OC(O)-、-C(O)-或 -(CH₂)₁₋₄-；

A 为基于肽的连接基团，所述基于肽的连接基团在内含体或溶酶体中可被切割，其中包含多肽，

20 例如三肽、四肽或五肽，优选为四肽；



L 选自 -NH-、-O-或 -C(O)O-；

25 T₂ 选自 -(CH₂)_z-、-(CH₂)_z-C(O)-或 -(CH₂)_z-O-；

z 选自 0、1、2、3、4、5 或 6，优选为 5；

Rs 选自 H 或 C₁₋₄ 烷基；

k 选自 0、1、2、3、4、5 或 6。

30 4. 技术方案 1-3 中任一项的寡核苷酸，其中，

 表示 H, 或表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

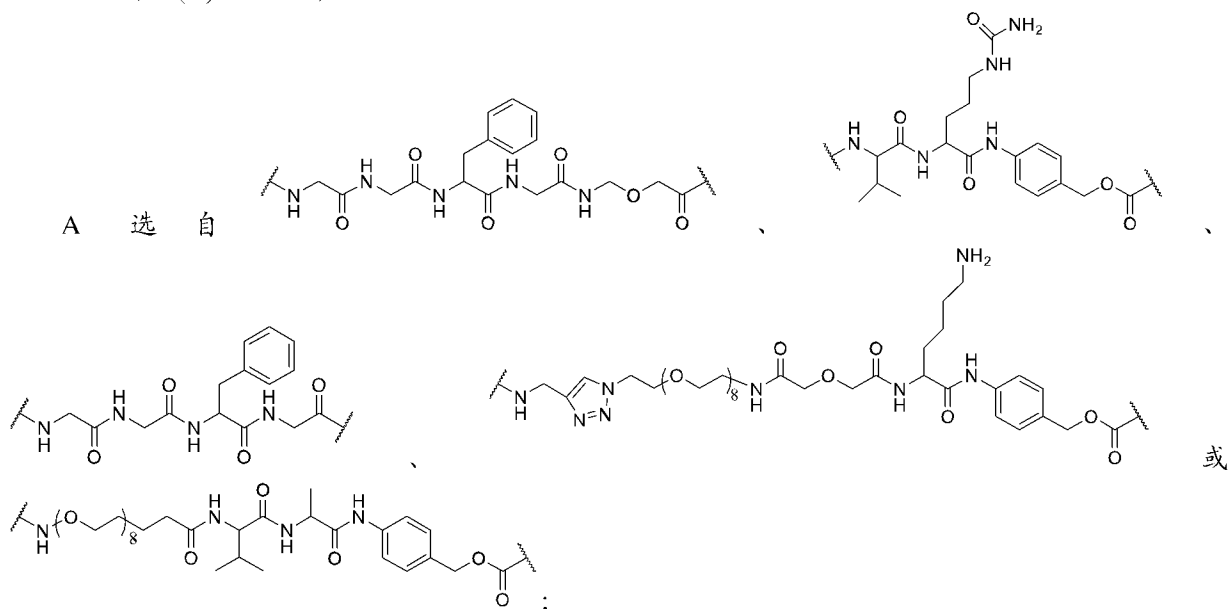
R_1 表示 H, 或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

 和 R_1 不同时为 H;

P 为 $-(CH_2)_{14-20}-CH_3$, 例如 $-(CH_2)_{14}-CH_3$ 或 $-(CH_2)_{16}-CH_3$;

5 T_1 选自 $-C(O)-$ 或 $-CH_2-$;

A 选自



L 为 $-NH-$;

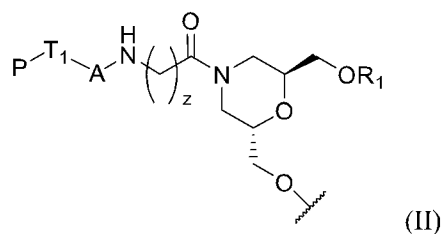
10 T_2 为 $-(CH_2)_zC(O)-$;

z 选自 0、1、2、3、4 或 5, 优选为 5;

R_s 为 H;

k 为 6。

15 5. 技术方案 1-4 中任一项的寡核苷酸, 其中, 式(I)化合物选自式(II)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:

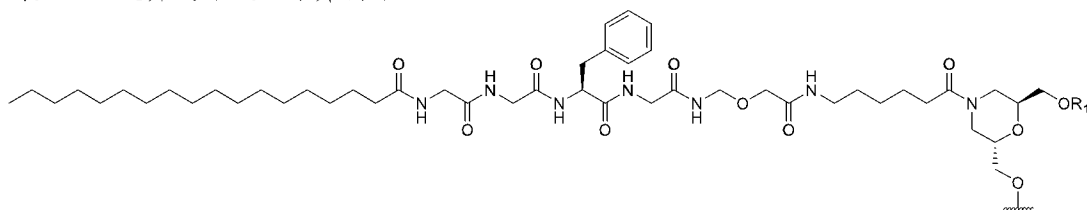


其中,

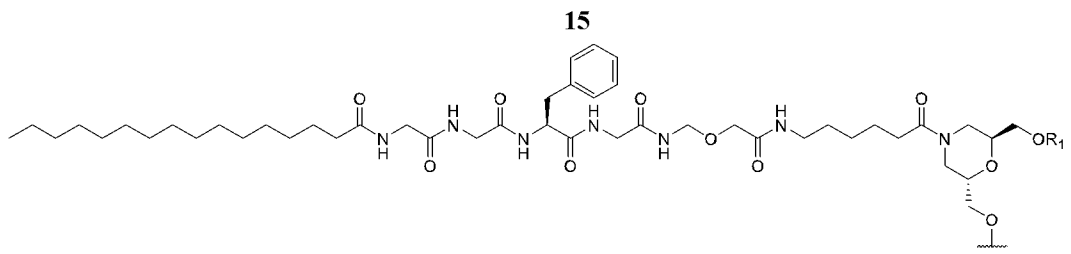
各变量如技术方案 1-4 中任一项所定义。

20

6. 技术方案 1-5 中任一项的寡核苷酸, 其中, 式(I)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



或



其中, 表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

R_1 为 H, 或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置。

7. 技术方案 1-6 中任一项的寡核苷酸, 其具有 14 至 30 个核苷酸。

5 8. 技术方案 1-7 中任一项的寡核苷酸, 其在 5'端包含一个技术方案 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

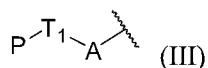
9. 技术方案 1-8 中任一项的寡核苷酸, 其在 3'端包含一个技术方案 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

10 10. 技术方案 1-9 中任一项的寡核苷酸, 其在 5'端和 3'端分别包含一个技术方案 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

11. 技术方案 1-10 中任一项的寡核苷酸, 其在寡核苷酸内部包含一个或多个技术方案 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

12. 寡核苷酸, 其在寡核苷酸内部、5'端和/或 3'端包含一个、两个或多个递送载体, 所述递送载体为被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团;

15 优选地, 所述被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团选自式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



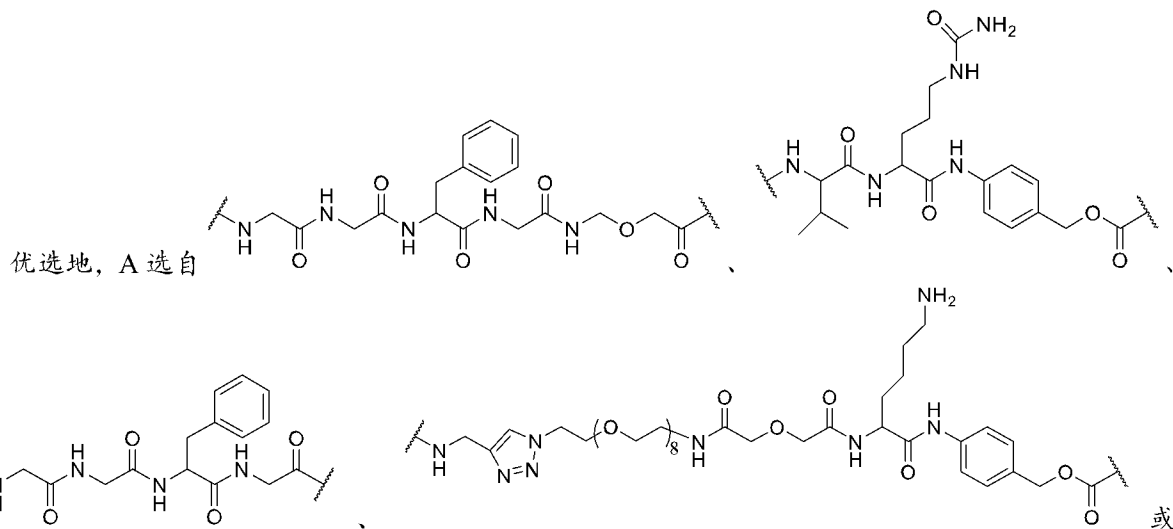
其中, 表示与寡核苷酸的连接位置;

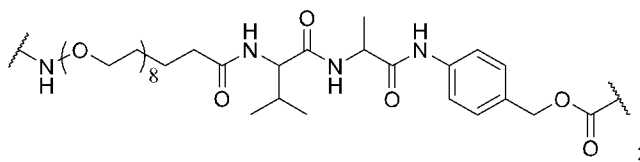
P 为疏水性基团;

20 A 为基于肽的连接基团;

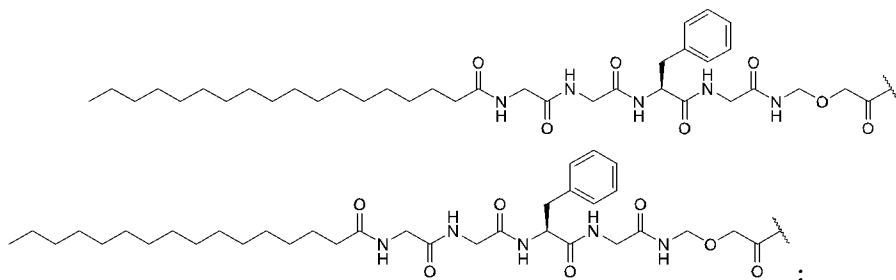
P 通过 T_1 或直接与 A 相连;

优选地, P、 T_1 和 A 如技术方案 1-4 中任一项所定义;

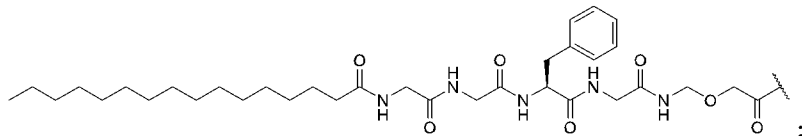




更优选地, 所述式(III)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



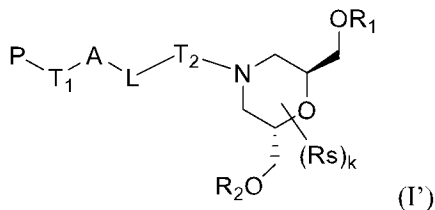
或



其中, 表示与寡核苷酸的连接位置。

13. 技术方案 1-12 中任一项的寡核苷酸, 所述寡核苷酸是 ASO 或 siRNA, 优选用于抑制在肝外表达的基因, 更优选用于抑制在眼部表达的基因。

14. 式(I')化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中, R_1 和 R_2 独立地选自 H、反应性磷基团、羟基保护基或固相载体;

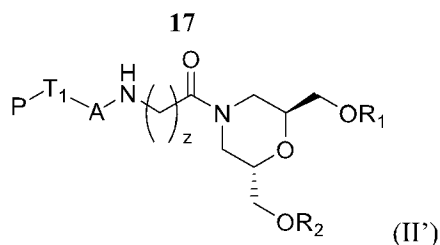
P、 T_1 、A、L、 T_2 、Rs 和 k 如技术方案 1-4 所定义。

15. 技术方案 14 的化合物, 其中, R_1 和 R_2 为 H。

16. 技术方案 14 或 15 的化合物, 其中, R_1 和 R_2 选自反应性磷基团, 优选亚磷酰胺、H-磷酸酯、烷基-磷酸酯、磷酸酯或磷酸酯模拟物, 例如天然磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯、硼烷硫代磷酸酯、磷酸酯、卤素取代的磷酸酯和磷酸酯、氨基磷酸酯、磷酸二酯、磷酸三酯、硫代磷酸二酯、硫代磷酸三酯、二磷酸酯或三磷酸酯, 优选-P(OCH₂CH₂CN)(N(iPr)₂)。

17. 技术方案 14-16 中任一项的化合物, 其中, R_1 和 R_2 选自保护基, 优选羟基保护基, 例如三甲基硅基(TMS)、三乙基硅基(TES)、二甲基异丙基硅基(DMIPS)、二乙基异丙基硅基(DEIPS)、叔丁基二甲基硅基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅基(TBDPS)、三异丙基硅基(TIPS)、乙酰基(Ac)、氯乙酰基、二氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基(TFA)、苯甲酰基、对甲氧基苯甲酰基、9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)、烯丙氧基羰基(Alloc)、2,2,2-三氯乙氧基羰基(Troc)、苄氧基羰基(Cbz)、叔丁氧基羰基(Boc)、苯甲基(Bn)、对甲氧基苄基(PMB)、烯丙基、三苯基甲基(Tr)、双对甲氧基三苯甲基(DMTr)、甲氧基甲基(MOM)、苯氧基甲基(BOM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲硫基甲基(MTM)、对甲氧基苄氧基甲基(PMBM)、-C(O)CH₂CH₂C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基, 优选 DMTr。

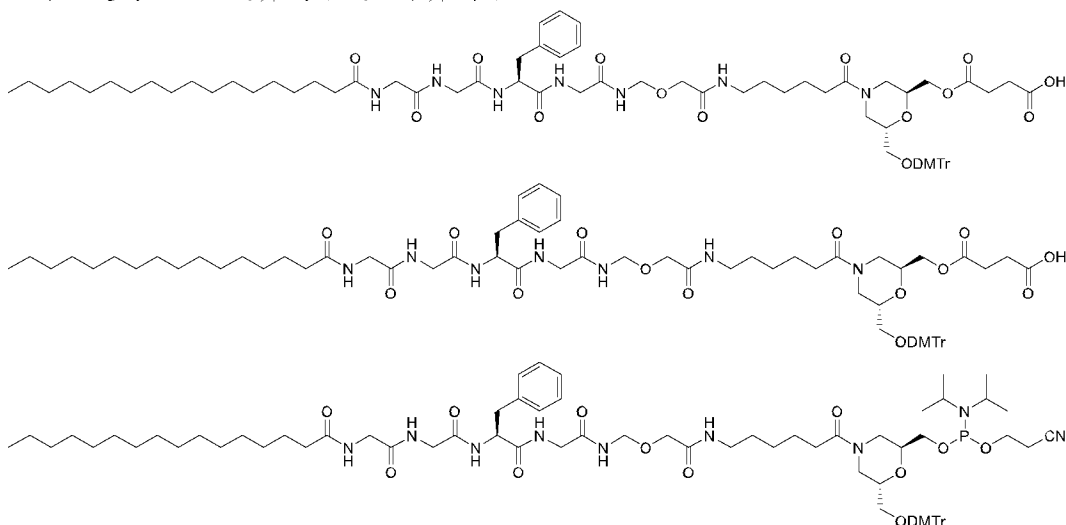
18. 技术方案 14-17 中任一项的化合物, 其中所述式(I')化合物选自式(II')化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



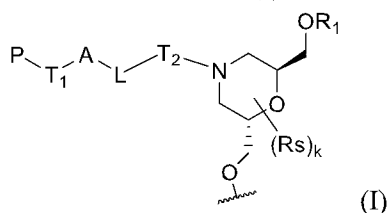
其中,

各变量如技术方案 14-17 中任一项所定义。

19. 技术方案 14-18 中任一项的化合物, 其中所述式(I')或(II')化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



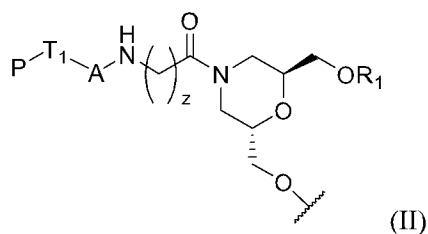
10 20. 双链 RNA, 其具有正义链和反义链, 各链具有 14 至 30 个核苷酸, 所述反义链包含与所述正义链和靶标 mRNA 充分互补的序列, 其中所述正义链和/或反义链包含一个或多个如技术方案 1-6 中任一项所述式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中, 各变量如技术方案 1-4 中任一项所定义。

15

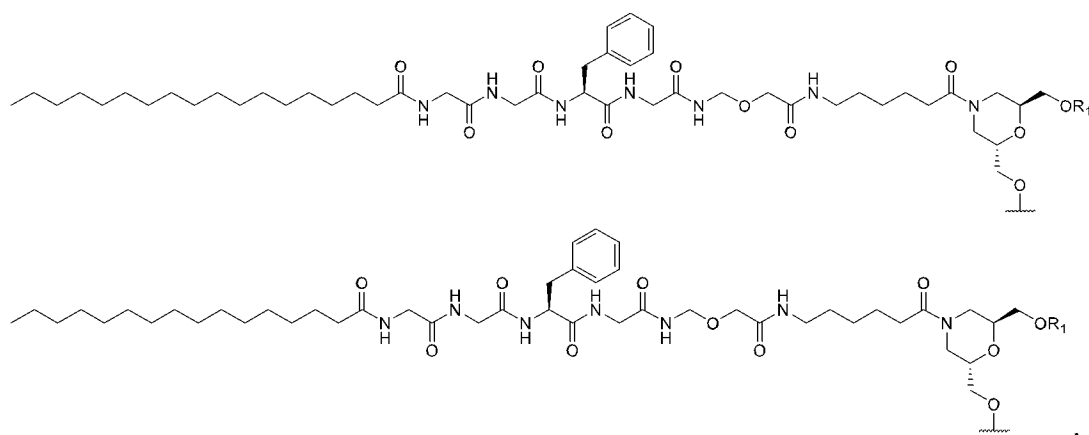
21. 技术方案 20 的双链 RNA, 其中所述式(I)化合物选自式(II)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中, 各变量如技术方案 1-4 中任一项所定义;

20 优选地, 所述式(I)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:

18



或

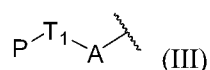
其中, 表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

R₁ 为 H, 或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置。

5

22. 双链 RNA, 其具有正义链和反义链, 各链具有 14 至 30 个核苷酸, 所述反义链包含与所述正义链和靶标 mRNA 充分互补的序列, 其中所述正义链和/或反义链在内部、5'端和/或 3'端包含一个、两个或多个递送载体, 所述递送载体为被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团;

优选地, 所述被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团选自式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中, 表示与双链 RNA 的连接位置;

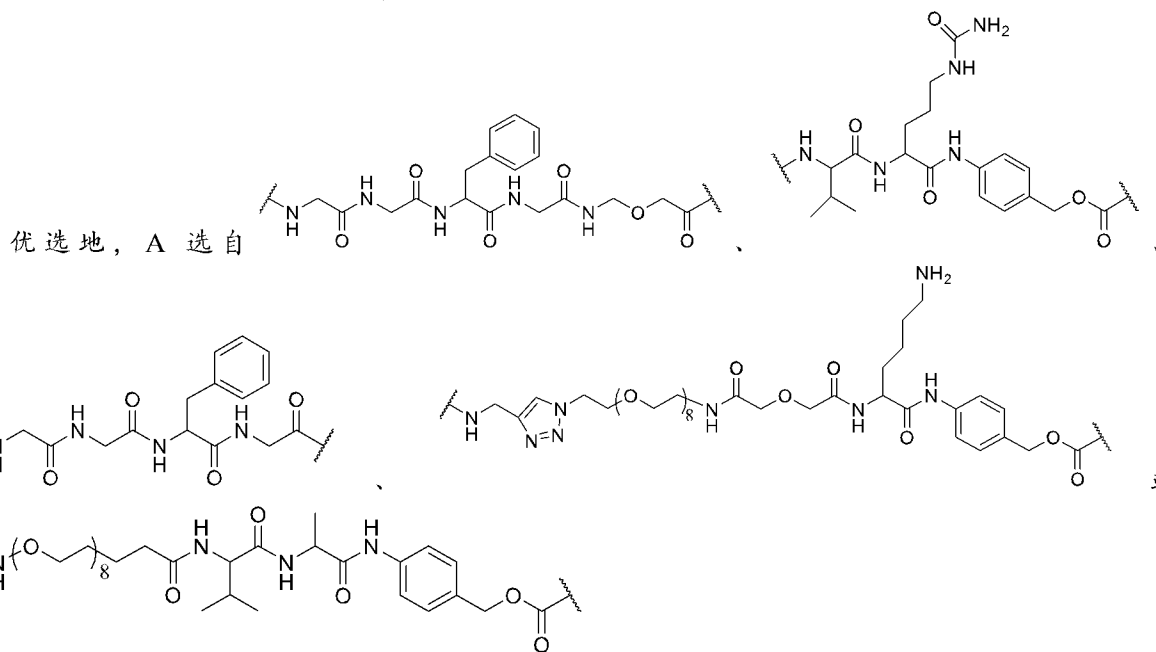
P 为疏水性基团;

A 为基于肽的连接基团;

P 通过 T₁ 或直接与 A 相连;

优选地, P、T₁ 和 A 如技术方案 1-4 中任一项所定义;

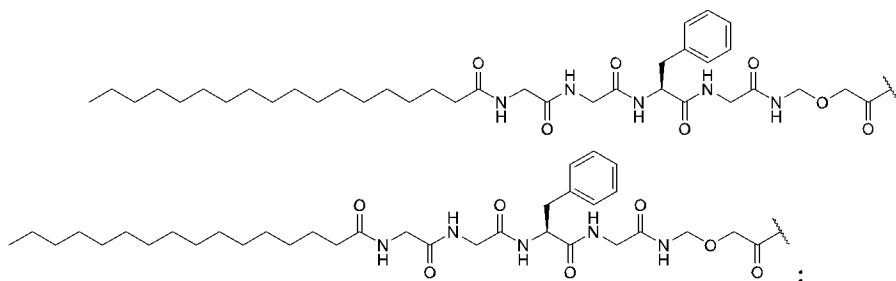
15



或

20

23. 技术方案 22 的双链 RNA, 所述式(III)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



或

其中，表示与双链 RNA 的连接位置。

24. 技术方案 20-23 中任一项的双链 RNA，其中所述正义链在 5'端包含一个技术方案 1-7 中任一项所述式(I)或技术方案 12 所述式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

25. 技术方案 20-24 中任一项的双链 RNA，其中所述正义链在 3'端包含一个技术方案 1-7 中任一项所述式(I)或技术方案 12 所述式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

26. 技术方案 20-25 中任一项的双链 RNA，其中所述正义链在 5'端和 3'端分别包含一个技术方案 1-7 中任一项所述式(I)或技术方案 12 所述式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

27. 技术方案 20-26 中任一项的双链 RNA，其中所述正义链在寡核苷酸内部包含一个或多个技术方案 1-7 中任一项所述式(II)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

28. 技术方案 20-27 中任一项的双链 RNA，其中所述反义链在 5'端包含一个技术方案 1-7 中任一项所述式(I)或技术方案 12 所述式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

29. 技术方案 20-28 中任一项的双链 RNA，其中所述反义链在 3'端包含一个技术方案 1-7 中任一项所述式(I)或技术方案 12 所述式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

30. 技术方案 20-29 中任一项的双链 RNA，其中所述反义链在 5'端和 3'端分别包含一个技术方案 1-7 中任一项所述式(I)或技术方案 12 所述式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

31. 技术方案 20-30 中任一项的双链 RNA，其中所述反义链在寡核苷酸内部包含一个或多个技术方案 1-7 中任一项所述式(I)或技术方案 12 所述式(III)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

32. 细胞，其含有如技术方案 20-31 中任一项所述的双链 RNA。

33. 药物组合物，其包含如技术方案 20-31 中任一项所述的双链 RNA、或如技术方案 32 所述的细胞，以及任选的药学上可接受的载剂或赋形剂。

34. 试剂盒，其包含如技术方案 20-31 中任一项所述的双链 RNA、或如技术方案 32 所述的细胞。

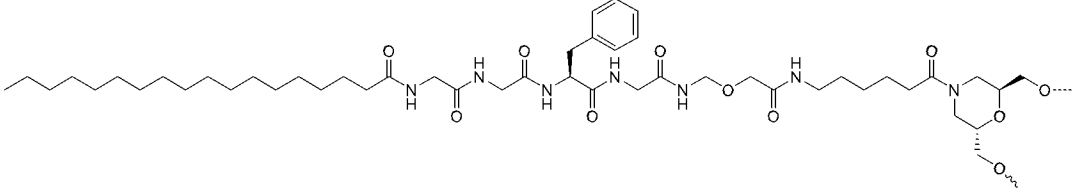
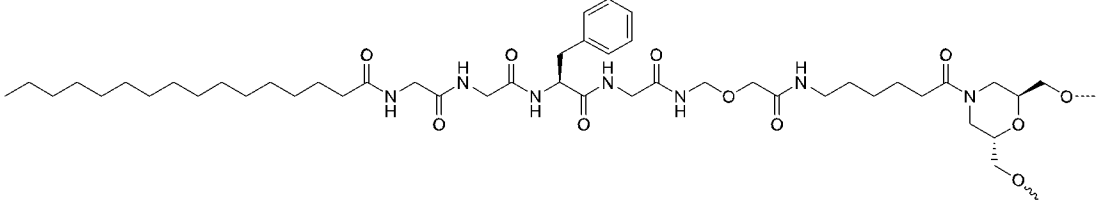
具体化合物列表

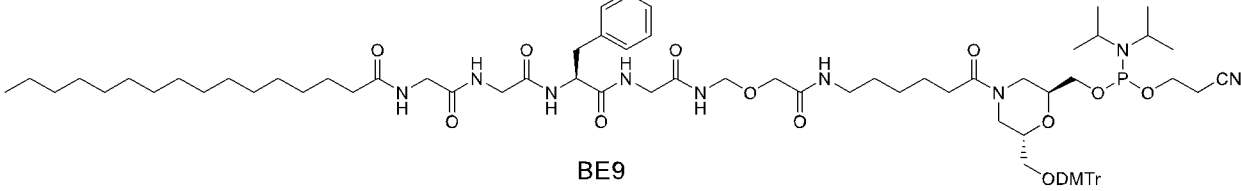
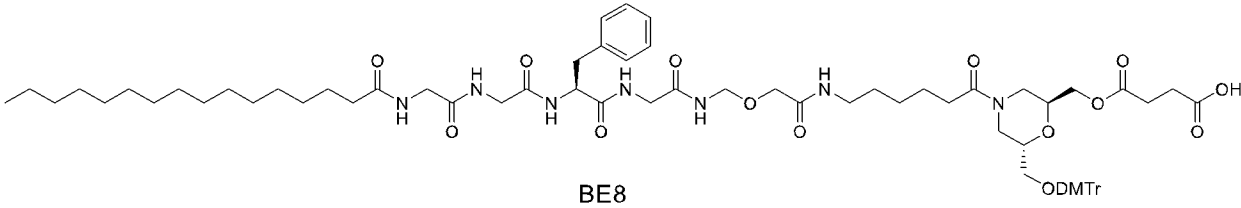
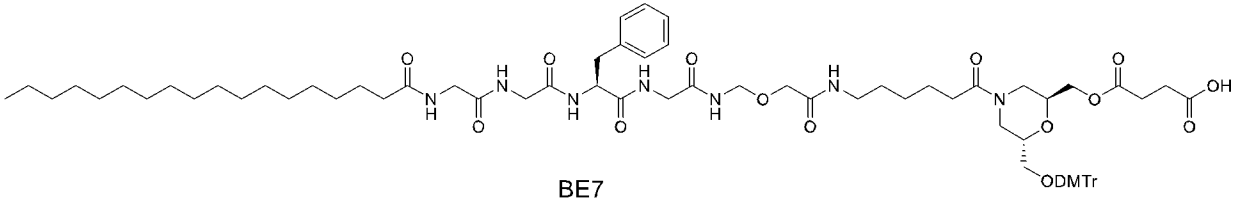
本发明化合物在寡核苷酸中的编号和结构如下，其中，以 5' → 3'的顺序从化合物的-----至~~~~连接。

具体而言，根据 5' → 3'的顺序，如相应结构位于核酸链中间位置，-----表示通过磷酸酯基团、硫代磷酸酯基团或其他连接基团连接至上一个核苷酸或核苷酸类似物的 3'碳或相应位置，~~~~表示通过磷酸酯基团、硫代磷酸酯基团或其他连接基团连接至下一个核苷酸或核苷酸类似物的 5'碳或相应位置；如相应结构位于核酸链末端位置，-----或~~~~相应地表示通过磷酸酯基团、硫代磷酸酯基团或其他连接基团连接至核酸链 3'或 5'末端。

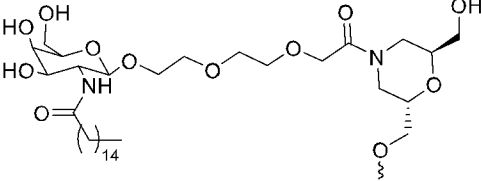
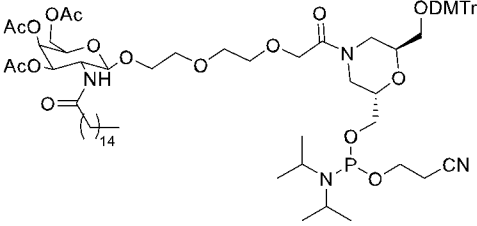
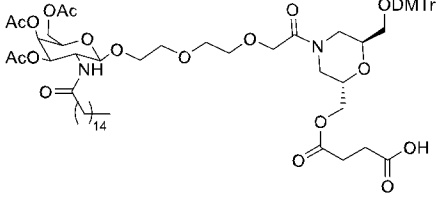
化合物编号和结构	中间体
----------	-----

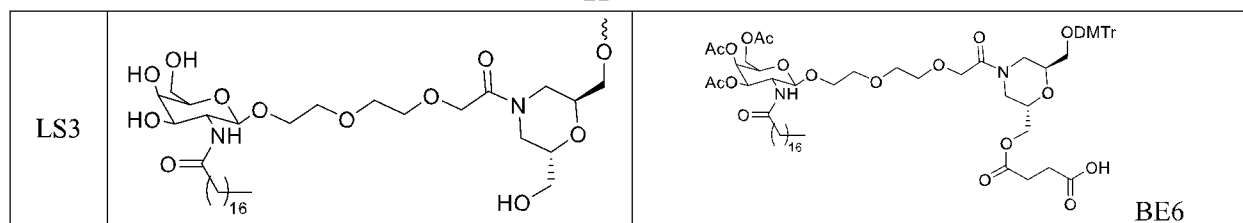
20

	BE7
	BE8 和 BE9



5

编号	结构	对应的中间体化合物
LS1		 



合成实施例

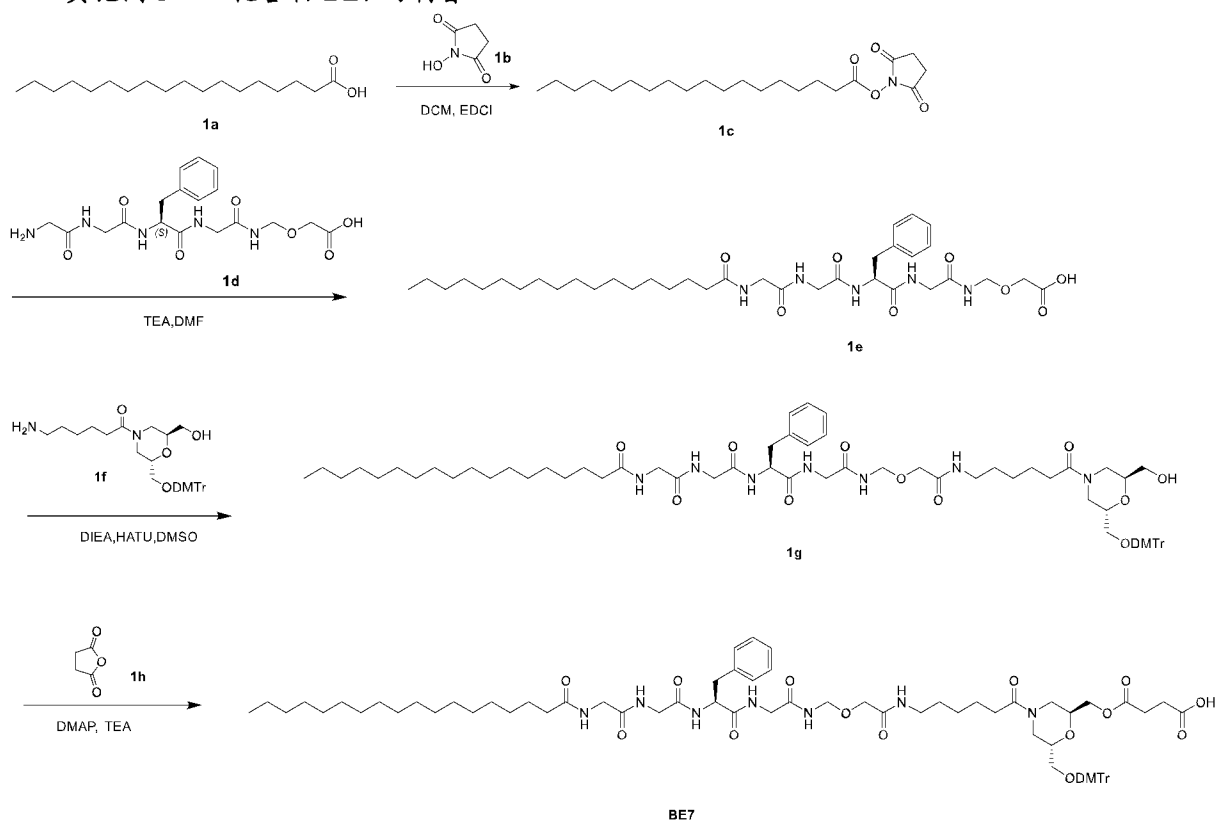
以下实施例用于例示本发明而非限制本发明的范围。

5

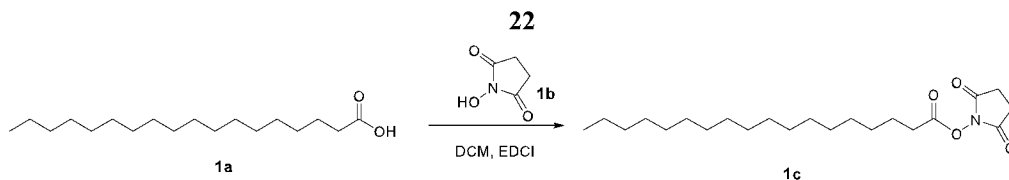
缩写

DCI	4,5-二氰基咪唑
DCM	二氯甲烷
DIEA	二异丙基乙胺
DMAP	4-二甲氨基吡啶
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲基亚砜
EDCI	1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐
HATU	2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐
TEA	三乙醇胺

实施例 1 化合物 BE7 的制备



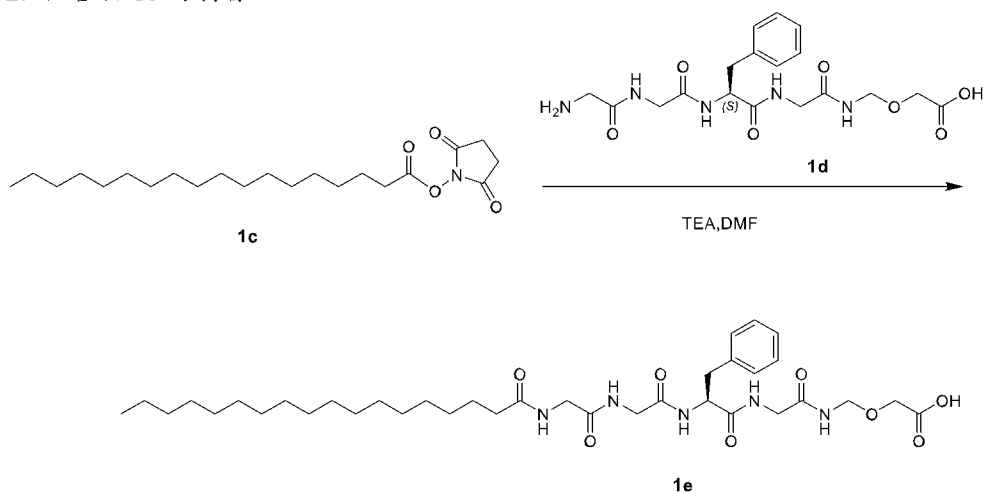
1. 化合物 1c 的制备



在 25°C 下将硬脂酸 1a (5.00 g, 17.6 mmol) 加入 DCM (100 mL) 中, 再依次加入化合物 1b (2.43 g, 21.1 mmol) 和 EDCI (4.04 g, 21.1 mmol), 反应液在 25°C 下搅拌 18 小时。反应完全后将反应液真空浓缩得到粗品。粗品进行正相硅胶柱 (洗脱液: 石油醚/ 乙酸乙酯) 纯化得到白色固体化合物 1c (5.00 g, 收率 74.56%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 2.77 - 2.91 (m, 4 H), 2.55 - 2.67 (m, 2 H), 1.69 - 1.82 (m, 2 H), 1.36 - 1.45 (m, 2 H), 1.22 - 1.35 (m, 26 H), 0.83 - 0.94 (m, 3 H).

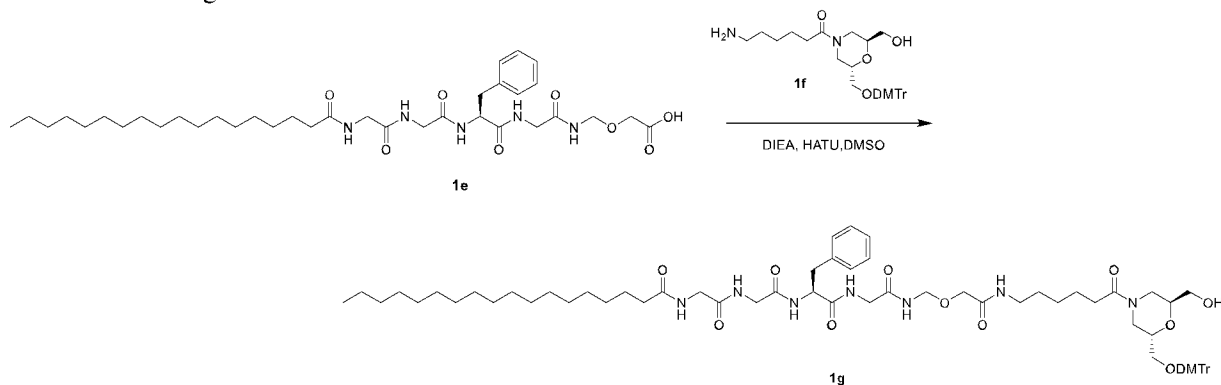
2. 化合物 1e 的制备



在 25°C 下将化合物 1d (500 mg, 1.18 mmol) 加入 DMF (10.0 mL) 中, 再依次加入化合物 1c (541 mg, 1.42 mmol) 和 TEA (0.657 mL, 4.723 mmol), 反应液在 25°C 下搅拌 18 小时。反应完全后将反应液慢慢滴入 100 mL 水中, 有白色固体析出, 过滤得到白色固体化合物 1e (280 mg, 收率 34.37%)。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.57 - 8.73 (m, 1 H), 8.08 - 8.36 (m, 4 H), 7.07 - 7.34 (m, 5 H), 4.57 - 4.67 (m, 2 H), 4.43 - 4.52 (m, 1 H), 3.87 - 4.01 (m, 2 H), 3.59 - 3.82 (m, 6 H), 3.03 - 3.10 (m, 1 H), 2.76 - 2.87 (m, 1 H), 2.03 - 2.20 (m, 2 H), 1.39 - 1.53 (m, 2 H), 1.08 - 1.32 (m, 29 H), 0.79 - 0.92 (m, 3 H).

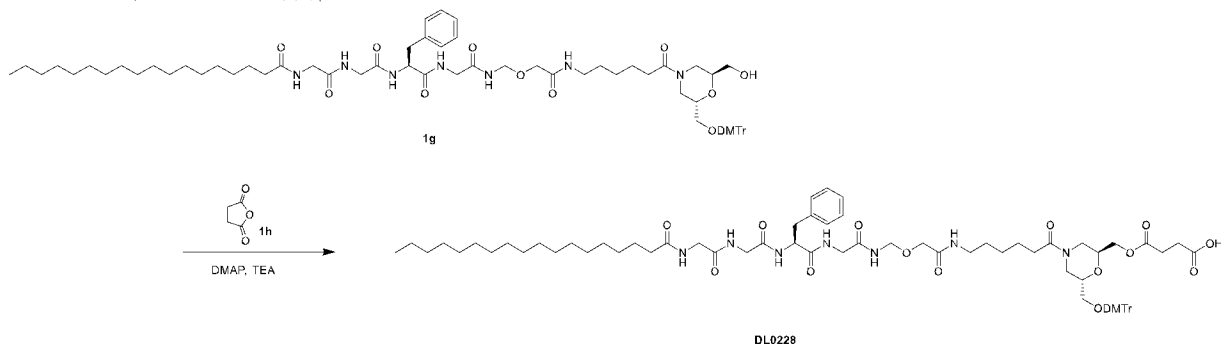
3. 化合物 1g 的制备



在 25°C 下将化合物 1e (200 mg, 0.290 mmol) 溶于 DMSO (5.00 mL), 再依次加入 DIEA (0.192 mL, 1.16 mmol)、HATU (121 mg, 0.319 mmol) 和化合物 1f (196 mg, 0.348 mmol), 反应液在 25°C 下搅拌 18 小时。反应完全后将反应液旋干得到黄色油状粗品化合物 1g (300 mg), 不经进一步纯化直接用于下一

步反应。

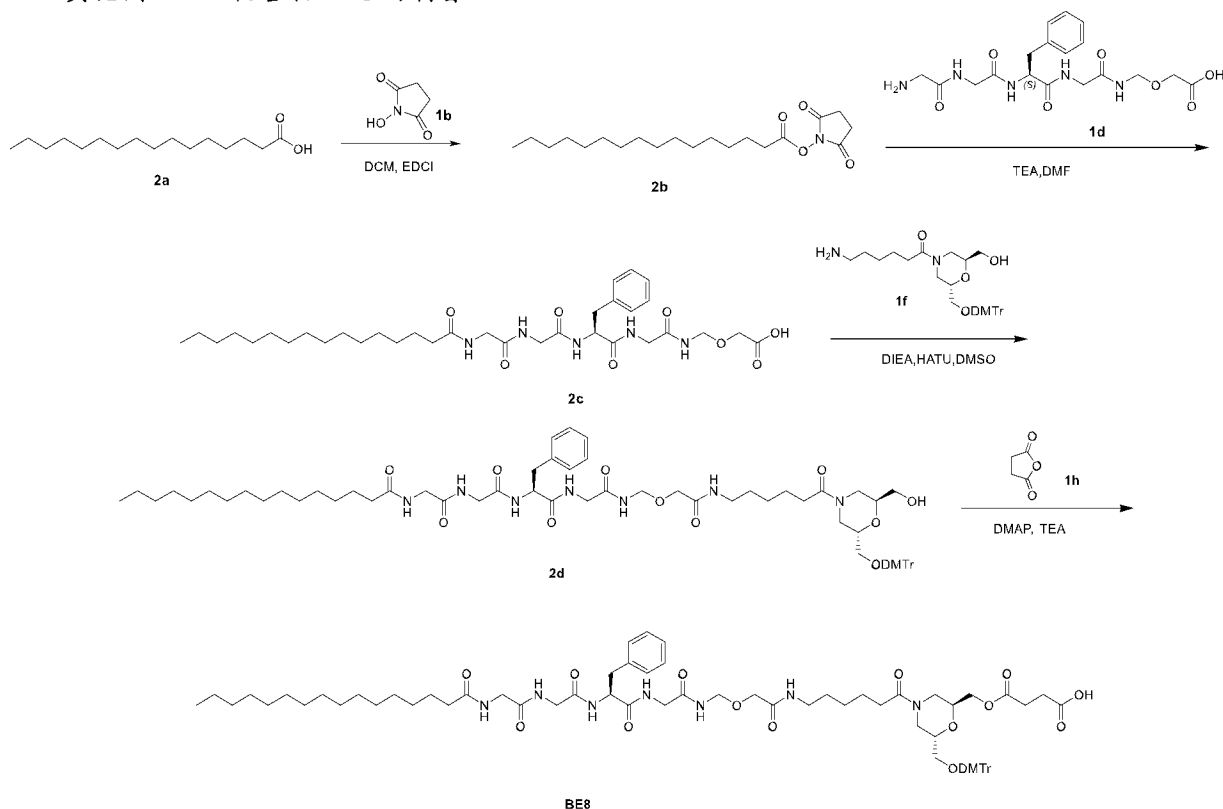
4. 化合物 BE7 的制备



- 5 在 25°C 下将化合物 1g (300 mg, 0.243 mmol) 溶于 DMF (5.00 mL), 依次加入 TEA (0.203 mL, 1.46 mmol)、化合物 1h (146 mg, 1.46 mmol) 和 DMAP (11.9 mg, 0.097 mmol), 反应液在 25°C 下搅拌 18 小时。反应完全后减压浓缩得到粗品, 通过反相柱分离纯化得到白色固体化合物 BE7 (120 mg, 收率 37.00%)。

- 10 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.39 - 7.47 (m, 2 H), 7.16 - 7.35 (m, 12 H), 6.81 - 6.92 (m, 4 H), 3.33 - 4.83 (m, 26 H), 2.95 - 3.25 (m, 8 H), 2.45 - 2.63 (m, 4 H), 2.20 - 2.40 (m, 4 H), 1.46 - 1.67 (m, 6 H), 1.20 - 1.39 (m, 34 H), 0.84 - 0.94 (m, 3 H)。

实施例 2 化合物 BE8 的制备

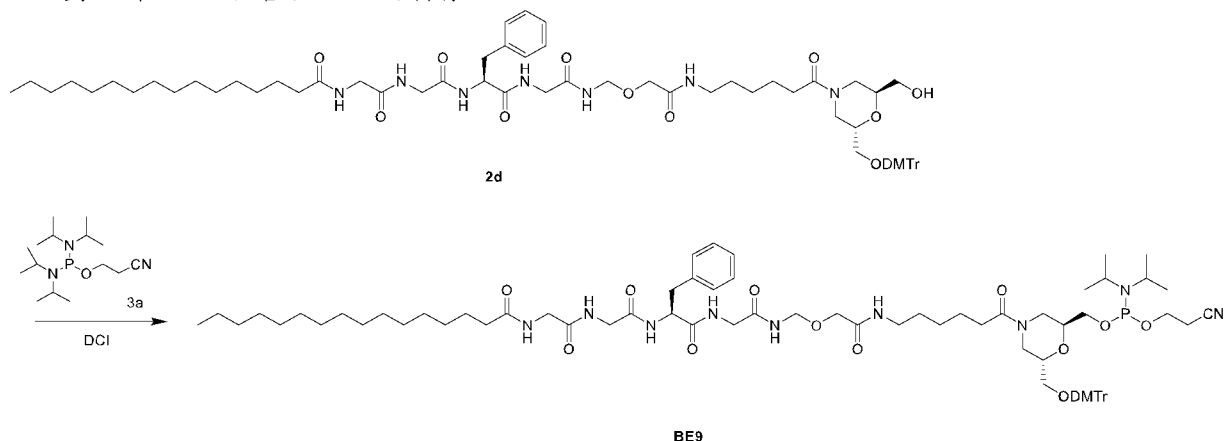


- 15 使用软脂酸 2a 代替实施例 1 中的起始化合物硬脂酸, 使用相同的合成步骤可得白色固体化合物 BE8。

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.39 - 7.47 (m, 2 H), 7.16 - 7.35 (m, 12 H), 6.81 - 6.92 (m, 4 H), 3.33 - 4.83 (m, 26 H), 2.95 - 3.25 (m, 8 H), 2.45 - 2.63 (m, 4 H), 2.20 - 2.40 (m, 4 H), 1.46 - 1.67 (m, 6 H), 1.20 -

1.39 (m, 34 H), 0.84 - 0.94 (m, 3 H).

实施例3 化合物 BE9 的制备



在 25°C 下将化合物 2d (1430 mg, 1.19 mmol) 溶于 DMF (20.0 mL), 依次加入 TEA (0.138 mL, 0.995 mmol)、化合物 3a (1429 mg, 4.76 mmol) 和 DCI (140 mg, 1.19 mmol), 反应液在 25°C 下搅拌 18 小时。反应完全后反应液通过反相柱分离纯化得到白色固体化合物 BE9 (310 mg, 收率 18.59%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.51 - 8.66 (m, 1 H), 8.24 - 8.38 (m, 1 H), 7.98 - 8.19 (m, 3 H), 7.66 - 7.78 (m, 1 H), 7.14 - 7.40 (m, 14 H), 6.78 - 6.94 (m, 4 H), 4.43 - 4.63 (m, 3 H), 3.42 - 4.01 (m, 25 H), 2.63 - 3.16 (m, 9 H), 2.08 - 2.28 (m, 4 H), 1.34 - 1.51 (m, 6 H), 1.16 - 1.31 (m, 26 H), 1.02 - 1.15 (m, 12 H), 0.80 - 0.88 (m, 3 H). ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ 147.96, 147.83.

实施例4. siRNA 的合成

使用本领域熟知的固相亚磷酰胺法制备本发明的 siRNA。具体方法可参考例如 PCT 公开号 WO2016081444 和 WO2019105419, 并简述如下。

1. 正义链 3' 末端连接配体的 siRNA 的制备

1.1 正义链 (SS 链) 的合成

通过固相亚磷酰胺合成法, 利用空白的 CPG 固相载体做为起始循环,

按照正义链核苷酸排布顺序自 3'-5' 方向逐一连接核苷单体。每连接一个核苷单体都包含了脱保护、偶联、盖帽、氧化或硫代四步反应, 合成规模为 5 μmol 的寡核酸。合成条件如下:

核苷单体以 0.05 mol/L 的乙腈溶液提供, 每一步反应的条件相同, 即温度为 25 度, 脱保护使用 3% 的三氯乙酸-二氯甲烷溶液, 脱保护 3 次; 偶联反应使用的活化剂为 0.25 mol/L 的 5-乙硫基四氮唑 (ETT)-乙腈溶液, 偶联 2 次; 盖帽使用 10% 醋酐-乙腈和吡啶/N-甲基咪唑/乙腈 (10:14:76, v/v/v), 盖帽 2 次; 氧化使用 0.05 mol/L 碘的四氢呋喃/吡啶/水 (70/20/10, v/v/v), 氧化 2 次; 硫代使用 0.2 mol/L 苯乙酰二硫化物 (PADS) 的乙腈/3-甲基吡啶 (1/1, v/v), 硫代 2 次。

1.2 反义链 (AS 链) 的合成

通过固相亚磷酰胺合成法, 利用空白的 CPG 固相载体做为起始循环, 按照反义链核苷酸排布顺序自 3'-5' 方向逐一连接核苷单体。每连接一个核苷

单体都包含了脱保护、偶联、盖帽、氧化或硫代四步反应, 反义链的 5 μmol 的寡核酸合成条件和正义链的相同。

1.3 寡核苷酸的纯化与退火

1.3.1 氨解

将合成好的固相载体(正义链或者反义链)加入到 5 mL 的离心管中,加入 3%的二乙胺/氨水(v/v), 35 度(或者 55 度)恒温水浴下反应 16 小时(或者 8 小时),过滤,固相载体用乙醇/水洗涤三次,

5 每次 1 mL,滤液离心浓缩后粗品进行纯化。

1.3.2 纯化

纯化和脱盐的方法是本领域人员所熟知的。例如,可采用强阴离子填料装柱,氯化钠-氢氧化钠体系进行洗脱纯化,产品收集并管,可采用凝胶填料纯化柱进行脱盐,洗脱体系是纯水。

1.3.3 退火

10 根据说明书将正义链(SS链)与反义链(AS链)以摩尔比(SS链/AS链=1/1.05)混合,水浴锅加热至 70-95 度,保持 3-5 min,自然冷却至室温,将体系冻干得到产品。

本发明中使用的 siRNA 序列如下:

双链编号	序列 (5' -> 3') 第一条为 SS 链序列, 第二条为 AS 链序列
DR005933	AmsAmsCmAmGm(Uhd)GfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmsAmsAm (SEQ ID NO: 1)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007679	AmsAmsCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmAmsAms-L322 (SEQ ID NO: 3)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007873	AmsAmsCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmAmsAms-LS1 (SEQ ID NO: 4)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007874	AmsAmsCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmAmsAms-LS3 (SEQ ID NO: 5)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007875	LS1s-AmsAmCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmsAmsAm (SEQ ID NO: 6)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007876	LS1s-AmsAmCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmAmsAms-LS1 (SEQ ID NO: 7)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007879	AmsAmsCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmAmsAms-LS11 (SEQ ID NO: 8)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007880	AmsAmsCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmAmsAms-LS10 (SEQ ID NO: 9)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007882	LS11s-AmsAmCmAmGmUmGfUmUfCfUfUmGmCmUmCmUmAmUmsAmsAm (SEQ ID NO: 10)
	VPUmUfAmUmAmGfAmGmCmAmAmGmAmAfCmAfCmUmGmUmUmsUmsUm (SEQ ID NO: 2)
DR007856	CmsAmsUmUmUmUmAfAmUfCfCfUmCmAmCmUmCmUmAmAmsAms-LS1 (SEQ ID NO: 11)
	VPUsUfsUmAmGmAfGmUfGfAmGmGmAmUfUmAfAmAmAmUmGmsAmsGm (SEQ ID NO: 12)
DR007857	CmsAmsUmUmUmUmAfAmUfCfCfUmCmAmCmUmCmUmAmAmsAms-LS3 (SEQ ID NO: 13)
	VPUsUfsUmAmGmAfGmUfGfAmGmGmAmUfUmAfAmAmAmUmGmsAmsGm (SEQ ID NO: 12)

DR007858	LS1s-CmsAmUmUmUmUmAfAmUfCfCfUmCmAmCmUmCmUmAmsAmsAm (SEQ ID NO: 14)
	VPUMsUfsUmAmGmAfGmUfGfAmGmGmAmUfUmAfAmAmAmUmGmsAmsGm (SEQ ID NO: 12)

本文中，各缩写的意义如下：

A、U、G 和 C 分别表示天然的腺嘌呤核糖核苷酸、尿嘧啶核糖核苷酸、鸟嘌呤核糖核苷酸和胞嘧啶核糖核苷酸。

d 表示其右侧相邻的核苷酸是脱氧核糖核苷酸。例如 dA、dT、dG 和 dC 分别表示腺嘌呤脱氧核糖核苷酸、胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸、鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸和胞嘧啶脱氧核糖核苷酸。

i 表示肌苷核糖核苷酸。

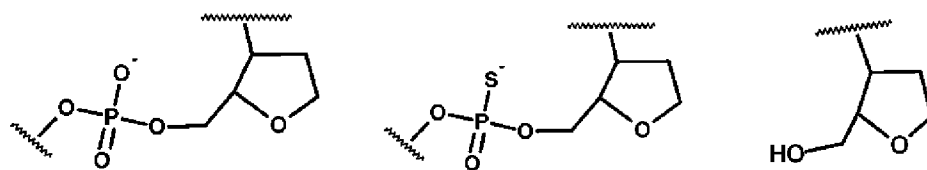
m 表示其左侧相邻的核苷酸是 2'-OCH₃ 修饰的核苷酸。例如，Am、Um、Gm 和 Cm 表示 2'-OCH₃ 修饰的 A、U、G 和 C。

f 表示其左侧相邻的核苷酸是 2'-F 修饰的核苷酸。例如，Af、Uf、Gf 和 Cf 分别表示 2'-F 修饰的 A、U、G 和 C。

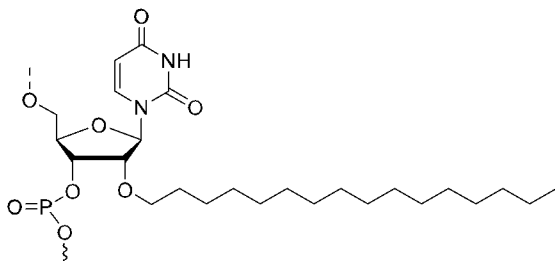
“s”表示其左右相邻的两个核苷酸和/或递送载体通过硫代磷酸酯连接。

VP 表示其右侧相邻的核苷酸是乙烯基磷酸酯修饰的核苷酸。

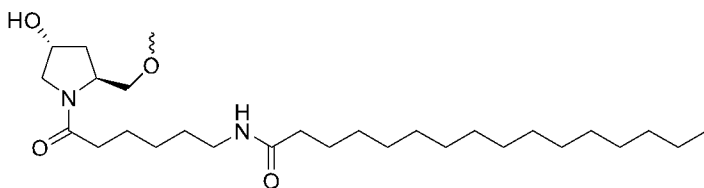
IB 或 Ib 表示反向无碱基脱氧核糖核苷酸，根据其在 siRNA 中所在位置/连接方式的不同可包括以下三种结构。



Uhd 和 L322 表示以下结构的核苷酸单体，是本领域熟知的，可参见例如 PCT 公开号 WO2021092371，其具体结构如下。



Uhd, 以 5' → 3' 的顺序从化合物的 ---- 至 ~~~ 连接。



L322。

LS1、LS3、LS11 和 LS10 的结构如上文所述。

实施例 5 C57BL/6 小鼠模型的化合物药效验证（眼部给药）

给药及分离眼部组织

将 C57BL/6 小鼠（雄性，6~8 周）进行随机分组，采用双侧眼玻璃体内注射方式单次给药，每只眼给药剂量为 7.5 μg，siRNA 缀合物以 5mg/mL 的溶液（磷酸盐缓冲溶液作为溶剂）给药；具体地，在实验前，用磷酸盐缓冲溶液将 siRNA 缀合物溶解且定容至所需溶液浓度和体积，磷酸盐缓冲溶液和 siRNA 缀合物的给药体积为 1.5 μL/眼。

给药后第 14 天摘取眼球，并分离为两部分：①视网膜；②视网膜色素上皮细胞（RPE）+脉络膜+巩膜；分离样本立即放于液氮中急冻，之后储存于-80℃，干冰寄送用于检测 mTTR mRNA。

RNA 提取与检测

按照高通量组织 RNA 提取试剂盒（凡知医疗，FG0412）的操作 protocol 使用核酸提取仪（杭州奥盛，Auto-pure96）进行细胞 RNA 提取；参考 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit（Takara，6210B）反转录；参考 TaqMan™ Fast Advanced Master Mix（ABI，4444965）20μL 体系进行荧光定量 PCR 反应（ABI，QuantStudio3）检测，引物见下表。

引物名称	序列信息（5'-3'）	荧光基团
mTTR-PF	GGGAAGACCGCGGAGTCT (SEQ ID NO: 15)	
mTTR-PR	CAGTTCTACTCTGTACACTCCTTCTACAAA (SEQ ID NO: 16)	
mTTR-P	CTGCACGGGCTCACCACAGATGA (SEQ ID NO: 17)	5'6-FAM, 3'BHQ1
mGAPDH-PF	CGGCAAATTCAACGGCACAG (SEQ ID NO: 18)	
mGAPDH-PR	CCACGACATACTCAGCACCG (SEQ ID NO: 19)	
mGAPDH-P	ACCATCTTCCAGGAGCGAGACCCCACT (SEQ ID NO: 20)	5'TET, 3'BHQ2

数据统计

计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值并换算成百分比以得到剩余抑制率；

$\Delta\Delta Ct = [(Ct \text{ 实验组目的基因} - Ct \text{ 实验组内参}) - (Ct \text{ 对照组目的基因} - Ct \text{ 对照组内参})]$ 。

目的基因为 mTTR，内参为 mGAPDH。

实验结果

受试化合物	视网膜		RPE+脉络膜+巩膜	
	靶基 因 mRNA 剩余	SD	靶基 因 mRNA 剩余	SD
PBS	105.1%	34.3%	101.6%	19.2%
DR005933(PC)	74.9%	25.8%	62.3%	24.6%
DR007679(PC)	75.5%	20.5%	92.3%	48.3%
DR007873	92.0%	40.9%	101.3%	52.5%
DR007874	19.6%	14.2%	33.6%	22.2%
DR007875	52.9%	20.6%	123.3%	43.7%
DR007876	32.5%	13.9%	73.3%	31.2%
DR007879	15.9%	9.2%	37.3%	23.5%
DR007880	10.3%	12.8%	15.2%	18.3%
DR007882	14.7%	12.3%	27.7%	23.8%

实施例 6 SD 大鼠模型的化合物药效验证（中枢神经系统给药）

给药及分离眼部组织

将 SD 大鼠（雄性，6~8 周）随机分组，溶媒对照组每组 3 只，化合物组每组 5 只。用无菌人工脑脊液(aCSF)配置化合物，浓度为 30mg/mL。动物用气体麻醉后，经鞘内注射（L4-L6 水平）的方式给予相应化合物，给药剂量 0.9mg/只(30μL/只)。

给药后第 14 天，动物行 CO₂ 安乐死，快速分离并取出以下组织：腰段脊髓，胸段脊髓，颈段脊髓、小脑、脑干、海马、纹状体、额皮层、颞皮层、肝、肾，样本取出后置于 5-10 倍体积的 RNeasy lysis reagent 中。

中，2-8℃过夜，继而转移至-80℃保存，用于后续检测 rSOD1 mRNA。

RNA 提取与检测

按照高通量组织 RNA 提取试剂盒（上海复申生物，FSF0035-TS）的操作 protocol 使用核酸提取仪（杭州奥盛，Auto-pure96）进行组织 RNA 提取；参考 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit

5 （Takara，6210B）反转录；参考 TaqMan™ Fast Advanced Master Mix（ABI，4444965）20μL 体系进行荧光定量 PCR 反应（ABI，QuantStudio3）检测，引物见下表。

引物名称	序列信息（5'-3'）	荧光基团
rSOD1-PF	GGGAAGACCGCGGAGTCT (SEQ ID NO: 15)	
rSOD1-PR	CAGTTCTACTCTGTACACTCCTTCTACAAA (SEQ ID NO: 16)	
rSOD1-P	CTGCACGGGCTCACCACAGATGA (SEQ ID NO: 17)	5'6-FAM，3'BHQ1
rGAPDH-PF	GTTGCCATCAACGACCCCTT (SEQ ID NO: 21)	
rGAPDH-PR	CCGTTGATGACCAGCTTCCC (SEQ ID NO: 22)	
rGAPDH-P	ACCCACGGCAAGTTCAACGGCACAGT (SEQ ID NO: 23)	5'TET，3'BHQ2

数据统计

计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值并换算成百分比以得到剩余抑制率；

$\Delta\Delta Ct=[(Ct\text{ 实验组目的基因}-Ct\text{ 实验组内参})-(Ct\text{ 对照组目的基因}-Ct\text{ 对照组内参})]$ 。

10 目的基因为 rSOD1，内参为 rGAPDH。

实验结果

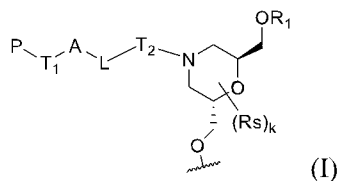
化合物 编号	给药剂量	额皮层		胸段脊髓		小脑		脑干	
		剩余抑制率	SD	剩余抑制率	SD	剩余抑制率	SD	剩余抑制率	SD
aCSF	30μL	101.30%	22.80%	100.43%	11.97%	100.04%	1.31%	100.42%	8.23%
DR0078 56	0.9 mg，在 30μL aCSF 中	74.59%	28.51%	22.97%	3.11%	77.20%	28.87%	36.53%	11.46%
DR0078 57	0.9 mg，在 30μL aCSF 中	77.30%	29.30%	21.00%	3.44%	55.47%	11.27%	37.39%	7.91%
DR0078 58	0.9 mg，在 30μL aCSF 中	40.00%	15.20%	20.31%	1.57%	65.67%	14.30%	38.90%	12.68%

以上内容是结合具体的优选实施方式对本发明所作的进一步详细说明，不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，

15 还可以做出若干简单推演或替换，都应当视为属于本发明的保护范围。

权 利 要 求 书

1. 寡核苷酸，其包含一个或多个式(I)化合物，或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体：



其中，

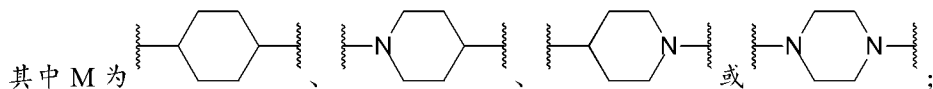
表示 H，或表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

R₁ 表示 H，或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

和 R₁ 不同时为 H；

10 P 为疏水基团，优选为 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基，其中所述基团中不相邻的 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个碳原子可以被选自 O、S 和 N 的杂原子替换，或者 -CH₂CH₂- 基团可以被 -OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-或 -C(O)NH- 替换，或者一个或多个碳原子上的取代基可以连接成饱和或不饱和环；所述 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代；

15 T₁ 选自化学键、-C₀₋₁₀ 亚烷基-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-O-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-OC(O)-或 -C₀₋₁₀ 亚烷基-M-；



A 为基于肽的连接基团，所述基于肽的连接基团在内涵体或溶酶体中可被切割；

L 选自 -NH-、-O-、-CH₂-、-C(O)-或 -C(O)O-；

20 T₂ 选自化学键、-C₀₋₁₀ 亚烷基-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-O-C₀₋₁₀ 亚烷基-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)-C₀₋₁₀ 亚烷基-、-C₀₋₁₀ 亚烷基-OC(O)-C₀₋₁₀ 亚烷基-或 -C₀₋₁₀ 亚烷基-C(O)O-C₀₋₁₀ 亚烷基-；所述 T₂ 任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代；

R 选自 H、D、卤素、C₁₋₆ 烷基或 C₁₋₆ 卤代烷基，其任选地被氘代，直至完全氘代；

Rs 选自 H、D、卤素、C₁₋₆ 烷基或 C₁₋₆ 卤代烷基，其任选地被氘代，直至完全氘代；

25 k 选自 0、1、2、3、4、5 或 6。

2. 权利要求 1 的寡核苷酸，其中，

表示 H，或表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

R₁ 表示 H，或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置；

30 和 R₁ 不同时为 H；

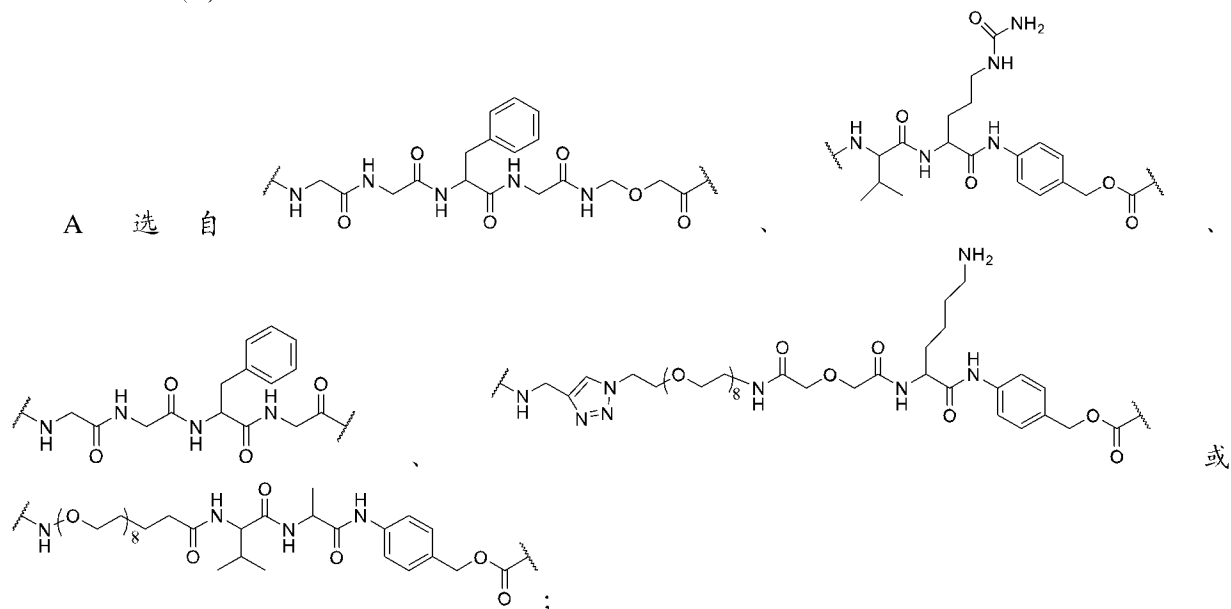
P 为疏水基团，优选为 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基；所述 C₈₋₃₀ 烷基、C₈₋₃₀ 烯基或 C₈₋₃₀ 炔基任选地被 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或更多个 R 取代；

R 选自 H、D、卤素、C₁₋₆ 烷基或 C₁₋₆ 卤代烷基；

T₁ 选自 -OC(O)-、-C(O)-或 -(CH₂)₁₋₆-；

35 A 为基于肽的连接基团，所述基于肽的连接基团在内涵体或溶酶体中可被切割，其中包含多肽，例如三肽、四肽或五肽，优选为四肽；

T₁ 选自 -C(O)- 或 -CH₂-;



5 L 为 -NH-;

T₂ 为 -(CH₂)_zC(O)-;

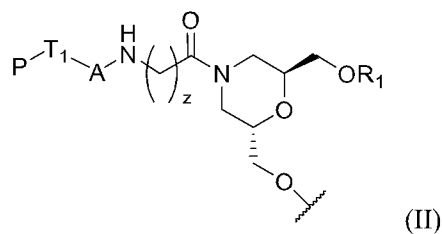
z 选自 0、1、2、3、4 或 5, 优选为 5;

R_s 为 H;

k 为 6。

10

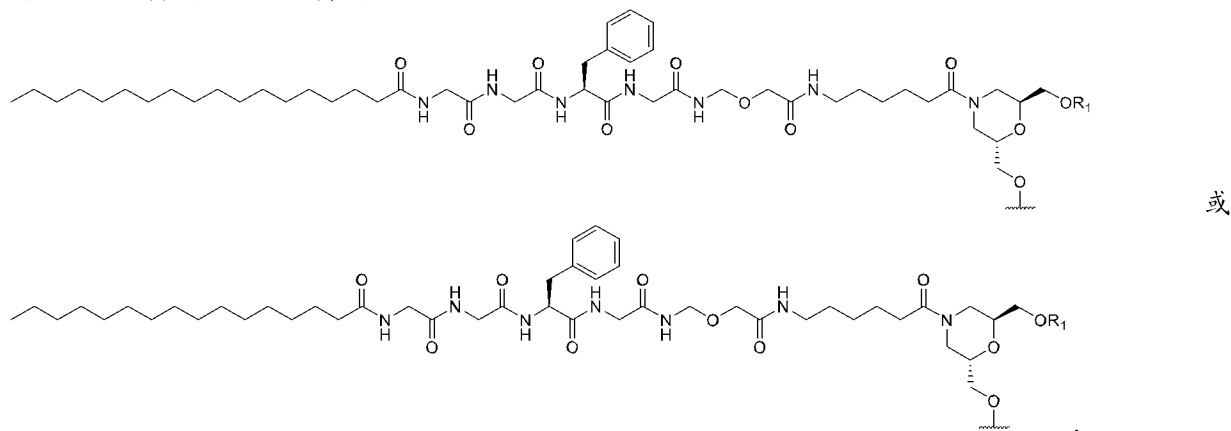
5. 权利要求 1-4 中任一项的寡核苷酸, 其中, 式(I)化合物选自式(II)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中,

15 各变量如权利要求 1-4 中任一项所定义。

6. 权利要求 1-5 中任一项的寡核苷酸, 其中, 式(I)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



20

其中,  表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

R_1 为 H, 或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置。

7. 权利要求 1-6 中任一项的寡核苷酸, 其具有 14 至 30 个核苷酸。

8. 权利要求 1-7 中任一项的寡核苷酸, 其在 5'端包含一个权利要求 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

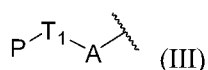
9. 权利要求 1-8 中任一项的寡核苷酸, 其在 3'端包含一个权利要求 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

10. 权利要求 1-9 中任一项的寡核苷酸, 其在 5'端和 3'端分别包含一个权利要求 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

11. 权利要求 1-10 中任一项的寡核苷酸, 其在寡核苷酸内部包含一个或多个权利要求 1-6 中任一项的式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

12. 寡核苷酸, 其在寡核苷酸内部、5'端和/或 3'端包含一个、两个或多个递送载体, 所述递送载体为被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团;

15 优选地, 所述被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团选自式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



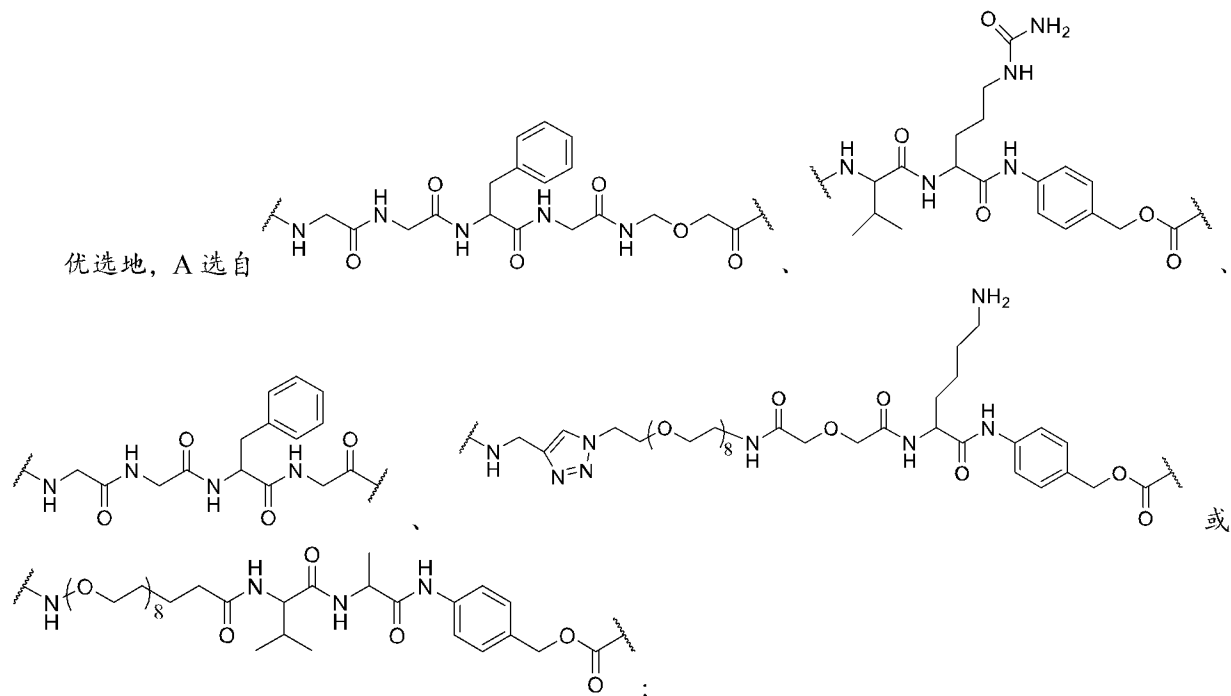
其中,  表示与寡核苷酸的连接位置;

P 为疏水性基团;

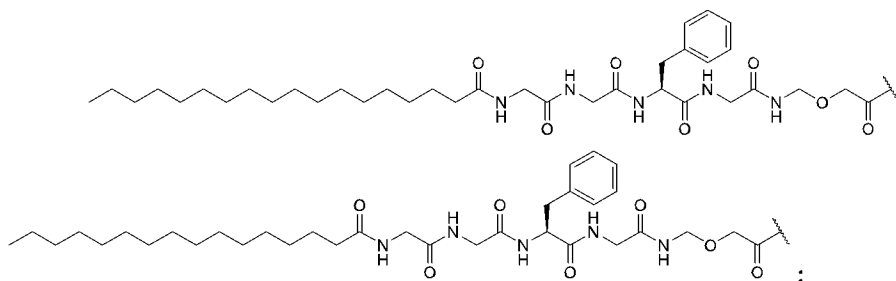
A 为基于肽的连接基团;

20 P 通过 T_1 或直接与 A 相连;

优选地, P、 T_1 和 A 如权利要求 1-4 中任一项所定义;



25 更优选地, 所述式(III)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:

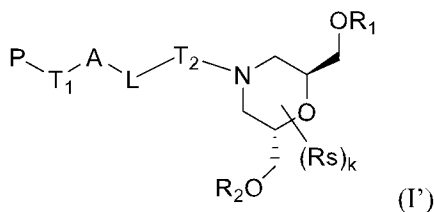


或

其中,  表示与寡核苷酸的连接位置。

13. 权利要求 1-12 中任一项的寡核苷酸, 所述寡核苷酸是 ASO 或 siRNA, 优选用于抑制在肝外表达的基因, 更优选用于抑制在眼部表达的基因。

14. 式(I')化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中, R₁ 和 R₂ 独立地选自 H、反应性磷基团、羟基保护基或固相载体;

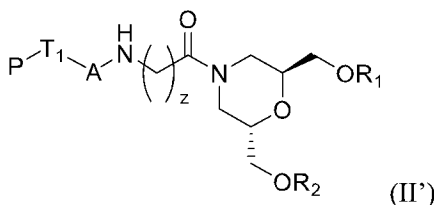
P、T₁、A、L、T₂、R_s 和 k 如权利要求 1-4 所定义。

15. 权利要求 14 的化合物, 其中, R₁ 和 R₂ 为 H。

16. 权利要求 14 或 15 的化合物, 其中, R₁ 和 R₂ 选自反应性磷基团, 优选亚磷酰胺、H-膦酸酯、烷基-膦酸酯、磷酸酯或磷酸酯模拟物, 例如天然磷酸酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯、硼烷硫代磷酸酯、膦酸酯、卤素取代的膦酸酯和磷酸酯、氨基磷酸酯、磷酸二酯、磷酸三酯、硫代磷酸二酯、硫代磷酸三酯、二磷酸酯或三磷酸酯, 优选-P(OCH₂CH₂CN)(N(iPr)₂)。

17. 权利要求 14-16 中任一项的化合物, 其中, R₁ 和 R₂ 选自保护基, 优选羟基保护基, 例如三甲基硅基(TMS)、三乙基硅基(TES)、二甲基异丙基硅基(DMIPS)、二乙基异丙基硅基(DEIPS)、叔丁基二甲基硅基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅基(TBDPS)、三异丙基硅基(TIPS)、乙酰基(Ac)、氯乙酰基、二氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基(TFA)、苯甲酰基、对甲氧基苯甲酰基、9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)、烯丙氧基羰基(Alloc)、2,2,2-三氯乙氧基羰基(Troc)、苄氧基羰基(Cbz)、叔丁氧基羰基(Boc)、苯甲基(Bn)、对甲氧基苄基(PMB)、烯丙基、三苯基甲基(Tr)、双对甲氧基三苯甲基(DMTTr)、甲氧基甲基(MOM)、苯氧基甲基(BOM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲硫基甲基(MTM)、对甲氧基苄氧基甲基(PMBM)、-C(O)CH₂CH₂C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基, 优选 DMTTr。

18. 权利要求 14-17 中任一项的化合物, 其中所述式(I')化合物选自式(II')化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:

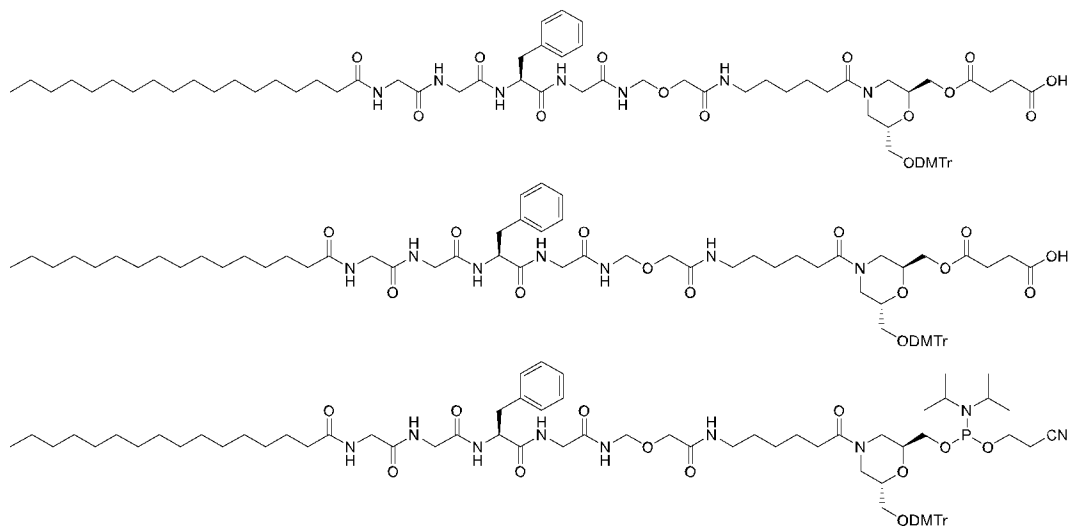


其中,

各变量如权利要求 14-17 中任一项所定义。

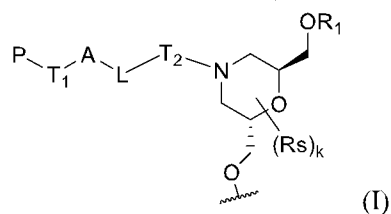
19. 权利要求 14-18 中任一项的化合物, 其中所述式(I')或(II')化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:

34



或

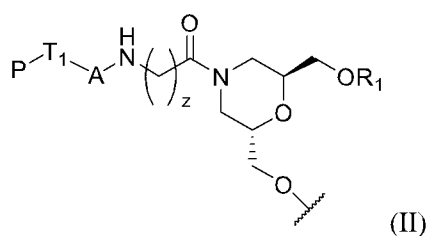
- 5 20. 双链 RNA, 其具有正义链和反义链, 各链具有 14 至 30 个核苷酸, 所述反义链包含与所述正义链和靶标 mRNA 充分互补的序列, 其中所述正义链和/或反义链包含一个或多个如权利要求 1-6 中任一项所述式(I)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中, 各变量如权利要求 1-4 中任一项所定义。

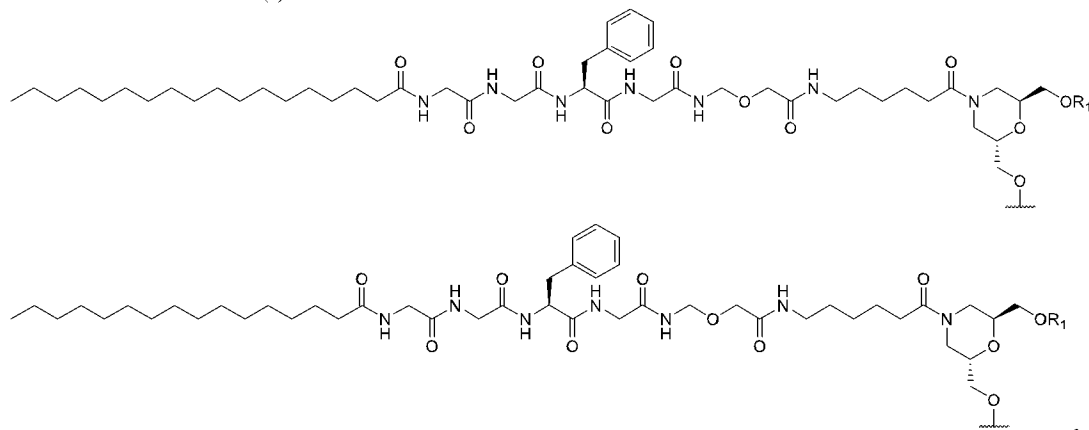
10

21. 权利要求 20 的双链 RNA, 其中所述式(I)化合物选自式(II)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中, 各变量如权利要求 1-4 中任一项所定义;

- 15 优选地, 所述式(I)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



或

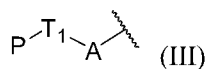
其中,  表示与相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置;

R_1 为 H, 或表示与另一相邻核苷酸的磷酸酯或硫代磷酸酯连接的位置。

22. 双链 RNA, 其具有正义链和反义链, 各链具有 14 至 30 个核苷酸, 所述反义链包含与所述正义链和靶标 mRNA 充分互补的序列, 其中所述正义链和/或反义链在内部、5'端和/或 3'端包含一个、

5 两个或多个递送载体, 所述递送载体为被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团;

优选地, 所述被疏水性基团修饰的基于肽的连接基团选自式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



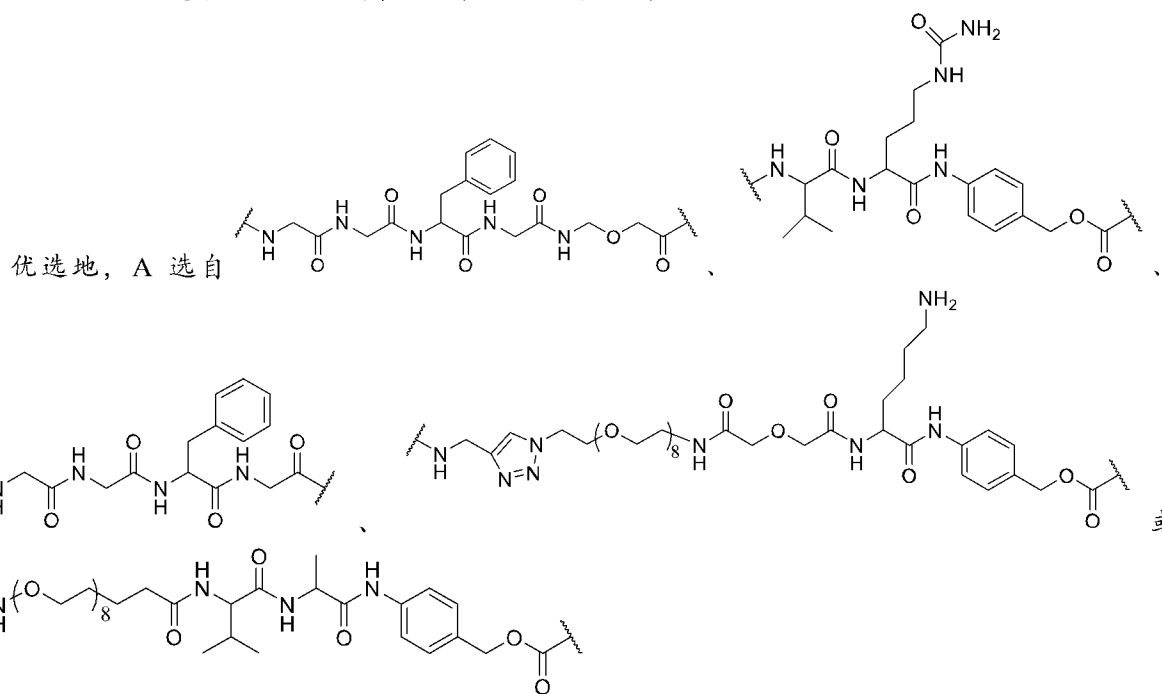
其中,  表示与双链 RNA 的连接位置;

P 为疏水性基团;

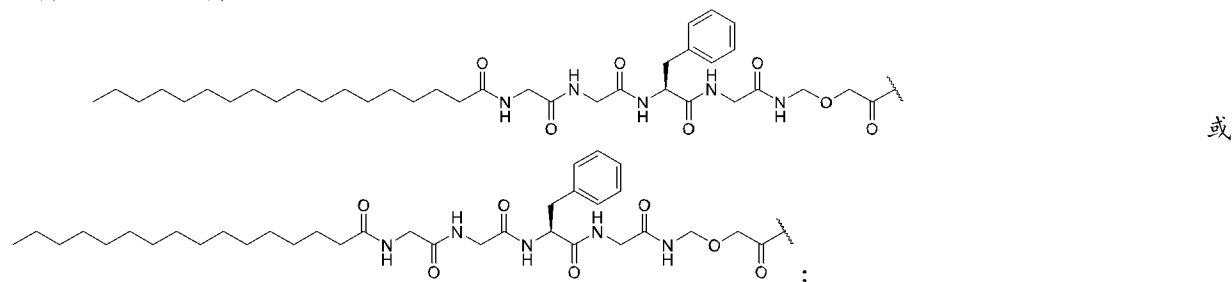
A 为基于肽的连接基团;

P 通过 T_1 或直接与 A 相连;

优选地, P、 T_1 和 A 如权利要求 1-4 中任一项所定义;



23. 权利要求 22 的双链 RNA, 所述式(III)化合物选自以下化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体:



其中,  表示与双链 RNA 的连接位置。

24. 权利要求 20-23 中任一项的双链 RNA, 其中所述正义链在 5'端包含一个权利要求 1-7 中任一项所述式(I)或权利要求 12 所述式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

25. 权利要求 20-24 中任一项的双链 RNA, 其中所述正义链在 3'端包含一个权利要求 1-7 中任一

项所述式(I)或权利要求 12 所述式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

26. 权利要求 20-25 中任一项的双链 RNA, 其中所述正义链在 5'端和 3'端分别包含一个权利要求 1-7 中任一项所述式(I)或权利要求 12 所述式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

5 27. 权利要求 20-26 中任一项的双链 RNA, 其中所述正义链在寡核苷酸内部包含一个或多个权利要求 1-7 中任一项所述式(II)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

28. 权利要求 20-27 中任一项的双链 RNA, 其中所述反义链在 5'端包含一个权利要求 1-7 中任一项所述式(I)或权利要求 12 所述式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

10 29. 权利要求 20-28 中任一项的双链 RNA, 其中所述反义链在 3'端包含一个权利要求 1-7 中任一项所述式(I)或权利要求 12 所述式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

30. 权利要求 20-29 中任一项的双链 RNA, 其中所述反义链在 5'端和 3'端分别包含一个权利要求 1-7 中任一项所述式(I)或权利要求 12 所述式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

15 31. 权利要求 20-30 中任一项的双链 RNA, 其中所述反义链在寡核苷酸内部包含一个或多个权利要求 1-7 中任一项所述式(I)或权利要求 12 所述式(III)化合物, 或其药学上可接受的盐、互变异构体或立体异构体。

32. 细胞, 其含有如权利要求 20-31 中任一项所述的双链 RNA。

33. 药物组合物, 其包含如权利要求 20-31 中任一项所述的双链 RNA、或如权利要求 32 所述的细胞, 以及任选的药学上可接受的载剂或赋形剂。

20 34. 试剂盒, 其包含如权利要求 20-31 中任一项所述的双链 RNA、或如权利要求 32 所述的细胞。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/103493

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/113(2010.01)i; A61K31/713(2006.01)i; A61K47/54(2017.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C12N; A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CJFD, CNTXT, ENTXTC, DWPL, VEN, CNKI, BING, NCBI, EBI, STN, 百度学术, BAIDU SCHOLAR: 申请人/发明人, 递送, 寡核苷酸, 核酸, 肽, dsRNA, 双链RNA, RNA, sirna, 载体, deliver, small interfering RNA, hydrophobic group, 疏水基团, 疏水性基团, 疏水, 结构式 (I), II, III, I', II'

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO 2024093907 A1 (SHANGHAI RONA THERAPEUTICS CO., LTD.) 10 May 2024 (2024-05-10) claims 1, 6-7, 10, 13-27, and 31-33	1, 5, 7-11, 14-18, 20-22, 24-31
X	WO 2022028462 A1 (TUOJIE BIOTECH (SHANGHAI) CO., LTD.) 10 February 2022 (2022-02-10) claims 1-32, and embodiment 16	12-13, 22, 32-34
A	CN 114681621 A (SALLEPTA MEDICAL COMPANY) 01 July 2022 (2022-07-01) claim 1	1-34
A	CN 110741087 A (ARBUTUS BIOPHARMA CORP.) 31 January 2020 (2020-01-31) claims 1-195	1-34
A	PAUNOVSKA, K. et al. "Drug Delivery Systems for RNA Therapeutics" <i>Nature Reviews</i> , Vol. 23, 04 January 2022 (2022-01-04), pages 265-280 abstract, and figure 2	1-34



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

09 October 2024

Date of mailing of the international search report

17 October 2024

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/103493

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PAL'CHIKOV, V. A. et al. "Composition and Reactivity of Aminolysis Products Glycidyl of Phenyl Ether with Benzylamine" <i>Russian Journal of Organic Chemistry</i> , Vol. 53, No. 5, 31 December 2017 (2017-12-31), pages 656-662 abstract, and figure 4	1-34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/103493

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/103493

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2024093907	A1	10 May 2024	None			
WO	2022028462	A1	10 February 2022	EP	4194553	A1	14 June 2023
				TW	202214858	A	16 April 2022
				JP	2023536320	A	24 August 2023
				US	2023287418	A1	14 September 2023
				KR	20230043195	A	30 March 2023
				BR	112023002080	A2	25 April 2023
				CA	3190097	A1	10 February 2022
CN	114681621	A	01 July 2022	EP	4306538	A2	17 January 2024
				EP	4306538	A3	01 May 2024
				HRP	20231431	T1	01 March 2024
				MX	2017014806	A	11 May 2018
				IL	255655	A	29 August 2019
				IL	255655	B	01 June 2022
				KR	20180008591	A	24 January 2018
				KR	102644053	B1	06 March 2024
				DK	3297649	T3	18 December 2023
				BR	112017024929	A2	31 July 2018
				US	2023310625	A1	05 October 2023
				US	2022072143	A1	10 March 2022
				US	11672871	B2	13 June 2023
				US	2020254109	A1	13 August 2020
				US	11097011	B2	24 August 2021
				ES	2964695	T3	09 April 2024
				JP	2018521970	A	09 August 2018
				JP	6954843	B2	27 October 2021
				JP	2021011505	A	04 February 2021
				AU	2016264471	A1	14 December 2017
				AU	2016264471	B2	27 January 2022
				FI	3297649	T3	30 November 2023
				CA	2986228	A1	24 November 2016
				HK	1252759	A1	31 May 2019
				WO	2016187425	A1	24 November 2016
				NZ	737757	A	28 July 2023
				MA	42134	A	28 March 2018
				EP	3297649	A1	28 March 2018
				EP	3297649	A4	21 November 2018
				EP	3297649	B1	11 October 2023
				US	2018214567	A1	02 August 2018
				US	10675356	B2	09 June 2020
				KR	20240035901	A	18 March 2024
CN	110741087	A	31 January 2020	WO	2018191278	A2	18 October 2018
				WO	2018191278	A3	22 November 2018
				CA	3059426	A1	18 October 2018
				NZ	757927	A	28 July 2023
				TW	202413641	A	01 April 2024
				JP	2023017897	A	07 February 2023
				KR	20200005555	A	15 January 2020
				KR	102656438	B1	12 April 2024
				JP	2020516296	A	11 June 2020

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/103493

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
	EP	3950004 A1	09 February 2022
	SG	11201909433 XA	28 November 2019
	EP	3610017 A2	19 February 2020
	US	2020407724 A1	31 December 2020
	US	11427823 B2	30 August 2022
	US	2023110295 A1	13 April 2023
	US	12043833 B2	23 July 2024
	MX	2019012280 A	23 January 2020
	BR	112019021359 A2	05 May 2020
	AU	2018250553 A1	07 November 2019
	PH	12019502333 A1	28 September 2020
	TW	201842183 A	01 December 2018
	TWI	805577 B	21 June 2023
	MA	52546 A	19 February 2020
	KR	20240049852 A	17 April 2024

A. 主题的分类

C12N15/113(2010.01)i; A61K31/713(2006.01)i; A61K47/54(2017.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C12N; A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CJFD,CNXTXT,ENTXTC,DWPI,VEN,CNKI,BING,NCBI,EBI,STN,百度学术:申请人/发明人, 递送,寡核苷酸,核酸, 肽,dsRNA,双链RNA,RNA,sirna, 载体, deliver,small interfering RNA, hydrophobic group,疏水基团, 疏水性基团, 疏水, 结构式I,II,III,I',II'

C. 相关文件

类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	WO 2024093907 A1 (大睿生物医药科技(上海)有限公司) 2024年5月10日 (2024 - 05 - 10) 权利要求1、6-7、10、13-27、31-33	1、5、7-11、14-18、20-22、24-31
X	WO 2022028462 A1 (上海拓界生物医药科技有限公司) 2022年2月10日 (2022 - 02 - 10) 权利要求1-32和实施例16	12-13、22、32-34
A	CN 114681621 A (萨勒普塔医疗公司) 2022年7月1日 (2022 - 07 - 01) 权利要求1	1-34
A	CN 110741087 A (阿布特斯生物制药公司) 2020年1月31日 (2020 - 01 - 31) 权利要求1-195	1-34
A	PAUNOVSKA, K.等. "Drug delivery systems for RNA therapeutics" NATURE REVIEWS, 第23卷, 2022年1月4日 (2022 - 01 - 04), 第265-280页 摘要、图2	1-34

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

★ 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“p” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2024年10月9日

国际检索报告邮寄日期

2024年10月17日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

吴至芳

电话号码 (+86) 010-53962116

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	PAL'CHIKOV,V.A.等. "Composition and Reactivity of Aminolysis Products Glycidyl of Phenyl Ether with Benzylamine" Russian Journal of Organic Chemistry, 第53卷，第5期，2017年12月31日 (2017 - 12 - 31)，第656-662页 摘要，图示4	1-34

第I栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的:
- a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:
 - b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交 (细则13之三.1(a)) ,
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/103493

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2024093907	A1	2024年5月10日	无			
WO	2022028462	A1	2022年2月10日	EP	4194553	A1	2023年6月14日
				TW	202214858	A	2022年4月16日
				JP	2023536320	A	2023年8月24日
				US	2023287418	A1	2023年9月14日
				KR	20230043195	A	2023年3月30日
				BR	112023002080	A2	2023年4月25日
				CA	3190097	A1	2022年2月10日
CN	114681621	A	2022年7月1日	EP	4306538	A2	2024年1月17日
				EP	4306538	A3	2024年5月1日
				HRP	20231431	T1	2024年3月1日
				MX	2017014806	A	2018年5月11日
				IL	255655	A	2019年8月29日
				IL	255655	B	2022年6月1日
				KR	20180008591	A	2018年1月24日
				KR	102644053	B1	2024年3月6日
				DK	3297649	T3	2023年12月18日
				BR	112017024929	A2	2018年7月31日
				US	2023310625	A1	2023年10月5日
				US	2022072143	A1	2022年3月10日
				US	11672871	B2	2023年6月13日
				US	2020254109	A1	2020年8月13日
				US	11097011	B2	2021年8月24日
				ES	2964695	T3	2024年4月9日
				JP	2018521970	A	2018年8月9日
				JP	6954843	B2	2021年10月27日
				JP	2021011505	A	2021年2月4日
				AU	2016264471	A1	2017年12月14日
				AU	2016264471	B2	2022年1月27日
				FI	3297649	T3	2023年11月30日
				CA	2986228	A1	2016年11月24日
				HK	1252759	A1	2019年5月31日
				WO	2016187425	A1	2016年11月24日
				NZ	737757	A	2023年7月28日
				MA	42134	A	2018年3月28日
				EP	3297649	A1	2018年3月28日
				EP	3297649	A4	2018年11月21日
				EP	3297649	B1	2023年10月11日
				US	2018214567	A1	2018年8月2日
				US	10675356	B2	2020年6月9日
				KR	20240035901	A	2024年3月18日
CN	110741087	A	2020年1月31日	WO	2018191278	A2	2018年10月18日
				WO	2018191278	A3	2018年11月22日
				CA	3059426	A1	2018年10月18日
				NZ	757927	A	2023年7月28日
				TW	202413641	A	2024年4月1日
				JP	2023017897	A	2023年2月7日
				KR	20200005555	A	2020年1月15日
				KR	102656438	B1	2024年4月12日
				JP	2020516296	A	2020年6月11日

国际申请号
PCT/CN2024/103493

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
	EP	3950004 A1	2022年2月9日
	SG	11201909433 XA	2019年11月28日
	EP	3610017 A2	2020年2月19日
	US	2020407724 A1	2020年12月31日
	US	11427823 B2	2022年8月30日
	US	2023110295 A1	2023年4月13日
	US	12043833 B2	2024年7月23日
	MX	2019012280 A	2020年1月23日
	BR	112019021359 A2	2020年5月5日
	AU	2018250553 A1	2019年11月7日
	PH	12019502333 A1	2020年9月28日
	TW	201842183 A	2018年12月1日
	TWI	805577 B	2023年6月21日
	MA	52546 A	2020年2月19日
	KR	20240049852 A	2024年4月17日