



(21)申請案號：111147301

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 12 月 09 日

(51)Int. Cl.：

*A61K31/495 (2006.01)**A61K47/34 (2017.01)**A61K47/06 (2006.01)**A61P11/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/12/10

美國

63/288,317

(71)申請人：美商現代公司(美國) MODERNATX, INC. (US)

美國

(72)發明人：李 竣榮 LEE, JUNEYOUNG (US)；西伯沙德 摩西卓拉 SEEPERSAUD,

MOHINDRA (US)；班納圖 凱莉 E BENENATO, KERRY E. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：55 項 圖式數：0 共 205 頁

(54)名稱

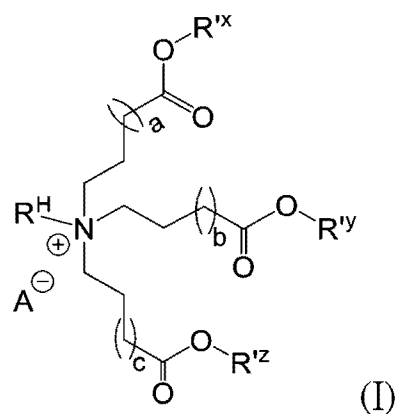
用於遞送治療劑之化合物及組合物

(57)摘要

本揭示案提供新穎脂質及包含該等脂質之組合物。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)包括新穎陽離子脂質以及諸如可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質之額外脂質。進一步包括諸如 RNA 之治療劑及/或預防劑的脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可用於向哺乳動物細胞或器官遞送治療劑及/或預防劑以例如調控多肽、蛋白質或基因表現。

The disclosure features novel lipids and compositions involving the same. Lipid nanoparticles (e.g., empty LNPs or loaded LNPs) include a novel cationic lipid as well as additional lipids such as ionizable lipids, phospholipids, structural lipids, and PEG lipids. Lipid nanoparticles (e.g., empty LNPs or loaded LNPs) further including therapeutic and/or prophylactics such as RNA are useful in the delivery of therapeutic and/or prophylactics to mammalian cells or organs to, for example, regulate polypeptide, protein, or gene expression.

特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】用於遞送治療劑之化合物及組合物

【英文發明名稱】COMPOUNDS AND COMPOSITIONS FOR DELIVERY OF THERAPEUTIC AGENTS

【中文】

本揭示案提供新穎脂質及包含該等脂質之組合物。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)包括新穎陽離子脂質以及諸如可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質之額外脂質。進一步包括諸如 RNA 之治療劑及/或預防劑的脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可用於向哺乳動物細胞或器官遞送治療劑及/或預防劑以例如調控多肽、蛋白質或基因表現。

【英文】

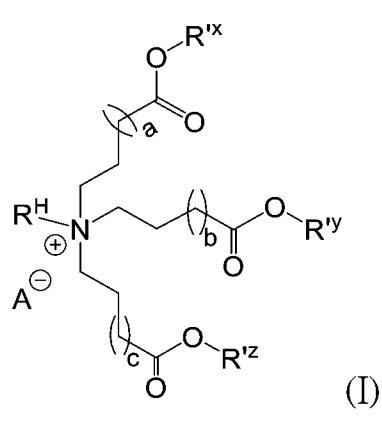
The disclosure features novel lipids and compositions involving the same. Lipid nanoparticles (e.g., empty LNPs or loaded LNPs) include a novel cationic lipid as well as additional lipids such as ionizable lipids, phospholipids, structural lipids, and PEG lipids. Lipid nanoparticles (e.g., empty LNPs or loaded LNPs) further including therapeutic and/or prophylactics such as RNA are useful in the delivery of therapeutic and/or prophylactics to mammalian cells or organs to, for example, regulate polypeptide, protein, or gene expression.

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】用於遞送治療劑之化合物及組合物

【英文發明名稱】COMPOUNDS AND COMPOSITIONS FOR DELIVERY OF THERAPEUTIC AGENTS

【技術領域】

【0001】 本揭示案提供新穎陽離子脂質、包含此類脂質之組合物及涉及脂質奈米粒子組合物以遞送一或多種治療劑及/或預防劑至哺乳動物細胞或器官及/或在哺乳動物細胞或器官中產生多肽之方法。除了新穎陽離子脂質以外，本揭示案之脂質奈米粒子組合物亦可包括特定分率之一或多種可離子化胺基脂質、包括多不飽和脂質在內的磷脂、PEG 脂質、結構脂質及/或治療劑及/或預防劑。

【先前技術】

【0002】 有效地靶向遞送諸如小分子藥物、蛋白質及核酸之生物活性物質代表了一項持續的醫學挑戰。詳言之，由於此類物質之相對不穩定性及低細胞滲透性，使得核酸至細胞之遞送變得困難。因此，需要開發促進諸如核酸之治療劑及/或預防劑遞送至細胞之方法及組合物。

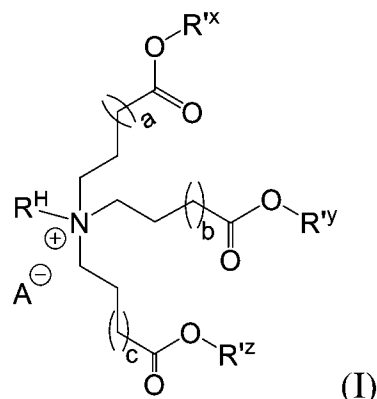
【0003】 已證明含脂質之奈米粒子組合物、脂質體及脂質體複合物有效地作為諸如小分子藥物、蛋白質及核酸之生物活性物質的轉運媒劑進入細胞及/或細胞內隔室中。此類組合物一般包括一或多種「陽離子」及/或胺基(可離子化)脂質、包括多不飽和脂質在內的磷脂、結構脂質(例如固醇)及/或含有聚乙二醇之脂質(PEG 脂質)。陽離子及/或可離子化脂質包括例如可容易地質子化之含胺脂質。儘管多種此類含脂質之奈米粒子組合物已得到證明，但仍缺乏安全性、功效及特異性之改良。

【發明內容】

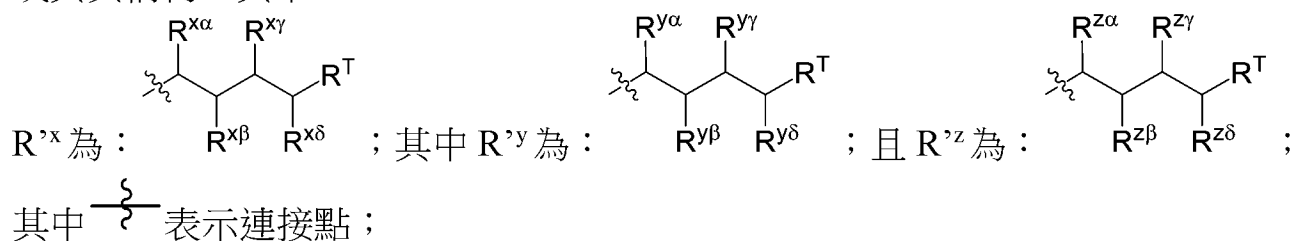
【0004】 本揭示案提供新穎陽離子脂質及組合物(例如，脂質奈米粒子)以及涉

及該等陽離子脂質及組合物之方法。

【0005】 在一些態樣中，本揭示案係關於式(I)之陽離子脂質：



或其異構物，其中：



$R^{x\alpha}$ 、 $R^{x\beta}$ 、 $R^{x\gamma}$ 及 $R^{x\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{y\alpha}$ 、 $R^{y\beta}$ 、 $R^{y\gamma}$ 及 $R^{y\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{z\alpha}$ 、 $R^{z\beta}$ 、 $R^{z\gamma}$ 及 $R^{z\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^H 為 $-(CH_2)_qOH$ ，其中 q 係選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^T 獨立地選自 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基；

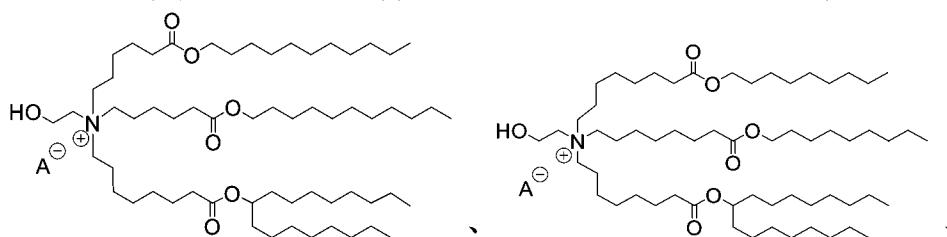
a 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

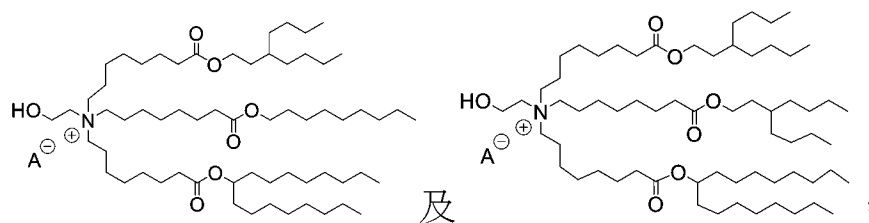
b 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

c 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；且

A^- 為任何醫藥學上可接受之陰離子。

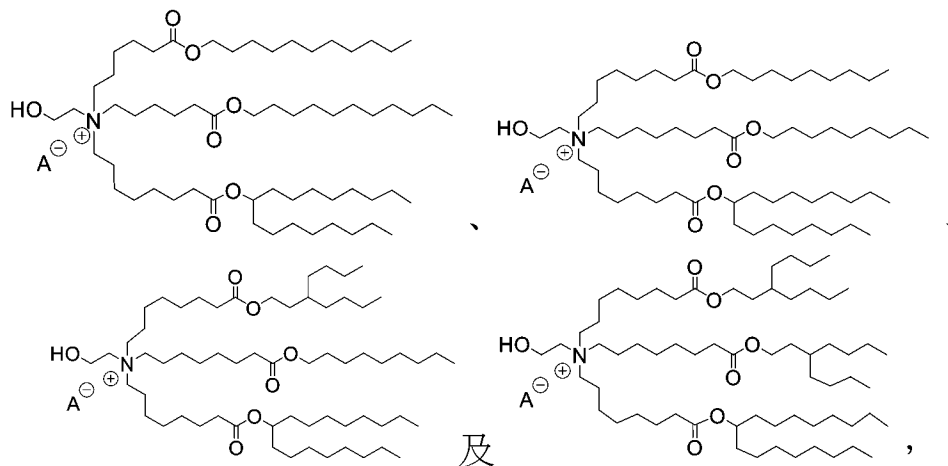
【0006】 在一些實施例中，式(I)之陽離子脂質具有以下結構之一：





其中 A 係選自氯離子、溴離子、碘離子、氫氧根、硫酸根、硫酸氫根、胺基磺酸根、硝酸根、磷酸根、檸檬酸根、甲磺酸根、三氟乙酸根、麩胺酸根、葡糖醛酸根、戊二酸根、蘋果酸根、順丁烯二酸根、琥珀酸根、反丁烯二酸根、酒石酸根、甲苯磺酸根、水楊酸根、乳酸根、萘磺酸根及乙酸根。

【0007】 在一些實施例中，式(I)之陽離子脂質具有以下結構之一：



其中 A 為溴離子、氯離子、氫氧根或其組合。在一些實施例中，A 為溴離子或氫氧根。在一些實施例中，A 為氯離子或氫氧根。在一些實施例中，A 為溴離子。在一些實施例中，A 為氯離子。在一些實施例中，A 為氫氧根。

【實施方式】

相關申請案

【0008】 本申請案主張 2021 年 12 月 10 日提出申請之美國申請案第 63/288,317 號之優先權及權益，該案的完整內容以引用之方式併入本文中。

【0009】 本揭示案提供包括中央胺部分及至少一個生物可降解基團之新穎陽離子脂質。本文所述之陽離子脂質可有利地用於脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)以將治療劑及/或預防劑遞送至哺乳動物細胞或器官。例如，本文所述之

陽離子脂質可有利地用於脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)以將治療劑及/或預防劑遞送至特定哺乳動物細胞或器官。在一些實施例中，本文所述之陽離子脂質可有利地用於脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)以將治療劑及/或預防劑遞送至內皮細胞或肺。

【0010】 本揭示案亦提供包含新穎陽離子脂質之脂質奈米粒子(LNP)以將治療劑及/或預防劑遞送至內皮細胞。例如，此類 LNP 可用於將治療劑及/或預防劑(例如，mRNA 治療劑)遞送至內皮細胞。在一些實施例中，此類 LNP 可用於遞送用於基因編輯之核酸分子、小分子或其他有效載荷以改善內皮細胞功能障礙。在一些實施例中，此類 LNP 可用於將抗原遞送至內皮細胞，其係發炎反應之主要參與者及調控劑。休眠內皮細胞預防凝血，控制血流及血液中之蛋白質傳遞進入組織中，且抑制發炎。在一些實施例中，該抗原係呈存在於 LNP 中之 mRNA 構築體形式，導致多肽或肽表現，使得產生對該抗原之免疫反應。

【0011】 LNP 係用於將治療劑及/或預防劑(例如，mRNA)安全且有效遞送至標靶細胞之理想平臺。LNP 具有遞送治療劑及/或預防劑(例如核酸，例如 mRNA)之獨特能力，其機制涉及細胞攝取、細胞內轉運及內體釋放或內體逃逸。本文所提供之一些實施例提供具有改良特性之 LNP。在一些實施例中，本文所提供之 LNP 包含脂質奈米粒子核心、囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑以及主要安置於奈米粒子之外表面上的陽離子劑。不受特定理論束縛，具有主要安置於核心之外表面上的陽離子劑之 LNP 可改良細胞(諸如人類肺內皮細胞)中之 LNP 積聚，且亦可改良治療劑及/或預防劑之功能，例如，如藉由細胞(例如，肺中的內皮細胞)中之 mRNA 表現所量測。

【0012】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，其中該負載 LNP 在生理 pH 下具有大於中性 ζ 電位。

【0013】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

(a) 負載 LNP 核心，其包含：

(i) 可離子化脂質，

(ii) 磷脂，

(iii) 結構脂質，及

(iv) PEG-脂質，及

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)。

【0014】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，其包含：

(i) 可離子化脂質，

(ii) 磷脂，

(iii) 結構脂質，及

(iv) PEG-脂質，及

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的聚核苷酸或多肽有效載荷治療劑及/或預防劑，及

(c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)。

【0015】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 展現至少約 20%細胞之細胞積聚且在投與該負載 LNP 之細胞

群體中的細胞中展現約 5%或更大表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中的約 1%至約 75%、5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%細胞中展現細胞積聚。

【0016】 在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%細胞中展現表現。

【0017】 在一些實施例態樣中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中的至少約 20%細胞中展現細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 5%或更大表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中的約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%細胞中展現細胞積聚。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0018】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該治療劑及/或預防劑表現蛋白質且其中負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中的細胞中展現約 0.5%至 50%蛋白質表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%蛋白質表現。

【0019】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.5%至 50%蛋白質表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%蛋白質表現。

【0020】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在內皮細胞中展現至少約 20%之細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 5%或更大表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之內皮細胞細胞群體中展現約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%內皮細胞之細胞積聚。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0021】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 0.5%至 50%蛋白質表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%蛋白質表現。

【0022】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之肺細胞中展現約 0.5%至約 50%蛋白質表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之肺內皮細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%蛋白質表現。

【0023】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質負載 LNP 核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在呼吸道內皮細胞中展現至少約 20%之細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞中展現約 5%或更大表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞群體中展現約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%呼吸道內皮細胞之細胞積聚。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0024】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質負載 LNP 核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%蛋白質表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之呼吸

道內皮細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%蛋白質表現。

【0025】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質負載 LNP 核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之 HeLa 細胞中展現約 0.5%至約 50%蛋白質表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之 HeLa 細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%蛋白質表現。

【0026】 在一些實施例中，本文提供一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質負載 LNP 核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑(例如，式(I)之陽離子脂質)，

其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之支氣管內皮細胞群體中的至少約 20%支氣管內皮細胞中展現細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之支氣管內皮細胞中展現約 5%或更大表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞群體中展現約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%呼吸道內皮細胞之細胞積聚。在一些實施例中，該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之肺內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0027】 在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 0.1:1 至約 20:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1 至約 10:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1

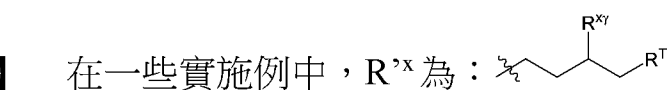
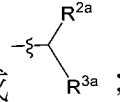
至約 9:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1
至約 8:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1
至約 7:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1
至約 6:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1
至約 5:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1。
在一些實施例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 2:1。在一些實施
例中，陽離子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 3:1。在一些實施例中，陽離
子劑與治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 4:1。在一些實施例中，陽離子劑與治療
劑及/或預防劑之莫耳比為約 5:1。

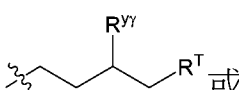
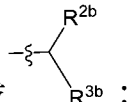
【0028】 在一些實施例中，本揭示案之奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)具
有約 5 mV 至約 20 mV 之 ζ 電位。在一些實施例中，該奈米粒子具有約 5 mV 至
約 15 mV 之 ζ 電位。在一些實施例中，該奈米粒子具有約 5 mV 至約 12 mV 之 ζ
電位。在一些實施例中，該奈米粒子具有約 5 mV 至約 10 mV 之 ζ 電位。

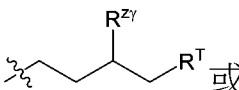
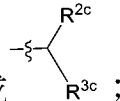
陽離子劑

【0029】 陽離子劑可包含具有淨正電荷之任何水性/有機可溶性分子或物質。
此類劑亦可為脂質可溶性的，但亦可溶於水溶液中。陽離子劑可在生理 pH 下帶
電。生理 pH 係通常在人體中觀察到的 pH 水準。生理 pH 可為約 7.30-7.45 或約
7.35-7.45。生理 pH 可為約 7.40。一般地，陽離子劑在生理 pH 下提供淨正電荷，
因為其含有一或多個鹼性官能基，該等官能基在水性介質中在生理 pH 下質子
化。例如，陽離子劑可含有一或多個胺基，例如各自具有 8.0 或更大之 pKa 的一
級胺、二級胺或三級胺。pKa 可大於約 9。在一些實施例中，陽離子劑為陽離子
脂質(亦即，在生理 pH 下具有正電荷或部分正電荷之脂質)。在一些實施例中，
陽離子劑為式(I)之陽離子脂質。

【0030】 在一些實施例中，當適用時，式(I)之脂質包括一或多種以下特徵。

【0031】 在一些實施例中， R^{x} 為： 或  ；

R^{y} 為： 或  ；

R^{z} 為： 或  ；

其中  表示連接點；

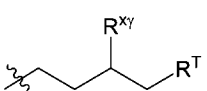
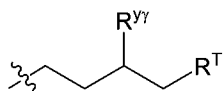
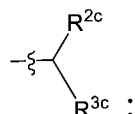
R^{xy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{yy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{zy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；且

R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、 R^{3a} 、 R^{3b} 及 R^{3c} 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群。

【0032】 在一些實施例中，

R^{a} 為： ； R^{b} 為： ；且 R^{c} 為： ；

其中  表示連接點；

R^{xy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{yy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；且

R^{2c} 及 R^{3c} 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群。

【0033】 在一些實施例中， R^{xy} 及 R^{yy} 各自為 H。

【0034】 在一些實施例中， R^{xy} 及 R^{yy} 各自為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基。

【0035】 在一些實施例中， R^{xy} 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基，且 R^{yy} 為 H。

【0036】 在一些實施例中， q 為 2。

【0037】 在一些實施例中，本文所述之式(I)之陽離子脂質適用於製備用於肌內投與之奈米粒子組合物。

【0038】 在一些實施例中，式(I)之陽離子脂質係選自表 1 之脂質或其異構物。

表 1. 陽離子脂質。

化合物	結構	化合物	結構
1		2	
3		4	

其中 A 為溴離子或氫氧根。

定義

【0039】 如本文所用，術語「烷基(alkyl/alkyl group)」意謂包括一或多個碳原子(例如，一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個、十一個、十二個、十三個、十四個、十五個、十六個、十七個、十八個、十九個、二十個或二十個以上碳原子)之直鏈或分支鏈、飽和烴，其視情況經取代。記法「C₁₋₁₄ 烷基」意謂視情況經取代之包括 1-14 個碳原子之直鏈或分支鏈、飽和烴。除非另外規定，否則本文所述之烷基係指未經取代及經取代烷基。如本文所用，「直鏈」烷基意謂直鏈烷基(甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基、正十一烷基或正十二烷基)，其中連接點係在 C₁ 碳處。

【0040】 如本文所用，術語「烯基(alkenyl/alkenyl group)」意謂包括兩個或更多個碳原子(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個、十一個、十二個、十三個、十四個、十五個、十六個、十七個、十八個、十九個、二十個或二十個以上碳原子)及至少一個雙鍵之直鏈或分支鏈烴，其視情況經取代。記法「C₂₋₁₄ 烯基」意謂視情況經取代之包括 2-14 個碳原子及至少一個碳-碳

雙鍵之直鏈或分支鏈烴。烯基可包括一個、兩個、三個、四個或四個以上碳-碳雙鍵。例如， C_{18} 烯基可包括一或多個雙鍵。包括兩個雙鍵之 C_{18} 烯基可為亞油烯基。除非另外規定，否則本文所述之烯基係指未經取代及經取代烯基。

【0041】 如本文所用，術語「炔基(alkynyl)」或「炔基(alkynyl group)」意謂包括兩個或更多個碳原子(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個、十一個、十二個、十三個、十四個、十五個、十六個、十七個、十八個、十九個、二十個或二十個以上碳原子)及至少一個碳-碳三鍵之直鏈或分支鏈烴，其視情況經取代。記法「 C_{2-14} 炔基」意謂視情況經取代之包括 2-14 個碳原子及至少一個碳-碳三鍵之直鏈或分支鏈烴。炔基可包括一個、兩個、三個、四個或四個以上碳-碳三鍵。例如， C_{18} 炔基可包括一或多個碳-碳三鍵。除非另外規定，否則本文所述之炔基係指未經取代及經取代炔基。

【0042】 如本文所用，術語「碳環(carbocycle)」或「碳環基(carbocyclic group)」意謂視情況經取代之包括一或多個碳原子環之單環或多環系統。環可為三員、四員、五員、六員、七員、八員、九員、十員、十一員、十二員、十三員、十四員、十五員、十六員、十七員、十八員、十九員或二十員環。記法「 C_{3-6} 碳環」意謂包括具有 3-6 個碳原子之單環的碳環。碳環可包括一或多個碳-碳雙鍵或三鍵且可為非芳族的或芳族的(例如，環烷基或芳基)。碳環可為單環或多環(例如，稠環、橋接環或螺環)系統。碳環之實例包括環丙基、環戊基、環己基、苯基、萘基及 1,2-二氫萘基。如本文所用，術語「環烷基」意謂非芳族碳環且可或可不包括任何雙鍵或三鍵。除非另外規定，否則本文所述之碳環係指未經取代及經取代碳環基，亦即視情況經取代之碳環。在一些實施例中，碳環為 C_{3-8} 環烷基。在一些實施例中，碳環為 C_{3-6} 環烷基。在一些實施例中，碳環為 C_{6-10} 芳基。

【0043】 「芳基」包括具有芳族性之基團，包括具有至少一個芳環且在該環結構中不含任何雜原子之「共軛」或多環系統。實例包括苯基、苄基、1,2,3,4-四

氫萘基等。在一些實施例中，「芳基」係具有芳族性之 C_{6-10} 碳環(例如，「芳基」為 C_{6-10} 芳基)。

【0044】 如本文所用，術語「雜環(heterocycle)」或「雜環基(heterocyclic group)」意謂視情況經取代之包括一或多個環之單環或多環系統，其中至少一個環包括至少一個雜原子。雜原子可為例如氮、氧或硫原子。環可為三員、四員、五員、六員、七員、八員、九員、十員、十一員、十二員、十三員或十四員環。雜環可包括一或多個雙鍵或三鍵且可為非芳族的或芳族的(例如，雜環烷基或雜芳基)。雜環之實例包括咪唑基、咪唑啉基、噁唑基、噁唑啉基、噻唑基、噻唑啉基、吡啶基、吡啉基、異噁唑啉基、異噁唑基、異噻唑啉基、異噻唑基、嗎啉基、吡咯基、吡咯啉基、呋喃基、四氫呋喃基、噻吩基、吡啶基、哌啶基、喹啉基及異喹啉基。如本文所用，術語「雜環烷基」意謂非芳族雜環且可或可不包括任何雙鍵或三鍵。除非另外規定，否則本文所述之雜環係指未經取代及經取代雜環基，亦即視情況經取代之雜環。在一些實施例中，雜環為 4 至 12 員雜環烷基。在一些實施例中，雜環為 5 員或 6 員雜芳基。

【0045】 「雜芳基」意謂如上文所定義之芳基，除了在環結構中具有一至四個雜原子，且亦可稱作「芳基雜環」或「雜芳族化合物」。如本文所用，術語「雜芳基」意欲包括穩定的 5 員、6 員或 7 員單環或 7 員、8 員、9 員、10 員、11 員或 12 員雙環芳族雜環，該雜環由碳原子及獨立地選自由氮、氧、硫及硼組成之群之一或多個雜原子，例如 1 個或 1-2 個或 1-3 個或 1-4 個或 1-5 個或 1-6 個雜原子或例如 1、2、3、4、5 或 6 個雜原子組成。氮原子可經取代或未經取代(亦即 N 或 NR，其中 R 為 H 或如所定義之其他取代基)。氮及硫雜原子可視情況氧化(亦即 $N \rightarrow O$ 及 $S(O)_p$ ，其中 $p = 1$ 或 2)。

【0046】 雜芳基之實例包括吡咯、呋喃、噻吩、噻唑、異噻唑、咪唑、三唑、四唑、吡啶、噁唑、異噁唑、吡啶、吡嗪、嗒嗪、嘧啶及其類似物。

【0047】 此外，術語「芳基」及「雜芳基」包括多環芳基及雜芳基，例如三環、雙環，例如萘、苯并噁唑、苯并二噁唑、苯并噻唑、苯并咪唑、苯并噻吩、喹啉、異喹啉、萘啉(naphthrydine)、吡啶、苯并呋喃、嘌呤、苯并呋喃、去氮雜嘌呤、吡嗪。

【0048】 如本文所用，「生物可降解基團」係可促進哺乳動物實體中脂質之更快速代謝之基團。生物可降解基團可選自由但不限於-C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR')O-、-S(O)₂-、芳基及雜芳基組成之群。如本文所用，「芳基」係視情況經取代之包括一或多個芳環之碳環基。芳基之實例包括苯基及萘基。如本文所用，「雜芳基」係視情況經取代之包括一或多個芳環之雜環基。雜芳基之實例包括吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑基及噻唑基。芳基及雜芳基均可視情況經取代。例如，M 及 M' 可選自由視情況經取代之苯基、噁唑及噻唑組成之非限制性群。在本文中之各式中，M 及 M' 可獨立地選自上文生物可降解基團之清單。除非另外規定，否則本文所述之芳基或雜芳基係指未經取代及經取代基團，亦即視情況經取代之芳基或雜芳基。

【0049】 除非另外規定，否則烷基、烯基及環基(例如，碳環基及雜環基)可視情況經取代。視情況選用之取代基可選自由但不限於鹵素原子(例如，氯化物、溴化物、氟化物或碘化物基團)、羧酸(例如-C(O)OH)、醇(例如羥基、-OH)、酯(例如-C(O)OR 或-OC(O)R)、醛(例如-C(O)H)、羰基(例如-C(O)R，或者由 C=O 表示)、醯基鹵(例如-C(O)X，其中 X 係選自溴化物、氟化物、氯化物及碘化物之鹵化物)、碳酸酯(例如-OC(O)OR)、烷氧基(例如-OR)、縮醛(例如-C(OR)₂R^{'''})，其中各 OR 係可相同或不同之烷氧基且 R^{'''} 為烷基或烯基)、磷酸酯(例如 P(O)₄³⁻)、硫醇(例如-SH)、亞磺(例如-S(O)R)、亞磺酸(例如-S(O)OH)、磺酸(例如-S(O)₂OH)、硫醛(例如-C(S)H)、硫酸酯(例如 S(O)₄²⁻)、磺醯基(例如-S(O)₂-)、醯胺(例如-

C(O)NR₂ 或-N(R)C(O)R)、疊氮基(例如-N₃)、硝基(例如-NO₂)、氰基(例如-CN)、異氰基(例如-NC)、醯氧基(例如-OC(O)R)、胺基(例如-NR₂、-NRH 或-NH₂)、胺甲醯基(例如-OC(O)NR₂、-OC(O)NRH 或-OC(O)NH₂)、磺醯胺(例如-S(O)₂NR₂、-S(O)₂NRH、-S(O)₂NH₂、-N(R)S(O)₂R、-N(H)S(O)₂R、-N(R)S(O)₂H 或-N(H)S(O)₂H)、烷基、烯基及環基(例如，碳環基或雜環基)組成之群。在前述任一者中，R 係如本文所定義之烷基或烯基。在一些實施例中，該等取代基自身可進一步經例如一個、兩個、三個、四個、五個或六個如本文所定義之取代基取代。例如，C₁₋₆ 烷基可進一步經一個、兩個、三個、四個、五個或六個如本文所述之取代基取代。

【0050】 本揭示案之含氮脂質可藉由用氧化劑(例如 3-氯過氧基苯甲酸 (*m*CPBA)及/或過氧化氫)處理而轉化為 N-氧化物以提供本揭示案之其他脂質。因此，當價態及結構允許時，所有所顯示及主張之含氮脂質均被視為包括如所示之脂質及其 N-氧化物衍生物(其可經指定為 N→O 或 N⁺-O⁻)。此外，在其他情況下，本揭示案之脂質中的氮可轉化為 N-羥基或 N-烷氧基脂質。例如，N-羥基脂質可藉由利用諸如 *m*-CPBA 之氧化劑氧化母胺來製備。當價態及結構允許時，所有所顯示及主張之含氮脂質亦被視為涵蓋如所示之脂質及其 N-羥基(亦即 N-OH)及 N-烷氧基(亦即 N-OR，其中 R 為經取代或未經取代 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 烯基、C₁-C₆ 炔基、3-14 員碳環或 3-14 員雜環)衍生物。

【0051】 約、大約：如本文所用，如應用於一或多個所關注之值的術語「大約」及「約」係指類似於所陳述之參考值之值。在某些實施例中，除非另外規定或在其他方面自本文顯而易知(除了該數字將超過可能之值之 100%的情況)，否則術語「大約」或「約」係指值之範圍，該範圍屬所陳述之參考值在任一方向(大於或小於)的 25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更低以內。例如，當在奈

米粒子組合物之脂質組分中之既定脂質的量之背景中使用時，「約」可意謂所陳述之值的 $\pm 10\%$ 。例如，包括具有約 40%之既定脂質之脂質組分的奈米粒子組合物可包括 30-50%之該脂質。

【0052】 如本文所用，術語「脂質」意欲包括所描繪之結構的所有異構物及同位素。「同位素」係指具有相同原子序數但由於原子核中不同數目之中子而具有不同質量數之原子。例如，氫之同位素包括氕及氘。此外，本揭示案之脂質、鹽或複合物可藉由常規方法與溶劑或水分子組合製備以形成溶劑合物及水合物。

【0053】 如本文所用，術語「接觸(contacting)」意謂在兩個或更多個實體之間建立物理連接。例如，使哺乳動物細胞與奈米粒子組合物接觸意謂使該哺乳動物細胞與奈米粒子共享物理連接。活體內及離體使細胞與外部實體接觸之方法係生物學技術中熟知的。例如，使奈米粒子組合物及安置於哺乳動物內之哺乳動物細胞接觸可藉由變化之投與途徑(例如，靜脈內、肌內、皮內及皮下)執行且可涉及變化量之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)。此外，超過一種哺乳動物細胞可由奈米粒子組合物接觸。

【0054】 如本文所用，術語「遞送(delivering)」意謂向目的地提供實體。例如，向個體遞送治療劑及/或預防劑可涉及向該個體投與包括該治療劑及/或預防劑之奈米粒子組合物(例如，藉由靜脈內、肌內、皮內或皮下途徑)。向哺乳動物或哺乳動物細胞投與奈米粒子組合物可涉及使一或多種細胞與該奈米粒子組合物接觸。

【0055】 如本文所用，術語「增強之遞送(enhanced delivery)」意謂與對照奈米粒子向所關注之標靶組織遞送治療劑及/或預防劑的水準(例如 MC3、KC2 或 DLinDMA)相比，由奈米粒子向所關注之標靶組織(例如，哺乳動物肝或肺)遞送更多(例如，至少 1.5 倍多、至少 2 倍多、至少 3 倍多、至少 4 倍多、至少 5 倍多、至少 6 倍多、至少 7 倍多、至少 8 倍多、至少 9 倍多、至少 10 倍多)治療劑

及/或預防劑。奈米粒子向特定組織遞送之水準可藉由比較組織中產生的蛋白質之量與該組織之重量，比較組織中治療劑及/或預防劑之量與該組織之重量，比較組織中產生的蛋白質之量與該組織中總蛋白質之量，或比較組織中治療劑及/或預防劑之量與該組織中總治療劑及/或預防劑之量來量測。應理解，奈米粒子向標靶組織之增強之遞送無需在所治療的個體中測定，其可在諸如動物模型(例如大鼠模型)之替代物中測定。在某些實施例中，無論投與途徑如何，包括本揭示案之陽離子脂質的奈米粒子組合物具有實質上相同水準之遞送增強。例如，當本文所揭示之某些脂質用於靜脈內或肌內遞送治療劑及/或預防劑時，其展現相似的遞送增強。在其他實施例中，當本文所揭示之某些脂質用於肌內遞送治療劑及/或預防劑時，其展現高於靜脈內之遞送增強水準。

【0056】 如本文所用，術語「特異性遞送(specific delivery)」、「特異性地遞送(specifically deliver)」或「特異性地遞送(specifically delivering)」意謂與脫靶組織(例如，哺乳動物脾)相比，由奈米粒子向所關注之標靶組織(例如，哺乳動物肝或肺)遞送更多(例如，至少 1.5 倍多、至少 2 倍多、至少 3 倍多、至少 4 倍多、至少 5 倍多、至少 6 倍多、至少 7 倍多、至少 8 倍多、至少 9 倍多、至少 10 倍多)治療劑及/或預防劑。奈米粒子向特定組織遞送之水準可藉由比較組織中產生的蛋白質之量與該組織之重量，比較組織中治療劑及/或預防劑之量與該組織之重量，比較組織中產生的蛋白質之量與該組織中總蛋白質之量，或比較組織中治療劑及/或預防劑之量與該組織中總治療劑及/或預防劑之量來量測。例如，關於腎血管靶向，若在治療劑及/或預防劑之全身性投與之後與遞送至肝或脾之彼量相比，每 1 g 組織 1.5 倍、2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、15 倍或 20 倍多的治療劑及/或預防劑遞送至腎，則如與肝及脾相比，治療劑及/或預防劑特異性地提供至哺乳動物腎。應理解，奈米粒子特異性地遞送至標靶組織之能力無需在所治療的個體中測定，其可在諸如動物模型(例如大鼠模型)之替代物中測定。

【0057】 如本文所用，「囊封效率(encapsulation efficiency)」係指相對於用於製備奈米粒子組合物之治療劑及/或預防劑的初始總量，變成奈米粒子組合物之一部分之治療劑及/或預防劑的量。例如，若在最初提供至奈米粒子組合物之總計 100 mg 治療劑及/或預防劑中有 97 mg 治療劑及/或預防劑經囊封於該組合物中，則囊封效率可給出為 97%。如本文所用，「囊封(encapsulation)」可指完全、實質性或部分封閉、限制、圍繞或包裝。

【0058】 如本文所用，「囊封(encapsulation)」、「囊封(encapsulated)」、「負載(loaded)」及「締合(associated)」可指完全、實質性或部分封閉、限制、圍繞或包裝。如本文所用，「囊封」或「締合(association)」可指限制奈米粒子內之個別核酸分子及/或在個別核酸分子與奈米粒子之間建立生理化學聯繫的過程。如本文所用，「空奈米粒子」可指實質上不含治療劑或預防劑之奈米粒子。如本文所用，「空奈米粒子」或「空脂質奈米粒子」可指實質上不含核酸之奈米粒子。如本文所用，「空奈米粒子」或「空脂質奈米粒子」可指實質上不含核苷酸或多肽之奈米粒子。如本文所用，「空奈米粒子」或「空脂質奈米粒子」可指實質上僅由脂質組分組成之奈米粒子。如本文所用，「負載 LNP」、「負載奈米粒子」或「負載脂質奈米粒子」(亦稱作「完全奈米粒子」或「完全脂質奈米粒子」)可指包含空奈米粒子之組分及大量治療劑或預防劑之奈米粒子。在一些實施例中，該負載 LNP 包含至少部分在該 LNP 內部之治療劑或預防劑。在一些實施例中，該負載 LNP 包含大量治療劑或預防劑，其與該 LNP 之表面締合或結合至該 LNP 外部。如本文所用，「負載 LNP」、「負載奈米粒子」或「負載脂質奈米粒子」(亦稱作「完全奈米粒子」或「完全脂質奈米粒子」)可指包含空奈米粒子之組分及大量核苷酸或多肽之奈米粒子。在一些實施例中，該負載 LNP 包含至少部分在該 LNP 內部之核苷酸或多肽。在一些實施例中，該負載 LNP 包含核苷酸或多肽，其與該 LNP 之表面締合或結合至該 LNP 外部。如本文所用，「負載 LNP」、

「負載奈米粒子」或「負載脂質奈米粒子」(亦稱作「完全奈米粒子」或「完全脂質奈米粒子」)可指包含空奈米粒子之組分及大量核酸之奈米粒子。在一些實施例中，該負載 LNP 包含至少部分在該 LNP 內部之核酸(例如，mRNA)。在一些實施例中，該負載 LNP 包含核酸(例如，mRNA)，其與該 LNP 之表面締合或結合至該 LNP 外部。

【0059】 如本文所用，核酸序列之「表現」係指 mRNA 轉譯成多肽或蛋白質及/或多肽或蛋白質之轉譯後修飾。

【0060】 如本文所用，「負載 LNP 之表現」係指包含於該負載 LNP 中之劑的表現。例如，在一些實施例中，該劑為核酸(例如，mRNA)。例如，在一些實施例中，該劑表現蛋白質或多肽。在一些實施例中，該蛋白質為螢光蛋白。例如，在一些實施例中，術語「負載 LNP 展現表現」意謂積聚於細胞中之負載 LNP 將劑遞送至細胞，且該劑(例如核酸，例如 mRNA)在細胞中表現例如蛋白質或多肽。

【0061】 如本文所用，脂質之「疏水性」描述脂質排除水之傾向。在一些實施例中，脂質奈米粒子表面之疏水性影響脂質奈米粒子滲透通過細胞之脂質雙層。在一些實施例中，疏水性奈米粒子相對於親水性脂質奈米粒子顯示增加之細胞攝取。

【0062】 如本文所用，術語「活體外」係指事件發生於人工環境中，例如試管或反應容器中、細胞培養物中、培養皿等中，而非發生於生物體(例如動物、植物或微生物)內。

【0063】 如本文所用，術語「活體內」係指事件發生於生物體(例如動物、植物或微生物或其細胞或組織)內。

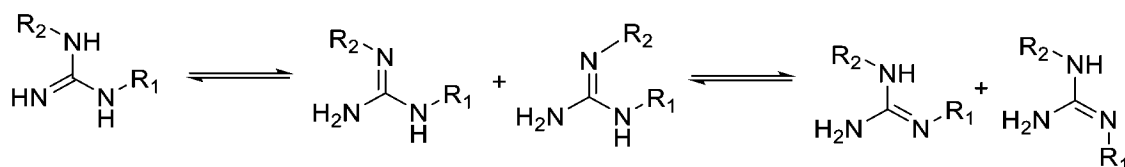
【0064】 如本文所用，術語「離體」係指事件發生於生物體(例如動物、植物或微生物或其細胞或組織)外部。離體事件可發生於自天然(例如活體內)環境最低程度地改變之環境中。

【0065】 如本文所用，術語「異構物」意謂化合物(例如，本揭示案之脂質)之任何幾何異構物、互變異構物、兩性離子、立體異構物、鏡像異構物或非鏡像異構物。化合物(例如，本揭示案之脂質)可包括一或多個對掌性中心及/或雙鍵且可因此作為立體異構物，諸如雙鍵異構物(亦即，幾何 E/Z 異構物)或非鏡像異構物(例如，鏡像異構物(亦即，(+))或(-))或順式/反式異構物)存在。本揭示案涵蓋本文所述之脂質的任何及所有異構物，包括立體異構物純形式(例如，幾何異構物純、鏡像異構物純或非鏡像異構物純)以及鏡像異構物及立體異構物混合物(例如外消旋物)。脂質之鏡像異構物及立體異構物混合物以及將其解析成其組分鏡像異構物或立體異構物之方式係熟知的。

【0066】 「互變異構物」係平衡存在且易於自一種異構物形式轉化成另一異構物形式之兩種或更多種結構異構物之一。此轉化導致氫原子之形式遷移，伴隨相鄰的共軛雙鍵之轉換。互變異構物作為溶液中之互變異構物集合的混合物存在。在其中可能發生互變異構之溶液中，將達到互變異構物之化學平衡。互變異構物之精確比率取決於數種因素，包括溫度、溶劑及 pH。可藉由互變異構相互轉化之互變異構物的概念係稱作互變異構現象。

【0067】 在可能存在的數種類型之互變異構現象中，通常觀察到兩種。在酮-烯醇互變異構現象中，發生電子及氫原子之同時位移。由於糖鏈分子中之醛基(-CHO)與該同一分子中之一羥基(-OH)反應使其呈如由葡萄糖展現之環狀(環形)形式，發生環鏈互變異構現象。

【0068】 常見互變異構物對係：酮-烯醇、醯胺-脞、內醯胺-內醯亞胺、雜環中(例如，諸如鳥嘌呤、胸腺嘧啶及胞嘧啶之核鹼基中)之醯胺-亞胺酸互變異構現象、亞胺-烯胺及烯胺-烯胺。二取代脞中之互變異構現象的實例顯示於下文中。



【0069】 應理解，本揭示案之脂質可描繪為不同的互變異構物。亦應理解，當脂質具有互變異構物形式時，所有互變異構物形式均意欲包括於本揭示案之範圍內，且該等脂質之命名不排除任何互變異構物形式。

【0070】 如本文所用，「脂質組分」係包括一或多種脂質之奈米粒子組合物的彼組分。例如，脂質組分可包括一或多種陽離子脂質、可離子化脂質、PEG 化、結構或其他脂質，諸如磷脂。在本揭示案之空 LNP 或負載 LNP 之一些實施例中，脂質組分包含至少一種陽離子脂質及至少一種可離子化脂質。

【0071】 如本文所用，「連接體」係連接兩個部分之部分，例如帽物質之兩個核苷之間的連接。連接體可包括一或多個基團，包括但不限於磷酸酯基(例如，磷酸酯、硼烷磷酸酯、硫代磷酸酯、硒代磷酸酯及磷酸酯)、烷基、醯胺化物或甘油。例如，帽類似物之兩個核苷可在其 5'位置處由三磷酸酯基或由包括兩個磷酸酯部分及一個硼烷磷酸酯部分之鏈連接。

【0072】 如本文所用，「投與方法」可包括靜脈內、肌內、皮內、皮下或向個體遞送組合物之其他方法。可選擇一種投與方法以靶向遞送(例如，特異性地遞送)至身體之特定區或系統。

【0073】 如本文所用，「經修飾」意謂非天然。例如，RNA 可為經修飾 RNA。亦即，RNA 可包括一或多個非天然存在之核鹼基、核苷、核苷酸或連接體。「經修飾」物質亦可在本文中稱作「改變之」物質。物質可以化學方式、在結構上或在功能上經修飾或改變。例如，經修飾核鹼基物質可包括一或多種非天然存在之取代。

【0074】 如本文所用，「N:P 比率」係例如在包括脂質組分及 RNA 之奈米粒子組合物中的脂質中之可離子化(在生理 pH 範圍中)氮原子:RNA 中之磷酸酯基的莫耳比率。

【0075】 如本文所用，「奈米粒子組合物」係包含一或多種脂質之組合物。奈

米粒子組合物之大小通常在微米或更小數量級，且可包括脂質雙層。奈米粒子組合物涵蓋脂質奈米粒子(LNP)、脂質體(例如脂質囊泡)及脂質體複合物。例如，奈米粒子組合物可為含有具有 500 nm 或更小之直徑之脂質雙層的脂質體。

【0076】 如本文所用，「天然存在」意謂無人工輔助而存在於自然界中。

【0077】 如本文所用，「患者」係指可尋求或需要治療、要求治療、正在接受治療、將接受治療之個體，或處於針對特定疾病或疾患受過訓練的專業人員之護理下的個體。

【0078】 如本文所用，「PEG 脂質」或「PEG 化脂質」係指包含聚乙二醇組分之脂質。

【0079】 片語「醫藥學上可接受」在本文中用於指在合理醫學判斷之範圍內適合與人類及動物組織接觸使用而無過量毒性、刺激、過敏性反應或其他問題或併發症，與合理效益/風險比率相稱之彼等化合物、陰離子、陽離子、材料、組合物、載劑及/或劑型。

【0080】 如本文所用，片語「醫藥學上可接受之賦形劑」係指除本文所述之脂質以外(例如，能夠懸浮、複合或溶解該活性脂質之媒劑)且具有在患者中實質上無毒且非炎性之特性的任何成分。賦形劑可包括例如：抗黏劑、抗氧化劑、黏合劑、包衣、壓縮助劑、崩解劑、染料(色料)、潤膚劑、乳化劑、填充劑(稀釋劑)、成膜劑或包衣、調味劑、芳香劑、助流劑(流動增強劑)、潤滑劑、防腐劑、印刷油墨、吸附劑、懸浮或分散劑、甜味劑及水合水。例示性賦形劑包括但不限於：丁基化羥基甲苯(BHT)、碳酸鈣、磷酸鈣(二鹽基性的)、硬脂酸鈣、交聯羧甲纖維素、交聯聚乙烯吡咯啉酮、檸檬酸、交聯聚維酮、半胱胺酸、乙基纖維素、明膠、羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、乳糖、硬脂酸鎂、麥芽糖醇、甘露糖醇、甲硫胺酸、甲基纖維素、對羥基苯甲酸甲酯、微晶纖維素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯啉酮、聚維酮、預膠凝澱粉、對羥基苯甲酸丙酯、視黃醇棕櫚酸酯、蟲

膠、二氧化矽、羧基甲基纖維素鈉、檸檬酸鈉、乙醇酸澱粉鈉、山梨糖醇、澱粉(玉米)、硬脂酸、蔗糖、滑石、二氧化鈦、維生素 A、維生素 E (α -生育酚)、維生素 C、木糖醇及本文所揭示之其他物質。

【0081】 在本說明書中，脂質之結構式在一些情況下為方便起見表示特定異構物，但本揭示案包括所有異構物，諸如幾何異構物、基於不對稱碳之光學異構物、立體異構物、互變異構物及其類似物，應理解並非所有異構物均可具有相同活性水準。此外，關於由該式表示之脂質，可存在晶體多態性。應注意，任何晶形、晶形混合物或其酞或水合物均包括於本揭示案之範圍中。

【0082】 術語「晶體多晶型物」、「多晶型物」或「晶形」意謂晶體結構，其中化合物(例如本揭示案之脂質；或其鹽或溶劑合物)可以不同的晶體堆積排列結晶，所有該等晶體堆積排列均具有相同元素組成。不同晶形通常具有不同的 X 射綫繞射圖案、紅外光譜、熔點、密度硬度、晶體形狀、光學及電學特性、穩定性及溶解度。再結晶溶劑、結晶速率、儲存溫度及其他因素可使一種晶形占優勢。脂質之晶體多晶型物可藉由在不同條件下結晶來製備。

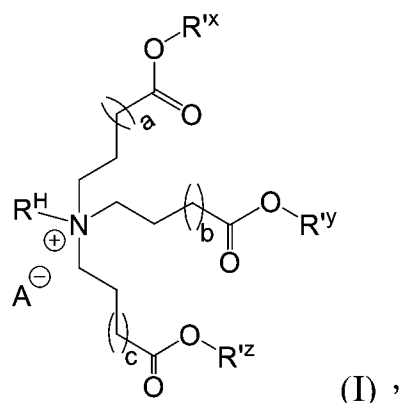
【0083】 若適用，則本揭示案之化合物包括該等化合物自身以及其鹽及其溶劑合物。例如，鹽可在陰離子與帶正電基團(例如，四級胺基)之間形成。合適陰離子包括氯離子、溴離子、碘離子、硫酸根、硫酸氫根、胺基磺酸根、硝酸根、磷酸根、檸檬酸根、氫氧根、甲磺酸根、三氟乙酸根、麩胺酸根、葡糖醛酸根、戊二酸根、蘋果酸根、順丁烯二酸根、琥珀酸根、反丁烯二酸根、酒石酸根、甲磺酸根、水楊酸根、乳酸根、萘磺酸根及乙酸根(例如，三氟乙酸根)。術語「醫藥學上可接受之陰離子」係指適合形成醫藥學上可接受之鹽的陰離子。在鹽形式中，應理解化合物與鹽之陽離子或陰離子之比率可為 1:1，或除 1:1 以外的任何比率，例如 3:1、2:1、1:2 或 1:3。

【0084】 組合物亦可包括一或多種脂質之鹽。鹽可為醫藥學上可接受之鹽。

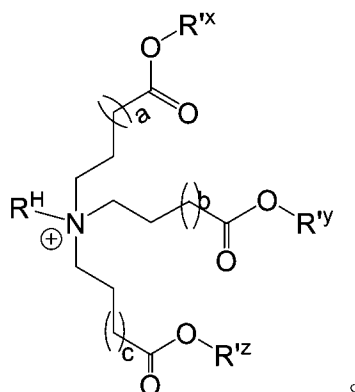
如本文所用，「醫藥學上可接受之鹽」係指所揭示之脂質的衍生物，其中母脂質藉由將現有酸或鹼部分轉化為其鹽形式(例如，藉由使游離鹼基與合適有機酸反應)而發生改變。醫藥學上可接受之鹽的實例包括但不限於諸如胺之鹼性殘基的無機或有機酸鹽；諸如羧酸之酸性殘基的鹼金屬或有機鹽；及其類似物。代表性酸加成鹽包括乙酸鹽、己二酸鹽、海藻酸鹽、抗壞血酸鹽、天冬胺酸鹽、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、硫酸氫鹽、硼酸鹽、丁酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、檸檬酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡萄糖酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、葡庚糖酸鹽、甘油磷酸鹽、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基-乙磺酸鹽、乳糖酸鹽、乳酸鹽、月桂酸鹽、月桂基硫酸鹽、蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、丙二酸鹽、甲磺酸鹽、2-萘磺酸鹽、菸鹼酸鹽、硝酸鹽、油酸鹽、草酸鹽、棕櫚酸鹽、雙羥萘酸鹽、果膠酸鹽、過硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、磷酸鹽、苦味酸鹽、特戊酸鹽、丙酸鹽、硬脂酸鹽、琥珀酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽、甲苯磺酸鹽、十一烷酸鹽、戊酸鹽及其類似物。代表性鹼金屬或鹼土金屬鹽包括鈉、鋰、鉀、鈣、鎂及其類似物；以及無毒銨、四級銨及胺陽離子，包括但不限於銨、四甲基銨、四乙基銨、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺及其類似物。本揭示案之醫藥學上可接受之鹽包括例如由無毒無機或有機酸形成的母脂質之習知無毒鹽。本揭示案之醫藥學上可接受之鹽可藉由習知化學方法由含有鹼性或酸性部分的母脂質合成。一般而言，該等鹽可藉由使此等脂質之游離酸或鹼形式與化學計量之量的適當鹼或酸在水中或在有機溶劑中或在兩者之混合物中反應來製備；一般而言，非水性介質為較佳的，如醚、乙酸乙酯、乙醇、異丙醇或乙腈。

【0085】 應理解，若適用，則本揭示案之化合物包括該等化合物自身以及其離子衍生物。如本文所用，術語「離子衍生物」係指所提及結構之離子形式。該離子形式可為游離陽離子、游離陰離子或兩性離子。例如，當結構在本文中描述

為鹽時，本揭示案意欲包括該結構之相應游離陽離子，或該結構之相應游離陰離子。例如，式(I)化合物：



意欲包括其相應游離陽離子：



【0086】 如本文所用，「磷脂」係包括磷酸酯部分及一或多個碳鏈(諸如不飽和脂肪酸鏈)之脂質。磷脂可包括一或多個多重(例如，雙或三)鍵(例如，一或多個不飽和)。特定磷脂可促進與膜之融合。例如，陽離子磷脂可與膜(例如，細胞或細胞內膜)之一或多種帶負電荷的磷脂相互作用。磷脂與膜之融合可允許含脂質之組合物之一或多種要素通過膜，從而允許例如將該一或多種要素遞送至細胞。

【0087】 如本文所用，「多分散性指數」或「PDI」係描述系統之粒徑分佈之均質性的比率。例如小於 0.3 之小值指示狹窄粒徑分佈。

【0088】 如本文所用，術語「多肽」或「所關注之多肽」係指典型地藉由肽鍵接合之胺基酸殘基的聚合物，其可天然地(例如，經分離或經純化)或以合成方式產生。術語「多肽」、「肽」及「蛋白質」在本文中可互換使用以指任何長度之

胺基酸的聚合物。該聚合物可包含經修飾胺基酸。該等術語亦涵蓋已天然地或藉由干預經修飾之胺基酸聚合物；例如二硫鍵形成、糖基化、脂質化、乙醯化、磷酸化或任何其他操縱或修飾，諸如與標記組分結合。該定義內亦包括例如含有胺基酸(包括例如非天然胺基酸，諸如高半胱胺酸、鳥胺酸、對乙醯基苯基丙胺酸、D-胺基酸及肌胺酸)之一或多種類似物以及此項技術中已知之其他修飾的多肽。如本文所用，該術語係指任何大小、結構或功能之蛋白質、多肽及肽。多肽包括經編碼聚核苷酸產物、天然存在之多肽、合成多肽、前述各物之同系物、直系同源物、旁系同源物、片段及其他等效物、變異體及類似物。多肽可為單體或可為多分子複合物，諸如二聚體、三聚體或四聚體。其亦可包含單鏈或多鏈多肽。最常見地，二硫鍵發現於多鏈多肽中。術語多肽亦可適用於胺基酸聚合物，其中一或多個胺基酸殘基為相應的天然存在之胺基酸之人工化學類似物。在一些實施例中，「肽」可為小於或等於 50 個胺基酸長，例如約 5、10、15、20、25、30、35、40、45 或 50 個胺基酸長。

【0089】 如本文所用，「RNA」係指可天然或非天然存在之核糖核酸。例如，RNA 可包括經修飾及/或非天然存在之組分，諸如一或多種核鹼基、核苷、核苷酸或連接體。RNA 可包括帽結構、鏈終止核苷、莖環、polyA 序列及/或聚腺苷酸化信號。RNA 可具有編碼所關注之多肽的核苷酸序列。

【0090】 如本文所用，「DNA」係指可天然或非天然存在之去氧核糖核酸。例如，DNA 可為合成分子，例如活體外產生之合成 DNA 分子。在一些實施例中，DNA 分子為重組分子。如本文所用，「重組 DNA 分子」係指並非作為天然產物存在，而是使用分子生物學技術產生之 DNA 分子。

【0091】 如本文所用，「單一單位劑量」係以一個劑量/同時/單一途徑/單一接觸點(亦即，單一投與事件)投與之任何治療劑之劑量。

【0092】 如本文所用，「分次劑量」係將單一單位劑量或總每日劑量分成兩個

或更多個劑量。

【0093】 如本文所用，「總每日劑量」係以 24 小時時期給出或開具處方之量。其可作為單一單位劑量投與。

【0094】 如本文所用，在脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)背景中之「大小」或「平均大小」係指奈米粒子組合物之平均直徑。

【0095】 如本文所用，術語「個體」或「患者」係指可例如出於實驗、診斷、預防及/或治療目的投與根據本揭示案之組合物之任何生物體。典型個體包括動物(例如哺乳動物，諸如小鼠、大鼠、兔、非人類靈長類動物及人類)及/或植物。

【0096】 如本文所用，「靶向細胞」係指所關注之任何一或多種細胞。該等細胞可發現於生物體之活體外、活體內、原位或者組織或器官中。生物體可為動物，較佳哺乳動物，更佳人類且最佳患者。

【0097】 如本文所用，「標靶組織」係指所關注之任何一或多種組織類型，其中治療劑及/或預防劑之遞送將達成所需的生物及/或藥理效應。所關注之標靶組織之實例包括特定組織、器官及系統或其組。在特定應用中，標靶組織可為腎、肺、脾、在血管中(例如，冠狀動脈內或股動脈內)之血管內皮或腫瘤組織(例如，經由腫瘤內注射)。「脫靶組織」係指任何一或多種組織類型，其中編碼蛋白之表現不會達成所需的生物及/或藥理效應。在特定應用中，脫靶組織可包括肝及脾。

【0098】 術語「治療劑」或「預防劑」係指當投與至個體時具有治療、診斷及/或預防效應及/或引起所需的生物及/或藥理效應之任何劑。治療劑亦稱作「活性劑(active)」或「活性劑(active agent)」。該等劑包括但不限於細胞毒素、放射性離子、化學治療劑、小分子藥物、蛋白質及核酸。

【0099】 如本文所用，術語「治療有效量」意謂欲遞送之劑(例如，核酸、藥物、組合物、治療劑、診斷劑、預防劑等)的量，該量當投與至罹患或易經受感

染、疾病、病症及/或疾患之個體時足以治療該感染、疾病、病症及/或疾患，改良其症狀，診斷、預防該感染、疾病、病症及/或疾患，及/或延遲其發作。

【0100】 如本文所用，「轉染」係指將物質(例如 RNA)引入細胞中。轉染可例如活體外、離體或活體內發生。

【0101】 如本文所用，術語「治療」係指部分地或完全地緩解、改善、改良、減輕特定感染、疾病、病症及/或疾患，延遲其發作，抑制其進展，降低其嚴重程度，及/或降低其一或多種症狀或特徵之發生率。例如，「治療」癌症可指抑制腫瘤之生存、生長及/或擴散。出於降低發展與疾病、病症及/或疾患相關之病理之風險的目的，治療可投與至未展現疾病、病症及/或疾患之病徵的個體，及/或投與至僅展現疾病、病症及/或疾患之早期病徵的個體。

【0102】 如本文所用，「 ζ 電位」係例如粒子組合物中之脂質之動電位。

奈米粒子組合物

【0103】 本揭示案亦提供包含如本文所述之根據式(I)之陽離子脂質的脂質奈米粒子(例如，空 LNP 或負載 LNP)。

【0104】 在一些實施例中，奈米粒子組合物之最大尺寸係 1 μm 或更短(例如，1 μm 、900 nm、800 nm、700 nm、600 nm、500 nm、400 nm、300 nm、200 nm、175 nm、150 nm、125 nm、100 nm、75 nm、50 nm 或更短)，例如當藉由動態光散射(DLS)、透射電子顯微術、掃描電子顯微術或另一方法量測時。奈米粒子組合物包括例如脂質奈米粒子(LNP；例如，空 LNP 或負載 LNP)、脂質體、脂質囊泡及脂質體複合物。在一些實施例中，奈米粒子組合物係包括一或多個脂質雙層之囊泡。在某些實施例中，奈米粒子組合物包括由水性隔室分開之兩個或更多個同心雙層。脂質雙層可經官能化及/或彼此交聯。脂質雙層可包括一或多種配位體、蛋白質或通道。

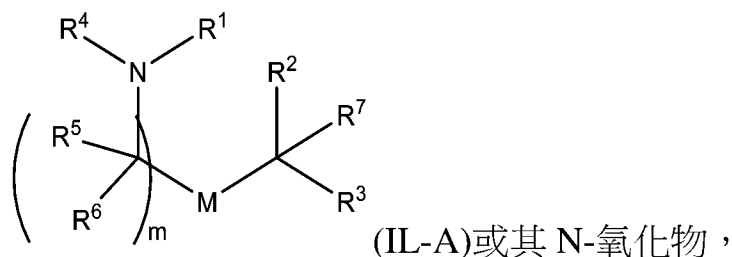
【0105】 本揭示案之脂質奈米粒子(例如，空 LNP 或負載 LNP)包含至少一種

根據式(I)之陽離子脂質。在一些實施例中，本揭示案之空 LNP 或負載 LNP 包括表 1 之一或多種陽離子脂質。奈米粒子組合物亦可包括多種其他組分。例如，在一些實施例中，除根據式(I)之脂質以外，該空 LNP 或負載 LNP 亦包括一或多種可離子化脂質。

可離子化脂質

【0106】 在一些實施例中，除式(I)之陽離子脂質以外，本揭示案之脂質奈米粒子(例如，空 LNP 或負載 LNP)進一步包括一或多種可離子化脂質。

【0107】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-A)化合物：

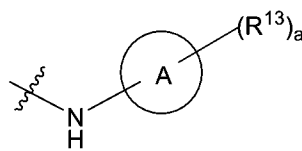


或其鹽或異構物，其中：

R^1 係選自由 C_{5-30} 烷基、 C_{5-20} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R''M'R'$ 組成之群；

R^2 及 R^3 獨立地選自由 H、 C_{1-14} 烷基、 C_{2-14} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R^*OR''$ 組成之群，或 R^2 及 R^3 連同其所連接之原子形成雜環或碳環；

R^4 係選自由氫、 C_{3-6} 碳環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{12})_2(CH_2)_{n-o}Q$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、 $-C(O)NQR$ 及未經取代 C_{1-6} 烷基組成之群，其中 Q 係選自碳環、雜環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、 $-(CH_2)_nN(R)_2$



及 $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ 、 $NR^AS(O)_2R^{SX}$ 及 $\text{---}\overset{\text{wavy}}{\text{N}}\text{---}$ ，其中 A 係含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環；且 a 為 1、2、3 或 4；其中 $\text{---}\overset{\text{wavy}}{\text{N}}\text{---}$ 表示連接點；

各 o 獨立地選自 1、2、3 及 4；且各 n 獨立地選自 1、2、3、4 及 5；

R^8 係選自由 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^9 係選自由 H、CN、 NO_2 、 C_{1-6} 烷基、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} 烯基、 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^{12} 係選自由 H、OH、 C_{1-3} 烷基及 C_{2-3} 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{1-3} 烷基-芳基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^A 係選自 H 及 C_{1-3} 烷基；

R^{SX} 係選自 C_{3-8} 碳環、含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 $(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{p2}R^{SX1}$ 及 $(CH_2)_{p1}R^{SX1}$ ，其中該碳環及該雜環視情況經一或多個選自側氧基、 C_{1-6} 烷基及 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基之基團取代；

R^{SX1} 係選自 $C(O)NR^{14}R^{14'}$ 、 C_{3-8} 碳環及含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環，其中該碳環及該雜環各自視情況經一或多個選自側氧基、鹵基、 C_{1-3} 烷基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基及 NH_2 之基團取代；

各 R^{13} 係選自由 OH、側氧基、鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基、 NH_2 、 $C(O)NH_2$ 、CN 及 NO_2 組成之群；

R^{14} 及 $R^{14'}$ 各自獨立地選自由 H 及 C_{1-6} 烷基組成之群；

p_1 係選自 1、2、3、4 及 5；

p_2 係選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^5 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

各 R^6 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^7 係選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

M 及 M' 獨立地選自 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R^M)-$ 、 $-N(R^M)C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(O R^M)O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、芳基及雜芳基，其中 M'' 為鍵、 C_{1-13} 烷基或 C_{2-13} 烯基；

各 R^M 獨立地選自由 H、 C_{1-6} 烷基及 C_{2-6} 烯基組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C_{1-18} 烷基、 C_{2-18} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、 $(CH_2)_qOR^*$ 及 H 組成之群，

且各 q' 獨立地選自 1、2 及 3；

各 R'' 獨立地選自由 C_{3-15} 烷基及 C_{3-15} 烯基組成之群；

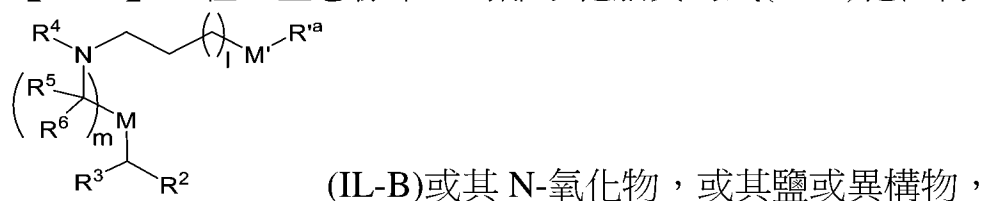
各 R^* 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

各 Y 獨立地為 C_{3-6} 碳環；

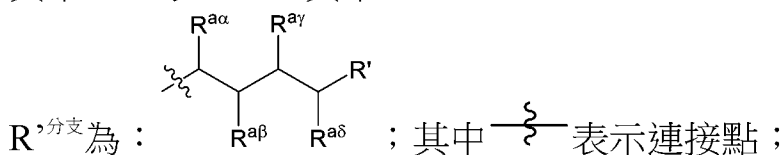
各 X 獨立地選自由 F、Cl、Br 及 I 組成之群；且

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13。

【0108】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-B)化合物：



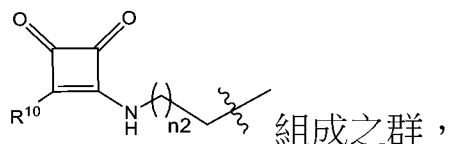
其中 R'^a 為 $R'^{分支}$ ；其中



其中 $R^{a\alpha}$ 、 $R^{a\beta}$ 、 $R^{a\gamma}$ 及 $R^{a\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{2-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群；

R^4 係選自由 $-(CH_2)_nOH$ (其中 n 係選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群) 及



其中 表示連接點；其中

R^{10} 為 $N(R)_2$ ；各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；且 n_2 係選自由 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10 組成之群；

各 R^5 獨立地選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

各 R^6 獨立地選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

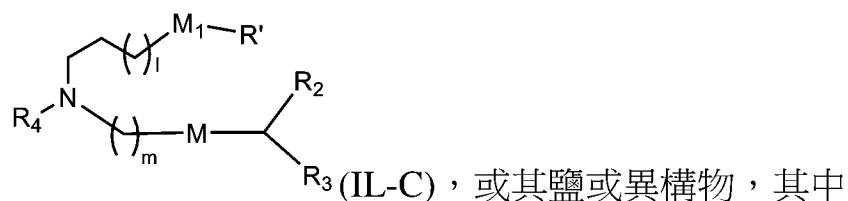
M 及 M' 各自獨立地選自由 $-C(O)O-$ 及 $-OC(O)-$ 組成之群；

R' 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基；

l 係選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群；且

m 係選自由 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13 組成之群。

【0109】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-C)化合物：



l 係選自 1、2、3、4 及 5；

M_1 為 M' ；

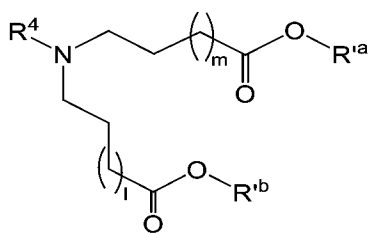
R_4 為 $-(CH_2)_nQ$ ，其中 Q 為 OH ，且 n 係選自 1、2、3、4 或 5；

M 及 M' 獨立地選自 $-C(O)O-$ 及 $-OC(O)-$ ；

R_2 及 R_3 均為 C_{1-14} 烷基或 C_{2-14} 烯基；且

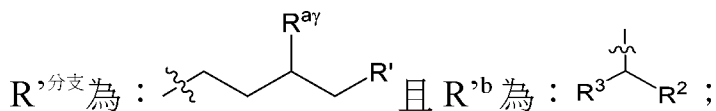
R' 為 C_1-C_{12} 直鏈烷基。

【0110】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-D)化合物：



(IL-D)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，

其中 R'a 為 R'^{分支} 或 R'^{環狀}；其中



其中 $\text{---}\zeta\text{---}$ 表示連接點；

其中 R^{ay} 係選自由 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

R² 及 R³ 各自獨立地選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；

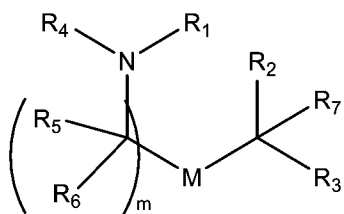
R⁴ 為 -(CH₂)_nOH，其中 n 係選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群；

R' 為 C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基；

m 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

l 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9。

[0111] 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-I)化合物：



(IL-I)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，其中：

R¹ 係選自由 C₅₋₃₀ 烷基、C₅₋₂₀ 烯基、-R*YR''、-YR'' 及 -R''M'R' 組成之群；

R² 及 R³ 獨立地選自由 H、C₁₋₁₄ 烷基、C₂₋₁₄ 烯基、-R*YR''、-YR'' 及 -R*OR'' 組成之群，或 R² 及 R³ 連同其所連接之原子形成雜環或碳環；

R⁴ 係選自由氫、C₃₋₆ 碳環、-(CH₂)_nQ、-(CH₂)_nCHQR、-(CH₂)₀C(R¹⁰)₂(CH₂)_{n-0}Q、-CHQR、-CQ(R)₂ 及未經取代 C₁₋₆ 烷基組成之群，其中 Q 係選自碳環、雜環、-OR、-O(CH₂)_nN(R)₂、-C(O)OR、-OC(O)R、-CX₃、-CX₂H、-CXH₂、-CN、-N(R)₂、-C(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)C(O)N(R)₂、-N(R)C(S)N(R)₂、-

$N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、
 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、
 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、
 $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 及 $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ ，各 o 獨立地選自 1、2、3 及 4，且各 n 獨立地選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^5 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

各 R^6 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

M 及 M' 獨立地選自 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、
 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、
 $-S-S-$ 、芳基及雜芳基，其中 M'' 為鍵、 C_{1-13} 烷基或 C_{2-13} 烯基；

R^7 係選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^8 係選自由 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^9 係選自由 H、CN、 NO_2 、 C_{1-6} 烷基、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} 烯基、
 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^{10} 係選自由 H、OH、 C_{1-3} 烷基及 C_{2-3} 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基、 $(CH_2)_qOR^*$ 及 H 組成之群，

且各 q 獨立地選自 1、2 及 3；

各 R' 獨立地選自由 C_{1-18} 烷基、 C_{2-18} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 H 組成之群；

各 R'' 獨立地選自由 C_{3-15} 烷基及 C_{3-15} 烯基組成之群；

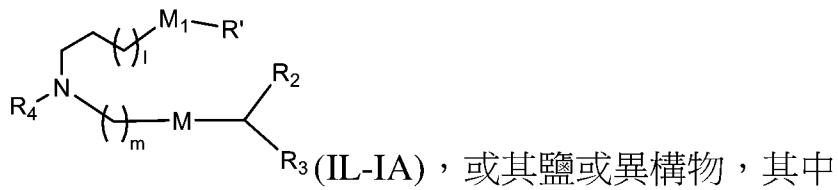
各 R^* 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

各 Y 獨立地為 C_{3-6} 碳環；

各 X 獨立地選自由 F、Cl、Br 及 I 組成之群；且

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13。

【0112】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-IA)化合物：



l 係選自 1、2、3、4 及 5；

m 係選自 5、6、7、8 及 9；

M¹ 為鍵或 M'；

R₄ 為未經取代 C₁₋₃ 烷基或 -(CH₂)_nQ，其中 Q 為 OH、-NHC(S)N(R)₂、-NHC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)R₈、-NHC(=NR₉)N(R)₂、-NHC(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)OR、-N(OR)C(O)R、-N(OR)S(O)₂R、-N(OR)C(O)OR、-N(OR)C(O)N(R)₂、-N(OR)C(S)N(R)₂、-N(OR)C(=NR₉)N(R)₂、-N(OR)C(=CHR₉)N(R)₂ 或雜芳基，且各 n 係選自 1、2、3、4 或 5；

M 及 M' 獨立地選自 -C(O)O-、-OC(O)-、-C(O)N(R')-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、芳基及雜芳基；且

R₂ 及 R₃ 均為 C₁₋₁₄ 烷基或 C₂₋₁₄ 烯基；

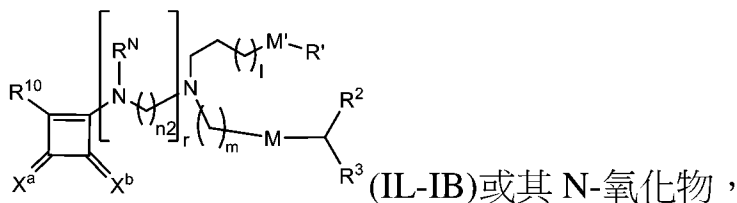
R₈ 係選自由 C₃₋₆ 碳環及雜環組成之群；

R₉ 係選自由 H、CN、NO₂、C₁₋₆ 烷基、-OR、-S(O)₂R、-S(O)₂N(R)₂、C₂₋₆ 烯基、C₃₋₆ 碳環及雜環組成之群；

各 R 獨立地選自由 C₁₋₃ 烷基、C₂₋₃ 烯基及 H 組成之群；且

R' 為 C₁₋₁₈ 烷基或 C₂₋₁₈ 烯基。

【0113】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-IB)化合物：



或其鹽或異構物，其中

l 係選自 1、2、3、4 及 5；

m 係選自 5、6、7、8 及 9；

R' 係選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；且

R² 及 R³ 獨立地選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；

M 及 M' 獨立地選自 -C(O)O- 及 -OC(O)-；

R^N 為 H 或 C₁₋₃ 烷基；

X^a 及 X^b 各自獨立地為 O 或 S；

R¹⁰ 係選自由 H、鹵基、-OH、R、-N(R)₂、-CN、-N₃、-C(O)OH、-C(O)OR、-OC(O)R、-OR、-SR、-S(O)R、-S(O)OR、-S(O)₂OR、-NO₂、-S(O)₂N(R)₂、-N(R)S(O)₂R、-NH(CH₂)_{t1}N(R)₂、-NH(CH₂)_{p1}O(CH₂)_{q1}N(R)₂、-NH(CH₂)_{s1}OR、-N((CH₂)_sOR)₂、-N(R)-碳環、-N(R)-雜環、-N(R)-芳基、-N(R)-雜芳基、-N(R)(CH₂)_{t1}-碳環、-N(R)(CH₂)_{t1}-雜環、-N(R)(CH₂)_{t1}-芳基、-N(R)(CH₂)_{t1}-雜芳基、碳環、雜環、芳基及雜芳基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基、C₂₋₁₂ 烯基及 H 組成之群；

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13；

n₂ 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10；

r 為 0 或 1；

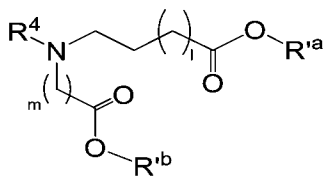
t¹ 係選自 1、2、3、4 及 5；

p¹ 係選自 1、2、3、4 及 5；

q¹ 係選自 1、2、3、4 及 5；且

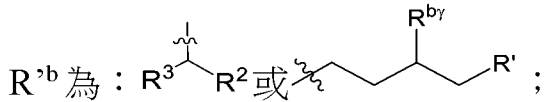
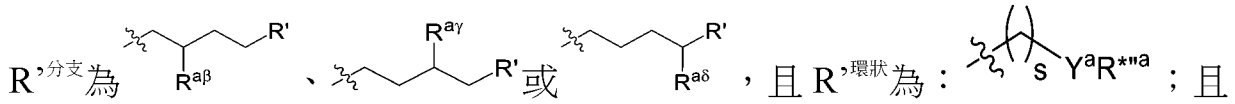
s¹ 係選自 1、2、3、4。

【0114】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-IC)化合物：



(IL-IC)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，

其中 R^{'a} 為 R^{'分支} 或 R^{'環狀}；其中

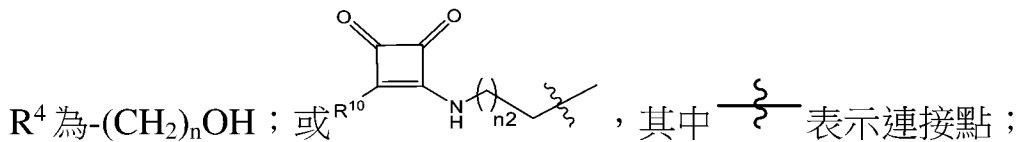


其中 表示連接點；

其中 R^{ay}、R^{ay} 及 R^{ay} 各自為 C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基；

R^{by} 為 H、C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基；

R² 及 R³ 各自獨立地選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；



各 R' 獨立地為 C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基；

R¹⁰ 為 N(R)₂；各 R 獨立地選自由 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₃ 烯基及 H 組成之群；且 n 及 n₂

各自選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群；

Y^a 為 C₃₋₆ 碳環；

R^{*a} 係選自由 C₁₋₁₅ 烷基及 C₂₋₁₅ 烯基組成之群；

l 係選自 1、2、3、4 及 5；

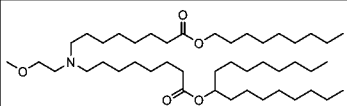
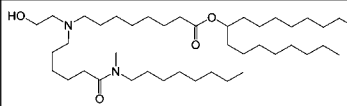
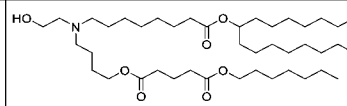
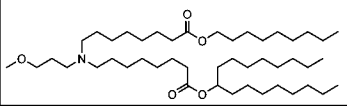
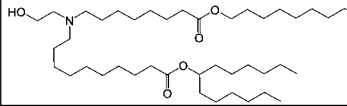
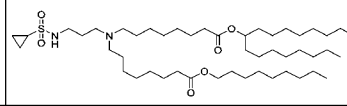
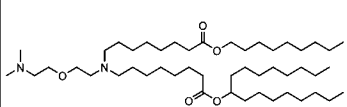
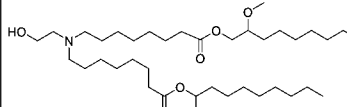
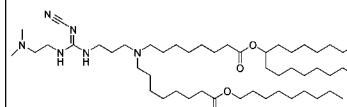
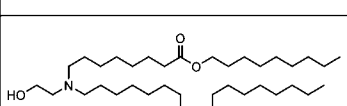
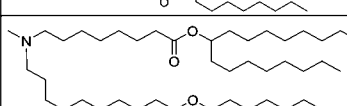
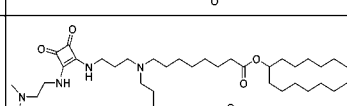
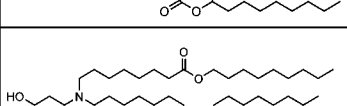
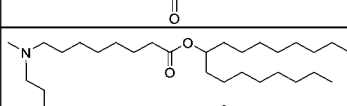
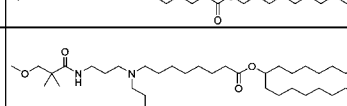
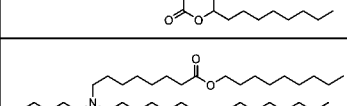
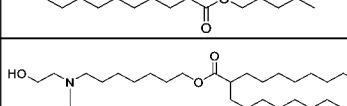
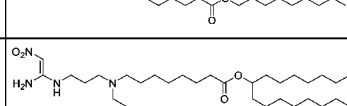
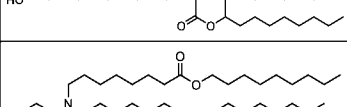
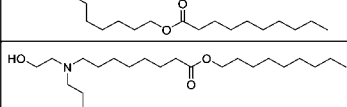
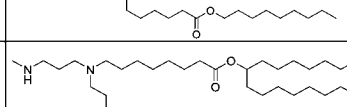
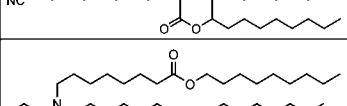
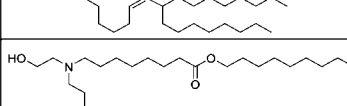
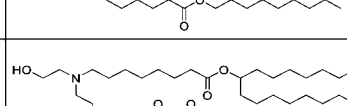
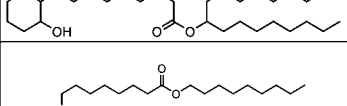
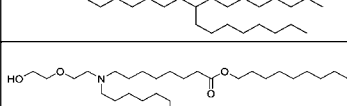
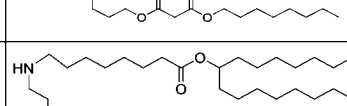
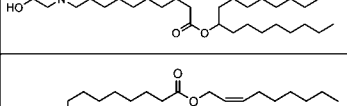
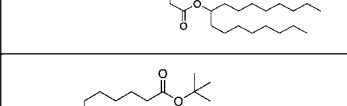
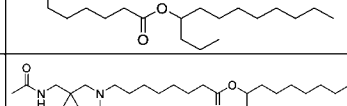
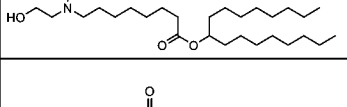
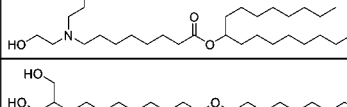
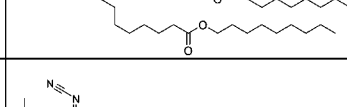
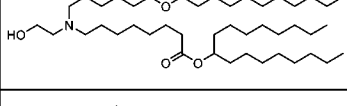
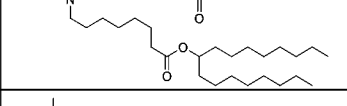
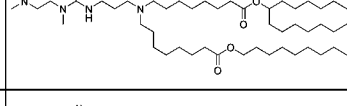
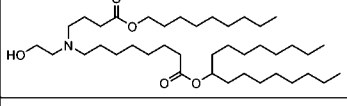
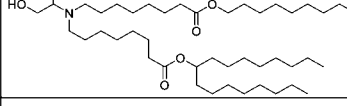
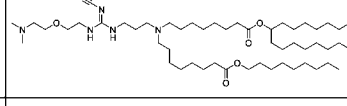
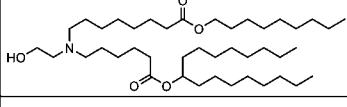
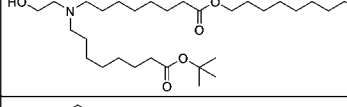
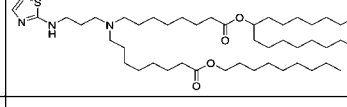
m 係選自 5、6、7、8 及 9；且

s 為 2 或 3。

【0115】 在一些實施例中，可離子化脂質係選自表 IL-1 之化合物。

表 IL-1：可離子化脂質

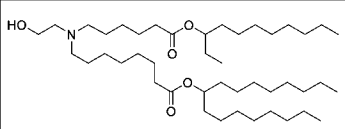
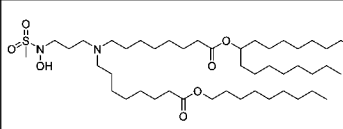
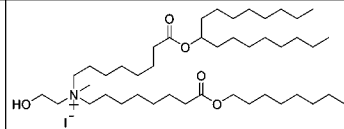
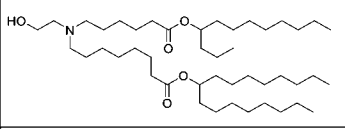
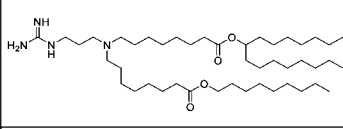
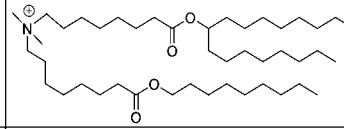
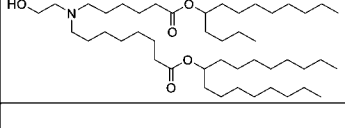
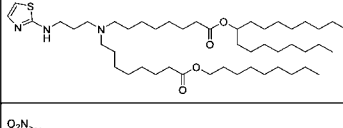
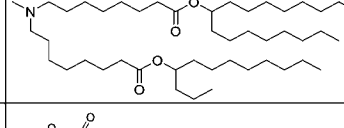
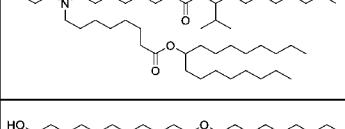
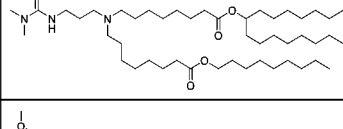
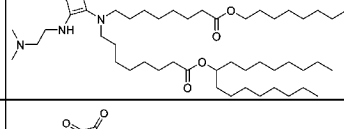
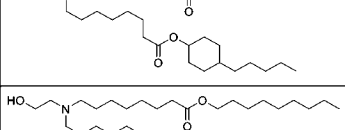
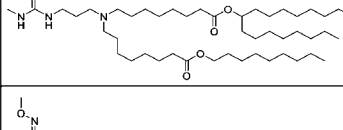
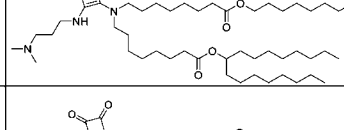
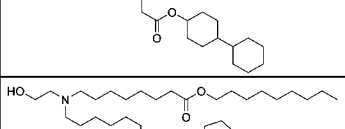
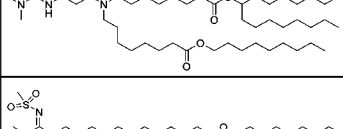
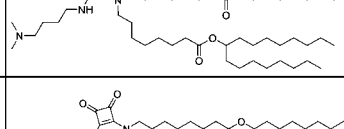
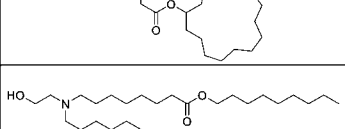
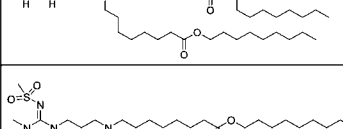
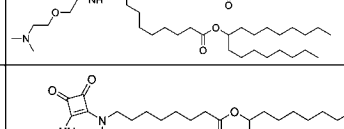
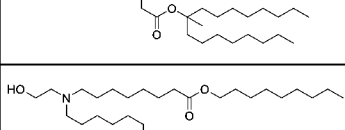
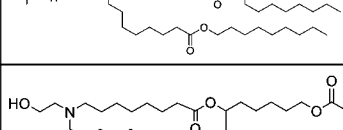
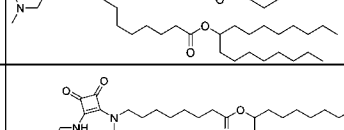
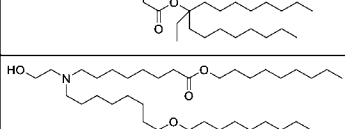
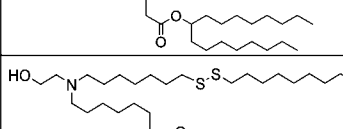
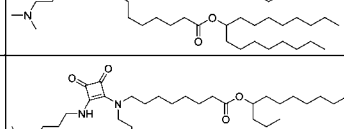
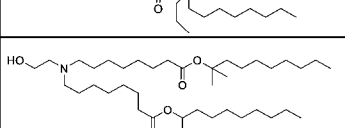
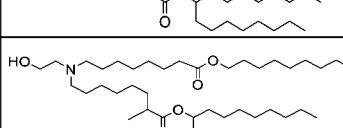
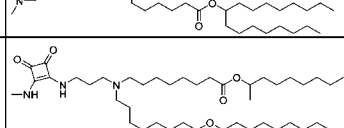
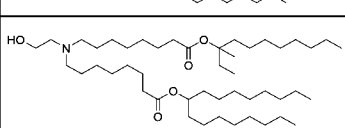
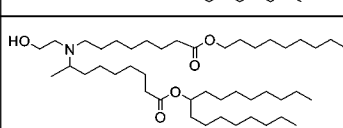
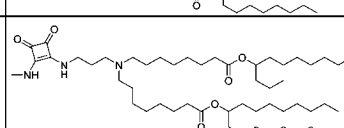
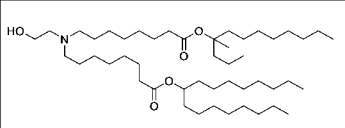
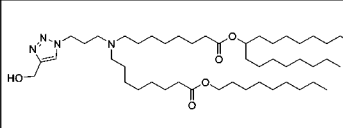
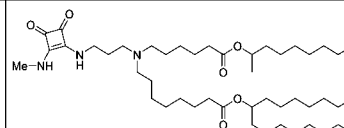
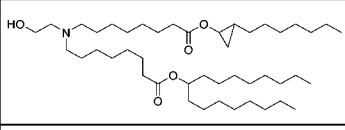
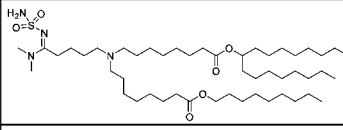
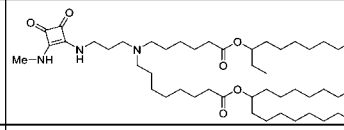
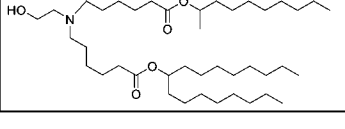
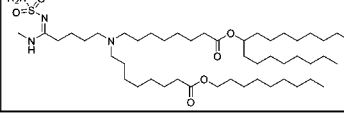
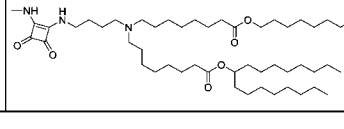

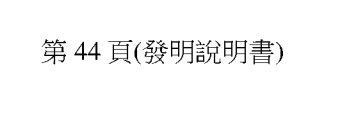

化合物#	結構	化合物#	結構	化合物#	結構
I-1		I-132		I-263	
I-2		I-133		I-264	
I-3		I-134		I-265	
I-4		I-135		I-266	
I-5		I-136		I-267	
I-6		I-137		I-268	
I-7		I-138		I-269	
I-8		I-139		I-270	
I-9		I-140		I-271	
I-10		I-141		I-272	
I-11		I-142		I-273	
I-12		I-143		I-274	
I-13		I-144		I-275	
I-14		I-145		I-276	

I-15		I-146		I-277	
I-16		I-147		I-278	
I-17		I-148		I-279	
I-18		I-149		I-280	
I-19		I-150		I-281	
I-20		I-151		I-282	
I-21		I-152		I-283	
I-22		I-153		I-284	
I-23		I-154		I-285	
I-24		I-155		I-286	
I-25		I-156		I-287	
I-26		I-157		I-288	
I-27		I-158		I-289	
I-28		I-159		I-290	

I-29		I-160		I-291	
I-30		I-161		I-292	
I-31		I-162		I-293	
I-32		I-163		I-294	
I-33		I-164		I-295	
I-34		I-165		I-296	
I-35		I-166		I-297	
I-36		I-167		I-298	
I-37		I-168		I-299	
I-38		I-169		I-300	
I-39		I-170		I-301	
I-40		I-171		I-302	
I-41		I-172		I-303	
I-42		I-173		I-304	

I-43		I-174		I-305	
I-44		I-175		I-306	
I-45		I-176		I-307	
I-46		I-177		I-308	
I-47		I-178		I-309	
I-48		I-179		I-310	
I-49		I-180		I-311	
I-50		I-181		I-312	
I-51		I-182		I-313	
I-52		I-183		I-314	
I-53		I-184		I-315	
I-54		I-185		I-316	
I-55		I-186		I-317	
I-56		I-187		I-318	
I-57		I-188		I-319	
I-58		I-189		I-320	

I-59		I-190		I-321	
I-60		I-191		I-322	
I-61		I-192		I-323	
I-62		I-193		I-324	
I-63		I-194		I-325	
I-64		I-195		I-326	
I-65		I-196		I-327	
I-66		I-197		I-328	
I-67		I-198		I-329	
I-68		I-199		I-330	
I-69		I-200		I-331	
I-70		I-201		I-332	
I-71		I-202		I-333	
I-72		I-203		I-334	
I-73		I-204		I-335	
I-74		I-205		I-336	

I-75		I-206		I-337	
I-76		I-207		I-338	
I-77		I-208		I-339	
I-78		I-209		I-340	
I-79		I-210		I-341	
I-80		I-211		I-342	
I-81		I-212		I-343	
I-82		I-213		I-344	
I-83		I-214		I-345	
I-84		I-215		I-346	
I-85		I-216		I-347	
I-86		I-217		I-348	
I-87		I-218		I-349	
I-88		I-219		I-350	
I-89		I-220		I-351	

I-90		I-221		I-352	
I-91		I-222		I-353	
I-92		I-223		I-354	
I-93		I-224		I-355	
I-94		I-225		I-356	
I-95		I-226		I-357	
I-96		I-227		I-358	
I-97		I-228		I-359	
I-98		I-229		I-360	
I-99		I-230		I-361	
I-100		I-231		I-362	
I-101		I-232		I-363	
I-102		I-233		I-364	
I-103		I-234		I-365	
I-104		I-235		I-366	

I-105		I-236		I-367	
I-106		I-237		I-368	
I-107		I-238		I-369	
I-108		I-239		I-370	
I-109		I-240		I-371	
I-110		I-241		I-372	
I-111		I-242		I-373	
I-112		I-243		I-374	
I-113		I-244		I-375	
I-114		I-245		I-376	
I-115		I-246		I-377	
I-116		I-247		I-378	
I-117		I-248		I-379	
I-118		I-249		I-380	
I-119		I-250		I-381	
I-120		I-251		I-382	

I-121		I-252		I-383	
I-122		I-253		I-384	
I-123		I-254		I-385	
I-124		I-255		I-386	
I-125		I-256		I-387	
I-126		I-257		I-388	
I-127		I-258		I-389	
I-128		I-259		I-390	
I-129		I-260		I-391	
I-130		I-261		I-392	
I-131		I-262			

【0116】 在一些實施例中，可離子化脂質係選自表 II-2 之化合物。

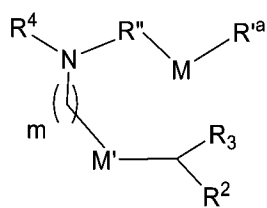
表 II-2：可離子化脂質

化合物#	結構	化合物#	結構	化合物#	結構
II-1		II-27		II-54	

II-2		II-28		II-55	
II-3		II-29		II-56	
II-4		II-30		II-57	
II-5		II-31		II-58	
II-6		II-32		II-59	
II-7		II-33		II-60	
II-8		II-34		II-61	
II-9		II-35		II-62	
II-10		II-36		II-63	
II-11		II-37		II-64	
II-12		II-38		II-65	
II-13		II-39		II-66	
II-14		II-40		II-67	
II-15		II-41		II-68	

II-16		II-42		II-68	
II-17		II-43		II-69	
II-18		II-44		II-70	
II-19		II-45		II-71	
II-20		II-46		II-72	
II-21		II-47		II-73	
II-22		II-48		II-74	
II-23		II-50		II-75	
II-24		II-51		II-76	
II-25		II-52		II-77	
II-26		II-53		II-78	

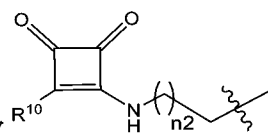
【0117】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-IIA)化合物：



(IL-IIA)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，其中：

m 係選自 5、6、7、8 及 9；

R² 及 R³ 各自獨立地選自由 H、C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；



R^4 係選自 $-(CH_2)_nOH$ (其中 n 係選自 1、2、3、4 及 5) 及 R^{10} 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10；且 R^{10} 為 $-N(R)_2$ ，其中各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群)；

M 係選自 $-OC(O)O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-O-M''-O-$ 及 $-N(R^M)C(O)-$ ，其中 M'' 為 $-(CH_2)_zC(O)-$ ，其中 z 為 1、2、3 或 4；

M' 係選自 $-OC(O)O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-O-M''-O-$ 、 $-N(R^M)C(O)O-$ 及 $-O-N=C(R^M)-$ ，其中：

M'' 為 $-(CH_2)_zC(O)-$ 、 C_{1-13} 烷基、 $-B(R^{**})-$ 或 $-Si(R^{**})_2-$ ；

z 為 1、2、3 或 4；

各 R^M 獨立地選自 H 及 C_{1-6} 烷基；

各 R^{**} 獨立地選自 H 及 C_{1-12} 烷基；

R^a 為 C_{1-18} 烷基、 C_{2-18} 烯基或 $-R^*YR^{**}$ ，其中：

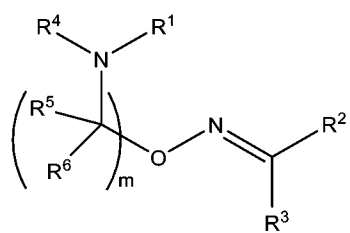
各 R^{**} 獨立地為 C_{1-15} 烷基；

各 R^* 獨立地為 C_{1-12} 烷基；

各 Y 獨立地為 C_{3-6} 碳環；且

R'' 為 C_3-C_{13} 烷基，視情況經 OH 取代。

【0118】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-IIAX)化合物：



(IL-IIAX)或其 N -氧化物，或其鹽或異構物，其中：

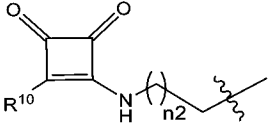
R^1 為 $-R''M'R'$ ，其中：

各 R' 獨立地為 C_{1-18} 烷基；

M' 係選自 $-C(O)O-$ 及 $-O-N=C(R^M)-$ ，其中各 R^M 獨立地選自 H 及 C_{1-6} 烷基；

各 R'' 獨立地為 C_{3-15} 烷基；

R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 H、 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群；

R^4 係選自 $-(CH_2)_nOH$ (其中 n 係選自 1、2、3、4 及 5) 及  (其中 n_2 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10；且 R^{10} 為 $-N(R)_2$ ，其中各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群)；

各 R^5 為 H；

各 R^6 為 H；且

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13。

【0119】 在一些實施例中，可離子化脂質係選自表 IL-3 之化合物。

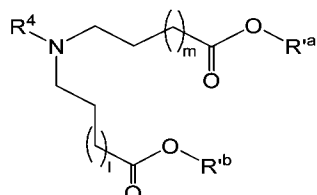
表 IL-3：可離子化脂質

化合物 #	結構	化合物#	結構	化合物#	結構
III-1		III-23		III-46	
III-2		III-24		III-47	
III-3		III-25		III-48	
III-4		III-26		III-49	
III-5		III-27		III-50	
III-6		III-29		III-51	

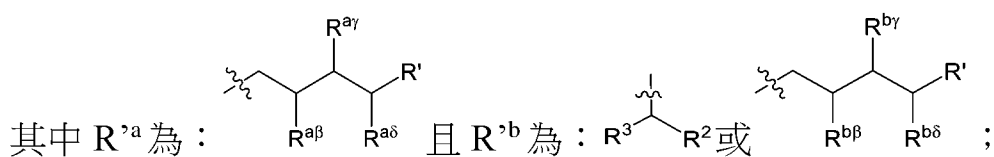
III-7		III-30		III-52	
III-8		III-31		III-53	
III-9		III-32		III-54	
III-10		III-33		III-55	
III-11		III-34		III-56	
III-12		III-35		III-57	
III-13		III-36		III-58	
III-14		III-37		III-59	
III-15		III-38		III-60	
III-16		III-39		III-61	
III-17		III-40		III-62	
III-18		III-41		III-63	
III-19		III-42		III-64	
III-20		III-43		III-65	

III-21		III-44		III-66	
III-22		III-45		III-67	

【0120】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物：



(IL-IIB)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，



其中 表示連接點；

R^{aβ}、R^{aγ} 及 R^{aδ} 各自獨立地選自由 H、C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

R^{bβ}、R^{bγ} 及 R^{bδ} 各自獨立地選自由 H、C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群，其中 R^{bβ}、R^{bγ} 及 R^{bδ} 中的至少一者係選自由 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

R² 及 R³ 各自獨立地選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；

R⁴ 係選自 -(CH₂)_nNRTQ、-(CH₂)_nNRS(O)₂TQ、-(CH₂)_nNRC(O)H 及 -(CH₂)_nNRC(O)TQ，其中 n 係選自 1、2、3、4 及 5；

T 為鍵或 C₁₋₃ 烷基連接體、C₂₋₃ 烯基連接體或 C₂₋₃ 炔基連接體；

Q 係選自含有 1-5 個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環、C₃₋₁₀ 碳環、C₁₋₆ 烷基及 C₂₋₆ 烯基，其中該烷基、該烯基、該雜環及該碳環各自視情況經一或多個 R^Q 取代；

各 R^Q 獨立地選自由側氧基、羥基、氰基、胺基、C₁₋₆ 烷基胺基、二-C₁₋₆ 烷基胺基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₂₋₆ 烯基、C₁₋₆ 烷醯基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及 -NRC(O)C₁₋₆ 烷基組成之群；

各 R 獨立地選自 H、C₁₋₆ 烷基及 C₂₋₆ 烯基；

各 R' 獨立地選自 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基；

m 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；且

l 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9。

【0121】 在一些實施例中，可離子化脂質係選自表 IL-4 之化合物。

表 IL-4：可離子化脂質

化合物 #	結構	化合物 #	結構
IV-1		IV-15	
IV-2		IV-16	
IV-3		IV-17	
IV-4		IV-18	
IV-5		IV-19	
IV-6		IV-20	
IV-7		IV-21	
IV-8		IV-22	

IV-9		IV-23	
IV-10		IV-24	
IV-11		IV-25	
IV-12		IV-26	
IV-13		IV-27	
IV-14		IV-28	

及

【0122】 在一些實施例中，可離子化脂質係選自表 IL-5 之化合物。

表 IL-5：可離子化脂質

化合物 #	結構	化合物 #	結構
IV-29		IV-46	
IV-30		IV-47	
IV-31		IV-48	
IV-32		IV-49	

IV-33		IV-50	
IV-34		IV-51	
IV-35		IV-52	
IV-36		IV-53	
IV-37		IV-54	
IV-38		IV-55	
IV-39		IV-56	
IV-40		IV-57	
IV-41		IV-58	
IV-42		IV-59	
IV-43		IV-60	

R^{SX1} 係選自 $C(O)NR^{14}R^{14'}$ 、 C_{3-8} 碳環及含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環，其中該碳環及該雜環各自視情況經一或多個選自側氧基、鹵基、 C_{1-3} 烷基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基及 NH_2 之基團取代；

各 R^{13} 係選自由 OH、側氧基、鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基、 NH_2 、 $C(O)NH_2$ 、CN 及 NO_2 組成之群；

R^{14} 及 $R^{14'}$ 各自獨立地選自由 H 及 C_{1-6} 烷基組成之群；

m 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

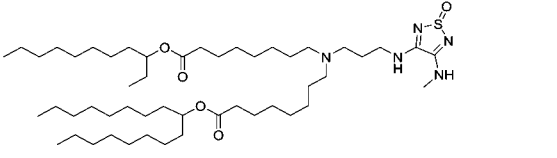
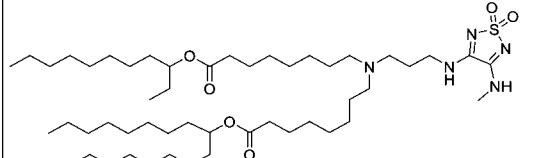
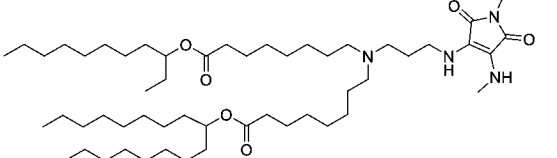
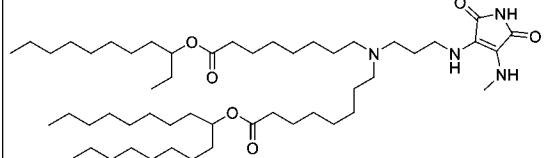
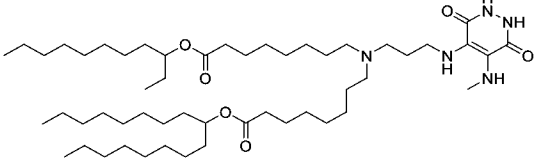
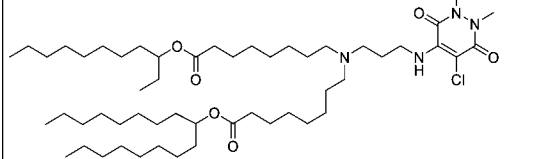
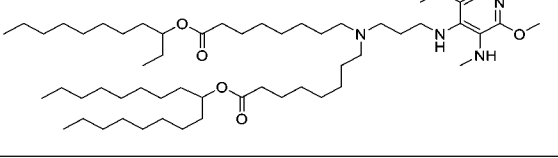
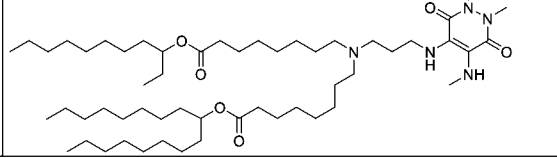
l 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

p_1 係選自 1、2、3、4 及 5；且

p_2 係選自 1、2、3、4 及 5。

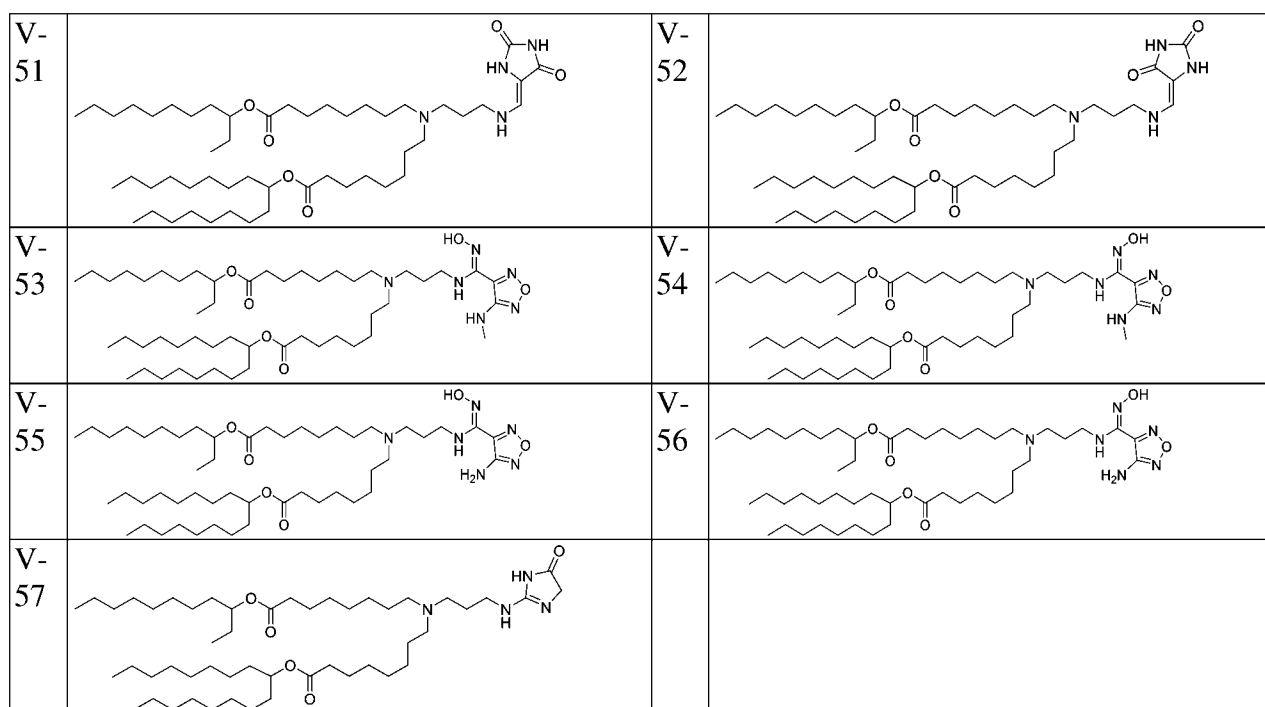
【0124】 在一些實施例中，可離子化脂質係選自表 IL-6 之化合物。

表 IL-6：可離子化脂質

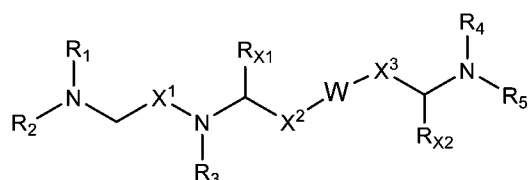
化合物 #	結構	化合物 #	結構
V-1		V-2	
V-3		V-4	
V-5		V-6	
V-7		V-8	

V-9		V-10	
V-11		V-12	
V-13		V-14	
V-15		V-16	
V-17		V-18	
V-19		V-20	
V-21		V-22	
V-23		V-24	
V-25		V-26	
V-27		V-28	
V-29		V-30	

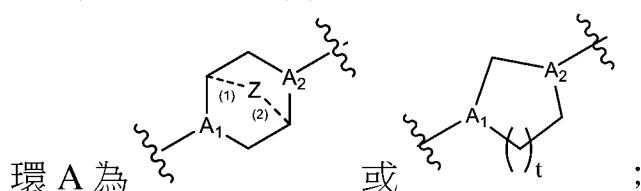
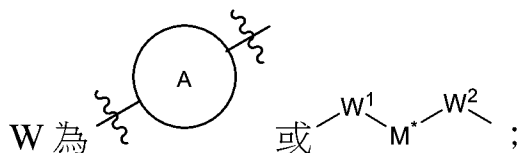
V-31		V-32	
V-33		V-34	
V-35		V-36	
V-37		V-38	
V-39		V-40	
V-41		V-42	
V-43		V-44	
V-45		V-46	
V-47		V-48	
V-49		V-50	



[0125] 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-III)化合物：



(IL-III)，或其鹽或異構物，其中



t 為 1 或 2；

A₁ 及 A₂ 各自獨立地選自 CH 或 N；

Z 為 CH₂ 或不存在，其中當 Z 為 CH₂ 時，虛線(1)及(2)各自表示單鍵；且當 Z 不存在時，虛線(1)及(2)均不存在；

R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 獨立地選自由 C₅₋₂₀ 烷基、C₅₋₂₀ 烯基、-R''MR'、-R*YR''、-YR'' 及 -R*OR'' 組成之群；

R_{X1} 及 R_{X2} 各自獨立地為 H 或 C₁₋₃ 烷基；

各 M 獨立地選自由 -C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR')O-、-S(O)₂-、-C(O)S-、-SC(O)-、芳基及雜芳基組成之群；

M* 為 C₁-C₆ 烷基，

W¹ 及 W² 各自獨立地選自由 -O- 及 -N(R₆)- 組成之群；

各 R₆ 獨立地選自由 H 及 C₁₋₅ 烷基組成之群；

X¹、X² 及 X³ 獨立地選自由鍵、-CH₂-、-(CH₂)₂-、-CHR-、-CHY-、-C(O)-、-C(O)O-、-OC(O)-、-(CH₂)_n-C(O)-、-C(O)-(CH₂)_n-、-(CH₂)_n-C(O)O-、-OC(O)-(CH₂)_n-、-(CH₂)_n-OC(O)-、-C(O)O-(CH₂)_n-、-CH(OH)-、-C(S)- 及 -CH(SH)- 組成之群；

各 Y 獨立地為 C₃₋₆ 碳環；

各 R* 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

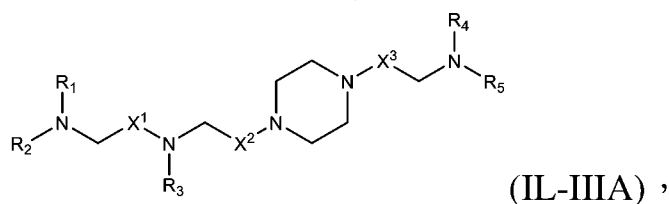
各 R 獨立地選自由 C₁₋₃ 烷基及 C₃₋₆ 碳環組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基、C₂₋₁₂ 烯基及 H 組成之群；

各 R'' 獨立地選自由 C₃₋₁₂ 烷基、C₃₋₁₂ 烯基及 -R*MR' 組成之群；且

n 為整數 1-6。

【0126】 在一些態樣中，可離子化脂質為式(IL-III A)化合物：



或其鹽或異構物，其中

R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 獨立地選自由 C₅₋₂₀ 烷基、C₅₋₂₀ 烯基、-R''MR'、-R*YR''、-YR'' 及 -R*OR'' 組成之群；

各 M 獨立地選自由 -C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR')O-、-S(O)₂-、芳基及雜

芳基組成之群；

X^1 、 X^2 及 X^3 獨立地選自由鍵、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-\text{CHR}-$ 、 $-\text{CHY}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 、 $-\text{C}(\text{S})-$ 及 $-\text{CH}(\text{SH})-$ 組成之群；

各 Y 獨立地為 C_{3-6} 碳環；

各 R^* 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C_{1-3} 烷基及 C_{3-6} 碳環組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基及 H 組成之群；且

各 R'' 獨立地選自由 C_{3-12} 烷基及 C_{3-12} 烯基組成之群。

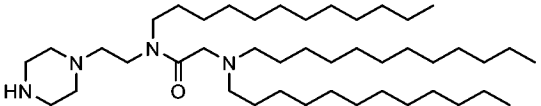
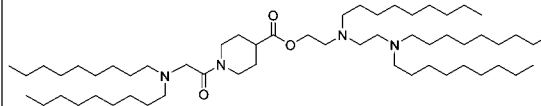
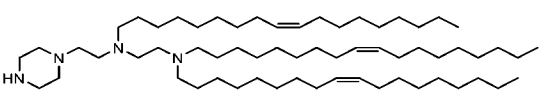
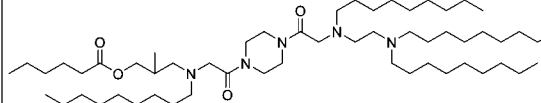
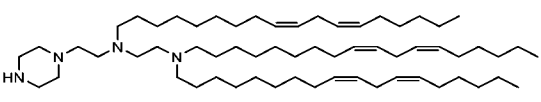
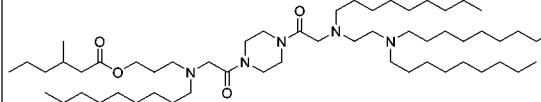
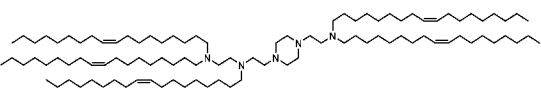
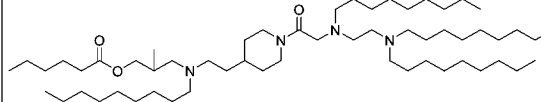
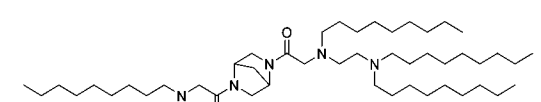
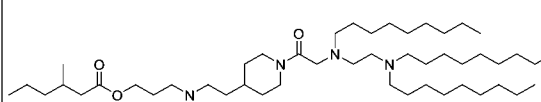
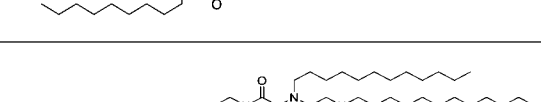
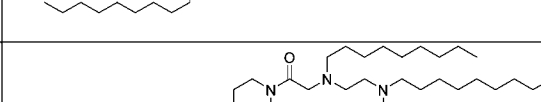
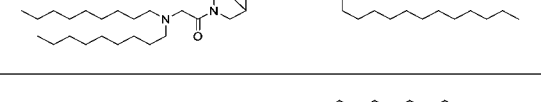
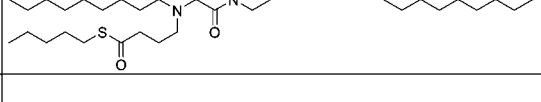
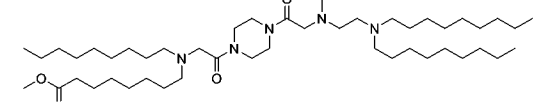
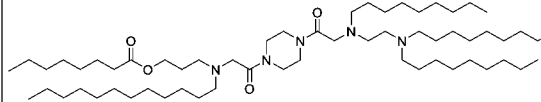
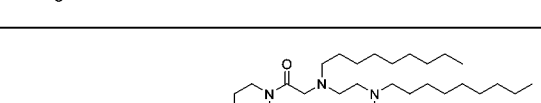
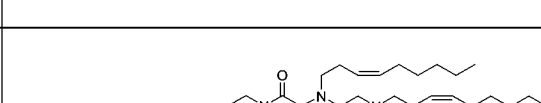
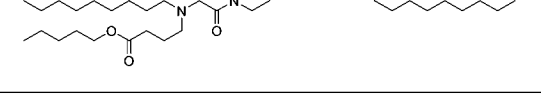
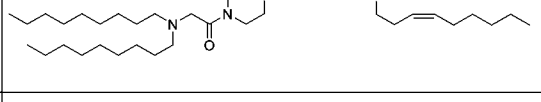
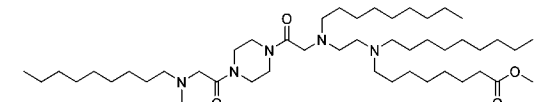
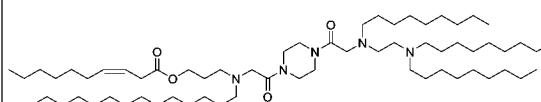
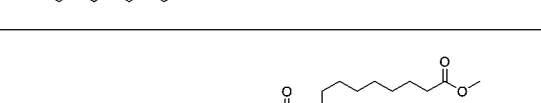
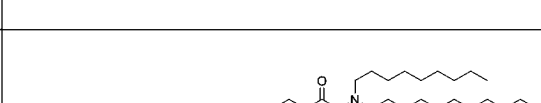
【0127】 在一些實施例中，可離子化脂質係選自表 IL-7 之化合物。

表 IL-7：可離子化脂質

化合物 #	結構	化合物 #	結構
VI-1		VI-91	
VI-2		VI-92	
VI-3		VI-93	
VI-4		VI-94	
VI-5		VI-95	
VI-6		VI-96	
VI-7		VI-97	

VI-8		VI-98	
VI-9		VI-99	
VI-10		VI-100	
VI-11		VI-101	
VI-12		VI-102	
VI-13		VI-103	
VI-14		VI-104	
VI-15		VI-105	
VI-16		VI-106	
VI-17		VI-107	
VI-18		VI-108	
VI-19		VI-109	
VI-20		VI-110	
VI-21		VI-111	
VI-22		VI-112	

VI-23		VI-113	
VI-24		VI-114	
VI-25		VI-115	
VI-26		VI-116	
VI-27		VI-117	
VI-28		VI-118	
VI-29		VI-119	
VI-30		VI-120	
VI-31		VI-121	
VI-32		VI-122	
VI-33		VI-123	
VI-34		VI-124	
VI-35		VI-125	
VI-36		VI-126	
VI-37		VI-127	
VI-38		VI-128	

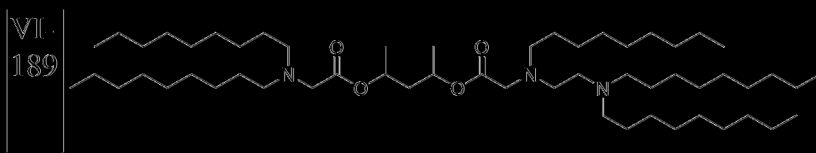
VI-39		VI-129	
VI-40		VI-130	
VI-41		VI-131	
VI-IV		VI-132	
VI-42		VI-133	
VI-43		VI-134	
VI-44		VI-135	
VI-45		VI-136	
VI-46		VI-137	
VI-47		VI-138	
VI-48		VI-139	
VI-49		VI-140	

VI-50		VI-141	
VI-51		VI-142	
VI-52		VI-143	
VI-53		VI-144	
VI-54		VI-145	
VI-55		VI-146	
VI-56		VI-147	
VI-57		VI-148	
VI-58		VI-149	
VI-59		VI-150	
VI-60		VI-151	
VI-61		VI-152	

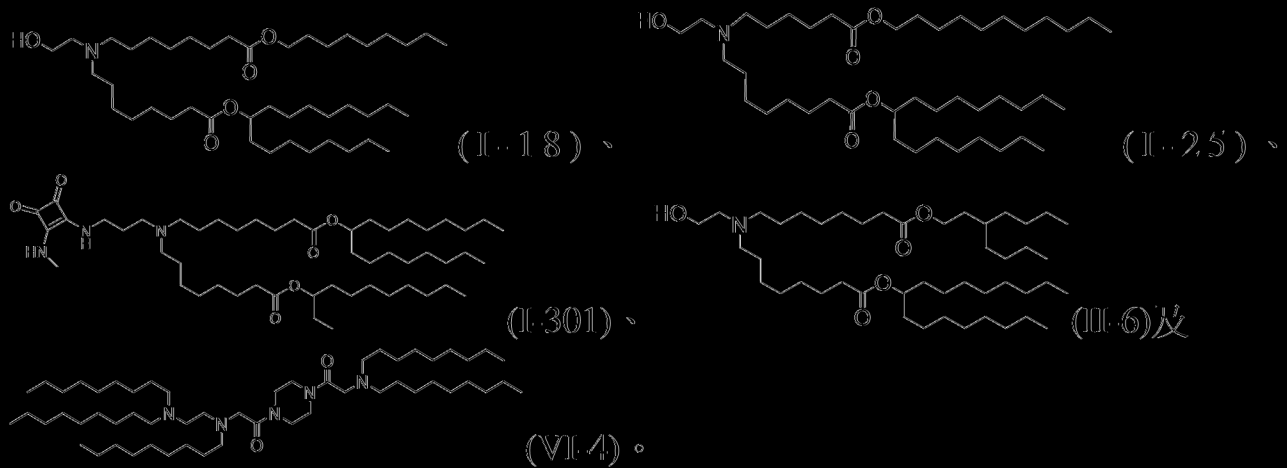
VI-62		VI-153	
VI-63		VI-154	
VI-64		VI-155	
VI-65		VI-156	
VI-66		VI-157	
VI-67		VI-158	
VI-68		VI-159	
VI-69		VI-160	
VI-70		VI-161	
VI-71		VI-162	
VI-72		VI-163	
VI-73		VI-164	
VI-74		VI-165	

VI-75		VI-166	
VI-76		VI-167	
VI-77		VI-168	
VI-78		VI-169	
VI-79		VI-170	
VI-80		VI-171	
VI-81		VI-172	
VI-82		VI-173	
VI-83		VI-174	
VI-84		VI-175	
VI-85		VI-176	
VI-86		VI-177	
VI-87		VI-178	

VI-88		VI-179	
VI-89		VI-180	
VI-90			
VI-181			
VI-182			
VI-183			
VI-184			
VI-185			
VI-186			
VI-187			
VI-188			



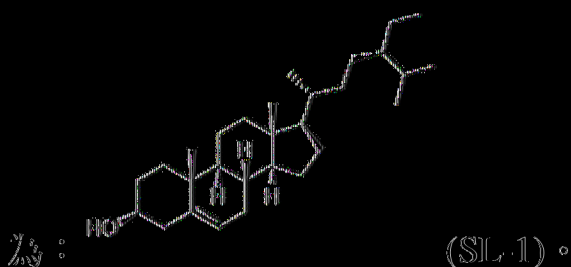
[0128] 在一些實施例中，可離子化脂質係選自以下之化合物：



[0129] 在一些實施例中，可離子化脂質係公開之國際專利申請案第 WO/2011/049245 號、第 WO/2011/112865 號、第 WO/2018/1/0306 號、第 WO/2018/232120 號、第 WO/2021/055835 號、第 WO/2021/055833 號及第 WO/2021/055849 號中所揭示之脂質，該等公開之國際專利申請案各自以引用之方式整體併入本文中。

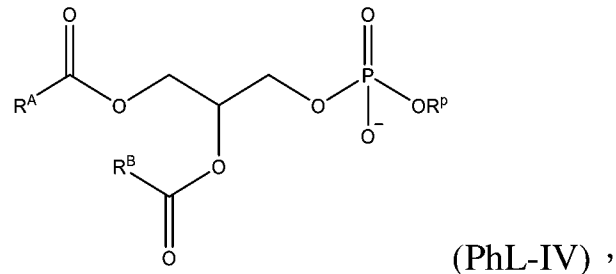
結構脂質

[0130] 脂質奈米粒子(例如空 LNPs 或負載 LNPs)可包括一或多種結構脂質。結構脂質可選自但不限於膽固醇、黃固醇、植固醇、麥角固醇、菜油固醇、豆固醇、菜子固醇、番茄鹼、番茄苷、熊果酸、 α -生育酚及其混合物組成之群。在一些實施例中，結構脂質為膽固醇。在一些實施例中，結構脂質包括膽固醇及皮質類固醇(諸如潑尼松龍(prednisolone)、地塞米松(dexamethasone)、潑尼松(prednisone)及氫化可的松(hydrocortisone))或其組合。在一些實施例中，結構脂質



磷脂

【0131】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可包括一或多種磷脂，諸如一或多種(多)不飽和脂質。磷脂可組裝成一或多個脂質雙層。一般而言，磷脂可包括磷脂部分及一或多個脂肪酸部分。例如，磷脂可為根據式(PhL-IV)之脂質：



其中 R_p 表示磷脂部分且 R^A 及 R^B 表示具有或不具有不飽和之脂肪酸部分，該等脂肪酸部分可為相同或不同的。磷脂部分可選自由磷脂醯膽鹼、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯甘油、磷脂醯絲胺酸、磷脂酸、2-溶血磷脂醯膽鹼及鞘磷脂組成之非限制性群。脂肪酸部分可選自由月桂酸、肉豆蔻酸、肉豆蔻油酸、棕櫚酸、棕櫚油酸、硬脂酸、油酸、亞麻油酸、 α -次亞麻油酸、芥子酸、植烷酸、花生酸、花生油酸、二十碳五烯酸、山嶺酸、二十二碳五烯酸及二十二碳六烯酸組成之非限制性群。亦預期非天然物質，包括具有包括分支、氧化、環化及炔在內之修飾及取代之天然物質。例如，磷脂可經一或多種炔(例如，其中一或多個雙鍵經三鍵置換之烯基)官能化或與該一或多種炔交聯。在適當反應條件下，炔基可在暴露於疊氮化物時經歷銅催化之環加成。該等反應可用於官能化脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之脂質雙層以促進膜滲透或細胞識別，或可用於使脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)結合於可用組分，諸如靶向或成像部分(例如染料)。

【0132】 可用於該等組合物及方法之磷脂可選自由 1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油-3-磷酸膽鹼(DSPC)、1,2-二油醯基-*sn*-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亞油醯基-*sn*-甘油-3-磷酸膽鹼(DLPC)、1,2-二肉豆蔻醯基-*sn*-甘油-磷酸膽鹼(DMPC)、1,2-二油醯基-*sn*-甘油-3-磷酸膽鹼(DOPC)、1,2-二棕櫚醯基-*sn*-甘油-3-磷酸膽鹼

(DPPC)、1,2-二(十一烷醯基)-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DUPC)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(POPC)、1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(18:0 Diether PC)、1-油醯基-2-膽固醇基半琥珀醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(OChemsPC)、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(C16 Lyso PC)、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼、1,2-二(二十二碳六烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸膽鹼、1,2-二植烷醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞油醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二(二十二碳六烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸-外消旋-(1-甘油)鈉鹽(DOPG)、二棕櫚醯基磷脂醯甘油(DPPG)、棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺(POPE)、二硬脂醯基-磷脂醯-乙醇胺(DSPE)、二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻醯基磷酸乙醇胺(DMPE)、1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺(SOPE)、1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯膽鹼(SOPC)、鞘磷脂、磷脂醯膽鹼、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯肌醇、磷脂酸、棕櫚醯基油醯基磷脂醯膽鹼、溶血磷脂醯膽鹼、溶血磷脂醯乙醇胺(LPE)及其混合物組成之非限制性群。在一些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)包括 DSPC。在某些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)包括 DOPE。在一些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)包括 DSPC 及 DOPE 兩者。

PEG 脂質

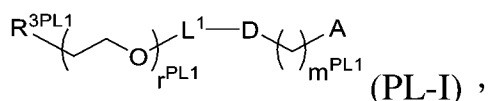
【0133】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可包括一或多種 PEG 脂質或經 PEG 修飾之脂質。該等物質可替代地稱作 PEG 化脂質。PEG 脂質係經聚乙二醇修飾之脂質。PEG 脂質可選自由經 PEG 修飾之磷脂醯乙醇胺、經 PEG 修飾之磷脂酸、經 PEG 修飾之神經醯胺(PEG-CER)、經 PEG 修飾之二烷基胺、經 PEG 修飾之二醯基甘油(PEG-DEG)、經 PEG 修飾之二烷基甘油及其混合物組成的非

限制性群。例如，PEG 脂質可為 PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC 或 PEG-DSPE 脂質。

【0134】 在某些實施例中，PEG 脂質係選自由經 PEG 修飾之磷脂醯乙醇胺、經 PEG 修飾之磷脂酸、經 PEG 修飾之神經醯胺、經 PEG 修飾之二烷基胺、經 PEG 修飾之二醯基甘油及經 PEG 修飾之二烷基甘油組成之群。

【0135】 在某些實施例中，PEG 脂質係選自由 1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油甲氧基聚乙二醇(PEG-DMG)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[胺基(聚乙二醇)](PEG-DSPE)、PEG-二硬脂基甘油(PEG-DSG)、PEG-二棕櫚油烯基、PEG-二油烯基、PEG-二硬脂基、PEG-二醯基甘油醯胺(diacylglycamide) (PEG-DAG)、PEG-二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺(PEG-DPPE)或 PEG-1,2-二肉豆蔻基氧基丙基-3-胺(PEG-c-DMA)組成之群。例如，在一些實施例中，PEG 脂質為 PEG-DMG。

【0136】 在某些實施例中，PEG 脂質為式(PL-I)化合物：



或其鹽，其中：

$\text{R}^{3\text{PL1}}$ 為 $\text{---OR}^{\text{OPL1}}$ ；

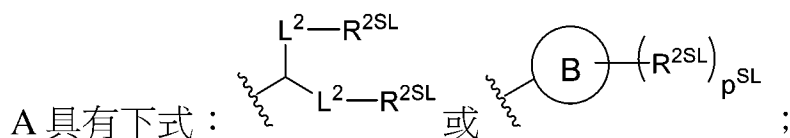
R^{OPL1} 為氫、視情況經取代之烷基或氧保護基；

r^{PL1} 係 1 與 100 之間的整數，包括 1 及 100；

L^1 為視情況經取代之 C_{1-10} 伸烷基，其中該視情況經取代之 C_{1-10} 伸烷基的至少一個亞甲基獨立地經視情況經取代之伸碳環基、視情況經取代之伸雜環基、視情況經取代之伸芳基、視情況經取代之伸雜芳基、 ---O--- 、 $\text{---N(R}^{\text{NPL1}}\text{)---}$ 、 ---S--- 、 ---C(O)--- 、 $\text{---C(O)N(R}^{\text{NPL1}}\text{)---}$ 、 $\text{---NR}^{\text{NPL1}}\text{C(O)---}$ 、 ---C(O)O--- 、 ---OC(O)--- 、 ---OC(O)O--- 、 $\text{---OC(O)N(R}^{\text{NPL1}}\text{)---}$ 、 $\text{---NR}^{\text{NPL1}}\text{C(O)O---}$ 或 $\text{---NR}^{\text{NPL1}}\text{C(O)N(R}^{\text{NPL1}}\text{)---}$ 置換；

D 係藉由點擊化學獲得之部分或在生理條件下可裂解之部分；

m^{PL1} 為 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；



L^2 之各情況獨立地為鍵或視情況經取代之 C_{1-6} 伸烷基，其中該視情況經取代之 C_{1-6} 伸烷基的一個亞甲基單元視情況經 $-O-$ 、 $-N(R^{NPL1})-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-NR^{NPL1}C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-NR^{NPL1}C(O)O-$ 或 $-NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})-$ 置換；

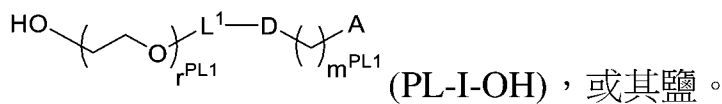
R^{2SL} 之各情況獨立地為視情況經取代之 C_{1-30} 烷基、視情況經取代之 C_{1-30} 烯基或視情況經取代之 C_{1-30} 炔基；視情況，其中 R^{2SL} 的一或多個亞甲基單元獨立地經視情況經取代之伸碳環基、視情況經取代之伸雜環基、視情況經取代之伸芳基、視情況經取代之伸雜芳基、 $-N(R^{NPL1})-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-NR^{NPL1}C(O)-$ 、 $-NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-NR^{NPL1}C(O)O-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(=NR^{NPL1})-$ 、 $-C(=NR^{NPL1})N(R^{NPL1})-$ 、 $-NR^{NPL1}C(=NR^{NPL1})-$ 、 $-NR^{NPL1}C(=NR^{NPL1})N(R^{NPL1})-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)N(R^{NPL1})-$ 、 $-NR^{NPL1}C(S)-$ 、 $-NR^{NPL1}C(S)N(R^{NPL1})-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-OS(O)-$ 、 $-S(O)O-$ 、 $-OS(O)O-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-N(R^{NPL1})S(O)-$ 、 $-S(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-N(R^{NPL1})S(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-OS(O)N(R^{NPL1})-$ 、 $-N(R^{NPL1})S(O)O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-N(R^{NPL1})S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^{NPL1})-$ 、 $-N(R^{NPL1})S(O)_2N(R^{NPL1})-$ 、 $-OS(O)_2N(R^{NPL1})-$ 或 $-N(R^{NPL1})S(O)_2O-$ 置換；

R^{NPL1} 之各情況獨立地為氫、視情況經取代之烷基或氮保護基；

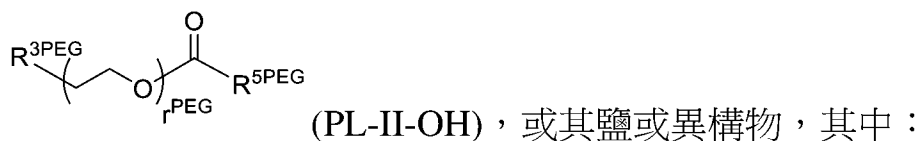
環 B 為視情況經取代之碳環基、視情況經取代之雜環基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基；且

p^{SL} 為 1 或 2。

【0137】 在某些實施例中，PEG 脂質為式 (PL-I-OH) 化合物：



【0138】 在某些實施例中，PEG 脂質為式(PL-II-OH)化合物：



$\text{R}^{3\text{PEG}}$ 為 $-\text{OR}^0$ ；

R^0 為氫、 C_{1-6} 烷基或氧保護基；

r^{PEG} 為 1 與 100 之間的整數；

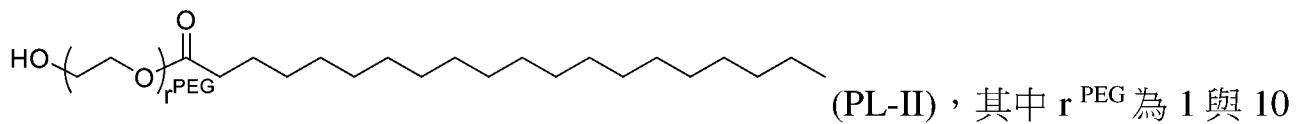
$\text{R}^{5\text{PEG}}$ 為 C_{10-40} 烷基、 C_{10-40} 烯基或 C_{10-40} 炔基；且視情況， $\text{R}^{5\text{PEG}}$ 之一或多個亞甲基獨立地經 C_{3-10} 伸碳環基、4 至 10 員伸雜環基、 C_{6-10} 伸芳基、4 至 10 員伸雜芳基、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{S}-$ 、 $-\text{SC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{NPEG}})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(=\text{NR}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(=\text{NR}^{\text{NPEG}})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{C}(\text{S})-$ 、 $-\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{S})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})\text{O}-$ 、 $\text{OS}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{O}-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})_2\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ 或 $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})_2\text{O}-$ 置換；且

R^{NPEG} 之各情況獨立地為氫、 C_{1-6} 烷基或氮保護基。

【0139】 在某些實施例中，在式(PL-II-OH)之 PEG 脂質中， r 為 40 與 50 之間的整數。例如， r 係選自由 40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 及 50 組成之群。例如， r 為 45。

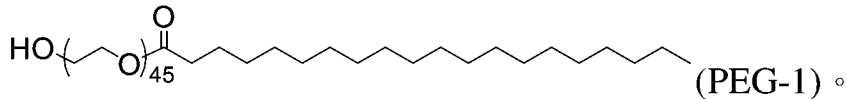
【0140】 在某些實施例中，在式(PL-II-OH)之 PEG 脂質中， R^5 為 C_{17} 烷基。

【0141】 在某些實施例中，PEG 脂質為式(PL-II)化合物：

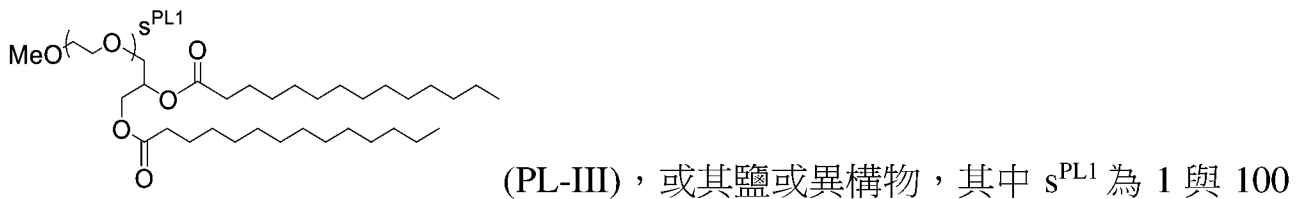


0 之間的整數。

【0142】 在某些實施例中，PEG 脂質為式 (PEG-1) 化合物：

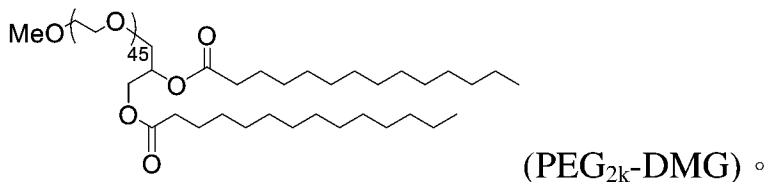


【0143】 在某些實施例中，PEG 脂質為式 (PL-III) 化合物：



之間的整數。

【0144】 在某些實施例中，PEG 脂質為下式之化合物：



【0145】 在某些實施例中，式 (PL-I)、(PL-I-OH)、(PL-II)、(PL-II-OH)、(PL-III)、PEG_{2k}-DMG 或 PEG-1 之脂質併入奈米粒子調配物中可改良脂質奈米粒子調配物之藥物動力學及/或生物分佈。例如，式 (PL-II-OH)、(PL-IIa-OH)、(PL-II) 或 PEG-1 之脂質併入奈米粒子調配物中可降低加速血液清除(ABC)效應。

佐劑

【0146】 在一些實施例中，包括本文所述之一或多種脂質的脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可進一步包括一或多種佐劑，例如哌喃葡萄糖基脂質佐劑 (GLA)、CpG 寡去氧核苷酸(例如 A 或 B 類)、poly(I:C)、氫氧化鋁及 Pam3CSK4。

治療劑

【0147】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可包括一或多種治療劑及/或預防劑。本揭示案提供向哺乳動物細胞或器官遞送治療劑及/或預防劑、在哺乳

動物細胞中產生所關注之多肽及治療有需要之哺乳動物的疾病或病症之方法，該等方法包括向哺乳動物投與包括治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及/或使哺乳動物細胞與包括治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)接觸。

【0148】 治療劑及/或預防劑包括生物學活性物質且替代地稱作「活性劑」。治療劑及/或預防劑可為一旦遞送至細胞或器官即在該細胞、器官或其他身體組織或系統中引起所需變化之物質。該等物質可用於治療一或多種疾病、病症或疾患。在一些實施例中，治療劑及/或預防劑係可用於治療特定疾病、病症或疾患之小分子藥物。

【0149】 在一些實施例中，治療劑及/或預防劑係疫苗、引起免疫反應之化合物(例如，編碼蛋白質或多肽或肽之聚核苷酸或核酸分子或者蛋白質或多肽或肽)及/或另一治療劑及/或預防劑。疫苗包括能夠提供針對與傳染病相關之一或多種疾患的免疫性的化合物及製劑且可包括編碼傳染病源性抗原及/或抗原決定基之 mRNA。疫苗亦包括指導針對癌細胞之免疫反應的化合物及製劑且可包括編碼腫瘤細胞源性抗原、抗原決定基及/或新抗原決定基之 mRNA。在一些實施例中，疫苗及/或能夠引起免疫反應之化合物經由本揭示案之組合物經肌內投與。

【0150】 在其他實施例中，治療劑及/或預防劑為蛋白質，例如增加或補充所關注之天然存在之蛋白質所需的蛋白質。該等蛋白質或多肽可為天然存在的，或可使用此項技術中已知之方法經修飾，例如以延長半衰期。例示性蛋白質為細胞內、跨膜或分泌性的。

聚核苷酸及核酸

【0151】 在一些實施例中，治療劑係增強(亦即，增加、刺激、上調)蛋白質表現之劑。可用於增強蛋白質表現之治療劑類型之非限制性實例包括 RNA、mRNA、dsRNA、CRISPR/Cas9 技術、ssDNA 及 DNA (例如表現載體)。上調蛋

白質表現之劑可上調天然存在或非天然存在之蛋白質(例如已經修飾以改良半衰期之嵌合蛋白，或包含所需胺基酸變化之蛋白質)的表現。例示性蛋白質包括細胞內、跨膜或分泌性蛋白質、肽或多肽。

【0152】 在一些實施例中，治療劑為 DNA 治療劑。DNA 分子可為雙鏈 DNA、單鏈 DNA (ssDNA)或作為部分雙鏈 DNA 之分子(亦即，具有雙鏈部分及單鏈部分)。在一些情況下，DNA 分子為三鏈的或為部分三鏈的(亦即，具有三鏈部分及雙鏈部分)。DNA 分子可為環狀 DNA 分子或直鏈 DNA 分子。

【0153】 DNA 治療劑可為能夠將基因轉移至細胞中，例如編碼轉錄物且可表現轉錄物之 DNA 分子。在其他實施例中，DNA 分子為合成分子，例如活體外產生之合成 DNA 分子。在一些實施例中，DNA 分子為重組分子。非限制性例示性 DNA 治療劑包括質體表現載體及病毒表現載體。

【0154】 本文所述之 DNA 治療劑(例如 DNA 載體)可包括多種不同特徵。本文所述之 DNA 治療劑(例如 DNA 載體)可包括非編碼 DNA 序列。例如，DNA 序列可包括針對基因之至少一種調控元件，例如啓動子、增強子、終止元件、聚腺苷酸化信號元件、剪接信號元件及其類似元件。在一些實施例中，非編碼 DNA 序列為內含子。在一些實施例中，非編碼 DNA 序列為轉座子。在一些實施例中，本文所述之 DNA 序列可具有可操作性連接至轉錄活性基因之非編碼 DNA 序列。在其他實施例中，本文所述之 DNA 序列可具有未連接至基因之非編碼 DNA 序列，亦即該非編碼 DNA 不調控該 DNA 序列上之基因。

【0155】 在一些實施例中，在本揭示案之負載 LNP 中，該一或多種治療劑及/或預防劑為核酸。在一些實施例中，該一或多種治療劑及/或預防劑係選自由核糖核酸(RNA)及去氧核糖核酸(DNA)組成之群。

【0156】 例如，在一些實施例中，當該等治療劑及/或預防劑為 DNA 時，該 DNA 係選自由雙鏈 DNA、單鏈 DNA (ssDNA)、部分雙鏈 DNA、三鏈 DNA 及

部分三鏈 DNA 組成之群。在一些實施例中，該 DNA 係選自由環狀 DNA、直鏈 DNA 及其混合物組成之群。

【0157】 在一些實施例中，在本揭示案之負載 LNP 中，該一或多種治療劑及/或預防劑係選自由質體表現載體、病毒表現載體及其混合物組成之群。

【0158】 例如，在一些實施例中，當該等治療劑及/或預防劑為 RNA 時，該 RNA 係選自由單鏈 RNA、雙鏈 RNA (dsRNA)、部分雙鏈 RNA 及其混合物組成之群。在一些實施例中，該 RNA 係選自由環狀 RNA、直鏈 RNA 及其混合物組成之群。

【0159】 例如，在一些實施例中，當該等治療劑及/或預防劑為 RNA 時，該 RNA 係選自由短干擾 RNA (siRNA)、不對稱干擾 RNA (aiRNA)、RNA 干擾(RNAi) 分子、微小 RNA (miRNA)、安塔夠妙(antagomir)、反義 RNA、核糖核酸酵素、Dicer-受質 RNA (dsRNA)、小髮夾 RNA (shRNA)、信使 RNA (mRNA)、鎖核酸 (LNA)及 CRISPR/Cas9 技術及其混合物組成之群。

【0160】 例如，在一些實施例中，當該等治療劑及/或預防劑為 RNA 時，該 RNA 係選自由小干擾 RNA (siRNA)、不對稱干擾 RNA (aiRNA)、微小 RNA (miRNA)、Dicer-受質 RNA (dsRNA)、小髮夾 RNA (shRNA)、信使 RNA (mRNA) 及其混合物組成之群。

【0161】 在一些實施例中，該一或多種治療劑及/或預防劑為 mRNA。在一些實施例中，該一或多種治療劑及/或預防劑為經修飾 mRNA (mmRNA)。

【0162】 在一些實施例中，該一或多種治療劑及/或預防劑係併入微小 RNA 結合位點(miR 結合位點)之 mRNA。此外，在一些實施例中，mRNA 包括莖環、鏈終止核苷、polyA 序列、聚腺苷酸化信號及/或 5'帽結構中之一或多者。

【0163】 mRNA 可為天然或非天然存在的 mRNA。mRNA 可包括一或多個如下文所述經修飾核鹼基、核苷或核苷酸，在該情況下其可稱作「經修飾 mRNA」

或「mmRNA」。如本文所述，「核苷」係定義為含有與有機鹼基(例如，嘌呤或嘧啶)或其衍生物(本文中亦稱作「核鹼基」)組合之糖分子(例如，戊糖或核糖)或其衍生物的化合物。如本文所述，「核苷酸」係定義為包括磷酸酯基之核苷。

【0164】 mRNA 可包括 5'非轉譯區(5'-UTR)、3'非轉譯區(3'-UTR)及/或編碼區(例如開放閱讀框)。mRNA 可包括任何合適數目之鹼基對，包括數十個(例如，10、20、30、40、50、60、70、80、90 或 100 個)、數百個(例如，200、300、400、500、600、700、800 或 900 個)或數千個(例如，1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000 個)鹼基對。任何數目(例如，全部、一些或無)之核鹼基、核苷或核苷酸均可為規範物質之類似物，經取代、經修飾或以其他方式非天然存在。在某些實施例中，特定核鹼基類型之全部可經修飾。在一些實施例中，全部尿嘧啶或尿苷均經修飾。當全部核鹼基、核苷或核苷酸經修飾(例如，全部尿嘧啶或尿苷)時，該 mRNA 可稱作「完全經修飾」，例如針對尿嘧啶或尿苷。

【0165】 在一些實施例中，如本文所述之 mRNA 可包括 5'帽結構、鏈終止核苷酸、視情況選用之 Kozak 序列(亦稱作 Kozak 共有序列)、莖環、polyA 序列及/或聚腺苷酸化信號。

【0166】 5'帽結構或帽物質係包括藉由連接體接合之兩個核苷部分的化合物且可選自天然存在之帽、非天然存在之帽或帽類似物或抗-反向帽類似物(ARCA)。帽物質可包括一或多個經修飾核苷及/或連接體部分。例如，天然 mRNA 帽可包括鳥嘌呤核苷酸及在 7 位置處甲基化之鳥嘌呤(G)核苷酸，由該等核苷酸之 5'位置處之三磷酸酯鍵接合，例如 m7G(5')ppp(5')G，通常書寫為 m7GpppG。帽物質亦可為抗-反向帽類似物。可能的帽物質之非限制性清單包括 m7GpppG、m7Gpppm7G、m73'dGpppG、m27,O3'GpppG、m27,O3'GppppG、m27,O2'GppppG、m7Gpppm7G、m73'dGpppG、m27,O3'GpppG、m27,O3'GppppG 及 m27,O2'GppppG。

【0167】 mRNA 可替代地或另外包括鏈終止核苷。例如，鏈終止核苷可包括在其糖基之 2' 及/或 3' 位置處去氧之彼等核苷。該等物質可包括 3' 去氧腺苷(蛹蟲草菌素(cordycepin))、3' 去氧尿苷、3' 去氧胞嘧啶、3' 去氧鳥苷、3' 去氧胸腺嘧啶及 2',3' 二去氧核苷(諸如 2',3' 二去氧腺苷、2',3' 二去氧尿苷、2',3' 二去氧胞嘧啶、2',3' 二去氧鳥苷及 2',3' 二去氧胸腺嘧啶)。在一些實施例中，將鏈終止核苷酸併入 mRNA 中例如 3'-末端處可達成 mRNA 之穩定化。

【0168】 mRNA 可替代地或另外包括莖環，諸如組蛋白莖環。莖環可包括 2、3、4、5、6、7、8 個或 8 個以上核苷酸鹼基對。例如，莖環可包括 4、5、6、7 或 8 個核苷酸鹼基對。莖環可位於 mRNA 之任何區中。例如，莖環可位於非轉譯區(5'非轉譯區或 3'非轉譯區)、編碼區或 polyA 序列或尾端中、之前或之後。在一些實施例中，莖環可影響 mRNA 之一或多種功能，諸如轉譯起始、轉譯效率及/或轉錄終止。

【0169】 mRNA 可替代地或另外包括 polyA 序列及/或聚腺苷酸化信號。polyA 序列可完全地或主要包含腺嘌呤核苷酸或其類似物或衍生物。poly A 序列亦可包含穩定化核苷酸或類似物。例如，poly A 序列可包括去氧胸苷作為穩定化核苷酸或類似物，例如反向(或反向鏈)去氧胸苷(dT)。關於使用反向 dT 及其他穩定化 poly A 序列修飾之詳情可發現於例如 WO2017/049275 A2 中，該案之內容以引用之方式併入本文中。polyA 序列可為與 mRNA 之 3'非轉譯區相鄰定位之尾端。在一些實施例中，polyA 序列可影響 mRNA 之核輸出、轉譯及/或穩定性。

【0170】 mRNA 可替代地或另外包括微小 RNA 結合位點。微小 RNA 結合位點(或 miR 結合位點)可用於調控多種組織或細胞類型中之 mRNA 表現。在例示性實施例中，miR 結合位點係經工程改造成 mRNA 之 3' UTR 序列以調控(例如，增強) mRNA 在表現同源 miR 之細胞或組織中之降解。該調控可用於調控或控制 mRNA 之「脫靶」表現，亦即在活體內非所需細胞或組織中之表現。關於使用

mir 結合位點之詳情可發現於例如 WO 2017/062513 A2 中，該案之內容以引用之方式併入本文中。

【0171】 在一些實施例中，mRNA 係包含第一編碼區及第二編碼區之雙順反子 mRNA，該等編碼區具有包含允許第一與第二編碼區之間的內部轉譯起始之內部核糖體進入位點(IRES)序列之介入序列，或具有編碼自裂解肽(諸如 2A 肽)之介入序列。IRES 序列及 2A 肽典型地用於增強來自同一載體之多種蛋白質之表現。多種 IRES 序列為已知的且在此項技術中可獲得且可加以使用，包括例如腦心肌炎病毒 IRES。

【0172】 在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 包含一或多個經修飾核鹼基、核苷或核苷酸(稱作「經修飾 mRNA」或「mmRNA」)。在一些實施例中，經修飾 mRNA 可具有適用特性，包括如與參考未經修飾 mRNA 相比，增強之穩定性、細胞內保留、增強之轉譯及/或缺乏其中引入該 mRNA 之細胞的先天性免疫反應之實質誘導。因此，經修飾 mRNA 之使用可增強蛋白質產生效率、核酸之細胞內保留，以及具有降低的免疫原性。

【0173】 在一些實施例中，mRNA 包括一或多個(例如，1、2、3 或 4 個)不同的經修飾核鹼基、核苷或核苷酸。在一些實施例中，mRNA 包括一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 個或 100 個以上)不同的經修飾核鹼基、核苷或核苷酸。在一些實施例中，相對於相應的未經修飾 mRNA，經修飾 mRNA 可在其中引入該 mRNA 之細胞中具有降低之降解。

【0174】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係經修飾尿嘧啶。具有經修飾尿嘧啶之例示性核鹼基及核苷包括假尿苷(ψ)、吡啶-4-酮核糖核苷、5-氫雜-尿苷、6-氫雜-尿苷、2-硫代-5-氫雜-尿苷、2-硫代-尿苷(s2U)、4-硫代-尿苷(s4U)、4-硫代-假尿苷、2-硫代-假尿苷、5-羥基-尿苷(ho5U)、5-胺基烯丙基-尿苷、5-鹵基-尿苷

(例如，5-碘-尿苷或5-溴-尿苷)、3-甲基-尿苷(m3U)、5-甲氧基-尿苷(mo5U)、尿苷5-氧乙酸(cmo5U)、尿苷5-氧乙酸甲酯(mcmo5U)、5-羧基甲基-尿苷(cm5U)、1-羧基甲基-假尿苷、5-羧基羥基甲基-尿苷(chm5U)、5-羧基羥基甲基-尿苷甲酯(mchm5U)、5-甲氧基羧基甲基-尿苷(mcm5U)、5-甲氧基羧基甲基-2-硫代-尿苷(mcm5s2U)、5-胺基甲基-2-硫代-尿苷(nm5s2U)、5-甲基胺基甲基-尿苷(mnm5U)、5-甲基胺基甲基-2-硫代-尿苷(mnm5s2U)、5-甲基胺基甲基-2-硒代-尿苷(mnm5se2U)、5-胺甲醯基甲基-尿苷(ncm5U)、5-羧基甲基胺基甲基-尿苷(cmm5U)、5-羧基甲基胺基甲基-2-硫代-尿苷(cmm5s2U)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺醯基甲基-尿苷(tm5U)、1-牛磺醯基甲基-假尿苷、5-牛磺醯基甲基-2-硫代-尿苷(tm5s2U)、1-牛磺醯基甲基-4-硫代-假尿苷、5-甲基-尿苷(m5U，亦即具有核鹼基去氧胸腺嘧啶)、1-甲基-假尿苷(m1ψ)、5-甲基-2-硫代-尿苷(m5s2U)、1-甲基-4-硫代-假尿苷(m1s4ψ)、4-硫代-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷(m3ψ)、2-硫代-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、2-硫代-1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、二氫尿苷(D)、二氫假尿苷、5,6-二氫尿苷、5-甲基-二氫尿苷(m5D)、2-硫代-二氫尿苷、2-硫代-二氫假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫代-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-硫代-假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-胺基-3-羧基丙基)尿苷(acp3U)、1-甲基-3-(3-胺基-3-羧基丙基)假尿苷(acp3ψ)、5-(異戊烯基胺基甲基)尿苷(inm5U)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2-硫代-尿苷(inm5s2U)、α-硫代-尿苷、2'-O-甲基-尿苷(Um)、5,2'-O-二甲基-尿苷(m5Um)、2'-O-甲基-假尿苷(ψm)、2-硫代-2'-O-甲基-尿苷(s2Um)、5-甲氧基羧基甲基-2'-O-甲基-尿苷(mcm5Um)、5-胺甲醯基甲基-2'-O-甲基-尿苷(ncm5Um)、5-羧基甲基胺基甲基-2'-O-甲基-尿苷(cmm5Um)、3,2'-O-二甲基-尿苷(m3Um)及5-(異戊烯基胺基甲基)-2'-O-甲基-尿苷(inm5Um)、1-硫代-尿苷、去氧胸苷、2'-F-阿拉伯糖-尿苷、2'-F-尿苷、2'-OH-阿拉伯糖-尿苷、5-(2-甲氧羧基乙炔基)尿苷及5-[3-(1-E-丙炔基胺基)]尿苷。

【0175】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係經修飾胞嘧啶。具有經修飾胞嘧啶之例示性核鹼基及核苷包括 5-氮雜-胞苷、6-氮雜-胞苷、假異胞苷、3-甲基-胞苷(m3C)、N4-乙醯基-胞苷(ac4C)、5-甲醯基-胞苷(f5C)、N4-甲基-胞苷(m4C)、5-甲基-胞苷(m5C)、5-鹵基-胞苷(例如 5-碘-胞苷)、5-羥基甲基-胞苷(hm5C)、1-甲基-假異胞苷、吡咯并-胞苷、吡咯并-假異胞苷、2-硫代-胞苷(s2C)、2-硫代-5-甲基-胞苷、4-硫代-假異胞苷、4-硫代-1-甲基-假異胞苷、4-硫代-1-甲基-1-去氮雜-假異胞苷、1-甲基-1-去氮雜-假異胞苷、澤布拉林(zebularine)、5-氮雜-澤布拉林、5-甲基-澤布拉林、5-氮雜-2-硫代-澤布拉林、2-硫代-澤布拉林、2-甲氧基-胞苷、2-甲氧基-5-甲基-胞苷、4-甲氧基-假異胞苷、4-甲氧基-1-甲基-假異胞苷、立西啉(lysidine, k2C)、 α -硫代-胞苷、2'-O-甲基-胞苷(Cm)、5,2'-O-二甲基-胞苷(m5Cm)、N4-乙醯基-2'-O-甲基-胞苷(ac4Cm)、N4,2'-O-二甲基-胞苷(m4Cm)、5-甲醯基-2'-O-甲基-胞苷(f5Cm)、N4,N4,2'-O-三甲基-胞苷(m42Cm)、1-硫代-胞苷、2'-F-阿拉伯糖-胞苷、2'-F-胞苷及 2'-OH-阿拉伯糖-胞苷。

【0176】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係經修飾腺嘌呤。具有經修飾腺嘌呤之例示性核鹼基及核苷包括 α -硫代-腺苷、2-胺基-嘌呤、2,6-二胺基嘌呤、2-胺基-6-鹵基-嘌呤(例如 2-胺基-6-氯-嘌呤)、6-鹵基-嘌呤(例如 6-氯-嘌呤)、2-胺基-6-甲基-嘌呤、8-疊氮基-腺苷、7-去氮雜-腺嘌呤、7-去氮雜-8-氮雜-腺嘌呤、7-去氮雜-2-胺基-嘌呤、7-去氮雜-8-氮雜-2-胺基-嘌呤、7-去氮雜-2,6-二胺基嘌呤、7-去氮雜-8-氮雜-2,6-二胺基嘌呤、1-甲基-腺苷(m1A)、2-甲基-腺嘌呤(m2A)、N6-甲基-腺苷(m6A)、2-甲基硫代-N6-甲基-腺苷(ms2m6A)、N6-異戊烯基-腺苷(i6A)、2-甲基硫代-N6-異戊烯基-腺苷(ms2i6A)、N6-(順-羥基異戊烯基)腺苷(io6A)、2-甲基硫代-N6-(順-羥基異戊烯基)腺苷(ms2io6A)、N6-甘胺醯基胺甲醯基-腺苷(g6A)、N6-蘇胺醯基胺甲醯基-腺苷(t6A)、N6-甲基-N6-蘇胺醯基胺甲醯基-腺苷(m6t6A)、2-甲基硫代-N6-蘇胺醯基胺甲醯基-腺苷(ms2g6A)、N6,N6-二甲基-腺苷

(m62A)、N6-羥基正纈胺醯基胺甲醯基-腺苷(hn6A)、2-甲基硫代-N6-羥基正纈胺醯基胺甲醯基-腺苷(ms2hn6A)、N6-乙醯基-腺苷(ac6A)、7-甲基-腺嘌呤、2-甲基硫代-腺嘌呤、2-甲氧基-腺嘌呤、 α -硫代-腺苷、2'-O-甲基-腺苷(Am)、N6,2'-O-二甲基-腺苷(m6Am)、N6,N6,2'-O-三甲基-腺苷(m62Am)、1,2'-O-二甲基-腺苷(m1Am)、2'-O-核糖基腺苷(磷酸酯)(Ar(p))、2-胺基-N6-甲基-嘌呤、1-硫代-腺苷、8-疊氮基-腺苷、2'-F-阿拉伯糖-腺苷、2'-F-腺苷、2'-OH-阿拉伯糖-腺苷及 N6-(19-胺基-五氧雜十九烷基)-腺苷。

【0177】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係經修飾鳥嘌呤。具有經修飾鳥嘌呤之例示性核鹼基及核苷包括 α -硫代-鳥苷、肌苷(I)、1-甲基-肌苷(m1I)、懷俄苷(imG)、甲基懷俄苷(mimG)、4-去甲基-懷俄苷(imG-14)、異懷俄苷(imG2)、懷丁苷(yW)、過氧懷丁苷(o2yW)、羥基懷丁苷(OhyW)、修飾不足之羥基懷丁苷(OhyW*)、7-去氮雜-鳥苷、辮苷(Q)、環氧辮苷(oQ)、半乳糖基-辮苷(galQ)、甘露糖基-辮苷(manQ)、7-氰基-7-去氮雜-鳥苷(preQ0)、7-胺基甲基-7-去氮雜-鳥苷(preQ1)、古嘌呤(G+)、7-去氮雜-8-氮雜-鳥苷、6-硫代-鳥苷、6-硫代-7-去氮雜-鳥苷、6-硫代-7-去氮雜-8-氮雜-鳥苷、7-甲基-鳥苷(m7G)、6-硫代-7-甲基-鳥苷、7-甲基-肌苷、6-甲氧基-鳥苷、1-甲基-鳥苷(m1G)、N2-甲基-鳥苷(m2G)、N2,N2-二甲基-鳥苷(m22G)、N2,7-二甲基-鳥苷(m2,7G)、N2,N2,7-二甲基-鳥苷(m2,2,7G)、8-側氧基-鳥苷、7-甲基-8-側氧基-鳥苷、1-甲基-6-硫代-鳥苷、N2-甲基-6-硫代-鳥苷、N2,N2-二甲基-6-硫代-鳥苷、 α -硫代-鳥苷、2'-O-甲基-鳥苷(Gm)、N2-甲基-2'-O-甲基-鳥苷(m2Gm)、N2,N2-二甲基-2'-O-甲基-鳥苷(m22Gm)、1-甲基-2'-O-甲基-鳥苷(m1Gm)、N2,7-二甲基-2'-O-甲基-鳥苷(m2,7Gm)、2'-O-甲基-肌苷(Im)、1,2'-O-二甲基-肌苷(m1Im)、2'-O-核糖基鳥苷(磷酸酯)(Gr(p))、1-硫代-鳥苷、O6-甲基-鳥苷、2'-F-阿拉伯糖-鳥苷及 2'-F-鳥苷。

【0178】 在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 包括一或多種前述經修飾核鹼

基之組合(例如，2、3或4種前述經修飾核鹼基之組合)。

【0179】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係假尿苷(ψ)、N1-甲基假尿苷(m1 ψ)、2-硫代尿苷、4'-硫代尿苷、5-甲基胞嘧啶、2-硫代-1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、2-硫代-1-甲基-假尿苷、2-硫代-5-氮雜-尿苷、2-硫代-二氫假尿苷、2-硫代-二氫尿苷、2-硫代-假尿苷、4-甲氧基-2-硫代-假尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-硫代-1-甲基-假尿苷、4-硫代-假尿苷、5-氮雜-尿苷、二氫假尿苷、5-甲氧基尿苷或2'-O-甲基尿苷。在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 包括一或多種前述經修飾核鹼基之組合(例如，2、3或4種前述經修飾核鹼基之組合)。在一些實施例中，經修飾核鹼基為 N1-甲基假尿苷(m1 ψ)且本揭示案之 mRNA 係完全地經 N1-甲基假尿苷(m1 ψ)修飾。在一些實施例中，N1-甲基假尿苷(m1 ψ)表示 mRNA 中之 75-100%尿嘧啶。在一些實施例中，N1-甲基假尿苷(m1 ψ)表示 mRNA 中之 100%尿嘧啶。

【0180】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係經修飾胞嘧啶。具有經修飾胞嘧啶之例示性核鹼基及核苷包括 N4-乙醯基-胞苷(ac4C)、5-甲基-胞苷(m5C)、5-鹵基-胞苷(例如 5-碘-胞苷)、5-羥基甲基-胞苷(hm5C)、1-甲基-假異胞苷、2-硫代-胞苷(s2C)、2-硫代-5-甲基-胞苷。在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 包括一或多種前述經修飾核鹼基之組合(例如，2、3或4種前述經修飾核鹼基之組合)。

【0181】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係經修飾腺嘌呤。具有經修飾腺嘌呤之例示性核鹼基及核苷包括 7-去氮雜-腺嘌呤、1-甲基-腺苷(m1A)、2-甲基-腺嘌呤(m2A)、N6-甲基-腺苷(m6A)。在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 包括一或多種前述經修飾核鹼基之組合(例如，2、3或4種前述經修飾核鹼基之組合)。

【0182】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係經修飾鳥嘌呤。具有經修飾鳥嘌呤之例示性核鹼基及核苷包括肌苷(I)、1-甲基-肌苷(m1I)、懷俄苷(imG)、甲基懷俄苷(mimG)、7-去氮雜-鳥苷、7-氫基-7-去氮雜-鳥苷(preQ0)、7-胺基甲基-7-去氮雜-鳥苷(preQ1)、7-甲基-鳥苷(m7G)、1-甲基-鳥苷(m1G)、8-側氧基-鳥苷、7-甲基

-8-側氧基-鳥苷。在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 包括一或多種前述經修飾核鹼基之組合(例如，2、3 或 4 種前述經修飾核鹼基之組合)。

【0183】 在一些實施例中，經修飾核鹼基係 1-甲基-假尿苷(m1 ψ)、5-甲氧基-尿苷(mo5U)、5-甲基-胞苷(m5C)、假尿苷(ψ)、 α -硫代-鳥苷或 α -硫代-腺苷。在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 包括一或多種前述經修飾核鹼基之組合(例如，2、3 或 4 種前述經修飾核鹼基之組合)。

【0184】 在一些實施例中，mRNA 包含假尿苷(ψ)。在一些實施例中，mRNA 包含假尿苷(ψ)及 5-甲基-胞苷(m5C)。在一些實施例中，mRNA 包含 1-甲基-假尿苷(m1 ψ)。在一些實施例中，mRNA 包含 1-甲基-假尿苷(m1 ψ)及 5-甲基-胞苷(m5C)。在一些實施例中，mRNA 包含 2-硫代尿苷(s2U)。在一些實施例中，mRNA 包含 2-硫代尿苷及 5-甲基-胞苷(m5C)。在一些實施例中，mRNA 包含 5-甲氧基-尿苷(mo5U)。在一些實施例中，mRNA 包含 5-甲氧基-尿苷(mo5U)及 5-甲基-胞苷(m5C)。在一些實施例中，mRNA 包含 2'-O-甲基尿苷。在一些實施例中，mRNA 包含 2'-O-甲基尿苷及 5-甲基-胞苷(m5C)。在一些實施例中，mRNA 包含 N6-甲基-腺苷(m6A)。在一些實施例中，mRNA 包含 N6-甲基-腺苷(m6A)及 5-甲基-胞苷(m5C)。

【0185】 在某些實施例中，本揭示案之 mRNA 係針對特定修飾均一地經修飾(亦即，完全地經修飾、遍及整個序列經修飾)。例如，mRNA 可均一地經 N1-甲基假尿苷(m1 ψ)或 5-甲基-胞苷(m5C)修飾，意謂 mRNA 序列中之所有尿苷或所有胞嘧啶核苷均經 N1-甲基假尿苷(m1 ψ)或 5-甲基-胞苷(m5C)置換。同樣，本揭示案之 mRNA 可藉由用經修飾殘基(諸如上文所陳述之彼等)置換而針對存在於該序列中的任何類型之核苷殘基均一地經修飾。

【0186】 在一些實施例中，本揭示案之 mRNA 可在編碼區(例如，編碼多肽之開放閱讀框)中經修飾。在其他實施例中，mRNA 可在除編碼區之外的區中經修

飾。例如，在一些實施例中，提供 5'-UTR 及/或 3'-UTR，其中任一者或兩者可獨立地含有一或多種不同的核苷修飾。在該等實施例中，核苷修飾亦可存在於編碼區中。

【0187】 本揭示案之 mmRNA 可包括針對糖、核鹼基及/或核苷間鍵之修飾的組合。此等組合可包括本文所述之任何一或多種修飾。

【0188】 在列出單一修飾之情況下，所列出之核苷或核苷酸表示 100%之彼 A、U、G 或 C 核苷酸或核苷已經修飾。在列出百分率之情況下，此等表示所存在之 A、U、G 或 C 三磷酸酯的總量中該百分率之彼特定 A、U、G 或 C 核鹼基三磷酸酯。例如，組合：25% 5-胺基烯丙基-CTP + 75% CTP/25% 5-甲氧基-UTP + 75% UTP 係指聚核苷酸，其中 25%之胞嘧啶三磷酸酯為 5-胺基烯丙基-CTP，而 75%之胞嘧啶為 CTP；而 25%之尿嘧啶為 5-甲氧基 UTP，而 75%之尿嘧啶為 UTP。在未列出經修飾 UTP 之情況下，則天然存在之 ATP、UTP、GTP 及/或 CTP 用於該聚核苷酸中發現的彼等核苷酸之 100%位點中。在此實例中，所有 GTP 及 ATP 均保持未經修飾。

【0189】 本揭示案之 mRNA 或其區可經密碼子最佳化。密碼子最佳化方法係此項技術中已知的且可用於多種目的：匹配宿主生物體中之密碼子頻率以確保適當摺疊，使 GC 含量產生偏好以增加 mRNA 穩定性或降低二級結構，使可削弱基因建構或表現之串聯重複序列密碼子或鹼基連串降至最低，定製轉錄及轉譯控制區，插入或移除蛋白質轉運序列，移除/添加編碼蛋白中之轉譯後修飾位點(例如糖基化位點)，添加、移除或改組蛋白域，插入或刪除限制位點，修飾核糖體結合位點及 mRNA 降解位點，調節轉譯速率以允許蛋白質之多個域適當地摺疊，或降低或消除聚核苷酸內之問題二級結構。密碼子最佳化工具、算法及服務係此項技術中已知的；非限制性實例包括來自 GeneArt (Life Technologies)、DNA2.0 (Menlo Park, CA)之服務及/或專屬方法。在一些實施例中，mRNA 序列

使用最佳化算法經最佳化，例如以最佳化哺乳動物細胞中之表現或增強 mRNA 穩定性。

【0190】 在某些實施例中，本揭示案包括與任何本文所述之聚核苷酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%或至少 99%序列一致性之聚核苷酸。

【0191】 本揭示案之 mRNA 可藉由此項技術中可獲得之方式，包括但不限於活體外轉錄(IVT)及合成方法產生。可使用酶(IVT)、固相、液相、組合合成方法、小區合成及接合方法。在一些實施例中，mRNA 使用 IVT 酶合成方法製得。因此，本揭示案亦包括可用於活體外轉錄本文所述之 mRNA 之聚核苷酸，例如 DNA、構築體及載體。

【0192】 非天然經修飾核鹼基可在合成期間或合成後引入聚核苷酸(例如，mRNA)中。在某些實施例中，修飾可在核苷間鍵、嘌呤或嘧啶鹼基或糖上。在特定實施例中，修飾可引入於聚核苷酸鏈之末端處或該聚核苷酸鏈中之別處；使用化學合成或使用聚合酶。

【0193】 酶或化學接合方法可用於使聚核苷酸或其區與不同的功能部分(諸如靶向或遞送劑、螢光標記、液體、奈米粒子等)結合。

用於降低蛋白質表現之治療劑

【0194】 在一些實施例中，治療劑係降低(亦即，減少、抑制、下調)蛋白質表現之治療劑。可用於降低蛋白質表現之治療劑的類型之非限制性實例包括併入微小 RNA 結合位點(miR 結合位點)之 mRNA、微小 RNA (miRNA)、安塔夠妙、小(短)干擾 RNA (siRNA) (包括短聚物(shortmer)及 dicer-受質 RNA)、RNA 干擾 (RNAi)分子、反義 RNA、核糖核酸酵素、小髮夾 RNA (shRNA)、鎖核酸(LNA)及 CRISPR/Cas9 技術。

肽/多肽治療劑

【0195】 在一些實施例中，治療劑為肽治療劑。在一些實施例中，治療劑為多肽治療劑。

【0196】 在一些實施例中，肽或多肽係天然來源的，例如自天然來源分離。在其他實施例中，肽或多肽為合成分子，例如活體外產生之合成肽或多肽。在一些實施例中，肽或多肽為重組分子。在一些實施例中，肽或多肽為嵌合分子。在一些實施例中，肽或多肽為融合分子。在一些實施例中，該組合物之肽或多肽治療劑為天然存在之肽或多肽。在一些實施例中，該組合物之肽或多肽治療劑為天然存在之肽或多肽的經修飾形式(例如，與其野生型、天然存在之肽或多肽配對物相比，含有少於 3 個、少於 5 個、少於 10 個、少於 15 個、少於 20 個或少於 25 個胺基酸取代、缺失或添加)。

【0197】 在一些實施例中，在本揭示案之負載 LNP 中，該一或多種治療劑及/或預防劑為聚核苷酸或多肽。

其他組分

【0198】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可包括一或多種除前述部分中所述之彼等以外之組分。例如，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可包括一或多種小疏水性分子，諸如維生素(例如，維生素 A 或維生素 E)或固醇。

【0199】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)亦可包括一或多種滲透性增強劑分子、碳水化合物、聚合物、表面改變劑或其他組分。碳水化合物可包括單糖(例如葡萄糖)及多醣(例如糖原及其衍生物及類似物)。

【0200】 聚合物可包括於奈米粒子組合物中及/或用於囊封或部分地囊封奈米粒子組合物。聚合物可為生物可降解的及/或生物相容性的。聚合物可選自但不限於聚胺、聚醚、聚醯胺、聚酯、聚胺基甲酸酯(polycarbamate)、聚脲、聚碳酸酯、聚苯乙烯、聚醯亞胺、聚砜、聚胺基甲酸酯(polyurethane)、聚乙炔、聚乙烯、聚乙烯亞胺、聚異氰酸酯、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯腈及聚丙烯酸

酯。例如，聚合物可包括聚(己內酯) (PCL)、乙烯乙酸乙烯酯聚合物(EVA)、聚(乳酸) (PLA)、聚(L-乳酸) (PLLA)、聚(乙醇酸) (PGA)、聚(乳酸-共-乙醇酸) (PLGA)、聚(L-乳酸-共-乙醇酸) (PLLGA)、聚(D,L-丙交酯) (PDLA)、聚(L-丙交酯) (PLLA)、聚(D,L-丙交酯-共-己內酯)、聚(D,L-丙交酯-共-己內酯-共-乙交酯)、聚(D,L-丙交酯-共-PEO-共-D,L-丙交酯)、聚(D,L-丙交酯-共-PPO-共-D,L-丙交酯)、聚氰基丙烯酸烷酯、聚胺基甲酸酯、聚-L-離胺酸(PLL)、甲基丙烯酸羥基丙酯 (HPMA)、聚乙二醇、聚-L-麩胺酸、聚(羥基酸)、聚酞、聚原酸酯、聚(酯醯胺)、聚醯胺、聚(酯醚)、聚碳酸酯、聚伸烷基(諸如聚乙烯及聚丙烯)、聚伸烷基二醇(諸如聚(乙二醇) (PEG))、聚氧化烯(PEO)、聚對苯二甲酸伸烷基酯(諸如聚(對苯二甲酸乙二酯))、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯醚、聚乙烯酯(諸如聚(乙酸乙烯酯))、聚鹵化乙烯(諸如聚(氯乙烯) (PVC))、聚乙烯吡咯啉酮(PVP)、聚矽氧烷、聚苯乙烯(PS)、聚胺基甲酸酯、衍生化纖維素(諸如烷基纖維素、羥基烷基纖維素、纖維素醚、纖維素酯、硝基纖維素、羥基丙基纖維素、羧基甲基纖維素)、丙烯酸聚合物(諸如聚((甲基)丙烯酸甲酯) (PMMA)、聚((甲基)丙烯酸乙酯)、聚((甲基)丙烯酸丁酯)、聚((甲基)丙烯酸異丁酯)、聚((甲基)丙烯酸己酯)、聚((甲基)丙烯酸異癸酯)、聚((甲基)丙烯酸月桂酯)、聚((甲基)丙烯酸苯酯)、聚(丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸異丙酯)、聚(丙烯酸異丁酯)、聚(丙烯酸十八烷酯)及其共聚物及混合物)、聚二噁烷酮及其共聚物、聚羥基烷酸酯、聚富馬酸丙二醇酯、聚甲醛、泊洛沙姆、聚氧胺、聚(原酸)酯、聚(丁酸)、聚(戊酸)、聚(丙交酯-共-己內酯)、三亞甲基碳酸酯(trimethylene carbonate)、聚(*N*-丙烯醯基嗎啉) (PAcM)、聚(2-甲基-2-噁唑啉) (PMOX)、聚(2-乙基-2-噁唑啉) (PEOZ)及聚甘油。

【0201】 表面改變劑可包括但不限於陰離子蛋白(例如牛血清白蛋白)、界面活性劑(例如陽離子界面活性劑，諸如二甲基二(十八烷基)-溴化銨)、糖或糖衍生物(例如環糊精)、核酸、聚合物(例如肝素、聚乙二醇及泊洛沙姆)、黏液溶解劑(例

如乙醯基半胱胺酸、艾蒿、菠羅蛋白酶、木瓜蛋白酶、大青屬(clerodendrum)、溴己新(bromhexine)、羧甲司坦(carbocisteine)、依普拉酮(eprazinone)、美司納(mesna)、胺溴索(ambroxol)、索布瑞醇(sobrerol)、多米奧醇(domiodol)、來托司坦(letosteine)、司替羅寧(stepronin)、硫普羅寧(tiopronin)、凝溶膠蛋白、胸腺素 β 4、阿法鏈道酶(dornase alfa)、奈替克新(neltenexine)及厄多司坦(erdosteine)及 DNA 酶(例如 rhDNase)。表面改變劑可安置於奈米粒子內及/或脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之表面上(例如，藉由塗佈、吸附、共價連接或其他方法)。

【0202】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)亦可包含一或多種官能化脂質。例如，脂質可經炔基官能化，該炔基當在適當反應條件下暴露於疊氮化物時可經歷環加成反應。詳言之，脂質雙層可以此方式經可用於促進膜滲透、細胞識別或成像之一或多種基團官能化。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之表面亦可與一或多種適用抗體結合。可用於靶向細胞遞送、成像及膜滲透之官能基及結合物係此項技術中熟知的。

【0203】 除了此等組分以外，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)亦可包括可用於醫藥組合物之任何物質。例如，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可包括一或多種醫藥學上可接受之賦形劑或附屬成分，諸如但不限於一或多種溶劑、分散介質、稀釋劑、分散助劑、懸浮助劑、造粒助劑、崩解劑、填充劑、助流劑、液體媒劑、黏合劑、表面活性劑、等張劑、增稠或乳化劑、緩衝劑、潤滑劑、油、防腐劑及其他物質。亦可包括諸如蠟、乳酪、著色劑、塗佈劑、調味劑及芳香劑之賦形劑。

【0204】 稀釋劑之實例可包括但不限於碳酸鈣、碳酸鈉、磷酸鈣、磷酸二鈣、硫酸鈣、磷酸氫鈣、磷酸鈉、乳糖、蔗糖、纖維素、微晶纖維素、高嶺土、甘露糖醇、山梨糖醇、肌醇、氯化鈉、乾澱粉、玉米澱粉、粉糖及/或其組合。造粒劑及分散劑可選自由馬鈴薯澱粉、玉米澱粉、木薯澱粉、乙醇酸澱粉鈉、黏土、海

藻酸、瓜爾膠、柑橘渣、瓊脂、膨潤土、纖維素及木製品、天然海綿、陽離子交換樹脂、碳酸鈣、矽酸鹽、碳酸鈉、交聯聚(乙烯-吡咯啉酮)(交聯聚維酮)、羧基甲基澱粉鈉(乙醇酸澱粉鈉)、羧基甲基纖維素、交聯羧基甲基纖維素鈉(交聯羧甲基纖維素)、甲基纖維素、預膠凝澱粉(澱粉 1500)、微晶澱粉、水不溶性澱粉、羧基甲基纖維素鈣、矽酸鎂鋁(VEEGUM®)、月桂基硫酸鈉、四級銨化合物及/或其組合組成之非限制性清單。

【0205】 表面活性劑及/或乳化劑可包括但不限於天然乳化劑(例如，阿拉伯膠、瓊脂、海藻酸、海藻酸鈉、黃耆膠、克羅珠克(chondrux)、膽固醇、黃原膠、果膠、明膠、蛋黃、酪蛋白、羊毛脂、膽固醇、蠟及卵磷脂)、膠質黏土(例如，膨潤土[矽酸鋁]及 VEEGUM® [矽酸鎂鋁])、長鏈胺基酸衍生物、高分子量醇(例如，硬脂醇、鯨蠟醇、油醇、三乙酸甘油酯單硬脂酸酯、乙二醇二硬脂酸酯、甘油單硬脂酸酯及丙二醇單硬脂酸酯、聚乙烯醇)、卡波姆(例如，羧聚乙稀、聚丙烯酸、丙烯酸聚合物及羧基乙稀基聚合物)、角叉菜膠、纖維素衍生物(例如，羧基甲基纖維素鈉、粉狀纖維素、羥基甲基纖維素、羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、甲基纖維素)、山梨醇酐脂肪酸酯(例如，聚氧乙稀山梨醇酐單月桂酸酯[TWEEN®20]、聚氧乙稀山梨醇酐[TWEEN® 60]、聚氧乙稀山梨醇酐單油酸酯[TWEEN®80]、山梨醇酐單棕櫚酸酯[SPAN®40]、山梨醇酐單硬脂酸酯[SPAN®60]、山梨醇酐三硬脂酸酯[SPAN®65]、甘油單油酸酯、山梨醇酐單油酸酯[SPAN®80])、聚氧乙稀酯(例如，聚氧乙稀單硬脂酸酯[MYRJ® 45]、聚氧乙稀氫化蓖麻油、聚乙氧基化蓖麻油、聚氧亞甲基硬脂酸酯及 SOLUTOL®)、蔗糖脂肪酸酯、聚乙二醇脂肪酸酯(例如 CREMOPHOR®)、聚氧乙稀醚(例如，聚氧乙稀月桂基醚[BRIJ® 30])、聚(乙稀-吡咯啉酮)、二乙二醇單月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯、油酸鈉、油酸鉀、油酸乙酯、油酸、月桂酸乙酯、月桂基硫酸鈉、PLURONIC®F 68、POLOXAMER® 188、西曲溴銨、西吡氯銨、苯扎氯銨、多

庫酯鈉及/或其組合。

【0206】 黏合劑可為澱粉(例如，玉米澱粉及澱粉糊)；明膠；糖(例如，蔗糖、葡萄糖、右旋糖、糊精、糖蜜、乳糖、乳糖醇、甘露糖醇)；天然及合成膠(例如，阿拉伯膠、海藻酸鈉、愛爾蘭苔提取物、潘瓦爾膠(panwar gum)、茄替膠、伊莎珀爾果殼之黏液、羧基甲基纖維素、甲基纖維素、乙基纖維素、羥基乙基纖維素、羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、微晶纖維素、乙酸纖維素、聚(乙烯-吡咯啉酮)、矽酸鎂鋁(VEEGUM®)及落葉松阿拉伯半乳聚糖)；海藻酸鹽；聚氧化乙烯；聚乙二醇；無機鈣鹽；矽酸；聚甲基丙烯酸酯；蠟；水；醇；及其組合或任何其他合適之黏合劑。

【0207】 防腐劑之實例可包括但不限於抗氧化劑、螯合劑、抗微生物防腐劑、抗真菌防腐劑、醇防腐劑、酸性防腐劑及/或其他防腐劑。抗氧化劑之實例包括但不限於 α 生育酚、抗壞血酸、抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基茴香醚、丁基化羥基甲苯、一硫代甘油、偏亞硫酸氫鉀、丙酸、沒食子酸丙酯、抗壞血酸鈉、亞硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉及/或亞硫酸鈉。螯合劑之實例包括乙二胺四乙酸(EDTA)、檸檬酸單水合物、依地酸二鈉、依地酸二鉀、依地酸、富馬酸、蘋果酸、磷酸、依地酸鈉、酒石酸及/或依地酸三鈉。抗微生物防腐劑之實例包括但不限於苯扎氯銨、苜索氯銨、苜醇、布羅波爾(bronopol)、溴棕三甲銨、西吡氯銨、洛赫西定(chlorhexidine)、氯丁醇、氯甲酚、氯二甲苯酚、甲酚、乙醇、甘油、海克替啶(hexetidine)、咪脲、苯酚、苯氧乙醇、苯基乙醇、硝酸苯汞、丙二醇及/或硫柳汞。抗真菌防腐劑之實例包括但不限於對羥基苯甲酸丁酯、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸乙酯、對羥基苯甲酸丙酯、苯甲酸、羥基苯甲酸、苯甲酸鉀、山梨酸鉀、苯甲酸鈉、丙酸鈉及/或山梨酸。醇防腐劑之實例包括但不限於乙醇、聚乙二醇、苜醇、苯酚、酚類化合物、雙酚、氯丁醇、羥基苯甲酸酯及/或苯基乙醇。酸性防腐劑之實例包括但不限於維生素 A、維生素 C、維生素 E、 β -

胡蘿蔔素、檸檬酸、乙酸、去氫抗壞血酸、抗壞血酸、山梨酸及/或植酸。其他防腐劑包括但不限於生育酚、乙酸生育酚、甲磺酸去鐵胺、溴棕三甲銨、丁基化羥基茴香醚(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、乙二胺、月桂基硫酸鈉(SLS)、月桂基醚硫酸鈉(SLES)、亞硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鉀、偏亞硫酸氫鉀、GLYDANT PLUS®、PHENONIP®、對羥基苯甲酸甲酯、GERMALL® 115、GERMABEN®II、NEOLONE™、KATHON™及/或 EUXYL®。

【0208】 緩衝劑之實例包括但不限於檸檬酸鹽緩衝溶液、乙酸鹽緩衝溶液、磷酸鹽緩衝溶液、氯化銨、碳酸鈣、氯化鈣、檸檬酸鈣、葡乳醛酸鈣、葡庚糖酸鈣、葡萄糖酸鈣、d-葡萄糖酸、甘油磷酸鈣、乳酸鈣、乳糖酸鈣、丙酸、乙醯丙酸鈣、戊酸、磷酸氫鈣、磷酸、磷酸三鈣、羥基磷灰石(calcium hydroxide phosphate)、乙酸鉀、氯化鉀、葡萄糖酸鉀、鉀混合物、磷酸氫二鉀、磷酸二氫鉀、磷酸鉀混合物、乙酸鈉、碳酸氫鈉、氯化鈉、檸檬酸鈉、乳酸鈉、磷酸氫二鈉、磷酸二氫鈉、磷酸鈉混合物、緩血酸胺、胺基-磺酸鹽緩衝液(例如 HEPES)、氫氧化鎂、氫氧化鋁、海藻酸、無熱原質水、等張鹽水、林格氏溶液、乙醇及/或其組合。潤滑劑可選自由硬脂酸鎂、硬脂酸鈣、硬脂酸、矽石、滑石、麥芽、甘油山嶺酸酯、氫化植物油、聚乙二醇、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉、白胺酸、月桂基硫酸鎂、月桂基硫酸鈉及其組合組成之非限制性群。

【0209】 油之實例包括但不限於扁桃仁、杏仁、鱈梨、巴西棕櫚、佛手柑、黑加侖籽、琉璃苣、刺檜、甘菊、芥花、香菜、卡瑙巴、蓖麻、肉桂、可可、椰子、魚肝、咖啡、玉米、棉籽、鵝鵝、案樹、月見草、魚、亞麻仁、香草醇、葫蘆、葡萄籽、榛子、海索草、肉豆蔻酸異丙酯、荷荷巴、夏威夷核果、熏衣草花、熏衣草、檸檬、山蒼子、澳洲堅果、錦葵、芒果核、池花籽、貂、肉豆蔻、橄欖、橙、大西洋胸棘鯛、棕櫚、棕櫚仁、桃仁、花生、罌粟籽、南瓜籽、油菜籽、米糠、迷迭香、紅花、白檀、山茶花、歐洲薄荷、沙棘、芝麻、乳木果油、矽酮、

大豆、向日葵、茶樹、薊、椿花、香根草、胡桃及小麥胚芽油以及硬脂酸丁酯、辛酸三酸甘油酯、癸酸三酸甘油酯、環甲基矽酮、癸二酸二乙酯、二甲矽油 360、西甲矽油、肉豆蔻酸異丙酯、礦物油、辛基十二醇、油醇、矽酮油及/或其組合。

奈米粒子組合物之製造

【0210】 在一些實施例中，藉由組合根據式(I)之陽離子脂質、根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂(例如 DSPC)、PEG 脂質(例如 1,2-二肉豆蔻醯基-*sn*-甘油甲氧基聚乙二醇，亦稱作 PEG-DMG，例如 PEG_{2k}-DMG 或 PEG-1)及結構脂質(例如膽固醇)，使用例如乙醇下降奈米沈澱(ethanol drop nanoprecipitation)，隨後使用透析將溶劑交換成合適水性緩衝液，來製備包含本揭示案之脂質的奈米粒子。

奈米粒子組合物之表徵

【0211】 ζ 電位量度膠狀分散液中之動電位。 ζ 電位之量值指示分散液中之相鄰、帶相同電荷粒子之間的靜電排斥程度。 ζ 電位可在 Wyatt Technologies Mobius ζ 電位儀器上量測。此儀器藉由「大規模平行相分析光散射(Massively Parallel Phase Analysis Light Scattering)」或 MP-PALS 原理來表徵遷移率及 ζ 電位。不希望受理論束縛，此量測比僅使用一個偵測角之 ISO 方法 13099-1:2012 更靈敏且應力感應更小，且需要更高操作電壓。在一些實施例中，使用利用 MP-PALS 原理之儀器來量測本揭示案之空或負載 LNP 的 ζ 電位。

【0212】 可使用紫外-可見光譜來測定負載 LNP 中之治療劑及/或預防劑(例如 RNA)的濃度。將 100 μ L 在 1 \times PBS 中之經稀釋調配物添加至 900 μ L 甲醇及氯仿 4:1 (v/v)混合物中。混合之後，在 DU 800 分光光度計(Beckman Coulter, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA)上例如在 230 nm 與 330 nm 之間記錄溶液之吸收光譜。負載 LNP 中之治療劑及/或預防劑的濃度可基於用於組合物中之治療劑及/或預防

劑的消光係數及例如 260 nm 波長下之吸光度與例如 330 nm 波長下之基線值之間的差異來計算。

【0213】 對於包括 RNA 之負載 LNP，可使用 QUANT-IT™ RIBOGREEN® RNA 分析(Invitrogen Corporation Carlsbad, CA)來評估 LNP 對 RNA 之囊封。在 TE 緩衝溶液(10 mM Tris-HCl、1 mM EDTA, pH 7.5)中將樣品稀釋至大約 5 µg/mL 之濃度。將 50 µL 經稀釋樣品轉移至聚苯乙烯 96 孔板中且將 50 µL TE 緩衝液或 50 µL 2% Triton X-100 溶液添加至孔中。在 37°C 之溫度下培育該板持續 15 分鐘。將 RIBOGREEN® 試劑 1:100 稀釋於 TE 緩衝液中，且將 100 µL 此溶液添加至各孔中。使用螢光板式讀取器(Wallac Victor 1420 Multilabel Counter ; Perkin Elmer, Waltham, MA)在例如約 480 nm 之激發波長及例如約 520 nm 之發射波長下量測螢光強度。自每個樣品之螢光值減去試劑空白之螢光值且藉由將完整樣品(不添加 Triton X-100)之螢光強度除以受破壞樣品(藉由添加 Triton X-100 而引起)之螢光值來確定游離 RNA 之百分率。

活體內調配物研究

【0214】 為了監測各種奈米粒子組合物如何有效地將治療劑及/或預防劑遞送至靶向細胞，製備包括特定治療劑及/或預防劑(例如，經修飾或天然存在之 RNA，諸如 mRNA)之不同奈米粒子組合物且投與至動物群體。靜脈內、肌內、動脈內或腫瘤內向動物(例如，小鼠、大鼠或非人類靈長類動物)投與單一劑量，包括包含本揭示案之脂質及表現蛋白質(例如 OX40L 或 tdTomato)之 mRNA 的奈米粒子組合物。亦可利用包括 PBS 之對照組合物。

【0215】 在向動物投與奈米粒子組合物後，可藉由酶聯免疫吸附分析(ELISA)、生物發光成像或其他方法來量測特定調配物及其劑量之劑量遞送型態、劑量反應及毒性。對於包括 mRNA 之奈米粒子組合物，亦可評估蛋白質表現之時間過程。自動物收集的用於評估之樣品可包括血液、血清及組織(例如，

來自肌內注射位點之肌肉組織及內部組織)；樣品收集可涉及動物處死。

【0216】 包括 mRNA 之奈米粒子組合物(例如負載 LNP)可用於評估各種用於遞送治療劑及/或預防劑之調配物的功效及有用性。藉由投與包括 mRNA 之組合物所誘導的較高水準之蛋白質表現將指示較高 mRNA 轉譯及/或奈米粒子組合物 mRNA 遞送效率。由於非 RNA 組分被認為不影響轉譯機構自身，較高水準之蛋白質表現可能指示既定奈米粒子組合物相對於其他奈米粒子組合物或其不存在之情形遞送治療劑及/或預防劑之較高效率。

調配物

【0217】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可包括脂質組分及一或多種額外組分，諸如治療劑及/或預防劑。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可經設計用於一或多種特定應用或標靶。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之要素可基於特定應用或標靶，及/或基於一或多種要素之功效、毒性、費用、易用性、可用性或其他特徵進行選擇。同樣，奈米粒子組合物之特定調配物可根據例如特定要素組合之功效及毒性經選擇用於特定應用或標靶。

【0218】 在一些實施例中，脂質奈米粒子組合物(例如空 LNP 或負載 LNP)之脂質組分包括例如根據式(I)之陽離子脂質、根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂(諸如不飽和脂質，例如 DOPE 或 DSPC)、PEG 脂質及結構脂質。脂質組分之要素可以特定分率經提供。

【0219】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 之脂質組分包括根據式(I)之陽離子脂質、根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、PEG 脂質及結構脂質。在某些實施例中，奈米粒子組合物之脂質組分包括約 20 mol%至約 40 mol%根據式(I)之陽離子脂質、約 15 mol%至約 40 mol%式

(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、約 0 mol%至約 30 mol%磷脂、約 18.5 mol%至約 48.5 mol%結構脂質及約 0 mol%至約 10 mol% PEG 脂質，其限制條件在於總 mol%不超過 100%。在一些實施例中，奈米粒子組合物之脂質組分包括約 20 mol%至約 40 mol%根據式(I)之陽離子脂質、約 20 mol%至約 25 mol%式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、約 5 mol%至約 25 mol%磷脂、約 30 mol%至約 40 mol%結構脂質及約 0 mol%至約 10 mol% PEG 脂質。

【0220】 在一些實施例中，空脂質奈米粒子(空 LNP)包含式(I)之陽離子脂質、根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質。

【0221】 在一些實施例中，負載脂質奈米粒子(負載 LNP)包含式(I)之陽離子脂質、根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質、PEG 脂質及一或多種治療劑及/或預防劑。

【0222】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 20 mol%至約 40 mol%之量的式(I)之陽離子脂質。

【0223】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 15 mol%至約 40 mol%之量的式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質。

【0224】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 0 mol%至約 20 mol%之量的磷脂。例如，在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 0 mol%至約

20 mol%之量的 DSPC。

【0225】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 30 mol%至約 50 mol% 之量的結構脂質。例如，在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 30 mol% 至約 50 mol%之量的膽固醇。

【0226】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 0 mol%至約 5 mol%之量的 PEG 脂質。例如，在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 0 mol%至約 5 mol%之量的 PEG-1 或 PEG_{2k}-DMG。

【0227】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 20 mol%至約 40 mol% 式(I)之陽離子脂質、約 15 mol%至約 40 mol%式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、約 0 mol%至約 20 mol%磷脂、約 30 mol%至約 50 mol%結構脂質及約 0 mol%至約 5 mol% PEG 脂質。

【0228】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 20 mol%至約 40 mol% 式(I)之陽離子脂質、約 15 mol%至約 40 mol%式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、約 0 mol%至約 20 mol% DSPC、約 30 mol%至約 50 mol%膽固醇及約 0 mol%至約 5 mol% PEG_{2k}-DMG。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 20 mol%至約 40 mol%表 1 之脂質、約 15 mol%至 40 mol% 表 IL-1 至 IL-7 之脂質、約 0 mol%至約 20 mol% DSPC、約 30 mol%至約 50 mol% 膽固醇及約 0 mol%至約 5 mol% PEG_{2k}-DMG。

【0229】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 20 mol%至約 40 mol% 式(I)之陽離子脂質、約 15 mol%至約 40 mol%式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、約 0 mol%至約 20 mol% DSPC、約 30 mol%至約

50 mol%膽固醇及約 0 mol%至約 5 mol% PEG-1。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含約 20 mol%至約 40 mol%表 1 之脂質、約 15 mol%至 40 mol%表 IL-1 至 IL-7 之脂質、約 0 mol%至約 20 mol% DSPC、約 30 mol%至約 50 mol%膽固醇及約 0 mol%至約 5 mol% PEG-1。

【0230】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含式(I)之陽離子脂質、式 (IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC 且結構脂質為膽固醇。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC 且結構脂質為膽固醇。

【0231】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含式(I)之陽離子脂質、式 (IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中結構脂質為膽固醇且 PEG 脂質為 PEG_{2k}-DMG。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中結構脂質為膽固醇且 PEG 脂質為 PEG_{2k}-DMG。

【0232】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含式(I)之陽離子脂質、式 (IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中結構脂質為膽固醇且 PEG 脂質為 PEG-1。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中結構脂質為膽固醇且 PEG 脂質為 PEG-1。

【0233】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含式(I)之陽離子脂質、式 (IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-

IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC 且 PEG 脂質為 PEG_{2k}-DMG。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC 且 PEG 脂質為 PEG_{2k}-DMG。

【0234】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC 且 PEG 脂質為 PEG-1。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC 且 PEG 脂質為 PEG-1。

【0235】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含式(I)之脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC，結構脂質為膽固醇，且 PEG 脂質為 PEG_{2k}-DMG。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC，結構脂質為膽固醇，且 PEG 脂質為 PEG_{2k}-DMG。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC，結構脂質為膽固醇，且 PEG 脂質為 PEG_{2k}-DMG。

【0236】 在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC，結構脂質為膽固醇，且 PEG 脂質為 PEG-1。在一些實施例中，空 LNP 或負載 LNP 包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7

之可離子化脂質、磷脂、結構脂質及 PEG 脂質，其中磷脂為 DSPC，結構脂質為膽固醇，且 PEG 脂質為 PEG-1。

【0237】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可經設計用於一或多種特定應用或標靶。例如，奈米粒子組合物可經設計以向哺乳動物之身體中的特定細胞、組織、器官或系統或其組遞送治療劑及/或預防劑，諸如 RNA。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之生理化學特性可發生改變以便增加針對特定身體標靶之選擇性。例如，粒徑可基於不同器官之開窗大小加以調節。包括於奈米粒子組合物中之治療劑及/或預防劑亦可基於一或多個所需遞送標靶進行選擇。例如，治療劑及/或預防劑可針對特定適應症、疾患、疾病或病症及/或針對向特定細胞、組織、器官或系統或其組之遞送(例如，局部或特異性遞送)進行選擇。在某些實施例中，奈米粒子組合物可包括編碼所關注之多肽之 mRNA，其能夠在細胞內轉譯以產生該所關注之多肽。此一組合物可經設計以特異性地遞送至特定器官。在一些實施例中，組合物可經設計以特異性地遞送至哺乳動物肝。在一些實施例中，組合物可經設計以特異性地遞送至哺乳動物肺。

【0238】 奈米粒子組合物中之治療劑及/或預防劑的量可取決於奈米粒子組合物之大小、組成、所需標靶及/或應用或其他特性，以及取決於治療劑及/或預防劑之特性。例如，可用於奈米粒子組合物中之 RNA 的量可取決於 RNA 之大小、序列及其他特徵。奈米粒子組合物中之治療劑及/或預防劑及其他要素(例如脂質)的相對量亦可變化。在某些實施例中，奈米粒子組合物中之液體組分:治療劑及/或預防劑之 wt/wt 比率可為約 5:1 至約 60:1，諸如 5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1 及 60:1。例如，液體組分:治療劑及/或預防劑之 wt/wt 比率可為約 10:1 至約 40:1。在某些實施例中，wt/wt 比率為約 20:1。

【0239】 奈米粒子組合物中之治療劑及/或預防劑的量可例如使用吸收光譜法

(例如，紫外-可見光譜)進行量測。

【0240】 在一些實施例中，奈米粒子組合物包括一或多種 RNA，且該一或多種 RNA、脂質及其量可經選擇以提供特定 N:P 比率。組合物之 N:P 比率係指一或多種脂質中之氮原子:RNA 中之磷酸酯基的數目之莫耳比率。一般而言，較低 N:P 比率為較佳的。該一或多種 RNA、脂質及其量可經選擇以提供約 2:1 至約 30:1，諸如 2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、12:1、14:1、16:1、18:1、20:1、22:1、24:1、26:1、28:1 或 30:1 之 N:P 比率。在某些實施例中，N:P 比率可為約 2:1 至約 8:1。在其他實施例中，N:P 比率係約 5:1 至約 8:1。例如，N:P 比率可為約 5.0:1、約 5.5:1、約 5.67:1、約 6.0:1、約 6.5:1 或約 7.0:1。在一些實施例中，N:P 比率為約 5.67:1。在一些實施例中，N:P 比率為約 4.9:1。

物理特性

【0241】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之特徵可取決於其組分。例如，包括膽固醇作為結構脂質之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可具有與包括不同結構脂質之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)不同的特徵。同樣，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之特徵可取決於其組分之絕對或相對量。例如，包括較高莫耳分率的磷脂之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可具有與包括較低莫耳分率的磷脂之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)不同的特徵。特徵亦可視奈米粒子組合物之製備方法及條件而變化。

【0242】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可藉由多種方法表徵。例如，可使用顯微術(例如，透射電子顯微術或掃描電子顯微術)來檢查奈米粒子組合物之形態及大小分佈。可使用動態光散射或電位分析法(例如電位滴定)來量測 ζ 電位。亦可使用動態光散射來測定粒徑。 ζ 電位可在 Wyatt Technologies Mobius ζ 電位儀器上量測。此儀器藉由「大規模平行相分析光散射」或 MP-PALS 原理來表徵遷移率及 ζ 電位。不希望受理論束縛，此量測比僅使用一個偵測角之 ISO 方

法 13099-1:2012 更靈敏且應力感應更小，且需要更高操作電壓。在一些實施例中，使用利用 MP-PALS 原理之儀器來量測本文所述之空 LNP 組合物脂質的 ζ 電位。 ζ 電位可在 Malvern Zetasizer (Nano ZS) 上量測。

【0243】 在一些實施例中，本揭示案之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之平均直徑係在數十 nm 與數百 nm 之間，如藉由動態光散射(DLS)所量測。例如，在一些實施例中，本揭示案之脂質奈米粒子之平均直徑為約 40 nm 至約 150 nm。在一些實施例中，本揭示案之脂質奈米粒子之平均直徑為約 40 nm、45 nm、50 nm、55 nm、60 nm、65 nm、70 nm、75 nm、80 nm、85 nm、90 nm、95 nm、100 nm、105 nm、110 nm、115 nm、120 nm、125 nm、130 nm、135 nm、140 nm、145 nm 或 150 nm。在一些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之平均直徑為約 50 nm 至約 100 nm、約 50 nm 至約 90 nm、約 50 nm 至約 80 nm、約 50 nm 至約 70 nm、約 50 nm 至約 60 nm、約 60 nm 至約 100 nm、約 60 nm 至約 90 nm、約 60 nm 至約 80 nm、約 60 nm 至約 70 nm、約 70 nm 至約 150 nm、約 70 nm 至約 130 nm、約 70 nm 至約 100 nm、約 70 nm 至約 90 nm、約 70 nm 至約 80 nm、約 80 nm 至約 150 nm、約 80 nm 至約 130 nm、約 80 nm 至約 100 nm、約 80 nm 至約 90 nm、約 90 nm 至約 150 nm、約 90 nm 至約 130 nm 或約 90 nm 至約 100 nm。在某些實施例中，本揭示案之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之平均直徑為約 70 nm 至約 130 nm 或約 70 nm 至約 100 nm。在一些實施例中，本揭示案之奈米粒子之平均直徑為約 80 nm。在一些實施例中，本揭示案之奈米粒子之平均直徑為約 100 nm。在一些實施例中，本揭示案之奈米粒子之平均直徑為約 110 nm。在一些實施例中，本揭示案之奈米粒子之平均直徑為約 120 nm。

【0244】 在一些實施例中，用本揭示案之脂質調配的複數種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之多分散性指數(「PDI」)係小於 0.3。在一些實施例中，

用本揭示案之脂質調配的複數種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)具有約 0 至約 0.25 之多分散性指數。在一些實施例中，用本揭示案之脂質調配的複數種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)具有約 0.10 至約 0.20 之多分散性指數。

【0245】 可藉由 Laurdan 廣義極化(GPL)來量測本揭示案之奈米粒子的表面疏水性。在此方法中，將 Laurdan (螢光胺基萘酮脂質)後插入至奈米粒子表面中且收集 Laurdan 之螢光光譜以確定標準化廣義極化(N-GP)。在一些實施例中，用本揭示案之脂質調配的奈米粒子具有在約 0.5 與約 1.5 之間的表述為 N-GP 之表面疏水性。例如，在一些實施例中，用本揭示案之脂質調配的奈米粒子具有約 0.5、約 0.6、約 0.7、約 0.8、約 0.9、約 1.0、約 1.1、約 1.2、約 1.3、約 1.4 或約 1.5 的表述為 N-GP 之表面疏水性。在一些實施例中，用本揭示案之脂質調配的奈米粒子具有約 1.0 或約 1.1 的表述為 N-GP 之表面疏水性。

【0246】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之 ζ 電位可用於指示組合物之動電位。例如， ζ 電位可描述膠狀分散液(例如，奈米粒子組合物)之表面電荷。具有相對低電荷(正或負)之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)一般為所需的，因為更高電荷物質可與身體中之細胞、組織及其他要素非所需地相互作用。 ζ 電位之量值指示分散液中之相鄰、帶相同電荷粒子之間的靜電排斥程度。在一些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之 ζ 電位可為約-10 mV 至約+20 mV、約-10 mV 至約+15 mV、約-10 mV 至約+10 mV、約-10 mV 至約+5 mV、約-10 mV 至約 0 mV、約-10 mV 至約-5 mV、約-5 mV 至約+20 mV、約-5 mV 至約+15 mV、約-5 mV 至約+10 mV、約-5 mV 至約+5 mV、約-5 mV 至約 0 mV、約 0 mV 至約+20 mV、約 0 mV 至約+15 mV、約 0 mV 至約+10 mV、約 0 mV 至約+5 mV、約+5 mV 至約+20 mV、約+5 mV 至約+15 mV 或約+5 mV 至約+10 mV。

【0247】 治療劑及/或預防劑之囊封效率描述了相對於所提供之初始量，在製

備之後經脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)囊封或以其他方式與脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)締合的治療劑及/或預防劑之量。高囊封效率係合乎需要的(例如，接近 100%)。囊封效率可例如藉由比較在用一或多種有機溶劑或清潔劑破碎負載 LNP 之前及之後含有負載 LNP 之溶液中的治療劑及/或預防劑之量來量測。可使用螢光來量測溶液中的游離治療劑及/或預防劑(例如 RNA)之量。關於用本揭示案之脂質調配的負載 LNP，治療劑及/或預防劑之囊封效率為至少 50%，例如 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%。在一些實施例中，囊封效率為至少 80%。在一些實施例中，囊封效率為至少 90%。在一些實施例中，治療劑及/或預防劑之囊封效率係在 80%與 100%之間。

醫藥組合物

【0248】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可完整地或部分地經調配為醫藥組合物。醫藥組合物可包括一或多種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)。在一個實施例中，醫藥組合物包含脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之群體。例如，醫藥組合物可包括一或多種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)，其包括一或多種不同的治療劑及/或預防劑。醫藥組合物可進一步包括一或多種醫藥學上可接受之賦形劑或附屬成分，諸如本文所述之彼等。關於醫藥組合物及劑之調配及製造的一般準則可例如在 Remington 之 *The Science and Practice of Pharmacy*, 第 21 版, A. R. Gennaro; Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006 中獲得。習知賦形劑及附屬成分可用於任何醫藥組合物，除非任何習知賦形劑或附屬成分可與奈米粒子組合物之一或多種組分不相容。若賦形劑或附屬成分與脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之組分的組合可導致任何非所需生物效應或在其他方面導致有害效應，則該賦形劑或附屬成分可與該組分不相容。

【0249】 在一些實施例中，一或多種賦形劑或附屬成分可構成包括奈米粒子組合物之醫藥組合物的總質量或體積之超過 50%。例如，一或多種賦形劑或附屬成分可構成醫藥組合物之 50%、60%、70%、80%、90%或 90%以上。在一些實施例中，醫藥學上可接受之賦形劑為至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%純。在一些實施例中，賦形劑獲得批准用於人類及用於獸醫用途。在一些實施例中，賦形劑獲得美國食品及藥物管理局批准。在一些實施例中，賦形劑為醫藥級。在一些實施例中，賦形劑滿足美國藥典(USP)、歐洲藥典(EP)、英國藥典及/或國際藥典之標準。

【0250】 根據本揭示案之醫藥組合物中的該一或多種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)、該一或多種醫藥學上可接受之賦形劑及/或任何額外成分之相對量將視所治療之個體的屬性、體格及/或狀況且進一步視組合物之投與途徑而變化。舉例而言，醫藥組合物可包含 0.1%與 100% (wt/wt)之間的一或多種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)。

【0251】 在某些實施例中，本揭示案之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及/或醫藥組合物係經冷藏或經冷凍用於儲存及/或裝運(例如，儲存於 4°C 或更低溫度，諸如約-150°C與約 0°C之間或約-80°C與約-20°C之間的溫度(例如，約-5°C、-10°C、-15°C、-20°C、-25°C、-30°C、-40°C、-50°C、-60°C、-70°C、-80°C、-90°C、-130°C或-150°C)下)。例如，包含式(I)之陽離子脂質的醫藥組合物係經冷藏於例如約-20°C、-30°C、-40°C、-50°C、-60°C、-70°C或-80°C下用於儲存及/或裝運之溶液。在某些實施例中，本揭示案亦係關於一種藉由將包含式(I)之陽離子脂質的脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及/或醫藥組合物儲存於 4°C或更低溫度，諸如約-150°C與約 0°C之間或約-80°C與約-20°C之間的溫度，例如約-5°C、-10°C、-15°C、-20°C、-25°C、-30°C、-40°C、-50°C、-60°C、-70°C、-80°C、-90°C、-130°C或-150°C下來增加脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)

及/或醫藥組合物之穩定性之方法。例如，本文所揭示之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及/或醫藥組合物例如在 4°C或更低(例如，約 4°C與-20°C之間)之溫度下穩定持續約至少 1 週、至少 2 週、至少 3 週、至少 4 週、至少 5 週、至少 6 週、至少 1 個月、至少 2 個月、至少 4 個月、至少 6 個月、至少 8 個月、至少 10 個月、至少 12 個月、至少 14 個月、至少 16 個月、至少 18 個月、至少 20 個月、至少 22 個月或至少 24 個月。在一些實施例中，調配物在約 4°C下穩定持續至少 4 週。在某些實施例中，本揭示案之醫藥組合物包含本文所揭示之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及選自 Tris、乙酸鹽(例如乙酸鈉)、檸檬酸鹽(例如檸檬酸鈉)、鹽水、PBS 及蔗糖中的一或多者之醫藥學上可接受之載劑。在某些實施例中，本揭示案之醫藥組合物具有約 7 與 8 之間(例如，6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9 或 8.0，或 7.5 與 8 之間或 7 與 7.8 之間)的 pH 值。例如，本揭示案之醫藥組合物包含本文所揭示之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)、Tris、鹽水及蔗糖，且具有約 7.5-8 的 pH，其適用於在例如約-20°C下儲存及/或裝運。例如，本揭示案之醫藥組合物包含本文所揭示之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及 PBS 且具有約 7-7.8 的 pH，其適用於在例如約 4°C或 4°C以下儲存及/或裝運。在本揭示案背景中之「穩定性」、「穩定化」及「穩定」係指本文所揭示之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及/或醫藥組合物在既定製造、製備、運輸、儲存及/或使用中條件下，例如當施加諸如剪切力、冷凍/解凍應力等應力時，抵抗化學或物理變化(例如，降解、粒徑變化、聚集、囊封變化等)。

【0252】 在一些實施例中，本揭示案之醫藥組合物包含空 LNP 或負載 LNP、冷凍保護劑、緩衝液或其組合。

【0253】 在一些實施例中，冷凍保護劑包含一或多種冷凍保護劑，且該一或多種冷凍保護劑中之每一者獨立地為多元醇(例如二醇或三醇，諸如丙二醇(亦

即，1,2-丙二醇)、1,3-丙二醇、甘油、(+/-)-2-甲基-2,4-戊二醇、1,6-己二醇、1,2-丁二醇、2,3-丁二醇、乙二醇或二乙二醇)、非清潔劑磺基甜菜鹼(例如 NDSB-201 (3-(1-吡啶基)-1-丙磺酸酯)、滲壓劑(例如 L-脯胺酸或三甲胺 N-氧化物二水合物)、聚合物(例如聚乙二醇 200 (PEG 200)、PEG 400、PEG 600、PEG 1000、PEG_{2k}-DMG、PEG 3350、PEG 4000、PEG 8000、PEG 10000、PEG 20000、聚乙二醇單甲醚 550 (mPEG 550)、mPEG 600、mPEG 2000、mPEG 3350、mPEG 4000、mPEG 5000、聚乙烯吡咯啶酮(例如聚乙烯吡咯啶酮 K 15)、新戊四醇丙氧基化物或聚丙二醇 P 400)、有機溶劑(例如二甲亞砜(DMSO)或乙醇)、糖(例如 D-(+)-蔗糖、D-山梨糖醇、海藻糖、D-(+)-麥芽糖單水合物、間赤藻糖醇、木糖醇、肌醇、D-(+)-蜜三糖五水合物、D-(+)-海藻糖二水合物或 D-(+)-葡萄糖單水合物)或鹽(例如，乙酸鋰、氯化鋰、甲酸鋰、硝酸鋰、硫酸鋰、乙酸鎂、乙酸鈉、氯化鈉、甲酸鈉、丙二酸鈉、硝酸鈉、硫酸鈉或其任何水合物)或其任何組合。在一些實施例中，冷凍保護劑包含蔗糖。在一些實施例中，冷凍保護劑及/或賦形劑為蔗糖。在一些實施例中，冷凍保護劑包含乙酸鈉。在一些實施例中，冷凍保護劑及/或賦形劑為乙酸鈉。在一些實施例中，冷凍保護劑包含蔗糖及乙酸鈉。

【0254】 在一些實施例中，其中緩衝液係選自由乙酸鹽緩衝液、檸檬酸鹽緩衝液、磷酸鹽緩衝液、tris 緩衝液及其組合組成之群。

【0255】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及/或包括一或多種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之醫藥組合物可投與至任何患者或個體，包括可受益於藉由向一或多種特定細胞、組織、器官或系統或其組遞送治療劑及/或預防劑而提供之治療效應的彼等患者或個體。儘管本文所提供之對於脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及包括脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之醫藥組合物的描述原則上係有關適用於投與至人類之組合物，熟練技術人員應理解該等組合物一般適用於投與至任何其他哺乳動物。應充分瞭解，可對適用於投

與至人類之組合物進行修飾以便使該等組合物適用於投與至多種動物，且普通熟練獸醫藥理學家僅需常規(若存在)實驗即可設計及/或執行該修飾。預期投與該等組合物之個體包括但不限於人類、其他靈長類動物及其他哺乳動物，包括商業上相關哺乳動物，諸如牛、豬、馬、綿羊、貓、犬、小鼠及/或大鼠。本發明之脂質奈米粒子亦可用於活體外及離體用途。

【0256】 包括一或多種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之醫藥組合物可藉由藥理學技術中已知或今後開發之任何方法來製備。一般而言，該等製備方法包括使活性成分與賦形劑及/或一或多種其他輔助成分締合，且接著有需要或必要時，將產物分成、成形及/或封裝成所需單一劑量或多劑量單元。

【0257】 根據本揭示案之醫藥組合物可大批、作為單一單位劑量及/或作為複數個單一單位劑量經製備、封裝及/或銷售。如本文所用，「單位劑量」係包含預定量之活性成分之醫藥組合物(例如，奈米粒子組合物)的個別量。活性成分之量一般等於將投與至個體之活性成分的劑量，及/或此一劑量之合宜分率，諸如此一劑量之一半或三分之一。

【0258】 醫藥組合物可以適用於多種投與途徑及方法之多種形式製備。例如，醫藥組合物可以液體劑型(例如，乳液、微乳液、奈米乳液、溶液、懸浮液、糖漿及酞劑)、可注射形式、固體劑型(例如，膠囊、錠劑、丸劑、粉末及顆粒)、用於表面及/或經皮投與之劑型(例如，軟膏、糊劑、乳膏、洗劑、凝膠、粉末、溶液、噴霧劑、吸入劑及貼片)、懸浮液、粉末及其他形式製備。

【0259】 用於經口及非經腸投與之液體劑型包括但不限於醫藥學上可接受之乳液、微乳液、奈米乳液、溶液、懸浮液、糖漿及/或酞劑。除了活性成分以外，液體劑型亦可包含此項技術中通常使用之惰性稀釋劑，諸如水或其他溶劑、增溶劑及乳化劑，諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苜醇、苯甲酸苜酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲醯胺、油(詳言之，棉籽油、花生油、玉米油、胚芽

油、橄欖油、蓖麻油及芝麻油)、甘油、四氫糠醇、聚乙二醇以及山梨聚糖之脂肪酸酯及其混合物。除了惰性稀釋劑以外，經口組合物亦可包括額外治療劑及/或預防劑、額外劑(諸如濕潤劑、乳化及懸浮劑、甜味劑、調味劑及/或芳香劑)。在關於非經腸投與之某些實施例中，組合物與諸如 Cremophor[®]、醇、油、改質油、二醇、聚山梨醇酯、環糊精、聚合物及/或其組合物之增溶劑混合。

【0260】 可注射製劑(例如無菌可注射水性或油質懸浮液)可根據已知技術使用合適之分散劑、濕潤劑及/或懸浮劑進行調配。無菌可注射製劑可為無毒非經腸可接受之稀釋劑及/或溶劑中的無菌可注射溶液、懸浮液及/或乳液，例如 1,3-丁二醇中之溶液。可使用的可接受之媒劑及溶劑有水、林格氏溶液(U.S.P.)及等張氯化鈉溶液。無菌、不揮發油慣常地用作溶劑或懸浮介質。出於此目的，可使用任何溫和不揮發油，包括合成單酸甘油酯或二酸甘油酯。諸如油酸之脂肪酸可用於可注射劑之製備。

【0261】 可注射調配物可例如藉由經由細菌截留過濾器過濾，及/或藉由併入呈可在使用之前溶解或分散於無菌水或其他無菌可注射介質中之無菌固體組合物形式的滅菌劑來滅菌。

【0262】 為了延長活性成分之效應，通常可需要減慢自皮下或肌內注射吸收該活性成分。此可藉由使用具有弱水溶性之結晶或非晶形材料的液體懸浮液實現。藥物之吸收速率則取決於其溶解速率，而其溶解速率又可取決於晶體大小及結晶形式。或者，非經腸投與之藥物形式的延遲吸收藉由使藥物溶解或懸浮於油媒劑中來實現。可注射儲槽形式係藉由在諸如聚丙交酯-聚乙交酯之生物可降解聚合物中形成藥物之微囊封基質而製得。視藥物與聚合物之比率及所用之特定聚合物的性質而定，可控制藥物釋放之速率。其他生物可降解聚合物之實例包括聚(原酸酯)及聚(酞)。儲槽可注射調配物係藉由將藥物截留於可與身體組織相容之脂質體或微乳液中來製備。

【0263】 用於直腸或陰道投與之組合物典型地為栓劑，其可藉由混合組合物與合適之非刺激性賦形劑而製備，該等賦形劑諸如可可脂、聚乙二醇或栓劑蠟，其在環境溫度下為固體，但在體溫下為液體且因此在直腸或陰道腔中熔融且釋放活性成分。

【0264】 用於經口投與之固體劑型包括膠囊、錠劑、丸劑、薄膜、粉末及顆粒。在該等固體劑型中，活性成分與至少一種惰性、醫藥學上可接受之賦形劑，諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣及/或填充劑或增量劑(例如，澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇及矽酸)、黏合劑(例如，羧基甲基纖維素、海藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯啉酮、蔗糖及阿拉伯膠)、保濕劑(例如甘油)、崩解劑(例如，瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、海藻酸、特定矽酸鹽及碳酸鈉)、溶液延遲劑(例如石蠟)、吸收促進劑(例如四級銨化合物)、濕潤劑(例如鯨蠟醇及甘油單硬脂酸酯)、吸收劑(例如高嶺土及膨潤土)及潤滑劑(例如，滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、月桂基硫酸鈉)及其混合物混合。在膠囊、錠劑及丸劑之情況下，劑型可包含緩衝劑。

【0265】 類似類型之固體組合物可在使用諸如乳糖(lactose/milk sugar)以及高分子量聚乙二醇及其類似物之賦形劑的軟及硬填充明膠膠囊中用作填充劑。錠劑、糖衣藥丸、膠囊、丸劑及顆粒之固體劑型可用包衣及殼，諸如腸溶包衣及醫藥調配技術中熟知之其他包衣製備。其可視情況包含失透劑且可具有如下組成，該組成使其視情況以延遲方式在腸道之特定部分中僅或優先地釋放活性成分。可使用之包埋組合物的實例包括聚合物質及蠟。類似類型之固體組合物可在使用諸如乳糖以及高分子量聚乙二醇及其類似物之賦形劑的軟及硬填充明膠膠囊中用作填充劑。

【0266】 用於組合物之表面及/或經皮投與之劑型可包括軟膏、糊劑、乳膏、洗劑、凝膠、粉末、溶液、噴霧劑、吸入劑及/或貼片。一般而言，活性成分在無

菌條件下與可需要之醫藥學上可接受之賦形劑及/或任何所需防腐劑及/或緩衝液混合。另外，本揭示案預期經皮貼片之使用，該等經皮貼片通常具有向身體提供化合物的控制遞送之附加優勢。該等劑型可例如藉由使化合物溶解及/或分散於適當介質中來製備。或者或另外，速率可藉由提供速率控制膜及/或藉由在聚合物基質及/或凝膠中分散化合物來控制。

【0267】 用於遞送本文所述之皮內醫藥組合物之合適器件包括短針器件。皮內組合物可藉由限制針進入皮膚中之有效穿透長度之器件來投與。經由液體射流注射器及/或經由刺穿角質層且產生到達真皮之射流的針向真皮遞送液體組合物之射流注射器件係合適的。使用壓縮氣體來加速呈粉末形式之疫苗通過皮膚外層到達真皮之彈道粉末/粒子遞送器件係合適的。或者或另外，習知注射器可用於皮內投與之經典孟陀方法(mantoux method)中。

【0268】 適用於表面投與之調配物包括但不限於液體及/或半液體製劑，諸如搽劑、洗劑、水包油及/或油包水乳液(諸如乳膏、軟膏及/或糊劑及/或溶液及/或懸浮液)。可表面投與之調配物可例如包含約 1%至約 10% (wt/wt)活性成分，不過活性成分之濃度可高達活性成分在溶劑中之溶解度極限。用於表面投與之調配物可進一步包含一或多種本文所述之額外成分。

【0269】 醫藥組合物可以適用於經由口腔進行肺部投與之調配物形式進行製備、封裝及/或銷售。此一調配物可包括包含活性成分之乾燥粒子。該等組合物便利地呈乾粉形式以使用包含乾粉儲集器之器件(推進劑流可經引導至其中以分散粉末)及/或使用自推進溶劑/粉末分配容器(諸如包含溶解及/或懸浮於密封容器中之低沸點推進劑中的活性成分之器件)進行投與。乾粉組合物可包括固體細粉稀釋劑，諸如糖，且便利地以單位劑型提供。

【0270】 低沸點推進劑一般包括在大氣壓力下具有低於 65°F之沸點之液體推進劑。一般而言，推進劑可構成組合物之 50%至 99.9% (wt/wt)，且活性成分可

構成組合物之 0.1% 至 20% (wt/wt)。推進劑可進一步包含額外成分，諸如液體非離子及/或固體陰離子界面活性劑及/或固體稀釋劑(其可具有與包含活性成分之粒子相同級別的粒徑)。

【0271】 經調配用於肺部遞送之醫藥組合物可提供呈溶液及/或懸浮液之小液滴形式的活性成分。該等調配物可作為視情況無菌且包含活性成分之水性及/或稀醇溶液及/或懸浮液經製備、封裝及/或銷售，且可便利地使用任何噴霧及/或霧化器件進行投與。該等調配物可進一步包含一或多種額外成分，包括但不限於調味劑(諸如糖精鈉)、揮發油、緩衝劑、表面活性劑及/或防腐劑(諸如羥基苯甲酸甲酯)。由此投與途徑提供之小液滴可具有在約 1 nm 至約 200 nm 範圍內之平均直徑。

【0272】 本文中描述為可用於肺部遞送之調配物可用於鼻內遞送醫藥組合物。適用於鼻內投與之另一調配物係包含活性成分且具有約 0.2 μm 至 500 μm 之平均粒徑的粗粉。此一調配物係以其中採取鼻吸之方式，亦即藉由通過鼻道自保持緊密接近鼻子之粉末容器快速吸入來投與。

【0273】 適用於鼻投與之調配物可例如包含約低達 0.1% (wt/wt) 且高達 100% (wt/wt) 之活性成分，且可包含一或多種本文所述之額外成分。醫藥組合物可以適用於經頰投與之調配物形式進行製備、封裝及/或銷售。該等調配物可例如呈使用習知方法製得之錠劑及/或口含錠形式且可包含例如 0.1% 至 20% (wt/wt) 活性成分，餘量包含經口可溶解及/或可降解組合物且視情況包含一或多種本文所述之額外成分。或者，適用於經頰投與之調配物可包括包含活性成分之粉末及/或煙霧化及/或霧化溶液及/或懸浮液。當分散時，該等粉狀、煙霧化及/或煙霧化調配物可具有在約 0.1 nm 至約 200 nm 範圍內之平均粒子及/或小液滴大小，且可進一步包含一或多種本文所述之任何額外成分。

【0274】 醫藥組合物可以適用於眼投與之調配物形式進行製備、封裝及/或銷

售。該等調配物可例如呈包括例如活性成分於水性或油性液體賦形劑中之 0.1/1.0% (wt/wt) 溶液及/或懸浮液之滴眼劑形式。該等滴劑可進一步包含緩衝劑、鹽及/或一或多種其他本文所述之任何額外成分。可用之其他眼投與調配物包括包含呈微晶形式及/或呈脂質體製劑之活性成分的彼等。滴耳劑及/或滴眼劑預期在本揭示案之範圍內。

mRNA 療法

【0275】 作為藥物形式之 mRNA 具有遞送分泌蛋白以及細胞內蛋白及跨膜蛋白之潛力。作為藥物形式之 mRNA 具有遞送跨膜及細胞內蛋白(亦即，標準生物製劑由於其在以蛋白質形式遞送時不能跨過細胞膜而無法接近之標靶)之潛力。實現基於 mRNA 之療法的一項主要挑戰在於最佳遞送媒劑之鑑別。歸因於較大大小、化學不穩定性及潛在免疫原性，mRNA 需要可提供免受核酸內切酶及核酸外切酶之保護，以及遮蔽貨物躲開免疫哨兵之遞送媒劑。就此而言，脂質奈米粒子(LNP)已經鑑別為主要選項。

【0276】 關於脂質奈米粒子遞送系統之關鍵效能準則係使細胞攝取增至最高且使得 mRNA 能自內體有效釋放。在一個實施例中，包含本文所揭示之新穎脂質之本發明 LNP 展示細胞攝取及內體釋放中的至少一者之改良。同時，LNP 必須提供穩定藥物產品且能夠安全地以治療相關水準給藥。LNP 係典型地由胺基脂質、磷脂、膽固醇及 PEG-脂質組成之多組分系統。核酸貨物之有效遞送及粒子穩定性之態樣需要各組分。被認為驅動細胞攝取、內體逃逸及耐受性之關鍵組分係胺基脂質。膽固醇及 PEG-脂質促進活體內及貨架期藥物產品之穩定性，而磷脂提供 LNP 之額外融合性，因此幫助驅動內體逃逸且使得核酸在細胞之細胞溶質中可生物利用。

【0277】 過去二十年來，已關於寡核苷酸遞送開發了數種胺基脂質系列，包括胺基脂質 MC3 (DLin-MC3-DMA)。基於 MC3 之 LNP 已顯示有效遞送 mRNA。

此類 LNP 在靜脈內遞送時由阿樸脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 快速地調理，其使得能由低密度脂蛋白受體(LDLr)進行細胞攝取。然而，仍然擔心 MC3 之長組織半衰期可能促進阻礙其用於長期療法之不利副作用。另外，大量文獻證據表明，脂質奈米粒子之長期給藥可產生數種毒性副作用，包括補體活化相關性假過敏(CARPA)及肝損傷。因此，為了釋放用於人類的基於 mRNA 及其他核酸、核苷酸或肽之療法之潛力，需要一類具有增加的遞送效率連同將使得能夠在人類中進行長期給藥之代謝及毒性型態之 LNP。

【0278】 治療多種疾病之能力需要以變化的劑量水準長期安全地給藥之順從度。經由胺基脂質結構之系統性最佳化，本揭示案之脂質經鑑別為平衡化學穩定性、歸因於經改良內體逃逸之改良遞送效率、快速活體內代謝及純淨毒性型態之脂質。此等特徵之組合提供可長期地給藥而不活化免疫系統之藥物候選物。初始嚙齒動物篩選導致具有良好遞送效率及藥物動力學之主要脂質之鑑別。前導 LNP 在單一及重複給藥之後進一步在非人類靈長類動物中針對遞送效率剖繪型態。最後，在大鼠及非人類靈長類動物中之一個月重複劑量毒性研究中評估最佳化 LNP。不希望受理論束縛，本揭示案之新穎可離子化脂質具有經改良細胞遞送、經改良蛋白表現及經改良生物可降解性特性，其可導致如與缺乏本發明脂質之 LNP 相比細胞中之 mRNA 表現的超過 2 倍、5 倍、10 倍、15 倍或 20 倍增加。在另一實施例中，包含本發明脂質之 LNP 可導致如與其他細胞類型相比特異性(例如，優先)遞送至一或多種特定細胞類型，由此導致如與缺乏本發明脂質之 LNP 相比特定細胞或組織中之 mRNA 表現的超過 2 倍、5 倍、10 倍、15 倍或 20 倍增加。此等技術改良允許在急性及慢性疾病中安全且有效地使用基於 mRNA 之療法。

使用方法

【0279】 在一些態樣中，本揭示案提供一種向細胞(例如哺乳動物細胞)遞送治

療劑及/或預防劑之方法。此方法包括使該細胞與本揭示案之負載 LNP 或醫藥組合物接觸的步驟，由此將該治療劑及/或預防劑遞送至該細胞。在一些實施例中，該細胞係在個體中且該接觸包含向該個體投與該細胞。在一些實施例中，該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質、PEG 脂質及一或多種治療劑及/或預防劑，由此將該治療劑及/或預防劑遞送至該細胞。

【0280】 在一些實施例中，本揭示案提供一種向個體內之細胞遞送治療劑及/或預防劑的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0281】 在一些實施例中，本揭示案提供一種向個體內之細胞遞送治療劑及/或預防劑的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0282】 在一些態樣中，本揭示案提供一種向哺乳動物器官或組織(例如，肝、腎、脾或肺)遞送(例如特異性地遞送)治療劑及/或預防劑之方法。此方法包括使該細胞與本揭示案之負載 LNP 或醫藥組合物接觸的步驟，由此將該治療劑及/或預防劑遞送至標靶器官或組織。在一些實施例中，該方法包括向該個體投與脂質

奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質、PEG 脂質及一或多種治療劑及/或預防劑，由此將該治療劑及/或預防劑遞送至標靶器官或組織。在一些實施例中，該標靶器官為肺或該標靶組織為肺內皮。

【0283】 在一些實施例中，本揭示案提供一種向個體之器官特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0284】 在一些實施例中，本揭示案提供一種向個體之器官特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0285】 在一些態樣中，本揭示案提供一種用於向標靶組織(例如，肝、脾或肺)增強遞送治療劑及/或預防劑(例如 mRNA)之方法。此方法包括使該細胞與本揭示案之負載 LNP 或醫藥組合物接觸的步驟，由此將該治療劑及/或預防劑遞送至標靶組織(例如，肝、腎、脾或肺)。在一些實施例中，該標靶組織為肺內皮。在一些實施例中，該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之

可離子化脂質、磷脂、結構脂質、PEG 脂質及一或多種治療劑及/或預防劑，由此將該治療劑及/或預防劑遞送至標靶組織(例如，肝、腎、脾或肺)。在一些實施例中，該標靶組織為肺內皮。

【0286】 在一些實施例中，本揭示案提供一種用於向標靶組織增強遞送治療劑及/或預防劑之方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-III A)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0287】 在一些實施例中，本揭示案提供一種用於向標靶組織增強遞送治療劑及/或預防劑之方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-III A)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。在一些實施例中，該標靶組織為肺內皮。

【0288】 在一些態樣中，本揭示案提供一種在細胞(例如哺乳動物細胞)中產生所關注之多肽之方法。此方法包括使該細胞與本揭示案之負載 LNP 或醫藥組合物接觸的步驟，其中該負載 LNP 或醫藥組合物包含 mRNA，由此該 mRNA 能夠在細胞中轉譯以產生該多肽。在一些實施例中，該細胞係在個體中且該接觸包含向該個體投與該細胞。在一些實施例中，該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-III A)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質、PEG 脂質及 mRNA，由此

該 mRNA 能夠在細胞中轉譯以產生該多肽。

【0289】 在一些實施例中，本揭示案提供一種在細胞中產生所關注之多肽的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及 mRNA。例如，在一些實施例中，本揭示案提供一種在細胞中產生所關注之多肽的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及 mRNA。

【0290】 在一些實施例中，本揭示案提供一種在細胞中產生所關注之多肽的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及 mRNA。例如，在一些實施例中，本揭示案提供一種在細胞中產生所關注之多肽的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及 mRNA。

【0291】 在一些態樣中，本揭示案提供一種治療有需要之哺乳動物(例如人類)的疾病或病症之方法。該方法包括向該哺乳動物投與治療有效量之本揭示案之負載 LNP 或醫藥組合物的步驟。在一些實施例中，該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質、PEG 脂質及一或多種治療劑及/或預防劑，由此將該治療劑及/或預防劑遞送至該細胞。在一些實

施例中，該疾病或病症之特徵在於功能障礙性或異常蛋白或多肽活性。例如，該疾病或病症係選自由罕見病、傳染病、癌症及增生性疾病、遺傳疾病、自體免疫疾病、糖尿病、神經退化性疾病、心血管及腎血管疾病及代謝疾病組成之群。

【0292】 在一些實施例中，本揭示案提供一種治療個體之疾病或病症的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。例如，在一些實施例中，本揭示案提供一種治療個體之疾病或病症的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0293】 在一些實施例中，本揭示案提供一種治療個體之疾病或病症的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。例如，在一些實施例中，本揭示案提供一種治療個體之疾病或病症的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0294】 在另一態樣中，本揭示案提供一種降低免疫原性之方法，該方法包括將本揭示案之負載 LNP 或醫藥組合物引入細胞中，其中如與細胞中藉由參考

組合物誘導之細胞免疫反應的誘導相比，該負載 LNP 或醫藥組合物降低該等細胞對該負載 LNP 或醫藥組合物之細胞免疫反應的誘導。在一些實施例中，該細胞係在個體中且該接觸包含向該個體投與該細胞。在一些實施例中，該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、磷脂、結構脂質、PEG 脂質以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑，其中如與藉由參考組合物誘導之細胞中的細胞免疫反應之誘導相比，包含式(I)之陽離子脂質及式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質的脂質奈米粒子降低細胞對包含式(I)之陽離子脂質及式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質的脂質奈米粒子之細胞免疫反應之誘導。例如，該細胞免疫反應係先天性免疫反應、適應性免疫反應或兩者。

【0295】 在一些實施例中，本揭示案提供一種降低個體之免疫原性的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。例如，在一些實施例中，本揭示案提供一種降低個體之免疫原性的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG_{2k}-DMG 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0296】 在一些實施例中，本揭示案提供一種降低個體之免疫原性的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含式(I)之陽離子脂質、式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。例如，在一些實施例中，本揭示案提供一種降低個體之免疫原性的方法，其中該方法包括向該個體投與脂質奈米粒子之步驟，該脂質奈米粒子包含表 1 之陽離子脂質、表 IL-1 至 IL-7 之可離子化脂質、DSPC、膽固醇及 PEG-1 以及選自核苷酸、多肽及核酸(例如 RNA)的一或多種治療劑及/或預防劑。

【0297】 本揭示案亦包括合成式(I)之陽離子脂質的方法，及製備包括包含式(I)之陽離子脂質的脂質組分之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之方法。

在細胞中產生多肽之方法

【0298】 本揭示案提供在哺乳動物細胞中產生所關注之多肽之方法。產生多肽之方法涉及使細胞與包括編碼該所關注之多肽的 mRNA 之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)接觸。在細胞與奈米粒子組合物接觸時，該 mRNA 可在細胞中溶解且轉譯以產生該所關注之多肽。

【0299】 一般而言，使哺乳動物細胞與包括編碼所關注之多肽的 mRNA 之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)接觸之步驟可活體內、離體、在培養物中或活體外執行。與細胞接觸之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)的量及/或其中 mRNA 之量可取決於所接觸之細胞或組織的類型、投與方式、脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及其中 mRNA 之生理化學特徵(例如，大小、電荷及化學組成)以及其他因素。一般而言，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之有效量將允許細胞中之有效多肽產生。關於效率之度量可包括多肽轉譯(由多肽表現指示)、mRNA 降解之水準及免疫反應指示劑。

【0300】 使包括 mRNA 之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)與細胞接觸的步驟可涉及或引起轉染。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之脂質組分中包括的磷脂可例如藉由與細胞或細胞內膜相互作用及/或融合而促進轉染及/或增加轉染效率。轉染可允許細胞內之 mRNA 轉譯。

【0301】 在一些實施例中，本文所述之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可在治療上使用。例如，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)中包括之 mRNA 可編碼治療多肽(例如，在可轉譯區中)且在接觸及/或進入(例如，轉染至)細胞中時產生該治療多肽。在其他實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)中包括之 mRNA 可編碼可改良或增加個體的免疫性之多肽。例如，mRNA 可編碼粒細胞-集落刺激因子或曲妥珠單抗(trastuzumab)。

【0302】 在某些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)中包括之 mRNA 可編碼重組多肽，該重組多肽可補充可實質上不存在於與奈米粒子組合物接觸之細胞中的一或多種多肽。該一或多種實質上不存在之多肽可歸因於編碼基因或其調控路徑之基因突變而缺乏。或者，藉由 mRNA 轉譯產生之重組多肽可拮抗存在於細胞中、細胞之表面上或自細胞分泌之內源蛋白的活性。拮抗性重組多肽可需要抗擊由該內源蛋白之活性引起的有害效應，諸如改變之活性或藉由突變引起之定位。在另一替代中，藉由 mRNA 轉譯產生之重組多肽可間接地或直接地拮抗存在於細胞中、細胞之表面上或自細胞分泌之生物部分的活性。經拮抗之生物部分可包括但不限於脂質(例如膽固醇)、脂蛋白(例如低密度脂蛋白)、核酸、碳水化合物及小分子毒素。藉由 mRNA 轉譯產生之重組多肽可經工程改造以定位於細胞內，諸如特定隔室(諸如細胞核)內，或可經工程改造以自細胞分泌或易位至細胞之質膜。

【0303】 在一些實施例中，使細胞與包括 mRNA 之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)接觸可降低細胞對外源核酸之先天性免疫反應。細胞可與包括第一

量之包括可轉譯區的第一外源 mRNA 之第一脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)接觸且可測定該細胞對該第一外源 mRNA 之先天性免疫反應的水準。隨後，該細胞可與包括第二量之該第一外源 mRNA 之第二組合物接觸，該第二量係與該第一量相比較少量之該第一外源 mRNA。或者，該第二組合物可包括第一量之不同於該第一外源 mRNA 之第二外源 mRNA。使該細胞與第一及第二組合物接觸之步驟可重複一或多次。另外，可視情況測定細胞中之多肽產生(例如轉譯)效率，且該細胞可重複地與第一及/或第二組合物再接觸，直至實現標靶蛋白產生效率。

向細胞及器官遞送治療劑之方法

【0304】 本揭示案提供向哺乳動物細胞或器官遞送治療劑及/或預防劑之方法。向細胞遞送治療劑及/或預防劑涉及向個體投與包括該治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)，其中該組合物之投與涉及使該細胞與該組合物接觸。例如，蛋白質、細胞毒性劑、放射性離子、化學治療劑或核酸(諸如 RNA，例如 mRNA)可遞送至細胞或器官。在治療劑及/或預防劑為 mRNA 之情況下，在細胞與該奈米粒子組合物接觸時，可轉譯 mRNA 可在細胞中轉譯以產生所關注之多肽。然而，實質上不可轉譯之 mRNA 亦可遞送至細胞。實質上不可轉譯之 mRNA 可用作疫苗及/或可隔絕細胞之轉譯組分以降低其他物質在細胞中之表現。

【0305】 在一些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可靶向特定類型或類別之細胞(例如，特定器官或其系統之細胞)。例如，包括所關注之治療劑及/或預防劑的脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可特異性地遞送至哺乳動物肝、腎、脾或肺。特異性遞送至特定類別之細胞、器官或其系統或組暗示相對於其他目的地，較高比例的包括治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子(例如負載 LNP)遞送至所關注之目的地(例如組織)。在一些實施例中，包含 mRNA 之負

載 LNP 的特異性遞送可導致如與另一目的地(例如脾)之細胞相比，靶向目的地(例如所關注之組織，諸如肝)之細胞中的 mRNA 表現之超過 2 倍、5 倍、10 倍、15 倍或 20 倍增加。在一些實施例中，所關注之組織係選自由肝、腎、肺、脾及腫瘤組織(例如，經由腫瘤內注射)組成之群。

【0306】 作為靶向或特異性遞送之另一實例，編碼細胞表面上的蛋白結合搭配物(例如，抗體或其功能片段、骨架蛋白或肽)或受體之 mRNA 可包括於奈米粒子組合物中。mRNA 可另外或替代地用於指導脂質、碳水化合物或其他生物部分之合成及細胞外定位。或者，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之其他治療劑及/或預防劑或要素(例如脂質或配位體)可基於其對特定受體(例如低密度脂蛋白受體)之親和力加以選擇，以致脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可更容易地與包括該等受體之標靶細胞群體相互作用。例如，配位體可包括但不限於特定結合對之成員、抗體、單株抗體、Fv 片段、單鏈 Fv (scFv)片段、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、單域抗體、駱駝化抗體及其片段、人類化抗體及其片段以及其多價形式；包括單特異性或雙特異性抗體之多價結合試劑，諸如二硫化物穩定化 Fv 片段、scFv 串聯、雙功能抗體、三功能抗體或四功能抗體；及適體、受體及融合蛋白。

【0307】 在一些實施例中，配位體可為表面結合抗體，其可允許細胞靶向特異性之調整。此為尤其有用的，因為高度特異性抗體可關於所需靶向位點針對所關注之抗原決定基產生。在一些實施例中，多種抗體表現於細胞之表面上，且各抗體可對所需標靶具有不同特異性。該等方法可增加靶向相互作用之親合力及特異性。

【0308】 配位體可例如由熟習生物技術者基於細胞之所需定位或功能進行選擇。

【0309】 靶向細胞可包括但不限於肝細胞、上皮細胞、造血細胞、上皮細胞、

內皮細胞、肺細胞、骨細胞、幹細胞、間質細胞、神經細胞、心臟細胞、脂肪細胞、血管平滑肌細胞、心肌細胞、骨骼肌細胞、 β 細胞、垂體細胞、滑膜襯裏細胞、卵巢細胞、睪丸細胞、纖維母細胞、B 細胞、T 細胞、網狀細胞、白血球、粒細胞及腫瘤細胞。

治療疾病及病症之方法

【0310】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可用於治療疾病、病症或疾患。詳言之，該等組合物可用於治療特徵在於缺失或異常蛋白或多肽活性之疾病、病症或疾患。例如，包含編碼缺失或異常多肽之 mRNA 的脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可投與或遞送至細胞。mRNA 之後續轉譯可產生該多肽，由此降低或消除由該多肽引起之活性缺失或異常而引起之問題。因為轉譯可快速地發生，故該等方法及組合物可用於治療急性疾病、病症或疾患，諸如敗血症、中風及心肌梗塞。脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)中包括之治療劑及/或預防劑亦可能夠改變既定物質之轉錄速率，由此影響基因表現。

【0311】 可投與組合物之特徵在於功能障礙性或異常蛋白或多肽活性之疾病、病症及/或疾患包括但不限於罕見病、傳染病(作為疫苗及治療劑兩者)、癌症及增生性疾病、遺傳疾病、自體免疫疾病、糖尿病、神經退化性疾病、心血管及腎血管疾病及代謝疾病。多種疾病、病症及/或疾患之特徵可在於缺失(或實質上經削弱，以致適當蛋白功能未出現)蛋白活性。該等蛋白質可不存在，或其可為基本上非功能性的。本揭示案提供一種藉由投與脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)來治療個體之此類疾病、病症及/或疾患的方法，該脂質奈米粒子包括 RNA 及包括根據式(I)之脂質的陽離子脂質組分、包括根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之脂質的可離子化脂質組分、磷脂(視情況不飽和)、PEG 脂質及結構脂質，其中該 RNA 可為編碼拮抗或以其他方式克服存在於個體

的細胞中之異常蛋白活性之多肽之 mRNA。

【0312】 本揭示案提供之方法涉及投與包括一或多種治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)及包括該等脂質奈米粒子之醫藥組合物。術語治療劑及預防劑可在本文中關於本揭示案之特徵及實施例互換使用。其治療組合物或成像、診斷或預防組合物可使用有效用於預防、治療、診斷疾病、病症及/或疾患或使疾病、病症及/或疾患成像及/或任何其他目的之任何合理量及任何投與途徑投與至個體。投與至既定個體之特定量可視該個體之物種、年齡及一般狀況；投與目的；特定組合物；投與模式；及其類似因素而變化。為便於投與及劑量之均一性，根據本揭示案之組合物可以劑量單位形式經調配。然而，應瞭解，本揭示案之組合物之總每日用量將由主治醫師在合理醫學判斷之範圍內確定。針對任何特定患者之特定治療有效、預防有效或在其他方面適當之劑量水準(例如，用於成像)將取決於多種因素，包括所治療之病症的嚴重程度及鑑別(若存在)；所用之一或多種治療劑及/或預防劑；所用特定組合物；患者之年齡、體重、一般健康狀況、性別及飲食；投與時間、投與途徑及所用的特定醫藥組合物之排泄速率；治療持續時間；與所用的特定醫藥組合物組合或同時使用之藥物；及醫學領域中熟知之類似因素。

【0313】 負載 LNP 可藉由任何途徑投與。在一些實施例中，包括一或多種本文所述之負載 LNP 的組合物(包括預防、診斷或成像組合物)藉由多種途徑中之一或多者投與，包括經口、靜脈內、肌內、動脈內、皮下、經皮或皮內、皮間、腹膜內、黏膜、鼻、腫瘤內、鼻內、藉由吸入；作為經口噴霧劑及/或粉末、鼻噴霧劑及/或氣霧劑，及/或經由門靜脈導管。在一些實施例中，組合物可靜脈內、肌內、皮內、動脈內、腫瘤內、皮下或藉由任何其他非經腸投與途徑或藉由吸入投與。然而，考慮到藥物遞送科學之可能進展，本揭示案涵蓋藉由任何適當途徑遞送或投與本文所述之組合物。一般而言，最適當投與途徑將取決於多種因素，

包括包含一或多種治療劑及/或預防劑之負載 LNP 的性質(例如，其在諸如血流及胃腸道之多種身體環境中的穩定性)、患者狀況(例如，該患者是否能夠耐受特定投與途徑)等。

【0314】 在某些實施例中，根據本揭示案之組合物可以既定劑量中足以遞送約 0.0001 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 0.001 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 0.005 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 0.01 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 0.05 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 0.1 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 1 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 2 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 5 mg/kg 至約 10 mg/kg、約 0.0001 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 0.001 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 0.005 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 0.01 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 0.05 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 0.1 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 1 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 2 mg/kg 至約 5 mg/kg、約 0.0001 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 0.001 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 0.005 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 0.01 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 0.05 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 0.1 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 1 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 2 mg/kg 至約 2.5 mg/kg、約 0.0001 mg/kg 至約 1 mg/kg、約 0.001 mg/kg 至約 1 mg/kg、約 0.005 mg/kg 至約 1 mg/kg、約 0.01 mg/kg 至約 1 mg/kg、約 0.05 mg/kg 至約 1 mg/kg、約 0.1 mg/kg 至約 1 mg/kg、約 0.0001 mg/kg 至約 0.25 mg/kg、約 0.001 mg/kg 至約 0.25 mg/kg、約 0.005 mg/kg 至約 0.25 mg/kg、約 0.01 mg/kg 至約 0.25 mg/kg、約 0.05 mg/kg 至約 0.25 mg/kg 或約 0.1 mg/kg 至約 0.25 mg/kg 之治療劑及/或預防劑(例如 mRNA)的劑量水準投與，其中 1 mg/kg (mpk)劑量提供 1 mg 治療劑及/或預防劑/1 kg 個體體重。在一些實施例中，可投與約 0.001 mg/kg 至約 10 mg/kg 之負載 LNP 之治療劑及/或預防劑的劑量。在其他實施例中，可投與約 0.005 mg/kg 至約 2.5 mg/kg 之治療劑及/或預防劑的劑量。在某些實施例中，可投與約 0.1 mg/kg 至約 1 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投與約 0.05 mg/kg 至約 0.25 mg/kg 之劑量。劑量可以相同或不同量每天投與一或多次，以獲得所

需水準之 mRNA 表現及/或治療、診斷、預防或成像效應。所需劑量可例如一天三次、一天二次、一天一次、每隔一天、每三天、每週、每兩週、每三週或每四週遞送。在某些實施例中，所需劑量可使用多次投與(例如二次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、十次、十一次、十二次、十三次、十四次或更多次投與)經遞送。在一些實施例中，單一劑量可例如在手術程序之前或之後或在急性疾病、病症或疾患之情形中投與。

【0315】 包括一或多種治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可與一或多種其他治療劑、預防劑、診斷劑或成像劑組合。「與.....組合 (in combination with)」不意欲暗示該等劑必須同時投與及/或經調配用於一起遞送，不過此等遞送方法係在本揭示案之範圍內。例如，可組合投與包括一或多種不同的治療劑及/或預防劑之一或多種脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)。組合物可與一或多種其他所需治療劑或醫學程序併行地、在一或多種其他所需治療劑或醫學程序之前或之後投與。一般而言，各劑將以針對彼劑確定之劑量及/或時程投與。在一些實施例中，本揭示案涵蓋其組合物或成像、診斷或預防組合物與改良其生物可用性、降低及/或修飾其代謝、抑制其排泄及/或修飾其在身體內之分佈的劑組合遞送。

【0316】 應進一步理解，組合使用之治療、預防、診斷或成像活性劑可在單一組合物中一起投與，或在不同組合物中分開地投與。一般而言，預期組合使用之劑係以不超過其個別地使用時之水準的水準使用。在一些實施例中，組合使用之水準可低於個別地使用之彼等。

【0317】 用於組合方案中之療法(治療劑或程序)的特定組合將考慮到所需治療劑及/或程序之可相容性以及欲實現的所需治療效應。亦應理解，所用療法可對同一病症實現所需效應(例如，可用於治療癌症之組合物可與化學治療劑併行地投與)，或其可實現不同效應(例如，對諸如輸注相關反應之任何不良效應的控

制)。

【0318】 脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可與劑組合使用以增加組合物之有效性及/或治療窗。此一劑可為例如消炎化合物、類固醇(例如皮質類固醇)、斯他汀(statin)、雌二醇、BTK 抑制劑、S1P1 促效劑、糖皮質素受體調節劑(GRM)或抗組織胺。在一些實施例中，脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可與地塞米松、甲胺喋呤、乙醯胺酚、H1 受體阻斷劑或 H2 受體阻斷劑組合使用。在一些實施例中，一種治療有需要之個體或向個體(例如哺乳動物)遞送治療劑及/或預防劑之方法可涉及在投與奈米粒子組合物之前用一或多種劑預治療該個體。例如，個體可用適用量(例如，10 mg、20 mg、30 mg、40 mg、50 mg、60 mg、70 mg、80 mg、90 mg、100 mg 或任何其他適用量)之地塞米松、甲胺喋呤、乙醯胺酚、H1 受體阻斷劑或 H2 受體阻斷劑預治療。預治療可在脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)之投與之前 24 小時或更短時間(例如，24 小時、20 小時、16 小時、12 小時、8 小時、4 小時、2 小時、1 小時、50 分鐘、40 分鐘、30 分鐘、20 分鐘或 10 分鐘)發生且可以例如增加的劑量發生一次、兩次或兩次以上。

【0319】 熟習此項技術者將認識到，或能夠僅使用常規實驗確定根據本文所述之揭示內容的特定實施例之多種等效物。本揭示案之範圍不意欲局限於以上實施方式，而是如隨附申請專利範圍中所陳述。

【0320】 除非相反指示或在其他方面自本文顯而易見，否則在申請專利範圍中，諸如「一個(種)」及「該(等)」之冠詞可意謂一個(種)或超過一個(種)。除非相反指示或在其他方面自本文顯而易見，否則在一組之一或多個成員之間包括「或」的技術方案或描述在該等組成員中之一者、超過一者或全部存在於、用於既定產物或過程中或以其他方式與既定產物或過程相關時被視為滿足條件的。本揭示案包括如下實施例，其中確切地該組之一成員存在於、用於既定產物或方

法中或以其他方式與既定產物或方法相關。本揭示案包括如下實施例，其中組成員中之超過一者或全部存在於、用於既定產物或方法中或以其他方式與既定產物或方法相關。除非另外規定，否則如本文所用，表述「A、B 或 C 中之一或多者」、「一或多個 A、B 或 C」、「A、B 及 C 中之一或多者」、「一或多個 A、B 及 C」、「選自 A、B 及 C」、「選自由 A、B 及 C 組成之群」及其類似表述可互換使用且均係指選自由 A、B 及/或 C 組成之群，亦即一或多個 A、一或多個 B、一或多個 C 或其任何組合。

【0321】 亦應注意，術語「包含(comprising)」意欲為開放性的且允許但不需要包括額外要素或步驟。當術語「包含」在本文中使用时，因此亦涵蓋且揭示術語「基本上由.....組成」及「由.....組成」。在通篇描述中，在組合物係描述為具有、包括或包含特定組分之情況下，預期組合物亦基本上由所陳述之組分組成，或由所陳述之組分組成。同樣，在方法或製程係描述為具有、包括或包含特定製程步驟之情況下，該等製程亦基本上由所陳述之製程步驟組成，或由所陳述之製程步驟組成。此外，應理解步驟之次序或關於執行某些動作之次序並不重要，只要本發明保持可操作。此外，兩個或更多個步驟或動作可同時進行。

【0322】 在給出範圍之情況下，包括端點。此外，亦應理解除非另外指示或在其他方面自本文及普通熟習此項技術者之理解顯而易知，否則以範圍表述的值可在本揭示案之不同實施例中假設所陳述之範圍內的任何特定值或子範圍，除非本文另外清楚地指示，否則達到該範圍之下限之十分位。

【0323】 本揭示案之合成過程可耐受多種官能基，因此可使用多種經取代起始材料。該等過程一般地在總體過程結束或接近結束時提供所需之最終脂質，不過在某些情況下可需要進一步將脂質轉化為其醫藥學上可接受之鹽。

【0324】 本揭示案之脂質可使用市售起始材料、文獻中已知之化合物或由容易製備之中間物藉由使用熟習此項技術者已知或熟練技術人員鑒於本文教示將

顯而易知之標準合成方法及程序以多種方式製備。用於有機分子製備及官能基轉化及操縱之標準合成方法及程序可獲自相關科學文獻或此項技術中之標準教科書。儘管不限於任何一種或數種來源，經典文本(諸如 Smith, M. B., March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 第 5 版, John Wiley & Sons: New York, 2001 ; Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 3 版, John Wiley & Sons: New York, 1999 ; R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989) ; L. Fieser 及 M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); 及 L. Paquette 編, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), 以引用之方式併入本文中)係熟習此項技術者已知之適用且經識別的有機合成參考教科書。以下合成方法描述係經設計以說明(但不限制)用於本揭示案之脂質之製備的一般程序。

【0325】 具有本文所述之式的本揭示案之陽離子脂質可根據以下流程中說明之程序由市售起始材料或可使用文獻程序製備之起始材料來製備。普通熟習此項技術者應注意，在本文所述之反應序列及合成流程期間，某些步驟之次序可變化。

【0326】 普通熟習此項技術者應認識到，某些基團可能需要經由使用保護基受到保護以免於經受反應條件。保護基亦可用於區分分子中之相似官能基。保護基清單及如何引入及移除此等基團可發現於 Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 第 5 版, John Wiley & Sons: New York, 2014 中。

【0327】 較佳保護基包括但不限於：

【0328】 關於羥基部分：TBS、苄基、THP、Ac。

【0329】 關於羧酸：苄基酯、甲酯、乙酯、烯丙酯。

【0330】 關於胺：Fmoc、Cbz、BOC、DMB、Ac、Bn、Tr、Ts、三氟乙醯基、

鄰苯二甲醯亞胺、亞苄胺。

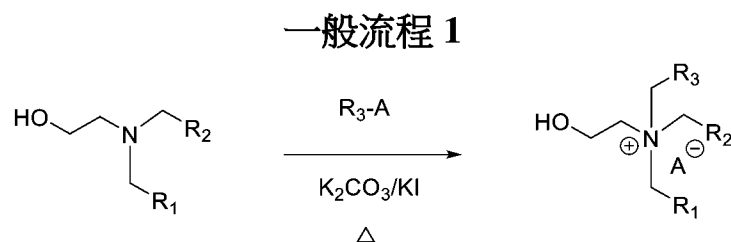
【0331】 關於二醇：Ac (×2) TBS (×2)，或當合在一起時，丙酮化合物。

【0332】 關於硫醇：Ac。

【0333】 關於苯并咪唑：SEM、苄基、PMB、DMB。

【0334】 關於醛：二-烷基縮醛，諸如二甲氧基縮醛或二乙基乙醯基。

【0335】 在本文所述之反應流程中，可產生多種立體異構物。當未指示特定立體異構物時，應理解意謂可能由該反應產生之所有可能立體異構物。普通熟習此項技術者應認識到，該等反應可經最佳化以優先地生成一種異構物，或可設計新流程以產生單一異構物。若產生混合物，則可使用諸如製備型薄層層析法、製備型 HPLC、製備型對掌性 HPLC 或製備型 SFC 之技術以分離異構物。



【0336】 如上文一般流程 1 中所說明，可離子化脂質與鹼(例如 K_2CO_3)中之所需尾端在碘化鉀存在下反應，且加熱至回流，以提供本揭示案之陽離子脂質。 A^- 為任何醫藥學上可接受之陰離子。

【0337】 普通熟習此項技術者應認識到，在以上流程中，某些步驟之次序可互換。

【0338】 在某些態樣中，本揭示案亦包括合成式(I)之陽離子脂質及用於合成該脂質之中間物的方法。不希望受理論束縛，應理解伴隨式(I)之陽離子脂質的陰離子(亦即，「 A^- 」)可由式(I)之陽離子脂質之合成中所涉及的起始材料供應。例如， Br^- 離子可由 6-溴己酸十一烷基酯、8-溴辛酸壬酯或 8-溴辛酸 3-丁基庚酯供應。不希望受理論束縛，陰離子之鑑定可需要利用已知方法進行之額外分析(例

如，元素分析)。然而，應理解，陰離子之鑑定並非式(I)之陽離子脂質之合成中的必要步驟。不希望受理論束縛，在任何本文所述之合成期間，式(I)之陽離子脂質可用在純化步驟期間由另一陰離子置換的陰離子形成。例如，在一些實施例中，式(I)之陽離子脂質最初用 Br⁻離子或 Cl⁻離子形成，但該 Br⁻離子或 Cl⁻離子在純化步驟期間由 OH⁻離子置換。例如，當 NH₄OH 包含於用於矽膠管柱純化之溶離劑中時，初始相對離子(例如 Br⁻或 Cl⁻)可由 OH⁻陰離子置換。應理解，在其中存在式(I)化合物之超過一個分子之一些實施例中，可存在陰離子混合物。例如，不希望受理論束縛，若存在式(I)化合物之兩個分子，則各分子可具有不同相對離子。例如，相對離子可為式(I)化合物之一分子之 Br⁻及另一分子之 OH⁻。

【0339】 本文所述之可離子化脂質可根據公開之國際專利申請案第 WO/2017/049245 號、第 WO/2017/112865 號、第 WO/2018/170306 號、第 WO/2018/232120 號、第 WO/2021/055835 號、第 WO/2021/055833 號及第 WO/2021/055849 號中所揭示之程序來製備，該等公開之國際專利申請案各自以引用之方式整體併入本文中。

【0340】 此外，應理解屬先前技術之本揭示案之任何特定實施例均可明確地自申請專利範圍之任何一或多項排除。由於該等實施例被認為係普通熟習此項技術者所知的，故可將其排除在外，即使在本文中未明確陳述該排除。

【0341】 所有引用之來源(例如，參考文獻、出版物、資料庫、資料庫入口及本文所引用之技術)均以引用之方式併入本申請案中，即使在引用中未明確陳述。在引用之來源與本申請案之陳述有衝突的情況下，應以本申請案中之陳述為準。

實例

實例 1：合成表 1 之陽離子脂質

A. 一般考慮

【0342】 除非另外註明，否則所有所用溶劑及試劑均在商業上獲得且原樣使

用。¹H NMR 譜在 CDCl₃ 中在 300 K 下使用 Bruker Ultrashield 300 MHz 儀器加以記錄。關於 ¹H，化學位移係報告為相對於 TMS (0.00) 之百萬分率(ppm)。在 ISCO CombiFlash Rf+ Lumen 儀器上使用 ISCO RediSep Rf Gold Flash Cartridges (粒徑：20-40 微米) 執行矽膠層析法。在 ISCO CombiFlash Rf+ Lumen 儀器上使用 RediSep Rf Gold C18 高效管柱執行逆相層析法。所有最終脂質經由藉由逆相 UPLC-MS (滯留時間，RT，以分鐘計) 分析經測定為超過 85% 純，使用具有 DAD 及 ELSD 之 Waters Acquity UPLC 儀器及 ZORBAX 快速解析高精度(RRHD) SB-C18 LC 管柱(2.1 mm、50 mm、1.8 μm)，且經 5 分鐘梯度為 65-100% 具有 0.1% TFA 之乙腈/水，1.2 mL/min。注入體積為 5 μL 且管柱溫度為 80°C。偵測係基於使用 Waters SQD 質譜儀(Milford, MA, USA) 及蒸發光散射偵測器以陽性模式進行之電噴霧電離(ESI)。

【0343】 LCMS 方法：

儀器資訊：HPLC/MS-Agilent 1100

管柱：Agela Technologies Durashell C18 3.5 μm，100 Å，4.6 × 50 mm

移動相 A：水/0.1% 三氟乙酸

移動相 B：乙腈/0.1% 三氟乙酸

流動速率：1 mL/min

梯度：5 分鐘內 70% B-100% B，保持 100% B 持續 10 分鐘，分鐘內 100% B-70% B，且接著停止。

管柱溫度：環境

偵測器：ELSD

【0344】 下文所述之程序可用於合成表 1 之脂質。

【0345】 以下縮寫用於本文中：

THF：四氫呋喃

TLC： 薄層層析法

MeCN： 乙腈

LAH： 氫化鋰鋁

DCM： 二氯甲烷

DMAP： 4-二甲基氨基吡啶

LDA： 二異丙基胺化鋰

rt： 室溫

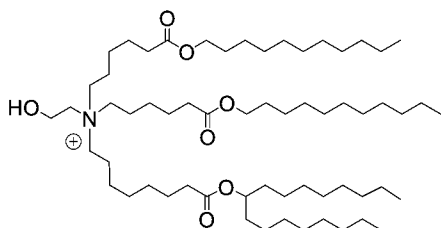
DME： 1,2-二甲氧基乙烷

n-BuLi： 正丁基鋰

CPME： 環戊基甲醚

i-Pr₂EtN： *N,N*-二異丙基乙胺

製備 8-(十七烷-9-基氧基)-*N*-(2-羥基乙基)-8-側氧基-*N,N*-雙(6-側氧基-6-(十一烷氧基)己基)辛-1-銨(化合物 1)

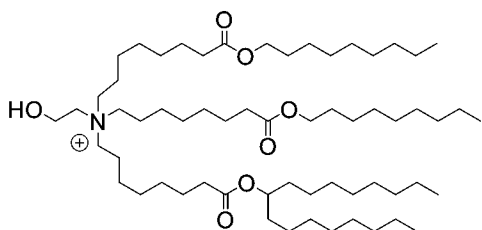


【0346】 將 8-((2-羥基乙基)(6-側氧基-6-(十一烷氧基)己基)胺基)-辛酸十七烷-9-基酯(40 g, 51 mmol)及 6-溴己酸十一烷酯(90 g, 258 mmol)溶解於乙腈(220 mL)中。使燒瓶配備空氣冷卻之回流冷凝器且在 90°C下攪拌。在回流下在 N₂ (g)下攪拌該溶液。5 天之後，該反應冷卻至室溫且乾燥乙腈。將殘餘油狀物溶解於庚烷(600 mL)中且用乙腈(3 × 250 mL)萃取該庚烷溶液。收集庚烷層且乾燥。藉由兩個矽膠管柱之層析法純化粗油狀物之部分(4.84 g)。用多個管柱體積之 100%乙酸異丙酯、隨後含 20% MeOH 之二氯甲烷運行第一個管柱。使用梯度方法[含 0-100% (含 1% NH₄OH、20% MeOH 之二氯甲烷的混合物)之二氯甲烷]運行第二個

管柱以獲得 998.4 mg 8-(十七烷-9-基氧基)-N-(2-羥基乙基)-8-側氧基-N,N-雙(6-側氧基-6-(十一烷氧基)己基)辛-1-銨。UPLC/ELSD: RT = 3.13 min。HRMS (ESI): $C_{61}H_{120}NO_7^+$ (M+H) m/z 計算值 978.91; 觀測值 979.40。 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4.85 (m, 1H); 4.49-4.40 (br, m, 1H); 4.19-4.09 (br, 2H); 4.05 (t, 4H, $J = 6.0$ Hz); 3.64-3.57 (br, m, 2H); 3.45-3.31 (br, m, 6H); 2.45-2.23 (m, 6H); 1.83-1.55 (m, 19H); 1.54-1.14 (m, 64H); 0.98-0.82 (m, 15H)。

【0347】 如以下文獻中所述來製備化合物 8-((2-羥基乙基)(6-側氧基-6-(十一烷氧基)己基)胺基)辛酸十七烷-9-基酯及 6-溴己酸十一烷酯：Sabnis, S.; Kumarasinghe, E. S.; Salerno, T.; Cosmin, M.; Ketoba, T.; Senn, J. J.; Lynn, A.; Bulychev, A.; Mcfadyen, I.; Chan, J.; Almarsson, Ö.; Stanton, M. G. A Novel Amino Lipid Series for mRNA Delivery: Improved Endosomal Escape and Sustained Pharmacology and Safety in Non-human Primates, *Molecular Therapy*, 2018, 1509-1519；以引用之方式整體併入本文中。

製備 8-(十七烷-9-基氧基)-N-(2-羥基乙基)-N,N-雙(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)-8-側氧基辛-1-銨(化合物 2)

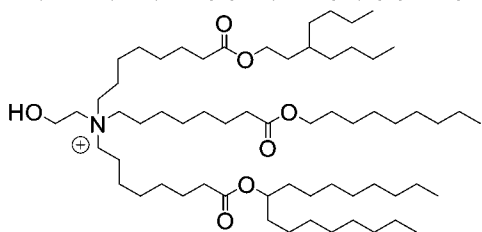


【0348】 向配備有頂置式攪拌器、加熱套、溫度探針、空氣冷卻之回流冷凝器及 N_2 入口之 12 L 三頸圓底燒瓶中饋入碳酸鉀(225 g, 1.63 mol)、碘化鉀(74 g, 0.45 mol)及 8-((2-羥基乙基)胺基)辛酸壬酯(215 g, 0.40 mol)。使固體懸浮於乙腈(2.2 L)中。將 8-溴辛酸壬酯(167.3 g, 0.47 mol)添加至經攪拌懸浮液中，隨後添加環戊基甲醚(2200 mL)。在 $81.0^\circ C$ 下加熱所得混合物。48 h 後，使反應冷卻至室溫且過濾白色無機鹽。將濾液濃縮成油狀物且將粗油狀物溶解於庚烷(3 L)中

且用乙腈(5 × 1000 mL)洗滌。收集乙腈層且濃縮。藉由兩個矽膠管柱之層析法純化粗產物之一部分(2 g)。第一個矽膠管柱使用梯度方法[含 0-80% (含 1% NH₄OH、20% MeOH 之二氯甲烷的混合物)之二氯甲烷]且第二個管柱用多個管柱體積之 100% 乙酸異丙酯、隨後含 1% NH₄OH、20% MeOH 之二氯甲烷的混合物運行。獲得呈淡黃色油狀之所需產物 8-(十七烷-9-基氧基)-N-(2-羥基乙基)-N,N-雙(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)-8-側氧基辛-1-銨(988.4 mg)。UPLC/ELSD: RT = 3.16 min。HRMS (ESI): C₆₁H₁₂₀NO₇⁺ (M+H) m/z 計算值 978.91；觀測值 979.64。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4.85 (m, 1H); 4.57-4.36 (br, m, 1H); 4.18-4.09 (br, 2H); 4.05 (t, 4H, J = 6.0 Hz); 3.65-3.55 (br, m, 2H); 3.45-3.30 (br, m, 6H); 2.37-2.22 (m, 6H); 1.75-1.55 (m, 19H); 1.54-1.15 (m, 64H); 0.97-0.82 (m, 15H)。

【0349】 如以下文獻中所述來製備化合物 8-((2-羥基乙基)胺基)辛酸壬酯及 8-溴辛酸壬酯：Sabnis, S.; Kumarasinghe, E. S.; Salerno, T.; Cosmin, M.; Ketoba, T.; Senn, J. J.; Lynn, A.; Bulychev, A.; Mcfadyen, I.; Chan, J.; Almarsson, Ö.; Stanton, M. G. A Novel Amino Lipid Series for mRNA Delivery: Improved Endosomal Escape and Sustained Pharmacology and Safety in Non-human Primates, *Molecular Therapy*, 2018, 1509-1519；以引用之方式整體併入本文中。

製備 8-((3-丁基庚基)氧基)-N-(8-(十七烷-9-基氧基)-8-側氧基辛基)-N-(2-羥基乙基)-N-(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)-8-側氧基辛-1-銨(化合物 3)

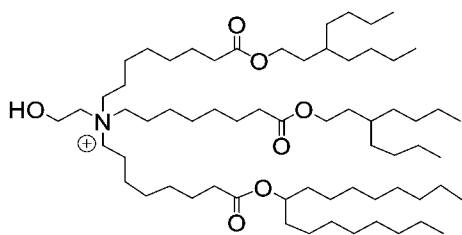


【0350】 將 8-((2-羥基乙基)(8-壬氧基)-8-側氧基辛基)胺基)辛酸十七烷-9-基酯(2 g, 2.82 mmol)及 8-溴辛酸 3-丁基庚酯(5.31 g, 14.08 mmol)溶解於乙腈(10 mL)中。該反應在 80°C 下攪拌持續 6 天。該反應在一天後變為淡黃橙色且最終變

為淡黃色。使該反應冷卻至室溫。將庚烷(10 mL)添加至溶液中且用乙腈(6 × 10 mL)洗滌庚烷層。濃縮乙腈層且藉由兩個矽膠管柱之層析法進行純化。第一個矽膠管柱使用多個管柱體積之 100%乙酸異丙酯、隨後含 1% NH₄OH、20% MeOH 之二氯甲烷的混合物。第二個矽膠層析法使用梯度方法[含 0-80% (含 1% NH₄OH、20% MeOH 之二氯甲烷的混合物)之二氯甲烷]以生成產物(1.06 g) 8-((3-丁基庚基)氧基)-N-(8-(十七烷-9-基氧基)-8-側氧基辛基)-N-(2-羥基乙基)-N-(8-(壬氧基)-8-側氧基辛基)-8-側氧基辛-1-銨。UPLC/ELSD: RT = 3.07 min。HRMS (ESI): C₆₃H₁₂₄NO₇⁺ (M+H) m/z 計算值 1006.94；觀測值 1007.40。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4.85 (m, 1H); 4.17-4.00 (m, 7H); 3.59-3.50 (br, m, 2H); 3.45-3.33 (br, m, 6H); 2.35-2.22 (m, 6H); 1.76-1.45 (m, 23H); 1.44-1.17 (m, 64H); 0.96-0.82 (m, 15H)。

【0351】 如以下文獻中所述來製備化合物 8-((2-羥基乙基)(8-壬氧基)-8-側氧基辛基)胺基)辛酸十七烷-9-基酯：Sabnis, S.; Kumarasinghe, E. S.; Salerno, T.; Cosmin, M.; Ketoba, T.; Senn, J. J.; Lynn, A.; Bulychev, A.; Mcfadyen, I.; Chan, J.; Almarsson, Ö.; Stanton, M. G. A Novel Amino Lipid Series for mRNA Delivery: Improved Endosomal Escape and Sustained Pharmacology and Safety in Non-human Primates, *Molecular Therapy*, 2018, 1509-1519；且如以下文獻中所述來製備化合物 8-溴辛酸 3-丁基庚酯：Benenato, K. E.; Cornebise, M.; Hennessy, E.; Kumarasinghe, E. S. Branched Tail Lipid Compounds and Compositions for Intracellular Delivery of Therapeutic Agents, US11066355B2；以引用之方式整體併入本文中。

製備 8-((3-丁基庚基)氧基)-N-(8-((3-丁基庚基)氧基)-8-側氧基辛基)-N-(8-(十七烷-9-基氧基)-8-側氧基辛基)-N-(2-羥基乙基)-8-側氧基辛-1-銨化合物 4)



【0352】 在圓底燒瓶中，將 8-((2-羥基乙基)(8-壬氧基)-8-側氧基辛基)胺基)辛酸十七烷-9-基酯(2 g, 2.709 mmol)及 8-溴辛酸 3-丁基庚酯(5.112 g, 13.55 mmol)溶解於乙腈(10 mL)中。在 80°C 下攪拌反應持續 6 天，其中反應顏色自透明變為淡黃色。在該反應冷卻至室溫之後，將 10 mL 庚烷添加至溶液中。用乙腈(6 × 10 mL)洗滌庚烷層。收集乙腈部分且濃縮以藉由矽膠層析法純化。第一個矽膠管柱用多個管柱體積之 100% 乙酸異丙酯、隨後含 1% NH₄OH、20% MeOH 之二氯甲烷的混合物運行。在第一個管柱之後，第二個矽膠層析法使用梯度方法[含 0-80% (含 1% NH₄OH、20% MeOH 之二氯甲烷的混合物)之二氯甲烷]以收集目標產物 8-((3-丁基庚基)氧基)-N-(8-((3-丁基庚基)氧基)-8-側氧基辛基)-N-(8-(十七烷-9-基氧基)-8-側氧基辛基)-N-(2-羥基乙基)-8-側氧基辛-1-銨(1.274 g)。UPLC/ELSD: RT = 3.08 min。HRMS (ESI): C₆₅H₁₂₈NO₇⁺ (M+H) m/z 計算值 1034.97; 觀測值 1035.03。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4.85 (m, 1H); 4.20-4.01 (m, 6H); 3.56-3.50 (br, m, 2H); 3.45-3.32 (br, m, 6H); 2.35-2.21 (m, 6H); 1.75-1.46 (m, 25H); 1.45-1.17 (m, 64H); 0.98-0.81 (m, 18H)。

【0353】 如以下文獻中所述來製備化合物 8-((2-羥基乙基)(8-壬氧基)-8-側氧基辛基)胺基)-辛酸十七烷-9-基酯及 8-溴辛酸 3-丁基庚酯：Benenato, K. E.; Cornebise, M.; Hennessy, E.; Kumarasinghe, E. S. Branched Tail Lipid Compounds and Compositions for Intracellular Delivery of Therapeutic Agents, US11066355B2；以引用之方式整體併入本文中。

實例 2：LNP 調配物

【0354】 包括治療劑及/或預防劑之脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP)可

視根據式(I)之陽離子脂質的選擇、額外脂質之選擇、脂質組分中各脂質之量及脂質組分:治療劑及/或預防劑之 wt:wt 比率經最佳化。

【0355】 製備脂質奈米粒子(例如空 LNP 或負載 LNP),包括作為磷脂之 DSPC 及 DOPE、作為結構脂質之膽固醇、作為 PEG 脂質之 PEG-1、根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質及根據式(I)之陽離子脂質。

【0356】 藉由將脂質(例如,根據式(IL-A)、(IL-B)、(IL-C)、(IL-D)、(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)、(IL-IC)、(IL-IIA)、(IL-IIAX)、(IL-IIB)、(IL-IIC)、(IL-III)或(IL-IIIA)之可離子化脂質、根據式(I)之陽離子脂質、DSPC、膽固醇及 PEG 1)以 12.5 mM 濃度及如表 2 中所概述之莫耳比溶解於乙醇中來製備例示性脂質奈米粒子組合物。脂質:mRNA 比率維持於 4.9 之 N:P 比率下。接著用 25 mM 乙酸钠(pH 5.0)稀釋 mRNA 且以 3:1 (水性:乙醇)之體積比與脂質混合物組合。使用分子截止值為 10 KDa 之 Slide-A-Lyzer 透析卡匣(Thermo Scientific, Rockford, IL, USA),使所得調配物針對 20 mM tris/ 8%蔗糖 mM 氯化鈉(pH 7.4)透析持續至少 18 h,體積為初級產物之體積的 300 倍。第一次透析在室溫下在數位軌道震蕩器上以 85 rpm 進行 3 h 且接著隨後在 4°C 下透析隔夜。使用離心過濾器濃縮調配物,通過 0.22- μm 過濾器且儲存於 4°C 下直至使用。脂質奈米粒子溶液典型地經調節至 0.1 mg/mL 與 1 mg/mL 之間的特定 mRNA 濃度。

【0357】 表 2 概述例示性 LNP 之組分及組成。表 3 概述 LNP 調配物之特徵,該等特徵均在製備當天且在室溫下測定。如表 3 中所示,大多數包含式(I)之陽離子脂質之 LNP 呈現較小大小(在 60 nm 與 80 nm 之間)。

表 2. 例示性 LNP 之組分及組成。

LNP	陽離子脂質 (mol%)	可離子化脂質 (mol%)	磷脂(mol%)	結構脂質 (mol%)	PEG 脂質 (mol%)	N:P

LNP-1	-	II-6 (48)	DSPC (11.0)	膽固醇(39)	PEG-1 (2.0)	4.9
LNP-2	1 (30)	VI-4 (25)	DOPE (16.7)	膽固醇(26.8)	PEG-DMG (1.5)	4.9
LNP-3	1 (30)	II-6 (33)	DSPC (7.7)	膽固醇(27.3)	PEG-1 (2.0)	4.9
LNP-4	2 (30)	II-6 (33)	DSPC (7.7)	膽固醇(27.3)	PEG-1 (2.0)	4.9
LNP-5	3 (30)	II-6 (33)	DSPC (7.7)	膽固醇(27.3)	PEG-1 (2.0)	4.9
LNP-6	4 (30)	II-6 (33)	DSPC (7.7)	膽固醇(27.3)	PEG-1 (2.0)	4.9

表 3. 包含本揭示案之脂質的奈米粒子之特徵。

LNP	陽離子脂質 (mol%)	mRNA	直徑/大小(nm)	PDI	N:P
LNP-1	-	mOX40L	56.7	0.154	4.9
LNP-2	1 (30)	mOX40L	64.1	0.182	4.9
LNP-3	1 (30)	mOX40L	68.9	0.299	4.9
LNP-4	2 (30)	mOX40L	70.6	0.331	4.9
LNP-5	3 (30)	mOX40L	79.1	0.136	4.9
LNP-6	4 (30)	mOX40L	146.5	多模式	4.9

實例 3：用於流式細胞術之鼠科動物內皮肺細胞的分離

【0358】 試劑：消化培養基：3 mg/mL 膠原蛋白酶 I、0.1 mg/mL DNase I、杜氏改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM)；洗滌溶液：杜氏磷酸鹽緩衝鹽水(DPBS) + 0.5%牛血清白蛋白(BSA)；FACS 緩衝液：流式細胞術染色緩衝液(eBioscience™, ThermoFisher Scientific)。

【0359】 最小標記物組：

- CD31：一般內皮標記物；
- CD45：白血球常見標記物；
- mOX40L：跨膜報告基因；
- tdTomato：來自 Ai14 小鼠之 Cre 介導之重組的螢光蛋白報告基因。

【0360】 使 6 週齡雌性小鼠(Ai14)在內部老化至大約 7-8 週齡。每組 n=5，在收集之前 8 天經由側尾靜脈將 Cre mRNA (亦即，導致 tdTomato 表現之 mRNA) 調配之 LNP 進行靜脈內給藥。第一次給藥後 1 週，用包含表現 OX40L 之 mRNA 的本揭示案之負載 LNP 對小鼠進行靜脈內(側尾靜脈)給藥。第二次靜脈內給藥後 24 小時，在 CO₂ 窒息下對小鼠實施安樂死且剪斷右心房以使血液流出。用

5 mL PBS 經由心臟之右心室灌注肺且隨後移出。將肺之左肺葉儲存於 3 mL PBS 中且置於冰上。將左肺葉切割成 <1 mm 塊且將每塊置於 8 mL 消化培養基中。在 37°C 下在消化培養基中培育組織懸浮液持續 45 分鐘，其中每 15 分鐘倒置。使組織懸浮液通過附接 20 G 套管之 3 mL 注射器，直至混合物經濕磨成單細胞懸浮液。經由 70 μ m 濾網將細胞混合物過濾至冰冷洗滌溶液中。隨後在濾網頂部添加額外洗滌溶液。使細胞混合物在 300xg、4°C 下離心持續 5 分鐘。移除上清液，且將細胞集結粒再懸浮於洗滌緩衝液中。使細胞混合物在 300xg、4°C 下離心持續 5 分鐘。移除上清液，且將細胞集結粒再懸浮於氯化銨鉀(ACK)溶解緩衝液中持續 1 分鐘且添加洗滌緩衝液(2 \times 體積)。使細胞混合物在 300xg、4°C 下離心持續 5 分鐘且隨後移除上清液。將細胞集結粒再懸浮於流式細胞術染色(FACS)緩衝液中且經由 70 μ m 網過濾。根據製造商之建議，用活力染料及針對標記物組之抗體對肺細胞染色。在用抗體混合液染色之前 10 分鐘，將細胞再懸浮於抗小鼠 CD16/32 抗體(TruStain FcX™, BioLegend)中。在流式細胞儀上運行補償對照(compensation control)。在聲聚焦流式細胞儀(Attune™ NxT, ThermoFisher Scientific)上運行肺樣品。使用流式細胞術分析軟體(FlowJo™)分析所收集之數據。

實例 4：藉由本揭示案之 LNP 進行內皮遞送

【0361】 為了評估包含於本揭示案之負載 LNP 中的治療劑向內皮細胞之遞送，在如實例 3 所述向 Ai14 小鼠投與負載 LNP 之後，在內皮細胞中量測囊封於本揭示案之負載 LNP 中的 Cre 及 mOX40L mRNA 之表現。結果概述於下表 4 及表 5 中，且顯示在投與本揭示案之 LNP 後在如藉由流式細胞術所偵測對既定報告基因呈陽性之樣品內皮細胞群體中展現表現之內皮細胞的分率。在包含 30 mol% 式(I)之陽離子脂質的 LNP 及不包含式(I)之陽離子脂質的負載 LNP (亦即，不包含陽離子脂質之 LNP，或包含二油醯基-3-三甲基銨丙烷(DOTAP)之 LNP)中評估表現。負載 LNP 亦包含如表中所指示之可離子化脂質及 PEG 脂質。

表 4：在投與本揭示案之負載 LNP 後內皮細胞中之 mOX40L 表現

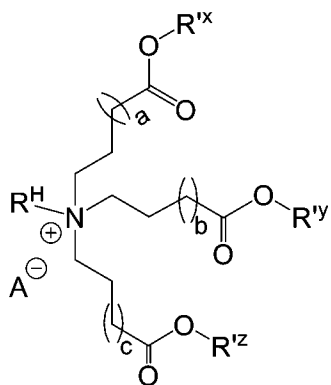
可離子化脂質 /PEG 脂質	陽離子 脂質	內皮細胞%					
		樣品 1	樣品 2	樣品 3	樣品 4	樣品 5	平均值
VI-4/PEG-DMG	無						0
	1	77.3	74.0	70.3	79.8	77.9	75.9
	DOTAP						0
I-18/ PEG-1	無						0
	1						0
II-6/ PEG-1	無	0.4	0.4	0.9	0.4	0.4	0.5
	1	79.6	61.8	76.9	76.6	78.0	74.6
	2	62.2	83.2	71.2	89.1	79.2	77.0
	3	63.5	72.4	87.4	83.8	88.0	79.0
	4	65.2	78.5	80.7	58.1	80.5	72.6

表 5：在投與本揭示案之負載 LNP 後內皮細胞中之 tdTomato 表現

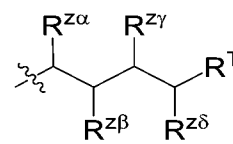
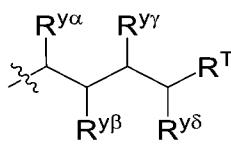
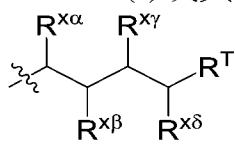
可離子化脂質 /PEG 脂質	陽離子 脂質	內皮細胞%					
		樣品 1	樣品 2	樣品 3	樣品 4	樣品 5	平均值
VI-4/PEG-DMG	無						0
	1	82.1	74.9	80.8	77.7	79.4	79.0
	DOTAP						0
I-18/ PEG-1	無						0
	1						0
II-6/ PEG-1	無	7.0	4.1	5.0	2.7	3.2	4.4
	1	82.4	76.2	71.9	73.6	74.5	75.7
	2	83.2	73.9	76.5	79.6	80.4	78.7
	3	76.1	75.3	76.5	76.2	76.2	76.1
	4	69.4	72.2	69.2	70.2	70.9	70.4

列舉之實施例

【0362】 實施例 1. 一種式(I)之陽離子脂質：



(I)或其異構物，



其中 $R^{x\alpha}$ 為： $R^{x\beta}$ $R^{x\gamma}$ $R^{x\delta}$ ； $R^{y\alpha}$ 為： $R^{y\beta}$ $R^{y\gamma}$ $R^{y\delta}$ ；且 $R^{z\alpha}$ 為： $R^{z\beta}$ $R^{z\gamma}$ $R^{z\delta}$ ；

其中 ξ 表示連接點；

$R^{x\alpha}$ 、 $R^{x\beta}$ 、 $R^{x\gamma}$ 及 $R^{x\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{y\alpha}$ 、 $R^{y\beta}$ 、 $R^{y\gamma}$ 及 $R^{y\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{z\alpha}$ 、 $R^{z\beta}$ 、 $R^{z\gamma}$ 及 $R^{z\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^H 為 $-(CH_2)_qOH$ ，其中 q 係選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^T 獨立地選自 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基；

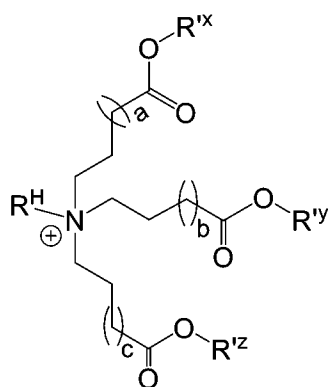
a 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

b 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

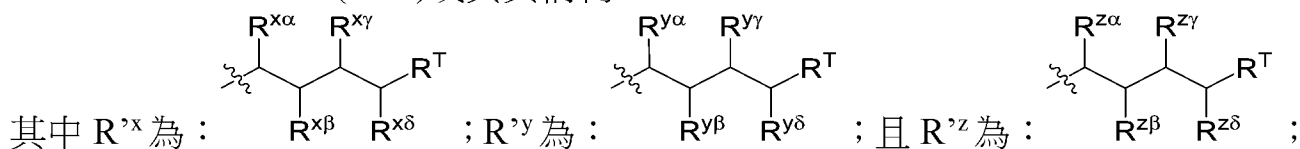
c 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；且

A^- 為任何醫藥學上可接受之陰離子。

【0363】 實施例 2. 一種式(I-cat)之陽離子脂質：



(I-cat)或其異構物，



其中 ξ 表示連接點；

$R^{x\alpha}$ 、 $R^{x\beta}$ 、 R^{xy} 及 $R^{x\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{y\alpha}$ 、 $R^{y\beta}$ 、 R^{yy} 及 $R^{y\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{z\alpha}$ 、 $R^{z\beta}$ 、 R^{zy} 及 $R^{z\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^H 為 $-(CH_2)_qOH$ ，其中 q 係選自 1、2、3、4 及 5；

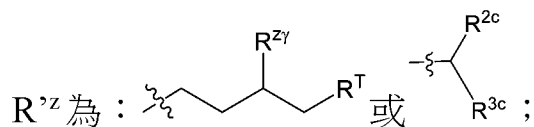
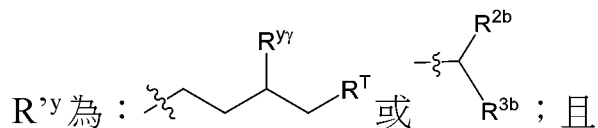
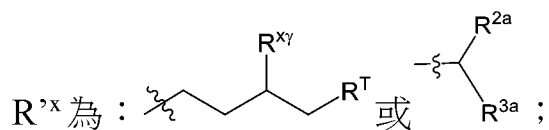
各 R^T 獨立地選自 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基；

a 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

b 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

c 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9。

【0364】 實施例 3. 如實施例 1 或 2 之陽離子脂質，其中



其中 ξ 表示連接點；

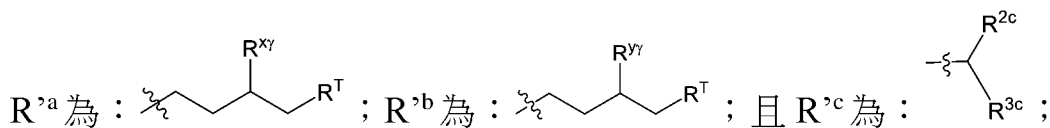
R^{xy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；


R^{yy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{zy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；且

R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、 R^{3a} 、 R^{3b} 及 R^{3c} 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群。

【0365】 實施例 4. 如前述實施例中任一項之陽離子脂質，其中



其中  表示連接點；

R^{xy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{yy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；且

R^{2c} 及 R^{3c} 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群。

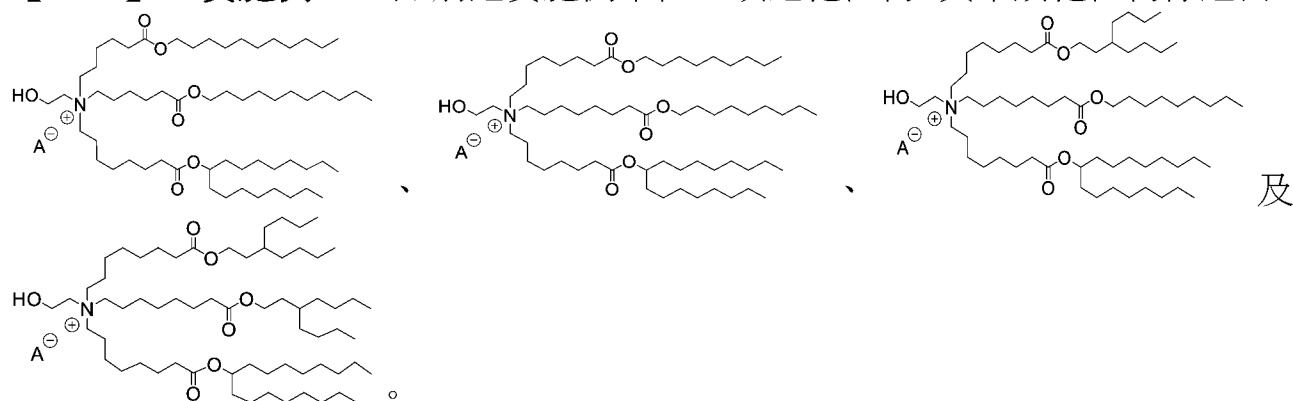
【0366】 實施例 5. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 R^{xy} 及 R^{yy} 各自為 H。

【0367】 實施例 6. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 R^{xy} 及 R^{yy} 各自為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基。

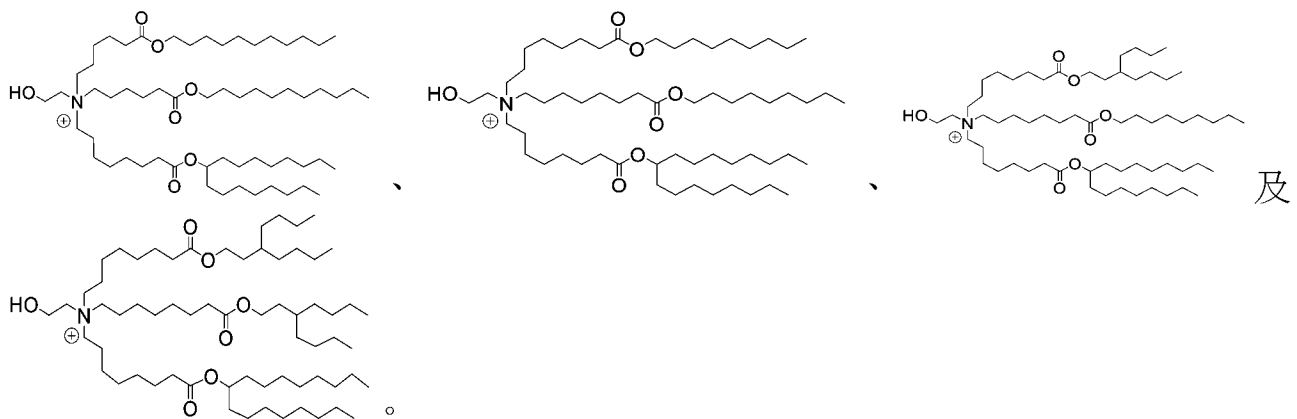
【0368】 實施例 7. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 R^{xy} 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基且 R^{yy} 為 H。

【0369】 實施例 8. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 q 為 2。

【0370】 實施例 9. 如前述實施例中任一項之化合物，其中該化合物係選自：



【0371】 實施例 10. 一種化合物，其係選自：



【0372】 實施例 11. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 A 係選自氯離子、溴離子、碘離子、氫氧根、硫酸根、硫酸氫根、胺基磺酸根、硝酸根、磷酸根、檸檬酸根、甲磺酸根、三氟乙酸根、麩胺酸根、葡糖醛酸根、戊二酸根、蘋果酸根、順丁烯二酸根、琥珀酸根、反丁烯二酸根、酒石酸根、甲苯磺酸根、水楊酸根、乳酸根、萘磺酸根及乙酸根。

【0373】 實施例 12. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 A 係選自溴離子、氯離子及氫氧根。

【0374】 實施例 13. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 A 為溴離子。

【0375】 實施例 14. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 A 為氯離子。

【0376】 實施例 15. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 A 為溴離子或氫氧根。

【0377】 實施例 16. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 A 為氯離子或氫氧根。

【0378】 實施例 17. 如前述實施例中任一項之化合物，其中 A 為氫氧根。

【0379】 實施例 18. 一種空脂質奈米粒子(空 LNP)，其包含如前述實施例中任一項之陽離子脂質。

【0380】 實施例 19. 如前述實施例中任一項之空 LNP，其進一步包含可離子化脂質。

【0381】 **實施例 20.** 如前述實施例中任一項之空 LNP，其進一步包含磷脂。

【0382】 **實施例 21.** 如前述實施例中任一項之空 LNP，其進一步包含結構脂質。

【0383】 **實施例 22.** 如前述實施例中任一項之空 LNP，其進一步包含 PEG 脂質。

【0384】 **實施例 23.** 一種包含脂質組分之空 LNP，該脂質組分包含約 20 mol%至約 40 mol%如前述實施例中任一項之陽離子脂質；約 15 mol%至約 40 mol%可離子化脂質、約 0 mol%至約 30 mol%磷脂、約 15 mol%至約 50 mol%結構脂質及約 0 mol%至約 1 mol% PEG 脂質。

【0385】 **實施例 24.** 一種負載脂質奈米粒子(負載 LNP)，其包含如前述實施例中任一項之空 LNP 及治療劑及/或預防劑。

【0386】 **實施例 25.** 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑，

其中該負載 LNP 在生理 pH 下具有大於中性 ζ 電位。

【0387】 **實施例 26.** 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 負載 LNP 核心，其包含：
 - (i) 可離子化脂質，
 - (ii) 磷脂，
 - (iii) 結構脂質，及
 - (iv) PEG-脂質，及
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑。

【0388】 實施例 27. 一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，其包含：

(i) 可離子化脂質，

(ii) 磷脂，

(iii) 結構脂質，及

(iv) PEG-脂質，及

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的聚核苷酸或多肽有效載荷治療劑及/或預防劑，及

(c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑。

【0389】 實施例 28. 一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 展現至少約 20%細胞之細胞積聚且在投與該負載 LNP 之細胞群體中的細胞中展現約 5%或更大表現。在一些實施例中，該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中的約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%細胞中展現細胞積聚。

【0390】 實施例 29. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%細胞中展現表現。

【0391】 實施例 30. 在一些實施例態樣中，本文提供一種負載 LNP，

【0392】 實施例 31. 其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑，

其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中展現至少約 20%細胞之細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 5%或更大表現。

【0393】 實施例 32. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中的約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%細胞中展現細胞積聚。

【0394】 實施例 33. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0395】 實施例 34. 一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 主要安置於核心之外表面上的陽離子劑，

其中該治療劑及/或預防劑表現蛋白質且其中負載 LNP 在投與該負載 LNP 之細胞群體中的細胞中展現約 0.5%至 50%蛋白質表現。

【0396】 實施例 35. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%之蛋白質表現。

【0397】 實施例 36. 一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質奈米粒子核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.5%至 50%蛋白質表現。

【0398】 **實施例 37.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%之蛋白質表現。

【0399】 **實施例 38.** 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在內皮細胞中展現至少約 20%之細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 5%或更大表現。

【0400】 **實施例 39.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之內皮細胞細胞群體中展現約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%內皮細胞之細胞積聚。

【0401】 **實施例 40.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0402】 **實施例 41.** 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 0.5%至 50%蛋白質表現。

【0403】 **實施例 42.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之內皮細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%之蛋白質表現。

【0404】 實施例 43. 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質奈米粒子核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之肺細胞中展現約 0.5%至約 50%蛋白質表現。

【0405】 實施例 44. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之肺內皮細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%之蛋白質表現。

【0406】 實施例 45. 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質負載 LNP 核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在呼吸道內皮細胞中展現至少約 20%之細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞中展現約 5%或更大表現。

【0407】 實施例 46. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞群體中展現約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%呼吸道內皮細胞之細胞積聚。

【0408】 實施例 47. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0409】 實施例 48. 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 脂質負載 LNP 核心，
- (b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%蛋白質表現。

【0410】 實施例 49. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%之蛋白質表現。

【0411】 實施例 50. 一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質負載 LNP 核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之 HeLa 細胞中展現約 0.5%至約 50%蛋白質表現。

【0412】 實施例 51. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之 HeLa 細胞中展現約 0.1%至約 60%、約 0.5%至約 40%、約 1%至約 30%或約 1%至約 20%之蛋白質表現。

【0413】 實施例 52. 一種負載 LNP，其包含：

(a) 脂質負載 LNP 核心，

(b) 囊封於核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及

(c) 陽離子劑，

其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之支氣管內皮細胞群體中的至少約 20%支氣管內皮細胞中展現細胞積聚且在其中積聚該負載 LNP 之支氣管內皮細胞中展現約 5%或更大表現。

【0414】 實施例 53. 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑為陽離子脂質。

【0415】 **實施例 54.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑為式(I)之陽離子脂質。

【0416】 **實施例 55.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑為如實施例 1-17 中任一項之陽離子脂質。

【0417】 **實施例 56.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在投與該負載 LNP 之呼吸道內皮細胞群體中展現約 1%至約 75%、約 5%至約 50%、約 10%至約 40%或約 15%至約 25%呼吸道內皮細胞之細胞積聚。

【0418】 **實施例 57.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該負載 LNP 在其中積聚該負載 LNP 之肺內皮細胞中展現約 0.5%至約 50%、約 1%至約 40%、約 3%至約 20%或約 5%至約 15%表現。

【0419】 **實施例 58.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 0.1:1 至約 15:1。

【0420】 **實施例 59.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 0.2:1 至約 10:1。

【0421】 **實施例 60.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1:1 至約 10:1。

【0422】 **實施例 61.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1:1 至約 8:1。

【0423】 **實施例 62.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1:1 至約 7:1。

【0424】 **實施例 63.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1:1 至約 6:1。

【0425】 **實施例 64.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1:1 至約 5:1。

【0426】 **實施例 65.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1:1 至約 4:1。

【0427】 **實施例 66.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1.25:1 至約 3.75:1。

【0428】 **實施例 67.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 1.25:1。

【0429】 **實施例 68.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 2.5:1。

【0430】 **實施例 69.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之重量比為約 3.75:1。

【0431】 **實施例 70.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 0.1:1 至約 20:1。

【0432】 **實施例 71.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1 至約 10:1。

【0433】 **實施例 72.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1 至約 9:1。

【0434】 **實施例 73.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1 至約 8:1。

【0435】 **實施例 74.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1 至約 7:1。

【0436】 **實施例 75.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1 至約 6:1。

【0437】 **實施例 76.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1 至約 5:1。

【0438】 **實施例 77.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 1.5:1。

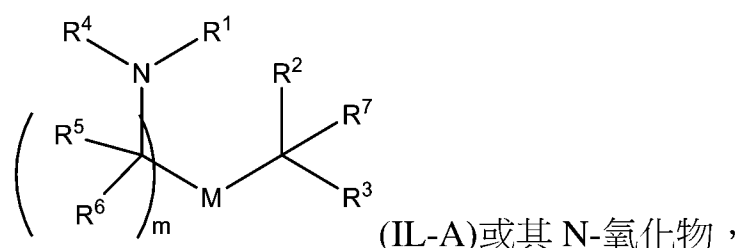
【0439】 **實施例 78.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 2:1。

【0440】 **實施例 79.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 3:1。

【0441】 **實施例 80.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 4:1。

【0442】 **實施例 81.** 如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該陽離子劑與該治療劑及/或預防劑之莫耳比為約 5:1。

【0443】 **實施例 82.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-A)化合物：



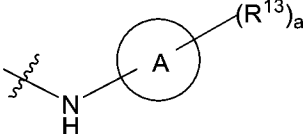
或其鹽或異構物，其中：

R^1 係選自由 C_{5-30} 烷基、 C_{5-20} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R''M'R'$ 組成之群；


R^2 及 R^3 獨立地選自由 H、 C_{1-14} 烷基、 C_{2-14} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R^*OR''$ 組成之群，或 R^2 及 R^3 連同其所連接之原子形成雜環或碳環；

R^4 係選自由氫、 C_{3-6} 碳環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{12})_2(CH_2)_{n-o}Q$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、 $-C(O)NQR$ 及未經取代 C_{1-6} 烷基組成之群，其中 Q 係選自碳環、雜環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR_9)N(R)_2$ 、-

$N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、
 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、
 $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、

$(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ 、 $NR^A S(O)_2R^{SX}$ 及 ，其中 A

係含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環；且 a 為 1、2、3 或 4；

其中  表示連接點；

各 o 獨立地選自 1、2、3 及 4；且各 n 獨立地選自 1、2、3、4 及 5；

R^8 係選自由 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^9 係選自由 H、CN、 NO_2 、 C_{1-6} 烷基、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} 烯基、
 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^{12} 係選自由 H、OH、 C_{1-3} 烷基及 C_{2-3} 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{1-3} 烷基-芳基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^A 係選自 H 及 C_{1-3} 烷基；

R^{SX} 係選自 C_{3-8} 碳環、含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 $(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{p2}R^{SX1}$ 及 $(CH_2)_{p1}R^{SX1}$ ，其
 中該碳環及該雜環視情況經一或多個選自側氧基、 C_{1-6} 烷基及 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷
 基之基團取代；

R^{SX1} 係選自 $C(O)NR^{14}R^{14'}$ 、 C_{3-8} 碳環及含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的
 3-14 員雜環，其中該碳環及該雜環各自視情況經一或多個選自側氧基、鹵基、 C_{1-3}
 C_{1-3} 烷基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基及 NH_2 之基團取
 代；

各 R^{13} 係選自由 OH、側氧基、鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{1-6} 烷基
 胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基、 NH_2 、 $C(O)NH_2$ 、CN 及 NO_2 組成之群；

R^{14} 及 $R^{14'}$ 各自獨立地選自由 H 及 C_{1-6} 烷基組成之群；

p_1 係選自 1、2、3、4 及 5；

p_2 係選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^5 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

各 R^6 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^7 係選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

M 及 M' 獨立地選自 -C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-OC(O)- M'' -C(O)O-、-C(O)N(R^M)-、-N(R^M)C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR M)O-、-S(O) $_2$ -、-S-S-、芳基及雜芳基，其中 M'' 為鍵、 C_{1-13} 烷基或 C_{2-13} 烯基；

各 R^M 獨立地選自由 H、 C_{1-6} 烷基及 C_{2-6} 烯基組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C_{1-18} 烷基、 C_{2-18} 烯基、- R^*YR'' 、- YR'' 、 $(CH_2)_qOR^*$ 及 H 組成之群，

且各 q' 獨立地選自 1、2 及 3；

各 R'' 獨立地選自由 C_{3-15} 烷基及 C_{3-15} 烯基組成之群；

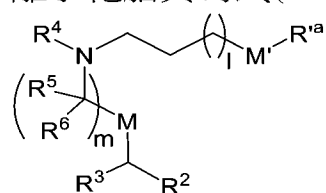
各 R^* 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

各 Y 獨立地為 C_{3-6} 碳環；

各 X 獨立地選自由 F、Cl、Br 及 I 組成之群；且

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13。

【0444】 實施例 83. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-B)化合物：



(IL-B)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，

M_1 為 M' ；

R_4 為 $-(CH_2)_nQ$ ，其中 Q 為 OH ，且 n 係選自 1、2、3、4 或 5 ；

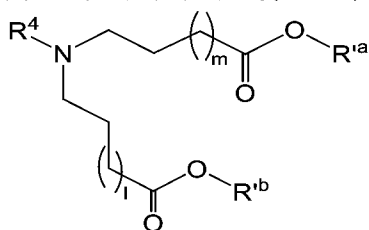
M 及 M' 獨立地選自 $-C(O)O-$ 及 $-OC(O)-$ ；

R_2 及 R_3 均為 C_{1-14} 烷基或 C_{2-14} 烯基 ； 且

R' 為 C_1-C_{12} 直鏈烷基 。

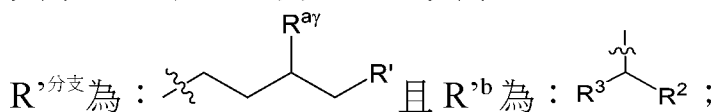
【0446】 實施例 85. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-D)化合物：



(IL-D)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，

其中 R'^a 為 $R'^{分支}$ 或 $R'^{環狀}$ ； 其中



其中 表示連接點；

其中 R^{ay} 係選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群 ；

R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群 ；

R^4 為 $-(CH_2)_nOH$ ，其中 n 係選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群 ；

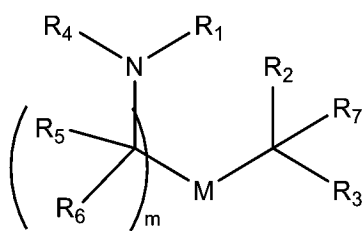
R' 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基 ；

m 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9 ；

l 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9 。

【0447】 實施例 86. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-I)化合物：



(II-I)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，其中：

R^1 係選自由 C_{5-30} 烷基、 C_{5-20} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R''M'R'$ 組成之群；

R^2 及 R^3 獨立地選自由 H、 C_{1-14} 烷基、 C_{2-14} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R^*OR''$ 組成之群，或 R^2 及 R^3 連同其所連接之原子形成雜環或碳環；

R^4 係選自由氫、 C_{3-6} 碳環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{10})_2(CH_2)_{n-o}Q$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 及未經取代 C_{1-6} 烷基組成之群，其中 Q 係選自碳環、雜環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 及 $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ ，各 o 獨立地選自 1、2、3 及 4，且各 n 獨立地選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^5 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

各 R^6 獨立地選自由 OH、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

M 及 M' 獨立地選自 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、芳基及雜芳基，其中 M'' 為鍵、 C_{1-13} 烷基或 C_{2-13} 烯基；

R^7 係選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^8 係選自由 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^9 係選自由 H、CN、 NO_2 、 C_{1-6} 烷基、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} 烯基、

C₃₋₆ 碳環及雜環組成之群；

R¹⁰ 係選自由 H、OH、C₁₋₃ 烷基及 C₂₋₃ 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C₁₋₃ 烷基、C₂₋₃ 烯基、(CH₂)_qOR* 及 H 組成之群，

且各 q 獨立地選自 1、2 及 3；

各 R' 獨立地選自由 C₁₋₁₈ 烷基、C₂₋₁₈ 烯基、-R*YR''、-YR'' 及 H 組成之群；

各 R'' 獨立地選自由 C₃₋₁₅ 烷基及 C₃₋₁₅ 烯基組成之群；

各 R* 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

各 Y 獨立地為 C₃₋₆ 碳環；

各 X 獨立地選自由 F、Cl、Br 及 I 組成之群；且

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13。

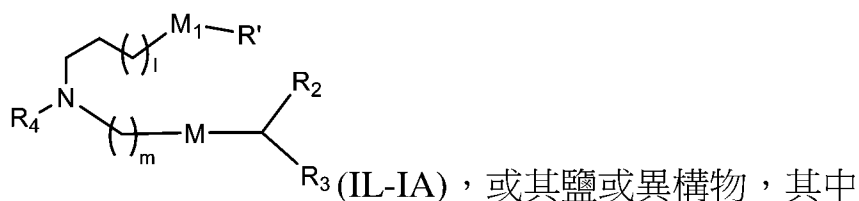
【0448】 實施例 87. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)化合物，其中 R⁷ 為 H。

【0449】 實施例 88. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)化合物，其中 R⁵ 及 R⁵ 各自為 H。

【0450】 實施例 89. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)化合物，其中 R¹ 係選自由 C₅₋₃₀ 烷基、C₅₋₂₀ 烯基及 -R''M'R' 組成之群。

【0451】 實施例 90. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)化合物，其中 R¹ 為 -R''M'R'。

【0452】 實施例 91. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IA)化合物：



l 係選自 1、2、3、4 及 5；

m 係選自 5、6、7、8 及 9；

M¹ 為鍵或 M'；

R₄ 為未經取代 C₁₋₃ 烷基或 -(CH₂)_nQ，其中 Q 為 OH、-NHC(S)N(R)₂、-NHC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)R₈、-NHC(=NR₉)N(R)₂、-NHC(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)OR、-N(OR)C(O)R、-N(OR)S(O)₂R、-N(OR)C(O)OR、-N(OR)C(O)N(R)₂、-N(OR)C(S)N(R)₂、-N(OR)C(=NR₉)N(R)₂、-N(OR)C(=CHR₉)N(R)₂ 或雜芳基，且各 n 係選自 1、2、3、4 或 5；

M 及 M' 獨立地選自 -C(O)O-、-OC(O)-、-C(O)N(R')-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、芳基及雜芳基；且

R₂ 及 R₃ 均為 C₁₋₁₄ 烷基或 C₂₋₁₄ 烯基；

R₈ 係選自由 C₃₋₆ 碳環及雜環組成之群；

R₉ 係選自由 H、CN、NO₂、C₁₋₆ 烷基、-OR、-S(O)₂R、-S(O)₂N(R)₂、C₂₋₆ 烯基、C₃₋₆ 碳環及雜環組成之群；

各 R 獨立地選自由 C₁₋₃ 烷基、C₂₋₃ 烯基及 H 組成之群；且

R' 為 C₁₋₁₈ 烷基或 C₂₋₁₈ 烯基。

【0453】 實施例 92. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)或(IL-IA)化合物，其中 R₄ 為 -(CH₂)_nQ，其中 Q 為 OH 或 -N(R)R₈。

【0454】 實施例 93. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IB)化合物：



l 係選自 1、2、3、4 及 5；

m 係選自 5、6、7、8 及 9；

R¹ 係選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；且

R² 及 R³ 獨立地選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；

M 及 M' 獨立地選自 -C(O)O- 及 -OC(O)-；

R^N 為 H 或 C₁₋₃ 烷基；

X^a 及 X^b 各自獨立地為 O 或 S；

R¹⁰ 係選自由 H、鹵基、-OH、R、-N(R)₂、-CN、-N₃、-C(O)OH、-C(O)OR、-OC(O)R、-OR、-SR、-S(O)R、-S(O)OR、-S(O)₂OR、-NO₂、-S(O)₂N(R)₂、-N(R)S(O)₂R、-NH(CH₂)_{t1}N(R)₂、-NH(CH₂)_{p1}O(CH₂)_{q1}N(R)₂、-NH(CH₂)_{s1}OR、-N((CH₂)_sOR)₂、-N(R)-碳環、-N(R)-雜環、-N(R)-芳基、-N(R)-雜芳基、-N(R)(CH₂)_{t1}-碳環、-N(R)(CH₂)_{t1}-雜環、-N(R)(CH₂)_{t1}-芳基、-N(R)(CH₂)_{t1}-雜芳基、碳環、雜環、芳基及雜芳基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基、C₂₋₁₂ 烯基及 H 組成之群；

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13；

n₂ 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10；

r 為 0 或 1；

t¹ 係選自 1、2、3、4 及 5；

p¹ 係選自 1、2、3、4 及 5；

q¹ 係選自 1、2、3、4 及 5；且

s¹ 係選自 1、2、3、4。

【0455】 實施例 94. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IB)化合物，其中 R^N 為 H。

【0456】 實施例 95. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-IB)化合物，其中 X^a 為 O。

【0457】 **實施例 96.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IB)化合物，其中 X^b 為 O。

【0458】 **實施例 97.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IB)化合物，其中 R^{10} 為 $-N(R)_2$ 。

【0459】 **實施例 98.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IB)化合物，其中 R^{10} 為 $-NHCH_3$ 。

【0460】 **實施例 99.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中 M_1 為 M' 。

【0461】 **實施例 100.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中 M 及 M' 獨立地為 $-C(O)O-$ 或 $-OC(O)-$ 。

【0462】 **實施例 101.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中 M 及 M' 各自為 $-C(O)O-$ 。

【0463】 **實施例 102.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中 R_2 及 R_3 均為 C_{1-14} 烷基。

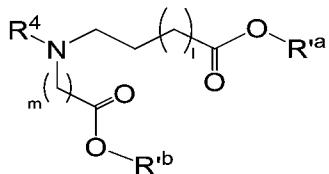
【0464】 **實施例 103.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中 R' 為 C_{1-18} 烷基。

【0465】 **實施例 104.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基及 H 組成之群。

【0466】 **實施例 105.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基及 H 組成之群。

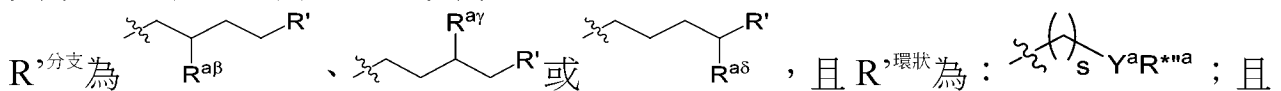
【0467】 **實施例 106.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IB)化合物，其中各 R 獨立地選自由 C₁₋₂ 烷基、C₂ 烯基及 H 組成之群。

【0468】 **實施例 107.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IC)化合物：



(IL-IC)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，

其中 R^{'a} 為 R^{'分支} 或 R^{'環狀}；其中

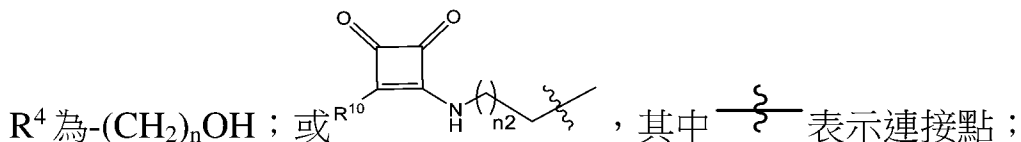


其中 表示連接點；

其中 R^{aγ}、R^{aγ} 及 R^{aγ} 各自為 C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基；

R^{bγ} 為 H、C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基；

R² 及 R³ 各自獨立地選自由 C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；



各 R' 獨立地為 C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基；

R¹⁰ 為 N(R)₂；各 R 獨立地選自由 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₃ 烯基及 H 組成之群；且 n 及 n₂ 各自選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群；

Y^a 為 C₃₋₆ 碳環；

R^{*a} 係選自由 C₁₋₁₅ 烷基及 C₂₋₁₅ 烯基組成之群；

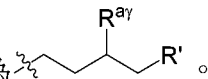
l 係選自 1、2、3、4 及 5；

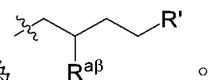
m 係選自 5、6、7、8 及 9；且

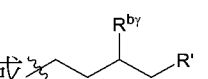
s 為 2 或 3。

【0469】 **實施例 108.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IC)化合物，其中 $R^{a\gamma}$ 、 $R^{a\gamma}$ 及 $R^{a\gamma}$ 各自為 C_{1-6} 烷基或 C_{2-6} 烯基。

【0470】 **實施例 109.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IC)化合物，其中 $R^{b\gamma}$ 為 C_{1-6} 烷基或 C_{2-6} 烯基。

【0471】 **實施例 110.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IC)化合物，其中 $R'^{\text{分支}}$ 為 。

【0472】 **實施例 111.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IC)化合物，其中 $R'^{\text{分支}}$ 為 。

【0473】 **實施例 112.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IC)化合物，其中 R^3 或 ，其中 $R^{b\gamma}$ 為 C_{1-6} 烷基。

【0474】 **實施例 113.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IB)或(IL-IC)化合物，其中 n2 係選自 2、3 及 4。

【0475】 **實施例 114.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IA)、(IL-IB)或(IL-IC)化合物，其中 1 係選自 3、4 及 5。

【0476】 **實施例 115.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)、(IL-IB)或(IL-IC)化合物，其中 m 係選自 6、7 及 8。

【0477】 **實施例 116.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IC)化合物，其中 n 係選自 2、3 及 4。

【0478】 **實施例 117.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IC)化合物，其中 R' 為 C_{1-18} 烷基。

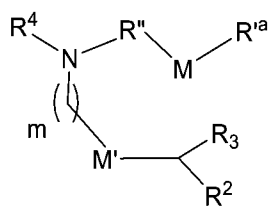
【0479】 **實施例 118.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IC)化合物，其中 R' 為直鏈 C₁₋₁₈ 烷基。

【0480】 **實施例 119.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-I)、(IL-IA)或(IL-IC)化合物，其中 R' 為分支 C₁₋₁₈ 烷基。

【0481】 **實施例 120.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為選自表 IL-1 或 IL-2 之化合物。

【0482】 **實施例 121.** 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIA)化合物：



m 係選自 5、6、7、8 及 9；

R² 及 R³ 各自獨立地選自由 H、C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；

R⁴ 係選自 -(CH₂)_nOH (其中 n 係選自 1、2、3、4 及 5) 及 (其中 n₂ 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10；且 R¹⁰ 為 -N(R)₂，其中各 R 獨立地選自由 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₃ 烯基及 H 組成之群)；

M 係選自 -OC(O)O-、-C(O)O-、-O-M''-O- 及 -N(R^M)C(O)-，其中 M'' 為 -(CH₂)_zC(O)-，其中 z 為 1、2、3 或 4；

M' 係選自 -OC(O)O-、-C(O)O-、-O-M''-O-、-N(R^M)C(O)O- 及 -O-N=C(R^M)-，其中：

M'' 為 -(CH₂)_zC(O)-、C₁₋₁₃ 烷基、-B(R^{**})- 或 -Si(R^{**})₂-；

z 為 1、2、3 或 4；

各 R^M 獨立地選自 H 及 C₁₋₆ 烷基；

各 R^{**} 獨立地選自 H 及 C₁₋₁₂ 烷基；

R^a 為 C₁₋₁₈ 烷基、C₂₋₁₈ 烯基或 -R*YR^{**}，其中：

各 R*'' 獨立地為 C₁₋₁₅ 烷基；

各 R* 獨立地為 C₁₋₁₂ 烷基；

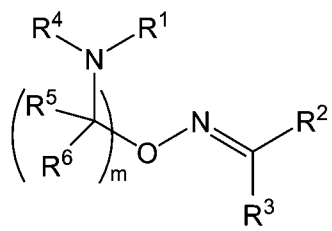
各 Y 獨立地為 C₃₋₆ 碳環；且

R'' 為 C₃-C₁₃ 烷基，視情況經 OH 取代。

【0483】 實施例 122. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIA)化合物，其中 M 為 -OC(O)O-。

【0484】 實施例 123. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIA)化合物，其中 M' 為 -OC(O)O-。

【0485】 實施例 124. 在一些實施例中，該可離子化脂質為式(IL-IIAX)化合物：



(IL-IIAX)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，其中：

R¹ 為 -R''M'R'，其中：

各 R' 獨立地為 C₁₋₁₈ 烷基；

M' 係選自 -C(O)O- 及 -O-N=C(R^M)-，其中各 R^M 獨立地選自 H 及 C₁₋₆ 烷基；

各 R'' 獨立地為 C₃₋₁₅ 烷基；

R² 及 R³ 各自獨立地選自由 H、C₁₋₁₄ 烷基及 C₂₋₁₄ 烯基組成之群；

R⁴ 係選自 -(CH₂)_nOH (其中 n 係選自 1、2、3、4 及 5) 及 (其中 n₂

係選自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10；且 R¹⁰ 為 -N(R)₂，其中各 R 獨立地選自由 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₃ 烯基及 H 組成之群)；

各 R⁵ 為 H；

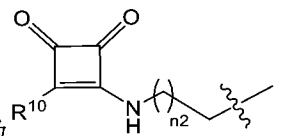
各 R⁶ 為 H；且

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13。

【0486】 **實施例 125.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIA)或(IL-IIAX)化合物，其中 R^4 為 $-(CH_2)_nOH$ 。

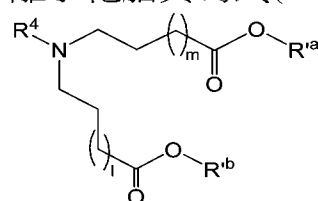
【0487】 **實施例 126.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIA)或(IL-IIAX)化合物，其中 R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群。

【0488】 **實施例 127.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

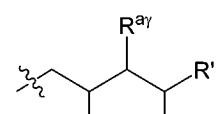
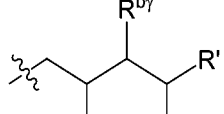
離子化脂質為式(IL-IIA)或(IL-IIAX)化合物，其中 R^4 為 。


【0489】 **實施例 128.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為選自表 IL-3 之化合物。

【0490】 **實施例 129.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物：



(IL-IIB)或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，

其中 R^{1a} 為： 且 R^{1b} 為： R^3 或 ；

其中  表示連接點；

$R^{a\beta}$ 、 $R^{a\gamma}$ 及 $R^{a\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{b\beta}$ 、 $R^{b\gamma}$ 及 $R^{b\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群，其中 $R^{b\beta}$ 、

$R^{b\gamma}$ 及 $R^{b\delta}$ 中的至少一者係選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群；

R^4 係選自 $-(CH_2)_nNRTQ$ 、 $-(CH_2)_nNRS(O)_2TQ$ 、 $-(CH_2)_nNRC(O)H$ 及 $-(CH_2)_nNRC(O)TQ$ ，其中 n 係選自 1、2、3、4 及 5；

T 為鍵或 C₁₋₃ 烷基連接體、C₂₋₃ 烯基連接體或 C₂₋₃ 炔基連接體；

Q 係選自含有 1-5 個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環、C₃₋₁₀ 碳環、C₁₋₆ 烷基及 C₂₋₆ 烯基，其中該烷基、該烯基、該雜環及該碳環各自視情況經一或多個 R^Q 取代；

各 R^Q 獨立地選自由側氧基、羥基、氰基、胺基、C₁₋₆ 烷基胺基、二-C₁₋₆ 烷基胺基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基、C₂₋₆ 烯基、C₁₋₆ 烷醯基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及 -NRC(O)C₁₋₆ 烷基組成之群；

各 R 獨立地選自 H、C₁₋₆ 烷基及 C₂₋₆ 烯基；

各 R' 獨立地選自 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基；

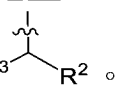
m 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；且

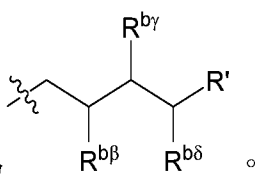
l 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9。

【0491】 實施例 130. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^{ab} 及 R^{ad} 各自為 H。

【0492】 實施例 131. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^{ay} 為 C₁₋₁₂ 烷基或 C₂₋₁₂ 烯基。

【0493】 實施例 132. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^{ay} 為 C₁₋₆ 烷基或 C₂₋₆ 烯基。

【0494】 實施例 133. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^b 為：。

【0495】 實施例 134. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^b 為：。

【0496】 實施例 135. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 $R^{b\beta}$ 及 $R^{b\delta}$ 各自為 H。

【0497】 **實施例 136.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 $R^{b\gamma}$ 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基。

【0498】 **實施例 137.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 $R^{b\gamma}$ 為 C_{1-6} 烷基或 C_{2-6} 烯基。

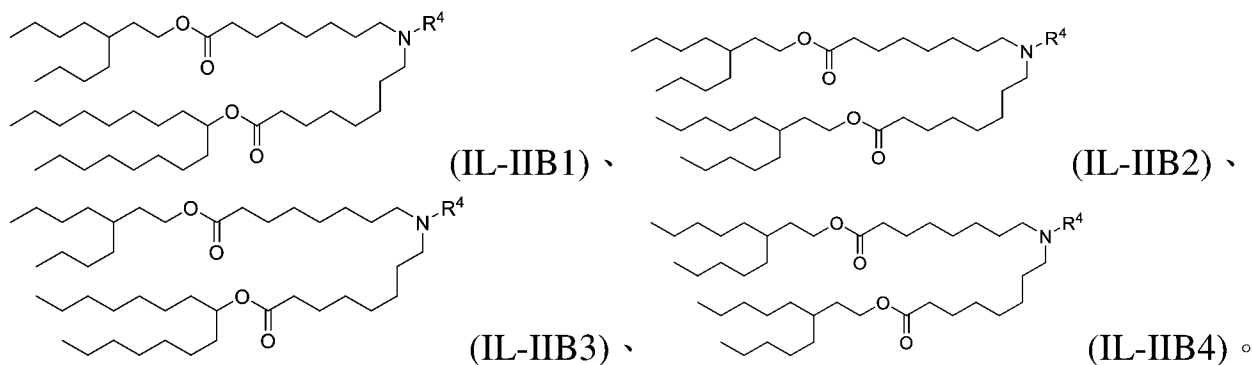
【0499】 **實施例 138.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^4 為 $-(CH_2)_nNRTQ$ 。

【0500】 **實施例 139.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^4 為 $-(CH_2)_nNRS(O)_2TQ$ 。

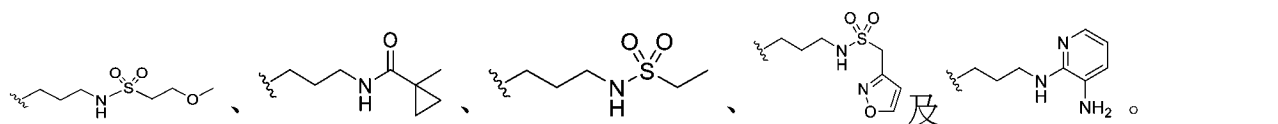
【0501】 **實施例 140.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^4 為 $-(CH_2)_nNRC(O)H$ 。

【0502】 **實施例 141.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^4 為 $-(CH_2)_nNRC(O)TQ$ 。

【0503】 **實施例 142.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB1)、(IL-IIB2)、(IL-IIB3)或(IL-IIB4)化合物：



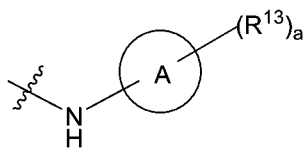

【0504】 **實施例 143.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIB)化合物，其中 R^4 係選自：



R' 係選自由 C_{1-18} 烷基及 C_{2-18} 烯基組成之群；

R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群；

R^4 為 $-(CH_2)_nQ$ ，其中 n 獨立地選自 1、2、3、4 及 5，其中 Q 係選自 $NRS(O)_2R^{SX}$

及 ，其中 A 係含有一或多個選自 N 、 O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環；且 a 為 1、2、3 或 4；其中  表示連接點；

R 係選自 H 及 C_{1-3} 烷基；

R^{SX} 係選自 C_{3-8} 碳環、含有一或多個選自 N 、 O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 $(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{p2}R^{SX1}$ 及 $(CH_2)_{p1}R^{SX1}$ ，其中該碳環及該雜環視情況經一或多個選自側氧基、 C_{1-6} 烷基及 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基之基團取代；

R^{SX1} 係選自 $C(O)NR^{14}R^{14'}$ 、 C_{3-8} 碳環及含有一或多個選自 N 、 O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環，其中該碳環及該雜環各自視情況經一或多個選自側氧基、鹵基、 C_{1-3} 烷基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基及 NH_2 之基團取代；

各 R^{13} 係選自由 OH 、側氧基、鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基、 NH_2 、 $C(O)NH_2$ 、 CN 及 NO_2 組成之群；

R^{14} 及 $R^{14'}$ 各自獨立地選自由 H 及 C_{1-6} 烷基組成之群；

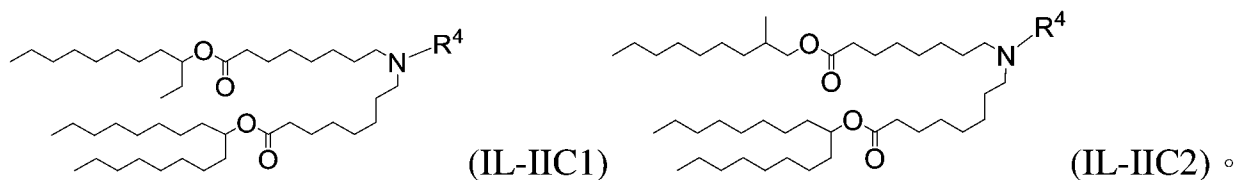
m 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

l 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

p_1 係選自 1、2、3、4 及 5；且

p_2 係選自 1、2、3、4。

【0508】 實施例 147. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物：



【0509】 **實施例 148.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)化合物，其中 n 為 3。

【0510】 **實施例 149.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 Q 為 $NRS(O)_2R^{SX}$ 。

【0511】 **實施例 150.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 R 為 H 。

【0512】 **實施例 151.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 R^{SX} 係選自 C_{3-6} 碳環及 C_{1-3} 烷基。

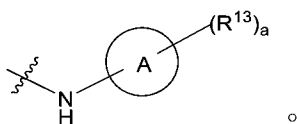
【0513】 **實施例 152.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 R^{SX} 為乙基或環丙基。

【0514】 **實施例 153.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 R^{SX} 為 $(CH_2)_{p_1}R^{SX1}$ 。

【0515】 **實施例 154.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 p_1 為 1 且 R^{SX1} 為 6 員雜環烷基、5 員雜芳基或苯基。

【0516】 **實施例 155.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 R^{SX1} 為噁唑或異噁唑。

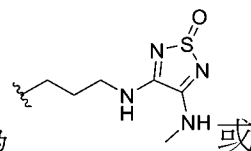
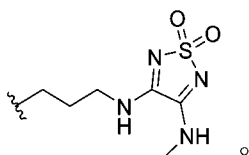
【0517】 **實施例 156.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 Q 為



【0518】 **實施例 157.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 A 為 5 員雜芳基。

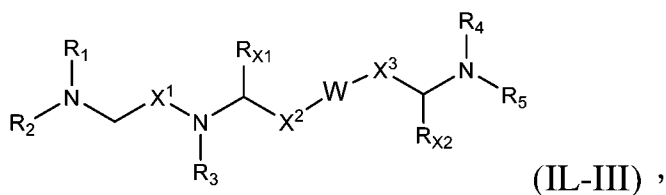
【0519】 **實施例 158.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中各 R¹³ 係選自由側氧基、C₁₋₆ 烷基胺基、二-(C₁₋₆ 烷基)胺基及 NH₂ 組成之群。

【0520】 **實施例 159.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-IIC)、(IL-IIC1)或(IL-IIC2)化合物，其中 R⁴ 為

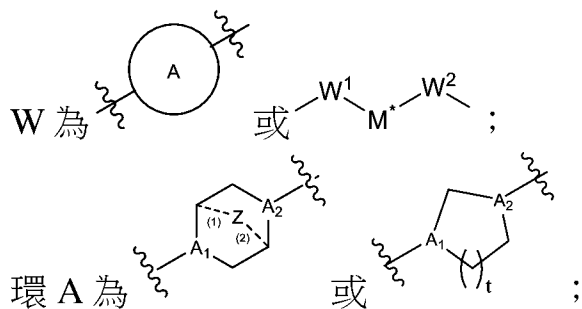


【0521】 **實施例 160.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為選自表 IL-6 之化合物。

【0522】 **實施例 161.**如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)化合物：



或其鹽或異構物，其中



t 為 1 或 2 ;

A_1 及 A_2 各自獨立地選自 CH 或 N；

Z 為 CH_2 或不存在，其中當 Z 為 CH_2 時，虛線(1)及(2)各自表示單鍵；且當 Z 不存在時，虛線(1)及(2)均不存在；

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 及 R_5 獨立地選自由 C_{5-20} 烷基、 C_{5-20} 烯基、 $-R''MR'$ 、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R^*OR''$ 組成之群；

R_{X1} 及 R_{X2} 各自獨立地為 H 或 C_{1-3} 烷基；

各 M 獨立地選自由 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-SC(O)-$ 、芳基及雜芳基組成之群；

M^* 為 C_1-C_6 烷基，

W^1 及 W^2 各自獨立地選自由 $-O-$ 及 $-N(R_6)-$ 組成之群；

各 R_6 獨立地選自由 H 及 C_{1-5} 烷基組成之群；

X^1 、 X^2 及 X^3 獨立地選自由鍵、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-CHR-$ 、 $-CHY-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-(CH_2)_n-C(O)-$ 、 $-C(O)-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2)_n-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-(CH_2)_n-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-C(S)-$ 及 $-CH(SH)-$ 組成之群；

各 Y 獨立地為 C_{3-6} 碳環；

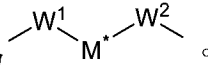
各 R^* 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C_{1-3} 烷基及 C_{3-6} 碳環組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基、 C_{2-12} 烯基及 H 組成之群；

各 R'' 獨立地選自由 C_{3-12} 烷基、 C_{3-12} 烯基及 $-R^*MR'$ 組成之群；且

n 為整數 1-6。

【0523】 實施例 162. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)化合物，其中 W 為 。

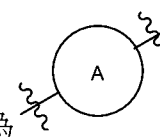
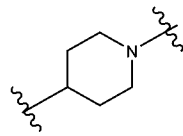
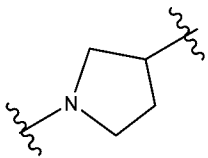
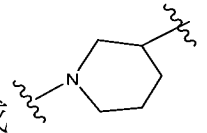
【0524】 實施例 163. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-III)化合物，其中 W 為 。

【0525】 實施例 164. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-III)化合物，其中 W 為  且環 A 為 。

【0526】 實施例 165. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

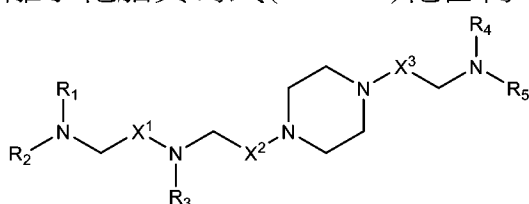
離子化脂質為式(IL-III)化合物，其中 W 為  且環 A 為 、
 或 ，其中 N 原子與 X² 連接。

【0527】 實施例 166. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-III)化合物，其中 W 為  且環 A 為 。

【0528】 實施例 167. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為式(IL-III A)化合物：



(IL-III A)，或其鹽或異構物，其中

R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 獨立地選自由 C₅₋₂₀ 烷基、C₅₋₂₀ 烯基、-R''MR'、-R*YR''、-YR'' 及 -R*OR'' 組成之群；

各 M 獨立地選自由 -C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR')O-、-S(O)₂-、芳基及雜芳基組成之群；

X¹、X² 及 X³ 獨立地選自由鍵、-CH₂-、-(CH₂)₂-、-CHR-、-CHY-、-C(O)-、-C(O)O-

-OC(O)-、-C(O)-CH₂-、-CH₂-C(O)-、-C(O)O-CH₂-、-OC(O)-CH₂-、-CH₂-C(O)O-、
-CH₂-OC(O)-、-CH(OH)-、-C(S)-及-CH(SH)-組成之群；

各 Y 獨立地為 C₃₋₆ 碳環；

各 R* 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C₁₋₃ 烷基及 C₃₋₆ 碳環組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基、C₂₋₁₂ 烯基及 H 組成之群；且

各 R'' 獨立地選自由 C₃₋₁₂ 烷基及 C₃₋₁₂ 烯基組成之群。

【0529】 實施例 168.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)或(IL-III A)化合物，其中 R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 各自獨立地選自 C₅₋₂₀ 烷基及 C₅₋₂₀ 烯基。

【0530】 實施例 169.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)或(IL-III A)化合物，其中 R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 各自獨立地為 C₆ 烷基、C₉ 烷基、C₁₂ 烷基或 C₁₄ 烷基。

【0531】 實施例 170.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)或(IL-III A)化合物，其中 X¹ 為-CH₂-。

【0532】 實施例 171.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)或(IL-III A)化合物，其中 X² 為-C(O)-。

【0533】 實施例 172.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)或(IL-III A)化合物，其中 X³ 為-C(O)-。

【0534】 實施例 173.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為選自表 IL-7 之化合物。

【0535】 實施例 174.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為選自化合物(I-18)、(I-25)、(I-301)、(II-6)及(VI-4)之化合物。

【0536】 實施例 175.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可

離子化脂質為選自表 IL-1 至 IL-7 之化合物的化合物。

【0537】 實施例 176.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該磷脂係選自由以下組成之群：

1,2-二亞油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DLPC)、1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-磷酸膽鹼(DMPC)、1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DOPC)、1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DPPC)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DSPC)、1,2-二(十一烷醯基)-sn-甘油-磷酸膽鹼(DUPC)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(POPC)、1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(18:0 Diether PC)、1-油醯基-2-膽固醇基半琥珀醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(OChemsPC)、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(C16 Lyso PC)、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼、1,2-二(二十二碳六烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸膽鹼、1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二植烷醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞油醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亞麻醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯醯基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二(二十二碳六烯醯基)-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸-外消旋-(1-甘油)鈉鹽(DOPG)、二棕櫚醯基磷脂醯甘油(DPPG)、棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺(POPE)、二硬脂醯基-磷脂醯-乙醇胺(DSPE)、二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻醯基磷酸乙醇胺(DMPE)、1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺(SOPE)、1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯膽鹼(SOPC)、鞘磷脂、磷脂醯膽鹼、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯肌醇、磷脂酸、棕櫚醯基油醯基磷脂醯膽鹼、溶血磷脂醯膽鹼、溶血磷脂醯乙醇胺(LPE)、鞘磷脂及其混合物。

【0538】 實施例 177.如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該磷脂為 DSPC。

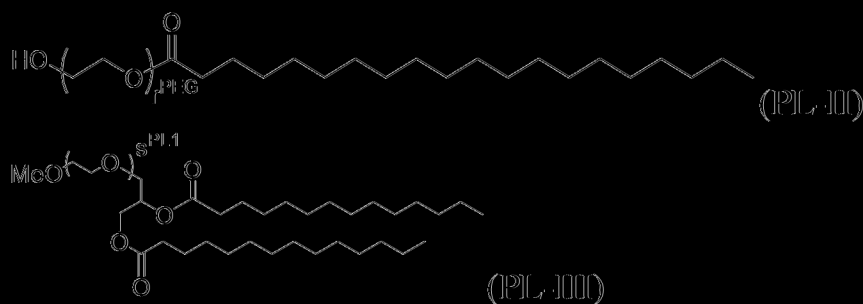
(0539) 實施例 178. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP, 其中該結構脂質係選自由膽固醇、甾固醇、植固醇、麥角固醇、菜油固醇、豆固醇、菜子固醇、番茄鹼、熊果酸、 α -生育酚及其混合物組成之群。

(0540) 實施例 179. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP, 其中該結構脂質為



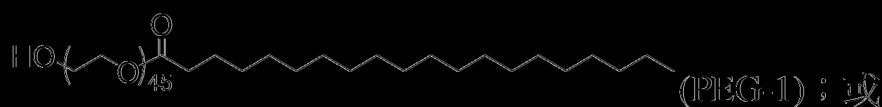
(0541) 實施例 180. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP, 其中該 PEG 脂質係選自由經 PEG 修飾之磷脂醯乙醇胺、經 PEG 修飾之磷脂酸、經 PEG 修飾之神經醯胺、經 PEG 修飾之二烷基胺、經 PEG 修飾之二醯基甘油、經 PEG 修飾之二烷基甘油及其混合物組成之群。

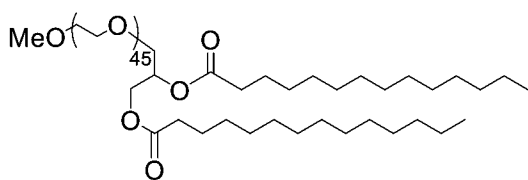
(0542) 實施例 181. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP, 其中該 PEG 脂質為以下結構之一之化合物：



或其鹽, 其中 τ 為整數 1 至 100; 且 s 為整數 1 至 100。

(0543) 實施例 182. 如前述實施例中任一項之空 LNP 或負載 LNP, 其中該 PEG 脂質為以下化合物之一：



(PEG_{2k}-DMG)或其鹽。

【0544】 **實施例 183.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該治療劑及/或預防劑為核酸。

【0545】 **實施例 184.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該治療劑及/或預防劑為核糖核酸(RNA)。

【0546】 **實施例 185.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該 RNA 係選自由短干擾 RNA (siRNA)、不對稱干擾 RNA (aiRNA)、RNA 干擾(RNAi)分子、微小 RNA (miRNA)、安塔狗妙、反義 RNA、核糖核酸酵素、Dicer 受質 RNA (dsRNA)、小髮夾 RNA (shRNA)、信使 RNA (mRNA)及其混合物組成之群。

【0547】 **實施例 186.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該 RNA 為 mRNA。

【0548】 **實施例 187.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該 mRNA 為經修飾 mRNA (mmRNA)。

【0549】 **實施例 188.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該 mRNA 併入微小 RNA 結合位點(miR 結合位點)。

【0550】 **實施例 189.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其中該 mRNA 包括莖環、鏈終止核苷、polyA 序列、聚腺苷酸化信號及/或 5'帽結構中之一或多者。

【0551】 **實施例 190.**一種醫藥組合物，其包含如前述實施例中任一項之負載 LNP 及醫藥學上可接受之載劑。

【0552】 **實施例 191.**一種向個體內之細胞遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與如前述實施例中任一項之負載 LNP。

【0553】 **實施例 192.**一種在個體內之細胞中產生所關注之多肽的方法，該方

法包括向該個體投與如前述實施例中任一項之負載 LNP。

【0554】 **實施例 193.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其用於向個體內之細胞遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與該負載 LNP。

【0555】 **實施例 194.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其用於在個體內之細胞中產生所關注之多肽的方法，該方法包括向該個體投與該負載 LNP。

【0556】 **實施例 195.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該細胞為內皮細胞。

【0557】 **實施例 196.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該內皮細胞為肺內皮細胞。

【0558】 **實施例 197.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該內皮細胞為呼吸道內皮細胞。

【0559】 **實施例 198.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該內皮細胞為支氣管內皮細胞。

【0560】 **實施例 199.**一種向個體之器官特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與如前述實施例中任一項之負載 LNP。

【0561】 **實施例 200.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其用於向個體內之器官特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與該負載 LNP。

【0562】 **實施例 201.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該器官係選自由肝、腎、肺及脾組成之群。

【0563】 **實施例 202.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該器官為肺。

【0564】 **實施例 203.**一種向個體之組織特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與如前述實施例中任一項之負載 LNP。

【0565】 **實施例 204.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其用於向個體之組織特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與該負載 LNP。

【0566】 **實施例 205.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該組織為內皮。

【0567】 **實施例 206.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該組織為肺內皮。

【0568】 **實施例 207.**一種治療有需要之個體的疾病或病症之方法，該方法包括向該個體投與如前述實施例中任一項之負載 LNP。

【0569】 **實施例 208.**如前述實施例中任一項之負載 LNP，其用於治療有需要之個體的疾病或病症之方法，該方法包括向該個體投與該負載 LNP。

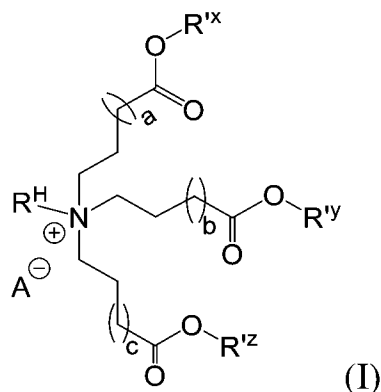
【0570】 **實施例 209.**如前述實施例中任一項之方法或供使用之負載 LNP，其中該投與係非經腸、肌內、皮內、皮下及/或靜脈內執行。

等效方案

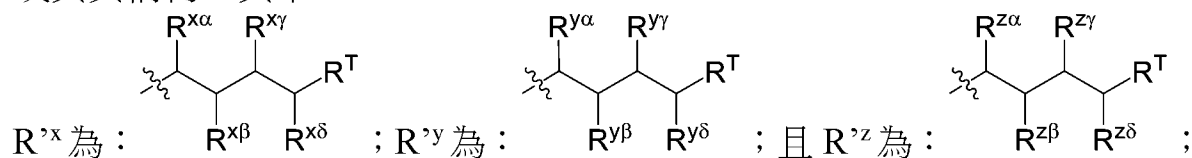
【0571】 應理解，雖然本揭示案已結合其詳細描述加以描述，但前述描述意欲說明而非限制本揭示案之範圍，該範圍由隨附申請專利範圍之範圍限定。其他態樣、優勢及改變係在以下申請專利範圍之範圍內。

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種式(I)之陽離子脂質，



或其異構物，其中：



其中 ξ 表示連接點；

$R^{x\alpha}$ 、 $R^{x\beta}$ 、 $R^{x\gamma}$ 及 $R^{x\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{y\alpha}$ 、 $R^{y\beta}$ 、 $R^{y\gamma}$ 及 $R^{y\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

$R^{z\alpha}$ 、 $R^{z\beta}$ 、 $R^{z\gamma}$ 及 $R^{z\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^H 為 $-(CH_2)_qOH$ ，其中 q 係選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^T 獨立地選自 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基；

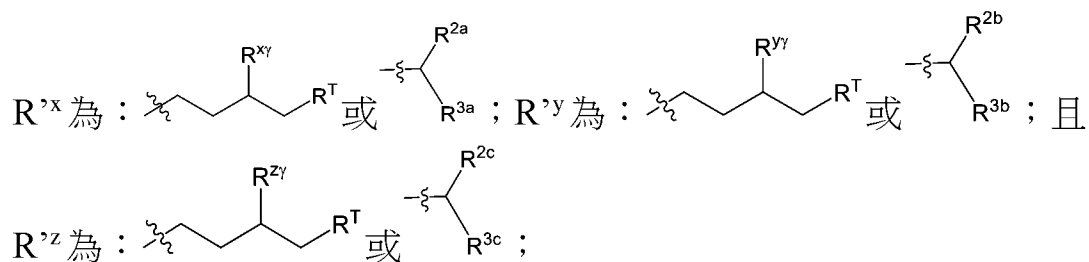
a 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

b 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

c 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；且

A 為任何醫藥學上可接受之陰離子。

【請求項 2】 如請求項 1 之陽離子脂質，其中



其中 $\text{---}\xi\text{---}$ 表示連接點；

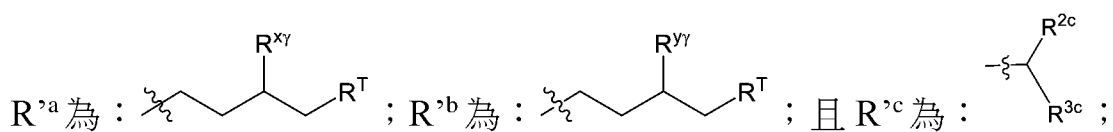
R^{xy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{yy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{zy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；且

R^{2a} 、 R^{2b} 、 R^{2c} 、 R^{3a} 、 R^{3b} 及 R^{3c} 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群。

【請求項 3】 如請求項 1 之陽離子脂質，其中



其中 $\text{---}\xi\text{---}$ 表示連接點；

R^{xy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^{yy} 係選自由 H、 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；且

R^{2c} 及 R^{3c} 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群。

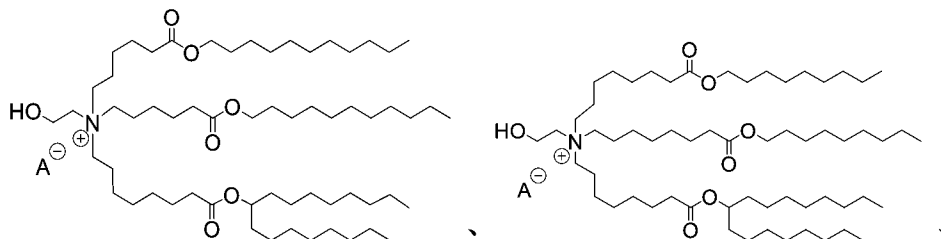
【請求項 4】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物，其中 R^{xy} 及 R^{yy} 各自為 H。

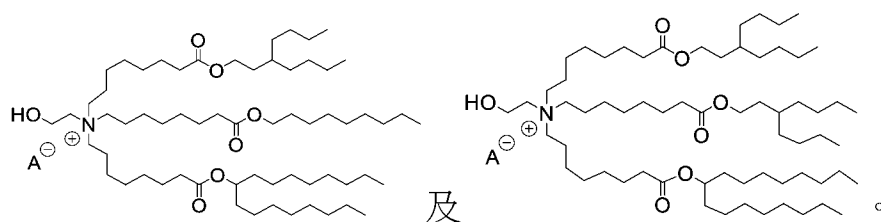
【請求項 5】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物，其中 R^{xy} 及 R^{yy} 各自為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基。

【請求項 6】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物，其中 R^{xy} 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基且 R^{yy} 為 H。

【請求項 7】 如前述請求項中任一項之化合物，其中 q 為 2。

【請求項 8】 如請求項 1 至 3 中任一項之化合物，其中該化合物係選自：





【請求項 9】 如前述請求項中任一項之化合物，其中 A⁻係選自氯離子、溴離子、碘離子、氫氧根、硫酸根、硫酸氫根、胺基磺酸根、硝酸根、磷酸根、檸檬酸根、甲磺酸根、三氟乙酸根、麩胺酸根、葡萄糖醛酸根、戊二酸根、蘋果酸根、順丁烯二酸根、琥珀酸根、反丁烯二酸根、酒石酸根、甲苯磺酸根、水楊酸根、乳酸根、萘磺酸根及乙酸根。

【請求項 10】 如前述請求項中任一項之化合物，其中 A⁻係選自溴離子、氯離子及氫氧根。

【請求項 11】 一種空脂質奈米粒子(空 LNP)，其包含如前述請求項中任一項之陽離子脂質。

【請求項 12】 如請求項 11 之空 LNP，其中該空 LNP 進一步包含可離子化脂質。

【請求項 13】 如請求項 11 或 12 之空 LNP，其中該空 LNP 進一步包含磷脂。

【請求項 14】 如請求項 11 至 13 中任一項之空 LNP，其中該空 LNP 進一步包含結構脂質。

【請求項 15】 如請求項 11 至 14 中任一項之空 LNP，其中該空 LNP 進一步包含 PEG 脂質。

【請求項 16】 一種包含脂質組分之空 LNP，該脂質組分包含約 20 mol%至約 40 mol%如請求項 1 至 10 中任一項之化合物；約 15 mol%至約 40 mol%可離子化脂質、約 0 mol%至約 30 mol%磷脂、約 15 mol%至約 50 mol%結構脂質及約 0 mol%至約 1 mol% PEG 脂質。

【請求項 17】 一種負載脂質奈米粒子(負載 LNP)，其包含如請求項 11 至 16 中

任一項之空 LNP 及治療劑及/或預防劑。

【請求項 18】 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 負載 LNP 核心，其包含：
 - (i) 可離子化脂質，
 - (ii) 磷脂，
 - (iii) 結構脂質，及
 - (iv) PEG-脂質，及
- (b) 囊封於該核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑，其中該陽離子劑為如請求項 1 至 10 中任一項之陽離子脂質。

【請求項 19】 一種負載 LNP，其包含：

- (a) 負載 LNP 核心，其包含：
 - (i) 可離子化脂質，
 - (ii) 磷脂，
 - (iii) 結構脂質，及
 - (iv) PEG-脂質，及
- (b) 囊封於該核心內以遞送至細胞中的治療劑及/或預防劑，及
- (c) 陽離子劑。

【請求項 20】 如請求項 19 之負載 LNP，其中該陽離子劑為陽離子脂質。

【請求項 21】 如請求項 17 至 20 中任一項之負載 LNP，其中該治療劑及/或預防劑為核酸。

【請求項 22】 如請求項 21 之負載 LNP，其中該治療劑及/或預防劑為核糖核酸 (RNA)。

【請求項 23】 如請求項 22 之負載 LNP，其中該 RNA 係選自由短干擾 RNA

(siRNA)、不對稱干擾 RNA (aiRNA)、RNA 干擾(RNAi)分子、微小 RNA (miRNA)、安塔夠妙(antagomir)、反義 RNA、核糖核酸酵素、Dicer 受質 RNA (dsRNA)、小髮夾 RNA (shRNA)、信使 RNA (mRNA)及其混合物組成之群。

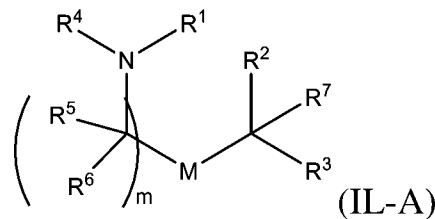
【請求項 24】 如請求項 23 之負載 LNP，其中該 RNA 為 mRNA。

【請求項 25】 如請求項 24 之負載 LNP，其中該 mRNA 為經修飾 mRNA (mmRNA)。

【請求項 26】 如請求項 24 或 25 之負載 LNP，其中該 mRNA 併入微小 RNA 結合位點(miR 結合位點)。

【請求項 27】 如請求項 24 至 26 中任一項之負載 LNP，其中該 mRNA 包括莖環、鏈終止核苷、polyA 序列、聚腺苷酸化信號及/或 5'帽結構中之一或多者。

【請求項 28】 如請求項 12 至 27 中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-A)化合物：



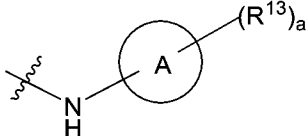

或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，其中：

R^1 係選自由 C_{5-30} 烷基、 C_{5-20} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R''M'R'$ 組成之群；

R^2 及 R^3 獨立地選自由 H、 C_{1-14} 烷基、 C_{2-14} 烯基、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 及 $-R^*OR''$ 組成之群，或 R^2 及 R^3 連同其所連接之原子形成雜環或碳環；

R^4 係選自由氫、 C_{3-6} 碳環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-(CH_2)_oC(R^{12})_2(CH_2)_{n-o}Q$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、 $-C(O)NQR$ 及未經取代 C_{1-6} 烷基組成之群，其中 Q 係選自碳環、雜環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R^8$ 、 $-N(R)S(O)_2R^8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-$

$N(R)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR^9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、 $-(CH_2)_nN(R)_2$ 及

$C(R)N(R)_2C(O)OR$ 、 $NR^A S(O)_2R^{SX}$ 及 ，其中 A 係含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環；且 a 為 1、2、3 或 4；其中  表示連接點；

各 o 獨立地選自 1、2、3 及 4；且各 n 獨立地選自 1、2、3、4 及 5；

R^8 係選自由 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^9 係選自由 H、CN、 NO_2 、 C_{1-6} 烷基、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} 烯基、 C_{3-6} 碳環及雜環組成之群；

R^{12} 係選自由 H、OH、 C_{1-3} 烷基及 C_{2-3} 烯基組成之群；

各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{1-3} 烷基-芳基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^A 係選自 H 及 C_{1-3} 烷基；

R^{SX} 係選自 C_{3-8} 碳環、含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 $(CH_2)_{p1}O(CH_2)_{p2}R^{SX1}$ 及 $(CH_2)_{p1}R^{SX1}$ ，其中該碳環及該雜環視情況經一或多個選自側氧基、 C_{1-6} 烷基及 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基之基團取代；

R^{SX1} 係選自 $C(O)NR^{14}R^{14'}$ 、 C_{3-8} 碳環及含有一或多個選自 N、O 及 S 之雜原子的 3-14 員雜環，其中該碳環及該雜環各自視情況經一或多個選自側氧基、鹵基、 C_{1-3} 烷基、 $(C_{1-3}$ 烷氧基) C_{1-3} 烷基、 C_{1-6} 烷基胺基、二- $(C_{1-6}$ 烷基)胺基及 NH_2 之基團取代；

各 R^{13} 係選自由 OH、側氧基、鹵基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{1-}

C_6 烷基胺基、二-(C_{1-6} 烷基)胺基、 NH_2 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 CN 及 NO_2 組成之群；

R^{14} 及 $\text{R}^{14'}$ 各自獨立地選自由 H 及 C_{1-6} 烷基組成之群；

p_1 係選自 1、2、3、4 及 5；

p_2 係選自 1、2、3、4 及 5；

各 R^5 獨立地選自由 OH 、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

各 R^6 獨立地選自由 OH 、 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

R^7 係選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

M 及 M' 獨立地選自 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-\text{M}''-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{M}})-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{M}})\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{S})-$ 、 $-\text{C}(\text{S})\text{S}-$ 、 $-\text{SC}(\text{S})-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})-$ 、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{\text{M}})\text{O}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}-\text{S}-$ 、芳基及雜芳基，其中 M'' 為鍵、 C_{1-13} 烷基或 C_{2-13} 烯基；

各 R^{M} 獨立地選自由 H 、 C_{1-6} 烷基及 C_{2-6} 烯基組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C_{1-18} 烷基、 C_{2-18} 烯基、 $-\text{R}^*\text{YR}''$ 、 $-\text{YR}''$ 、 $(\text{CH}_2)_q\cdot\text{OR}^*$ 及 H 組成之群，

且各 q' 獨立地選自 1、2 及 3；

各 R'' 獨立地選自由 C_{3-15} 烷基及 C_{3-15} 烯基組成之群；

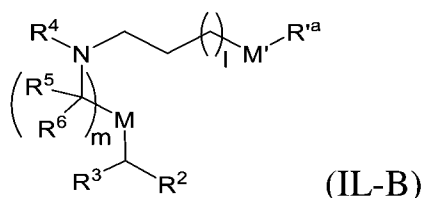
各 R^* 獨立地選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

各 Y 獨立地為 C_{3-6} 碳環；

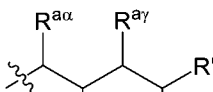
各 X 獨立地選自由 F 、 Cl 、 Br 及 I 組成之群；且

m 係選自 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13。

【請求項 29】 如請求項 28 之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式 (IL-B) 化合物：



或其 N-氧化物，或其鹽或異構物，其中：

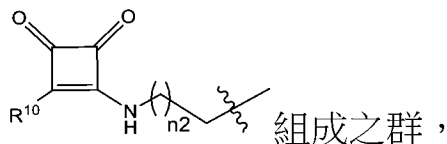


$R^{a\alpha}$ 為 R^{γ} 分支；其中 R^{γ} 分支為： $R^{a\beta}$ $R^{a\delta}$ ；其中 \sim 表示連接點；

其中 $R^{a\alpha}$ 、 $R^{a\beta}$ 、 $R^{a\gamma}$ 及 $R^{a\delta}$ 各自獨立地選自由 H、 C_{2-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群；

R^4 係選自由 $-(CH_2)_nOH$ (其中 n 係選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群) 及



其中 \sim 表示連接點；其中

R^{10} 為 $N(R)_2$ ；各 R 獨立地選自由 C_{1-6} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；且 n_2 係選自由 1、2、3、4、5、6、7、8、9 及 10 組成之群；

各 R^5 獨立地選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

各 R^6 獨立地選自由 C_{1-3} 烷基、 C_{2-3} 烯基及 H 組成之群；

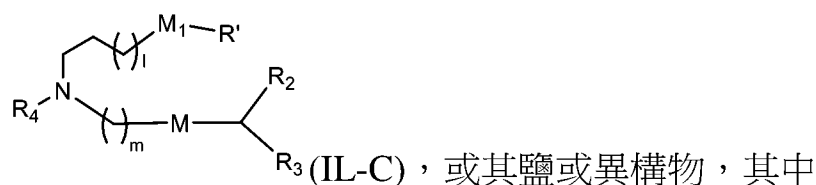
M 及 M' 各自獨立地選自由 $-C(O)O-$ 及 $-OC(O)-$ 組成之群；

R' 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基；

1 係選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群；且

m 係選自由 5、6、7、8、9、10、11、12 及 13 組成之群。

【請求項 30】 如請求項 28 之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式 (IL-C) 化合物：



l 係選自 1、2、3、4 及 5；

M_1 為 M' ；

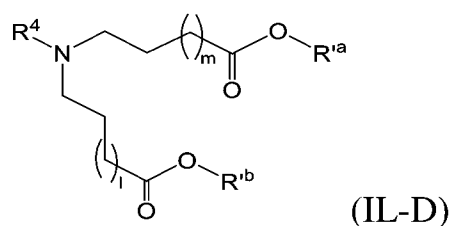
R_4 為 $-(CH_2)_nQ$, 其中 Q 為 OH, 且 n 係選自 1、2、3、4 或 5；

M 及 M' 獨立地選自 $-C(O)O-$ 及 $-OC(O)-$ ；

R_2 及 R_3 均為 C_{1-14} 烷基或 C_{2-14} 烯基；且

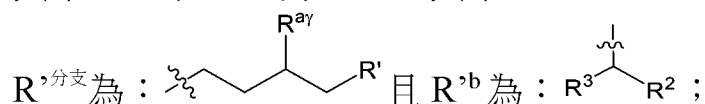
R' 為 C_1-C_{12} 直鏈烷基。

【請求項 31】 如請求項 28 之空 LNP 或負載 LNP, 其中該可離子化脂質為式 (IL-D) 化合物：



或其 N-氧化物, 或其鹽或異構物,

其中 R'^a 為 $R'^{\text{分支}}$ 或 $R'^{\text{環狀}}$ ；其中



其中 表示連接點；

其中 R^{ay} 係選自由 C_{1-12} 烷基及 C_{2-12} 烯基組成之群；

R^2 及 R^3 各自獨立地選自由 C_{1-14} 烷基及 C_{2-14} 烯基組成之群；

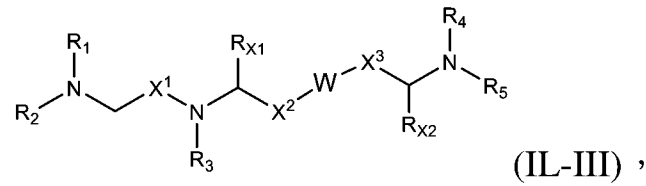
R^4 為 $-(CH_2)_nOH$, 其中 n 係選自由 1、2、3、4 及 5 組成之群；

R' 為 C_{1-12} 烷基或 C_{2-12} 烯基；

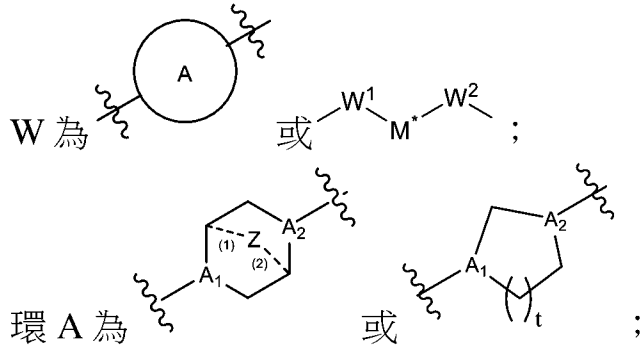
m 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9；

l 係選自 1、2、3、4、5、6、7、8 及 9。

【請求項 32】 如請求項 12 至 27 中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式(IL-III)化合物：



或其鹽或異構物，其中



t 為 1 或 2；

A₁ 及 A₂ 各自獨立地選自 CH 或 N；

Z 為 CH₂ 或不存在，其中當 Z 為 CH₂ 時，虛線(1)及(2)各自表示單鍵；且當 Z 不存在時，虛線(1)及(2)均不存在；

R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 獨立地選自由 C₅₋₂₀ 烷基、C₅₋₂₀ 烯基、-R''MR'、-R*YR''、-YR'' 及 -R*OR'' 組成之群；

R_{X1} 及 R_{X2} 各自獨立地為 H 或 C₁₋₃ 烷基；

各 M 獨立地選自由 -C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR')O-、-S(O)₂-、-C(O)S-、-SC(O)-、芳基及雜芳基組成之群；

M* 為 C₁-C₆ 烷基，

W¹ 及 W² 各自獨立地選自由 -O- 及 -N(R₆)- 組成之群；

各 R₆ 獨立地選自由 H 及 C₁₋₅ 烷基組成之群；

X¹、X² 及 X³ 獨立地選自由鍵、-CH₂-、-(CH₂)₂-、-CHR-、-CHY-、-C(O)-、

-C(O)O-、-OC(O)-、-(CH₂)_n-C(O)-、-C(O)-(CH₂)_n-、-(CH₂)_n-C(O)O-、-OC(O)-(CH₂)_n-、-(CH₂)_n-OC(O)-、-C(O)O-(CH₂)_n-、-CH(OH)-、-C(S)-及-CH(SH)-組成之群；

各 Y 獨立地為 C₃₋₆ 碳環；

各 R* 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

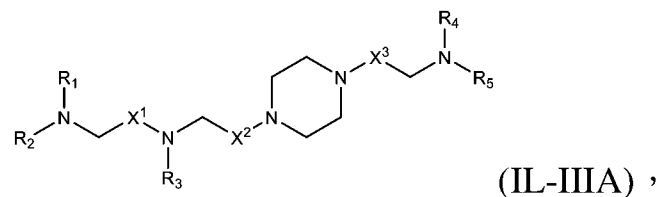
各 R 獨立地選自由 C₁₋₃ 烷基及 C₃₋₆ 碳環組成之群；

各 R' 獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基、C₂₋₁₂ 烯基及 H 組成之群；

各 R'' 獨立地選自由 C₃₋₁₂ 烷基、C₃₋₁₂ 烯基及 -R*MR' 組成之群；且

n 為整數 1-6。

【請求項 33】 如請求項 32 之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為式 (IL-III A) 化合物：



或其鹽或異構物，其中

R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 獨立地選自由 C₅₋₂₀ 烷基、C₅₋₂₀ 烯基、-R''MR'、-R*YR''、-YR'' 及 -R*OR'' 組成之群；

各 M 獨立地選自由 -C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)O-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR')O-、-S(O)₂-、芳基及雜芳基組成之群；

X¹、X² 及 X³ 獨立地選自由鍵、-CH₂-、-(CH₂)₂-、-CHR-、-CHY-、-C(O)-、-C(O)O-、-OC(O)-、-C(O)-CH₂-、-CH₂-C(O)-、-C(O)O-CH₂-、-OC(O)-CH₂-、-CH₂-C(O)O-、-CH₂-OC(O)-、-CH(OH)-、-C(S)-及-CH(SH)-組成之群；

各 Y 獨立地為 C₃₋₆ 碳環；

各 R*獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基及 C₂₋₁₂ 烯基組成之群；

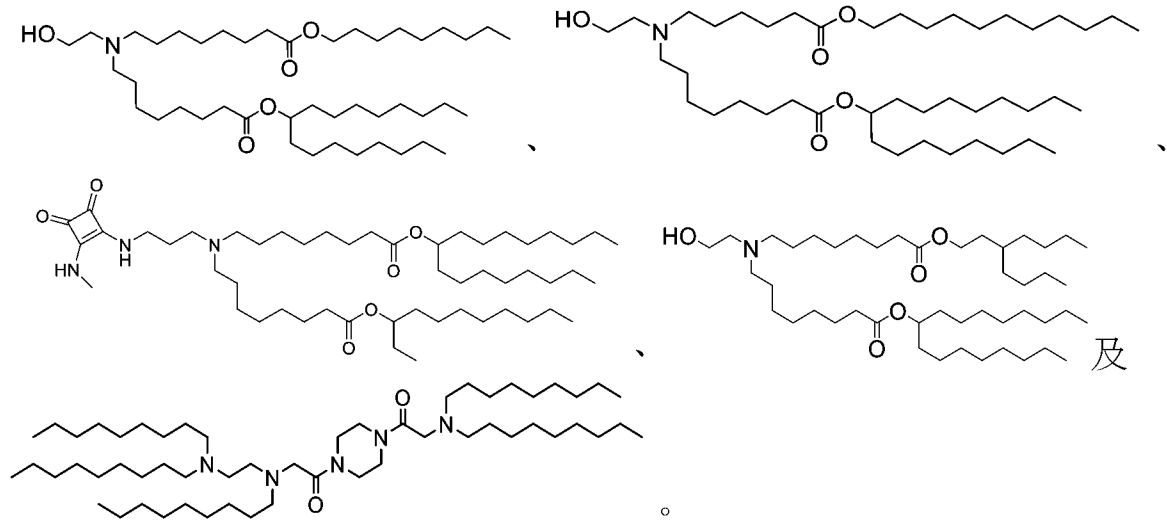
各 R 獨立地選自由 C₁₋₃ 烷基及 C₃₋₆ 碳環組成之群；

各 R'獨立地選自由 C₁₋₁₂ 烷基、C₂₋₁₂ 烯基及 H 組成之群；且

各 R''獨立地選自由 C₃₋₁₂ 烷基及 C₃₋₁₂ 烯基組成之群。

【請求項 34】 如請求項 32 或 33 之空 LNP 或負載 LNP，其中 R₁、R₂、R₃、R₄ 及 R₅ 各自為 C₅₋₂₀ 烷基；X¹ 為 -CH₂-；且 X² 及 X³ 各自為 -C(O)-。

【請求項 35】 如請求項 12 至 27 中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為選自以下之化合物：



【請求項 36】 如請求項 12 至 27 中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該可離子化脂質為選自表 IL-1 至 IL-7 之化合物的化合物。

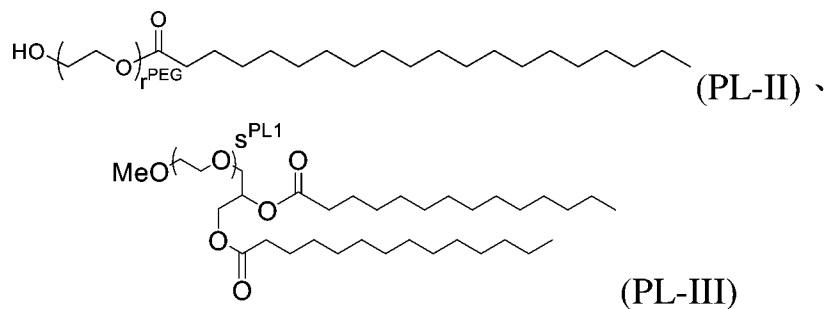
【請求項 37】 如請求項 13 至 36 中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該磷脂係選自由以下組成之群：

1,2-二亞油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DLPC)、1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油-磷酸膽鹼(DMPC)、1,2-二油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DOPC)、1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DPPC)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(DSPC)、1,2-二(十一烷醯基)-sn-甘油-磷酸膽鹼(DUPC)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(POPC)、1,2-二-O-十八烯基-sn-甘油-3-磷酸膽鹼(18:0 Diether

或其鹽。

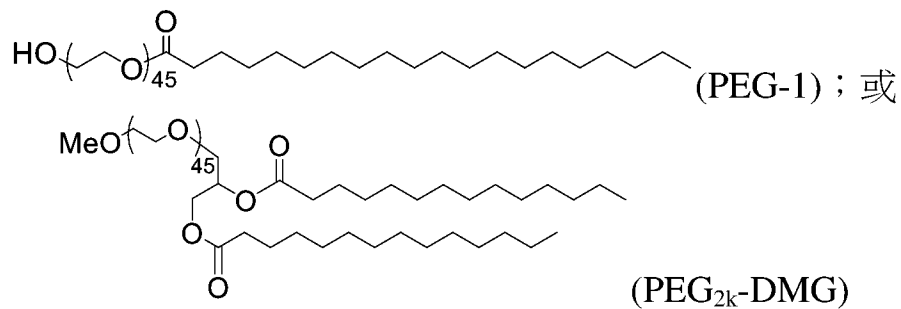
【請求項 41】 如請求項 15 至 40 中任一項之空 LNP 或負載 LNP，其中該 PEG 脂質係選自由經 PEG 修飾之磷脂醯乙醇胺、經 PEG 修飾之磷脂酸、經 PEG 修飾之神經醯胺、經 PEG 修飾之二烷基胺、經 PEG 修飾之二醯基甘油、經 PEG 修飾之二烷基甘油及其混合物組成之群。

【請求項 42】 如請求項 41 之空 LNP 或負載 LNP，其中該 PEG 脂質為以下結構之一的化合物：



或其鹽，其中 r 為整數 1 至 100；且 s 為整數 1 至 100。

【請求項 43】 如請求項 42 之空 LNP 或負載 LNP，其中該 PEG 脂質為以下化合物之一：



或其鹽。

【請求項 44】 一種醫藥組合物，其包含如請求項 17 至 43 中任一項之負載 LNP 及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項 45】 一種向個體內之細胞遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與如請求項 17 至 43 中任一項之負載 LNP 或如請求項 44 之醫藥組合物。

- 【請求項 46】 一種在個體內之細胞中產生所關注之多肽的方法，該方法包括向該個體投與如請求項 17 至 43 中任一項之負載 LNP 或如請求項 44 之醫藥組合物。
- 【請求項 47】 如請求項 45 或 46 之方法，其中該細胞為內皮細胞。
- 【請求項 48】 如請求項 47 之方法，其中該內皮細胞為肺內皮細胞、呼吸道內皮細胞或支氣管內皮細胞。
- 【請求項 49】 一種向個體之器官特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與如請求項 17 至 43 中任一項之負載 LNP 或如請求項 44 之醫藥組合物。
- 【請求項 50】 如請求項 49 之方法，其中該器官為肺。
- 【請求項 51】 一種向個體之組織特異性地遞送治療劑及/或預防劑的方法，該方法包括向該個體投與如請求項 17 至 43 中任一項之負載 LNP 或如請求項 44 之醫藥組合物。
- 【請求項 52】 如請求項 51 之方法，其中該組織為內皮。
- 【請求項 53】 如請求項 51 之方法，其中該組織為肺內皮。
- 【請求項 54】 一種治療有需要之個體的疾病或病症之方法，該方法包括向該個體投與治療有效量的如請求項 17 至 43 中任一項之負載 LNP 或如請求項 44 之醫藥組合物。
- 【請求項 55】 如請求項 45 至 54 中任一項之方法，其中該投與係非經腸、肌內、皮內、皮下及/或靜脈內執行。