

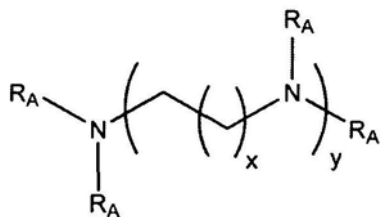


(45)授權公告日 2019. 07. 16

权利要求书3页 说明书118页 附图17页

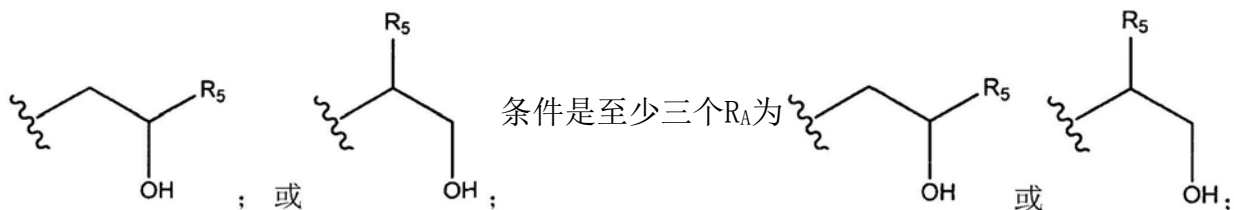
NCCCN + R1C1OC1  $\xrightarrow{90\text{ }^{\circ}\text{C}}$  R1C(OH)C(R1)NCCCN(R1)C(OH)C(R1)N 或 R1C(OH)C(R1)NCCCN(R1)C(OH)C(R1)N

1. 一种下式化合物或其医药学上可接受的盐，



其中：

$R_A$ 在每次出现时独立地为氢；未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基；

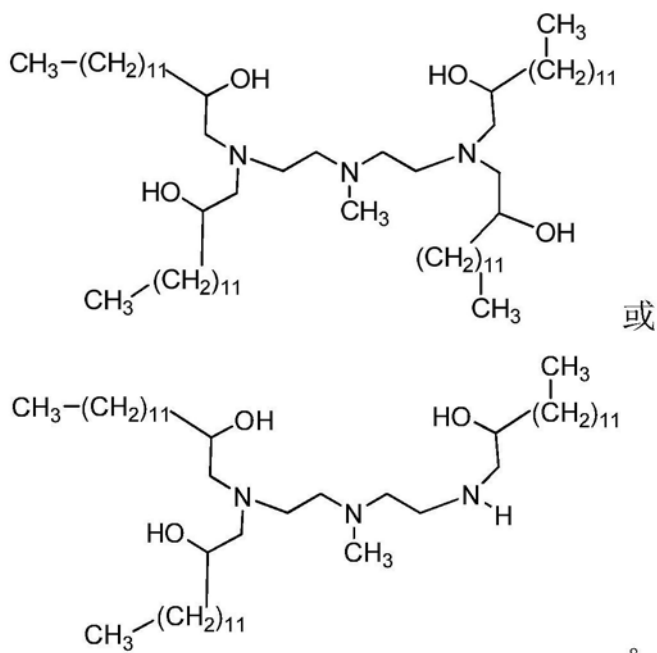


$R_5$ 在每次出现时独立地为未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{8-16}$ 脂肪族基；

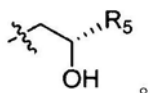
$x$ 在每次出现时为1；且

$y$ 为2、3、4、5、6、7、8、9或10。

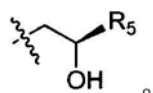
2. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐，其中所述化合物为下式化合物：



3. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐，其中各 为

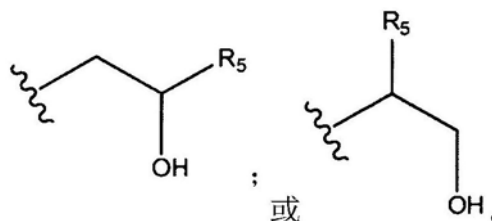


4. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐，其中各 为



5. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中R<sub>A</sub>在每次出现时独立地

为氢;未经取代、非环状、分支或未分支C<sub>1-6</sub>脂肪族基;

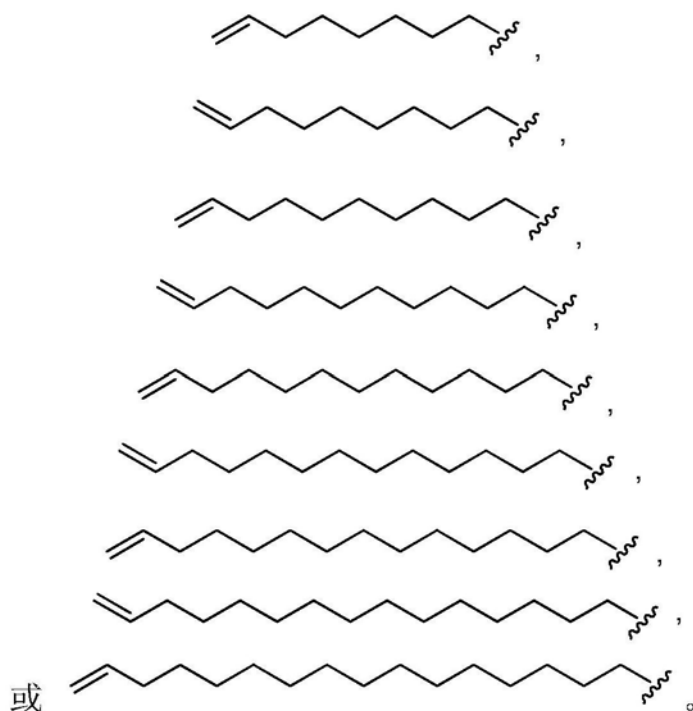


6. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中R<sub>5</sub>在每次出现时独立地为未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>8-16</sub>烷基。

7. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中R<sub>5</sub>在每次出现时独立地为未经取代、非环状、未分支C<sub>8-16</sub>烷基。

8. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中R<sub>5</sub>在每次出现时独立地为未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>8-16</sub>烯基。

9. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中R<sub>5</sub>在每次出现时独立地具有下式:



10. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中y为3。

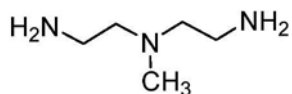
11. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中y为2。

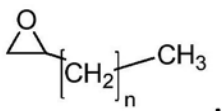
12. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中至少一个R<sub>A</sub>为未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>2-20</sub>烯基,或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>2-20</sub>炔基。

13. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中两个或三个R<sub>A</sub>变量相同。

14. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中各 $R_A$ 变量互不相同。

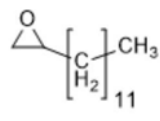
15. 根据权利要求1所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中所述化合物是通过使下式的胺:



与下式的含环氧化物化合物反应来制备: ,

其中n为介于5与13之间的整数,包括5和13。

16. 根据权利要求15所述的化合物或其医药学上可接受的盐,其中所述含环氧化物化合物具有下式:



17. 一种医药组合物,其包含:根据权利要求1-16中任一权利要求所述的化合物或其医药学上可接受的盐;和医药剂。

18. 根据权利要求17所述的医药组合物,其中所述医药剂是选自由多核苷酸、蛋白质、肽和小分子药物组成的群组。

19. 根据权利要求18所述的医药组合物,其中所述医药剂为多核苷酸。

20. 根据权利要求19所述的医药组合物,其中所述多核苷酸为DNA。

21. 根据权利要求19所述的医药组合物,其中所述多核苷酸为RNA。

22. 根据权利要求19所述的医药组合物,其中所述多核苷酸为dsRNA、siRNA、shRNA、miRNA或反义RNA。

23. 根据权利要求19所述的医药组合物,其中所述多核苷酸编码蛋白质或肽。

24. 一种治疗有效量的根据权利要求17所述的医药组合物在制备用于投予给有需要的个体的待传递药剂的药物的用途。



## 氨基醇类脂质和其用途

[0001] 本申请是申请日为2009年11月6日,申请号为200980149576.1、发明名称为“氨基醇类脂质和其用途”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请案

[0003] 本申请案根据35U.S.C. §119(e) 主张2008年11月7日申请的美国临时申请案USSN 61/112,414和2009年4月3日申请的美国临时申请案USSN 61/166,518的优先权;所述申请案各自以引用的方式并入本文中。

[0004] 政府支持

[0005] 本发明是在美国政府支持下以国家健康研究所(National Institutes of Health)批准的授权号2-R37-EB000244-29、5-U54-CA119349-03和5-R01-EB000244-27进行。美国政府对本发明具有某些权利。

### 技术领域

[0006] 本发明描述通过使胺与环氧化物封端化合物反应来制备氨基醇类脂质。本发明还提供由市售起始物质制备氨基醇类脂质的方法。本发明类脂质还可以用于制备用于药物传递的微粒。

### 背景技术

[0007] 尽管在实验室中有前途,但是遗传疗法用于治疗疾病的潜力仍须转变为现实。最初尝试将遗传物质转变成疗法(cure)导致癌症并且在一些情况下导致参与临床试验的患者死亡。所述有害结果并不归因于遗传物质,而是归因于这些试验中所用的病毒传递系统。因此,开发具有病毒载体的传递有效性但避免导致所观察到的副作用(例如癌症)的突变诱发的合成物质已受到广泛关注。

[0008] 出现以独特方式起作用的多种形式的合成物质或非病毒传递载体。已显示诸如聚乙烯亚胺或聚( $\beta$ -氨基酯)等聚合物物质有效地复合DNA以传递到细胞中。这些类别的传递药剂中的聚合物通常含有用来以静电方式结合于DNA从而形成纳米粒子、接着通过内吞作用被细胞吸收的胺官能团。一旦到了细胞内,这些胺基团便用来缓冲内体并且由于质子-海绵机制而引起离子流入。所引起的内吞泡(endocytic vesicle)的破裂导致粒子的有效负载释放,接着自由移动到表达DNA的细胞核。

[0009] 虽然基于RNA的疗法的机制不同,但传递系统的目的仍然相同。RNA必须复合并且由细胞内在化以展现活性。在许多情况下,聚合物物质对于RNA传递并不能有效地起作用。这很可能归因于所传递的治疗性RNA的化学结构差异,治疗性RNA一般为在各核糖环上含有额外羟基部分的短的线性片段。这些差异需要适合于与短的RNA链复合的替代性非病毒方法。已用形成截留RNA或形成纳米粒子(其由细胞有效内在化)的脂质体或脂复合体(lipoplexes)的物质实现有前途的结果。

[0010] 用于形成基于脂质的传递系统的物质一般由带正电头基和疏水性尾部组成。带电部分用来以静电方式结合带负电RNA,同时疏水性尾部使得自组装成亲脂性粒子。所述阳离

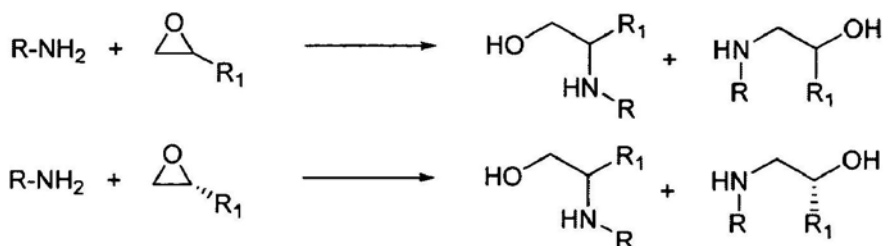
子性脂质是有前途的,但仍达不到由病毒载体实现的转染效率。

[0011] 在所述领域中少有进展,部分原因在于这些脂质样分子有限的结构多样性,这是因为获得这些结构所需的合成程序艰难。因此,为了将非病毒脂质粒子传递系统领域向前推进,有必要研究可产生能够复合RNA并且使物质穿梭通过细胞膜的不同分子的化学转化。迄今为止,最成功的方法是由安德森 (Anderson) 和同事贡献的,其使用简单易懂的化学转化来产生脂质样物质的文库。这组物质是基于称为迈克尔加成 (Michael addition) 的熟知且有效的反应,所述反应是将胺添加到丙烯酰胺或丙烯酸酯,分别得到β-氨基酰胺或β-氨基酯。这些结构由胺核心连接于长的疏水性烷基链组成。以一组胺和迈克尔受体开始,小组产生超过1000种化合物,在高通量分析中测试其复合和传递RNA的能力。这一筛选鉴别出许多前导化合物,其在活体外比目前的工业标准物脂染胺2000 (Lipofectamine 2000) 更有效,并且目前正针对在治疗性应用中的潜在用途进行活体内测试 (阿基克 (Akinc) 等人,自然-生物技术 (Nat.Biotech.) 2008, (26) 561)。

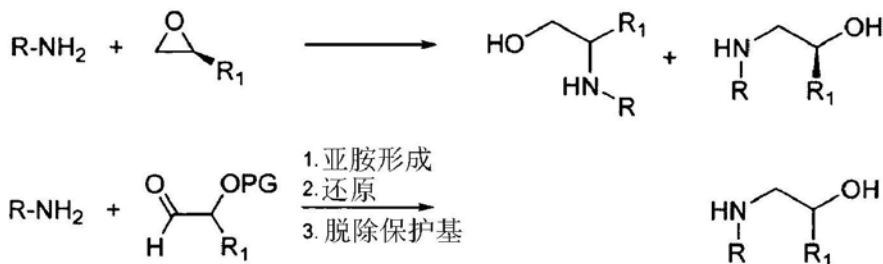
[0012] 仍旧需要一组新型脂质样分子,其特征为与现有含胺类脂质物质类似的性质,但通过完全不同化学反应获得且具有向细胞传递RNA以及其它核酸和其它诊断剂、治疗剂和预防剂的能力。

## 发明内容

[0013] 本发明是源于以下发现:用于药物传递的氨基醇类脂质化合物可通过使胺与末端环氧化物或醛反应来制备。



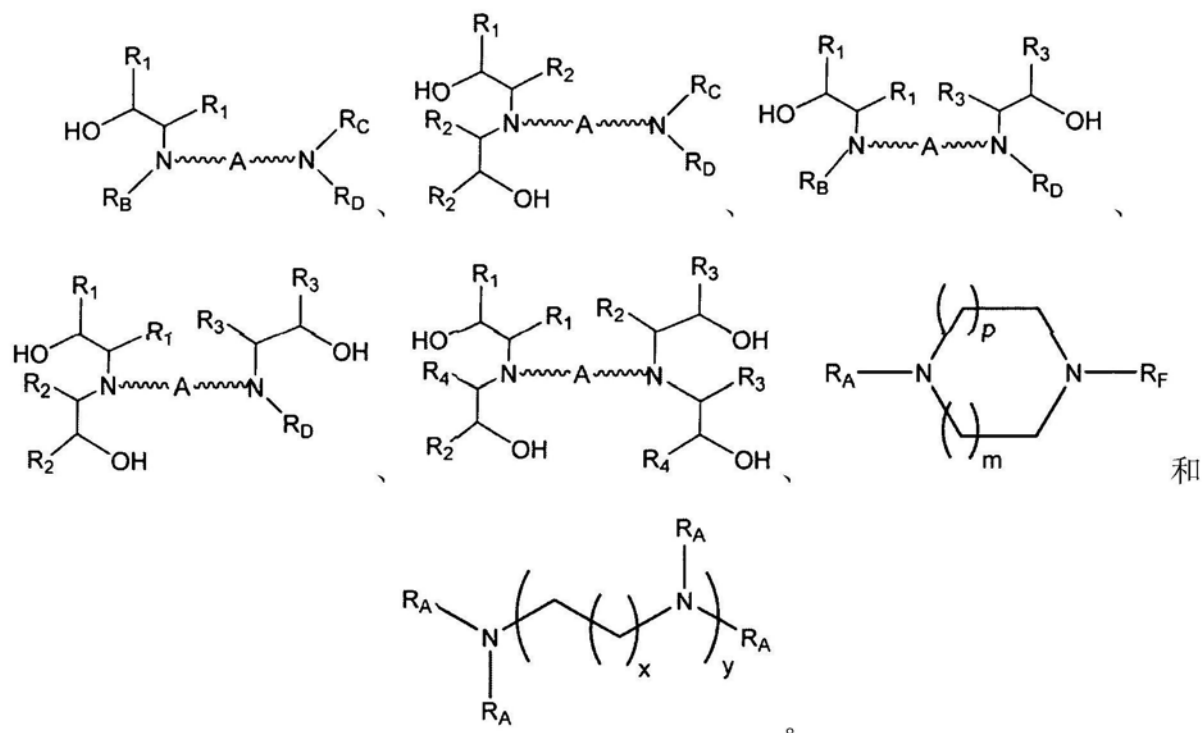
[0014]



[0015] 本发明类脂质化合物尤其适用于投予多核苷酸。本发明的氨基醇类脂质化合物适合组合性合成和筛选以产生用作非病毒药物传递药剂的化合物文库。本发明化合物还可用于其它目的,例如涂料、添加剂、赋形剂。

[0016] 一方面,本发明提供下式的新颖氨基醇类脂质化合物:

[0017]



[0018] 这些氨基醇类脂质化合物可通过使胺与环氧化物封端化合物反应来制备。在某些实施例中,所述环氧化物是立体化学纯的(例如对映异构纯)。在某些实施例中,所述胺是立体化学纯的(例如对映异构纯)。在某些实施例中,类脂质是通过从胺与醛的缩合所获得的

亚胺的还原胺化来制备。在某些实施例中,各  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_1)-\text{CH}_2-\text{OH}$  独立地为  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_1)-\text{CH}_2-\text{OH}$  或  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_1)-\text{CH}_2-\text{OH}$ 。

在某些实施例中,各  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_1)-\text{CH}_2-\text{OH}$  独立地为  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_1)-\text{CH}_2-\text{OH}$  或  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_1)-\text{CH}_2-\text{OH}$ 。

在某些实施例中,各  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_2)-\text{CH}_2-\text{OH}$  独立地为  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_2)-\text{CH}_2-\text{OH}$  或  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_2)-\text{CH}_2-\text{OH}$ 。

在某些实施例中,各  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_3)-\text{CH}_2-\text{OH}$  独立地为  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_3)-\text{CH}_2-\text{OH}$  或  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_3)-\text{CH}_2-\text{OH}$ 。

在某些实施例中,各  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_4)-\text{CH}_2-\text{OH}$  独立地为  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_4)-\text{CH}_2-\text{OH}$  或  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_4)-\text{CH}_2-\text{OH}$ 。

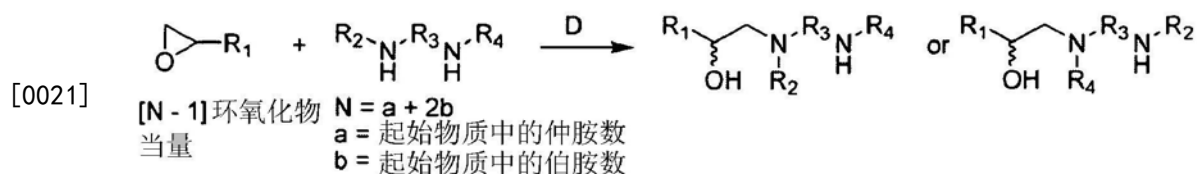
在某些实施例中,并且各  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_4)-\text{CH}_2-\text{OH}$  独立地为  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_4)-\text{CH}_2-\text{OH}$  或  $\text{HO}-\text{CH}(\text{R}_4)-\text{CH}_2-\text{OH}$ 。

在某些实施例中,如图1中所示,胺和环氧化物封端化合物在高温下在无溶剂存在下反应以制备本发明氨基醇类脂质。在某些实施

例中,氨基醇类脂质化合物包括通过用胺和疏水性脂肪族尾部打开环氧化物所产生的亲水性部分。

[0019] 通常,所选的胺含有2到5个胺部分且环氧化物封端化合物包括具有不同链长度的尾部并且任选地特征为各种官能团和不同饱和度。本发明氨基醇类脂质化合物可用于向个体传递治疗剂(例如多核苷酸、小分子、蛋白质、肽)。鉴于叔胺可用于质子化反应由此形成阳离子部分,本发明氨基醇类脂质化合物尤其适用于传递带负电药剂。举例来说,氨基醇类脂质化合物可用于向个体或细胞传递DNA、RNA或其它多核苷酸。如所属领域的技术人员应了解,上述反应可产生与类脂质化合物的混合物,所述类脂质化合物具有一个尾部,一些具有两个尾部,一些具有三个尾部,且其它甚至具有四个或四个以上尾部。反应混合物中也可使用两种不同环氧化物化合物以制备具有两种不同尾部的氨基醇类脂质化合物。

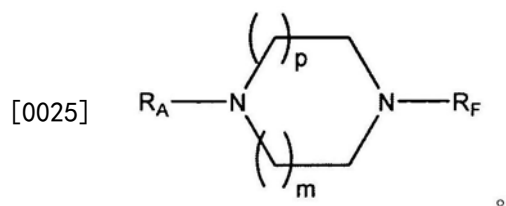
[0020] 另一方面,用于药物传递的新颖氨基醇类脂质化合物可通过使多胺与末端环氧化物反应来制备。



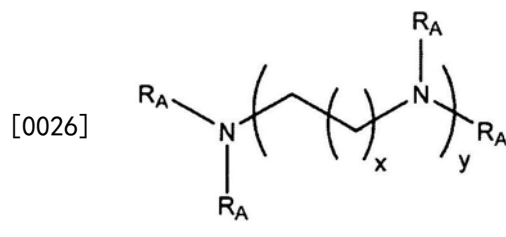
[0022] 其中 $R_1$ 表示具有不同长度的烷基链,而 $R_2$ 到 $R_4$ 一般表示烷基链、多胺和氢原子的各种组合。通过使[N-1]当量环氧化物与多胺(其中N为多胺起始物质中的 $2^\circ$ 胺数目加 $2 \times 1^\circ$ 胺数目)加成来建立反应。这一反应产生富含具有[N-1]个尾部的化合物的混合物。通常,这些化合物是各种组成性异构体的混合物,通常可通过硅胶色谱法来分离;产物的身份和纯度可通过 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  NMR光谱法和/或通过MALDI-MS(使用2,5-二羟基苯甲酸基质)来确认。如本文所述,环氧化物、胺或环氧化物与胺两者都可为立体化学纯的。

[0023] 这些本发明类脂质化合物还尤其适用于授予多核苷酸。本发明的氨基醇类脂质化合物适于组合性合成和筛选以产生用作非病毒药物传递药剂的化合物的文库。本发明化合物还可用于其它目的,诸如涂料、添加剂、材料和赋形剂。

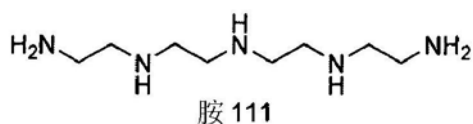
[0024] 一方面,本发明提供一种如本文所述的下式的新颖氨基醇类脂质化合物:



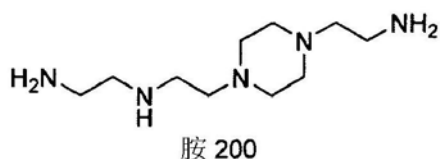
另一方面,本发明提供一种如本文所述的下式的新颖氨基醇类脂质化合物:



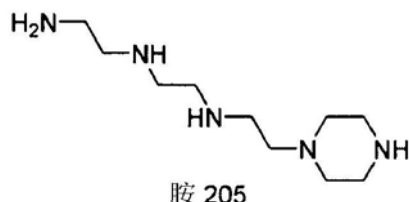
[0027] 一方面,本发明提供如本文所述基于使多胺与合适的末端环氧化物反应的新颖氨基醇类脂质化合物。在某些实施例中,多胺为下式的“胺111”:



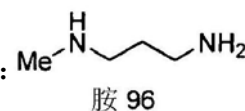
在某些实施例中，多胺为下式的“胺200”：



在某些实施例中，多胺为下式的“胺205”：



在某些实施例中，多胺为下式的“胺96”：



通过胺96核心结构周围的系统性变化来产生基于胺96的物质(参见实例15第2部分)。基于胺111的氨基醇类脂质化合物由对胺111与环氧化物反应的产物进行MALDI-MS分析而产生(参见实例14第1部分)。

[0028] 在本发明的一方面，本发明氨基醇类脂质化合物与待向细胞或个体传递的药剂组合形成微粒、纳米粒子、脂质体或微胞。待通过粒子、脂质体或微胞传递的药剂可呈气体、液体或固体形式，且所述药剂可为多核苷酸、蛋白质、肽或小分子。本发明氨基醇类脂质化合物可与其它氨基醇类脂质化合物、聚合物(合成或天然)、表面活性剂、胆固醇、碳水化合物、蛋白质、脂质等组合形成粒子。这些粒子可接着任选地与医药赋形剂组合形成医药组合物。

[0029] 本发明还提供制备本发明氨基醇类脂质化合物的方法。使一当量或一当量以上的胺与一当量或一当量以上的环氧化物封端化合物在合适的条件下反应形成本发明的氨基醇类脂质化合物。在某些实施例中，胺的所有氨基都与环氧化物封端化合物充分反应形成叔胺。在其它实施例中，胺的所有氨基都未与环氧化物封端化合物充分反应形成叔胺，由此在氨基醇类脂质化合物中产生伯胺或仲胺。使这些伯胺或仲胺保持原样或可与诸如不同环氧化物封端化合物等另一亲电子试剂反应。如所属领域的技术人员应了解，使胺与少于过量的环氧化物封端化合物反应将会产生多种具有各种尾部数目的不同氨基醇类脂质化合物。某些胺可经完全官能化成具有两个环氧化物衍生的化合物尾部，而其它分子将未经完全官能化成具有环氧化物衍生的化合物尾部。举例来说，二胺或多胺可在分子的各种氨基部分上包括一个、两个、三个或四个环氧化物衍生的化合物尾部，从而产生伯胺、仲胺和叔胺。在某些实施例中，所有氨基都未经完全官能化。在某些实施例中，使用两种同一类型的环氧化物封端化合物。在其它实施例中，使用两种或两种以上不同环氧化物封端化合物。氨基醇类脂质化合物的合成是在有或无溶剂的情况下进行，并且所述合成可在30℃-100℃范围内的较高温度下，优选在约50℃-90℃下进行。可任选纯化制得的氨基醇类脂质化合物。举例来说，可纯化氨基醇类脂质化合物的混合物，得到具有特定数目的环氧化物衍生的化合物尾部的氨基醇类脂质化合物。或可纯化混合物，得到特定立体异构体或区域异构体。也可使用烷基卤化物(例如甲基碘)或其它烷基化剂使氨基醇类脂质化合物烷基化，和/或可使其酰化。

[0030] 本发明还提供通过本发明方法制备的氨基醇类脂质化合物的文库。这些氨基醇类

脂质化合物可使用涉及液体处理器、机器人、微量滴定板、计算机等的高通量技术制备和/或筛选。在某些实施例中,针对氨基醇类脂质化合物将多核苷酸或其它药剂(例如蛋白质、肽、小分子)转染到细胞中的能力来对其进行筛选。

[0031] 定义

[0032] 以下更详细地描述特定官能团和化学术语的定义。出于本发明的目的,根据化学与物理学手册 (Handbook of Chemistry and Physics) 第75版封二的CAS版元素周期表 (Periodic Table of the Elements) 鉴别化学元素,并且通常如其中所述来定义特定官能团。另外,有机化学的一般原理以及特定官能部分和反应性描述于有机化学 (Organic Chemistry), 托马斯·索瑞尔 (Thomas Sorrell), 大学科学书籍出版社 (University Science Books), 索萨利托 (Sausalito):1999中,所述文献的内容以引用的方式并入本文中。

[0033] 发明的某些化合物可以特定几何或立体异构形式存在。本发明涵盖所有所述化合物,包括顺式和反式异构体、R和S对映异构体、非对映异构体、(D) 异构体、(L) 异构体、其外消旋混合物,和其其它混合物,都在本发明的范围内。其它不对称碳原子可存在于诸如烷基等取代基中。所有所述异构体以及其混合物都打算包括在本发明中。

[0034] 含有多种异构体比率中的任一者的异构混合物可用于本发明。举例来说,当仅组合两种异构体时,含有50:50、60:40、70:30、80:20、90:10、95:5、96:4、97:3、98:2、99:1或100:0异构体比率的混合物都涵盖于本发明中。所属领域的普通技术人员将容易了解,涵盖类似比率以用于更复杂的异构体混合物。

[0035] 举例来说,如果需要本发明化合物的特定对映异构体,那么其可通过不对称合成,或通过用手性助剂衍生来制备,在此情形中分离所得非对映异构混合物并且裂解辅助基团以产生所需的纯对映异构体。或者,当分子含有诸如氨基等碱性官能团或诸如羧基等酸性官能团时,与适当光学活性酸或碱形成非对映异构盐,接着通过所属领域中熟知的分步结晶或色谱法来拆分由此形成的非对映异构体,并且随后回收纯对映异构体。

[0036] 物质的“对映异构过量”是所需对映异构体相对于非所需对映异构体的纯度高低的度量。对映异构过量定义为各对映异构体的摩尔分率之间的绝对差,其最通常表示为对映异构过量百分比。对于非对映异构体混合物来说,存在“非对映异构过量”和“非对映异构过量百分比”的类似定义和用途。

[0037] 举例来说,具有70%R异构体和30%S异构体的样品将具有40%的对映异构过量。这也可以看作40%纯R与60%外消旋混合物(其向总组合物提供30%R和30%S)的混合物。

[0038] 所属领域的普通技术人员应了解,如本文所述的合成方法利用多种保护基。如本文中所使用,术语“保护基”的意思是暂时阻断特定官能部分(例如O、S或N)以使得可在多官能化合物中的另一反应性位点选择性进行反应。在某些实施例中,保护基以良好产率选择性反应以产生对所计划的反应稳定的受保护物质;保护基应通过不会攻击其它官能团的容易得到且优选无毒的试剂以良好产率选择性去除;保护基形成容易分离的衍生物(更优选地不会产生新的立体对称中心);并且保护基具有极少额外官能团,从而避免其它反应位点。如本文所详述,可利用氧、硫、氮和碳保护基。羟基保护基包括甲基、甲氧基甲基(MOM)、甲硫基甲基(MTM)、叔丁硫基甲基、(苯基二甲基硅烷基)甲氧基甲基(SMOM)、苯甲氧基甲基(BOM)、对甲氧基苯甲氧基甲基(PMBM)、(4-甲氧基苯氧基)甲基(p-AOM)、愈创木酚甲基

(GUM)、叔丁氧基甲基、4-戊烯氧基甲基(POM)、硅烷氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、双(2-氯乙氧基)甲基、2-(三甲基硅烷基)乙氧基甲基(SEMOR)、四氢吡喃基(THP)、3-溴四氢吡喃基、四氢硫代吡喃基、1-甲氧基环己基、4-甲氧基四氢吡喃基(MTHP)、4-甲氧基四氢硫代吡喃基、4-甲氧基四氢硫代吡喃基S,S-二氧化物、1-[ (2-氯-4-甲基) 苯基]-4-甲氧基哌啶-4-基(CTMP)、1,4-二氧杂环己烷-2-基、四氢呋喃基、四氢硫代呋喃基、2,3,3a,4,5,6,7,7a-八氢-7,8,8-三甲基-4,7-亚甲基苯并呋喃-2-基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、1-甲基-1-甲氧基乙基、1-甲基-1-苯甲氧基乙基、1-甲基-1-苯甲氧基-2-氟乙基、2,2,2-三氯乙基、2-三甲基硅烷基乙基、2-(苯基氧硒基)乙基、叔丁基、烯丙基、对氯苯基、对甲氧基苯基、2,4-二硝基苯基、苯甲基、对甲氧基苯甲基、3,4-二甲氧基苯甲基、邻硝基苯甲基、对硝基苯甲基、对卤基苯甲基、2,6-二氯苯甲基、对氰基苯甲基、对苯基苯甲基、2-吡啶甲基、4-吡啶甲基、3-甲基-2-吡啶甲基N-氧化物、二苯基甲基、对,对'-二硝基二苯甲基、5-二苯并环庚基、三苯基甲基、 $\alpha$ -萘基二苯基甲基、对甲氧基苯基二苯基甲基、二(对甲氧基苯基)苯基甲基、三(对甲氧基苯基)甲基、4-(4'-溴苯甲酰甲基氧基苯基)二苯基甲基、4,4',4''-三(4,5-二氯邻苯二甲酰亚氨基苯基)甲基、4,4',4''-三(亮氨酸基氧基苯基)甲基、4,4',4''-三(苯甲酰基氧基苯基)甲基、3-(咪唑-1-基)双(4',4''-二甲氧基苯基)甲基、1,1-双(4-甲氧基苯基)-1'-苈基甲基、9-蒎基、9-(9-苯基)吨基、9-(9-苯基-10-氧代)蒎基、1,3-苯并二硫杂环戊烷-2-基、苯并异噻唑基S,S-二氧化物、三甲基硅烷基(TMS)、三乙基硅烷基(TES)、三异丙基硅烷基(TIPS)、二甲基异丙基硅烷基(IPDMS)、二乙基异丙基硅烷基(DEIPS)、二甲基己基硅烷基、叔丁基二甲基硅烷基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅烷基(TBDPS)、三苯基硅烷基、三对二甲苯基硅烷基、三苯基硅烷基、二苯基甲基硅烷基(DPMS)、叔丁基甲氧基苯基硅烷基(TBMPS)、甲酸酯、苯甲酰基甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、二氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、苯氧基乙酸酯、对氯苯氧基乙酸酯、3-苯基丙酸酯、4-氧代戊酸酯(亮氨酸酯)、4,4-(亚乙基二硫基)戊酸酯(亮氨酸基二硫基缩醛)、特戊酸酯、金刚酸酯、巴豆酸酯、4-甲氧基巴豆酸酯、苯甲酸酯、对苯基苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯(均三甲苯甲酸酯(mesitoate))、碳酸烷基酯甲酯、碳酸9-芴基甲酯(Fmoc)、碳酸烷基酯乙酯、碳酸烷基酯2,2,2-三氯乙酯(Troc)、碳酸2-(三甲基硅烷基)乙酯(TMSEC)、碳酸2-(苯基磺酰基)乙酯(Psec)、碳酸2-(三苯基磷鎓基)乙酯(Peoc)、碳酸烷基酯异丁酯、碳酸烷基酯乙烯酯、碳酸烷基酯烯丙酯、碳酸烷基酯对硝基苯酯、碳酸烷基酯苯甲酯、碳酸烷基酯对甲氧基苯甲酯、碳酸烷基酯3,4-二甲氧基苯甲酯、碳酸烷基酯邻硝基苯甲酯、碳酸烷基酯对硝基苯甲酯、硫碳酸烷基酯S-苯甲酯、碳酸4-乙氧基-1-萘酯、二硫代碳酸甲酯、2-碘苯甲酸酯、4-叠氮基丁酸酯、4-硝基-4-甲基戊酸酯、邻(二溴甲基)苯甲酸酯、2-甲酰基苯磺酸酯、2-(甲硫基甲氧基)乙基、4-(甲硫基甲氧基)丁酸酯、2-(甲硫基甲氧基甲基)苯甲酸酯、2,6-二氯-4-甲基苯氧基乙酸酯、2,6-二氯-4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯氧基乙酸酯、2,4-双(1,1-二甲基丙基)苯氧基乙酸酯、氯二苯基乙酸酯、异丁酸酯、单丁二酸酯、(E)-2-甲基-2-丁烯酸酯、邻(甲氧羰基)苯甲酸酯、 $\alpha$ -萘甲酸酯、硝酸酯、N,N',N'-四甲基磷酰二胺酸烷基酯、N-苯基氨基甲酸烷基酯、硼酸酯、二甲基硫磷基、2,4-二硝基苯基磺酸烷基酯、硫酸酯、甲磺酸酯(甲磺酸酯)、苯甲基磺酸酯和甲苯磺酸酯(Ts)。对于保护1,2-二醇或1,3-二醇,保护基包括亚甲基缩醛、亚乙基缩醛、1-叔丁基亚乙基缩酮、1-苯基亚乙基缩酮、(4-甲氧基苯基)亚乙基缩醛、2,2,2-三氯亚乙基缩醛、

丙酮化物、亚环戊基缩酮、亚环己基缩酮、亚环庚基缩酮、苯亚甲基缩醛、对甲氧基苯亚甲基缩醛、2,4-二甲氧基苯亚甲基缩酮、3,4-二甲氧基苯亚甲基缩醛、2-硝基苯亚甲基缩醛、甲氧基亚甲基缩醛、乙氧基亚甲基缩醛、二甲氧基亚甲基原酸酯、1-甲氧基亚乙基原酸酯、1-乙氧基亚乙基原酸酯、1,2-二甲氧基亚乙基原酸酯、 $\alpha$ -甲氧基苯亚甲基原酸酯、1-(N,N-二甲基氨基)亚乙基衍生物、 $\alpha$ -(N,N'-二甲基氨基)苯亚甲基衍生物、2-氧杂亚环戊基原酸酯、二叔丁基亚硅烷基(DTBS)、1,3-(1,1,3,3-四异丙基二亚硅氧烷基)衍生物(TIPDS)、四叔丁氧基二硅氧烷-1,3-二亚基衍生物(TBDS)、环状碳酸酯、环状硼酸酯、硼酸乙酯和硼酸苯酯。氨基保护基包括氨基甲酸甲酯、氨基甲酸乙酯、氨基甲酸9-苄基甲酯(Fmoc)、氨基甲酸9-(2-磺酸基)苄基甲酯、氨基甲酸9-(2,7-二溴)苄基甲酯、氨基甲酸2,7-二叔丁基-[9-(10,10-二氧代-10,10,10,10-四氢噻吨基)]甲酯(DBD-Tmoc)、氨基甲酸4-甲氧基苯甲酰甲酯(Phenoc)、氨基甲酸2,2,2-三氯乙酯(Troc)、氨基甲酸2-三甲基硅烷基乙酯(Teoc)、氨基甲酸2-苯基乙酯(hZ)、氨基甲酸1-(1-金刚烷基)-1-甲基乙酯(Adpoc)、氨基甲酸1,1-二甲基-2-卤基乙酯、氨基甲酸1,1-二甲基-2,2-二溴乙酯(DB-t-BOC)、氨基甲酸1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙酯(TCBOC)、氨基甲酸1-甲基-1-(4-联苯基)乙酯(Bpoc)、氨基甲酸1-(3,5-二叔丁基苯基)-1-甲基乙酯(t-Bumeoc)、氨基甲酸2-(2'-和4'-吡啶基)乙酯(Pyoc)、氨基甲酸2-(N,N-二环己基甲酰胺基)乙酯、氨基甲酸叔丁酯(BOC)、氨基甲酸1-金刚烷酯(Adoc)、氨基甲酸乙烯酯(Voc)、氨基甲酸烯丙酯(Alloc)、氨基甲酸1-异丙基烯丙酯(Ipaoc)、氨基甲酸肉桂酯(Coc)、氨基甲酸4-硝基肉桂酯(Noc)、氨基甲酸8-喹啉酯、氨基甲酸N-羟基哌啶酯、氨基甲酸烷基二硫酯、氨基甲酸苄基甲酯(Cbz)、氨基甲酸对甲氧基苄基甲酯(Moz)、氨基甲酸对硝基苄基甲酯、氨基甲酸对溴苄基甲酯、氨基甲酸对氯苄基甲酯、氨基甲酸2,4-二氯苄基甲酯、氨基甲酸4-甲基亚磺酰基苄基甲酯(Msz)、氨基甲酸9-苄基甲酯、氨基甲酸二苄基甲酯、氨基甲酸2-甲硫基乙酯、氨基甲酸2-甲基磺酰基乙酯、氨基甲酸2-(对甲苯磺酰基)乙酯、氨基甲酸[2-(1,3-二噻烷基)]甲酯(Dmoc)、氨基甲酸4-甲基噻吩酯(Mtpc)、氨基甲酸2,4-二甲基噻吩酯(Bmpc)、氨基甲酸2-磷鎓基乙酯(Peoc)、氨基甲酸2-三苯基磷鎓基异丙酯(Ppoc)、氨基甲酸1,1-二甲基-2-氰基乙酯、氨基甲酸间氯-对酰氧基苄基甲酯、氨基甲酸对(二羟基氧硼基)苄基甲酯、氨基甲酸5-苯并异噁唑基甲酯、氨基甲酸2-(三氟甲基)-6-色酮基甲酯(Tcroc)、氨基甲酸间硝基苄基甲酯、氨基甲酸3,5-二甲氧基苄基甲酯、氨基甲酸邻硝基苄基甲酯、氨基甲酸3,4-二甲氧基-6-硝基苄基甲酯、氨基甲酸苄基(邻硝基苄基)甲酯、吩噻嗪基-(10)-羰基衍生物、N'-对甲苯磺酰基氨基羰基衍生物、N'-苄基氨基硫羰基衍生物、氨基甲酸叔戊酯、硫氨基甲酸S-苄基甲酯、氨基甲酸对氰基苄基甲酯、氨基甲酸环丁酯、氨基甲酸环己酯、氨基甲酸环戊酯、氨基甲酸环丙基甲酯、氨基甲酸对癸氧基苄基甲酯、氨基甲酸2,2-二甲氧羰基乙烯酯、氨基甲酸邻(N,N-二甲基甲酰胺基)苄基甲酯、氨基甲酸1,1-二甲基-3-(N,N-二甲基甲酰胺基)丙酯、氨基甲酸1,1-二甲基丙炔酯、氨基甲酸二(2-吡啶基)甲酯、氨基甲酸2-咪喃基甲酯、氨基甲酸2-碘乙酯、氨基甲酸异冰片酯、氨基甲酸异丁酯、氨基甲酸异烟碱酯、氨基甲酸对(对'-甲氧基苄基偶氮基)苄基甲酯、氨基甲酸1-甲基环丁酯、氨基甲酸1-甲基环己酯、氨基甲酸1-甲基-1-环丙基甲酯、氨基甲酸1-甲基-1-(3,5-二甲氧基苄基)乙酯、氨基甲酸1-甲基-1-(对苄基偶氮基苄基)乙酯、氨基甲酸1-甲基-1-苄基乙酯、氨基甲酸1-甲基-1-(4-吡啶基)乙酯、氨基甲酸苯酯、氨基甲酸对(苄基偶氮基)苄基甲酯、氨基甲酸2,4,6-三叔丁基苯酯、氨基甲酸4-(三甲基铵)苄基甲酯、氨基甲酸2,4,6-三甲基苄基甲酯、甲酰胺、乙酰胺、氯



乙酰胺、三氯乙酰胺、三氟乙酰胺、苯基乙酰胺、3-苯基丙酰胺、吡啶酰胺、3-吡啶基甲酰胺、N-苯甲酰基苯基丙氨酰基衍生物、苯甲酰胺、对苯基苯甲酰胺、邻硝基苯基乙酰胺、邻硝基苯氧基乙酰胺、乙酰乙酰胺、(N'-二硫基苯甲氧羰基氨基)乙酰胺、3-(对羟基苯基)丙酰胺、3-(邻硝基苯基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻硝基苯氧基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻苯基偶氮基苯氧基)丙酰胺、4-氯丁酰胺、3-甲基-3-硝基丁酰胺、邻硝基肉桂酰胺、N-乙酰基甲硫氨酸衍生物、邻硝基苯甲酰胺、邻(苯甲酰氧基甲基)苯甲酰胺、4,5-二苯基-3-噁唑啉-2-酮、N-邻苯二甲酰亚胺、N-二硫杂丁二酰亚胺(Dts)、N-2,3-二苯基马来酰亚胺、N-2,5-二甲基吡咯、N-1,1,4,4-四甲基二硅烷基氮杂环戊烷加合物(STABASE)、5-经取代的1,3-二甲基-1,3,5-三氮杂环己-2-酮、5-经取代的1,3-二苯甲基-1,3,5-三氮杂环己-2-酮、1-经取代的3,5-二硝基-4-吡啶酮、N-甲基胺、N-烯丙基胺、N-[2-(三甲基硅烷基)乙氧基]甲基胺(SEM)、N-3-乙酰氧基丙基胺、N-(1-异丙基-4-硝基-2-氧代-3-吡咯啉-3-基)胺、季铵盐、N-苯甲基胺、N-二(4-甲氧基苯基)甲基胺、N-5-二苯并环庚基胺、N-三苯基甲基胺(Tr)、N-[4-甲氧基苯基]二苯基甲基胺(MMTr)、N-9-苯基苄基胺(PhF)、N-2,7-二氯-9-苄基亚甲基胺、N-二茂铁基甲基氨基(Fcm)、N-2-吡啶甲基氨基N'-氧化物、N-1,1-二甲硫基亚甲基胺、N-苯亚甲基胺、N-对甲氧基苯亚甲基胺、N-二苯基亚甲基胺、N-[(2-吡啶基)均三甲苯基]亚甲基胺、N-(N',N'-二甲基氨基亚甲基)胺、N,N'-亚异丙基二胺、N-对硝基苯亚甲基胺、N-亚水杨基胺、N-5-氯亚水杨基胺、N-(5-氯-2-羟基苯基)苯基亚甲基胺、N-亚环己基胺、N-(5,5-二甲基-3-氧代-1-环己烯基)胺、N-硼烷衍生物、N-二苯基硼酸衍生物、N-[苯基(五羰基铬或钨)羰基]胺、N-酮螯合物、N-锌螯合物、N-硝基胺、N-亚硝基胺、胺N-氧化物、二苯基膦酰胺(Dpp)、二甲硫基膦酰胺(Mpt)、二苯基硫代膦酰胺(Ppt)、氨基磷酸二烷基酯、氨基磷酸二苯甲酯、氨基磷酸二苯酯、苯亚磺酰胺、邻硝基苯亚磺酰胺(Nps)、2,4-二硝基苯亚磺酰胺、五氯苯亚磺酰胺、2-硝基-4-甲氧基苯亚磺酰胺、三苯基甲基亚磺酰胺、3-硝基吡啶亚磺酰胺(Npys)、对甲苯磺酰胺(Ts)、苯磺酰胺、2,3,6-三甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mtr)、2,4,6-三甲氧基苯磺酰胺(Mtb)、2,6-二甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Pme)、2,3,5,6-四甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mte)、4-甲氧基苯磺酰胺(Mbs)、2,4,6-三甲基苯磺酰胺(Mts)、2,6-二甲氧基-4-甲基苯磺酰胺(iMds)、2,2,5,7,8-五甲基色满-6-磺酰胺(Pmc)、甲烷磺酰胺(Ms)、β-三甲基硅烷基乙烷磺酰胺(SES)、9-蒎磺酰胺、4-(4',8'-二甲氧基萘基甲基)苯磺酰胺(DNMBs)、苯甲基磺酰胺、三氟甲基磺酰胺和苯甲酰甲基磺酰胺。本文详述例示性保护基,但是应了解本发明不打算限于这些保护基;更确切来说,多种其它等效保护基可容易使用上述标准进行鉴别并用于本发明的方法中。另外,多种保护基描述于有机合成中的保护基(Protective Groups in Organic Synthesis),第3版T.W.格林(Greene,T.W.)和P.G.伍兹(Wuts,P.G.)编,约翰威利父子出版社(John Wiley&Sons),纽约(New York):1999中,所述文献的整体内容以引用的方式并入本文中。

[0039] 应了解如本文所述的化合物可经任何数目的取代基或官能部分取代。一般来说,术语“经取代”(无论是否前面存在术语“任选”)和本发明的各式中所含的取代基是指用指定取代基的基团置换特定结构中的氢基。当任何特定结构中的一个以上位置可经一个以上选自指定群组的取代基取代时,所述取代基可在每一位置相同或不同。如本文中所使用,术语“经取代”预期包括有机化合物的所有可允许取代基。在一广泛方面,所述可允许取代基包括有机化合物的非环状和环状、分支和未分支、碳环和杂环、芳香族和非芳香族取代基。

出于本发明的目的,诸如氮等杂原子可具有氢取代基和/或本文所述的有机化合物的任何可允许取代基,所述取代基满足杂原子的价数。此外,本发明并不打算以任何方式受有机化合物的可允许取代基限制。本发明所预想的取代基和变量的组合优选为使得形成适用于治疗疾病或病症的稳定化合物的那些组合。如本文中所使用,术语“稳定”优选是指化合物具有足以允许制造的稳定性且维持化合物的完整性持续足以检测的时间段且优选持续足以适用于本文所详述的目的的时间段。

[0040] 如本文中所使用,术语“脂肪族”包括饱和和不饱和、直链(即未分支)、分支链、非环状、环状或多环脂肪族烃,其任选经一个或一个以上官能团取代。如所属领域的普通技术人员应了解,“脂肪族”在本文中打算包括(但不限于)烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基和环炔基部分。因此,如本文中所使用,术语“烷基”包括直链、分支和环状烷基。类似惯例适用于其它通用术语,诸如“烯基”、“炔基”等。此外,如本文中所使用,术语“烷基”、“烯基”、“炔基”等涵盖经取代与未经取代的基团。在某些实施例中,如本文中所使用,“低级烷基”用于表示那些具有1-6个碳原子的烷基(环状、非环状、经取代、未经取代、分支或未分支)。

[0041] 在某些实施例中,本发明中所用的烷基、烯基和炔基含有1-20个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中,本发明中所用的烷基、烯基和炔基含有1-10个脂肪族碳原子。在其它实施例中,本发明中所用的烷基、烯基和炔基含有1-8个脂肪族碳原子。在其它实施例中,本发明中所用的烷基、烯基和炔基含有1-6个脂肪族碳原子。在其它实施例中,本发明中所用的烷基、烯基和炔基含有1-4个碳原子。因此,说明性脂肪族基团包括(但不限于)例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、环丙基、-CH<sub>2</sub>-环丙基、乙烯基、烯丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、环丁基、-CH<sub>2</sub>-环丁基、正戊基、仲戊基、异戊基、叔戊基、环戊基、-CH<sub>2</sub>-环戊基、正己基、仲己基、环己基、-CH<sub>2</sub>-环己基部分等,其又可带有一个或一个以上取代基。烯基包括(但不限于)例如乙烯基、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基等。代表性炔基包括(但不限于)乙炔基、2-丙炔基(炔丙基)、1-丙炔基等。

[0042] 如本文中所使用,术语“烷基”是指从含有1到20个碳原子的烃部分通过去除单个氢原子得到的饱和、直链或分支链烃基。烷基的实例包括(但不限于)甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己基、正庚基、正辛基、正癸基、正十一烷基和十二烷基。

[0043] 术语“烯基”表示从具有至少一个碳-碳双键的烃部分通过去除单个氢原子得到的单价基团。烯基包括例如例如乙烯基、丙烯基、丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基等。

[0044] 如本文中所使用,术语“炔基”是指从具有至少一个碳-碳三键的烃通过去除单个氢原子得到的单价基团。代表性炔基包括乙炔基、2-丙炔基(炔丙基)、1-丙炔基等。

[0045] 如本文中所使用,术语“烷氧基”或“硫烷基”是指如前文所定义的烷基通过氧原子或通过硫原子连接于母体分子。在某些实施例中,烷基、烯基和炔基含有1-20个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中,烷基、烯基和炔基含有1-10个脂肪族碳原子。在其它实施例中,本发明中所用的烷基、烯基和炔基含有1-8个脂肪族碳原子。在其它实施例中,烷基、烯基和炔基含有1-6个脂肪族碳原子。在其它实施例中,烷基、烯基和炔基含有1-4个脂肪族碳原子。烷氧基的实例包括(但不限于)甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、叔丁氧基、新戊氧基和正己氧基。硫烷基的实例包括(但不限于)甲硫基、乙硫基、丙硫基、异丙硫基、正丁硫基等。

[0046] 术语“烷基氨基”是指具有结构-NHR'的基团,其中R'为如本文所定义的脂肪族。在某些实施例中,脂肪族基团含有1-20个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中,脂肪族基团含有1-10个脂肪族碳原子。在其它实施例中,本发明中所用的脂肪族基团含有1-8个脂肪族碳原子。在其它实施例中,脂肪族基团含有1-6个脂肪族碳原子。在其它实施例中,脂肪族基团含有1-4个脂肪族碳原子。烷基氨基的实例包括(但不限于)甲基氨基、乙基氨基、正丙基氨基、异丙基氨基、环丙基氨基、正丁基氨基、叔丁基氨基、新戊基氨基、正戊基氨基、己基氨基、环己基氨基等。

[0047] 如本文中所使用,术语“羧酸”是指式-CO<sub>2</sub>H的基团。

[0048] 术语“二烷基氨基”是指具有结构-NRR'的基团,其中R和R'各自为如本文所定义的脂肪族基团。R和R'在二烷基氨基部分中可相同或不同。在某些实施例中,脂肪族基团含有1-20个脂肪族碳原子。在某些其它实施例中,脂肪族基团含有1-10个脂肪族碳原子。在其它实施例中,本发明中所用的脂肪族基团含有1-8个脂肪族碳原子。在其它实施例中,脂肪族基团含有1-6个脂肪族碳原子。在其它实施例中,脂肪族基团含有1-4个脂肪族碳原子。二烷基氨基的实例包括(但不限于)二甲基氨基、甲基乙基氨基、二乙基氨基、甲基丙基氨基、二(正丙基)氨基、二(异丙基)氨基、二(环丙基)氨基、二(正丁基)氨基、二(叔丁基)氨基、二(新戊基)氨基、二(正戊基)氨基、二(己基)氨基、二(环己基)氨基等。在某些实施例中,R和R'连接形成环状结构。所得环状结构可为芳香族或非芳香族结构。环状二氨基烷基的实例包括(但不限于)氮丙啶基、吡咯烷基、哌啶基、吗啉基、吡咯基、咪唑基、1,3,4-三唑基和四唑基。

[0049] 本发明化合物的上述脂肪族(和其它)部分的取代基的一些实例包括(但不限于)脂肪族基;杂脂肪族基;芳基;杂芳基;芳基烷基;杂芳基烷基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷硫基;芳硫基;杂烷硫基;杂芳硫基;F;Cl;Br;I;-OH;-NO<sub>2</sub>;-CN;-CF<sub>3</sub>;-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>;-CHCl<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>OH;-CHOCH<sub>2</sub>OH;-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;-C(O)R<sub>x</sub>;-CO<sub>2</sub>(R<sub>x</sub>);-CON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-OC(O)R<sub>x</sub>;-OCO<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-OCON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-N(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-S(O)<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-NR<sub>x</sub>(CO)R<sub>x</sub>,其中R<sub>x</sub>在每次出现时独立地包括(但不限于)脂肪族基、杂脂肪族基、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基,其中以上和本文中所述的脂肪族基、杂脂肪族基、芳基烷基或杂芳基烷基取代基中的任一者可经取代或未经取代、为分支或未分支、环状或非环状,且其中以上和本文中所述的芳基或杂芳基取代基中的任一者可经取代或未经取代。通常适用的取代基的其它实例由本文所述的实例中所示的特定实施例说明。

[0050] 一般来说,如本文中所使用,术语“芳基”和“杂芳基”是指具有优选3-14个碳原子的稳定的单环或多环、杂环、多环和多杂环不饱和部分,其中每一者可经取代或未经取代。取代基包括(但不限于)使得形成稳定化合物的任何先前所述的取代基,即对于脂肪族部分或对于如本文所揭示的其它部分所述的取代基。在本发明的某些实施例中,“芳基”是指具有一或两个芳香族环的单环或双环碳环系统,包括(但不限于)苯基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等。在本发明的某些实施例中,如本文中所使用,术语“杂芳基”是指具有5到10个环原子的环状芳香族基团,其中1个环原子是选自S、O和N;0、1或2个环原子为独立地选自S、O和N的额外杂原子;并且其余环原子为碳,所述基团通过任何环原子连接于分子的其余部分,诸如吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基等。

[0051] 应了解芳基和杂芳基可未经取代或经取代,其中取代包括独立地用任一个或多个以下部分置换其上的一个、两个、三个或三个以上氢原子,所述部分包括(但不限于):脂肪族基;杂脂肪族基;芳基;杂芳基;芳基烷基;杂芳基烷基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷硫基;芳硫基;杂烷硫基;杂芳硫基;-F;-Cl;-Br;-I;-OH;-NO<sub>2</sub>;-CN;-CF<sub>3</sub>;-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>;-CHCl<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>OH;-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH;-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;-C(O)R<sub>x</sub>;-CO<sub>2</sub>(R<sub>x</sub>);-CON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-OC(O)R<sub>x</sub>;-OCO<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-OCON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-N(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-S(O)<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-NR<sub>x</sub>(CO)R<sub>x</sub>,其中R<sub>x</sub>在每次出现时独立地包括(但不限于)脂肪族基、杂脂肪族基、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基,其中以上和本文中所述的脂肪族基、杂脂肪族基、芳基烷基或杂芳基烷基取代基中的任一者可经取代或未经取代、为分支或未分支、环状或非环状,且其中以上和本文中所述的芳基或杂芳基取代基中的任一者可经取代或未经取代。通常适用的取代基的其它实例由本文所述的实例中所示的特定实施例说明。

[0052] 如本文中所使用,术语“环烷基”具体是指具有3到7个、优选3到10个碳原子的基团。合适的环烷基包括(但不限于)环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等,当在其它脂肪族、杂脂肪族或杂环部分的情况下时,其可任选经包括(但不限于)以下的取代基取代:脂肪族基;杂脂肪族基;芳基;杂芳基;芳基烷基;杂芳基烷基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷硫基;芳硫基;杂烷硫基;杂芳硫基;-F;-Cl;-Br;-I;-OH;-NO<sub>2</sub>;-CN;-CF<sub>3</sub>;-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>;-CHCl<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>OH;-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH;-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;-C(O)R<sub>x</sub>;-CO<sub>2</sub>(R<sub>x</sub>);-CON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-OC(O)R<sub>x</sub>;-OCO<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-OCON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-N(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-S(O)<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-NR<sub>x</sub>(CO)R<sub>x</sub>,其中R<sub>x</sub>在每次出现时独立地包括(但不限于)脂肪族基、杂脂肪族基、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基,其中以上和本文中所述的脂肪族基、杂脂肪族基、芳基烷基或杂芳基烷基取代基中的任一者可经取代或未经取代、为分支或未分支、环状或非环状,且其中以上和本文中所述的芳基或杂芳基取代基中的任一者可经取代或未经取代。通常适用的取代基的其它实例由本文所述的实例中所示的特定实施例说明。

[0053] 如本文中所使用,术语“杂脂肪族”是指含有一个或一个以上氧、硫、氮、磷或硅原子(例如替代碳原子)的脂肪族部分。杂脂肪族部分可为分支、未分支、环状或非环状部分且包括饱和和不饱和杂环,诸如N-吗啉基、吡咯烷基等。在某些实施例中,通过用一个或一个以上包括(但不限于)以下的部分独立地置换其上的一个或一个以上氢原子来取代杂脂肪族部分:脂肪族基;杂脂肪族基;芳基;杂芳基;芳基烷基;杂芳基烷基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷硫基;芳硫基;杂烷硫基;杂芳硫基;-F;-Cl;-Br;-I;-OH;-NO<sub>2</sub>;-CN;-CF<sub>3</sub>;-CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>;-CHCl<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>OH;-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH;-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>;-CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;-C(O)R<sub>x</sub>;-CO<sub>2</sub>(R<sub>x</sub>);-CON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-OC(O)R<sub>x</sub>;-OCO<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-OCON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-N(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>;-S(O)<sub>2</sub>R<sub>x</sub>;-NR<sub>x</sub>(CO)R<sub>x</sub>,其中R<sub>x</sub>在每次出现时独立地包括(但不限于)脂肪族基、杂脂肪族基、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基,其中以上和本文中所述的脂肪族基、杂脂肪族基、芳基烷基或杂芳基烷基取代基中的任一者可经取代或未经取代、为分支或未分支、环状或非环状,且其中以上和本文中所述的芳基或杂芳基取代基中的任一者可经取代或未经取代。通常适用的取代基的其它实例由本文所述的实例中所示的特定实施例说明。

[0054] 术语“卤烷基”表示如上文所定义且连接有一个、两个或三个卤素原子的烷基,且以诸如氯甲基、溴乙基、三氟甲基等基团作为实例。

[0055] 如本文中所使用,术语“杂环烷基”或“杂环”是指非芳香族5、6或7元环或多环基

团,包括(但不限于)包含具有1到3个独立地选自氧、硫和氮的杂原子的稠合6元环的二环基或三环基,其中(i)各5元环具有0到1个双键且各6元环具有0到2个双键,(ii)氮和硫杂原子可任选经氧化,(iii)氮杂原子可任选经季铵化,并且(iv)任何上述杂环可与苯环稠合。代表性杂环包括(但不限于)吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基和四氢呋喃基。在某些实施例中,使用“经取代的杂环烷基或杂环”基团且如本文中所使用,是指如上文所定义且通过用(但不限于)以下独立地置换其上的一个、两个或三个氢原子来取代的杂环烷基或杂环基:脂肪族基;杂脂肪族基;芳基;杂芳基;芳基烷基;杂芳基烷基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷硫基;芳硫基;杂烷硫基;杂芳硫基; -F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NO<sub>2</sub>; -CN; -CF<sub>3</sub>; -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>; -CHCl<sub>2</sub>; -CH<sub>2</sub>OH; -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH; -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; -CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; -C(O)R<sub>x</sub>; -CO<sub>2</sub>(R<sub>x</sub>); -CON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>; -OC(O)R<sub>x</sub>; -OCO<sub>2</sub>R<sub>x</sub>; -OCON(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>; -N(R<sub>x</sub>)<sub>2</sub>; -S(O)<sub>2</sub>R<sub>x</sub>; -NR<sub>x</sub>(CO)R<sub>x</sub>,其中R<sub>x</sub>在每次出现时独立地包括(但不限于)脂肪族基、杂脂肪族基、芳基、杂芳基、芳基烷基或杂芳基烷基,其中以上和本文中所述的脂肪族基、杂脂肪族基、芳基烷基或杂芳基烷基取代基中的任一者可经取代或未经取代、为分支或未分支、环状或非环状,且其中以上和本文中所述的芳基或杂芳基取代基中的任一者可经取代或未经取代。通常适用的取代基的其它实例由本文所述的实例中所示的特定实施例说明。

[0056] “碳环”:如本文中所使用,术语“碳环”是指环的各原子为碳原子的芳香族或非芳香族环。

[0057] “独立地选择”:术语“独立地选择”在本文中用于表示R基团可相同或不同。

[0058] “经标记”:如本文中所使用,术语“经标记”打算意指化合物连接有至少一种元素、同位素或化合物以使得能够检测所述化合物。一般来说,标记通常分成三个类别:a)同位素标记,其可为放射性或重同位素,包括(但不限于)<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>67</sup>Ga、<sup>99m</sup>Tc(Tc-99m)、<sup>111</sup>In、<sup>123</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>169</sup>Yb和<sup>186</sup>Re;b)免疫标记,其可为抗体或抗原,其可结合于产生可检测药剂的酶(诸如辣根过氧化酶);和c)有色、发光、磷光或荧光染料。应了解所述标记可在不会干扰所检测化合物的生物活性或特征的任何位置并入所述化合物中。在本发明的某些实施例中,使用光亲和性标记来直接说明生物系统中的分子间相互作用。可使用多种已知发光团(photophore),其大部分依赖于重氮化合物、叠氮化物或二氮杂环丙烯光转化为氮烯或碳烯(参见H. 贝利(Bayley, H.),生物化学和分子生物学中的光生试剂(Photogenerated Reagents in Biochemistry and Molecular Biology)(1983),阿姆斯特丹的埃尔塞维尔出版公司(Elsevier, Amsterdam)),所述文献的整体内容以引用的方式并入本文中。在本发明的某些实施例中,所用的光亲和性标记为经一个或一个以上卤素部分取代的邻、间和对叠氮基苯甲酰基,包括(但不限于)4-叠氮基-2,3,5,6-四氟苯甲酸。

[0059] 如本文中所使用,术语“卤基”和“卤素”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0060] 如本文中所使用,术语“杂环”是指非芳香族部分不饱和或完全饱和3到10元环系统,其包括大小为3到8个原子的单环和可包括芳香族6元芳基或芳香族杂环基与非芳香族环稠合的双环与三环系统。这些杂环包括那些具有1到3个独立地选自氧、硫和氮的杂原子的环,其中所述氮和硫杂原子可任选经氧化并且所述氮杂原子可任选经季铵化。

[0061] 如本文中所使用,术语“杂芳基”是指具有5到10个环原子的环状芳香族基团,其中1个环原子选自硫、氧和氮;0、1或2个环原子为独立地选自硫、氧和氮的额外杂原子;并且其

余环原子为碳,所述基团通过任何环原子连接于分子的其余部分,例如吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、噻吩基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基等。

[0062] 可包括于本发明化合物中的特定杂环和芳香族杂环基包括:3-甲基-4-(3-甲基苯基)哌嗪、3-甲基哌啶、4-(双(4-氟苯基)甲基)哌嗪、4-(二苯基甲基)哌嗪、4-(乙氧基羰基)哌嗪、4-(乙氧基羰基甲基)哌嗪、4-(苯基甲基)哌嗪、4-(1-苯基乙基)哌嗪、4-(1,1-二甲氧基乙氧基羰基)哌嗪、4-(2-(双(2-丙烯基)氨基)乙基)哌嗪、4-(2-(二乙基氨基)乙基)哌嗪、4-(2-氯苯基)哌嗪、4-(2-氰基苯基)哌嗪、4-(2-乙氧基苯基)哌嗪、4-(2-乙基苯基)哌嗪、4-(2-氟苯基)哌嗪、4-(2-羟基乙基)哌嗪、4-(2-甲氧基乙基)哌嗪、4-(2-甲氧基苯基)哌嗪、4-(2-甲基苯基)哌嗪、4-(2-甲基噻吩基)哌嗪、4-(2-硝基苯基)哌嗪、4-(2-硝基苯基)哌嗪、4-(2-苯基乙基)哌嗪、4-(2-吡啶基)哌嗪、4-(2-嘧啶基)哌嗪、4-(2,3-二甲基苯基)哌嗪、4-(2,4-二氟苯基)哌嗪、4-(2,4-二甲氧基苯基)哌嗪、4-(2,4-二甲基苯基)哌嗪、4-(2,5-二甲基苯基)哌嗪、4-(2,6-二甲基苯基)哌嗪、4-(3-氯苯基)哌嗪、4-(3-甲基苯基)哌嗪、4-(3-三氟甲基苯基)哌嗪、4-(3,4-二氯苯基)哌嗪、4-3,4-二甲氧基苯基)哌嗪、4-(3,4-二甲基苯基)哌嗪、4-(3,4-亚甲基二氧基苯基)哌嗪、4-(3,4,5-三甲氧基苯基)哌嗪、4-(3,5-二氯苯基)哌嗪、4-(3,5-二甲氧基苯基)哌嗪、4-(4-(苯基甲氧基)苯基)哌嗪、4-(4-(3,1-二甲氧基乙基)苯基甲基)哌嗪、4-(4-氯-3-三氟甲基苯基)哌嗪、4-(4-氯苯基)-3-甲基哌嗪、4-(4-氯苯基)哌嗪、4-(4-氯苯基)哌嗪、4-(4-氯苯基甲基)哌嗪、4-(4-氟苯基)哌嗪、4-(4-甲氧基苯基)哌嗪、4-(4-甲基苯基)哌嗪、4-(4-硝基苯基)哌嗪、4-(4-三氟甲基苯基)哌嗪、4-环己基哌嗪、4-乙基哌嗪、4-羟基-4-(4-氯苯基)甲基哌啶、4-羟基-4-苯基哌啶、4-羟基吡咯烷、4-甲基哌嗪、4-苯基哌嗪、4-哌啶基哌嗪、4-(2-呋喃基)羰基)哌嗪、4-((1,3-二氧戊环-5-基)甲基)哌嗪、6-氟-1,2,3,4-四氢-2-甲基喹啉、1,4-二氮杂环庚烷、2,3-二氢吡啶基、3,3-二甲基哌啶、4,4-亚乙基二氧基哌啶、1,2,3,4-四氢异喹啉、1,2,3,4-四氢喹啉、氮杂环辛烷、十氢喹啉、哌嗪、哌啶、吡咯烷、硫代吗啉和三唑。

[0063] 如所属领域的技术人员所了解,如本文中所使用,术语“经取代”(无论前面是否存在术语“任选地”)和“取代基”是指将一个官能团变为另一个官能团的能力,条件是维持所有原子的价数。当任何特定结构中的一个以上位置可经一个以上选自指定群组的取代基取代时,所述取代基可在每一位置相同或不同。取代基还可以进一步经取代(例如芳基取代基可在其上具有另一取代基,诸如另一芳基,其进一步在一个或一个以上位置经氟取代)。

[0064] 以下是本发明通篇所用的更多通用术语:

[0065] “动物”:如本文中所使用,术语动物是指人类以及非人类动物,包括例如哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物和鱼类。优选地,所述非人类动物为哺乳动物(例如啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、灵长类动物或猪)。动物可为转基因动物。

[0066] “与……缔合”:当两个实体如本文所述彼此“缔合”时,其通过直接或间接共价或非共价相互作用连接。优选地,所述缔合为共价缔合。所需非共价相互作用包括氢键、范德华(van der Waals)相互作用、疏水性相互作用、磁性相互作用、静电相互作用等。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物通过静电相互作用与多核苷酸缔合。

[0067] “生物相容”:如本文中所使用,术语“生物相容”打算描述对细胞无毒的化合物。如果在活体外将化合物添加到细胞中产生小于或等于20%细胞死亡,并且其活体内投予不会

诱发炎症或其它所述不良作用,那么所述化合物为“生物相容”的。

[0068] “生物可降解”:如本文中所使用,“生物可降解”化合物为如下化合物:当引入细胞中时通过细胞机构或通过水解而分解成细胞可再使用或处置而对细胞无显著毒性作用的组分(即当在活体外将组分添加到细胞中时杀死少于约20%的细胞)。所述组分优选在活体内不会诱发炎症或其它不良作用。在某些实施例中,依赖于分解生物可降解化合物的化学反应未受催化作用。

[0069] “有效量”:一般来说,活性剂或组合物的“有效量”是指引起所需生物反应所必需的量。如所属领域的普通技术人员应了解,药剂或装置的有效量可视诸如所需生物终点、待传递的药剂、囊封基质的组成、目标组织等因素而变化。举例来说,含有待传递以免疫个体的抗原的微粒的有效量是产生足以预防已授予抗原的生物体受感染的免疫反应的量。

[0070] “肽”或“蛋白质”:根据本发明,“肽”或“蛋白质”包含一串至少三个通过肽键连接在一起的氨基酸。术语“蛋白质”和“肽”可互换使用。肽可指个别肽或肽集合。本发明的肽优选仅含有天然氨基酸,不过可替代地使用如所属领域中已知的非天然氨基酸(即自然界中不存在但可并入多肽链中的化合物)和/或氨基酸类似物。本发明肽中的一个或一个以上氨基酸还可经修饰,例如通过添加诸如碳水化合物基团、磷酸酯基、法呢基(farnesyl)、异法呢基、脂肪酸基团、用于结合的连接子等化学实体,官能化,或其它修饰等。在某些实施例中,对肽进行修饰产生更稳定的肽(例如更长活体内半衰期)。这些修饰可包括肽的环化、并入D-氨基酸等。所述修饰应该都不会实质上干扰肽的所需生物活性。

[0071] “多核苷酸”或“寡核苷酸”:多核苷酸或寡核苷酸是指核苷酸的聚合物。多核苷酸通常包含至少三个核苷酸。所述聚合物可包括天然核苷(即腺苷、胸苷、鸟苷、胞苷、尿苷、脱氧腺苷、脱氧胸苷、脱氧鸟苷和脱氧胞苷)、核苷类似物(例如2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并嘧啶、3-甲基腺苷、C5-丙炔基胞苷、C5-丙炔基尿苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-甲基胞苷、7-脱氮腺苷、7-脱氮鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、O(6)-甲基鸟嘌呤和2-硫代胞苷)、经化学修饰的碱基、经生物修饰的碱基(例如甲基化碱基)、插入碱基、经修饰的糖(例如2'-氟核糖、核糖、2'-脱氧核糖、阿拉伯糖和己糖)或经修饰的磷酸酯基(例如硫代磷酸酯和5'-N-氨基磷酸酯键)。

[0072] “小分子”:如本文中所使用,术语“小分子”是指具有相对低的分子量且不是蛋白质、多肽或核酸的天然存在或人工创造(例如通过化学合成)的有机化合物。小分子的分子量通常小于约1500g/mol。在某些实施例中,小分子不带电。在某些实施例中,小分子带负电。小分子通常还具有多个碳-碳键。已知天然存在的小分子包括(但不限于)青霉素(penicillin)、红霉素(erythromycin)、紫杉醇(taxol)、环孢素(cyclosporin)和雷帕霉素(rapamycin)。已知合成小分子包括(但不限于)氨苄青霉素(ampicillin)、二甲氧苯青霉素(methicillin)、磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole)和磺酰胺。

## 附图说明

[0073] 图1描绘通过组合胺与环氧化物且使其在约90℃下反应来制备氨基醇类脂质的通用合成流程。

[0074] 图2描绘可用于制备氨基醇类脂质的含有2到5个胺官能团的例示性胺和具有不同尾部、独特官能团和不同饱和度的外消旋环氧化物。

[0075] 图3描绘从胺114衍生的氨基醇类脂质的表征数据。

[0076] 图4描绘自氨基醇类脂质文库选择的化合物的薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)板。板“A”描绘经完全取代的胺,而板“B”描绘经n-1取代的胺。

[0077] 图5描绘相对于未经处理的细胞,来自复合RNA (50ng) 与各种氨基醇类脂质(以各种wt/wt比率)并且与海拉细胞(HeLa cell)一起培育的萤火虫荧光素酶敲除结果。

[0078] 图6描绘对于每孔10%血清和0.3 $\mu$ g DNA中的各种环氧化物类脂质化合物来说在HepG2细胞中得到的荧光素酶基因传递结果(荧光素酶表达,“RLU”)。

[0079] 图7描绘授予(通过尾静脉注射0.01ml/g体积)以下后48小时的C57BL/6小鼠的因子VII敲除活体内结果和表征:(a) 磷酸盐缓冲生理食盐水;(b) 含1.75mg/kg截留siRNA的类脂质调配物;和(c) 含4mg/kg截留siRNA的类脂质调配物。

[0080] 图8描绘氨基醇类脂质化合物文库的荧光素酶敲除结果(通过相对荧光素酶表达,即占对照组的%来测量),其中氨基醇类脂质化合物与siRNA的比率为2.5:1 (w/w)。

[0081] 图9描绘15种具有>90%敲除的氨基醇类脂质化合物的荧光素酶敲除结果(通过相对荧光素酶表达,即占对照组的%来测量),其中氨基醇类脂质化合物与siRNA的比率为2.5:1 (w/w)。

[0082] 图10描绘:(a) 剂量(mg/kg) 反应结果(通过注射后36小时的使用氨基醇类脂质C14-110实现的小鼠因子VII敲除来测量),其中氨基醇类脂质化合物与siRNA的比率为10:1 (w/w),氨基醇类脂质化合物:胆固醇:PEG的比率为42:48:10,且44%截留为91nm粒子;和(b) % BW变化平均值。

[0083] 图11描绘关于用25种基于环氧化物的类脂质以5:1w/w比率在海拉细胞中实现的荧光素酶敲除的活体外筛选结果。

[0084] 图12描绘关于对小鼠注射经调配的环氧化物类脂质后48小时的因子VII敲除的活体内筛选结果。

[0085] 图13a描绘关于对小鼠注射调配物C16-96-B后48小时的因子VII敲除的C16-96B剂量反应结果。

[0086] 图13b描绘在提供图13中的结果的实验期间的相应小鼠体重减轻和/或增加。

[0087] 图14a描绘关于对小鼠注射调配物C14-110-B后72小时的因子VII敲除的C14-110B剂量反应结果。

[0088] 图14b描绘在提供图14a中的结果的实验期间的相应小鼠体重减轻和/或增加。

[0089] 图15描绘关于以1mg/kg剂量对小鼠注射调配物C16-96-B后48小时的因子VII敲除的C16-96-B调配物优化。

[0090] 图16描绘关于对小鼠注射调配物C16-96-B后48小时的因子VII敲除的C16-96-B剂量反应。

[0091] 图17a描绘关于以0.25mg/kg剂量对小鼠注射经调配的类脂质后48小时的因子VII敲除的C12-200和/或C12-205的其它活体内筛选和发现。

[0092] 图17b描绘C12-200和/或C12-205的其它活体内筛选和发现在提供图17a中的结果的实验期间的相应小鼠体重减轻和/或增加。

[0093] 图18a描绘关于对小鼠注射经调配的C12-200和/或C12-205后48小时的因子VII敲除的C12-200和/或C12-205和ND98比较的剂量反应结果。



[0094] 图18b描绘在提供图18a中的结果的实验期间的相应小鼠体重减轻和/或增加。

[0095] 图19描绘关于以0.01mg/kg剂量对小鼠注射经调配的C12-200和/或C12-205后48小时的因子VII敲除的C12-200和/或C12-205调配物优化。

[0096] 图20a描绘工业级111胺与C12环氧化物的粗反应混合物的MALDI-TOF质谱(强度相对于m/z比率)。

[0097] 图20b描绘来自工业级111胺与C12环氧化物的粗反应混合物(来自图20a)的“经纯化”产物的MALDI-TOF质谱(强度相对于m/z比率)。

[0098] 图21a描绘工业级111胺与C12环氧化物的粗反应混合物的MALDI-TOF质谱(强度相对于m/z比率)。

[0099] 图21b描绘来自工业级111胺与C12环氧化物的粗反应混合物(来自图21a)的“经纯化”产物的MALDI-TOF质谱(强度相对于m/z比率)。

[0100] 图22描绘C12-200和/或C12-205的<sup>1</sup>H NMR (400MHz) 光谱(氯仿、室温)。

## 具体实施方式

[0101] 本发明提供新颖氨基醇类脂质化合物和基于使用所述氨基醇类脂质化合物的药物传递系统。所述系统可用于医药/药物传递技术中以向患者、组织、器官、细胞等传递多核苷酸、蛋白质、小分子、肽、抗原、药物等。这些新颖化合物还可用于涂料、添加剂、赋形剂、材料、生物工程等的材料。

[0102] 本发明的氨基醇类脂质化合物在药物传递领域中提供若干不同用途。氨基醇类脂质化合物的含胺部分可用于复合多核苷酸,从而增强多核苷酸的传递并且防止其降解。氨基醇类脂质化合物还可用于形成含有待传递药剂的皮可粒子(picoparticle)、纳米粒子、微粒、脂质体和微胞。优选地,氨基醇类脂质化合物为生物相容性和生物可降解的,且所形成的粒子也为生物可降解和生物相容性的并且可用于提供待传递药剂的控制、持续释放。鉴于这些类脂质在较低pH值下发生质子化,所以这些类脂质和其相应粒子也可能会对pH值变化作出反应。类脂质还可以在向细胞传递药剂中充当质子海绵以引起内体溶解。

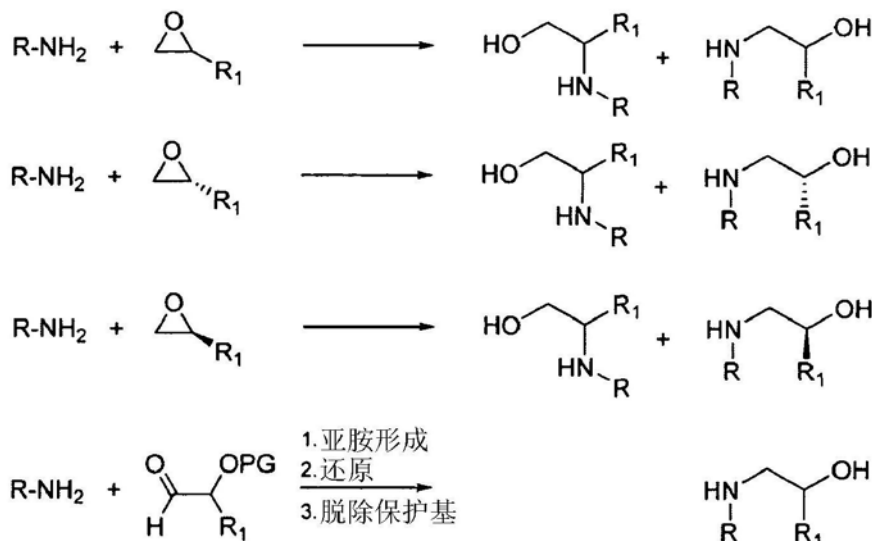
### [0103] 1. 氨基醇类脂质化合物

[0104] 本发明的氨基醇类脂质化合物是含有伯胺、仲胺、叔胺和/或季胺和其盐的氨基醇类脂质化合物。所述胺可为环状或非环状胺。在某些实施例中,本发明氨基醇类脂质化合物相对无细胞毒性。在另一实施例中,本发明氨基醇类脂质化合物为生物相容性和生物可降解的。在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质的pK<sub>a</sub>在约5.5到约7.5的范围内,更优选介于约6.0与约7.0之间。在另一实施例中,氨基醇类脂质化合物可设计成具有介于约3.0与约9.0之间,或介于约5.0与约8.0之间的所需pK<sub>a</sub>。本发明氨基醇类脂质化合物因若干原因而对于药物传递特别具有吸引力:1) 其含有用于与DNA、RNA、其它多核苷酸和其它带负电药剂相互作用、用于缓冲pH值、用于引起内体溶解、用于保护待传递的药剂等的氨基;2) 其可由市售起始物质合成;和/或3) 其具有pH值反应性且可工程改造成具有所需pK<sub>a</sub>。

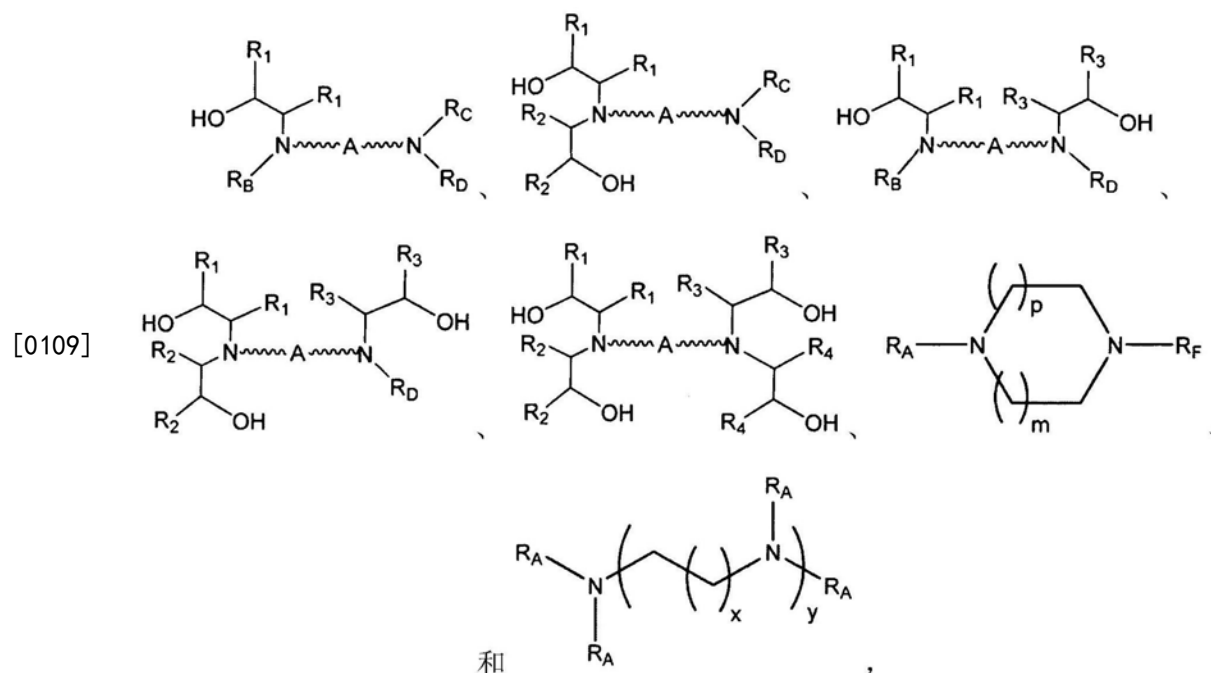
[0105] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的组合物是从具有14个碳或更多碳的末端环氧化物与具有三个或三个以上胺官能团的单体偶合所得到的那些化合物或组合物。在某些实施例中,含有氨基醇类脂质化合物的组合物为约40-60%类脂质、约40-60%胆固醇和约5-20%PEG。在某些实施例中,含有氨基醇类脂质化合物的组

合物为约50-60%类脂质、约40-50%胆固醇和约5-10%PEG。在某些实施例中,含有氨基醇类脂质化物的组合物为52%类脂质、48%胆固醇和10%PEG。在某些实施例中,含有氨基醇类脂质的组合物为约50-75%类脂质、约20-40%胆固醇和约1-10%PEG。在某些实施例中,含有氨基醇类脂质化物的组合物为约60-70%类脂质、约25-35%胆固醇和约5-10%PEG。

[0106] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物可根据以下流程通过使胺与末端环氧化物或醛反应来制备。

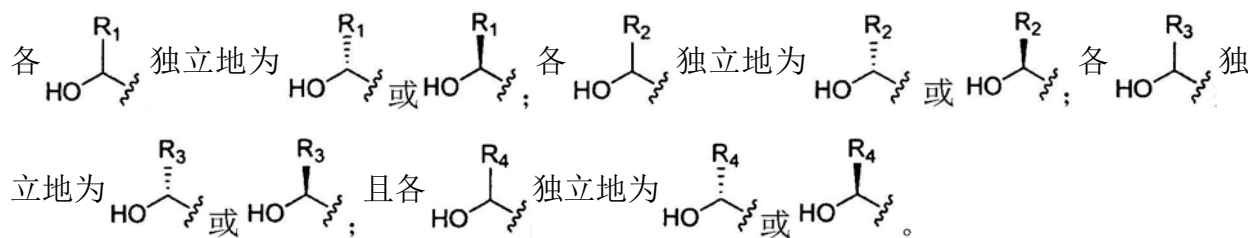


[0108] 在某些实施例中,所述环氧化物是立体化学纯的(例如对映异构纯)。在某些实施例中,所述胺是立体化学纯的(例如对映异构纯)。在某些实施例中,所述类脂质是通过从胺与醛的缩合所得到的亚胺的还原胺化来制备。在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式之一:

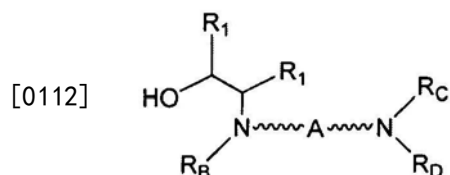


[0110] 其中A、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>B</sub>、R<sub>C</sub>、R<sub>D</sub>、R<sub>A</sub>、R<sub>F</sub>、m、p、x和y在每次出现时如本文所定义。如所属领域的技术人员应了解,胺可与过量环氧化物反应形成经完全官能化的氨基醇类脂质化合

物。或与经完全官能化时相比,类脂质可具有较少环氧化物衍生的尾部。在某些实施例中,



[0111] 在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式:



[0113] 其中:

[0114] A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,其任选杂有1个或1个以上独立地选自O、S和N的杂原子,或A为经取代或未经取代、饱和或不饱和4-6元环;

[0115] R<sub>1</sub>为氢,经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基,其中R<sub>1</sub>在至少一次出现时为氢;

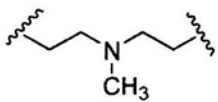
[0116] R<sub>B</sub>、R<sub>C</sub>和R<sub>D</sub>独立地为氢,经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基,或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基或-CH<sub>2</sub>CH(OH)R<sub>E</sub>;

[0117] R<sub>B</sub>和R<sub>D</sub>一起可任选形成环状结构;

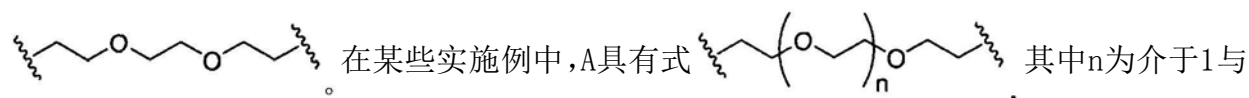
[0118] R<sub>C</sub>和R<sub>D</sub>一起可任选形成环状结构;且

[0119] R<sub>E</sub>为经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基;或其医药学上可接受的盐。

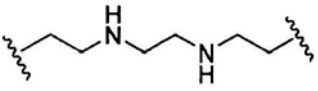
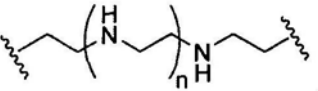
[0120] 在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个氧原子。在某些

些实施例中,A具有式 。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未

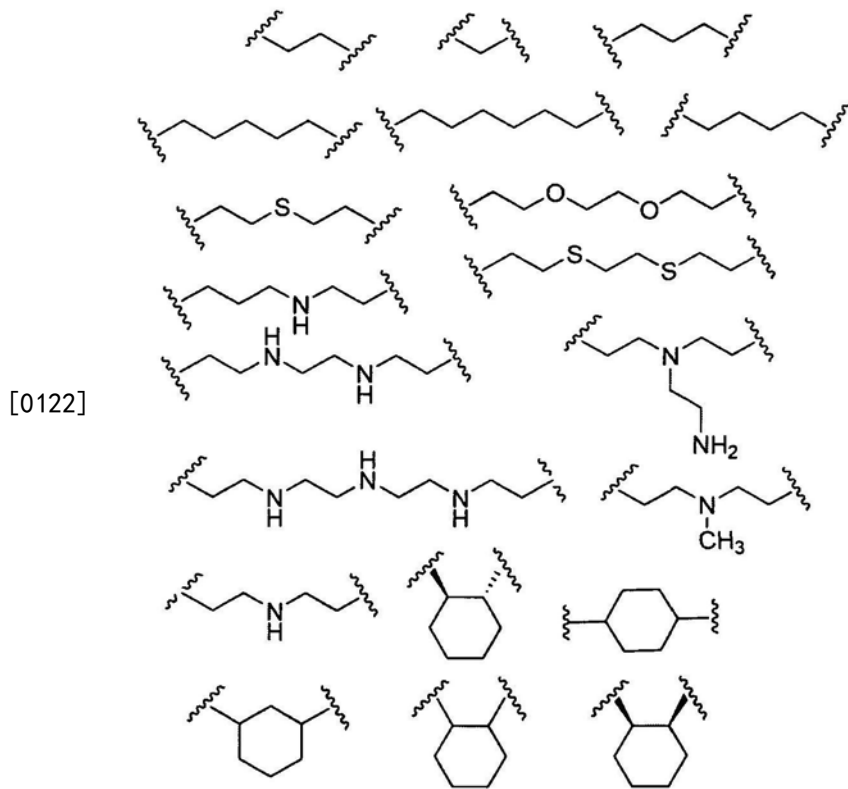
分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氧原子。在某些实施例中,A具有式






10之间的整数,包括1和10。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氮原子。在某些实施例中,A具有式

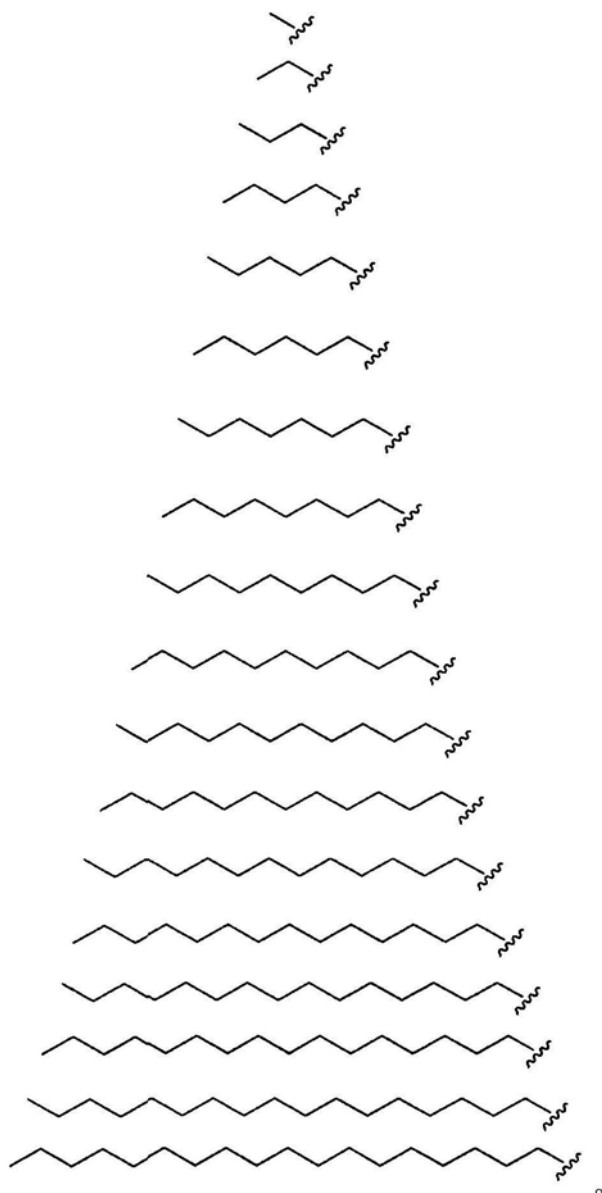
在某些实施例中,A具有式  在某些实施例中,A具有式  , 其中n为介于1与10之间的整数,包括1和10。

[0121] 在某些实施例中,A是选自下式:



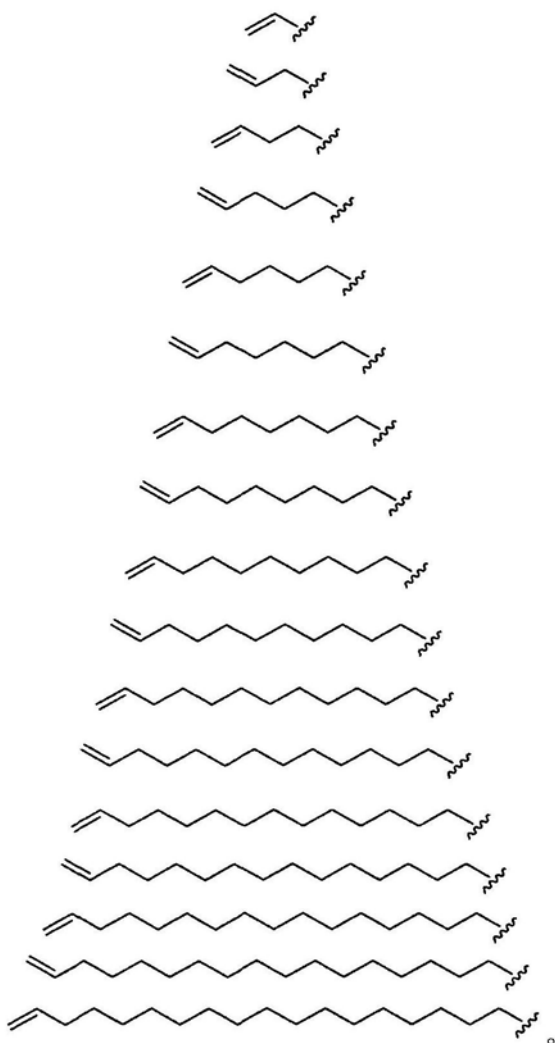
[0123] 在某些实施例中, $R_1$ 为氢。在某些实施例中, $R_1$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族或 $C_{1-20}$ 杂脂肪族部分。在一些实施例中, $R_1$ 为未经取代和未分支 $C_{10-12}$ 脂肪族基团。在一些实施例中, $R_1$ 为  。在一些实施例中, $R_1$ 为未经取代和未分支 $C_{13}$ 杂脂肪族基团。在一些实施例中, $R_1$ 为  。在一些实施例中, $R_1$ 为未经取代和未分支 $C_{14}$ 杂脂肪族基团。在一些实施例中, $R_1$ 为  。在某些实施例中, $R_1$ 是选自下式:

[0124]



[0125] 在某些实施例中,  $R_1$  为  $C_{1-20}$  烯基部分, 任选经取代。在某些实施例中,  $R_1$  是选自下式:

[0126]



[0127] 所属领域的普通技术人员应了解,上述取代基可具有多个不饱和位点,并且可以在取代基内的任何位置也如此。

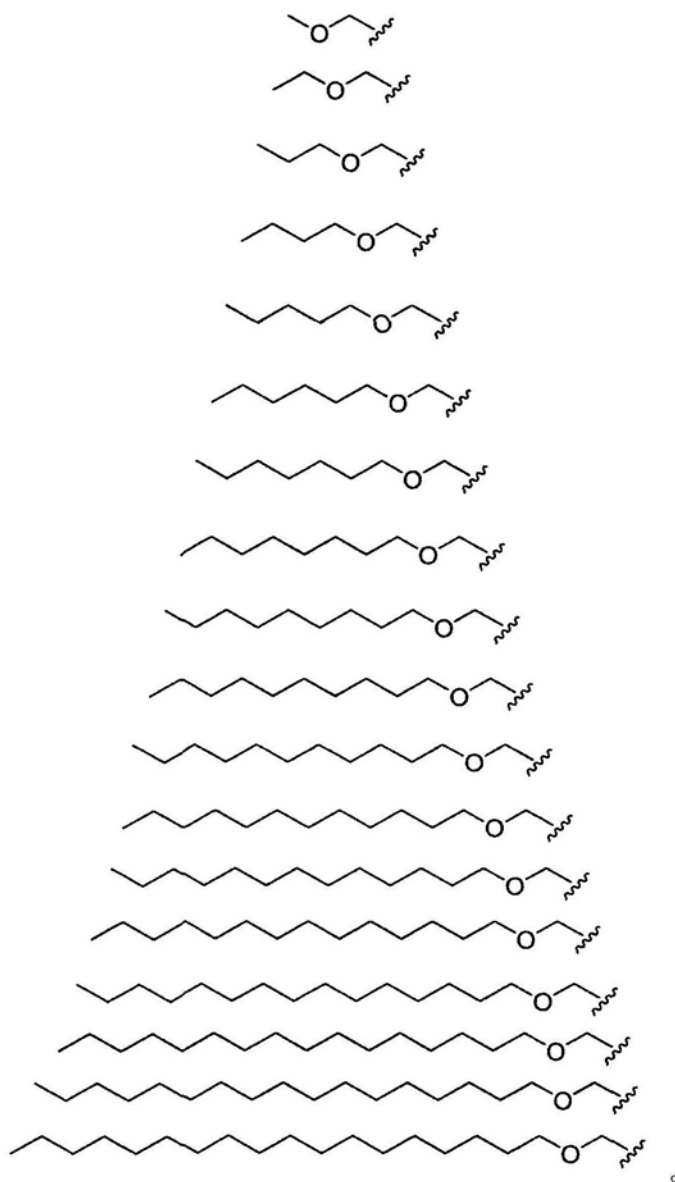
[0128] 在某些实施例中,各  $\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ HO-CH- \end{array}$  独立地为  $\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ HO-CH- \end{array}$  或  $\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ HO-CH- \end{array}$ 。

[0129] 在某些实施例中,  $R_1$  为:

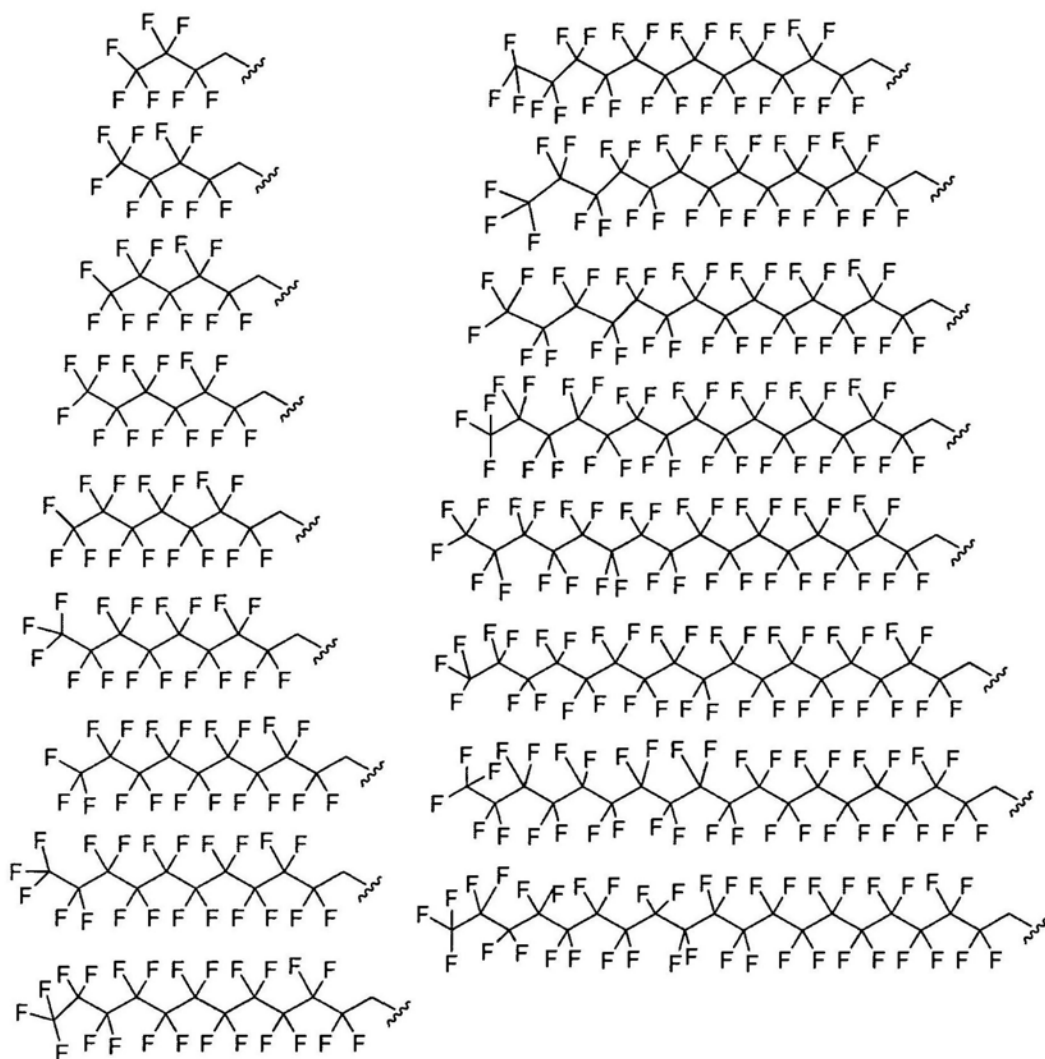
[0130] 或 。

[0131] 在某些实施例中,  $R_1$  是选自下式:

[0132]

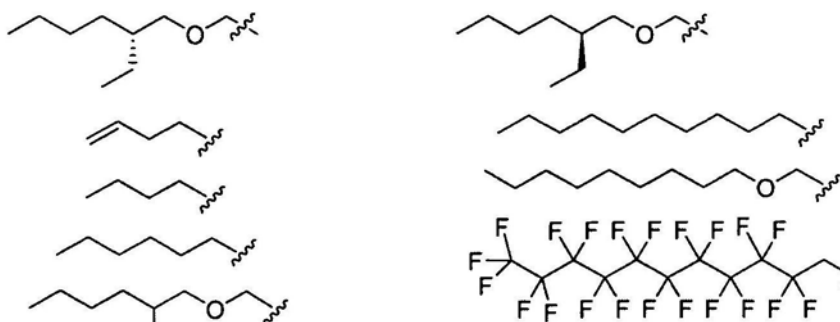
[0133] 在某些实施例中, R<sub>1</sub>是选自下式:

[0134]

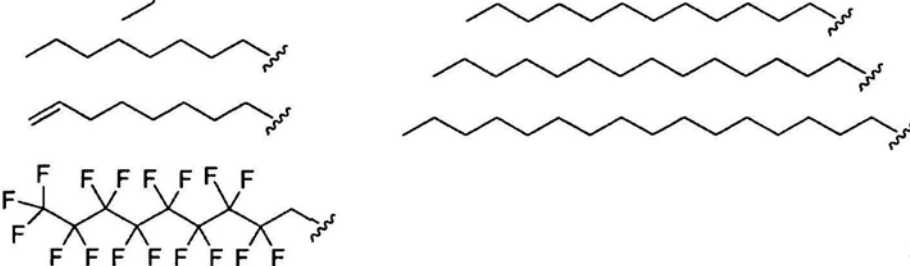


[0135] 在某些实施例中,  $R_1$  经氟化。在某些实施例中,  $R_1$  为氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$  经全氟化。在某些实施例中,  $R_1$  为全氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$  为全氟化  $C_{1-20}$  烷基。在某些实施例中,  $R_1$  是选自下式:

[0136]

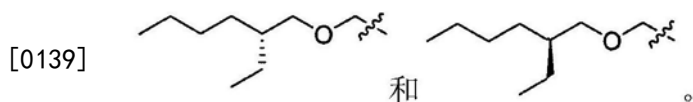


[0137]





[0138] 在某些实施例中,  $R_1$  是选自下式:



[0140] 在某些实施例中,  $R_B$  为氢。在某些实施例中,  $R_B$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  脂肪族基。在某些实施例中,  $R_B$  为  $C_{1-6}$  烷基。在某些实施例中,  $R_B$  为甲基。在某些实施例中,  $R_B$  为乙基。在某些实施例中,  $R_B$  为丙基。在某些实施例中,  $R_B$  为丁基。在某些实施例中,  $R_B$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基。在某些实施例中,  $R_B$  为  $C_{1-6}$  杂烷基。在某些实施例中,  $R_B$  为  $-CH_2CH(OH)R_E$ 。

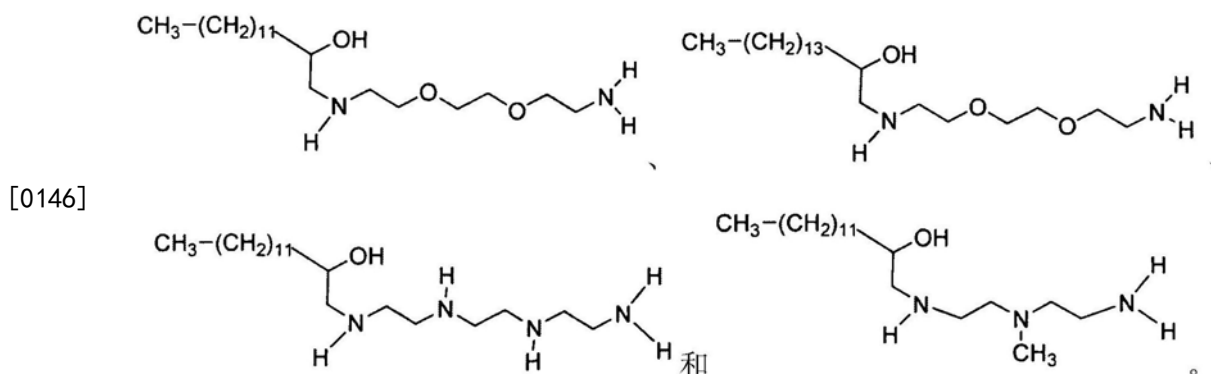
[0141] 在某些实施例中,  $R_C$  为氢。在某些实施例中,  $R_C$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  脂肪族基。在某些实施例中,  $R_C$  为  $C_{1-6}$  烷基。在某些实施例中,  $R_C$  为甲基。在某些实施例中,  $R_C$  为乙基。在某些实施例中,  $R_C$  为丙基。在某些实施例中,  $R_C$  为丁基。在某些实施例中,  $R_C$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基。在某些实施例中,  $R_C$  为  $C_{1-6}$  杂烷基。在某些实施例中,  $R_C$  为  $-CH_2CH(OH)R_E$ 。

[0142] 在某些实施例中,  $R_D$  为氢。在某些实施例中,  $R_D$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  脂肪族基。在某些实施例中,  $R_D$  为  $C_{1-6}$  烷基。在某些实施例中,  $R_D$  为甲基。在某些实施例中,  $R_D$  为乙基。在某些实施例中,  $R_D$  为丙基。在某些实施例中,  $R_D$  为丁基。在某些实施例中,  $R_D$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基。在某些实施例中,  $R_D$  为  $C_{1-6}$  杂烷基。在某些实施例中,  $R_D$  为  $-CH_2CH(OH)R_E$ 。

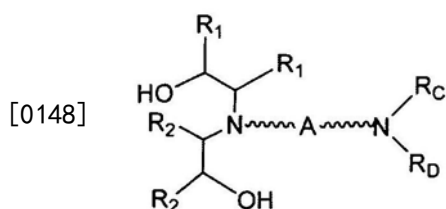
[0143] 在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  全部相同。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  全部为氢或全部为  $C_{1-6}$  烷基。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  全部为氢。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  全部为  $C_{1-6}$  烷基。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  全部为羟烷基。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  全部为氨基烷基。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  为氢或甲基。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  中的至少两者相同。在某些实施例中,  $R_B$ 、 $R_C$  和  $R_D$  全部不同。

[0144] 在某些实施例中,  $R_E$  为氢。在某些实施例中,  $R_E$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  脂肪族基。在某些实施例中,  $R_E$  为  $C_{1-6}$  烷基。在某些实施例中,  $R_E$  为甲基。在某些实施例中,  $R_E$  为乙基。在某些实施例中,  $R_E$  为丙基。在某些实施例中,  $R_E$  为丁基。在某些实施例中,  $R_E$  为未经取代和未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基。在某些实施例中,  $R_E$  为  $C_{1-6}$  杂烷基。

[0145] 具体例示性化合物包括:



[0147] 在某些实施例中, 本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式:



[0149] A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,其任选杂有1个或1个以上独立地选自O、S和N的杂原子,或A为经取代或未经取代、饱和或不饱和4-6元环;

[0150] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为氢,经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>-脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基,其中R<sub>1</sub>在至少一次出现时为氢且R<sub>2</sub>在至少一次出现时为氢;

[0151] R<sub>C</sub>和R<sub>D</sub>独立地为氢,经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基,或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基或-CH<sub>2</sub>CH(OH)R<sub>E</sub>;

[0152] R<sub>C</sub>和R<sub>D</sub>一起可任选形成环状结构;且

[0153] R<sub>E</sub>为经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基;或其医药学上可接受的盐。

[0154] 在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个氧原子。在某

些实施例中,A具有式 在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未

分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氧原子。在某些实施例中,A具有式

在某些实施例中,A具有式 , 其中n为介于1

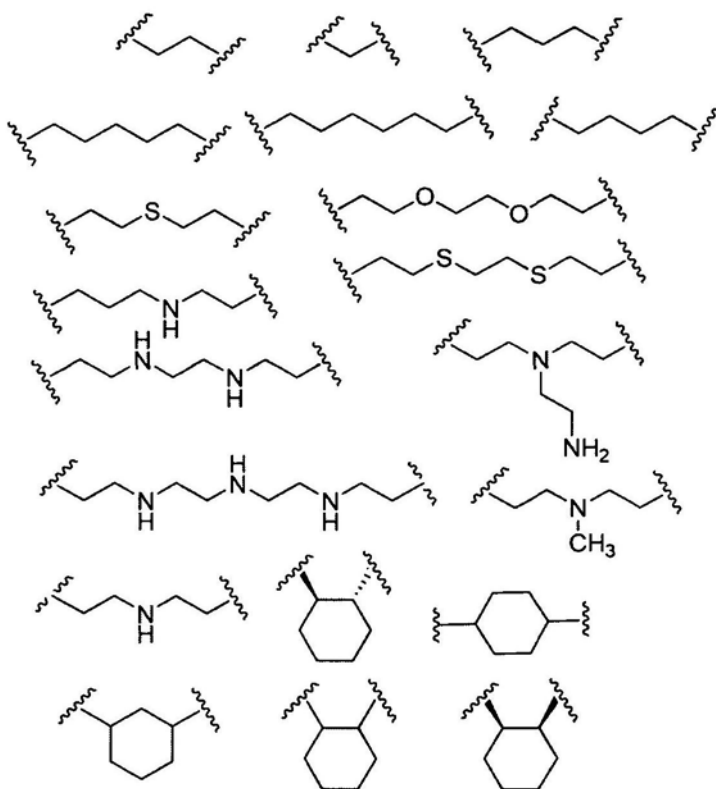
与10之间的整数,包括1和10。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氮原子。在某些实施例中,A具有式




在某些实施例中,A具有式 , 其中n为介于1

与10之间的整数,包括1和10。

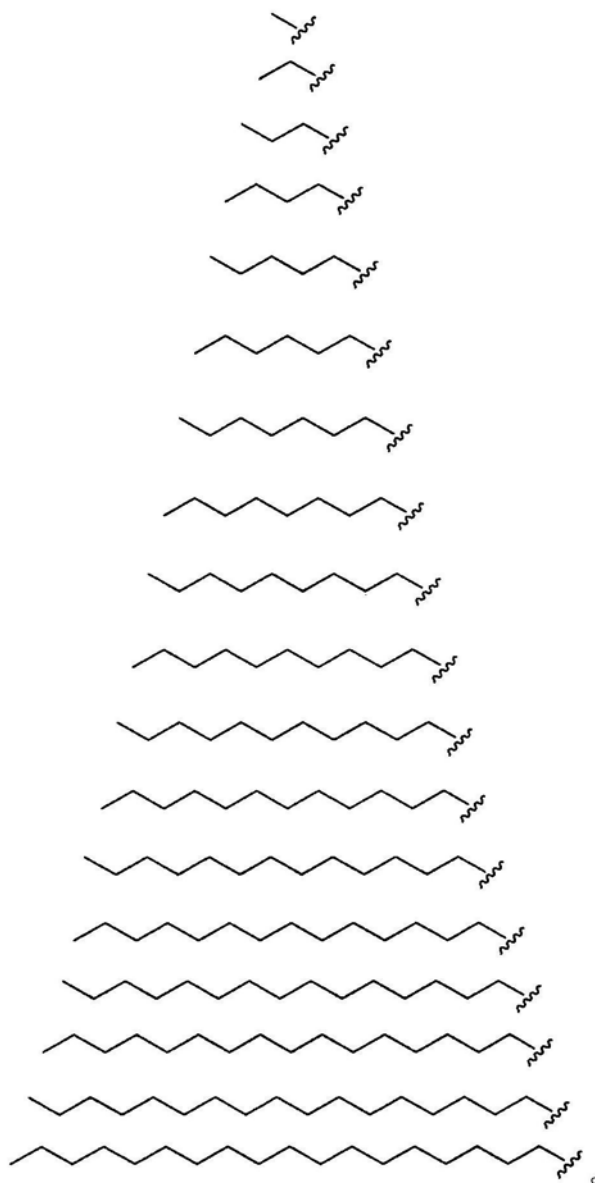
[0155] 在某些实施例中,A是选自下式:

[0156]

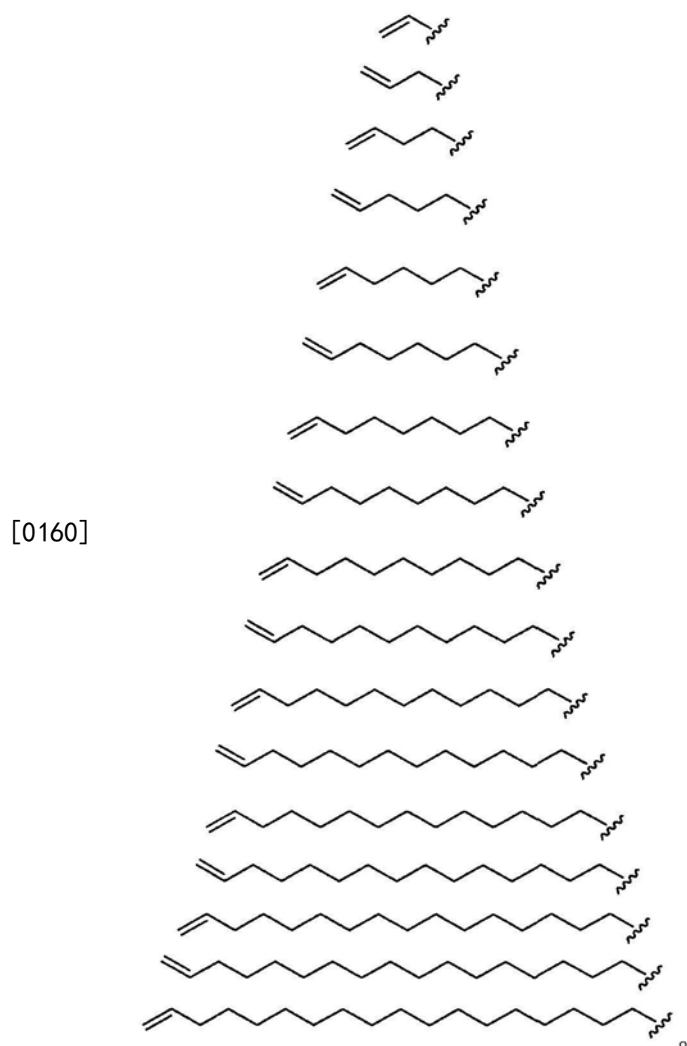


[0157] 在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 为氢。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族或 $C_{1-20}$ 杂脂肪族部分。在一些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{10-12}$ 脂肪族基团。在一些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 为。在一些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{13}$ 杂脂肪族基团。在一些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 为。在一些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{14}$ 杂脂肪族基团。在一些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 为。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地选自下式:

[0158]

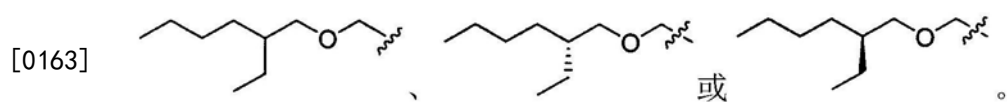


[0159] 在某些实施例中,  $R_1$  和  $R_2$  为  $C_{1-20}$  烯基部分, 任选经取代。在某些实施例中,  $R_1$  和  $R_2$  独立地选自下式:



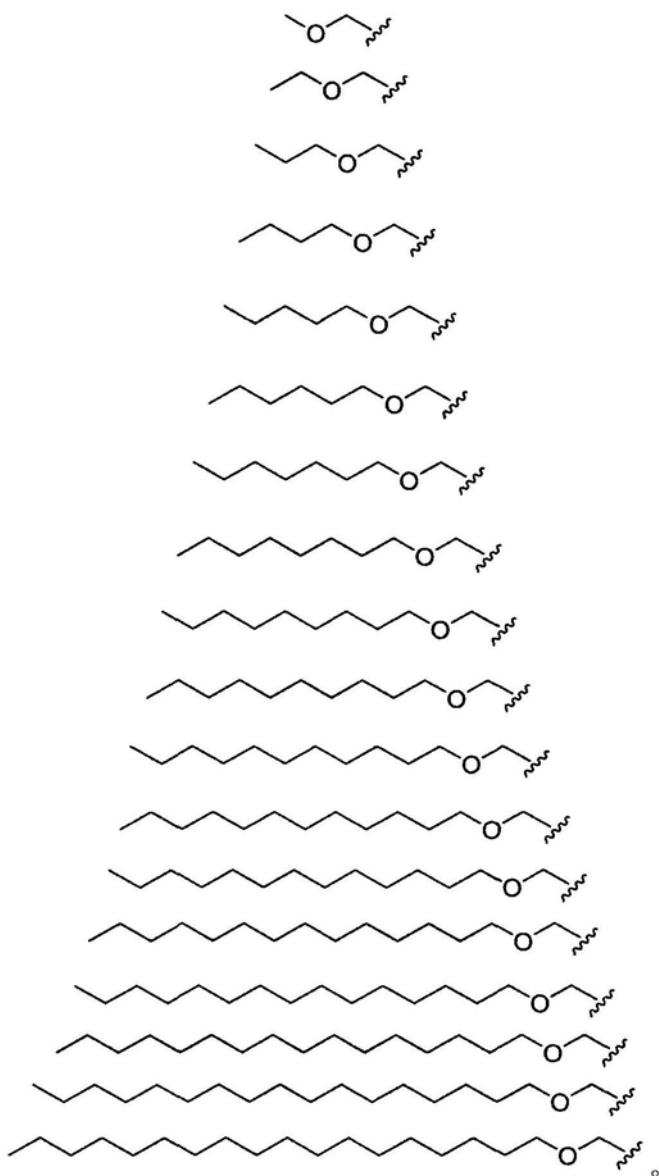
[0161] 所属领域的普通技术人员应了解,上述取代基可具有多个不饱和位点,并且可以在取代基内的任何位置也如此。

[0162] 在某些实施例中, $R_1$ 和 $R_2$ 为:



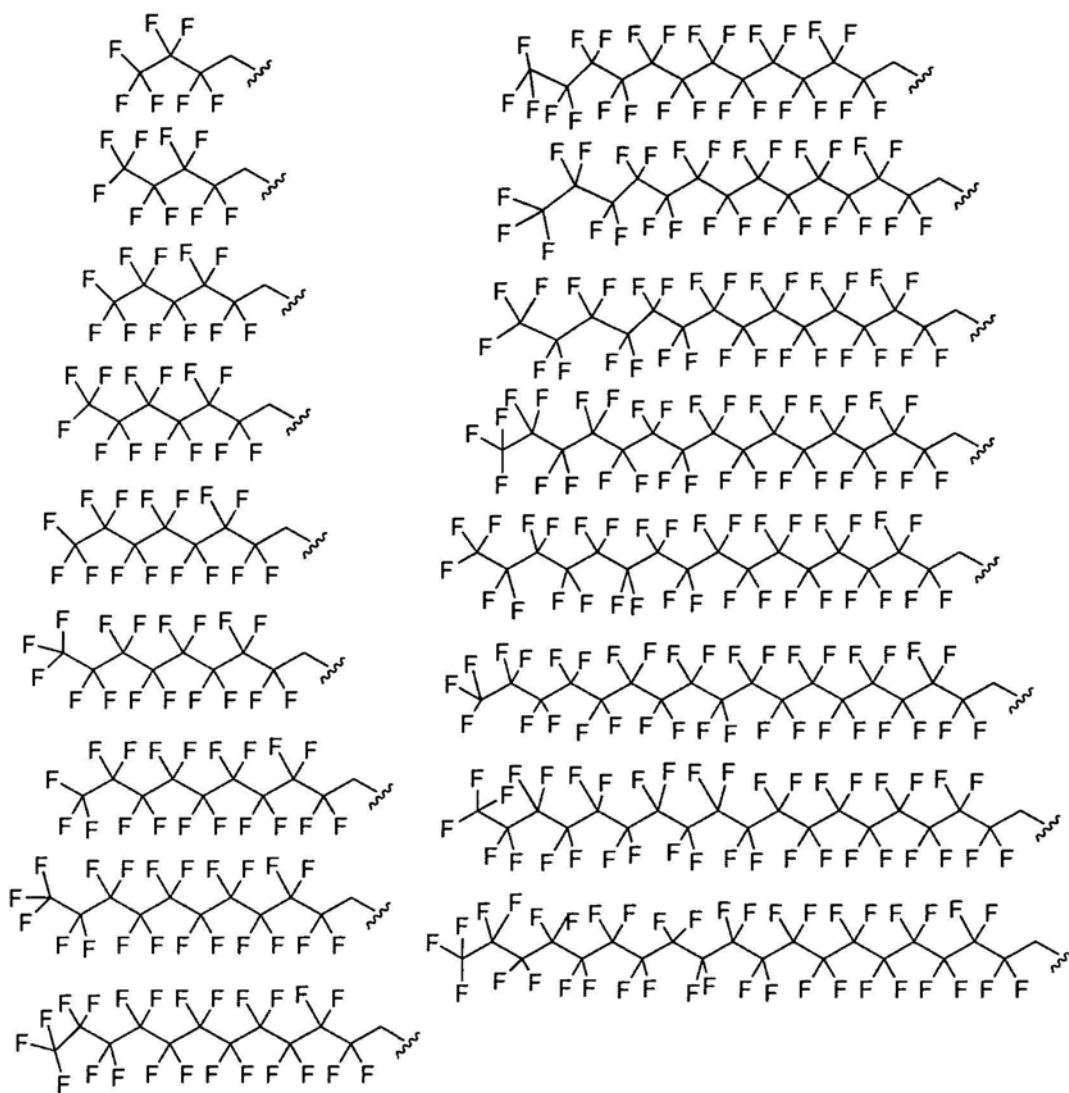
[0164] 在某些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 独立地选自下式:

[0165]

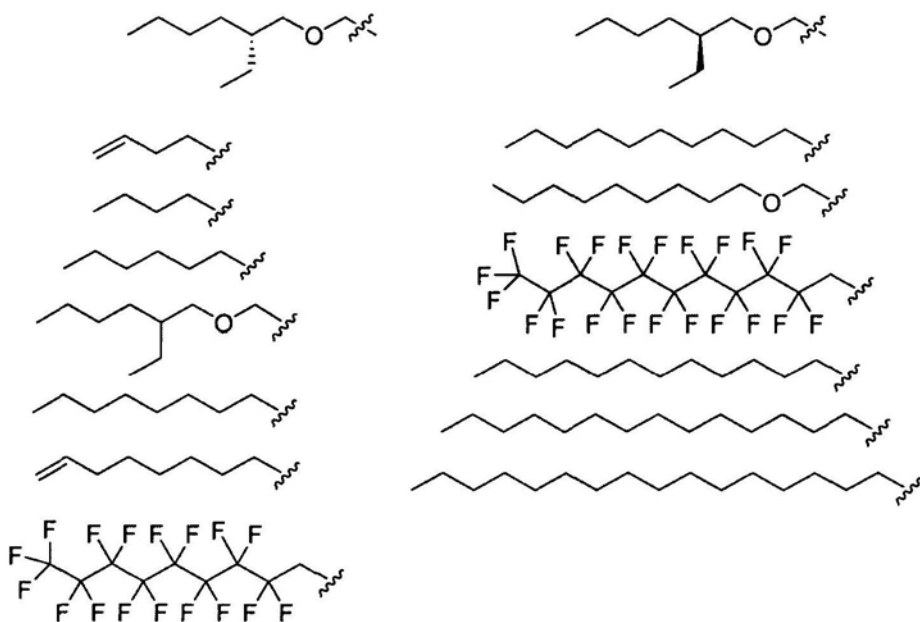


[0166] 在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 经氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 为氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 经全氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 为全氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 为全氟化 $C_{1-20}$ 烷基。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_2$ 是选自下式:

[0167]

[0168] 在某些实施例中,  $R_1$  和  $R_2$  独立地选自下式:

[0169]

[0170] 在某些实施例中,  $R_1$  和  $R_2$  相同。在某些实施例中,  $R_1$  和  $R_2$  各自独立地为氢或  $C_1$ - $C_6$  烷

基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_2$ 都为氢。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_2$ 都为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_2$ 都为羟烷基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_2$ 都为氨基烷基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_2$ 不同。

[0171] 在某些实施例中， $R_C$ 为氢。在某些实施例中， $R_C$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_C$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_C$ 为甲基。在某些实施例中， $R_C$ 为乙基。在某些实施例中， $R_C$ 为丙基。在某些实施例中， $R_C$ 为丁基。在某些实施例中， $R_C$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中， $R_C$ 为 $C_1$ - $C_6$ 杂烷基。在某些实施例中， $R_C$ 为 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$   $R_E$ 。

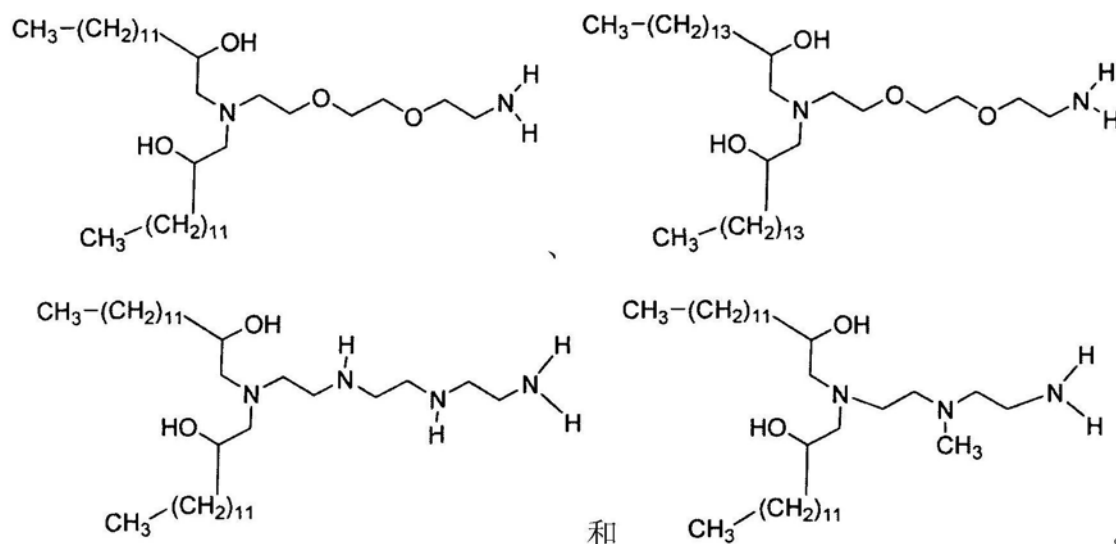
[0172] 在某些实施例中， $R_D$ 为氢。在某些实施例中， $R_D$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_D$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_D$ 为甲基。在某些实施例中， $R_D$ 为乙基。在某些实施例中， $R_D$ 为丙基。在某些实施例中， $R_D$ 为丁基。在某些实施例中， $R_D$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中， $R_D$ 为 $C_1$ - $C_6$ 杂烷基。在某些实施例中， $R_D$ 为 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$   $R_E$ 。

[0173] 在某些实施例中， $R_C$ 和 $R_D$ 相同。在某些实施例中， $R_C$ 和 $R_D$ 各自独立地为氢或 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_C$ 和 $R_D$ 都为氢。在某些实施例中， $R_C$ 和 $R_D$ 都为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_C$ 和 $R_D$ 都为羟烷基。在某些实施例中， $R_C$ 和 $R_D$ 都为氨基烷基。在某些实施例中， $R_C$ 和 $R_D$ 不同。

[0174] 在某些实施例中， $R_E$ 为氢。在某些实施例中， $R_E$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_E$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_E$ 为甲基。在某些实施例中， $R_E$ 为乙基。在某些实施例中， $R_E$ 为丙基。在某些实施例中， $R_E$ 为丁基。在某些实施例中， $R_E$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中， $R_E$ 为 $C_1$ - $C_6$ 杂烷基。

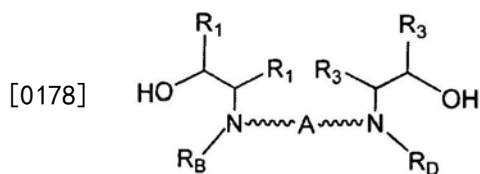
[0175] 具体例示性化合物包括：

[0176]



[0177] 在某些实施例中，本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式：





[0179] 其中：

[0180] A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基，其任选杂有1个或1个以上独立地选自O、S和N的杂原子，或A为经取代或未经取代、饱和或不饱和4-6元环；

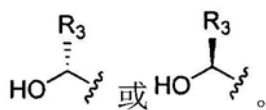
[0181] R<sub>1</sub>和R<sub>3</sub>独立地为氢，经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基，其中R<sub>1</sub>在至少一次出现时为氢且R<sub>3</sub>在至少一次出现时为氢；

[0182] R<sub>B</sub>和R<sub>D</sub>独立地为氢，经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基，或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基或-CH<sub>2</sub>CH(OH)R<sub>E</sub>；

[0183] R<sub>B</sub>和R<sub>D</sub>一起可任选形成环状结构；且

[0184] R<sub>E</sub>为经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基；或其医药学上可接受的盐。

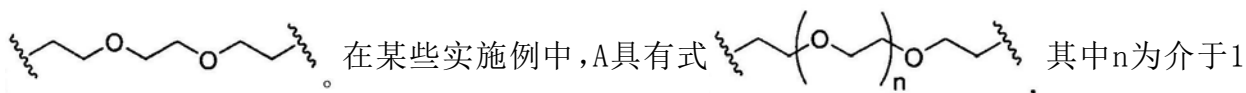
[0185] 在某些实施例中，各 独立地为 或 ；且各 独立地为



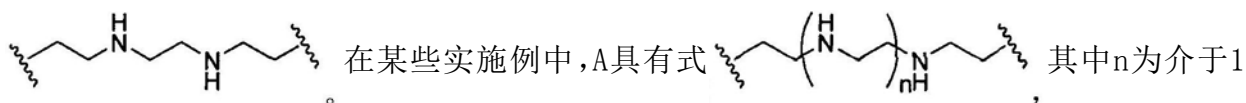
[0186] 在某些实施例中，A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基。在某些实施例中，A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基，任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中，A为经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基，任选杂有1个氧原子。在某些

些实施例中，A具有式 。在某些实施例中，A为经取代或未经取代、分支或未

分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基，任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中，A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基，任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中，A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基，任选杂有2个氧原子。在某些实施例中，A具有式

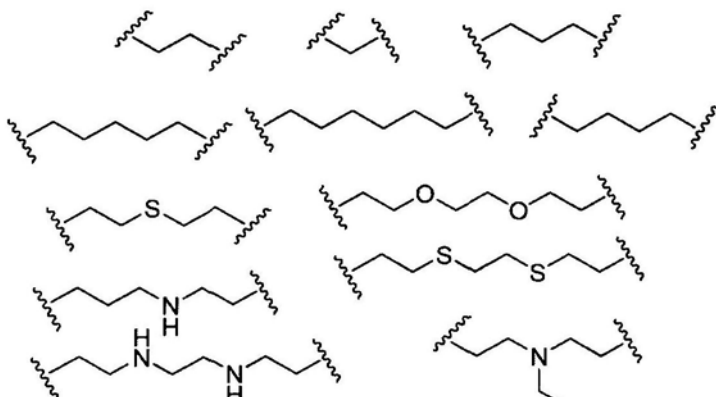


与10之间的整数，包括1和10。在某些实施例中，A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基，任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中，A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基，任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中，A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基，任选杂有2个氮原子。在某些实施例中，A具有式

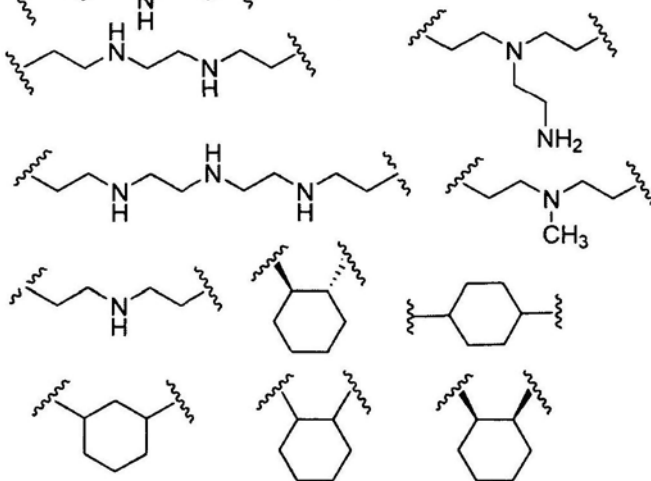





与10之间的整数，包括1和10。

[0187] 在某些实施例中,A是选自下式:

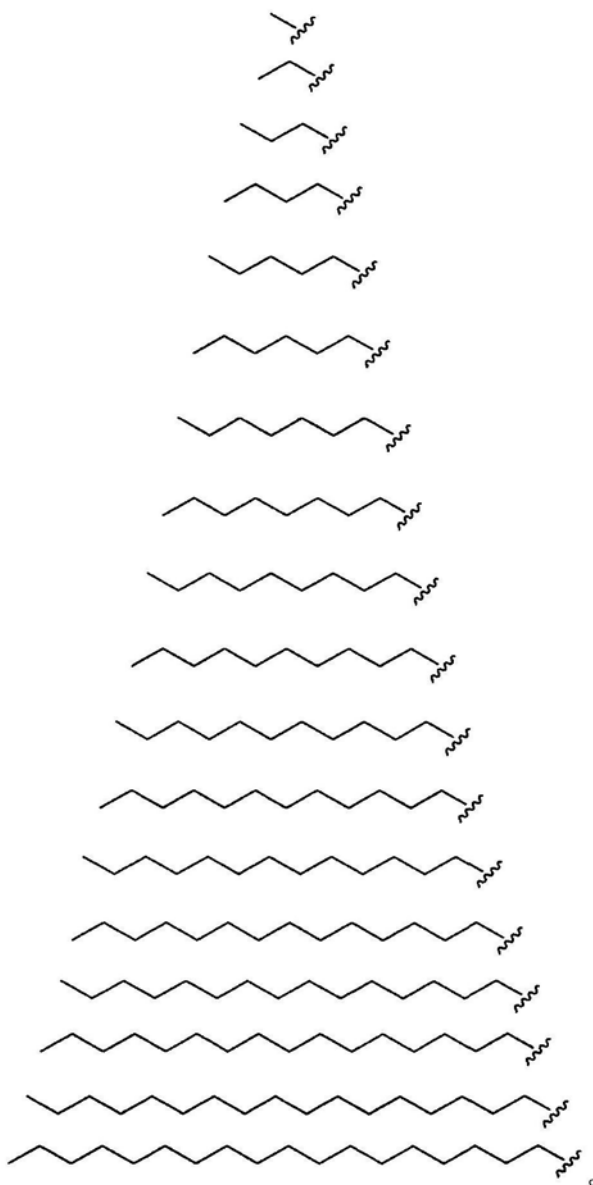


[0188]



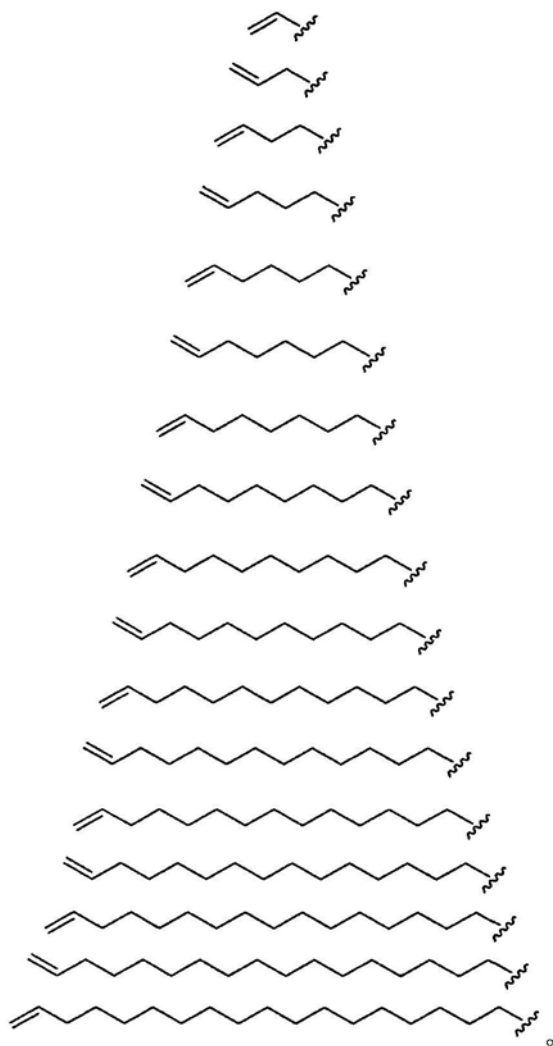
[0189] 在某些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 为氢。在某些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族或 $C_{1-20}$ 杂脂肪族部分。在一些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{10-12}$ 脂肪族基团。在一些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 为。在一些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{13}$ 杂脂肪族基团。在一些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 为。在一些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 独立地为未经取代和未分支 $C_{14}$ 杂脂肪族基团。在一些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 为。在某些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 独立地选自下式:

[0190]



[0191] 在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 为 $C_{1-20}$ 烯基部分, 任选经取代。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 独立地选自下式:

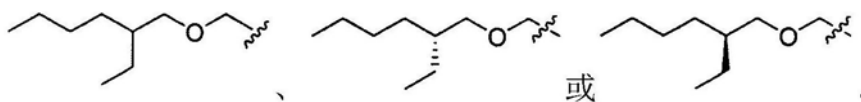
[0192]



[0193] 所属领域的普通技术人员应了解,上述取代基可具有多个不饱和位点,并且可以在取代基内的任何位置也如此。

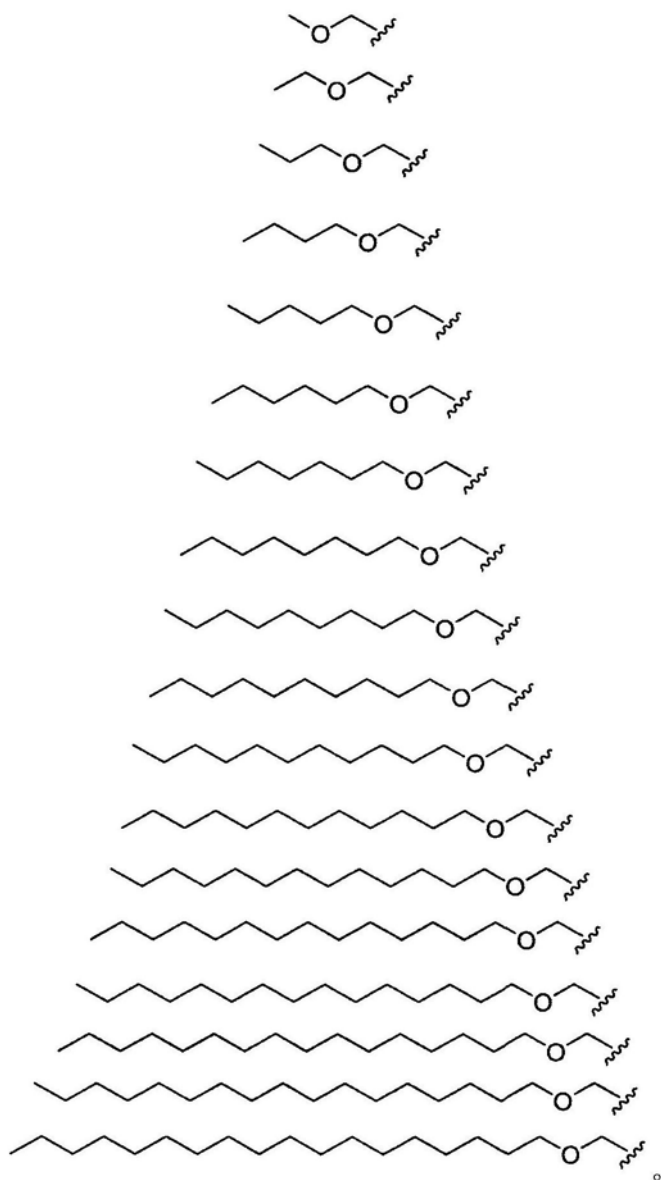
[0194] 在某些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 为:

[0195]



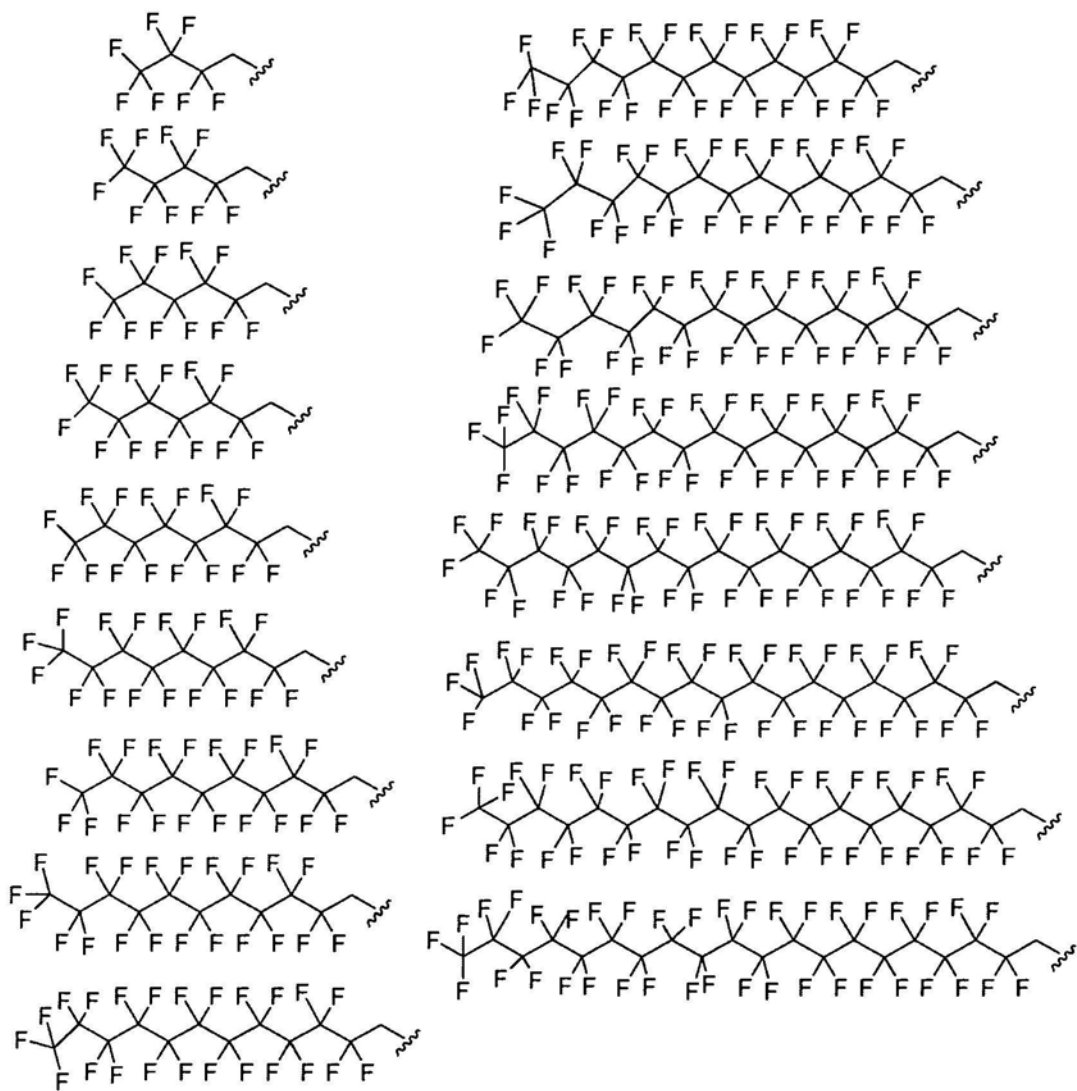
[0196] 在某些实施例中, $R_1$ 和 $R_3$ 独立地选自下式:

[0197]

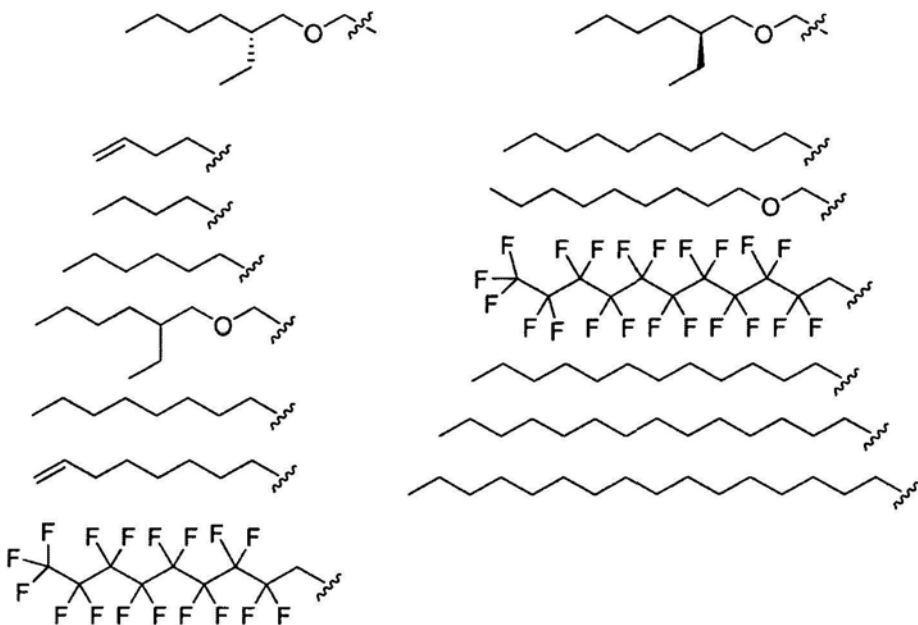


[0198] 在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 经氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 为氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 经全氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 为全氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 为全氟化 $C_{1-20}$ 烷基。在某些实施例中,  $R_1$ 和 $R_3$ 是选自下式:

[0199]

[0200] 在某些实施例中, R<sub>1</sub>和R<sub>3</sub>独立地选自下式:

[0201]

[0202] 在某些实施例中, R<sub>1</sub>和R<sub>3</sub>相同。在某些实施例中, R<sub>1</sub>和R<sub>3</sub>各自独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷

基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_3$ 都为氢。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_3$ 都为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_3$ 都为羟烷基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_3$ 都为氨基烷基。在某些实施例中， $R_1$ 和 $R_3$ 不同。

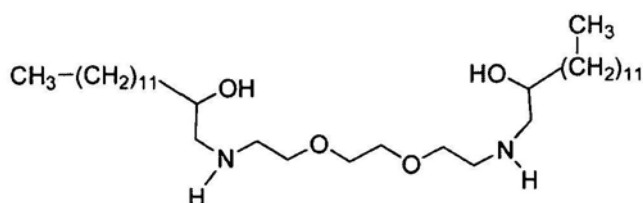
[0203] 在某些实施例中， $R_B$ 为氢。在某些实施例中， $R_B$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_B$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_B$ 为甲基。在某些实施例中， $R_B$ 为乙基。在某些实施例中， $R_B$ 为丙基。在某些实施例中， $R_B$ 为丁基。在某些实施例中， $R_B$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中， $R_B$ 为 $C_1$ - $C_6$ 杂烷基。在某些实施例中， $R_B$ 为 $-CH_2CH(OH)R_E$ 。

[0204] 在某些实施例中， $R_D$ 为氢。在某些实施例中， $R_D$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_D$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_D$ 为甲基。在某些实施例中， $R_D$ 为乙基。在某些实施例中， $R_D$ 为丙基。在某些实施例中， $R_D$ 为丁基。在某些实施例中， $R_D$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中， $R_D$ 为 $C_1$ - $C_6$ 杂烷基。在某些实施例中， $R_D$ 为 $-CH_2CH(OH)R_E$ 。

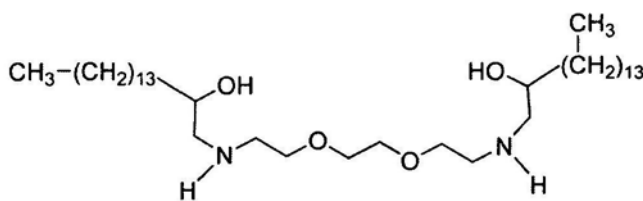
[0205] 在某些实施例中， $R_B$ 和 $R_D$ 相同。在某些实施例中， $R_B$ 和 $R_D$ 各自独立地为氢或 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_B$ 和 $R_D$ 都为氢。在某些实施例中， $R_B$ 和 $R_D$ 都为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_B$ 和 $R_D$ 都为羟烷基。在某些实施例中， $R_B$ 和 $R_D$ 都为氨基烷基。在某些实施例中， $R_B$ 和 $R_D$ 不同。

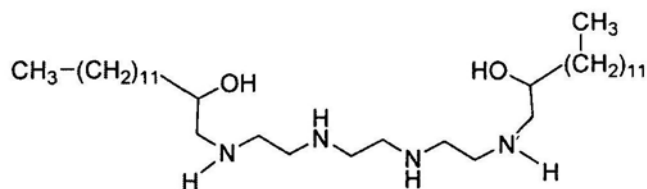
[0206] 在某些实施例中， $R_E$ 为氢。在某些实施例中， $R_E$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_E$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_E$ 为甲基。在某些实施例中， $R_E$ 为乙基。在某些实施例中， $R_E$ 为丙基。在某些实施例中， $R_E$ 为丁基。在某些实施例中， $R_E$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中， $R_E$ 为 $C_1$ - $C_6$ 杂烷基。

[0207] 具体例示性化合物包括：

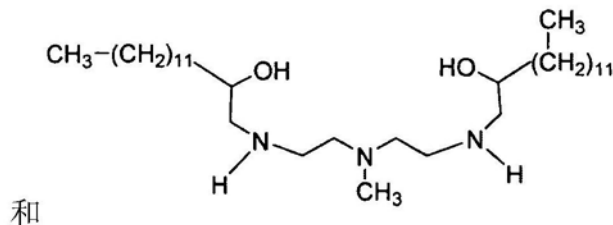


[0208]

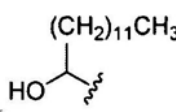
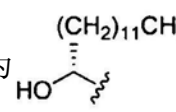
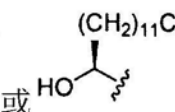




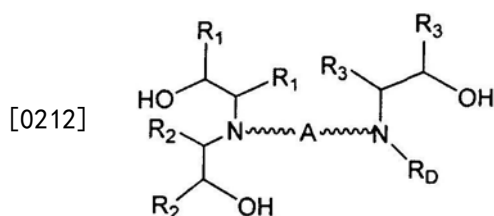
[0209]



和

[0210] 在某些实施例中,各  独立地为  或  。

[0211] 在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式:



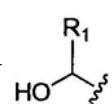
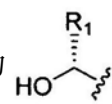
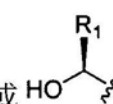
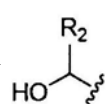
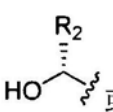
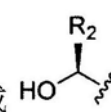
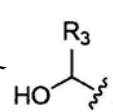
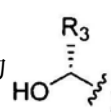
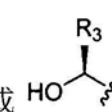
[0213] 其中:

[0214] A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,其任选杂有1个或1个以上独立地选自O、S和N的杂原子,或A为经取代或未经取代、饱和或不饱和4-6元环;

[0215] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地为氢,经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基,其中R<sub>1</sub>在至少一次出现时为氢,R<sub>2</sub>在至少一次出现时为氢且R<sub>3</sub>在至少一次出现时为氢;

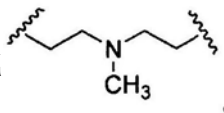
[0216] R<sub>D</sub>为氢,经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基,或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基或-CH<sub>2</sub>CH(OH)R<sub>E</sub>;且

[0217] R<sub>E</sub>为经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基;或其医药学上可接受的盐。

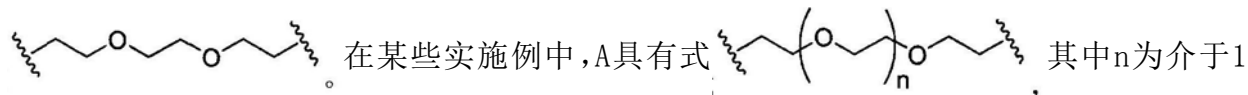
[0218] 在某些实施例中,各  独立地为  或 ; 各  独立地为  或 ; 且各  独立地为  或 。

[0219] 在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个氧原子。在某

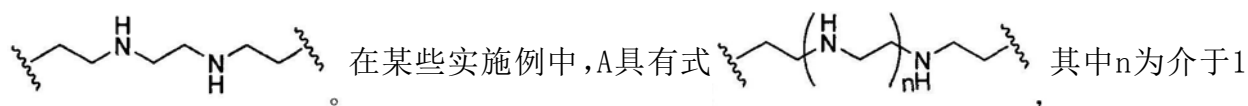


些实施例中,A具有式  在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未

分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氧原子。在某些实施例中,A具有式

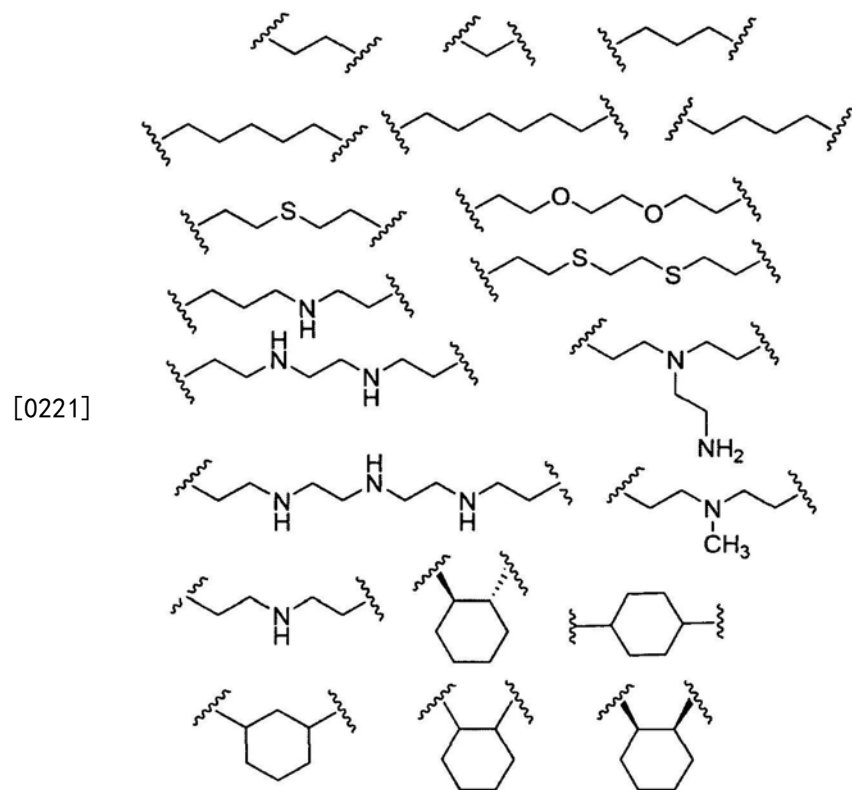



与10之间的整数,包括1和10。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氮原子。在某些实施例中,A具有式





与10之间的整数,包括1和10。

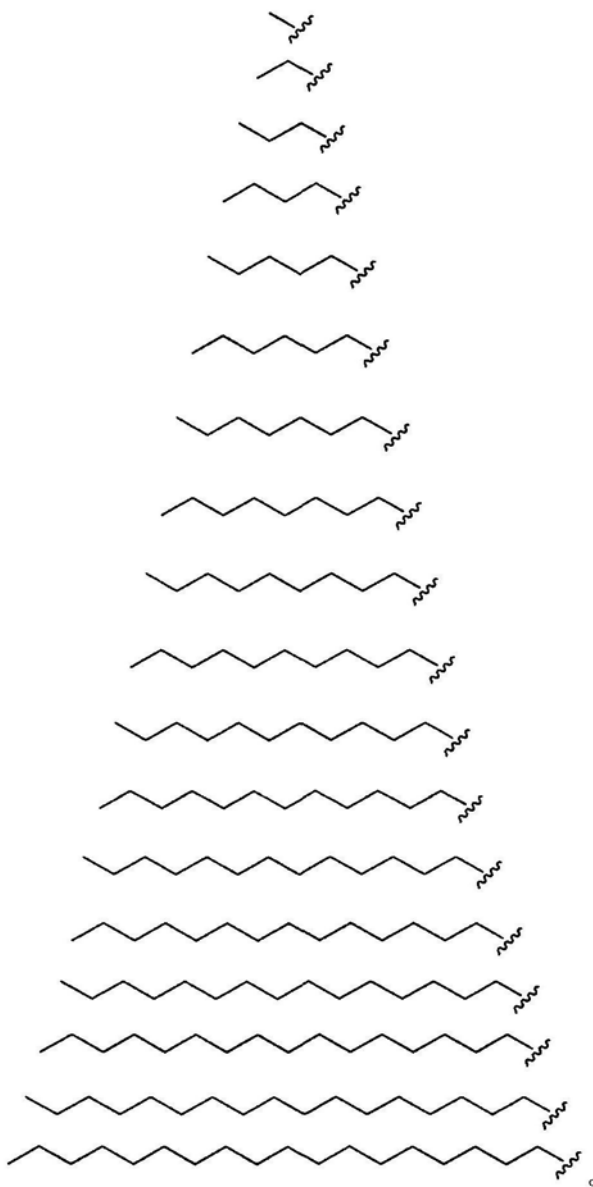
[0220] 在某些实施例中,A是选自下式:



[0222] 在某些实施例中,R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>为氢。在某些实施例中,R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地为未经取代和未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族或C<sub>1-20</sub>杂脂肪族部分。在一些实施例中,R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地为未经取代和未分支C<sub>12</sub>脂肪族基团。在一些实施例中,R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>为 。在一些实施例中,R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地为未经取代和未分支C<sub>13</sub>杂脂肪族基团。在一些实施例中,R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>

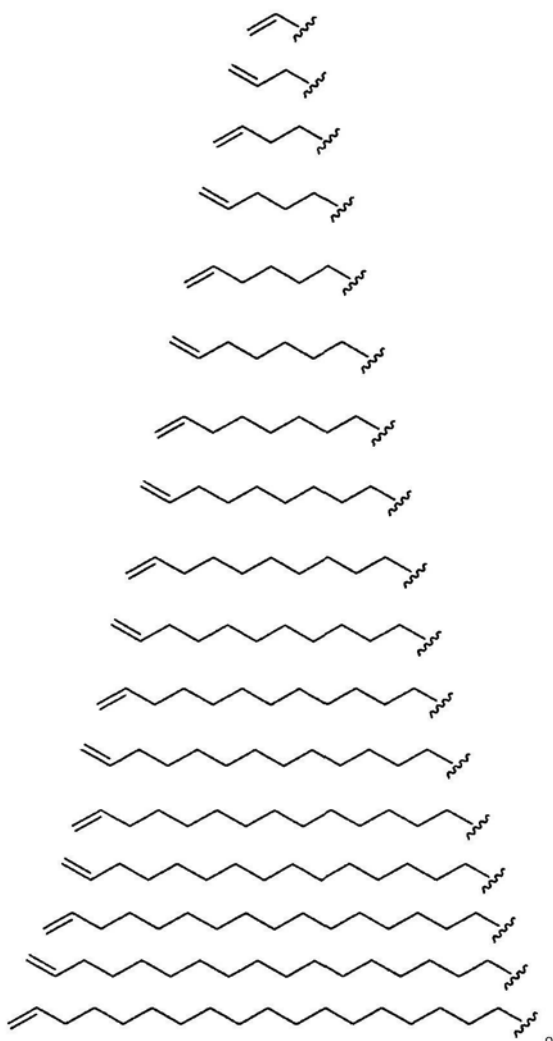
为 。在一些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 独立地为未经取代和未分支  $C_{14}$ 杂脂肪族基团。在一些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 为 。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 独立地选自下式:

[0223]



[0224] 在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 为  $C_{1-20}$ 烯基部分, 任选经取代。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 独立地选自下式:

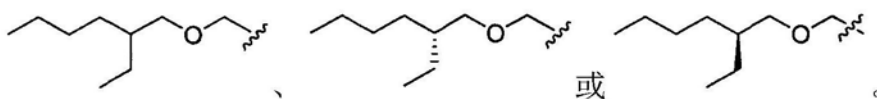
[0225]



[0226] 所属领域的普通技术人员应了解,上述取代基可具有多个不饱和位点,并且可以在取代基内的任何位置也如此。

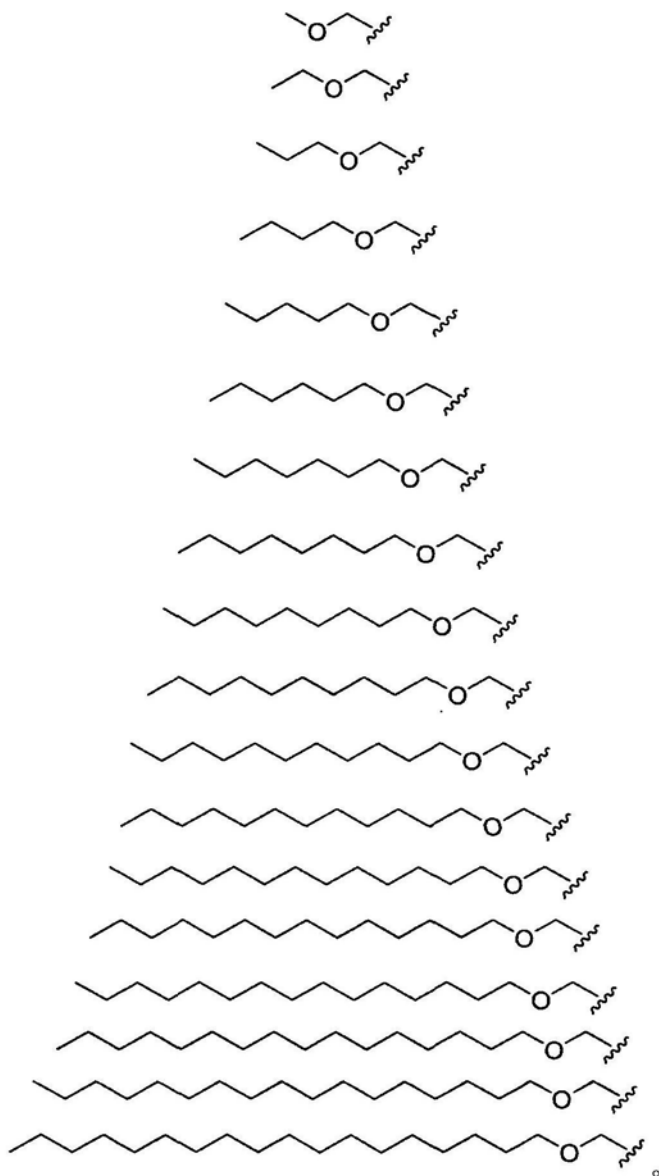
[0227] 在某些实施例中, $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 为:

[0228]



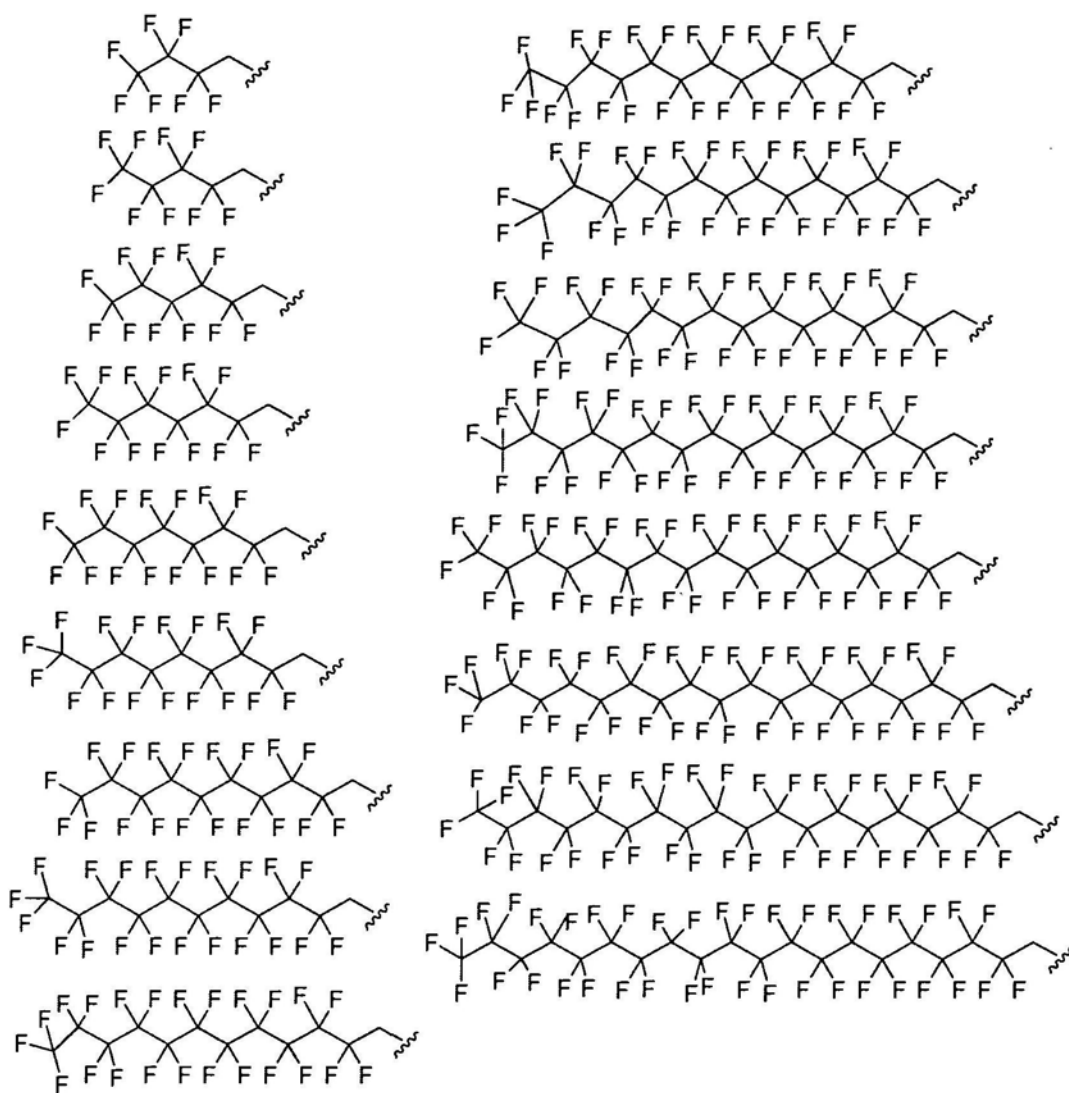
[0229] 在某些实施例中, $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 独立地选自下式:

[0230]

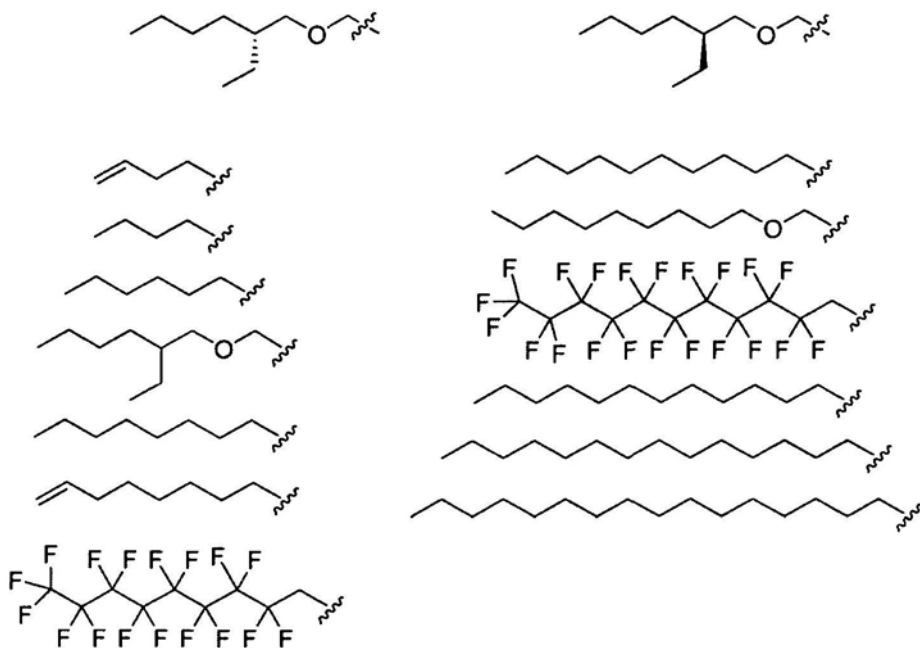


[0231] 在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 经氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 为氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 经全氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 为全氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 为全氟化 $C_{1-20}$ 烷基。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 是选自下式:

[0232]

[0233] 在某些实施例中, R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>和R<sub>3</sub>独立地选自下式:

[0234]

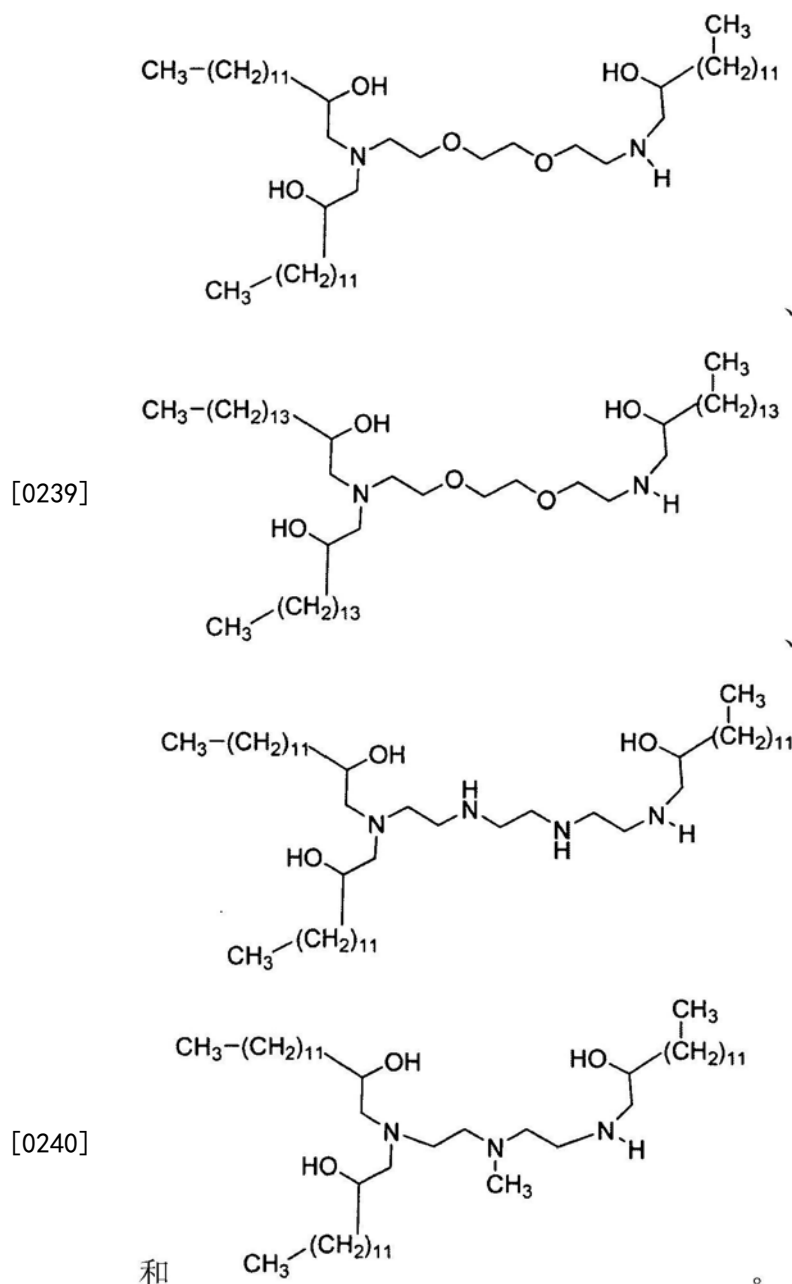


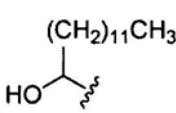
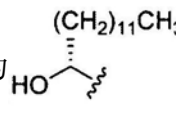
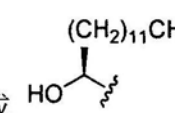
[0235] 在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 全部相同。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 中的至少两者相同。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 和 $R_3$ 全部不同。

[0236] 在某些实施例中,  $R_D$ 为氢。在某些实施例中,  $R_D$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中,  $R_D$ 为 $C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中,  $R_D$ 为甲基。在某些实施例中,  $R_D$ 为乙基。在某些实施例中,  $R_D$ 为丙基。在某些实施例中,  $R_D$ 为丁基。在某些实施例中,  $R_D$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中,  $R_D$ 为 $C_{1-6}$ 杂烷基。在某些实施例中,  $R_D$ 为 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})R_E$ 。

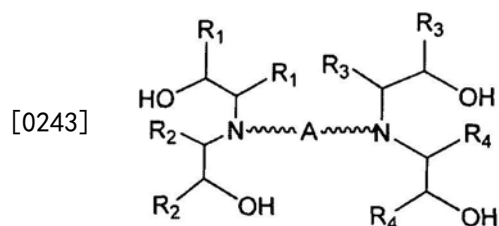
[0237] 在某些实施例中,  $R_E$ 为氢。在某些实施例中,  $R_E$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中,  $R_E$ 为 $C_{1-6}$ 烷基。在某些实施例中,  $R_E$ 为甲基。在某些实施例中,  $R_E$ 为乙基。在某些实施例中,  $R_E$ 为丙基。在某些实施例中,  $R_E$ 为丁基。在某些实施例中,  $R_E$ 为未经取代和未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中,  $R_E$ 为 $C_{1-6}$ 杂烷基。

[0238] 具体例示性化合物包括:



[0241] 在某些实施例中,各  独立地为  或 。

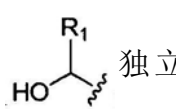
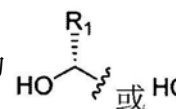
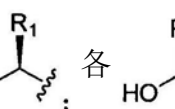
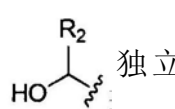
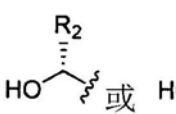
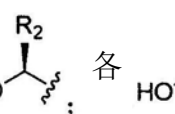
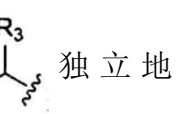
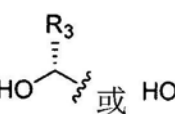
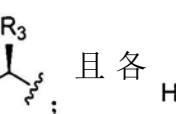
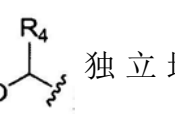
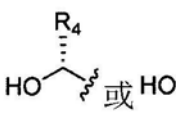
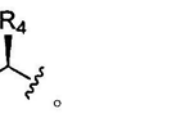
[0242] 在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式:

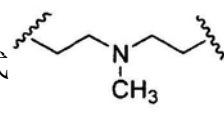


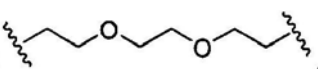
[0244] 其中:

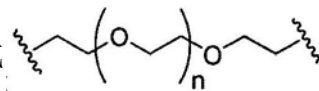
[0245] A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,其任选杂有1个或1个以上独立地选自O、S和N的杂原子,或A为经取代或未经取代、饱和或不饱和4-6元环;且

[0246] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地为氢,经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基,其中R<sub>1</sub>在至少一次出现时为氢,R<sub>2</sub>在至少一次出现时为氢,R<sub>3</sub>在至少一次出现时为氢且R<sub>4</sub>在至少一次出现时为氢;或其医药学上可接受的盐。

[0247] 在某些实施例中,各  独立地为  或 ; 各  独立地为  或 ; 各  独立地为  或 ; 且各  独立地为  或 。



[0248] 在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个氧原子。在某些实施例中,A具有式 。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未

分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氧原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氧原子。在某些实施例中,A具有式 。

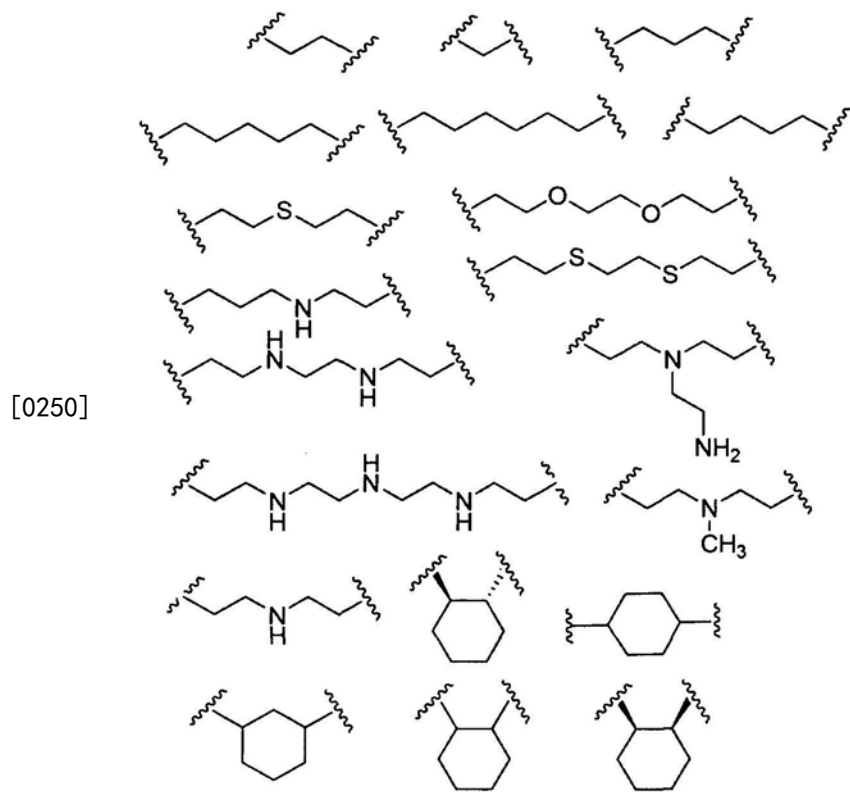
在某些实施例中,A具有式 , 其中n为介于1

与10之间的整数,包括1和10。在某些实施例中,A为经取代或未经取代、分支或未分支、环状或非环状C<sub>2-20</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分


支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有1个或1个以上氮原子。在某些实施例中,A为未经取代、未分支和非环状C<sub>2-10</sub>亚烷基,任选杂有2个氮原子。在某些实施例中,A具有式




 在某些实施例中,A具有式
 
 , 其中n为介于1与10之间的整数,包括1和10。

[0249] 在某些实施例中,A是选自下式:



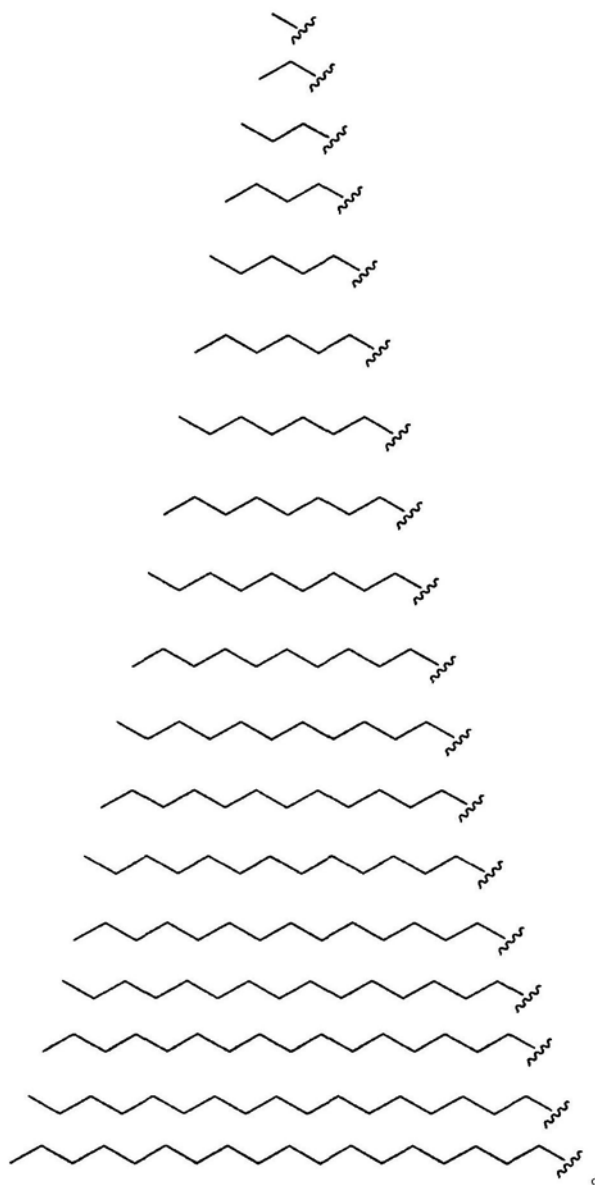
[0251] 在某些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>为氢。在某些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地为未经取代和未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族或C<sub>1-20</sub>杂脂肪族部分。在一些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地为未经取代和未分支C<sub>12</sub>脂肪族基团。在一些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>为

 在一些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地为未经取代和未分支

C<sub>13</sub>杂脂肪族基团。在一些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>为。在一些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地为未经取代和未分支C<sub>14</sub>杂脂肪族基团。在一些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>为。在某些实施例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>和R<sub>4</sub>独立地选自下式：

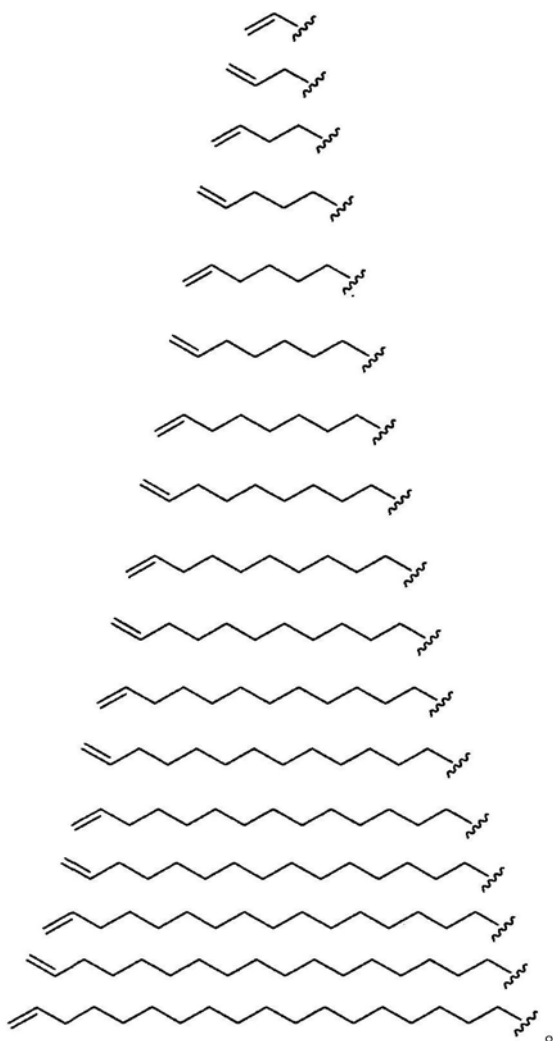


[0252]



[0253] 在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 为 $C_{1-20}$ 烯基部分, 任选经取代。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 独立地选自下式:

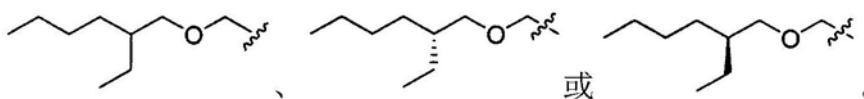
[0254]



[0255] 所属领域的普通技术人员应了解,上述取代基可具有多个不饱和位点,并且可以在取代基内的任何位置也如此。

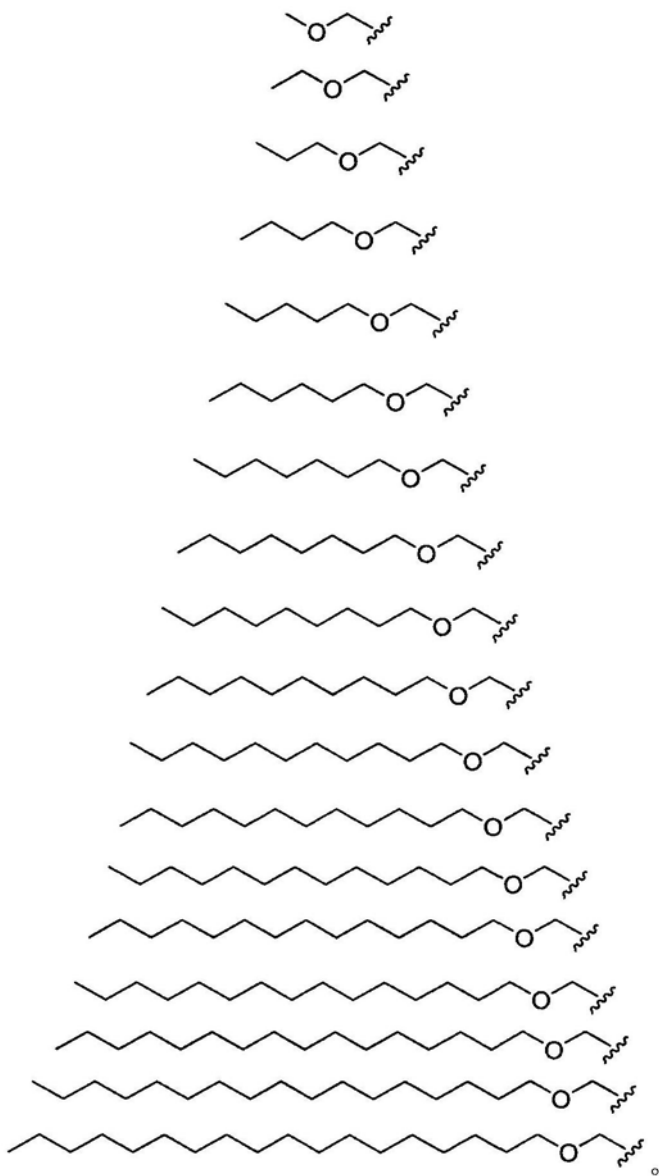
[0256] 在某些实施例中, $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 为:

[0257]



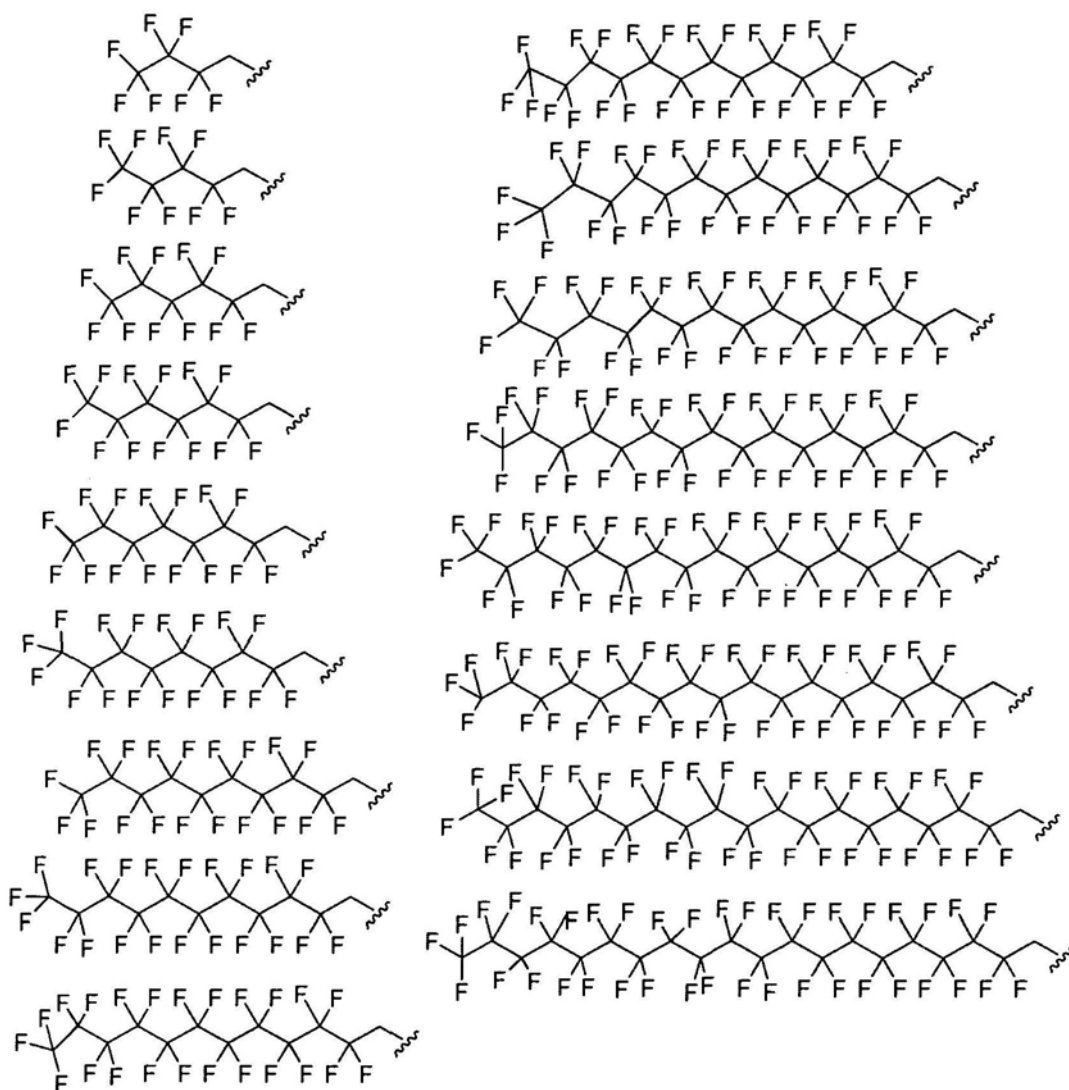
[0258] 在某些实施例中, $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 独立地选自下式:

[0259]

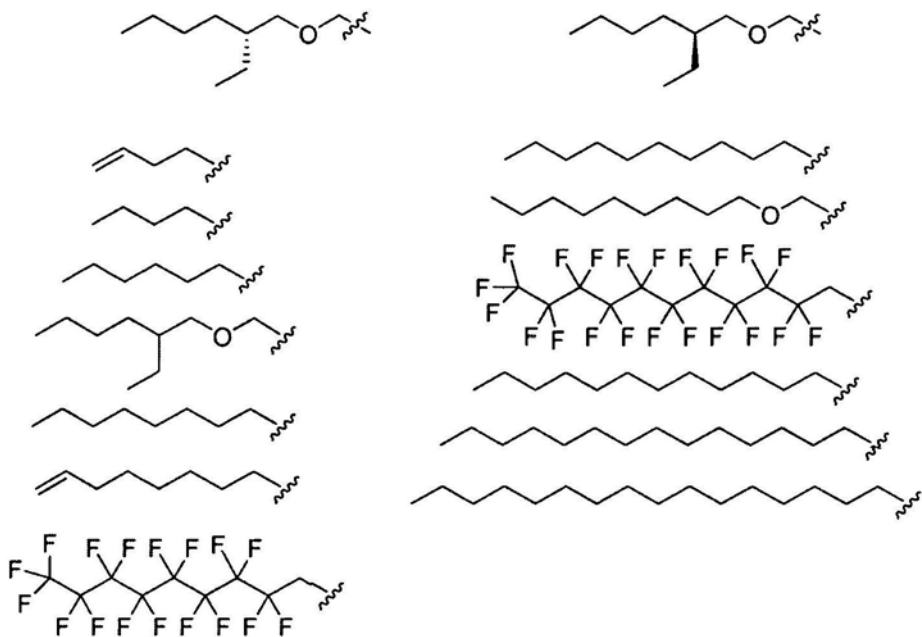


[0260] 在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 经氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 为氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 经全氟化。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 为全氟化脂肪族部分。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 为全氟化 $C_{1-20}$ 烷基。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 是选自下式:

[0261]

[0262] 在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 独立地选自下式:

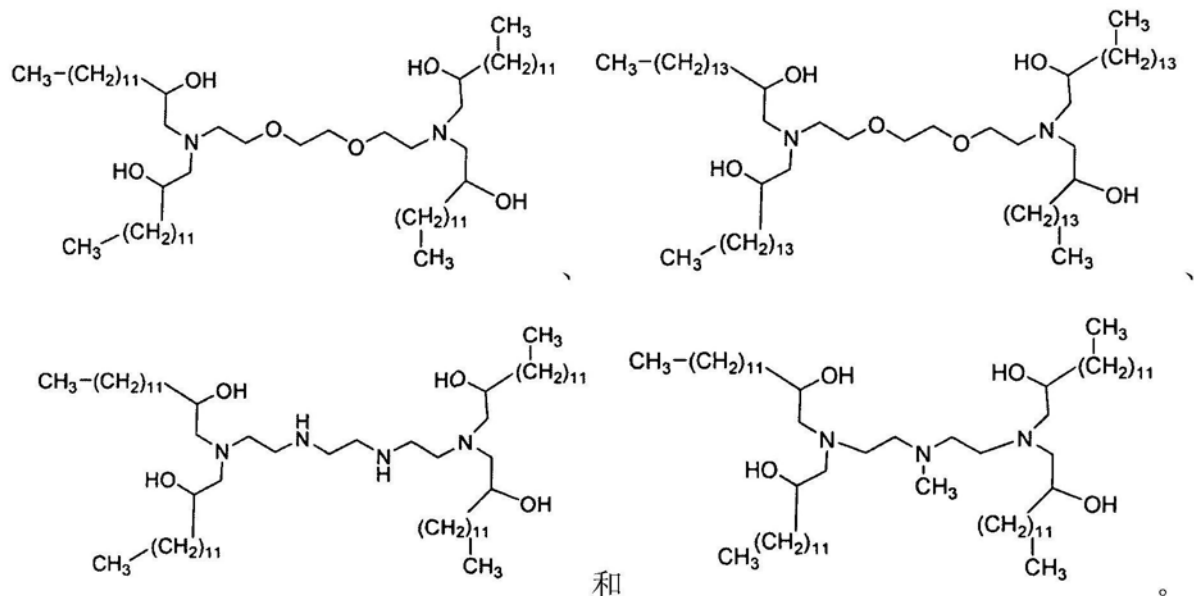
[0263]

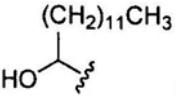
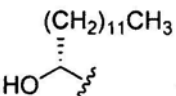
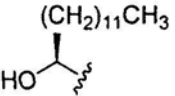


[0264] 在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 全部相同。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 中的至少两者相同。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 中的至少三者相同。在某些实施例中,  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 和 $R_4$ 全部不同。

[0265] 具体例示性化合物包括:

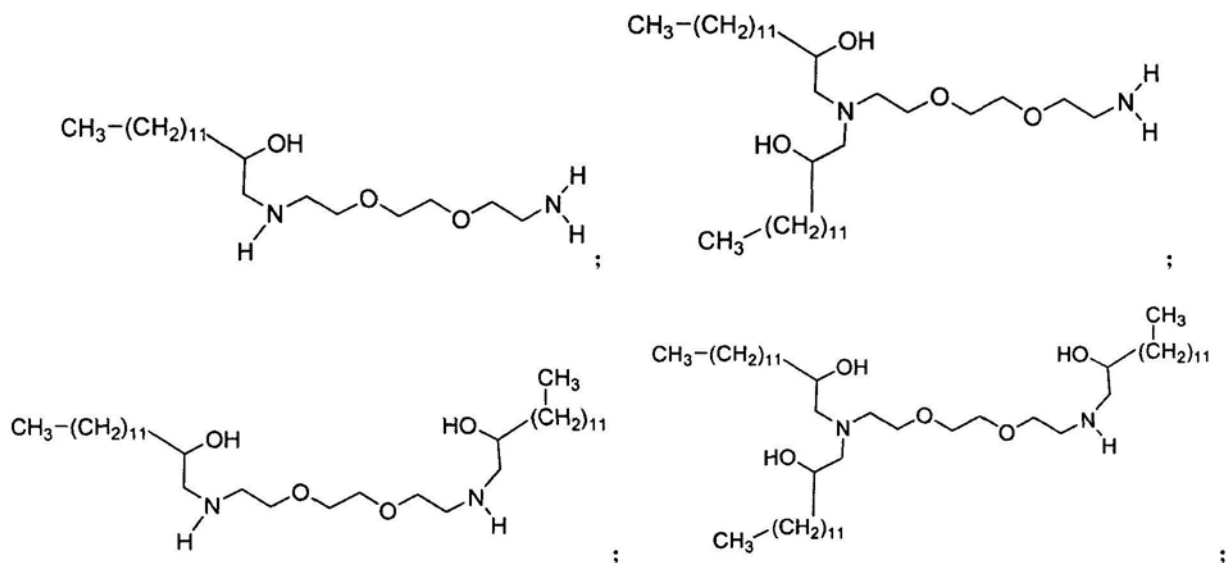
[0266]

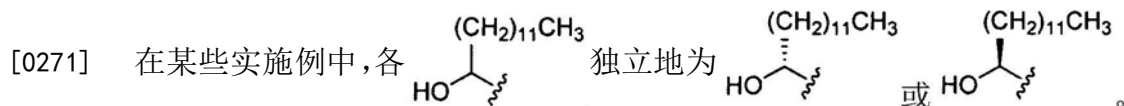
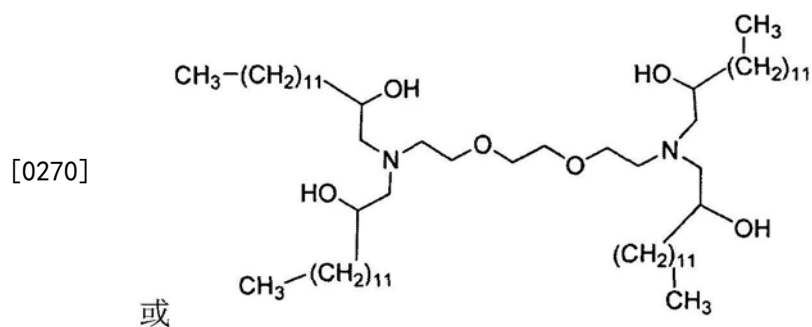


[0267] 在某些实施例中, 各  独立地为  或 。

[0268] 在某些实施例中, 氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组合物是通过使胺120与环氧化物封端化合物C14反应来制备。在某些实施例中, 氨基醇类脂质化合物C14-120为下式之一:

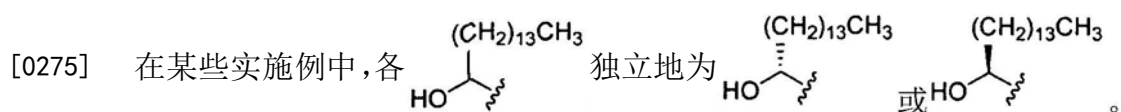
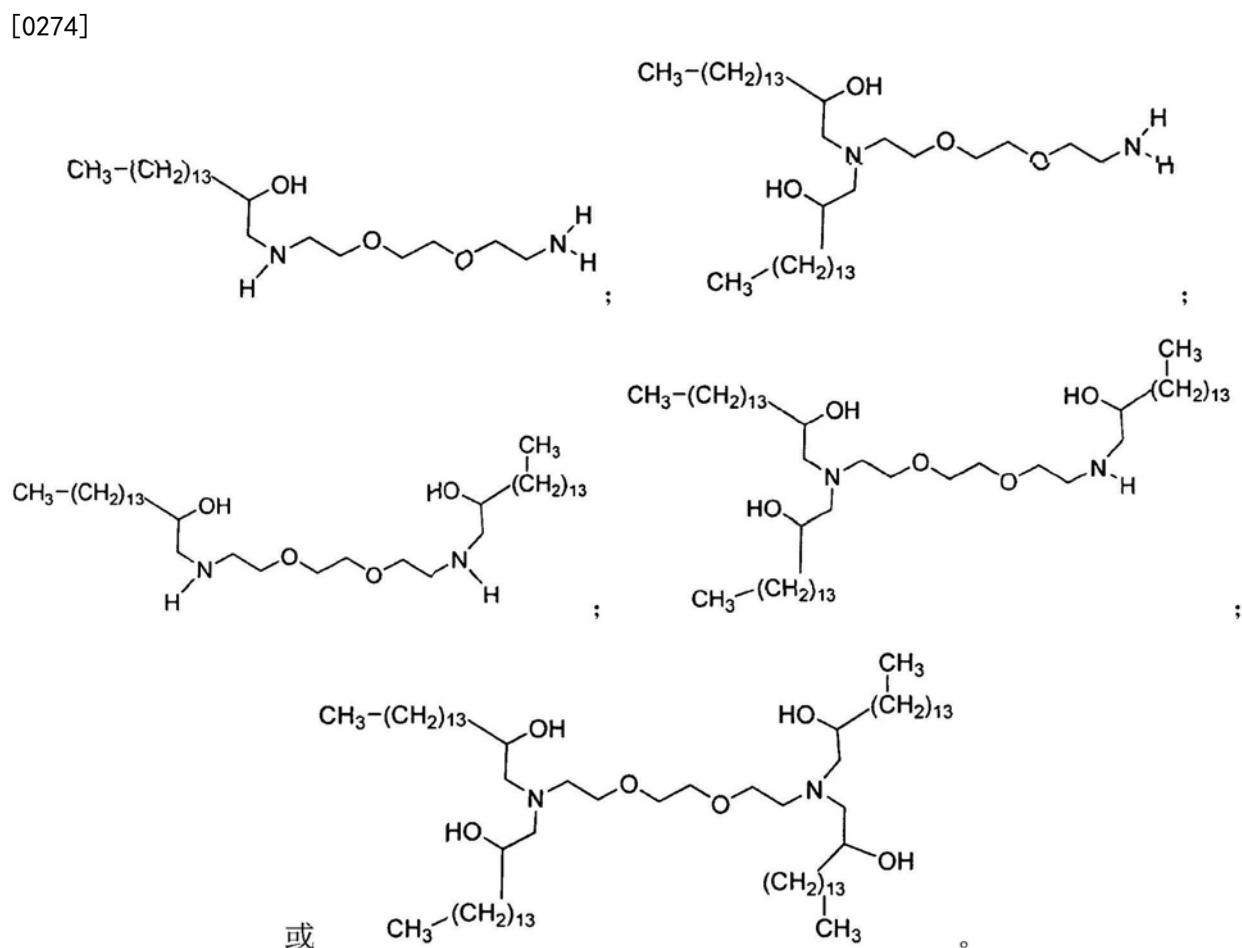
[0269]





[0272] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0273] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组合物是通过使胺120与环氧化物封端化合物C16反应来制备。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物C16-120具有下式之一:

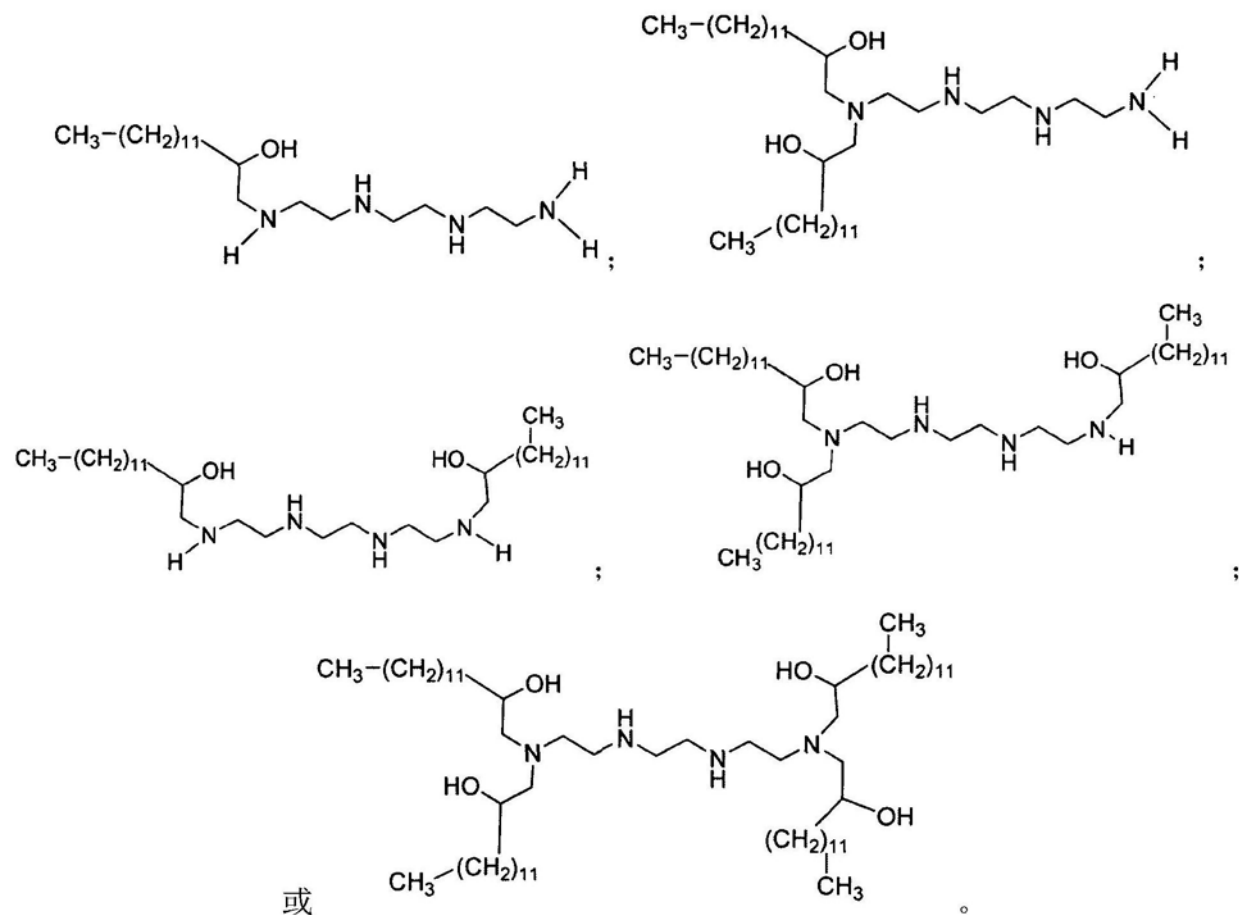


[0276] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质

化合物的组合物。

[0277] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组合物是通过使胺98与环氧化物封端化合物C14反应来制备。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物C14-98具有下式之一:

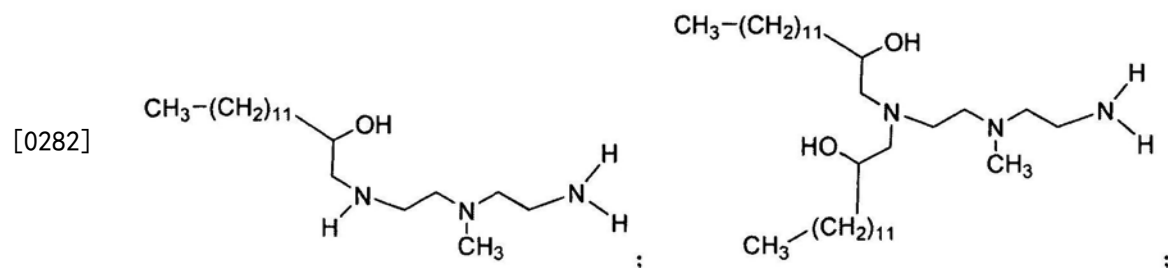
[0278]



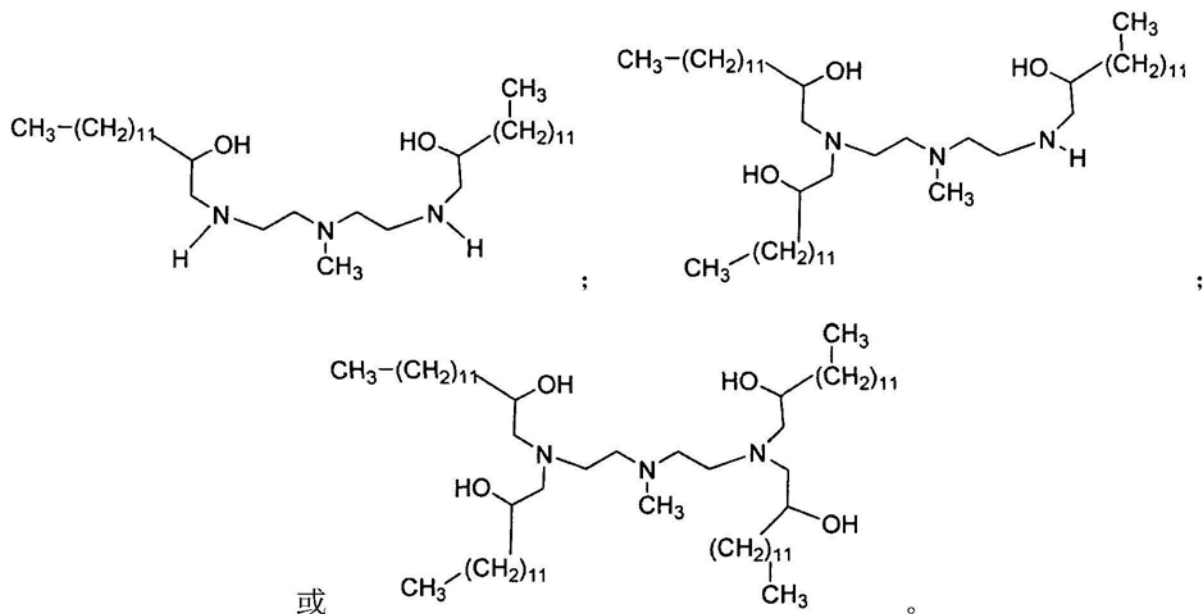
[0279] 在某些实施例中,各  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{11}$  独立地为  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{11}$  或  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{11}$ 。




[0280] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0281] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组合物是通过使胺113与环氧化物封端化合物C14反应来制备。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物C14-113具有下式之一:



[0283]

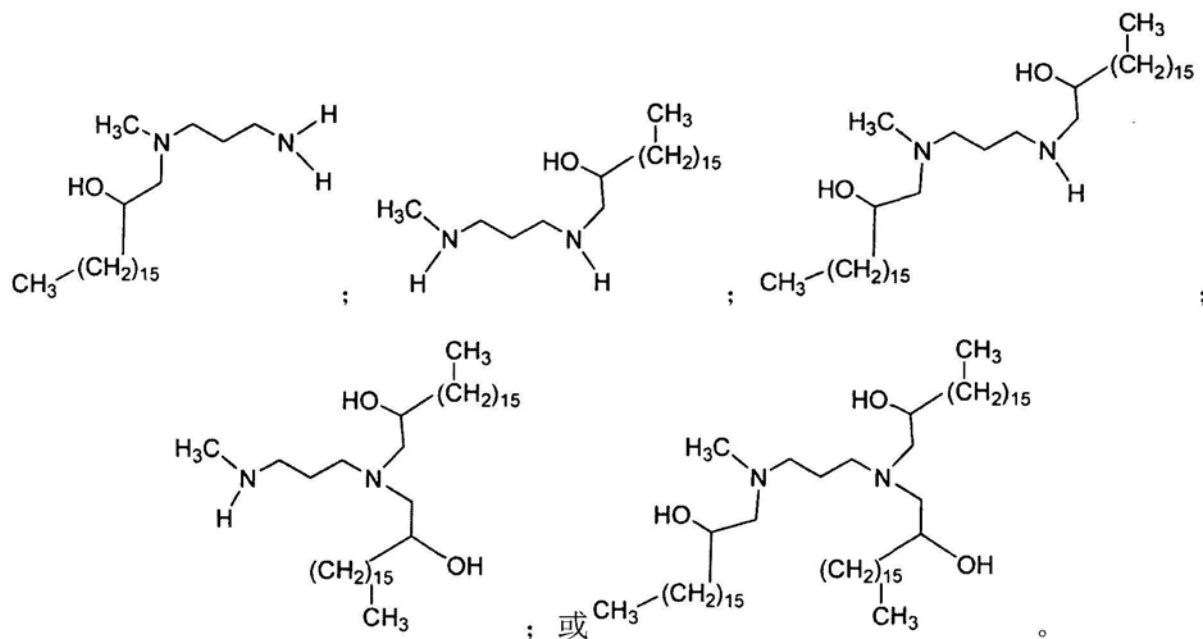


[0284] 在某些实施例中,各  独立地为  或 

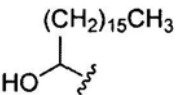
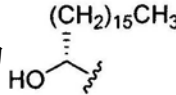
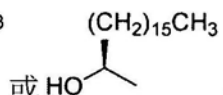
[0285] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0286] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组合物是通过使胺96与环氧化物封端化合物C18反应来制备。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物具有下式之一:

[0287]



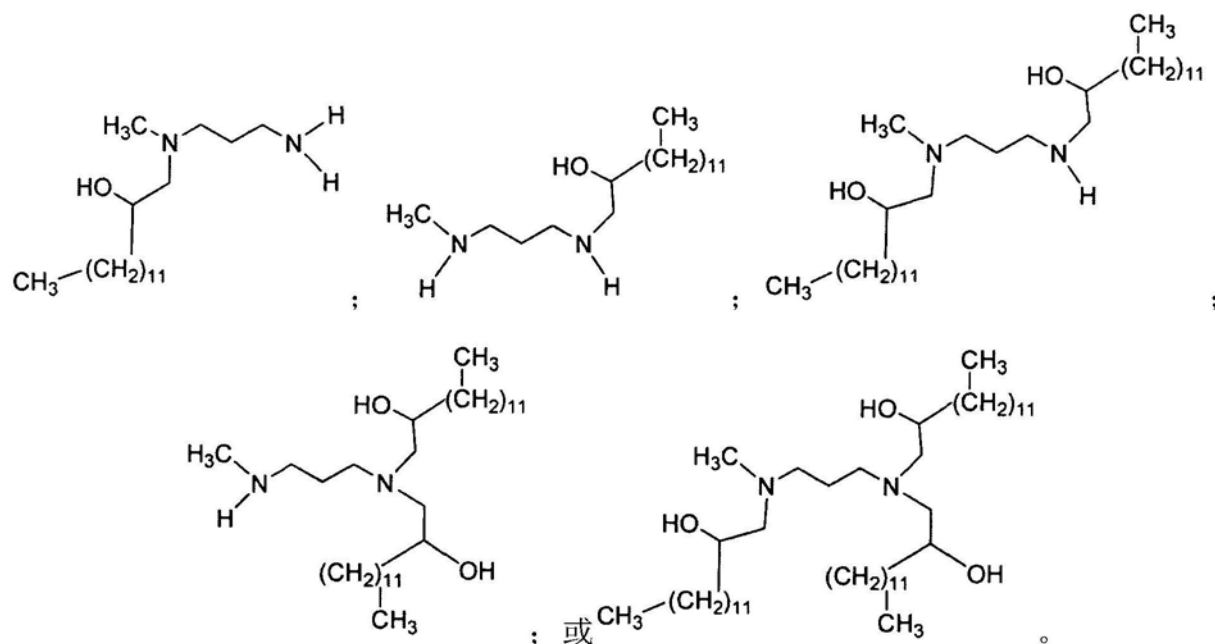


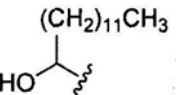
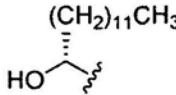
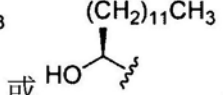
[0288] 在某些实施例中,各  独立地为  或 。

[0289] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0290] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组合物是通过使胺96与环氧化物封端化合物C14反应来制备。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物C14-96具有下式之一:

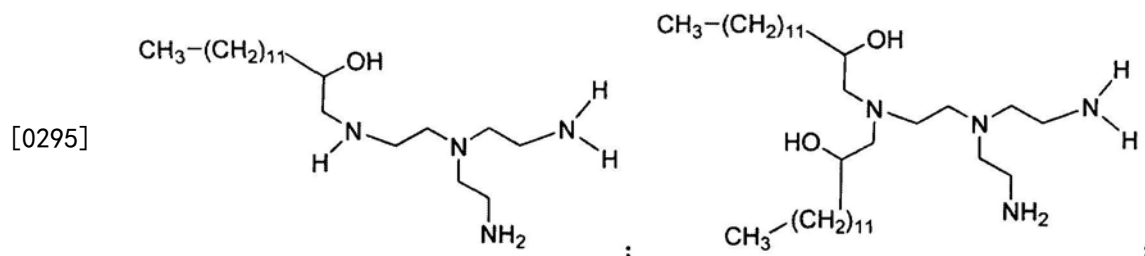
[0291]



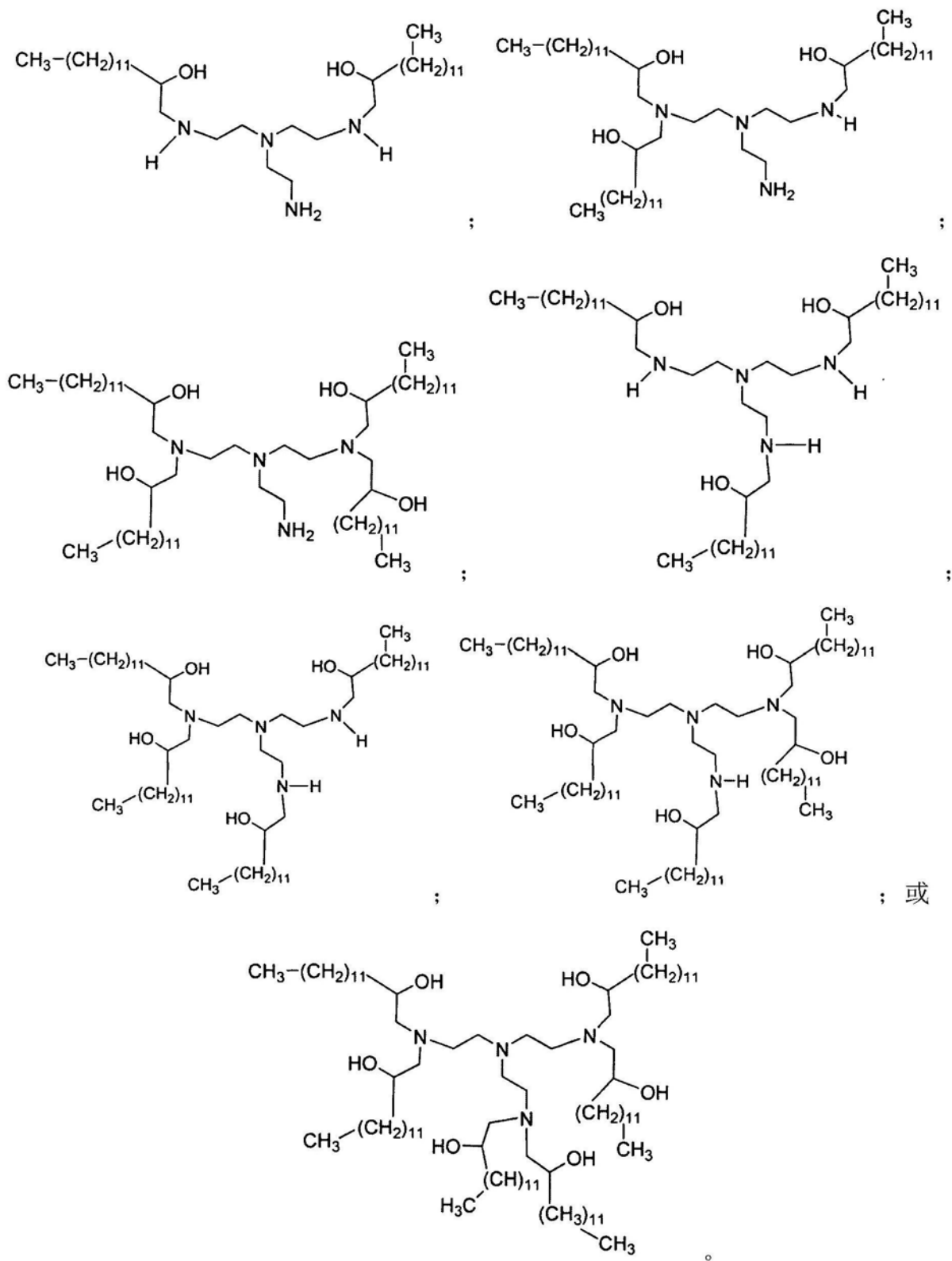
[0292] 在某些实施例中,各  独立地为  或 。




[0293] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0294] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组合物是通过使胺110与环氧化物封端化合物C14反应来制备。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物C14-110具有下式之一:



[0296]

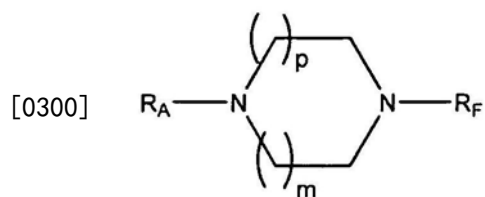


[0297] 在某些实施例中, 各  独立地为  或 

[0298] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质

化合物的组合物。

[0299] 在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式:

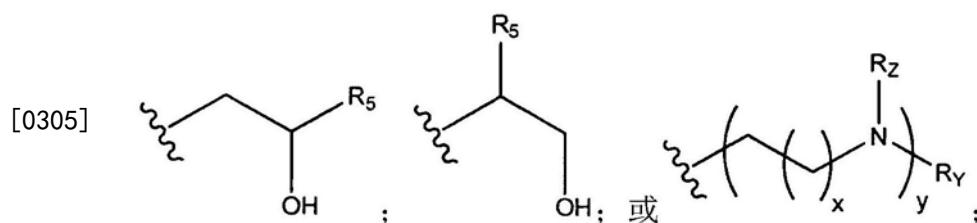


[0301] 其中:

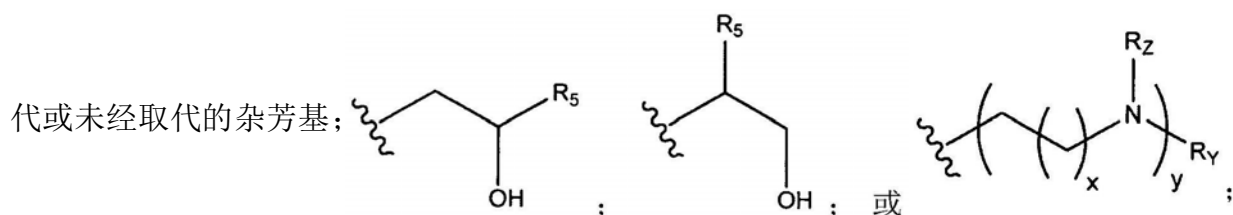
[0302] p为介于1与3之间的整数,包括1和3;

[0303] m为介于1与3之间的整数,包括1和3;

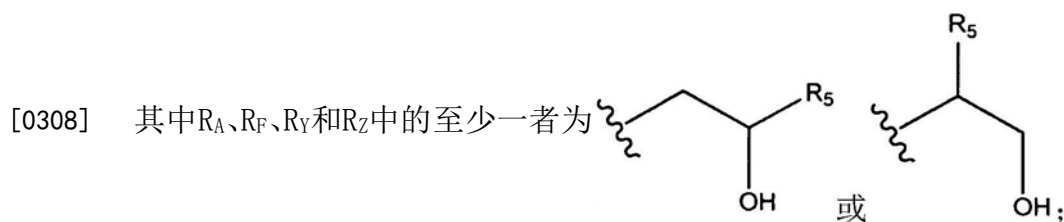
[0304] R<sub>A</sub>为氢;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基;经取代或未经取代的芳基;经取代或未经取代的杂芳基;



[0306] R<sub>F</sub>为氢;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基;经取代或未经取代的芳基;经取代或未经取代的杂芳基;



[0307] R<sub>5</sub>在每次出现时独立地为氢;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基;经取代或未经取代的芳基;或经取代或未经取代的杂芳基;

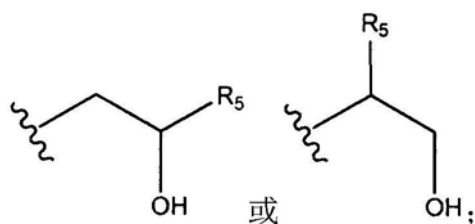


[0309] x在每次出现时为介于1与10之间的整数,包括1和10;

[0310] y在每次出现时为介于1与10之间的整数,包括1和10;

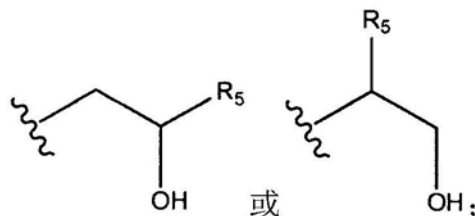
[0311] R<sub>Y</sub>在每次出现时为氢;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基;经取代或未经取代的芳基;或经取代或未经取代的杂芳基;

代的芳基;经取代或未经取代的杂芳基;



[0312]  $R_Z$ 在每次出现时为氢;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基;经取代或未经取

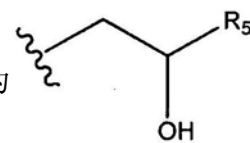
代的芳基;经取代或未经取代的杂芳基;



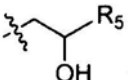
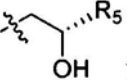
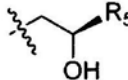
[0313] 或其医药学上可接受的盐。

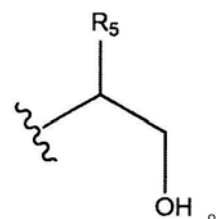
[0314] 在某些实施例中, $R_A$ 为氢。在某些实施例中, $R_A$ 为氢。在某些实施例中, $R_A$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中, $R_A$ 为 $C_1-C_6$ 脂肪族基。在某些实施例中, $R_A$ 为 $C_1-C_6$ 烷基。在某些实施例中, $R_A$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中, $R_A$ 为经取代或未经取代的芳基。在某

些实施例中, $R_A$ 为经取代或未经取代的杂芳基。在某些实施例中, $R_A$ 为

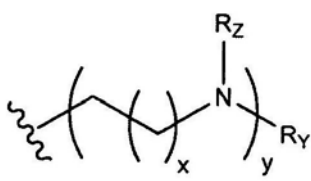


在

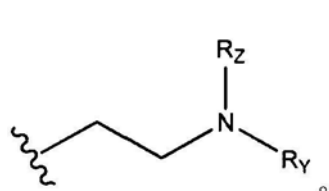
某些实施例中,各  独立地为  或 。在某些实施例中, $R_A$ 为



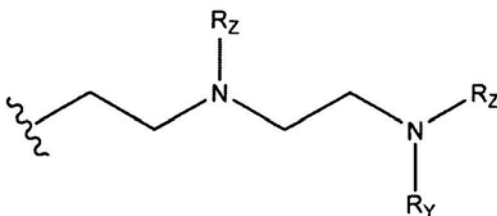
在某些实施例中, $R_A$ 为



在某些实施例中, $R_A$ 为

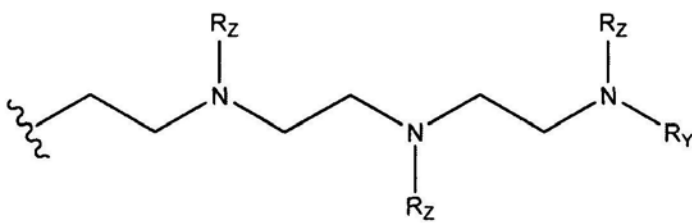


在某些实施例中, $R_A$ 为



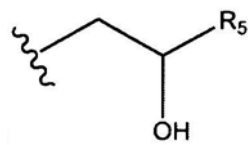
在某

些实施例中, $R_A$ 为

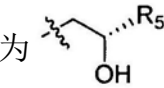
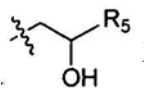


[0315] 在某些实施例中, $R_F$ 为氢。在某些实施例中, $R_F$ 都不为氢。在某些实施例中, $R_F$ 为经

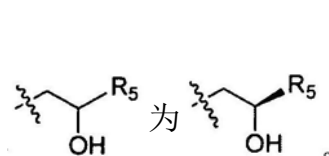
取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_F$ 为 $C_1-C_6$ 脂肪族基。在某些实施例中， $R_F$ 为 $C_1-C_6$ 烷基。在某些实施例中， $R_F$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中， $R_F$ 为经取代或未经取代的芳基。在某些实施例中， $R_F$ 为经取代或未经取代的杂芳基。在某些实施例中， $R_F$ 为



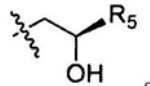
在某些实施例中，各



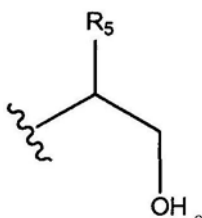
在某些实施例中，各



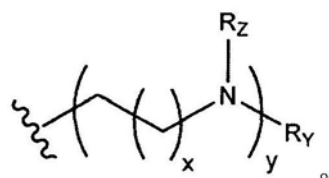
为



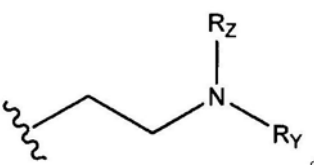
在某些实施例中， $R_F$ 为



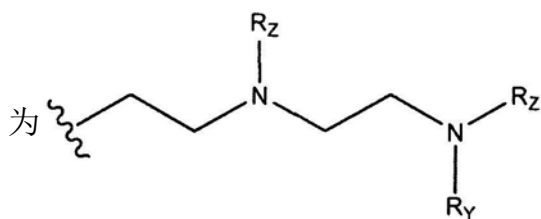
在某些实施例中， $R_F$ 为



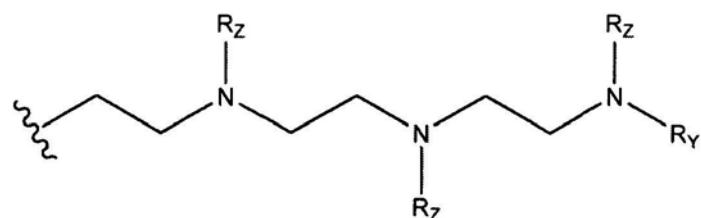
在某些实施例中， $R_F$ 为



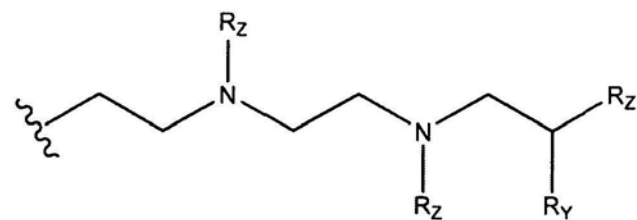
在某些实施例中， $R_F$ 为



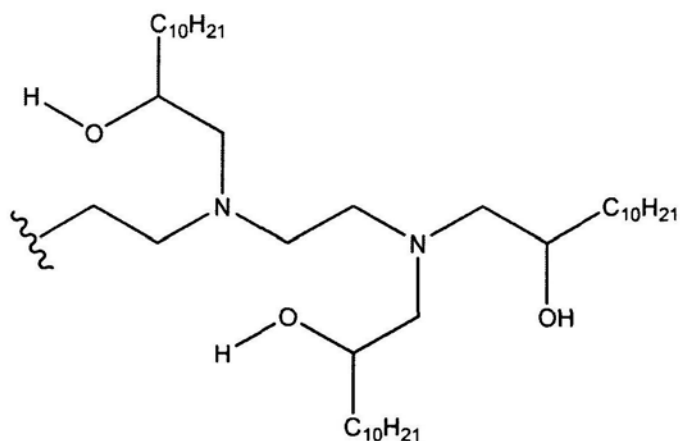
在某些实施例中， $R_F$ 为



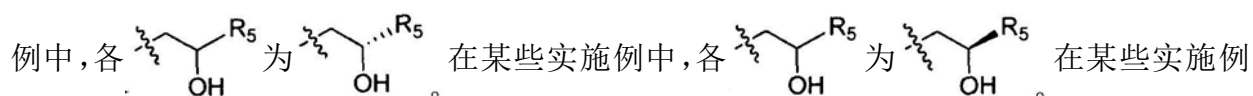
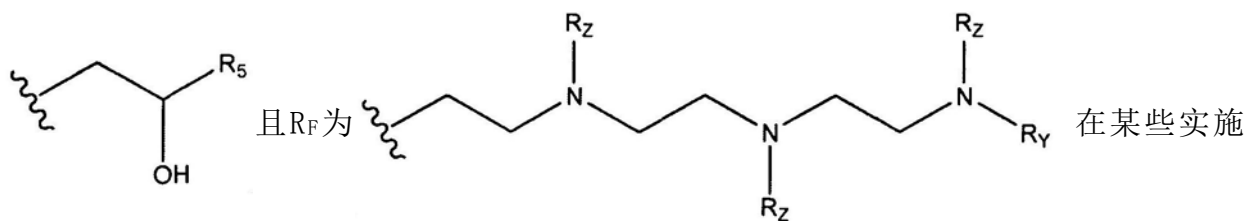
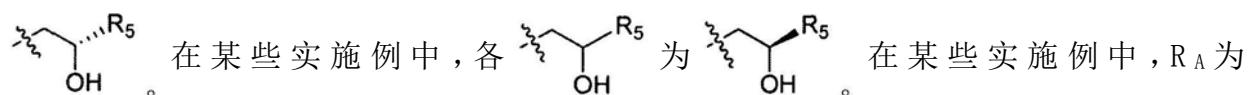
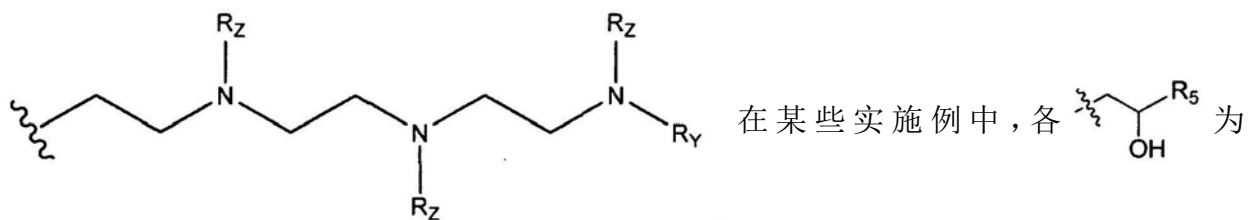
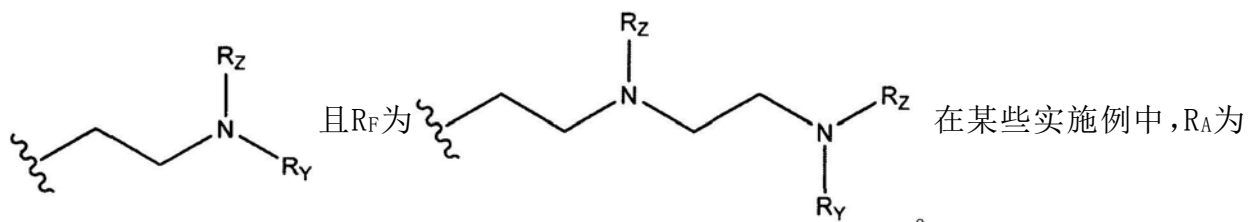
在某些实施例中， $R_F$ 为

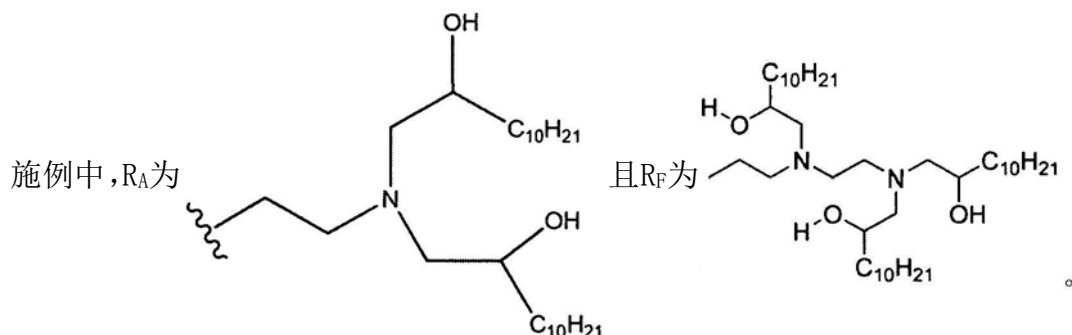
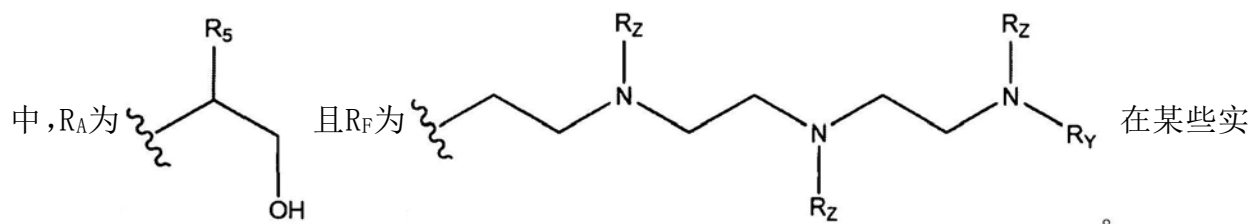


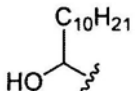
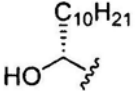
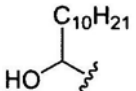
在某些实施例中， $R_F$ 为

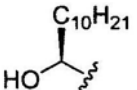


[0316] 在某些实施例中,  $R_A$  都不为氢且  $R_F$  都不为氢。在某些实施例中,  $R_A$  为







[0317] 在某些实施例中, 各  为  在某些实施例中, 各  为

 在某些实施例中,  $m$  为 1。在某些实施例中,  $m$  为 2。在某些实施例中,  $m$  为 3。

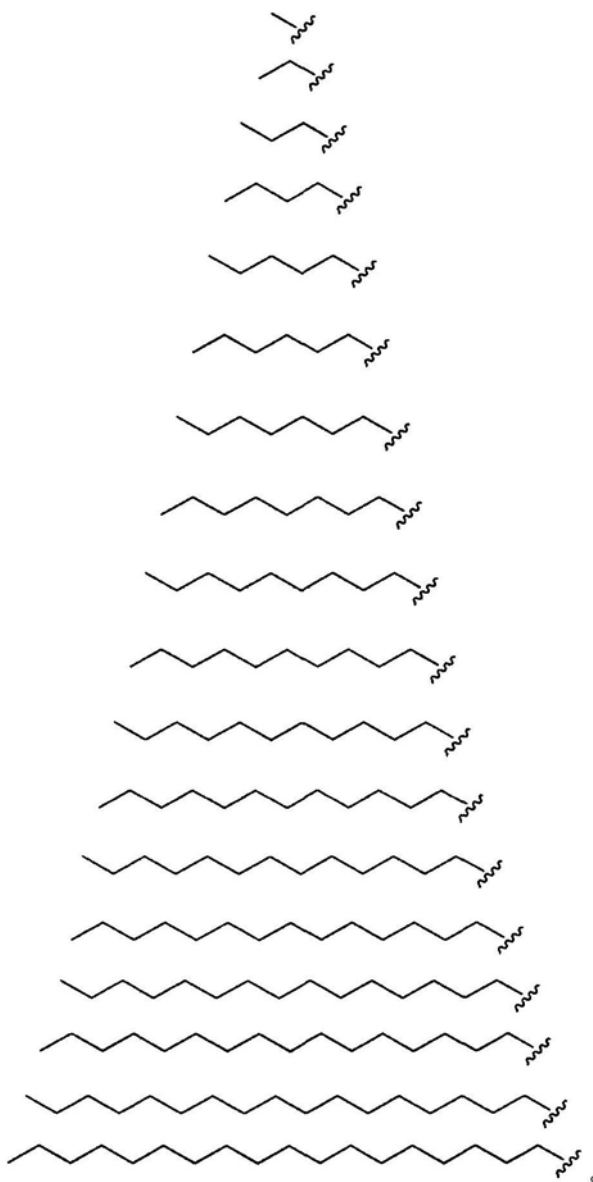
[0318] 在某些实施例中,  $p$  为 1。在某些实施例中,  $p$  为 2。在某些实施例中,  $p$  为 3。

[0319] 在某些实施例中,  $R_5$  为氢。在某些实施例中,  $R_5$  为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支  $C_{1-20}$  脂肪族基。在某些实施例中,  $R_5$  为  $C_8-C_{16}$  脂肪族基。在某些实施例中,  $R_5$  为  $C_8-C_{16}$  烷基。在一些实施例中,  $R_5$  为未经取代和未分支  $C_{10-12}$  脂肪族基团。在一些实施例中,  $R_5$  为  。

在一些实施例中,  $R_5$  为  。

在某些实施例中,  $R_5$  是选自下式:

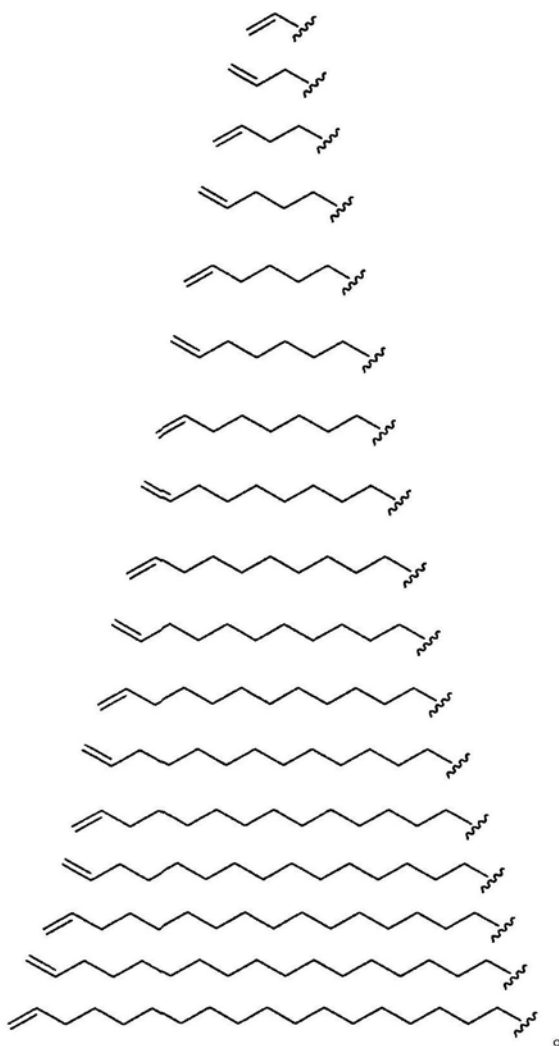
[0320]



[0321] 在某些实施例中,  $R_5$  为  $C_{1-20}$  烯基部分, 任选经取代。在某些实施例中,  $R_5$  是选自下式:

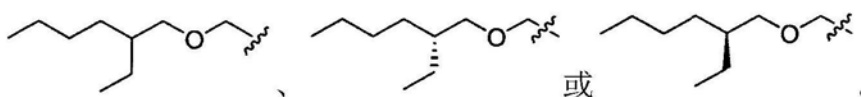


[0322]



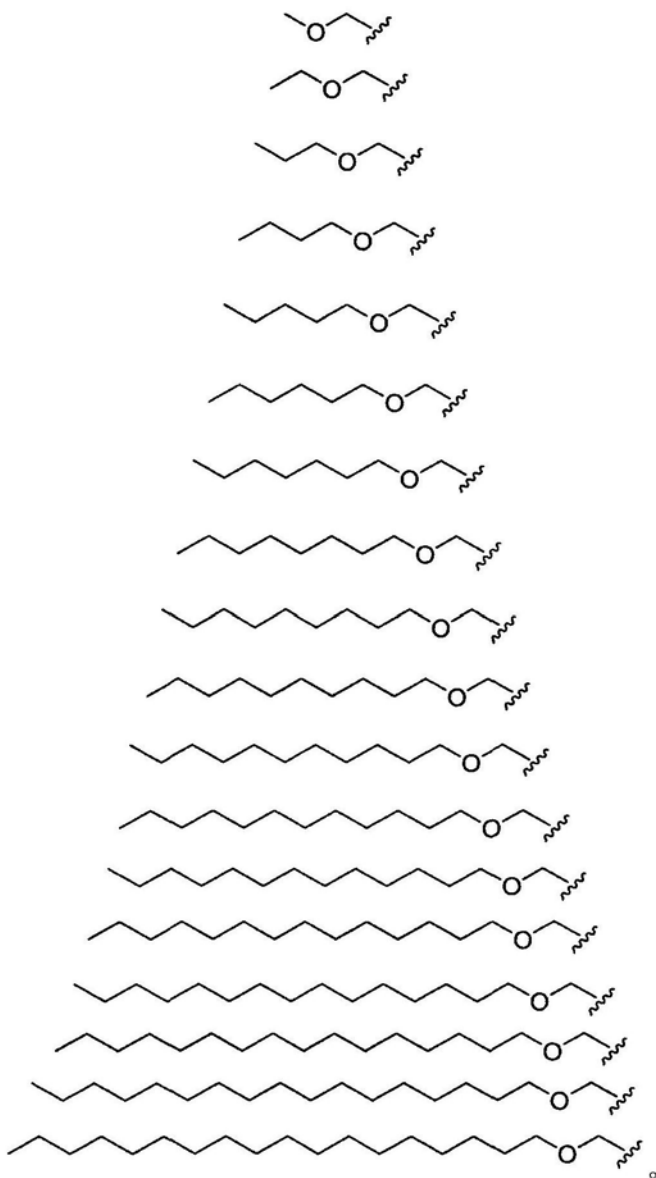
[0323] 在某些实施例中,  $R_5$  为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基。在一些实施例中,  $R_5$  为未经取代和未分支  $C_{13}$  杂脂肪族基团。在一些实施例中,  $R_5$  为未经取代和未分支  $C_{14}$  杂脂肪族基团。在某些实施例中,  $R_5$  为:

[0324]



[0325] 在某些实施例中,  $R_5$  独立地选自下式:

[0326]

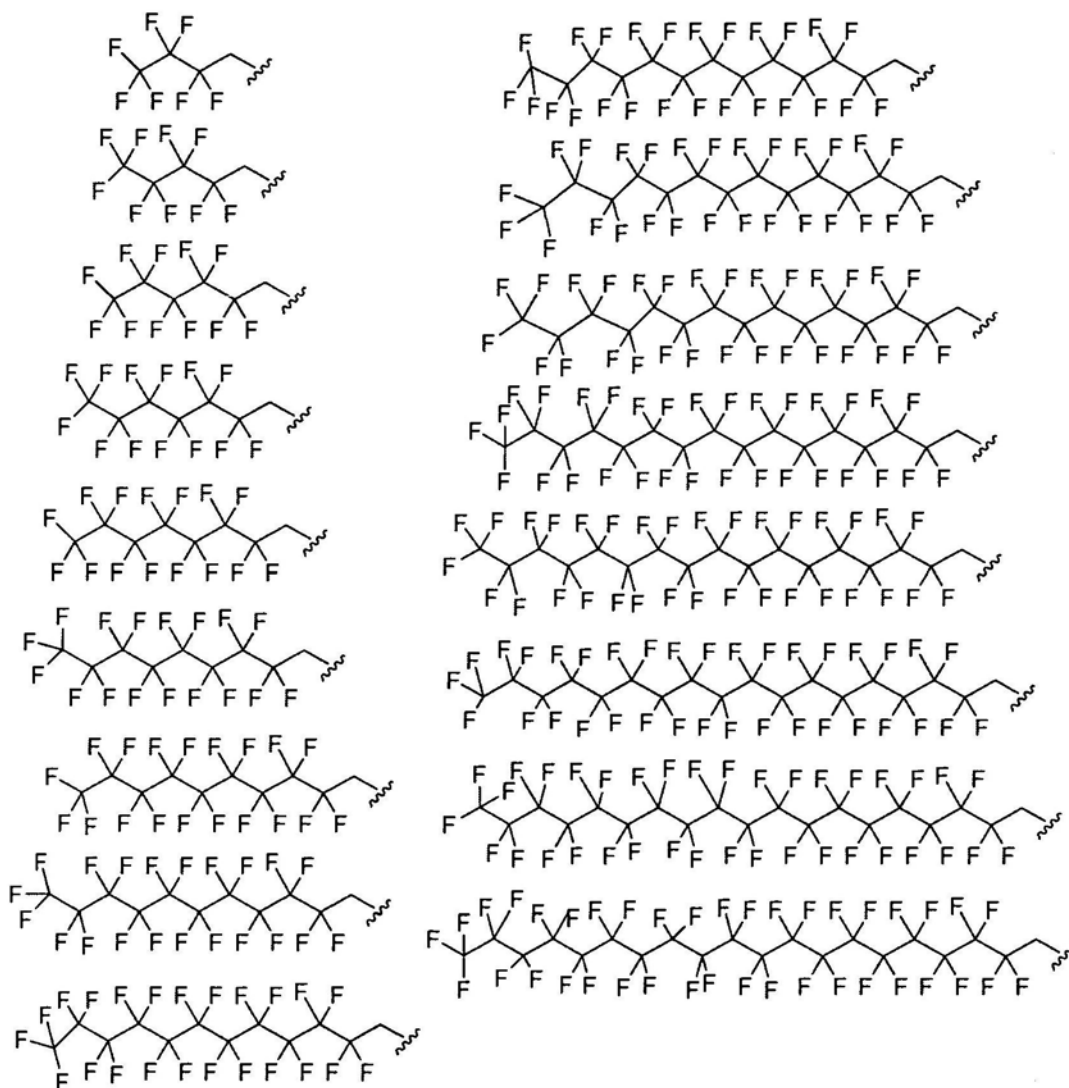


[0327] 所属领域的普通技术人员应了解,上述取代基可具有多个不饱和位点,并且可以在取代基内的任何位置也如此。

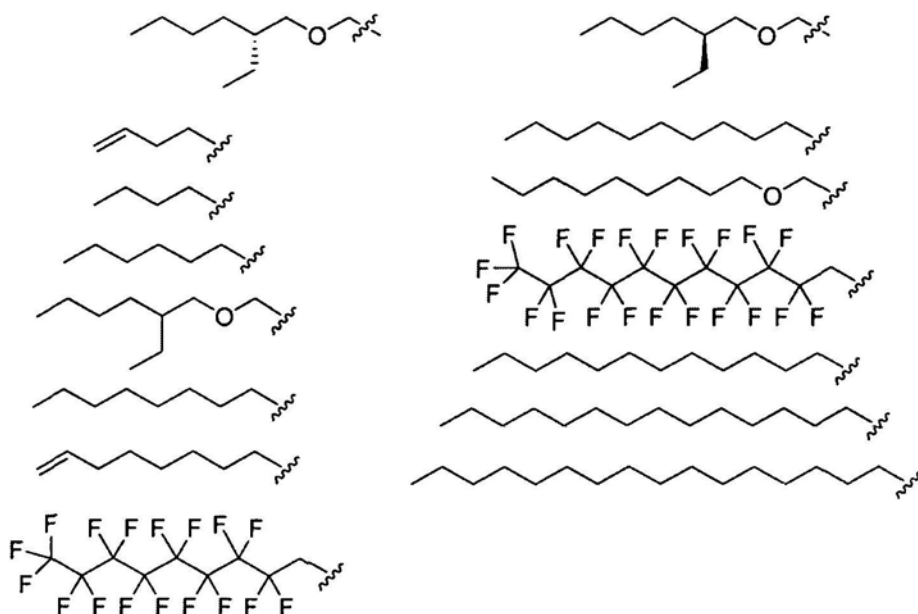
[0328] 在某些实施例中, $R_5$ 为经取代或未经取代的芳基。在某些实施例中, $R_5$ 为经取代或未经取代的杂芳基。

[0329] 在某些实施例中, $R_5$ 经氟化。在某些实施例中, $R_5$ 为氟化脂肪族部分。在某些实施例中, $R_5$ 经全氟化。在某些实施例中, $R_5$ 为全氟化脂肪族部分。在某些实施例中, $R_5$ 为全氟化 $C_{1-20}$ 烷基。在某些实施例中, $R_5$ 是选自下式:

[0330]

[0331] 在某些实施例中, R<sub>5</sub>是选自下式:

[0332]

[0333] 在某些实施例中, 各R<sub>5</sub>独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在某些实施例中, 各R<sub>5</sub>为氢。在某

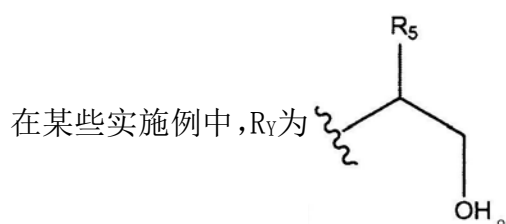
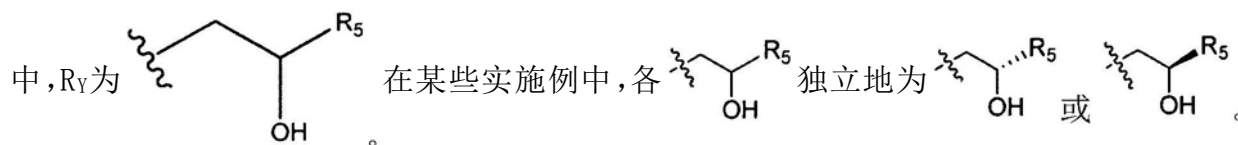
些实施例中,各 $R_5$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中,各 $R_5$ 为羟烷基。在某些实施例中,各 $R_5$ 为氨基烷基。在某些实施例中,两个 $R_5$ 变量相同。在某些实施例中,三个 $R_5$ 变量相同。在某些实施例中,各 $R_5$ 变量互不相同。

[0334] 在某些实施例中,x为1。在某些实施例中,x为2。在某些实施例中,x为3。在某些实施例中,x为4。在某些实施例中,x为5。在某些实施例中,x为6。在某些实施例中,x为7。在某些实施例中,x为8。在某些实施例中,x为9。在某些实施例中,x为10。

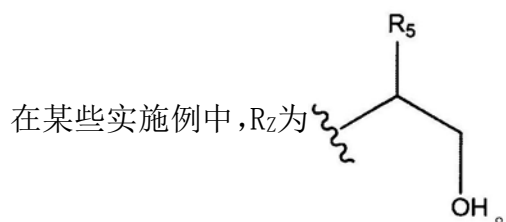
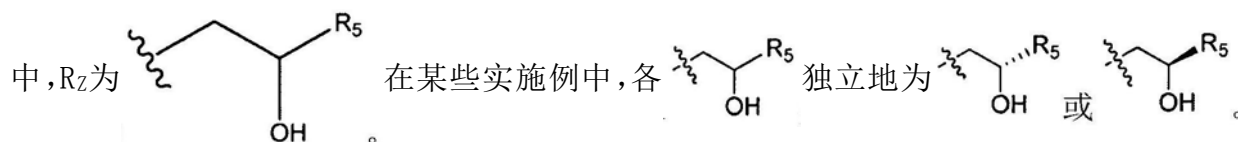
[0335] 在某些实施例中,y为1。在某些实施例中,y为2。在某些实施例中,y为3。在某些实施例中,y为4。在某些实施例中,y为5。在某些实施例中,y为6。在某些实施例中,y为7。在某些实施例中,y为8。在某些实施例中,y为9。在某些实施例中,y为10。

[0336] 在某些实施例中,x为1且y为2。在某些实施例中,x为1且y为3。在某些实施例中,x为1且y为4。在某些实施例中,x为1且y为5。在某些实施例中,x为2且y为2。在某些实施例中,x为2且y为3。

[0337] 在某些实施例中, $R_Y$ 为氢。在某些实施例中, $R_Y$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中, $R_Y$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中, $R_Y$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中, $R_Y$ 为经取代或未经取代的芳基。在某些实施例中, $R_Y$ 为经取代或未经取代的杂芳基。在某些实施例中,

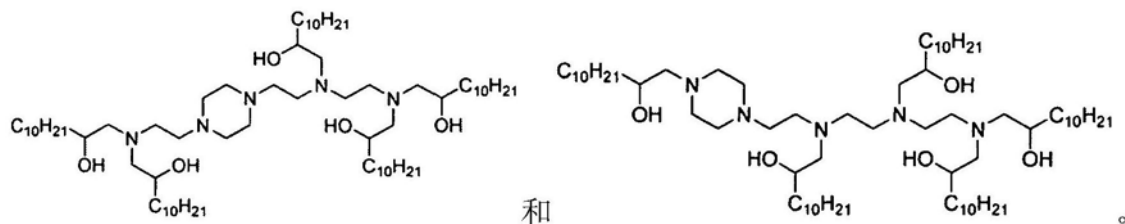


[0338] 在某些实施例中, $R_Z$ 为氢。在某些实施例中, $R_Z$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中, $R_Y$ 为 $C_1$ - $C_6$ 烷基。在某些实施例中, $R_Z$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中, $R_Z$ 为经取代或未经取代的芳基。在某些实施例中, $R_Z$ 为经取代或未经取代的杂芳基。在某些实施例中,



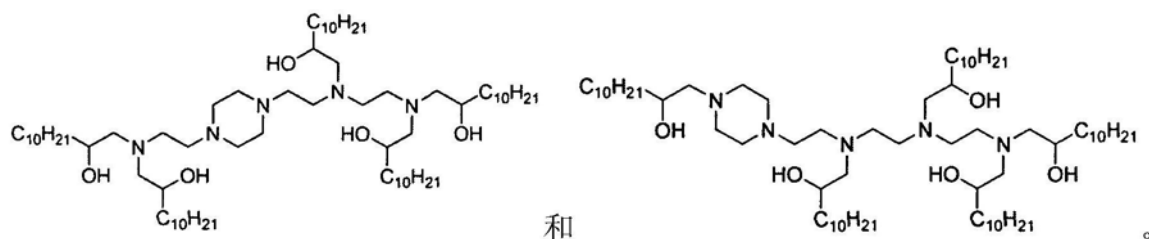
[0339] 具体例示性化合物包括:

[0340]



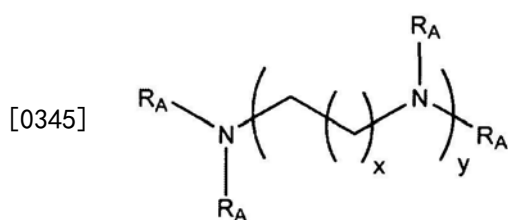
[0341] 在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质化合物包含下式的混合物:

[0342]



[0343] 在某些实施例中,各 独立地为 或 .

[0344] 在某些实施例中,本发明的氨基醇类脂质化合物具有下式:



[0346] 其中:

[0347]  $R_A$  在每次出现时独立地为氢;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支  $C_{1-20}$  脂肪族基;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基;经取代或

未经取代的芳基;经取代或未经取代的杂芳基;

其中

或

至少一个  $R_A$  为

或

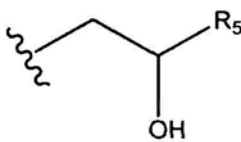
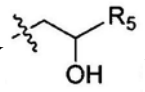
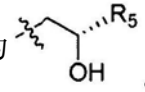
[0348]  $R_5$  在每次出现时独立地为氢;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支  $C_{1-20}$  脂肪族基;经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基;经取代或未经取代的芳基;或经取代或未经取代的杂芳基;

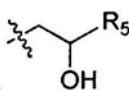
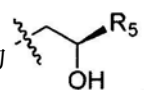
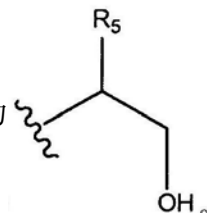
[0349]  $x$  在每次出现时为介于1与10之间的整数,包括1和10;

[0350]  $y$ 在每次出现时为介于1与10之间的整数,包括1和10;

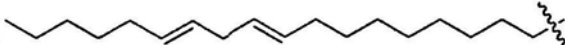
[0351] 或其医药学上可接受的盐。

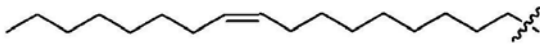
[0352] 在某些实施例中, $R_A$ 为氢。在某些实施例中, $R_A$ 都不为氢。在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为氢。在某些实施例中, $R_A$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基。在某些实施例中, $R_A$ 为经取代或未经取代的芳基。在某些实施例中, $R_A$ 为经取代或未经取代的杂芳基。在某些实施例中,两个 $R_A$ 一起可形成环状结构。在某些实施例中,至少一个


个 $R_A$ 为  在某些实施例中,各  为  在某些实施例中,各

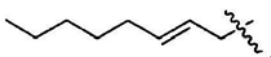
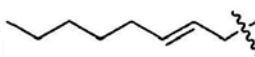
 独立地为  在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为  在某些实施

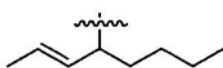
例中, $R_A$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为烯基。在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为

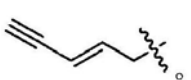
 在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为

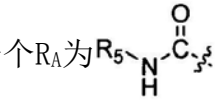
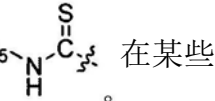
 在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为

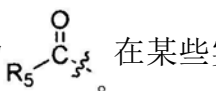

 在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为

 在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为  在某些实施例中,



至少一个 $R_A$ 为  在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为炔基。在某些实施例中,至

少一个 $R_A$ 为  在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基团。在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为杂脂肪族基团。在某些

些实施例中,至少一个 $R_A$ 为  在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为  在某些实施

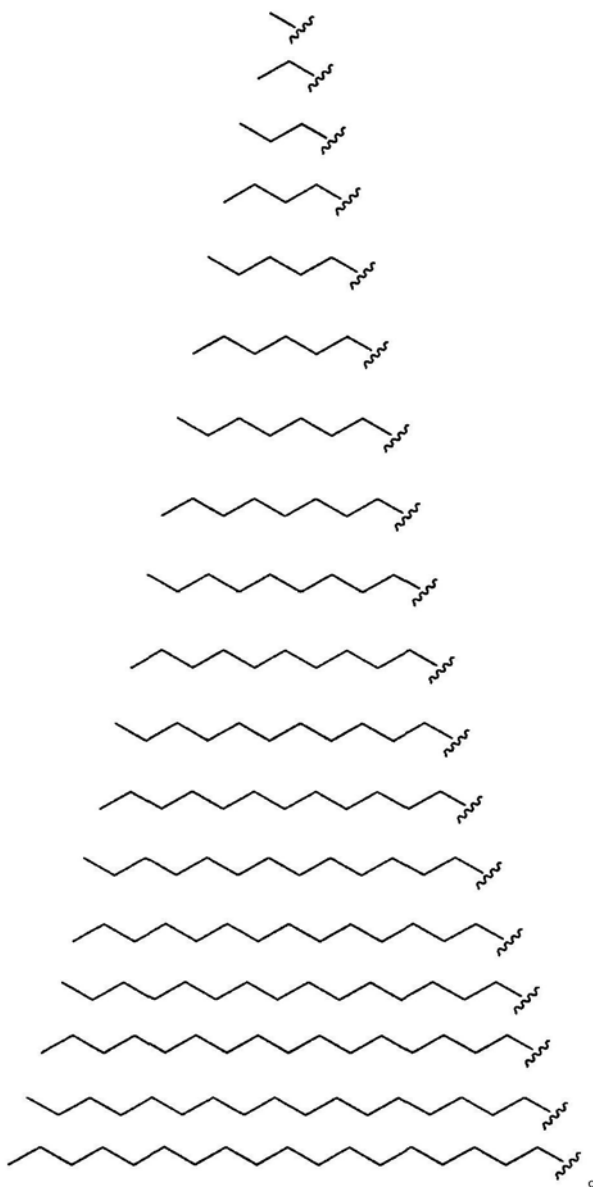
例中,至少一个 $R_A$ 为  在某些实施例中,至少一个 $R_A$ 为  在某些实施例中,两

个 $R_A$ 变量相同。在某些实施例中,三个 $R_A$ 变量相同。在某些实施例中,各 $R_A$ 变量互不相同。

[0353] 在某些实施例中, $R_5$ 为氢。在某些实施例中, $R_5$ 为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支 $C_{1-20}$ 脂肪族基。在某些实施例中, $R_5$ 为 $C_8-C_{16}$ 脂肪族基。在某些实施例中, $R_5$ 为 $C_8-C_{16}$ 烷基。在一些实施例中, $R_5$ 为未经取代和未分支 $C_{10-12}$ 脂肪族基团。在一些实施例中, $R_5$ 为  在一些实施例中, $R_5$ 为  。

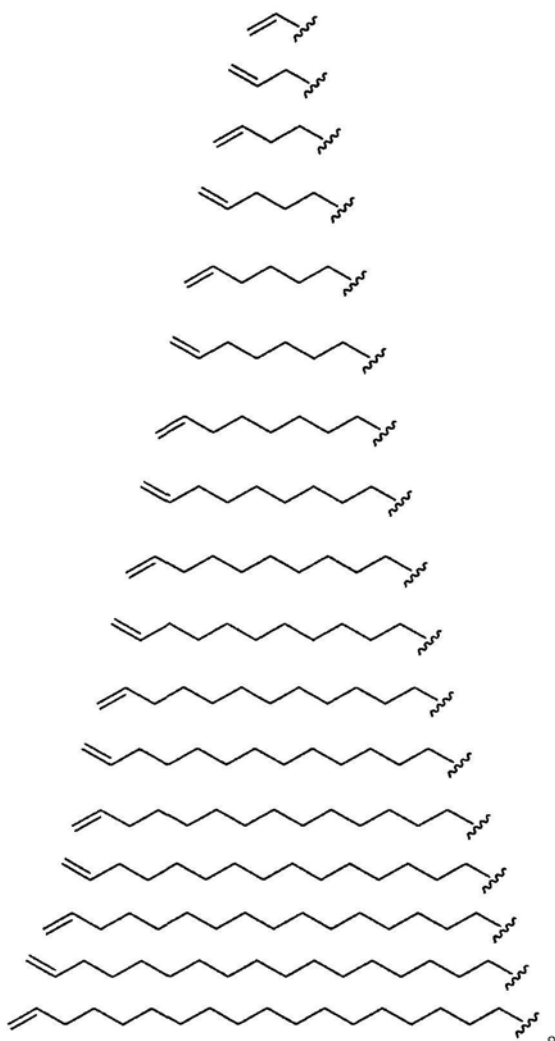
在一些实施例中,  $R_5$  为 。在某些实施例中,  $R_5$  是选自下式:

[0354]



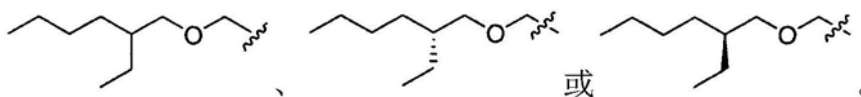
[0355] 在某些实施例中,  $R_5$  为  $C_{1-20}$  烯基部分, 任选经取代。在某些实施例中,  $R_5$  是选自下式:

[0356]



[0357] 在某些实施例中,  $R_5$  为经取代或未经取代、环状或非环状、分支或未分支  $C_{1-20}$  杂脂肪族基。在一些实施例中,  $R_5$  为未经取代和未分支  $C_{13}$  杂脂肪族基团。在一些实施例中,  $R_5$  为未经取代和未分支  $C_{14}$  杂脂肪族基团。在某些实施例中,  $R_5$  为:

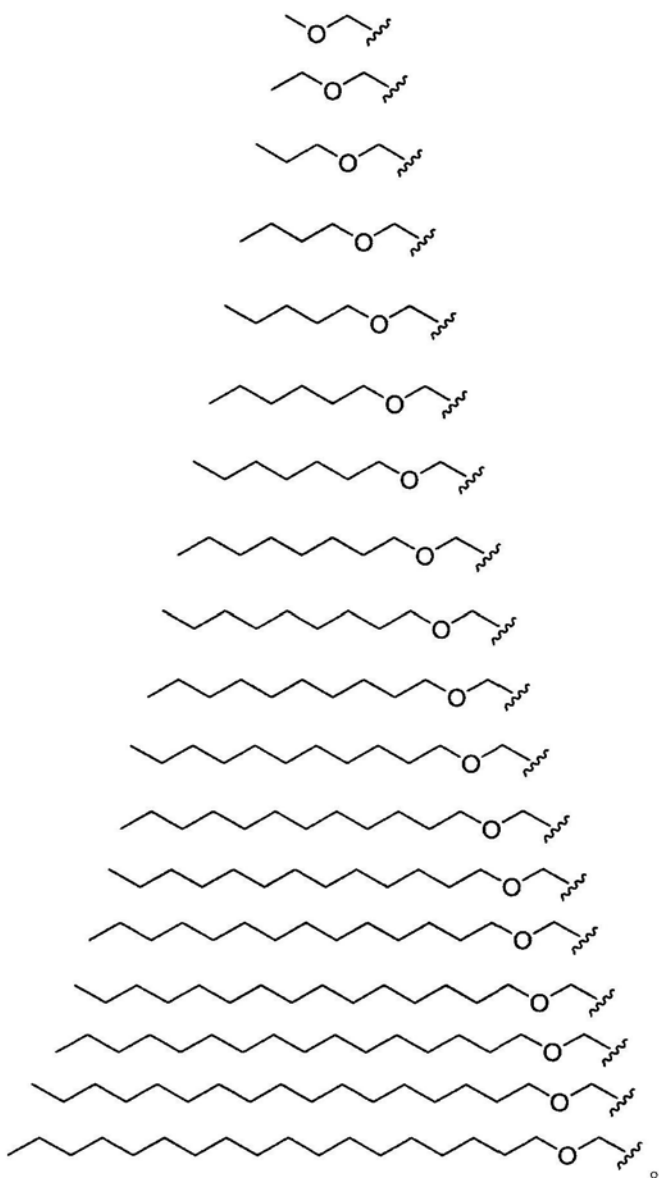
[0358]



[0359] 在某些实施例中,  $R_5$  独立地选自下式:



[0360]



[0361] 所属领域的普通技术人员应了解,上述取代基可具有多个不饱和位点,并且可以在取代基内的任何位置也如此。

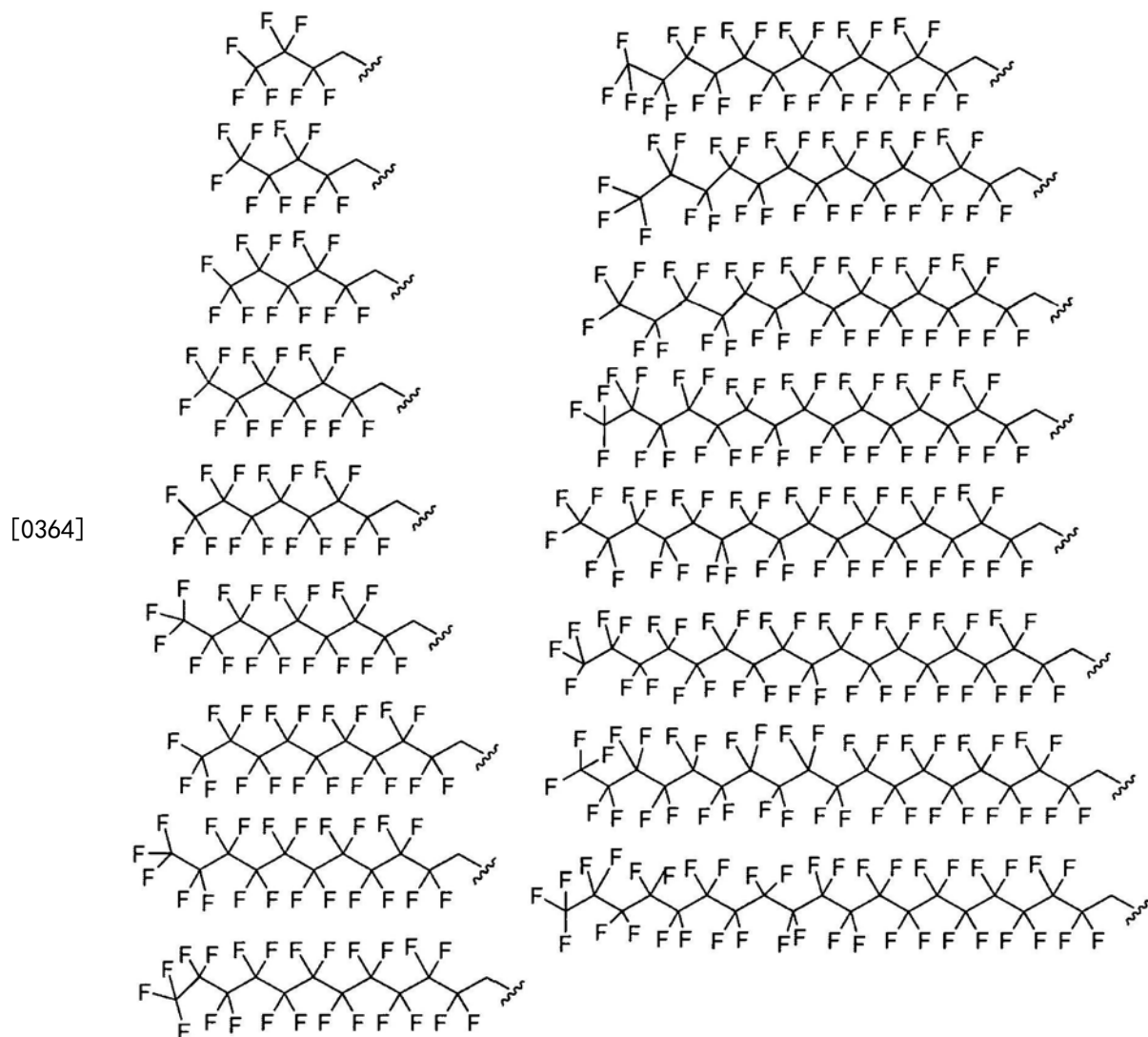
[0362] 在某些实施例中, $R_5$ 为经取代或未经取代的芳基。在某些实施例中, $R_5$ 为经取代或

未经取代的杂芳基。在某些实施例中, $R_5$ 为 在某些实施例中,各 。

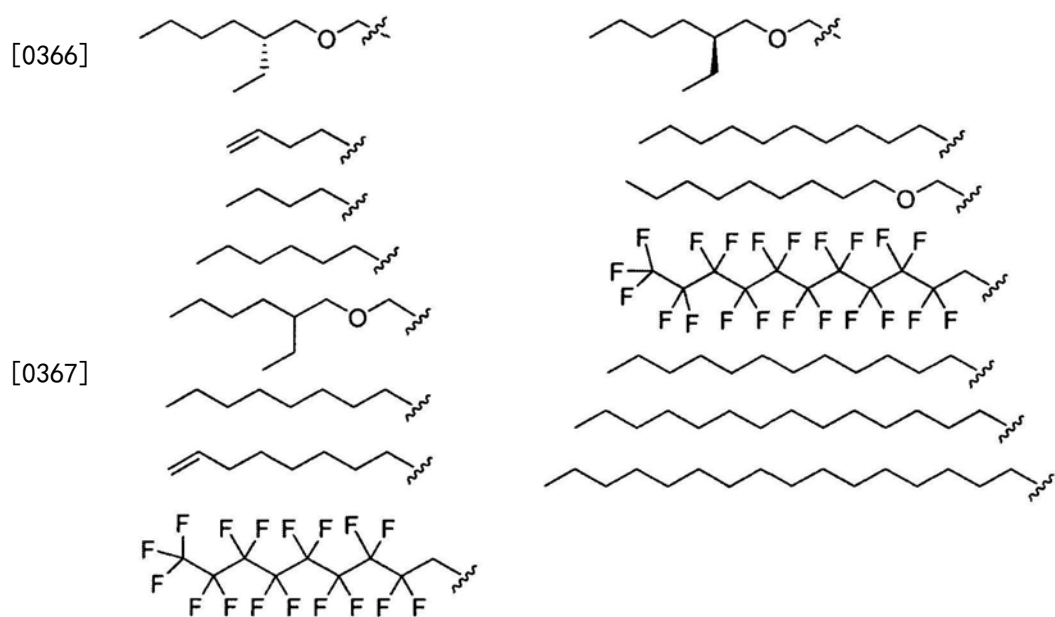
独立地为 或 。在某些实施例中, $R_5$ 为 。

[0363] 在某些实施例中, $R_5$ 经氟化。在某些实施例中, $R_5$ 为氟化脂肪族部分。在某些实施例中, $R_5$ 经全氟化。在某些实施例中, $R_5$ 为全氟化脂肪族部分。在某些实施例中, $R_5$ 为全氟化

C<sub>1-20</sub>烷基。在某些实施例中,R<sub>5</sub>是选自下式:



[0365] 在某些实施例中,R<sub>5</sub>是选自下式:

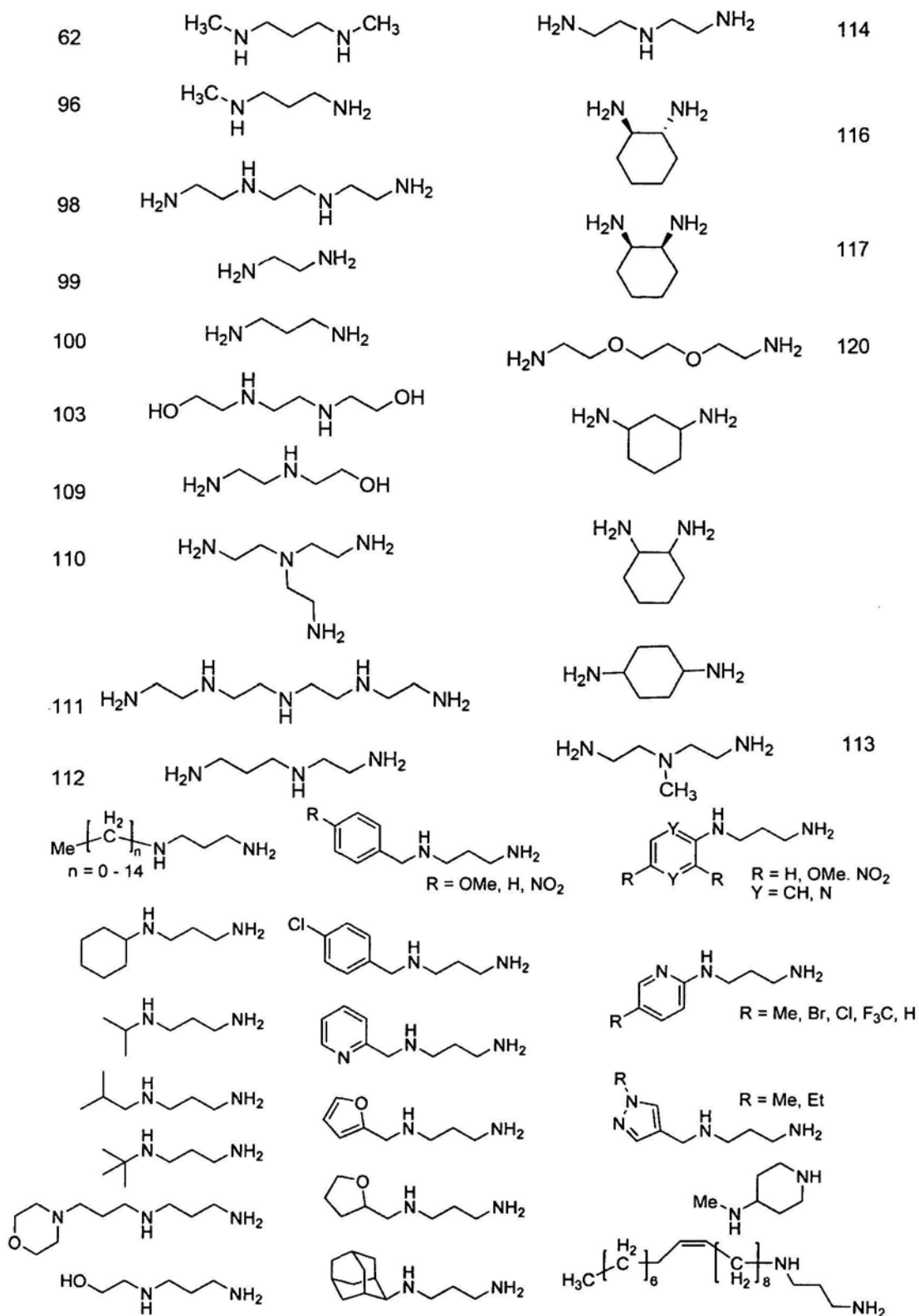


[0368] 在某些实施例中,各R<sub>5</sub>独立地为氢或C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在某些实施例中,各R<sub>5</sub>为氢。在某些实施例中,各R<sub>5</sub>为C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在某些实施例中,各R<sub>5</sub>为羟烷基。在某些实施例中,各R<sub>5</sub>为氨基烷基。在某些实施例中,两个R<sub>5</sub>变量相同。在某些实施例中,三个R<sub>5</sub>变量相同。在某些实施例中,各R<sub>5</sub>变量互不相同。

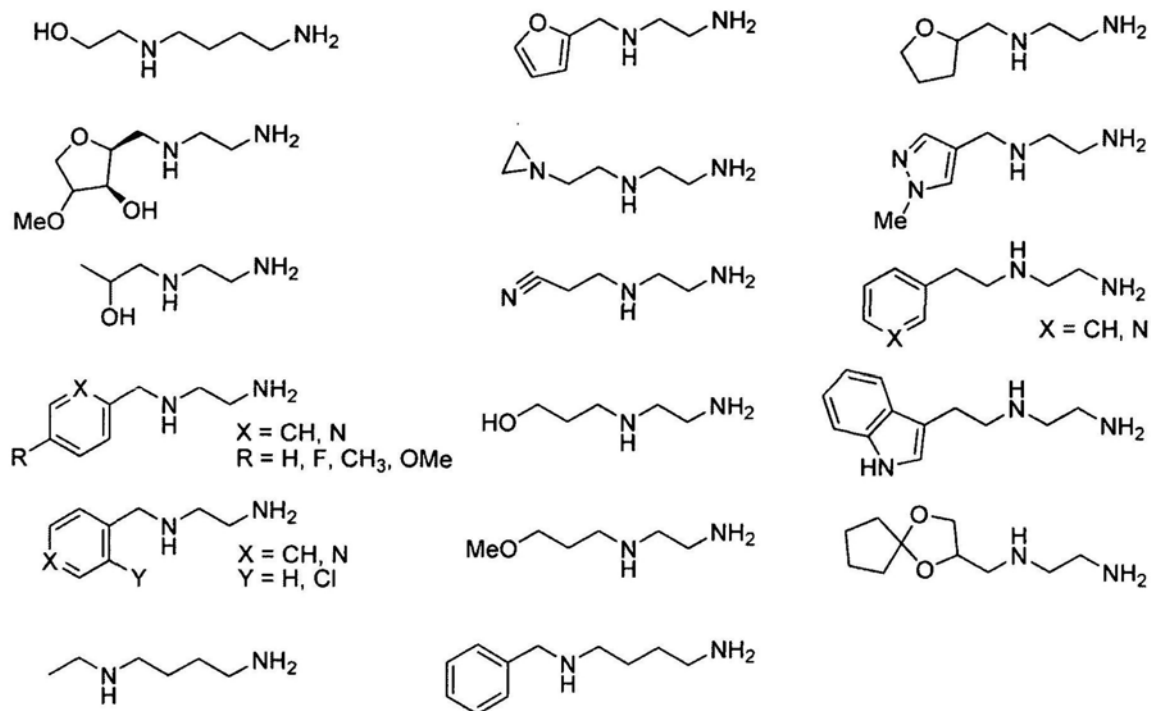
[0369] 在某些实施例中,x为1。在某些实施例中,x为2。在某些实施例中,x为3。在某些实施例中,x为4。在某些实施例中,x为5。在某些实施例中,x为6。在某些实施例中,x为7。在某些实施例中,x为8。在某些实施例中,x为9。在某些实施例中,x为10。

[0370] 在某些实施例中,y为1。在某些实施例中,y为2。在某些实施例中,y为3。在某些实施例中,y为4。在某些实施例中,y为5。在某些实施例中,y为6。在某些实施例中,y为7。在某些实施例中,y为8。在某些实施例中,y为9。在某些实施例中,y为10。

[0371] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的组合物是通过使下式之一的胺:

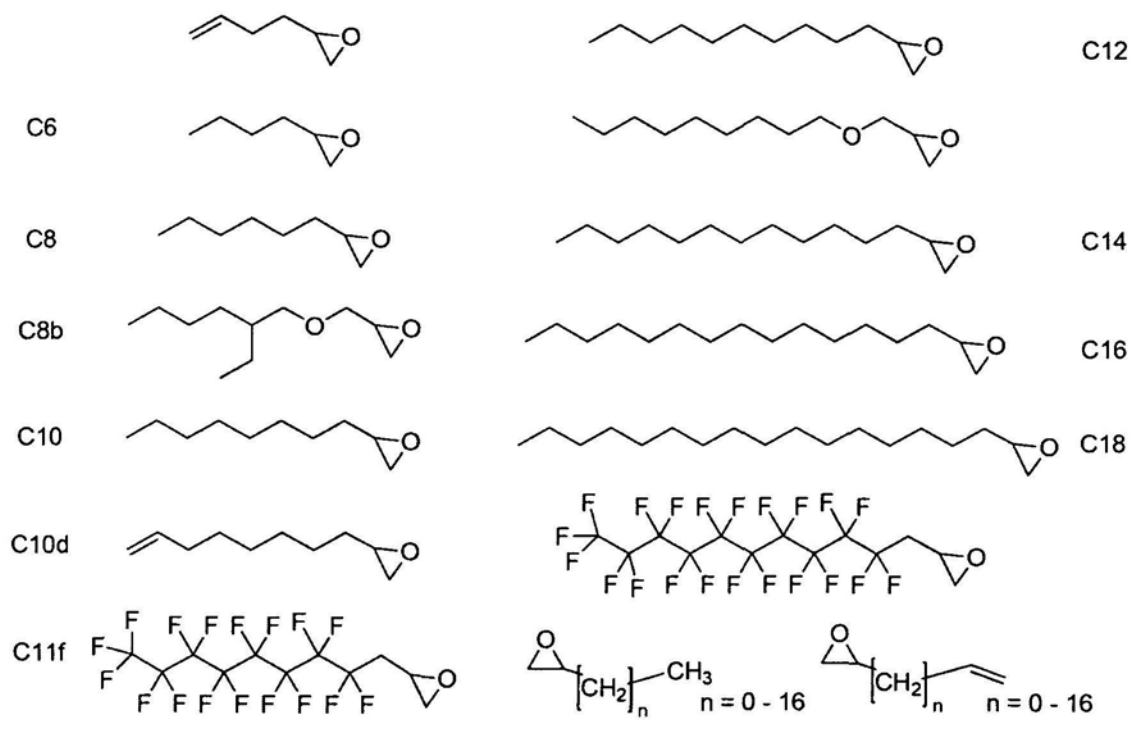


[0373]

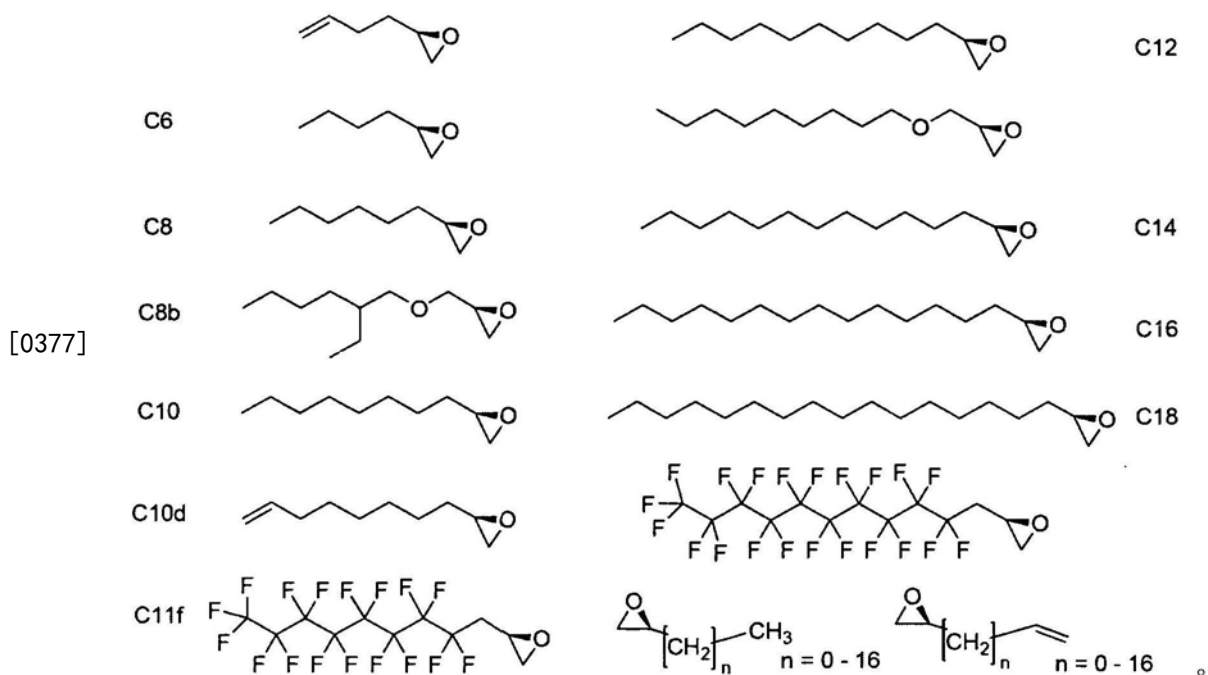


[0374] 与下式之一的含环氧化物化合物反应来制备:

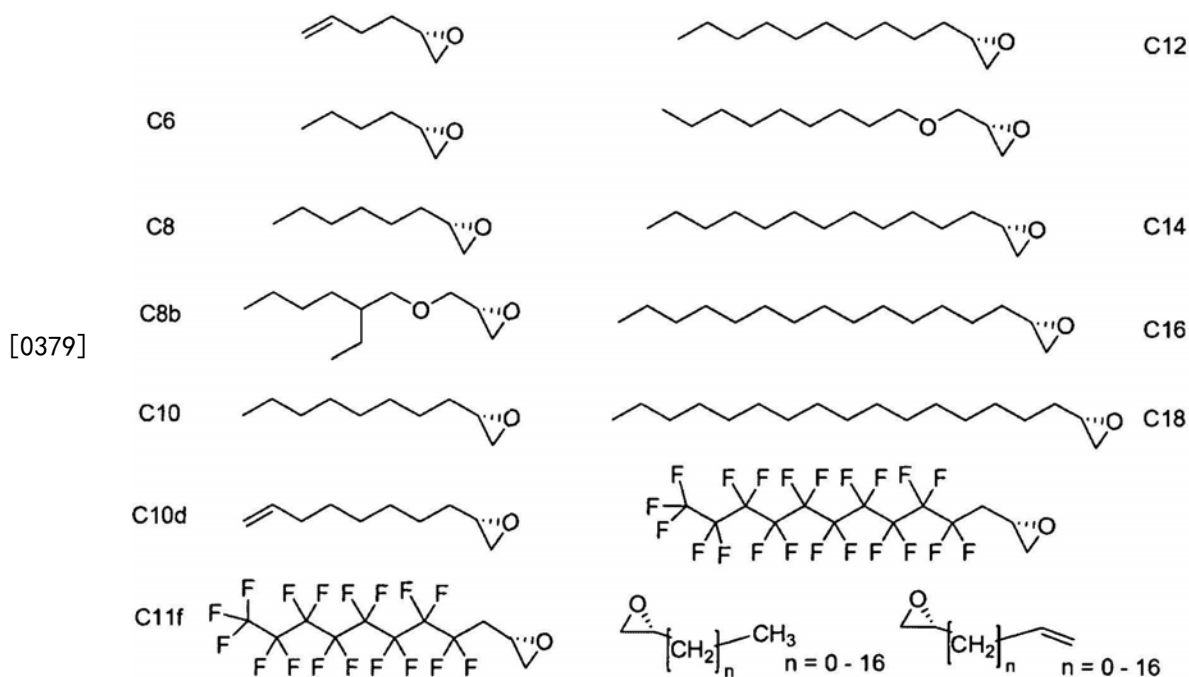
[0375]



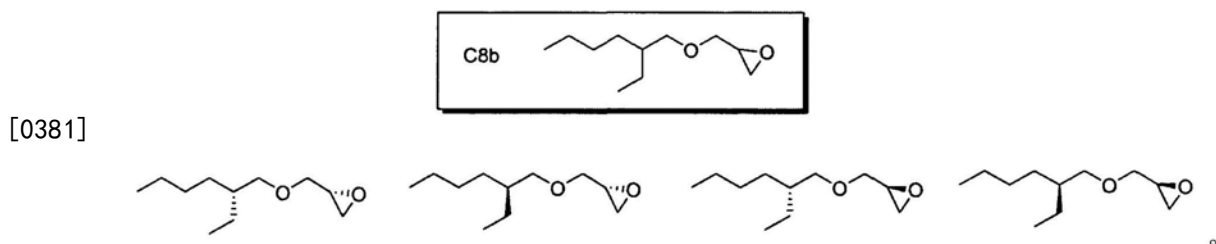
[0376] 在某些实施例中,环氧化物封端化合物具有下式:



[0378] 在某些实施例中,含环氧化物化合物具有下式:



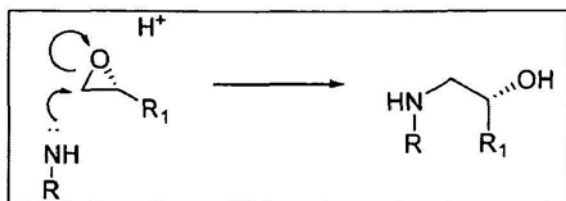
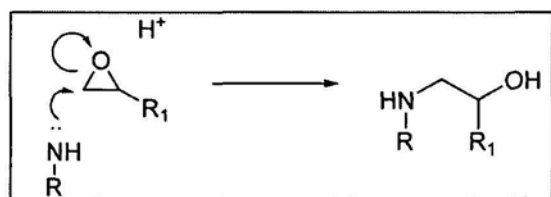
[0380] 在某些实施例中,环氧化物含有一个或一个以上手性中心,诸如以下对于胺C8b所示的那些手性中心:



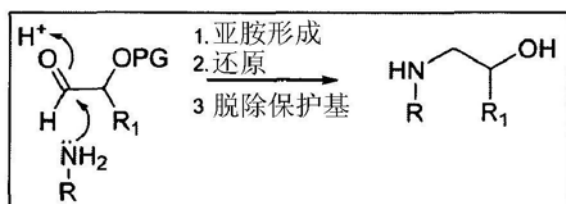
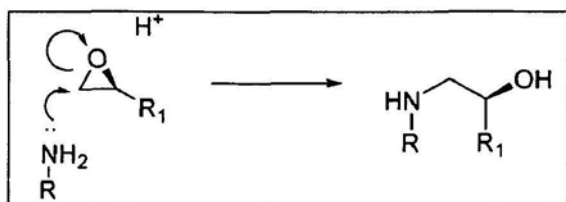
[0382] 在某些实施例中,使一当量的胺与一当量的环氧化物封端化合物反应。在某些实

施例中,使一当量的胺与一、二、三、四、五、六当量或六当量以上的环氧化物封端化合物反应。在某些实施例中,环氧化物封端化合物的量有限制以防止所有氨基官能化。在这些情况下,所得氨基醇类脂质或氨基醇类脂质组合物含有仲氨基和/或伯氨基。具有仲胺的氨基醇类脂质化合物尤其适用于某些情况。在某些实施例中,尚未完全官能化的含胺氨基醇类脂质化合物进一步与另一亲电子试剂(例如末端环氧化物、烷基卤化物等)反应。氨基醇类脂质化合物的胺的所述进一步官能化产生具有不同环氧化物-化合物衍生的尾部的氨基醇类脂质化合物。一、二、三、四、五个或五个以上尾部可不同于氨基醇类脂质化合物的其它尾部。

[0383] 在某些实施例中,所属领域的技术人员应了解,如以下流程中所示,胺和环氧化物将在环氧化物的未经取代碳上反应,产生氨基醇类脂质化合物。

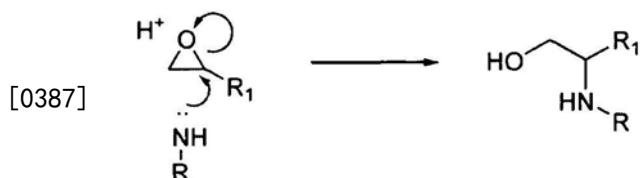


[0384]



[0385] 在某些实施例中,环氧化物是立体化学纯的(例如对映异构纯)。在某些实施例中,胺是立体化学纯的(例如对映异构纯)。在某些实施例中,类脂质是通过从胺与醛的缩合所得到的亚胺的还原胺化来制备。本发明的化合物可具有高达且包括以下的对映异构过量或非对映异构过量:2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、90.5%、91%、91.5%、92%、92.5%、93%、93.5%、94%、94.5%、95%、95.5%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%、99.5%或100%。

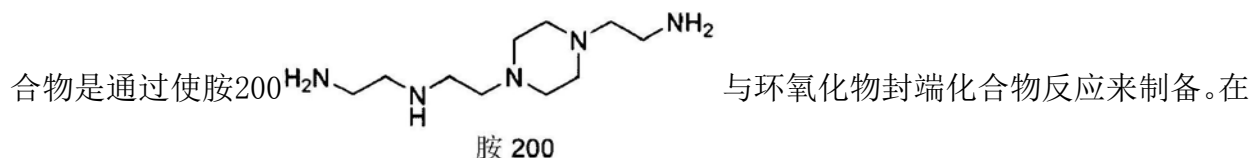
[0386] 在其它实施例中,所属领域的技术人员应了解,如以下流程中所示,胺和环氧化物将在环氧化物的经取代碳上反应,产生氨基醇类脂质化合物。



[0388] 虽然上述反应可能为次优选的,但是很可能至少在某种程度上进行并且可能在某些反应条件下更为有利。氨基醇类脂质化合物可具有以一种或两种方式反应的胺。

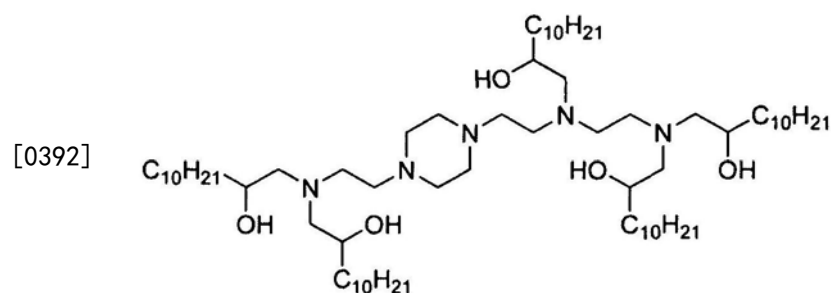
[0389] 在某些实施例中,胺和环氧化物封端化合物不加其它物质在一起反应。在其它实施例中,所述反应是在溶剂(例如THF、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、MeOH、EtOH、CHCl<sub>3</sub>、己烷、甲苯、苯、CCl<sub>4</sub>、乙二醇二甲醚、乙醚等)中进行。在某些实施例中,加热反应混合物。在某些实施例中,加热反应混合物到30℃-100℃范围内的温度。在另一实施例中,加热反应混合物到约90℃。也可催化反应。举例来说,可通过添加酸、碱或金属(例如路易斯酸(Lewis acid))来催化反应。可使反应进行数小时、数天或数周。在某些实施例中,使反应进行1-7天。在某些实施例中,反应进行约1到约3天。所得组合物可在进行或不进行纯化的情况下使用。在某些实施例中,随后使类脂质经受烷基化步骤(例如与甲基碘反应),形成季铵盐。任选地,可制备类脂质的各种盐形式。在某些实施例中,所述盐是医药学上可接受的盐。

[0390] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组



某些实施例中,胺200衍生的氨基醇类脂质化合物(即C12-200)和其各种可能异构体具有下式:

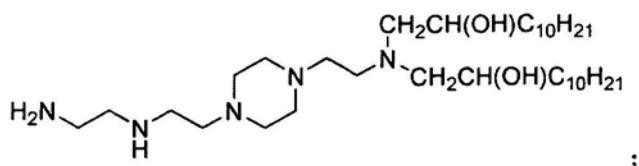
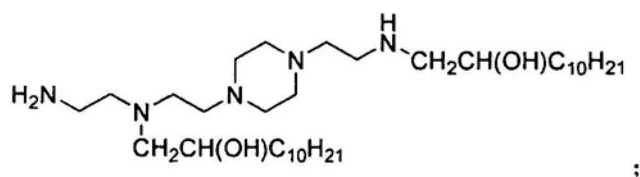
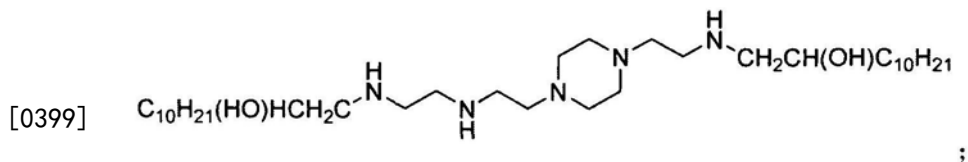
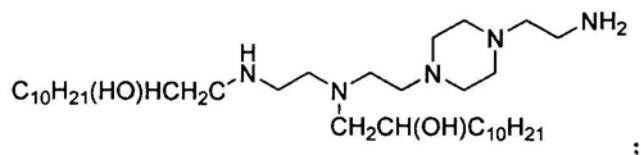
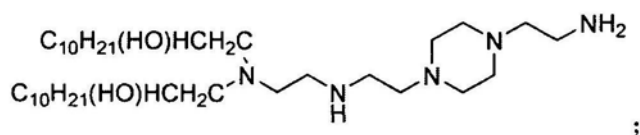
[0391] 5个尾部



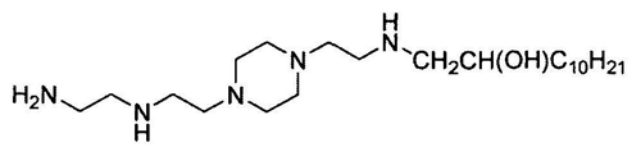
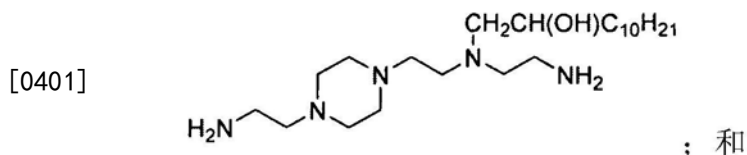
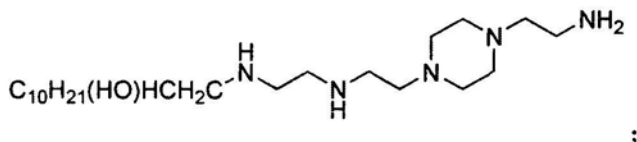
[0393] 4个尾部










[0400] 1个尾部

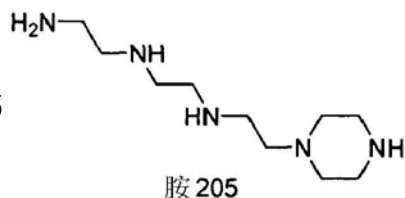


[0402] 在某些实施例中,各  独立地为  或 

[0403] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0404] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组

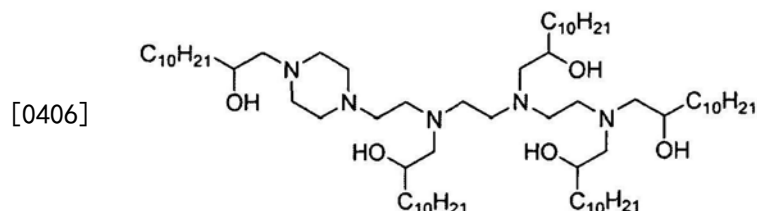
合物是通过使胺205



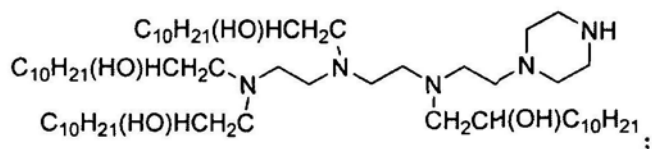
与环氧化物封端化合物C12反应来制备。

在某些实施例中,胺205衍生的氨基醇类脂质化合物(即C12-205)和其各种可能异构体具有下式:

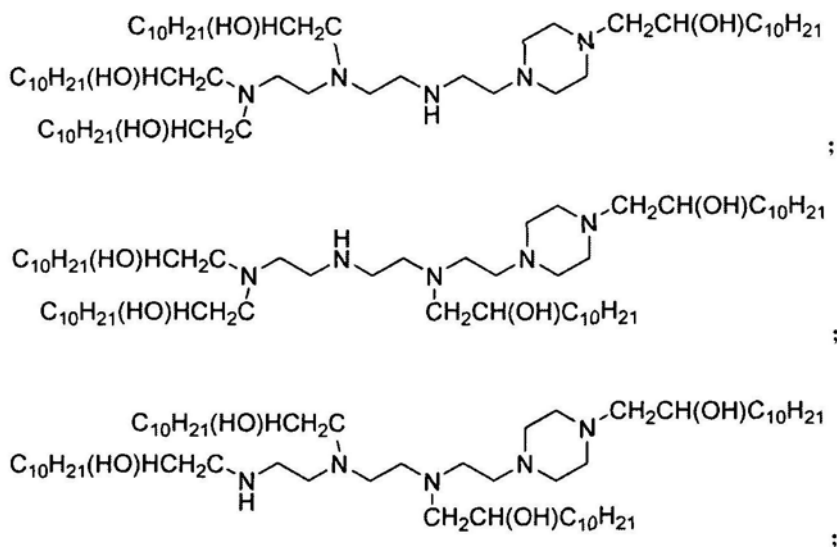
[0405] 5个尾部



[0407] 4个尾部



[0408]

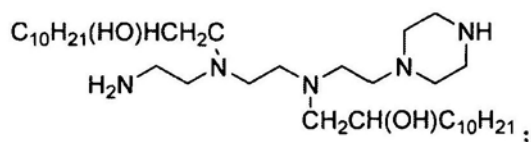


[0409] 3个尾部

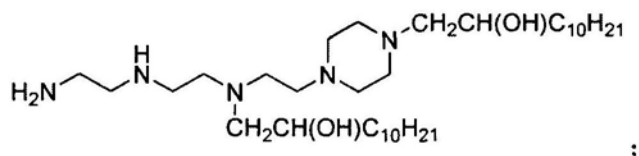
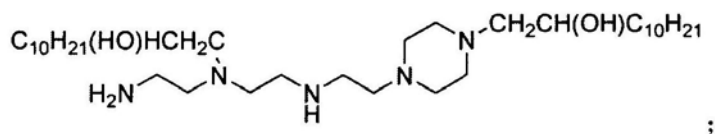


;

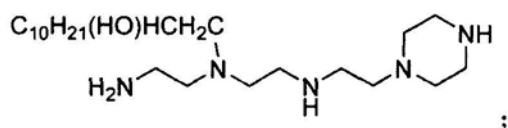
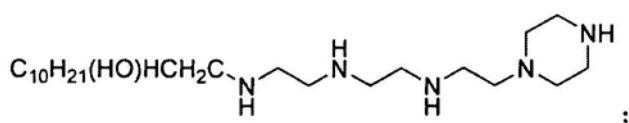




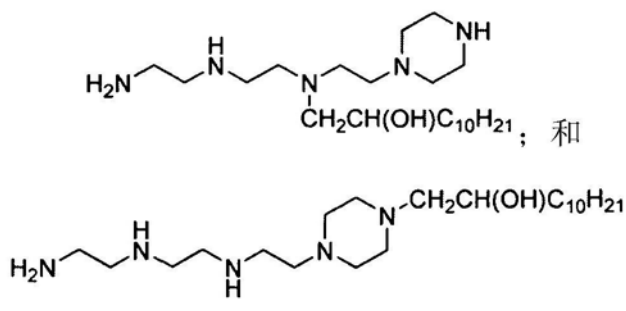
[0413]






[0414] 1个尾部




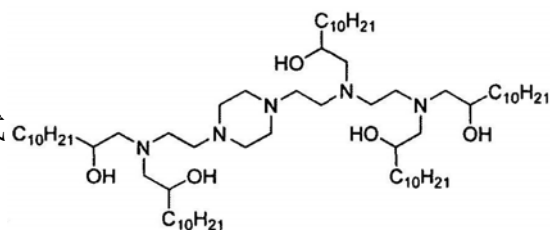
[0415]



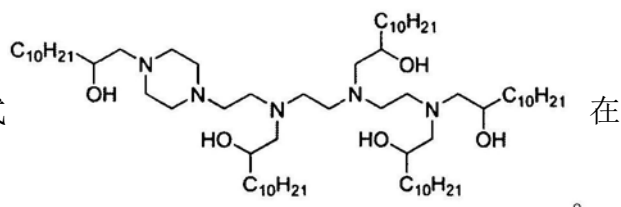
[0416] 在某些实施例中,各  独立地为  或 

[0417] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

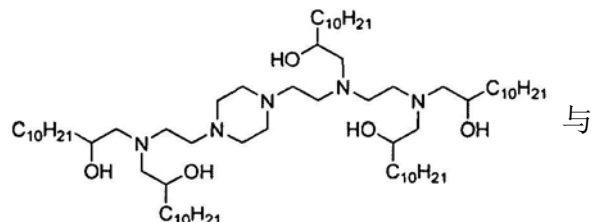
[0418] 在某些实施例中,氨基醇类脂质具有式  $C_{10}H_{21}$  



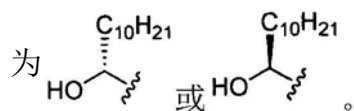
在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物具有式



某些实施例中,氨基醇类脂质化合物为



的混合物。在某些实施例中,各



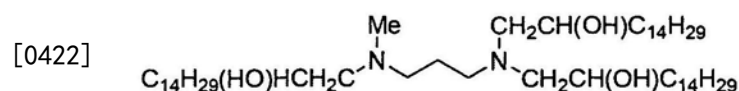
[0419] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0420] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组

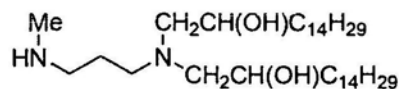
合物是通过使胺96 与环氧化物封端化合物C16反应来制备。在某些实施例中

中,胺96衍生的氨基醇类脂质化合物(即C12-96)和其各种可能异构体具有下式:

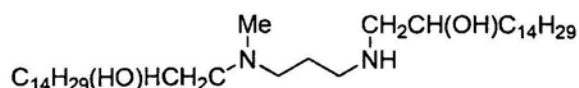
[0421] 3个尾部



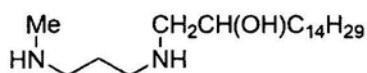
[0423] 2个尾部



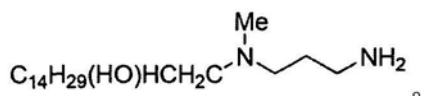
[0424]



[0425] 1个尾部



[0426]



[0427] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组

合物是通过使胺210  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2)_4-\text{N}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$  与环氧化物封端化合物C12反应来制备。以如

胺 210

上文所说明的类似方式,所属领域的技术人员将能够容易地确定根据这一反应可能得到的各种可能的210衍生的氨基醇类脂质化合物(即C12-210)。

[0428] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0429] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组

合物是通过使胺220  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$  与环氧化物封端化合物C12反应来制备。以如

胺 220

上文所说明的类似方式,所属领域的技术人员将能够容易地确定根据这一反应可能得到的各种可能的220衍生的氨基醇类脂质化合物(即C12-220)。

[0430] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

[0431] 在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物或含有氨基醇类脂质化合物的混合物的组

合物是通过使胺111  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$  与环氧化物封端化合物C12反应来

胺 111

制备。以如上文所说明的类似方式,所属领域的技术人员将能够容易地确定根据这一反应可能得到的各种可能的111衍生的氨基醇类脂质化合物(即C12-111)。

[0432] 在某些实施例中,氨基醇类脂质组合物为含有一种或一种以上上述氨基醇类脂质化合物的组合物。

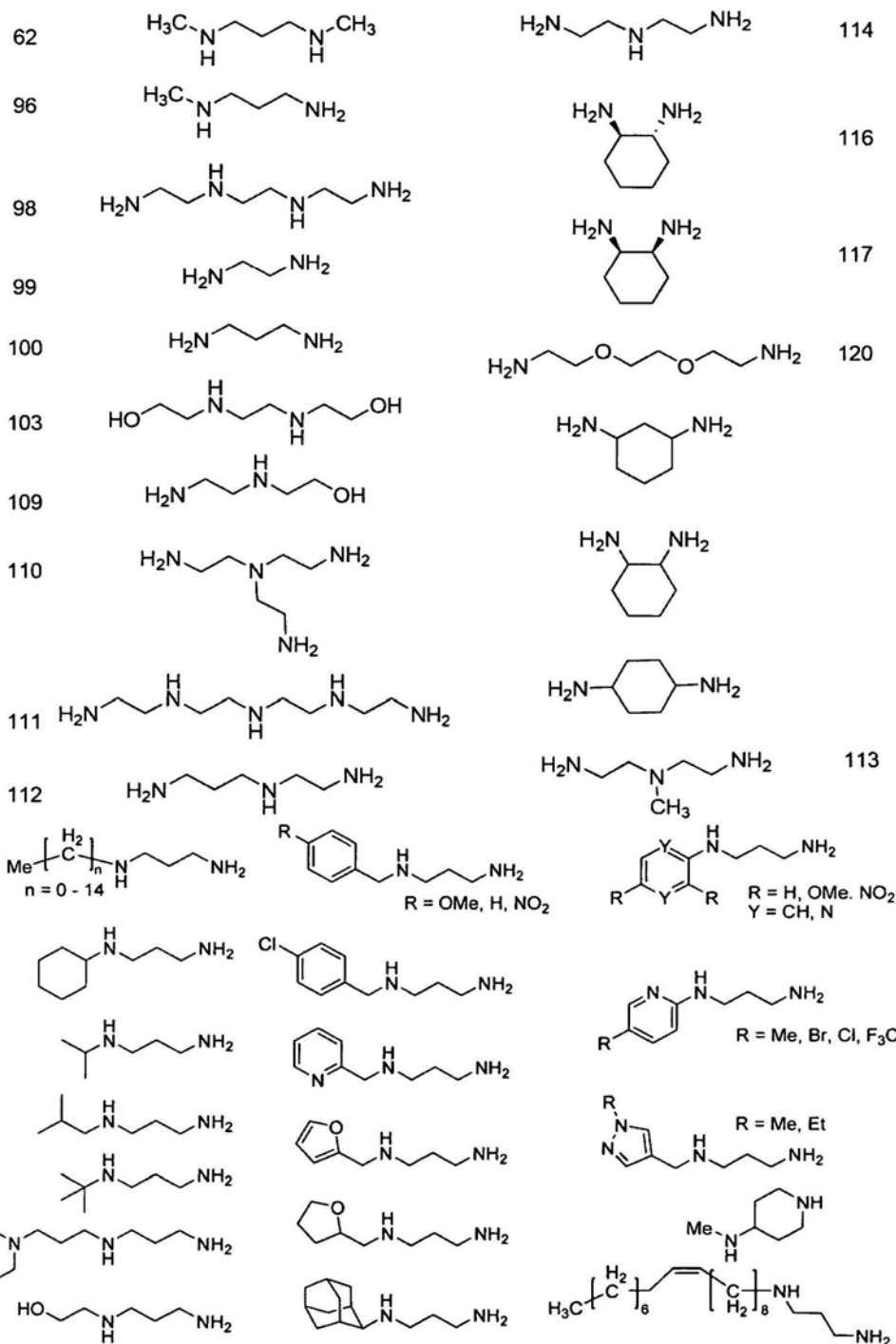
[0433] 2. 氨基醇类脂质化合物的合成

[0434] 本发明氨基醇类脂质化合物可通过所属领域中已知的任何方法来制备。优选地,氨基醇类脂质化合物是由市售起始物质制备,诸如末端环氧化物化合物、内部环氧化物化合物和胺。在另一实施例中,氨基醇类脂质化合物是由容易和/或廉价制备的起始物质制备。如所属领域的技术人员应了解,本发明氨基醇类脂质化合物可通过以市售起始物质开始的总合成来制备。特定氨基醇类脂质化合物可为合成的所需最终产物,或氨基醇类脂质化合物的混合物可为所需最终产物。

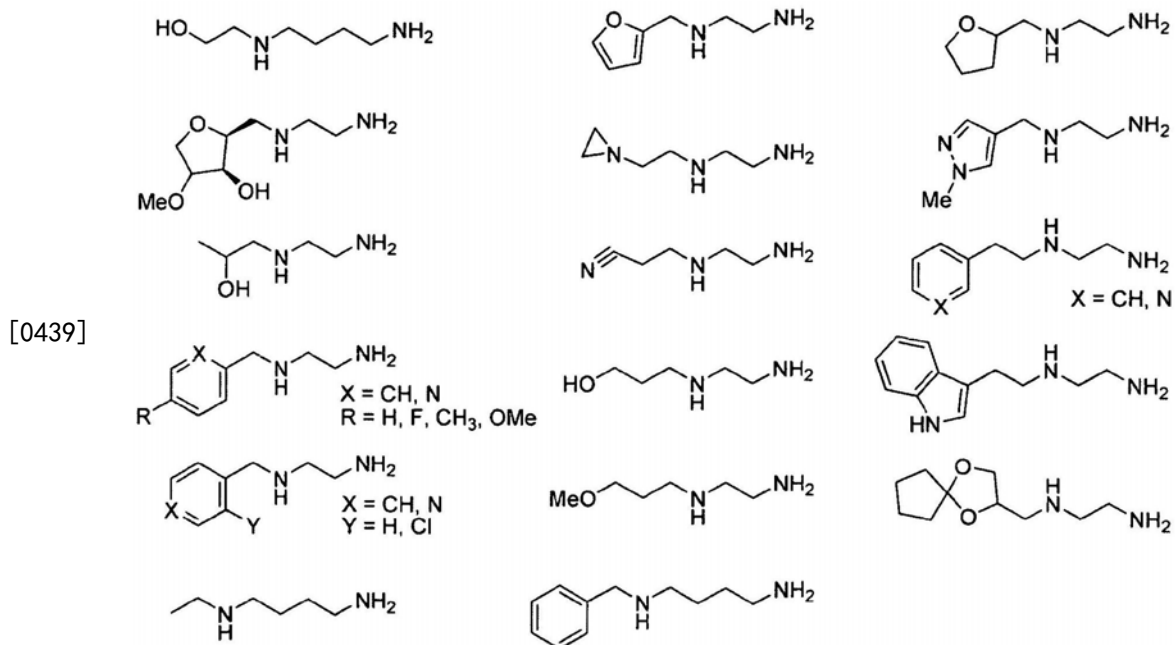
[0435] 在某些实施例中,本发明氨基醇类脂质化合物是通过使胺与环氧化物封端化合物反应来制备。图1中展示例示性反应流程。

[0436] 含有一个、两个到五个胺官能团的任何胺适用于制备本发明氨基醇类脂质化合物。适用于本发明中的伯胺包括(但不限于)甲胺、乙胺、异丙胺、苯胺、经取代的苯胺、乙醇胺、癸胺、十一烷胺、十二烷胺、十四烷胺、十六烷胺和十八烷胺。胺可为双(伯胺),包括(但不限于)亚乙基二胺、1,3二氨基丙烷、1,4二氨基丁烷、1,5二氨基戊烷、1,6二氨基己烷、2,2'(亚乙基二氧基)双(乙基胺)。胺可为双(仲胺)。适用于本发明中的仲胺包括(但不限于)二丙胺和甲基戊胺。胺可包括伯胺与仲胺两者,包括(但不限于)(2-氨基乙基)乙醇胺、二亚乙基三胺和三亚乙基四胺。胺优选可购得。在某些实施例中,胺是立体化学纯的(例如对映异构纯)。

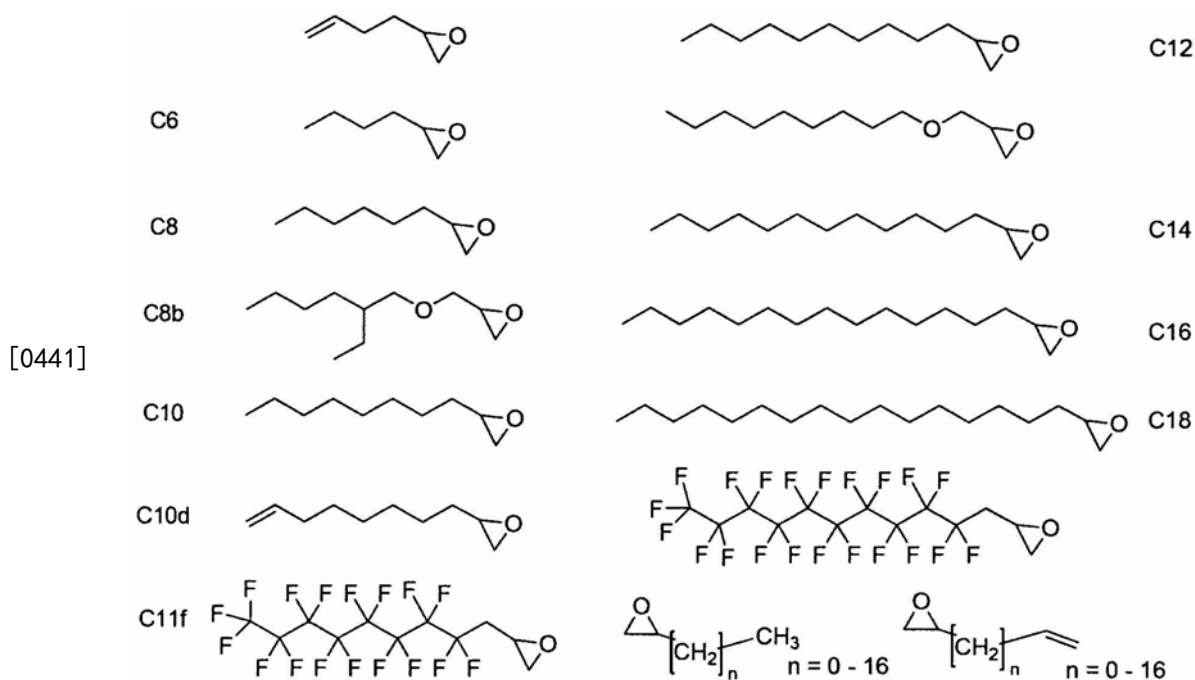
[0437] 在某些实施例中,用于合成氨基醇类脂质化合物的胺具有下式:





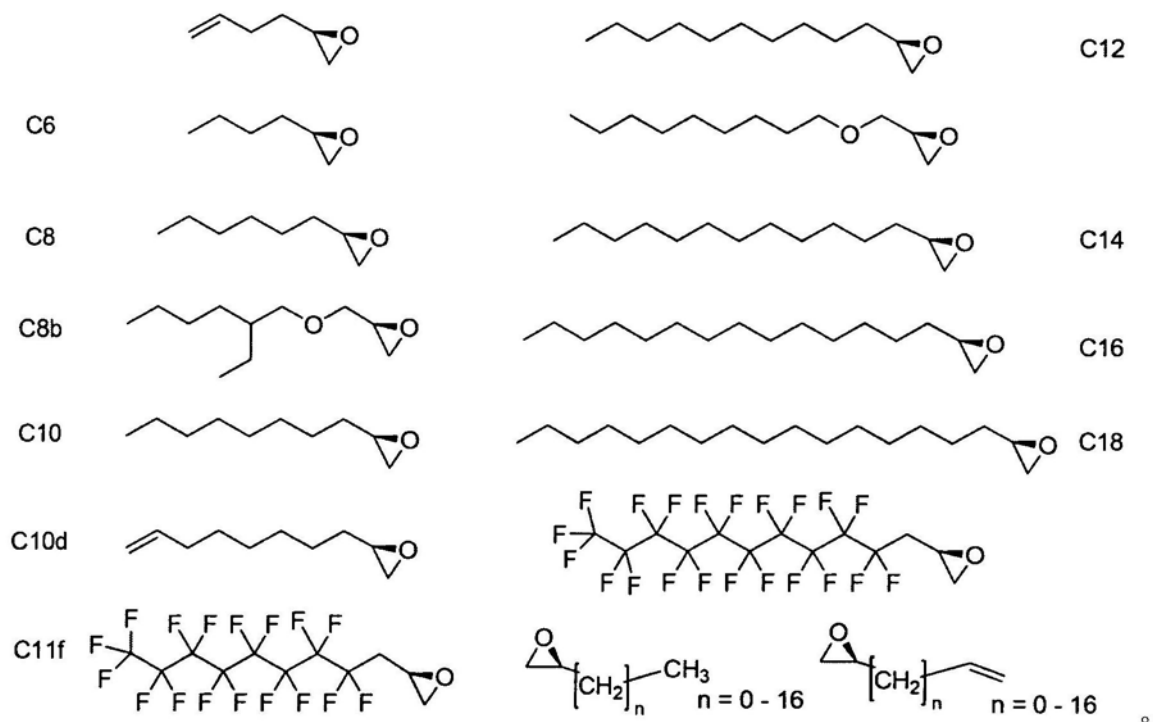


[0440] 适用于本发明中的环氧化物封端化合物包括任何外消旋环氧化物封端化合物或其立体异构体,其全部具有不同链长,并且特征为具有不同饱和度的独特官能团。在某些实施例中,环氧化物是立体化学纯的(例如对映异构纯)。在某些实施例中,环氧化物含有一个或一个以上手性中心。在某些实施例中,环氧化物封端化合物具有下式:



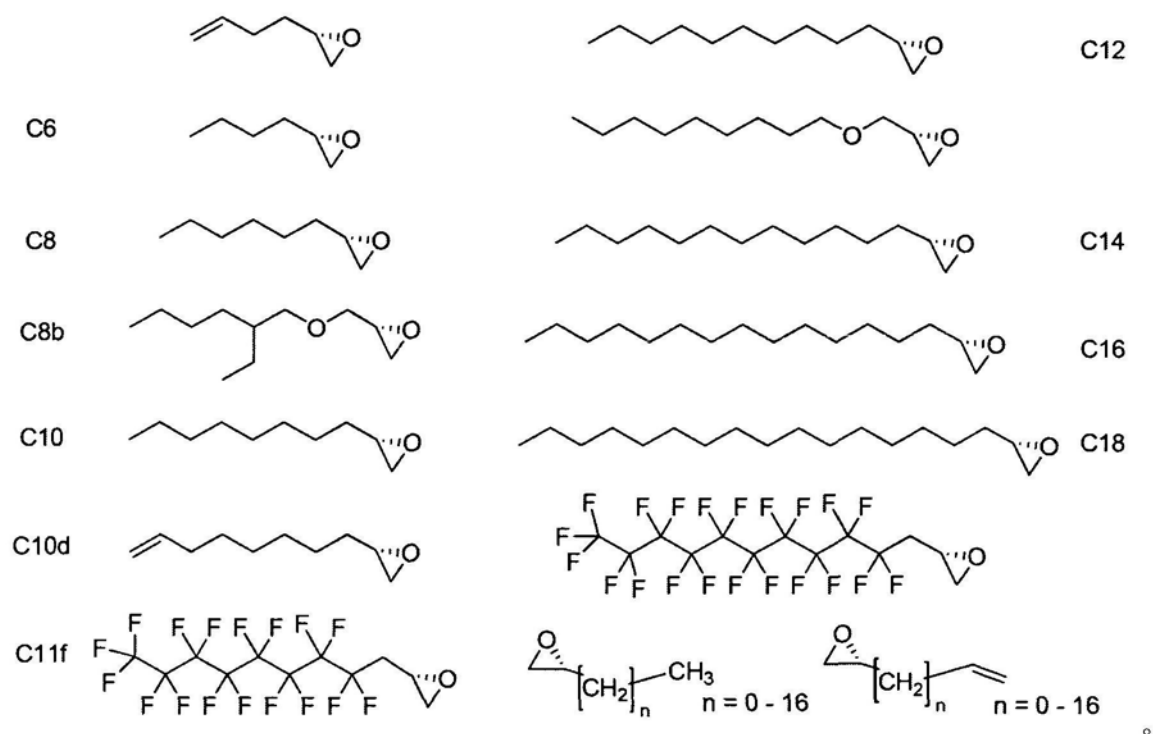
[0442] 在某些实施例中,环氧化物封端化合物具有下式:

[0443]

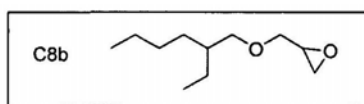


[0444] 在某些实施例中,环氧化物封端化合物具有下式:

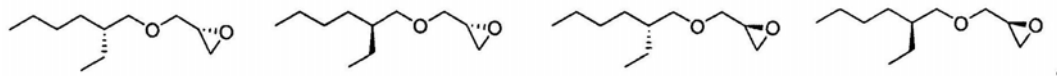
[0445]

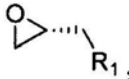


[0446] 在某些实施例中,环氧化物含有一个或一个以上手性中心,诸如以下所示的那些手性中心:

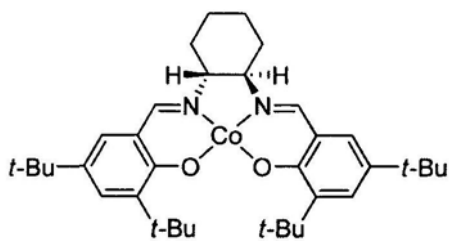


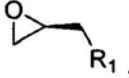
[0447]



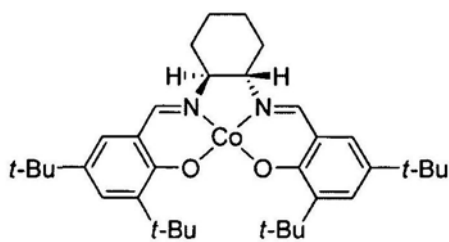
[0448] 在某些实施例中,使用以下式的 (R,R)-HKR 催化剂催化的水解动力学拆分 (HKR) 从环氧化物的外消旋混合物拆分对映异构环氧化物 :

[0449]

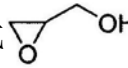
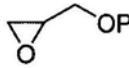


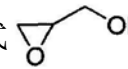
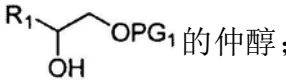
[0450] 在其它实施例中,使用以下式的 (S,S)-HKR 催化剂催化的水解动力学拆分 (HKR) 从环氧化物的外消旋混合物拆分对映异构环氧化物 :

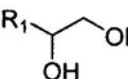
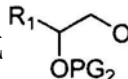
[0451]

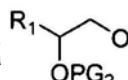
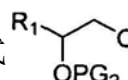


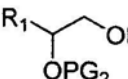
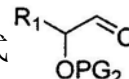
[0452] 在某些实施例中,由包含以下步骤的方法制备本发明的氨基醇类脂质:

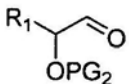
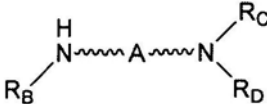
[0453] (a) 使式  的环氧化物伯醇转化为相应式  的受保护伯醇衍生物;

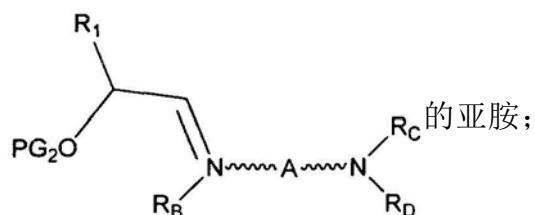
[0454] (b) 使式  的受保护伯醇衍生物;与基于碳的亲核试剂反应,产生式  的仲醇;

[0455] (c) 使式  的仲醇转化为相应式  的受保护仲醇衍生物;

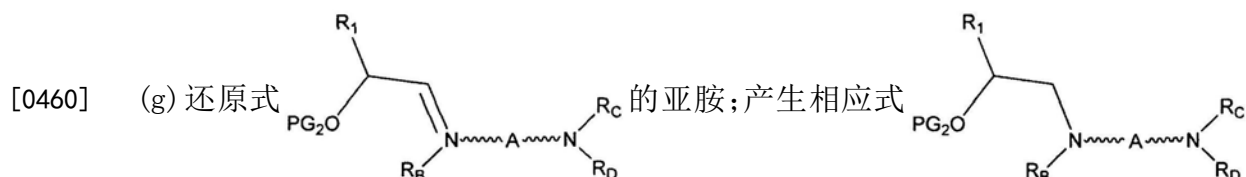
[0456] (d) 脱除式  的受保护仲醇衍生物的保护基,产生相应式  的伯醇;

[0457] (e) 使式  的伯醇氧化为相应式  的醛;

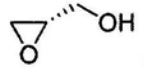
[0458] (f) 使式  的醛与式  的胺缩合; 产生式

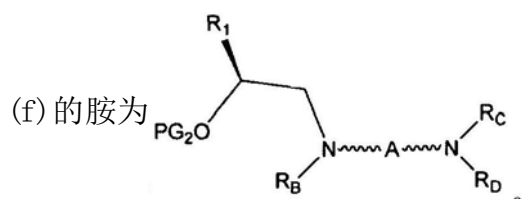
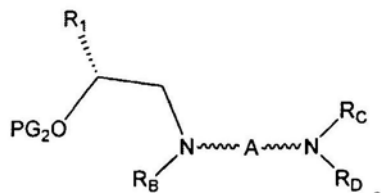


[0459] 和



的胺; 其中R<sub>1</sub>为氢, 经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基, 其中R<sub>1</sub>在至少一次出现时为氢; R<sub>B</sub>、R<sub>C</sub>和R<sub>D</sub>独立地为氢, 经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基, 或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基或-CH<sub>2</sub>CH(OH)R<sub>E</sub>; R<sub>B</sub>和R<sub>D</sub>一起可任选形成环状结构; R<sub>C</sub>和R<sub>D</sub>一起可任选形成环状结构; R<sub>E</sub>为经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>脂肪族基或经取代、未经取代、分支或未分支C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基; 并且PG<sub>1</sub>和PG<sub>2</sub>为如本文所述的O保护基。

[0461] 在某些实施例中, 步骤(a)的环氧化物伯醇为 ; 且步骤(f)的胺为



[0462] 适用于本发明中的手性环氧化物可从所属有机合成领域的技术人员熟悉的多种来源获得。在一些实施例中, 适用于本发明中的手性环氧化物可从市面上获得。在一些实施例中, 适用于本发明中的手性环氧化物可根据所属领域的技术人员已知的方法合成, 诸如 (但不限于) 伯烯丙醇和仲烯丙醇进行夏普勒斯环氧化 (Sharpless epoxidation) 产生2,3-环氧基醇 (香月 (Katsuki) 等人, 美国化学会期刊 (J. Am. Chem. Soc.) 1980, 102, 5974; 希尔 (Hill) 等人, 有机合成 (Org. Syn.), 全集第7卷, 第461页 (1990); 第3卷, 第66页 (1985) 和香月 (Katsuki) 等人, 有机反应 (Org. React.) 1996, 48, 1-300; 以引用的方式并入本文中。) 在一些实施例中, 适用于本发明中的手性环氧化物是通过拆分外消旋环氧化物来获得。在一些实施例中, 适用于本发明中的手性环氧化物是通过在手性管柱上分离对映异构体或非对

映异构体来获得。

[0463] 在某些实施例中,在不使用溶剂下,不添加其它物质进行反应。在其它实施例中,反应使用溶剂。将起始胺或环氧化物封端化合物中的两者或一者溶解于有机溶剂(例如THF、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、MeOH、EtOH、CHCl<sub>3</sub>、己烷、甲苯、苯、CCl<sub>4</sub>、乙二醇二甲醚、乙醚等)中。组合所得溶液且加热反应混合物,得到所需氨基醇类脂质化合物。在某些实施例中,加热反应混合物到25℃到100℃范围内,优选约90℃的温度。也可催化反应。举例来说,可通过添加酸、碱或金属来催化反应。可使试剂反应数小时、数天或数周。优选使反应进行过夜(例如8-12小时)到7天。

[0464] 合成的氨基醇类脂质化合物可通过所属领域中已知的任何技术来纯化,包括(但不限于)沉淀、结晶、色谱、蒸馏等。在某些实施例中,氨基醇类脂质化合物是通过在有机溶剂(例如乙醚、己烷等)中重复沉淀来纯化。在某些实施例中,分离呈盐形式的氨基醇类脂质化合物。使氨基醇类脂质化合物与酸(例如有机酸或无机酸)反应形成相应盐。在某些实施例中,使叔胺烷基化形成氨基醇类脂质化合物的季铵盐。可使用可用于形成季氨基的任何烷基化剂(例如烷基卤化物,诸如甲基碘)使叔胺烷基化。与季胺缔合的阴离子可为任何有机或无机阴离子。优选地,阴离子是医药学上可接受的阴离子。

[0465] 在某些实施例中,反应混合物产生具有不同数目和位置的环氧化物衍生的化合物尾部的异构体混合物。产物或化合物的所述混合物可按原样使用或以单一异构体或化合物形式使用,可从反应混合物纯化。当胺未彻底烷基化时,可使所得伯胺、仲胺或叔胺进一步与另一氨基醇类脂质化合物、环氧化物封端化合物或其它亲电子试剂反应。可接着任选纯化所得氨基醇类脂质化合物。

[0466] 在某些实施例中,所需氨基醇类脂质化合物是通过传统总合成来制备。在某些实施例中,市售胺是起始物质。任选保护胺的一个或一个以上氨基。使未保护的氨基与环氧化物封端化合物反应。任选纯化产物。去除保护基,并任选使自由氨基与另一氨基醇类脂质化合物、环氧化物封端化合物或其它亲电子试剂反应。可视所制备的本发明产物的所需复杂性而重复所述顺序。可接着任选纯化最终产物。

[0467] 在一实施例中,平行制备不同氨基醇类脂质化合物的文库。将不同胺和/或环氧化物封端化合物添加到用于制备所述文库的一组小瓶的各小瓶中或多孔板的各孔中。在足以允许形成氨基醇类脂质化合物的温度和时间长度下保温这组反应混合物。在一实施例中,在约90℃下保温所述小瓶过夜。在某些实施例中,在约90℃下保温小瓶1到7天。在某些实施例中,在约90℃下保温小瓶3到4天。在某些实施例中,在约90℃下保温小瓶1到2天。可接着使用所属领域中已知的技术分离和纯化氨基醇类脂质化合物。可接着使用高通量技术筛选氨基醇类脂质化合物以鉴别具有所需特征(例如在水中的溶解度、不同pH值下的溶解度、结合多核苷酸的能力、结合肝素的能力、结合小分子的能力、结合蛋白质的能力、形成微粒的能力、提高转染效率的能力等)的氨基醇类脂质化合物。在某些实施例中,可针对适用于基因疗法的性质或特征(例如结合多核苷酸的能力、提高转染效率)筛选氨基醇类脂质化合物。

[0468] 3. 多核苷酸复合物

[0469] 众所周知阳离子性化合物通过静电相互作用与带负电多核苷酸相互作用的能力。已制备诸如脂染胺等阳离子性脂质并研究其复合和转染多核苷酸的能力。认为脂质与多核

苷酸的相互作用至少部分防止多核苷酸降解。通过中和多核苷酸骨架上的电荷,中性或稍带正电的复合物还能够更容易地穿过细胞的疏水性膜(例如细胞质、溶酶体、内体、细胞核)。在某些实施例中,复合物稍带正电。在某些实施例中,复合物具有正 $\zeta$ 电位,更优选 $\zeta$ 电位介于0与+30之间。

[0470] 本发明的氨基醇类脂质化合物具有叔胺。尽管这些胺受到阻碍,但其可用于与多核苷酸(例如DNA、RNA、DNA和/或RNA的合成类似物、DNA/RNA杂交体等)相互作用。使多核苷酸或其衍生物与本发明氨基醇类脂质化合物在适合于形成多核苷酸/类脂质复合物的条件下接触。类脂质优选至少部分经质子化以与带负电多核苷酸形成复合物。在某些实施例中,多核苷酸/类脂质复合物形成适用于向细胞传递多核苷酸的粒子。在某些实施例中,多个氨基醇类脂质分子可与多核苷酸分子缔合。复合物可包括1-100个氨基醇类脂质分子、1-1000个氨基醇类脂质分子、10-1000个氨基醇类脂质分子或100-10,000个氨基醇类脂质分子。

[0471] 在某些实施例中,复合物可形成粒子。在某些实施例中,粒子直径在10-500微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在10-1200微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在50-150微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在10-500nm范围内,更优选粒子直径在10-1200nm范围内,且最优选为50-150nm。粒子可与如下文所述的靶向剂缔合。在某些实施例中,粒子直径在10-500pm范围内,更优选粒子直径在10-1200pm范围内,且最优选为50-150pm。粒子可与如下文所述的靶向剂缔合。

[0472] 4. 多核苷酸

[0473] 待复合、由本发明氨基醇类脂质化合物囊封或包括于与本发明氨基醇类脂质化合物形成的组合物中的多核苷酸可为任何核酸,包括(但不限于)RNA和DNA。在某些实施例中,多核苷酸为DNA。在某些实施例中,多核苷酸为RNA。

[0474] 在某些实施例中,多核苷酸为进行RNA干扰(RNAi)的RNA。RNAi的现象例如在以下参考文献中更详细地论述,各文献都以引用的方式并入本文中:埃巴舍尔(Elbashir)等人,2001,基因研究(Genes Dev.),15:188;费尔(Fire)等人,1998,自然(Nature),391:806;塔巴拉(Tabara)等人,1999,细胞(Cell),99:123;汉姆德(Hammond)等人,自然(Nature),2000,404:293;扎莫尔(Zamore)等人,2000,细胞(Cell),101:25;查克拉波尔迪(Chakraborty),2007,药靶新见(Curr. Drug Targets),8:469;和莫里斯(Morris)和罗西(Rossi),2006,基因疗法(Gene Ther.),13:553。

[0475] 在某些实施例中,多核苷酸为dsRNA(双链RNA)。

[0476] 在某些实施例中,多核苷酸为siRNA(短干扰RNA)。

[0477] 在某些实施例中,多核苷酸为shRNA(短发夹RNA)。

[0478] 在某些实施例中,多核苷酸为miRNA(微小RNA)。微小RNA(miRNA)是长度为约21-23个核苷酸的基因组编码的非编码RNA,其帮助调控基因表达,尤其在发育期间(参见例如巴特尔(Bartel),2004,细胞(Cell),116:281;诺威纳(Novina)和夏普(Sharp),2004,自然(Nature),430:161;和美国专利公开案2005/0059005;也评述于王(Wang)和李(Li),2007,生物科学前沿(Front. Biosci.),12:3975;和赵(Zhao),2007,生物化学科学趋势(Trends Biochem. Sci.),32:189中;各文献都以引用的方式并入本文中)。

[0479] 在某些实施例中,多核苷酸为反义RNA。

[0480] 在一些实施例中,可使用许多可用演算法中的一者或一者以上设计和/或预测

dsRNA、siRNA、shRNA、miRNA和/或反义RNA。为举出数个实例,可利用以下资源来设计和/或预测dsRNA、siRNA、shRNA和/或miRNA:在以下各处所发现的演算法:Alnylum Online、Dharmacon Online、OligoEngine Online、Molecular Online、Ambion Online、BioPredsi Online、RNAi Web Online、Chang Bioscience Online、Invitrogen Online、LentiWeb Online、GenScript Online、Protocol Online;雷诺德(Reynolds)等人,2004,自然-生物技术(Nat.Biotechnol.),22:326;纳伊妥(Naito)等人,2006,核酸研究(Nucleic Acids Res.),34:W448;李(Li)等人,2007,RNA,13:1765;优(Yiu)等人,2005,生物信息学(Bioinformatics),21:144;和贾(Jia)等人,2006,BMC生物信息学(BMC Bioinformatics),7:271;各文献都以引用的方式并入本文中)。

[0481] 多核苷酸可具有任何大小或序列,且其可为单链或双链。在某些实施例中,多核苷酸的长度大于100个碱基对。在某些实施例中,多核苷酸的长度大于1000个碱基对且长度可大于10,000个碱基对。多核苷酸任选经纯化且是实质上纯的。优选地,多核苷酸的纯度大于50%,纯度更优选大于75%,且纯度最优选大于95%。可通过所属领域中已知的任何方法来提供多核苷酸。在某些实施例中,已使用重组技术对多核苷酸进行工程改造(关于这些技术的更详细描述,请参见奥苏贝尔(Ausubel)等人现代分子生物学实验技术(Current Protocols in Molecular Biology)(约翰威利父子出版公司(John Wiley&Sons,Inc.),纽约(New York),1999);分子克隆:实验室手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual),第2版,山姆布鲁克(Sambrook),弗里奇(Fritsch)和曼尼阿蒂斯(Maniatis)编(冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press):1989);各文献都以引用的方式并入本文中)。多核苷酸也可从天然来源获得并从自然界中通常存在的污染组分纯化。也可在实验室中以化学方法合成多核苷酸。在某些实施例中,使用标准固相化学法合成多核苷酸。

[0482] 可通过化学或生物方法来修饰多核苷酸。在某些实施例中,这些修饰使得多核苷酸的稳定性提高。修饰包括甲基化、磷酸化、末端加帽等。

[0483] 多核苷酸的衍生物也可用于本发明中。这些衍生物包括多核苷酸的碱基、糖和/或磷酸酯键的修饰。经修饰的碱基包括(但不限于)以下核苷类似物中所见的那些碱基:2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基-尿苷、C5-丙炔基-胞苷、C5-甲基胞苷、7-脱氮腺苷、7-脱氮鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、0(6)-甲基鸟嘌呤和2-硫代胞苷。经修饰的糖包括(但不限于)2'-氟核糖、核糖、2'-脱氧核糖、3'-叠氮基-2',3'-二脱氧核糖、2',3'-二脱氧核糖、阿拉伯糖(核糖的2'-差向异构体)、非环状糖和己糖。核苷可通过除天然存在的DNA和RNA中所见的磷酸二酯键以外的键串在一起。经修饰的键包括(但不限于)硫代磷酸酯和5'-N-氨基磷酸酯键。单个多核苷酸中可使用各种修饰的组合。可通过所属领域中已知的任何方法来提供这些经修饰的多核苷酸;然而,如所属领域的技术人员应了解,优选使用活体外合成化学法来制备经修饰的多核苷酸。

[0484] 待传递的多核苷酸可呈任何形式。举例来说,多核苷酸可为环状质粒、线性化质粒、粘粒(cosmid)、病毒基因组、经修饰的病毒基因组、人工染色体等。

[0485] 多核苷酸可具有任何序列。在某些实施例中,多核苷酸编码蛋白质或肽。所编码的蛋白质可为酶、结构蛋白质、受体、可溶性受体、离子通道、医药活性蛋白质、细胞因子、白细

胞介素、抗体、抗体片段、抗原、凝血因子、白蛋白、生长因子、激素、胰岛素等。多核苷酸也可包含控制基因表达的调控区。这些调控区可包括(但不限于)启动子、增强子元件、抑制子元件、TATA框、核糖体结合位点、转录终止位点等。在某些实施例中,多核苷酸不打算编码蛋白质。举例来说,多核苷酸可用于修复所转染细胞的基因组的错误。

[0486] 也可提供呈反义剂或RNA干扰(RNAi)形式的多核苷酸(费尔(Fire)等人自然(Nature) 391:806-811,1998;其以引用的方式并入本文中)。反义疗法打算包括例如授予或原位提供单链或双链寡核苷酸或其衍生物,其在细胞条件下与细胞mRNA和/或基因组DNA或其突变体特异性杂交(例如结合),以抑制所编码蛋白质的表达,例如通过抑制转录和/或翻译(库鲁克(Crooke)“反义药物作用的分子机制(Molecular mechanisms of action of antisense drugs)”生物化学与生物物理学报(Biochim.Biophys.Acta) 1489(1):31-44,1999;库鲁克(Crooke)“评估抗增殖反义药物的作用机制(Evaluating the mechanism of action of antiproliferative antisense drugs)”反义核酸药物发展(Antisense Nucleic Acid Drug Dev.) 10(2):123-126,讨论127,2000;酶学方法(Methods in Enzymology) 第313-314卷,1999;各文献都以引用的方式并入本文中)。可通过常规碱基对互补,或例如在结合于DNA双链体的情况下,通过双螺旋的大沟中的特异性相互作用(即形成三螺旋)来进行结合(陈(Chan)等人分子医学杂志(J.Mol.Med.) 75(4):267-282,1997;其以引用的方式并入本文中)。

[0487] 在某些实施例中,待传递的多核苷酸包含编码抗原性肽或蛋白质的序列。可向个体传递含有这些多核苷酸的纳米粒子以诱发足以降低后续感染机会和/或减轻与所述感染相关的症状的免疫反应。这些疫苗的多核苷酸可与白细胞介素、干扰素、细胞因子和诸如霍乱毒素、明矾、弗氏佐剂(Freund's adjuvant)等佐剂等组合。已知许多佐剂化合物;许多所述化合物的实用纲要由国家健康研究所(National Institutes of Health)制作并且可在因特网上找到([www.niaid.nih.gov/daids/vaccine/pdf/compendium.pdf](http://www.niaid.nih.gov/daids/vaccine/pdf/compendium.pdf),其以引用的方式并入本文中;还参见阿里森(Allison)生物学标准发展(Dev.Biol.Stand.) 92:3-11,1998;昂克莱斯(Unkeless)等人免疫学年评(Annu.Rev.Immunol.) 6:251-281,1998;和菲利普斯(Phillips)等人疫苗(Vaccine) 10:151-158,1992;各文献都以引用的方式并入本文中)。

[0488] 由多核苷酸编码的抗原性蛋白质或肽可来源于以下细菌生物体:诸如肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、化脓性链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、白喉棒状杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*)、单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)、炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)、破伤风梭菌(*Clostridium tetani*)、肉毒梭菌(*Clostridium botulinum*)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、脑膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitidis*)、淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、变形链球菌(*Streptococcus mutans*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、伤寒沙门菌(*Salmonella typhi*)、副流感嗜血菌(*Haemophilus parainfluenzae*)、百日咳博德特氏菌(*Bordetella pertussis*)、土拉弗朗西斯菌(*Francisella tularensis*)、鼠疫耶尔森菌(*Yersinia pestis*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)、嗜肺性军团菌(*Legionella pneumophila*)、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、麻风分枝杆菌(*Mycobacterium leprae*)、梅毒螺



旋菌 (*Treponema pallidum*)、钩端螺旋体 (*Leptospirosis interrogans*)、伯氏疏螺旋菌 (*Borrelia burgdorferi*)、空肠弯曲菌 (*Camphylobacter jejuni*) 等;来源于以下病毒:诸如天花、流感A和B、呼吸道融合性病毒、副流感、麻疹、HIV、水痘-带状疱疹、单纯疱疹1和2、细胞巨大病毒、埃-巴二氏病毒 (*Epstein-Barr virus*)、轮状病毒、鼻病毒、腺病毒、乳头状瘤病毒、脊髓灰质炎病毒、腮腺炎、狂犬病、风疹、柯萨奇病毒 (*coxsackievirus*)、马脑炎、日本脑炎 (*Japanese encephalitis*)、黄热病、裂谷热 (*Rift Valley fever*)、甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎和戊型肝炎病毒等;和来源于以下真菌、原生动物和寄生生物体:诸如新型隐球酵母 (*Cryptococcus neoformans*)、荚膜组织浆菌 (*Histoplasma capsulatum*)、白色念珠菌 (*Candida albicans*)、热带念珠菌 (*Candida tropicalis*)、星状诺卡氏菌 (*Nocardia asteroides*)、立氏立克次体 (*Rickettsia rickettsii*)、伤寒立克次体 (*Rickettsia typhi*)、肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*)、鹦鹉热衣原体 (*Chlamydial psittaci*)、沙眼衣原体 (*Chlamydial trachomatis*)、恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*)、布氏锥虫 (*Trypanosoma brucei*)、痢疾阿米巴 (*Entamoeba histolytica*)、粪地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*)、阴道毛滴虫 (*Trichomonas vaginalis*)、曼氏血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) 等。

#### [0489] 5. 粒子

[0490] 本发明的氨基醇类脂质化合物还可用于形成药物传递装置。本发明氨基醇类脂质化合物可用于囊封药剂,包括多核苷酸、小分子、蛋白质、肽、金属、有机金属化合物等。本发明氨基醇类脂质化合物具有使其尤其适合于制备药物传递装置的若干性质。这些性质包括:1) 脂质复合和“保护”不稳定药剂的能力;2) 缓冲内体中的pH值的能力;3) 充当“质子海绵”和引起内体溶解的能力;和4) 中和带负电药剂上的电荷的能力。在某些实施例中,使用氨基醇类脂质化合物形成含有待传递药剂的粒子。这些粒子可包括其它物质,诸如蛋白质、碳水化合物、合成聚合物 (例如PEG、PLGA) 和天然聚合物。

[0491] 在某些实施例中,粒子直径在1微米到1,000微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在1微米到100微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在1微米到10微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在10微米到100微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在100微米到1,000微米范围内。在某些实施例中,粒子在1-5微米范围内。在某些实施例中,粒子直径在1nM到1,000nM范围内。在某些实施例中,粒子直径在1nM到100nM范围内。在某些实施例中,粒子直径在1nM到10nM范围内。在某些实施例中,粒子直径在10nM到100nM范围内。在某些实施例中,粒子直径在100nM到1,000nM范围内。在某些实施例中,粒子在1-5nm范围内。在某些实施例中,粒子直径在1pm到1,000pm范围内。在某些实施例中,粒子直径在1pm到100pm范围内。在某些实施例中,粒子直径在1pm到10pm范围内。在某些实施例中,粒子直径在10pm到100pm范围内。在某些实施例中,粒子直径在100pm到1,000pm范围内。在某些实施例中,粒子在1-5pm范围内。

#### [0492] 6. 制备粒子的方法

[0493] 本发明粒子可使用所属领域中已知的任何方法来制备。这些方法包括 (但不限于) 喷雾干燥、单一和双重乳液溶剂蒸发、溶剂萃取、相分离、简单和复杂凝聚以及所属领域的普通技术人员熟知的其它方法。在某些实施例中,制备粒子的方法是双重乳化法和喷雾干燥。可改变用于制备粒子的条件以得到具有所需尺寸或性质 (例如疏水性、亲水性、外部形

态、“粘性”、形状等)的粒子。制备粒子的方法和所用条件(例如溶剂、温度、浓度、空气流速等)也可视所囊封的药剂和/或基质的组成而定。

[0494] 开发用于制备供传递囊封药剂的粒子的方法描述于文献中(例如请参见M.道布罗(Doubrow, M.)编,“医学和药学中的微胶囊和纳米粒子(Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy)”,CRC出版社(CRC Press),伯克莱屯(Boca Raton),1992;马斯欧维茨(Mathiowitz)和朗格(Langer),控制释放杂志(J. Controlled Release) 5:13-22,1987;马斯欧维茨(Mathiowitz)等人反应性聚合物(Reactive Polymers) 6:275-283,1987;马斯欧维茨(Mathiowitz)等人应用聚合物科学杂志(J. Appl. Polymer Sci.) 35:755-774,1988;各文献都以引用的方式并入本文中)。

[0495] 如果通过任何上述方法制备的粒子的尺寸范围超出所需范围,那么可例如使用筛来确定粒子的尺寸。粒子也可经涂布。在某些实施例中,粒子涂有靶向剂。在其它实施例中,粒子经涂布以实现所需表面性质(例如特定电荷)。

[0496] 7.微胞和脂质体

[0497] 本发明的氨基醇类脂质化合物可用于制备微胞或脂质体。许多制备微胞和脂质体的技术为所属领域中所已知,且任何方法可用于本发明氨基醇类脂质化合物来制备微胞和脂质体。另外,包括多核苷酸、小分子、蛋白质、肽、金属、有机金属化合物等在内的任何药剂可包括于微胞或脂质体中。微胞和脂质体尤其适用于传递诸如疏水性小分子等疏水性药剂。

[0498] 在某些实施例中,通过自发组装来形成脂质体(脂质或氨基醇类脂质化合物小泡)。在其它实施例中,当薄脂质膜或脂质块水合且脂质结晶双层堆叠变成流体并膨胀时,形成脂质体。水合脂质薄片在搅拌期间脱离且自封闭形成多层大微脂粒(LMV)。这种物质防止水与双层的烃核心在边缘处相互作用。一旦这些粒子形成,便可通过输入声能(声波处理)或机械能(挤压)来改良以减小粒子的尺寸。参见P.瓦尔德(Walde, P.)“小泡(脂质体)的制备(Preparation of Vesicles (Liposomes))”纳米科学和纳米技术百科全书(Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology),H.S.纳尔瓦(Nalwa, H.S.)编美国科学出版社:洛杉矶(American Scientific Publishers: Los Angeles),2004;第9卷,第43-79页;思卓卡(Szoka)等人“比较性质和制备脂质小泡(脂质体)的方法(Comparative Properties and Methods of Preparation of Lipid Vesicles (Liposomes))”生物物理学与生物工程年评(Ann. Rev. Biophys. Bioeng.) 9:467-508,1980;各文献都并入本文中。脂质体的制备涉及制备用于水合的氨基醇类脂质化合物,在搅拌下使氨基醇类脂质化合物水合,和确定小泡尺寸以实现脂质体的均匀分布。首先将氨基醇类脂质化合物溶解于有机溶剂中以确保氨基醇类脂质化合物的均匀混合物。接着去除溶剂,形成类脂质膜。通过将小瓶或烧瓶放在真空泵上过夜来充分干燥这种膜以去除残余有机溶剂。通过向干类脂质的容器中添加水性介质并搅拌混合物来完成类脂质膜/块的水合。使用声能破坏LMV悬浮液通常可产生直径在15-50nm范围内的单层小微脂粒(SUV)。脂质挤压是迫使脂质悬浮液通过具有确定孔径的聚碳酸酯过滤器以得到直径接近所用过滤器的孔径的粒子的技术。挤压通过具有100nm孔隙的过滤器通常产生平均直径为120-140nm的单层大微脂粒(LUV)。

[0499] 在某些实施例中,多核苷酸为RNA分子(例如RNAi分子)。在其它实施例中,多核苷酸为DNA分子。在某些实施例中,氨基醇类脂质为C14-120。在某些实施例中,氨基醇类脂质

为C16-120。在某些实施例中,氨基醇类脂质为C14-98。在某些实施例中,氨基醇类脂质为C14-113。在某些实施例中,氨基醇类脂质为C18-96。在某些实施例中,氨基醇类脂质为C14-96。在某些实施例中,氨基醇类脂质为C14-110。在某些实施例中,脂质体中氨基醇类脂质化合物的量在30-80mol%、优选40-70mol%、更优选60-70mol%范围内。这些脂质体可使用所属领域中已知的任何方法来制备。在某些实施例(例如含有RNAi分子的脂质体)中,通过脂质挤压来制备脂质体。

[0500] 某些氨基醇类脂质化合物可在某些分子(诸如DNA和RNA)周围自发地自组装,形成脂质体。在一些实施例中,应用为传递多核苷酸。使用这些氨基醇类脂质化合物允许简单地组装脂质体而无需其它步骤或诸如挤压机等装置。

[0501] 以下科学论文描述其它制备脂质体和微胞的方法:纳兰(Narang)等人"用于分裂和不分裂细胞中的非病毒基因转移的具有增加的DNA结合亲和力的阳离子性脂质(Cationic Lipids with Increased DNA Binding Affinity for Nonviral Gene Transfer in Dividing and Nondividing Cells)"生物结合物化学(Bioconjugate Chem.) 16:156-68,2005;赫弗兰德(Hofland)等人"形成用于基因转移的稳定阳离子性脂质/DNA复合物(Formation of stable cationic lipid/DNA complexes for gene transfer)"美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA) 93:7305-7309,1996年7月;拜克(Byk)等人"用于DNA转移的新颖阳离子性脂质的合成、活性和结构活性关系研究(Synthesis,Activity,and Structure-Activity Relationship Studies of Novel Cationic Lipids for DNA Transfer)"药物化学杂志(J.Med.Chem.) 41(2):224-235,1998;吴(Wu)等人"作为构筑新DNA传递药剂的新颖方法的阳离子性脂质聚合(Cationic Lipid Polymerization as a Novel Approach for Constructing New DNA Delivery Agents)"生物结合物化学(Bioconjugate Chem.) 12:251-57,2001;鲁基诺夫(Lukyanov)等人"作为难溶性药物的传递系统的来自水溶性聚合物的脂质衍生物的微胞(Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs)"先进药物传递评论(Advanced Drug Delivery Reviews) 56:1273-1289,2004;曲安昌特(Tranchant)等人"利用阳离子性脂质传递质粒的物理化学优化(Physicochemical optimisation of plasmid delivery by cationic lipids)"基因医学杂志(J.Gene Med.) 6:S24-S35,2004;范巴勒(van Balen)等人"脂质体/水亲油性:方法、信息内容和医药学应用(Liposome/Water Lipophilicity:Methods,Information Content,and Pharmaceutical Applications)"医药研究评论(Medicinal Research Rev.) 24(3):299-324,2004;各文献都以引用的方式并入本文中。

#### [0502] 8. 药剂

[0503] 待通过本发明的系统传递的药剂可为治疗剂、诊断剂或预防剂。待向个体投予的任何化合物都可使用本发明复合物、皮可粒子、纳米粒子、微粒、微胞或脂质体来传递。所述药剂可为小分子、有机金属化合物、核酸、蛋白质、肽、多核苷酸、金属、经同位素标记的化合物、药物、疫苗、免疫药剂等。

[0504] 在某些实施例中,药剂是具有医药活性的有机化合物。在本发明的另一实施例中,药剂是临床使用的药物。在某些实施例中,所述药物是抗生素、抗病毒剂、麻醉剂、类固醇药剂、消炎剂、抗赘生剂、抗原、疫苗、抗体、解充血剂、抗高血压剂、镇静剂、避孕剂、助孕剂、抗

胆碱剂、止痛剂、抗抑郁剂、抗精神病剂、 $\beta$ -肾上腺素阻断剂、利尿剂、心血管活性剂、血管活性剂、非类固醇消炎剂、营养剂等。

[0505] 在本发明的某些实施例中,待传递的药剂可为药剂混合物。

[0506] 诊断剂包括气体;金属;用于正电子发射断层摄影法(positron emissions tomography,PET)、计算机辅助断层摄影法(computer assisted tomography,CAT)、单光子发射计算机断层摄影法、x射线、荧光法和磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI)中的市售成像剂;和对比剂。适合用作MRI中的对比剂的物质的实例包括钆螯合物,以及铁、镁、锰、铜和铬。适用于CAT和x射线成像的物质的实例包括基于碘的物质。

[0507] 预防剂包括(但不限于)抗生素、营养补充剂和疫苗。疫苗可包含分离的蛋白质或肽、灭活的生物体和病毒、死亡的生物体和病毒、遗传改变的生物体或病毒和细胞提取物。预防剂可与白细胞介素、干扰素、细胞因子和诸如霍乱毒素、明矾、弗氏佐剂等佐剂等组合。预防剂包括以下细菌生物体的抗原:诸如肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌、白喉棒状杆菌、单核细胞增生李斯特氏菌、炭疽杆菌、破伤风梭菌、肉毒梭菌、产气荚膜梭菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、变形链球菌、绿脓杆菌、伤寒沙门菌、副流感嗜血菌、百日咳博德特氏菌、土拉弗朗西斯菌、鼠疫耶尔森菌、霍乱弧菌、嗜肺性军团菌、结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、梅毒螺旋菌、钩端螺旋体、伯氏疏螺旋菌、空肠弯曲菌等;以下病毒的抗原:诸如天花、流感A和B、呼吸道融合性病毒、副流感、麻疹、HIV、水痘-带状疱疹、单纯疱疹1和2、细胞巨大病毒、埃-巴二氏病毒、轮状病毒、鼻病毒、腺病毒、乳头状瘤病毒、脊髓灰质炎病毒、腮腺炎、狂犬病、风疹、柯萨奇病毒、马脑炎、日本脑炎、黄热病、裂谷热、甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎和戊型肝炎病毒等;以下真菌、原生动物和寄生生物体的抗原:诸如新型隐球酵母、荚膜组织浆菌、白色念珠菌、热带念珠菌、星状诺卡氏菌、立氏立克次体、伤寒立克次体、肺炎支原体、鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体、恶性疟原虫、布氏锥虫、痢疾阿米巴、粪地弓形虫、阴道毛滴虫、曼氏血吸虫等。这些抗原可呈完整死生物体、肽、蛋白质、糖蛋白、碳水化合物或其组合的形式。

#### [0508] 9. 靶向剂

[0509] 本发明复合物、脂质体、微胞、微粒、皮可粒子和纳米粒子可修饰成包括靶向剂,因为其通常需要靶向特定细胞、细胞集合或组织。将医药组合物引导到特定细胞的多种靶向剂为所属领域中所已知(参见例如库腾(Cotten)等人酶学方法(Methods Enzym.) 217:618, 1993;其以引用的方式并入本文中)。靶向剂可包括在整个粒子中或可仅位于表面上。靶向剂可为蛋白质、肽、碳水化合物、糖蛋白、脂质、小分子、核酸等。靶向剂可用于靶向特定细胞或组织或可用于促进粒子的内吞和吞噬。靶向剂的实例包括(但不限于)抗体、抗体片段、低密度脂蛋白(LDL)、转铁蛋白(transferrin)、脱唾液酸糖蛋白(asialycoprotein)、人类免疫缺陷病毒(HIV)的gp120包膜蛋白、碳水化合物、受体配体、唾液酸、适体等。如果靶向剂包括在整个粒子中,那么靶向剂可包括在用于形成粒子的混合物中。如果靶向剂仅位于表面上,那么可使用标准化学技术使靶向剂与所形成的粒子缔合(即通过共价、疏水性、氢键、范德华力或其它相互作用)。

#### [0510] 10. 医药组合物

[0511] 一旦已制备了复合物、微胞、脂质体或粒子,便可将其与一种或一种以上医药赋形剂组合形成适合于投予动物(包括人类)的医药组合物。如所属领域的技术人员应了解,可

基于如下文所述的投药途径、所传递的药剂、传递药剂的时程等选择赋形剂。

[0512] 本发明的医药组合物和用于本发明的医药组合物可包括医药学上可接受的赋形剂或载剂。如本文中所使用,术语“医药学上可接受的载剂”的意思是任何类型的无毒、惰性固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、囊封物质或调配助剂。可用作医药学上可接受的载剂的物质的一些实例是糖,诸如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,诸如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素和其衍生物,诸如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;粉末状黄芪胶;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,诸如可可脂和栓剂蜡;油,诸如花生油、棉籽油;红花油;芝麻油;橄榄油;玉米油和大豆油;二醇,诸如丙二醇;酯,诸如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;清洁剂,诸如吐温80(Tween 80);缓冲剂,诸如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原质水;等张生理食盐水;林格氏溶液(Ringer's solution);乙醇;和磷酸盐缓冲溶液,以及其它无毒相容性润滑剂,诸如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、释放剂、涂布剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂也可根据调配者的判断存在于组合物中。本发明的医药组合物可经口、经直肠、不经肠、脑池内、阴道内、鼻内、腹膜内、局部(如以散剂、乳膏、软膏或滴剂形式)、经颊或以口服或鼻用喷雾形式投予人类和/或动物。

[0513] 用于经口投药的液体剂型包括(但不限于)医药学上可接受的乳液、微乳液、溶液、悬浮液、糖浆和酏剂。除活性成分(即微粒、纳米粒子、脂质体、微胞、多核苷酸/脂质复合物)外,液体剂型还可含有所属领域中常用的惰性稀释剂,例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂,诸如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲甲酰胺、油(尤其是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和脱水山梨糖醇脂肪酸酯和其混合物。除惰性稀释剂外,口服组合物还可包括佐剂,诸如湿润剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和芳香剂。

[0514] 可注射制剂(例如无菌可注射水性或油性悬浮液)可根据已知技术使用合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂来调配。无菌可注射制剂也可在不经肠可接受的无毒稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液,例如呈1,3-丁二醇溶液形式。可使用的可接受的媒剂和溶剂包括水、林格氏溶液、U.S.P. 和等张氯化钠溶液。此外,无菌不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。出于这一目的,可使用任何温和的不挥发性油,包括合成的单甘油酯或二甘油酯。此外,诸如油酸等脂肪酸可用于制备可注射剂。在某些实施例中,将粒子悬浮于包含1% (w/v) 羧甲基纤维素钠和0.1% (v/v) 吐温80的载剂流体中。

[0515] 可注射调配物可例如通过用截留细菌的过滤器过滤或通过并入灭菌剂来灭菌,呈可在使用前溶解或分散于无菌水或其它无菌可注射介质中的无菌固体组合物形式。

[0516] 用于经直肠或经阴道投药的组合物优选为栓剂,其可通过将粒子与在周围温度下是固体但在体温下是液体且因此在直肠或阴道腔中熔融并释放粒子的合适非刺激性赋形剂或载剂(诸如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡)混合来制备。

[0517] 用于经口投药的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、散剂和颗粒。在所述固体剂型中,将粒子与以下混合:至少一种医药学上可接受的惰性赋形剂或载剂,诸如柠檬酸钠或磷酸二钙;和/或a) 填充剂或增量剂,诸如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇和硅酸;b) 粘合剂,例如羧甲基纤维素、海藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;c) 保湿剂,诸如甘油;d) 崩解剂,诸如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;e) 溶解延迟剂,诸如石蜡;f) 吸收促进剂,诸如季铵化合物;g) 湿润剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油

酯；h) 吸附剂，诸如高岭土和膨润土；和i) 润滑剂，诸如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠和其混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下，剂型还可包含缓冲剂。

[0518] 类似类型的固体组合物还可用作使用诸如乳糖以及高分子量聚乙二醇等赋形剂的填充软明胶胶囊和硬明胶胶囊中的填充剂。

[0519] 片剂、糖衣药丸、胶囊、丸剂和颗粒的固体剂型可使用包衣和外壳（诸如肠溶衣）和医药调配技术中熟知的其它包衣来制备。其可任选含有乳浊剂并且还可具有任选以延迟方式仅或优先在肠道的某一部分中释放活性成分的组成。可使用的包埋组合物的实例包括聚合物物质和蜡。

[0520] 类似类型的固体组合物还可用作使用诸如乳糖以及高分子量聚乙二醇等赋形剂的填充软明胶胶囊和硬明胶胶囊中的填充剂。

[0521] 用于局部或经皮投予本发明医药组合物的剂型包括软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、散剂、溶液、喷雾、吸入剂或贴片。在无菌条件下将粒子与医药学上可接受的载剂和任何所需的防腐剂或可能需要的缓冲剂混合。还预期眼用调配物、滴耳剂和滴眼剂在本发明的范围内。

[0522] 除本发明的粒子外，软膏、糊剂、乳膏和凝胶还可含有赋形剂，诸如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄芪胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石和氧化锌或其混合物。

[0523] 除本发明的粒子外，散剂和喷雾还可含有赋形剂，诸如乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末或这些物质的混合物。喷雾可另外含有惯用推进剂，诸如氯氟烃。

[0524] 经皮贴片具有使得化合物控制传递到身体的额外优点。所述剂型可通过将微粒或纳米粒子溶解或分配于适当介质中来制备。也可使用吸收增强剂来增加化合物穿过皮肤的通量。可通过提供速率控制膜或通过将粒子分散于聚合物基质或凝胶中来控制速率。

[0525] 本发明的这些和其它方面将在考虑以下实例时得到进一步了解，所述实例打算说明本发明的某些特定实施例，而不打算限制其如权利要求书所定义的范围。

[0526] 实例

[0527] 实例1

[0528] 1,2-氨基醇的合成和表征

[0529] 如图1中所示，通过将胺与环氧化物组合于配备有搅拌棒的玻璃小瓶中并加热到90℃来合成这些类脂质。所选的胺含有2到5个胺官能团，而环氧化物为外消旋的，具有不同链长并且特征为独特官能团和不同饱和度（图2）。在这一温度下反应时间在24-72小时范围内变化。混合物通常在整个反应中保持澄清并且当反应进行时变得显著具有粘性。冷却时，许多混合物变成蜡状固体。可通过添加到反应混合物中的环氧化物当量数来控制反应程度。举例来说，在所示实例中，胺114具有最多五个取代点。添加五当量环氧化物将得到有五条烷烃链连接于1,2-氨基醇的胺核心。添加四当量环氧化物将得到仅四条链连接于相同结构。通过薄层色谱（TLC）验证这一情况，其显示如所述建立的粗反应混合物中主要存在一种产物。

[0530] 为验证分子的身份，建立数个测试反应并且通过硅胶色谱法进行纯化。分离粗反应混合物的组分并利用NMR和质谱法测试。再次在胺114的情况下，鉴别出三种产物：具有三个、四个和五个尾部的产物。通过质谱法确认分子量，并且通过NMR验证结构（图3，其展示从

胺114衍生的环氧化物类脂质的表征数据)。这些分离的化合物接着用作标准物相对于所选文库成员进行TLC分析。设置成完全取代胺的反应具有与完全经取代的标准物类似的 $R_f$ 和染色概况。设置成占据胺的n-1个位置的反应具有与n-1标准物类似的 $R_f$ 和染色概况(图4)。

#### [0531] 实例2

#### [0532] 针对RNA传递的活体外筛选

[0533] 测试环氧化物类脂质向稳定表达萤火虫和水母(Renilla)荧光素酶的海拉细胞系(HeLa cell line)传递siRNA的能力。通过使类脂质与对萤火虫荧光素酶具有特异性的siRNA复合,向细胞中添加这种混合物并测量随后萤火虫与水母表达的比率来测定功效。这一程序是在96孔微量滴定板中进行以使得能够进行物质的高通量分析。在这项分析中,萤火虫与水母表达降低指示毒性,而仅萤火虫表达降低指示由siRNA引起的特异性敲除。图5中展示所选文库成员的初始筛选结果。这一取样的许多成员显示一定程度的转染细胞并引起萤火虫荧光素酶一定程度的敲除的能力。其中具有最好表现者通常是从具有14个碳或更长的环氧化物与具有三个或三个以上胺官能团的单体偶合所得到的类脂质。少数物质显示萤火虫表达完全去除,甚至在所测试的最低剂量的类脂质情况下也是如此。

#### [0534] 实例3

#### [0535] RNA囊封效率

[0536] 用于活体外实验的调配是将RNA与类脂质以设定比率简单混合于缓冲液中,随后添加到细胞中。活体内调配物需要添加有助于在整个身体内循环的额外成分。为测试这些类脂质形成适合于活体内起作用的粒子的能力,我们遵循用于实验室的标准调配程序。这些粒子由42%类脂质、48%胆固醇和10%PEG组成。形成粒子后,添加RNA且使其与复合物整合。使用标准里伯格分析(Ribogreen assay)来测定囊封效率。如下表中所示,这些粒子在挤压后为约100nm,其中一些粒子实现超过90%的囊封效率。

#### [0537] 所选环氧化物类脂质的粒径和截留效率

#### [0538]

化合物	尺寸(nm)	截留(%)
C14-120-B	95.2	92.75
C16-120-B	128.4	67.22
C14-98-B	126.9	44.84
C14-113-B	92.7	96.42

#### [0539] 实例4

[0540] 在转染前24小时,将HepG2细胞以每孔15,000个细胞的密度接种于不透明白色96孔板(康宁库斯塔公司(Corning-Costar),缅因州肯纳邦克(Kennebunk,ME))中,使其生长和汇合。用25mM乙酸钠(pH 5)制备类脂质的工作稀释液达到0.5mg/ml的浓度。对于基因传递实验,使用pCMV-Luc萤火虫荧光素酶DNA(埃里密生物制药公司(ElimBiopharmaceuticals),加利福尼亚州南旧金山(South San Francisco,CA))。通过带正电类脂质分子与带负电核酸之间的静电相互作用来形成类脂质:DNA复合物。通过改变添加到恒定量的DNA中的类脂质溶液的体积来测试不同重量:重量比的类脂质:DNA。将类脂质溶液(75 $\mu$ l)添加到DNA溶液(75 $\mu$ l)中并充分混合。接着在室温下保温混合物20分钟,使其复合。接着将这些复合物(30 $\mu$ l)添加到含有血清的培养基(200 $\mu$ l)中并充分混合。接着从细胞

中去除生长培养基且立即添加含有类脂质:DNA复合物的培养基。每孔总DNA负载为300 $\mu$ g DNA。如供应商所述进行脂染胺2000转染。使复合物与细胞一起培育48小时。接着通过Bright-Glo分析(普洛麦格公司(Promega),威斯康星州麦迪逊(Madison,WI))定量荧光素酶表达。简单来说,转染后48小时,使用12通道吸液棒(aspirating wand)从细胞中去除含有类脂质:DNA复合物的生长培养基。将200 $\mu$ l Bright-Glo试剂与不含酚红的DMEM的1:1混合物添加到含有细胞的96孔板的各孔中。在室温下培育10分钟后,使用发光计测量发光。(n=3)。图6中描绘例示性结果。

#### [0541] 实例5

[0542] 基于类脂质的siRNA调配物包含类脂质、胆固醇、聚乙二醇-脂质(PEG-脂质)和siRNA。用乙醇制备类脂质、mPEG2000-DMG MW 2660(由阿尔尼拉姆公司(Alnylam)合成)和胆固醇MW 387(西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich))的储备溶液并混合得到42:10:48的摩尔比。将混合的脂质添加到200mM乙酸钠缓冲液(pH 5.2)中,得到含有35%乙醇的溶液,使得自发形成空的类脂质纳米粒子。将所得纳米粒子挤压通过80nm膜(通过三次)。将含siRNA的35%乙醇和50mM乙酸钠(pH 5.2)以10:1(wt/wt)总脂质:siRNA添加到纳米粒子中并在37 $^{\circ}$ C下保温30分钟。通过使用3,500MWCO膜针对PBS透析来去除含有siRNA的类脂质纳米粒子中的乙醇和更换其缓冲液。使用Malvern Zetasizer NanoZS(马尔文公司(Malvern))测定粒径。通过里伯格林分析来测定siRNA含量和截留效率。

[0543] C57BL/6小鼠(查尔斯河实验室(Charles River Labs))通过尾静脉注射接受0.01ml/g体积的生理食盐水或含siRNA的类脂质调配物。给与小鼠1.75mg/kg或4mg/kg截留siRNA。投药后48小时,通过吸入异氟醚(isofluorane)使动物麻醉并通过眶后采血将血液收集于血清分离管中。根据制造商的方案,使用发色分析(Biophen FVII,阿尼拉公司(Aniara Corporation))测定样品中的因子VII蛋白的血清含量。使用从经生理食盐水处理的动物收集的血清产生标准曲线。图7中描绘例示性结果。

#### [0544] 实例6

##### [0545] 环氧化物文库的活体外筛选

[0546] 根据本文所述的程序合成基于环氧化物的类脂质文库的化合物。接着使用基因工程改造成表达荧光素酶报导蛋白的海拉衍生细胞系,针对向癌细胞系传递siRNA的功效筛选化合物。在这些实验中,通过比较处理组和未处理对照组的蛋白质含量来评估各物质促进序列特异性基因沉默(gene silencing)的能力。对于各化合物,使用不同重量比的类脂质:siRNA进行传递实验。在最初揭示内容中,展示整个文库的敲除结果。图11中展示简略数据组,其说明活体外筛选中表现最好的前25种化合物的结果,包括C16-96-B、C14-200和/或C14-205以及C12-200和/或C12-205。

#### [0547] 实例7

##### [0548] 表现最好的环氧化物类脂质的活体内筛选

[0549] 为测试活体内siRNA传递功效,使用用于肝传递的小鼠模型。因子VII,即肝细胞特异性凝血因子用作于敲除研究的模型蛋白质。一旦由肝细胞产生,因子VII便释放于血流中,且可通过简单抽血和通过比色分析定量蛋白质含量来测定基线表达含量。通过向肝细胞传递抗因子VII siRNA,可实现这种模型蛋白质的敲除并可通过与未处理对照组进行比较来测定沉默百分比。



[0550] 在活体外筛选后,如第1部分中所详述纯化化合物(参见实例14)。对于活体内测试,用胆固醇和PEG-脂质调配化合物以用于测试血清稳定性和siRNA包装。在这些实验中,以42:48:10摩尔比的类脂质:胆固醇:PEG调配类脂质。总脂质(类脂质+胆固醇+PEG)与siRNA的重量比为10:1。每次调配后,分别使用动力学光散射和里伯格林分析表征粒子的尺寸和siRNA截留效率。在初始筛选中所授予的siRNA总剂量由于类脂质粒子的截留效率差异而在各组间不同。在所有实验中,授予每一小鼠的siRNA剂量与体重相符。图12中展示活体内筛选的敲除结果。B1和B2命名表示通过TLC进行观测并且在纯化期间分离的不同化合物。如图所示,C14-11-B和C16-96-B是根据初始筛选得到的前导化合物。应注意,虽然一些化合物在这一筛选中未显示功效,但简单调整调配物组成可能会大大改善结果。

[0551] 实例8

[0552] 在初始活体内筛选实验后,使用两种化合物进行剂量反应。在这些实验和所有后续实验中,siRNA剂量是以调配物中的总siRNA含量而非截留siRNA计。图13a和图14a中展示剂量反应结果。除因子VII测量外,还记录小鼠体重变化并且重量减轻通常视为调配物诱导的毒性(参见图13b和图14b)。表1和2将来自这些实验的调配物参数和表征数据制成表格。

[0553] 表1-C16-96-B剂量反应调配物的调配物参数和表征数据

[0554]

调配物			表征	
类脂质	脂质:胆固醇:PEG	总脂质:siRNA	截留	尺寸
C16-96-B	65:29:6	10:1	81%	107.8 nm

[0555] 表2-C14-110-B剂量反应调配物的调配物参数和表征数据

[0556]

调配物			表征	
类脂质	脂质:胆固醇:PEG	总脂质:siRNA	截留	尺寸
C14-110-B	42:48:10	10:1	44%	115 nm

[0557] 实例9

[0558] 完成剂量反应后,选择C16-96-B用于进一步研究和优化。在随后实验中,改变调配物的组成百分比以观察组成对粒径、截留和功效的影响。表3中展示所研究的组成。图15展示所测试调配物的敲除结果。虽然以红色显示的调配物以前是最好的,但显示可通过以不同组成调配粒子来改良功效。

[0559] 表3-C16-96-B调配物优化实验的调配物参数和表征数据

[0560]

调配物参数					
调配物	类脂质	胆固醇	PEG	总脂质:siRNA	截留
1	63	31	6	8.5:1	80%

[0561]

2	65	29	6	8.5:1	80%
3	67	27	6	8.5:1	80%
4	69	25	6	8.5:1	84%
5	71	23	6	8.5:1	85%
6	63	33	4	8.5:1	85%
7	65	31	4	8.5:1	85%
8	67	29	4	8.5:1	84%
9	69	27	4	8.5:1	83%
10	71	25	4	8.5:1	85%

[0562] 实例10

[0563] 使用新的组成百分比参数进行第二剂量反应。图16和表4中分别展示敲除结果和粒子调配物/特征。通过以这一组成进行调配,在0.25mg/kg剂量下实现约40%敲除。使用这一结果作为新基准,再次访问文库且以0.25mg/kg筛选先前未测试的物质以试图发现可产生类似或较好结果的其它化合物。

[0564] 表4

[0565]

调配物			表征	
类脂质	脂质:胆固醇:PEG	总脂质:siRNA	截留	尺寸
C16-96-B	71:23:6	20:1	83%	205 nm

[0566] 实例11

[0567] 在再次进行的活体内筛选中,鉴别出化合物C12-200和/或C12-205,其在0.25mg/kg剂量下得到近乎完全沉默。如图12中所描绘,这种化合物(C12-200和/或C12-205)的尾部略微更长形式先前鉴别为高度有效的传递药剂,其在7.5mg/kg总siRNA的高得多的剂量下显示完全沉默。完全有可能这种化合物可促进在低得多的剂量下完全沉默,但这尚未得到充分研究,因为重心已放在C12-200和/或C12-205上。在发现这种化合物的功效后,开始第1部分中所详述的表征实验(参见实例14)。

[0568] 图17b中描绘这一筛选的敲除和体重变化结果,且表5将调配物参数和特征制成表格。图17a描绘第二批C16-96-B的敲除结果。在先前实验中,这种化合物在0.25mg/kg剂量下产生约40%敲除。从质谱分析来看,显示与已用于先前研究中的更有效的三个尾部形式形成对比,这批化合物具有两个尾部。

[0569] 表5-再次进行的活体内筛选的调配物参数和表征数据

[0570]

调配物参数						
调配物	脂质	胆固醇	PEG	总脂质:siRNA	截留(%)	尺寸(nm)

[0571]

C14-96-B	73.1	21.3	5.6	8.5	87	81.7
C16-96-B	71.0	23.0	6.0	8.5	55	170.2
C12-200 和/或 C12-205	45.0	45.5	9.5	8.5	36	167
C18-62-B	52.7	39.1	8.2	8.5	86	227.4

[0572] 实例12

[0573] 对C12-200和/或C12-205进行低剂量反应。图18a和图18b中展示敲除和体重减轻结果。所述结果显示在极低剂量的siRNA下实现有效的敲除。与ND98,即来自初始类脂质文库的先前最好化合物相比,可在1/100剂量的siRNA下实现类似敲除。表6中展示调配物参数和表征数据。

[0574] 表6-C12-200和/或C12-205和ND98调配物的调配物参数和表征数据

[0575]

调配物参数						
调配物	脂质	胆固醇	PEG	总脂质:siRNA	截留 (%)	尺寸 (nm)
C12-200 和/或 C12-205	48.2	42.8	8.9	8.5	45	154.1
ND98	42.0	48.0	10.0	8.5	99	83.9

[0576] 实例13

[0577] 为进一步改良传递功效,增量调节C12-200和/或C12-205调配物的组成百分比。以0.01mg/kg剂量筛选这些调配物以鉴别表现可优于先前组成的调配物。图19中展示这些实验的结果并且表7中展示调配物参数和特征。正如所料,通过调整调配物的组成可实现更有效传递。这一优化工作以及合成C12-200和/或C12-205结构的尾部更长和更短形式目前正在进行中。

[0578] 表7-C12-200和/或C12-205调配物的调配物参数和表征数据

[0579]

调配物参数						
调配物	脂质	胆固醇	PEG	总脂质:siRNA	截留 (%)	尺寸 (nm)
1	65.0	25.0	10.0	8.5	0	129
2	60.0	30.0	10.0	8.5	1	128
3	55.0	35.0	10.0	8.5	16	156
4	50.0	40.0	10.0	8.5	30	136
5	45.0	45.0	10.0	8.5	46	140
6	40.0	50.0	10.0	8.5	44	168
7	35.0	55.0	10.0	8.5	40	154
8	50.0	45.0	5.0	8.5	29	157
9	45.0	50.0	5.0	8.5	34	154
10	40.0	55.0	5.0	8.5	27	159

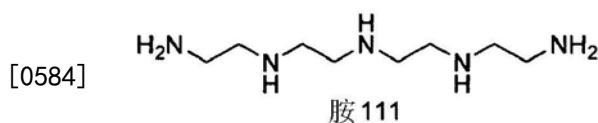
[0580]

11	35.0	60.0	5.0	8.5	34	155
----	------	------	-----	-----	----	-----

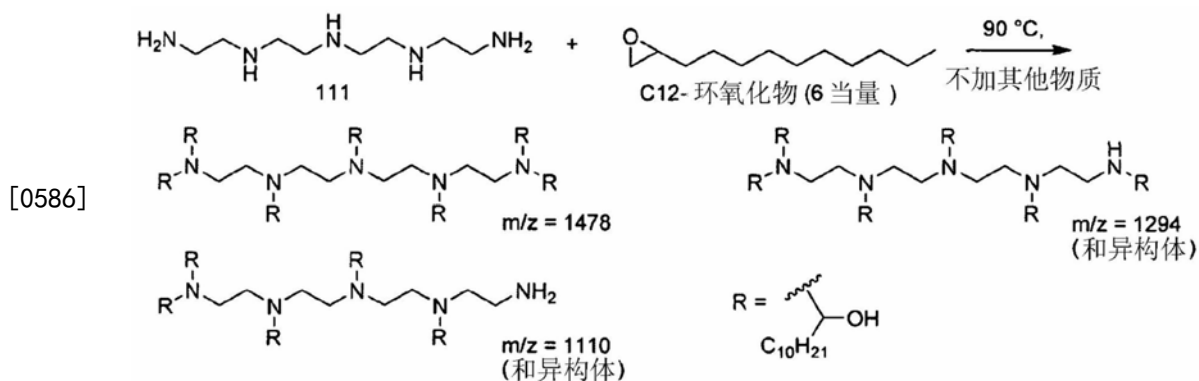
[0581] 实例14

[0582] 第1部分:基于胺111的类脂质

[0583] 胺111 (四亚乙基胺或TEPA) 以具有如下结构的直链多胺表示:

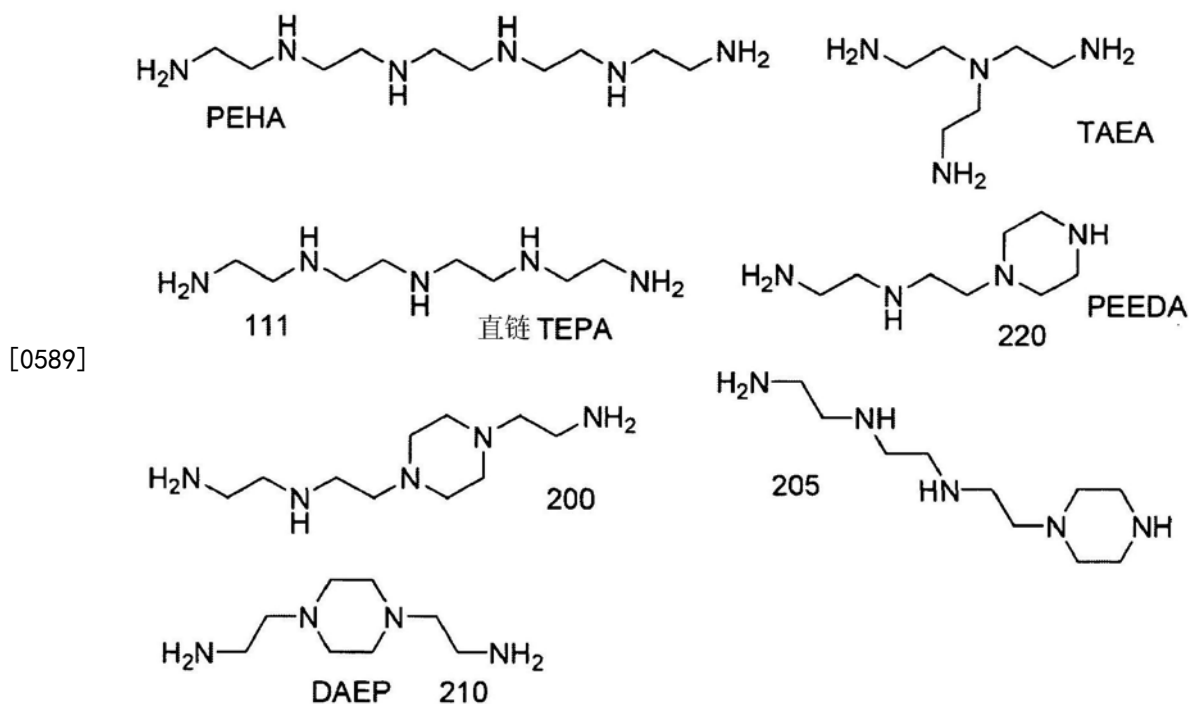


[0585] 如下说明胺111与12个碳的末端环氧化物C12之间的反应的预期产物。

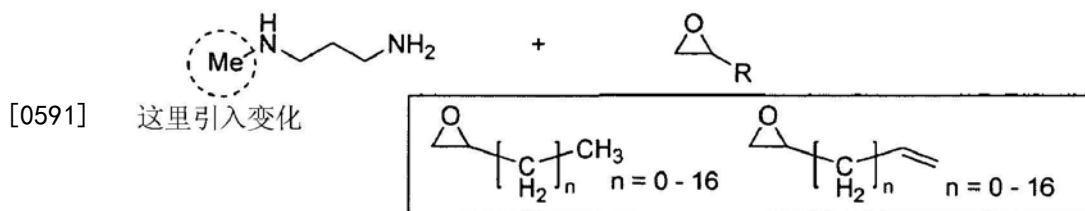


[0587] 进行这一反应,且基于以下假定分离粗反应混合物:从极性硅胶的产物洗脱次序将为:a) 7尾(111胺上的最大取代数);b) 6尾异构体(所述异构体对应于6个环氧化物与111胺反应);c) 5尾异构体等。预期粗反应混合物的MALDI-MS谱图将会揭露对应于这些化合物的m/z比率的峰值(预期7尾、6尾和5尾产物的[M+H<sup>+</sup>]计算值分别为:1481、1295和1111)。从基于TLC分析假定为6尾异构体的混合物的粗反应混合物中分离物质。这种“经纯化”的物质在活体内抗因子VII转染分析中表现相当好。

[0588] 粗反应混合物和经纯化“6尾”物质的MALDI-MS谱图(参见图20a)表明化合物(参见图20b)。工业级四亚乙基五胺(TEPA)是具有类似沸点的化合物的混合物;这些化合物中的一些化合物具有下式:

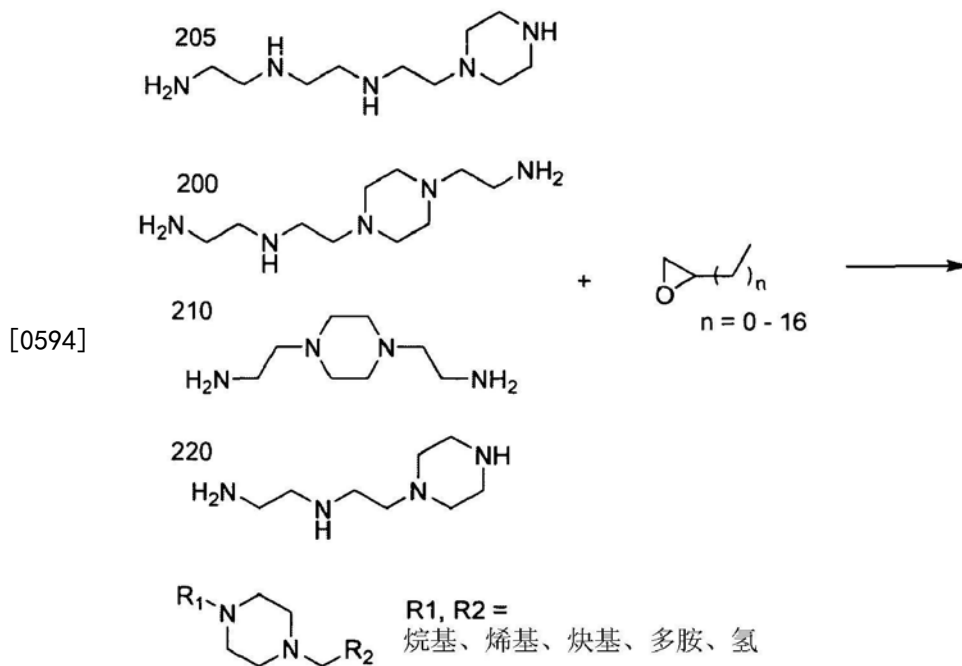


[0590] C12环氧化物与这些化合物的反应说明了粗反应混合物的MALDI质谱的大部分强峰(图20a)。对于“经纯化”物质所观察到的 $m/z$ 比率(图20b)和胺200或205与5当量环氧化物反应一致( $[M+H]^+$ 的 $m/z$ 计算值为1137,实验值为1137)并和胺210或220与4当量环氧化物反应一致( $[M+H]^+$ 的 $m/z$ 计算值为910,实验值为910)。如下说明这些化合物的结构:

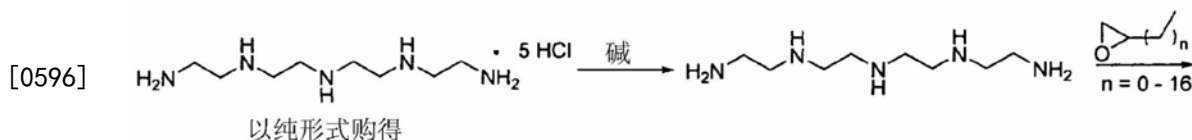


[0592] 为确定这一结果是否可再现,使用C12环氧化物和两批不同胺111进行环氧化物开环反应。对各粗反应混合物进行MALDI-MS。在C12环氧化物与前一批111胺之间的反应中,观察到一组化合物,其也在初始粗反应混合物中观察到(参见图20a)。使用C12环氧化物和新一批胺111的粗反应混合物的MALDI谱图(参见图21a)含有优势峰值,其中 $m/z$ 比率为1481(直链胺111和7个环氧化物尾部)和1137(与具有5个环氧化物尾部的胺200或205一致)。在这一谱图中 $m/z$  910处的峰值较小。这可能是111胺的批次间差异的结果。第二反应的纯化使得分离 $m/z$  1137物质的高纯度样品;我们将这一物质称为“C12-200和/或C12-205”。C12-200和/或C12-205的 $^1\text{H}$  NMR光谱与所提出的结构一致(参见图22)。

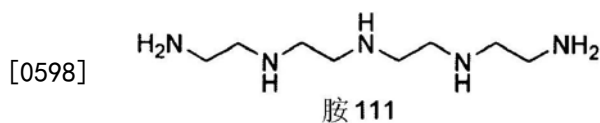
[0593] 如下文所示,我们正基于胺200、205、210和220和相关胺结构与不同长度的环氧化物的反应开发物质文库:



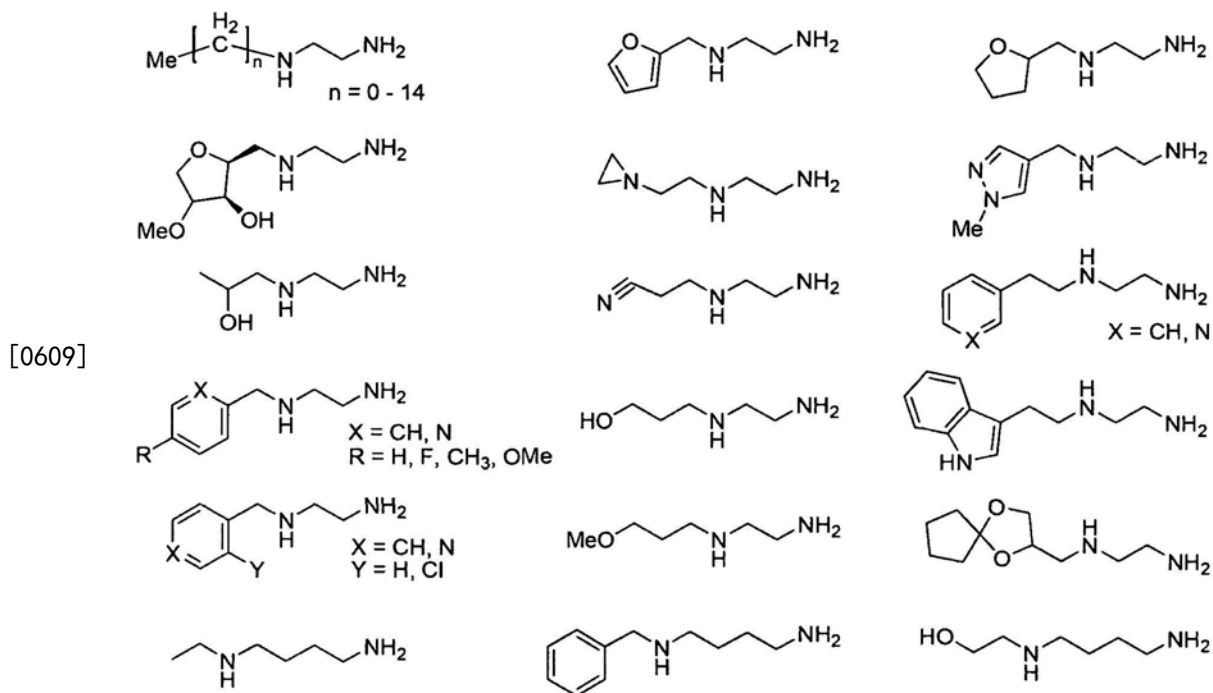
[0595] 正使用所属领域的技术人员熟悉的技术制备纯形式的这些胺。我们还提出根据以下流程从自由碱形式的市售111胺五盐酸盐得到的物质文库:



[0597] 实际直链五胺具有以下结构:

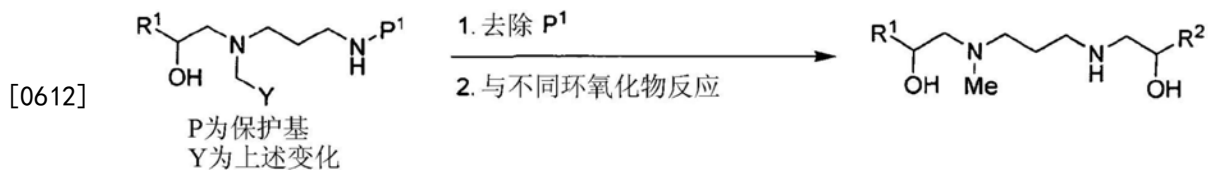




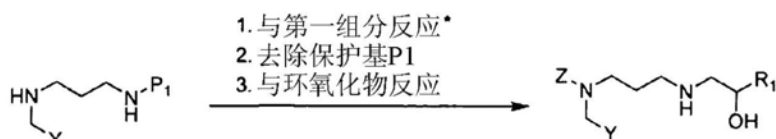


[0610] 由这些胺与各种末端环氧化物反应所产生的化合物文库将提供另外约700种氨基醇类脂质。

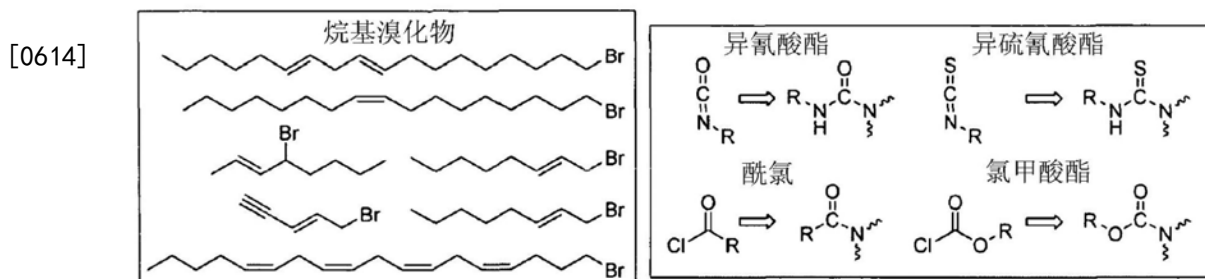
[0611] 保护/脱除保护基合成策略可提供多种变化,其中根据以下流程用不同烷基环氧化物使两个核心胺官能化:



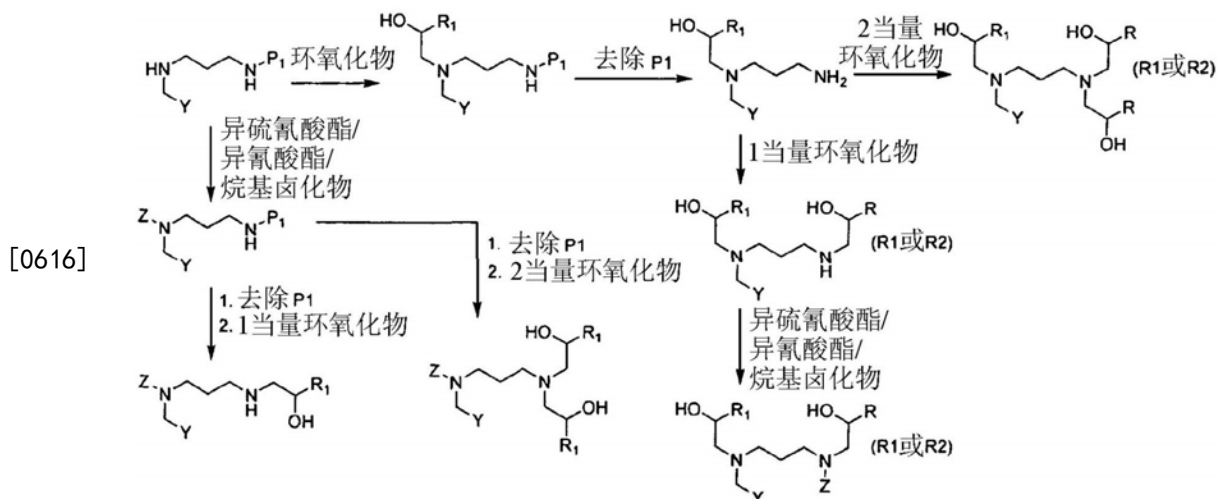
[0613] 这一策略可允许在一个胺位置用除环氧化物外的官能团(例如烷基卤化物、异硫氰酸酯、氯甲酸酯、酰氯)取代,从而如下在同一胺核心上产生两个不同官能团:



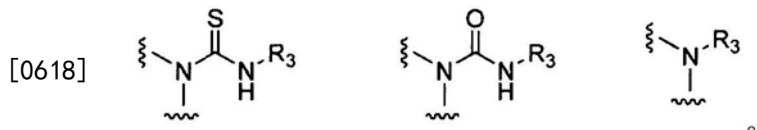
其中第一组分可为任何以下或类似衍生物:



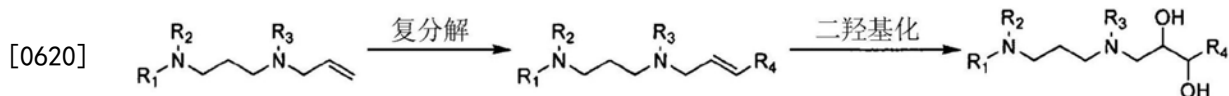
[0615] 以下是例示性流程,其说明如下产生在同一胺核心上具有两个不同官能团的各种化合物的通用合成程序:



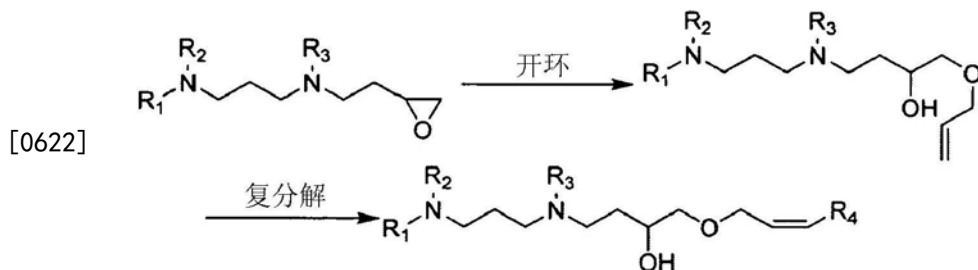
[0617] 其中Y为芳基、杂芳基、烷基(不与环氧化物、异氰酸酯、异硫氰酸酯和/或烷基卤化物反应);且Z表示来自异氰酸酯、异硫氰酸酯、烷基卤化物的片段,其具有以下例示性结构:



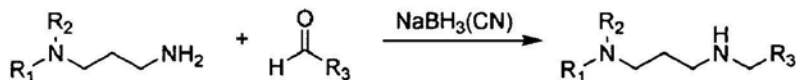
[0619] 如下可使用各种多步骤顺序在胺核心附近不同于通过环氧化物开环所产生的那些位置的位置引入其它羟基：



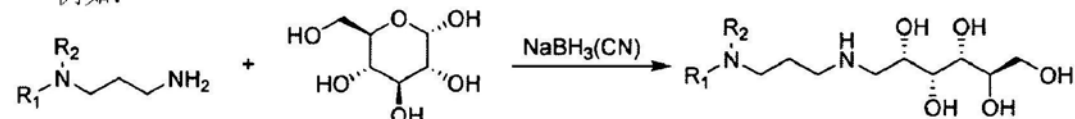
[0621] 类似途径可提供如下产生羟基与其它不饱和的方法:



[0623] 作为胺核心的差别保护后的第一步骤,还原胺化可使用多种市售醛和或许通过使用简单碳水化合物进行还原胺化(已知程序)来引入多个羟基的方式:



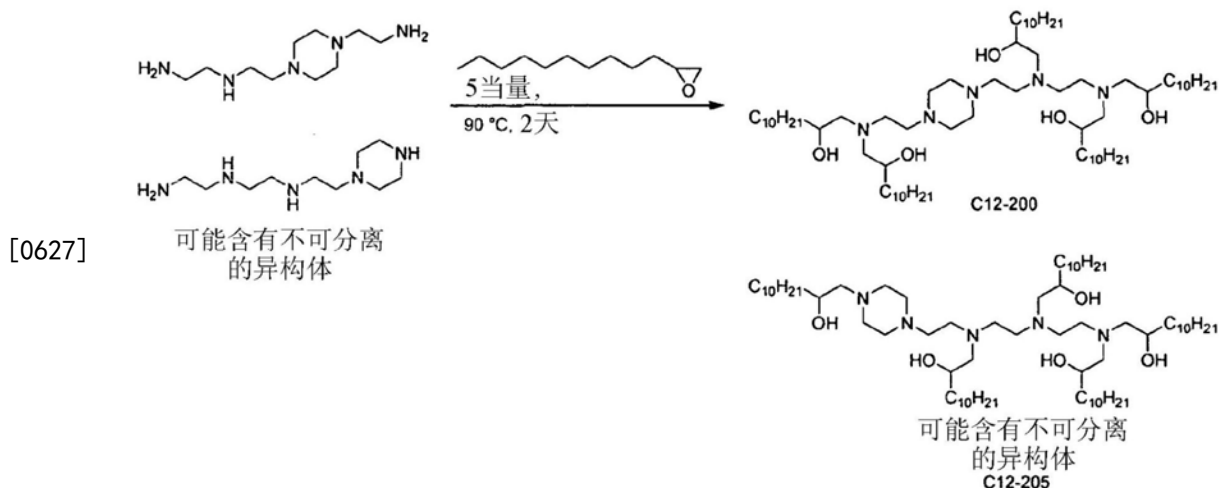
[0624] 例如:



[0625] 实例16

[0626] 合成1,1'-(2-(4-(2-((2-(双(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)乙基)氮二基)二-十二烷-2-醇(C12-200和/或C12-205)



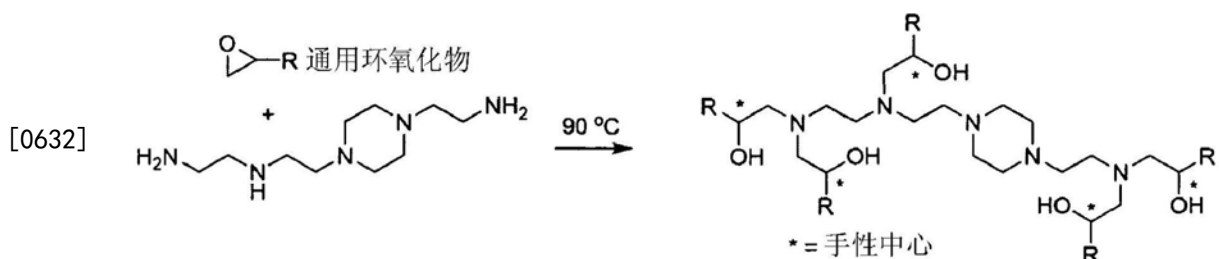


[0628] 向250mL玻璃压力容器中装入2-癸基环氧乙烷(20.0克,109毫摩尔)、四亚乙基五胺(西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)工业级,2.93克,15.5毫摩尔)和磁力搅拌棒。密封容器并浸没于90℃硅酮油浴中。在90℃下用力搅拌反应混合物约72小时。接着从油浴中移出压力容器,使其冷却到室温,接着小心地打开。通过硅胶色谱法(梯度洗脱为二氯甲烷到83.5:16.3:1.5二氯甲烷/甲醇/氢氧化铵水溶液)纯化约9克所得粘性微黄色油状物。汇集含有所需化合物的洗脱份并通过旋转蒸发浓缩。将所得黄色油状物溶解于约15mL乙酸乙酯中;向这一混合物中加入脱色木炭。使溶液升温到68℃,接着经硅藻土过滤;通过旋转蒸发浓缩滤液;在减压下去除残余溶剂过夜,得到约1.3克浅黄色粘性油状物。起始物质可能含有不可分离的异构体N1-(2-氨基乙基)-N2-(2-(哌嗪-1-基)乙基)乙-1,2-二胺;且产物可能含有不可分离的异构体1,1'-(2-((2-羟基十二烷基)(2-((2-羟基十二烷基)(2-(4-(2-羟基十二烷基)哌嗪-1-基)乙基)氨基)乙基)-氨基)-乙基氮二基)-二-十二烷-2-醇。

#### [0629] 实例17

[0630] 由手性环氧化物制备的氨基醇类脂质

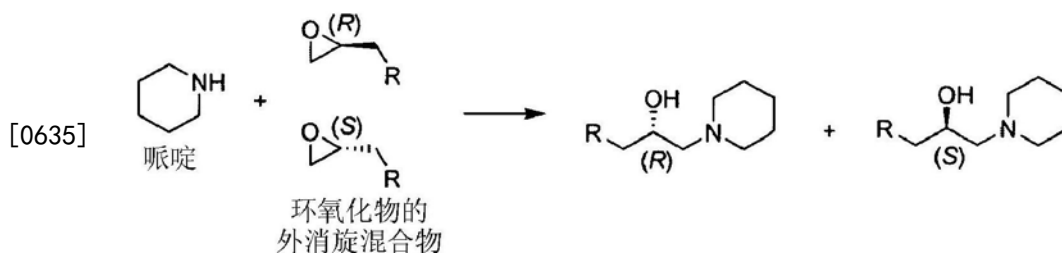
[0631] 抗微生物类脂质(例如C12-200、C16-96)可通过使亲脂性外消旋末端环氧化物与低分子量多胺反应来制备。下文直接用胺200和通用末端环氧化物来说明这种方法。这种使纯产物的分离变复杂的方法存在两个问题:使用外消旋环氧化物,和胺加成到环氧化物链中的第二碳原子(C2)。在以下实例中,我们报导:a)可通过使用立体化学纯的末端环氧化物来避免可能由使用外消旋环氧化物引起的问题;和b)可通过涉及还原胺化的替代性合成途径来避免可能由在环氧化物的C2处加成所产生的副产物。



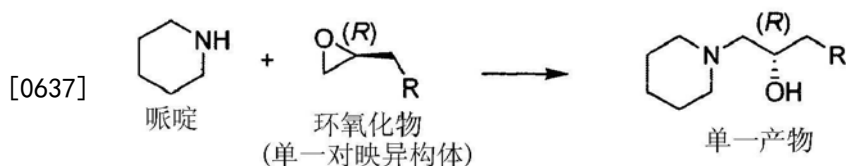
[0633] 外消旋环氧化物的反应

[0634] 用于初始文库合成中的环氧化物是以外消旋混合物形式购自商业来源:各环氧化物含有等比例的R和S对映异构体。非手性胺同样可能与任一立体异构体反应。使用外消旋

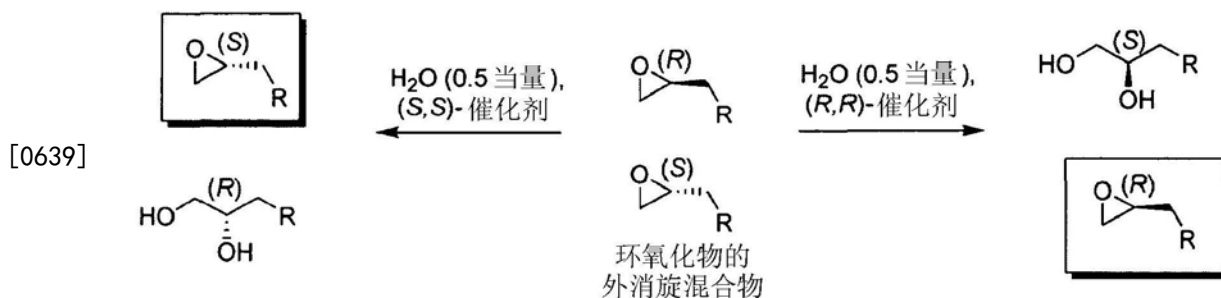
环氧化物的影响可通过考虑胺与一个反应性位点(例如哌啶)和外消旋环氧化物(下文直接说明)之间的反应的简单情况来说明。在这种情况下,产生两种氨基醇类脂质产物:R和S对映异构体。理论上,这些产物可通过手性固相色谱法分离;实际上,开发和按比例扩大进行这种分离的方法很困难并且很昂贵。



[0636] 当起始胺具有多个反应性位点时,情况变得更为复杂。对于胺起始物质的N个反应性位点,产生 $2^N$ 种立体异构体。举例来说,胺200(5个反应性位点)与外消旋环氧化物反应,产生32种立体异构体。根据我们的经验,这些产物是不可分离的。这一问题可通过与立体化学纯的环氧化物(例如环氧化物的单一对映异构体)反应来解决。下文直接说明这一反应。



[0638] 少数末端环氧化物可以单一对映异构体形式购得,但这些化合物的成本过于昂贵。外消旋环氧化物可通过若干方法来拆分(分离成组成性对映异构体),包括手性固相色谱法。我们使用称为水解动力学拆分(HKR)的化学方法来拆分环氧化物。外消旋环氧化物的有效HKR可使用雅克布森(Jacobsen)(绍斯(Schaus)等人,美国化学会期刊(J. Am. Chem. Soc.) 2002, 124, 1307-1315;其以引用的方式并入本文中)所述的程序来实现。下文直接说明这种方法。将手性催化剂和水添加到含有外消旋环氧化物的溶液中。在所述手性催化剂存在下,一种环氧化物对映异构体的水解速率比另一对映异构体的水解速率大得多。这允许选择性水解不想要的环氧化物对映异构体(水解成1,2-二醇)。可通过在减压下蒸馏来去除环氧化物来使1,2-二醇与环氧化物分离。

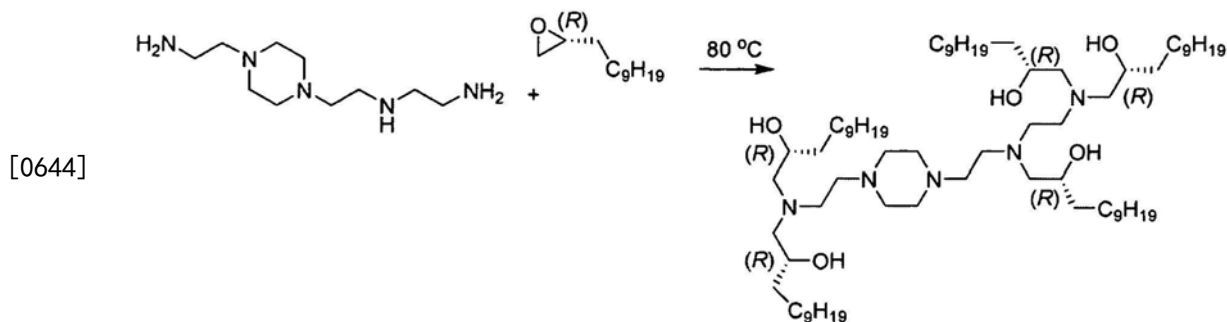


[0640] 步骤1. 利用HKR来拆分环氧基十二烷



[0642] (R)-(+)-1,2-环氧基十二烷。向含有磁力搅拌棒的烘箱干燥的圆底烧瓶中装入 (R,R)-HKR 催化剂 (绍斯 (Schaus) 等人, 美国化学会期刊 (J. Am. Chem. Soc.) 2002, 124, 1307-1315); CAS 号 176763-62-5, 1.31g, 2.17 毫莫耳。向所述烧瓶中依序添加二氯甲烷 (34mL) 和冰乙酸 (1.30mL)。用力搅拌所得溶液 1.5 小时; 在此期间, 混合物的颜色从深红色变成棕色。通过旋转蒸发去除溶剂直到物质显得干燥为止。依序将 1,2-环氧基十二烷 (40.0g, 217mmol) 和异丙醇 (试剂级, 47mL) 添加到含有经氧化的催化剂和磁力搅拌棒的烧瓶中。将所述烧瓶浸没于冰浴中。将  $\text{H}_2\text{O}$  (2.15mL, 119mmol, 0.55 当量, 相对于环氧化物) 逐滴添加到经搅拌混合物中。用橡胶隔片密封烧瓶且使溶液升温到室温。搅拌 2 天后, 用约 200mL 己烷稀释反应混合物。经滤纸过滤所得溶液以去除白色沉淀物 (1,2-二醇)。通过旋转蒸发浓缩滤液。将所得深红色油性液体溶解于约 150mL 己烷中并过滤以去除实质量的白色结晶沉淀物 (二醇)。将滤液转移到 250mL 圆底烧瓶中并通过旋转蒸发浓缩。通过在真空下蒸馏 (文献:  $124^\circ\text{C}/15\text{mm Hg}$ ) 分离所需产物。收集呈透明油状的所需产物 (14.3 克, 理论产率为 71.5%)。通过 2-萘硫醇衍生物的手性色谱法测定所述产物为 100% ee。

[0643] 步骤 2. 合成 (R)-C12-200



[0645] (R)-C12-200。将胺 200 (640mg, 2.97mmol) 和 (R)-1,2-环氧基十二烷 (2.27g, 12.1mmol) 添加到含有磁力搅拌棒的小瓶中。密封小瓶并在  $80^\circ\text{C}$  反应块上升温 5 天。使反应混合物冷却到室温, 并通过硅胶色谱法 (梯度洗脱为  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  到 175:22:3  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  (水溶液)) 分离所需产物。汇集洗脱份并浓缩, 得到呈浅黄色油状的 (R)-C12-200 (665mg)。 $^1\text{H}$  NMR (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.37 (br s, -OH, 4H), 3.63 (app. br s, 3H), 3.56 (app. br s, 2H), 2.84-2.21 (m, 30H), 1.43-1.26 (m, 90H), 0.88 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 15H); MALDI-TOF-MS  $m/z$ :  $\text{C}_{70}\text{H}_{146}\text{N}_5\text{O}_5 [\text{M}+\text{H}^+]$  计算值为 1137.1, 实验值为 1137.6。

[0646] 实例 18

[0647] 用手性氨基醇类脂质进行活体内转染

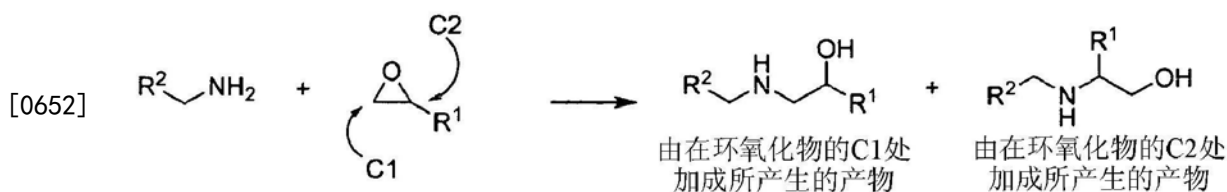
[0648] 在小鼠中使用 (R)-C12-200 和 (S)-C12-200 进行使用经调配的抗因子 VII siRNA 的

初步活体内转染。在0.01mg/kg siRNA剂量下,使用R或S形式的C12-200使全身性因子VII减少约50%;这些结果和使用C12-200(使用胺200和外消旋C12环氧化物制备的类脂质)所获得的结果之间的差异不显著。

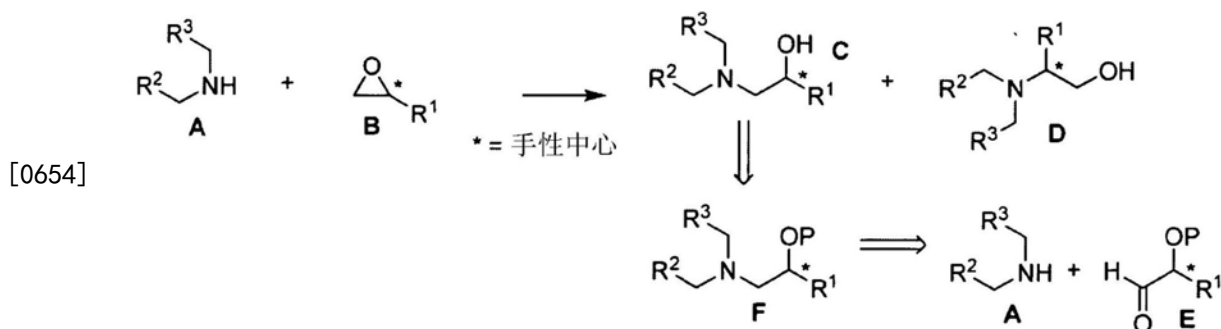
[0649] 实例19

[0650] 通过还原胺化方法来合成氨基醇类脂质

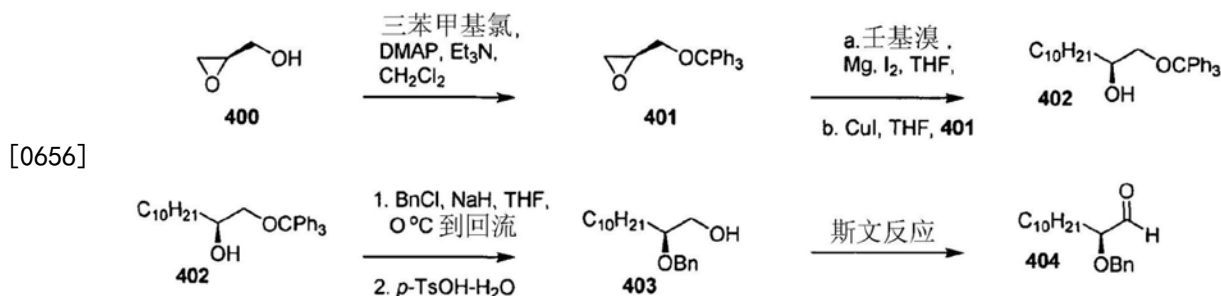
[0651] 末端环氧化物中的第一碳原子是亲核加成期间的优选攻击位点。氨基醇类脂质的2D-NMR分析显示如下文直接说明,大多数加成是在环氧化物的C1处进行。然而,C2处发生微量加成。化合物(S)-C12-205和(R)-C12-200的2D-NMR分析表明约10%的脂质“尾部”是在环氧化物的C2处发生胺攻击的结果。这些区域异构尾部很可能在物质中的整个脂质尾部群体中随机分布。对限制这种与环氧化物产生的副反应所作的努力尚未成功。为避免这种副反应,我们提出并执行替代性合成策略。



[0653] 下文直接呈现这一策略的反合成分析。所需产物为C(如下文直接说明),其由胺A加成到环氧化物B的C1所产生。D是胺A攻击环氧化物B的C2时所形成的非所需组成性异构体。用胺A和还原剂对醛片段E进行还原胺化(得到F),随后去除仲醇上的保护基,应产生产物C。这一途径不会产生非所需结构D。这种方法具有两个优点:不会由环氧化物的C2处的反应产生副产物(例如D,下文直接说明),并且避免产生立体异构体的混合物。为证明这一策略是可行的,我们制备类似于E的物质并且使这一组分与胺反应,最终产生所需产物(类似于C)。



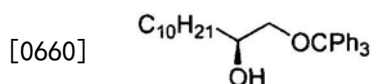
[0655] 通过还原胺化方法合成(S)-C12-205



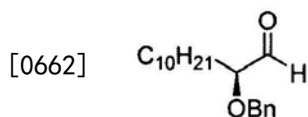
[0657] 步骤1.通过还原胺化方法合成片段404



[0659] (S)-2-((三苯甲基氧基)甲基)环氧乙烷(401)。如前文所述制备受三苯甲基保护的缩水甘油衍生物401(斯奇维德(Schweizer)等人,合成(Synthesis)2007,3807-3814;其以引用的方式并入本文中。)在冰浴中,在氩气下,通过注射器将(R)-缩水甘油(5.0g, 61mmol)于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(30mL)中的溶液添加到经搅拌的三苯甲基氯(18.6g,66.8mmol)和三乙胺(16.9mL,122mmol)于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(67mL)中的溶液中。在添加缩水甘油后,将DMAP(742mg, 6.08mmol)添加到反应混合物中。使反应物升温到室温。14小时后,用300mL饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液稀释反应混合物。用水进一步将混合物稀释到约1L以溶解沉淀的盐。用Et<sub>2</sub>O(3次)从淬灭溶液中萃取产物;用盐水洗涤合并的醚层,经MgSO<sub>4</sub>干燥,经滤纸过滤,并通过旋转蒸发浓缩成白色固体。通过从沸腾MeOH(200mL)中再结晶来纯化粗产物,得到呈白色晶体状的所需产物401(14.1g,73%)。这种物质的NMR分析与文献中所报导的一致。(斯奇维德(Schweizer)等人,合成(Synthesis)2007,3807-3814。)



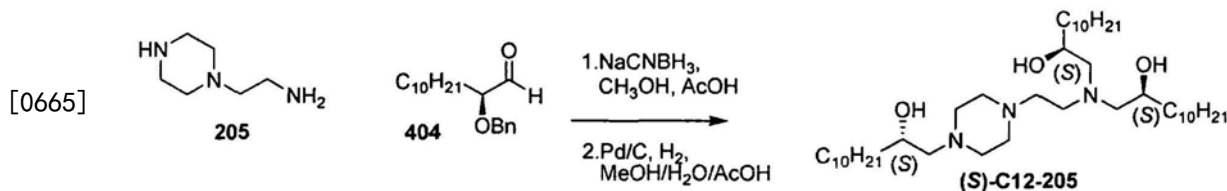
[0661] (S)-2-(苯甲氧基)十二烷-1-醇(403)。将60wt.%NaH的矿物油悬浮液(2.01g, 50.3mmol)添加到含有磁力搅拌棒的烘箱干燥的圆底烧瓶中。在Ar下通过注射器将THF(120mL)添加到烧瓶中,并将烧瓶浸没于冰浴中。将粗402(14.9g,33.5mmol)溶解于无水THF(50mL)中且缓慢添加到经搅拌的NaH悬浮液中。使反应混合物升温到室温。将苯甲基氯(5.8mL,50mmol)添加到反应混合物中。烧瓶装备有回流冷凝器,且在Ar下使混合物升温到回流过夜。反应混合物冷却后,缓慢添加NH<sub>4</sub>Cl(饱和水溶液,约300mL)以淬灭残余NaH。使用H<sub>2</sub>O(300mL)和Et<sub>2</sub>O(200mL)将悬浮液转移到分液漏斗中。再用Et<sub>2</sub>O萃取有机层;醚层经MgSO<sub>4</sub>干燥,经滤纸过滤,并浓缩成黄色油状物。通过二氧化硅色谱法(梯度洗脱为己烷到EtOAc)纯化这一物质;混合所需洗脱份并浓缩,得到15g微黄色油状物。将这一油状物溶解于1:1MeOH/THF(100mL)中。将p-TsOH·H<sub>2</sub>O(572mg)添加到混合物中;搅拌溶液6小时。通过旋转蒸发在硅藻土上浓缩反应混合物并通过硅胶色谱法(梯度洗脱为己烷到乙酸乙酯)纯化。汇集含有所需产物的洗脱份并浓缩,得到呈透明油状的403(5.44g,66%)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): $\delta$ 7.39-7.29(m,5H),4.64(d,J=11.6Hz,1H),4.55(d,J=11.6Hz,1H),3.74-3.67(m,1H),3.60-3.49(m,2H),1.93-1.90(m,1H),1.68-1.60(m,1H),1.53-1.45(m,1H),1.40-1.40(m,16H),0.89(t,J=6.9Hz,3H)。



[0663] (S)-2-(苯甲氧基)十二烷醛(404)。在Ar下将CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(10mL)和乙二酰氯(1.72mL, 20.3mmol)添加到含有磁力搅拌棒的烘箱干燥的2颈圆底烧瓶中。将烧瓶浸没于干冰/丙酮浴中。将DMSO(2.88mL,40.6mmol)于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(10mL)中的溶液缓慢添加到经搅拌的乙二酰氯溶液中。将403(5.4g,18.5mmol)溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中并经15分钟时间逐滴添加到冷的经搅拌反应混合物中。搅拌2小时后,将Et<sub>3</sub>N添加到反应混合物中,接着使其升温到室温。用Et<sub>2</sub>O(约300mL)和水稀释混合物。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液、1M HCl水溶液和盐水洗涤乙醚层。接着Et<sub>2</sub>O

层经MgSO<sub>4</sub>干燥,经滤纸过滤,并通过旋转蒸发浓缩。通过二氧化硅色谱法(梯度溶离为己烷到1:1EtOAc/己烷)纯化粗产物;汇集含有所需产物的洗脱份并浓缩,得到呈澄清、略微粘性油状的404 (3.58g, 67%) <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ9.66 (d, J=1.9Hz, 1H), 7.37-7.31 (m, 5H), 4.69 (d, J=11.7Hz, 1H), 4.55 (d, J=11.7Hz, 1H), 3.78-3.75 (m, 1H), 1.68 (dd, J=14.3, 7.2Hz, 2H), 1.49-1.35 (m, 2H), 1.25 (br s, 14H), 0.89 (t, J=6.7, 3H)

[0664] 步骤2. 还原胺化纯形式的 (S)-C12-205



[0666] 将1-(2-氨基乙基)哌嗪 (205, 39μL, 0.3mmol) 添加到含有磁力搅拌棒的小瓶中。将MeOH (10mL) 和醛404 (971mg, 3.34mmol) 添加到小瓶中。接着将NaCNBH<sub>3</sub> (188mg, 3mmol) 添加到混合物中。逐滴添加冰AcOH到经搅拌的溶液中直到pH值(如使用指示带测量)为约5.5。在添加AcOH期间使混合物鼓泡。搅拌混合物4天,随后用1M NaOH(水溶液)和CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>稀释。再一次用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>萃取水层。用盐水洗涤合并的有机层,经MgSO<sub>4</sub>干燥,经滤纸过滤并浓缩。通过二氧化硅色谱法(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>到10%MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)纯化所需中间物,得到黄色油状物(83mg)。将这一油状物溶解于25mL 7:2:1MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH中。将一部分10wt. %Pd/C添加到溶液中。在H<sub>2</sub>(略高于大气压)下搅拌反应混合物8小时。经硅藻土过滤反应混合物以去除Pd/C,接着浓缩成膜。这一物质的质谱分析表明其为纯的所需产物 (S)-C12-205。MALDI-TOF-MS m/z: C<sub>42</sub>H<sub>88</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>] 计算值为682.7;实验值为682.9。

[0667] 尽管现已描述本发明的一些说明性实施例,但对于所属领域的技术人员应显而易见,上文仅为说明性的且不具限制性,而是仅呈示作为实例。多种修改和其它说明性实施例在所属领域的普通技术人员的范围内并且预期属于本发明的范围内。具体来说,尽管本文所呈示的许多实例涉及方法操作或系统要素的特定组合,但应了解,那些操作和那些要素可以其它方式组合来达到相同目的。不打算排除仅关于一个实施例所讨论的操作、要素和特征在其它实施例中的类似作用。此外,对于以下权利要求书中所述的一个或一个以上手段加功能(means-plus-function)限制,所述方法不打算限于本文所揭示的执行所述功能的方法,而是打算将现在已知或以后开发的执行所述功能的任何方法涵盖在范围内。在权利要求书中使用诸如“第一”、“第二”、“第三”等序数术语来修饰权利要求要素自身并不暗示一个权利要求要素相对于另一个要素的任何优先、先后或次序或执行方法操作的时间次序,而是仅用作区别具有某一名称的一个权利要求要素与具有相同名称(假使没有使用序数术语)的另一个要素以区分权利要求要素的标记。同样,在权利要求书中使用a)、b)等或i)、ii)等自身并不暗示步骤的任何优先、先后或次序。同样,在本说明书中使用这些术语自身并不暗示任何所需优先、先后或次序。

[0668] 认为以上书面说明书足以使所属领域的技术人员能够实施本发明。本发明的范围并不受所提供的实例限制,因为所述实例打算作为本发明的一方面的单一说明且其它功能等效实施例在本发明的范围内。除本文所示和所述的那些修改外,本发明的各种修改对于所属领域的技术人员将自以上描述变得显而易见,并且属于随附权利要求书的范围内。本发明的优点和目的不必由本发明的每一实施例涵盖。

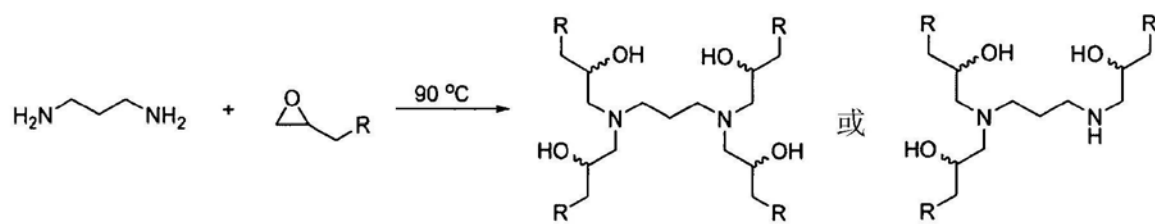


图1

标识符	结构	标识符	结构
C6		113	
C8		114	
C8b		116	
C10		117	
C10d			
C12			
C14			
C16			
C18			
C11f			
62			
96			
98			
99			
100			
103			
109			
110			
111			
112			

图2



结构	<sup>1</sup> H NMR	分子量计算值	分子量观测值
	验证	1024.8	1024.8
	验证	840.4	840.52
	验证	656.1	656.62

图3

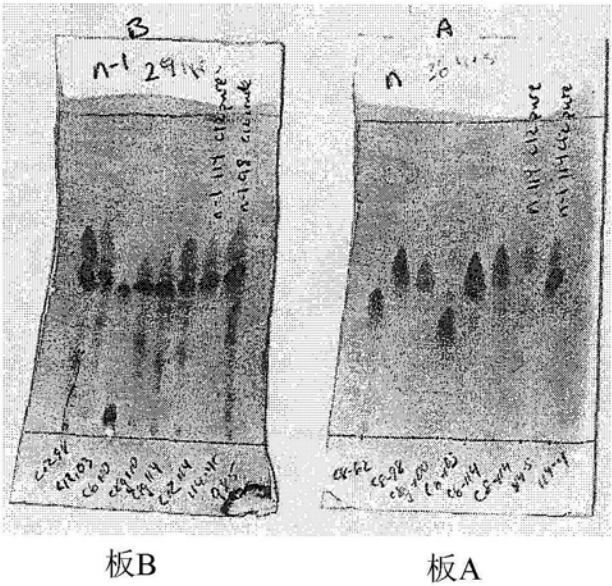


图4

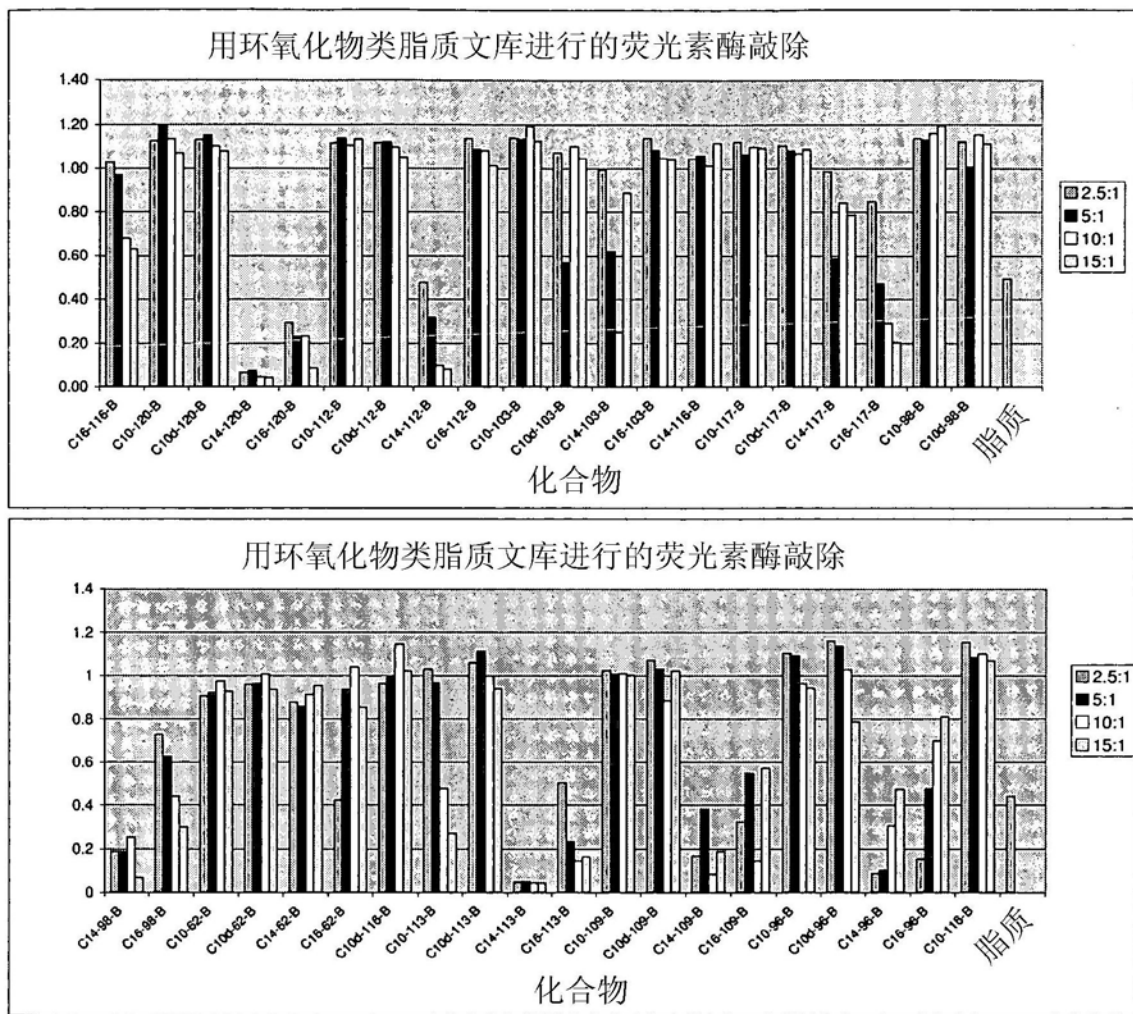


图5

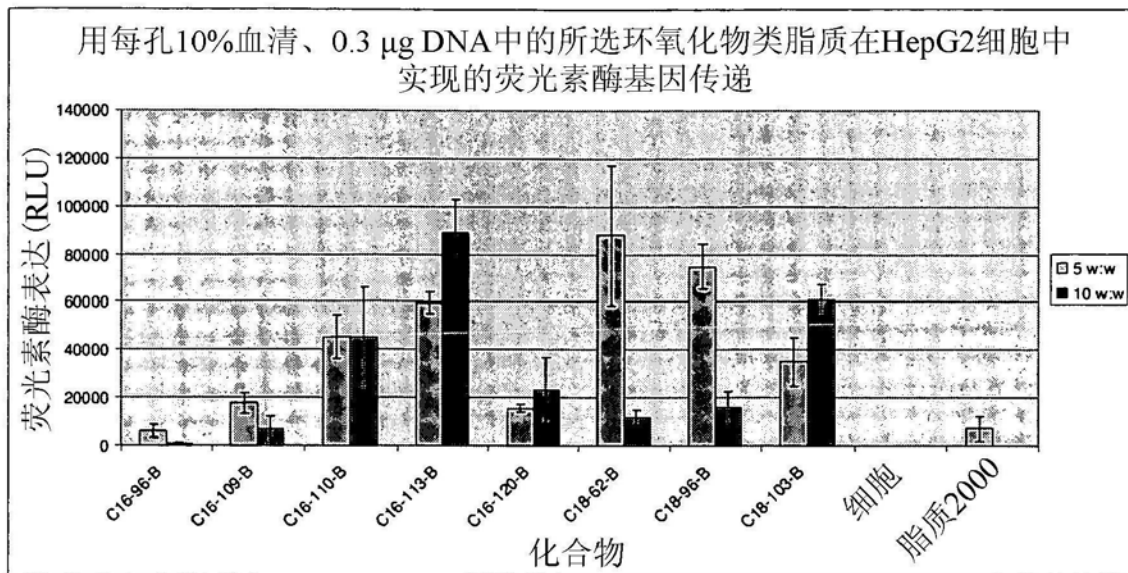
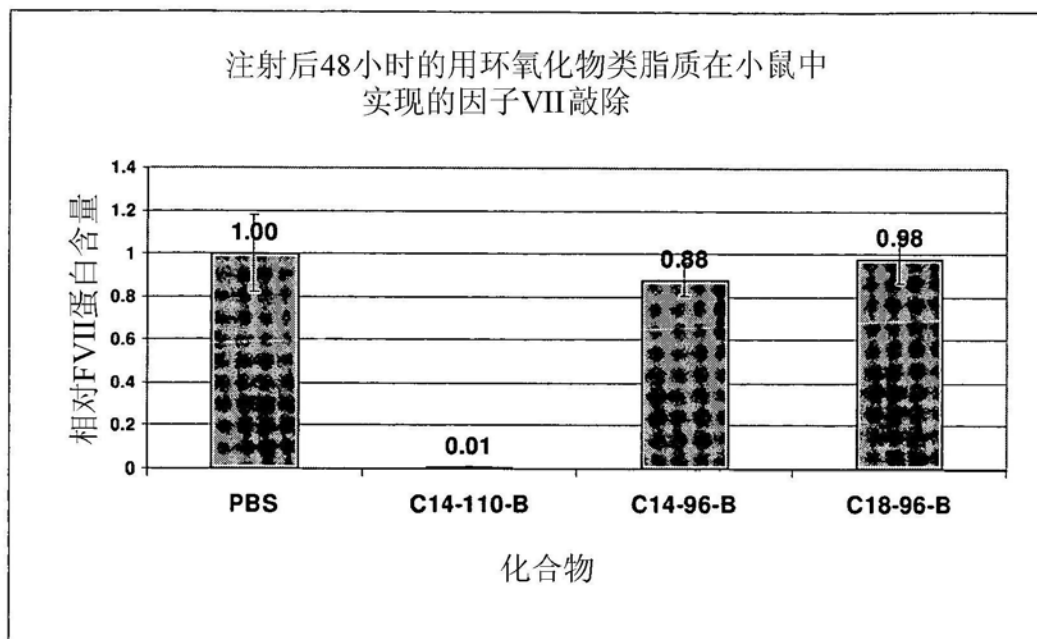


图6



调配物	粒径 (nm)	截留 (占总RNA的%)	注射剂量 (mg/kg)
C14-110-B	101	30	1.75
C14-96-B	115	83	4
C18-96-B	126.4	93	4

图7

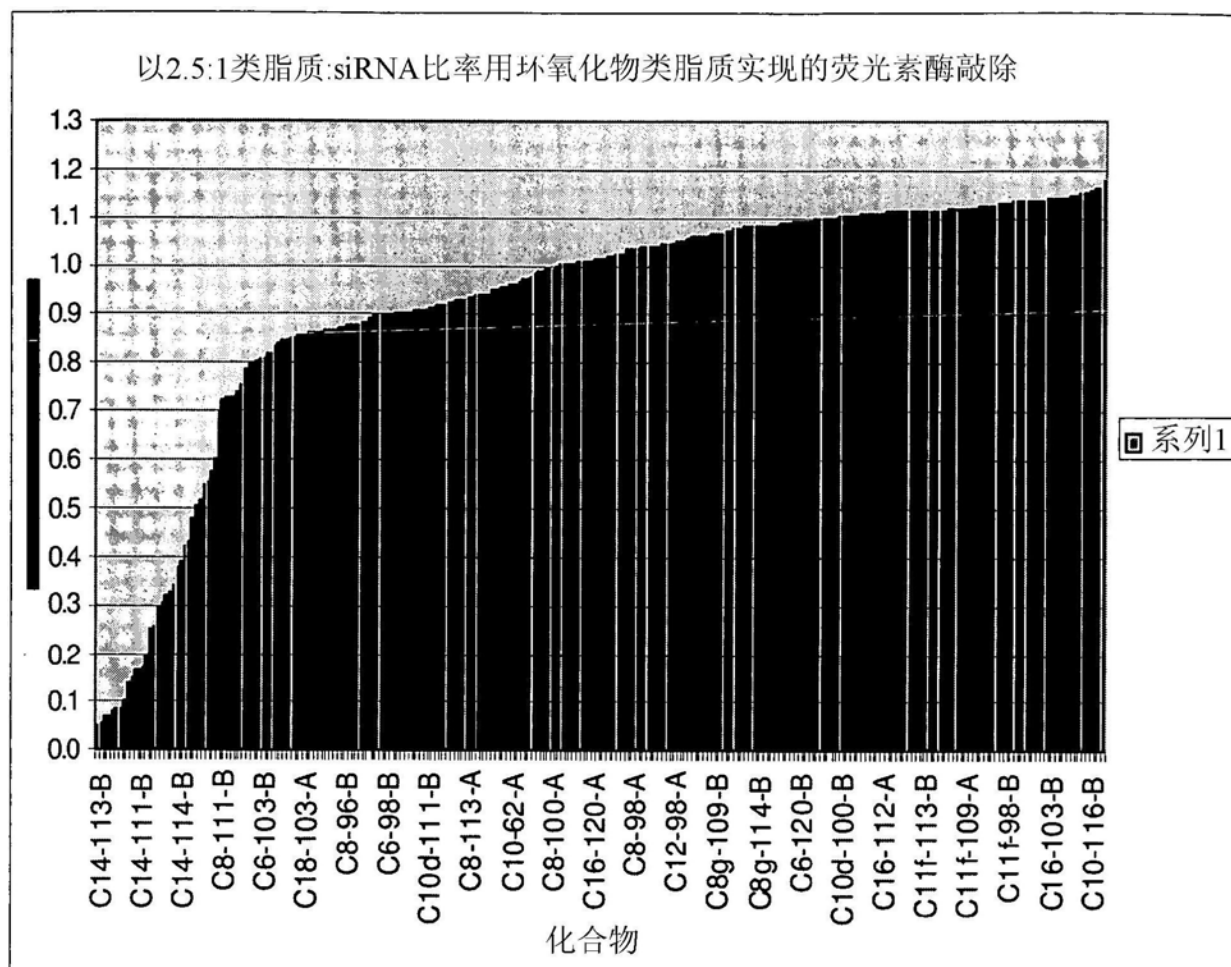


图8

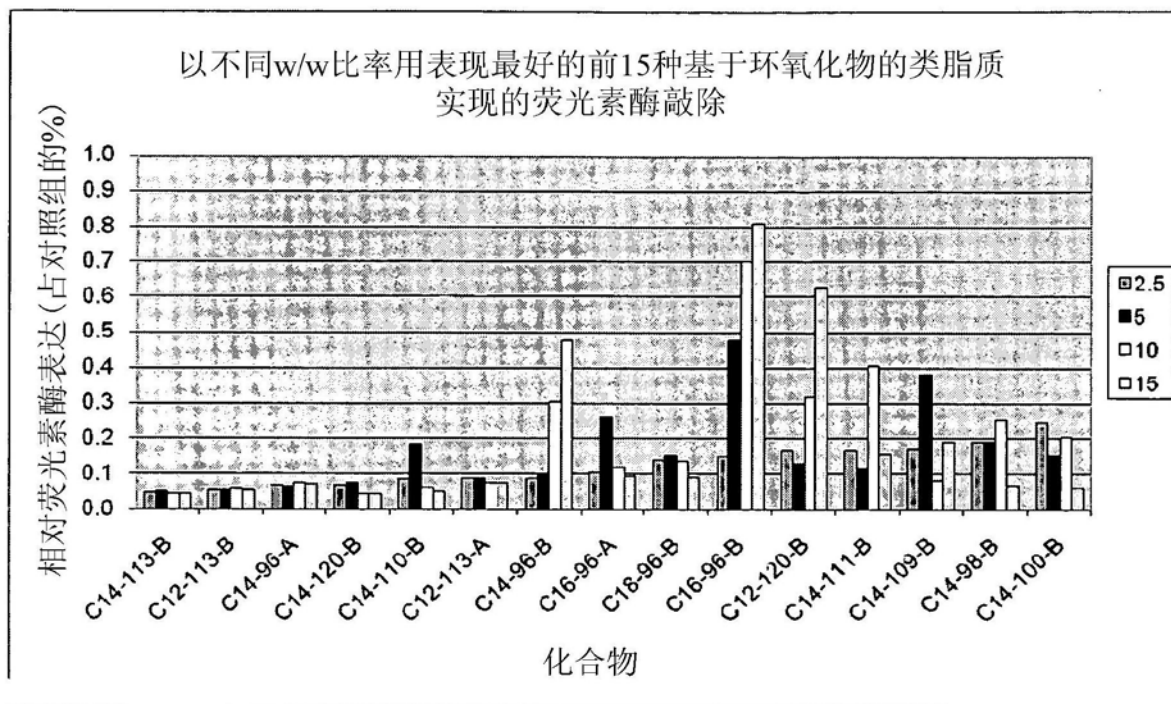


图9

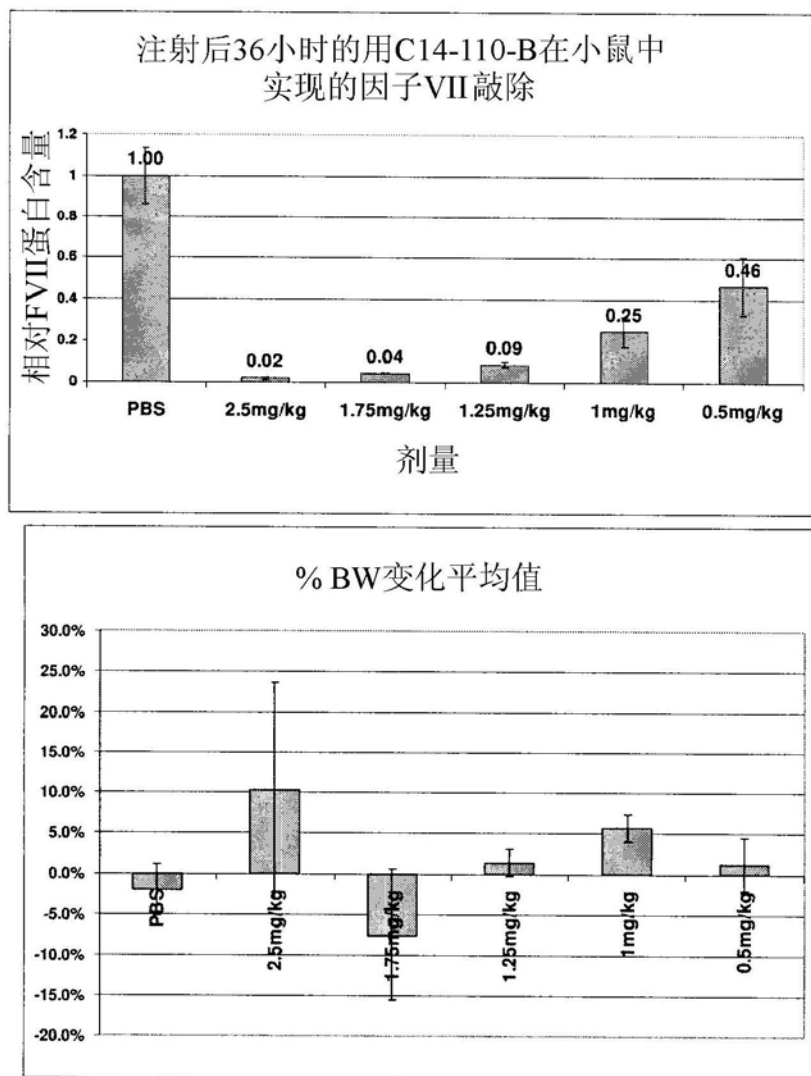


图10

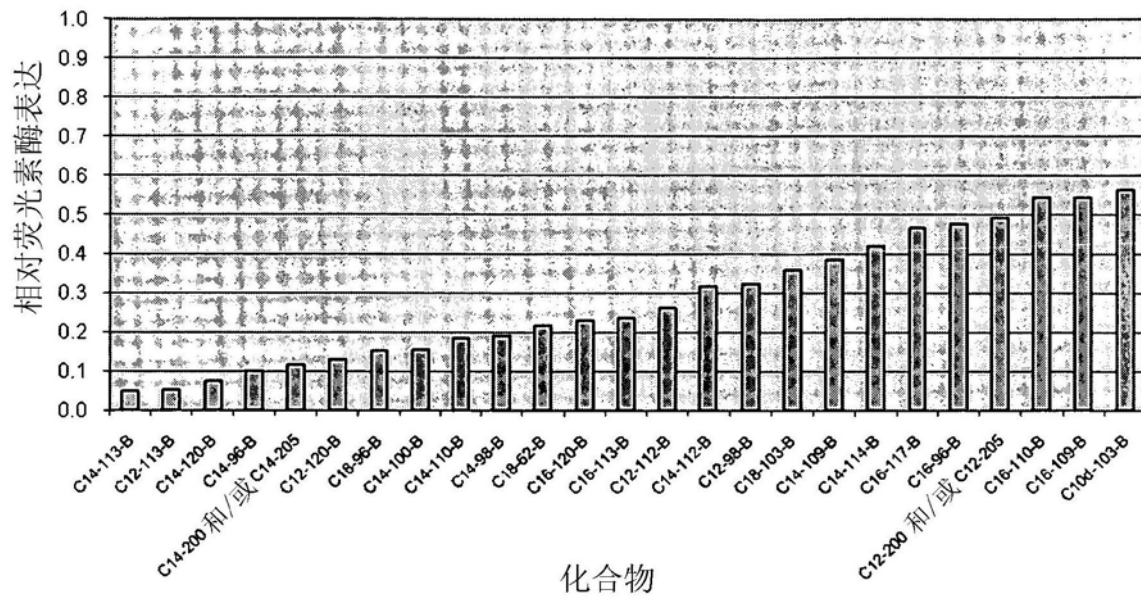


图11

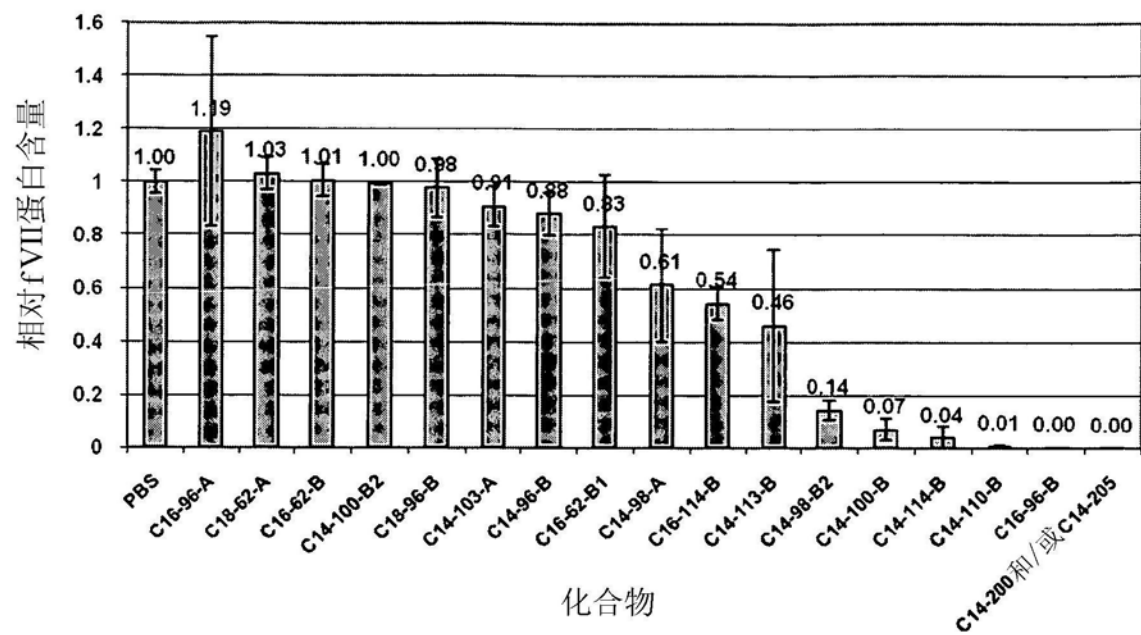


图12

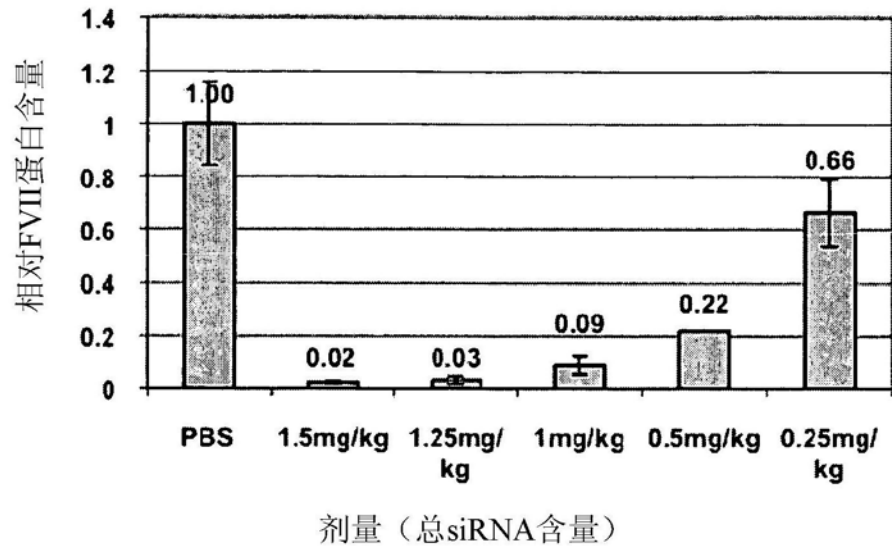


图13a

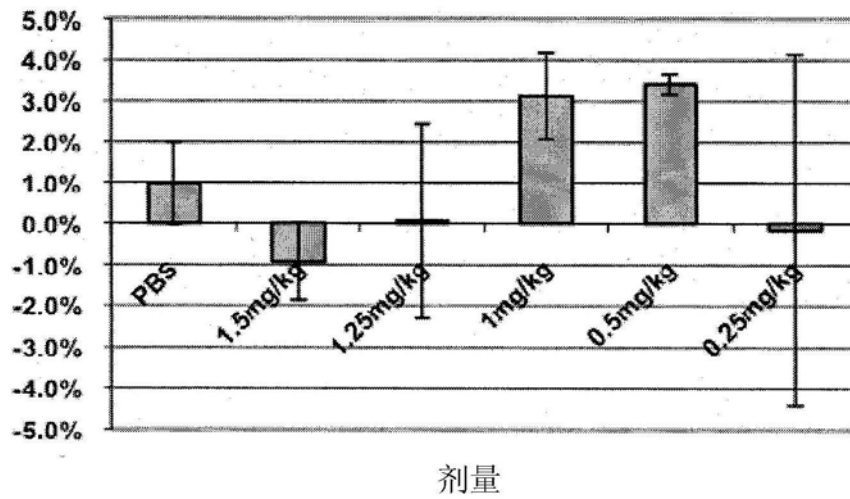


图13b



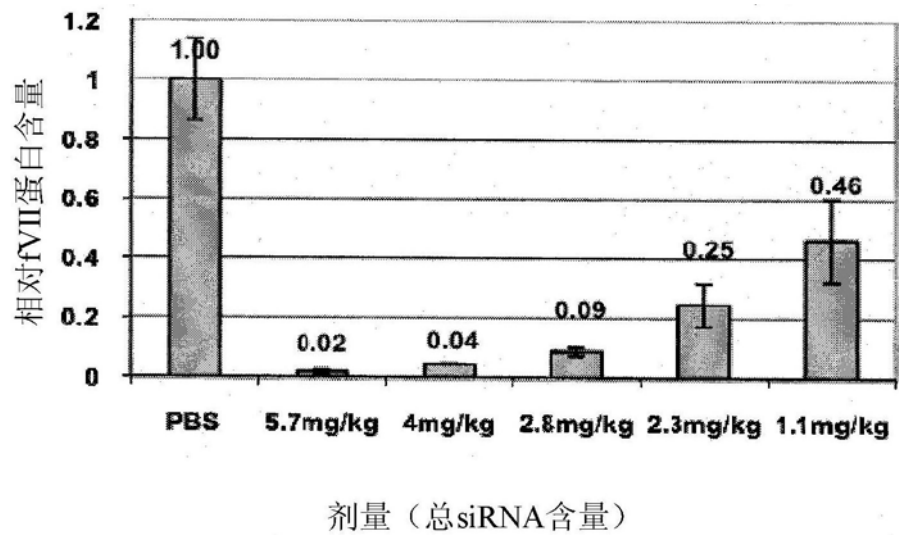


图14a

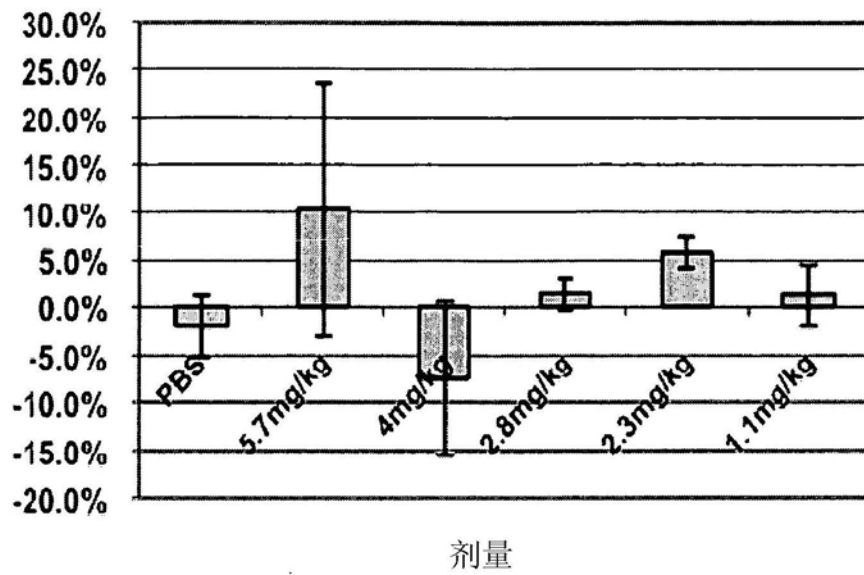


图14b

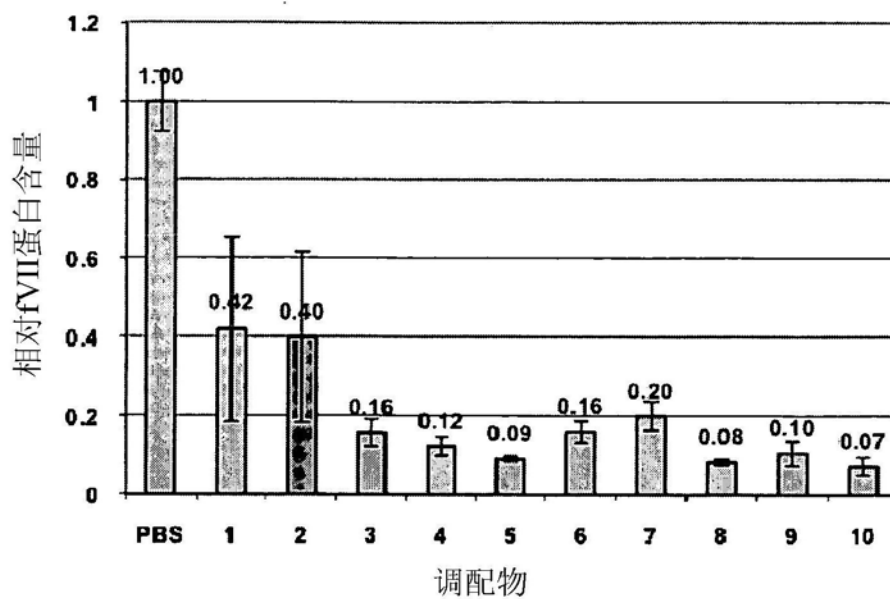


图15

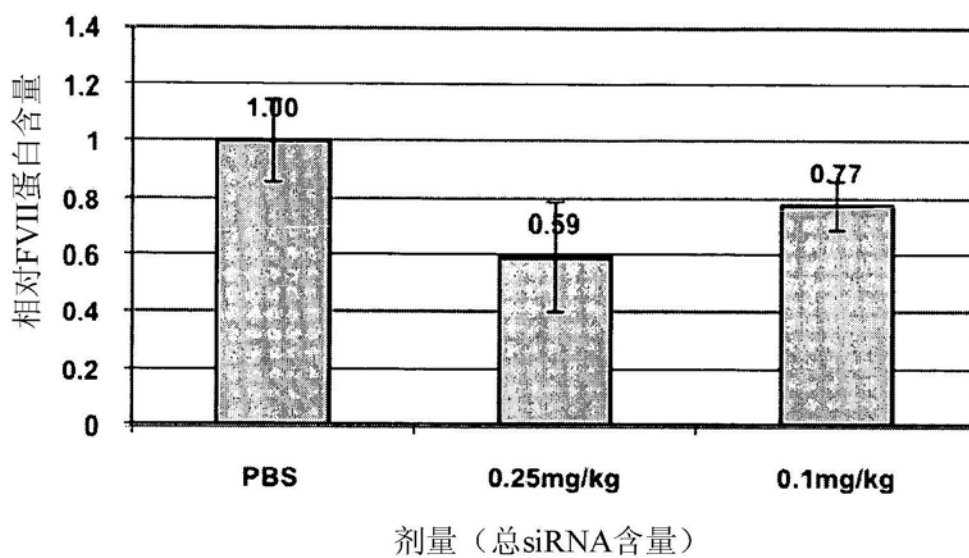


图16

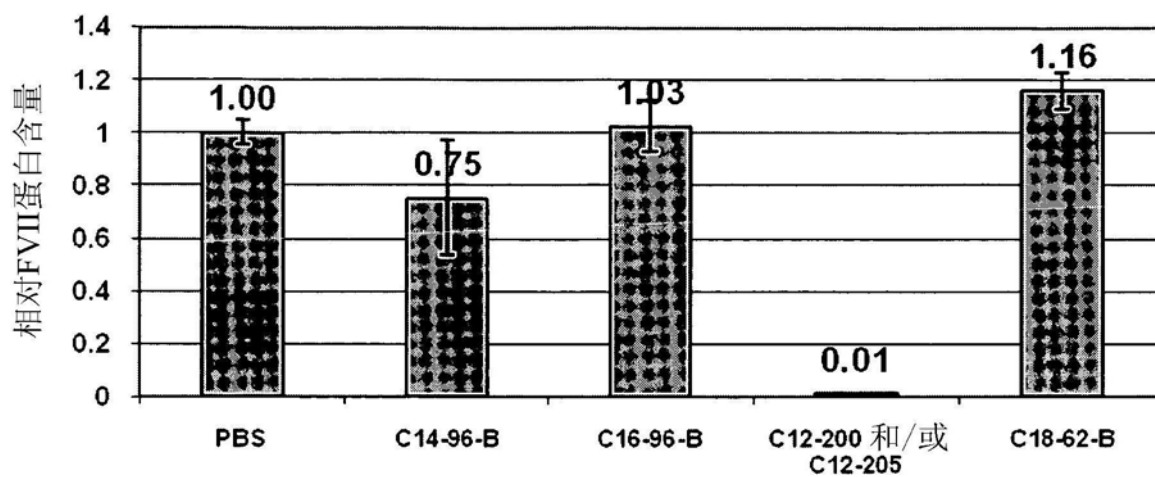


图17a

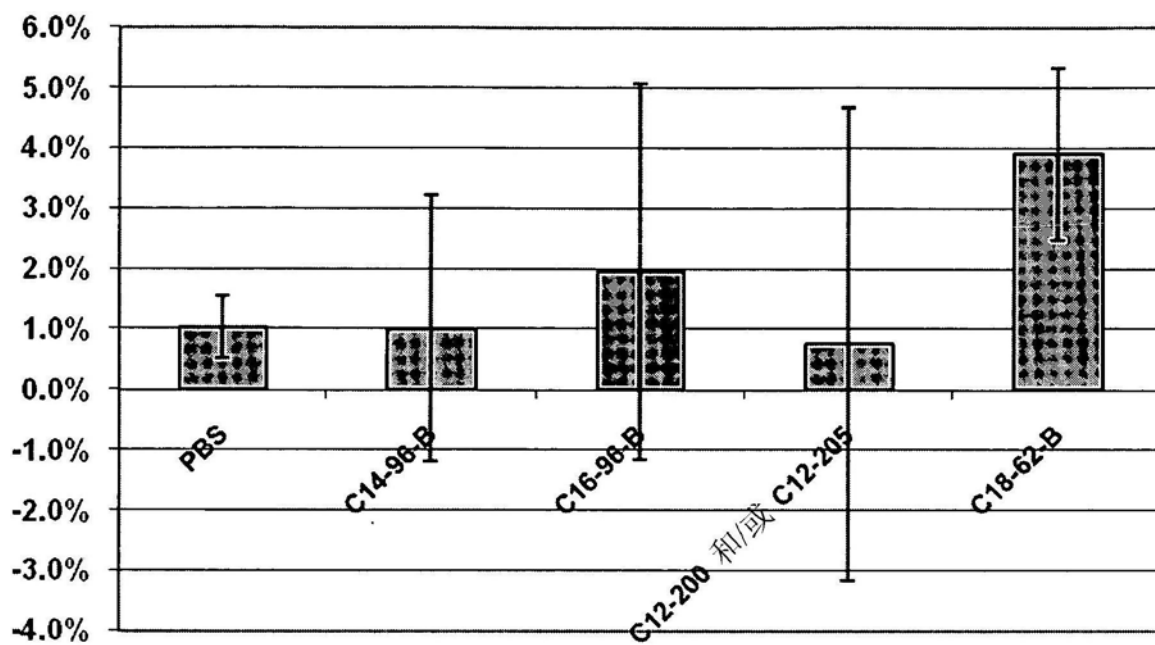


图17b

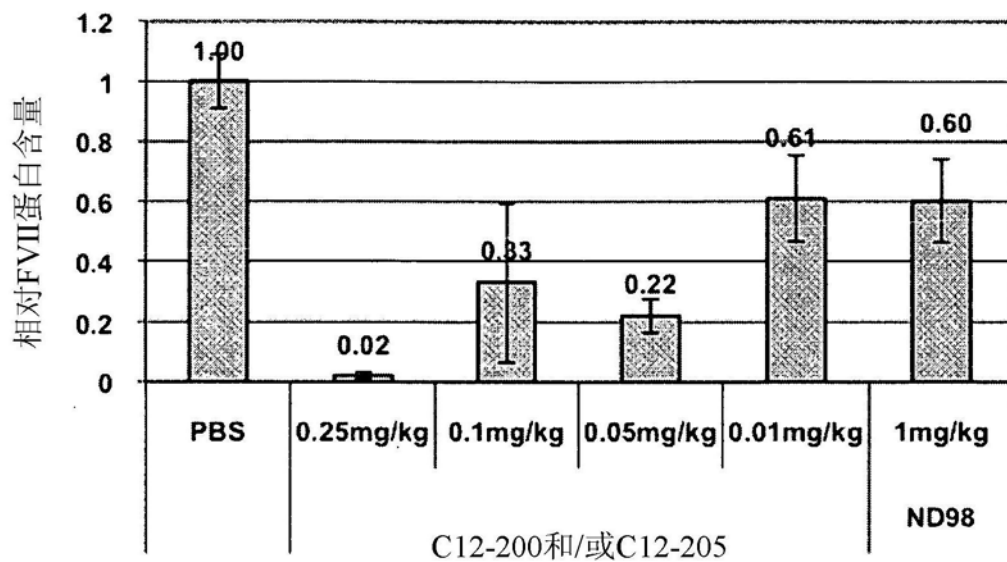


图18a

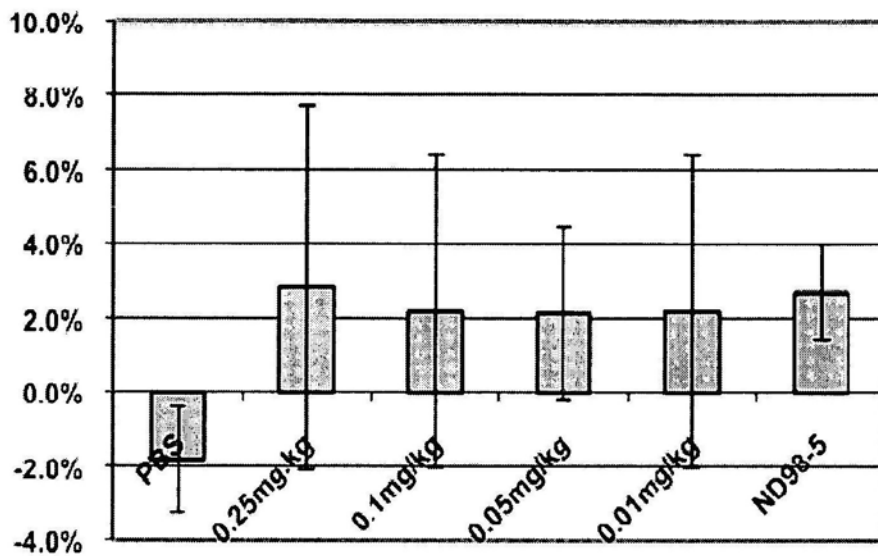


图18b

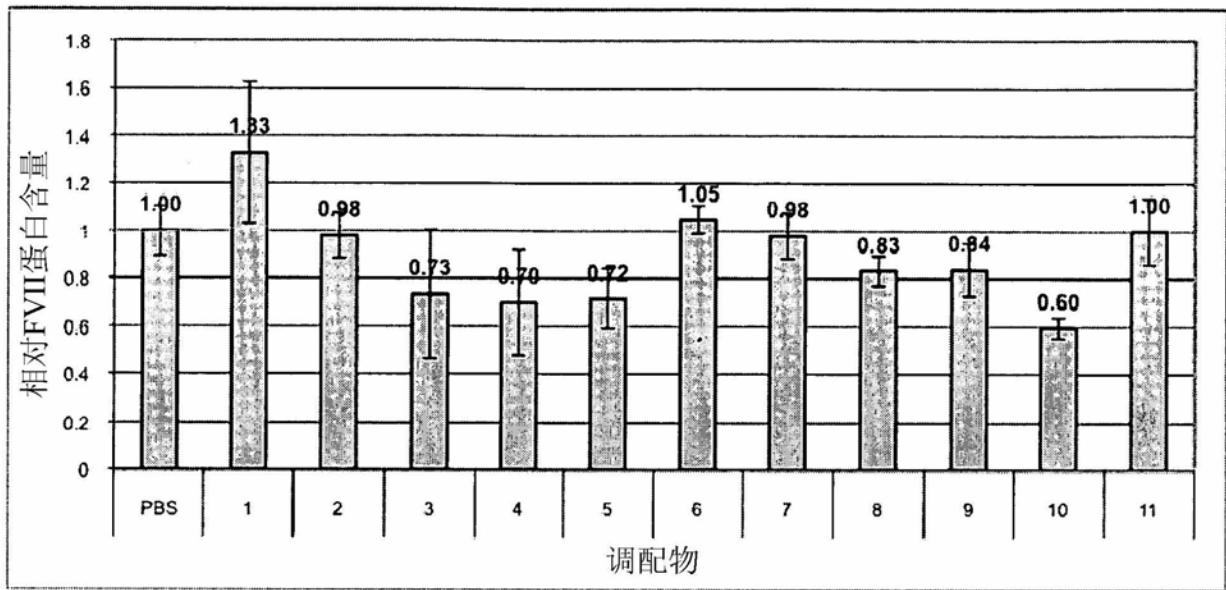


图19

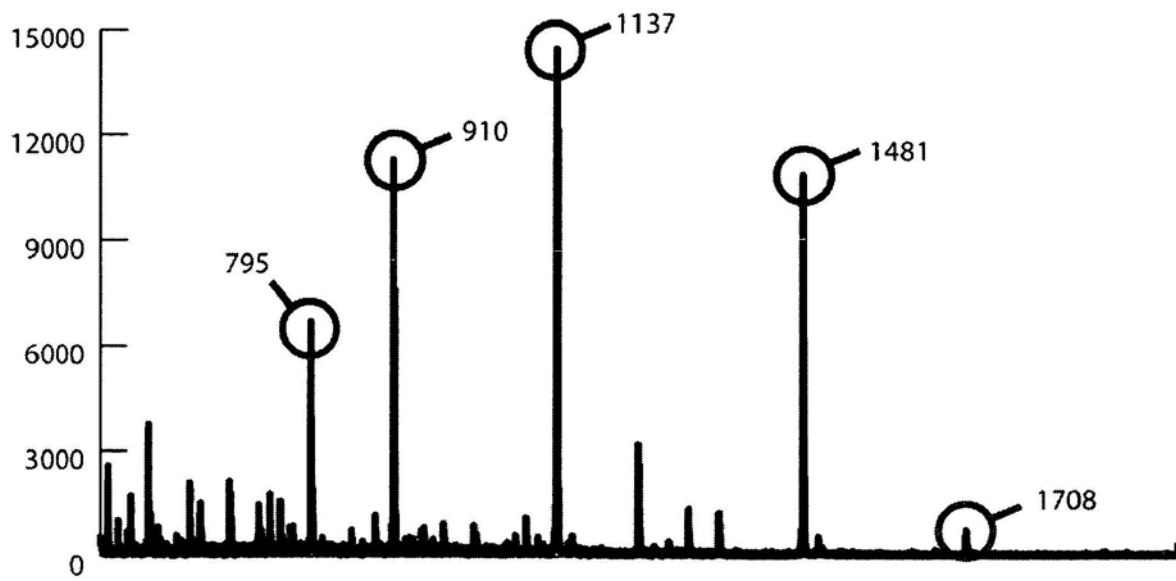


图20a

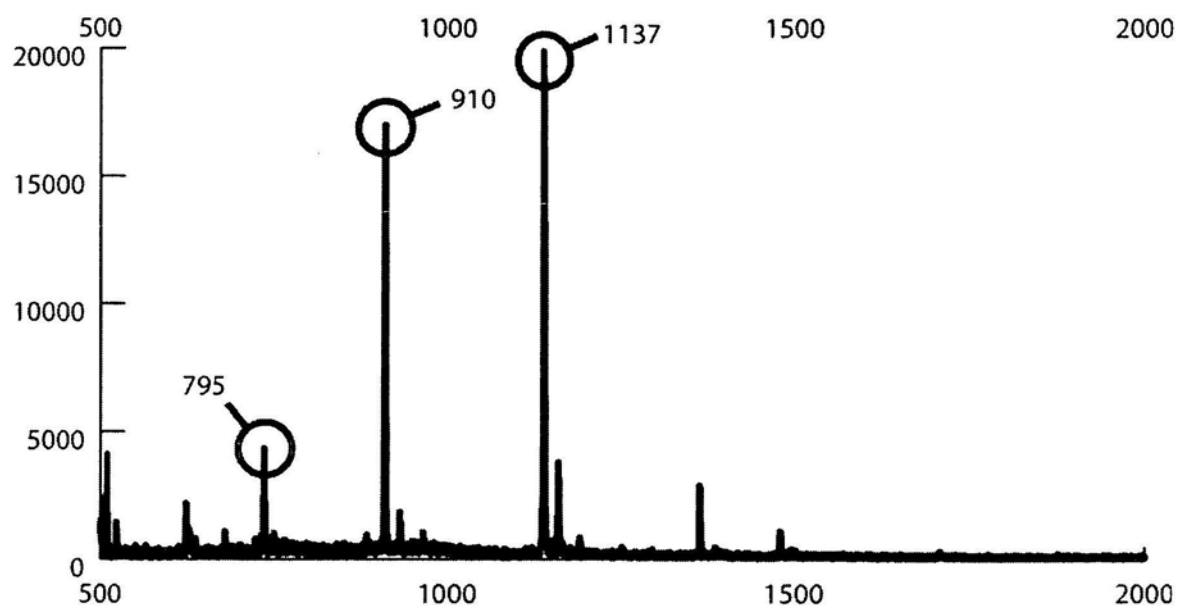


图20b

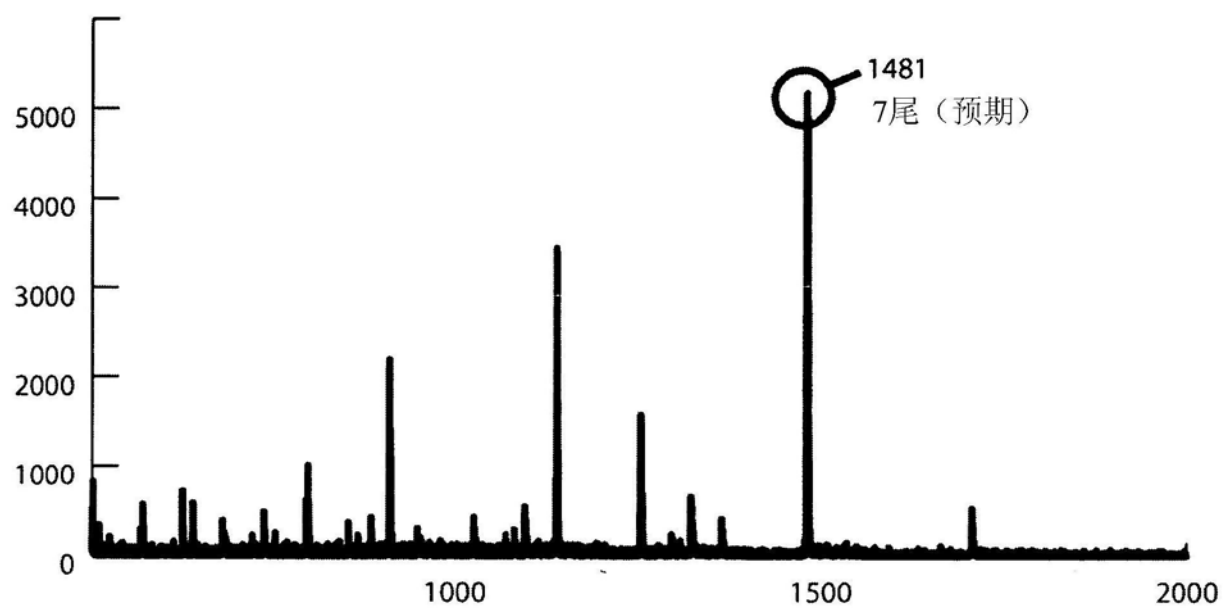


图21a

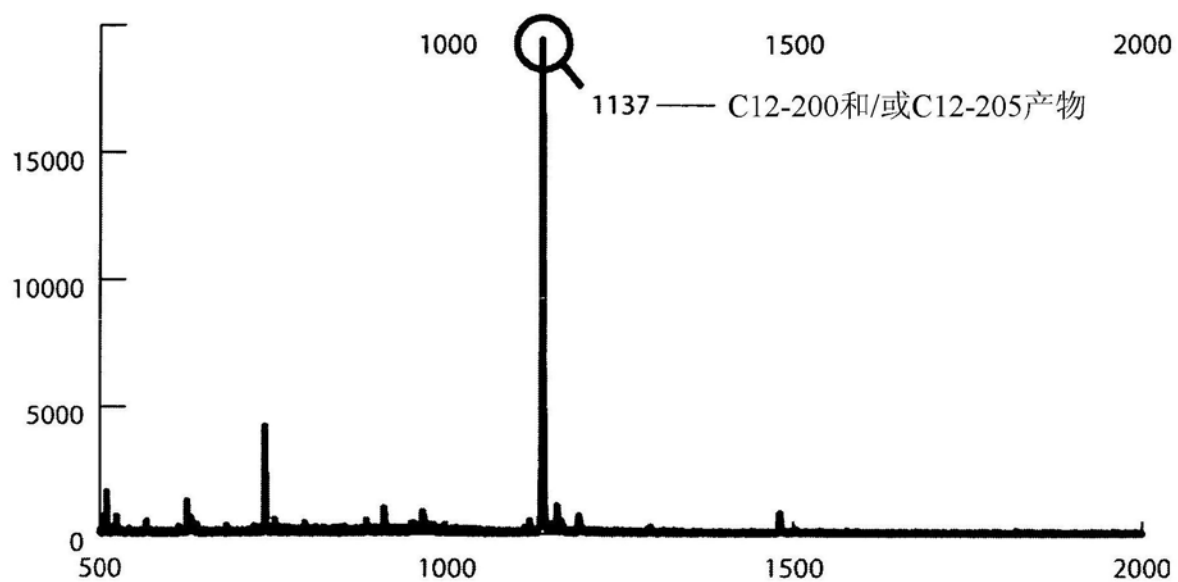


图21b

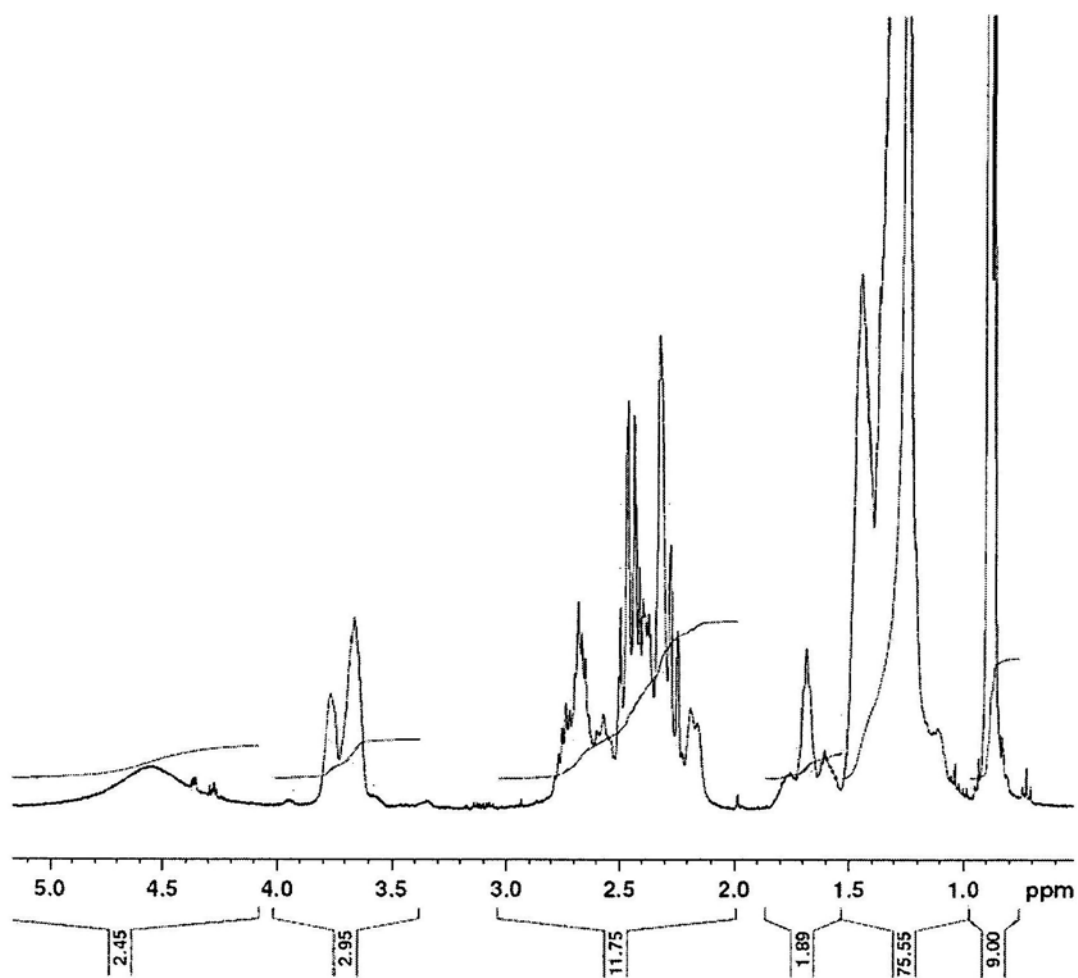


图22