



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201023914 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：098138947

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 11 月 17 日

(51)Int. Cl.：

A61K9/127 (2006.01)

A61K47/44 (2006.01)

A61K47/30 (2006.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/11/17 美國 61/115,371

2008/11/17 美國 61/115,379

(71)申請人：安龍製藥公司 (美國) ENZON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：趙 洪 ZHAO, HONG (US)；顏威利 YAN, WEILI (CN)；史連軍 SHI, LIANJUN

(CN)；武德淳 WU, DECHUN (US)

(74)代理人：桂齊恆；閻啟泰

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：57 項 圖式數：19 共 196 頁

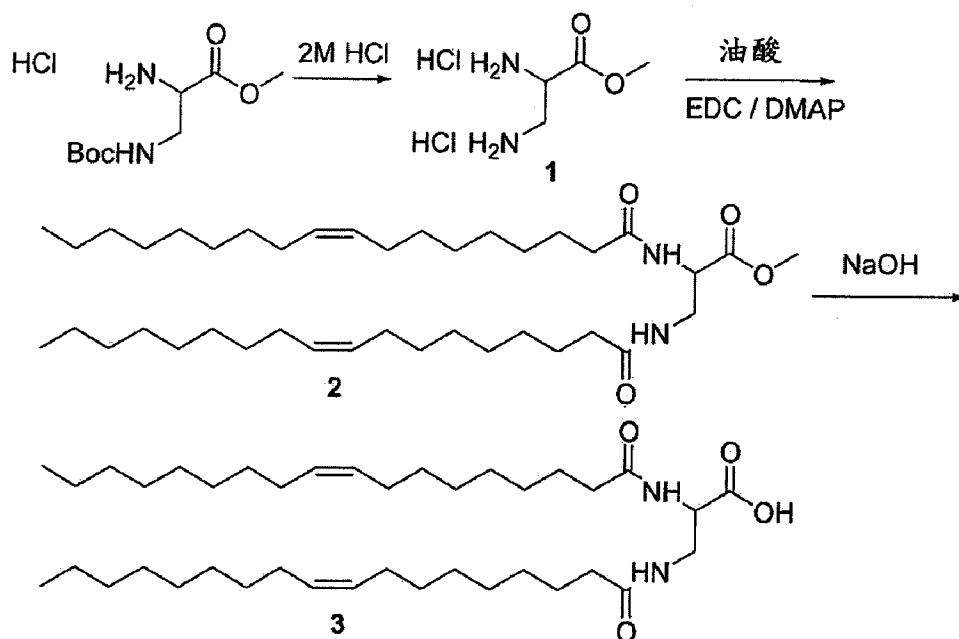
(54)名稱

用於核酸遞送系統的可釋放聚合脂質

RELEASABLE POLYMERIC LIPIDS FOR NUCLEIC ACIDS DELIVERY SYSTEM

(57)摘要

本發明係關於聚合物共軛之可釋放脂質，及含有該脂質用於遞送核酸之奈米粒子組成物，及使用該組成物調節基因表現之方法。詳言之，本發明係關於含有以含縮酮或縮醛鍵聯基或含亞胺鍵聯基為主之酸不穩定鍵聯基之可釋放聚合脂質。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201023914 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：098138947

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 11 月 17 日

(51)Int. Cl.：

A61K9/127 (2006.01)

A61K47/44 (2006.01)

A61K47/30 (2006.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/11/17 美國 61/115,371

2008/11/17 美國 61/115,379

(71)申請人：安龍製藥公司 (美國) ENZON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：趙 洪 ZHAO, HONG (US)；顏威利 YAN, WEILI (CN)；史連軍 SHI, LIANJUN

(CN)；武德淳 WU, DECHUN (US)

(74)代理人：桂齊恆；閻啟泰

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：57 項 圖式數：19 共 196 頁

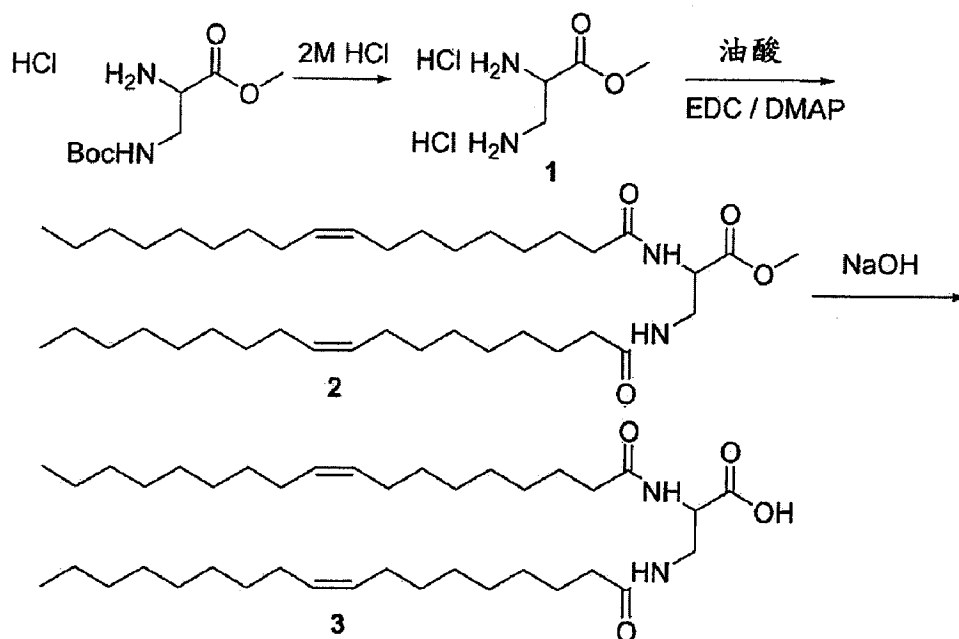
(54)名稱

用於核酸遞送系統的可釋放聚合脂質

RELEASABLE POLYMERIC LIPIDS FOR NUCLEIC ACIDS DELIVERY SYSTEM

(57)摘要

本發明係關於聚合物共軛之可釋放脂質，及含有該脂質用於遞送核酸之奈米粒子組成物，及使用該組成物調節基因表現之方法。詳言之，本發明係關於含有以含縮酮或縮醛鍵聯基或含亞胺鍵聯基為主之酸不穩定鍵聯基之可釋放聚合脂質。



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

【相關申請案之交互參照】

本申請案主張 2008 年 11 月 17 日申請之美國臨時專利申請案第 61/115,371 號及第 61/115,379 號之優先權的權益，各申請案之內容以引用的方式併入本文中。

【先前技術】

已提出使用核酸之療法來治療各種疾病。一種所提出之此類核酸療法為反義療法，其中治療基因可選擇性地調節與疾病相關之基因表現且使可能與疾病治療之其他治療方法相關之副作用降至最低。

然而，由於遇到遞送治療性核酸及其穩定性相關之難題，所以使用核酸之療法迄今一直受到限制。已提出若干基因遞送系統以克服以上提及之難題，且在試管內及活體內有效地將治療基因引入標靶區域，諸如癌細胞或其他細胞或組織。

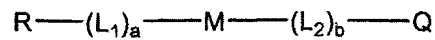
然而，需要出於治療之目的而遞送核酸之新遞送系統及方法，且本文中提供該等系統及方法。

【發明內容】

本發明提供含有酸不穩定鍵聯基之可釋放聚合脂質，及含有該脂質用於遞送核酸之奈米粒子組成物。諸如寡核

苷酸之多核酸被包封於含有本文所述之可釋放聚合脂質、陽離子脂質及融合脂質之混合物的奈米粒子複合物內。

根據本發明之此態樣，用於遞送核酸（亦即寡核苷酸）之可釋放聚合脂質具有式（I）：



其中

R 為非抗原性聚合物

L_{1-2} 為獨立選擇之雙官能鍵聯基；

M 為酸不穩定鍵聯基；

Q 為經取代或未經取代之飽和或不飽和含 C_{4-30} 之部分；

(a) 為零或正整數；且

(b) 為零或正整數，

其中靶向基團視情況與非抗原性聚合物鍵聯。

本發明亦提供用於遞送核酸之奈米粒子組成物。根據本發明，用於遞送核酸（亦即寡核苷酸）之奈米粒子組成物包括：

- (i) 陽離子脂質；
- (ii) 融合脂質；及
- (iii) 式（I）化合物。

在本發明之另一態樣中，提供在活體內及試管內將核酸（較佳寡核苷酸）遞送至細胞或組織之方法。由本文所述之方法引入之寡核苷酸可調節標靶基因之表現。

在另一態樣中，本發明提供抑制哺乳動物（較佳人類）

之標靶基因（亦即致癌基因及與發炎疾病相關之基因）表現之方法。該方法包括使諸如癌細胞之細胞或組織與自本文所述之奈米粒子組成物製備之奈米粒子接觸。包封於奈米粒子內之寡核苷酸被釋放且介導所治療之細胞或組織中 mRNA 或蛋白質下調。在疾病治療（諸如抑制癌細胞生長）中用奈米粒子治療容許調節標靶基因表現且伴隨出現與其相關之益處。該等療法可作為單一治療或作為與一或多種適用及/或經批准之治療之組合療法的一部分進行。

其他態樣包括製造式（I）化合物以及含有該化合物之奈米粒子的方法。

本文所述之可釋放聚合脂質包括酸不穩定鍵聯基。當含有生物活性部分之奈米粒子到達標靶部位（例如酸性 pH 值下之細胞內或細胞外環境）時，可釋放聚合脂質開始降解，使奈米粒子破裂，且在標靶部位處及/或標靶部位內釋放治療劑。藉由採用含縮酮或縮醛部分或含亞胺部分，奈米粒子可在中性或微鹼性條件下保持穩定性。然而，在通常低 pH 值之標靶部位（諸如腫瘤細胞）處，縮酮及縮醛部分降解，從而釋放所包封之治療劑，諸如寡核苷酸。

含有可釋放聚合脂質之奈米粒子在奈米粒子進入細胞且到達酸性細胞區室（諸如核內體）時促進解離且釋放其中所包封之核酸。不受任何理論約束，此類特徵部分歸結於酸不穩定鍵聯基。基於縮酮或亞胺之鍵聯基為酸不穩定的且在酸性環境（諸如核內體）中水解。鍵聯基促進奈米粒子及核內體之分裂，從而使核酸在細胞內釋放。

本發明之一優勢為含有本文所述之可釋放聚合脂質之奈米粒子組成物提供一種在試管內遞送核酸以及在活體內投予核酸之方法。此遞送技術增強治療性寡核苷酸在體內之穩定性、轉染效率及生體可用率。

可釋放聚合脂質延長奈米粒子之循環且防止奈米粒子過早自身體排泄出。聚合脂質亦降低免疫原性。

本文所述之可釋放聚合脂質使奈米粒子複合物及其中核酸在生物體液中穩定。不受任何理論約束，咸信奈米粒子複合物增強如此包封之核酸之穩定性，且至少部分地保護核酸免受核酸酶作用，從而保護所包封之核酸免於在例如血液或組織之存在下降解。

本文所述之奈米粒子亦有利地提供例如較高轉染效率。本文所述之奈米粒子容許在試管內及活體內不藉助於轉染劑即可轉染細胞。奈米粒子為安全的，因為其不具有與此項技術已知之需要轉染劑之奈米粒子相同的毒性效應。奈米粒子之高轉染效率亦提供一種將治療性核酸遞送至細胞之細胞質及細胞核中的改良方法。

本文所述之奈米粒子亦有利地提供製備奈米粒子之穩定性及靈活性。可在諸如約 2 至約 12 之寬 pH 值範圍內製備奈米粒子。本文所述之奈米粒子亦可在臨床上在諸如約 7.2 至約 7.6 之所需生理 pH 值下使用。

本文所述之奈米粒子遞送系統亦容許經由 EPR（增強之滲透及滯留）效應，在所欲標靶區域（諸如癌細胞）處選擇性地獲得足夠量之治療性寡核苷酸。因此，奈米粒子

組成物改良癌細胞或組織中特定 mRNA 下調。

另一優勢為本文所述之可釋放聚合脂質容許製備大小均勻之奈米粒子。含有本文所述之可釋放聚合脂質之奈米粒子複合物在緩衝條件下為穩定的。

另一優勢為本文所述之奈米粒子容許遞送一或多種不同標靶寡核苷酸之生物活性分子，諸如小分子化療劑，從而獲得治療疾病之協同效應。

其他及另外優勢將自以下描述顯而易知。

出於本發明之目的，術語「殘基」應理解為意謂其所指之化合物，例如聚乙二醇等，在已經與另一化合物進行取代反應後所殘留之部分。

出於本發明之目的，術語「烷基」係指飽和脂族烴，包括直鏈、支鏈及環狀烷基。術語「烷基」亦包括烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、環烷基烷基、雜環烷基及 C₁₋₆ 烷基羰基烷基。較佳地，烷基具有 1 至 12 個碳。更佳地，其為具有約 1 至 7 個碳、更佳約 1 至 4 個碳之低碳烷基。烷基可經取代或未經取代。經取代時，取代基較佳包括鹵基、氧基、疊氮基、硝基、氰基、烷基、烷氧基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基胺基、三鹵甲基、羥基、巰基、羥基、氰基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 烴基、芳基及胺基。

出於本發明之目的，術語「經取代」係指增加一種來自以下之群之部分或以其置換官能基或化合物內所含之一或多個原子：鹵基、氧基、疊氮基、硝基、氰基、烷基、

烷氧基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基胺基、三鹵甲基、羥基、巰基、羥基、氰基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、 C_{1-6} 烷基羰基烷基、芳基及胺基。

出於本發明之目的，術語「烯基」係指含有至少一個碳-碳雙鍵之基團，包括直鏈、支鏈及環狀基團。較佳地，烯基具有約 2 至 12 個碳。更佳地，其為具有約 2 至 7 個碳、更佳約 2 至 4 個碳之低碳烯基。烯基可經取代或未經取代。經取代時，取代基較佳包括鹵基、氧基、疊氮基、硝基、氰基、烷基、烷氧基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基胺基、三鹵甲基、羥基、巰基、羥基、氰基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、 C_{1-6} 烴基、芳基及胺基。

出於本發明之目的，術語「炔基」係指含有至少一個碳-碳參鍵之基團，包括直鏈、支鏈及環狀基團。較佳地，炔基具有約 2 至 12 個碳。更佳地，其為具有約 2 至 7 個碳、更佳約 2 至 4 個碳之低碳炔基。炔基可經取代或未經取代。經取代時，取代基較佳包括鹵基、氧基、疊氮基、硝基、氰基、烷基、烷氧基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基胺基、三鹵甲基、羥基、巰基、羥基、氰基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、 C_{1-6} 烴基、芳基及胺基。「炔基」之實例包括炔丙基、丙炔及 3-己炔。

出於本發明之目的，術語「芳基」係指含有至少一個

芳族環之芳族烴環系統。芳族環可視情況與其他芳族烴環或非芳族烴環稠合或以其他方式連接。芳基之實例包括例如苯基、萘基、1,2,3,4-四氫萘及聯苯。芳基之較佳實例包括苯基及萘基。

出於本發明之目的，術語「環烷基」係指 C_{3-8} 環烴。環烷基之實例包括環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基及環辛基。

出於本發明之目的，術語「環烯基」係指含有至少一個碳碳雙鍵之 C_{3-8} 環烴。環烯基之實例包括環戊烯基、環戊二烯基、環己烯基、1,3-環己二烯基、環庚烯基、環庚三烯基及環辛烯基。

出於本發明之目的，術語「環烷基烷基」係指經 C_{3-8} 環烷基取代之烷基。環烷基烷基之實例包括環丙基甲基及環戊基乙基。

出於本發明之目的，術語「烷氧基」係指經由氧橋與母分子部分連接之具有指示數目之碳原子的烷基。烷氧基之實例包括例如甲氧基、乙氧基、丙氧基及異丙氧基。

出於本發明之目的，「烷基芳基」係指經烷基取代之芳基。

出於本發明之目的，「芳烷基」係指經芳基取代之烷基。

出於本發明之目的，術語「烷氧基烷基」係指經烷氧基取代之烷基。

出於本發明之目的，術語「烷基-硫基-烷基」係指烷基-S-烷基硫醚，例如甲基硫基甲基或甲基硫基乙基。

出於本發明之目的，術語「胺基」係指如此項技術中已知，藉由一或多個氫基經有機基團置換而自氮衍生之含氮基團。舉例而言，術語「鹽基胺基」及「烷基胺基」係指 N 上分別經鹽基及烷基取代基取代之特定有機基團。

出於本發明之目的，術語「烷基羰基」係指經烷基取代之羰基。

出於本發明之目的，術語「鹵素」或「鹵基」係指氟、氯、溴及碘。

出於本發明之目的，術語「雜環烷基」係指含有至少一個選自氮、氧及硫之雜原子的非芳族環系統。雜環烷基環視情況可與其他雜環烷基環及/或非芳族烴環稠合或以其他方式連接。較佳雜環烷基具有 3 至 7 個成員。雜環烷基之實例包括例如哌啶、嗎啉、哌啶、四氫呋喃、吡咯啶及吡唑。較佳雜環烷基包括哌啶基、哌啶基、嗎啉基及吡咯啶基。

出於本發明之目的，術語「雜芳基」係指含有至少一個選自氮、氧及硫之雜原子的芳族環系統。雜芳基環可與一或多個雜芳基環、芳族或非芳族烴環或雜環烷基環稠合或以其他方式連接。雜芳基之實例包括例如吡啶、呋喃、噻吩、5,6,7,8-四氫異喹啉及嘧啶。雜芳基之較佳實例包括噻吩基、苯并噻吩基、吡啶基、喹啉基、吡啶基、嘧啶基、咪唑基、苯并咪唑基、呋喃基、苯并呋喃基、噻唑基、苯并噻唑基、異噻唑基、噻二唑基、異噻唑基、苯并異噻唑基、三唑基、四唑基、吡咯基、吡唑基、吡唑基及苯并吡唑基。

出於本發明之目的，術語「雜原子」係指氮、氧及硫。

在一些具體實例中，經取代之烷基包括羧基烷基、胺基烷基、二烷基胺基、羥基烷基及巰基烷基；經取代之烯基包括羧基烯基、胺基烯基、二烯基胺基、羥基烯基及巰基烯基；經取代之炔基包括羧基炔基、胺基炔基、二炔基胺基、羥基炔基及巰基炔基；經取代之環烷基包括諸如 4-氯環己基之部分；芳基包括諸如萘基之部分；經取代之芳基包括諸如 3-溴苯基之部分；芳烷基包括諸如甲苯基之部分；雜烷基包括諸如乙基噻吩之部分；經取代之雜芳基包括諸如 3-甲氧基噻吩之部分；烷氧基包括諸如甲氧基之部分；及苯氧基包括諸如 3-硝基苯氧基之部分。鹵基應理解為包括氟基、氯基、碘基及溴基。

出於本發明之目的，「正整數」應理解為包括等於或大於 1 且如一般熟習此項技術者所瞭解，在一般熟習此項技術者視為合理之範圍內的整數。

出於本發明之目的，術語「鍵聯」應理解為包括一個基團與另一個基團之共價（較佳）或非共價連接，亦即為化學反應之結果。

出於本發明之目的，術語「有效量」及「足量」應意謂達成如一般熟習此項技術者所理解之所需效果或治療效果之量。

使用本文所述之奈米粒子組成物形成之術語「奈米粒子」及/或「奈米粒子複合物」係指基於脂質之奈米複合物。奈米粒子含有包封於陽離子脂質、融合脂質及 PEG 脂質之

混合物中的核酸，諸如寡核苷酸。或者，奈米粒子可在無核酸之情況下形成。

出於本發明之目的，術語「治療性寡核苷酸」係指用作醫藥或診斷劑之寡核苷酸。

出於本發明之目的，「基因表現之調節」應理解為廣泛包括在不考慮投藥途徑之情況下，相較於未經本文所述之奈米粒子治療時所觀測到之基因表現，下調或上調任何類型基因，較佳為與癌症及炎症相關之基因。

出於本發明之目的，「標靶基因表現之抑制」應理解為意謂相較於未經本文所述之奈米粒子治療時所觀測之結果，mRNA 表現或轉譯蛋白質之量降低或削弱。該抑制之適合檢定包括例如使用熟習此項技術者已知之技術檢查蛋白質或 mRNA 含量，該等技術諸如圓點墨點法、北方墨點法、原位雜交、ELISA、免疫沈澱、酶功能以及熟習此項技術者已知之表現型檢定。治療狀況可例如由細胞、較佳癌細胞或組織中之 mRNA 含量降低來證實。

泛言之，當獲得所需反應時，應視為成功抑制或治療。舉例而言，可藉由實現例如 10% 或更高（亦即 20%、30%、40%）與腫瘤生長抑制相關之基因下調來界定成功抑制或治療。或者，可藉由實現癌細胞或組織中之致癌基因 mRNA 含量（包括熟習此項技術者預期之其他臨床標記物）相較於未經本文所述之奈米粒子治療時所觀測之結果，降低至少 20% 或較佳 30%、更佳 40% 或更高（亦即 50% 或 80%）來界定成功治療。

另外，在描述中為方便起見使用單數術語決不意欲具有限制性。因此，舉例而言，提及包含寡核苷酸、膽固醇類似物、陽離子脂質、融合脂質、式 (I) 之可釋放聚合脂質、PEG 脂質等之組成物係指該寡核苷酸、膽固醇類似物、陽離子脂質、融合脂質、可釋放聚合脂質、PEG 脂質等之一或多個分子。亦涵蓋寡核苷酸可為相同或不同類型之基因。亦應瞭解本發明不限於本文中揭示之特定構型、製程步驟及物質，因為該等構型、製程步驟及物質可在某種程度上變化。

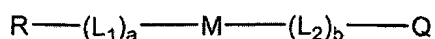
亦應瞭解本文中採用之術語僅出於描述特定具體實例之目的且不意欲具有限制性，因為本發明之範圍係由附加之申請專利範圍及其均等物來限制。

【實施方式】

A. 概述

1. 式 (I) 之可釋放聚合脂質

在本發明之一態樣中，提供式 (I) 之可釋放聚合脂質：



其中

R 為非抗原性聚合物

L_{1-2} 為獨立選擇之雙官能鍵聯基；

M 為酸不穩定鍵聯基；

Q 為經取代或未經取代之飽和或不飽和含 C_{4-30} 之部分；

(a) 為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數 (例

如 1、2、3、4、5、6)；且

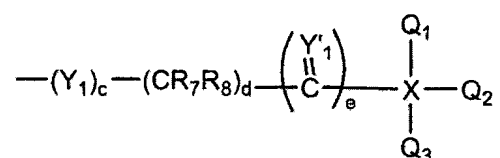
(b) 為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數(例如 1、2、3、4、5、6)，

其中靶向基團視情況與非抗原性聚合物鍵聯。

當 (a) 及 (b) 等於或大於 2 時， L_1 及 L_2 獨立地為相同或不同的。

根據本發明，本文所述之式 (I) 化合物包括 Q 烴基(脂族)。Q 基團具有式 (Ia)：

(Ia)



其中

Y_1 為 O、S 或 NR_{31} ，較佳為 O 或 NR_{31} ；

Y'_1 為 O、S 或 NR_{31} ，較佳為 O；

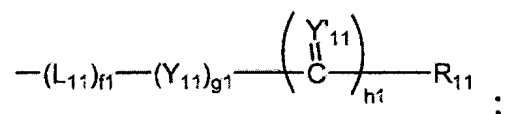
(c) 為 0 或 1；

(d) 為 0 或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數(例如 1、2、3、4、5、6)；

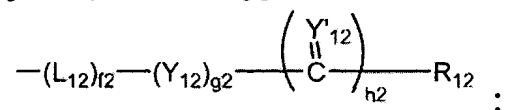
(e) 為 0 或 1；

X 為 C、N 或 P；

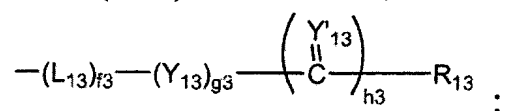
Q_1 為 H、 C_{1-3} 烷基、 NR_{32} 、OH 或



Q_2 為 H、 C_{1-3} 烷基、 NR_{33} 、OH 或



Q_3 為孤電子對、($=O$)、 H 、 C_{1-3} 烷基、 NR_{34} 、 OH 或



其限制條件為

(i) 當 X 為 C 時， Q_3 不為孤電子對或($=O$)；

(ii) 當 X 為 N 時， Q_3 為孤電子對；及

(iii) 當 X 為 P 時， Q_3 為($=O$)且 (e) 為 0，

其中

L_{11} 、 L_{12} 及 L_{13} 為獨立選擇之雙官能間隔基；

Y_{11} 、 Y_{12} 及 Y_{13} 獨立地為 O 、 S 或 NR_{35} ，較佳為 O 或 NR_{35} ；

Y'_{11} 、 Y'_{12} 、 Y'_{13} 獨立地為 O 、 S 或 NR_{35} ，較佳為 O ；

R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 獨立地為飽和或不飽和 C_{4-30} ；

(f1)、(f2) 及 (f3) 獨立地為 0 或 1；

(g1)、(g2) 及 (g3) 獨立地為 0 或 1；且

(h1)、(h2) 及 (h3) 獨立地為 0 或 1；

R_{7-8} 獨立地選自氫、羥基、胺、經取代之胺、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基及經取代之 C_{1-6} 雜烷基，較佳為氫、甲基、乙基及丙基；

R_{31-35} 獨立地選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、

芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、C₁₋₆ 雜烷基及經取代之 C₁₋₆ 雜烷基，較佳為氫、甲基、乙基及丙基，

其限制條件為 Q 包括 R₁₁、R₁₂ 及 R₁₃ 中之至少一者或兩者（例如一者、兩者、三者）。

較佳地，Q 包括 R₁₁、R₁₂ 及 R₁₃ 中之至少兩者。

當 (d) 等於或大於 2 時，C(R₇)(R₈) 在每次出現時相同或不同。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能鍵聯基與雙官能間隔基之組合包括其中鍵聯基和間隔基之變數與取代基之組合為可允許而使該等組合產生穩定式 (1) 化合物者。舉例而言，等值物與取代基之組合不允許氧、氮或羰基直接與 S-S 或亞胺相鄰定位。

在一較佳具體實例中，Y'₁ 為氧。

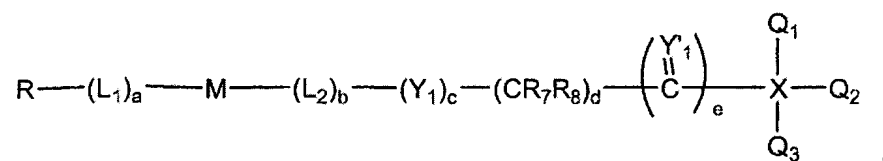
在另一較佳具體實例中，Y'₁₁、Y'₁₂ 及 Y'₁₃ 為氧。

在另一較佳具體實例中，Y₁₁、Y₁₂ 及 Y₁₃ 獨立地為氧或 NH。

在一具體實例中，(f1)、(f2) 及 (f3) 不同時為零。

在另一具體實例中，(g1)、(g2)、(g3)、(h1)、(h2) 及 (h3) 不同時為零。

根據本發明，本文所述之可釋放聚合脂質具有式 (II)：



在一較佳態樣中，酸不穩定鍵聯基為含縮酮或縮醛部分或含亞胺部分。

含縮酮或縮醛部分具有式：



其中

R_{1-2} 獨立地選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、雜芳氧基、 C_{2-6} 烷酯基、芳基羰基、 C_{2-6} 烷氧羰基、芳氧羰基、 C_{2-6} 烷酯氧基、芳基羰氧基、經取代之 C_{2-6} 烷酯基、經取代之芳基羰基、經取代之 C_{2-6} 烷酯氧基、經取代之芳氧羰基及經取代之芳基羰氧基，較佳為氫、甲基、乙基、丙基；且

R_{3-6} 獨立地選自氫、胺、經取代之胺、疊氮基、羧基、氰基、鹵基、羥基、硝基、矽烷基醚、磺酯基、巰基、 C_{1-6} 烷基巰基、芳基巰基、經取代之芳基巰基、經取代之 C_{1-6} 烷基硫基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、雜芳氧基、 C_{2-6} 烷酯基、芳基羰基、 C_{2-6} 烷氧羰基、芳氧羰基、 C_{2-6} 烷酯氧基、芳基羰氧基、經取代之 C_{2-6} 烷酯基、經取代之芳基羰基、經取代之 C_{2-6} 烷酯氧基、經取代之芳氧羰基及經

取代之芳基羰氧基，較佳為氫、甲基、乙基及丙基。

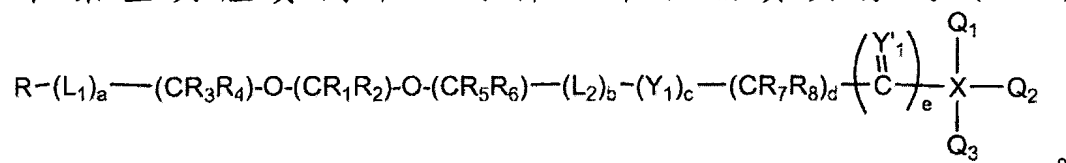
R_1 及 R_2 較佳獨立地選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基及芳烷基，較佳為氫、甲基、乙基、丙基。

在一較佳具體實例中， R_1 與 R_2 不同時為氫。

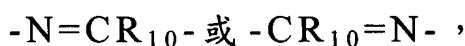
在另一較佳具體實例中， R_{3-6} 獨立地選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基及芳烷基。更佳地， R_{3-6} 皆為氫。

更佳地， R_1 及 R_2 為相同或不同之飽和或不飽和 C_{1-6} 烷基，諸如乙基、甲基、丙基及丁基。更佳地， R_1 與 R_2 皆為甲基。在一特定具體實例中，M 基團為 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ 。

在某些具體實例中，可釋放聚合脂質具有式 (IIa)：



亞胺鍵聯基具有式：

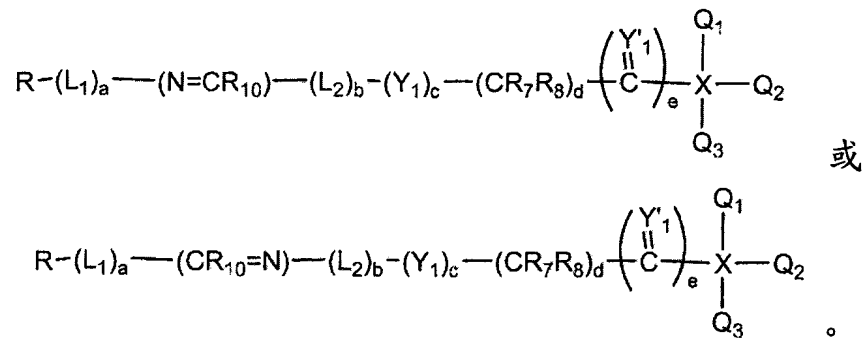


其中 R_{10} 為氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基及經取代之芳基，較佳為氫、烷基、甲基或丙基。

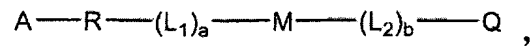
R_{10} 較佳為氫且酸不穩定鍵聯基為 $-\text{N}=\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}=\text{N}-$ 。

在某些具體實例中，可釋放聚合脂質具有式 (IIb) 或

(II'b) :



根據本發明，本文所述之可釋放聚合脂質可包括靶向基團。本發明提供 R 基團較佳在末端處與靶向基團連接的可釋放聚合脂質。可釋放聚合脂質具有式：

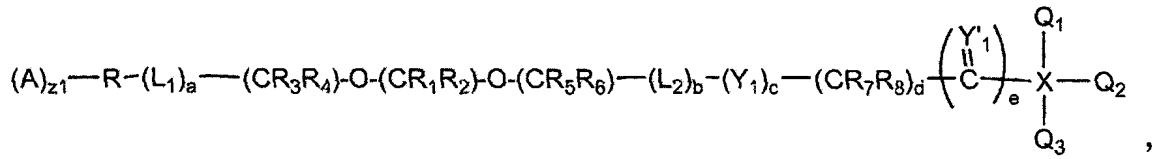


其中 A 為靶向基團，較佳為細胞表面靶向基團。

可使用鍵聯分子將靶向基團與非抗原性聚合物連接，該分子諸如鹽胺、鹽胺基、羰基、酯、肽、二硫化物、矽烷、核苷、無鹼基核苷、聚醚、聚胺、聚鹽胺、肽、碳水化合物、脂質、聚烴、磷酸酯、胺基磷酸酯 (phosphoramidate)、硫代磷酸酯、磷酸烷酯、順丁烯二醯亞胺基鍵聯基或光不穩定鍵聯基。可使用在此項技術中已知之任何技術將靶向基團與諸如聚乙二醇之聚合物共軛而無須過度實驗。舉例而言，使用美國專利第 5,122,614 號及第 5,808,096 號中描述之活化技術及此項技術中已知之其他技術，將與靶向基團共軛之聚合物轉化為適當活化之聚合物而無須過度實驗。適用於與靶向基團共軛之活化 PEG 之實例包括（但不限於）聚乙二醇-丁二酸酯、聚乙二醇-丁二酸丁二醯亞胺基酯（PEG-NHS）、聚乙二醇-乙酸（PEG-CH₂COOH）、聚乙二醇-胺（PEG-NH₂）、聚乙二醇-順

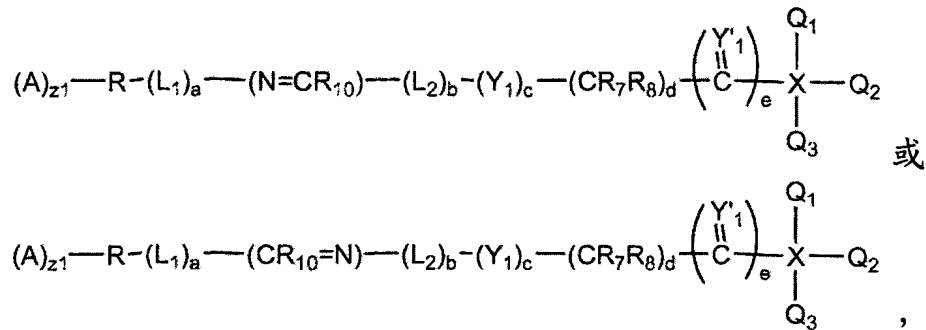
丁烯二醯亞胺及聚乙二醇-三氟乙磺酸酯 (PEG-TRES)。

在某些具體實例中，可釋放聚合脂質具有式 (IIIa)：



其中 A 為靶向基團且 (z1) 為零或 1。

在某些具體實例中，可釋放聚合脂質具有式 (IIIb) 或 (III'b)：



其中 A 為靶向基團且 (z1) 為零或 1。

2. 非抗原性聚合物：R 基團

用於本文所述之可釋放聚合脂質中之聚合物較佳為水溶性聚合物且實質上為非抗原性的，諸如聚氧化烯 (PAO)。

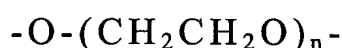
在一較佳態樣中，聚氧化烯包括聚乙二醇及聚丙二醇。聚氧化烯更佳包括聚乙二醇 (PEG)。

聚氧化烯具有約 200 至約 100,000 道爾頓 (dalton)，較佳約 200 至約 20,000 道爾頓之數量平均分子量。聚氧化烯更佳可為約 500 至約 10,000，且更佳為約 1,000 至約 5,000 道爾頓。在一特定具體實例中，聚合部分具有約 2,000 道爾頓之總數量平均分子量。

較佳，聚伸烷基為數量平均分子量在約 200 至約 20,000

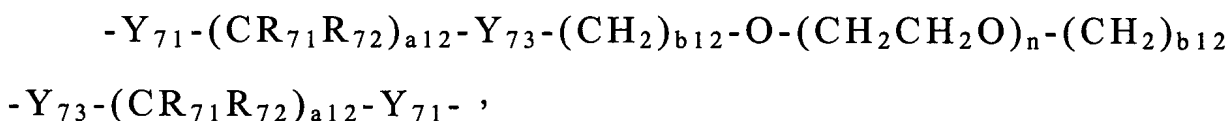
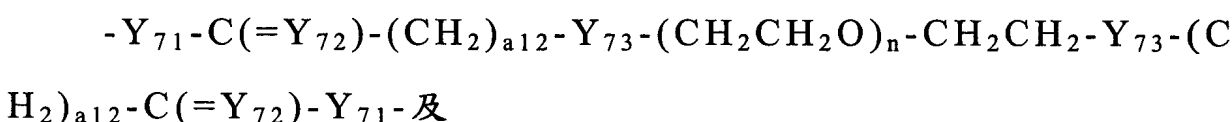
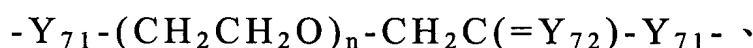
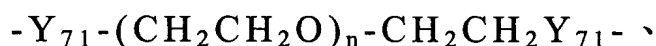
道爾頓，更佳約 500 至約 10,000 道爾頓，更佳約 1,000 至約 5,000 道爾頓（亦即約 1,500 至約 3,000 道爾頓）範圍內之聚乙二醇。在一特定具體實例中，PEG 具有約 2,000 道爾頓之分子量。在另一特定具體實例中，PEG 具有約 750 道爾頓之分子量。

PEG 一般由以下結構表示：



其中 (n) 為約 5 至約 2300，較佳約 5 至約 460 之正整數，使得 PEG 脂質之聚合部分具有約 200 至約 100,000 道爾頓，較佳約 200 至約 20,000 道爾頓之數量平均分子量。(n) 表示聚合物之聚合度，且視聚合物分子量而定。

或者，聚乙二醇 (PEG) 殘基部分可由以下結構表示：



其中：

Y_{71} 及 Y_{73} 獨立地為 O、S、SO、SO₂、NR₇₃ 或一鍵；

Y_{72} 為 O、S 或 NR₇₄；

R₇₁₋₇₄ 獨立地選自氫、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炔基、C₃₋₁₉ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₂₋₆ 烯基、經取代之 C₂₋₆ 炔基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、

芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、雜芳氧基、 C_{2-6} 烷醯基、芳基羰基、 C_{2-6} 烷氧羰基、芳氧羰基、 C_{2-6} 烷醯氧基、芳基羰氧基、經取代之 C_{2-6} 烷醯基、經取代之芳基羰基、經取代之 C_{2-6} 烷醯氧基、經取代之芳氧羰基、經取代之 C_{2-6} 烷醯氧基及經取代之芳基羰氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

(a12) 及 (b12) 獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 6 之整數（例如 1、2、3），且更佳為 1；且

(n) 為約 5 至約 2300，較佳約 5 至約 460 之整數。

PEG 之末端（A'基團）可以 H、 NH_2 、OH、 CO_2H 、 C_{1-6} 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、 C_{1-6} 烷氧基（例如甲氧基、乙氧基、丙氧基）、醯基或芳基為端基。在一較佳具體實例中，PEG 之末端羥基經甲氧基或甲基取代。在一較佳具體實例中，用於 PEG 脂質中之 PEG 為甲氧基 PEG。

PEG 可直接或經由鍵聯部分與酸不穩定鍵聯基共軛。使用美國專利第 5,122,614 號及第 5,808,096 號中描述之活化技術及此項技術中已知之其他技術，將與酸不穩定或脂質結構共軛之聚合物轉化為適當活化之聚合物而無須過度實驗。

適用於製備 PEG 脂質之經活化 PEG 之實例包括例如甲氧基聚乙二醇-丁二酸酯、甲氧基聚乙二醇-丁二酸丁二醯亞胺酯（mPEG-NHS）、甲氧基聚乙二醇-乙酸（mPEG- CH_2COOH ）、甲氧基聚乙二醇-胺（mPEG- NH_2 ）及

甲氧基聚乙二醇-三氟乙磺酸酯 (mPEG-TRES)。

在某些態樣中，具有末端羧酸基之聚合物可用於本文所述之 PEG 脂質中。製備高純度之具有末端羧酸之聚合物的方法描述於美國專利申請案第 11/328,662 號中，該申請案之內容以引用的方式併入本文中。

在替代態樣中，具有末端胺基之聚合物可用於製造本文所述之 PEG-脂質中。製備高純度之含有末端胺之聚合物之方法描述於美國專利申請案第 11/508,507 號及第 11/537,172 號中，各申請案之內容以引用的方式併入本文中。

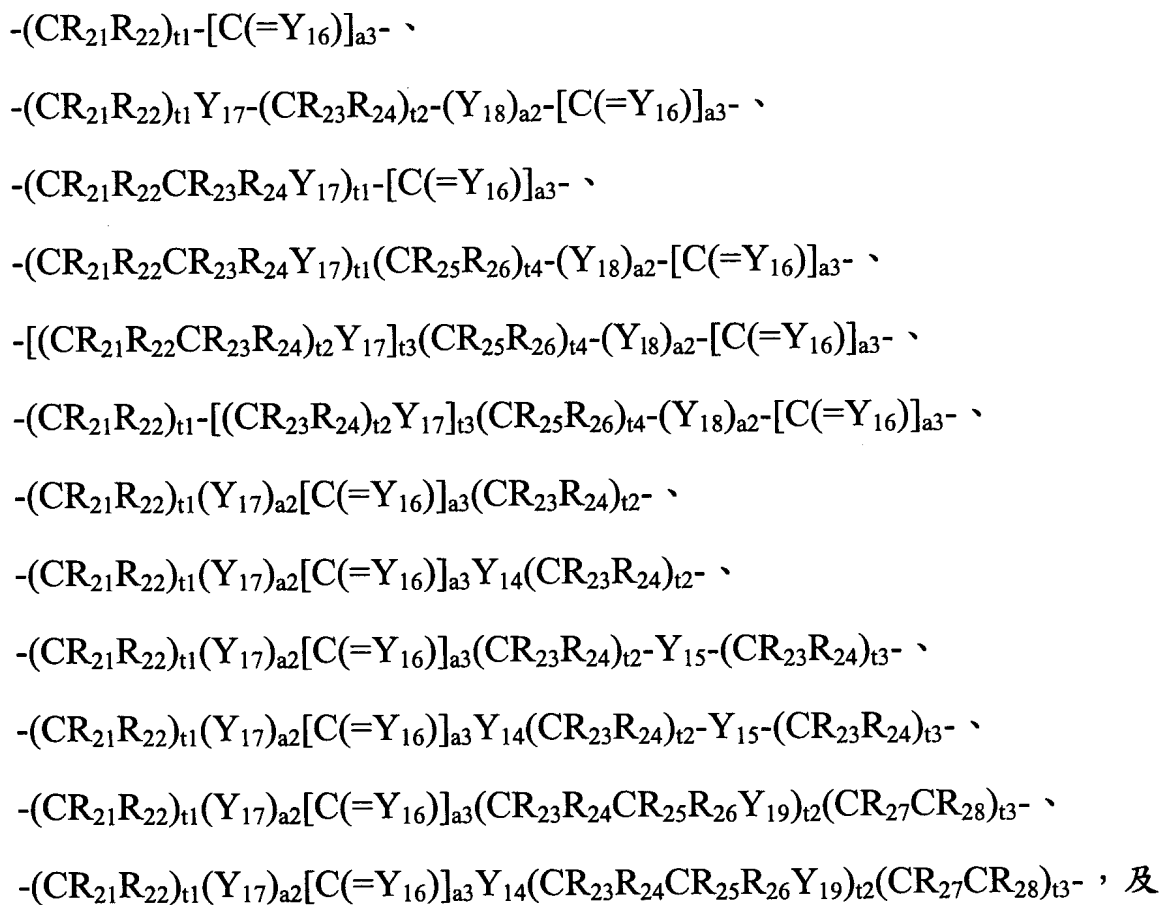
在本發明之另一態樣中，本文所包括之聚合物質在室溫下較佳可溶於水。該等聚合物之非限制性清單包括聚氧化烯均聚物，諸如聚乙二醇 (PEG) 或聚丙二醇、聚氧乙烯化多元醇、其共聚物及其嵌段共聚物，其限制條件為維持嵌段共聚物之水溶性。

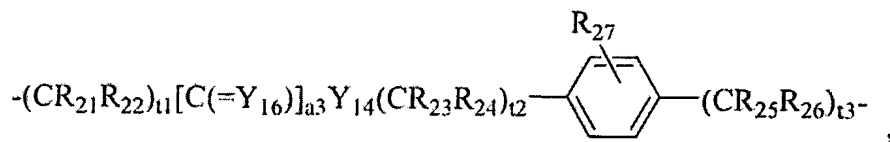
在另一具體實例中且作為基於 PAO 之聚合物（諸如 PEG）之替代物，可使用一或多種有效非抗原性物質，諸如聚葡萄糖、聚乙烯醇、基於碳水化合物之聚合物、羥丙基甲基丙烯醯胺 (HPMA)、聚氧化烯及/或其共聚物。可用來替代 PEG 之適合聚合物之實例包括（但不限於）聚乙烯吡咯啉酮、聚甲基吡啶啉、聚乙基吡啶啉、聚羥丙基甲基丙烯醯胺、聚甲基丙烯醯胺及聚二甲基丙烯醯胺、聚乳酸、聚乙醇酸及衍生纖維素，諸如羥甲基纖維素或羥乙基纖維素。亦參看共同讓渡之美國專利第 6,153,655 號，該專利之

內容以引用的方式併入本文中。一般熟習此項技術者瞭解，可採用與如本文中針對 PAO（諸如 PEG）所述相同類型之活化。一般熟習此項技術者亦應瞭解，上述清單僅為說明性的且涵蓋具有本文所述之品質的所有聚合物質。出於本發明之目的，「實質上或有效非抗原性（substantially or effectively non-antigenic）」意謂如此項技術中所瞭解，所有物質為無毒的且在哺乳動物中不會引起明顯免疫原性反應。

3. 雙官能鍵聯基：L₁ 及 L₂ 基團

根據本發明，如包括在式（I）化合物內之 L₁ 基團係選自：





其中：

Y_{16} 為 O、 NR_{28} 或 S，較佳為氧；

Y_{14-15} 及 Y_{17-19} 獨立地為 O、 NR_{29} 或 S，較佳為 O 或 NR_{29} ；

R_{21-27} 獨立地選自氫、羥基、胺基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；且

R_{28-29} 獨立地選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

$(t1)$ 、 $(t2)$ 、 $(t3)$ 及 $(t4)$ 獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；且

$(a2)$ 及 $(a3)$ 獨立地為零或 1。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能 L_1 鍵聯基包括取代基及代號之組合可使該等組合產生穩定式 (I) 化合物的鍵聯基。舉例而言，當 $(a3)$ 為零時， Y_{17} 不直接與 Y_{14} 鍵聯。

出於本發明之目的，當雙官能鍵聯基之值為等於或大於 2 之正整數時，可使用相同或不同雙官能鍵聯基。

當 (t1)、(t2)、(t3) 及 (t4) 各自獨立地等於或大於 2 時， $R_{21}-R_{28}$ 在每次出現時獨立地為相同或不同的。

在一具體實例中， Y_{14-15} 及 Y_{17-19} 為 O 或 NH；且 R_{21-29} 獨立地為氫或甲基。

在另一具體實例中， Y_{16} 為 O； Y_{14-15} 及 Y_{17-19} 為 O 或 NH；且 R_{21-29} 為氫。

在某些具體實例中， L_1 獨立地選自：

$-(CH_2)_{t1}-[C(=O)]_{a3}-$ 、
 $-(CH_2)_{t1}Y_{17}-(CH_2)_{t2}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3}-$ 、
 $-(CH_2CH_2Y_{17})_{t1}-[C(=O)]_{a3}-$ 、
 $-(CH_2CH_2Y_{17})_{t1}(CH_2)_{t4}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3}-$ 、
 $-[(CH_2CH_2)_{t2}Y_{17}]_{t3}(CH_2)_{t4}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3}-$ 、
 $-(CH_2)_{t1}-[(CH_2)_{t2}Y_{17}]_{t3}(CH_2)_{t4}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3}-$ 、
 $-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2}-$ 、
 $-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}Y_{14}(CH_2)_{t2}-$ 、
 $-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2}-Y_{15}-(CH_2)_{t3}-$ 、
 $-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}Y_{14}(CH_2)_{t2}-Y_{15}-(CH_2)_{t3}-$ 、
 $-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}(CH_2CH_2Y_{19})_{t2}(CH_2)_{t3}-$ ，及
 $-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}Y_{14}(CH_2CH_2Y_{19})_{t2}(CH_2)_{t3}-$ ，

其中

Y_{14-15} 及 Y_{17-19} 獨立地為 O 或 NH；

(t1)、(t2)、(t3) 及 (t4) 獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；
且

(a2) 及 (a3) 獨立地為零或 1。

當 (t1) 或 (t3) 等於或大於 2 時， Y_{17} 在每次出現時相同或不同。

當 (t2) 等於或大於 2 時， Y_{19} 在每次出現時相同或不同。

在另一具體實例及/或替代具體實例中， L_1 基團之說明性實例係選自以下：

$-\text{CH}_2--(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-(\text{CH}_2)_4-$ 、 $-(\text{CH}_2)_5-$ 、 $-(\text{CH}_2)_6-$ 、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)-$ 、 $-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2-$ 、

$-(\text{CH}_2)_4-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-(\text{CH}_2)_5-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-(\text{CH}_2)_6-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 、

$-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-(\text{CH}_2)_4-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ 、

$-(\text{CH}_2)_5-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2)_6-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ 、

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、

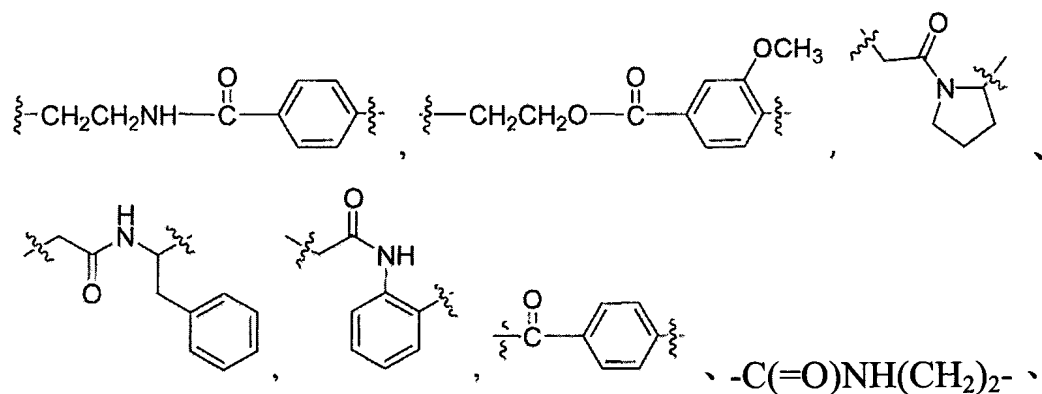
$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、

$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、

$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、

$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、
 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、
 $-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、
 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、
 $-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 、
 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 、
 $-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 、
 $-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$ 、

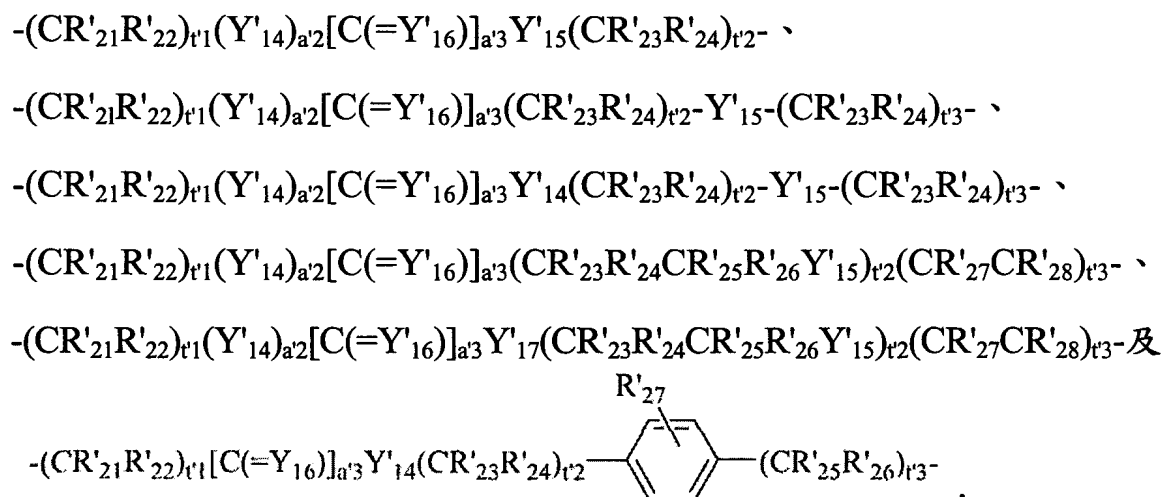


$-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_5-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_5-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5-$ 、

$-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6-$ 、
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_5-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_2-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_3-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_4-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_5-$ 及
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_6-$ 。

在某些具體實例中， L_2 獨立地選自以下：

$-(\text{CR}'_{21}\text{R}'_{22})_{t1}-[\text{C}(=\text{Y}'_{16})]_{a3}(\text{CR}'_{27}\text{CR}'_{28})_{t2}-$ 、
 $-(\text{CR}'_{21}\text{R}'_{22})_{t1}\text{Y}'_{14}-(\text{CR}'_{23}\text{R}'_{24})_{t2}-(\text{Y}'_{15})_{a2}-[\text{C}(=\text{Y}'_{16})]_{a3}(\text{CR}'_{27}\text{CR}'_{28})_{t3}-$ 、
 $-(\text{CR}'_{21}\text{R}'_{22}\text{CR}'_{23}\text{R}'_{24}\text{Y}'_{14})_{t1}-[\text{C}(=\text{Y}'_{16})]_{a3}(\text{CR}'_{27}\text{CR}'_{28})_{t2}-$ 、
 $-(\text{CR}'_{21}\text{R}'_{22}\text{CR}'_{23}\text{R}'_{24}\text{Y}'_{14})_{t1}(\text{CR}'_{25}\text{R}'_{26})_{t2}-(\text{Y}'_{15})_{a2}-[\text{C}(=\text{Y}'_{16})]_{a3}(\text{CR}'_{27}\text{CR}'_{28})_{t3}-$ 、
 $-[(\text{CR}'_{21}\text{R}'_{22}\text{CR}'_{23}\text{R}'_{24})_{t2}\text{Y}'_{14}]_{t1}(\text{CR}'_{25}\text{R}'_{26})_{t2}-\text{Y}'_{15})_{a2}-[\text{C}(=\text{Y}'_{16})]_{a3}(\text{CR}'_{27}\text{CR}'_{28})_{t3}-$ 、
 $-[(\text{CR}'_{21}\text{R}'_{22})_{t1}-[\text{CR}'_{23}\text{R}'_{24}]_{t2}\text{Y}'_{14}]_{t2}(\text{CR}'_{25}\text{R}'_{26})_{t3}-\text{Y}'_{15})_{a2}-[\text{C}(=\text{Y}'_{16})]_{a3}(\text{CR}'_{27}\text{CR}'_{28})_{t4}-$ 、
 $-(\text{CR}'_{21}\text{R}'_{22})_{t1}(\text{Y}'_{14})_{a2}[\text{C}(=\text{Y}'_{16})]_{a3}(\text{CR}'_{23}\text{R}'_{24})_{t2}-$ 、



其中：

Y'_{16} 為 O、 NR'_{28} 或 S，較佳為 O；

Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 獨立地為 O、 NR'_{29} 或 S，較佳為 O 或 NR'_{29} ；

R'_{21-27} 獨立地選自氫、羥基、胺基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

R'_{28-29} 獨立地選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

$(t'1)$ 、 $(t'2)$ 、 $(t'3)$ 及 $(t'4)$ 獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；
且

$(a'2)$ 及 $(a'3)$ 獨立地為零或 1。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能 L_2 鍵聯基包括鍵聯基之變數與取代基之組合可使該等組合產生穩定式 (I) 化合物的鍵聯基。舉例而言，當 $(a'3)$ 為零時， Y'_{14} 不直接與 Y'_{14} 或 Y'_{17} 鍵聯。

出於本發明之目的，當包括可釋放鍵聯基之雙官能 L_2 鍵聯基之值為等於或大於 2 之正整數時，可使用相同或不同雙官能鍵聯基。

在一具體實例中， Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 為 O 或 NH；且 R'_{21-29} 獨立地為氫或甲基。

在另一具體實例中， Y'_{16} 為 O； Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 為 O 或 NH；且 R'_{21-29} 為氫。

在某些具體實例中， L_2 係選自以下：

- $-(CH_2)_{t1}-[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2}-$ 、
- $-(CH_2)_{t1}Y'_{14}-(CH_2)_{t2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t3}-$ 、
- $-(CH_2CH_2Y'_{14})_{t1}-[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2}-$ 、
- $-(CH_2CH_2Y'_{14})_{t1}(CH_2)_{t2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t3}-$ 、
- $-[(CH_2CH_2)_{t2}Y'_{14}]_{t1}(CH_2)_{t2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t3}-$ 、
- $-(CH_2)_{t1}-[(CH_2)_{t2}Y'_{14}]_{t2}(CH_2)_{t3}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t4}-$ 、
- $-(CH_2)_{t1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2}-$ 、
- $-(CH_2)_{t1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=O)]_{a3}Y'_{15}(CH_2)_{t2}-$ 、
- $-(CH_2)_{t1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2}-Y'_{15}-(CH_2)_{t3}-$ 、
- $-(CH_2)_{t1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=O)]_{a3}Y'_{14}(CH_2)_{t2}-Y'_{15}-(CH_2)_{t3}-$ 、
- $-(CH_2)_{t1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=O)]_{a3}(CH_2CH_2Y'_{15})_{t2}(CH_2)_{t3}-$ 及
- $-(CH_2)_{t1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=O)]_{a3}Y'_{17}(CH_2CH_2Y'_{15})_{t2}(CH_2)_{t3}-$ 、

其中

Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 獨立地為 O 或 NH；

$(t'1)$ 、 $(t'2)$ 、 $(t'3)$ 及 $(t'4)$ 獨立地為 0 或正整數，較佳為 0 或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；
且

$(a'2)$ 及 $(a'3)$ 獨立地為零或 1。

當 $(t'1)$ 或 $(t'2)$ 等於或大於 2 時， Y'_{14} 在每次出現時相同或不同。

當 $(t'2)$ 等於或大於 2 時， Y'_{15} 在每次出現時相同或不同。

在另一具體實例及/或替代具體實例中， L_2 基團之說明性實例係選自以下：

$-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-(\text{CH}_2)_4-$ 、 $-(\text{CH}_2)_5-$ 、 $-(\text{CH}_2)_6-$ 、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)-$ 、
 $-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2-$ 、

$-\text{O}(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_2-$ 、
 $-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_3-$ 、

$-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$ 、

$-\text{CH}_2-\text{OC}(=\text{O})-\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{OC}(=\text{O})-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$ 、

$-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(=\text{O})-\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$ 、

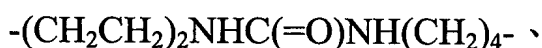
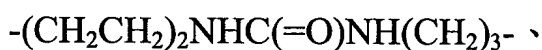
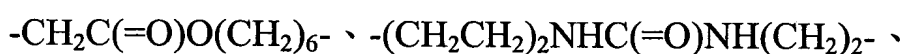
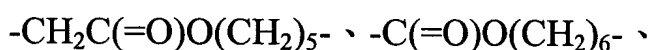
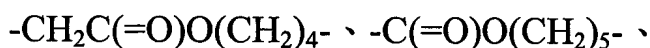
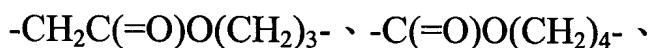
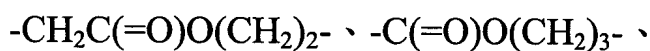
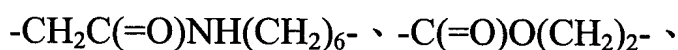
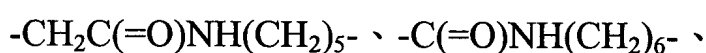
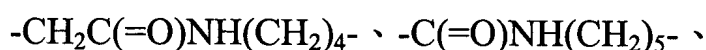
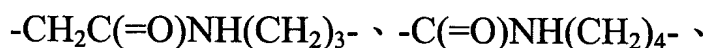
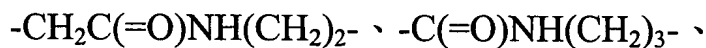
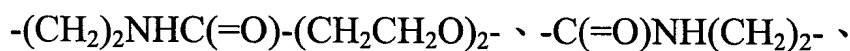
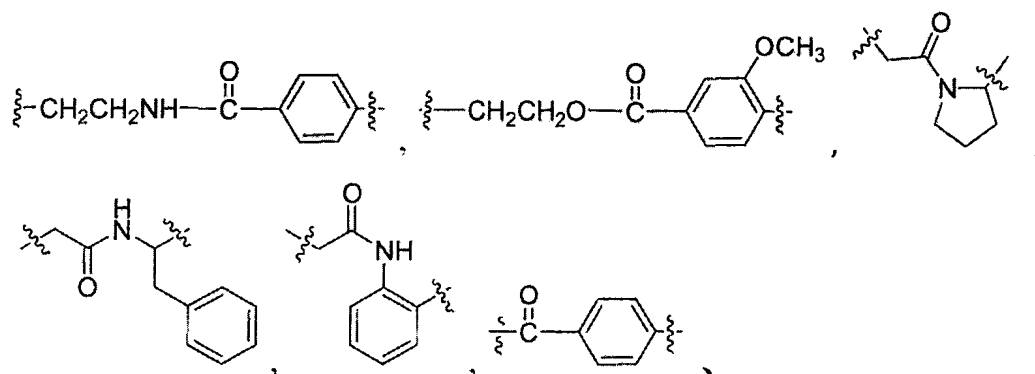
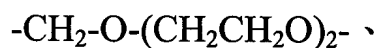
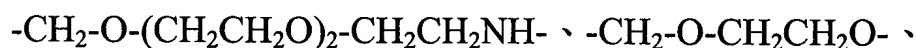
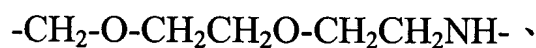
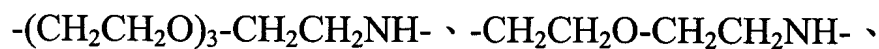
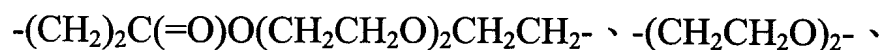
$-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$ 、

$-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$ 、

$-(\text{CH}_2)_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$ 、

$-(\text{CH}_2)_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$ 、

$-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、



$-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_5-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_3-$ 、
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_4-$ 、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_5-$ 及
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_6-$ 。

在另一具體實例中，雙官能鍵聯基 L_1 及 L_2 可為具有經取代之飽和或不飽和、支鏈或直鏈 C_{3-50} 烷基（亦即 C_{3-40} 烷基、 C_{3-20} 烷基、 C_{3-15} 烷基、 C_{3-10} 烷基等）的間隔基，其中視情況一或多個碳經 NR_6 、 O 、 S 或 $\text{C}(=\text{Y})$ （較佳 O 或 NH ）置換，但不超過 70%（亦即小於 60%、50%、40%、30%、20%、10%）之碳經置換。

4. 雙官能間隔基： L_{11} 、 L_{12} 及 L_{13} 基團

根據本發明，雙官能間隔基 L_{11-13} 獨立地選自以下：

$-(\text{CR}_{31}\text{R}_{32})_{q1}-$ ；及

$-\text{Y}_{26}(\text{CR}_{31}\text{R}_{32})_{q1}-$ ，

其中：

Y_{26} 為 O 、 NR_{33} 或 S ，較佳為氧或 NR_{33} ；

R_{31-32} 獨立地選自氫、羥基、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、

C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

R_{33} 係選自氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；且

($q1$) 為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數 (例如 1、2、3、4、5、6)。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能間隔基包括取代基及代號之組合可使該等組合產生穩定式 (I) 化合物的間隔基。

當 ($q1$) 等於或大於 2 時， R_{31} 及 R_{32} 在每次出現時獨立地為相同或不同的。

在一較佳具體實例中， R_{31-33} 獨立地為氫或甲基。

在某些較佳具體實例中， R_{31-32} 為氫或甲基；且 Y_3 為 O 或 NH。

當 ($q1$) 等於或大於 2 時， $C(R_{31})(R_{32})$ 部分相同或不同。

在另一及/或替代具體實例中， L_{11-13} 獨立地選自以下：

-CH₂-、-(CH₂)₂-、-(CH₂)₃-、-(CH₂)₄-、-(CH₂)₅-、-(CH₂)₆-、
 -O(CH₂)₂-、-O(CH₂)₃-、-O(CH₂)₄-、-O(CH₂)₅-、
 -O(CH₂)₆-、CH(OH)-、-(CH₂CH₂O)-CH₂CH₂-、
 -(CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂-、-C(O)O(CH₂)₃-、
 -C(=O)NH(CH₂)₃-、-C(=O)(CH₂)₂-、-C(=O)(CH₂)₃-、
 -CH₂-C(=O)-O(CH₂)₃-、-CH₂-C(=O)-NH(CH₂)₃-、
 -CH₂-OC(=O)-O(CH₂)₃-、

-CH₂-OC(=O)-NH(CH₂)₃-、-(CH₂)₂-C(=O)-O(CH₂)₃-、

-(CH₂)₂-C(=O)-NH(CH₂)₃-、

-CH₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-、

-CH₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-、

-(CH₂)₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-、

-(CH₂)₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-、

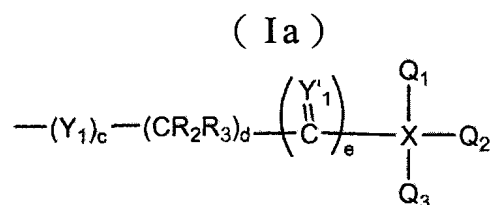
-CH₂C(=O)O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂-及

-(CH₂)₂C(=O)O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂-。

5. Q 基團

根據本發明，Q 基團含有一或多個經取代或未經取代、飽和或不飽和之含 C₄₋₃₀ 之部分。Q 基團包括一或多個 C₄₋₃₀ 脂族飽和或不飽和烴。

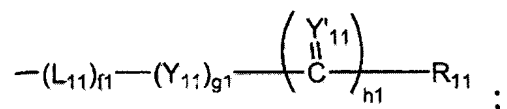
Q 基團由式 (Ia) 表示：



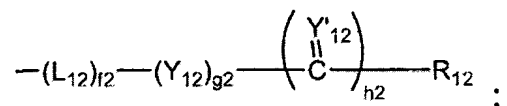
其中

X 為 C、N 或 P；

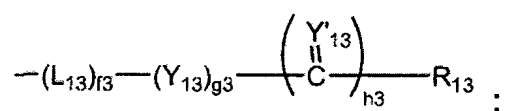
Q₁ 為 H、C₁₋₃ 烷基、NR₅、OH 或



Q₂ 為 H、C₁₋₃ 烷基、NR₆、OH 或



Q₃ 為孤電子對、(=O)、H、C₁₋₃ 烷基、NR₇、OH 或



L_{11} 、 L_{12} 及 L_{13} 為獨立選擇之雙官能間隔基；

Y_{11} 、 Y_{12} 及 Y_{13} 獨立地為 O、S 或 NR_8 ，較佳為氧或 NH；

Y'_{11} 、 Y'_{12} 及 Y'_{13} 獨立地為 O、S 或 NR_8 ，較佳為氧；

R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 獨立地為（經取代或未經取代）飽和或不飽和 C_{4-30} ；且

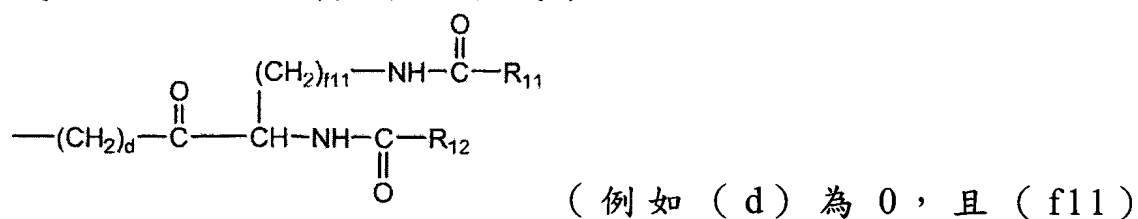
所有其他代號如以上所定義，

其限制條件為 Q 包括 R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 中之至少一者（一者、兩者、三者，較佳為兩者）。

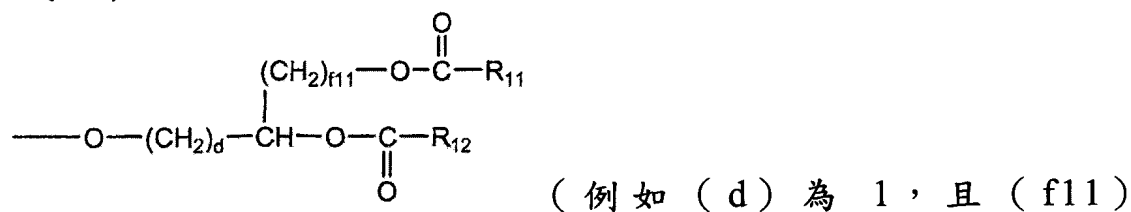
在一較佳具體實例中， R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 獨立地包括 C_{4-30} 飽和或不飽和脂族烴。各脂族烴更佳為飽和或不飽和 C_{8-24} 烴（更佳為 C_{12-22} 烴： C_{12-22} 烷基、 C_{12-22} 烯基、 C_{12-22} 烷氧基）。脂族烴之實例包括（但不限於）月桂醯基（ C_{12} ）、肉豆蔻醯基（ C_{14} ）、棕櫚醯基（ C_{16} ）、硬脂醯基（ C_{18} ）、油醯基（ C_{18} ）及芥子醯基（ C_{22} ）；飽和或不飽和 C_{12} 烷氧基、 C_{14} 烷氧基、 C_{16} 烷氧基、 C_{18} 烷氧基及 C_{22} 烷氧基；及飽和或不飽和 C_{12} 烷基、 C_{14} 烷基、 C_{16} 烷基、 C_{18} 烷基、 C_{20} 烷基及 C_{22} 烷基。

較佳地， R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 中之至少兩者獨立地包括飽和或不飽和 C_{8-24} 烴（更佳 C_{12-22} 烴）。

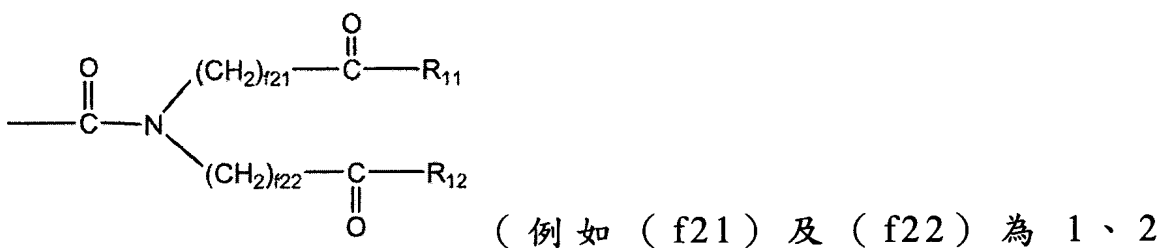
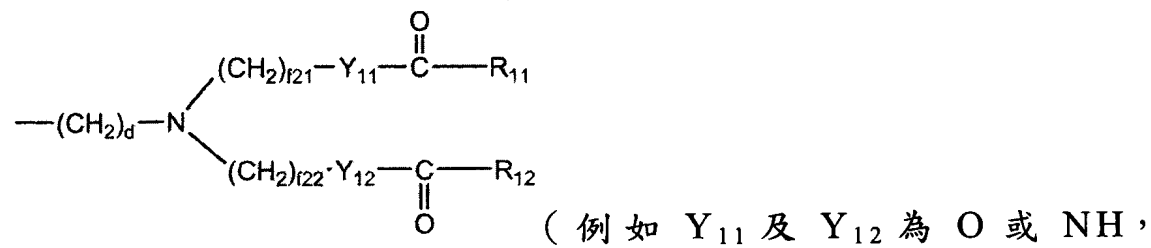
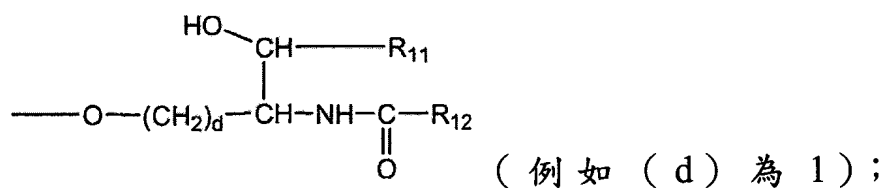
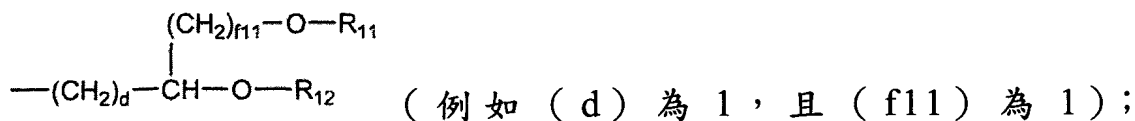
Q 基團之一些實例由下式表示：



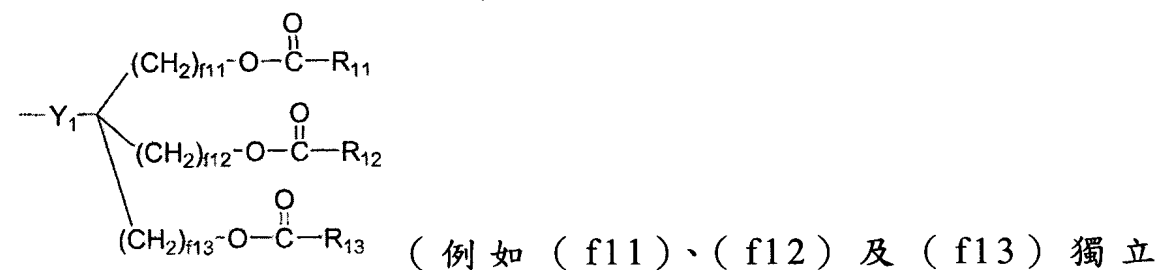
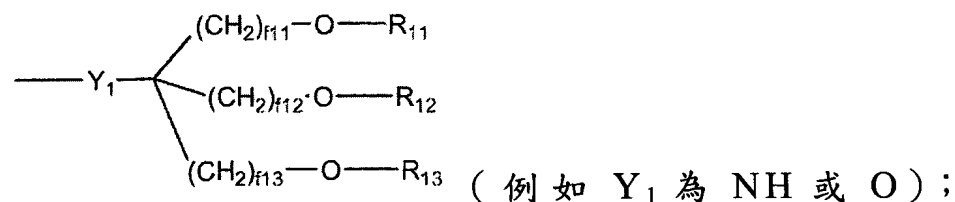
為 1 或 4)；

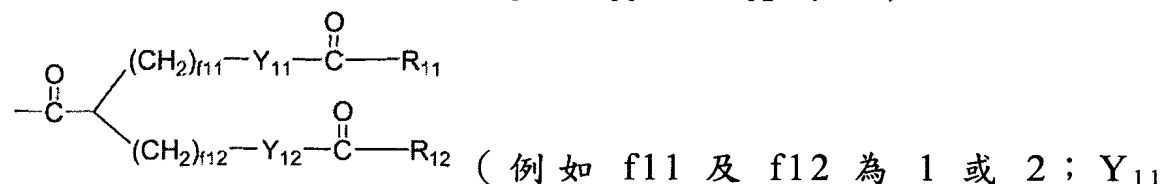
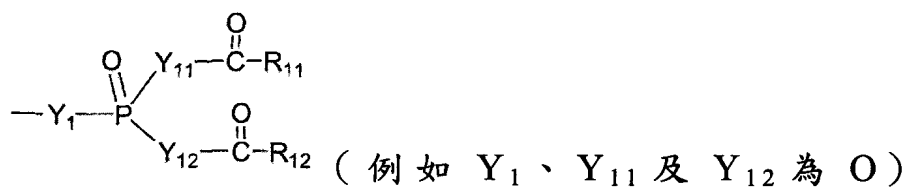
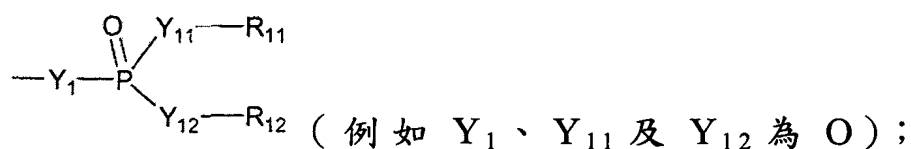


為 1)；

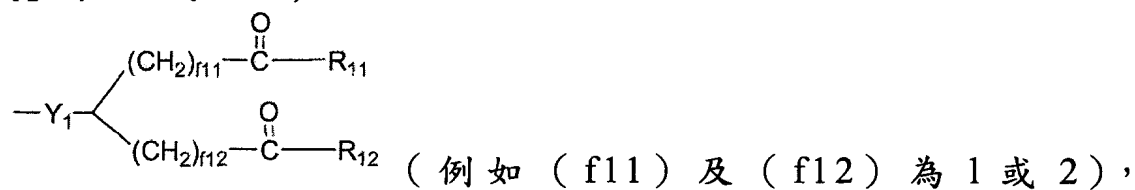


或 3)；





及 Y_{12} 為 O 或 NH) 及



其中，

Y_1 為 O 、 S 或 NR_{31} ，較佳為氧或 NH ；

R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 獨立地為經取代或未經取代、飽和或不飽和 C_{4-30} (烷基、烯基、烷氧基)；

R_{31} 為氫、甲基或乙基；

(d) 為 0 或正整數，較佳為 0 或約 1 至約 10 之整數 (例如 1、2、3、4、5、6)；

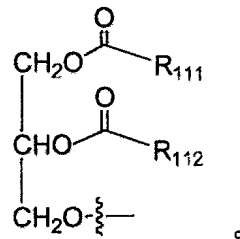
(f11)、(f12) 及 (f13) 獨立地為 0、1、2、3 或 4；且

(f21) 及 (f22) 獨立地為 1、2、3 或 4。

在某些具體實例中，Q 基團包括二醯基甘油、二醯基甘醯胺 (diacylglycamide)、二烷基丙基、磷脂醯乙醇胺或腦醯胺。適合二醯基甘油或二醯基甘醯胺包括烷基鏈長度獨立地含有約 C_4 至約 C_{30} 、較佳約 C_8 至約 C_{24} 之飽和或不飽和碳原子的二烷基甘油或二烷基甘醯胺基團。二烷基甘油

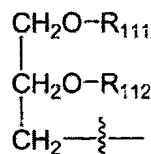
或二烷基甘醯胺基團可另外包括一或多個經取代之烷基。

本文中使用的術語「二醯基甘油 (diacylglycero)」(DAG)係指具有兩個脂肪醯基鏈 R_{111} 及 R_{112} 之化合物。 R_{111} 及 R_{112} 具有相同或不同之約 4 至約 30 個碳 (較佳約 8 至約 24) 且藉由酯鍵與甘油鍵結。醯基可為飽和的，或不飽和的，具有各種不飽和度。DAG 具有通式：



DAG 之實例可選自二月桂基甘油 (C_{12})、二肉豆蔻基甘油 (C_{14} , DMG)、二棕櫚醯基甘油 (C_{16} , DPG)、二硬脂醯基甘油 (C_{18} , DSG)、二油醯基甘油 (C_{18})、二芥子醯基 (C_{22})、二月桂基甘醯胺 (C_{12})、二肉豆蔻基甘醯胺 (C_{14})、二棕櫚醯基甘醯胺 (C_{16})、二硬脂醯基甘醯胺 (C_{18})、二油醯基甘醯胺 (C_{18})、二芥子醯基甘醯胺 (C_{22})。熟習此項技術者易瞭解亦涵蓋其他二醯基甘油。

術語「二烷氧基丙基」係指具有兩個烷基鏈 R_{111} 及 R_{112} 之化合物。 R_{111} 及 R_{112} 烷基包括在約 4 至約 30 個碳 (較佳約 8 至約 24) 之間的相同或不同者。烷基可為飽和的，或具有各種不飽和度。二烷氧基丙基具有通式：



其中 R_{111} 及 R_{112} 烷基為具有約 4 至約 30 個碳 (較佳約 8 至約 24) 之相同或不同烷基。烷基可為飽和或不飽和的。

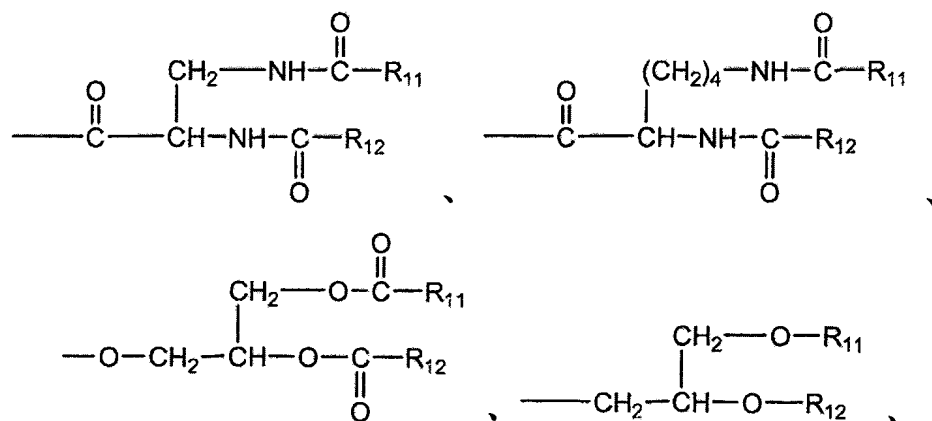
適合烷基包括（但不限於）月桂基（ C_{12} ）、肉豆蔻基（ C_{14} ）、棕櫚基（ C_{16} ）、硬脂醯基（ C_{18} ）、油醯基（ C_{18} ）及二十基（ C_{20} ）。

在一具體實例中， R_{111} 及 R_{112} 皆相同，亦即 R_{111} 與 R_{112} 皆為肉豆蔻基（ C_{14} ）或皆為油醯基（ C_{18} ）等。在另一具體實例中， R_{111} 及 R_{112} 不同，亦即 R_{111} 為肉豆蔻基（ C_{14} ）且 R_{112} 為硬脂醯基（ C_{18} ）。

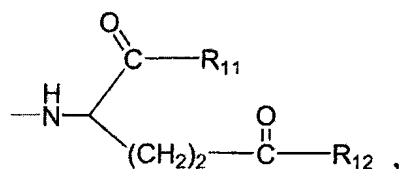
在另一具體實例中，Q 基團可包括磷脂醯乙醇胺（PE）。適用於可釋放融合脂質共軛之磷脂醯乙醇胺可含有碳鏈長度在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24）之範圍內的飽和或不飽和脂肪酸。適合磷脂醯乙醇胺包括（但不限於）：二肉豆蔻醯基磷脂醯乙醇胺（DMPE）、二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺（DPPE）、二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOPE）及二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺（DSPE）。

在另一具體實例中，Q 基團可包括腦醯胺（Cer）。腦醯胺僅具有一個醯基。腦醯胺可具有碳鏈長度在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24）之範圍內的飽和或不飽和脂肪酸。

一較佳具體實例包括：







其中 R_{11-13} 獨立地為相同或不同 C_{12-22} 飽和或不飽和脂族烴，諸如二月桂基 (C_{12})、二肉豆蔻基 (C_{14})、二棕櫚醯基 (C_{16})、二硬脂醯基 (C_{18})、二油醯基 (C_{18}) 及二芥子醯基 (C_{22})；

(f11)、(f12) 及 (f13) 獨立地為 0、1、2、3 或 4；且

(f21) 及 (f22) 獨立地為 1、2、3 或 4。

B. 製備式 (I) 之可釋放聚合脂質

代表性特定化合物之合成闡述於實施例中。然而，一般而言，本發明化合物可以若干方式製備。在一具體實施例中，製備本文所述之式 (I) 化合物之方法包括使具有縮酮鍵之聚合物衍生物與脂質衍生物反應，得到具有縮酮或縮醛部分之聚合物-脂質共軛物。或者，該等方法包括使聚合物衍生物與具有縮酮或縮醛部分之脂質衍生物反應，得到聚合物-脂質共軛物。

在另一具體實施例中，製備本文所述之式 (I) 化合物之方法包括使含胺化合物與含醛化合物反應，得到具有亞胺部分之聚合物-脂質共軛物。胺可為一級胺且醛可另外含有脂族或芳族取代基。

製備具有含縮酮鍵聯基之可釋放聚合脂質的一代表性實施例展示於圖 1 及 2 中。首先，在諸如 EDC 或 DIPC 之偶合劑存在下使脂質與親核性多官能鍵聯基偶合，得到化合物 2。反應較佳在惰性溶劑（諸如二氯甲烷、氯仿、甲苯、

DMF 或其混合物)中進行。反應可在鹼(諸如 DMAP、DIEA、吡啶、三乙胺等)存在下在 -4°C 至約 70°C (例如 -4°C 至約 50°C) 之溫度下進行。在一較佳具體實例中,反應在 0°C 至約 25°C 或 0°C 至約室溫之溫度下進行。將化合物 2 之甲酯皂化,得到脂質衍生物(化合物 3)。

製備含有縮酮鍵之雙官能鍵聯基(化合物 6)。用三氟乙酸乙酯保護含有縮酮之雙官能鍵聯基的二胺之一。使諸如 SCmPEG 之活化聚合物與雙官能鍵聯基中之殘留親核試劑胺反應,接著移除三氟乙醯胺保護基,得到含有縮酮鍵之聚合胺(化合物 9)。使聚合胺與脂質衍生物(化合物 3)在偶合劑存在下共軛,得到含有縮酮部分之 PEG 脂質。

製備含有亞胺部分之聚合物-脂質共軛物之另一代表性實施例展示於圖 3 中。使聚合胺與雙官能鍵聯基反應,得到含有經保護之醛之聚合物(化合物 15)。移除醛保護基,得到聚合醛(化合物 16)。使脂質與含有胺經保護之基團之親核性多官能鍵聯基偶合,得到具有胺經保護之基團的脂質衍生物。移除胺保護基之後,使具有末端胺之脂質衍生物(化合物 13)與聚合醛反應,得到含有亞胺鍵之聚合脂質。

反應較佳在惰性溶劑(諸如二氯甲烷、氯仿、甲苯、DMF 或其混合物)中進行。反應亦較佳在鹼(諸如 DMAP、DIEA、吡啶、三乙胺等)存在下在 -4°C 至約 70°C (例如 -4°C 至約 50°C) 之溫度下進行。在一較佳具體實例中,反應在 0°C 至約 25°C 或 0°C 至約室溫之溫度下進行。

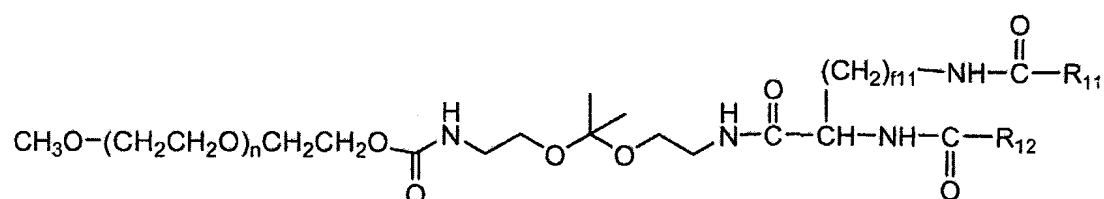
可使用標準有機合成技術，在鹼存在下，使用一般熟習此項技術者已知之偶合劑(諸如 1,3-二異丙基碳化二亞胺 (DIPC)、二烷基碳化二亞胺、鹵化 2-鹵基-1-烷基吡錠、1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺 (EDC)、丙烷膦酸環酐 (PPACA) 及二氯磷酸苯酯)，使胺與酸或酸與胺共軛。

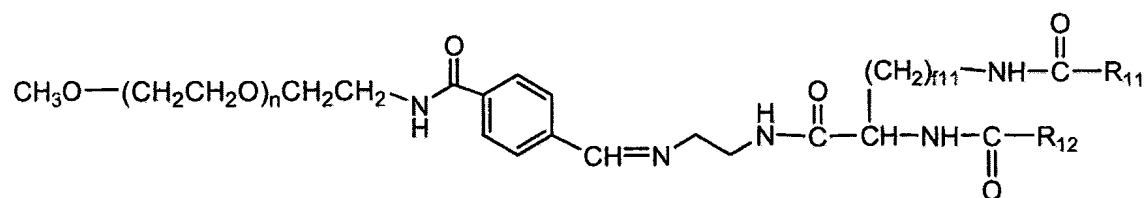
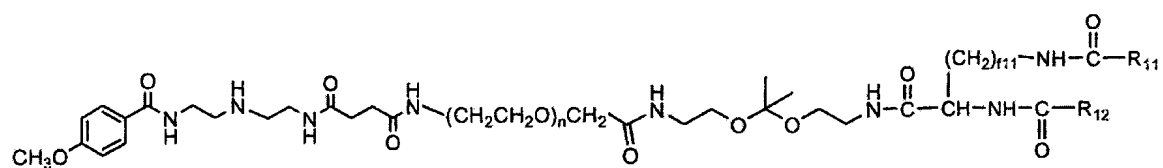
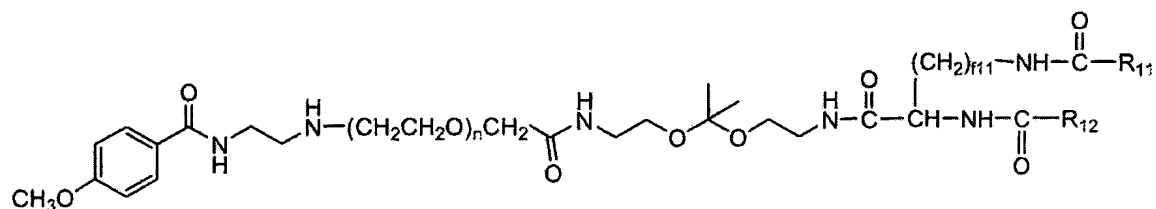
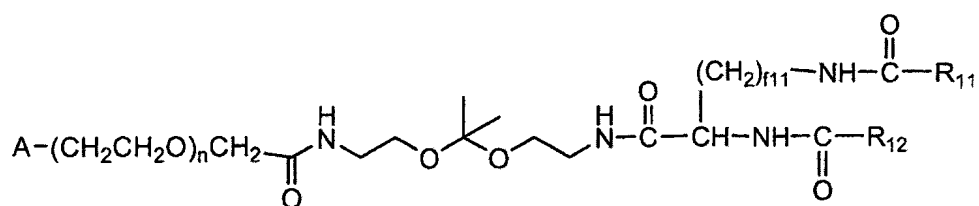
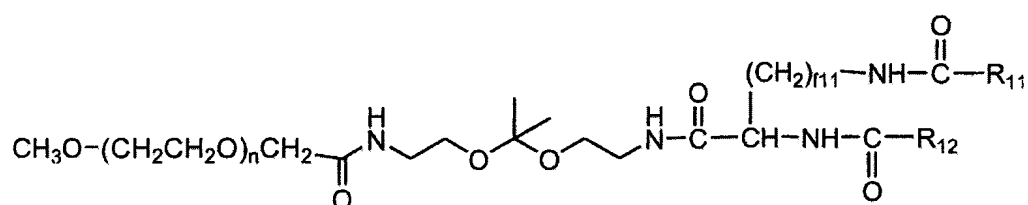
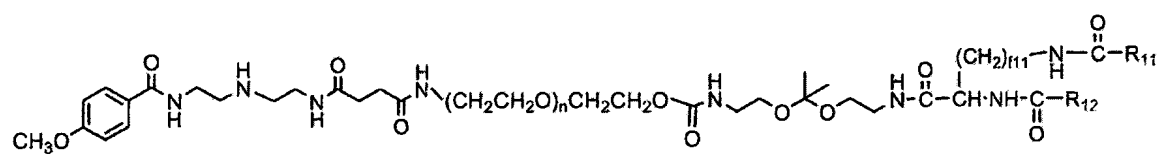
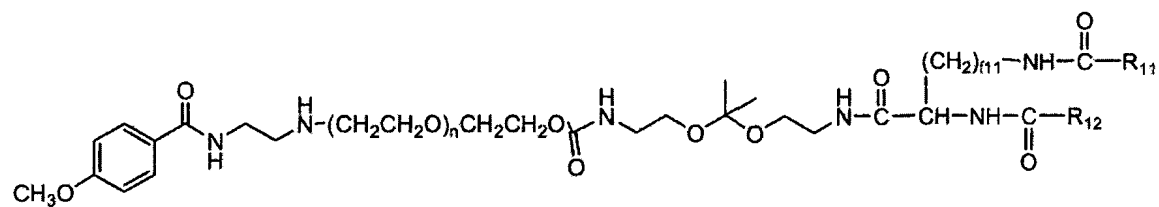
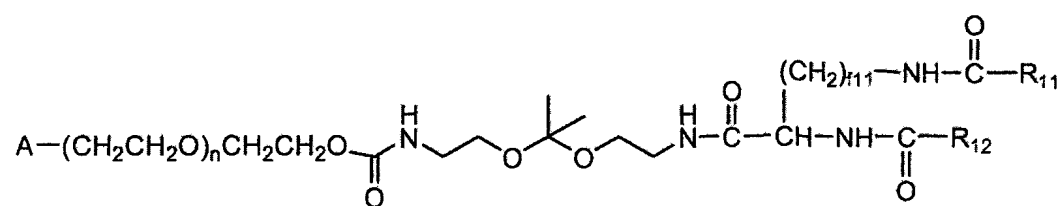
在另一具體實例中，可在共軛反應中使用活化酸(諸如 NHS 或 PNP 酯)與親核試劑反應，諸如化合物 1(胺，親核試劑)與化合物 3(酸，親電試劑)共軛或化合物 9(胺，親核試劑)與化合物 3(酸，親電試劑)共軛。

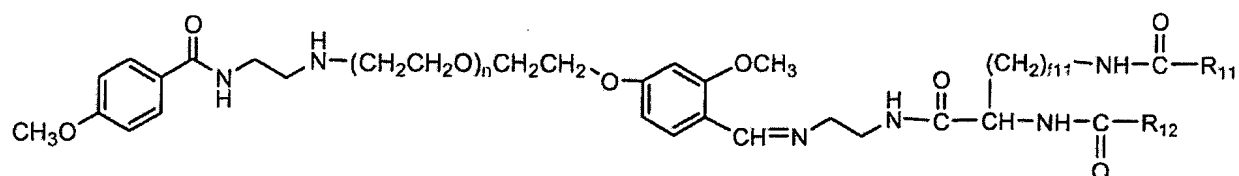
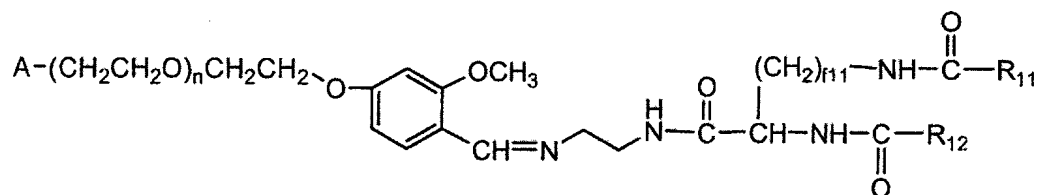
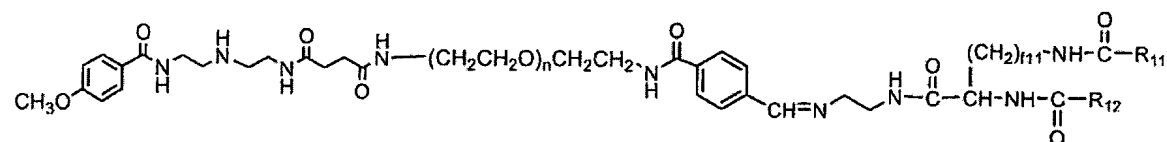
當用脫離基(諸如 NHS 或 PNP)活化酸或親電試劑時，無需偶合劑且反應在鹼存在下進行。

可使用鹼(諸如 NaOH 或 K_2CO_3)來移除胺保護基。在一具體實例中，使用 K_2CO_3 來脫去三氟乙醯基之保護。或者，可使用強酸(諸如三氟乙酸 (TFA)、HCl、硫酸等)或催化氫化、自由基反應等來移除胺保護基。使用 HCl 之二噁烷溶液脫去 Boc 基團之保護。脫去保護基之反應可在 $-4^\circ C$ 至約 $50^\circ C$ 之溫度下進行。反應較佳在 $0^\circ C$ 至約 $25^\circ C$ 或室溫之溫度下進行。脫去 Boc 基團之保護的反應更佳在室溫下進行。

舉例而言，藉由本文所述之方法製備之化合物包括：



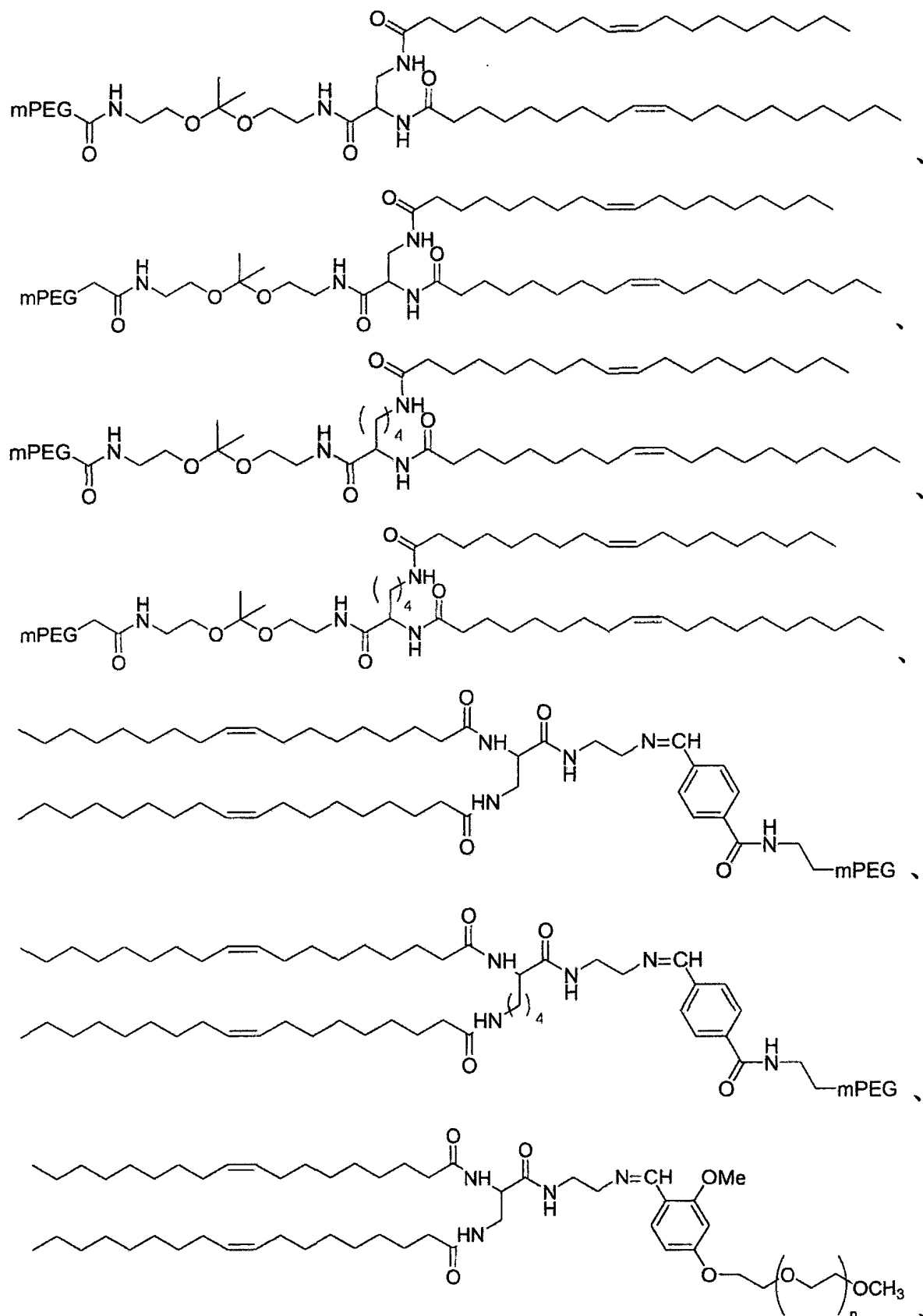


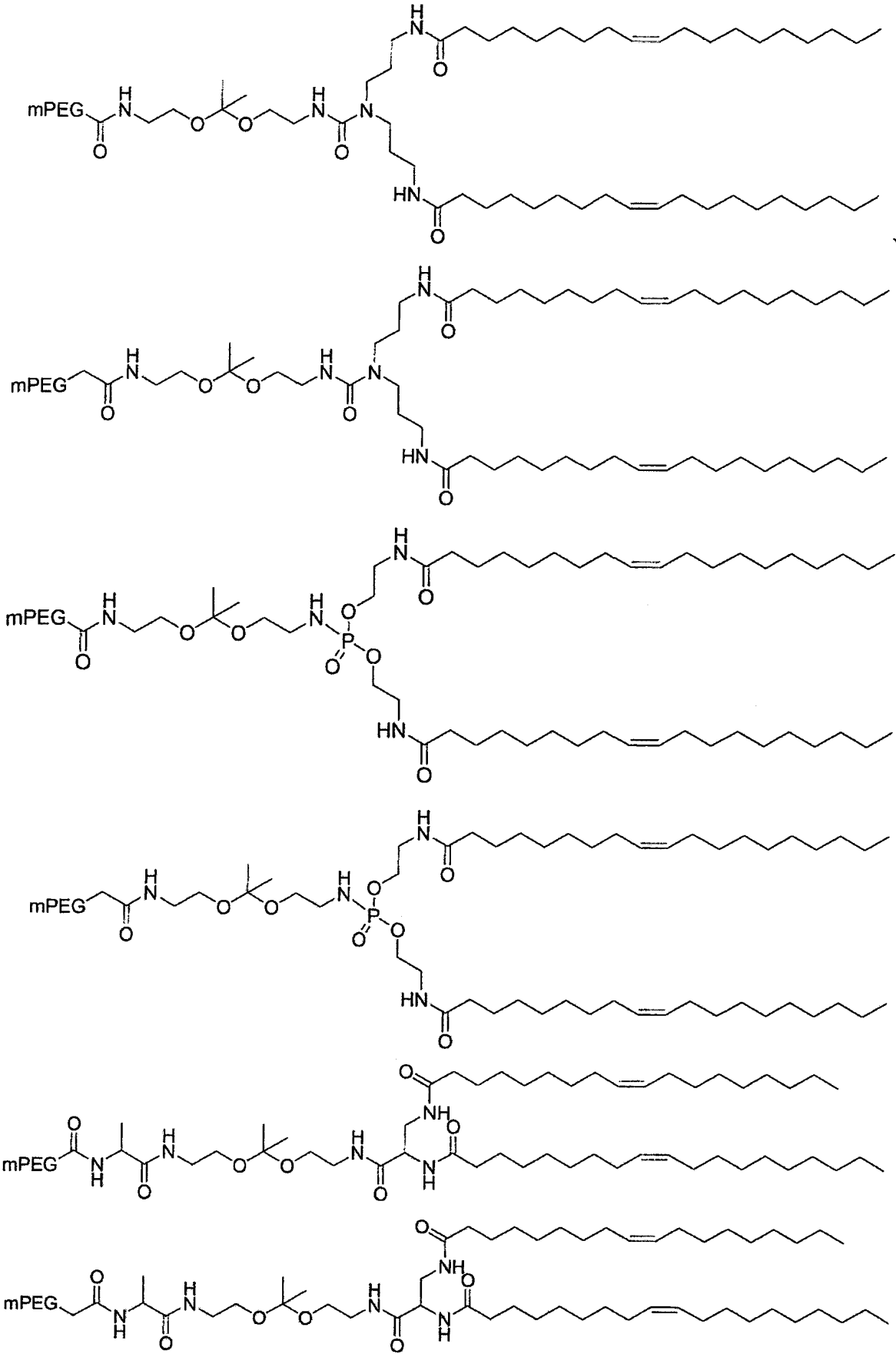
[illegible]

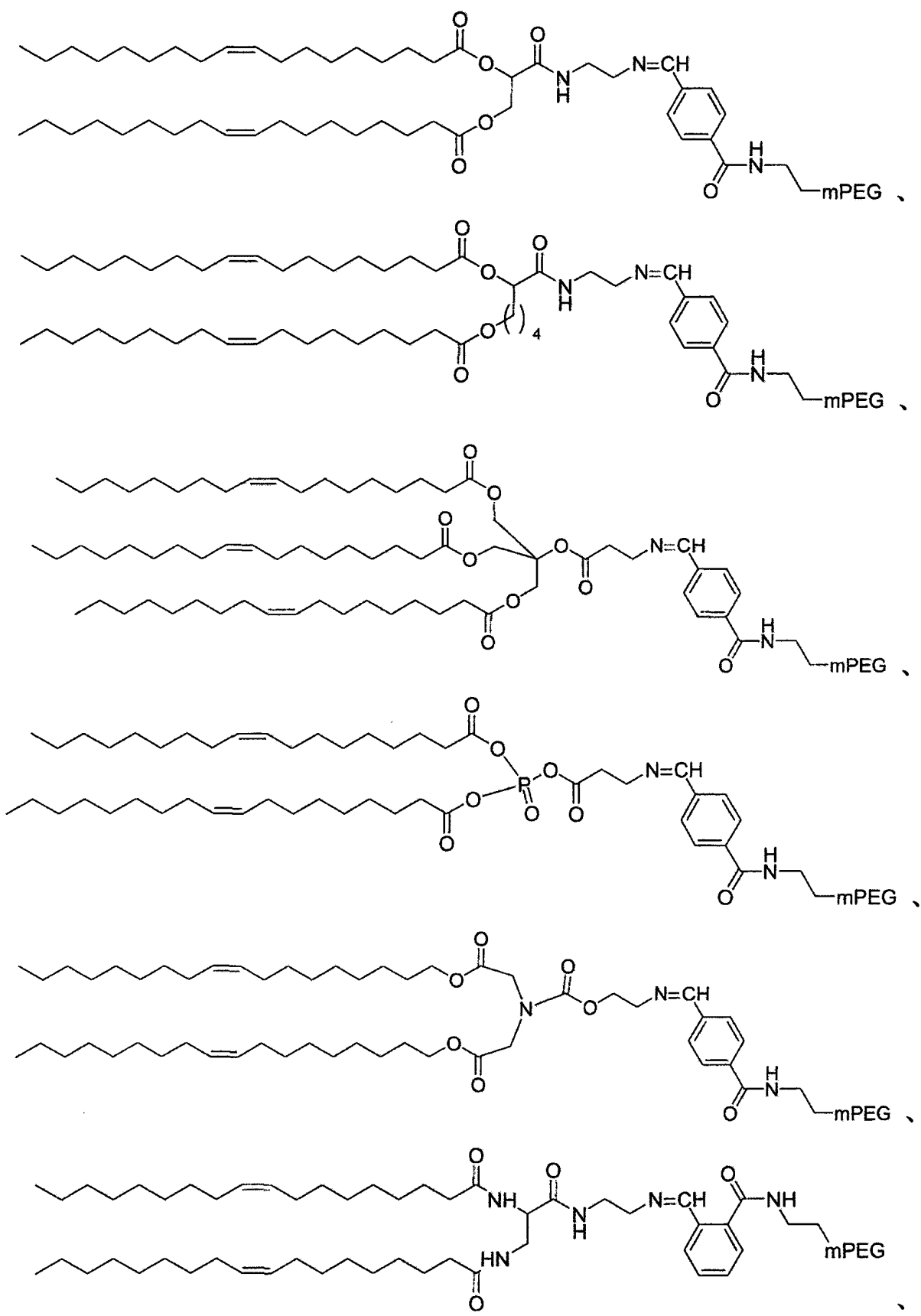
A 為 靶 向 基 團 ；

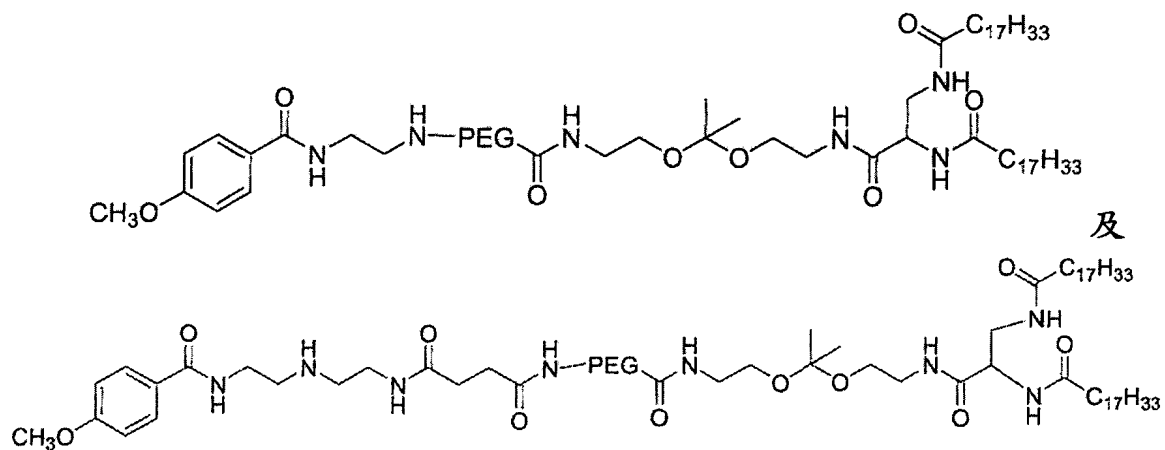
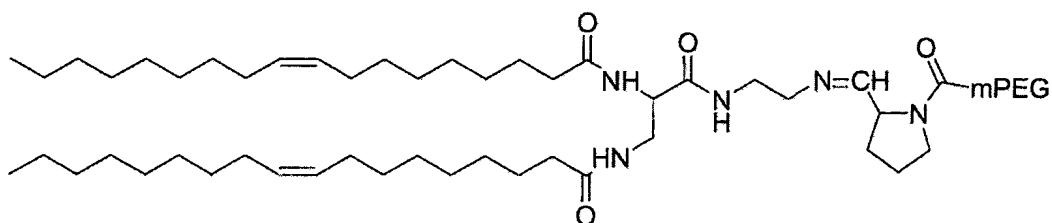
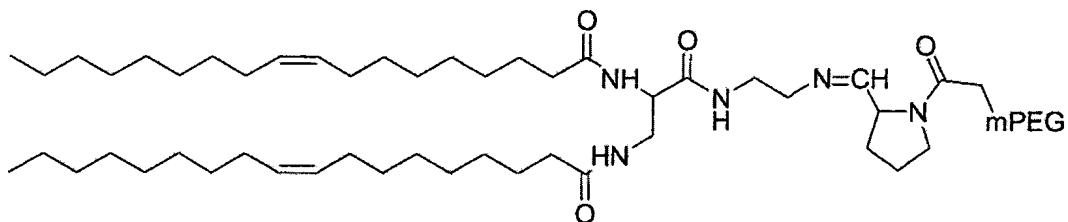
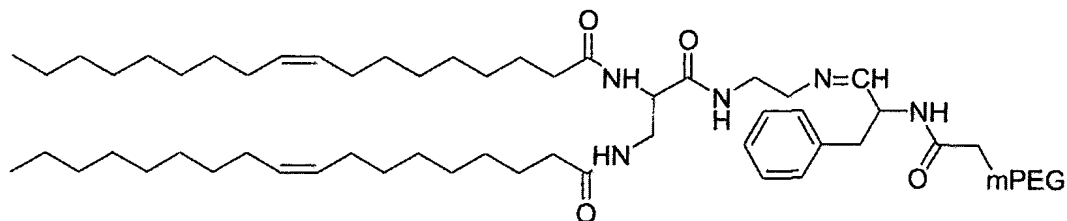
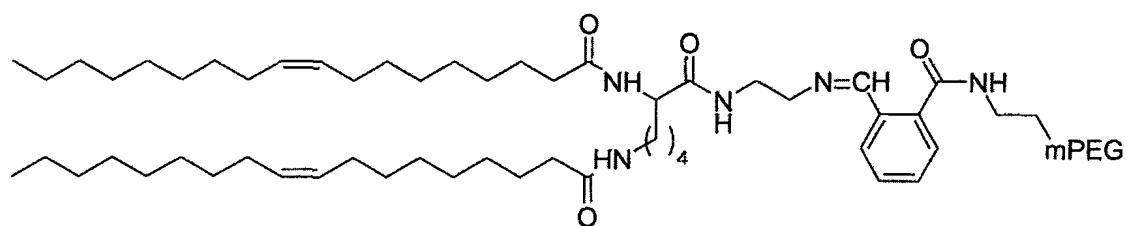
(f11) 為 零 、 1 、 2 、 3 或 4 ; 且

R_{11} 及 R_{12} 獨立地為 C_{8-22} 烷基、 C_{8-22} 烯基或 C_{8-22} 烷氧基。式 (I) 之可釋放聚合脂質較佳包括：









其中

mPEG 為 $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{O-}$;

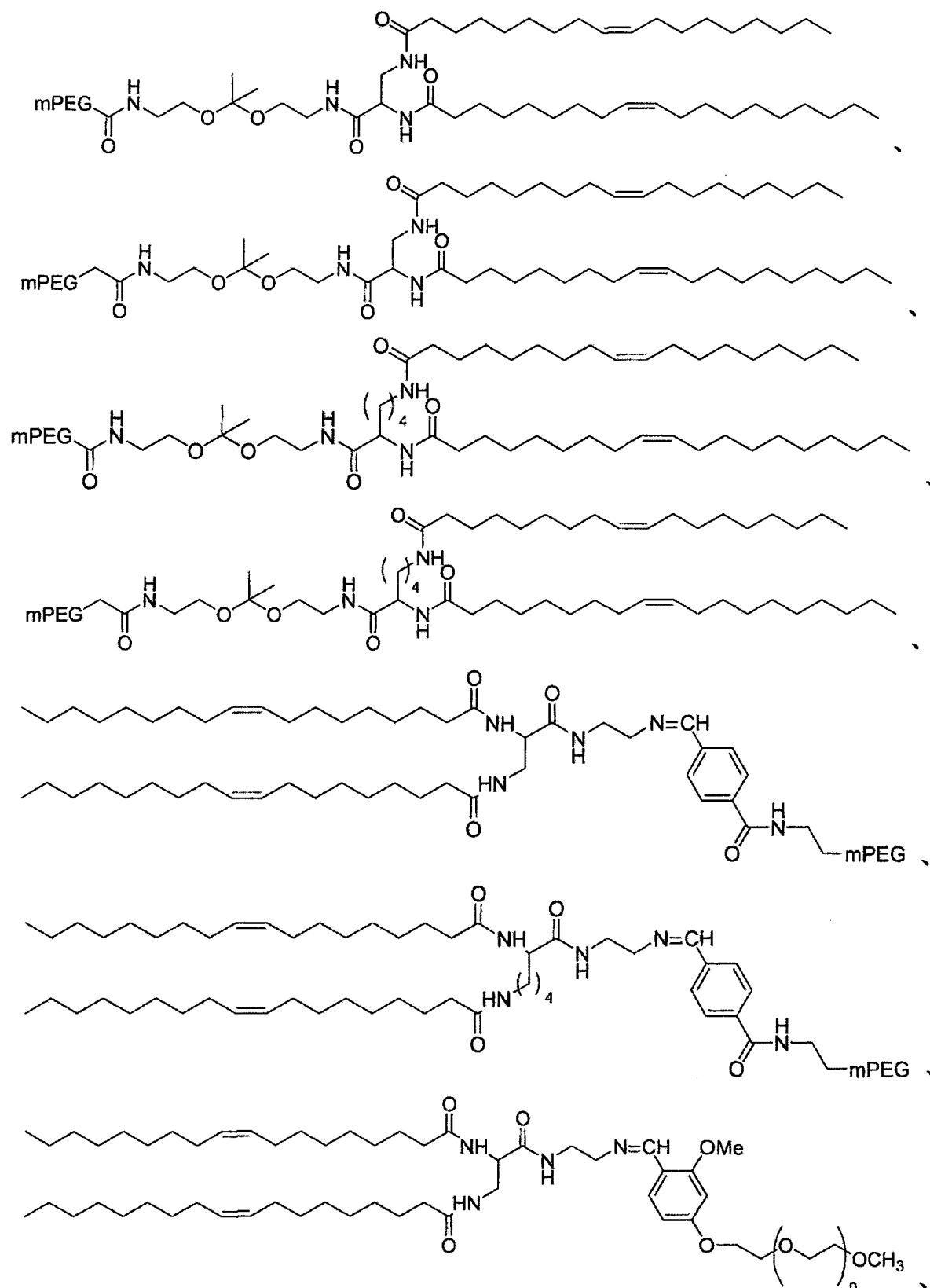
PEG 為 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-CH}_2\text{-}$ 或 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{O-}$;

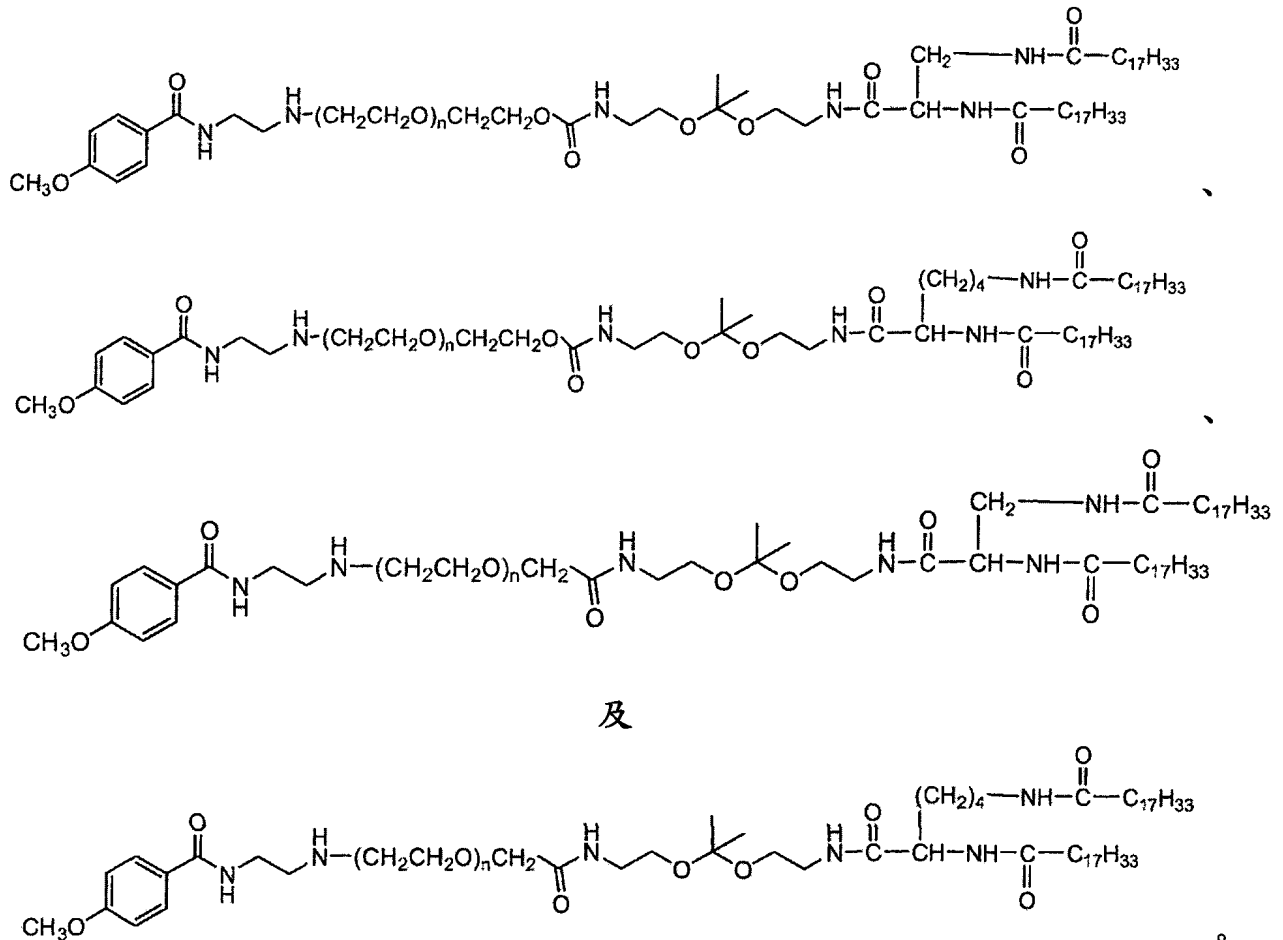
且

(n) 為約 10 至約 460 之整數。

根據本發明，適用於製備奈米粒子之可釋放聚合脂質

包括（但不限於）：





C. 奈米粒子組成物

1. 概述

根據本發明，提供用於遞送核酸之含有式 (I) 化合物之奈米粒子組成物。

在一態樣中，奈米粒子組成物含有式 (I) 之可釋放聚合脂質、陽離子脂質及融合脂質。

在一較佳態樣中，奈米粒子組成物包括膽固醇。

在本發明之另一態樣中，本文所述之奈米粒子組成物可含有此項技術中已知之 PEG 脂質。亦涵蓋含有陽離子脂質之混合物、不同融合脂質（非陽離子脂質）之混合物及/或視情況選用之不同 PEG 脂質之混合物的奈米粒子組成物。

在另一較佳態樣中，奈米粒子組成物含有莫耳比在奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 10%至約 99.9%的範圍內之陽離子脂質。

陽離子脂質組份可在奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 2%至約 60%、約 5%至約 50%、約 10%至約 45%、約 15%至約 25%或約 30%至約 40%的範圍內。

在一較佳具體實例中，陽離子脂質之存在量為奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 15 至約 25%（亦即 15%、17%、18%、20%或 25%）。

根據本發明，奈米粒子組成物含有莫耳比為奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 20%至約 85%、約 25%至約 85%、約 60%至約 80%（例如 65%、75%、78%或 80%）的總融合脂質，包括基於膽固醇及/或非膽固醇之融合脂質。在一具體實例中，總融合/非陽離子脂質為奈米粒子組成物中所存在之總脂質的約 80%。

在某些具體實例中，基於非膽固醇之融合脂質/非陽離子脂質之莫耳比為奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 25%至約 78%（25%、35%、47%、60%或 78%）或約 45%至約 78%。在一具體實例中，基於非膽固醇之融合脂質/非陽離子脂質為奈米粒子組成物中所存在之總脂質的約 60%。

在某些具體實例中，除非膽固醇融合脂質以外，奈米粒子組成物亦包括莫耳比在奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 0%至約 60%、約 10%至約 60%或約 20%至約 50%（例如 20%、30%、40%或 50%）的範圍內之膽固醇。在一

具體實例中，膽固醇為奈米粒子組成物中所存在之總脂質的約 20%。

在某些具體實例中，奈米粒子組成物中所含之包括式 (I) 化合物之 PEG-脂質的莫耳比在奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 0.5%至約 20%、約 1.5%至約 18%之範圍內。在奈米粒子組成物之一具體實例中，PEG 脂質之莫耳比為總脂質之約 2%至約 10%(例如 2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或 10%)。舉例而言，總 PEG 脂質為奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 2%。

出於本發明之目的，奈米粒子組成物中所含之可釋放融合脂質之量應理解為意謂單獨本文所述之可釋放聚合脂質之量，或若此項技術中已知之任何其他聚合脂質（可釋放或不可釋放）存在於奈米粒子組成物，則意謂式 (I) 之可釋放聚合脂質與其之和。

2. 聚合脂質：式 (I) 之可釋放聚合脂質及視情況選用之 PEG 脂質

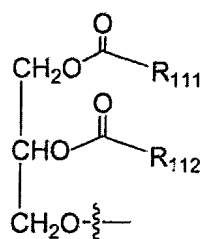
根據本發明，本文所述之奈米粒子組成物含有聚合脂質。聚合脂質延長奈米粒子之循環且防止奈米粒子過早自身體排泄出。聚合脂質使體內免疫反應減少。PEG 脂質亦增強奈米粒子穩定性。

在一較佳態樣中，本文所述之奈米粒子組成物含有式 (I) 可釋放聚合脂質。不受任何理論約束，式 (I) 可釋放聚合脂質有助於包封於奈米粒子中之核酸在奈米粒子進入細胞之後自核內體及奈米粒子釋放。

在本發明之另一態樣中，本文所述之奈米粒子組成物可包括此項技術中已知之其他 PEG 脂質。適用於奈米粒子組成物中之其他適合 PEG 脂質包括聚乙二醇化形式之融合/非陽離子脂質。PEG 脂質包括例如與二醯基甘油共軛之 PEG (PEG-DAG)、與二烷基基丙基共軛之 PEG (PEG-DAA)、與磷脂共軛之 PEG (諸如與磷脂醯乙醇胺偶合之 PEG (PEG-PE))、與腦醯胺共軛之 PEG (PEG-Cer)、與膽固醇衍生物共軛之 PEG (PEG-Chol) 或其混合物。參看美國專利第 5,885,613 號及第 5,820,873 號及美國專利公開案第 2006/051405 號，每一者之內容以引用的方式併入本文中。

除本文所述之可釋放聚合脂質之外，本文所述之奈米粒子組成物可包括聚乙二醇-二醯基甘油或聚乙烯-二醯基甘醯胺 (PEG-DAG)。適合聚乙二醇-二醯基甘油或聚乙二醇-二醯基甘醯胺共軛物包括烷基鏈長獨立地含有約 C_4 至約 C_{30} (較佳約 C_8 至約 C_{24}) 飽和或不飽和碳原子的二烷基甘油或二烷基甘醯胺基團。二烷基甘油或二烷基甘醯胺基團可另外包括一或多個經取代之烷基。

本文中使用之術語「二醯基甘油」(DAG) 係指具有兩個脂肪醯基鏈 R_{111} 及 R_{112} 之化合物。 R_{111} 及 R_{112} 具有長約 4 至約 30 個碳 (較佳約 8 至約 24) 之相同或不同碳鏈且藉由酯鍵與甘油鍵結。醯基可為飽和的，或不飽和的，具有各種不飽和度。DAG 具有通式：

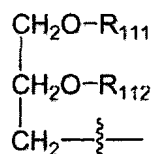


DAG-PEG 共軛物為 PEG-二月桂基甘油 (C_{12})、PEG-二肉豆蔻基甘油 (C_{14} , DMG)、PEG-二棕櫚醯基甘油 (C_{16} , DPG)、PEG-二硬脂醯基甘油 (C_{18} , DSG) 或 PEG-二油醯基甘油 (C_{18})。熟習此項技術者易瞭解其他二醯基甘油亦涵蓋於 DAG-PEG 中。適用於本發明中之 DAG-PEG 共軛物及其製造及使用方法描述於美國專利公開案第 2003/0077829 號及 PCT 專利申請案第 CA 02/00669 號中，每一者之內容以引用的方式併入本文中。

PEG-DAG 共軛物之實例可選自 PEG-二月桂基甘油 (C_{12})、PEG-二肉豆蔻基甘油 (C_{14})、PEG-二棕櫚醯基甘油 (C_{16})、PEG-二硬脂醯基甘油 (C_{18})、PEG-二油醯基甘油 (C_{18})、PEG-二月桂基甘醯胺 (C_{12})、PEG-二肉豆蔻基甘醯胺 (C_{14})、PEG-二棕櫚醯基-甘醯胺 (C_{16})、PEG-二硬脂醯基甘醯胺 (C_{18}) 及 PEG-二油醯基甘醯胺 (C_{18})。

在另一具體實例中，本文所述之聚合奈米粒子可包括聚乙二醇-二烷氧基丙基共軛物 (PEG-DAG)。

術語「二烷氧基丙基」係指具有兩個烷基鏈 R_{111} 及 R_{112} 之化合物。 R_{111} 及 R_{112} 烷基包括在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24）之間的相同或不同碳鏈長度。烷基可為飽和的，或具有各種不飽和度。二烷氧基丙基具有通式：



其中 R_{111} 及 R_{112} 烷基為具有約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24）之相同或不同烷基。烷基可為飽和或不飽和的。適合烷基包括（但不限於）月桂基（ C_{12} ）、肉豆蔻基（ C_{14} ）、棕櫚基（ C_{16} ）、硬脂醯基（ C_{18} ）、油醯基（ C_{18} ）及二十基（ C_{20} ）。

在一具體實例中， R_{111} 與 R_{112} 皆相同，亦即 R_{111} 及 R_{112} 皆為肉豆蔻基（ C_{14} ），皆為硬脂醯基（ C_{18} ）或皆為油醯基（ C_{18} ）等。在另一具體實例中， R_{111} 與 R_{112} 不同，亦即 R_{111} 為肉豆蔻基（ C_{14} ）且 R_{112} 為硬脂醯基（ C_{18} ）。在一具體實例中，PEG-二烷基丙基共軛物包括相同 R_{111} 及 R_{112} 。

在另一具體實例中，除本文所述之可釋放聚合脂質之外，本文所述之奈米粒子組成物可包括與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG（PEG-PE）。適用於 PEG 脂質共軛之磷脂醯乙醇胺可含有碳鏈長度在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24）範圍內之飽和或不飽和脂肪酸。適合磷脂醯乙醇胺包括（但不限於）：二肉豆蔻醯基磷脂醯乙醇胺（DMPE）、二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺（DPPE）、二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOPE）及二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺（DSPE）。

在另一具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包括與腦醯胺共軛之 PEG（PEG-Cer）。腦醯胺僅具有一個醯基。腦醯胺可具有碳鏈長度在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24）範圍內之飽和或不飽和脂肪酸。

在替代具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包括與膽固醇衍生物共軛之 PEG。術語「膽固醇衍生物」意謂含有經改質（亦即取代及/或缺失）之膽固醇結構的任何膽固醇類似物。本文中之術語膽固醇衍生物亦包括類固醇激素及膽汁酸。

在一較佳態樣中，PEG 為數量平均分子量在約 200 至約 20,000 道爾頓、更佳約 500 至約 10,000 道爾頓、更佳約 1,000 至約 5,000 道爾頓（亦即約 1,500 至約 3,000 道爾頓）範圍內之聚乙二醇。在一特定具體實例中，PEG 具有約 2,000 道爾頓之分子量。在另一特定具體實例中，PEG 具有約 750 道爾頓之分子量。

PEG 脂質之說明性實例包括 N-(羧基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 ($^{2\text{kDa}}$ mPEG-DMPE 或 $^{5\text{kDa}}$ mPEG-DMPE)；N-(羧基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 ($^{2\text{kDa}}$ mPEG-DPPE 或 $^{5\text{kDa}}$ mPEG-DPPE)；N-(羧基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 ($^{750\text{Da}}$ mPEG-DSPE 750 、 $^{2\text{kDa}}$ mPEG-DSPE 2000 、 $^{5\text{kDa}}$ mPEG-DSPE)；其醫藥上可接受之鹽（亦即鈉鹽）及混合物。

在某些具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包括具有 PEG-DAG 或 PEG-腦醯胺之 PEG 脂質，其中 PEG 具有約 200 至約 20,000、較佳約 500 至約 10,000 且更佳約 1,000 至約 5,000 之平均分子量。

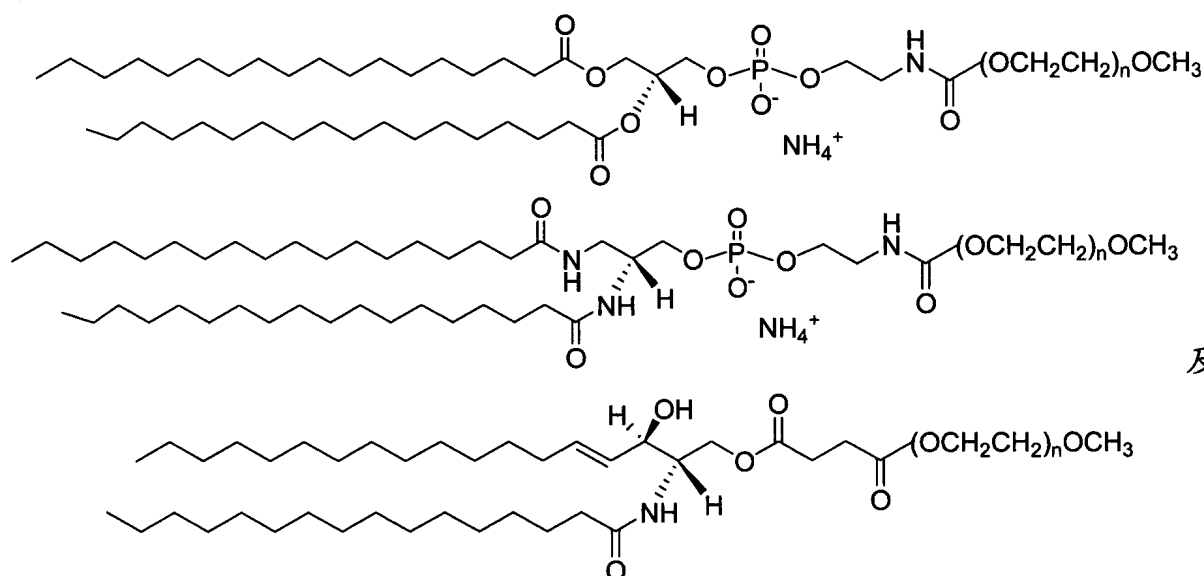
PEG-DAG 及 PEG-腦醯胺之若干具體實例提供於表 1

中。

表 1.

PEG-脂質	
PEG-DAG	mPEG-二肉豆蔻醯基甘油
	mPEG-二棕櫚醯基甘油
	mPEG-二硬脂醯基甘油
PEG-腦醯胺	mPEG-CerC ₈
	mPEG-CerC ₁₄
	mPEG-CerC ₁₆
	mPEG-CerC ₂₀

PEG 脂質係選自 PEG-DSPE、PEG-二棕櫚醯基甘醯胺 (C₁₆)、PEG-腦醯胺 (C₁₆) 等及其混合物。PEG-DSPE、PEG-二棕櫚醯基甘醯胺 (C₁₆) 及 PEG-腦醯胺 (C₁₆) 之結構如下：



其中，(n) 為約 5 至約 2300、較佳約 5 至約 460 之整數。在一具體實例中，(n) 為約 45。

3. 陽離子脂質

根據本發明，本文所述之奈米粒子組成物可包括陽離子脂質。涵蓋之適合脂質包括例如：

氯化 N-[1-(2,3-二油醯基氧基)丙基]-N,N,N-三甲銨

(DOTMA)；

氯化 1,2-雙(油醯基氧基)-3-3-(三甲胺)丙烷或 N-(2,3-二油醯基氧基)丙基)-N,N,N-三甲胺 (DOTAP)；

1,2-雙(二肉豆蔻醯基氧基)-3-3-(三甲胺)丙烷 (DMTAP)；

溴化 1,2-二肉豆蔻基氧基丙基-3-二甲基羥基乙基胺或
溴化 N-(1,2-二肉豆蔻基氧基丙-3-基)-N,N-二甲基-N-羥基乙基胺 (DMRIE)；

溴化二甲基二(十八烷基)胺或溴化 N,N-二硬脂醯基-N,N-二甲基胺 (DDAB)；

3-(N-(N',N'-二甲基胺基乙烷)胺甲醯基)膽固醇 (DC-膽固醇)；

3 β -[N',N'-二胍基乙基-胺基乙烷)胺甲醯基)膽固醇 (BGTC)；

2-(2-(3-(雙(3-胺基丙基)胺基)丙基胺基)乙醯胺基)-N,N-二-十四烷基乙醯胺 (RPR209120)；

1,2-二烯醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼 (亦即 1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼及 1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼)；

四甲基四棕櫚醯基精胺 (TMTPS)；

四甲基四油烯基精胺 (TMTOS)；

四甲基四月桂基精胺 (TMTLS)；

四甲基四肉豆蔻基精胺 (TMTMS)；

四甲基二油烯基精胺 (TMDOS)；

2,5-雙(3-胺基丙基胺基)-N-(2-(二(十八烷基)胺基)-2-側氧基乙基)戊醯胺 (DOGS)；

2,5-雙(3-胺基丙基胺基)-N-(2-(二(Z)-十八-9-二烯基胺基)-2-側氧基乙基)戊醯胺 (DOGS-9-en)；

2,5-雙(3-胺基丙基胺基)-N-(2-(二(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯基胺基)-2-側氧基乙基)戊醯胺 (DLinGS)；

N4-精胺膽固醇基胺基甲酸酯 (GL-67)；

(9Z,9'Z)-2-(2,5-雙(3-胺基丙基胺基)戊醯胺基)丙烷-1,3-二基-二(十八)-9-烯酸酯 (DOSPER)；

三氟乙酸 2,3-二油醯基氧基-N-[2(精胺甲醯胺基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙胺 (DOSPA)；

1,2-二肉豆蔻醯基-3-三甲胺-丙烷；1,2-二硬脂醯基-3-三甲胺-丙烷；

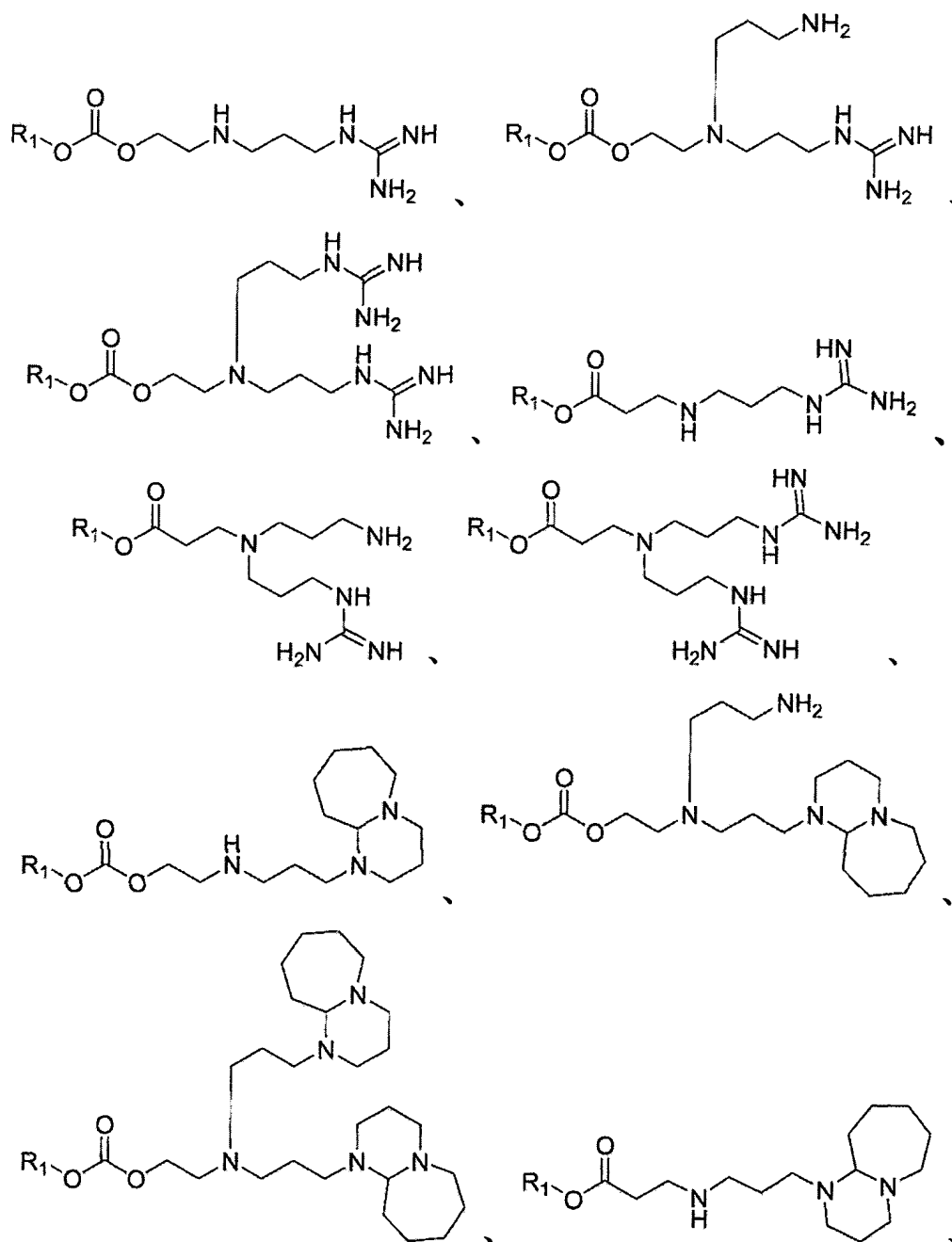
二(十八烷基)二甲胺 (DODMA)；

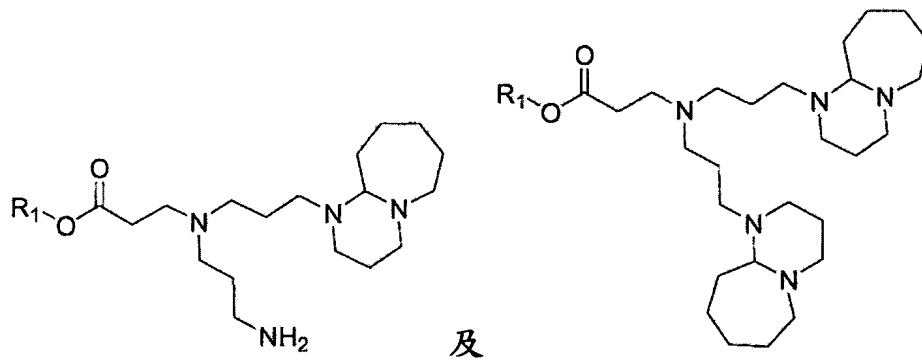
二硬脂醯基二甲胺 (DSDMA)；

氯化 N,N-二油烯基-N,N-二甲基胺 (DODAC)；其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

陽離子脂質之詳情亦描述於 US2007/0293449 及美國專利第 4,897,355 號、第 5,279,833 號、第 6,733,777 號、第 6,376,248 號、第 5,736,392 號、第 5,686,958 號、第 5,334,761 號、第 5,459,127 號、第 2005/0064595 號、第 5,208,036 號、第 5,264,618 號、第 5,279,833 號、第 5,283,185 號、第 5,753,613 號及第 5,785,992 號中。

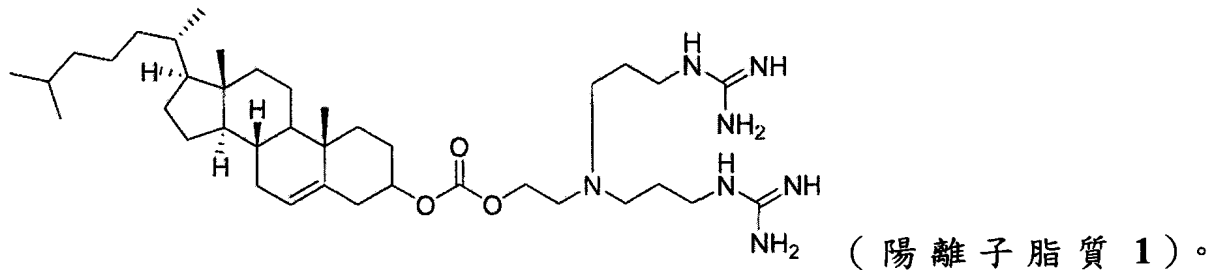
在一較佳態樣中，陽離子脂質在所選 pH 值、諸如 $\text{pH} < 13$ (例如 $\text{pH} 6-12$ 、 $\text{pH} 6-8$) 下攜有淨正電荷。奈米粒子組成物之一較佳具體實例包括具有以下結構之本文所述之陽離子脂質：





其中 R_1 為膽固醇或其類似物。

更佳地，奈米粒子組成物包括具有以下結構之陽離子脂質：



陽離子脂質之詳情亦描述於 PCT/US09/52396 中，其內容以引用的方式併入本文中。

另外，可使用包括陽離子脂質之市售製劑：例如 LIPOFECTIN[®] (含有 DOTMA 及 DOPE 之陽離子脂質體，來自 GIBCO/BRL, Grand Island, New York, USA)；LIPOFECTAMINE[®] (含有 DOSPA 及 DOPE 之陽離子脂質體，來自 GIBCO/BRL, Grand Island, New York, USA)；及 TRANSFECTAM[®] (含有 DOGS 之陽離子脂質體，來自 Promega Corp., Madison, Wisconsin, USA)。

4. 融合/非陽離子脂質

根據本發明，奈米粒子組成物可含有融合脂質。融合脂質包括非陽離子脂質，諸如中性不帶電脂質、兩性離子脂質及陰離子脂質。出於本發明之目的，術語「融合脂質」

及「非陽離子脂質」可互換。

中性脂質包括在所選 pH 值下、較佳在生理 pH 值下以不帶電荷或中性兩性離子形式存在之脂質。該等脂質之實例包括二醯基磷脂醯膽鹼、二醯基磷脂醯乙醇胺、腦醯胺、鞘髓磷脂、腦磷脂、膽固醇、腦苷脂及二醯基甘油。

陰離子脂質包括在生理 pH 值下帶負電之脂質。此等脂質包括（但不限於）磷脂醯甘油、心磷脂、二醯基磷脂醯絲胺酸、二醯基磷脂酸、N-十二醯基磷脂醯乙醇胺、N-丁二醯基磷脂醯乙醇胺、N-戊二醯基磷脂醯乙醇胺、離胺醯基磷脂醯甘油、棕櫚醯基油醯基磷脂醯甘油（POPG）及經其他陰離子改質基團改質之中性脂質。

許多融合脂質包括一般具有疏水性部分及極性頭基之兩性脂質，且可形成於水溶液中之微脂粒。

涵蓋之融合脂質包括天然存在及合成之磷脂及相關脂質。

非陽離子脂質之非限制性清單係選自磷脂及基於非磷脂之物質，諸如：卵磷脂；溶血卵磷脂；二醯基磷脂醯膽鹼；溶血磷脂醯膽鹼；磷脂醯乙醇胺；溶血磷脂醯乙醇胺；磷脂醯絲胺酸；磷脂醯肌醇；鞘髓磷脂；腦磷脂；腦醯胺；心磷脂；磷脂酸；磷脂醯甘油；腦苷脂；磷酸二鯨蠟基酯；1,2-二月桂醯基-sn-甘油（DLG）；1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油（DMG）；1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油（DPG）；1,2-二硬脂醯基-sn-甘油（DSG）；1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DLPA）；1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DMPA）；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸 (DPPA); 1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸 (DSPA); 1,2-二花生醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (DAPC); 1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (DLPC); 1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (DMPC); 1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼 (DPePC); 1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼 (DPPC); 1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或二硬脂醯基磷脂醯膽鹼 (DSPC); 1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺 (DLPE); 1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺或二肉豆蔻醯基磷酸乙醇胺 (DMPE); 1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺或二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺 (DPPE); 1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺或二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺 (DSPE); 1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺或二油醯基磷脂醯乙醇胺 (DOPE); 1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DLPG); 1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DMPG) 或 1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸-sn-1-甘油 (DMP-sn-1-G); 1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油或二棕櫚醯基磷脂醯甘油 (DPPG); 1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DSPG) 或 1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸-sn-1-甘油 (DSP-sn-1-G); 1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸-L-絲胺酸 (DPPS); 1-棕櫚醯基-2-亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (PLinoPC); 1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或棕櫚醯基油醯基磷脂醯膽鹼 (POPC); 1-棕櫚醯

基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (POPG); 1-棕櫚醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (P-溶血-PC); 1-硬脂醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (S-溶血-PC); 二植烷醯基磷脂醯乙醇胺 (DPhPE); 1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或二油醯基磷脂醯膽鹼 (DOPC); 1,2-二植烷醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (DPhPC); 二油醯基磷脂醯甘油 (DOPG); 棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺 (POPE); 二油醯基-磷脂醯乙醇胺 4-(N-順丁烯二醯亞胺甲基)-環己烷-1-甲酸酯 (DOPE-mal); 16-O-單甲基 PE; 16-O-二甲基 PE; 18-1-反式 PE; 1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺 (SOPE); 1,2-二反油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (反式 DOPE); 及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。融合脂質之詳情描述於美國專利公開案第 2007/0293449 號及第 2006/0051405 號中。

非陽離子脂質包括固醇或類固醇，諸如膽固醇。

其他非陽離子脂質為例如硬脂胺、十二烷胺、十六烷胺、棕櫚酸乙醯基酯、蓖麻油酸甘油酯、硬脂酸十六烷酯、肉豆蔻酸異丙酯、兩性丙烯酸系聚合物、三乙醇胺硫酸月桂基酯、硫酸烷基芳酯聚乙氧基化脂肪醯胺及溴化二(十八烷基)二甲基銨。

涵蓋之陰離子脂質包括磷脂醯絲胺酸、磷脂酸、磷脂醯膽鹼、血小板活化因子 (PAF)、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯-DL-甘油、磷脂醯肌醇、磷脂醯肌醇、心磷脂、溶血磷脂、氫化磷脂、鞘髓磷脂、神經節苷脂、植物鞘胺醇、鞘胺醇、其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

適用於製備本文所述之奈米粒子組成物之適合非陽離子脂質包括二醯基磷脂醯膽鹼（例如二硬脂醯基磷脂醯膽鹼、二油醯基磷脂醯膽鹼、二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼及二亞油醯基磷脂醯膽鹼）、二醯基磷脂醯乙醇胺（例如二油醯基磷脂醯乙醇胺及棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺）、腦醯胺或鞘髓磷脂。此等脂質中之醯基較佳為具有飽和及不飽和碳鏈之脂肪酸，諸如亞油醯基、異硬脂醯基、油醯基、反油醯基、岩芹醯基、次亞麻油醯基、油脂硬脂醯基、花生醯基、肉豆蔻醯基、棕櫚醯基及月桂醯基。醯基更佳為月桂醯基、肉豆蔻醯基、棕櫚醯基、硬脂醯基或油醯基。或者及/較佳地，脂肪酸具有飽和及不飽和 C_8-C_{30} （較佳 $C_{10}-C_{24}$ ）碳鏈。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯膽鹼包括：

1,2-二癸醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DDPC， $C_{10:0}$ 、 $C_{10:0}$ ）；1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DLPC， $C_{12:0}$ 、 $C_{12:0}$ ）；1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DMPC， $C_{14:0}$ 、 $C_{14:0}$ ）；1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DPPC， $C_{16:0}$ 、 $C_{16:0}$ ）；1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DSPC， $C_{18:0}$ 、 $C_{18:0}$ ）；1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DOPC， $C_{18:1}$ 、 $C_{18:1}$ ）；1,2-二芥子醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DEPC， $C_{22:1}$ 、 $C_{22:1}$ ）；1,2-二（二十碳五烯醯基）-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（EPA-PC， $C_{20:5}$ 、 $C_{20:5}$ ）；1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼

(DHA-PC, C22:6、C22:6); 1-肉豆蔻醯基-2-棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (MPPC, C14:0、C16:0); 1-肉豆蔻醯基-2-硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (MSPC, C14:0、C18:0); 1-棕櫚醯基-2-硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (PMPC, C16:0、C14:0); 1-棕櫚醯基-2-硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (PSPC, C16:0、C18:0); 1-硬脂醯基-2-肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (SMPC, C18:0、C14:0); 1-硬脂醯基-2-棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (SPPC, C18:0、C16:0); 1,2-肉豆蔻醯基-油醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺 (MOPC, C14:0、C18:0); 1,2-棕櫚醯基-油醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺 (POPC, C16:0、C18:1); 1,2-硬脂醯基-油醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺 (POPC, C18:0、C18:1), 及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種溶血磷脂醯膽鹼包括：

1-肉豆蔻醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (M-LysoPC, C14:0);

1-棕櫚醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (P-LysoPC, C16:0);

1-硬脂醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (S-LysoPC, C18:0) 及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯甘油係選自：

氫化大豆磷脂醯甘油 (HSPG);

非氫化卵磷脂醯甘油 (EPG)；

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DMPG, C14:0、C14:0)；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DPPG, C16:0、C16:0)；

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DSPG, C18:0、C18:0)；

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DOPG, C18:1、C18:1)；

1,2-二芥子醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DEPG, C22:1、C22:1)；

1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (POPG, C16:0、C18:1) 及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂酸包括：

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸 (DMPA, C14:0、C14:0)；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸 (DPPA, C16:0、C16:0)；

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸 (DSPA, C18:0、C18:0) 及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯乙醇胺包括：

氫化大豆磷脂醯乙醇胺 (HSPE)；

非氫化卵磷脂醯乙醇胺 (EPE)；

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DMPE, C14:0、C14:0)；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DPPE, C16:0、C16:0)；

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DSPE, C18:0、C18:0)；

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DOPE, C18:1、C18:1)；

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DEPE, C22:1、C22:1)；

1,2-二芥子醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (POPE, C16:0、C18:1) 及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯絲胺酸包括：

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲胺酸 (DMPS, C14:0、C14:0)；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲胺酸 (DPPS, C16:0、C16:0)；

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲胺酸 (DSPS, C18:0、C18:0)；

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲胺酸 (DOPS, C18:1、C18:1)；

1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-3-磷酸-1-絲胺酸 (POPS, C16:0、C18:1)；

C16:0、C18:1) 及其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

在一較佳具體實例中，適用於製備本文所述之奈米粒子組成物之中性脂質包括例如：

二油醯基磷脂醯乙醇胺 (DOPE)、二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺 (DSPE)、棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺 (POPE)、卵磷脂醯膽鹼 (EPC)、二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼 (DPPC)、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼 (DSPC)、二油醯基磷脂醯膽鹼 (DOPC)、棕櫚醯基油醯基磷脂醯膽鹼 (POPC)、二棕櫚醯基磷脂醯甘油 (DPPG)、二油醯基磷脂醯甘油 (DOPG)、二油醯基-磷脂醯乙醇胺 4-(N-順丁烯二醯亞胺甲基)-環己烷-1-甲酸酯 (DOPE-mal)、膽固醇、其醫藥學上可接受之鹽及混合物。

在某些較佳具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物包括 DSPC、EPC、DOPE 等及其混合物。

在本發明之另一態樣中，奈米粒子組成物含有非陽離子脂質，諸如固醇。奈米粒子組成物較佳含有膽固醇或其類似物，且更佳為膽固醇。

在另一具體實例中，奈米粒子組成物含有基於酸不穩定亞胺鍵聯基及含有兩性離子之部分的可釋放融合脂質。該等可釋放融合脂質之其他詳情描述於美國臨時專利申請案第 61/115,378 號及同一日期申請且名為「Releasable Fusogenic Lipids For Nucleic Acids Delivery Systems」之 PCT 專利申請案第_號中，每一者之內容以引用的方式併入本文中。

5. 核酸/寡核苷酸

本文所述之奈米粒子組成物可用於遞送多種核酸至細胞或組織中。核酸包括質體及寡核苷酸。本文所述之奈米粒子組成物較佳用於遞送寡核苷酸。

為更充分地理解本發明之範疇，定義以下術語。此項技術者應瞭解，除非另外說明，否則術語「核酸 (nucleic acid)」或「核苷酸 (nucleotide)」適用於單股或雙股去氧核糖核酸 (「DNA」)、核糖核酸 (「RNA」) 及其任何化學修飾產物或類似物，例如鎖核酸 (LNA)。此項技術者應易瞭解，所包括之術語「核酸」為多核酸、其衍生物、其修飾產物及其類似物。「寡核苷酸 (oligonucleotide)」一般為相對較短之多核苷酸，例如大小在約 2 至 200 個核苷酸，較佳約 8 至約 50 個核苷酸之範圍內，更佳為約 8 至約 30 個核苷酸，且更佳約 8 至約 20 個或約 15 至約 28 個核苷酸長。除非另外說明，否則本發明之寡核苷酸一般為合成核酸，且為單股。本文中，術語「多核苷酸 (polynucleotide)」及「多核酸 (polynucleic acid)」亦可作同義使用。

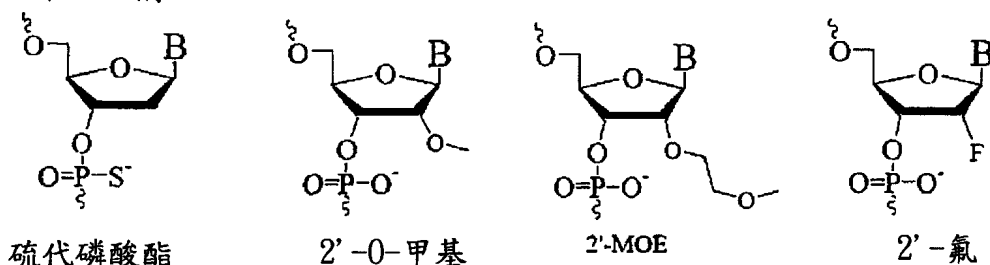
寡核苷酸 (類似物) 不侷限於單一種類之寡核苷酸，而是設計成具有多種該等部分，應瞭解，鍵聯基可與一或多個 3'-末端或 5'-末端連接，通常為核苷酸之 PO_4 基團或 SO_4 基團。所涵蓋之核酸分子可包括硫代磷酸酯核苷酸間鍵聯修飾、糖修飾、核酸鹼基修飾及/或磷酸酯骨架修飾。寡核苷酸可含有天然磷酸二酯骨架或硫代磷酸酯骨架或任何其他經修飾之骨架類似物，諸如 LNA (鎖核酸)、PNA (具

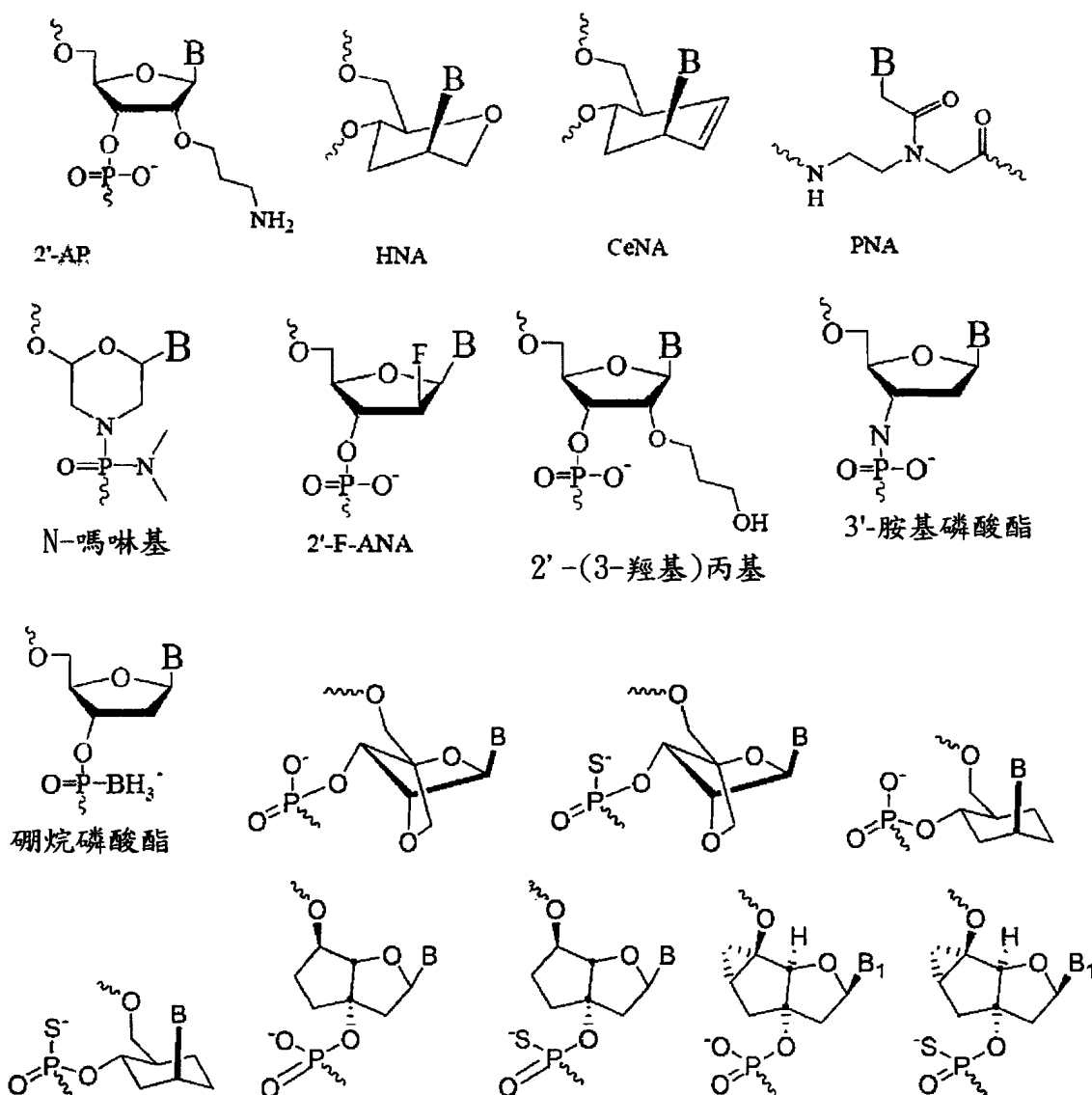
有肽骨架之核酸)、CpG寡聚物及其類似物,諸如 Tides 2002, Oligonucleotide and Peptide Technology Conferences, 2002 年 5 月 6 日至 8 日, Las Vegas, NV 及 Oligonucleotide & Peptide Technologies, 2003 年 11 月第 18 期及第 19 期, Hamburg, Germany 中所揭示之物,該等文獻之內容以引用的方式併入本文中。

本發明所涵蓋之對寡核苷酸之修飾包括例如對寡核苷酸添加或取代併有額外電荷、極化性、氫鍵結、靜電相互作用及官能性之官能部分。該等修飾包括(但不限於)2'-位糖修飾、5-位嘧啶修飾、8-位嘌呤修飾、環外胺(exocyclic amine)處之修飾、4-硫代尿苷之取代、5-溴代尿嘧啶或 5-碘代尿嘧啶之取代、骨架修飾、甲基化、鹼基配對組合(諸如異鹼基(isobase)異胞苷與異胍,及類似組合)。本發明範疇內所涵蓋之寡核苷酸亦可包括3'帽及/或5'帽結構。

出於本發明之目的,「帽結構(cap structure)」應理解為意謂已併入寡核苷酸之任一末端處的化學修飾。該帽可存在於5'-末端(5'-帽)或3'-末端(3'-帽)處,或可存在於兩個末端上。5'-帽之非限制性實例包括反轉無鹼基(inverted abasic)殘基(部分),4',5'-亞甲基核苷酸;1-(β -D-赤型呋喃糖基)核苷酸、4'-硫代核苷酸、碳環核苷酸;1,5-去水己糖醇核苷酸;L-核苷酸; α -核苷酸;修飾鹼基核苷酸;二硫代磷酸酯鍵聯;蘇型-呋喃戊糖基核苷酸;無環3',4'-斷核苷酸;無環3,4-二羥丁基核苷酸;無環3,5-二羥戊基核苷酸;3'-3'-反轉核苷酸部分;3'-3'-反轉無鹼基部分;3'-2'-

反轉核苷酸部分；3'-2'-反轉無鹼基部分；磷酸 1,4-丁二醇酯；3'-胺基磷酸酯；磷酸己酯；磷酸胺基己酯；3'-磷酸酯；3'-硫代磷酸酯；二硫代磷酸酯；或者橋接或非橋接磷酸甲酯部分。詳情描述於 WO 97/26270 中，該文獻之內容以引用的方式併入本文中。3'-帽可包括例如 4',5'-亞甲基核苷酸；1-(β -D-赤呋喃糖基)核苷酸；4'-硫代核苷酸、碳環核苷酸；磷酸 5'-胺基烷酯；磷酸 1,3-二胺基-2-丙酯；磷酸 3-胺基丙酯；磷酸 6-胺基己酯；磷酸 1,2-胺基十二烷酯；磷酸羥丙酯；1,5-去水己糖醇核苷酸；L-核苷酸； α -核苷酸；修飾鹼基核苷酸；二硫代磷酸酯；蘇呋喃戊糖基核苷酸；無環 3',4'-斷核苷酸；3,4-二羥丁基核苷酸；3,5-二羥戊基核苷酸；5'-5'-反轉核苷酸部分；5'-5'-反轉無鹼基部分；5'-胺基磷酸酯；5'-硫代磷酸酯；磷酸 1,4-丁二醇酯；5'-胺基；橋接及/或非橋接 5'-胺基磷酸酯、硫代磷酸酯及/或二硫代磷酸酯；橋接或非橋接磷酸甲酯；及 5'-巰基部分。亦參看 Beaucage 及 Iyer, 1993, *Tetrahedron* 49, 1925；該文獻之內容以引用的方式併入本文中。核苷類似物之非限制性清單具有如下結構：





參看 Freier 及 Altmann; *Nucl. Acid Res.*, 1997, 25, 4429-4443 及 Uhlmann; *Curr. Opinion in Drug Development*, 2000, 3(2), 293-213 中所述之更多核苷類似物實例，各文獻之內容以引用的方式併入本文中。

如本文所用之術語「反義」係指與編碼基因產物或編碼控制序列之特定 DNA 序列或 RNA 序列互補的核苷酸序列。術語「反義股」用於指代與「有義」股互補之核酸股。在正常進行之細胞代謝中，DNA 分子之有義股為編碼多肽及 / 或其他基因產物之股。有義股充當合成信使 RNA

(「mRNA」) 轉錄物 (反義股) 之模板，該信使 RNA 轉錄物繼而指導任何經編碼基因產物之合成。反義核酸分子可由此項技術中已知之任何方法產生，包括合成。引入細胞中之後，此轉錄股即與細胞所產生之天然序列組合，形成雙股體 (duplex)。接著，此等雙股體阻斷 mRNA 進一步轉錄或轉譯。在此項技術中亦已知標識「負」或 (-) 係指反義股；且在此項技術中亦已知「正」或 (+) 係指有義股。

出於本發明之目的，「互補」應理解為意謂一個核酸序列與另一個核酸序列形成氫鍵。互補百分比表示一個核酸分子中可與第二個核酸序列形成氫鍵 (亦即，沃森-克里克鹼基配對 (Watson-Crick base pairing)) 之相連殘基的百分比，亦即在 10 個殘基中有 5、6、7、8、9、10 個即為 50%、60%、70%、80%、90% 及 100% 互補。「完全互補」意謂一個核酸序列之所有相連殘基均與第二個核酸序列中相同數目之相連殘基形成氫鍵。

適用於本文所述之奈米粒子的核酸 (諸如一或多種相同或不同之寡核苷酸或寡核苷酸衍生物) 可包括約 5 至約 1000 個核酸，且較佳為相對較短之多核苷酸，例如大小較佳為長度約 8 至約 50 (例如約 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30) 個核苷酸。

在包封於本文所述之奈米粒子中之適用核酸的一態樣中，具有天然磷酸二酯骨架或硫代磷酸酯骨架或任何其他經修飾之骨架類似物的寡核苷酸及寡去氧核苷酸包括：

LNA (鎖核酸)；

PNA (具有肽骨架之核酸)；

短干擾 RNA (siRNA)；

微 RNA (miRNA)；

具有肽骨架之核酸 (PNA)；

二胺基磷酸酯(N-嗎啉基)寡核苷酸 (PMO)；

三環 DNA；

誘餌 ODN (雙股寡核苷酸)；

催化性 RNA 序列 (RNAi)；

核糖核酸酶；

適體 (aptamer)；

鏡像異構體 (spiegelmer) (L-構型寡核苷酸)；

CpG 寡聚物；及其類似物，諸如下列文獻中所揭示之物：

Tides 2002, Oligonucleotide and Peptide Technology Conferences, 2002 年 5 月 6 日至 8 日, Las Vegas, NV；及 Oligonucleotide & Peptide Technologies, 2003 年 11 月第 18 期及第 19 期, Hamburg, Germany，該等文獻之內容以引用的方式併入本文中。

在包封於奈米粒子中之核酸的另一態樣中，寡核苷酸可視情況包括此項技術中已知之任何適合的核苷酸類似物及衍生物，包括下表 2 中所列者：

表 2. 代表性核苷酸類似物及衍生物

4-乙醯基胞苷	5-甲氧基胺甲基-2-硫代尿苷
5-(羧基羥甲基)尿苷	β ,D-甘露糖基辦苷 (beta, D-mannosylqueuosine)
2'-O-甲基胞苷	5-甲氧基羧甲基-2-硫代尿苷
5-甲氧基羧甲基尿苷	5-羧基甲基胺甲基-2-硫代尿苷
5-甲氧基尿苷	5-羧基甲基胺基甲基尿苷
二氫尿苷	2-甲基硫基-N6-異戊烯基腺苷
2'-O-甲基假尿苷	N-[(9- β -D-呋喃核糖基-2-甲基硫代嘌呤-6-基)胺甲醯基]蘇胺酸
D-半乳糖基辦苷	N-[(9- β -D-呋喃核糖基嘌呤-6-基)N-甲基胺甲醯基]蘇胺酸
2'-O-甲基鳥苷	尿苷-5-氧基乙酸-甲酯
2'-鹵基-腺苷	2'-鹵基-胞苷
2'-鹵基-鳥苷	2'-鹵基-胸腺嘧啶
2'-鹵基-尿苷	2'-鹵基-甲基胞苷
2'-胺基-腺苷	2'-胺基-胞苷
2'-胺基-鳥苷	2'-胺基-胸腺嘧啶
2'-胺基-尿苷	2'-胺基-甲基胞苷
肌苷	尿苷-5-氧基乙酸
N6-異戊烯基腺苷	懷丁氧苷 (Wybutoxosine)
1-甲基腺苷	假尿苷
1-甲基假尿苷	辦苷 (Queuosine)
1-甲基鳥苷	2-硫代胞苷
1-甲基肌苷	5-甲基-2-硫代尿苷
2,2-二甲基鳥苷	2-硫代尿苷
2-甲基腺苷	4-硫代尿苷
2-甲基鳥苷	5-甲基尿苷
3-甲基胞苷	N-[(9- β -D-呋喃核糖基嘌呤-6-基)-胺甲醯基]蘇胺酸
5-甲基胞苷	2'-O-甲基-5-甲基尿苷
N6-甲基腺苷	2'-O-甲基尿苷
7-甲基鳥苷	懷丁苷 (Wybutosine)
5-甲基胺基甲基尿苷	3-(3-胺基-3-羧基-丙基)尿苷
鎖腺苷	鎖胞苷
鎖鳥苷	鎖胸腺嘧啶
鎖尿苷	鎖甲基胞苷

在一較佳態樣中，包封在奈米粒子中之標靶寡核苷酸包括例如（但不限於）致癌基因、促血管生成路徑基因、促細胞增殖路徑基因、病毒感染因子基因及促炎性路徑基因。

在一較佳具體實例中，包封在本文所述之奈米粒子中的寡核苷酸參與靶向腫瘤細胞，或下調與腫瘤細胞相關之

基因或蛋白質表現及/或腫瘤細胞對抗癌治療劑之抗性。舉例而言，用於下調此項技術中已知之與癌症相關之任何細胞蛋白（例如 BCL-2）的反義寡核苷酸均可用於本發明。參看 2004 年 4 月 9 日申請之美國專利申請案第 10/822,205 號，該申請案之內容以引用的方式併入本文中。較佳治療性寡核苷酸之非限制性清單包括反義 bcl-2 寡核苷酸、反義 HIF-1 α 寡核苷酸、反義存活素（survivin）寡核苷酸、反義 ErbB3 寡核苷酸、反義 PIK3CA 寡核苷酸、反義 HSP27 寡核苷酸、反義雄激素受體寡核苷酸、反義 Gli2 寡核苷酸及反義 β -索煙素（ β -catenin）寡核苷酸。

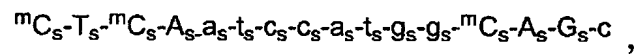
本文所述之本發明寡核苷酸更佳包括硫代磷酸酯骨架及 LNA。

在一較佳具體實例中，寡核苷酸可為例如反義存活素 LNA、反義 ErbB3 LNA 或反義 HIF1- α LNA。

在另一較佳具體實例中，寡核苷酸可為例如具有與 Genasense®（a/k/a 奧利默森鈉（oblimersen sodium），由 Genta 公司（Berkeley Heights, NJ）生產）相同或實質上相似之核苷酸序列的寡核苷酸。Genasense®為 18 聚體（18-mer）硫代磷酸酯反義寡核苷酸（SEQ ID NO:4），其與人類 bcl-2 mRNA 之起始序列的前六個密碼子互補（人類 bcl-2 mRNA 在此項技術中為已知的，且在美國專利第 6,414,134 號中描述為例如 SEQ ID NO:19，該專利以引用的方式併入本文中）。

所涵蓋之較佳具體實例包括：

(i) 反義存活素 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 1):



其中大寫字母表示 LNA, 「s」表示硫代磷酸酯骨架;

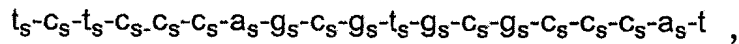
(ii) 反義 Bcl2 siRNA:

有義 5'-gcaugcggccucuguuugadTdT-3' (SEQ ID NO: 2)

反義 3'-dTdTcguacgccggagacaaacu-5' (SEQ ID NO: 3)

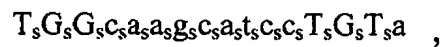
其中 dT 表示 DNA;

(iii) Genasense (硫代磷酸酯反義寡核苷酸) (SEQ ID NO: 4):



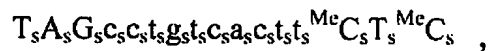
其中小寫字母表示 DNA, 且「s」表示硫代磷酸酯骨架;

(iv) 反義 HIF1 α LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 5):



其中大寫字母表示 LNA, 且「s」表示硫代磷酸酯骨架;

(v) 反義 ErbB3 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 6):



其中大寫字母表示 LNA, 且「s」表示硫代磷酸酯骨架;

(vi) 反義 ErbB3 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 7):



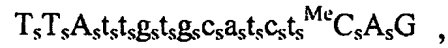
其中大寫字母表示 LNA, 且「s」表示硫代磷酸酯骨架;

(vii) 反義 PIK3CA LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 8):



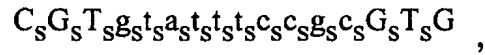
其中大寫字母表示 LNA, 且「s」表示硫代磷酸酯骨架;

(viii) 反義 PIK3CA LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 9):



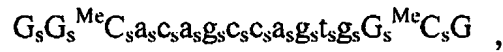
其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(ix) 反義 HSP27 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 10):



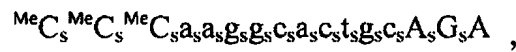
其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(x) 反義 HSP27 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 11):



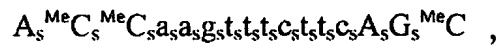
其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xi) 反義雄激素受體 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 12):



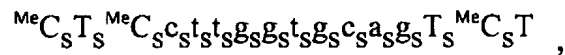
其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xii) 反義雄激素受體 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 13):



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xiii) 反義 GLI2 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 14):



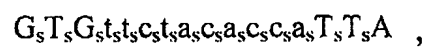
其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xiv) 反義 GLI2 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 15):



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xv) 反義 β -索煙素 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 16):

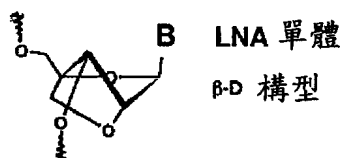


其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架。

小寫字母表示 DNA 單元，粗體大寫字母表示 LNA 單

元，諸如 β -D-氧基-LNA 單元。LNA 單體中之所有胞嘧啶鹼基均為 5-甲基胞嘧啶。下標「s」表示硫代磷酸酯鍵聯。

LNA 包括如下所示之 2'-O,4'-C 亞甲基雙環核苷酸：



參看名為「LNA Oligonucleotides and the Treatment of Cancer」之美國專利申請案第 11/272,124 號及名為「Oligomeric Compounds for the Modulation Survivin Expression」之美國專利申請案第 10/776,934 號中所揭示之存活素 LNA 的詳細描述，各申請案之內容以引用的方式併入本文中。亦參看關於 HIF-1 α 調節之美國專利第 7,589,190 號及美國專利公開案第 2004/0096848 號；關於 ErbB3 調節之美國專利公開案第 2008/0318894 號及 PCT/US09/063357；關於 PIK3CA 調節之美國專利公開案第 2009/0192110 號；關於 HSP27 調節之 PCT/IB09/052860；關於雄激素受體調節之美國專利公開案第 2009/0181916 號；及名為「RNA Antagonists Targeting GLI2」之美國臨時申請案第 61/081,135 號及 PCT 申請案第 PCT/IB09/006407 號；及關於 β 索煙素調節之美國專利公開案第 2009/0005335 號及第 2009/0203137 號；各文獻之內容亦以引用的方式併入本文中。適合之標靶基因的其他實例描述於 WO 03/74654、PCT/US03/05028 及美國專利申請案第 10/923,536 號中，該等文獻之內容以引用的方式併入本文中。

在另一具體實例中，本文所述之奈米粒子可包括與促

核內體釋放基團可釋放地鍵聯之寡核苷酸。核內體釋放促進基團（諸如富含組胺酸之肽）可使核內體膜不穩定/破壞之，從而促進治療劑之細胞質遞送。富含組胺酸之肽增強寡核苷酸經核內體釋放至細胞質。隨後，細胞內釋放之寡核苷酸可移位至細胞核。寡核苷酸-富含組胺酸之肽共軛物之其他詳情描述於 2008 年 11 月 17 日申請之美國臨時專利申請案第 61/115,350 號及第 61/115,326 號，及同一日期申請且名為「Releasable Conjugates For Nucleic Acids Delivery Systems」之 PCT 專利申請案第_號中，各申請案之內容以引用的方式併入本文中。

6. 靶向基團

視情況/較佳地，本文所述之奈米粒子組成物另外包括針對特定組織類型細胞之靶向配位體。可使用鍵聯分子將靶向基團與奈米粒子組成物之任何組份（例如融合脂質、PEG-脂質等，較佳為式（I）之可釋放聚合脂質）連接，該鍵聯分子諸如醯胺、醯胺基、羰基、酯、肽、二硫化物、矽烷、核苷、無鹼基核苷、聚醚、聚胺、聚醯胺、肽、碳水化合物、脂質、聚烴、磷酸酯、胺基磷酸酯、硫代磷酸酯、磷酸烷酯、順丁烯二醯亞胺基鍵聯基或光不穩定鍵聯基。可使用此項技術中已知之任何技術將靶向基團與奈米粒子組成物之任何組份共軛而無須過度實驗。

舉例而言，可將靶向劑與 PEG 脂質（包括式（I）化合物）之聚合部分連接以在活體內將奈米粒子引導至標靶區域。本文所述之奈米粒子之靶向遞送增強包封治療性核酸

之奈米粒子的細胞吸收，從而改良奈米粒子之治療效力。在某些態樣中，一些細胞穿透性肽可經多種靶向肽置換以靶向遞送至腫瘤部位。

在本發明之一較佳態樣中，諸如單鏈抗體（SCA）或單鏈抗原結合抗體、單株抗體、細胞黏附肽（諸如 RGD 肽及選擇素（Selectin））、細胞穿透性肽（CPP）（諸如 TAT、穿透素（Penetratin）及 (Arg)₉）、受體配位體、靶向碳水化合物分子或凝集素（lectin）之靶向部分使奈米粒子特異性地針對靶向區域。參看 *J Pharm Sci.* 2006 年 9 月；95(9): 1856-72 Cell adhesion molecules for targeted drug delivery，該文獻之內容以引用的方式併入本文中。

較佳靶向部分包括單鏈抗體（SCA）或抗體之單鏈可變片段（sFv）。SCA 含有可結合或識別標靶腫瘤細胞之特異性分子的抗體結構域。除保持抗原結合部位之外，與 PEG-脂質共軛之 SCA 可減少抗原性且增加 SCA 在血流中之半衰期。

術語「單鏈抗體」（SCA）、「單鏈抗原結合分子或抗體」或「單鏈 Fv」（sFv）可互換使用。單鏈抗體具有針對抗原之結合親和力。單鏈抗體（SCA）或單鏈 Fv 可以若干方式構築，且已以若干方式構築。關於單鏈抗原結合蛋白之理論及產生的描述見於共同讓渡之美國專利申請案第 10/915,069 號及美國專利第 6,824,782 號中，各文獻之內容以引用的方式併入本文中。

典型地，SCA 或 Fv 域可選自以其在文獻中之縮寫而為

吾人所知的單株抗體，如 26-10、MOPC 315、741F8、520C9、McPC 603、D1.3、鼠類 phOx、人類 phOx、RFL3.8 sTCR、1A6、Se155-4、18-2-3、4-4-20、7A4-1、B6.2、CC49、3C2、2c、MA-15C5/K₁₂Go、Ox 等（參看 Huston, J. S. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)；Huston, J. S. 等人, SIM News 38(4) (增刊):11 (1988)；McCartney, J. 等人, ICSU Short Reports 10:114 (1990)；McCartney, J. E. 等人, unpublished results (1990)；Nedelman, M. A. 等人, J. Nuclear Med. 32(增刊):1005 (1991)；Huston, J. S. 等人, Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications, B 部分, J. J. Langone 編, Methods in Enzymology 203:46-88(1991)；Huston, J. S. 等人, Advances in the Applications of Monoclonal Antibodies in Clinical Oncology, Epenetos, A. A. (編), London, Chapman & Hall (1993)；Bird, R. E. 等人, Science 242:423-426(1988)；Bedzyk, W. D. 等人, J. Biol. Chem. 265:18615-18620 (1990)；Colcher, D. 等人, J. Nat. Cancer Inst. 82:1191-1197 (1990)；Gibbs, R. A. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4001-4004 (1991)；Milenic, D. E. 等人, Cancer Research 51:6363-6371 (1991)；Pantoliano, M. W. 等人, Biochemistry 30:10117-10125 (1991)；Chaudhary, V. K. 等人, Nature 339:394-397 (1989)；Chaudhary, V. K. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1066-1070 (1990)；Batra, J. K. 等人, Biochem. Biophys. Res. Comm. 171:1-6(1990)；Batra, J. K. 等人, J. Biol. Chem. 265:15198-15202(1990)；

Chaudhary, V. K. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:9491-9494 (1990); Batra, J. K. 等人, Mol. Cell. Biol. 11:2200-2205 (1991); Brinkmann, U. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8616-8620 (1991); Seetharam, S. 等人, J. Biol. Chem. 266:17376-17381 (1991); Brinkmann, U. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3075-3079(1992); Glockshuber, R. 等人, Biochemistry 29:1362-1367 (1990); Skerra, A. 等人, Bio/Technol. 9:273-278(1991); Pack, P. 等人, Biochemistry 31:1579-1534 (1992); Clackson, T. 等人, Nature 352:624-628(1991); Marks, J. D. 等人, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991); Iverson, B. L. 等人, Science 249:659-662(1990); Roberts, V. A. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6654-6658(1990); Condra, J. H. 等人, J. Biol. Chem. 265:2292-2295 (1990); Laroche, Y. 等人, J. Biol. Chem. 266:16343-16349(1991); Holvoet, P. 等人, J. Biol. Chem. 266:19717-19724 (1991); Anand, N. N. 等人, J. Biol. Chem. 266:21874-21879(1991); Fuchs, P. 等人, Biol Technol. 9:1369-1372(1991); Breitling, F. 等人, Gene 104:104-153 (1991); Seehaus, T. 等人, Gene 114:235-237 (1992); Takkinen, K. 等人, Protein Engng. 4:837-841 (1991); Dreher, M. L. 等人, J. Immunol. Methods 139:197-205 (1991); Mottez, E. 等人, Eur. J. Immunol. 21:467-471 (1991); Traunecker, A. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8646-8650 (1991); Traunecker, A. 等人, EMBO J. 10:3655-3659 (1991); Hoo, W. F. S. 等人,

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4759-4763 (1993))。各前述出版物以引用的方式併入本文中。

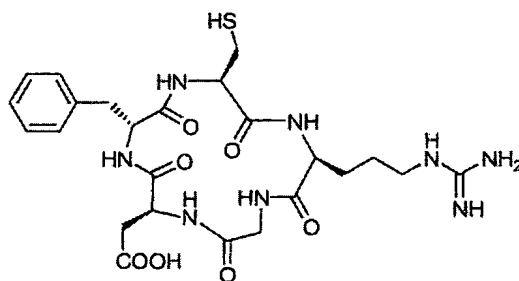
靶向基團之非限制清單包括血管內皮細胞生長因子、FGF2、體抑素 (somatostatin) 及體抑素類似物、轉鐵蛋白、促黑素 (melanotropin)、ApoE 及 ApoE 肽、馮威里氏因子 (von Willebrand's Factor) 及馮威里氏因子肽、腺病毒纖維蛋白及腺病毒纖維蛋白肽、PD1 及 PD1 肽、EGF 及 EGF 肽、RGD 肽、葉酸鹽、對甲氧基苯甲醯胺 (anisamide) 等。熟習此項技術者所瞭解之其他視情況選用之靶向劑亦可用於本文所述之奈米粒子中。

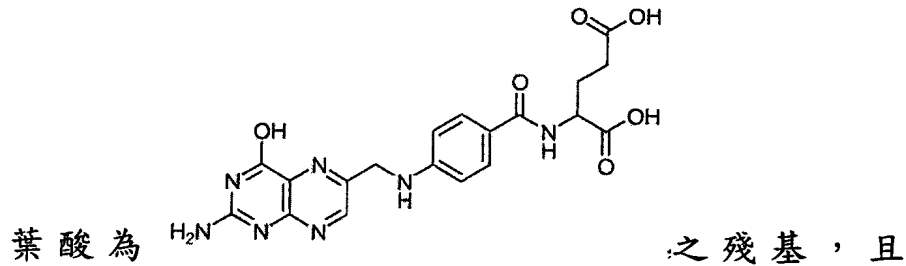
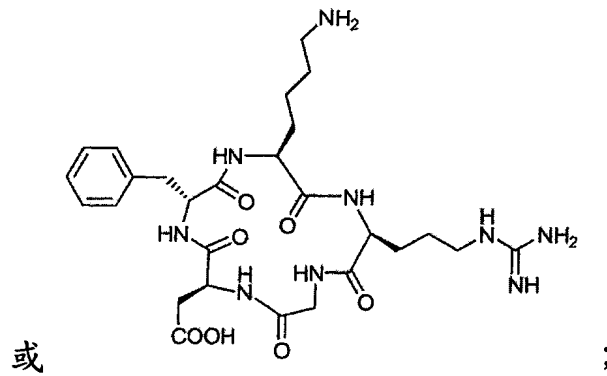
在一較佳具體實例中，適用於本文所述之化合物之靶向劑包括單鏈抗體 (SCA)、RGD 肽、選擇素、TAT、穿透素、(Arg)₉、葉酸、對甲氧基苯甲醯胺等，且此等藥劑之一些較佳結構為：

C-TAT : (SEQ ID NO: 17) CYGRKKRRQRRR ;

C-(Arg)₉ : (SEQ ID NO: 18) CRRRRRRRRRR ;

RGD 可為直鏈或環狀：





對甲氧基苯甲醯胺為 $p\text{-MeO-Ph-C(=O)OH}$ 。

Arg₉ 可包括用於共軛之半胱胺酸，諸如 CRRRRRRRRR，且 TAT 可在肽末端處添加另一半胱胺酸，諸如 CYGRKKRRQRRRC。

出於本發明之目的，本說明書及圖中所用之縮寫表示以下結構：

(i) C-diTAT (SEQ ID NO: 19) = CYGRKKRRQRRRYGRKKRRQRRR-NH₂；

(ii) 直鏈 RGD (SEQ ID NO: 20) = RGDC；

(iii) 環狀 RGD (SEQ ID NO: 21 及 SEQ ID NO: 22) = c-RGDFC 或 c-RGDFK；

(iv) RGD-TAT (SEQ ID NO: 23) = CYGRKKRRQRRRGGRGDS-NH₂；及

(v) Arg₉ (SEQ ID NO: 24) = RRRRRRRRRR。

或者，靶向基團包括：糖及碳水化合物，諸如半乳糖、半乳糖胺及 N-乙酰半乳糖胺；激素，諸如雌激素、睪固酮、

助孕酮、葡糖皮質酮 (glucocortisone)、腎上腺素、胰島素、升糖素、皮質醇、維生素 D、甲狀腺激素、視黃酸及生長激素；生長因子，諸如 VEGF、EGF、NGF 及 PDGF；神經傳遞質，諸如 GABA、麩胺酸鹽、乙醯膽鹼；NOMO；三磷酸肌醇；腎上腺素 (epinephrine)；去甲腎上腺素；氧化氮、肽、維生素 (諸如葉酸鹽及吡哆醇 (pyridoxine))；可在活體內或試管內與細胞表面受體相互作用之藥物、抗體及任何其他分子。

D. 奈米粒子之製備

本文所述之奈米粒子可藉由此項技術已知之任何方法製備而無須過度實驗。

舉例而言，奈米粒子可藉由以下步驟製得：於第一貯器中提供核酸 (諸如寡核苷酸) 水溶液 (或不含核酸之水溶液供用於比較研究)，且於第二貯器中提供含有本文所述之奈米粒子組成物之有機脂質溶液，且將水溶液與有機脂質溶液混合，以使得有機脂質溶液與水溶液經混合產生包封核酸之奈米粒子。該方法之詳情描述於美國專利公開案第 2004/0142025 號中，其內容以引用的方式併入本文中。

或者，可使用在此項技術中已知之任何方法製備本文所述之奈米粒子，包括例如清潔劑透析法，或利用有機溶劑以在混合組份期間提供單一相之改良逆相法。在清潔劑透析法中，使核酸 (亦即 siRNA) 與陽離子脂質之清潔劑溶液接觸以形成經塗佈之核酸複合物。

在本發明之一具體實例中，陽離子脂質與諸如寡核苷

酸之核酸組合產生約 1:20 至約 20:1 之電荷比，較佳約 1:5 至約 5:1 之比率，且更佳約 1:2 至約 2:1 之比率。

在一較佳具體實例中，可使用雙泵系統製備本文所述之奈米粒子。一般而言，該方法包括於第一貯器中提供含有核酸之水溶液且於第二貯器中提供含有所述奈米粒子組成物之脂質溶液。使用雙泵系統混合二溶液以提供奈米粒子。隨後以水性緩衝液稀釋所得混合溶液且可藉由透析來純化及/或分離所形成之奈米粒子。奈米粒子可經進一步加工，藉由經 0.22 μm 過濾器過濾而滅菌。

含有核酸之奈米粒子的直徑在約 5 至約 300 nm 之範圍內。奈米粒子較佳具有小於約 150 nm 之中數直徑，更佳小於約 100 nm 之直徑。大部分奈米粒子具有約 30 至 100 nm (例如 59.5、66、68、76、80、93、96 nm)、較佳 60-95 nm 之中數直徑。如聚合度分布性所示，本發明奈米粒子合意地為大小均勻的。

視情況，可由此項技術中已知之任何方法對奈米粒子進行篩分。可進行篩分，以便達到合意大小範圍及相對窄分布之奈米粒子大小。若干技術可用於篩分奈米粒子至合意大小。參看例如美國專利第 4,737,323 號，其內容以引用的方式併入本文中。

本發明提供製備血清穩定奈米粒子之方法，使得核酸(例如 LNA 或 siRNA)包封於脂質雙層中且免被降解。當核酸存在於本發明奈米粒子中時，其對核酸酶之水溶液降解具有抗性。

另外，根據本發明製備之奈米粒子在生理 pH 值下較佳為中性或帶正電荷的。

使用本文所述之奈米粒子組成物製備之奈米粒子或奈米粒子複合物包括：(i) 陽離子脂質；(ii) 中性脂質（融合脂質）；(iii) 式（I）之可釋放聚合脂質及（iv）核酸，諸如寡核苷酸。

在一具體實例中，奈米粒子組成物包括以下之混合物；陽離子脂質、二醯基磷脂脂醯乙醇胺、式（I）化合物及膽固醇之混合物；

陽離子脂質、二醯基磷脂脂醯膽鹼、式（I）化合物及膽固醇之混合物；

陽離子脂質、二醯基磷脂脂醯乙醇胺、二醯基磷脂脂醯膽鹼、式（I）化合物及膽固醇之混合物；及

陽離子脂質、二醯基磷脂脂醯乙醇胺、式（I）化合物、與腦醯胺共軛之 PEG（PEG-Cer）及膽固醇之混合物。

可藉由改質含有此項技術已知之陽離子脂質的組成物來製備其他奈米粒子組成物。可藉由添加此項技術已知之陽離子脂質來改質含有式（I）化合物之奈米粒子組成物。參看美國專利申請公開案第 2008/0020058 號之表 IV 中所述之此項技術已知之組成物，該公開案之內容以引用的方式併入本文中。

涵蓋奈米粒子組成物之非限制性清單來製備如表 3 中所闡述之奈米粒子。

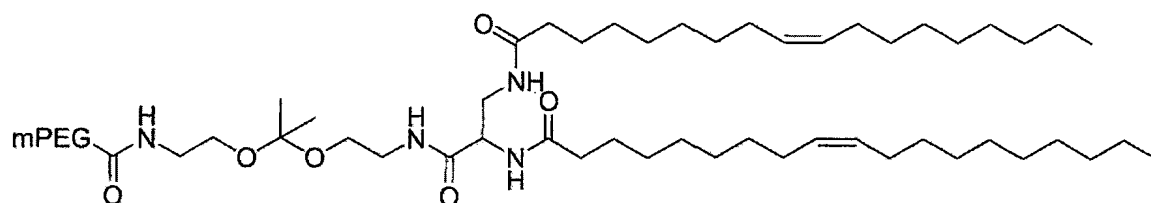
表 3.

樣品編號	奈米粒子組成物	莫耳比	Oligo
1	陽離子脂質 1:DOPE:DSPC:膽固醇:化合物 10	15:15:20:40:10	Oligo-1
2	陽離子脂質 1:DOPE:DSPC:膽固醇:化合物 10	15:5:20:50:10	Oligo-1
3	陽離子脂質 1:DOPE:DSPC:膽固醇:化合物 10	25:15:20:30:10	Oligo-1
4	陽離子脂質 1:EPC:膽固醇:化合物 10	20:47:30:3	Oligo-1
5	陽離子脂質 1:DOPE:膽固醇:化合物 10	17:60:20:3	Oligo-1
6	陽離子脂質 1:DOPE:化合物 10	20:78:2	Oligo-1
7	陽離子脂質 1:DOPE:膽固醇:化合物 10	17:60:20:3	Oligo-2
8	陽離子脂質 1:DOPE:膽固醇:化合物 10	18:60:20:2	Oligo-2
9	陽離子脂質 1:DOPE:膽固醇:化合物 10	18:52:20:10	Oligo-2
10	陽離子脂質 1:DOPE:膽固醇:化合物 10	18:57:20:5	Oligo-2

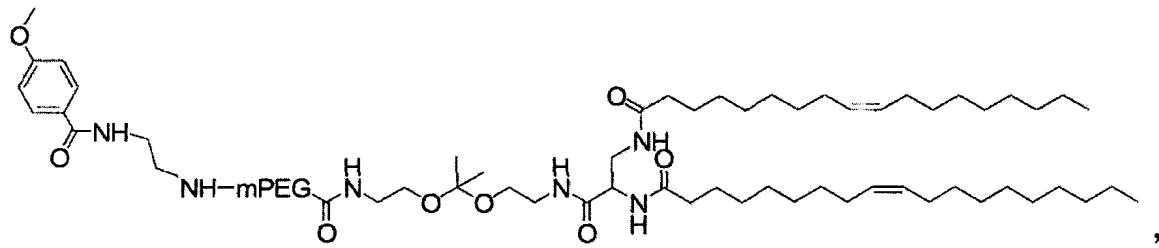
在一具體實例中，奈米粒子中之陽離子脂質 1:DOPE:膽固醇:化合物 10 分別以約 18%:52%:20%:10%之莫耳比存在。(樣品編號 9)

在另一具體實例中，奈米粒子含有莫耳比為奈米粒子組成物中所存在之總脂質之約 18%:57%:20%:5%的陽離子脂質(化合物 1)、DOPE、膽固醇及化合物 10。(樣品編號 10)

此等奈米粒子組成物較佳含有具有以下結構之可釋放聚合脂質：

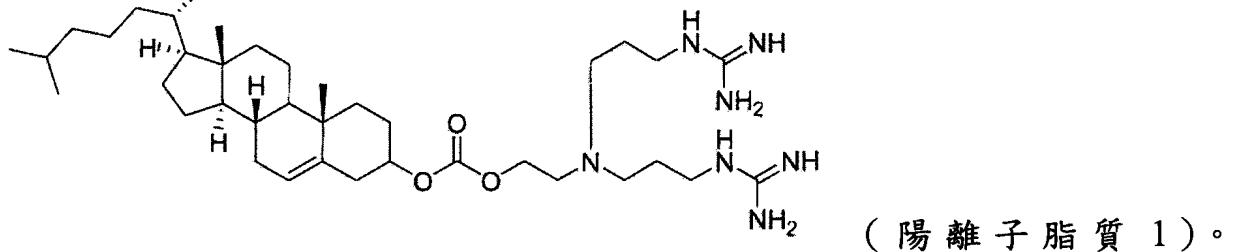


或



其中 PEG 脂質之聚合物部分具有約 2,000 道爾頓之數量平均重量。

在一具體實例中，組成物中所含之陽離子脂質具有以下結構：



如本文中所用之莫耳比係指相對於奈米粒子組成物中所存在之總脂質的量。

E. 治療方法

本文所述之奈米粒子可單獨或與其他療法組合用於療法中，以預防、抑制、降低或治療與細胞或組織中標靶基因表現量有關或對其作出反應之任何病徵、疾病或病狀。該等方法包括向有需要之哺乳動物投予本文所述之奈米粒子。

本發明之一態樣提供在活體內及/或試管內將治療劑（諸如核酸/寡核苷酸）引入或遞送至哺乳動物細胞中之方法。

本發明之方法包括使細胞與本文所述之化合物接觸。可作為適合之醫藥組成物的一部分在活體內進行遞送，或

在活體外或試管內環境中直接遞送至細胞。

本發明適用於將寡核苷酸引入哺乳動物中。本文所述之化合物可投予哺乳動物，較佳為人類。

根據本發明，本發明較佳提供抑制或下調（或調節）哺乳動物細胞或組織中之基因表現的方法。基因表現之下調或抑制可在活體內、活體外及/或試管內達成。該等方法包括使人類細胞或組織與包封核酸之奈米粒子接觸或向有需要之哺乳動物投予該等奈米粒子。一旦發生接觸，當相較於在缺乏本文所述之奈米粒子的情況下所觀測之結果，基因表現（諸如在 mRNA 方面）或蛋白質含量在活體內、活體外或試管內被抑制或下調至少約 10%、較佳至少約 20% 或 20% 以上（例如至少約 25%、30%、40%、50%、60%）時，即認為成功抑制或下調基因表現（諸如在 mRNA 方面）或蛋白質含量。

出於本發明之目的，「抑制」或「下調」應理解為意謂相較於在缺乏本文所述之奈米粒子的情況下所觀測之結果，標靶基因之表現，或編碼一或多個蛋白質次單元之 RNA 或等效 RNA 之含量，或一或多個蛋白質次單元之活性降低。

在一較佳具體實例中，標靶基因包括例如（但不限於）致癌基因、促血管生成路徑基因、促細胞增殖路徑基因、病毒感染因子基因及促炎性路徑基因。

較佳地，標靶基因之基因表現在癌細胞或組織（例如腦癌細胞、乳癌細胞、結腸直腸癌細胞、胃癌細胞、肺癌細胞、口腔癌細胞、胰腺癌細胞、前列腺癌細胞、皮膚癌

細胞或子宮頸癌細胞) 中受到抑制。癌細胞或組織可來自以下一或多者：實體腫瘤、淋巴瘤、小細胞肺癌、急性淋巴球性白血病(ALL)、胰腺癌、神經膠母細胞瘤、卵巢癌、胃癌、乳癌、結腸直腸癌、前列腺癌、子宮頸癌、腦腫瘤、KB 癌症、肺癌、結腸癌、表皮癌等。

在一特定具體實例中，根據本文所述之方法的奈米粒子包括例如反義 bcl-2 寡核苷酸、反義 HIF-1 α 寡核苷酸、反義存活素寡核苷酸、反義 ErbB3 寡核苷酸、反義 PIK3CA 寡核苷酸、反義 HSP27 寡核苷酸、反義雄激素受體寡核苷酸、反義 Gli2 寡核苷酸及反義 β -索煙素寡核苷酸。

根據本發明，可使用可包括寡核苷酸 (SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO 2 及 3、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 及 SEQ ID NO: 16，其中各核酸為天然存在或經修飾之核酸) 之奈米粒子。本文所涵蓋之療法使用包封於上述奈米粒子中之核酸。在一具體實例中，含有八個或八個以上連續反義核苷酸之治療性核苷酸可用於治療中。

或者，亦提供治療哺乳動物之方法。該等方法包括向有需要之患者投予有效量之含有本文所述之奈米粒子的醫藥組成物。方法效力視核酸對所治療病狀之效力而定。本發明提供治療哺乳動物之各種醫學病狀的方法。該等方法包括向需要該治療之哺乳動物投予有效量之含有包封之治

療性核酸之奈米粒子。本文所述之奈米粒子尤其適用於治療諸如（但不限於）癌症、發炎疾病及自體免疫疾病之疾病。

在一具體實例中，亦提供治療患有惡性腫瘤或癌症之患者之方法，其包含向有需要之患者投予有效量之含有本文所述之奈米粒子的醫藥組成物。所治療之癌症可為以下一或多者：實體腫瘤、淋巴瘤、小細胞肺癌、急性淋巴球性白血病（ALL）、胰腺癌、神經膠母細胞瘤、卵巢癌、胃癌、結腸直腸癌、前列腺癌、子宮頸癌、腦腫瘤、KB 癌症、肺癌、結腸癌、表皮癌等。奈米粒子藉由下調標靶基因之基因表現，適用於治療哺乳動物之贅生性疾病、降低腫瘤負荷、防止腫瘤轉移及防止腫瘤/贅生性生長之復發。舉例而言，奈米粒子適用於治療轉移性疾病（亦即轉移至肝臟中之癌症）。

在另一態樣中，本發明提供活體內或試管內抑制癌細胞之生長或增殖之方法。該等方法包括使癌細胞與本文所述之奈米粒子接觸。在一具體實例中，本發明提供在活體內或試管內抑制癌症生長之方法，其中細胞表現 ErbB3 基因。

在另一態樣中，本發明提供一種將核酸（例如反義 ErbB3 LNA 寡核苷酸）遞送至癌細胞內之方法，在癌細胞內，該等核酸可與例如細胞核中之 ErbB3 mRNA 結合。因此抑制 ErbB3 蛋白質表現，從而抑制癌細胞生長。該等方法將寡核苷酸（例如反義寡核苷酸，包括 LNA）引入癌細