

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024 年 12 月 12 日 (12.12.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/251108 A1

(51) 国际专利分类号:

C07C 271/20 (2006.01) A61K 31/713 (2006.01)
C07C 271/22 (2006.01) A61K 47/18 (2017.01)
C07C 229/16 (2006.01) A61K 9/127 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)

LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN,
MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号:

PCT/CN2024/097253

(22) 国际申请日:

2024 年 6 月 4 日 (04.06.2024)

(25) 申请语言:

中文

(26) 公布语言:

中文

(30) 优先权:

PCT/CN2023/098958

2023年6月7日 (07.06.2023) CN

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区

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

(71) 申请人: 北京因诺惟康医药科技有限公司
(INNOVEC BIOTHERAPEUTICS) [CN/CN]; 中国北京
北京市海淀区永腾北路9号院贝伦产业园9号
楼一层、二层, Beijing 100094 (CN)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

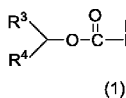
(72) 发明人: 潘兴华 (PAN, Xinghua); 中国北京市海淀区永腾北路9号院贝伦产业园9号楼一层、二
层, Beijing 100094 (CN)。 王成 (WANG, Cheng); 中
国北京市海淀区永腾北路9号院贝伦产业园9
号楼一层、二层, Beijing 100094 (CN)。

(74) 代理人: 北京林达刘知识产权代理事务所 (普
通合伙) (LINDA LIU & PARTNERS); 中国北京
市东城区北三环东路36号北京环球贸易中
心C座16层, Beijing 100013 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ,
IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ,

(54) Title: IONIZABLE LIPID COMPOUND, LIPID CARRIER COMPRISING SAME AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 可电离脂质化合物、包含其的脂质载体及应用



(57) Abstract: The present invention relates to an ionizable lipid compound, a lipid carrier comprising same and the use thereof. Provided in the present invention are a series of compounds as represented by formula (1), a lipid carrier comprising same as an ionizable lipid, a nucleic acid lipid nanoparticle composition and a preparation thereof. A lipid nanoparticle formed from the ionizable lipid can deliver a nucleic acid molecule into the body, so that the transfer rate of a nucleic acid molecule is increased, and the treatment effect of a nucleic acid drug is improved.

(57) 摘要: 本发明涉及可电离脂质化合物、包含其的脂质载体及应用。本发明提供了一系列式(1)所示的化合物、包含其作为可电离脂质的脂质载体、核酸脂质纳米颗粒组合物及其制剂, 由该可电离脂质形成的脂质纳米颗粒能将核酸分子递送至体内, 提高核酸分子的转运率, 从而提高核酸药物的治疗效果。

WO 2024/251108 A1

说明书

发明名称: 可电离脂质化合物、包含其的脂质载体及应用 技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域，具体涉及一种可电离脂质化合物及包含其的脂质载体、核酸脂质纳米颗粒组合物和药物制剂。

背景技术

[0002] 脂质纳米颗粒被广泛用于药物输送领域，而其中，可电离脂质不但是优良的蛋白/多肽抗原载体，还是一种新型的免疫佐剂，可直接活化抗原呈递细胞，增强疫苗诱导的免疫反应，因此可电离脂质在疫苗领域广泛地用于封装、转运核酸分子。可电离脂质是脂质纳米颗粒产生靶向性和递送性最关键的一环，其与负电荷性的核酸结合，有助于内涵体逃逸、核酸分子体内转染，具有pH敏感性等多种特点。可电离脂质决定了脂质纳米颗粒递送系统的递送效率和转染效率，因此设计靶向性和递送性良好的可电离脂质，是脂质纳米颗粒必不可少的关键要素。

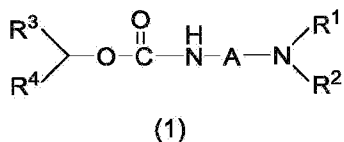
[0003] 目前，市面上最常用的，DLin-MC3-DMA(以下简称MC3)作为新型可电离脂质，具有“低毒高效”的优势，是全球首个应用于siRNA脂质体产品(Onpattro)的可电离脂质。而随着Onpattro在美国上市，MC3以及新型可电离脂质，得到了更多科学家的关注。相比于常见的DOTAP、DOTMA、DC-CHOL等可电离脂质，MC3这类新型可电离脂质的毒性更低，载药量 and 安全性均有显著提高。

[0004] 目前，全球有4款(包含紧急使用授权)siRNA和mRNA药物得到FDA的认证，均使用了新型的可电离脂质。因此，新型的可电离脂质在核酸药物递送中具有广泛的应用前景。

[0005] 发明内容

[0006] 本发明提供了一系列式(1)所示的化合物、包含其作为可电离脂质的脂质载体、核酸脂质纳米颗粒组合物及其制剂，由该可电离脂质形成的脂质纳米颗粒能将核酸分子递送至体内，提高核酸分子的转运率，从而提高核酸分子的治疗效果。

[0007] 第一方面，本发明提供了式(1)所示的化合物或其药学上可接受的盐：



[0008] 其中，

[0009] R^1 和 R^2 独立地选自 C_{1-8} 烷基，所述烷基任选地被一个或多个OH、 NH_2 或卤素取代；

[0010] A为 C_{1-8} 亚烷基；

[0011] R^3 和 R^4 独立地选自 $-\text{R}^6$ 、 $-\text{G}^3-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^5$ 、 $-\text{G}^3-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}^5$ 、 $-\text{G}^3-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}^5$ 、 $-\text{G}^3-\text{NH}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^5$ 、 $-\text{G}^3-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^5$ 或 $-\text{G}^3-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{R}^5$ ；

[0012] G^3 独立地为 C_{2-10} 亚烷基；

[0013] R^5 独立地选自 C_{2-30} 支链烷基或 C_{2-30} 支链烯基，所述支链烷基或支链烯基任选地被一个或多个 $-\text{O}-\text{C}_{1-30}$ 烷基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}_{1-30}$ 烷基、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_{1-30}$ 烷基、 $-\text{O}-\text{C}_{2-30}$ 烯基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}_{2-30}$ 烯基或 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_{2-30}$ 烯基取代；

[0014] R^6 为 C_{2-30} 烯基。

[0015] 在一些实施方案中， R^1 和 R^2 独立地选自 C_{1-6} 烷基，所述烷基任选地被一个或多个OH、 NH_2 或卤素取代。

[0016] 在一些实施方案中， R^1 和 R^2 独立地选自 C_{1-4} 烷基，所述烷基任选地被一个或多个OH、 NH_2 或卤素取代。

[0017] 在一些实施方案中， R^1 和 R^2 独立地选自 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ；或者， R^1 和 R^2 独立地选自 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。

[0018] 在一些实施方案中，A为 C_{1-6} 亚烷基。

[0019] 在一些实施方案中，A为 C_{1-4} 亚烷基。

[0020] 在一些实施方案中，A为 C_{2-4} 亚烷基。

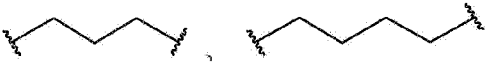
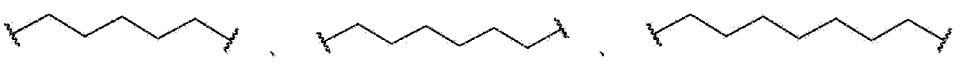
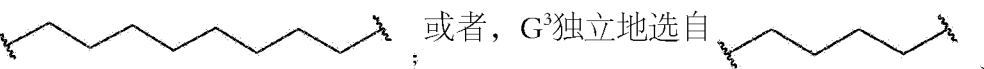
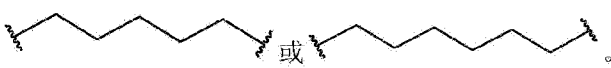
[0021] 在一些实施方案中，A选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ；或者，A为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

[0022] 在一些实施方案中, R^3 和 R^4 独立地选自 $-R^6$ 、 $-G^3-O-C(=O)-R^5$ 、 $-G^3-C(=O)-O-R^5$ 、 $-G^3-NH-C(=O)-O-R^5$ 或 $-G^3-NH-O-C(=O)-R^5$ 。

[0023] 在一些实施方案中, R^3 和 R^4 独立地选自 $-R^6$ 、 $-G^3-O-C(=O)-R^5$ 或 $-G^3-C(=O)-O-R^5$, 或者, R^3 和 R^4 独立地选自 $-R^6$ 或 $-G^3-O-C(=O)-R^5$; 或者, R^3 和 R^4 独立地选自 $-G^3-O-C(=O)-R^5$ 。

[0024] 在一些实施方案中, G^3 独立地为 C_{2-8} 亚烷基。

[0025] 在一些实施方案中, G^3 独立地为 C_{2-6} 亚烷基。

[0026] 在一些实施方案中, G^3 独立地选自 , , 或 ; 或者, G^3 独立地选自 , 。或。

[0027] 在一些实施方案中, R^5 选自 C_{2-24} 支链烷基或 C_{2-24} 支链烯基, 所述支链烷基或支链烯基任选地被一个或多个 $-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-C(=O)-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C(=O)-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C_{2-24}$ 烯基、 $-C(=O)-O-C_{2-24}$ 烯基或 $-O-C(=O)-C_{2-24}$ 烯基取代。

[0028] 在一些实施方案中, R^5 选自 C_{4-24} 支链烷基或 C_{4-24} 支链烯基, 所述支链烷基或支链烯基任选地被一个或多个 $-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-C(=O)-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C(=O)-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C_{2-24}$ 烯基、 $-C(=O)-O-C_{2-24}$ 烯基或 $-O-C(=O)-C_{2-24}$ 烯基取代。

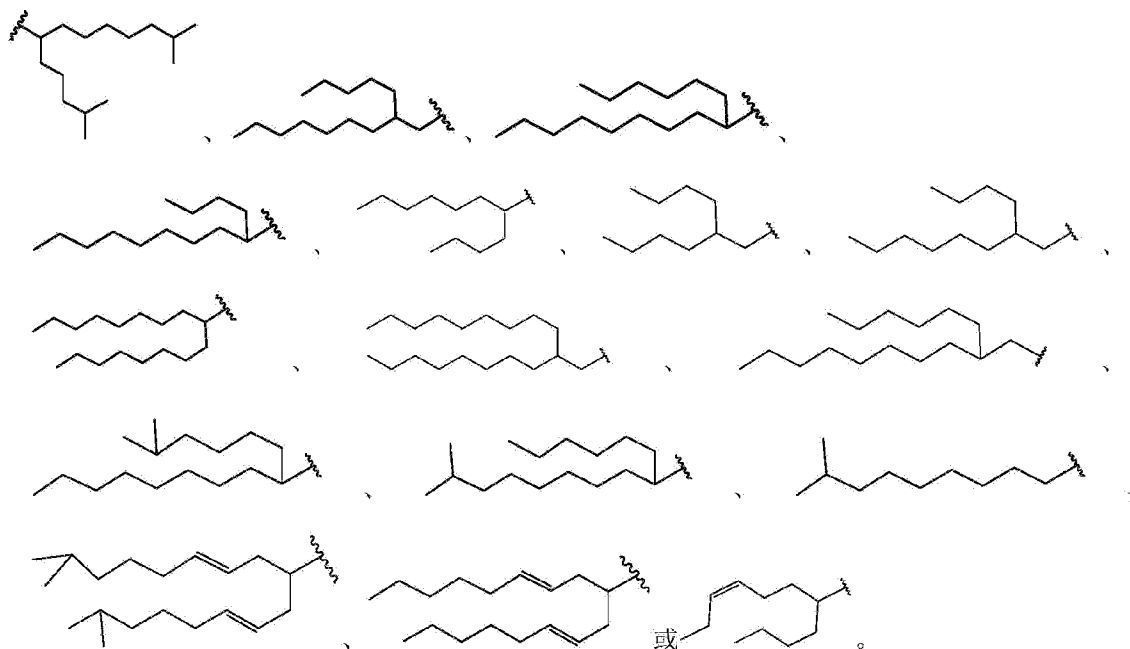
[0029] 在一些实施方案中, R^5 选自 C_{6-24} 支链烷基或 C_{6-24} 支链烯基, 所述支链烷基或支链烯基任选地被一个或多个 $-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-C(=O)-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C(=O)-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C_{2-24}$ 烯基、 $-C(=O)-O-C_{2-24}$ 烯基或 $-O-C(=O)-C_{2-24}$ 烯基取代。

[0030] 在一些实施方案中, R^5 选自 C_{8-24} 支链烷基或 C_{8-24} 支链烯基, 所述支链烷基或支链烯基任选地被一个或多个 $-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-C(=O)-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C(=O)-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-C_{2-24}$ 烯基、 $-C(=O)-O-C_{2-24}$ 烯基或 $-O-C(=O)-C_{2-24}$ 烯基取代。

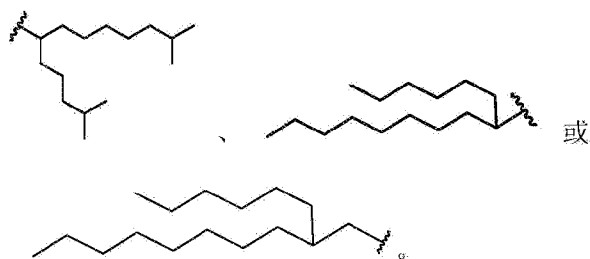
O)-C₁₋₂₄烷基、-O-C₂₋₂₄烯基、-C(=O)-O-C₂₋₂₄烯基或-O-C(=O)-C₂₋₂₄烯基取代。

[0031] 在一些实施方案中，R⁵选自C₁₀₋₂₀支链烷基或C₁₀₋₂₀支链烯基，所述支链烷基或支链烯基任选地被一个或多个-O-C₁₋₂₀烷基、-C(=O)-O-C₁₋₂₀烷基、-O-C(=O)-C₁₋₂₀烷基、-O-C₂₋₂₀烯基、-C(=O)-O-C₂₋₂₀烯基或-O-C(=O)-C₂₋₂₀烯基取代。

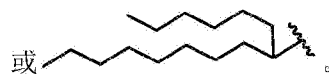
[0032] 在一些实施方案中，R⁵选自



[0033] 在一些实施方案中，R⁵选自

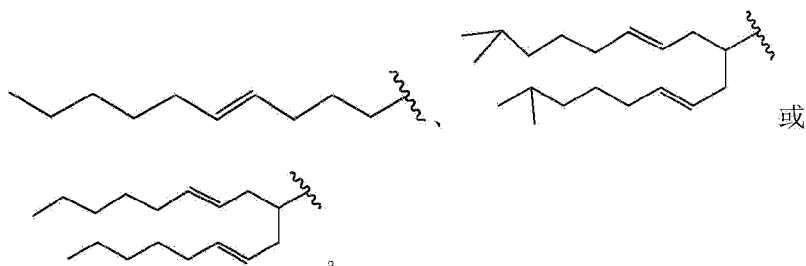


[0034] 在一些实施方案中，R⁵选自

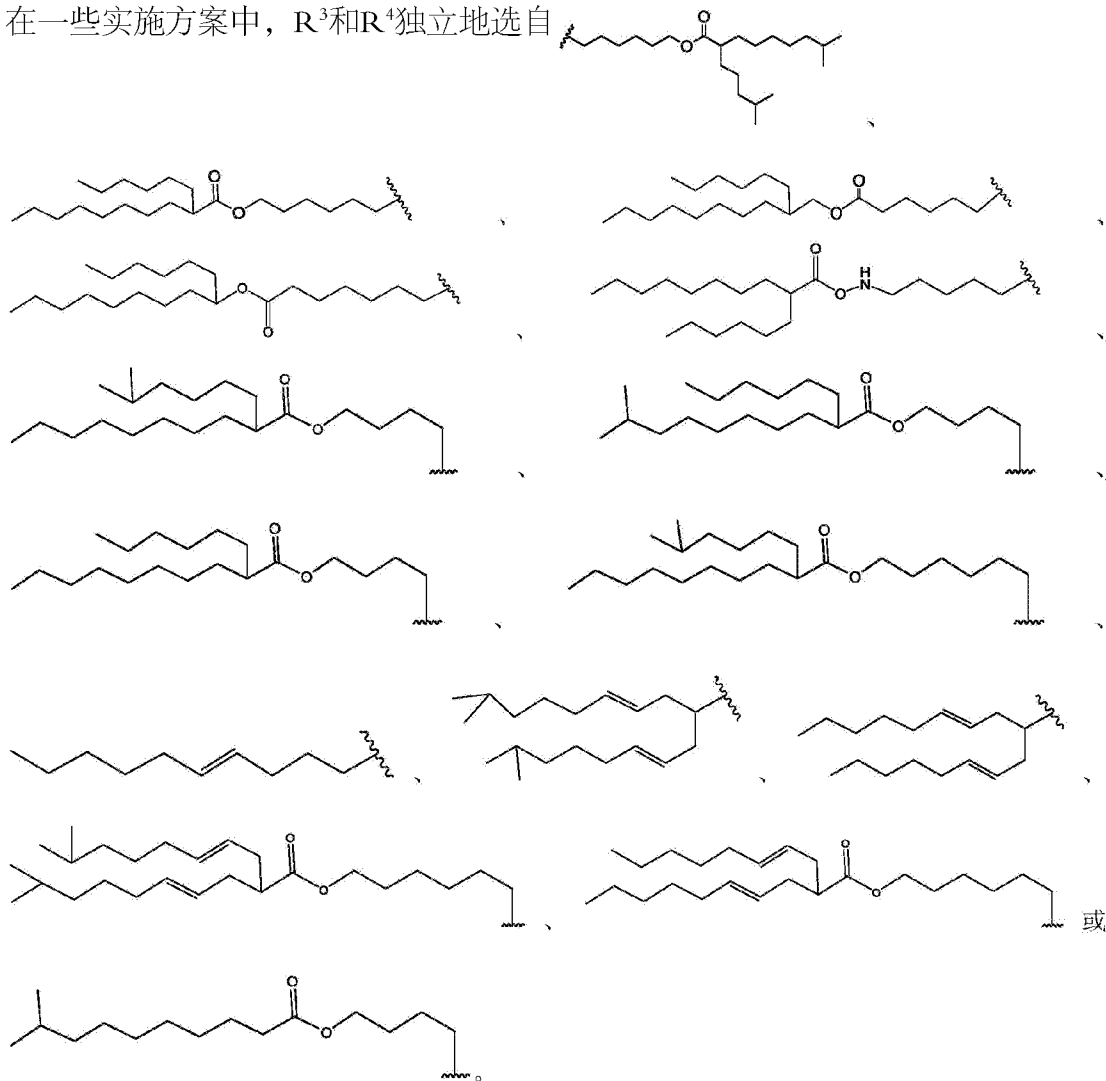


[0035] 在一些实施方案中，R⁶为C₂₋₂₄烯基；或者，R⁶为C₆₋₂₄烯基；或者，R⁶为C₈₋₂₄烯基；或者，R⁶为C₁₀₋₂₀烯基。

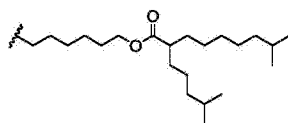
[0036] 在一些实施方案中, R^6 选自

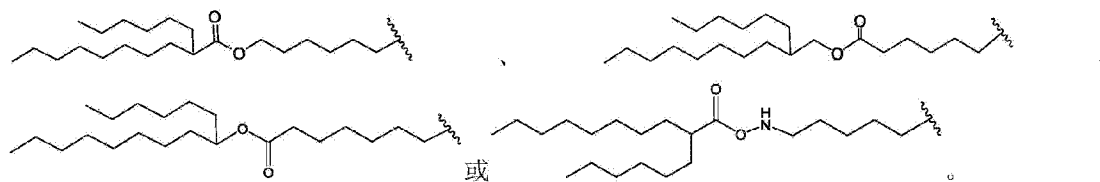


[0037] 在一些实施方案中, R^3 和 R^4 独立地选自

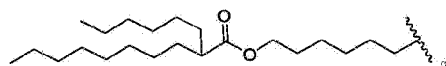
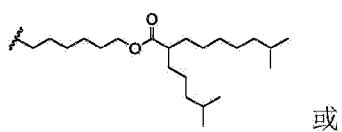


[0038] 在一些实施方案中, R^3 和 R^4 独立地选自



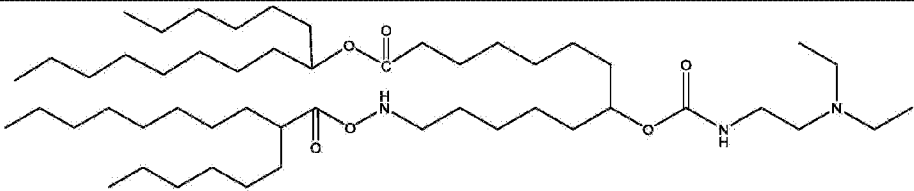
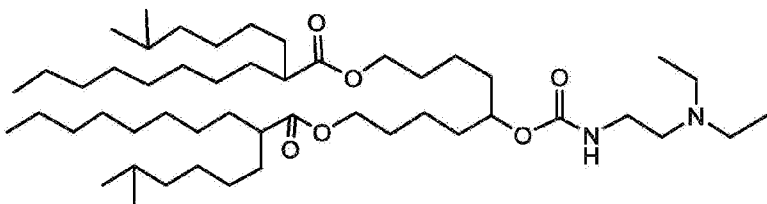
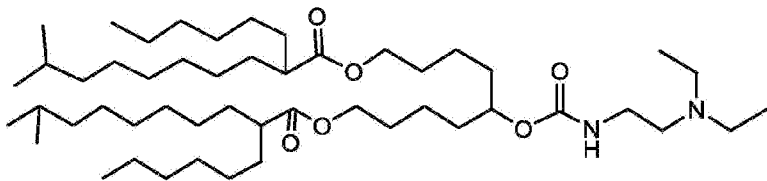
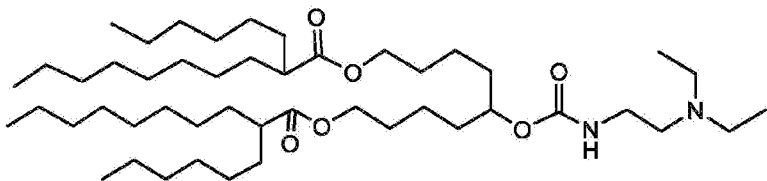
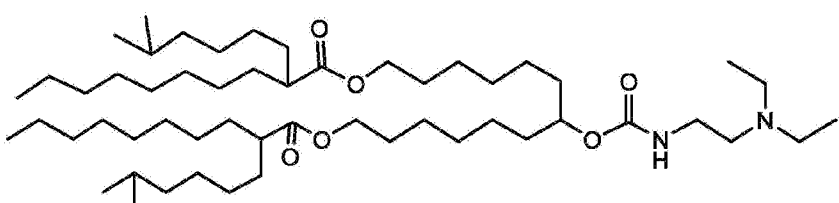
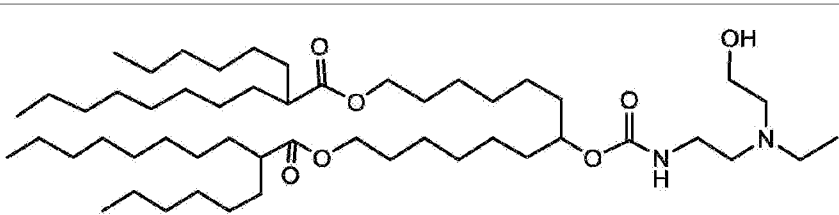
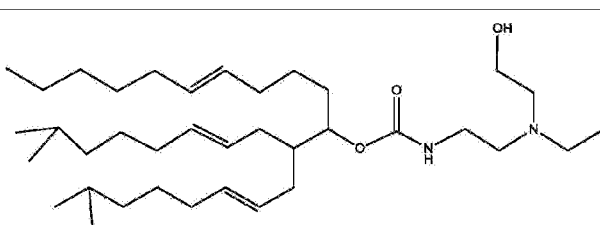
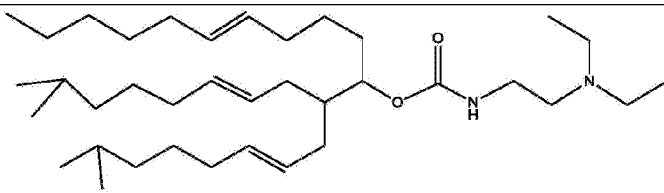


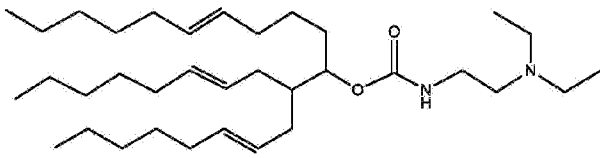
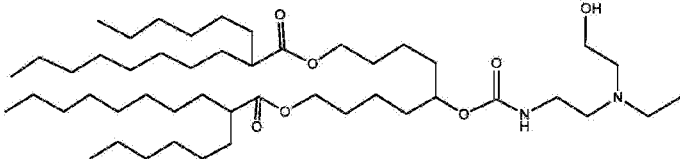
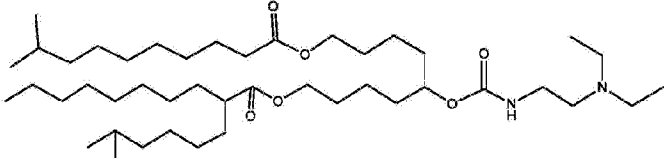
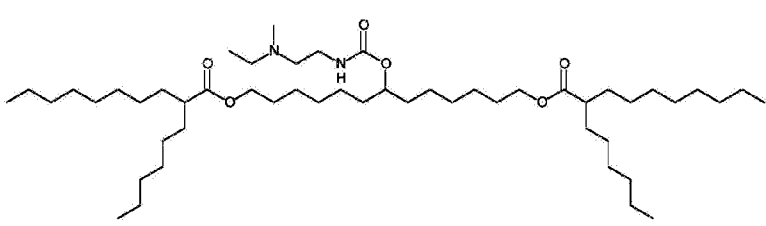
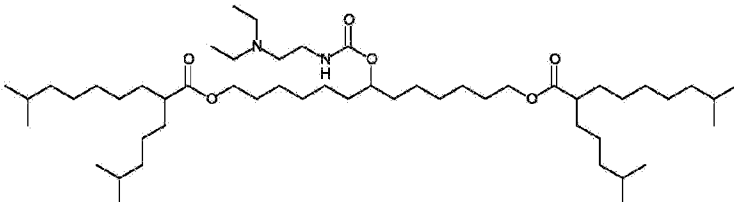
[0039] 在一些实施方案中， R^3 和 R^4 独立地选自



[0040] 本发明还提供如下化合物或其药学上可接受的盐：

	化合物结构
1	
2	

3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

11	
12	
13	
14	
15	

[0041] 第二方面，本发明提供了一种脂质载体，其包含式(1)所示的化合物或其药学上可接受的盐作为可电离脂质。

[0042] 在一些实施方案中，所述脂质载体包含式(1)所示的化合物或其药学上可接受的盐、辅助脂质、结构脂质和聚合物结合的脂质。

[0043] 在一些实施方案中，所述辅助脂质为选自1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺DOPE、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱DSPC、二油酰基磷脂酰丝氨酸DOPS、二硬脂酰磷脂酰丝氨酸DSPS、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺DSPE、二棕榈酰磷脂酰丝氨酸DPPS、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱DPPC、1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱DOPC、二棕榈酰磷脂酰甘油DPPG、油酰磷脂酰胆碱POPC、1-棕榈酰基-2-油酰基磷脂酰乙醇胺

POPE、1,2-二棕榈酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺DPPE、1,2-二肉豆蔻酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺DMPE、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺DSPE和1-硬脂酰基-2-油酰基磷脂酰乙醇胺SOPE中的至少一种。

[0044] 在一些实施方案中,所述辅助脂质为选自1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷脂酰乙醇胺DOPE、1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱DSPC中的至少一种。

[0045] 在一些实施方案中,所述结构脂质为选自胆固醇、甾醇、谷固醇、麦角固醇、菜油甾醇、豆甾醇、芸苔甾醇、番茄碱、熊果酸、 α -生育酚、粪固醇和皮质类固醇中的至少一种。

[0046] 在一些实施方案中,所述结构脂质为胆固醇。

[0047] 在一些实施方案中,所述聚合物结合的脂质为选自1,2-二肉豆蔻酰-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇2000(DMG-PEG2000)、DMG-PEG2000-甘露糖、胆固醇-PEG2000、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油甲氧基-聚乙二醇PEG-DMG、二肉豆蔻酰甘油-聚乙二醇PEG-c-DMG、聚乙二醇-二肉豆蔻酰基甘油PEG-C14、PEG-1,2-二肉豆蔻酰基氧基丙基-3-胺PEG-c-DMA、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[氨基(聚乙二醇)]PEG-DSPE、聚乙二醇化磷脂酰乙醇胺PEG-PE、PEG修饰的神经酰胺、PEG修饰的二烷基胺、PEG修饰的二酰基甘油、吐温-20、吐温-80、1,2-二棕榈基-sn-甘油-甲氧基聚乙二醇PEG-DPG、4-O-(2', 3'-二(十四烷酰氧基)丙基-1-O-(ω -甲氧基(聚乙氧基)乙基)丁二酸酯PEG-s-DMG、PEG-二烷氧基丙基PEG-DAA、mPEG2000-1,2-二-O-烷基-sn3-氨基甲酰基甘油酯PEG-c-DOMG和N-乙酰半乳糖胺((R)-2,3-双(十八烷氧基)丙基-1-(甲氧基聚(乙二醇)2000)丙基氨基甲酸酯))GalNAc-PEG-DSG中的至少一种。

[0048] 在一些实施方案中,所述聚合物结合的脂质为1,2-二肉豆蔻酰-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇2000(DMG-PEG2000)。

[0049] 在一些实施方案中,在脂质载体中,可电离脂质、辅助脂质、结构脂质和聚合物结合的脂质的摩尔比为(20~75):(2~25):(15~55):(0~15); 示例性地,可电离脂质、辅助脂质、结构脂质和聚合物结合的脂质的摩尔比可以为45:10:42:3、30:25:30:10、46:15:40:3、50:10:38.5:1.5、50:10:37:3、50:9:38:3、60:5:3

4.5:0.5、75:5:19.5:0.5、65:5:29.5:0.5、55:8:36.5:0.5、50:8:41.5:0.5、50:10:39.5:0.5、50:9.5:40:0.5等。

[0050] 第三方面，本发明提供了一种核酸脂质纳米颗粒组合物，其包括式(1)所示的化合物或其药学上可接受的盐或上述脂质载体、以及核酸。

[0051] 在一些实施方案中，所述核酸为选自DNA、RNA、含有DNA或RNA的复合物(如DNA和RNA的复合物、DNA和多肽/蛋白的复合物、RNA和多肽/蛋白的复合物)、修饰后的DNA、修饰后的RNA以及修饰后的含有DNA或RNA的复合物中的至少一种。

[0052] 在一些实施方案中，所述核酸为RNA。

[0053] 在一些实施方案中，所述RNA选自mRNA、siRNA、dsRNA、rRNA、circRNA、saRNA、tRNA、snRNA或shRNA，优选地为mRNA。

[0054] 在一些实施方案中，上述核酸与上述任一种化合物或其药学上可接受的盐的质量比为1:(3~40)。

[0055] 在一些实施方案中，上述核酸与上述脂质载体的质量比为1:(3~40)。

[0056] 示例性地，上述质量比为1:3、1:5、1:10、1:15、1:20、1:30等。

[0057] 第四方面，本发明提供了一种药物制剂，其包含上述任一种化合物或其药学上可接受的盐、或上述脂质载体、或上述核酸脂质纳米颗粒组合物，以及药学上可接受的载体。

[0058] 在一些实施方案中，药物制剂的粒径为30~500nm，示例性地，粒径可以为30nm、40nm、50nm、60nm、70nm、80nm、90nm、100nm、110nm、120nm、130nm、140nm、150nm、200nm、250nm、300nm、350nm、500nm等。

[0059] 在一些实施方案中，核酸在药物制剂中的包封率大于50%。示例性地，包封率可以为55%、60%、65%、70%、75%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%等。

[0060] 第五方面，本发明还提供上述化合物或其药学上可接受的盐或上述脂质载体或上述核酸脂质纳米颗粒组合物或上述药物制剂在制备核酸药物或基因疫苗中的用途。

- [0061] 本发明还提供用于体内递送核酸药物或基因疫苗的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用上述核酸脂质纳米颗粒组合物或上述药物制剂。
- [0062] 本发明还提供一种治疗或预防肝部疾病的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用上述核酸脂质纳米颗粒组合物或上述药物制剂，所述肝部疾病选自肝炎、脂肪肝、肝纤维化、肝硬化、酒精性/非酒精性肝损伤或肝细胞癌。
- [0063] 本发明还提供上述化合物或其药学上可接受的盐或上述脂质载体或上述核酸脂质纳米颗粒组合物在制备用于治疗或预防肝部疾病的药物中的用途。
- [0064] 在一些实施方案中，上述核酸脂质纳米颗粒组合物或上述药物制剂通过以下施用途之一施用：口服、鼻内、静脉内、腹膜内、肌肉内、关节内、病灶内、气管内、皮下以及皮内。在一些实施方案中，上述核酸脂质纳米颗粒组合物或上述药物制剂例如经由肠内或肠胃外施用途施用。在一些实施方案中，将约0.001mg/kg至约10mg/kg剂量的所述核酸脂质纳米颗粒组合物或药物制剂施用给所述受试者。

附图说明

- [0065] 图1：化合物1的核磁共振氢谱图。
- [0066] 图2：实施例5中实验条件1、2、3、4、5的小鼠的化学发光成像图。
- [0067] 图3：化合物14的核磁共振氢谱图。
- [0068] 图4：化合物15的核磁共振氢谱图。

具体实施方式

- [0069] 为更容易理解本发明，以下具体定义了某些技术和科学术语。除非在本文中另有明确定义，本文使用的所有其它技术和科学术语都具有本发明所属领域的一般技术人员通常理解的含义。
- [0070] 本说明书中，使用“数值A～数值B”表示的数值范围是指包含端点数值A、B的范围。当数值范围的下限和上限被公开时，落入该范围中的任何数值或任何亚范围都表示被具体公开。特别地，本文中所公开的参数的每一个数值范围(例如，以“约a至b”，或同等的“大约a至b”，或同等的“约a-b”的形式)均应理解为涵盖其中的每一个数值和亚范围。例如，“C₁₋₄”应理解为涵盖其中的任

意亚范围以及每一个点值，如 C_{2-4} 、 C_{3-4} 、 C_{1-2} 、 C_{1-3} 、 C_{1-4} 等，以及 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 等。

[0071] 术语“包含”、“包括”、“具有”或“含有”或其任何其它变体旨在涵盖非排他性或开放式的包含内容。例如，包含一系列元素的组合物、方法或装置不一定仅限于已明确列出的元素，而是可能还包含其它未明确列出的元素或上述组合物、方法或装置所固有的元素。

[0072] 本说明书中，“任选的”或“任选地”是指接下来描述的事件或情况可发生或可不发生，并且该描述包括该事件发生的情况和该事件不发生的情况。

[0073] 本说明书中，所提及的“一些具体/优选的实施方案”、“另一些具体/优选的实施方案”、“实施方案”等是指所描述的与该实施方案有关的特定要素(例如，特征、结构、性质和/或特性)包括在此处所述的至少一种实施方案中，并且可存在于其它实施方案中或者可不存在于其它实施方案中。另外，应理解，所述要素可以任何合适的方式组合在各种实施方案中。

[0074] 在进一步描述本发明之前，应当理解，本发明不限于本文中所述的特定实施方案；还应该理解，本文中所使用的术语仅用于描述而非限定特定实施方案。

[0075] 术语“药学上可接受的盐”是指对生物体基本上无毒性的本发明的化合物的盐。药学上可接受的盐通常包括(但不限于)本发明的化合物与药学上可接受的无机/有机酸或无机/有机碱反应而形成的盐，此类盐又被称为酸加成盐或碱加成盐。常见的无机酸包括(但不限于)盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸等，常见的有机酸包括(但不限于)三氟乙酸、柠檬酸、马来酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸、乳酸、丙酮酸、草酸、甲酸、乙酸、苯甲酸、甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸等，常见的无机碱包括(但不限于)氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化钡等，常见的有机碱包括(但不限于)二乙胺、三乙胺、乙胺丁醇等。

[0076] 术语“药学上可接受的载体”是指与上述核酸脂质纳米颗粒组合物或上述药物制剂一同给药的辅料，并且其在合理的医学判断的范围内适于接触人类和/或其它动物的组织而没有过度的毒性、刺激性、过敏反应或与合理的益处/风险比相应的其它问题或并发症。在本发明中可使用的药学上可接受的载体包括但不限

于：a)稀释剂；b)润滑剂；c)粘合剂；d)崩解剂；e)吸收剂、着色剂、调味剂和/或甜味剂；f)乳化剂或分散剂；和/或g)增强化合物的吸收的物质等。

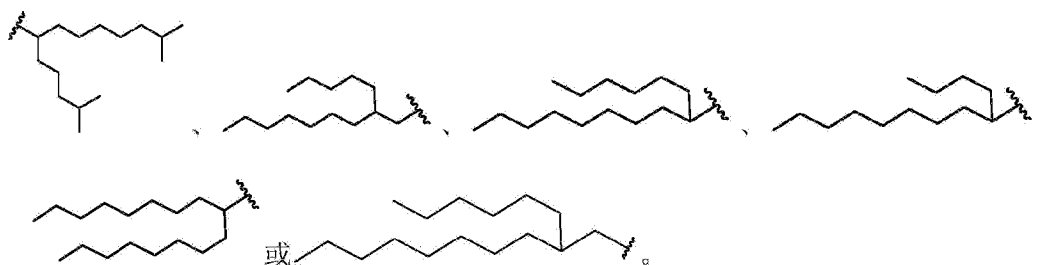
[0077] 术语“独立地”是指结构中存在的取值范围相同或相近的至少两个基团(或环系)可以在特定情形下具有相同或不同的含义。例如，取代基X和取代基Y各自独立地为氢、卤素、羟基、氰基、烷基或芳基，则当取代基X为氢时，取代基Y既可以为氢，也可以为卤素、羟基、氰基、烷基或芳基；同理，当取代基Y为氢时，取代基X既可以为氢，也可以为卤素、羟基、氰基、烷基或芳基。

[0078] 术语“烷基”是指直链或支链的一价饱和脂肪族烃基。例如，“C₁₋₈烷基”指包含1至8个碳原子的直链或支链的一价饱和脂肪族烃基，例如为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基或叔丁基等。

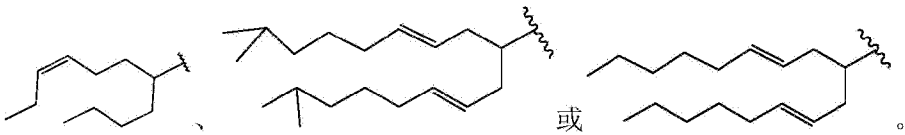
[0079] 术语“亚烷基”是指直链或支链的二价饱和脂肪族烃基，其所连接的两个基团(或片段)既可以连接同一个碳原子，又可以连接不同的碳原子。例如，本文中所使用的术语“C₁₋₈亚烷基”是指具有1-8个碳原子的亚烷基(如亚甲基、1,1-亚乙基、1,2-亚乙基、1,2-亚丙基、1,3-亚丁基等)。

[0080] 术语“烯基”是指由碳原子和氢原子组成的直链或支链的具有至少一个双键的不饱和脂肪族烃基。例如“C₂₋₃₀烯基”指包含2至30个碳原子并且具有至少1个碳碳双键的一价直链或支链烃基。烯基的非限制性实例包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、异丁烯基、1,3-丁二烯基等。

[0081] 术语“支链烷基”即含支链的烷基，是指与母体分子相连并自身形成至少两个分支结构的烷基。例如



[0082] 术语“支链烯基”即含支链的烯基，是与母体分子相连并自身形成至少两个分支结构的烯基。例如



- [0083] 术语“卤素”是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)和碘(I)。
- [0084] 为了使本发明的目的和技术方案更加清楚，以下结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述。但是本领域技术人员将会理解，下列实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。
- [0085] 实施例中所使用的试剂或仪器均为可以通过市购获得的常规产品。未注明具体条件者，均按照常规条件或制造商建议的条件进行。本发明中所使用的术语“室温”是指 $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。在用于修饰某一数值或数值范围时，本发明中所使用的术语“约”是指包括该数值或数值范围以及该数值或数值范围的本领域技术人员可接受的误差范围，例如该误差范围为 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 4\%$ 、 $\pm 3\%$ 、 $\pm 2\%$ 、 $\pm 1\%$ 、 $\pm 0.5\%$ 等。
- [0086] 下述实施例中所述实验方法，如无特殊说明，均为常规方法；所述试剂和材料，如无特殊说明，均可从商业途径获得。
- [0087] 在下述的实施例中，所用溶剂和药品均为分析纯或化学纯；溶剂在使用前均经过重新蒸馏；无水溶剂均按照标准方法或文献方法进行处理。
- [0088] 本文中所述的缩写具有以下含义：

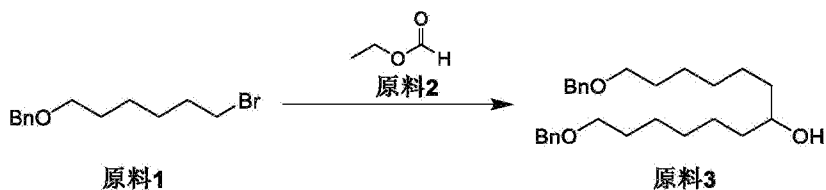
缩写	含义	缩写	含义
Mg	镁	TMSCl	三甲基氯硅烷
THF	四氢呋喃	EtOH	乙醇
KOH	氢氧化钾	DCM	二氯甲烷
DIEA	N,N-二异丙基乙胺	CDI	N,N'-羰基二咪唑
MgSO ₄	硫酸镁	TEA	三乙胺
DMAP	4-二甲氨基吡啶	MeOH	甲醇

Pd/C	钯/碳	EDCI	1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺
------	-----	------	---------------------

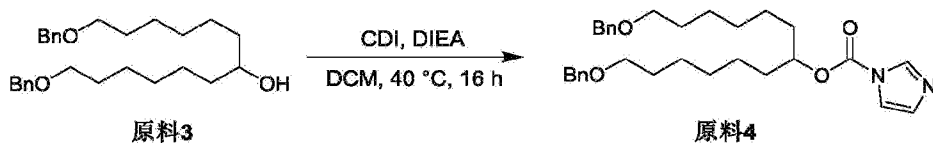
- [0089] ^1H NMR波谱法采用Bruker超导核磁共振波谱仪(型号AVACE III HD 400MHz)。

[0090] 快速硅胶色谱法使用Biotage快速柱色谱仪。

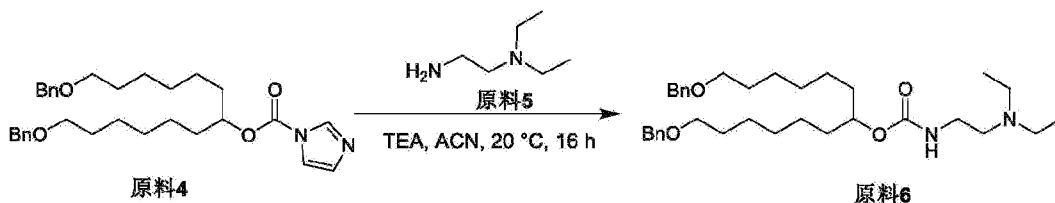
[0091] 实施例1：化合物1的制备方法



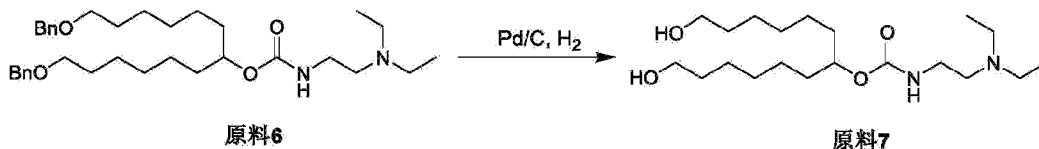
[0092] 将原料1(5g, 18.44mmol, 1eq)和THF(20mL)的混合物添加至Mg(672.17mg, 27.66mmol, 1.5eq)和TMSCl(200.30mg, 1.84mmol, 234.00 μ L, 0.1eq)在THF(4mL)中的混合物中, 并且将混合物在20℃搅拌1小时。向反应混合物中加入原料2(682.89mg, 9.22mmol, 741.47 μ L, 0.5eq)和THF(10mL)的混合物, 并将反应混合物在20℃下搅拌1小时。将反应混合物倒入用冰冷却的10%的硫酸水溶液(30mL)中, 在其中加入乙酸乙酯(60mL), 分离有机层并用无水硫酸镁干燥, 然后减压蒸去溶剂。将THF(20mL)、EtOH(10mL)和KOH(10M, 5mL, 2.71eq)加入到获得的残余物中, 并将混合物在40℃下搅拌1小时。向反应混合物中加入乙酸乙酯(60mL)和水(50mL), 分离有机层, 然后用无水硫酸镁干燥, 减压蒸去溶剂。残余物通过快速硅胶色谱纯化, 得到的白色固体即为原料3(1.37g)。



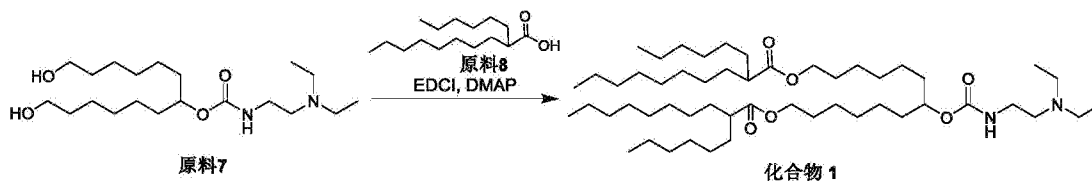
[0093] 将原料3(200mg, 484.73 μ mol, 1eq)溶解于DCM(5mL)中, 加入DIEA(313.24mg, 2.42mmol, 422.15 μ L, 5eq)和CDI(235.79mg, 1.45mmol, 3eq)。将混合物在50℃下搅拌16小时。反应混合物用20mL的H₂O稀释, 并用DCM(40mL, 20 mL*2)萃取。合并的有机层用盐水(30mL)洗涤, 用无水MgSO₄干燥, 过滤和减压浓缩, 得到的黄色胶状物即为原料4。



[0094] 向原料4的乙腈溶液(5mL)中加入TEA(419.40mg, 4.14mmol, 576.88 μ L, 10当量)、DMAP(50.63mg, 414.47 μ mol, 1eq)和原料5(481.63mg, 4.14mmol, 582.38 μ L, 10当量)。将混合物在50℃下搅拌16小时。残余物经快速硅胶色谱纯化, 得到的无色油状物即为原料6。

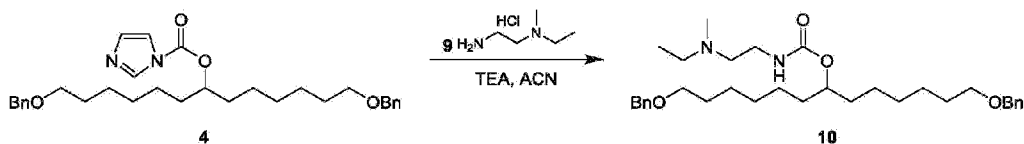


[0095] 向原料6(190mg, 308.22 μ mol, 1eq)的MeOH(5mL)溶液中加入Pd/C(32.80mg, 30.82 μ mol, 10%纯度, 0.1eq)。将悬浮液在真空下脱气并用氢气吹扫数次。将混合物在氢气(50psi)和50℃下搅拌16小时。将混合物在50℃下搅拌16小时。将混合物减压浓缩, 得到的无色油状物即为原料7。

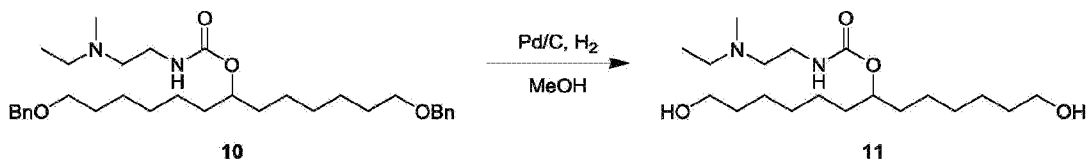


[0096] 将原料7(100mg, 266.98 μ mol, 1eq)和2-己基癸酸(205.38mg, 800.95 μ mol, 3eq)溶解于DCM(3mL)中, 加入EDCI(102.36mg, 533.96 μ mol, 2当量)和DMAP(3.26mg, 26.70 μ mol, 0.1当量)。反应在15℃下搅拌18小时。反应混合物用H₂O(60mL)稀释, 并用DCM(100mL, 50mL*2)萃取。合并的有机层用盐水(100mL)洗涤, 用无水MgSO₄干燥, 过滤并在减压下浓缩, 得到残余物。残余物通过快速硅胶色谱纯化, 得到的无色液体即为化合物1。化合物1的核磁共振氢谱数据如图1所示。

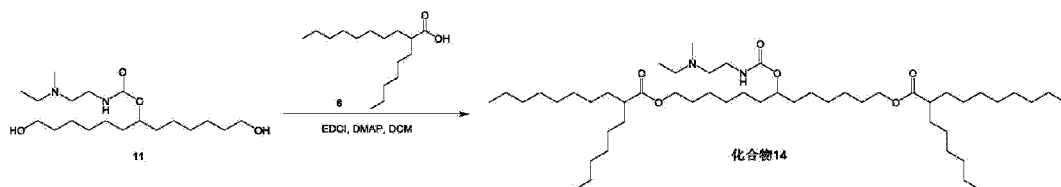
[0097] 实施例2: 化合物14的制备方法



[0098] 在25℃下, 向[7-苄氧基-1-(6-苄氧基己基)庚基]咪唑-1-羧酸酯和N'-乙基-N'-甲基-乙烷-1,2-二胺的ACN溶液中加入TEA。加入后, 将混合物升温至50℃并在50℃下搅拌16小时。

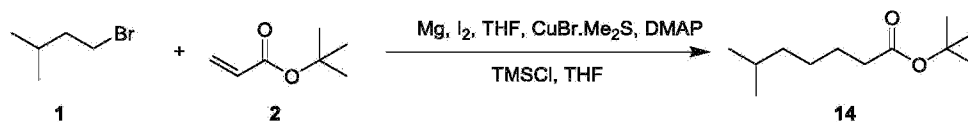


[0099] 在25℃和Ar₂气氛下，向[7-苄氧基-1-(6-苄氧基己基)庚基]-N-[2-[乙基(甲基)氨基]乙基]氨基甲酸酯的MeOH溶液中加入Pd/C。加入后，将混合物升温至50℃并在50℃下搅拌16小时。

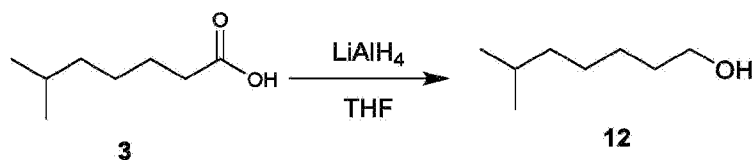


[0100] 在25℃下，向[7-羟基-1-(6-羟基己基)庚基]-N-[2-[乙基(甲基)氨基]乙基]氨基甲酸酯和2-己基癸酸在DCM中的溶液中加入DMAP。将混合物冷却至0℃，并在0℃下在N₂气氛下加入EDCI。加入后，将混合物升温至25℃并在25℃搅拌16小时。反应经过后处理得到化合物14(产率：95%)。化合物14的核磁共振氢谱数据如图3所示。

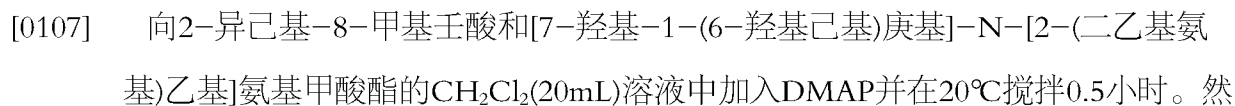
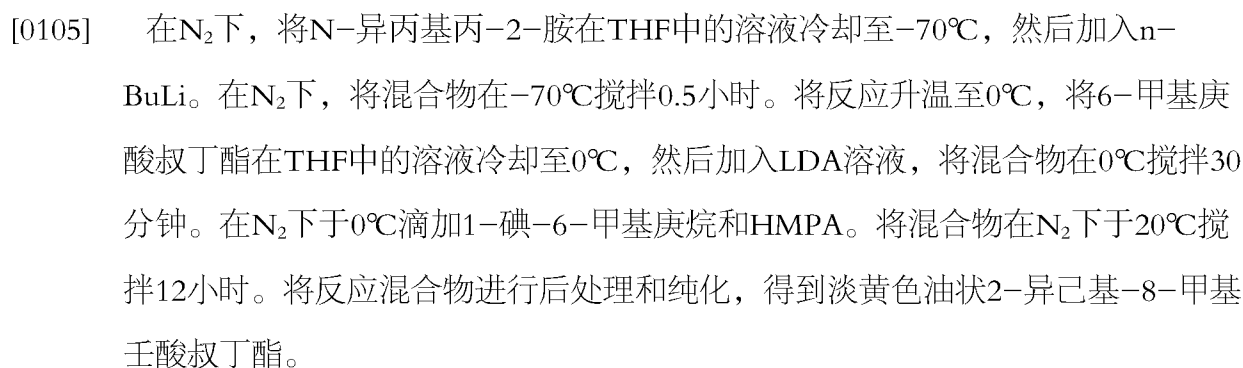
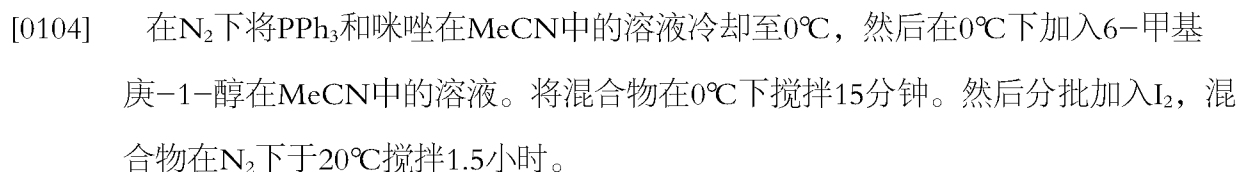
[0101] 实施例3：化合物15的制备方法



[0102] 向250mL圆底烧瓶中加入Mg和I₂，加入THF，并滴加1-溴-3-甲基丁烷。该反应在N₂下于20℃搅拌2小时。然后迅速加入DMAP和溴化亚铜-二甲基硫醚。将烧瓶冷却至-70℃，滴加丙-2-烯酸叔丁酯、TMSCl和THF。混合物在N₂下于20℃搅拌12小时。



[0103] 在N₂下将LiAlH₄在THF中的溶液冷却至0℃，然后在0℃下加入6-甲基庚酸在THF中的溶液。在N₂下将混合物在25℃下搅拌2小时。



后加入EDCI，将反应混合物在20℃搅拌12小时。化合物15的核磁共振氢谱数据如图4所示。

[0108] 实施例4：脂质纳米颗粒的制备和表征

[0109] 1、脂质纳米颗粒(LNP)的制备

[0110] 脂质纳米颗粒的制备包括将如上提到的可电离脂质、辅助脂质、结构脂质和聚合物结合的脂质等按照一定摩尔比混合溶解在无水乙醇中，以使总脂质相浓度为0.5–20mg/mL。将核酸溶解在pH低于7(例如3–6.5)的缓冲液中，并通过与脂质的乙醇溶液快速混合达到制备的目的。

[0111] 在该实施例中，将可电离脂质(MC3、化合物1、化合物14、化合物15)、辅助脂质(DSPC、DOPE)、结构脂质(胆固醇)和聚合物结合的脂质(DMG-PEG2000)按照表1所示的摩尔比溶解在无水乙醇中，配制的总脂质相浓度为1mg/mL。

[0112] 用水相缓冲液为pH4.0的50mM柠檬酸缓冲液溶解相应浓度的Luc-eGFP mRNA。mRNA与总脂质的质量比为1:30。

[0113] 利用迈安纳处方筛选芯片制备LNP，总流速12ml/min，脂质相与水相流速比为1:3。将收集得到的脂质纳米颗粒用PBS在4℃透析过夜以除去乙醇和酸性缓冲盐。透析液体积为样品体积的400倍以上。利用0.2微米的滤膜对透析后的样品进行过滤。除了利用微流控芯片，还可以利用其他方式比如注射混合等方式来制备脂质纳米颗粒。样品在透析过滤后，利用10kDa的纤维素超滤膜对样品进行浓缩。离心参数为1000g到2000g，离心时间在30分钟至1小时。离心温度为4℃。

[0114] 2、粒径测定:利用马尔文粒度仪测量制备的脂质纳米颗粒的粒径、多分散指数(PDI)。

[0115] 3、mRNA封装率测定：

[0116] 对于包裹了mRNA的脂质纳米颗粒，可以利用Quant-iT™ RiboGreen® RNA试剂盒的检测方法。具体操作如下：利用TE缓冲液(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 7.5)将样品稀释至10–20倍。向待测样品加入等体积的破乳剂(2% Triton X-100)后再稀释10–20倍。将RiboGreen®试剂在TE缓冲液中稀释100倍，并将100微升加入96孔板中。在相应的96孔板中加入100微升待测样品。同时利用mRNA标准品制备标准曲线。在酶标仪中读取利用480nm激发光激发的

520nm的荧光值。通过标准曲线计算包裹的和游离的mRNA的浓度。通过包裹的mRNA的浓度和总mRNA的浓度的比值来计算包封率。

[0117] 脂质纳米颗粒的组成成分和表征数据如表1所示。

[0118] 表1：脂质纳米颗粒粒径大小和核酸包封率

实验条件	LNP组成和摩尔百分比	粒径（nm）	PDI	包封率（%）
1	MC3:DSPC:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	78.53	0.147	95.54
2	化合物1:DSPC:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	84.00	0.264	93.11
3	化合物1:DSPC:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:37:3	60.45	0.240	88.91
4	化合物1:DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	77.27	0.249	91.56
5	化合物1:DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:37:3	64.99	0.335	88.49
6	化合物14: DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	110.3	0.314	94.20
7	化合物15: DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	77.81	0.181	97.38

[0119] 实施例5：荧光素酶mRNA动物体内递送实验

[0120] 通过观察小鼠体内荧光表达的方式来表征脂质纳米颗粒的核酸递送效率。将实施例4中制备的包裹Luc-eGFP mRNA的脂质纳米颗粒按照一定剂量通过尾静脉注射进老鼠体内。取体重在18–22g的雌性C57/BL6小鼠，随机分组，每组2只。适应性饲养完毕，按照0.5mg/kg的剂量(此处的0.5mg，指的是mRNA的剂量)，尾静脉注射包裹Luc-eGFP mRNA的LNP(无菌PBS溶液中)。为了观察荧光素酶的表达，将荧光素酶底物溶解在无菌PBS溶液中，制备成浓度为30mg/ml的溶液。

[0121] 注射LNP 6小时后，每只小鼠腹腔注射150ul荧光素酶底物溶液。放置5分钟，然后在二氧化碳箱中麻醉3分钟，麻醉完毕放入小动物活体成像仪中，进行成像。

[0122] 表2：脂质纳米颗粒递送Luc-eGFP mRNA的化学发光强度检测

实验条件	LNP组成和摩尔百分比	发光强度 6h (p/s/cm ² /sr)
1	MC3:DSPC:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	1.35E+8
2	化合物1:DSPC:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	2.26E+8
3	化合物1:DSPC:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:37:3	2.35E+8
4	化合物1:DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	2.09E+9
5	化合物1:DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:37:3	4.16 E+8
6	化合物14: DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	2.6 E+8
7	化合物15: DOPE:胆固醇:DMG-PEG-2000 50:10:38.5:1.5	1.10 E+9

[0123] 图2中的小鼠从左到右依次为实验条件1、2、3、4、5的小鼠。

[0124] 从表2和图2可以看出，与目前常用的可电离脂质MC3相比，本发明的化合物形成的脂质纳米颗粒在小鼠体内能够显著提高核酸的递送效率，具有良好的肝靶向以及在肝部高转染的潜力，证实了体内应用的可行性。

根据权利要求1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐, 其中,

A为C₁₋₆亚烷基；

或者，A为C₁₋₄亚烷基；

或者，A选自-CH₂-、-CH₂CH₂-或-CH₂CH₂CH₂-；

或者，A为-CH₂CH₂-。

[权利要求 4]

根据权利要求1-3中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐，
其中，

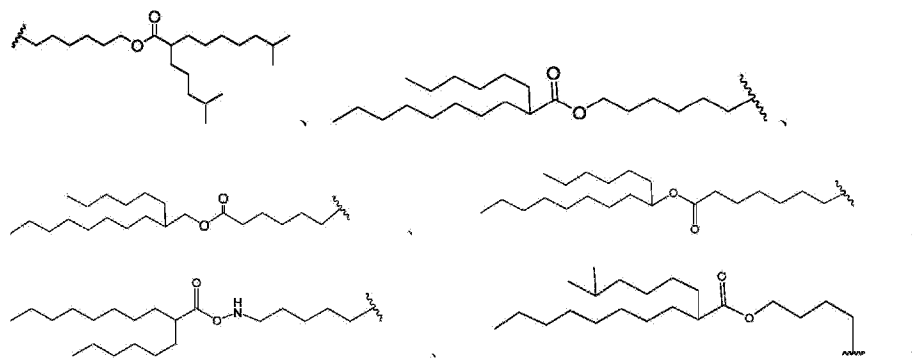
R³和R⁴独立地选自-R⁶、-G³-O-C(=O)-R⁵、-G³-C(=O)-O-R⁵、
-G³-NH-C(=O)-O-R⁵或-G³-NH-O-C(=O)-R⁵；

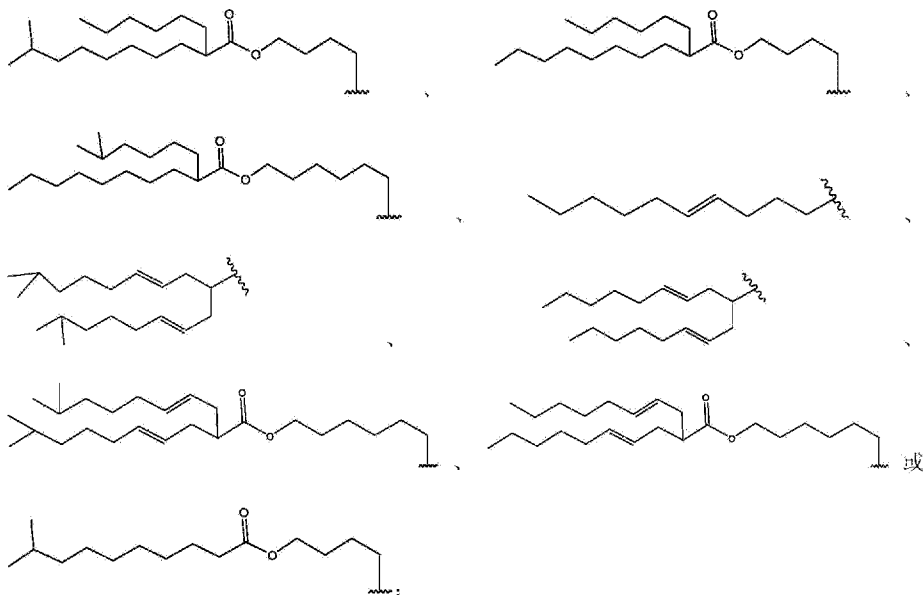
或者，R³和R⁴独立地选自-R⁶、-G³-O-C(=O)-R⁵或-G³-C(=O)-O-R⁵；

或者，R³和R⁴独立地选自-R⁶或-G³-O-C(=O)-R⁵；

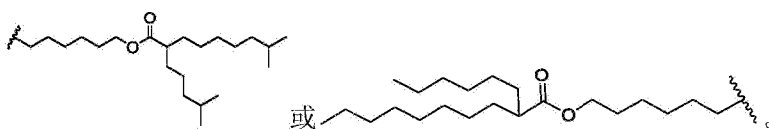
或者，R³和R⁴独立地选自-G³-O-C(=O)-R⁵；

或者，R³和R⁴独立地选自





或者, R^3 和 R^4 独立地选自



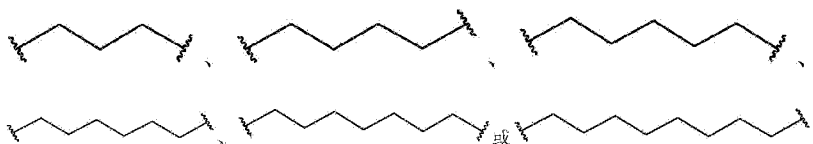
[权利要求 5]

根据权利要求1-4中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,
其中,

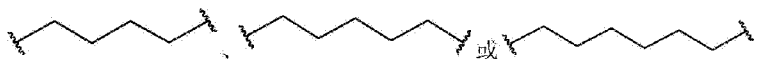
G^3 独立地为 C_{2-8} 亚烷基;

或者, G^3 独立地为 C_{2-6} 亚烷基;

或者, G^3 独立地选自



或者, G^3 独立地选自



[权利要求 6]

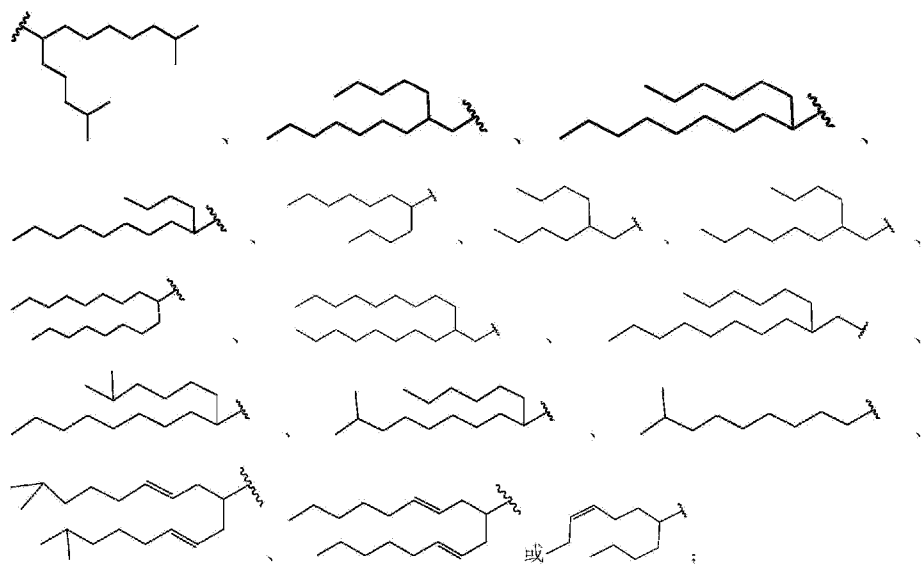
根据权利要求1-5中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,
其中,

R^5 选自 C_{2-24} 支链烷基或 C_{2-24} 支链烯基, 所述支链烷基或支链烯基任
选地被一个或多个 $-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-C(=O)-O-C_{1-24}$ 烷基、 $-O-$

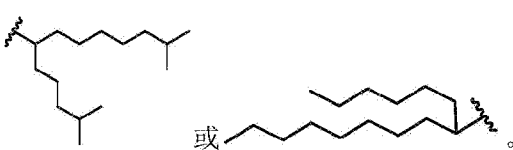
$\text{C}(=\text{O})-\text{C}_{1-24}$ 烷基、 $-\text{O}-\text{C}_{2-24}$ 烯基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}_{2-24}$ 烯基或 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_{2-24}$ 烯基取代；

或者， R^5 选自 C_{8-24} 支链烷基或 C_{8-24} 支链烯基，所述支链烷基或支链烯基任选地被一个或多个 $-\text{O}-\text{C}_{1-24}$ 烷基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}_{1-24}$ 烷基、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_{1-24}$ 烷基、 $-\text{O}-\text{C}_{2-24}$ 烯基、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}_{2-24}$ 烯基或 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_{2-24}$ 烯基取代；

或者， R^5 选自

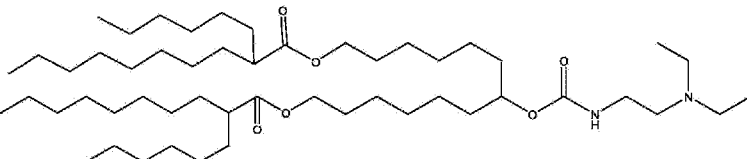
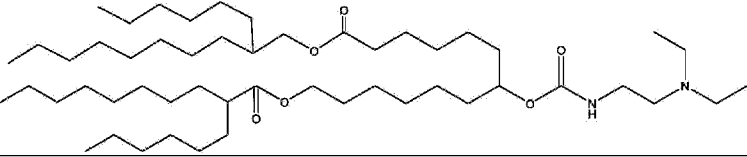
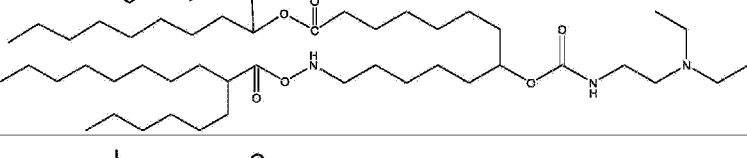
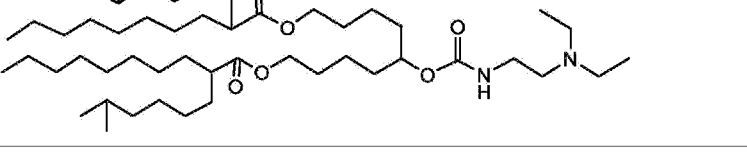


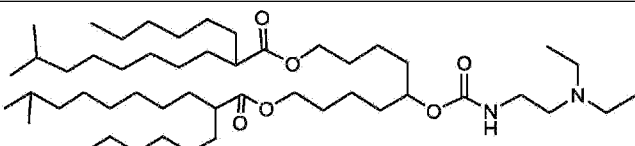
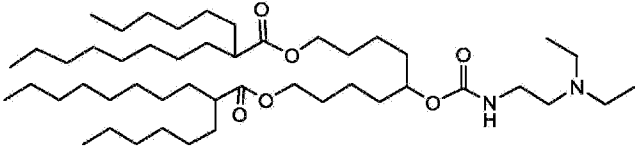
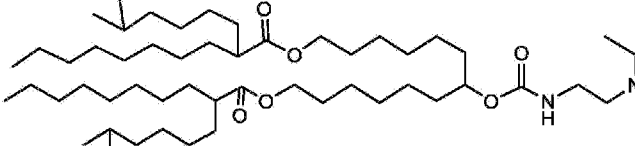
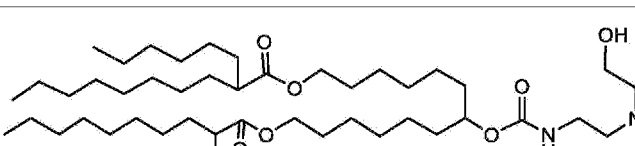
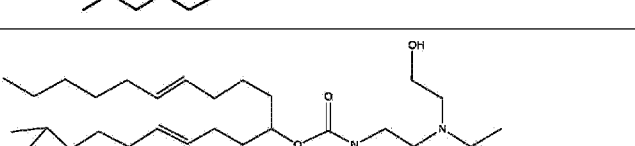
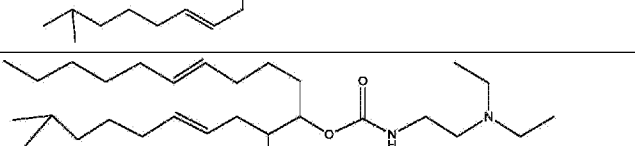
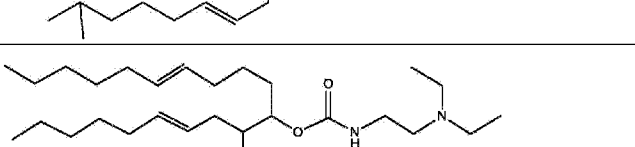
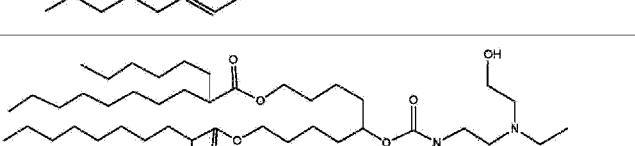
或者， R^5 选自

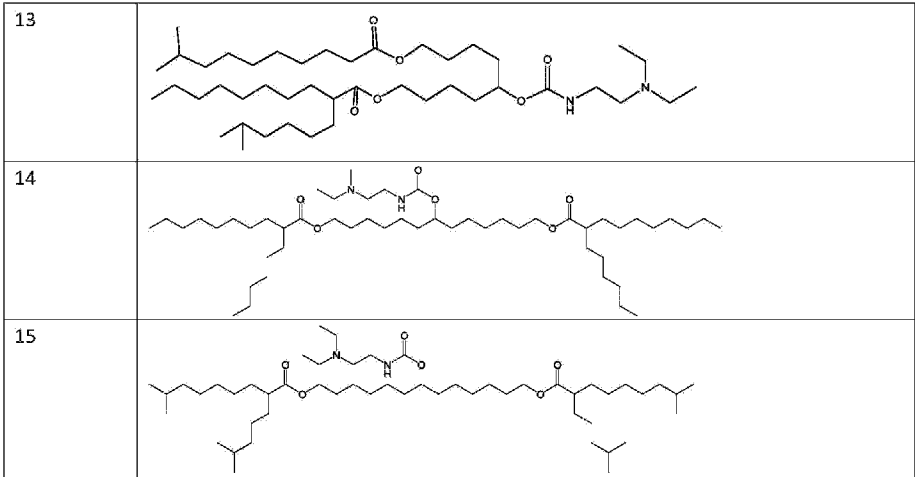


[权利要求 7]

一种化合物或其药学上可接受的盐，所述化合物选自如下化合物：

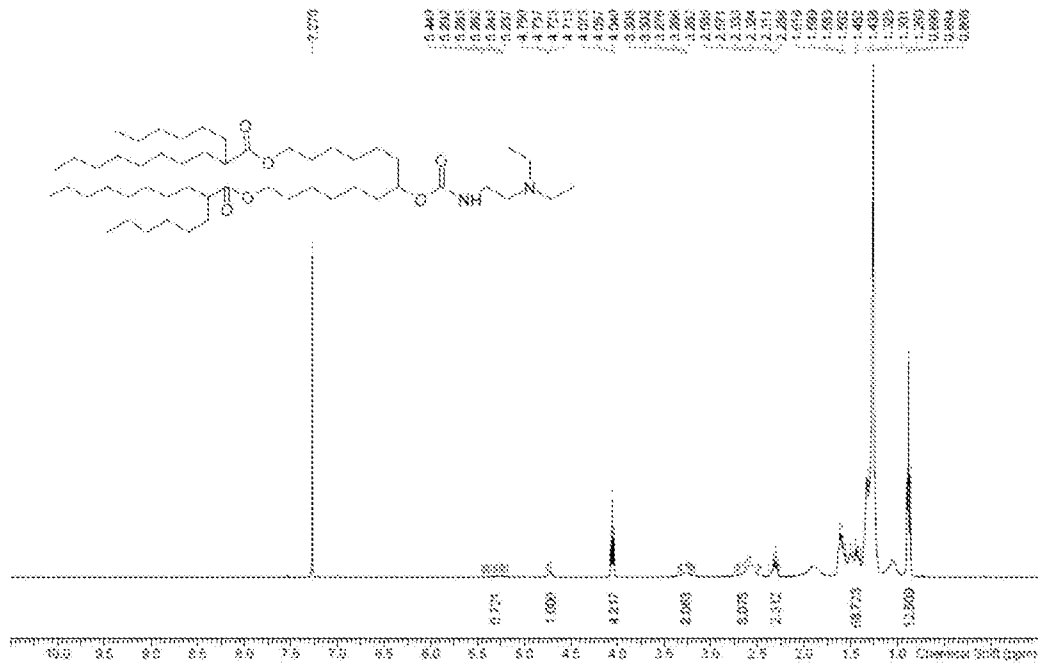
	化合物结构
1	
2	
3	
4	

5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	

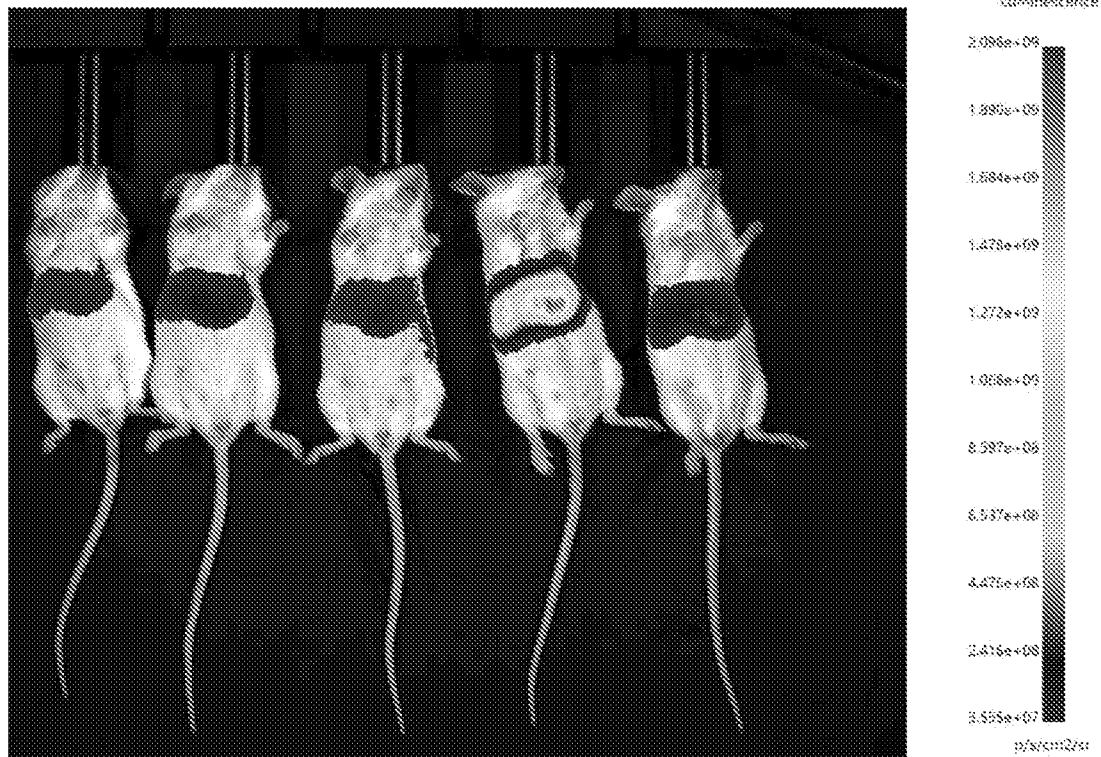


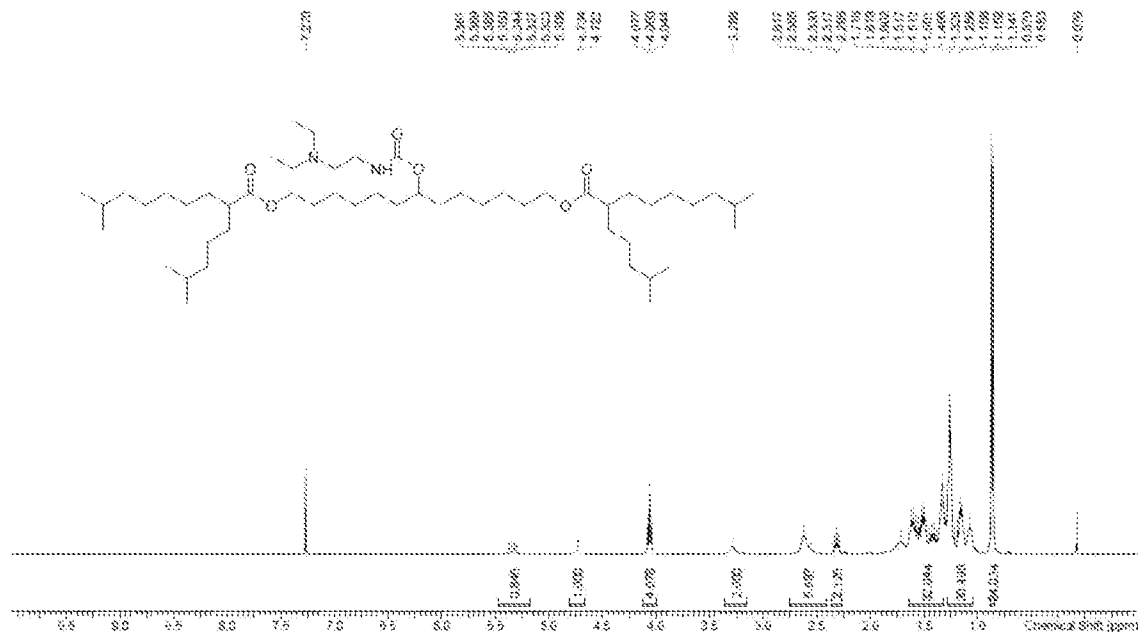
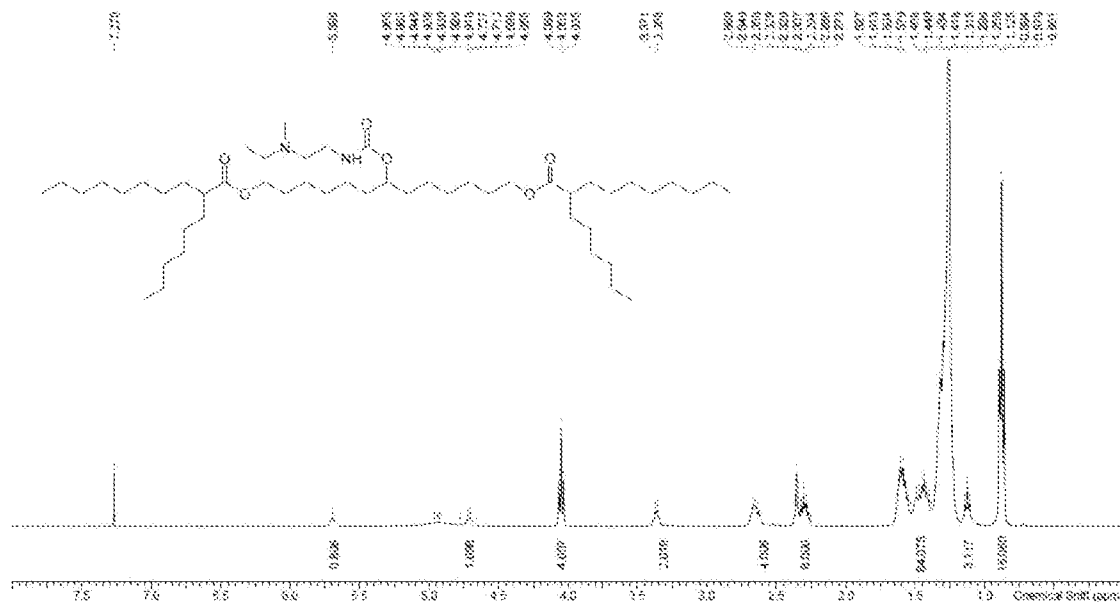
- [权利要求 8] 一种脂质载体，其包含权利要求1-7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐作为可电离脂质。
- [权利要求 9] 根据权利要求8所述的脂质载体，其进一步包含辅助脂质、结构脂质和聚合物结合的脂质。
- [权利要求 10] 一种核酸脂质纳米颗粒组合物，其包括权利要求1-7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或者权利要求8或9所述的脂质载体、以及核酸。
- [权利要求 11] 根据权利要求10所述的核酸脂质纳米颗粒组合物，其中，所述核酸为选自DNA、RNA、含有DNA或RNA的复合物、修饰后的DNA、修饰后的RNA以及修饰后的含有DNA或RNA的复合物中的至少一种。
- [权利要求 12] 一种药物制剂，其包含权利要求1-7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、权利要求8或9所述的脂质载体或者权利要求10或11所述的核酸脂质纳米颗粒组合物，以及药学上可接受的载体。
- [权利要求 13] 权利要求1-7中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、权利要求8或9所述的脂质载体、权利要求10或11所述的核酸脂质纳米颗粒组合物或者权利要求12所述的药物制剂在制备核酸药物或基因疫苗中的用途。

[图 1]



[图 2]

细则 26,
24.06.2024



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/097253

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C271/20(2006.01)i; C07C271/22(2006.01)i; C07C229/16(2006.01)i; A61K31/7088(2006.01)i; A61K31/713(2006.01)i; A61K47/18(2017.01)i; A61K9/127(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07C A61K

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

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

CNABS; CNTXT; ENTXTC; VEN; ENTXT; STN; CNKI; ISI-Web of science; 超星, CHAOXING; 万方, WANFANG; PATENTICS; 北京因诺维康医药科技有限公司, 潘兴华, 王成, 贾季雨, 可电离, 离子化, 阳离子, 脂质, 递送, 多肽, 基因, 核酸, 疫苗, 纳米, 颗粒, RNA, DNA, Ioniz+, cation+, lipid, molecule+, compound+, gene, nucleic acid+, vaccine+, nano+, particl+, 结构式(1)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2023044343 A1 (RENAGADE THERAPEUTICS MANAGEMENT INC.) 23 March 2023 (2023-03-23) claims 147-195, description, paragraphs [0657] and [0750], and page 119, table	1-13
X	CN 105152939 A (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC.) 16 December 2015 (2015-12-16) description, paragraphs [0019]-[0037], page 16, right column of table, 16th compound, and page 17, left column of table, third compound	1-13
X	CN 110003030 A (PROTIVA BIOTHERAPEUTICS INC.) 12 July 2019 (2019-07-12) description, paragraphs [0016]-[0054] and [0153]	1-13
X	CN 113260607 A (INTELLIA THERAPEUTICS INC.) 13 August 2021 (2021-08-13) description, paragraphs [0129]-[0135], and table 1, compound 107	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
“D” document cited by the applicant in the international application
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 August 2024

Date of mailing of the international search report

27 August 2024

Name and mailing address of the ISA/CN

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

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/097253

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Jayaraman, Muthusamy et al. "Maximizing the Potency of siRNA Lipid Nanoparticles for Hepatic Gene Silencing In Vivo" <i>Angewandte Chemie International Edition</i> , Vol. 51, No. 34, 08 August 2012 (2012-08-08), 8529 –8533 ISSN: 1433-7851, pages 8529-8530, and table 1	1-13
X	Lam, Kieu et al. "Unsaturated, Trialkyl Ionizable Lipids are Versatile Lipid-Nanoparticle Components for Therapeutic and Vaccine Applications" <i>Advanced Materials</i> , Vol. 35, No. 15, 05 March 2023 (2023-03-05), 2209624 (1-12) ISSN: 0935-9648, 2.1-2.4, and table 1	1-13
A	CN 115850104 A (BEIJING JITAI PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD. et al.) 28 March 2023 (2023-03-28) entire document	1-13
A	CN 115947671 A (RONGCAN BIOMEDICAL TECHNOLOGY (SHANGHAI) CO., LTD.) 11 April 2023 (2023-04-11) entire document	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/097253

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2023044343	A1	23 March 2023	CA	3231523	A1	23 March 2023
				TW	202325263	A	01 July 2023
				EP	4402121	A1	24 July 2024
				US	2023202966	A1	29 June 2023
CN	105152939	A	16 December 2015	JP	2016047832	A	07 April 2016
				AU	2019206116	A1	08 August 2019
				AU	2023200441	A1	02 March 2023
				AU	2017254919	A1	23 November 2017
				AU	2021201876	A1	22 April 2021
				AU	2022215225	A1	01 September 2022
				AU	2023255012	A1	16 November 2023
				AU	2018201038	A1	01 March 2018
				AU	2021277589	A1	23 December 2021
				AU	2023200568	A1	02 March 2023
				AU	2023200568	B2	10 August 2023
				AU	2023200568	C1	04 January 2024
				AU	2016216582	A1	01 September 2016
				AU	2016208436	A1	18 August 2016
				AU	2019283906	A1	16 January 2020
				WO	2010054384	A1	14 May 2010
				US	2012058144	A1	08 March 2012
				SG	196186	A1	29 January 2014
				US	8722082	B2	13 May 2014
CN	110003030	A	12 July 2019	ES	2898912	T3	09 March 2022
				HUE	041494	T2	28 May 2019
				RS	58077	B1	28 February 2019
				US	2023109183	A1	06 April 2023
				WO	2013126803	A1	29 August 2013
				NZ	700075	A	27 May 2016
				RU	2020111326	A	29 April 2020
				LT	2817287	T	27 December 2018
				MX	2014010211	A	10 August 2015
				MX	356904	B	07 June 2018
				IL	290931	A	01 April 2022
				PT	2817287	T	28 December 2018
				PL	2817287	T3	31 October 2019
				DK	2817287	T3	02 January 2019
				KR	20220045089	A	12 April 2022
				JP	2021014462	A	12 February 2021
				JP	7110297	B2	01 August 2022
				UA	120026	C2	25 September 2019
				US	2017007702	A1	12 January 2017
				US	10561732	B2	18 February 2020
				JP	2018039844	A	15 March 2018
				JP	6789918	B2	25 November 2020
				AU	2013222179	A1	09 October 2014
				AU	2013222179	B2	24 August 2017
				RU	2014138476	A	10 April 2016
				RU	2718053	C2	30 March 2020
				HK	1202855	A1	09 October 2015

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/097253

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		SG 11201405157 PA	30 October 2014
		IL 276924 A	29 October 2020
		KR 20140129263 A	06 November 2014
		KR 102075810 B1	10 February 2020
		KR 20210041135 A	14 April 2021
		KR 102384791 B1	08 April 2022
		JP 2015509505 A	30 March 2015
		JP 6275655 B2	07 February 2018
		JP 2022140533 A	26 September 2022
		CY 1121232 T1	29 May 2020
		HRP 20182156 T1	22 February 2019
		EP 3988104 A1	27 April 2022
		BR 112014020824 A2	20 June 2017
		BR 112014020824 B1	04 October 2022
		CA 2865412 A1	29 August 2013
		CA 2865412 C	19 July 2022
		SI 2817287 T1	28 February 2019
		US 2020306378 A1	01 October 2020
		US 11395854 B2	26 July 2022
		ZA 201406896 B	25 May 2016
		PH 12014501901 B1	24 November 2014
		KR 20200016396 A	14 February 2020
		KR 102239887 B1	13 April 2021
		US 2015064242 A1	05 March 2015
		US 9352042 B2	31 May 2016
		IL 234266 A0	02 November 2014
		IL 234266 B	30 September 2020
		MX 2022006512 A	11 July 2022
		EP 2817287 A1	31 December 2014
		EP 2817287 B1	03 October 2018
		ES 2702874 T3	06 March 2019
		EP 3473611 A1	24 April 2019
		EP 3473611 B1	20 October 2021
CN 113260607 A	13 August 2021	CO 2021008838 A2	29 October 2021
		TW 202039418 A	01 November 2020
		EA 202191559 A1	24 August 2021
		US 2022119341 A1	21 April 2022
		BR 112021010853 A2	31 August 2021
		WO 2020118041 A1	11 June 2020
		CA 3121621 A1	11 June 2020
		KR 20210108969 A	03 September 2021
		JP 2022514214 A	10 February 2022
		MX 2021006150 A	12 November 2021
		MA 54385 A	13 October 2021
		AU 2019392673 A1	10 June 2021
		PH 12021551279 A1	06 December 2021
		SG 11202105367 QA	29 June 2021
		EP 3891127 A1	13 October 2021
		IL 283622 A	29 July 2021
CN 115850104 A	28 March 2023	CN 115850104 B	18 July 2023

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2024/097253

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				WO	2023207101	A1	02 November 2023
				US	2023348361	A1	02 November 2023
				JP	2023164361	A	10 November 2023
				KR	20230154402	A	08 November 2023
				EP	4269385	A1	01 November 2023
				AU	2023201645	A1	16 November 2023
				TW	202342418	A	01 November 2023
CN	115947671	A	11 April 2023	CN	115947671	B	26 September 2023
				WO	2024109665	A1	30 May 2024

A. 主题的分类

C07C271/20(2006.01)i; C07C271/22(2006.01)i; C07C229/16(2006.01)i; A61K31/7088(2006.01)i; A61K31/713(2006.01)i; A61K47/18(2017.01)i; A61K9/127(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07C A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS;CNTXT;ENTXTC;VEN;ENTXT;STN;CNKI;ISI-Web of science;超星;万方;PATENTICS:北京因诺惟康医药科技有限公司, 潘兴华, 王成, 贾季雨, 可电离, 离子化, 阳离子, 脂质, 递送, 多肽, 基因, 核酸, 疫苗, 纳米, 颗粒, RNA, DNA, Ioniz+, cation+, lipid, molecule+, compound+, gene, nucleic acid+, vaccine+, nano+, particl+, 结构式(1)

C. 相关文件

类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2023044343 A1 (RENAGADE THERAPEUTICS MAN INC) 2023年3月23日 (2023 - 03 - 23) 权利要求147-195, 说明书第[0657]、[0750]段、第119页表格	1-13
X	CN 105152939 A (阿尔尼拉姆医药品有限公司) 2015年12月16日 (2015 - 12 - 16) 说明书第[0019]-[0037]段, 说明书第16页表格右侧栏第16个化合物, 第17页表格左侧栏第3个化合物	1-13
X	CN 110003030 A (野草莓树生物制药公司) 2019年7月12日 (2019 - 07 - 12) 说明书第[0016]-[0054]、[0153]段	1-13
X	CN 113260607 A (英特利亚治疗股份有限公司) 2021年8月13日 (2021 - 08 - 13) 说明书第[0129]-[0135]段以及表1化合物107	1-13

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

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

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“p” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

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

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

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

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2024年8月8日

国际检索报告邮寄日期

2024年8月27日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

潘成玉

电话号码 (+86) 0512-88996845

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	Jayaraman, Muthusamy 等. "Maximizing the Potency of siRNA Lipid Nanoparticles for Hepatic Gene Silencing In Vivo" Angew. Chem. Int. Ed., 第51卷, 第34期, 2012年8月8日 (2012 - 08 - 08), 8529 - 8533 ISSN: 1433-7851, 第8529-8530页以及表1	1-13
X	Lam, Kieu 等. "Unsaturated, Trialkyl Ionizable Lipids are Versatile Lipid-Nanoparticle Components for Therapeutic and Vaccine Applications" Advanced Materials, 第35卷, 第15期, 2023年3月5日 (2023 - 03 - 05), 2209624 (1-12) ISSN: 0935-9648, 2.1-2.4以及表1	1-13
A	CN 115850104 A (北京剂泰医药科技有限公司 等) 2023年3月28日 (2023 - 03 - 28) 全文	1-13
A	CN 115947671 A (荣灿生物医药技术(上海)有限公司) 2023年4月11日 (2023 - 04 - 11) 全文	1-13

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/097253

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2023044343	A1	2023年3月23日	CA	3231523	A1	2023年3月23日
				TW	202325263	A	2023年7月1日
				EP	4402121	A1	2024年7月24日
				US	2023202966	A1	2023年6月29日
CN	105152939	A	2015年12月16日	JP	2016047832	A	2016年4月7日
				AU	2019206116	A1	2019年8月8日
				AU	2023200441	A1	2023年3月2日
				AU	2017254919	A1	2017年11月23日
				AU	2021201876	A1	2021年4月22日
				AU	2022215225	A1	2022年9月1日
				AU	2023255012	A1	2023年11月16日
				AU	2018201038	A1	2018年3月1日
				AU	2021277589	A1	2021年12月23日
				AU	2023200568	A1	2023年3月2日
				AU	2023200568	B2	2023年8月10日
				AU	2023200568	C1	2024年1月4日
				AU	2016216582	A1	2016年9月1日
				AU	2016208436	A1	2016年8月18日
				AU	2019283906	A1	2020年1月16日
				WO	2010054384	A1	2010年5月14日
				US	2012058144	A1	2012年3月8日
				SG	196186	A1	2014年1月29日
				US	8722082	B2	2014年5月13日
CN	110003030	A	2019年7月12日	ES	2898912	T3	2022年3月9日
				HUE	041494	T2	2019年5月28日
				RS	58077	B1	2019年2月28日
				US	2023109183	A1	2023年4月6日
				WO	2013126803	A1	2013年8月29日
				NZ	700075	A	2016年5月27日
				RU	2020111326	A	2020年4月29日
				LT	2817287	T	2018年12月27日
				MX	2014010211	A	2015年8月10日
				MX	356904	B	2018年6月7日
				IL	290931	A	2022年4月1日
				PT	2817287	T	2018年12月28日
				PL	2817287	T3	2019年10月31日
				DK	2817287	T3	2019年1月2日
				KR	20220045089	A	2022年4月12日
				JP	2021014462	A	2021年2月12日
				JP	7110297	B2	2022年8月1日
				UA	120026	C2	2019年9月25日
				US	2017007702	A1	2017年1月12日
				US	10561732	B2	2020年2月18日
				JP	2018039844	A	2018年3月15日
				JP	6789918	B2	2020年11月25日
				AU	2013222179	A1	2014年10月9日
				AU	2013222179	B2	2017年8月24日
				RU	2014138476	A	2016年4月10日
				RU	2718053	C2	2020年3月30日
				HK	1202855	A1	2015年10月9日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/097253

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		SG 11201405157 PA 2014年10月30日	
		IL 276924 A 2020年10月29日	
		KR 20140129263 A 2014年11月6日	
		KR 102075810 B1 2020年2月10日	
		KR 20210041135 A 2021年4月14日	
		KR 102384791 B1 2022年4月8日	
		JP 2015509505 A 2015年3月30日	
		JP 6275655 B2 2018年2月7日	
		JP 2022140533 A 2022年9月26日	
		CY 1121232 T1 2020年5月29日	
		HRP 20182156 T1 2019年2月22日	
		EP 3988104 A1 2022年4月27日	
		BR 112014020824 A2 2017年6月20日	
		BR 112014020824 B1 2022年10月4日	
		CA 2865412 A1 2013年8月29日	
		CA 2865412 C 2022年7月19日	
		SI 2817287 T1 2019年2月28日	
		US 2020306378 A1 2020年10月1日	
		US 11395854 B2 2022年7月26日	
		ZA 201406896 B 2016年5月25日	
		PH 12014501901 B1 2014年11月24日	
		KR 20200016396 A 2020年2月14日	
		KR 102239887 B1 2021年4月13日	
		US 2015064242 A1 2015年3月5日	
		US 9352042 B2 2016年5月31日	
		IL 234266 A0 2014年11月2日	
		IL 234266 B 2020年9月30日	
		MX 2022006512 A 2022年7月11日	
		EP 2817287 A1 2014年12月31日	
		EP 2817287 B1 2018年10月3日	
		ES 2702874 T3 2019年3月6日	
		EP 3473611 A1 2019年4月24日	
		EP 3473611 B1 2021年10月20日	
CN 113260607 A 2021年8月13日		CO 2021008838 A2 2021年10月29日	
		TW 202039418 A 2020年11月1日	
		EA 202191559 A1 2021年8月24日	
		US 2022119341 A1 2022年4月21日	
		BR 112021010853 A2 2021年8月31日	
		WO 2020118041 A1 2020年6月11日	
		CA 3121621 A1 2020年6月11日	
		KR 20210108969 A 2021年9月3日	
		JP 2022514214 A 2022年2月10日	
		MX 2021006150 A 2021年11月12日	
		MA 54385 A 2021年10月13日	
		AU 2019392673 A1 2021年6月10日	
		PH 12021551279 A1 2021年12月6日	
		SG 11202105367 QA 2021年6月29日	
		EP 3891127 A1 2021年10月13日	
		IL 283622 A 2021年7月29日	
CN 115850104 A 2023年3月28日		CN 115850104 B 2023年7月18日	

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2024/097253

检索报告引用的专利文件				同族专利			公布日 (年/月/日)
				WO	2023207101	A1	2023年11月2日
				US	2023348361	A1	2023年11月2日
				JP	2023164361	A	2023年11月10日
				KR	20230154402	A	2023年11月8日
				EP	4269385	A1	2023年11月1日
				AU	2023201645	A1	2023年11月16日
				TW	202342418	A	2023年11月1日
CN	115947671	A	2023年4月11日	CN	115947671	B	2023年9月26日
				WO	2024109665	A1	2024年5月30日