



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118891051 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 01

(21) 申请号 202380027611.2

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002

(22) 申请日 2023.03.14

专利代理师 王灵菇

(30) 优先权数据

2022-039874 2022.03.15 JP

(51) Int. Cl.

A61K 31/7088 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.13

A61K 47/18 (2017.01)

A61K 47/24 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2023/009821 2023.03.14

A61K 47/28 (2006.01)

A61K 47/34 (2017.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/176821 JA 2023.09.21

A61K 48/00 (2006.01)

(71) 申请人 富士胶片株式会社

地址 日本

(72) 发明人 笠置典之 吉村优志 牧田庆子

田名部真太郎 二田原达也

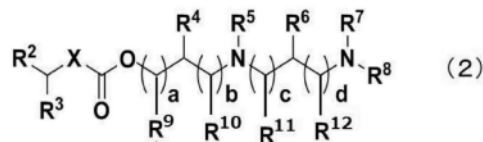
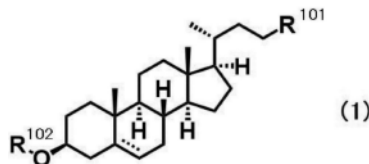
权利要求书4页 说明书29页

(54) 发明名称

脂质组合物

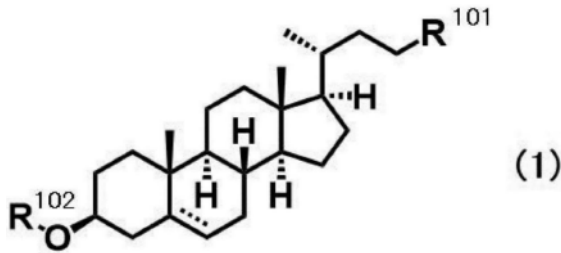
(57) 摘要

本发明的课题在于提供一种能够实现优异的核酸递送效率的脂质组合物。根据本发明,可提供一种脂质组合物,其包含下述式(1)所表示的化合物、下述式(2)所表示的脂质或其盐、中性脂质、具有非离子性亲水性高分子及核酸的脂质。式中的各记号的定义如本说明书中所记载。

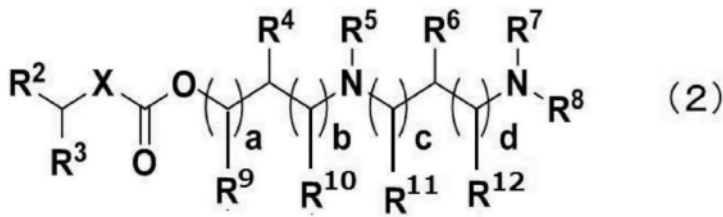


1. 一种脂质组合物,其包含下述式(1)所表示的化合物、下述式(2)所表示的脂质或其盐、中性脂质、具有非离子性亲水性高分子的脂质及核酸,

[化学式1]



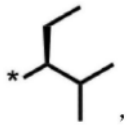
[化学式2]



式(1)中,

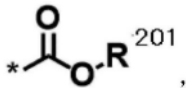
R^{101} 表示

[化学式3]



或者

[化学式4]



*表示键合位置, R^{201} 表示碳原子数7~18的链状烃基,

[化学式5]



表示单键或双键,

R^{102} 表示

(i) 氢原子、

(ii) 可以被选自OH、SH、COOH、 $NR^{106}R^{107}$ 、 $N(R^{108})C(O)R^{109}$ 或 CF_3 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基、

(iii) $C(O)R^{103}$ 或

(iv) $C(O)NR^{104}R^{105}$,

R^{103} 表示可以被选自OH、SH、COOH、 $NR^{110}R^{111}$ 、 $N(R^{112})C(O)R^{113}$ 或 CF_3 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

R^{104} 及 R^{105} 分别独立地表示氢原子、或可以被选自OH、SH、COOH、 $NR^{110}R^{111}$ 、 $N(R^{112})C(O)R^{113}$ 或 CF_3 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

R^{106} 、 R^{107} 、 R^{108} 及 R^{109} 分别独立地表示氢原子、或者可以被选自OH、SH、COOH、 $NR^{110}R^{111}$ 、N(R^{112})C(O) R^{113} 或 CF_3 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基，

R^{110} 、 R^{111} 、 R^{112} 及 R^{113} 分别独立地表示氢原子、或者可以被选自OH或SH中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基，

式(2)中，X表示 $-NR^1-$ 或 $-O-$ ，

R^1 表示氢原子、碳原子数6~24的烃基或 $R^{21}-L^1-R^{22}$ -所表示的基团， R^{21} 表示碳原子数1~24的烃基， L^1 表示 $-O(CO)O-$ 、 $-O(CO)-$ 、 $-(CO)O-$ 、 $-O-$ 或

[化学式6]



R^{22} 表示属于2价的连接基的碳原子数1~18的烃连接基，

R^2 及 R^3 分别独立地表示氢原子、碳原子数3~24的烃基或 $R^{31}-L^2-R^{32}$ -所表示的基团， R^{31} 表示碳原子数1~24的烃基， L^2 表示 $-O(CO)O-$ 、 $-O(CO)-$ 、 $-(CO)O-$ 、 $-O-$ 或

[化学式7]



R^{32} 表示属于2价的连接基的碳原子数1~18的烃连接基，

R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} 分别独立地表示氢原子或可以被取代的碳原子数1~18的烷基，

R^4 与 R^5 、 R^{10} 与 R^5 、 R^5 与 R^{12} 、 R^4 与 R^6 、 R^5 与 R^6 、 R^6 与 R^7 、 R^6 与 R^{10} 、 R^{12} 与 R^7 、以及 R^7 与 R^8 中的任意一组以上可以相互连接而形成可以包含O原子的4~7元环，

可以被取代的碳原子数1~18的烷基上的取代基为羟基、羧基、 $-NR^{45}R^{46}$ 所表示的氨基、取代或未经取代的芳基、取代或未经取代的杂芳基、 $-O(CO)O-R^{41}$ 、 $-O(CO)-R^{42}$ 、 $-(CO)O-R^{43}$ 或 $-O-R^{44}$ 所表示的基团， R^{41} 、 R^{42} 、 R^{43} 、 R^{44} 、 R^{45} 及 R^{46} 分别独立地表示碳原子数1~18的烃基，

取代或未经取代的芳基及取代或未经取代的杂芳基上的取代基为碳原子数1~18的烷基、羟基、羧基、 $-NR^{45}R^{46}$ 所表示的氨基、 $-O(CO)O-R^{41}$ 、 $-O(CO)-R^{42}$ 、 $-(CO)O-R^{43}$ 或 $-O-R^{44}$ 所表示的基团， R^{41} 、 R^{42} 、 R^{43} 、 R^{44} 、 R^{45} 及 R^{46} 分别独立地表示碳原子数1~18的烃基，

a、b、c及d分别独立地表示0~3的整数，其中，a+b为1以上，c+d为1以上。

2. 根据权利要求1所述的脂质组合物，其中，

式(1)中， R^{102} 表示

(i) 氢原子或

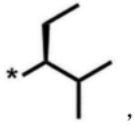
(iv) $C(O)NR^{104}R^{105}$ ， R^{104} 及 R^{105} 分别独立地表示氢原子或可以被选自OH、 $NR^{110}R^{111}$ 或N(R^{112})C(O) R^{113} 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基，

R^{110} 、 R^{111} 、 R^{112} 及 R^{113} 分别独立地表示氢原子或可以被1个以上的OH取代的碳原子数1~4的烃基。

3. 根据权利要求1所述的脂质组合物，其中，

式(1)中的 R^{101} 表示

[化学式8]

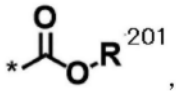


R^{102} 表示C(O)NR¹⁰⁴R¹⁰⁵,

R^{104} 及 R^{105} 分别独立地表示氢原子或可以被选自OH、NR¹¹⁰R¹¹¹或N(R¹¹²)C(O)R¹¹³中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基, R^{110} 、 R^{111} 、 R^{112} 及 R^{113} 分别独立地表示氢原子或可以被1个以上的OH取代的碳原子数1~4的烃基。

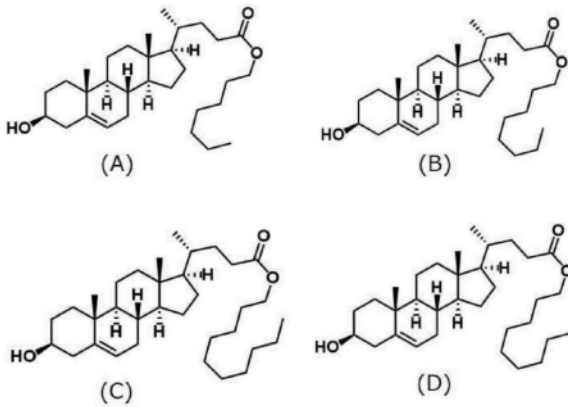
4. 根据权利要求1所述的脂质组合物,其中,
式(1)中的 R^{101} 表示

[化学式9]

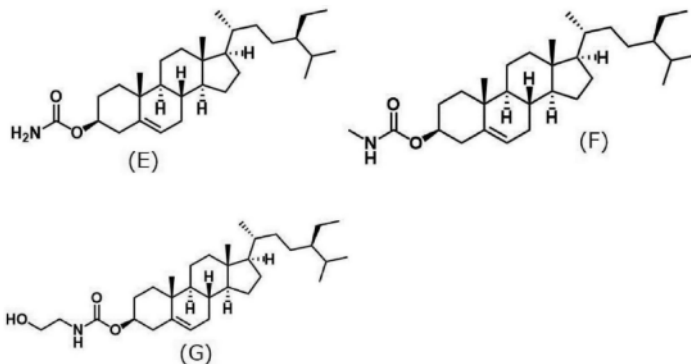


R^{102} 表示氢原子, R^{201} 表示碳原子数为7~13的链状烃基。

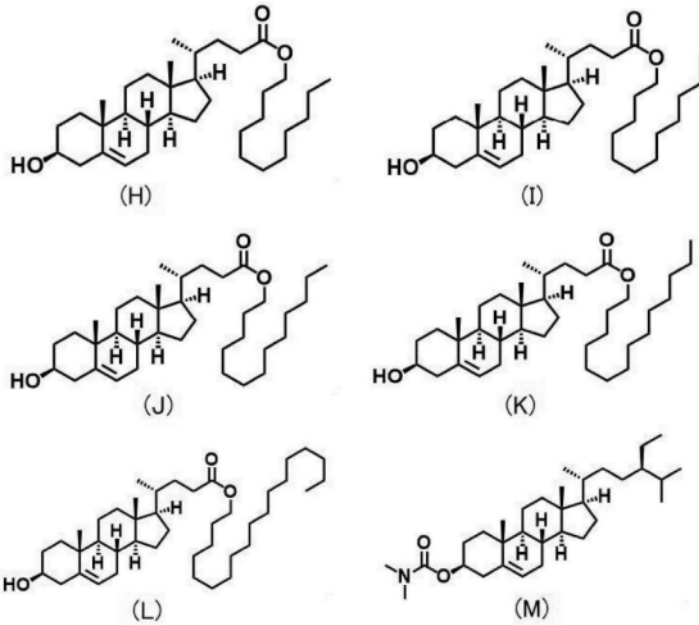
5. 根据权利要求1至4中任一项所述的脂质组合物,其中,
式(1)所表示的化合物为下述(A)~(M)中的任一个所表示的化合物,
[化学式10]



[化学式11]



[化学式12]



6. 根据权利要求1至5中任一项所述的脂质组合物,其中,式(1)所表示的化合物的含有率相对于总脂质为10摩尔%~60摩尔%。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的脂质组合物,其中,式(2)所表示的脂质或其盐的含有率相对于总脂质为30摩尔%~70摩尔%。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的脂质组合物,其中,所述中性脂质为两性离子性脂质。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的脂质组合物,其中,所述中性脂质为磷脂质。
10. 根据权利要求1至9中任一项所述的脂质组合物,其中,所述中性脂质的含有率相对于总脂质为1摩尔%~30摩尔%。
11. 根据权利要求1至10中任一项所述的脂质组合物,其中,所述具有非离子性亲水性高分子的脂质包含酰基,酰基的碳链长度为8~26。
12. 根据权利要求1至11中任一项所述的脂质组合物,其中,所述具有非离子性亲水性高分子的脂质的含有率相对于总脂质为0.1摩尔%~10摩尔%。
13. 根据权利要求1至12中任一项所述的脂质组合物,其中,脂质相对于核酸的重量比为5~100。
14. 根据权利要求1至13中任一项所述的脂质组合物,其为用于将核酸导入至细胞的组合物。
15. 根据权利要求1至13中任一项所述的脂质组合物,其为用于体内核酸递送的组合物。
16. 根据权利要求1至15中任一项所述的脂质组合物,其为脂质粒子。

脂质组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种包含胆固醇衍生物和脂质的脂质组合物。

背景技术

[0002] 核酸药物对疾病的作用机制明确,副作用也少,作为下一代的医药品而被受期待,核酸药物的开发正在积极进行。作为将核酸递送至细胞的技术之一,已知有将核酸内含于脂质体或脂质粒子进行给药的方法。在该技术中,作为脂质,使用具有在氨基等低pH下成为阳离子的取代基的脂质,通过对颗粒赋予适当的电荷来实现核酸的递送。

[0003] 作为含于脂质粒子中的化合物,在专利文献1及专利文献2中公开有一种具有酯基、缩醛基等来作为连接脂肪族基团和氨基的连接基的化合物。在专利文献3中公开有一种具有乙烯氧基或酰胺基、脲基等来作为连接脂肪族基团和氨基的连接基的化合物。在专利文献4中,记载有包含作为阳离子性脂质的DLin-MC3-DMa的脂质纳米颗粒。在专利文献5中,记载有可用于将药物递送至细胞及组织的阳离子性脂质。在专利文献6中,研究制造核酸含有颗粒时组合的脂质化合物的种类或组成比。

[0004] 作为用于提高核酸药物的药效的主要方法,可以举出提高细胞摄取的方法及提高核内体脱离效率的方法。与提高细胞摄取相关的研究以开发离子化脂质为中心而进行得很活跃,但与提高核内体脱离效率相关的研究几乎没有。内含核酸的脂质粒子通常由离子化脂质/辅助脂质/胆固醇/聚乙二醇脂质构成。在非专利文献1中,报告了着眼于胆固醇而提高核内体脱离效率的内容。并且,在专利文献7中,报告了一种能够实现向免疫细胞、尤其是T细胞、树突状细胞递送核酸的脂质纳米粒(LNP)。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:国际公开W02010/054401号小册子

[0008] 专利文献2:国际公开W02010/144740号小册子

[0009] 专利文献3:国际公开W02010/054405号小册子

[0010] 专利文献4:美国专利公开2013/0245107号公报

[0011] 专利文献5:国际公开W02015/095340号小册子

[0012] 专利文献6:国际公开W02009/127060号小册子

[0013] 专利文献7:国际公开W02019/152557号小册子

[0014] 非专利文献

[0015] 非专利文献1:NATURE COMMUNICATIONS (2020) 11:983

发明内容

[0016] 发明要解决的技术课题

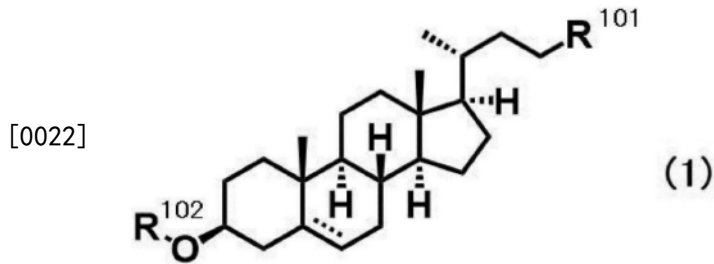
[0017] 依然期待能够实现优异的核酸递送效率的脂质组合物的开发。本发明应要解决的课题在于提供一种能够实现优异的核酸递送效率的脂质组合物。

[0018] 用于解决技术课题的手段

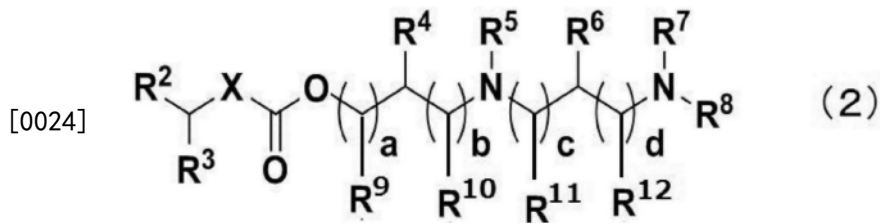
[0019] 本发明人为了解决上述课题而进行深入研究的结果,发现了通过使用式(1)所表示的化合物作为胆固醇衍生物,并且使用式(2)所表示的脂质或其盐、中性脂质及具有非离子性亲水性高分子的脂质作为脂质,可获得显示出优异的核酸递送效率的脂质组合物。本发明是根据上述发现而完成的。根据本发明,可提供以下发明。

[0020] <1>一种脂质组合物,其包含下述式(1)所表示的化合物、下述式(2)所表示的脂质或其盐、中性脂质、具有非离子性亲水性高分子的脂质及核酸。

[0021] [化学式1]



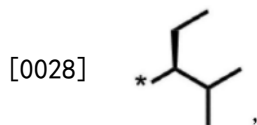
[0023] [化学式2]



[0025] 式(1)中,

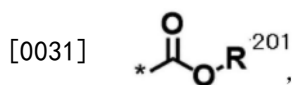
[0026] R¹⁰¹表示

[0027] [化学式3]



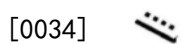
[0029] 或者

[0030] [化学式4]



[0032] *表示键合位置,R²⁰¹表示碳原子数7~18的链状烃基,

[0033] [化学式5]



[0035] 表示单键或双键,

[0036] R¹⁰²表示

[0037] (i) 氢原子、

[0038] (ii) 可以被选自OH、SH、COOH、NR¹⁰⁶R¹⁰⁷、N(R¹⁰⁸)C(O)R¹⁰⁹或CF₃中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基、

[0039] (iii) C(O)R¹⁰³或

[0040] (iv)C(O)NR¹⁰⁴R¹⁰⁵,

[0041] R¹⁰³表示可以被选自OH、SH、COOH、NR¹¹⁰R¹¹¹、N(R¹¹²)C(O)R¹¹³或CF₃中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

[0042] R¹⁰⁴及R¹⁰⁵分别独立地表示氢原子、或可以被选自OH、SH、COOH、NR¹¹⁰R¹¹¹、N(R¹¹²)C(O)R¹¹³或CF₃中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

[0043] R¹⁰⁶、R¹⁰⁷、R¹⁰⁸及R¹⁰⁹分别独立地表示氢原子、或者可以被选自OH、SH、COOH、NR¹¹⁰R¹¹¹、N(R¹¹²)C(O)R¹¹³或CF₃中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

[0044] R¹¹⁰、R¹¹¹、R¹¹²及R¹¹³分别独立地表示氢原子、或者可以被选自OH或SH中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基。

[0045] 式(2)中,X表示-NR¹-或-O-

[0046] R¹表示氢原子、碳原子数6~24的烃基或R²¹-L¹-R²²-所表示的基团,R²¹表示碳原子数1~24的烃基,L¹表示-O(CO)O-、-O(CO)-、-(CO)O-、-O-或

[0047] [化学式6]



[0049] R²²表示属于2价的连接基的碳原子数1~18的烃连接基,

[0050] R²及R³分别独立地表示氢原子、碳原子数3~24的烃基或R³¹-L²-R³²-所表示的基团,R³¹表示碳原子数1~24的烃基,L²表示-O(CO)O-、-O(CO)-、-(CO)O-、-O-或

[0051] [化学式7]



[0053] R³²表示属于2价的连接基的碳原子数1~18的烃连接基,

[0054] R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹及R¹²分别独立地表示氢原子或可以被取代的碳原子数1~18的烷基,

[0055] R⁴与R⁵、R¹⁰与R⁵、R⁵与R¹²、R⁴与R⁶、R⁵与R⁶、R⁶与R⁷、R⁶与R¹⁰、R¹²与R⁷、以及R⁷与R⁸中的任意一组以上可以相互连接而形成可以包含O原子的4~7元环,

[0056] 可以被取代的碳原子数1~18的烷基上的取代基为羟基、羧基、-NR⁴⁵R⁴⁶所表示的氨基、取代或未经取代的芳基、取代或未经取代的杂芳基、-O(CO)O-R⁴¹、-O(CO)-R⁴²、-(CO)O-R⁴³或-O-R⁴⁴所表示的基团,R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵及R⁴⁶分别独立地表示碳原子数1~18的烃基,

[0057] 取代或未经取代的芳基及取代或未经取代的杂芳基上的取代基为碳原子数1~18的烷基、羟基、羧基、-NR⁴⁵R⁴⁶所表示的氨基、-O(CO)O-R⁴¹、-O(CO)-R⁴²、-(CO)O-R⁴³或-O-R⁴⁴所表示的基团,R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵及R⁴⁶分别独立地表示碳原子数1~18的烃基,

[0058] a、b、c及d分别独立地表示0~3的整数,其中,a+b为1以上,c+d为1以上。

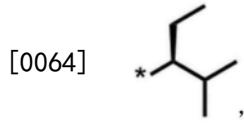
[0059] <2>根据<1>所述的脂质组合物,其中,

[0060] 式(1)中,R¹⁰²表示(i)氢原子或(iv)CNR¹⁰⁴R¹⁰⁵,R¹⁰⁴及R¹⁰⁵分别独立地表示氢原子或可以被选自OH、NR¹¹⁰R¹¹¹或N(R¹¹²)C(O)R¹¹³中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,R¹¹⁰、R¹¹¹、R¹¹²及R¹¹³分别独立地表示氢原子或可以被1个以上的OH取代的碳原子数1~4的烃基。

[0061] <3>根据<1>所述的脂质组合物,其中,

[0062] 式(1)中的 R^{101} 表示

[0063] [化学式8]

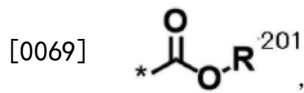


[0065] R^{102} 表示 $C(O)NR^{104}R^{105}$, R^{104} 及 R^{105} 分别独立地表示氢原子或可以被选自 OH 、 $NR^{110}R^{111}$ 或 $N(R^{112})C(O)R^{113}$ 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基, R^{110} 、 R^{111} 、 R^{112} 及 R^{113} 分别独立地表示氢原子或可以被1个以上的 OH 取代的碳原子数1~4的烃基。

[0066] <4>根据<1>所述的脂质组合物,其中,

[0067] 式(1)中的 R^{101} 表示

[0068] [化学式9]

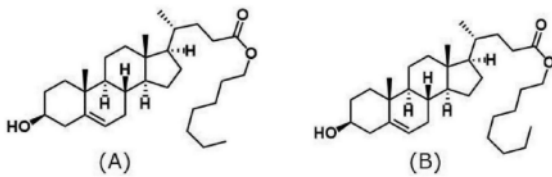


[0070] R^{102} 表示氢原子, R^{201} 表示碳原子数为7~13的链状烃基。

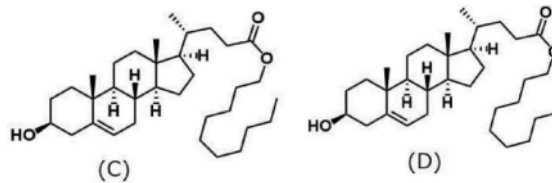
[0071] <5>根据<1>至<4>中任一项所述的脂质组合物,其中,

[0072] 式(1)所表示的化合物为下述(A)~(M)中的任一个所表示的化合物

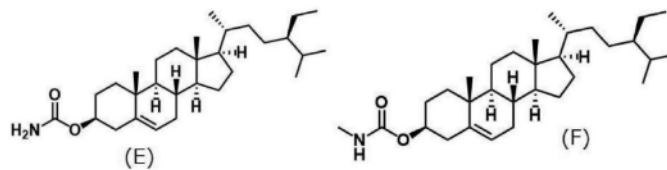
[0073] [化学式10]



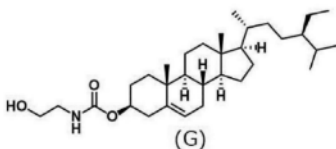
[0074]



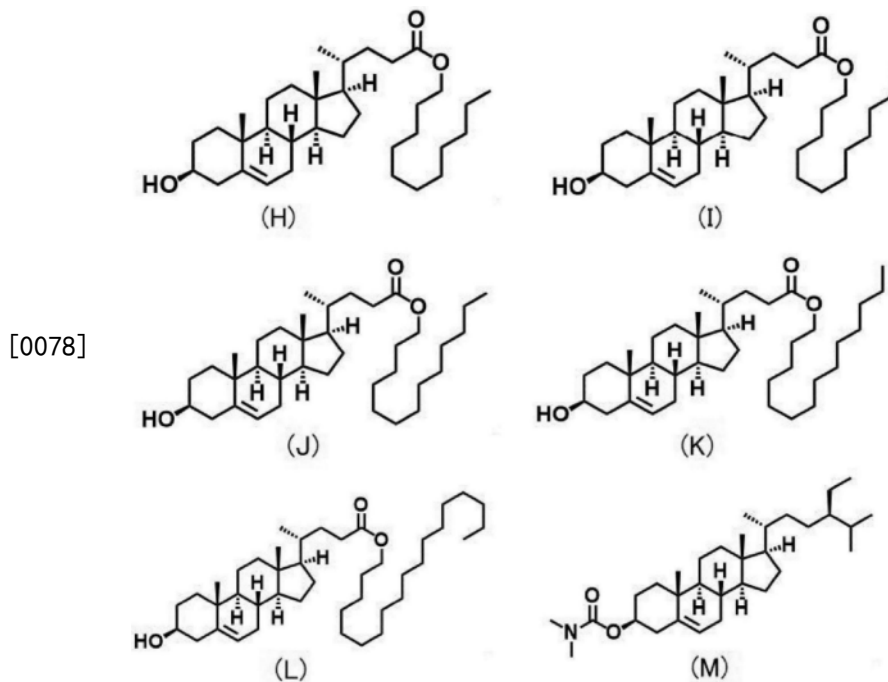
[0075] [化学式11]



[0076]



[0077] [化学式12]



- [0079] <6>根据<1>至<5>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0080] 式(1)所表示的化合物的含有率相对于总脂质为10摩尔%~60摩尔%。
- [0081] <7>根据<1>至<6>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0082] 式(2)所表示的脂质或其盐的含有率相对于总脂质为30摩尔%~70摩尔%。
- [0083] <8>根据<1>至<7>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0084] 上述中性脂质为两性离子性脂质。
- [0085] <9>根据<1>至<8>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0086] 上述中性脂质为磷脂质。
- [0087] <10>根据<1>至<9>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0088] 上述中性脂质的含有率相对于总脂质为1摩尔%~30摩尔%。
- [0089] <11>根据<1>至<10>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0090] 上述具有非离子性亲水性高分子的脂质包含酰基,酰基的碳链长度为8~26。
- [0091] <12>根据<1>至<11>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0092] 具有上述非离子性亲水性高分子的脂质的含有率相对于总脂质为0.1摩尔%~10摩尔%。
- [0093] <13>根据<1>至<12>中任一项所述的脂质组合物,其中,
- [0094] 脂质与核酸的重量比为5~100。
- [0095] <14>根据<1>至<13>中任一项所述的脂质组合物,其为用于将核酸导入细胞中的组合物。
- [0096] <15>根据<1>至<13>中任一项所述的脂质组合物,其为用于体内核酸递送的组合物。
- [0097] <16>根据<1>至<15>中任一项所述的脂质组合物,其为脂质粒子。
- [0098] 发明效果
- [0099] 本发明的脂质组合物能够实现优异的核酸递送效率。

具体实施方式

[0100] 以下,对本发明进行详细说明。

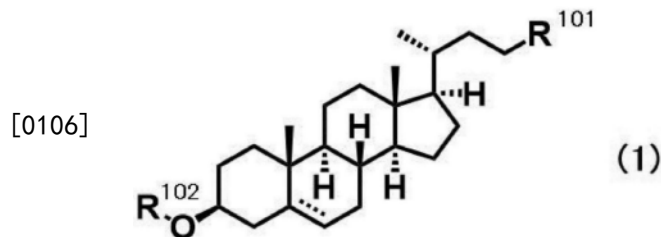
[0101] 在本说明书中,“~”表示将记载于其前后的数值分别作为最小值及最大值而包含的范围。

[0102] 本发明的脂质组合物包含式(1)所表示的化合物、式(2)所表示的脂质或其盐、中性脂质、具有非离子性亲水性高分子的脂质及核酸。通过采用上述结构,能够有效发挥向核酸细胞导入引起的效果即能够实现优异的核酸递送效率,这是在本发明中首次发现的知识。

[0103] <式(1)所表示的化合物>

[0104] 在本发明中,使用下述式(1)所表示的化合物。

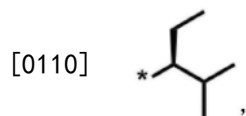
[0105] [化学式13]



[0107] 式(1)中,

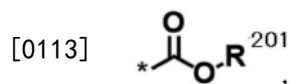
[0108] R^{101} 表示

[0109] [化学式14]



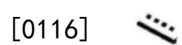
[0111] 或者

[0112] [化学式15]



[0114] *表示键合位置, R^{201} 表示碳原子数7~18的链状烷基,

[0115] [化学式16]



[0117] 表示单键或双键,

[0118] R^{102} 表示

[0119] (i) 氢原子、

[0120] (ii) 可以被选自OH、SH、COOH、 $NR^{106}R^{107}$ 、 $N(R^{108})C(O)R^{109}$ 或 CF_3 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烷基、

[0121] (iii) $C(O)R^{103}$ 或

[0122] (iv) $C(O)NR^{104}R^{105}$,

[0123] R^{103} 表示可以被选自OH、SH、COOH、 $NR^{110}R^{111}$ 、 $N(R^{112})C(O)R^{113}$ 或 CF_3 中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烷基、

[0124] R^{104} 及 R^{105} 分别独立地表示氢原子、或可以被选自OH、SH、COOH、 $NR^{110}R^{111}$ 、 $N(R^{112})C$

(O)R¹¹³或CF₃中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

[0125] R¹⁰⁶、R¹⁰⁷、R¹⁰⁸及R¹⁰⁹分别独立地表示氢原子、或者可以被选自OH、SH、COOH、NR¹¹⁰R¹¹¹、N(R¹¹²)C(O)R¹¹³或CF₃中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

[0126] R¹¹⁰、R¹¹¹、R¹¹²及R¹¹³分别独立地表示氢原子、或者可以被选自OH或SH中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基。

[0127] 作为式(1)的定义中的碳原子数7~18的链状烃基,可以是饱和烃基或不饱和烃基中的任一种,可以是直链或支链中的任一种,但优选为饱和烃基。

[0128] 作为式(1)的定义中的碳原子数1~4的烃基,可以是饱和烃基或不饱和烃基中的任一种,可以是直链或支链中的任一种,但优选为饱和烃基。作为碳原子数1~4的烃基,例如,可以举出甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、亚乙基、正亚丙基、亚异丙基、正亚丁基、亚异丁基等。

[0129] 优选为,式(1)中,R¹⁰²表示

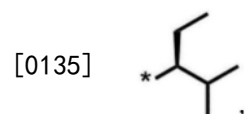
[0130] (i) 氢原子或

[0131] (iv)C(O)NR¹⁰⁴R¹⁰⁵,R¹⁰⁴及R¹⁰⁵分别独立地表示氢原子、或可以被选自OH、NR¹¹⁰R¹¹¹、或N(R¹¹²)C(O)R¹¹³中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

[0132] R¹¹⁰、R¹¹¹、R¹¹²及R¹¹³分别独立地表示氢原子、或者可以被1个以上的OH取代的碳原子数1~4的烃基。

[0133] 优选为,式(1)中的R¹⁰¹表示

[0134] [化学式17]



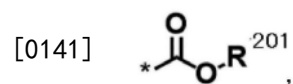
[0136] R¹⁰²表示C(O)NR¹⁰⁴R¹⁰⁵,

[0137] R¹⁰⁴及R¹⁰⁵分别独立地表示氢原子、或可以被选自OH、NR¹¹⁰R¹¹¹、或N(R¹¹²)C(O)R¹¹³中的1个以上的取代基取代的碳原子数1~4的烃基,

[0138] R¹¹⁰、R¹¹¹、R¹¹²及R¹¹³分别独立地表示氢原子、或者可以被1个以上的OH取代的碳原子数1~4的烃基。

[0139] 优选为,式(1)中的R¹⁰¹表示

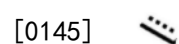
[0140] [化学式18]



[0142] R¹⁰²表示氢原子,R²⁰¹表示碳原子数7~13的链状烃基。

[0143] 优选

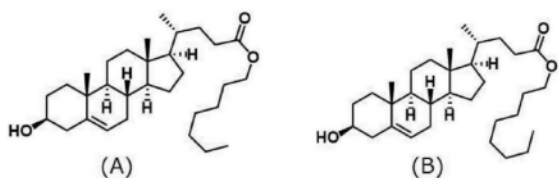
[0144] [化学式19]



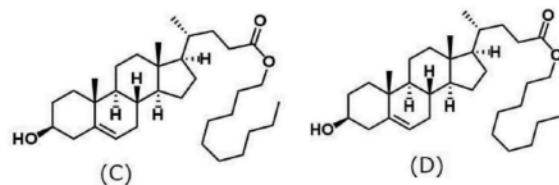
[0146] 表示双键。

[0147] 尤其优选为,式(1)所表示的化合物为由下述(A)~(M)中的任一个表示的化合物。

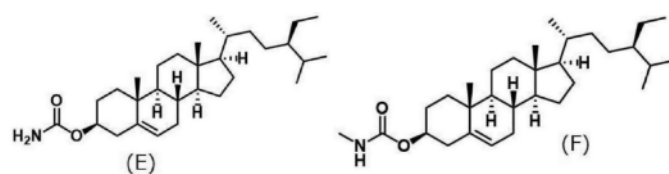
[0148] [化学式20]



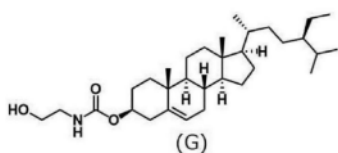
[0149]



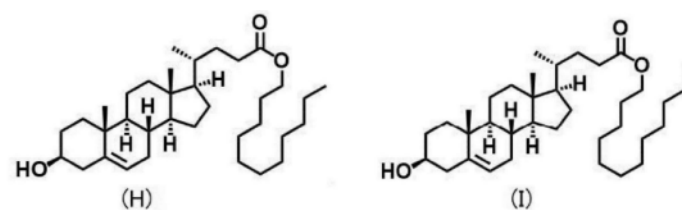
[0150] [化学式21]



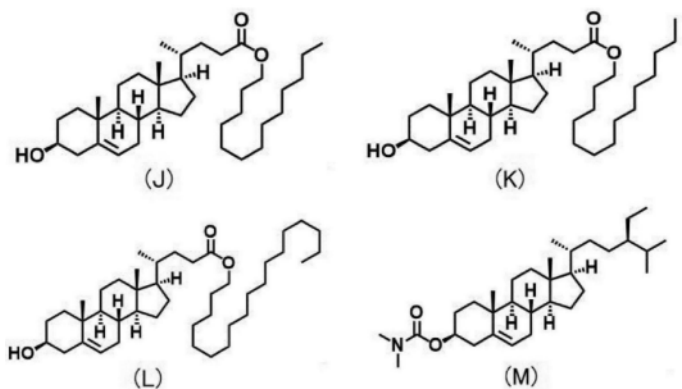
[0151]



[0152] [化学式22]



[0153]



[0154] 化合物(A) ~ (G)的CAS注册号如下。

[0155] 化合物(A) :CAS 331245-55-7

[0156] 化合物(B) :CAS 331245-51-3

[0157] 化合物(C) :CAS 331245-57-9

[0158] 化合物(D) :CAS 331245-56-8

[0159] 化合物(E) :CAS104082-35-1

[0160] 化合物(F) :CAS 92588-73-3

[0161] 化合物(G) :CAS136099-14-4

[0162] 上述中,进一步优选化合物(B)、(C)、(D)及(G),尤其优选化合物(D)及(G)。

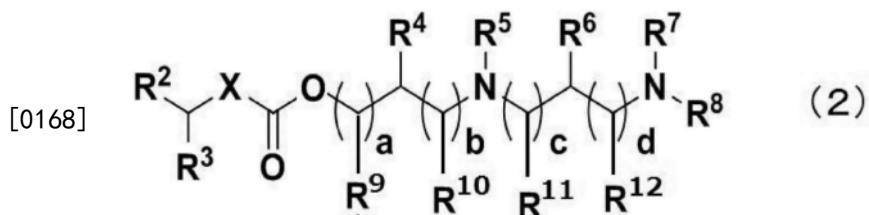
[0163] 式(1)所表示的化合物能够按照在后述的实施例中的化合物的合成中所记载的方法来合成。

[0164] 式(1)所表示的化合物的含有率相对于总脂质优选为10~80摩尔%,更优选为10摩尔%~60摩尔%,进一步优选为30摩尔%~50摩尔%。

[0165] <式(2)所表示的脂质或其盐>

[0166] 在本发明中,使用下述式(2)所表示的脂质或其盐。

[0167] [化学式23]



[0169] 式中,

[0170] X表示-NR¹-或-O-,

[0171] R¹表示氢原子、碳原子数6~24的烃基或R²¹-L¹-R²²-所表示的基团,R²¹表示碳原子数1~24的烃基,L¹表示-O(CO)O-、-O(CO)-、-(CO)O-、-O-或

[0172] [化学式24]



[0174] R²²表示属于2价的连接基的碳原子数1~18的烃连接基,

[0175] R²及R³分别独立地表示氢原子、碳原子数3~24的烃基或R³¹-L²-R³²-所表示的基团,R³¹表示碳原子数1~24的烃基,L²表示-O(CO)O-、-O(CO)-、-(CO)O-、-O-或

[0176] [化学式25]



[0178] R³²表示属于2价的连接基的碳原子数1~18的烃连接基,

[0179] R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹¹及R¹²分别独立地表示氢原子或可以被取代的碳原子数1~18的烷基,

[0180] R⁴与R⁵、R¹⁰与R⁵、R⁵与R¹²、R⁴与R⁶、R⁵与R⁶、R⁶与R⁷、R⁶与R¹⁰、R¹²与R⁷、以及R⁷与R⁸中的任意一组以上可以相互连接而形成可以包含O原子的4~7元环,

[0181] 可以被取代的碳原子数1~18的烷基上的取代基为羟基、羧基、-NR⁴⁵R⁴⁶所表示的氨基、取代或未经取代的芳基、取代或未经取代的杂芳基、-O(CO)O-R⁴¹、-O(CO)-R⁴²、-(CO)O-R⁴³或-O-R⁴⁴所表示的基团,R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵及R⁴⁶分别独立地表示碳原子数1~18的烃基,

[0182] 取代或未经取代的芳基及取代或未经取代的杂芳基上的取代基为碳原子数1~18的烷基、羟基、羧基、-NR⁴⁵R⁴⁶所表示的氨基、-O(CO)O-R⁴¹、-O(CO)-R⁴²、-(CO)O-R⁴³或-O-R⁴⁴所表示的基团,R⁴¹、R⁴²、R⁴³、R⁴⁴、R⁴⁵及R⁴⁶分别独立地表示碳原子数1~18的烃基,

[0183] a、b、c及d分别独立地表示0~3的整数,其中,a+b为1以上,c+d为1以上。

[0184] 作为 R^1 中的碳原子数6~24的烃基以及 R^2 及 R^3 中的碳原子数3~24的烃基,优选为烷基、烯基或炔基,更优选为烷基或烯基。碳原子数6~24的烷基及碳原子数3~24的烷基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数6~24的烷基优选为碳原子数6~20的烷基,碳原子数3~24的烷基更优选为碳原子数6~20的烷基。具体而言,可以举出己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、三甲基十二烷基(优选3,7,11-三甲基十二烷基)、十四烷基、十五烷基、十六烷基、四甲基十六烷基(优选3,7,11,15-四甲基十六烷基)、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基等。碳原子数6~24的烯基及碳原子数3~24的烯基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数6~24的烯基优选为碳原子数6~20的烯基,碳原子数3~24的烯基更优选为碳原子数6~20的烯基。具体而言,可以举出己烯基、庚烯基、辛烯基、壬烯基、癸烯基、十一碳烯基、十二碳烯基、十二碳二烯基、十三碳烯基、十四碳烯基、十五碳烯基、十六碳烯基(优选(Z)-十六碳-9-烯基)、十六碳二烯基、十七碳烯基(优选(Z)-十七碳-8-烯基)、十七碳二烯基(优选(8Z,11Z)-十七碳-8,11-二烯基)、十八碳烯基(优选(Z)-十八碳-9-烯基)、十八碳二烯基(优选(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)、十九碳烯基、二十碳烯基(优选(Z)-二十碳-11-烯基)、二十碳二烯基(优选(11,14)-二十碳-11,14-二烯基)等。碳原子数6~24的炔基优选为碳原子数6~20的炔基,碳原子数3~24的炔基更优选为碳原子数6~20的炔基。具体而言,可以举出己炔基、庚炔基、辛炔基、壬炔基、癸炔基、十一炔基、十二炔基、十四炔基、十五炔基、十六炔基、十七炔基、十八炔基等。上述烯基均优选具有1个或2个双键,炔基均优选具有1个或2个三键。

[0185] 作为关于 R^{21} 及 R^{31} 的碳原子数1~24的烃基,优选为碳原子数10~24的烷基、碳原子数10~24的烯基或碳原子数10~24的炔基。碳原子数10~24的烷基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数10~24的烷基优选为碳原子数12~24的烷基。具体而言,可以举出癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、三甲基十二烷基(优选3,7,11-三甲基十二烷基)、十四烷基、十五烷基、十六烷基、四甲基十六烷基(优选3,7,11,15-四甲基十六烷基)、十七烷基、十八烷基、2-丁基己基、2-丁基辛基、1-戊基己基、2-戊基庚基、3-戊基辛基、1-己基庚基、1-己基壬基、2-己基辛基、2-己基癸基、3-己基壬基、1-庚基辛基、2-庚基壬基、2-庚基十一烷基、3-庚基癸基、1-辛基壬基、2-辛基癸基、2-辛基十二烷基、3-辛基十一烷基、2-壬基十一烷基、3-壬基十二烷基、2-癸基十二烷基、2-癸基十四烷基、3-癸基十三烷基、2-(4,4-二甲基戊烷-2-基)-5,7,7-三甲基辛基等。碳原子数10~24的烯基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。具体而言,可以举出癸烯基、十一碳烯基、十二碳烯基、十二碳二烯基、十三碳烯基(优选(Z)-十三碳-8-烯基)、十四碳烯基(优选十四碳-9-烯基)、十五碳烯基(优选(Z)-十五碳-8-烯基)、十六碳烯基(优选(Z)-十六碳-9-烯基)、十六碳二烯基、十七碳烯基(优选(Z)-十七碳-8-烯基)、十七碳二烯基(优选(8Z,11Z)-十七碳-8,11-二烯基)、十八碳烯基(优选(Z)-十八碳-9-烯基)、十八碳二烯基(优选(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)等。碳原子数10~24的炔基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。具体而言,可以举出癸炔基、十一炔基、十二炔基、十四炔基、十五炔基、十六炔基、十七炔基、十八炔基等。上述烯基均优选具有1个或2个双键,炔基均优选具有1个或2个三键。

[0186] 作为关于 R^{22} 及 R^{32} 的2价的连接基且碳原子数1~18的烃连接基,优选为碳原子数1~18的亚烷基或碳原子数2~18的亚烯基。碳原子数1~18的亚烷基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数优选为1~12,更优选为碳原子数1~10,进一步优选为碳原子数2~10。具体而言,可以举出亚甲基、亚乙基、三亚甲基、四亚甲基、五亚甲基、六亚甲基、七亚甲基、八亚甲基、九亚甲基、十亚甲基、十一亚甲基、十二亚甲基等。碳原子数2~18的亚烯基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数优选为1~12,更优选为碳原子数2~10。

[0187] 作为 L^1 的优选范围,优选为 $-O(CO)O-$ 、 $-O(CO)-$ 或 $-(CO)O-$,更优选为 $-O(CO)-$ 或 $-(CO)O-$ 。

[0188] 作为 L^2 的优选范围,优选为 $-O(CO)O-$ 、 $-O(CO)-$ 或 $-(CO)O-$,更优选为 $-O(CO)-$ 或 $-(CO)O-$ 。

[0189] 关于 R^4 、 R^6 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} 的可以被取代的碳原子数1~18的烷基的碳原子数1~18的烷基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数优选为1~12。具体而言,可以举出甲基、乙基、丙基、异丙基、环丙基、丁基、异丁基、叔丁基、环丁基、戊基、环戊基、己基、环己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基等。烷基具有取代基时的取代基优选为羟基、羧基、 $-O(CO)O-R^{41}$ 、 $-O(CO)-R^{42}$ 、 $-(CO)O-R^{43}$ 或 $-O-R^{44}$ 所表示的基团,更优选为 $-O(CO)-R^{42}$ 或 $-(CO)O-R^{43}$ 所表示的基团。

[0190] 关于 R^5 、 R^7 及 R^8 的可以被取代的碳原子数1~18的烷基的碳原子数1~18的烷基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数优选为1~12,更优选为碳原子数1~8。具体而言,可以举出甲基、乙基、丙基、异丙基、环丙基、丁基、异丁基、叔丁基、环丁基、戊基、环戊基、己基、环己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基等。烷基具有取代基时的取代基优选羟基、羧基、 $-O(CO)O-R^{41}$ 、 $-O(CO)-R^{42}$ 、 $-(CO)O-R^{43}$ 或 $-O-R^{44}$ 所表示的基团,更优选 $-O(CO)-R^{42}$ 、 $-(CO)O-R^{43}$ 所表示的基团。

[0191] 作为可以包含O原子的4~7元环,可以举出吡啶环、吡咯烷环、哌啶环、吗啉环、环己亚胺环,优选为6元环,优选哌啶环、吗啉环。

[0192] 关于 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} ,作为可以被取代的碳原子数1~18的烷基中的取代基为取代或未经取代的芳基时的芳基,优选为碳原子数6~22,更优选为碳原子数6~18,进一步优选为碳原子数6~10。具体而言,可以举出苯基、萘基、蒽基、菲基等。作为芳基上的取代基,优选为碳原子数1~18的烷基、羟基、羧基、 $-NR^{45}R^{46}$ 所表示的氨基、 $-O(CO)O-R^{41}$ 、 $-O(CO)-R^{42}$ 、 $-(CO)O-R^{43}$ 或 $-O-R^{44}$ 所表示的基团,更优选为羟基或羧基。作为取代芳基,具体而言,可以举出羟基苯基、羧基苯基等。

[0193] 关于 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 及 R^{12} ,作为可以被取代的碳原子数1~18的烷基中的取代基为取代或未经取代的杂芳基时的杂芳基,优选为碳原子数1~12,更优选为碳原子数1~6。具体而言,可以举出吡啶基、吡唑基、咪唑基、苯并咪唑基、噻唑基、噁唑基等。作为杂芳基上的取代基,优选为碳原子数1~18的烷基、羟基、羧基、 $-NR^{45}R^{46}$ 所表示的氨基、 $-O(CO)O-R^{41}$ 、 $-O(CO)-R^{42}$ 、 $-(CO)O-R^{43}$ 或 $-O-R^{44}$ 所表示的基团,更优选为羟基或羧基。作为取代或未经取代的杂芳基,具体而言,可以举出羟基吡啶基、羧基吡啶基、吡啶酮基(Pyridonyl group)等。

[0194] 作为关于 R^{41} 、 R^{42} 、 R^{43} 、 R^{44} 、 R^{45} 及 R^{46} 的碳原子数1~18的烃基,优选为碳原子数1~18

的烷基、碳原子数2~18的烯基或碳原子数2~18的炔基,更优选为碳原子数1~18的烷基或碳原子数2~18的烯基。碳原子数1~18的烷基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数优选为3~18,更优选为碳原子数5~18。具体而言,可以举出丙基、异丙基、环丙基、丁基、异丁基、叔丁基、环丁基、戊基、环戊基、己基、环己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、三甲基十二烷基(优选3,7,11-三甲基十二烷基)、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基等。碳原子数2~18的烯基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数优选为3~18,更优选为5~18。具体而言,可以举出烯丙基、异戊二烯基、戊烯基、己烯基、庚烯基、辛烯基、壬烯基(优选(Z)-2-壬烯基或(E)-2-壬烯基)、癸烯基、十一碳烯基、十二碳烯基、十二碳二烯基、十三碳烯基(优选(Z)-十三碳-8-烯基)、十四碳烯基(优选十四碳-9-烯基)、十五碳烯基(优选(Z)-十五碳-8-烯基)、十六碳烯基(优选(Z)-十六碳-9-烯基)、十六碳二烯基、十七碳烯基(优选(Z)-十七碳-8-烯基)、十七碳二烯基(优选(8Z,11Z)-十七碳-8,11-二烯基)、十八碳烯基(优选(Z)-十八碳-9-烯基)、十八碳二烯基(优选(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基)等。碳原子数2~18的炔基可以为直链也可以为支链,且可以为链状也可以为环状。碳原子数优选为3~18,更优选为碳原子数5~18。具体而言,可以举出炔丙基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔基、辛炔基、壬炔基、癸炔基、十一炔基、十二炔基、十四炔基、十五炔基、十六炔基、十七炔基、十八炔基等。

[0195] 当X表示-NR¹-时,R¹优选为碳原子数6~24的烃基或R²¹-L¹-R²²-所表示的基团。此时,优选为R²及R³中的一个为氢原子;R²及R³中的另一个为碳原子数6~24的烃基或R³¹-L²-R³²-所表示的基团。

[0196] 当X表示-O-时,R²及R³分别独立地优选为碳原子数6~24的烃基或R³¹-L²-R³²-所表示的基团。

[0197] R⁴、R⁶、R⁹、R¹⁰、R¹¹及R¹²优选为氢原子。

[0198] R⁵优选为氢原子、碳原子数1~18的烷基、可以被-O(CO)-R⁴²或-(CO)O-R⁴³取代的碳原子数1~18的烷基、可以被芳基取代的碳原子数1~18的烷基、可以被羟基取代的碳原子数1~18的烷基,当为烷基时,可以与R⁴、R⁶、R¹⁰及R¹²相互连接而形成可以包含O原子的环。其中,优选为碳原子数1~18的烷基、可以被-O(CO)-R⁴²或-(CO)O-R⁴³取代的碳原子数1~18的烷基、可以被芳基取代的碳原子数1~12的烷基、可以被羟基取代的碳原子数1~8的烷基,更优选为碳原子数1~18的烷基、可以被-O(CO)-R⁴²或-(CO)O-R⁴³取代的碳原子数1~18的烷基。

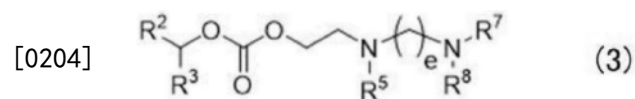
[0199] 优选R⁷及R⁸分别独立地为氢原子、碳原子数1~18的烃基、可以被-O(CO)-R⁴²或-(CO)O-R⁴³取代的碳原子数1~18的烷基、可以被芳基取代的碳原子数1~8的烷基或可以被羟基取代的碳原子数1~8的烷基,或者R⁷与R⁸相互连接而形成可以包含O原子的4~7元环。

[0200] R⁵与R⁷或R⁸相互不连接,且不形成环。

[0201] a+b优选为1或2,更优选为1。c+d优选为1或2,更优选为1。

[0202] 在优选的方式中,式(2)所表示的脂质为下述式(3)所表示的脂质。

[0203] [化学式26]



[0205] 式中,

[0206] R^2 及 R^3 分别独立地为包含1个以上的不饱和键的碳原子数3~24的烃基,或

[0207] R^2 及 R^3 分别独立地为 R^{31} - L^2 - R^{32} -所表示的基团,或

[0208] R^2 及 R^3 中的一个为 R^{31} - L^2 - R^{32} -所表示的基团,另一个为碳原子数3~24的烃基,

[0209] R^{31} 表示碳原子数1~24的烃基,

[0210] L^2 表示- $O(CO)O$ -、- $O(CO)$ -、-(CO) O -、- O -或

[0211] [化学式27]

[0212] 

[0213] R^{32} 为2价的连接基,表示碳原子数1~18的烃连接基,

[0214] R^5 表示- $O(CO)$ - R^{42} 或可以被-(CO) O - R^{43} 取代的碳原子数1~18的烷基, R^{42} 及 R^{43} 分别独立地表示碳原子数1~18的烃基,

[0215] R^7 及 R^8 分别独立地表示碳原子数1~4的烷基,

[0216] e表示2或3。

[0217] 在式(3)中,优选为 R^2 及 R^3 中的一个为 R^{31} - L^2 - R^{32} -所表示的基团,另一个为碳原子数3~24的烃基。在式(3)中,优选为 L^2 表示- $O(CO)$ -或-(CO) O -。

[0218] 式(2)所表示的脂质可以形成盐。

[0219] 作为碱性基团中的盐,例如可以举出与盐酸、氢溴酸、硝酸及硫酸等无机酸的盐;与甲酸、乙酸、柠檬酸、草酸、富马酸、马来酸、琥珀酸、苹果酸、酒石酸、天冬氨酸、三氯乙酸及三氟乙酸等有机羧酸的盐;以及与甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、均三甲苯磺酸及萘磺酸等磺酸的盐。

[0220] 作为酸性基团中的盐,例如可以举出与钠及钾等碱金属的盐;与钙及镁等碱土金属的盐;铵盐;以及与三甲胺、三乙胺、三丁胺、吡啶、N,N-二甲基苯胺、N-甲基哌啶、N-甲基吗啉、二乙胺、二环己基胺、普鲁卡因、二苄基胺、N-苄基- β -苯乙基胺、1-二苯羟甲胺及N,N'-二苄基乙二胺等含氮有机碱的盐等。

[0221] 在上述盐之中,作为优选的盐,可以举出药理学上可接受的盐。

[0222] 作为式(2)所表示的脂质的优选的具体例,能够举出2-戊基庚基6-(2-(癸酰氧基)乙基)-3-乙基-12-己基-10-氧代-9,11-二氧杂-3,6-二氮杂十六烷-16-酸酯(参考W02021/095876号公报)。

[0223] 式(2)所表示的脂质及其制造方法记载于W02019/235635号公报及W02021/095876号公报中。

[0224] 在本发明的脂质组合物中,式(2)所表示的脂质或其盐的含有率相对于全脂质量优选为20摩尔%~80摩尔%,更优选为30摩尔%~70摩尔%,进一步优选为40摩尔%~60摩尔%。

[0225] <中性脂质>

[0226] 本发明的脂质组合物包含中性脂质。

[0227] 作为中性脂质,优选为双离子性脂质。

[0228] 作为两性离子性脂质,优选为磷脂,具体而言,可以举出磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺或鞘磷脂等。作为磷脂,优选为具有磷脂酰胆碱等的胆碱基的磷脂。作为两性离子性脂

质,可以单独使用,也可以组合多种不同的中性脂质。

[0229] 作为磷脂酰胆碱,并不受特别限定,可以举出大豆卵磷脂(SPC)、氢化大豆卵磷脂(HSPC)、蛋黄卵磷脂(EPC)、氢化蛋黄卵磷脂(HEPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰基磷脂酰胆碱(DOPC)、二月桂酰磷脂酰胆碱(DLPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基磷脂酰胆碱(POPC)等。其中,优选为二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)及二月桂酰磷脂酰胆碱(DLPC),尤其优选为二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)。

[0230] 作为磷脂酰乙醇胺并不受特别限定,但可以举出二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二亚油酰基磷脂酰乙醇胺(DLoPE)、二植烷酰基磷脂酰乙醇胺(D(Phy)PE)、1-棕榈酰基-2-油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、双十四烷基磷脂酰乙醇胺、双十六烷基磷脂酰乙醇胺、双十八烷基磷脂酰乙醇胺、二植烷基磷脂酰乙醇胺等。

[0231] 作为鞘磷脂(SM)并不受特别限定,可以举出源自蛋黄的鞘磷脂、源自牛奶的鞘磷脂等。

[0232] 在本发明的脂质组合物中,中性脂质的含有率相对于总脂质优选为1~30摩尔%,更优选为5~25摩尔%,进一步优选为7~23摩尔%。

[0233] <具有非离子性亲水性高分子的脂质>

[0234] 本发明的脂质组合物包含具有非离子性亲水性高分子的脂质。

[0235] 具有非离子性亲水性高分子的脂质优选包含酰基,酰基的碳链长度优选为8~26。

[0236] 作为非离子性亲水性高分子的例子并不受特别限定,可以举出非离子性的乙烯基类高分子、非离子性聚氨基酸、非离子性聚酯、非离子性聚醚、非离子性天然高分子、非离子性改性天然高分子、以这些中的两种以上的高分子为结构单元的嵌段聚合物或接枝共聚物。

[0237] 在这些非离子性亲水性高分子中,优选为非离子性聚醚、非离子性聚酯、非离子性聚氨基酸或非离子性合成多肽,进一步优选为非离子性聚醚或非离子性聚酯,更进一步优选为非离子性聚醚或非离子性单烷氧基聚醚,尤其优选为聚乙二醇(以下,聚乙二醇也称为PEG)。

[0238] 作为具有非离子性亲水性高分子的脂质,并不受特别限定,可以举出PEG修饰的磷酸乙醇胺(Phosphoethanolamine)、二酰甘油PEG衍生物、单酰基甘油PEG衍生物、二烷基甘油PEG衍生物、胆固醇PEG衍生物、神经酰胺PEG衍生物等。在这些中,优选为单酰基甘油PEG或者二酰基甘油PEG。

[0239] 具有非离子性亲水性高分子的脂质的烷基链的碳原子数优选为8~26,更优选为10~22。

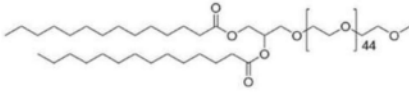
[0240] 非离子性亲水性高分子的重均分子量优选为100~10000,更优选为500~5000,进一步优选为750~3000。

[0241] 非离子性亲水性高分子可以分支,也可以具有如羟基甲基那样的取代基。

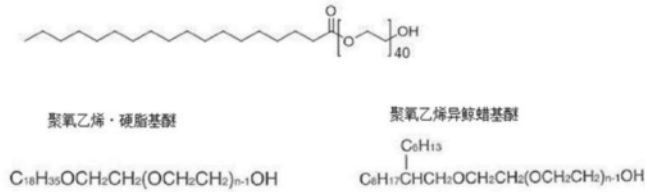
[0242] 作为具有非离子性亲水性高分子的脂质的优选的一例,可以举出具有以下结构的DMG-PEG2000(也表述为DMG-PEG)、硬脂酸PEG、硬脂基醚PEG等。

[0243] 以下示出具有非离子性亲水性高分子的脂质的尤其优选的具体例。

[0244] [化学式28]



[0245]



[0246] 在本发明的脂质组合物中,具有非离子性亲水性高分子的脂质的掺含量相对于总脂质优选为0.1~10摩尔%,更优选为0.3~8摩尔%,进一步优选为0.5~5摩尔%,尤其优选为1~3摩尔%。

[0247] <核酸>

[0248] 本发明的脂质组合物包含核酸。作为核酸,可以举出质粒、单链DNA、双链DNA、siRNA(small interfering RNA:小干扰RNA)、miRNA(micro RNA:微RNA)、mRNA、反义寡核苷酸、核酶(也称为ASO)、核酶、适体、诱饵核酸、基因组编辑中使用的gRNA等,可以包含其中任一种。并且,也可以包含修饰的核酸。

[0249] 在本发明的脂质组合物中,脂质与核酸的重量比优选为5~100,更优选为5~70,进一步优选为5~40,尤其优选为5~35。

[0250] <脂质组合物的制造方法>

[0251] 对本发明的脂质组合物的制造方法进行说明。

[0252] 脂质组合物的制造方法并不受特别限定,能够通过如下进行制造:将脂质组合物的构成成分的全部或一部分油性成分溶解于有机溶剂等而制成油相,并将水性成分溶解于水而制成水相,将油相和水相进行混合。混合中可以使用微混合器,也可以使用均质机等乳化机、超声波乳化机、高压喷射乳化机等进行乳化。

[0253] 或者,也能够通过如下进行制造:通过将包含脂质的溶液供给至蒸发器等进行减压干固或供给至喷雾干燥机等进行喷雾干燥等来制备包含脂质的干燥的混合物,将该混合物添加到水类溶剂中,用前述乳化机等进一步进行乳化。

[0254] 作为脂质组合物的制造方法的一例,可以举出包括如下工序的方法:

[0255] 将脂质成分溶解于有机溶剂而获得油相的工序(a);

[0256] 混合在工序(a)中所获得的油相及包含核酸的水相的工序(b);

[0257] 稀释在工序(b)中所获得的油相及包含水相的混合液而获得包含核酸的脂质组合物的分散液的工序(c);及

[0258] 从工序(c)中所获得的脂质组合物的分散液中去除上述有机溶剂的工序(d)。

[0259] 在工序(a)中,将脂质成分溶解于有机溶剂(乙醇等醇或酯等)中。总脂质浓度并不受特别限定,但通常为1mmol/L~100mmol/L,优选为5mmol/L~50mmol/L,更优选为10mmol/L~30mmol/L。

[0260] 在工序(b)中,水相能够通过将核酸(例如,siRNA、反义寡核苷酸、mRNA等)溶解于水或缓冲液而获得。根据需要,能够添加抗氧化剂等成分。将水相和油相进行混合的比率(体积比)优选5:1~1:1,更优选4:1~2:1。

- [0261] 在工序(b)中,混合液能够用水或缓冲液(例如,磷酸缓冲生理盐水(PBS)等)稀释。
- [0262] 在工序(c)中,作为从脂质组合物的分散液中去除有机溶剂的方法并不受特别限定,能够使用通常的方法,例如能够通过使用磷酸缓冲生理盐水进行透析来去除有机溶剂。
- [0263] 根据需要,能够调整脂质组合物的尺寸。调整尺寸的方法并不受特别限定,但能够使用挤出机等来减小粒径。
- [0264] <关于脂质组合物>
- [0265] 本发明的脂质组合物可以为脂质粒子。脂质粒子是指由脂质构成的颗粒,包括脂质聚集而成的脂质聚集体(例如,脂质纳米粒子等)、胶束、具有选自脂质体中的任一种的结构,但只要为包含脂质的组合物,则脂质粒子的结构并不限定于这些。
- [0266] 脂质组合物的形态能够通过电子显微镜观察或使用X射线的结构分析等来进行确认。例如,通过使用Cryo透射型电子显微镜观察(CryoTEM法)的方法,能够确认是否如脂质体那样,为脂质粒子具有脂质双分子膜结构(薄片结构)及内水层的结构,或者,是否具有在颗粒内部具有电子密度高的芯部且填充有以脂质为首的构成成分的结构等。通过X射线小角散射(SAXS)测定,也能够对脂质粒子确认有无脂质双分子膜结构(薄片结构)。
- [0267] 当本发明的脂质组合物为颗粒时,颗粒的粒径并不受特别限定,但优选为10~1000nm,更优选为30~500nm,进一步优选为50~250nm。脂质粒子的粒径能够通过通常的方法(例如,动态光散射法、激光衍射法等)进行测定。
- [0268] <脂质组合物的利用>
- [0269] 作为利用本发明中的脂质组合物的一例,能够通过将包含核酸的脂质组合物导入细胞中来向细胞中导入核酸(例如,基因等)。即,本发明的脂质组合物能够用于将核酸导入细胞的组合物。
- [0270] 并且,本发明的脂质组合物能够用于体内中核酸递送的药用组合物。
- [0271] 并且,当在本发明中的脂质组合物中包含具有药物用途的核酸时,脂质组合物能够作为核酸药物给药于活体。当将本发明中的脂质组合物用作核酸药物时,本发明的脂质组合物能够单独或与药学上可接受的载体(例如,生理盐水或磷酸缓冲液等给药介质)进行混合而给药于活体。即,本发明的脂质组合物可以进一步包含药学上可接受的载体。
- [0272] 在与药理学上可接受的载体的混合物中的脂质组合物的浓度并不受特别限定,一般能够设为0.05质量%至90质量%。并且,在包含本发明的脂质组合物的核酸药物中,还可以添加药学上可接受的其他添加物质,例如pH调节缓冲剂、渗透压调节剂等。
- [0273] 给药本发明的脂质组合物时的给药途径并不受特别限定,能够利用任意的方法进行给药。作为给药方法,可以举出口服给药、非口服给药(关节内给药、静脉内给药、动脉内给药、皮下给药、皮内给药、玻璃体内给药、腹膜内给药、肌肉内给药、阴道内给药、膀胱内给药、鞘内给药、肺部给药、直肠给药、结肠给药、颊部给药、鼻腔给药、脑池内给药、吸入等)。优选为非口服给药,作为给药方法,优选为静脉注射、皮下注射、皮内注射或肌肉内注射。作为给药,优选通过体内的局部给药进行核酸递送。关于本发明的脂质组合物,也能够通过直接注射到疾病部位来给药。
- [0274] 本发明的脂质组合物的剂型并不受特别限定,当进行口服给药时,本发明的脂质组合物能够与适当的赋形剂组合而以片剂、含剂、胶囊剂、丸剂、悬浮剂、糖浆剂等形态使用。并且,在适用于非口服给药的制剂中,能够适当包含抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂及等渗无

菌注射剂、悬浮剂、助溶剂、增稠剂、稳定化剂或防腐剂等添加剂。

[0275] <核酸递送载流子>

[0276] 本发明的脂质组合物能够以高内含率保持核酸,因此作为核酸递送载流子非常有用。根据利用本发明的核酸递送载流子,例如能够通过将所获得的脂质组合物与核酸进行混合在体外(in vitro)或体内(in vivo)进行转染来向细胞中导入核酸等。并且,利用本发明的核酸递送载流子也作为核酸药物中的核酸递送载流子而有用。即,本发明的脂质组合物作为用于体外或体内(优选体内)核酸递送的组合物而有用。

[0277] 接着,举出实施例对本发明进行说明,但本发明并不限于这些。

[0278] 实施例

[0279] 若无特别记载,则基于柱色谱法的纯化使用了自动纯化装置ISOLERA(Biotage公司)、中压分取纯化装置Purif-espoir-2(Shoko Science Co.,Ltd.)或中压液相色谱YFLC W-prep 2XY(YAMAZEN CORPORATION)。

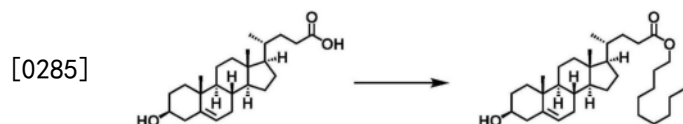
[0280] 当没有特别记载时,硅胶柱色谱法中的载体使用了Chromatorex Q-Pack SI 50(FUJI SILYSIA CHEMICAL LTD.)、High-Flash Column W001、W002、W003、W004或W005(YAMAZEN CORPORATION)。

[0281] 使用四甲基硅烷作为内标物,使用Bruker AVNEO400(Bruker公司制造)来测定NMR光谱,并以ppm表示了总 δ 值。

[0282] clogP是使用ChemDraw Professional Version:19.1.0.8(Perkin elmer Co., Ltd.制造)来计算出的。

[0283] [合成例1]

[0284] [化学式29]



[0286] 向(R)-4-((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-3-羟基-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基)戊酸(3.00g)、1-溴壬烷(Bromononane)(1.99g)及N,N-二甲基甲酰胺(21mL)的混合物中加入碳酸钾(1.66g),并在60°C下搅拌了4小时。向反应混合物中加入乙酸乙酯(42mL)及水(42mL),分取有机层,用水(42mL)清洗2次之后,用无水硫酸钠(9g)进行干燥,并进行减压蒸馏去除了溶剂。向所获得的残留物中加入乙醇(60mL),并在60°C下搅拌5分钟之后,冷却至室温,加入水(30mL),并在0°C下搅拌了30分钟。滤取固体物质,用乙醇(30mL)及水(15mL)的混合溶液清洗之后,减压下进行干燥,获得了白色固体壬基(R)-4-((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-3-羟基-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基)戊酸酯(化合物1,3.80g)。

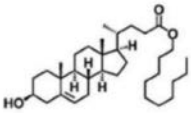
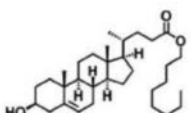
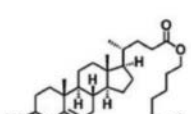
[0287] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, $J=6.8\text{Hz}$), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (38H), 0.68 (3H, s)。

[0288] clogP:10.725

[0289] [合成例2]

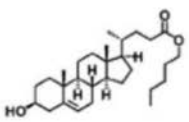
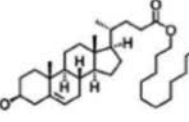
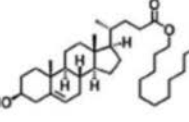
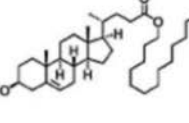
[0290] 通过与合成例1相同的方法,获得了化合物2、化合物4、化合物5及化合物8~14。

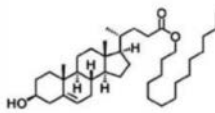
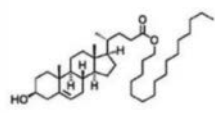
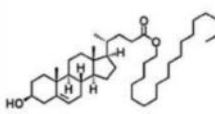
[0291] [表1]

化合物编号	结构	物性数据	化合物名
2		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, $J=6.8\text{Hz}$), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (40H), 0.68 (3H, s). clogP:11.254	癸基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)) -3-羟 基-10, 13-二甲 基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十 四氢-1H-环戊二烯并[a] 菲-17-基) 戊酸酯
4		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, $J=6.8\text{Hz}$), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (36H), 0.68 (3H, s). clogP:10.196	辛基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)) -3-羟 基-10, 13-二甲 基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十 四氢-1H-环戊二烯并[a] 菲-17-基) 戊酸酯
5		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, $J=6.8\text{Hz}$), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (34H), 0.68 (3H, s). clogP:9.667	庚基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)) -3-羟 基-10, 13-二甲 基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十 四氢-1H-环戊二烯并[a] 菲-17-基) 戊酸酯

[0292]

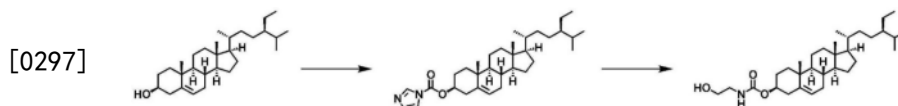
[0293]

8		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, J=6.8Hz), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (30H), 0.68 (3H, s). cLogP:8.609	戊基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)) -3-羟基-10, 13-二甲 基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯
9		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, J=6.8Hz), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (42H), 0.68 (3H, s). cLogP:11.783	十一烷基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)) -3-羟基-10, 13-二甲 基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯
10		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, J=6.8Hz), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (44H), 0.68 (3H, s). cLogP:12.312	十二烷基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)) -3-羟基-10, 13-二甲 基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯
11		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, J=6.8Hz), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (46H), 0.68 (3H, s). cLogP:12.841	十三烷基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R)) -3-羟基-10, 13-二甲 基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯

		$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, $J=6.8\text{Hz}$), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (48H), 0.68 (3H, s), $c\log P$:13.37	十四烷基 (R) -4- (3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3-羟基-10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯
[0294]		$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, $J=6.8\text{Hz}$), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (52H), 0.68 (3H, s), $c\log P$:14.428	十六烷基 (R) -4- (3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3-羟基-10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯
		$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 5.37-5.33 (1H, m), 4.05 (2H, t, $J=6.8\text{Hz}$), 3.58-3.46 (1H, m), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (56H), 0.68 (3H, s), $c\log P$:15.486	十八烷基 (R) -4- (3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3-羟基-10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯

[0295] [合成例3]

[0296] [化学式30]



[0298] 向 β -谷甾醇(1.50g)的四氢呋喃(7.5mL)溶液中加入1,1'-羰基二咪唑(0.88g),并在30℃下搅拌了4小时。向反应混合物中加入水(7.5mL)、己烷(7.5mL)及乙酸乙酯(7.5mL),分取有机层之后,用水(7.5mL)及饱和氯化钠水溶液(3mL)进行清洗,用无水硫酸钠进行干燥之后,减压蒸馏去除溶剂,获得了白色固体的(3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -17- ((2R, 5R) -5-乙基-6-甲基庚烷-2-基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-基1H-咪唑-1-羧酸酯(1.84g)。

[0299] $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 8.14-8.12 (1H, m), 7.43-7.41 (1H, m), 7.07-7.05 (1H, m), 5.47-5.42 (1H, m), 4.89-4.78 (1H, m), 2.50 (2H, d, $J=7.76\text{Hz}$), 2.08-0.76 (42H, m), 0.69 (3H, s)。

[0300] 向(3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -17- ((2R, 5R) -5-乙基-6-甲基庚烷-2-基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-基1H-咪唑-1-羧酸酯(1.84g)、四氢呋喃(9.2mL)及乙腈(4.6mL)的混合物中加入2-氨基乙醇(0.66g)及N,N-二异丙基乙胺(1.40g),并在30℃下搅拌了4小时。向反应混合物中加入水(15mL)、乙酸乙酯(10mL)及己烷(10mL),分取有机层之后,用水(10mL)及饱和氯化钠水溶液进行了清洗。用无水硫酸钠进行干燥之后,减压蒸馏去除溶剂,在所获得的残留物中加入己烷(10mL),并在40℃下搅拌了5分钟。将混合物冷却至室温之后,滤取固体物质,用己烷清洗

之后,在减压下进行干燥,获得了白色固体的(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R,5R)-5-乙基-6-甲基庚烷-2-基)-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-基(2-羟乙基)氨基甲酸酯(化合物3,1.73g)。

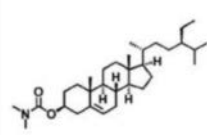
[0301] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.40-5.35 (1H, m), 5.00 (1H, brs), 4.56-4.45 (1H, m), 3.73 (2H, brs), 3.38-3.28 (2H, m), 2.40-2.15 (3H, m), 2.05-1.78 (5H, m), 1.73-0.76 (36H, m), 0.68 (3H, s).

[0302] clogP:10.4878

[0303] [合成例4]

[0304] 通过与合成例3相同的方法,获得了化合物6、化合物7及化合物17。

[0305] [表2]

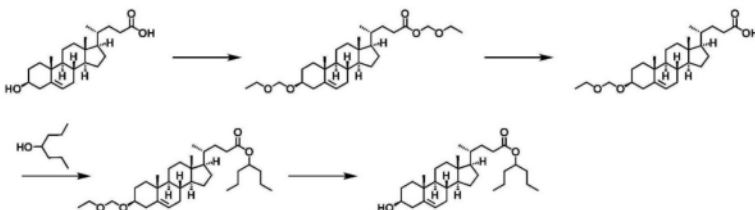
化合物编号	结构	物性数据	化合物名
6		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.40-5.35 (1H, m), 4.58-4.43 (3H, m), 2.40-0.76 (44H, m), 0.68 (3H, s). clogP:10.508	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R,5R)-5-乙基-6-甲基庚烷-2-基)-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-氨基甲酸酯
7		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.40-5.35 (1H, m), 4.57-4.44 (2H, m), 2.78 (3H, d, J=4.84Hz), 2.40-2.21 (2H, m), 2.04-1.78 (5H, m), 1.72-0.75 (37H, m), 0.68 (3H, s). clogP:11.054	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R,5R)-5-乙基-6-甲基庚烷-2-基)-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-氨基甲酸酯
17		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.40-5.35 (1H, m), 4.54-4.44 (1H, m), 2.89 (6H, s), 2.41-2.24 (2H, m), 2.04-1.78 (5H, m), 1.72-0.75 (37H, m), 0.68 (3H, s). clogP:11.65	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-((2R,5R)-5-乙基-6-甲基庚烷-2-基)-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-氨基甲酸二甲酯

[0307] [合成例5]

[0308] 化合物15的合成

[0309] [化学式31]

[0310]



[0311] 在冰冷下向(R)-4-((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-3-羟基-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基)戊酸(6.00g)、

N,N-二异丙基乙胺 (13.5mL) 及二氯甲烷 (60mL) 的混合物中滴加氯甲基乙醚 (4.5mL), 并在相同温度下搅拌了1小时。在冰冷下向反应混合物中滴加水 (60mL) 之后, 分取有机层, 并用己烷 (15mL) 及乙酸乙酯 (15mL) 的混合溶液提取了水层。合并有机层和提取液, 减压蒸馏去除溶剂, 将所获得的残留物通过硅胶色谱法 (乙酸乙酯-己烷) 纯化, 获得了无色油状物的乙氧基甲基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3- (乙氧基甲氧基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯 (6.74g)。

[0312] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.32 (1H, m), 5.28 (2H, s), 4.74 (2H, s), 3.68 (2H, q, J=7.08Hz), 3.61 (2H, q, J=7.08Hz), 3.49-3.39 (1H, m), 2.44-2.20 (4H, m), 2.04-0.82 (33H, m), 0.68 (3H, s).

[0313] 向乙氧基甲基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3- (乙氧基甲氧基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯 (6.74g)、四氢呋喃 (20mL) 及乙醇 (20mL) 的混合物中加入氢氧化钾 (2.72g) 的水 (10mL) 溶液, 并在40°C下搅拌了2小时。在冰冷下向反应混合物中滴加5mol/L盐酸水溶液 (6mL), 并加入乙酸乙酯 (40mL), 分取有机层之后, 用水及饱和氯化钠水溶液进行了清洗。用无水硫酸钠进行干燥之后, 减压蒸馏去除溶剂, 获得了白色固体的 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3- (乙氧基甲氧基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸 (5.29g)。

[0314] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.32 (1H, m), 4.74 (2H, s), 3.61 (2H, q, J=7.08Hz), 3.49-3.39 (1H, m), 2.44-2.20 (4H, m), 2.04-0.82 (30H, m), 0.68 (3H, s).

[0315] 向 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3- (乙氧基甲氧基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸 (0.50g)、4-庚醇 (0.15g)、N,N-二异丙基乙胺 (1.0mL) 及二氯甲烷 (5.0mL) 的混合物中加入1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (0.33g) 及4-二甲基氨基吡啶 (0.14g), 并在40°C下搅拌了1小时。向反应混合物中加入水 (5.0mL), 分取有机层, 用己烷及乙酸乙酯的混合溶液提取了水层。合并有机层和提取液, 减压蒸馏去除溶剂, 将所获得的残留物通过硅胶色谱法 (乙酸乙酯-己烷) 纯化, 获得了无色油状物的庚基-4-基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3- (乙氧基甲氧基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯 (0.61g)。

[0316] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.32 (1H, m), 4.74 (2H, s), 4.94-4.86 (2H, m), 3.61 (2H, q, J=7.08Hz), 3.49-3.39 (1H, m), 2.38-2.15 (4H, m), 2.04-0.82 (43H, m), 0.68 (3H, s).

[0317] 在冰冷下向庚烷-4-基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3- (乙氧基甲氧基) -10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯 (0.61g)、水 (0.1mL) 及二氯甲烷 (4.0mL) 的混合物中加入三氟乙酸 (1.0mL), 并在室温下搅拌了1小时。在冰冷下向反应混合物中加入碳酸氢钠 (3.5g)、水 (8mL)、乙酸乙酯 (4mL) 及己烷 (4mL), 分取有机层, 用无水硫酸钠进行干燥之后, 减压蒸馏去除了溶剂。将所获得的残留物通过硅胶色谱法 (乙酸乙酯-己烷) 纯化, 获得了无色油状物的庚基-4-基 (R) -4- ((3S, 8S, 9S, 10R, 13R, 14S, 17R) -3-羟基-10, 13-二甲基-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基) 戊酸酯 (化合物15,

0.34g)。

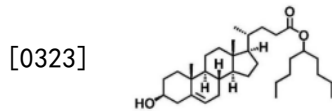
[0318] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.94-4.85 (1H, m), 3.58-3.46 (1H), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (35H), 0.68 (3H, s)。

[0319] clogP: 9.447

[0320] [合成例6]

[0321] 化合物16:

[0322] [化学式32]



[0324] 在合成例5中,使用5-壬醇来代替4-庚醇,除此以外,通过与合成例5相同的方法,获得了无色油状物的壬烷-5-基(R)-4-((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-3-羟基-10,13-二甲基-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊二烯并[a]菲-17-基)戊酸酯(化合物16)。

[0325] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 5.37-5.33 (1H, m), 4.94-4.85 (1H, m), 3.58-3.46 (1H), 2.40-2.15 (4H, m), 2.05-1.92 (2H, m), 1.92-1.73 (4H, m), 1.66-0.82 (39H), 0.68 (3H, s)。

[0326] clogP: 10.505

[0327] (PTEN反义寡核苷酸信息)

[0328] PTEN(Phosphatase and Tensin Homolog Deleted from Chromosome 10:人第10号染色体缺失的磷酸酶)为催化作为肌醇磷脂的磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸的脱磷酸化反应的酶。

[0329] 从Gene Design Co.,Ltd.及Hokkaido System Science CO,Ltd.购买了针对PTEN蛋白质的反义寡核苷酸核酸(PTEN aS0)。是包括20碱的寡核苷酸的磷酸二酯键,排列记载为以下。

[0330] 5'-C(m)^T(m)^G(m)^C(m)^T(m)^a^g^c^c^t^c^t^g^g^a^T(m)^T(m)^T(m)^G(m)^A(m)-3'

[0331] 其中,a表示2'-脱氧腺苷,g表示2'-脱氧鸟苷,t表示胸腺嘧啶,c表示2'-脱氧-5-甲基胞苷。(m)表示2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)修饰,A(m)表示2'-MOE-腺苷,G(m)表示2'-MOE-鸟苷,T(m)表示2'-MOE-胸腺嘧啶,C(m)表示2'-MOE-5-甲基胞苷.^表示硫代磷酸酯。

[0332] (PTEN aS0-LNP的制备)

[0333] 使表3所示的第一脂质(离子化脂质)、固醇、磷脂及聚乙二醇脂质(PEG脂质)以表3中所记载的摩尔比溶解于乙醇,以使总脂质浓度成为20mmol/L,从而获得了油相。

[0334] 以下示出所使用的成分。

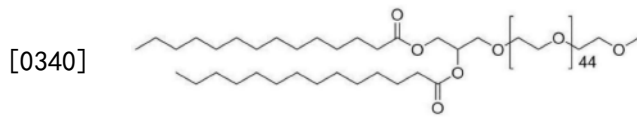
[0335] DSPC(1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine),产品名称:COaTSOME MC-8080;NOF corporation);

[0336] 胆固醇(产品名称:Cholesterol HP;Nippon Fine Chemical);

[0337] DMG-PEG2000(1,2-dimyristoyl-rac-glycero-3-methoxypolyethyleneglycol:1,2-二肉豆蔻酰-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇)(产品名称:SUNBRIGHT(注册商标)GM-020;NOF corporation)

[0338] 以下示出DMG-PEG2000(也标记为DMG-PEG)的结构。

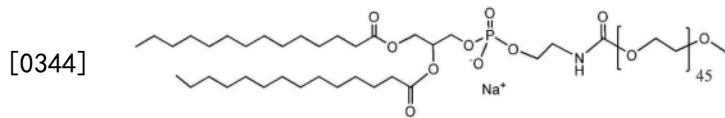
[0339] [化学式33]



[0341] DMPE-PEG2000(N-(甲基聚氧乙烯氧基羰基)-1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺钠盐)(产品名称:SUNBRIGHT(注册商标)PM-020CN;NOF corporation)

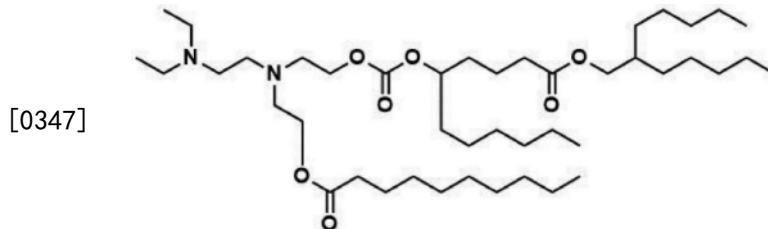
[0342] 以下示出DMPE-PEG2000的结构。

[0343] [化学式34]



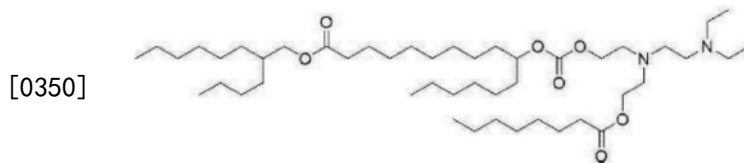
[0345] 化合物A为2-戊基庚基6-(2-(癸酰氧基)乙基)-3-乙基-12-己基-10-氧代-9,11-二氧杂-3,6-二氮杂十六烷-16-酸酯(参考W02021/095876公报的实施例135)。

[0346] [化学式35]



[0348] 化合物B为2-丁基辛基3-乙基-12-己基-6-(2-(辛酰氧基)乙基)-10-氧代-9,11-二氧杂-3,6-二氮杂二十一烷-21-酸酯(参考W02019/235635公报的实施例88)。

[0349] [化学式36]



[0351] 将PTEN aS0 5mg溶解于无菌水1mL中,利用pH4的10mmol/L乙酸缓冲液稀释成使核酸浓度成为54.6 μ mol/L而获得了水相。随后,使用注射器泵,用微混合器(参考日本专利第5288254号公报)混合成使水相与油相的体积比成为水相:油相=3:1,并且用磷酸缓冲生理盐水(PBS)将混合液稀释2倍而获得了核酸脂质粒子的分散物。

[0352] 将脂质组合中所占的第一脂质(式(2)所表示的脂质或其盐)、磷脂质(中性脂质)、固醇(式(1)所表示的化合物)、PEG脂质(具有非离子性亲水性高分子的脂质)的摩尔比记载于表3中。混合时核酸相对于全体脂质的质量比也记载于表3。

[0353] [表3]

	第一脂质	固醇	磷脂质	PEG 脂质	脂质组成比 (摩尔%)				相对于总脂质的核酸的质量比
					第一脂质	磷脂质	固醇 胆固醇	PEG 脂质	
实施例 1	化合物 A	化合物 1	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 2	化合物 A	化合物 2	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 3	化合物 A	化合物 3	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 4	化合物 A	化合物 4	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 5	化合物 A	化合物 5	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 6	化合物 A	化合物 6	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 7	化合物 A	化合物 7	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
比较例 1	化合物 A	胆固醇	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
比较例 2	化合物 A	化合物 8	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 8	化合物 A	化合物 9	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 9	化合物 A	化合物 10	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 10	化合物 A	化合物 11	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 11	化合物 A	化合物 12	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 12	化合物 A	化合物 13	DSPC	DMPE-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 13	化合物 A	化合物 14	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 14	化合物 A	化合物 15	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 15	化合物 A	化合物 16	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7
实施例 16	化合物 A	化合物 17	DSPC	DMG-PEG2000	50	10	38.5	1.5	12.7

[0354]

[0355] <粒径的测定>

[0356] 对脂质粒子分散液,使用Zeta电位·粒径测定系统ELS-Z2(Otsuka Electronics Co.,Ltd.),并利用磷酸缓冲生理盐水(PBS)稀释成5倍而测定了脂质粒子的粒径及多分散指数。将测定结果示于表4。

[0357] <PTEN aS0的内含率的评价>

[0358] (总核酸浓度定量)

[0359] 向保持核酸的脂质粒子60 μ L中添加3mol/L乙酸钠水溶液30 μ L和糖原9 μ L,随后,添加乙醇1.5mL,由此溶解脂质,仅使核酸沉淀。然后,进行离心分离,去除了上清液。风干15分钟以上之后,加入水使其再溶解,并使用Nanodrop ND1000(Thermo Fisher Scientific)测定浓度,由此对总核酸浓度进行了定量。

[0360] (外水相中的核酸浓度的定量)

[0361] 使用Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit(Thermo Fisher Scientific),按照协议(protocol)进行了定量。首先,用水稀释上述试剂盒中所包含的20 \times TE缓冲液,将其制成1 \times TE缓冲液。另外,TE表示Tris/EDTA(乙二胺四乙酸)。为了仅对外水相的核酸进行定量,用1 \times TE缓冲液将保持核酸的脂质粒子分散液稀释了50倍。

[0362] 将稀释了10000倍的脂质粒子分散液100 μ L放入96孔板,随后,将用1 \times TE缓冲液稀释了2000倍的RiboGreen试剂(上述Quant-iT Ribogreen RNA Assay Kit中所包含的试剂)100 μ L加入到样品中,通过使用酶标仪Infinite F200(TECAN)测定荧光(激发波长:485nm、荧光波长:535nm)来对外水相中的核酸浓度进行了定量。

[0363] (内含率的计算)

[0364] 使用上述工序中所获得的总核酸浓度及外水相中的核酸浓度的定量结果,按照下述式计算出核酸脂质粒子的核酸内含率。

[0365] 核酸内含率(%) = (总核酸浓度 - 外水相中的核酸浓度) \div 总核酸浓度 \times 100 将计算结果示于表4。

[0366] [表4]

[0367]

	累积量粒径 (nm)	多分散指数	内含率 (%)
实施例1	63.6	0.069	91

实施例2	66.6	0.074	91
实施例3	103.0	0.091	95
实施例4	68.1	0.010	89
实施例5	67.6	0.026	92
实施例6	110.0	0.208	85
实施例7	60.0	0.033	81
比较例1	61.4	0.042	100
比较例2	62.9	0.073	89
实施例8	66.1	0.052	89
实施例9	61.2	0.041	88
实施例10	68.9	0.198	84
实施例11	91.1	0.275	79
实施例12	131.0	0.150	89
实施例13	119.0	0.131	82
实施例14	58.1	0.071	75
实施例15	59.1	0.084	72
实施例16	55.6	0.109	72

[0368] <体外PTEN mRNA降低评价>

[0369] (用于评价的细胞)

[0370] 在使用了SH-SY5Y细胞(American Type Culture Collection)的体外试验中,分别以41.5:41.5:15:1:1的比例混合了E-MEM(gibco)、Ham's F12(gibco)、FBS(gibco)、Penicillin-streptomycin(gibco)、NEAA(FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation)而得的物质用作培养基。

[0371] (通过PCR的PTEN mRNA的定量)

[0372] PTEN蛋白质mRNA测定遵循了TaqMan(注册商标)Fast advanced Cells-to-CT™Kit(Thermo fisher scientific)的协议。对SH-SY5Y细胞添加核酸脂质粒子的分散液、Naked aS0或PBS,以制备成最终浓度成为500nmol/L作为aS0浓度。在37℃、5%CO₂管理下暴露24小时后,去除培养上清,用4℃的PBS清洗了1次。去除PBS后,以50μL/well添加Lysis solution,在室温下静放5分钟,由此获得了细胞裂解物。对细胞裂解物使用TaqMan(注册商标)Fast advanced Cells-to-CT™Kit(Thermo fisher scientific),Hs02621230_s1,FaM/MGB(Thermo fisher scientific)及Human GaPDH Endogenous Control、VIC(注册商标)/MGB(Thermo fisher scientific)作为PCR反应试剂实施了逆转录及PCR反应。

[0373] 各样品的PTEN mRNA值是通过 $\Delta\Delta Ct$ 法来计算。具体而言,从PTEN的Ct值减去GaPDH的Ct值,计算各样品的 ΔCt 值。从所计算出的 ΔCt 值减去PBS处置组的 ΔCt 值的平均值计算出ddCt值。根据各 $\Delta\Delta Ct$ 值,计算出PTEN mRNA表达比。将结果示于表5中。

[0374] [表5]

[0375] SH-SY5Y细胞中相对于对照的PTEN表达比

[0376]	SH-SY5Y细胞
实施例1	0.09

实施例2	0.24
实施例3	0.04
实施例4	0.15
实施例5	0.44
比较例1	0.59
比较例2	0.67
实施例8	0.39
实施例9	0.51
实施例10	0.18
实施例11	0.56
实施例13	0.50
实施例16	0.50

[0377] <核酸脂质粒子的制备>

[0378] 将化合物A或化合物B、DSPC (1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) 产品名称:COATSOME (R) MC-8080;NOF Corporation制造)、表6中所记载的化合物、DMG-PEG2000 (1,2-二肉豆蔻酰基-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇-2000产品名称:SUNBRIGHT (R) GM-020;NOF Corporation制造)以50:10:38.5:1.5的摩尔比溶解在乙醇中直至总脂质浓度成为12.5mmol/L,从而获得了油相。

[0379] 将FLuc mRNA (产品名:CleanCap FLuc mRNA;TriLink制造)利用pH4的50mmol/L柠檬酸缓冲液,以油相·水相混合后的总脂质浓度相对于mRNA浓度的重量比成为20:1的方式稀释而获得了水相。随后,以水相与油相的体积比成为水相:油相=3:1的方式,使用NanoAssemblr (Precision NanoSystems)来进行混合,并将混合液利用磷酸缓冲生理盐水 (PBS) 稀释成2倍而获得了mRNA脂质粒子的分散液。将该分散液对包含8%蔗糖的20mM Tris缓冲液pH7.4,使用透析力成套 (Slide-A-Lyzer G2,MWCO:10kD,Thermo Fisher Scientific)进行透析,从而去除乙醇,获得了FLuc mRNA内含脂质粒子。

[0380] <粒径的测定>

[0381] 使用Zeta电位·粒径测定系统NanoSAQLA (Otsuka Electronics Co.,Ltd.),并利用磷酸缓冲生理盐水 (PBS) 将脂质粒子稀释成5倍后测定了mRNA内含脂质粒子的粒径。将结果示于表6中。

[0382] <mRNA的内含率的评价>

[0383] (总mRNA浓度定量)

[0384] 用MilliQ水稀释FLuc mRNA来制备100 μ g/mL至3.1 μ g/mL的2倍稀释系列样品,制备了校准曲线溶液。将校准曲线溶液或mRNA脂质纳米粒子50 μ L与甲醇450 μ L混合而制备了测定溶液。

[0385] 使用UV板式读数器 (Multiskan Go,Thermo fisher scientific)测定各测定溶液在260nm及330nm下的吸光度,从260nm的吸光度减去330nm的吸光度,作为各测定溶液的吸光度。使用各样品测定溶液的吸光度,根据校准曲线计算出总水相mRNA浓度。

[0386] (外水相中的mRNA浓度的定量)

[0387] 使用Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific),通过标

准加入法定量了外水相核酸浓度。首先,用水稀释上述试剂盒中所包含的20×TE缓冲液,将其制成1×TE缓冲液。另外,TE表示Tris/EDTA(乙二胺四乙酸)。用TE缓冲液稀释FLuc mRNA直至终浓度成为0~400ng/mL,制备了核酸稀释系列。将用TE缓冲液稀释5倍的mRNA脂质纳米粒子10μL和核酸稀释系列90μL在96孔板中混合后,向各孔中加入用TE缓冲液稀释200倍的RiboGreen试剂100μL,使用荧光板式读数器(Infinite 200Pro M nano+、TECAN)测定了荧光(激发波长:485nm,荧光波长:535nm)。根据所获得的结果并按照标准加入法计算出各测定溶液的外水相mRNA浓度。

[0388] (内含率的计算)

[0389] 使用上述工序中所获得的总mRNA浓度及外水相中的mRNA浓度的定量结果,按照下述式计算出mRNA脂质纳米粒子的mRNA内含率。将结果示于表1中。

[0390] $\text{mRNA内含率}(\%) = (\text{总mRNA浓度} - \text{外水相中mRNA浓度}) \div \text{总mRNA浓度} \times 100$

[0391] 将结果示于表6中。

[0392] [表6]

[0393]

实施例	离子化脂质	化合物编号	粒径nm	PDI	内含率%
实施例17	化合物A	化合物1	119	0.073	82.9
实施例18	化合物A	化合物2	131	0.044	87.3
实施例19	化合物A	化合物3	191	0.054	76.7
实施例20	化合物A	化合物4	122	0.093	81.7
实施例21	化合物A	化合物5	127	0.059	82.1
实施例22	化合物A	化合物9	117	0.046	87.9
实施例24	化合物A	化合物16	121	0.160	74.0
实施例25	化合物B	化合物4	151	0.093	62.0
实施例26	化合物B	化合物15	138	0.094	83.4
实施例27	化合物B	化合物16	112	0.128	88.3

[0394] <体外的Luciferase表达测定>

[0395] 进行了体外的Luciferase(荧光素酶)表达测定。

[0396] (用于评价的细胞)

[0397] 在使用了Hela细胞的体外试验中,将分别以88:10:1:1的比例混合了E-MEM(gibco)、FBS(fetal bovine serum)(gibco)、Penicillin-streptomycin(gibco)、NEaa(Non-Essential amino acid)(FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation)而得的物质用作培养基。

[0398] (Luciferase表达量的定量)

[0399] Luciferase表达量的测定遵循了ONE-Glo Luciferase Assay System(Promega)的协议。向Hela细胞中预先添加了与hApoE(FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation)进行预培养的、以最终浓度成为80ng/well作为mRNA浓度的方式制备的核酸脂质粒子的分散液。在37℃、5%CO₂管理下暴露24小时之后,以100μL/well添加混合Luciferase Assay Buffer(荧光素酶测定缓冲液)和Luciferase Assay Substrate(荧光素酶测定基质)而得的混合物,在室温下静放3分钟,由此获得了测定溶液。将测定溶液以每次50μL的方式移液至另外的板中,用板式读数器(Envision,Perkin elmer)测定了发光量。

将结果示于表7中。

[0400] [表7]

实施例	Luciferase 表达量 (photon/sec)
实施例 17	88067
实施例 18	50093
实施例 19	40453
实施例 20	45533
实施例 21	6693
实施例 22	39307
实施例 24	1387
实施例 25	18013
实施例 26	55107
实施例 27	4347

[0402] 可知本发明的核酸脂质组合物能够确认到良好的Luciferase的表达且具有优异的mRNA递送能力。