

ST 类脂质化合物在制备核酸递送试剂中的应用及相关产品

5 技术领域

本发明涉及生物领域。具体地，本申请涉及脂质化合物用于递送核酸的用途，这些化合物或其多种组合能够促进各种核酸通过口服体内吸收，进入有此需要的对象体内的靶部位，并进入靶细胞中。本申请涉及的这些化合物在中药中被提取和发现，也可以通过合成的方法获得。

10

背景技术

在过去几十年中，用核酸分子作为治疗药物的理念从概念走向了临床现实。事实上，核酸分子拥有许多的属性使得它们可以作为治疗药物。它们能够折叠形成复杂的构象让它们可以与蛋白质、小分子或者其他核酸相互结合，有些甚至可以形成催化中心。核酸药物可精准靶向，未来极有可能改变目前西医药物以化合物和蛋白类药为主的医药格局，成为继小分子化药和抗体药物后的第三大类型药物。例如，小干扰 RNA（siRNA）作为 RNAi 的效应分子，其作为治疗药物具有越来越广阔的前景。目前全球已有 13 款核酸药物获批，且有多种 siRNA 药物进入临床实验，预示着其良好的发展前景。通常，人们将 siRNA，miRNA 及其它非编码小 RNA 不加区分地称之为小核酸或小 RNA(sRNA)。除了小 RNA 以外，可以作为药物的核酸分子还包括例如 mRNA、反义核酸等。然而，由于核酸分子例如 RNA 容易降解，在体内有相对较短的半衰期，因此作为治疗药物来说，其通常不被认为是最优的选择。因此，如何将核酸分子包括小 RNA、mRNA 等有效递送至体内靶器官以及靶细胞中，实现其生物活性和治疗或预防作用，是本领域技术人员迫切需要解决的问题。

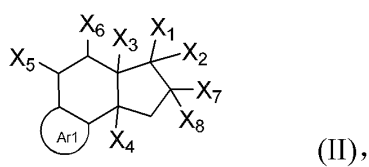
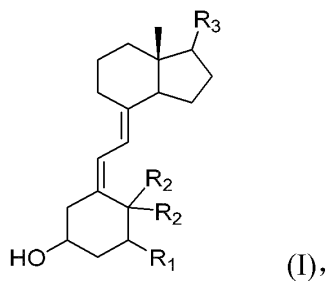
15

20

25

发明内容

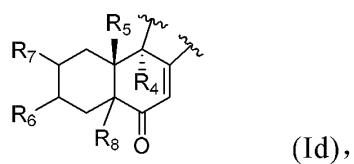
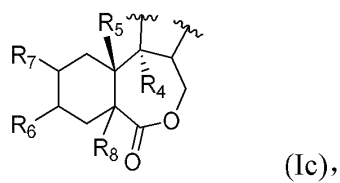
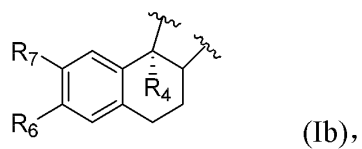
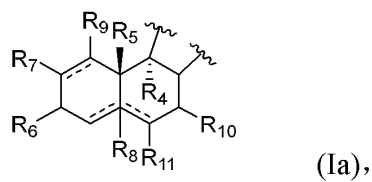
在一方面，本申请提供了脂质组合物在制备用于核酸递送的试剂中的用途，所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：



5

其中

Ar1 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id):



10

其中：

== 为碳碳单键或碳碳双键；

R₁ 为氢或羟基；

每个 R₂ 为氢，或者两个 R₂ 与其连接的碳原子一起形成直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

- 5 R₃ 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 杂烷基；

R₄ 为氢、羟基或卤素；

- 10 R₅ 为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

R₆ 为氢、羟基、氧基、-OC(O)R'、任选由一个或多个选自羟基或 C₁₋₂₀ 烷基的基团取代的-O-杂环基；

R₇ 为氢或羟基；

R₈ 为不存在、氢、或羟基；

- 15 R₉、R₁₀ 和 R₁₁ 独立地为氢、氧基或羟基；

X₁ 为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-COOH 和 -C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

- 20 X₂ 为不存在、氢、羟基、直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、或者直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

X₃ 为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄ 为氢或羟基；

X₅ 为氢、羟基或氧基；

X₆ 为氢、氧基或羟基；

X₇ 和 X₈ 为氢，或者 X₁ 和 X₇ 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R' 为任选由一个或多个羟基或-OC(O)R''取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

5 每个 R''独立地为氢、任选由一个或多个-COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

在某些实施方式中，所述化合物的盐包括药学上可接受的盐。

在另一方面，本申请还提供了脂质组合物在制备用于核酸递送的试剂中的用途，所述脂质组合物包含一种或多种选自下组的化合物，或其盐、水合物或溶剂化物：脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、
10 550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653，其中所述化合物如下表所示：

脂质化合物编号	商品名
508	芸苔素内酯
512	维生素 D4
532	氟甲睾酮
534	氟氢可的松
538	坡那甾酮 A
539	美雄诺龙
540	马沙骨化醇
545	帕立骨化醇
546	甲基睾酮
547	甲基泼尼松龙
548	5α-雄烷二醇
549	脱氧可的松
550	毒毛旋花苷 G

551	胆甾烷-3,5,6-三醇
552	甘氨脱氧胆酸
553	甘氨胆酸
554	卡泊三醇
555	4-雄烯-11 β -醇-3,17-二酮
556	17-戊酸- β -雌二醇酯
557	甲羟孕酮
558	海柯皂昔元
559	毛地黄毒苷配基
560	左炔诺孕酮
561	去氢表雄酮
562	诺龙
563	雄酮
564	泼尼松
565	十七酸胆固醇酯
566	氢化可的松
567	19-羟基雄-4-烯-3,17-二酮
568	丙酸睾酮
569	度骨化醇
570	1 α ,25-二羟基维生素 D ₂
571	骨化二醇
575	黄体酮
576	炔诺酮
577	石胆酸
579	睾酮
580	鹅去氧胆酸
581	去氧胆酸
582	乙酸氢化可的松
583	5 α -胆甾烷-3 β -醇

584	胆固醇硬脂酸酯
585	醋酸可的松
586	3 α -羟基-7-氧代-5 β -胆烷酸
587	4-雄烯-3,17-二酮
588	脱氧胆酸钠,
589	薯蓣皂素
590	孕烯醇酮
591	炔雌醇
592	熊去氧胆酸
633	雌三醇
653	5 α -胆甾烷

在某些实施方式中，所述脂质组合物或所述试剂可以通过口服、吸入或注射的方式递送所述核酸。在某些实施方式中，所述脂质组合物或所述试剂通过口服的方式递送所述核酸。在某些实施方式中，所述递送包括体内消化道递送。

在某些实施方式中，所述递送包括体外细胞递送。

在某些实施方式中，所述脂质组合物或所述试剂可以用于制备脂质核酸混合物。

脂质核酸混合物可以通过适当的方法制备，包括但不限于，加热法、逆向蒸发法，或者混合法。

在某些实施方式中，所述加热法包括将脂质的有机溶剂溶液加入到核酸的水溶液中得到混合溶液，并在适当的温度下加热所述混合溶液。在某些实施方式中，所述加热法进一步包括冷却所述加热的混合溶液，从而得到脂质与核酸的混合物。

在一些实施方案中，在选自如下的温度下加热所述混合溶液：25°C 至 100°C、30°C 至 100°C、40°C 至 100°C、50°C 至 100°C、60°C 至 100°C、70°C 至 100°C、80°C 至 100°C、90°C 至 100°C，和 95°C 至 100°C。在一些实施方案中，在选自如下的温度下加热所述混合溶液：30°C、35°C、37°C、40°C、45°C、50°C、55°C、

60°C、65°C、70°C、75°C、80°C、85°C、90°C、95°C 和 100°C。

5 在一些实施方案中，加热所述混合溶液的时间为约 5 分钟至约 24 小时，约 5 分钟至约 20 小时，约 5 分钟至约 16 小时，约 10 分钟至约 20 小时，约 10 分钟至约 16 小时，约 15 分钟至约 24 小时，约 15 分钟至约 20 小时，约 30 分钟至约 24 小时，约 30 分钟至约 20 小时，约 40 分钟至约 16 小时，约 50 分钟至约 12 小时，约 1 小时至约 8 小时，或约 2 小时至约 4 小时。在一些实施方案中，加热所述混合溶液的时间为约 5 分钟至约 1 小时，约 5 分钟至约 30 分钟，约 5 分钟至约 15 分钟，或约 10 分钟至约 15 分钟。在一些实施方案中，加热所述混合溶液的时间为约 5 分钟、约 10 分钟、约 15 分钟、约 20 分钟、约 25 分钟、约 30 分钟、40 分钟、50 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、8 小时、9 小时、10 小时、12 小时、16 小时、20 小时或 24 小时。

15 在某些实施方案中，在选自如下的温度下冷却所述混合溶液：25°C 至 -80°C，20°C 至 -80°C，15°C 至 -80°C，10°C 至 -80°C，4°C 至 -80°C，0°C 至 -80°C，-10°C 至 -80°C，-20°C 至 -80°C，-30°C 至 -80°C，-40°C 至 -80°C。在一些实施方案中，在选自如下的温度下冷却所述混合溶液：25°C、20°C、15°C、10°C、4°C 或 0°C。

在某些实施方案中，所述逆向蒸发法包括将核酸的水溶液与脂质化合物的有机溶剂溶液进行混合以得到混合溶液。在某些实施方案中，所述逆向蒸发法进一步包括去除所述混合溶液中的有机溶剂，然后进行水化，从而得到脂质与核酸的混合物。在某些实施方案中，将所述混合溶液进行超声和/或蒸发以去除所述有机溶剂。在某些实施方案中，去除所述混合溶液中的有机溶剂的步骤在适当的温度下进行。

25 在一些实施方案中，在选自如下的温度下去除所述混合溶液中的有机溶剂：约 25°C 至约 70°C，30°C 至约 70°C、约 30°C 至约 65°C，约 40°C 至约 65°C，约 40°C 至约 60°C、或约 50°C 至约 60°C。在一些实施方案中，在选自如下的温度下去除所述混合溶液中的有机溶剂：约 25°C、约 30°C、约 35°C、约 40°C、约 45°C、约 50°C、约 55°C、约 60°C、约 65°C 和约 70°C。

在另一方面，本申请提供了一种向有需要的个体递送核酸的方法，其包括通过口服、吸入或注射的方式向所述个体施用所述脂质组合物和所述核酸。在

某些实施方式中，所述脂质组合物和所述核酸以脂质核酸混合物的形式施用。

在某些实施方式中，所述核酸包含 DNA 或 RNA。在某些实施方案中，所述 DNA 例如非编码 DNA（如反义 DNA）或编码 DNA 等。在某些实施方案中，所述 RNA 例如反义核酸、mRNA、lncRNA、或小 RNA（例如 miRNA、
5 siRNA、piRNA、snoRNA、tsRNA）等。

在某些实施方式中，所述核酸包含长度为 14-32bp、16-28bp 或 18-24bp 的小核酸。

在某些实施方式中，所述核酸为单链或双链的。

在某些实施方式中，所述核酸具有茎环结构。

10 在某些实施方式中，所述核酸用于治疗疾病。

在某些实施方式中，所述核酸用于治疗癌症、炎症、纤维化疾病、自身免疫疾病或自身炎性疾病、细菌感染、行为性和精神性病症、血液疾病、染色体疾病、先天性和遗传性疫病、结缔组织疾病、消化性疾病、耳鼻喉疾病、内分泌疾病、环境性疾病、眼部疾病、女性生殖性疾病、真菌感染、心脏病、遗传
15 性癌症综合征、免疫系统疾病、肾脏和泌尿性疾病、肺部疾病、男性生殖新疾病、代谢性病症、口部疾病、肌肉骨骼疾病、骨髓增生异常性综合征、新生儿筛查、营养性疾病、寄生虫疾病、罕见癌症、罕见疾病、皮肤疾病和病毒感染。

在某些实施方式中，所述核酸用于治疗肝细胞癌、角膜新生血管形成、复
20 发性或难治性间变性星形细胞瘤（WHO III 级）或继发性胶质母细胞瘤（WHO IV 级）、晚期鳞状细胞肺癌、肢端肥大症、银屑病、杜氏肌营养不良症、晚期非小细胞肺癌、转移性去势抗性前列腺癌、巨细胞病毒性视网膜炎，HIV 感染、乙型肝炎、丙型肝炎、高脂蛋白症、全膝关节置换术、II 型糖尿病、家族性淀粉样多发性神经病（FAP）、湿性黄斑变性（例如新血管性年龄相关性黄斑变性、中央凹下新血管性年龄相关性黄斑变性、渗出性年龄相关性黄斑变
25 性）、高胆固醇血症、克罗恩病、广泛性肝纤维化、婴儿型脊髓性肌萎缩症、黑色素瘤、新生冠状动脉病变、轻度过敏性哮喘、慢性淋巴细胞性白血病、和高甘油三酯血症、造血干细胞移植后伴肾或肺功能障碍的肝小细胞闭塞症、伴遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样病变。

在另一方面，本申请还提供了一种药物组合物，其包含脂质组合物以及核酸，其中所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。在某些实施方式中，所述脂质组合物和所述核酸以脂质核酸混合物的形式存在。

5 在另一方面，本申请还提供了一种药物组合物，其包含脂质组合物以及核酸，其中所述脂质组合物包含一种或多种选自下组的化合物，或其盐、水合物或溶剂化物：脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、
10 582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 组成的组。在某些实施方式中，所述脂质组合物和所述核酸以脂质核酸混合物的形式存在。

在另一方面，本申请还提供了本申请所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于预防和/或治疗能用核酸预防和/或治疗的疾病，或者用于将核酸体内递送至有此需要的对象中。
15

在另一方面，本申请还提供了一种试剂盒，其包含：置于第一容器中的一种或多种具有所述式(I)或式(II)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，和置于第二容器中的核酸。

在另一方面，本申请还提供了一种试剂盒，其包含：置于第一容器中的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，和置于第二容器中的核酸，其中所述一种或多种化合物选自下组：脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、
20 589、590、591、592、633 和 653。
25

在另一方面，本申请提供了本申请所述的试剂盒在制备药物中的用途，所述药物用于预防和/或治疗能用核酸预防和/或治疗的疾病，或者用于将核酸体内递送至有此需要的对象中。

在另一方面，本申请提供了一种将核酸递送至靶细胞中的方法，包括向所述靶细胞施用本申请所述的药物组合物，或者由本申请所述的试剂盒配制得到的脂质核酸混合物。

在另一方面，本申请提供了一种将核酸体内递送至有此需要的对象中的方法，
5 包括向所述对象施用本申请所述的药物组合物，或者由本申请所述的试剂盒配制得到的脂质核酸混合物。

应理解，在本发明范围内，本发明的上述各技术特征和在下文（如实施例）中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

10

附图说明

图 1 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 508 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织（a）、肝组织（b）、脾组织（c）、肺组织（d）、肾组织（e）、胃组织（f）、肠组织（g）、脑组织（h）及血液（i）的结果。

15

图 2 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 512 递送 PGY-sRNA-26 进入心脏组织（a）、肝组织（b）、脾组织（c）、肺组织（d）、肾组织（e）、胃组织（f）、肠组织（g）、脑组织（h）及血液（i）的结果。

图 3 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 532 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织（a）、肝组织（b）、脾组织（c）、肺组织（d）、肾组织（e）、胃组织（f）、肠组织（g）、脑组织（h）、血液（i）及股骨（j）的结果。

20

图 4 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 534 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织（a）、肝组织（b）、脾组织（c）、肺组织（d）、肾组织（e）、胃组织（f）、肠组织（g）、脑组织（h）、血液（i）及股骨（j）的结果。

图 5 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 538 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织（a）、肝组织（b）、脾组织（c）、肺组织（d）、肾组织（e）、胃组织（f）、肠组织（g）、脑组织（h）、血液（i）及股骨（j）的结果。

25

图 6 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 539 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 7 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 540 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 8 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 545 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 9 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 546 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 10 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 547 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 11 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 548 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 12 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 549 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 13 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 550 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 14 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 551 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

- 图 15 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 552 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 16 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 553 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 17 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 554 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 18 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 555 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 19 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 556 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 20 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 557 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 21 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 558 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 22 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 559 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 23 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 560 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 24 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 561 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

5 图 25 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 562 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 26 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 563 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

10 图 27 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 564 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

15 图 28 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 565 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 29 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 566 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

20 图 30 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 567 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 31 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 568 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

25 图 32 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 569 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

- 图 33 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 570 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 34 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 571 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 35 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 575 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 36 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 576 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 37 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 577 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 38 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 579 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 39 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 580 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 40 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 581 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。
- 图 41 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 582 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 42 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 583 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

5 图 43 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 584 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 44 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 585 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

10 图 45 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 586 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

15 图 46 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 587 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 47 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 588 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

20 图 48 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 589 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 49 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 590 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

25 图 50 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 591 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 51 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 592 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 52 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 633 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

图 53 分别示出了空白组、自由摄取组和脂质 653 递送 PGY-sRNA-26 进入小鼠心脏组织 (a)、肝组织 (b)、脾组织 (c)、肺组织 (d)、肾组织 (e)、胃组织 (f)、肠组织 (g)、脑组织 (h)、血液 (i) 及股骨 (j) 的结果。

具体实施方式

本发明至少部分地基于本申请的发明人经过大量实验获得的意外发现，即，一些中药中存在一些脂质组分，这些源自中药的脂质能够促进核酸如小 RNA 吸收/进入细胞和/或有此需要的对象体内靶部位。为本发明的目的，这些脂质组分也可以是合成的。

如下将参照以示例性的方式示出结构和式的本申请的某些实施方案来详细描述本申请。尽管结合列举的实施方案对本申请进行了描述，但应了解其不旨在将本申请限定为所描述的那些实施方案。相反，本申请旨在涵盖落入权利要求书所限定的范围内的所有替代方式、修改方式和等同方式。本领域技术人员将会认识到可用于实施本申请的与本文描述的方法和材料类似或等同的其他方法和材料，本申请不以任何方式局限于所描述的方法和材料。当所引用的文献和类似材料不同于本申请的描述或与本申请的描述(包括限定的术语、术语使用、技术等)矛盾时，以本申请的描述为准。

还应理解在不同实施方案中描述的某些特征也可在单个实施方案中组合提供。反之，在单个实施方案中描述的多种特征也可以单独提供或以任何适当的亚组合提供。

还应理解本文所记载的数值点旨在包括各数值点本身，以及任意两个所记载

的点之间的数值范围（如同这些数值范围已经单独列出）。

定义

如本文所用，除非另有说明，否则应适用以下定义。出于本申请的目的，根据 Handbook of Chemistry and Physics（第 75 版）的元素周期表（CAS 版）鉴定化学元素。另外，有机化学的一般原理以及特定的官能部分和反应活性描述于“Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 和“March’s Advanced Organic Chemistry”, 第 5 版, Smith, M.B.和 March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001 中，其全部内容通过引用并入本申请。

在本文中描述了连接取代基。当结构明确需要连接基团时，应理解针对该基团所列出的马库什变量为连接基团。例如，如果结构需要连接基团，且针对该变量的马库什基团定义列出了“烷基”，则应理解“烷基”表示亚烷基连接基团。

本文所用的术语“取代的”，无论前面是否有术语“任选地”，都是指指定基团中的一个或多个氢被合适的取代基取代。除非另有说明，否则“取代的”基团可以在所述基团的每个可取代的位置具有合适的取代基，并且当任何给定结构中一个以上的位置可以被选自特定基团的一个以上的取代基取代时，所述取代基可以在每个位置上都相同或不同。本发明所设想的取代基组合优选地是导致形成稳定的或化学上可行的化合物的那些取代基组合。本文所用的术语“稳定的”是指这样的化合物：当其经受允许其生产、检测、以及（在某些实施方案中）其回收、纯化的条件、以及用于本文公开的一个或多个目的时，其基本上不会改变。除非特别指出为“未取代的”，否则本文所述的化学部分应被理解为包括取代基。例如，当提及“芳基”时，其包括取代的芳基和未取代的芳基。

当连接至取代基的键显示为与环中连接两个原子的键交叉时，该取代基可键连至环中的任意原子。当列出取代基但未指明该取代基通过何种原子键连至给定式的化合物的其余部分时，该取代基可通过所述式中的任意原子键连。取代基和/或变量的组合是允许的，但前提是该组合得到稳定的化合物。

本文所用的术语“C_{i-j}”表示碳原子数的范围，其中 i 和 j 为整数且 j 大于 i，并且碳原子数的范围包括端点（即 i 和 j）以及端点之间的每个整数点。例如，

C₁₋₆表示1至6个碳原子的范围,包括1个碳原子,2个碳原子,3个碳原子,4个碳原子,5个碳原子和6个碳原子。在一些实施方案中,术语“C₁₋₁₂”表示1至12,特别地1至10,特别地1至8,特别地1至6,特别地1至5,特别地1至4,特别地1至3,或特别地1至2个碳原子。

5 本文所用的术语“烷基”,无论作为另一术语的一部分还是独立地使用,是指饱和的直链或支链烃基。术语“C_{i-j}烷基”指具有i至j个碳原子的烷基。在一些实施方案中,烷基包含1至20个碳原子。在一些实施方案中,烷基包含5至20个碳原子。在一些实施方案中,烷基包含1至20个碳原子,1至19个碳原子,1至18个碳原子,1至17个碳原子,1至16个碳原子,1至15个碳原子,10 1至14个碳原子,1至13个碳原子,1至12个碳原子,1至11个碳原子,1至10个碳原子,1至9个碳原子,1至8个碳原子,1至7个碳原子,1至6个碳原子,1至5个碳原子,1至4个碳原子,1至3个碳原子,或1至2个碳原子。烷基的例子包括但不限于甲基、乙基、1-丙基(正丙基)、2-丙基(异丙基)、1-丁基(正丁基)、2-甲基-1-丙基(异丁基)、2-丁基(新丁基)、2-甲基-2-丙基(叔15 丁基)、1-戊基(正戊基)、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基、3,3-二甲基-2-丁基、1-庚基、1-辛基、1-壬基、1-癸基等。“C₁₋₂₀烷基”的例子包括但不限于甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷20 基、十二烷基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基。

本文所用的术语“烯基”,无论作为另一术语的一部分还是独立地使用,是指具有至少一个碳-碳双键的直链或支链烃基,其可任选地被一个或多个本文所述的取代基独立地取代,并且包括具有“顺式”和“反式”取向,或者“E”和“Z”取向的25 基团。在一些实施方案中,烯基含有2至20个碳原子。在一些实施方案中,烯基含有5至20个碳原子。在一些实施方案中,烯基含有2至20个碳原子,2至19个碳原子,2至18个碳原子,2至17个碳原子,2至16个碳原子,2至15个碳原子,2至14个碳原子,2至13个碳原子,2至12个碳原子,2至11个碳原子,2至10个碳原子,2至9个碳原子,2至8个碳原子,2至7个碳原子,2至

6个碳原子，2至5个碳原子，2至4个碳原子，2至3个碳原子。在一些实施方案中，烯基包含超过1个碳-碳双键。应理解，在所述烯基包含超过1个碳-碳双键的情况下，所述双键可以互相分离或共轭。在一些实施方案中，烯基包含5个碳-碳双键，4个碳-碳双键，3个碳-碳双键，2个碳-碳双键，或1个碳-碳双键。

5 本文所用的术语“炔基”，无论作为另一术语的一部分还是独立使用，是指具有至少一个碳-碳三键的直链或支链烃基，其可以任选地独立地被一个或多个所述取代基取代。在一些实施例中，烯基含有2至12个碳原子。在一些实施例中，炔基含有2至11个碳原子。在一些实施例中，炔基含有2至11个碳原子、2至10个碳原子、2至9个碳原子、2至8个碳原子、2至7个碳原子、2至6个碳
10 原子、2至5个碳原子、2至4个碳原子、2至3个碳原子，并且在一些实施例中，炔基包含2个碳原子。炔基的实例包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基等。

本文所用的术语“环烷基”，无论作为另一术语的一部分还是独立地使用，是指饱和的单环和多环环系，其中所有的环原子为碳，其包含至少3个成环碳
15 原子。在一些实施方案中，环烷基可含有3至20个成环碳原子，3至19个成环碳原子，3至18个成环碳原子，3至17个成环碳原子，3至16个成环碳原子，3至15个成环碳原子，3至14个成环碳原子，3至13个成环碳原子，3至12个成环碳原子，3至11个成环碳原子，3至10个成环碳原子，3至9个成环碳原子，3至8个成环碳原子，3至7个成环碳原子，3至6个成环碳原子，3至5个
20 成环碳原子，4至20个成环碳原子，4至19个成环碳原子，4至18个成环碳原子，4至17个成环碳原子，4至16个成环碳原子，4至15个成环碳原子，4至14个成环碳原子，4至13个成环碳原子，4至12个成环碳原子，4至11个成环碳原子，4至10个成环碳原子，4至9个成环碳原子，4至8个成环碳原子，4至7个成环碳原子，4至6个成环碳原子，4至5个成环碳原子。环烷基可任选
25 地在一个或多个环位置处被一个或多个本文所述的取代基取代。环烷基可为单环或多环碳环体系。在一些实施方案中，环烷基为单环体系。在一些实施方案中，环烷基为稠环、螺环或桥环的多环体系。本文所用的术语“稠环”是指具有共享两个相邻原子的两个环的环体系，本文所用的术语“螺环”是指具有通过一个共同原子连接的两个环的环体系，本文所用的术语“桥环”是指具有共享三个或更

多个原子的两个环的环体系。环烷基可为饱和的、部分不饱和的或完全不饱和的。在一些实施方案中，环烷基可为饱和环状烷基。在一些实施方案中，环烷基可为在环系中含有至少一个双键或三键的不饱和环状烷基。

本文所用的术语“环烯基”，无论作为另一术语的一部分还是独立地使用，是指包含 3-20 个成环碳原子以及至少一个碳-碳双键的单环和多环环系，只要所述环烯基环的大小允许，其中所有的环原子为碳。在一些实施方案中，环烯基包含超过 1 个碳-碳双键。应理解，在所述烯基包含超过 1 个碳-碳双键的情况下，所述双键可以互相分离或共轭。在一些实施方案中，环烯基包含 5 个碳-碳双键，4 个碳-碳双键，3 个碳-碳双键，2 个碳-碳双键，或 1 个碳-碳双键。

10 本文所用的术语“杂原子”是指氮、氧、硫或磷，并包括氮或硫的任意氧化形式，以及碱性氮的任意季化形式。

本文所用的术语“杂烷基”，无论作为另一术语的一部分还是独立地使用，是指至少一个碳原子被选自氮、氧、硫或磷的杂原子替换的烷基，其中所述杂原子可位于烷基的端部或中间。

15 本文所用的术语“杂烯基”，无论作为另一术语的一部分还是独立地使用，是指至少一个碳原子被选自氮、氧、硫或磷的杂原子替换的烯基，其中所述杂原子可位于烯基的端部或中间。

本文使用的术语“杂环基”是指这样的环烷基：其中一个或多个（例如 1、2 或 3 个）环原子被杂原子代替，所述杂原子包括，但不限于，氧、硫、氮、磷等。含有一个杂原子的示例性杂环基基团包括吡咯烷、四氢吡喃、四氢呋喃和哌啶，含有两个杂原子的示例性杂环基基团包括吗啉和哌嗪。

20

本文使用的术语“杂环烯基”是指这样的环烯基：其中一个或多个（例如 1、2 或 3 个）环原子被杂原子代替，所述杂原子包括，但不限于，氧、硫、氮、磷等。含有一个杂原子的示例性杂环基基团包括 1-吡咯啉和 2,5-二氢呋喃。

25 本文所用的术语“氧基”是指=O。

本文所用的术语“羟基”是指-OH。

本文所用的术语“胺基”是指-NH₂。

本文所用的术语“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指在合理的医学判断范围内适合用于与人或动物的组织接触而没有过度的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题，
5 并且与合理的有益效果/风险比相称的本文所述化合物的盐或两性离子形式。

本文所用的术语“药物组合物”指包含本申请所述的脂质组合物和核酸的组合物，该组合物可任选地进一步含有药学上可接受的运载体。

本文所用的术语“药学上可接受的”是指这样的化合物、材料、组合物和/或剂型：其在合理的医学判断范围内适合用于与人和动物的组织接触而无过多毒性、
10 刺激性、过敏反应或其他问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。在一些实施方案中，药学上可接受的化合物、材料、组合物和/或剂型是指用于动物（更特别地，用于人）的由管理机构（例如美国食品和药物管理局、中国食品药品监督管理局或欧洲药品管理局）批准的或通常在公认的药典（例如美国药典、中国药典或欧洲药典）中列出的化合物、材料、组合物和/或剂型。

15 本文所用的术语“药学上可接受的运载体”是指药学上可接受的材料、组合物或媒介物，例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或封装材料，其涉及将本文提供的化合物从一个位置、体液、组织、器官（内部或外部）或身体的一部分携带或运输至另一个位置、体液、组织、器官或身体的一部分。药学上可接受的运载体可以是媒介物、稀释剂、赋形剂或可用于接触动物的组织而无过多毒性或副作用的其他材料。示例性的药学上可接受的运载体包括糖、淀粉、纤维素、
20 麦芽、黄耆胶、明胶、林格氏溶液、海藻酸、等渗盐水、缓冲剂等。可用于本申请的药学上可接受的运载体包括本领域通常已知的运载体，例如在“Remington Pharmaceutical Sciences” Mack Pub. Co., New Jersey（1991）中公开的运载体，该文章通过引入并入本文。

25 本文所用的术语“递送”涵盖局部和全身递送两者。“局部递送”是指将待递送的治疗剂（例如核酸）直接递送至生物体内的靶部位。例如，试剂可以通过直接注射到靶部位（例如疾病部位，如肿瘤或炎症部位）或靶器官（例如心脏、脾、

肺、肾等)而被局部递送。“全身递送”是指导致治疗剂(例如核酸)在生物体内广泛生物分布的递送,从而使有效量的治疗剂暴露于身体的大多数部位。为了获得广泛的生物分布,通常需要这样的血液寿命,使得这些治疗剂在到达远离给药部位的靶部位之前不迅速降解或清除。脂质组合物的全身递送可以是任何合适的方式,包括,例如,口服、吸入、消化道内、静脉内、皮下、和腹膜内来进行。

如本文所用的术语“脂质”是指一类有机化合物,其包括但不限于脂肪酸的酯,并且特征是不溶于水(例如水中的溶解度小于约 0.01 重量%)但可溶于许多有机溶剂中。脂质可以是,例如简单脂质(例如脂肪、油、蜡),化合物脂质(例如磷脂、糖脂),和衍生的脂质(例如类固醇)。

如本文所用的“核酸”是指含有处于单链或双链形式的至少两个脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸的聚合物。核酸可以具有天然的核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸,也可以包含非天然的核糖核苷酸和非天然的脱氧核糖核苷酸。天然的核糖核苷酸包括,例如腺苷酸、鸟苷酸、胞苷酸、尿苷酸、假尿苷酸、肌苷酸、黄苷酸。天然的脱氧核糖核苷酸包括,例如脱氧腺苷酸、脱氧鸟苷酸、脱氧胞苷酸、脱氧胸苷酸。非天然的核糖核苷酸和脱氧核糖核苷酸通常具有修饰的核碱基、修饰的核糖或脱氧核糖、和/或修饰的磷酸酯键。

“核苷酸”包含糖(例如脱氧核糖或核糖),碱基,和磷酸基团。核苷酸通过磷酸基团连接在一起,形成聚合物。“碱基”包括嘌呤和嘧啶,其进一步包括天然化合物腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、肌苷、和天然类似物,以及嘌呤和嘧啶的合成衍生物,其包括但不限于,具有胺、醇、硫醇、羧化物和烷基卤化物等的修饰。在本申请中,核酸还可以包含核苷酸类似物或修饰的核苷酸,其可以是合成的、天然存在的、和非天然存在的,且其具有与天然核酸类似的结合特性。所述核苷酸类似物或修饰的核苷酸的实例包括,但不限于,具有硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、甲基磷酸酯、或手性-甲基磷酸酯的核苷酸、2'-O-甲基核糖核苷酸和肽-核酸(PNAs)。

核酸的例子包括 DNA 或 RNA。DNA 包括编码 DNA 和非编码 DNA,例子包括,但不限于,反义 DNA、质粒 DNA、预浓缩 DNA、PCR 产物、DNA 载体(P1, PAC, BAC, YAC, 人工染色体)、表达盒、嵌合序列、染色体 DNA、或这

些组的衍生物和组合。RNA 的例子包括,但不限于,反义 RNA、siRNA、不对称干扰 RNA(aiRNA)、微小 RNA(miRNA)、mRNA、tRNA、rRNA、病毒 RNA(vRNA)、长非编码 RNA(lncRNA)、Piwi-相互作用 RNA(piRNA)、核仁小 RNA(snoRNA)、tRNA 来源小 RNA(tsRNA)或其组合。

- 5 除非另外指明,具体的核酸序列还固有地包括其保守修饰变体(例如,简并密码子取代)、等位基因、正交同源物、SNP、和互补序列以及明确指出的序列。特别地,简并密码子取代可以通过产生这样的序列实现,在所述序列中,一种或多种所选(或全部)密码子的第三个位置被混合的碱性和/或脱氧肌苷残基(Batzer 等, *Nucleic Acid Res.*(核酸研究), 19: 5081(1991); Ohtsuka 等, *J. Biol. Chem.*(生物化学杂志), 260: 2605-2608(1985); Rossolini 等, *Mol. Cell. Probes*(分子细胞探针), 8: 91-98(1994))取代。

- 本文在核苷酸配对情况下所用的术语“互补”包括经典的沃森-克里克配对,即 G-C、A-T 或 A-U 配对。经典的沃森-克里克配对也涵盖当一个或两个核苷酸已被修饰(例如通过核糖修饰或磷酸酯主链修饰)的情形。本文所用的“互补的”
15 序列还可包括非沃森-克里克碱基对和/或非天然和修饰的核苷酸形成的碱基对。

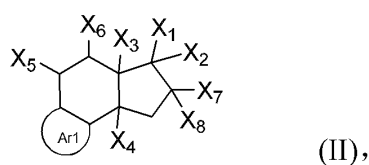
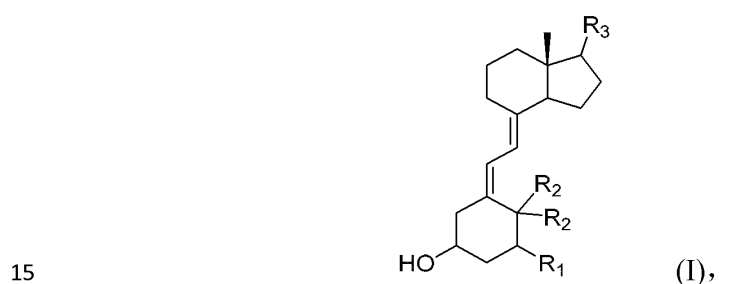
- 本文所用的术语“治疗”是指消除、减少或改善疾病或病况和/或与其相关的症状。尽管未排除,但治疗疾病或病况不要求所述疾病、病况或与其相关的症状被完全消除。本文所用的术语“治疗”可包括“预防性治疗”,其是指在未患有疾病,但有风险或易于重新发生疾病或病况或所述疾病或病况有复发风险或易于复发的受试者中,减少重新发生疾病或病况的可能性,或减少之前控制的疾病或病况的复发的可能性。本发明的含义内,“治疗”还包括复发预防或阶段预防,以及治疗急性或慢性征兆、症状和/或机能障碍。治疗可以是针对症状的,例如,抑制症状。其可在短时期内起作用,针对中等时期内,或可以是长期治疗,例如在维持疗法的情况下。

- 25 本文所用的术语“对象”是指为了治疗目的可对其施用本文所述的脂质组合物的任何生物体。在一些实施方案中,对象是指灵长类(例如人),狗,兔子,豚鼠,猪,大鼠和小鼠。在某些实施方案中,对象是灵长类动物。在其他实施方案中,对象是人。

脂质化合物用于递送核酸的方法和用途

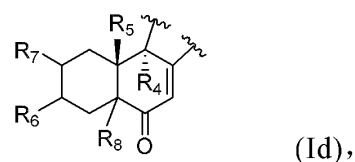
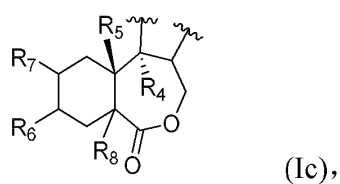
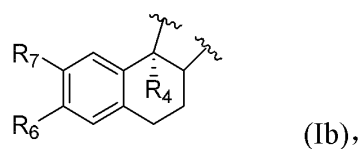
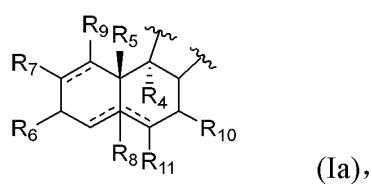
本申请提供了脂质化合物用于递送核酸的方法和用途。本发明至少部分地基于对某些脂质化合物在核酸递送方面的突出效果的发现。本申请提供了多种脂质化合物，其被发现能够与核酸形成稳定的核酸脂质混合物，并且能够将核酸递送到细胞中，特别是在体内的细胞中。本申请提供的脂质化合物能够通过口服的方式，将核酸分子递送到体内，并且进入到体内的靶器官中，以实现良好的治疗效果。令人预想不到的是，不同的脂质化合物在递送核酸进入靶器官时的效果不尽相同，表现出对不同靶器官的不同的偏好。某些脂质化合物表现出对不止一种靶器官的显著的核酸递送效果，可以高效地递送核酸至多个靶器官，因此具有广泛的核酸递送的用途。某些脂质化合物表现出对某一种靶器官的特别显著的递送效果，因此可以用于递送作用于该靶器官的核酸。

在一方面，本申请提供了脂质组合物在制备用于核酸递送的试剂中的用途，或者脂质组合物用于递送核酸的方法，其中所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：



其中

Ar1 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id):



5 其中：

== 为碳碳单键或碳碳双键；

R₁ 为氢或羟基；

每个 R₂ 为氢，或者两个 R₂ 与其连接的碳原子一起形成直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

10 R₃ 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 杂烷基；

R₄ 为氢、羟基或卤素；

R₅ 为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

15 R₆ 为氢、羟基、氧基、-OC(O)R'、任选由一个或多个选自羟基或 C₁₋₂₀ 烷基的基团取代的-O-杂环基；

R₇ 为氢或羟基；

R₈为不存在、氢、或羟基；

R₉、R₁₀和 R₁₁ 独立地为氢、氧基或羟基；

X₁为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基、
任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-

5 COOH 和-C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₂为不存在、氢、羟基、直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、或者直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

X₃为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄为氢或羟基；

10 X₅为氢、羟基或氧基；

X₆为氢、氧基或羟基；

X₇和 X₈为氢，或者 X₁和 X₇与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R'为任选由一个或多个羟基或-OC(O)R''取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

每个 R''独立地为氢、任选由一个或多个-COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

在某些实施方式中，R₁为氢；在某些实施方式中，R₁为羟基。

在某些实施方式中，每个 R₂为氢；在某些实施方式中，两个 R₂与其连接的碳原子一起形成直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基。

20 在某些实施方式中，R₃为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；在某些实施方式中，R₃为任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；在某些实施方式中，R₃为任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；在某些实施方式中，R₃为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 杂烷基。

25 在某些实施方式中，R₄为氢；在某些实施方式中，R₄为羟基；在某些实施

方式中，R₄为卤素。

在某些实施方式中，R₅为氢；在某些实施方式中，R₅为羟基；在某些实施方式中，R₅为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

在某些实施方式中，R₆为氢；在某些实施方式中，R₆为羟基；在某些实施方式中，R₆为氧基；在某些实施方式中，R₆为-OC(O)R'；在某些实施方式中，R₆为任选由一个或多个选自羟基或 C₁₋₂₀ 烷基的基团取代的-O-杂环基。

在某些实施方式中，R₇为氢；在某些实施方式中，R₇为羟基。

在某些实施方式中，R₈为不存在；在某些实施方式中，R₈为氢；在某些实施方式中，R₈为羟基。

在某些实施方式中，R₉为氢；在某些实施方式中，R₉为氧基；在某些实施方式中，R₉为羟基。

在某些实施方式中，R₁₀为氢；在某些实施方式中，R₁₀为氧基；在某些实施方式中，R₁₀为羟基。

在某些实施方式中，R₁₁为氢；在某些实施方式中，R₁₁为氧基；在某些实施方式中，R₁₁为羟基。

在某些实施方式中，X₁为氢；在某些实施方式中，X₁为氧基；在某些实施方式中，X₁为羟基；在某些实施方式中，X₁为-C(O)R'；在某些实施方式中，X₁为-OC(O)R'；在某些实施方式中，X₁为任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基；在某些实施方式中，X₁为任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基；在某些实施方式中，X₁为任选由一个或多个选自羟基、胺基、-COOH 和-C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

在某些实施方式中，X₂为不存在；在某些实施方式中，X₂为氢；在某些实施方式中，X₂为羟基；在某些实施方式中，X₂为直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；在某些实施方式中，X₂为直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

在某些实施方式中，X₃为氢；在某些实施方式中，X₃为直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

在某些实施方式中，X₄ 为氢；在某些实施方式中，X₄ 为羟基。

在某些实施方式中，X₅ 为氢；在某些实施方式中，X₅ 为羟基；在某些实施方式中，X₅ 为氧基。

在某些实施方式中，X₆ 为氢；在某些实施方式中，X₆ 为羟基；在某些实施方式中，X₆ 为氧基。

在某些实施方式中，X₇ 为氢。

在某些实施方式中，X₈ 为氢。

在某些实施方式中，X₁ 和 X₇ 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

在某些实施方式中，R' 为任选由一个或多个羟基或-OC(O)R'' 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；在某些实施方式中，R' 为任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基。

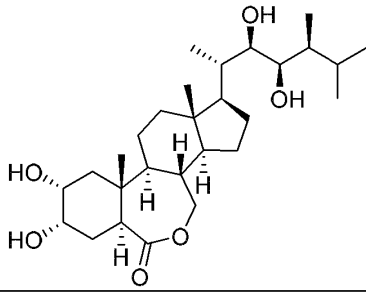
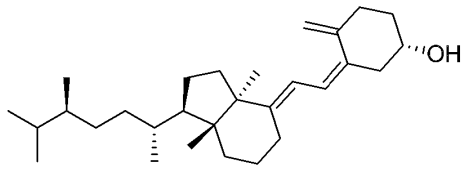
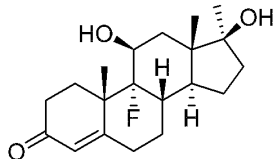
在某些实施方式中，每个 R'' 独立地为氢；在某些实施方式中，R'' 为任选由一个或多个-COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

在某些实施方式中，所述脂质组合物包含一种或多种具有式 (I) 或式 (II) 结构的化合物或其盐、水合物或溶剂化物，所述化合物选自下组：脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653，其中所述脂质的商品名和化学结构等信息如表 1 所示。

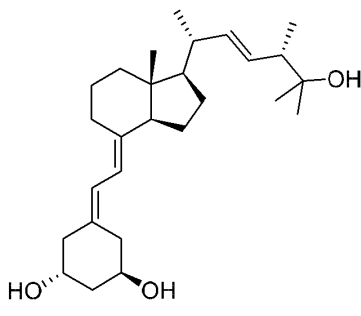
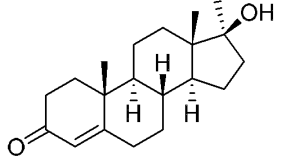
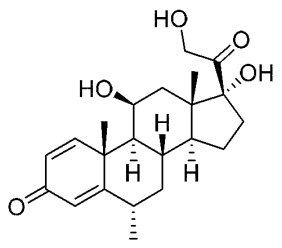
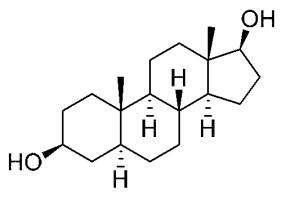
在另一方面，本申请还提供了脂质组合物在制备用于核酸递送的试剂中的用途，或者脂质组合物用于递送核酸的方法，其中所述脂质组合物包含一种或多种化合物或其盐、水合物或溶剂化物，所述化合物选自下组：脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、

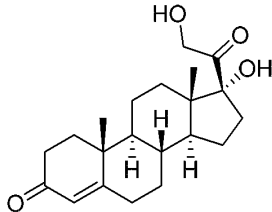
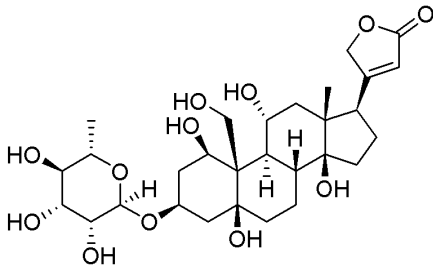
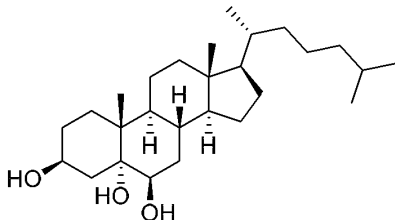
569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653，其中所述脂质的化学名和化学结构等信息如表 1 所示。

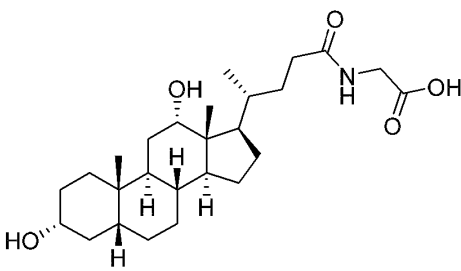
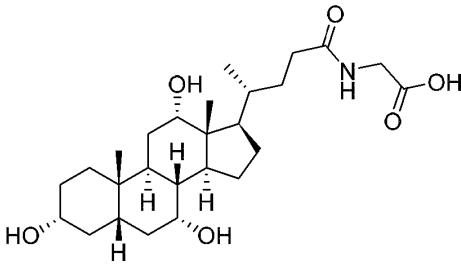
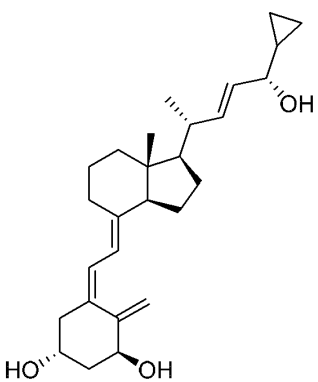
表 1. 脂质 508-653 的 Cas 号、结构和商品名

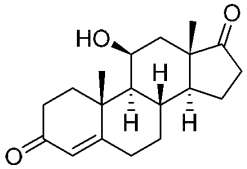
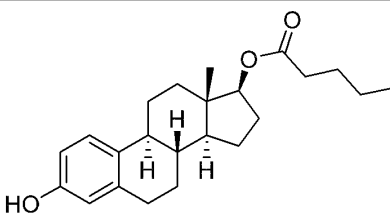
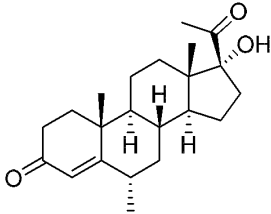
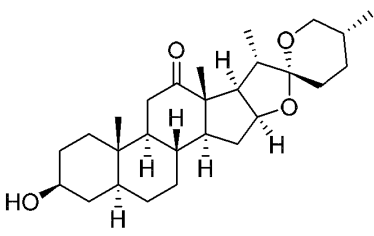
编号	Cas 号	结构和商品名
508	72962-43-7	
		芸苔素内酯 ((1R,3aS,3bS,6aS,8S,9R,10aR,10bS,12aS)-1-[(1S,2R,3R,4S)-2,3-Dihydroxy-1,4,5-trimethylhexyl]hexadecahydro-8,9-dihydroxy-10a,12a-dimethyl-6H-benz[c]indeno[5,4-e]oxepin-6-one)
512	511-28-4	
		维生素 D4 ((1S,3Z)-3-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(2R,5S)-5,6-dimethylheptan-2-yl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]-4-methylidenecyclohexan-1-ol)
532	76-43-7	
		氟甲睾酮 ((8S,9R,10S,11S,13S,14S,17S)-9-fluoro-11,17-dihydroxy-10,13,17-trimethyl-1,2,6,7,8,11,12,14,15,16-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one)

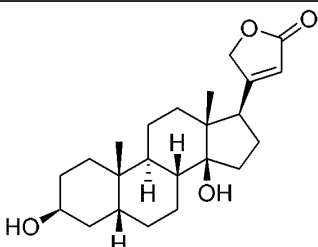
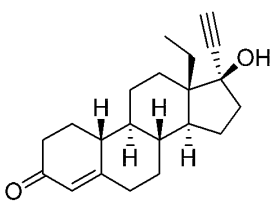
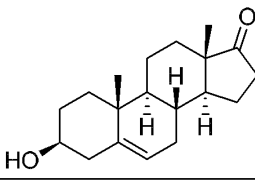
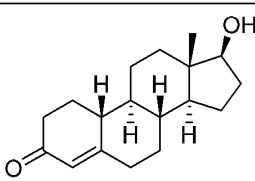
534	127-31-1	氟氢可的松 ((8S,9R,10S,11S,13S,14S,17R)-9-fluoro-11,17-dihydroxy-17-(2-hydroxyacetyl)-10,13-dimethyl-1,2,6,7,8,11,12,14,15,16-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one)
538	13408-56-5	坡那甾酮 A ((2S,3R,5R,9R,10R,13R,14S,17S)-17-[(2R,3R)-2,3-dihydroxy-6-methylheptan-2-yl]-2,3,14-trihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,9,11,12,15,16,17-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-6-one)
539	521-11-9	美雄诺龙 ((5S,8R,9S,10S,13S,14S,17S)-17-hydroxy-10,13,17-trimethyl-2,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-one)
540	103909-75-7	马沙骨化醇 ((1R,3S,5Z)-5-[(2E)-2-[(1S,3aS,7aS)-1-[(1S)-1-(3-hydroxy-3-methylbutoxy)ethyl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]-

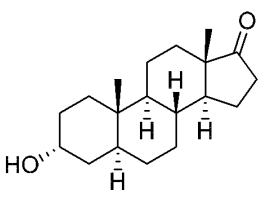
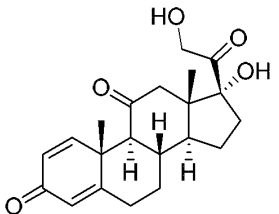
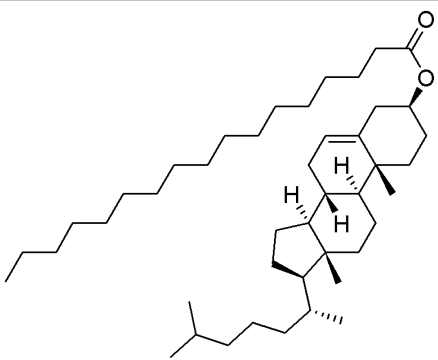
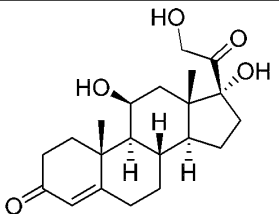
		4-methylidenecyclohexane-1,3-diol)
545	131918-61-1	 帕立骨化醇 ((1R,3R)-5-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(E,2R,5S)-6-hydroxy-5,6-dimethylhept-3-en-2-yl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]cyclohexane-1,3-diol)
546	58-18-4	 甲基甾酮 ((8R,9S,10R,13S,14S,17S)-17-hydroxy-10,13,17-trimethyl-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-one)
547	83-43-2	 甲基泼尼松龙 ((6S,8S,9S,10R,11S,13S,14S,17R)-11,17-dihydroxy-17-(2-hydroxyacetyl)-6,10,13-trimethyl-7,8,9,11,12,14,15,16-octahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthren-3-one)
548	571-20-0	 5α-雄烷二醇 ((3S,5S,8R,9S,10S,13S,14S,17S)-10,13-

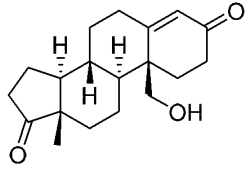
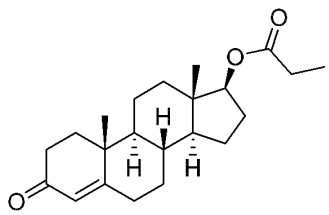
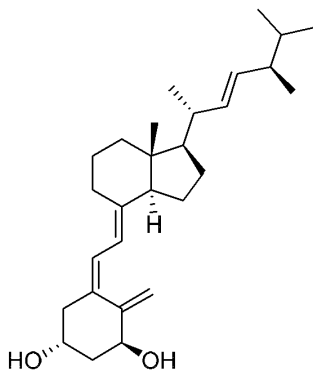
		dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,17-diol)
549	152-58-9	 脱氧可的松 ((8R,9S,10R,13S,14S,17R)-17-hydroxy-17-(2-hydroxyacetyl)-10,13-dimethyl-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-one)
550	11018-89-6	 8 H₂O 毒毛旋花苷 G (3-[[1R,3S,5S,8R,9S,10R,11R,13R,14S,17R)-1,5,11,14-tetrahydroxy-10-(hydroxymethyl)-13-methyl-3-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-2,3,4,6,7,8,9,11,12,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-2H-furan-5-one; octahydrate)
551	1253-84-5	 胆甾烷-3,5,6-三醇 (3S,5R,6R,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R)-6-methylheptan-2-yl]-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol

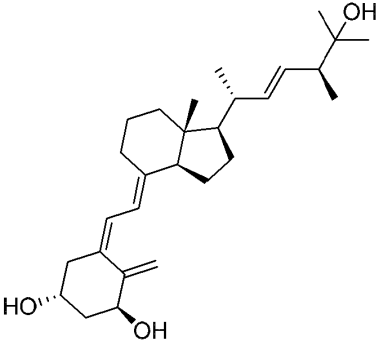
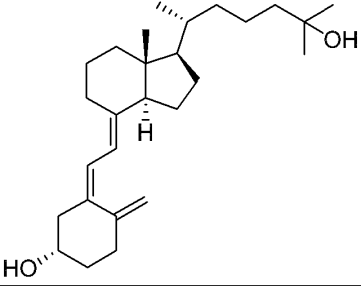
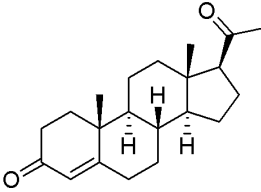
		1,2,3,4,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthrene-3,5,6-triol)
552	360-65-6	 甘氨酸脱氧胆酸 (2-[[[(4R)-4-[(3R,5R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoyl]amino]acetic acid)
553	475-31-0	 甘氨酸胆酸 (2-[[[(4R)-4-[(3R,5S,7R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,7,12-trihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoyl]amino]acetic acid)
554	112965-21-6	

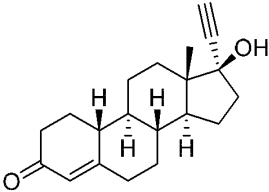
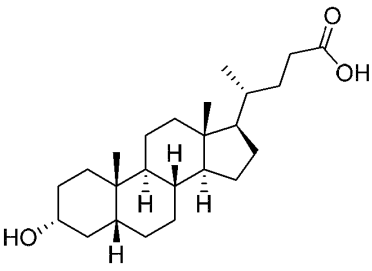
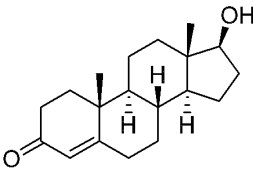
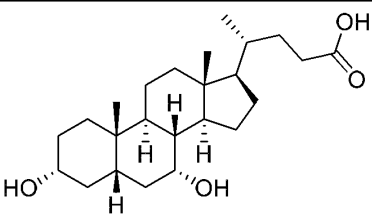
		卡泊三醇 ((1R,3S,5Z)-5-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(E,2R,5S)-5-cyclopropyl-5-hydroxypent-3-en-2-yl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]-4-methylidenecyclohexane-1,3-diol)
555	382-44-5	 4-雄烯-11β-醇-3,17-二酮 ((8S,9S,10R,11S,13S,14S)-11-hydroxy-10,13-dimethyl-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,17-dione)
556	979-32-8	 17-戊酸-β-雌二醇酯 ((8R,9S,13S,14S,17S)-3-hydroxy-13-methyl-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl pentanoate)
557	520-85-4	 甲羟孕酮 ((6S,8R,9S,10R,13S,14S,17R)-17-acetyl-17-hydroxy-6,10,13-trimethyl-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-one)
558	467-55-0	 海柯皂苷元

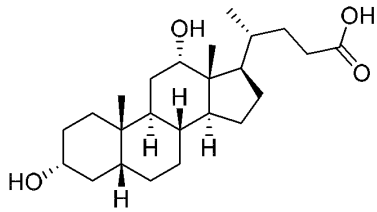
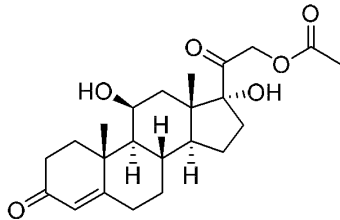
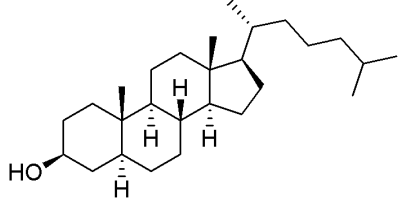
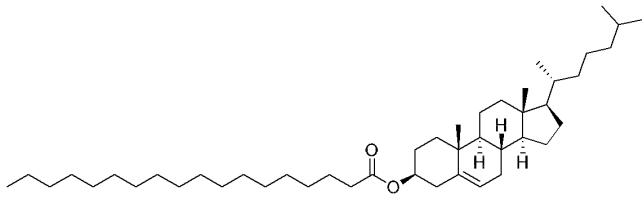
		((1R,2S,4S,5'R,6R,7S,8R,9S,12S,13S,16S,18S)-16-hydroxy-5',7,9,13-tetramethylspiro[5-oxapentacyclo[10.8.0.02,9.04,8.013,18]icosane-6,2'-oxane]-10-one)
559	143-62-4	 毛地黄毒苷配基 ((3S,5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3,14-dihydroxy-10,13-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,15,16,17-tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl)-2H-furan-5-one)
560	797-63-7	 左炔诺孕酮 ((8R,9S,10R,13S,14S,17R)-13-ethyl-17-ethynyl-17-hydroxy-1,2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one)
561	53-43-0	 去氢表雄酮 ((3S,8R,9S,10R,13S,14S)-3-hydroxy-10,13-dimethyl-1,2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-one)
562	434-22-0	 诺龙 ((8R,9S,10R,13S,14S,17S)-17-hydroxy-13-methyl-2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-

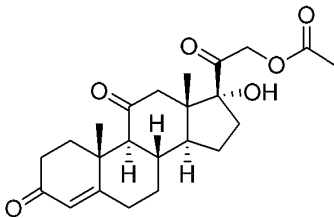
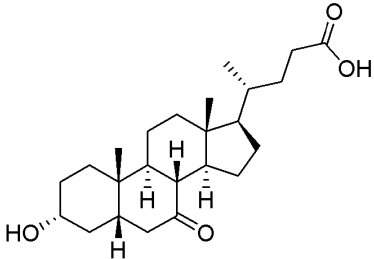
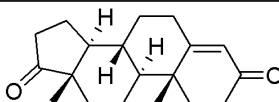
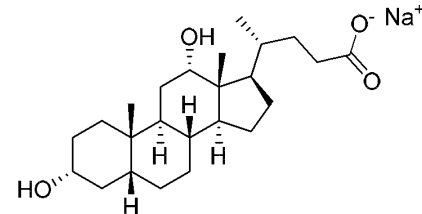
		cyclopenta[a]phenanthren-3-one)
563	53-41-8	 雄甾酮 ((3R,5S,8R,9S,10S,13S,14S)-3-hydroxy-10,13-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16-tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-one)
564	53-03-2	 泼尼松 ((8S,9S,10R,13S,14S,17R)-17-hydroxy-17-(2-hydroxyacetyl)-10,13-dimethyl-6,7,8,9,12,14,15,16-octahydrocyclopenta[a]phenanthrene-3,11-dione)
565	24365-37-5	 十七酸胆固醇酯 ([[(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R)-6-methylheptan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-yl] heptadecanoate)
566	50-23-7	 氢化可的松 ((8S,9S,10R,11S,13S,14S,17R)-11,17-dihydroxy-17-(2-hydroxyacetyl)-10,13-dimethyl-

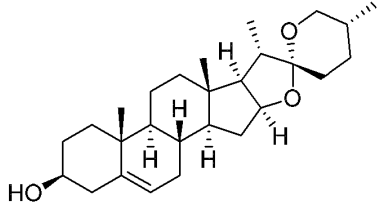
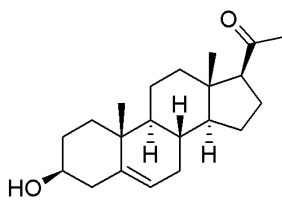
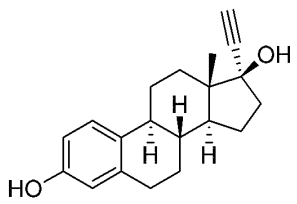
		2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-one)
567	510-64-5	 19-羟基雄-4-烯-3,17-二酮 ((8R,9S,10S,13S,14S)-10-(hydroxymethyl)-13-methyl-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,17-dione)
568	57-85-2	 丙酸睾酮 ((8R,9S,10R,13S,14S,17S)-10,13-dimethyl-3-oxo-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]propanoate)
569	54573-75-0	 度骨化醇 ((1R,3S,5Z)-4-Methylene-5-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-octahydro-7a-methyl-1-[(1R,2E,4R)-1,4,5-trimethyl-2-hexen-1-yl]-4H-inden-4-ylidene]ethylidene]-1,3-cyclohexanediol)

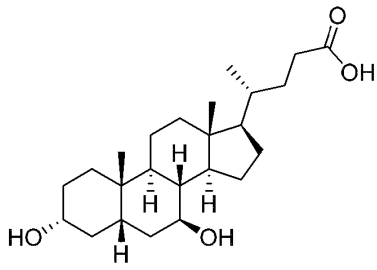
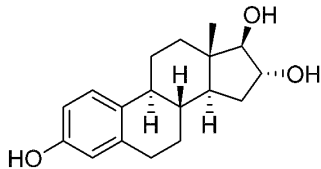
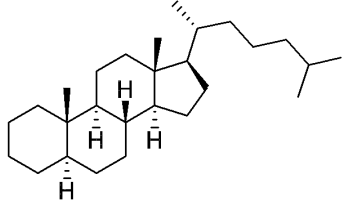
570	60133-18-8	 1α,25-二羟基维生素 D2 ((1R,3S,5Z)-5-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(E,2R,5S)-6-hydroxy-5,6-dimethylhept-3-en-2-yl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]-4-methylidenecyclohexane-1,3-diol)
571	19356-17-3	 骨化二醇 ((1S,3Z)-3-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(2R)-6-hydroxy-6-methylheptan-2-yl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]-4-methylidenecyclohexan-1-ol)
575	57-83-0	 黄体酮 ((8S,9S,10R,13S,14S,17S)-17-acetyl-10,13-dimethyl-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one)

576	68-22-4	
		炔诺酮 ((8R,9S,10R,13S,14S,17R)-17-ethynyl-17-hydroxy-13-methyl-1,2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one)
577	434-13-9	
		石胆酸 ((4R)-4-[(3R,5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3-hydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoic acid)
579	58-22-0	
		睾酮 ((8R,9S,10R,13S,14S,17S)-17-hydroxy-10,13-dimethyl-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one)
580	474-25-9	
		鹅去氧胆酸 ((4R)-4-[(3R,5S,7R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3,7-dihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoic acid)

581	83-44-3	
		去氧胆酸 ((4R)-4-[(3R,5R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoic acid)
582	50-03-3	
		乙酸氢化可的松 ([2-[(8S,9S,10R,11S,13S,14S,17R)-11,17-dihydroxy-10,13-dimethyl-3-oxo-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-2-oxoethyl] acetate)
583	80-97-7	
		5α-胆甾烷-3β-醇 ((3S,5S,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R)-6-methylheptan-2-yl]-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol)
584	35602-69-8	
		胆固醇硬脂酸酯 ([[(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R)-6-methylheptan-2-yl]-

		2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-yl] octadecanoate)
585	50-04-4	
		醋酸可的松 ([2-[(8S,9S,10R,13S,14S,17R)-17-hydroxy-10,13-dimethyl-3,11-dioxo-1,2,6,7,8,9,12,14,15,16-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-2-oxoethyl] acetate)
586	4651-67-6	
		3 α -羟基-7-氧代-5 β -胆烷酸 ((4R)-4-[(3R,5S,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3-hydroxy-10,13-dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,5,6,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoic acid)
587	63-05-8	
		4-雄烯-3,17-二酮 ((8R,9S,10R,13S,14S)-10,13-dimethyl-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,17-dione)
588	302-95-4	

		脱氧胆酸钠 (sodium;(4R)-4-[(3R,5R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoate)
589	512-04-9	 薯蓣皂素 ((1S,2S,4S,5'R,6R,7S,8R,9S,12S,13R,16S)-5',7,9,13-tetramethylspiro[5-oxapentacyclo[10.8.0.02,9.04,8.013,18]icos-18-ene-6,2'-oxane]-16-ol)
590	145-13-1	 孕烯醇酮 (1-[(3S,8S,9S,10R,13S,14S,17S)-3-hydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]ethanone)
591	57-63-6	 炔雌醇 ((8R,9S,13S,14S,17R)-17-ethynyl-13-methyl-7,8,9,11,12,14,15,16-octahydro-6H-cyclopenta[a]phenanthrene-3,17-diol)

592	128-13-2	
		熊去氧胆酸 ((4R)-4-[(3R,5S,7S,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3,7-dihydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoic acid)
633	50-27-1	
		雌三醇 ((8R,9S,13S,14S,16R,17R)-13-methyl-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-decahydrocyclopenta[a]phenanthrene-3,16,17-triol)
653	481-21-0	
		5α-胆甾烷 ((5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R)-6-methylheptan-2-yl]-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene)

在某些实施方式中，所述化合物是合成的。根据化合物的化学结构，本领域技术人员可以通过化学合成的方式合成得到上述化合物。或者也可以通过商购的方式获得本申请所述的某些化合物。

在某些实施方式中，所述化合物是来自于中药提取物。“中药提取物”在本申请中是指通过适当的方法从中药材或药用植物中提取得到的提取物。可以使用任何适当的提取方法获得所述中药提取物。作为一个示例，可以将中药饮片

在水中浸泡，然后依次进行强火煎煮和弱火煎煮，将煎煮后的中药药液浓缩，然后依次添加氯仿-甲醇、氯仿和水充分混合，取氯仿层获得所述中药提取物。在某些实施方式中，可以进一步地从所述中药提取物中分离或纯化出所述化合物单体。

- 5 在某些实施方式中，所述中药提取物通过 Bligh&Dyer 法（Bligh E.G. and Dyer, W. J., A rapid method for total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959, 37: 911-917）提取脂溶性成分获得，或者通过中药的煎煮制备提取获得。

在某些实施方式中，所述中药提取物通过中药的煎煮制备提取获得。

- 10 在某些实施方式中，所述中药提取物通过如下方式获得：将中药在水中浸泡，然后依次进行强火煎煮和弱火煎煮，将煎煮后的中药药液浓缩，然后依次添加氯仿-甲醇、氯仿和水搅拌处理，取氯仿层提取获得。

脂质组合物

- 在某些实施方式中，本申请提供的脂质组合物包含一种或多种本申请提供的化合物或其盐、水合物或溶剂化物。所述脂质组合物可以为一种本申请提供的化合物或其盐、水合物或溶剂化物，也可以为两种或更多种本申请提供的化合物的混合物。
- 15

- 在某些实施方式中，所述脂质组合物还可以包含一种或多种本申请提供的化合物以外的其他脂质化合物。所述其他脂质化合物可以是，例如中性脂质、带电脂质、甾族化合物和聚合物缀合的脂质。“中性脂质”是指在所选 pH 值（例如生理 pH 值）下以不带电形式或中性两性离子形式存在的脂质化合物。
- 20 “带电脂质”是指不受有用的生理范围内的 pH 值（例如 pH 约 3 至约 9）的限制，以带正电或带负电的形式存在的脂质化合物。

- 在某些实施方式中，所述脂质组合物还可以进一步包含一种或多种溶剂，其能够与本申请提供的化合物或其盐、水合物或溶剂化物混合并形成均一的混合物。
- 25

所述脂质组合物中包含的溶剂可以包含有机溶剂或溶剂混合物，例如氯仿，二氯甲烷，二乙醚，环己烷，环戊烷，苯，甲苯，甲醇或其他脂族醇，例如乙醇，丙醇，异丙醇，丁醇，叔丁醇，异丁醇，戊醇和己醇。这些溶剂可以单独地，混合地和/或任选地与合适的缓冲剂一起作为脂质组合物中的溶剂。溶剂的选择通常可以考虑溶剂的极性，在脂质核酸混合物形成的后期除去溶剂的难易程度，和/或药学上可接受的性质。在某些实施方式中，所述溶剂是无毒的，或药学上可接受的。示例性的药学上可接受的溶剂包括低级醇（1-6 个碳原子），例如甲醇，乙醇，正丙醇，异丙醇和正丁醇。在某些实施方式中，可以使用适量的溶剂，以使核酸和脂质能够形成澄清的单相混合物。

10 本申请提供的脂质组合物可以用于递送核酸，或者制备用于核酸递送的试剂。在某些实施方式中，所述核酸包含 DNA 或 RNA。在某些实施方式中，所述核酸可以包括，例如，编码 DNA、非编码 DNA、反义核酸、信使 RNA（mRNA）、长非编码 RNA（lncRNA）和小 RNA（例如微 RNA（miRNA）、小干扰 RNA（siRNA），Piwi-相互作用 RNA（piRNA），核仁小 RNA

15 （snoRNA），tRNA 来源小 RNA（tsRNA））等。

在某些实施方式中，所述核酸为单链或双链的。单链的核酸例如，miRNA，mRNA，反义 DNA、反义 RNA 等。双链的核酸例如，siRNA，双链 DNA，双链 RNA 等。

在某些实施方式中，所述核酸具有茎环结构。茎环结构是指在单链核酸的两个部分分别存在反向互补的序列，当通过碱基配对时，这部分反向互补的序列形成双链，而在两个反向互补区的中间的非互补部分则突出形成环的结构。茎环结构也被称为发卡结构。

在某些实施方式中，所述核酸包括小核酸。小核酸是指长度较短的（例如小于 200 个核苷酸）核酸。小核酸可以是非编码的，例如小 RNA（例如

25 miRNA、siRNA、piRNA、snoRNA、tsRNA）等。可以是单链的，或者是双链的。在某些实施方式中，所述核酸为长度为 14-32bp、16-28bp 或 18-24bp 的小核酸。

在某些实施方式中，所述核酸是核酸药物。核酸药物可以有多种种类，例如反义核酸、siRNA、CpG 寡脱氧核苷酸、核酸适配体、编码目标蛋白的 mRNA 或 DNA、或 miRNA 等。示例性的核酸药物包括，AEG35156、aganirsen、AP 12009、Apatorsen、ATL1103、AVT-02 UE、Bevasiranib

5 Sodium、BMN 044、BMN 053、CpG 7909、Custirsen、Drisapersen、Eteplirsen、Fomivirsen、Pegaptanib、Mipomersen、Eteplirsen、Defibrotide、Nusinersen、Patisiran、Tegsedi 和 Fovista。

在某些实施方式中，所述核酸可用于治疗疾病。

在某些实施方案中，所述核酸用于治疗癌症、炎症、纤维化疾病、自身免疫疾病或自身炎性疾病、细菌感染、行为性和精神性病症、血液疾病、染色体疾病、先天性和遗传性疫病、结缔组织疾病、消化性疾病、耳鼻喉疾病、内分泌疾病、环境性疾病、眼部疾病、女性生殖性疾病、真菌感染、心脏病、遗传性癌症综合征、免疫系统疾病、肾脏和泌尿性疾病、肺部疾病、男性生殖新疾病、代谢性病症、口部疾病、肌肉骨骼疾病、骨髓增生异常性综合征、新生儿

10 筛查、营养性疾病、寄生虫疾病、罕见癌症、罕见疾病、皮肤疾病和病毒感染。

在某些实施方案中，所述核酸用于治疗肝细胞癌、角膜新生血管形成、复发性或难治性间变性星形细胞瘤（WHO III 级）或继发性胶质母细胞瘤（WHO IV 级）、晚期鳞状细胞肺癌、肢端肥大症、银屑病、杜氏肌营养不良症、晚期

20 非小细胞肺癌、转移性去势抗性前列腺癌、巨细胞病毒性视网膜炎，HIV 感染、乙型肝炎、丙型肝炎、高脂蛋白症、全膝关节置换术、II 型糖尿病、家族性淀粉样多发性神经病（FAP）、湿性黄斑变性（例如新血管性年龄相关性黄斑变性、中央凹下新血管性年龄相关性黄斑变性、渗出性年龄相关性黄斑变性）、高胆固醇血症、克罗恩病、广泛性肝纤维化、婴儿型脊髓性肌萎缩症、

25 黑色素瘤、新生冠状动脉病变、轻度过敏性哮喘、慢性淋巴细胞性白血病、和高甘油三酯血症、造血干细胞移植后伴肾或肺功能障碍的肝小细胞闭塞症、伴遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样病变。

在某些实施方式中，脂质组合物可以与核酸形成脂质核酸混合物。所述核酸可以通过所述脂质核酸混合物进行递送。“脂质核酸混合物”在本申请中是指，递送核酸的基于脂质的混合物，例如脂质体。脂质体的例子包括，例如包封了核酸的脂质颗粒或脂质囊泡。脂质核酸混合物可以通过适当的方法制得，
5 例如包括混合法，加热法，逆向蒸发法等。

混合法包括将本申请提供的化合物或其盐、水合物或溶剂化物，与待递送的核酸进行混合的步骤。在某些实施方式中，所述混合可以是本申请提供的脂质组合物与待递送的核酸的直接混合（例如脂质组合物和核酸的干粉混合，再加入适当溶剂形成脂质包封核酸的脂质核酸混合物）。在某些实施方式中，
10 所述混合可以是将溶于适当溶剂中的本申请所述的脂质组合物与核酸混合，或将溶于适当溶剂中的核酸与本申请所述的脂质组合物混合，或将溶于适当溶剂中的本申请所述的脂质组合物与溶于适当溶剂中的核酸混合。可用于本申请所述的脂质组合物的合适的溶剂的例子如本申请说明书之前所述。可用于核酸的合适的溶剂包括水（DEPC 处理过的水、双蒸水）、缓冲液、生理盐水、或者葡
15 萄糖溶液等。所述混合步骤可以以任何合适的步骤进行，例如可以将核酸（或其溶液）加入到脂质组合物（或其溶液）中，也可以是脂质组合物（或其溶液）加入到核酸（或其溶液）中。在某些实施方式中，所述混合还可以包括例如涡旋、超声等步骤，以帮助混合均匀。

在某些实施方式中，混合法包括将本申请所述脂质组合物的乙醇溶液添加到待递送的核酸的合适体积的水性缓冲液中，通过涡旋或超声混匀后孵育得到
20 脂质核酸混合物。在某些实施方式中，混合法包括将本申请所述脂质化合物的乙醇溶液与待递送的核酸的合适体积的乙醇溶液合并，通过涡旋或超声混匀后孵育得到脂质核酸混合物后除去乙醇，并将所得脂质核酸混合物重悬于水性缓冲液中。

25 在某些实施方式中，核酸和脂质化合物可以以一定的比例进行混合。所述比例取决于需要递送的核酸及其量，以及为达到核酸包封的效果所需要使用的脂质化合物。所述比例可以是满足治疗需求的任何比例，只要能形成稳定的脂质核酸混合物，并且提供所需量的核酸即可。在某些实施方式中，核酸与脂质

化合物的比例可以是，例如，0.1nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，0.2nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，0.3nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，0.4 nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，0.5 nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g， 1nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，2nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，3nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，4nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，5nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，6nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，7nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，8nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g，或 9nmol : 100 μ g 至 10nmol : 100 μ g。在某些实施方式中，核酸与脂质化合物的比例可以为 1nmol : 100 μ g，2nmol : 100 μ g，3nmol : 100 μ g，4nmol : 100 μ g，5nmol : 100 μ g，6nmol : 100 μ g，7nmol : 100 μ g，8nmol : 100 μ g，9nmol : 100 μ g 或 10nmol : 100 μ g。在某些实施方式中，核酸与脂质化合物的比例可以为 10nmol : 100 μ g。

所述混合法可以在任何适当的温度下进行，只要能形成能够递送核酸的脂质核酸混合物即可。在某些实施方式中，核酸和脂质化合物可以在适当的温度下进行混合，例如，但不限于，0°C 至 100°C，4°C 至 100°C，10°C 至 100°C，15°C 至 100°C，20°C 至 100°C，25°C 至 100°C，30°C 至 100°C，35°C 至 100°C，40°C 至 100°C，45°C 至 100°C，50°C 至 100°C，55°C 至 100°C，60°C 至 100°C，65°C 至 100°C，70°C 至 100°C，75°C 至 100°C，80°C 至 100°C，85°C 至 100°C，90°C 至 100°C，或 95°C 至 100°C。在一些实施方式中，所述温度为 0°C，4°C，10°C，20°C，30°C，40°C，50°C，55°C，60°C，65°C，70°C，75°C，80°C，85°C，90°C。在一些实施方式中，所述温度为 90°C。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物通过加热法制备。所述加热法包括将本申请提供的化合物或其盐、水合物或溶剂化物溶于适当溶剂中的溶液与待递送的核酸的水溶液混合得到混合溶液，并在适当的温度下加热所述混合溶液的步骤。在某些实施方式中，加热所述混合溶液的步骤在选自如下的温度下进行：25°C 至 100°C、30°C 至 100°C、40°C 至 100°C、50°C 至 100°C、60°C 至 100°C、70°C 至 100°C、80°C 至 100°C、90°C 至 100°C 或 95°C 至 100°C。在某些实施方式中，加热所述混合溶液的步骤在选自如下的温度下进行：约 30°C、约 35°C、约 37°C、约 40°C、约 45°C、约 50°C、约 55°C、约 60°C、约

65°C、约 70°C、约 75°C，约 80°C、约 85°C、约 90°C、约 95°C 和约 100°C。

在一些实施方式中，加热所述混合溶液的步骤在 90°C 下进行。

在某些实施方式中，所述加热法包括加热混合溶液达适当的时间。本领域技术人员可以根据所用的脂质化合物和核酸的性质以及所需的脂质核酸混合物，选择适当的加热时间。所述加热时间可为例如，约 5 分钟至约 24 小时，约 5 分钟至约 20 小时，约 5 分钟至约 16 小时，约 10 分钟至约 20 小时，约 10 分钟至约 16 小时，约 15 分钟至约 24 小时，约 15 分钟至约 20 小时，约 30 分钟至约 24 小时，约 30 分钟至约 20 小时，约 40 分钟至约 16 小时，约 50 分钟至约 12 小时，约 1 小时至约 8 小时，或约 2 小时至约 4 小时。在某些实施方式中，所述加热时间可为例如，约 5 分钟、约 10 分钟、约 15 分钟、约 20 分钟、约 30 分钟、约 40 分钟、约 50 分钟、约 1 小时、约 2 小时、约 3 小时、约 4 小时、约 5 小时、约 6 小时、约 7 小时、约 8 小时、约 9 小时、约 10 小时、约 12 小时、约 16 小时、约 20 小时或约 24 小时。在一些实施方案中，所述加热时间为约 15 分钟。

在某些实施方式中，所述加热法进一步包括冷却步骤。所述冷却可以在加热混合溶液的步骤之后在适当的温度下进行，只要不破坏形成的脂质核酸混合物即可。示例性的冷却温度包括，但不限于，25°C 至-80°C，20°C 至-80°C，15°C 至-80°C，10°C 至-80°C，4°C 至-80°C，0°C 至-80°C，-10°C 至-80°C，-20°C 至-80°C，-30°C 至-80°C，-40°C 至-80°C。在一些实施方案中，在加热混合溶液的步骤之后在室温下自然冷却所述混合溶液，所述室温例如为 25°C 或 20°C。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物通过逆向蒸发法制备。所述逆向蒸发法包括将核酸的水溶液加入到脂质化合物的溶于适当溶剂中的溶液，再通过超声、蒸发等方法除去溶剂。在某些实施方式中，所述逆向蒸发法进一步包括在去除溶剂之后进行水化，得到脂质核酸混合物。在一些实施方案中，所述水化包括将水或适当的培养基加入体系中，在一些实施方案中，适当的培养基例如为 OPTI-MEM 培养基。

在某些实施方式中，除去溶剂的步骤在适当的温度下进行，例如，约 25°C 至约 70°C，30°C 至约 70°C、约 30°C 至约 65°C，约 40°C 至约 65°C，约 40°C 至约 60°C、或约 50°C 至约 60°C。在某些实施方式中，除去溶剂的步骤在约 25°C、30°C、约 35°C、约 37°C、约 40°C、约 45°C、约 50°C、约 55°C、约 5 60°C、约 65°C 或约 70°C 的温度下进行。在某些实施方式中，除去溶剂的步骤在约 55°C 的温度下进行。

在某些实施方式中，所述核酸递送是通过口服、吸入或注射的方式递送。在某些实施方式中，所述核酸递送是通过口服的方式。在某些实施方式中，所述试剂用于通过口服的方式递送所述核酸。在某些实施方式中，所述核酸递送 10 是体内消化道递送。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸递送至个体的心脏组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的脂质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、 15 557、558、559、560、561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、581、582、583、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸递送至个体的肝组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的脂质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、 20 540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、581、582、583、585、586、588、589、590、592、633 和 653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸递送至个体的脾组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的脂质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、 25 540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、

557、558、559、560、561、563、564、567、568、569、570、571、575、
576、579、581、582、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和
653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸
5 递送至个体的肺组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的
脂质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、
540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、
557、558、559、560、561、563、564、567、568、569、570、571、575、
576、577、579、581、582、588、583、585、589、590、591、592、633 和
10 653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸
递送至个体的肾组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的
脂质化合物：脂质 508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、
15 560、561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、
577、579、581、582、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和
653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸
递送至个体的胃组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的
20 脂质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、
540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、
557、558、559、560、561、563、564、565、566、567、568、569、570、
571、575、576、577、579、581、582、583、585、586、587、588、589、
590、591、592、633 和 653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸
25 递送至个体的肠组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的
脂质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、
540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、

557、558、559、560、561、563、564、565、566、567、568、569、570、
571、575、576、577、579、581、582、583、585、586、588、589、590、
591、592、633 和 653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸
5 递送至个体的脑组织。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的
脂质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、
540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、
557、558、559、560、561、563、564、565、567、568、569、570、571、
575、576、577、579、581、582、583、586、587、588、589、590、591、
10 592、633 和 653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸
递送至个体的血液。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的脂
质化合物：脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、
540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、
15 557、558、559、560、561、563、564、565、566、567、568、569、570、
571、575、576、577、579、581、582、583、585、586、587、588、589、
590、592、633 和 653。

在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，能够将所述核酸
递送至个体的股骨。某些实施方式中，所述脂质核酸混合物含有选自下组的脂
20 质化合物：脂质 562、580、584、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、
560、561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、
577、579、581、582、583、585、586、588、589、590、591、592、633 和
653。

25 在某些实施方式中，所述脂质核酸混合物被个体口服后，所述核酸被递送
至两个或多个组织。

在某些实施方式中，所述核酸递送包括体外细胞递送。“体外”在本申请
中是指在多细胞的生物体以外，例如人体或动物体以外。体外细胞包括例如，

体外细胞培养物、离体组织或细胞等。体外递送包括将核酸递送到体外的细胞内。例如，包括将所述脂质核酸混合物与体外细胞在允许核酸进入细胞的条件下接触。

药物组合物

5 在另一方面，本申请还提供了一种药物组合物，其包含脂质组合物以及核酸，其中所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物。在某些实施方式中，所述化合物选自脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、
10 565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 组成的组。

在另一方面，本申请还提供了一种药物组合物，其包含脂质组合物以及核酸，其中所述脂质组合物包含一种或多种选自脂质 508、512、532、534、
15 538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 组成的组的化合物，或其盐、水合物或溶剂化物。

20 本申请提供的药物组合物可以是固体或液体的形式，包括半固体、半液体、悬浮液和胶形式。固体形式例如，片剂或粉末形式。液体形式例如，口服溶液、口服糖浆、可注射液体、或气溶胶，所述气溶胶适用于，例如，吸入施用。

在某些实施方式中，所述药物组合物被配制成经口服、经吸入、经消化
25 道、或经呼吸道施用。在某些实施方式中，所述药物组合物被配制成通过体内消化道递送的方式递送所述核酸。在某些实施方式中，所述药物组合物是口服药物组合物。当用于口服施用时，药物组合物优选为固体或液体形式。

作为用于口服施用的固体药物组合物，药物组合物可以配制成粉末、颗粒、压缩的片剂、丸剂、胶囊、咀嚼胶等形式。这类固体组合物通常还可以含有一种或多种惰性稀释剂或可食用载体（例如淀粉、乳糖或糊精）、以及一种或多种选自下组的辅料：粘合剂（例如羧甲基纤维素、乙基纤维素、微晶纤维素、黄耆胶或明胶）、崩解剂（海藻酸、海藻酸钠、Primogel、玉米淀粉等）、润滑剂（例如硬脂酸镁或 Sterotex），助流剂（例如胶体二氧化硅），甜味剂（例如蔗糖或糖精），调味剂；以及着色剂。

作为用于口服施用的液体药物组合物，药物组合物可以配置成例如，酏剂、糖浆、溶液、乳液或悬浮液。当用于口服施用，液体药物组合物含有一种或多种选自下组的辅料：甜味剂、防腐剂、染色/着色剂和增味剂。

本发明的药物组合物还可以配置成经呼吸道吸入施用。适当的吸入制剂可以包含可作为气溶胶施用的制剂。气溶胶可以以单相、双相系统或三相系统来递送。例如，气溶胶可以通过液化气和压缩气来递送，或者通过分散活性成分的适合的系统来递送。气溶胶的递送包括必要的容器、活化器、阀、子容器等，其在一起可以形成试剂盒。

在某些实施方式中，本申请的药物组合物还可以配置成通过胃肠外施用，例如注射施用。注射用液体组合物可以是溶液、悬浮液或注射粉针，可以包括表面活性剂、防腐剂、润湿剂、分散剂、悬浮剂、缓冲剂、稳定剂和等渗剂中的一种或多种。

在某些实施方式中，所述药物组合物还可以用于通过体外细胞递送。

在某些实施方式中，所述脂质组合物和所述核酸在所述药物组合物中至少部分地或全部以混合物的形式存在。在某些实施方式中，所述混合物是通过加热法、逆向蒸发法，或混合法制得的。

在另一方面，本申请还提供了上述药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于预防和/或治疗能用核酸预防和/或治疗的疾病，或者用于将核酸体内递送至有此需要的对象中。

本申请提供的药物组合物可以用于治疗可用核酸治疗的疾病。常见的疾病例如，但不限于，癌症、炎症、纤维化疾病、自身免疫疾病或自身炎性疾病、细菌感染、行为性和精神性病症、血液疾病、染色体疾病、先天性和遗传性疾病、结缔组织疾病、消化性疾病、耳鼻喉疾病、内分泌疾病、环境性疾病、眼部疾病、女性生殖性疾病、真菌感染、心脏病、遗传性癌症综合征、免疫系统疾病、肾脏和泌尿性疾病、肺部疾病、男性生殖新疾病、代谢性病症、口部疾病、肌肉骨骼疾病、骨髓增生异常性综合征、新生儿筛查、营养性疾病、寄生虫疾病、罕见癌症、罕见疾病、皮肤疾病和病毒感染。

癌症的例子包括但不限于，胃癌、肺癌、结直肠癌、肝癌、胰腺癌、宫颈癌、乳腺癌、白血病、多发性骨髓瘤。

炎症的例子包括但不限于，肺炎、心肌炎、急慢性胃炎、急慢性肠炎、急慢性肝炎、急慢性肾炎、皮炎、脑炎、淋巴炎、结膜炎、角膜炎、虹膜睫状体炎、中耳炎、过敏性鼻炎、哮喘、肺纤维化慢性阻塞性肺疾病、过敏性皮炎、镰状细胞病、多发性硬化、系统性红斑狼疮、狼疮性肾炎。

已知的核酸药物可以治疗多种疾病。已知核酸药物的适应症包括，例如，肝细胞癌、角膜新生血管形成、复发性或难治性间变性星形细胞瘤（WHO III级）或继发性胶质母细胞瘤（WHO IV级）、晚期鳞状细胞肺癌、肢端肥大症、银屑病、杜氏肌营养不良症、晚期非小细胞肺癌、转移性去势抗性前列腺癌、巨细胞病毒性视网膜炎、HIV感染、乙型肝炎、丙型肝炎、高脂蛋白症、全膝关节置换术、II型糖尿病、家族性淀粉样多发性神经病（FAP）、湿性黄斑变性（例如新血管性年龄相关性黄斑变性、中央凹下新血管性年龄相关性黄斑变性、渗出性年龄相关性黄斑变性）、高胆固醇血症、克罗恩病、广泛性肝纤维化、婴儿型脊髓性肌萎缩症、黑色素瘤、新生冠状动脉病变、轻度过敏性哮喘、慢性淋巴细胞性白血病、和高甘油三酯血症、造血干细胞移植后伴肾或肺功能障碍的肝小细胞闭塞症、伴遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样病变。

试剂盒

在另一方面，本申请还提供了一种试剂盒，其包含：置于第一容器中的一种或多种具有所述式(I)或式(II)化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化

物，和置于第二容器中的核酸。在某些实施方式中，所述化合物选自脂质组成的组。

在另一方面，本申请还提供了一种试剂盒，其包含：置于第一容器中的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，和置于第二容器
5 中的核酸，其中所述一种或多种化合物选自自由脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 组成的组。

10 在某些实施方式中，在所述试剂盒中，所述脂质组合物和所述核酸在使用前被至少部分地或全部地配制成脂质核酸混合物。在某些实施方式中，在所述试剂盒中，所述混合物是通过加热法、逆向蒸发法，或者混合法制得的。

在某些实施方式中，其中所述试剂盒被配制成口服药物组合物。

在某些实施方式中，其中所述试剂盒被配制成经口服、经吸入、经消化
15 道、或经呼吸道施用。

在某些实施方式中，所述试剂盒被配制成通过体外细胞递送，或通过体内消化道递送的方式递送所述核酸。

在另一方面，本申请提供了试剂盒在制备药物中的用途，所述药物用于预防
20 和/或治疗能用核酸预防和/或治疗的疾病，或者用于将核酸体内递送至有此需要的对象中。

递送核酸的方法

在另一方面，本申请提供了一种将核酸递送至靶细胞中的方法，包括向所述靶细胞施用本申请所述的药物组合物，或者本申请所述的试剂盒配制得到的脂质核酸混合物。

在另一方面，本申请提供了一种将核酸体内递送至有此需要的对象中的方法，包括向所述对象施用本申请所述的药物组合物，或者本申请所述的试剂盒配制得到的脂质核酸混合物。

在某些实施方式中，所述对象是人或动物，如哺乳动物。

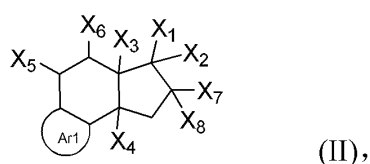
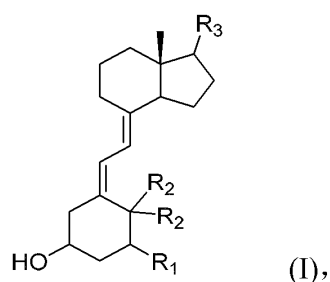
- 5 在某些实施方式中，所述核酸被体内递送至所述对象的血液循环中或者靶组织/细胞中。

在某些实施方式中，所述方法包括通过口服、吸入或注射施用所述药物。

在某些实施方式中，所述方法包括经消化道、经呼吸道施用所述药物。

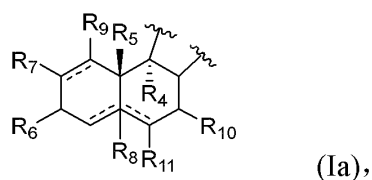
在某些实施方式中，所述方法包括经口服施用所述药物。

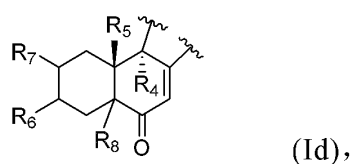
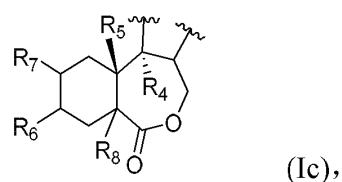
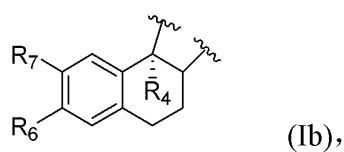
- 10 项目 1：脂质组合物在制备用于核酸递送的试剂中的用途，所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：



其中

- 15 Ar1 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id):





其中：

5 === 为碳碳单键或碳碳双键；

R_1 为氢或羟基；

每个 R_2 为氢，或者两个 R_2 与其连接的碳原子一起形成碳碳双键，或者一起形成直链或支链 C_{2-20} 烯基；

10 R_3 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C_{1-20} 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C_{1-20} 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C_{2-20} 烯基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C_{1-20} 杂烷基；

R_4 为氢、羟基或卤素；

R_5 为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C_{1-20} 烷基；

15 R_6 为氢、羟基、氧基、 $-OC(O)R'$ 、任选由一个或多个选自羟基或 C_{1-20} 烷基的基团取代的-O-杂环基；

R_7 为氢或羟基；

R_8 为不存在、氢、或羟基；

R_9 、 R_{10} 和 R_{11} 独立地为氢、氧基或羟基；

X₁ 为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-COOH 和 -C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

5 X₂ 为不存在、氢、羟基、直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、或者直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

X₃ 为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄ 为氢或羟基；

X₅ 为氢、羟基或氧基；

X₆ 为氢、氧基或羟基；

10 X₇ 和 X₈ 为氢，或者 X₁ 和 X₇ 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R' 为任选由一个或多个羟基或 -OC(O)R'' 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

每个 R'' 独立地为氢、任选由一个或多个 -COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

15 项目 2：如项目 1 所述的用途，其中所述脂质组合物用于通过口服、吸入或注射的方式递送所述核酸。

项目 3：如项目 2 所述的用途，其中所述脂质组合物用于通过口服的方式递送所述核酸。

20 项目 4：如上述项目中任一项所述的用途，其中所述递送包括体外细胞递送，或体内消化道递送。

项目 5：如上述项目中任一项所述的用途，其中所述脂质组合物与核酸混合制备成脂质核酸混合物，可选地，所述的脂质核酸混合物通过加热法、逆向蒸发法，或者混合法制得。

25 项目 6：如项目 5 所述的用途，其中所述加热法包括将所述脂质组合物与所述核酸混合获得混合物，并在选自 25°C 至 100°C、30°C 至 100°C、40°C

至 100°C、50°C 至 100°C、60°C 至 100°C、70°C 至 100°C、80°C 至 100°C、90°C 至 100°C，和 95°C 至 100°C 的温度下加热所述混合物。

项目 7：如项目 6 所述的用途，其中在选自 30°C、35°C、37°C、40°C、45°C、50°C、55°C、60°C、65°C、70°C、75°C、80°C、85°C、90°C、95°C 和 100°C 的温度下加热所述混合物。

项目 8：如项目 6 或 7 所述的用途，其中将所述脂质组合物与所述核酸混合包括将所述脂质组合物的有机溶剂溶液加入到所述核酸的水溶液中。

项目 9：如项目 5 所述的用途，其中所述逆向蒸发法包括将所述核酸的水溶液与脂质化合物的有机溶剂溶液混合以得到混合溶液，然后去除所述混合溶液中的有机溶剂。

项目 10：如项目 9 所述的用途，其中在选自约 25°C 至约 70°C，30°C 至约 70°C、约 30°C 至约 65°C，约 40°C 至约 65°C，约 40°C 至约 60°C、或约 50°C 至约 60°C 的温度下去除所述混合溶液中的有机溶剂。

项目 11：如项目 9 所述的用途，其中将所述核酸的水溶液与脂质化合物的有机溶剂溶液混合包括将所述核酸的水溶液加入到所述脂质化合物的有机溶剂溶液中。

项目 12：如上述项目中任一项所述的用途，其中 R_1 为氢。

项目 13：如上述项目中任一项所述的用途，其中 R_1 为羟基。

项目 14：如上述项目中任一项所述的用途，其中每个 R_2 为氢。

项目 15：如上述项目中任一项所述的用途，其中两个 R_2 与其连接的碳原子一起形成直链或支链 C_{2-20} 烯基。

项目 16：如上述项目中任一项所述的用途，其中 R_3 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C_{1-20} 烷基。

项目 17：如上述项目中任一项所述的用途，其中 R_3 为任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C_{1-20} 烷基。

项目 18: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_3 为任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C_{2-20} 烯基。

项目 19: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_3 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C_{1-20} 杂烷基。

5 项目 20: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_4 为氢。

项目 21: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_4 为羟基。

项目 22: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_4 为卤素。

项目 23: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_5 为氢。

项目 24: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_5 为羟基。

10 项目 25: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_5 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C_{1-20} 烷基。

项目 26: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_6 为氢。

项目 27: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_6 为羟基。

项目 28: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_6 为氧基。

15 项目 29: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_6 为 $-OC(O)R'$ 。

项目 30: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_6 为任选由一个或多个选自羟基或 C_{1-20} 烷基的基团取代的 $-O-$ 杂环基。

项目 31: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_7 为氢。

项目 32: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_7 为羟基。

20 项目 33: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_8 为不存在。

项目 34: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_8 为氢。

项目 35: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_8 羟基。

项目 36: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_9 为氢。

- 项目 37: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_9 为氧基。
- 项目 38: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_9 为羟基。
- 项目 39: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_{10} 为氢。
- 项目 40: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_{10} 为氧基。
- 5 项目 41: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_{10} 为羟基。
- 项目 42: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_{11} 为氢。
- 项目 43: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_{11} 为氧基。
- 项目 44: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 R_{11} 为羟基。
- 项目 45: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为氢。
- 10 项目 46: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为氧基。
- 项目 47: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为羟基。
- 项目 48: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为 $-C(O)R'$ 。
- 项目 49: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为 $-OC(O)R'$ 。
- 项目 50: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为任选由氧基取代的
- 15 C_{3-20} 环烯基。
- 项目 51: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为任选由氧基取代的
- C_{3-20} 杂环烯基。
- 项目 52: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 为任选由一个或多个
- 选自羟基、胺基、 $-COOH$ 和 $-C(O)N(R'')_2$ 的取代基取代的直链或支链 C_{1-20} 烷
- 20 基。
- 项目 53: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_2 为不存在。
- 项目 54: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_2 为氢。
- 项目 55: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_2 为羟基。

项目 56: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_2 为直链或支链 C_{1-20} 烷基。

项目 57: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_2 为直链或支链的 C_{2-20} 炔基。

5 项目 58: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_3 为氢。

项目 59: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_3 为直链或支链 C_{1-20} 烷基。

项目 60: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_4 为氢。

项目 61: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_4 为羟基。

10 项目 62: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_5 为氢。

项目 63: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_5 为羟基。

项目 64: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_5 为氧基。

项目 65: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_6 为氢。

项目 66: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_6 为羟基。

15 项目 67: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_6 为氧基。

项目 68: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_7 为氢。

项目 69: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_8 为氢。

项目 70: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中 X_1 和 X_7 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C_{1-20} 烷基取代的杂环基。

20 项目 71: 如项目 29、48、49 中任一项所述的用途, 其中 R' 为任选由一个或多个羟基或 $-OC(O)R''$ 取代的直链或支链 C_{1-20} 烷基。

项目 72: 如项目 29、48、49 中任一项所述的用途, 其中 R' 为任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C_{2-20} 烯基。

项目 73: 如项目 52、71、72 任一项所述的用途, 其中 R'' 为氢。

项目 74：如项目 52、71、72 任一项所述的用途，其中 R”为任选由一个或多个-COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

项目 75：如项目 1-11 中任一项所述的用途，其中所述脂质组合物包含一种或多种选自下组的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：

脂质化合物编号	商品名
508	芸苔素内酯
512	维生素 D4
532	氟甲睾酮
534	氟氢可的松
538	坡那甾酮 A
539	美雄诺龙
540	马沙骨化醇
545	帕立骨化醇
546	甲基睾酮
547	甲基泼尼松龙
548	5 α -雄烷二醇
549	脱氧可的松
550	毒毛旋花苷 G
551	胆甾烷-3,5,6-三醇
552	甘氨脱氧胆酸
553	甘氨胆酸
554	卡泊三醇
555	4-雄烯-11 β -醇-3,17-二酮
556	17-戊酸- β -雌二醇酯
557	甲羟孕酮
558	海柯皂苷元
559	毛地黄毒苷配基
560	左炔诺孕酮

561	去氢表雄酮
562	诺龙
563	雄酮
564	泼尼松
565	十七酸胆固醇酯
566	氢化可的松
567	19-羟基雄-4-烯-3,17-二酮
568	丙酸睾酮
569	度骨化醇
570	1 α ,25-二羟基维生素 D2
571	骨化二醇
575	黄体酮
576	炔诺酮
577	石胆酸
579	睾酮
580	鹅去氧胆酸
581	去氧胆酸
582	乙酸氢化可的松
583	5 α -胆甾烷-3 β -醇
584	胆固醇硬脂酸酯
585	醋酸可的松
586	3 α -羟基-7-氧代-5 β -胆烷酸
587	4-雄烯-3,17-二酮
588	脱氧胆酸钠,
589	薯蓣皂素
590	孕烯醇酮
591	炔雌醇
592	熊去氧胆酸
633	雌三醇

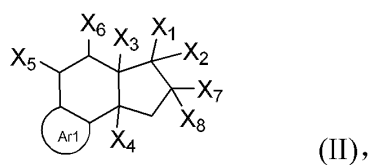
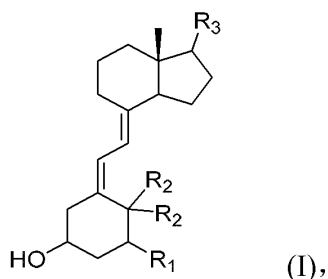
653	5 α -胆甾烷
-----	-----------------

- 项目 76: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中所述盐是药学上可接受的盐。
- 项目 77: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中所述化合物来自于中药提
5 取物。
- 项目 78: 如项目 77 所述的用途, 其中所述中药提取物通过中药的煎煮制备提取获得。
- 项目 79: 如项目 78 所述的用途, 其中所述中药提取物通过如下方式获得: 将中药在水中浸泡, 然后依次进行强火煎煮和弱火煎煮, 将煎煮后的中药
10 药液浓缩, 然后依次添加氯仿-甲醇、氯仿和水搅拌处理, 取氯仿层提取获得。
- 项目 80: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中所述核酸包含 DNA 或 RNA, 任选地, 所述 DNA 选自编码 DNA 和非编码 DNA, 所述 RNA 选自反义核酸、mRNA、lncRNA 和小 RNA。
- 项目 81: 如项目 80 所述的用途, 其中所述核酸包含长度为 14-32bp、16-
15 28bp 或 18-24bp 的小核酸。
- 项目 82: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中所述核酸为单链或双链的。
- 项目 83: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中所述核酸具有茎环结构。
- 项目 84: 如上述项目中任一项所述的用途, 其中所述核酸用于治疗疾病。
- 项目 85: 如项目 84 所述的用途, 其中所述核酸用于治疗癌症、炎症、纤维化疾病、自身免疫疾病或自身炎性疾病、细菌感染、行为性和精神性病症、血液疾病、染色体疾病、先天性和遗传性疫病、结缔组织疾病、消化性疾病、耳鼻喉疾病、内分泌疾病、环境性疾病、眼部疾病、女性生殖性疾病、真菌感染、心脏病、遗传性癌症综合征、免疫系统疾病、肾脏和泌尿性疾病、肺部疾
20 病、男性生殖新疾病、代谢性病症、口部疾病、肌肉骨骼疾病、骨髓增生异常
25

性综合征、新生儿筛查、营养性疾病、寄生虫疾病、罕见癌症、罕见疾病、皮肤疾病或者病毒感染。

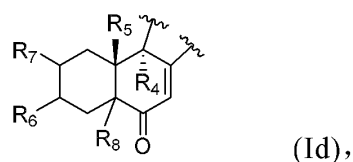
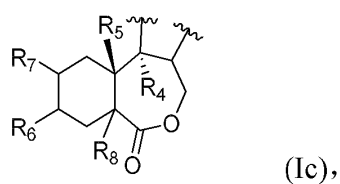
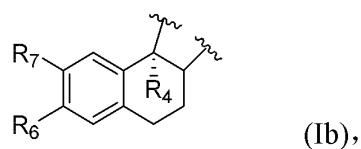
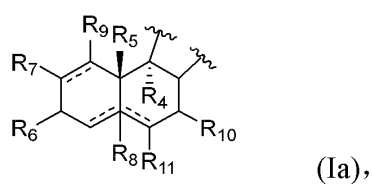
项目 86: 如项目 84 所述的用途, 其中所述核酸用于治疗肝细胞癌、角膜新生血管形成、复发性或难治性间变性星形细胞瘤 (WHO III 级) 或继发性胶质母细胞瘤 (WHO IV 级)、晚期鳞状细胞肺癌、肢端肥大症、银屑病、杜氏肌营养不良症、晚期非小细胞肺癌、转移性去势抗性前列腺癌、巨细胞病毒性视网膜炎, HIV 感染、乙型肝炎、丙型肝炎、高脂蛋白症、全膝关节置换术、II 型糖尿病、家族性淀粉样多发性神经病 (FAP)、湿性黄斑变性 (例如新血管性年龄相关性黄斑变性、中央凹下新血管性年龄相关性黄斑变性、渗出性年龄相关性黄斑变性)、高胆固醇血症、克罗恩病、广泛性肝纤维化、婴儿型脊髓性肌萎缩症、黑色素瘤、新生冠状动脉病变、轻度过敏性哮喘、慢性淋巴细胞性白血病、和高甘油三酯血症、造血干细胞移植后伴肾或肺功能障碍的肝小细胞闭塞症、或者伴遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样病变。

项目 87: 一种药物组合物, 其包含脂质组合物以及核酸, 其中所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物:



其中

Ar1 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id):



5 其中：

== 为碳碳单键或碳碳双键；

R₁ 为氢或羟基；

每个 R₂ 为氢，或者两个 R₂ 与其连接的碳原子一起形成直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

10 R₃ 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 杂烷基；

R₄ 为氢、羟基或卤素；

R₅ 为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

15 R₆ 为氢、羟基、氧基、-OC(O)R'、任选由一个或多个选自羟基或 C₁₋₂₀ 烷基的基团取代的-O-杂环基；

R₇ 为氢或羟基；

R₈为不存在、氢、或羟基；

R₉、R₁₀和 R₁₁独立地为氢、氧基或羟基；

X₁为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基、
任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-

5 COOH 和-C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₂为不存在、氢、羟基、直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、或者直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

X₃为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄为氢或羟基；

10 X₅为氢、羟基或氧基；

X₆为氢、氧基或羟基；

X₇和 X₈为氢，或者 X₁和 X₇与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R'为任选由一个或多个羟基或-OC(O)R''取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

每个 R''独立地为氢、任选由一个或多个-COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

88：一种药物组合物，其包含脂质组合物和核酸，其中所述脂质组合物包含一种或多种选自脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、
20 560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653，或其盐、水合物或溶剂化物组成的组的化合物。

项目 89：如项目 87 或 88 所述的药物组合物，其中所述药物组合物被配制
25 成经口服、经吸入、经消化道、或经呼吸道施用。

项目 90: 如项目 87 或 88 所述的药物组合物, 其中所述药物组合物用于通过体外细胞递送, 或通过体内消化道递送的方式递送所述核酸。

项目 91: 如项目 87 或 88 所述的药物组合物, 其中所述药物组合物是口服药物组合物。

5 项目 92: 如项目 87-91 任一项所述的药物组合物, 其中所述脂质组合物和所述核酸至少部分地或全部以脂质核酸混合物的形式存在。

项目 93: 如项目 92 所述的药物组合物, 其中所述脂质核酸混合物是通过加热法、逆向蒸发法, 或混合法制得的。

10 项目 94: 如项目 93 所述的药物组合物, 其中所述加热法包括将所述脂质组合物与所述核酸混合获得混合物, 并在 25°C 至 100°C, 50°C 至 100°C, 80°C 至 100°C, 或 95°C 至 100°C 的温度下加热所述混合物。

项目 95: 如项目 94 所述的药物组合物, 其中在 37°C, 60°C, 80°C 或 100°C 的温度下加热所述混合物。

15 项目 96: 如项目 93-95 中任一项所述的药物组合物, 其中将所述脂质组合物与所述核酸混合包括将所述脂质组合物的有机溶剂溶液加入到所述核酸的水溶液中。

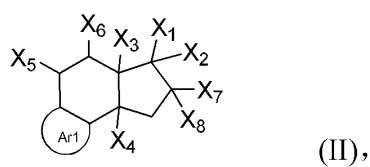
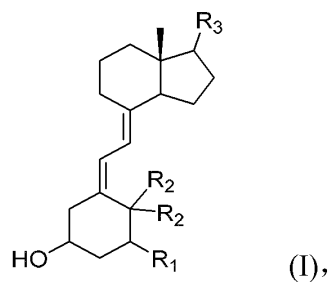
20 项目 97: 如项目 93 所述的药物组合物, 其中所述逆向蒸发法包括将所述核酸的水溶液与脂质化合物的有机溶剂溶液混合以得到混合溶液, 然后在 25°C 至 70°C, 30°C 至 65°C, 或 40°C 至 60°C 的温度下去除所述混合溶液中的有机溶剂。

项目 98: 如项目 97 所述的药物组合物, 其中在 55°C 的温度下去除所述混合溶液中的有机溶剂。

项目 99: 如项目 93 和-97-98 中任一项所述的药物组合物, 其中所述逆向蒸发法包括将所述核酸的水溶液加入到所述脂质组合物的有机溶剂溶液中。

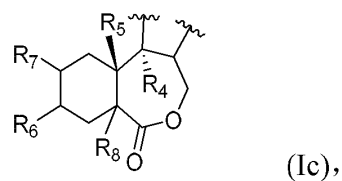
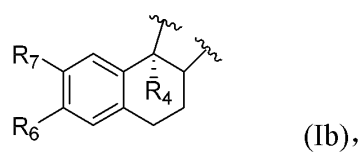
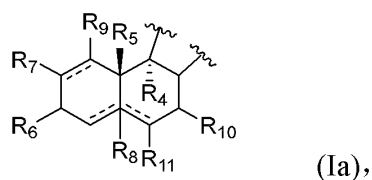
项目 100: 如项目 87-99 中任一项所述的药物组合物在制备药物中的用途, 所述药物用于预防和/或治疗能用核酸预防和/或治疗的疾病, 或者用于将核酸在体内递送至有此需要的对象中。

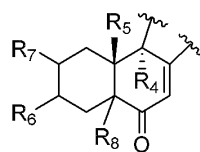
项目 101: 一种试剂盒, 其包含: 置于第一容器中的一种或多种具有式(I) 或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物:



其中

Ar1 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id):





(Id),

以及置于第二容器中的核酸；

其中：

==为碳碳单键或碳碳双键；

5 R₁为氢或羟基；

每个R₂为氢，或者两个R₂与其连接的碳原子一起形成直链或支链C₂₋₂₀烯基；

R₃为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链C₁₋₂₀烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链C₁₋₂₀烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链C₂₋₂₀烯基、或者任选由一个或多个羟基取代

10 代的直链或支链C₁₋₂₀杂烷基；

R₄为氢、羟基或卤素；

R₅为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链C₁₋₂₀烷基；

R₆为氢、羟基、氧基、-OC(O)R'、任选由一个或多个选自羟基或C₁₋₂₀烷基的基团取代的-O-杂环基；

15 R₇为氢或羟基；

R₈为不存在、氢、或羟基；

R₉、R₁₀和R₁₁独立地为氢、氧基或羟基；

X₁为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的C₃₋₂₀环烯基、任选由氧基取代的C₃₋₂₀杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-

20 COOH和-C(O)N(R'')₂的取代基取代的直链或支链C₁₋₂₀烷基；

X₂为不存在、氢、羟基、直链或支链C₁₋₂₀烷基、或者直链或支链的C₂₋₂₀炔基；

X₃ 为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄ 为氢或羟基；

X₅ 为氢、羟基或氧基；

X₆ 为氢、氧基或羟基；

- 5 X₇ 和 X₈ 为氢，或者 X₁ 和 X₇ 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R' 为任选由一个或多个羟基或 -OC(O)R'' 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

每个 R'' 独立地为氢、任选由一个或多个 -COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

- 10 项目 102：一种试剂盒，其包含：

置于第一容器中的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，和置于第二容器中的核酸，其中所述一种或多种化合物选自自由脂质 508、

512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、

552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、

- 15 565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、

582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 组成的组。

项目 103：如项目 101 或 102 所述的试剂盒，其中所述脂质组合物和所述核酸在使用前被至少部分地或全部地配制成脂质核酸混合物。

- 20 项目 104：如项目 103 所述的试剂盒，其中所述脂质核酸混合物是通过加热法、逆向蒸发法，或者混合法制得的。

项目 105：如项目 104 所述的试剂盒，其中所述加热法在如下的温度下进行：25°C 至 100°C，50°C 至 100°C，80°C 至 100°C，或 95°C 至 100°C 的温度下进行。

项目 106: 如项目 105 所述的试剂盒, 其中所述加热法在如下的温度下进行: 37°C, 60°C, 80°C 或 100°C 的温度下进行。

项目 107: 如项目 104-106 任一项所述的试剂盒, 其中所述加热法包括将所述脂质组合物的有机溶剂溶液加到所述核酸的水溶液中。

5 项目 108: 如项目 104 所述的试剂盒, 所述逆向蒸发法在选自如下的温度下进行: 25°C 至 70°C, 30°C 至 65°C, 或 40°C 至 60°C 的温度下进行。

项目 109: 如项目 108 所述的试剂盒, 所述逆向蒸发法在 55°C 的温度下进行。

项目 110: 如项目 104 和 108-109 任一所述的试剂盒, 其中所述逆向蒸发法
10 包括将核酸的水溶液加入到所述脂质组合物的有机溶剂溶液中。

项目 111: 如项目 101-110 任一项所述的试剂盒, 其中所述试剂盒被配制成为口服药物组合物。

项目 112: 如项目 101-110 中任一项所述的试剂盒, 其中所述试剂盒被配制成为经口服、经吸入、经消化道、或经呼吸道施用。

15 项目 113: 如项目 101-110 中任一项所述的试剂盒, 其中所述试剂盒被配制成为通过体外细胞递送, 或通过体内消化道递送的方式递送所述核酸。

项目 114: 如项目 101-113 中任一项所述的试剂盒在制备药物中的用途, 所述药物用于预防和/或治疗能用核酸预防和/或治疗的疾病, 或者用于将核酸体内递送至有此需要的对象中。

20 项目 115: 一种将核酸递送至靶细胞中的方法, 包括向所述靶细胞施用如权利要求 87-99 中任一项所述的药物组合物, 或者由权利要求 101-113 中任一项所述的试剂盒配制得到的脂质核酸混合物。

项目 116: 一种将核酸体内递送至有此需要的对象中的方法, 包括向所述对象施用如权利要求 87-99 中任一项所述的药物组合物, 或者由权利要求 101-
25 113 中任一项所述的试剂盒配制得到的脂质核酸混合物。

项目 117: 如项目 116 所述的方法, 其中所述对象是人或动物, 如哺乳动物。

项目 118: 如项目 116 或 117 所述的方法, 其中所述核酸被体内递送至所述对象的血液循环中或者靶组织/细胞中。

5 项目 119: 如项目 118 所述的方法, 其中所述靶组织选自心、肝、脾、肺、肾、胃、肠、脑、血液、股骨。

项目 120: 如项目 116-118 中任一项所述的方法, 其中包括通过口服、吸入或注射施用所述药物。

10 项目 121: 如项目 116-120 中任一项所述的方法, 其中包括经消化道、经呼吸道施用所述药物。

项目 122: 如项目 121 所述的方法, 其中所述核酸被体内递送至所述对象的血液循环中或者靶组织/细胞中。

15 通过本申请所提供的以上技术方案, 能够显著改进核酸的高效靶向递送, 克服了现有技术中核酸脂质体存在包封率低、安全性差、稳定性差、制备工艺复杂、产品不均一、难以重现、以及靶向性有待进一步提高的缺陷。

本发明提到的上述特征, 或实施例提到的特征可以任意组合。本案说明书所揭示的所有特征可与任何组合物形式并用, 说明书中所揭示的各个特征, 可以被任何提供相同、均等或相似目的的替代性特征取代。因此除有特别说明, 所揭示的特征仅为均等或相似特征的一般性例子。

20 下面结合具体实施例, 进一步阐述本发明。应理解, 这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。

实施例 1: 中药来源脂质的提取、鉴定和合成

1.1 中药的煎煮制备

- 25 1) 取 100g 中药饮片(购自北京同仁堂药店), 加入 1000mL ddH₂O 浸泡 30min。
- 2) 中药煎煮锅强火煎煮 15min, 弱火煎煮 20min。

3) 煎煮后的中药药液 400mL 加入旋转蒸发仪, 60°C, 60rpm, 30min 浓缩至 100mL。

1.2 中药来源脂质的提取

1) 向 160mL 根据以上 1.1 项所得中药汤汁 (旋转蒸发仪浓缩) 中加入氯仿-
5 甲醇混合液 (氯仿:甲醇=1:2, v/v) 600mL, 使得氯仿:甲醇:水=1:2:0.8, 搅拌混匀 10-15min。

2) 向锥形瓶中加入 200mL 氯仿, 搅拌混匀 10min。

3) 向锥形瓶中加入 200ml ddH₂O, 使得氯仿:甲醇:水=2:2:1.8, 搅拌混匀 10min。

4) 除去上层液体和中间层的不溶性物质, 取下层的氯仿层, -40°C 冻存。

10 1.3 中药来源的脂质鉴定

利用 HPLC-MS/MS 鉴定中药来源的脂质成分。

仪器条件

1) 色谱条件:

15 仪器: Ultimate 3000; 色谱柱: Kinetex C18 (100×2.1mm, 1.9μm); 柱温: 45 °C;
流动相: A: 乙腈:水 (V/V, 60:40), 溶液含 10 mmol/L 甲酸铵, 流动相 B: 乙腈: 异丙醇 (10:90, V/V), 溶液含 10 mmol/L 甲酸铵和 0.1%甲酸。流速: 0.4 mL/min; 进样量: 4 μL。

2) 质谱参数:

20 a) 正模式: 加热器温度 300 °C, 鞘气流速, 45 arb, 辅助气流速, 15 arb,
吹扫气流速, 1 arb, 喷嘴电压, 3.0 KV, 毛细管温度, 350 °C, S-Lens RF Level, 30%。扫描范围: 200-1500。

b) 负模式: 加热器温度 300 °C, 鞘气流速, 45 arb, 辅助气流速, 15 arb, 吹扫气流速, 1 arb, 喷嘴电压, 2.5KV, 毛细管温度, 350 °C, S-Lens RF Level, 60%。扫描范围: 200-1500。

25 1.4 脂质的获取

在以下实施例中所用的 53 个 ST 类脂质化合物分别为自 Aladdin 和 Macklin 购买所得。

实施例 2：脂质核酸混合物的制备（加热法）：

脂质氯仿溶液浓度为 10 mg/ml(储存液)，并按照脂质化合物编号进行分组。

5 将小 RNA 10 nmol（如表 2 所示）用 400 μl DEPC 处理过的水于玻璃管中溶解，加入 10 μl 相应的脂质储存液溶液，使得体系中脂质的质量为 100 μg，充分混匀，90℃ 水浴加热 15 min 后自然冷却，得脂质-小 RNA 的脂质核酸混合物。

表 2. 小 RNA 序列信息（订购于通用生物系统有限公司）

名称	序列	修饰
PGY-sRNA-26	TCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGT (SEQ ID No. 1)	3'-2 氧甲基化
PGY-sRNA-26 反转录引物	GTCGTATCCAGTGCACGCTCCGAGGTATTCG CACTGGATACGACACGCTT (SEQ ID No. 2)	
PGY-sRNA-26 正向引物	TCGCGCTCCGGAATGATTGGG (SEQ ID No. 3)	
PGY-sRNA-26 反向引物	GTGCACGCTCCGAGGT (SEQ ID No. 4)	

10 实施例 3：脂质核酸混合物的体内递送研究

1. 实验动物：

实验所用 C57BL/6 雄性小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司，约 6 周龄，20-24g。饲养于中国医学科学院基础医学研究所动物中心 SPF 级动物房。小鼠灌胃前禁食 12h。

15 2. 脂质-小 RNA 混合物制备：

按照实施例 2 的方法制备脂质核酸混合物。将制备好的脂质核酸混合物以每只小鼠 100 μg 脂质:10 nmol 单链 3' 甲基化小 RNA PGY-sRNA-26 的剂量进行口服给药。

3. 相对进入量检测：

3.1 实验分组:

- 1) 空白组: 小鼠 (n=4) 灌胃 500 μ l 生理盐水, 该组作为空白对照;
- 2) 自由摄取组: 小鼠 (n=4) 直接灌胃小 RNA PGY-sRNA-26 溶液 (10 nmol/只, 500 μ l), 该组作为阴性对照组;
- 5 3) 脂质处理组: 将步骤 2 中制备的 500 μ l 脂质核酸混合物以灌胃方式给药小鼠 (n=4)。

3.2 组织取样提取 RNA:

每组小鼠灌胃 12 h 后, 眼球取血 500 μ l, 加入 1.5 ml Trizol Reagent LS (购自 Invitrogen) 充分混匀裂解。组织样品加入 3 ml Trizol Reagent LS, 匀浆使其充分裂解, 组织取样: 心/肝/脾/肺/肾/胃/肠/脑/血/股骨。取 1 ml 血液或组织裂解液按如下步骤提取 RNA:

10

4°C, 12,000rpm 离心 5 min, 弃沉淀, 将 Trizol 转移到新的离心管中;

按 200 μ L 氯仿/mL Trizol 加入氯仿, 充分振荡, 混匀后室温放置 5 min;

4°C, 12,000rpm, 离心 15 min;

15 吸取上层水相, 至另一离心管中, 按 0.4 mL 异丙醇/mL Trizol 加入异丙醇混匀, 低温放置 10-20 min;

4°C, 12,000 rpm, 离心 15 min, 弃上清, RNA 沉于管底;

加入 1 mL 75%乙醇, 温和振荡离心管, 悬浮沉淀;

20 4°C, 12,000 rpm, 离心 15 min, 弃上清, 加入 1mL 75%乙醇, 温和振荡离心管, 悬浮沉淀;

4°C, 12,000rpm, 离心 15min, 弃上清, 室温晾干, 用 50 μ L RNase-free 的 H₂O 溶解 RNA 样品, 测 OD 值定量 RNA 浓度。

3.3 将 sRNA 逆转录为 cDNA:

通过逆转录试剂盒 (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits, Applied

Biosystems, cat. no. 4368813), 用茎环法(stem-loop 法)(参见例如 Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR, Nucleic Acids Res. 2005 Nov 27;33(20):e179, 通过引用并入本文)将 sRNA 逆转录为 cDNA, 逆转录体系如下:
模板 RNA (200 ng/ μ L) 10 μ L, 10X RT 缓冲液 2.0 μ L, 25X dNTP Mix (100 mM)
5 0.8 μ L, U6 RT stem-loop 引物 (10 μ M) 2.0 μ L, PGY-sRNA-26 RT stem-loop 引物 (10 μ M) 2.0 μ L, MultiScribe™ 逆转录酶 (50 U/ μ L) 1.0 μ L, RNA 酶抑制剂 (40 U/ μ L) 1.0 μ L, 无核酸酶 H₂O 1.2 μ L, 瞬时离心后, 放入 PCR 仪反应, 反应条件如下:
(1) 25°C, 10 min; (2) 37°C, 120 min; (3) 85°C, 5 min; (4) 4°C, 终止反应。反应结束后加入 20 μ L 无 RNA 酶 ddH₂O, 补足终体积至 40 μ L。该逆转录
10 过程中使用的茎环法引物由(北京天一辉远生物科技有限公司)合成(U6 RT 引物, 因为 RT-qPCR 反应对小 RNA 的定量只能是相对定量, 所以以 U6 作为标准的参考基因, 计算其相对表达量):

U6 RT stem-loop 引物:

GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAAATA
15 TG (SEQ ID No. 5);

PGY-sRNA-26 RT stem-loop 引物:

GTCGTATCCAGTGCACGCTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACACGCTT
(SEQ ID No. 2)。

3.4 定量 PCR 扩增反应:

20 qPCR 反应体系总体积 10 μ L, 包括: 5 μ L 2 $\times$ SYBR Green Master Mix, 0.5 μ L 正向引物 (10 μ M), 0.5 μ L 反向引物 (10 μ M), 1 μ L 逆转录得到的 cDNA, 3 μ L 无 RNA 酶 ddH₂O。使用 LightCycler 480 荧光定量 PCR 仪, PCR 反应条件是: 95°C, 持续 5 min 预变性, 开始进入 PCR 扩增循环: (1) 95°C, 10 s; (2) 55°C, 10 s;
(3) 72°C, 20 s; 总共进行 40 个循环; 最后 40°C 持续 10 s 降温。扩增反应正
25 向引物和反向引物均由北京天一辉远公司设计和合成 (U6 F 引物:
GCGCGTCGTGAAGCGTTC (SEQ ID No. 6), U6 R 引物:
GTGCAGGGTCCGAGGT (SEQ ID No. 7); PGY-sRNA-26 正向引物:
TCGCGCTCCGGAATGATTGGG (SEQ ID No. 3), 反向引物 miR all rev:

GTGCACGCTCCGAGGT (SEQ ID No. 4))。

3.5 利用 2- Δ Ct 法计算相对表达量。

4. 实验结果以图的形式示出。

结论：

5 脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、
581、582、583、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链核酸进入小鼠心脏组织。

10 脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、
581、582、583、585、586、588、589、590、592、633 和 653 可以有效口服递送
sRNA 单链核酸进入小鼠肝组织。

15 脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
561、563、564、567、568、569、570、571、575、576、579、581、582、585、
586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链
核酸进入小鼠脾组织。

20 脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
561、563、564、567、568、569、570、571、575、576、577、579、581、582、
588、583、585、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链
核酸进入小鼠肺组织。

25 脂质 508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、
550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、563、564、
565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、581、582、585、

586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链核酸进入小鼠肾组织。

脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
5 561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、
581、582、583、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链核酸进入小鼠胃组织。

脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
10 561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、
581、582、583、585、586、588、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链核酸进入小鼠肠组织。

脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
15 561、563、564、565、567、568、569、570、571、575、576、577、579、581、
582、583、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链核酸进入小鼠脑组织。

脂质 562、580、584、508、512、585、532、534、538、539、540、545、546、
547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、
20 561、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、
581、582、583、585、586、587、588、589、590、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链核酸进入小鼠血液。

脂质 562、580、584、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、
550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、563、564、
25 565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、581、582、583、
585、586、588、589、590、591、592、633 和 653 可以有效口服递送 sRNA 单链核酸进入小鼠股骨。

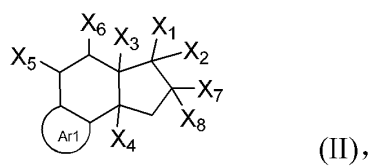
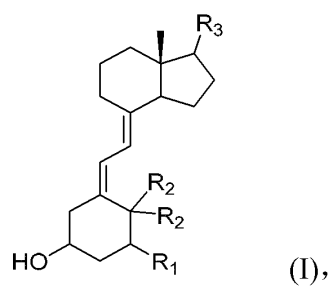
对于实验中的 9 个组织以及血液来看，不同脂质单体递送核酸进入效果最佳的为心脏组织和胃组织，有效进入心脏组织和胃组织的脂质最多，其次为肠组织以及血液。

脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、
5 551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、563、567、568、569、
570、575、581、582、588、589、590、592、633 和 653 的递送效果最佳，其均能有效递送核酸进入其试验的每个组织以及血液，有望作为一种较为广谱的核酸递送载体。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被
10 单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

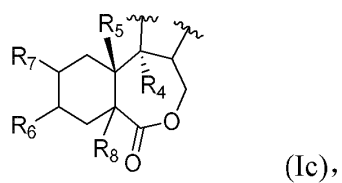
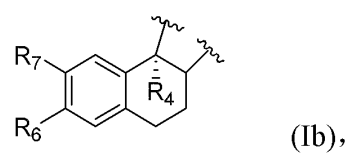
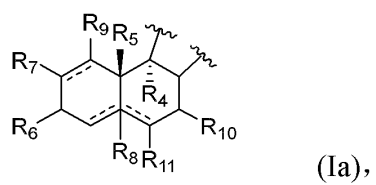
权 利 要 求 书

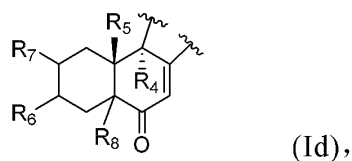
1. 脂质组合物在制备用于核酸递送的试剂中的用途，所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：



其中

Ar1 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id)：





其中：

== 为碳碳单键或碳碳双键；

R₁ 为氢或羟基；

每个 R₂ 为氢，或者两个 R₂ 与其连接的碳原子一起形成碳碳双键，或者一起形成直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

R₃ 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 杂烷基；

R₄ 为氢、羟基或卤素；

R₅ 为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

R₆ 为氢、羟基、氧基、-OC(O)R'、任选由一个或多个选自羟基或 C₁₋₂₀ 烷基的基团取代的-O-杂环基；

R₇ 为氢或羟基；

R₈ 为不存在、氢、或羟基；

R₉、R₁₀ 和 R₁₁ 独立地为氢、氧基或羟基；

X₁ 为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-COOH 和 -C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₂ 为不存在、氢、羟基、直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、或者直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

X₃ 为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄ 为氢或羟基；

X₅ 为氢、羟基或氧基；

X₆ 为氢、氧基或羟基；

X₇ 和 X₈ 为氢，或者 X₁ 和 X₇ 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R' 为任选由一个或多个羟基或-OC(O)R''取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

每个 R''独立地为氢、任选由一个或多个-COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

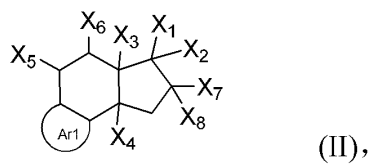
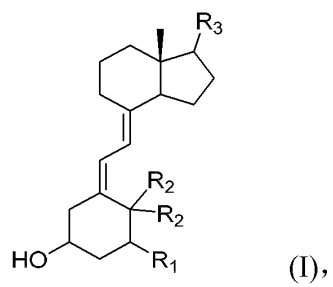
2. 根据权利要求 1 所述的用途，其中所述脂质组合物包含一种或多种选自下组的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：

脂质化合物编号	商品名
508	芸苔素内酯
512	维生素 D4
532	氟甲睾酮
534	氟氢可的松
538	坡那甾酮 A
539	美雄诺龙
540	马沙骨化醇
545	帕立骨化醇
546	甲基睾酮
547	甲基泼尼松龙
548	5 α -雄烷二醇
549	脱氧可的松
550	毒毛旋花苷 G
551	胆甾烷-3,5,6-三醇

552	甘氨脱氧胆酸
553	甘氨胆酸
554	卡泊三醇
555	4-雄烯-11 β -醇-3,17-二酮
556	17-戊酸- β -雌二醇酯
557	甲羟孕酮
558	海柯皂苷元
559	毛地黄毒苷配基
560	左炔诺孕酮
561	去氢表雄酮
562	诺龙
563	雄酮
564	泼尼松
565	十七酸胆固醇酯
566	氢化可的松
567	19-羟基雄-4-烯-3,17-二酮
568	丙酸睾酮
569	度骨化醇
570	1 α ,25-二羟基维生素 D ₂
571	骨化二醇
575	黄体酮
576	炔诺酮
577	石胆酸
579	睾酮
580	鹅去氧胆酸
581	去氧胆酸
582	乙酸氢化可的松
583	5 α -胆甾烷-3 β -醇
584	胆固醇硬脂酸酯

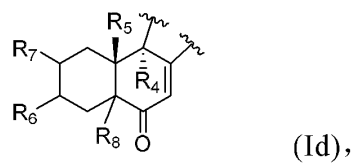
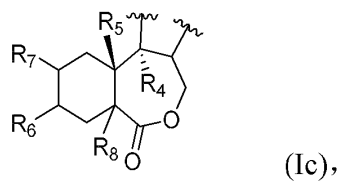
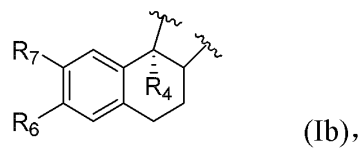
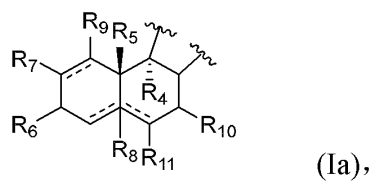
585	醋酸可的松
586	3 α -羟基-7-氧代-5 β -胆烷酸
587	4-雄烯-3,17-二酮
588	脱氧胆酸钠,
589	薯蓣皂素
590	孕烯醇酮
591	炔雌醇
592	熊去氧胆酸
633	雌三醇
653	5 α -胆甾烷

3. 根据前述权利要求中任一项所述的用途，其中所述化合物来自于中药提取物。
4. 根据前述权利要求任一项所述的用途，其中所述核酸包含 DNA 或 RNA，任选地，所述 DNA 选自编码 DNA 和非编码 DNA，所述 RNA 选自反义核酸、mRNA、lncRNA 和小 RNA。
5. 根据前述权利要求任一项所述的用途，其中所述核酸用于治疗疾病。
6. 根据权利要求 5 所述的用途，其中所述核酸用于治疗癌症、炎症、纤维化疾病、自身免疫疾病或自身炎性疾病、细菌感染、行为性和精神性病症、血液疾病、染色体疾病、先天性和遗传性疫病、结缔组织疾病、消化性疾病、耳鼻喉疾病、内分泌疾病、环境性疾病、眼部疾病、女性生殖性疾病、真菌感染、心脏病、遗传性癌症综合征、免疫系统疾病、肾脏和泌尿性疾病、肺部疾病、男性生殖新疾病、代谢性病症、口部疾病、肌肉骨骼疾病、骨髓增生异常性综合征、新生儿筛查、营养性疾病、寄生虫疾病、罕见癌症、罕见疾病、皮肤疾病或者病毒感染。
7. 一种药物组合物，其包含脂质组合物以及核酸，其中所述脂质组合物包含一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：



其中

Ar1 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id):



其中:

== 为碳碳单键或碳碳双键;

R₁ 为氢或羟基；

每个 R₂ 为氢，或者两个 R₂ 与其连接的碳原子一起形成直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

R₃ 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 杂烷基；

R₄ 为氢、羟基或卤素；

R₅ 为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

R₆ 为氢、羟基、氧基、-OC(O)R'、任选由一个或多个选自羟基或 C₁₋₂₀ 烷基的基团取代的-O-杂环基；

R₇ 为氢或羟基；

R₈ 为不存在、氢、或羟基；

R₉、R₁₀ 和 R₁₁ 独立地为氢、氧基或羟基；

X₁ 为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-COOH 和 -C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₂ 为不存在、氢、羟基、直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、或者直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

X₃ 为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄ 为氢或羟基；

X₅ 为氢、羟基或氧基；

X₆ 为氢、氧基或羟基；

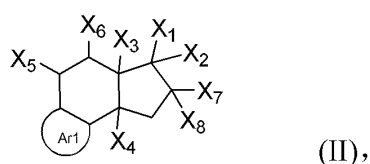
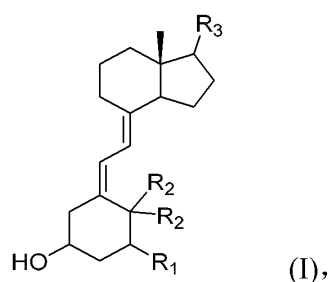
X₇ 和 X₈ 为氢，或者 X₁ 和 X₇ 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R'为任选由一个或多个羟基或-OC(O)R''取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

每个 R''独立地为氢、任选由一个或多个-COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

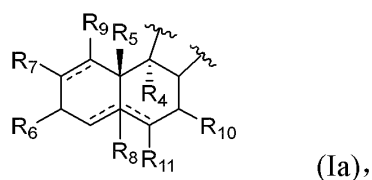
8. 一种药物组合物，其包含脂质组合物和核酸，其中所述脂质组合物包含一种或多种选自脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653，或其盐、水合物或溶剂化物组成的组的化合物。

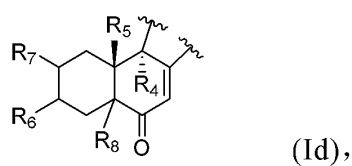
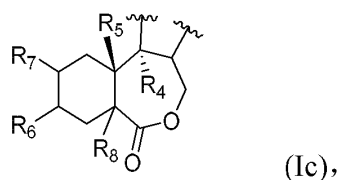
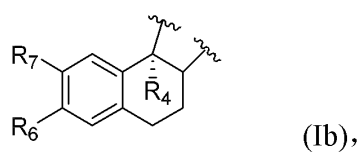
9. 一种试剂盒，其包含：置于第一容器中的一种或多种具有式(I)或式(II)的化合物或其盐、水合物或溶剂化物：



其中

Ar₁ 选自式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)或式(Id)：





以及置于第二容器中的核酸；

其中：

== 为碳碳单键或碳碳双键；

R₁ 为氢或羟基；

每个 R₂ 为氢，或者两个 R₂ 与其连接的碳原子一起形成直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

R₃ 为任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 杂烷基；

R₄ 为氢、羟基或卤素；

R₅ 为氢、羟基、或者任选由一个或多个羟基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

R₆ 为氢、羟基、氧基、-OC(O)R'、任选由一个或多个选自羟基或 C₁₋₂₀ 烷基的基团取代的-O-杂环基；

R₇ 为氢或羟基；

R₈ 为不存在、氢、或羟基；

R₉、R₁₀ 和 R₁₁ 独立地为氢、氧基或羟基；

X₁ 为氢、氧基、羟基、-C(O)R'、-OC(O)R'、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 环烯基、任选由氧基取代的 C₃₋₂₀ 杂环烯基、或者任选由一个或多个选自羟基、胺基、-COOH 和 -C(O)N(R'')₂ 的取代基取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₂ 为不存在、氢、羟基、直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、或者直链或支链的 C₂₋₂₀ 炔基；

X₃ 为氢或者直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基；

X₄ 为氢或羟基；

X₅ 为氢、羟基或氧基；

X₆ 为氢、氧基或羟基；

X₇ 和 X₈ 为氢，或者 X₁ 和 X₇ 与它们所连接的碳原子一起形成任选被一个或多个直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基取代的杂环基；

R' 为任选由一个或多个羟基或 -OC(O)R'' 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基、任选由一个或多个选自羟基或环烷基的基团取代的直链或支链 C₂₋₂₀ 烯基；

每个 R'' 独立地为氢、任选由一个或多个 -COOH 取代的直链或支链 C₁₋₂₀ 烷基。

10. 一种试剂盒，其包含：

置于第一容器中的一种或多种化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物，和置于第二容器中的核酸，其中所述一种或多种化合物选自脂质 508、512、532、534、538、539、540、545、546、547、548、549、550、551、552、553、554、555、556、557、558、559、560、561、562、563、564、565、566、567、568、569、570、571、575、576、577、579、580、581、582、583、584、585、586、587、588、589、590、591、592、633 和 653 组成的组。