

说明书

发明名称: 一类可用于活性分子递送 的可降解脂质体及其脂质纳米粒子

技术领域

[0001] 本发明提供一种可离子化脂质化合物, 其具有优化的疏水碳链长度和可离子化胺头结构, 从而可高效递送活性分子, 包括但不限于核酸、蛋白质以及小分子药物等; 本发明还涉及包含所述可离子化脂质化合物和活性分子的脂质纳米粒子(lipid nanoparticle,LNP), 以及包含所述脂质纳米粒子的药物组合物。

背景技术

[0002] 生物大分子如核酸、蛋白质等在调控基因表达及恶性疾病的预防和治疗中有巨大的优势和潜力, 但是生物大分子是一类具有较强亲水性的带电荷分子, 难以自主穿过细胞膜进入细胞内部; 此外, RNA等核酸药物容易被核酸酶降解, 使其在体内的稳定性受到限制, 进一步限制了RNA的成药性。

[0003] 脂质纳米粒子(lipid nanoparticle,LNP)通常由四组分构成: 阳离子脂质或可离子化脂质、磷脂、胆固醇和PEG脂质。LNP能够封装RNA等核酸药物分子并保护它们免受核酸酶降解, 且具有高度的稳定性和生物相容性, 因此已成为一种有前途的药物递送系统并已获得临床应用。

[0004] LNP的药物递送效率受到其组成成分的影响。其中, 阳离子脂质或可离子化脂质的胺头部分(amine head)可以与生物大分子通过静电作用促进LNP与生物大分子的结合与包封, 并提高LNP被细胞摄取的效率。研究表明阳离子脂质或可离子化脂质的疏水碳链长度影响LNP的稳定性和药物包封、递送效率。例如Min Qiu等人(PNAS 2022,119,e2116271119)报道过: LNP的递送效率随着脂质疏水碳链长度的增加而增加, 例如含16个碳原子疏水链的脂质分子比含有12-14个碳原子疏水链的脂质分子呈现出最高的核酸递送效率; Chun Chan等人(Curr Top Med Chem 2021,21,92 - 114)也报道过碳链长度通为12至18个碳原子的脂质分子为LNP提供足够的流动性和刚度; Shuai Liu等人(Nature Mater,2021,20,701 - 710)在该文献

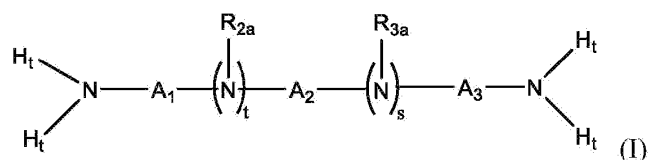
的图2e中显示了碳链长度影响核酸药物递送效率，碳链长度为10、11和12的脂质分子递送效率较高。

[0005] 总之，阳离子脂质或可离子化脂质的疏水碳链长度影响LNPs的形成和药物递送效率。因此，在设计LNP时需要考虑这些因素的平衡，以提高其在体内的递送效率和稳定性。

[0006] 发明内容

[0007] 本发明提供一种具有优化的疏水碳链长度和胺头的可离子化脂质化合物。不同于现有技术中含有12至18个碳原子的碳链长度的阳离子脂质或可离子化脂质化合物，本发明的发明人发现：对本发明这种结构的可离子化脂质化合物而言，进一步降低疏水碳链长度反而使得递送效率增加。为此，本发明的发明人完成了本发明。

[0008] 第一方面，本发明提供式(I)的脂质体化合物，



[0009] 其中

[0010] R_{2a} 和 R_{3a} 各自独立地为氢、一价脂族烃基、一价杂脂族烃基、一价芳香烃基、一价杂芳香烃基或 H_t ；

[0011] t 和 s 各自独立地为0或1，当 t 或 s 为零时表示该部分直接为单键；条件是 t 和 s 不同时为0；

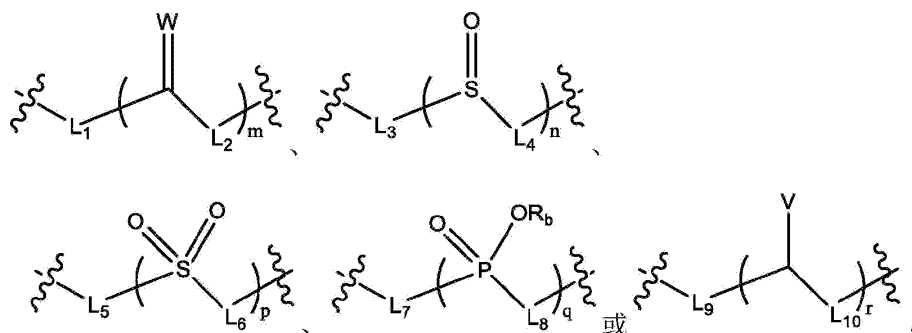
[0012] A_1 、 A_2 和 A_3 各自独立地为单键、二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基或以上两者的组合；

[0013] H_t 在每次出现时各自独立地为 $-\text{R}_1-\text{X}-\text{R}_2-\text{Y}-\text{R}_3-\text{Z}-\text{R}_4$ ，

[0014] 其中

[0015] R_i 在每次出现时各自独立地为二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基；

[0016] X 在每次出现时各自独立地为



[0017] 其中

[0018] m 、 n 、 p 、 q 和 r 各自独立地为1-6；

[0019] W 是O、S或NR_c；

[0020] L_1 、 L_3 、 L_5 、 L_7 和 L_9 ，其直接与R₁或R₂连接且各自独立地为单键、O、S或NR_d；

[0021] L_2 、 L_4 、 L_6 、 L_8 和 L_{10} 各自独立地为键、O、S或NR_e；

[0022] V 是脂族烃基、OR_f、SR_g或NR_hR_i，

[0023] 其中R_b、R_c、R_d、R_e、R_f、R_g、R_h和R_i各自独立地为氢、羟基、脂族烃基氧基(oxyaliphatic radical)、一价脂族烃基、一价杂脂族烃基、一价芳香烃基或一价杂芳香烃基；

[0024] Y 和 Z 在每次出现时各自独立地为S或O；

[0025] R₂在每次出现时各自独立地为单键、二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基；

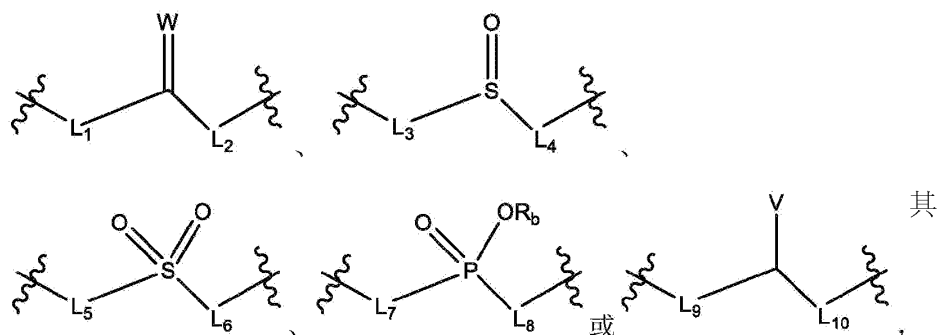
[0026] R₃在每次出现时各自独立地为单键、二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基；

[0027] R₄在每次出现时各自独立地为疏水基团，其选自-(CH₂CH₂O)_y-C₃-C₈烷基、-(CH₂CH₂O)_y-C₃-C₈烯基或-(CH₂CH₂O)_y-C₃-C₈炔基，其中 y 为0或1或2。

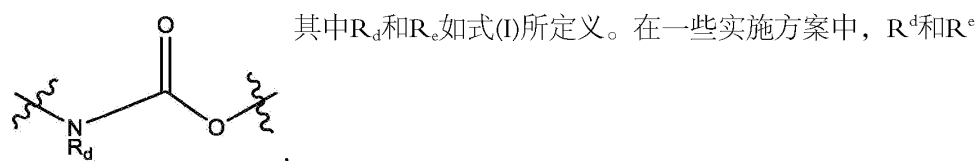
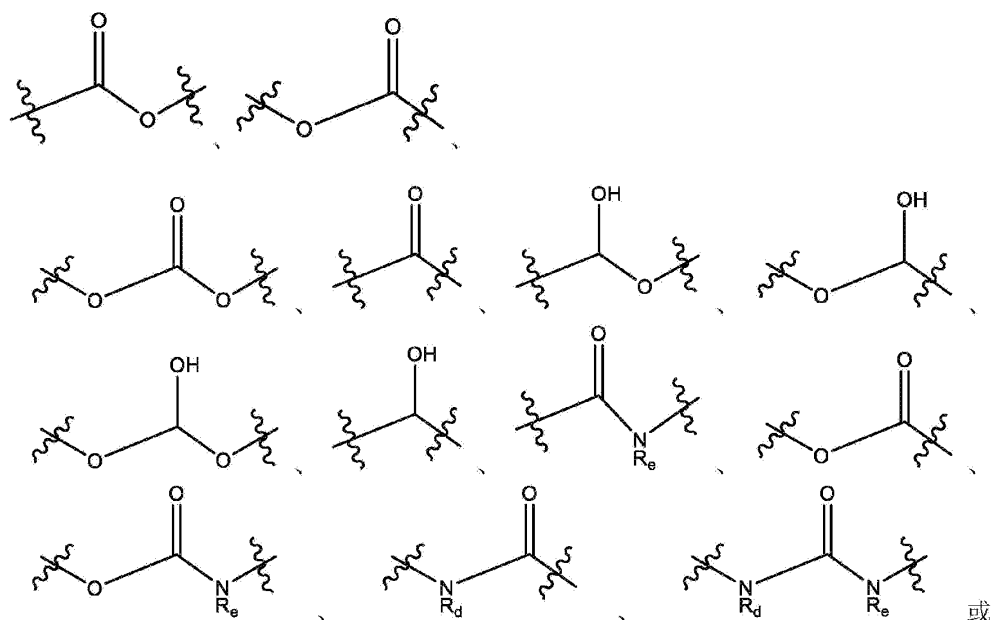
[0028] 在一些实施方案中， t 和 s 均为0；或者 t 为0且 s 为1；或者 t 为01且 s 为0。

[0029] 在一些实施方案中，R₁为C₁₋₆(例如，C₁₋₄)二价脂族烃基或C₁₋₆(例如，C₁₋₄)二价杂脂族烃基，优选为C₁₋₄二价烷基或C₁₋₄二价杂烷基。

[0030] 在一些实施方案中，X为



中各变量如式(I)所定义。在进一步的实施方案中, L₁、L₃、L₅、L₇和L₉与R_i连接且各自独立地为单键、O、S或NH。在进一步的实施方案中, X为



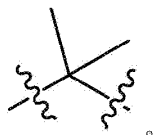
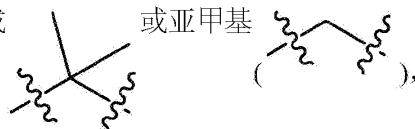
其中R_d和R_e如式(I)所定义。在一些实施方案中, R^d和R^e

各自独立地为H或C₁₋₄一价脂族烷基, 优选为H或C₁₋₄一价烷基。

[0031] 在一些实施方案中, Y和Z均为S; 或者Y为S, 以及Z为O; 或者Y为O, 以及Z为S; 或者Y和Z均为O。

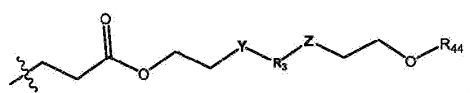
[0032] 在一些实施方案中, R₂在每次出现时各自独立地为单键或C₁₋₆二价脂族烷基(例如, C₁₋₄二价脂族烷基, 优选为C₁₋₄二价烷基, 更优选为C₁₋₂二价烷基)。

[0033] 在一些实施方案中, R_3 在每次出现时各自独立地为单键或 C_{1-6} 二价脂族烃基(例如, C_{1-4} 二价脂族烃基, 优选为 C_{1-4} 二价烷基)。在进一步的实施方案中, R_3 在每次出现时各自独立地为单键或



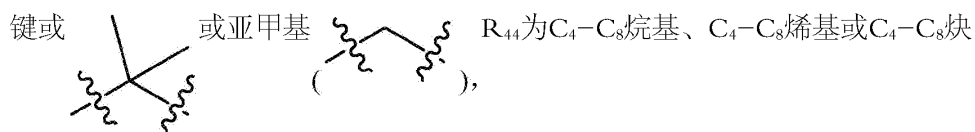
[0034] 在一些实施方案中, R_4 在每次出现时各自独立地为 C_3-C_8 烷基、 C_3-C_8 烯基、 C_3-C_8 炔基、 $-(CH_2CH_2O)-C_3-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)-C_3-C_8$ 烯基、 $-(CH_2CH_2O)-C_3-C_8$ 炔基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_3-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_3-C_8$ 烯基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_3-C_8$ 炔基。在一些实施方案中, R_4 在每次出现时各自独立地为 C_4-C_8 烷基、 C_4-C_8 烯基、 C_4-C_8 炔基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烯基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 炔基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烯基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 炔基。在一些实施方案中, 所述 C_4-C_8 烷基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烷基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烷基中的烷基为直链烷基; 所述 C_4-C_8 烯基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烯基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烯基中的烯基为直链烯基; 所述 C_4-C_8 炔基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 炔基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 炔基中的炔基为直链炔基。在一些实施方案中, R_4 在每次出现时各自独立地为 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_3CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_3CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_4CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_4CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_5CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_5CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_6CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_6CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_7CH_3$ 或 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_7CH_3$ 。

[0035] 在一些实施方案中, Ht在每次出现时各自独立地为



其中Y和Z均为S; 或者Y为S, 以及Z为

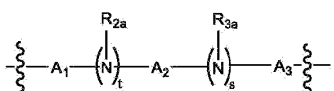
O; 或者Y为O, 以及Z为S; 或者Y和Z均为O; R_3 在每次出现时各自独立地为单

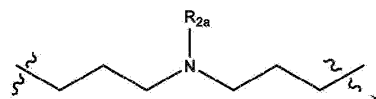


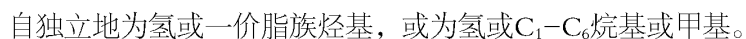
基；在一些实施方案中， R_4 在每次出现时各自独立地为 $-(CH_2)_3CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_3CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_4CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_5CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_6CH_3$ 或 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_7CH_3$ 。

[0036] 在本发明中， A_1 、 A_2 和 A_3 构成了所述脂质体的胺头，其与疏水性脂质尾部加成反应得到一系列脂质体，由于胺头可被质子化，该类脂质体纳米颗粒整体呈正电性，因而能够与呈负电性的mRNA及细胞膜、溶酶体膜发生静电相互作用，从而使该类脂质体能够有效包裹和递送mRNA。在一些实施方案中，所述胺头的 pK_a 值大于4，优选大于6，更优选大于8。

[0037] 在一些实施方案中， t 为1， s 为0， A_2 为单键，以及 A_1 和 A_3 各自独立地为二价脂族烃基或二价杂脂族烃基；在进一步的实施方案中， A_1 和 A_3 各自独立的为 C_1-C_6 二价脂族烃基(例如， C_1-C_4 二价脂族烃基，优选为 C_1-C_4 二价烷基)；在进一步的实施方案中， A_1 和 A_3 各自独立的为 $-CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2-$ ，以及 R_{2a} 为氢或一价脂族烃基，或为氢或 C_1-C_6 烷基或甲基。在一些实施方案中， t 为1， s 为1， A_1 、 A_2 和 A_3 各自独立地为二价脂族烃基或二价杂脂族烃基；在进一步的实施方案中， A_1 、 A_2 和 A_3 各自独立的为 C_1-C_6 二价脂族烃基(例如， C_1-C_4 二价脂族烃基，优选为 C_1-C_4 二价烷基)；在进一步的实施方案中， A_1 、 A_2 和 A_3 各自独立的为 $-CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2-$ ，以及 R_{2a} 和 R_{3a} 各自独立地为氢或一价脂族烃基，或为氢或 C_1-C_6 烷基或甲基。

[0038] 在一些实施方案中， 为





YX8	
YX17	
YX31	
YX27	
YX28	
YX35	
YX29	
YX33	

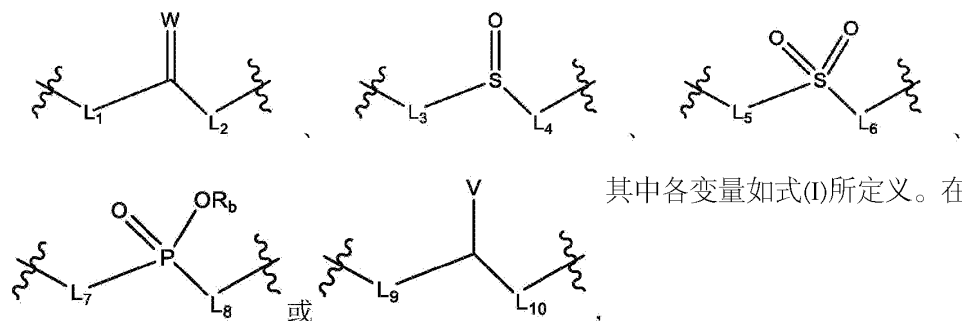
[0040] 本发明的式(I)的脂质体由于在Ht基团中含有缩酮响应单元(特别是当Y和Z均为S时的硫缩酮相应单元)因而是生物可降解的, 该类脂质体可高效结合mRNA并通

过组装形成纳米结构，进入疾病细胞后，选择性地对细胞内的高氧化性环境响应并降解，进而高效释放mRNA、表达响应蛋白。

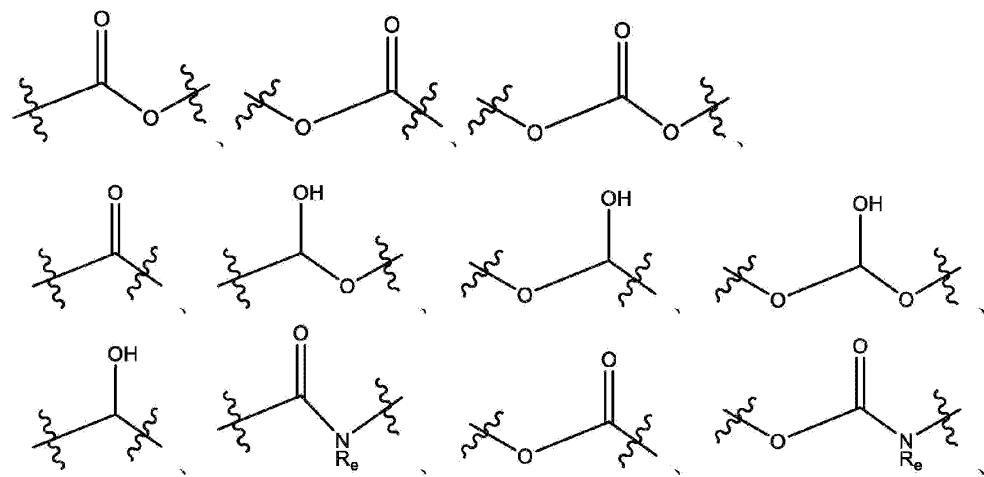
[0041] 第二方面，本发明提供制备 R_1 为亚乙基的式(I)的脂质体的方法，所述方法包括：

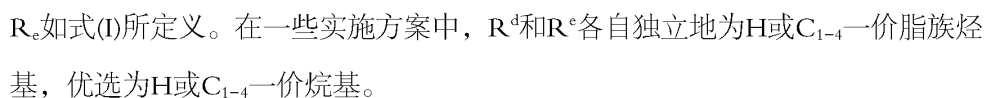
[0042] 使式(II)的丙烯酸类化合物 $CH_2=CH-X-R_2-Y-R_3-Z-R_4$ (II)与亲水胺按照摩尔比混合反应，其中各变量如式(I)所定义，其中所述亲水胺与所述式(II)丙烯酸酯类化合物的摩尔比大于4，例如4.3:1或者4.5:1，以保证反应充分完成；然后任选地对所述产物经柱层析纯化，得到期望的式(I)的脂质体；

[0043] 其中所述变量 R_2 、X、Y、 R_3 、Z和 R_4 如式(I)所定义。在一些实施方案中，X为



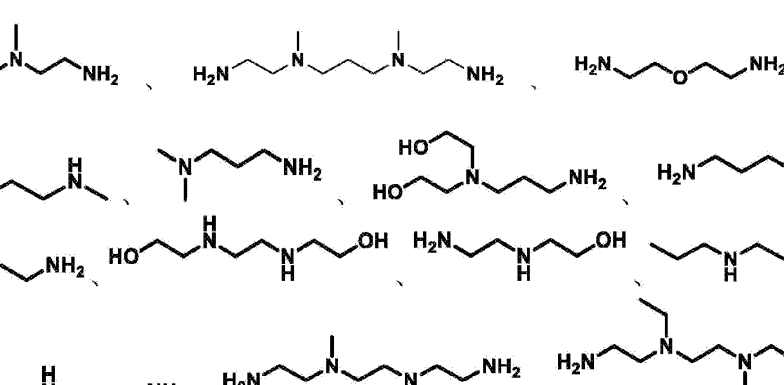
进一步的实施方案中， L_1 、 L_3 、 L_5 、 L_7 和 L_9 与 R_1 连接且各自独立地为单键、O、S或NH。在进一步的实施方案中，X为



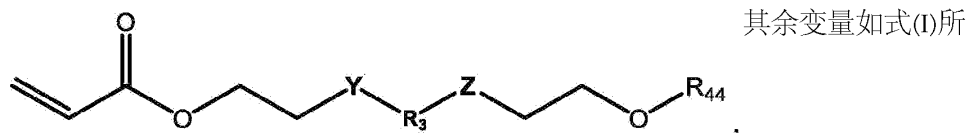


[0045] 在一些实施方案中,在本发明中,A₁、A₂和A₃及其相连的N共同构成了所述脂质体的胺头,其与疏水性脂质尾部加成反应得到一系列脂质体,由于胺头可被质子化,该类脂质体纳米颗粒整体呈正电性,因而能够与呈负电性的mRNA及细胞膜、溶酶体膜发生静电相互作用,从而使该类脂质体能够有效包裹和递送mRNA。

在一些实施方案中，所述方法中的所述亲水胺选自



[0047] 在一些实施方案中,所述含有缩酮的丙烯酸酯 $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{R}_2-\text{Y}-\text{R}_3-\text{Z}-\text{R}_4$ 为



定义。

[0048] 在一些实施方案中,所述反应为加成反应,优选为迈克尔加成反应(Michael addition reaction)。

[0049] 在一些实施方案中,所述反应在60–85°C的温度,例如在70°C进行24至96小时或更长。

[0050] 本发明所述的含有缩酮的丙烯酸酯可以按照本领域已知的方法例如CN 110101665 A披露的方法合成。所述含有缩(硫)酮的丙烯酸酯为丙烯酸与含有缩(硫)酮的醇类化合物经酯化反应所得到的酯类化合物。

[0051] 本发明的其它脂质体可以使用其它合适的起始材料通过上述合成路线和本领域中已知的其它路线制备。上文列出的方法可以包括另外的一个或多个步骤来添加或移除适当的保护基,以最终允许所述脂质体合成。此外,可以以替代的次序或顺序进行各个合成步骤,以得到所需的材料。可用于合成适用的脂质体的合成化学转化和保护基方法(保护和去保护)在本领域中是已知的。

[0052] 第三方面,本发明提供一种药物组合物,所述药物组合物包括药用载体以及脂质纳米粒颗粒(LNP),其中脂质纳米粒颗粒包括本发明的式(I)的脂质体和药物活性分子。

[0053] 在一些实施方案中,药物活性分子是小分子药物、蛋白质、肽、核酸、糖类或其组合。在进一步的实施方案中,所述药物活性分子是mRNA。在更进一步的实施方案中,所述mRNA可为表达荧光素酶的Firefly luciferase mRNA。

[0054] 在一些实施方案中,所述脂质纳米粒子具有50至500nm粒度分布。

[0055] 在一些实施方案中,所述脂质体与所述药物活性分子经由非共价相互作用,共价键或它们二者结合。

- [0056] 在一些实施方案中，所述脂质纳米粒子进一步含有其它脂质，选自胆固醇、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE,CAS:4004-05-1)和二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000(DSPE-PEG2000,CAS:147867-65-0)或1,2-二肉豆蔻酰-RAC-甘油-3-甲氧基聚乙二醇2000(DMG-PEG2000, CAS:160743-62-4)或其组合。同时，将DOPE替换成相同比例的1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC,CAS:4235-95-4)或二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC,CAS:816-94-4)均能取得类似的递送效果。在进一步实施方案中，所述脂质纳米粒子进一步含有胆固醇、二油酰磷脂酰乙醇胺和二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000或1,2-二肉豆蔻酰-RAC-甘油-3-甲氧基聚乙二醇2000。其中本发明示例中脂质体:胆固醇:DOPE:DSPE-PEG2000的摩尔比为50:38.5:10:1.5。
- [0057] 在一些实施方案中，本发明的脂质纳米颗粒通过以下方法制备：包括分别将本发明的可离子化脂质化合物、胆固醇、DOPE以及DSPE-PEG2000溶解在无水乙醇中，将药物活性分子与质量为其5-20倍(脂质体与核酸的N/P比例范围为5:1-20:1)溶解到100mM的醋酸钠缓冲溶液(pH=5.2)中。上述乙醇溶液和醋酸钠缓冲溶液按照1:3的流速在微流控机器上进行混合制备。在进一步的实施方案中，所述药物活性分子为mRNA。
- [0058] 第四方面，本发明涉及一种包括向细胞递送核酸的调节基因表达的方法，所述方法包括：在足以造成所述核酸被摄入所述细胞中的条件下，使所述细胞与第三方面的药物组合物接触。在一些实施方案中，所述细胞在体外或离体接触。在一些实施方案中，所述细胞在体内接触。在一些实施方案中，所述基因表达的调节足以治疗疾病或病症诸如癌症。
- [0059] 本发明还涉及治疗患者中的疾病或病症的方法，所述方法包括给有此需要的患者施用药学有效量的本发明所述药物组合物，其中所述药物组合物包含所述疾病或病症的治疗性核酸或蛋白。
- [0060] 定义
- [0061] 术语“脂族烃基(aliphatic)”是指饱和或不饱和的、直链或支链的、无环的、环状的或多环的烃部分(hydrocarbon moiety)。例子包括但不限于，烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基部分。

- [0062] 术语“烷基”包括选自包含1至30，例如1至24，1至18个，例如1至12个，进一步例如1至10个，更进一步例如1至8个或1至6个或1至4个碳原子的直链和支链饱和烃基的烃基。一价烷基或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(icosyl)和三十烷基(triacontyl)等等。二价烷基，即亚烷基的例子包括但不限于亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基、亚己基、亚庚基、亚辛基、亚壬基、亚癸基、亚十一烷基、亚十二烷基、亚十三烷基、亚十四烷基、亚十五烷基、亚十六烷基、亚十七烷基、亚十八烷基、亚十九烷基、亚二十烷基(icosylene)和亚三十烷基(triacotylene)等等。
- [0063] 一价基团为从相应烃部分脱去一个氢原子所形成的基团。二价基团为从相应烃部分脱去两个氢原子所形成的基团。
- [0064] 术语“烯基”包括选自包含至少一个C=C双键和2至30，例如2至24，2至18个，例如2至8个，进一步例如2至6个碳原子的直链和支链烃基的烃基。烯基，例如C2-6烯基的例子包括但不限于乙烯基(ethenyl/vinyl)、丙-1-烯基、丙-2-烯基、2-甲基丙-1-烯基、丁-1-烯基、丁-2-烯基、丁-3-烯基、丁-1,3-二烯基、2-甲基丁-1,3-二烯基、己-1-烯基、己-2-烯基、己-3-烯基、己-4-烯基、己-1,3-二烯基、十二碳烯基、十四碳烯基、十六碳烯基、十八碳烯基等。
- [0065] 术语“炔基”包括选自包含至少一个C≡C三键和2至30，例如2至24，2至18个，例如2至8个，进一步例如2至6个碳原子的直链和支链烃基的烃基。炔基，例如C2-6炔基的例子包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基(炔丙基)、1-丁炔基、2-丁炔基和3-丁炔基。
- [0066] 术语“环烷基”包括选自包含单环和多环(例如双环和三环)基团的饱和环烃基的烃基，包括稠合、桥连或螺环烷基。环烷基可以包含3至30个，3至12个，例如3至10个，进一步例如3至8个，进一步例如3至6个、3至5个或3至4个碳原子。进一步地，举例来说，环烷基可以选自包含3至12个，例如3至10个，进一步例如3至8个、3至6个碳原子的单环基团。单环环烷基的例子包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基和环

十二烷基。术语“环烯基”是指含有至少一个双键的非芳香族的、环状的烃部分，如环己烯基、亚环己烯基。术语“环炔基”是指含有至少一个三键的非芳香族的、环状的烃部分，环辛炔基和亚环辛炔基。类似地，亚环烷基、亚环烯基和亚环炔基为相应的二价基团。

[0067] 术语“杂脂族烃基(heteroaliphatic)”是指含有至少一个选自N、O、P、B、S、Si、Sb、Al、Sn、As、Se和Ge的杂原子的脂族部分。本发明的杂脂族烃基包括含有至少一个选自N、O、P、B、S、Si、Sb、Al、Sn、As、Se和Ge的杂原子的烷基、烯基或炔基，以及含有至少一个选自N、O、P、B、S、Si、Sb、Al、Sn、As、Se和Ge的杂原子的环烷基、环烯基或环炔基部分。环状杂脂族烃基包括3员至7员单环环状杂脂族烃基和7员至12员二环环状杂脂族烃基，所述环状杂脂族烃基含有1-3个或多个，例如1-3个选自氧、氮和硫的杂环子。在一些实施方案中，所述环状杂脂族烃基为包含1-3个选自氧、氮和硫的杂环子的3员至7员单环环状杂脂族烃基。环状杂脂族烃基包括但不限于吡咯烷基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、吡喃基、吗啉基、环氧乙烷基、氮杂环丙烷基、环硫乙烷基、氮杂环丁基、氧杂环丁烷基、硫杂环丁基、二硫杂环丁基、二氢吡啶、四氢吡啶、硫代吗啉、高哌嗪基、高哌啶基、氮杂环庚烷基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基、氧硫杂环己烷基、二氧杂环庚烷基、氧硫杂环庚烷基、氮氧杂环庚烷基、二硫杂环庚烷基、氮硫杂环庚烷基、二氮杂环庚烷、氮硫杂环己烷基、氧氮杂卓、二氮杂卓、硫氮杂卓、二氢噻吩基、二氢吡喃基、二氢呋喃基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、吡咯啉基、呋喃基、二氧杂环己烷基、二氧环戊基、吡唑啉基、吡唑烷基、二噻烷基、二噻环戊基、噻啉酮基、二氧代-硫代吗啉基、氮杂双环[3.1.0]己基、氮杂双环[4.1.0]庚烷基、氮杂双环[2.2.2]己基等。典型的杂脂族烃基为杂烷基，即含有至少一个N、O或S的杂原子的烷基，例如含有一个N原子的C₁₋₆烷基、含有一个O原子的C₁₋₆烷基、或含有一个S原子的C₁₋₆烷基；或者含有一个N原子的C₁₋₄杂烷基、含有一个O原子的C₁₋₄杂烷基、或含有一个S原子的C₁₋₄杂烷基。

- [0068] 术语“脂族烃基氧基(oxyaliphatic)”是指-O-脂族烃基。脂族烃基氧基的例子包括甲氧基,乙氧基,正丙氧基,异丙氧基,正丁氧基,异丁氧基,仲丁氧基和叔丁氧基。
- [0069] 术语“芳基(芳香烃基, aryl)”是指C₆单环、C₁₀二环、C₁₄三环、C₂₀四环或C₂₄五环的芳香环体系。芳基的例子包括苯基,亚苯基,萘基,亚萘基,蒽基,亚蒽基,苊基和亚苊基。
- [0070] 术语“杂芳基(杂芳族烃基, heteroaryl)”是指具有一个或多个杂原子(如O, N, S或Se)的芳族5-8元单环, 8-12元双环, 11-14元三环和15-20元四环的环体系。杂芳基的实例包括呋喃基、亚呋喃基、茚基、亚茚基、吡咯基、亚吡咯基、噻吩基、亚噻吩基、噁唑基、亚噁唑基、咪唑基、亚咪唑基、苯并咪唑基、亚苯并咪唑基、噻唑基、亚噻唑基、吡啶基、亚吡啶基、嘧啶基、亚嘧啶基、喹啉基、亚喹啉基、喹啉基、亚喹啉基、异喹啉基、异亚喹啉基、吲哚基和亚吲哚基。
- [0071] 除非另有说明,本申请提及的脂族烃基、杂脂族烃基、脂族烃基氧基、烷基、亚烷基、烯基、亚烯基、炔基、亚炔基、环烷基、亚环烷基、环烯基、亚环烯基、环炔基、亚环炔基、杂环烷基、亚杂环烷基、杂环烯基、亚杂环烯基、芳基和杂芳基包括取代和未取代的部分二者。环烷基、亚环烷基、环烯基、亚环烯基、环炔基、亚环炔基、杂环烷基、亚杂环烷基、杂环烯基、亚杂环烯基、芳基和杂芳基上的可能取代基包括、但不限于、C₁-C₁₀烷基、C₂-C₁₀烯基、C₂-C₁₀炔基、C₃-C₂₀环烷基、C₃-C₂₀环烯基、C₂-C₂₀杂环烷基、C₃-C₂₀杂环烯基、C₁-C₁₀烷氧基、芳基、芳氧基、杂芳基、杂芳氧基、氨基、C₁-C₁₀烷基氨基、C₂-C₂₀二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基、C₁-C₁₀烷基磺酰氨基、芳基磺酰氨基、C₁-C₁₀烷基亚氨基、芳基亚氨基、C₁-C₁₀烷基磺酰亚氨基、芳基磺酰亚氨基、羟基、卤代、硫代(thio)、C₁-C₁₀烷硫基、芳硫基、C₁-C₁₀烷基磺酰基、芳基磺酰基、酰基氨基、氨基酰基、氨基硫代酰基(aminothioacyl)、酰胺基、脒基、胍基、脲基、硫脲基、氰基、硝基、亚硝基、叠氮基、酰基、硫代酰基、酰基氧基、羧基、和羧酸酯。另一方面、脂族烃基、杂脂族烃基、脂族烃基氧基、烷基、亚烷基、烯基、亚烯基、炔基和亚炔基上的可能取代基包括以上列

出的所有取代基，但是C₁-C₁₀烷基除外。环烷基、亚环烷基、环烯基、亚环烯基、杂环烷基、亚杂环烷基、杂环烯基、亚杂环烯基、芳基和杂芳基还可以彼此稠合。

[0072] 术语“药物活性分子”是指任何意在用于疾病的医学诊断、治愈、治疗或预防的化学物质，包括小分子和大分子药物，其中小分子药物例如化疗药物、大分子药物例如寡肽、寡糖、寡核苷酸、肽、蛋白质或核酸。

附图说明

[0073] 图1a示出了含不同疏水链长脂质化合物的LNP递送Firefly luciferase(Fluc)mRNA 6小时后全身生物发光成像(IVIS)，小鼠通过尾静脉给药(剂量：150 μg/kg)；图1b示出了肝脏组织荧光素酶的表达水平及生物发光强度。

[0074] 图2a示出了含不同链长脂质体Firefly luciferase mRNA 6小时后全身生物发光成像(IVIS)，小鼠通过肌肉给药(剂量：250 μg/kg)；图1b示出了组织层次荧光素酶的表达水平及生物发光强度。

[0075] 图3示出了YX27脂质纳米颗粒在不同N/P条件下递送Firefly luciferase mRNA 6小时后肝脏组织荧光素酶的表达水平及生物发光强度，小鼠通过尾静脉给药(剂量：150 μg/kg)。

[0076] 图4a示出了YX27、SM102以及D-Lin-MC3-DMA(MC3)脂质纳米颗粒在递送6小时后全身生物发光成像(IVIS)，小鼠通过尾静脉给药(剂量：150 μg/kg)；图4b示出了肝脏组织荧光素酶的表达水平及生物发光强度。

[0077] 图5示出了YX27脂质纳米颗粒递送Firefly luciferase mRNA的肝脏组织荧光素酶的表达水平及生物发光强度随时间变化的曲线。

[0078] 图6示出了不同分子结构的脂质纳米颗粒递送Firefly luciferase mRNA 6小时后的肝脏组织生物发光强度。

具体实施方式

[0079] 下面结合具体实施方式对本发明进行进一步的详细描述，给出的实施例仅为了阐明本发明，而不是为了限制本发明的范围。以下提供的实施例可作为本技术

领域普通技术人员进行进一步改进的指南，并不以任何方式构成对本发明的限制。

[0080] 下述实施例中的定量试验，均设置三次重复实验，结果取平均值。

[0081] 下述实施例中的实验方法，如无特殊说明，均为常规方法。下述实施例中所用的材料、试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

[0082] 以下实施例中胆固醇为麦克林公司产品，货号为C10006595,CAS:57-88-5。

[0083] 以下实施例中DOPE(二油酰磷脂酰乙醇胺,CAS:4004-05-1)和DMG-PEG₂₀₀₀(CAS:147867-65-)均为艾伟拓(上海)医药科技有限公司产品。

[0084] 以下实施例中Firefly luciferase mRNA为上海兆维科技发展有限公司产品。

[0085] 以下实施例中Balb/c小鼠为北京维通利华实验动物技术有限公司产品。

[0086] 实施例

[0087] 实施例1: 可离子化脂质化合物的合成

[0088] 可离子化脂质化合物由相应的亲水胺化合物及相应的疏水尾部通过迈克尔加成反应合成，其中疏水尾部即为含有缩酮的丙烯酸酯，具体为含有缩硫酮的丙烯酸酯。

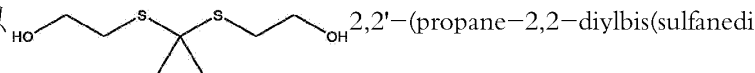
[0089] 疏水尾部化合物TK如下合成或制备：

[0090] TK12即2-((2-((2-(十二烷氧基)乙基)硫基)丙烷-2-基)硫基)乙基丙烯酸酯

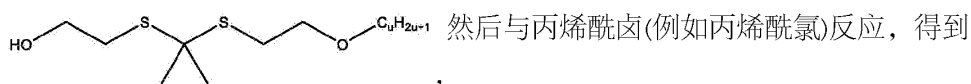


TK-12的¹H NMR: ¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ 6.18(s,1H),5.97(d,J=10.2Hz,1H),4.26(s,2H),3.51(s,4H),3.34(s,6H),2.87(s,1H),2.74(s,1H),1.55(s,4H),1.50-1.39(m,1H),1.25(s,6H),0.86(s,1H)。

[0091] TK2、TK4、TK6、TK8和TK10以类似于CN110101665A实施例1和2的方法合成，以



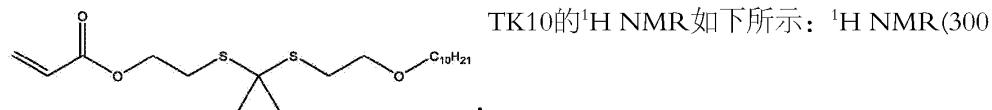
和相应的短链卤代烷Halo-C_uH_{2u+1}作为起始物质，制备



相应的TK2、TK4、TK6、TK8和TK10，其中

[0092] TK10，即2-((2-((2-(癸氧基)乙基)硫基)丙烷-2-基)硫基)乙基丙烯

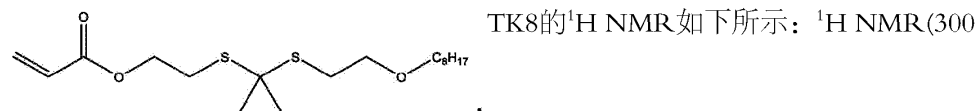
酞酸酯2-((2-((2-(decyloxy)ethyl)thio)propan-2-yl)thio)ethyl acrylate



TK10的¹H NMR如下所示：¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ 6.45(d,1H),6.13(m,1H),5.86(d,1H),4.31(t,2H),3.58(t,2H),3.43(t,2H),2.91(t,2H),2.82(t,2H),1.61–1.26(m,23H),0.87(t,3H)。

[0093] TK8，即2-((2-((2-(辛氧基)乙基)硫基)丙烷-2-基)硫基)乙基丙烯

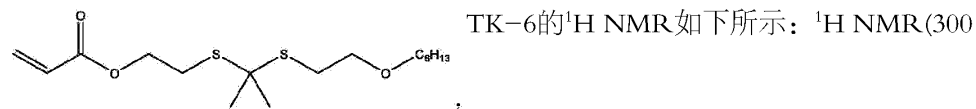
酞酸酯2-((2-((2-(octyloxy)ethyl)thio)propan-2-yl)thio)ethyl acrylate



TK8的¹H NMR如下所示：¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ 6.40(d,1H),6.13(m,1H),5.86(d,1H),4.31(t,2H),3.58(t,2H),3.43(t,2H),2.91(t,2H),2.82(t,2H),1.61–1.27(m,17H),0.87(t,3H)。

[0094] TK6，即2-((2-((2-(己氧基)乙基)硫基)丙烷-2-基)硫基)乙基丙烯

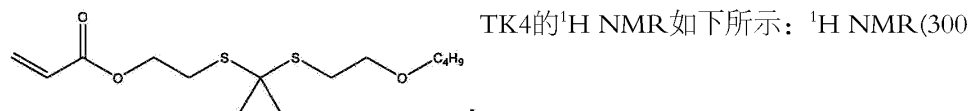
酞酸酯2-((2-((2-(hexyloxy)ethyl)thio)propan-2-yl)thio)ethyl acrylate



TK-6的¹H NMR如下所示：¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ 6.41(d,1H),6.12(m,1H),5.83(d,1H),4.32(t,2H),3.59(t,2H),3.46(t,2H),2.92(t,2H),2.82(t,2H),1.61(m,8H),1.31(m,6H),0.88(t,3H)。

[0095] TK4，即2-((2-((2-(丁氧基)乙基)硫基)丙烷-2-基)硫基)乙基丙烯

酞酸酯2-((2-((2-(butyloxy)ethyl)thio)propan-2-yl)thio)ethyl acrylate



TK4的¹H NMR如下所示：¹H NMR(300

MHz, CDCl₃) δ 6.41(d, 1H), 6.12(t, 1H), 5.83(d, 1H), 4.32(d, 2H), 3.59(d, 2H), 3.46(d, 2H), 2.92(d, 2H), 2.82(d, 2H), 1.61 – 1.38(m, 10H), 0.89(d, 3H)。

[0096] 本发明的可离子化脂质化合物YX的合成可参见CN110101665A等。

[0097] YX9, 即CN110101665A的实施例5式II-10化合物, 其由亲水胺化合物3,3'-二氨基-N-甲基二丙基胺(3,3'-Diamino-N-methyldipropylamine, CAS:105-83-9)与TK12以类似于CN110101665A的实施例5的方法合成, 但是其中亲水胺化合物与TK12的摩尔比为4.3:1。YX9的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 4.21(t, 8H), 3.57(t, 8H), 3.42(t, 8H), 2.85–2.76(m, 24H), 2.44(t, 12H), 2.29(s, 4H), 2.18(s, 3H), 1.59–1.25(m, 114H), 0.87(t, 12H)。

[0098] YX8, 由亲水胺化合物3,3'-二氨基-N-甲基二丙基胺与TK10合成, 其中亲水胺化合物3,3'-二氨基-N-甲基二丙基胺与TK10以4.3:1的摩尔比混合, 70℃加热72h, 粗产物在硅胶柱上以二氯甲烷/甲醇为洗脱液进行纯化, 得到可离子化脂质化合物YX8。YX8的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 4.21(t, 8H), 3.57(t, 8H), 3.42(t, 8H), 2.85–2.76(m, 24H), 2.44(t, 12H), 2.28(s, 4H), 2.19(s, 3H), 1.60–1.25(m, 100H), 0.87(t, 12H)。

[0099] YX17、YX27和YX31由亲水胺化合物3,3'-二氨基-N-甲基二丙基胺与相应的疏水尾部化合物以4.3:1的摩尔比混合来合成,

[0100] YX17的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 4.21(t, 8H), 3.58(t, 8H), 3.43(t, 8H), 2.85–2.77(m, 24H), 2.45(m, 12H), 2.28(s, 4H), 2.18(s, 3H), 1.60–1.28(m, 83H), 0.87(t, 12);

[0101] YX27的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 4.22(t, 8H), 3.58(t, 8H), 3.44(t, 8H), 2.86–2.77(m, 24H), 2.45(t, 12H), 2.28(t, 4H), 2.18(s, 3H), 1.60–1.38(m, 45H), 0.92(t, 12H); 和

[0102] YX31的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 4.22(t, 8H), 3.58(t, 8H), 3.43(t, 8H), 2.86–2.77(m, 24H), 2.45(t, 12H), 2.28(t, 4H), 2.18(s, 3H), 1.60(m, 37H), 1.29(s, 25H), 0.88(t, 12H)。

YX9	
YX8	
YX17	
YX31	
YX27	

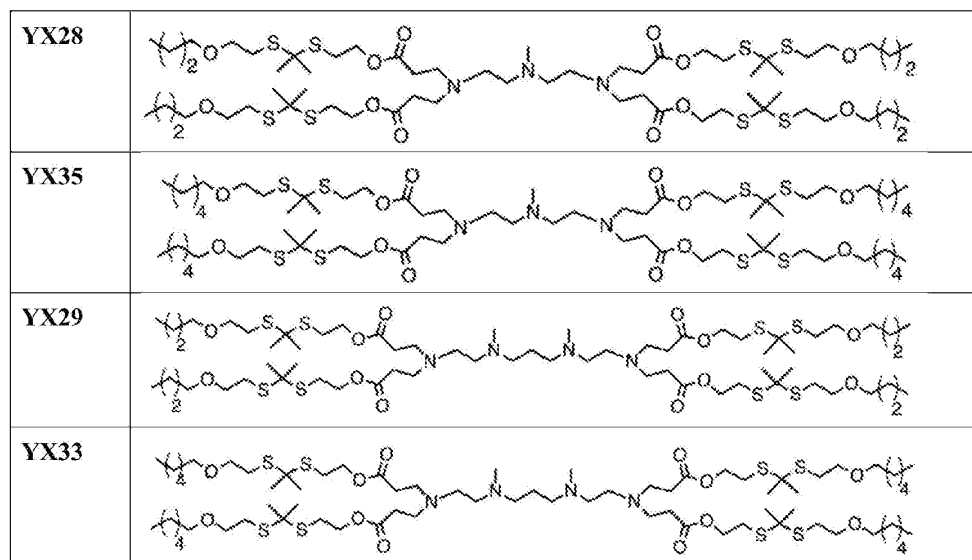
[0103] 可离子化脂质化合物YX28、YX35、YX29和YX33由亲水胺化合物N-甲基-2,2-二氨基二乙胺(CAS号4097-88-5)或N,N'-bis(2-aminoethyl)-N,N'-dimethyl-1,3-propanediamine(CAS号152829-22-6)与相应的疏水尾部化合物, 以上述类似的方法合成,

[0104] YX28的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ 4.22(t,8H),3.58(t,8H),3.44(t,8H),2.86-2.77(m,24H),2.55-2.46(m,16H),2.23(s,3H),1.60-1.38(m,41H),0.91(t,12H);

[0105] YX29的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ 4.22(t,8H),3.58(t,8H),3.44(t,8H),2.86-2.77(m,24H),2.56(t,4H),2.46(t,12H),2.34(t,4H),2.22(s,6H),1.6-1.38(m,50H),0.92(t,12H);

[0106] YX33的¹H NMR如下所示: ¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ 4.22(t,8H),3.58(t,8H),3.43(t,8H),2.86-2.77(m,24H),2.57(s,4H),2.46(t,12H),2.35(s,4H),2.23(s,6H),1.60-1.29(m,60H),0.88(t,12H); 和

[0107] YX35的¹H NMR如下所示：¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δ 4.22(t,8H),3.58(t,8H),3.43(t,8H),2.86–2.77(m,24H),2.55–2.46(m,16H),2.23(s,3H),1.60(m,35H),1.29(m,24H),0.89(t,12H)。



- [0110] 对于包封了mRNA的脂质纳米颗粒,可使用Quant-TMit RiboGreen RNA Assay Kit(ThermoFisher Scientific,USA)测定其中游离RNA的浓度,以此为基础,建立纳米颗粒组合物对RNA包封效率的测定方法。将样品在TE缓冲液(Solarbio/索莱宝,T1120, pH 8.0)中稀释至大约5 μ g/mL的浓度。将50 μ L的稀释样品转移至聚苯乙烯96孔板,并且将50 μ L的TE缓冲液或50 μ L的2% Triton X-100溶液(Solarbio/索莱宝,T8200)添加至孔中。将板在37°C的温度下孵育10分钟。将试剂在TE缓冲液中1:200稀释,并且将100 μ L的此溶液添加至每个孔中。可使用荧光板读取器(BIOTEK/Synergy H1)在480nm的激发波长和520nm的发射波长下测量荧光强度,并且通过用完整样品(没有添加Triton X-100)的荧光强度除以裂解样品(通过添加Triton X-100造成)的荧光值来确定游离RNA的百分比。
- [0111] 对该实施例中包含YX27的LNP测试如下:平均粒径185nm, PDI为0.148, 以及Zeta电势为-7.87mV。
- [0112] 实施例3: 本发明的脂质纳米颗粒对mRNA的动物递送实验
- [0113] 为验证上述Fluc mRNA/LNP制剂的递送效果,向6-8周龄雌性Balb/c小鼠通过尾静脉给药的方式注射包封了150 μ g/kg Fluc mRNA的YX27 LNP或者通过肌肉给药的方式在小鼠后腿注射包封了250 μ g/kg Fluc mRNA的YX27 LNP, 6小时后通过腹腔给药的方式注射200微升D-Luciferin(质量分数30%), 并利用PerkinElmer IVIS Lumina III小动物活体光学成像系统检测全身以及肝脏、肌肉给药部位等的荧光素酶表达情况及强度。为研究脂质化合物疏水链长度对mRNA递送效率的影响,分别使用脂质化合物YX9、YX8、YX17、YX31按照YX27实验操作制备了包封Fluc mRNA的LNP样品,并研究其在小鼠体内表达Luciferase的效率。研究发现,疏水碳链尾部结构含碳数目为4和6的脂质化合物递送mRNA的效率明显优于其他脂质分子。
- [0114] 使用不同脂质化合物递送Fluc mRNA后体内Luciferase活体成像发光强度结果如下表和图1和2所示:

Lipid 编号	平均强度	标准偏差	平均强度	标准偏差
	尾静脉给药/肝脏发光强度		肌肉给药/肌肉发光强度	
YX9	2.04E+09	7.83E+08	7.85E+07	3.79E+07
YX8	4.04E+09	2.42E+09	8.42E+07	2.93E+06
YX17	3.91E+09	1.16E+09	2.20E+08	1.74E+07
YX31	1.04E+10	6.7E+08	7.70E+08	2.36E+08
YX27	1.2E+10	4.13E+09	5.93E+08	1.62E+08

- [0115] 其中单位：p/s
- [0116] 实施例4：YX27制剂剂型N/P比对mRNA递送的影响
- [0117] 为研究LNP组分中可离子化脂质与mRNA的混合比例(N/P比)对mRNA递送效率的影响，按照实施例2的操作步骤制备YX27和luciferase mRNA在N/P比为7.5和9混合样品，并通过尾静脉给药的方式研究其递送mRNA并在全身以及肝脏等部位的荧光素酶表达情况及强度(递送结果示于图3和下表中)。

Fluc mRNA 剂量	平均强度	标准偏差	平均强度	标准偏差
	N/P = 7.5		N/P = 9	
25 μg/kg	1.37E+09	6.29E+08	9.54E+08	2.49E+08
50 μg/kg	3.15E+09	1.76E+09	3.29E+09	6.17E+08
150 μg/kg	1.20E+10	4.15E+09	1.05E+10	3.69E+09

- [0118] 实施例5：比较YX27与SM102和MC3对mRNA递送的影响
- [0119] 按照实施例2的操作步骤制备阳离子脂质为SM102或MC3和luciferase mRNA在N/P比为7.5的LNP，其中Fluc mRNA给药剂量分别为25 μg/kg、50 μg/kg或150 μg/kg；然后通过尾静脉给药的方式研究所制备的LNPs递送mRNA并在全身以及肝脏等部位的荧光素酶表达情况及强度。递送结果示于图4和下表中。

Fluc mRNA 剂量	平均强度	标准偏差	平均强度	标准偏差	平均强度	标准偏差
	SM102		MC3		YX27	
25 μg/kg	1.20E+09	1.02E+08	4.28E+08	6.06E+07	1.38E+09	6.27E+08
50 μg/kg	2.02E+09	2.99E+08	8.40E+08	2.18E+08	3.16E+09	1.75E+09
150 μg/kg	5.65E+09	1.45E+09	7.16E+09	1.09E+09	1.20E+10	4.12E+09

- [0120] 其中单位：p/s
- [0121] 从上表中可知，本发明的可离子脂质YX27在每种mRNA剂量下均表现出比商用阳离子脂质SM102或MC3更优异的递送效果。
- [0122] 实施例6：mRNA递送及表达的时间依赖实验
- [0123] 为验证Fluc mRNA/LNP给药后Luciferase的表达效率与时间的关系，向6-8周龄雌性Balb/c小鼠通过尾静脉给药的方式注射包封了150 μg/kg Fluc mRNA的YX27溶液，分别在给药2h,4h,6h,18h以及24h后通过腹腔给药的方式注射200微升D-Luciferin(质量分数30%)，并利用PerkinElmer IVIS Lumina III小动物活体光学成像系统检测全身以及肝脏部位的荧光素酶表达情况及强度。递送结果示于图5以及下表中，从成像结果可知，mRNA递送后6h在体内表达达到峰值。

给药后时间	平均强度	标准偏差
2h	1.47E+09	1.32E+08
4h	3.01E+09	1.72E+09
6h	3.51E+09	1.37E+09
18h	1.03E+09	7.34E+08
24h	5.49E+08	2.07E+08

- [0124] 单位：p/s
- [0125] 实施例7不同结构的YX脂质化合物递送mRNA效率评估
- [0126] 按照实施例2的操作步骤制备可离子脂质化合物为SM102，YX27，YX28，YX29，YX33，YX31，或YX35，和luciferase mRNA在N/P比为7.5的LNP，其中Fluc mRNA给药剂量为150 μg/kg。使用不同脂质化合物递送Fluc mRNA后体内Luciferase活体成像发光强度结果如图6和下表所示，可以发现当含碳数目为4和6时，由不同胺头组成的脂质体均可高效递送mRNA，且效率接近商用可离子化脂质SM102。

Lipid 编号	平均强度	标准偏差	平均强度	标准偏差
	50 µg/kg		150 µg/kg	
SM102	2.02E+09	2.99E+08	5.65E+09	1.45E+09
YX27	3.16E+09	1.75E+09	1.20E+10	4.12E+09
YX28	1.88E+09	8.69E+08	5.29E+09	1.62E+09
YX29	1.20E+09	2.06E+08	4.24E+09	1.39E+09
YX33	8.19E+08	5.26E+08	2.97E+09	1.01E+09
YX31	1.69E+09	2.42E+08	1.02E+10	6.64E+08
YX35	1.50E+09	6.90E+08	2.83E+09	7.57E+08

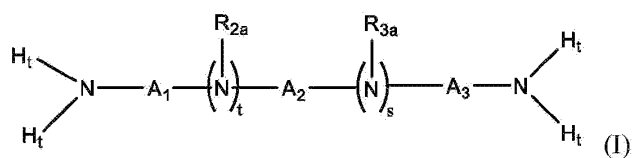
[0127] 单位：p/s

[0128] 以上所述仅为本发明较佳的具体实施方式，但本发明的保护范围并不局限于此，任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内，可轻易想到的变化或替换，都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此，本发明的保护范围应以所述权利要求的保护范围为准。

权利要求书

[权利要求 1]

式(I)的脂质体化合物,



其中

R_{2a} 和 R_{3a} 各自独立地为氢、一价脂族烃基、一价杂脂族烃基、一价芳香烃基、一价杂芳香烃基或 H_t ;

t 和 s 各自独立地为0或1, 当 t 或 s 为零时表示该部分直接为单键; 条件是 t 和 s 不同时为0;

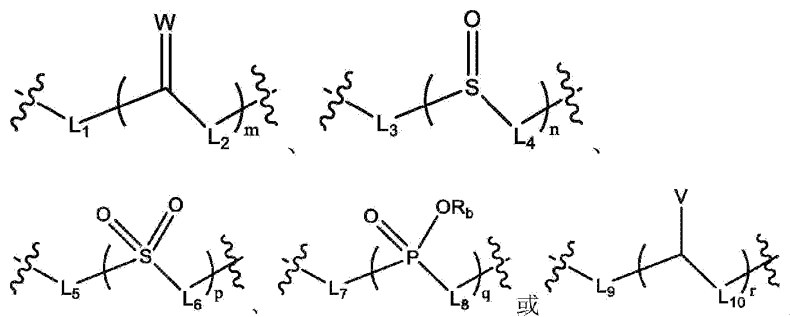
A_1 、 A_2 和 A_3 各自独立地为单键、二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基或以上两者的组合;

H_t 在每次出现时各自独立地为 $-\text{R}_1-\text{X}-\text{R}_2-\text{Y}-\text{R}_3-\text{Z}-\text{R}_4$,

其中

R_1 在每次出现时各自独立地为二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基;

X 在每次出现时各自独立地为



其中

m 、 n 、 p 、 q 和 r 各自独立地为1-6;

W 是 O 、 S 或 NR_c ;

L_1 、 L_3 、 L_5 、 L_7 和 L_9 ，其直接与 R_1 或 R_2 连接且各自独立地为单键、O、S或 NR_d ；

L_2 、 L_4 、 L_6 、 L_8 和 L_{10} 各自独立地为键、O、S或 NR_e ；

V是脂族烃基、 OR_f 、 SR_g 或 NR_hR_i ，

其中 R_b 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 、 R_g 、 R_h 和 R_i 各自独立地为氢、羟基、脂族烃基氧基、一价脂族烃基、一价杂脂族烃基、一价芳香烃基或一价杂芳香烃基；

Y和Z在每次出现时各自独立地为S或O；

R_2 在每次出现时各自独立地为单键、二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基；

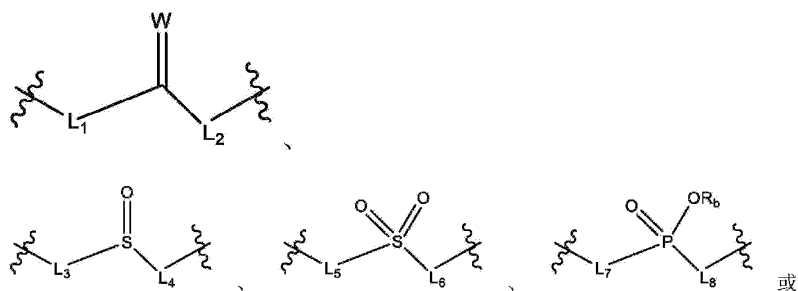
R_3 在每次出现时各自独立地为单键、二价脂族烃基、二价杂脂族烃基、二价芳香烃基或二价杂芳香烃基；

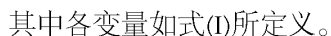
R_4 在每次出现时各自独立地为疏水基团，其选自 $-(CH_2CH_2O)_y-$ 、 C_3-C_8 烷基、 $-(CH_2CH_2O)_y-C_3-C_8$ 烯基或 $-(CH_2CH_2O)_y-C_3-C_8$ 炔基，其中y为0或1或2。

[权利要求 2] 权利要求1的脂质体化合物，其中t和s均为0；或者t为0且s为1；或者t为01且s为0。

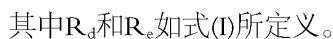
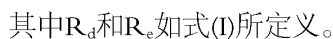
[权利要求 3] 权利要求1或2的脂质体化合物，其中 R_1 为 C_{1-6} (例如， C_{1-4})二价脂族烃基或 C_{1-6} (例如， C_{1-4})二价杂脂族烃基，优选为 C_{1-4} 二价烷基或 C_{1-4} 二价杂烷基。

[权利要求 4] 权利要求1-3任一项的脂质体化合物，其中X为

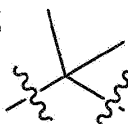
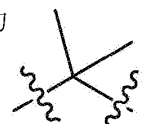




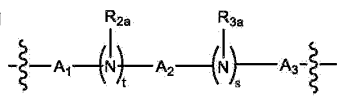
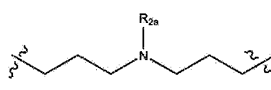
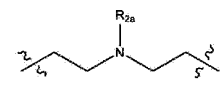
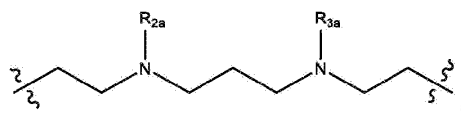
[权利要求 6] 权利要求1-3任一项的脂质体化合物，其中X为



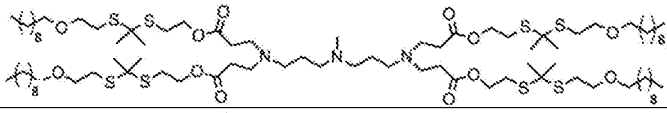
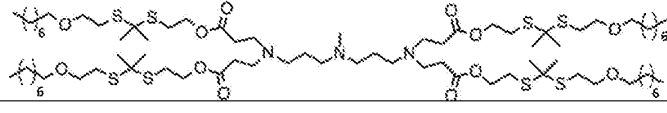
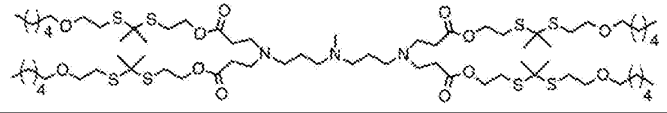
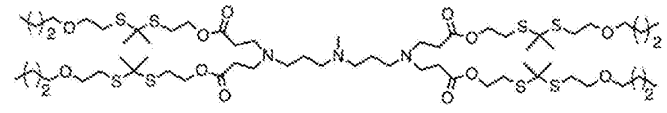
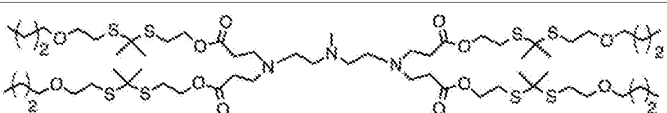
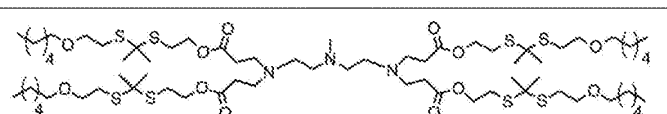
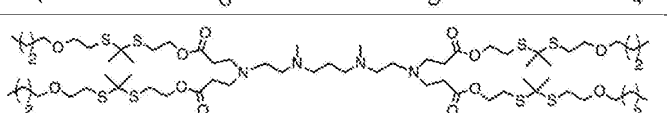
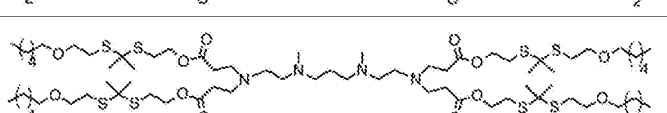
[权利要求 10] 权利要求9的脂质体化合物，其中R₂在每次出现时各自独立地为C₁₋₄二价脂族烷基，优选为C₁₋₄二价烷基，更优选为C₁₋₂二价烷基。

- [权利要求 11] 权利要求1-10中任一项的脂质体化合物，其中 R_3 在每次出现时各自独立地为单键或 C_{1-6} 二价脂族烃基(例如， C_{1-4} 二价脂族烃基，优选为 C_{1-4} 二价烷基)。
- [权利要求 12] 权利要求11的脂质体化合物，其中 R_3 在每次出现时各自独立地为单键或  或亚甲基 , 优选为 。
- [权利要求 13] 权利要求1-12中任一项的脂质体化合物，其中 R_4 在每次出现时各自独立地为 C_3-C_8 烷基、 C_3-C_8 烯基、 C_3-C_8 炔基、 $-(CH_2CH_2O)-C_3-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)-C_3-C_8$ 烯基、 $-(CH_2CH_2O)-C_3-C_8$ 炔基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_3-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_3-C_8$ 烯基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_3-C_8$ 炔基；或者 R_4 在每次出现时各自独立地为 C_4-C_8 烷基、 C_4-C_8 烯基、 C_4-C_8 炔基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烯基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 炔基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烷基、 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烯基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 炔基。
- [权利要求 14] 权利要求13的脂质体化合物，其中所述 C_4-C_8 烷基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烷基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烷基中的烷基为直链烷基；所述 C_4-C_8 烯基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 烯基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 烯基中的烯基为直链烯基；所述 C_4-C_8 炔基、 $-(CH_2CH_2O)-C_4-C_8$ 炔基或 $-(CH_2CH_2O)_2-C_4-C_8$ 炔基中的炔基为直链炔基。
- [权利要求 15] 权利要求13的脂质体化合物，其中 R_4 在每次出现时各自独立地为 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_3CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_3CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_4CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_4CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_5CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_5CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_6CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_6CH_3$ 、 $-(CH_2CH_2O)-(CH_2)_7CH_3$ 或 $-(CH_2CH_2O)_2-(CH_2)_7CH_3$ 。

R_{2a}和R_{3a}各自独立地为氢或一价脂族烃基，或为氢或C₁-C₆烷基或甲基。

[权利要求 20] 权利要求1的脂质体化合物，其中  为  ,  , 或  , 其中R_{2a}和R_{3a}各自独立地为氢或一价脂族烃基，或为氢或C₁-C₆烷基。

[权利要求 21] 权利要求1的脂质体化合物，其中所述式(I)的脂质体为

YX8	
YX17	
YX31	
YX27	
YX28	
YX35	
YX29	
YX33	

- [权利要求 22] 一种药物组合物，所述药物组合物包括药用载体以及脂质纳米粒子，其中脂质纳米粒子包括权利要求1-21中任一项的脂质体化合物和药物活性分子。
- [权利要求 23] 一种包括向细胞递送核酸的调节基因表达的方法，所述方法包括：在足以造成所述核酸被摄入所述细胞中的条件下，使所述细胞与权利要求22的药物组合物接触。