

氨基脂质、脂质纳米颗粒及其应用

技术领域

本发明涉及生物化学技术领域，尤其涉及一种氨基脂质、脂质纳米颗粒及其应用。

背景技术

5 脂质纳米颗粒（LNP）是一种新型的核酸生物分子递送技术，LNP 通常由四种成分组成：（1）可离子化脂质，可与 mRNA 自组装成病毒大小的颗粒，并可将 mRNA 从内涵体释放到细胞质；（2）聚合物结合的脂质，可提高 LNP 在血液中半衰期；（3）类固醇，可增加纳米颗粒稳定性；（4）中性磷脂，有助于脂质双层结构的形成。

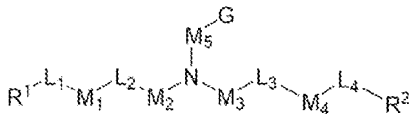
10 LNP 既可以保护 mRNA 不被 RNA 酶分解，又可保护 mRNA 分子不被 TLRs 识别，避免先天免疫系统的过度激活的作用。其中可离子化脂质的选择对 LNP 的影响最大，可离子化脂质既起到促进细胞摄取，也可帮助药物分子从内涵体逃逸，同时又影响核酸药物的包封率、核酸药物在体内的递送效率以及细胞毒性等。

15 目前，已有 Moderna 和 BioNtech&辉瑞针对 COVID-19 新冠病毒的疫苗，这两种疫苗均是采用 LNP 技术递送 mRNA 药物，从而实现了对 COVID-19 新冠病毒的预防，展现了 LNP 在 mRNA 药物与疫苗领域的巨大应用潜力，但目前 LNP 仍然具有包封率不高、内涵体逃逸率低、表达水平低、安全性不高等缺点，LNP 递送系统的发展方向主要集中在可离子化脂质和配方上。

鉴于此，开发新型可离子化脂质化合物对核酸药物的发展具有重要的意义。

发明内容

20 第一方面，本发明提供一种氨基脂质，具有通式（I）所示的结构，或其异构体、药理学上可接受的盐、前药或溶剂合物：



25 其中，G 选自 H、OR、CN、-C(=O)OR'、-OC(=O)R'、-C(=O)NR'R''、-NR'C(=O)R''、NR'R''或至少含有一个杂原子的环状烷基结构；所述环状烷基结构中可被取代的碳原子或杂原子未被取代或被一个或多个羟基、C₁-C₄ 烷基、C₂-C₄ 烯基、C₃-C₈ 环烷基或 C₃-C₈ 环烯基取代；

M₁、M₂、M₃、M₄ 彼此相同或不同，并且各自独立地选自 C₁-C₂₄ 亚烷基、C₃-C₂₄ 亚环烷基、C₂-C₂₄ 亚烯基或 C₃-C₂₄ 亚环烯基；

R^1 、 R^2 彼此相同或不同，并且各自独立地选自 H、 C_1 - C_{24} 烷基、 C_3 - C_{24} 环烷基、 C_2 - C_{24} 烯基或 C_3 - C_{24} 环烯基；

L_1 、 L_2 、 L_3 、 L_4 彼此相同或不同，并且独立地选自 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 、 $-NRC(=O)-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-OS(=O)_2-$ 、 $-S(=O)_2O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-S-S-$ ；

5 R 、 R' 、 R'' 彼此相同或不同，并且各自独立地选自 H、 C_1 - C_{10} 烷基、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_3 - C_{10} 烯基或 C_3 - C_{10} 环烯基、末端连接叔胺基的 C_1 - C_{10} 烷基、末端连接叔胺基的 C_3 - C_{10} 环烷基、末端连接叔胺基的 C_3 - C_{10} 烯基、或至少含有一个杂原子的环状烷基，所述环状烷基未被取代或被一个或多个 C_1 - C_4 烷基、 C_2 - C_4 烯基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_8 环烯基取代；

M_5 独立地选自单键、 C_1 - C_{16} 亚烷基、 C_2 - C_{16} 亚烯基、 C_3 - C_8 亚环烷基或 C_3 - C_8 亚环烯基；

10 第二方面，本发明提供上述氨基脂质的制备方法。主要分三步反应合成：第一步反应为开环反应；第二步为缩合反应；第三步为取代反应。

在本发明的一些实施方式中，所述氨基脂质的制备方法包括以下步骤：

S1：环氧化合物和羧酸发生开环反应，制备中间体 1 $R^1-L_1-M_1-OH$ ；

15 S2：中间体 1 和羧酸化合物原料在缩合剂下发生缩合反应，制备中间体 2 $R^1-L_1-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；

S3：中间体 2 和氨基化合物原料发生一次或多次取代反应，制备目标产物；

或包括以下步骤：

S1'：二醇经 TBS 保护后，发生氧化反应，氧化产物与格氏试剂发生加成反应，制备中间体 1' $HO-M_1-OTBS$ ；

20 S2'：中间体 1'和羧酸化合物在缩合剂下发生缩合反应，制备中间体 2' $TBSO-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；

S3'：中间体 2' $TBSO-M_1-L_2-M_2$ -离去基团脱去 TBS 保护，并与羧酸化合物在缩合剂下发生缩合反应，生成中间体 2 $R^1-L_1-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；

S4'：中间体 2 和氨基化合物原料发生一次或多次取代反应，制备目标产物。

25 第三方面，本发明提供一种脂质纳米颗粒，包括上述任一氨基脂质。

根据本发明提供的脂质纳米颗粒，所述脂质纳米颗粒还包括类固醇、中性脂质和/或聚合物结合的脂质；

所述聚合物结合的脂质其化学式为 $P-Y-L$ ，其中 P 是亲水性聚合物部分， Y 是任意的连接物， L 是脂质部分。

30 第四方面，本发明提供一种药物组合物，包括上述脂质纳米颗粒和药学上可接受的载体。

第五方面，本发明还提供利用上述氨基脂质或脂质纳米颗粒或药物组合物治疗或预防传染病、癌症、遗传疾病、过敏、毒性、自身免疫性疾病的方法。

本发明还提供利用上述氨基脂质或脂质纳米颗粒或药物组合物进行基因治疗、基因疫苗接种、反义治疗、核酸转移或通过干扰 RNA 的治疗的方法。

本发明还提供上述氨基脂质或脂质纳米颗粒在制备用于治疗或预防传染病、癌症、遗传疾病、过敏、毒性、自身免疫性疾病药物中的应用。

5 本发明还提供上述氨基脂质或脂质纳米颗粒在用于基因治疗、基因疫苗接种、反义治疗、核酸转移或通过干扰 RNA 的治疗的药物中的应用。

第六方面，本发明还提供一种向受试者递送药剂的方法，包括：向受试者施用配制在上述脂质纳米颗粒中的药剂。

10 本发明的氨基脂质与类固醇、中性脂质和聚合物结合的脂质通过自组装得到 LNP，该 LNP 能进一步提高负载物-核酸在细胞内的翻译表达水平，提高核酸-LNP 制剂的作用，给予个性化核酸-LNP 制剂理论治疗提供了基础。

附图说明

图 1 是实施例 2 中 E12LA6B6O3 的 ¹H-NMR 图谱；

图 2 是实施例 39 中肌肉注射 OVA mRNA 疫苗后的荷瘤小鼠的肿瘤大小监测曲线；

15 图 3 是实施例 39 中肌肉注射 OVA mRNA 疫苗后的荷瘤小鼠的生存曲线图。

具体实施方式

定义

20 为了清晰易读，提供了以下科学背景信息和定义。本文提及或由此公开的任何技术特征可以是本发明的每个实施方式的一部分，也可以在本发明每个实施方式上读取。在本发明的上下文中可提供其他定义和解释。

除非另有定义，或除非特定上下文另有要求，本文中使用的所有技术术语的含义与相关技术领域的技术人员通常理解的含义相同。

除非上下文另有指示或要求，词语 包括 、 包含 和 含有 以及类似表达应以开放包容性意义在本说明书和权利要求书中解释为 包括但不限于 。

25 表述 一个实施方式 、 实施方式 、 一个特定实施方式 等意味着在本发明的至少一个实施方式中存在特定的特点、性质或特征，或如与相应表述结合所述的特点、性质或特征的特定组或组合。在整个描述中不同地方出现的这些表述不一定指同一实施方式。此外，可以在一个或多个实施方式中以任何合适的方式组合特定特点、性质或特征。

30 除非上下文另有明确规定，单数形式 一 、 一个 和 所述 应理解为包括复数含义。

当表述 中性 应用于化合物如脂质或类固醇、或基团或部分时，表示它既不是阳

离子也不是阴离子，例如在生理条件下不具有可电离官能团的化合物，例如烃；或者表示它在典型的生理条件下既是阳离子的又是阴离子的，即两性离子，如典型的天然磷脂酰胆碱。

如本文中所用，脂质是指一组有机化合物，其是脂肪酸的衍生物（如酯），通常以不溶于水但溶于许多有机溶剂为特征。脂质通常分为至少三类：（1）简单脂质，包括脂肪、油和蜡；（2）复合脂质，包括磷脂和糖脂；和（3）衍生脂质，如类固醇。关于糖脂，在某些实施方式中，LNP 包含糖脂（例如单唾液酸神经节苷脂 GM1）。

在上下文中，前缀聚指化合物中具有各自性质的多个原子或基团。然而，前缀的缺失不应被解释为排除复数。例如，聚阳离子化合物也是阳离子化合物，并且可被称为阳离子化合物。

术语核酸是指包含 DNA 或 RNA 或由其组成的任何化合物。该术语可用于寡核苷酸或寡核苷酸。

免疫系统：免疫系统可以保护生物体免受感染。如果病原体突破生物体的物理屏障并进入该生物体，则先天性免疫系统会提供即时但非特异性的应答。如果病原体逃避这种先天应答，脊椎动物则拥有第二层保护，即适应性免疫系统。此处，免疫系统在感染期间调整其应答，以改进其对病原体的识别能力。然后，这种改进的应答在病原体被消灭后以免疫记忆的形式保留下来，并允许适应性免疫系统在每次遇到这种病原体时开展更快、更强的攻击。据此，免疫系统包括先天性免疫系统和适应性免疫系统。这两部分中的每一部分都包含所谓的体液和细胞成分。

适应性免疫系统：适应性免疫系统由高度特化的系统性细胞和过程组成，可消除或防止致病性生长。适应性免疫应答为脊椎动物免疫系统提供识别和记忆特定病原体的能力（产生免疫），并在每次遇到病原体时开展更强的攻击。由于体细胞超变（体细胞突变频率增加的过程）和 V(D)J 重组（抗原受体基因片段的不可逆基因重组），该系统具有高度适应性。这种机制允许少量基因产生大量不同的抗原受体，然后在每个单独的淋巴细胞上唯一表达。由于基因重排导致每个细胞的 DNA 发生不可逆转的变化，因此该细胞的所有子代（后代）于是将继承编码相同受体特异性的基因，包括记忆 B 细胞和记忆 T 细胞，它们是长寿命特异性免疫的关键。免疫网络理论是一种关于适应性免疫系统如何工作的理论，它基于 T 细胞、B 细胞以及由 T 细胞和 B 细胞产生的具有可变区的分子的受体的可变区之间的相互作用。

术语疫苗通常被理解为提供至少一种抗原或抗原功能的预防性或治疗性材料。抗原或抗原功能可刺激身体的适应性免疫系统，以提供适应性免疫应答。

术语抗原通常指可被免疫系统识别的物质，优选由适应性免疫系统识别，并且能

够触发抗原特异性免疫应答,例如通过形成抗体和/或抗原特异性 T 细胞作为适应性免疫应答的一部分。

术语 人工 mRNA (序列) 通常可以理解为并非天然存在的 mRNA 分子。换言之,人工 mRNA 分子可以理解为非天然 mRNA 分子。这种 mRNA 分子可能是非天然的,由于
5 它的单个序列(不是天然存在的)和/或由于其他修饰,例如非天然存在的核苷酸的结构修饰。通常,可以通过基因工程方法设计和/或生成人工 mRNA 分子,以对应于所需的人工核苷酸序列(异源序列)。在上下文中,人工序列通常是非天然存在的序列,即它与野生型序列至少有一个核苷酸不同。术语 野生型 可以理解为自然界中存在的序列。

术语 药学上可接受的盐 指一种化合物的存在形式,该形式不会引起对给药有机体的
10 重要的刺激,且不会使化合物的生物活性和性质消失。

本发明所述化合物可能存在多种结晶型,即化合物的相同元素组成的不同晶格排列。多晶型通常有不同的X-射线衍射光谱、红外光谱、熔点、密度、硬度、晶型、光和电的性质、稳定性和溶解性。不同的因素如重结晶溶剂,结晶速率和贮存温度可能得到以单一晶型为主导的重结晶产物。可以理解的是,本发明所述的氨基脂质包括所有这种晶型。

15 本发明所述化合物可能存在手性中心和/或轴手性,并因此以消旋体、外消旋混合物、单一对映体、非对映异构体化合物和单一非对映体的形式、和顺反异构体的形式出现。每个手性中心或轴手性将独立地产生两个旋光异构体,并且所有可能的旋光异构体和非对映体混合物以及纯或部分纯的化合物包括在本发明的范围之内。本发明所限定的 各异构体包括所述化合物的所有这种异构形式。

20 本发明所述的化合物还可能多种水合物或溶剂合物,溶剂合物含有化学计量或非化学计量的溶剂,且是在与药学上可接受溶剂如水或者乙醇等其他溶剂,结晶化过程中选择性形成的。当溶剂是水时形成水合物,或当溶剂是乙醇等其他溶剂时形成溶剂合物。

术语 前药 也称前体药物、药物前体、前驱药物等,是指药物经过化学结构修饰后得到的在体外无活性或活性较小、在体内经酶或非酶的转化释放出活性药物而发挥药效的
25 化合物。前药有两大类:一类是载体前体药物,简称载体前药;另一类是生物前体药物。载体前体药物是指具有活性的化合物与其运输作用的载体通过共价键结合,在体内通过简单的水解作用卸掉载体,由活性化合物发挥药理作用。载体前体药物与母体化合物相比往往活性微弱或无活性。对于载体的结构,多是亲脂性,要求对生物体无害,且能及时释放活性化合物。生物前体药物不同于载体前体药物,活性物质不用与载体暂时性结合,而是
30 通过自身分子结构的改变来发挥作用。生物前体药物本身没有活性,有活性的是其在生物体内的代谢物。

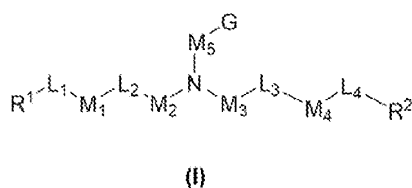
本发明经过研究意外发现,本发明提供的新型氨基脂质和/或脂质纳米颗粒的使用,可

以有效解决现有技术存在的LNP具有包封率不高、内涵体逃逸率低、表达水平低、安全性不高等缺点，从而促进LNP在mRNA药物与疫苗领域的发展。

氨基脂质

氨基脂质优选可阳离子化，即当pH值降低到脂质可电离基团的pKa以下时，氨基脂质会质子化，当带正电荷时，脂质便能与带负电荷的核酸结合。

在一个方面，本发明提供一种氨基脂质，具有通式(I)所示的结构，或其异构体、药学上可接受的盐、前药或溶剂合物：



其中，G选自H、OR、CN、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}'$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{NR}'\text{C}(=\text{O})\text{R}''$ 、 $\text{NR}'\text{R}''$ 或至少含有一个杂原子（优选地，所述杂原子为N或O，优选为1或2个选自N或O的杂原子）的环状烷基结构（优选为3-10元环烷基，更优选为4-6元环烷基）；所述环状烷基结构中可被取代的碳原子或杂原子未被取代或被一个或多个 C_1 - C_4 烷基、 C_2 - C_4 烯基、 C_3 - C_8 环烷基或 C_3 - C_8 环烯基取代；

M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 彼此相同或不同，并且各自独立地选自 C_1 - C_{24} 亚烷基、 C_3 - C_{24} 亚环烷基、 C_2 - C_{24} 亚烯基或 C_3 - C_{24} 亚环烯基；

R^1 、 R^2 彼此相同或不同，并且各自独立地选自H、 C_1 - C_{24} 烷基、 C_3 - C_{24} 环烷基、 C_2 - C_{24} 烯基或 C_3 - C_{24} 环烯基；

L_1 、 L_2 、 L_3 、 L_4 彼此相同或不同，并且独立地选自 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{S}-$ 、 $-\text{SC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 、 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OS}(=\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{O}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 或 $-\text{S}-\text{S}-$ ；

R 、 R' 、 R'' 彼此相同或不同，并且各自独立地选自H、 C_1 - C_{10} 烷基（优选为 C_1 - C_6 烷基，更优选为 C_1 - C_4 烷基）、 C_3 - C_{10} 环烷基、 C_3 - C_{10} 烯基、 C_3 - C_{10} 环烯基、末端连接叔胺基的 C_1 - C_{10} 烷基、末端连接叔胺基的 C_3 - C_{10} 环烷基、末端连接叔胺基的 C_3 - C_{10} 烯基、或至少含有一个杂原子的环状烷基，所述环状烷基未被取代或被一个或多个 C_1 - C_4 烷基、 C_2 - C_4 烯基、 C_3 - C_8 环烷基、 C_3 - C_8 环烯基取代；优选地为末端连接有 $-\text{N}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2$ 的 C_1 - C_{10} 烷基或末端连接有含有1-2个环氮原子的3-8元环状烷基（优选地为4-6元环状烷基）的 C_1 - C_{10} 烷基，所述 C_3 - C_{10} 环烷基和3-8元环状烷基（优选地为4-6元环状烷基）任选地被 C_1 - C_6 烷基取代。

M_5 选自单键、 C_1 - C_{16} 亚烷基、 C_2 - C_{16} 亚烯基、 C_3 - C_8 亚环烷基或 C_3 - C_8 亚环烯基。

需要说明的是,若未明确不允许,本发明提及的含多个碳原子的烷基、烯基、亚烷基、亚烯基可以为直链,也可以为支链。另外,本发明提及的烷基、烯基、亚烷基、亚烯基,以及环烷基、环烯基、亚环烷基、亚环烯基,可以为未取代的或取代的,取代基可以是任何合适的取代基,即任何直链或支链烷基、芳基、杂烷基、杂芳香结构,其可以任选地包含其他官能团,例如酯基或酰胺基。

在一些优选实施方式中,G选自H、OR、NR'R"或至少含有一个杂原子的环状烷基结构;其中杂原子为O或N;其中R、R'、R"彼此相同或不同,并且各自独立地选自H、C₁-C₈烷基、C₃-C₈环烷基、C₃-C₈烯基或C₃-C₈环烯基。

在进一步优选的实施方式中,G选自H、OH或NR'R"、其中R'、R"彼此相同或不同,并且各自独立地选自H或C₁-C₄烷基;即NR'R"可以为NH₂、NHCH₃、NHC₂H₅、NHC₃H₇、NHC₄H₉、N(CH₃)₂、CH₃-N-C₂H₅、CH₃-N-C₃H₇、CH₃-N-C₄H₉、C₂H₅-N-C₂H₅、C₂H₅-N-C₃H₇、C₂H₅-N-C₄H₉、C₃H₇-N-C₃H₇、C₃H₇-N-C₄H₉或C₄H₉-N-C₄H₉。

或者,G选自取代或未被取代的氧杂五元环烷基、氮杂五元环烷基、氮杂六元环烷基、双氮杂六元环烷基或氮杂氧杂六元环烷基。优选地,氧杂五元环烷基为,氮杂五元环烷基为,氮杂六元环烷基为,双氮杂六元环烷基为,氮杂氧杂六元环烷基为,其中*号位置与M₅相连。

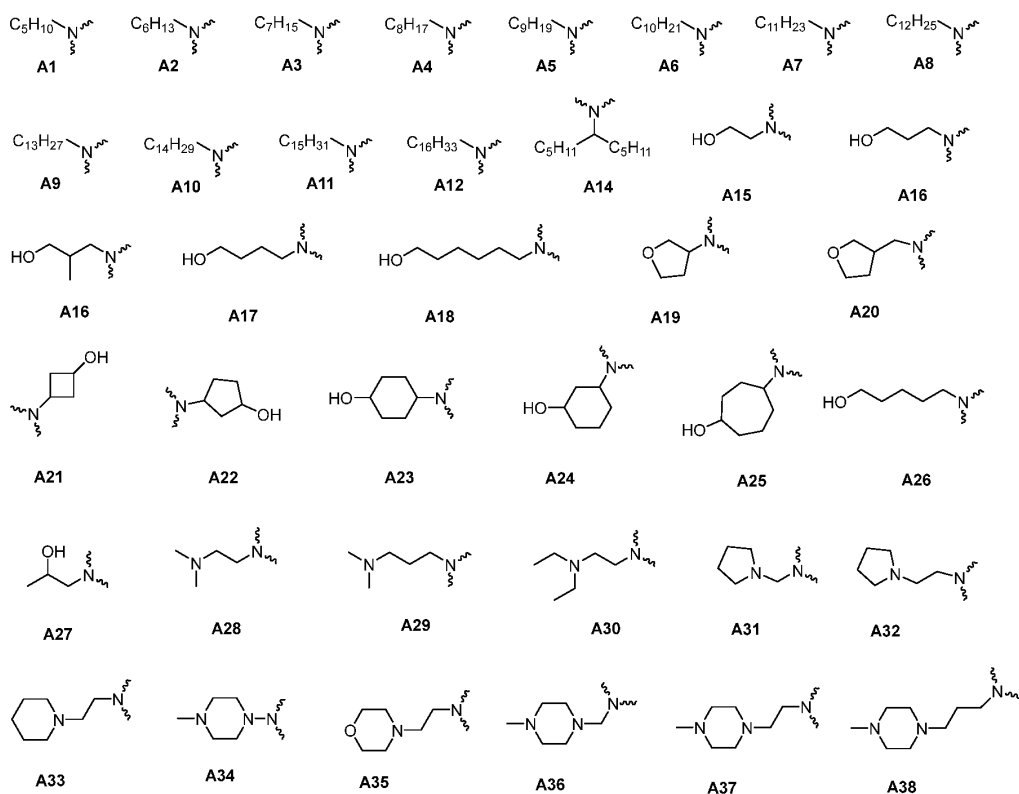
在一些实施方式中,当G为取代的双氮杂六元环烷基时,取代基位置为不与M₅相连的氮原子。

在一些优选的实施方式中,G选自H、OR、CN、-C(=O)OR'、-OC(=O)R'、-C(=O)NR'R"、-NR'C(=O)R"、NR'R"或含有1或2个环N原子的环状烷基结构(优选为3-10元环烷基,更优选为4-6元环烷基);所述环状烷基结构中可被取代的碳原子或杂原子未被取代或被一个或多个C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₃-C₈环烷基或C₃-C₈环烯基取代。R、R'、R"彼此相同或不同,并且各自独立地选自H、C₁-C₆烷基、C₃-C₁₀环烷基、末端连接有-N(C₁₋₆烷基)₂的C₁-C₁₀烷基或末端连接有含有1-2个环氮原子的4-6元环状烷基的C₁-C₁₀烷基,所述C₃-C₁₀环烷基和4-6元环状烷基任选地被C₁-C₆烷基取代。

在一些实施方式中,M₅选自单键、C₂-C₁₆亚烷基、C₂-C₁₆亚烯基、C₄-C₈亚环烷基或C₃-C₈亚环烯基。

进一步优选地,M₅选自单键、C₂-C₁₆亚烷基或C₄-C₆亚环烷基。更优选地,M₅选自单键、C₂-C₆亚烷基或C₄-C₆亚环烷基;或选自C₃-C₅亚烷基。

在优选的实施方式中，通式(I)中， M_5 和G相连形成  选自A1~A38中的一种：

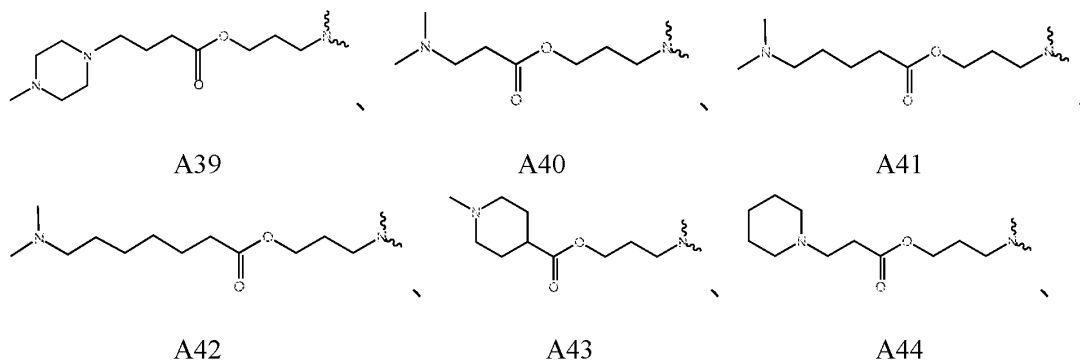


进一步优选地，所述  选自A1-A18、A22-A24、A28-A38中的一种。

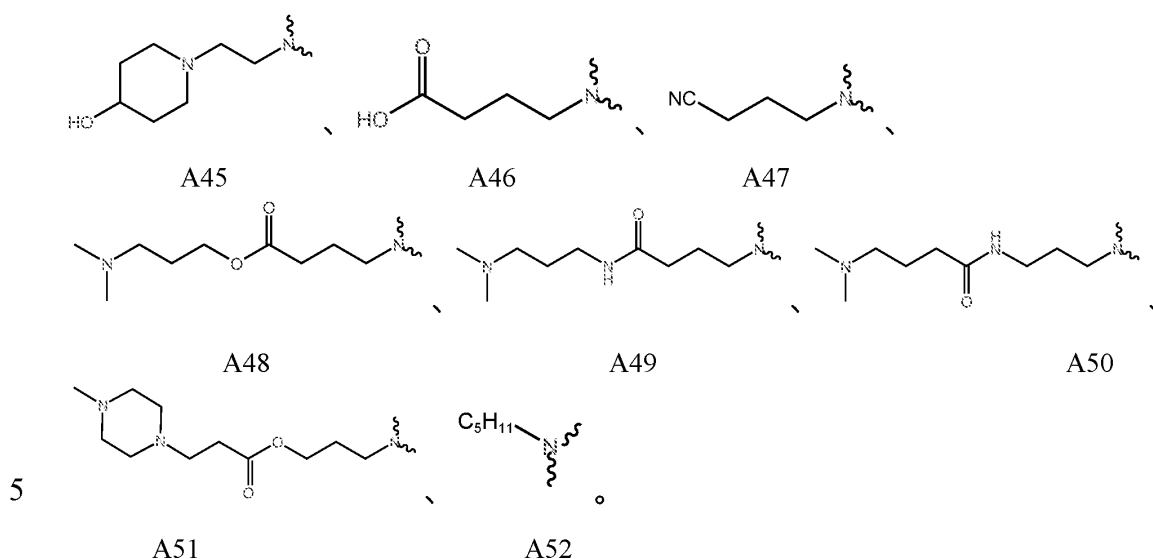
更优选地，所述  选自A15、A16、A17、A23、A29、A30、A33、A37、A38、

5 A42中的一种。

在本发明的一些实施方式中，通式(I)中， M_5 和G相连形成的  选自A39~A52中的一种：



10



在本发明的一些实施方式中 L_1 、 L_2 、 L_3 、 L_4 彼此相同或不同 并且独立地选自 $-C(=O)O-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-C(=O)NR-$ 或 $-NRC(=O)-$ 。

其中，当 L_1 、 L_2 、 L_3 、 L_4 独立地选自 $-C(=O)NR-$ 或 $-NRC(=O)-$ 时，其中 R 独立地选自 H 或 C_1 - C_{10} 烷基。优选地，R 均为 H。

在本发明的优选实施方式中， L_1 与 L_4 相同，且为 $-C(=O)O-$ 或 $-OC(=O)-$ 。

在本发明的一些实施方式中， M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 彼此相同或不同，并且 M_1 和 M_4 各自独立地选自含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烷基、含有支链的 C_4 - C_{22} 亚环烷基、含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烯基或含有支链的 C_4 - C_{22} 亚环烯基， M_2 和 M_3 各自独立地选自 C_4 - C_{22} 亚烷基、 C_4 - C_{22} 亚环烷基、 C_4 - C_{22} 亚烯基或 C_4 - C_{22} 亚环烯基。

进一步优选地， M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 彼此相同或不同，并且 M_1 和 M_4 各自独立地选自含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烷基或含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烯基，优选为含有支链的 C_6 - C_{16} 亚烷基； M_2 和 M_3 各自独立地选自 C_4 - C_{22} 亚烷基或 C_4 - C_{22} 亚烯基，优选为 C_3 - C_8 亚烷基。

更优选地，在本发明一些实施方式中， M_2 与 M_3 相同，且为 C_4 - C_{22} 亚烷基。

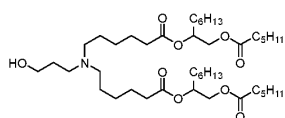
在本发明一些实施方式中， M_1 与 M_4 相同，且为含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烷基。

在本发明的一些实施方式中， R^1 、 R^2 彼此相同或不同，并且各自独立地选自 C_4 - C_{22} 烷基或 C_4 - C_{22} 烯基，优选为 C_5 - C_{12} 烷基。

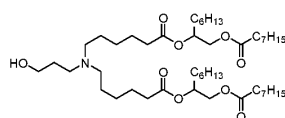
在优选的实施方式中， R^1 - L_1 - M_1 - L_2 - M_2 - 片段为 $R^1-C(=O)O-M_1-OC(=O)-M_2-$ ， R^2 - L_4 - M_4 - L_3 - M_3 - 片段 $R^2-C(=O)O-M_4-OC(=O)-M_3-$ 。进一步优选地， M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 彼此相同或不同，并且 M_1 与 M_4 各自独立地选自含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烷基或含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烯基； M_2 和 M_3 各自独立地选自 C_4 - C_{22} 亚烷基或 C_4 - C_{22} 亚烯基； R^1 、 R^2 彼此相同或不同，并且各自独立地选自 C_4 - C_{22} 烷基或 C_4 - C_{22} 烯基。

本领域人员可以依照常识对上述针对不同基团的优选实施方式进行组合，得到本发明化合物的更优实施例。

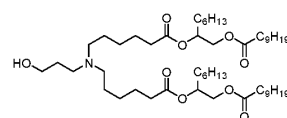
在本发明的优选实施方式中，通式（I）结构选自以下结构中的一种：



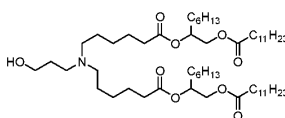
E8LA6B6O3



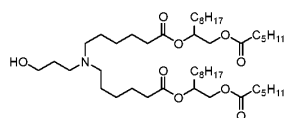
E8LA8B6O3



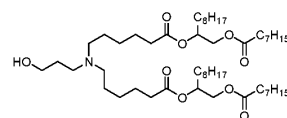
E8LA10B6O3



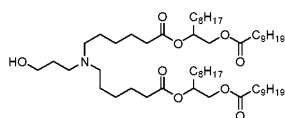
E8LA12B6O3



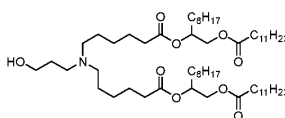
E10LA6B6O3



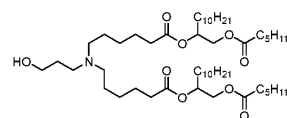
E10LA8B6O3



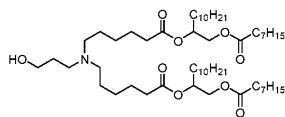
E10LA10B6O3



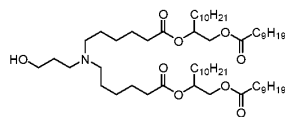
E10LA12B6O3



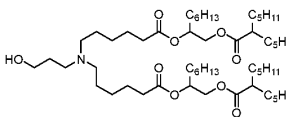
E12LA6B6O3



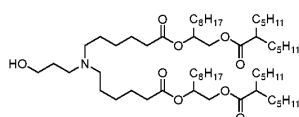
E12LA8B6O3



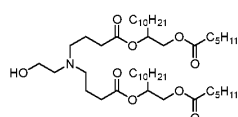
E12LA10B6O3



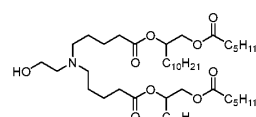
E8CA5B6O3



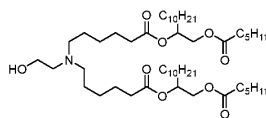
E10CA5B6O3



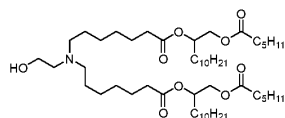
E12LA6B4O2



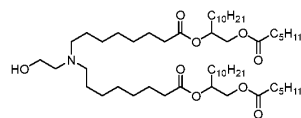
E12LA6B5O2



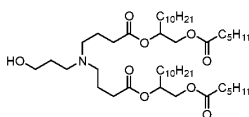
E12LA6B6O2



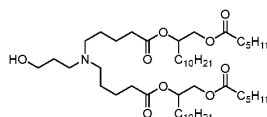
E12LA6B7O2



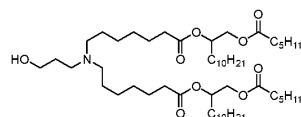
E12LA6B8O2



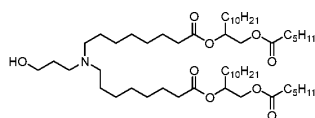
E12LA6B4O3



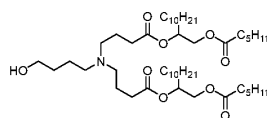
E12LA6B5O3



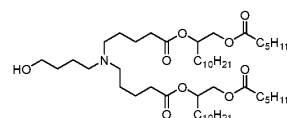
E12LA6B7O3



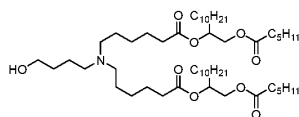
E12LA6B8O3



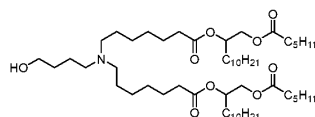
E12LA6B4O4



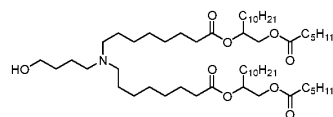
E12LA6B5O4



E12LA6B6O4

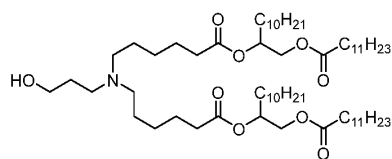


E12LA6B7O4

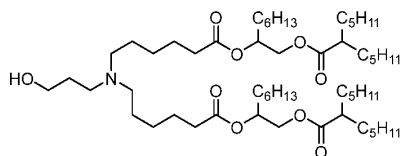


E12LA6B8O4

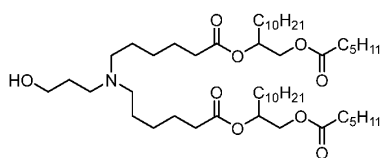
在本发明的优选实施方式中，通式 (I) 结构选自以下结构中的一种：



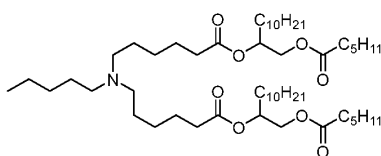
E12LA12B6O3



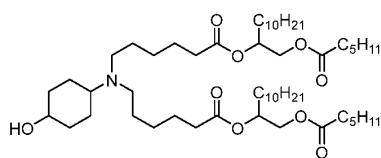
E8CA5B6O3



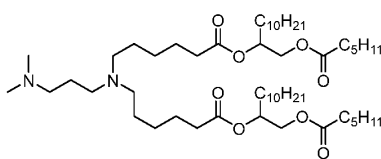
E12LA6B6O3



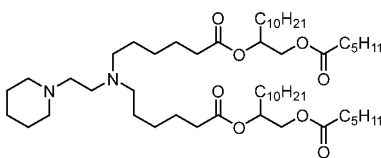
E12LA6B6O9



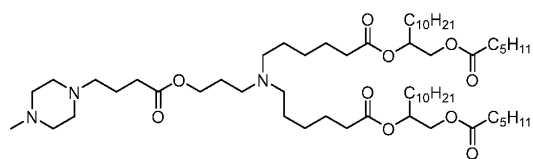
E12LA6B6O10



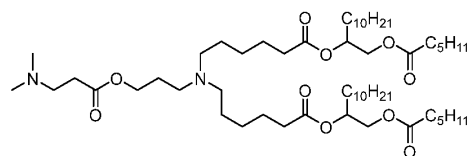
E12LA6B6O12



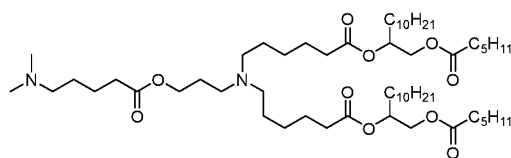
E12LA6B6O13



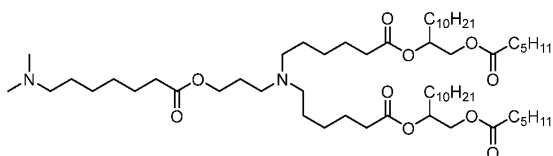
E12LA6B6O3A3



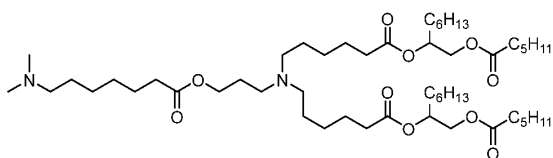
E12LA6B6O3A4



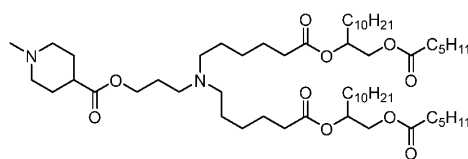
E12LA6B6O3A5



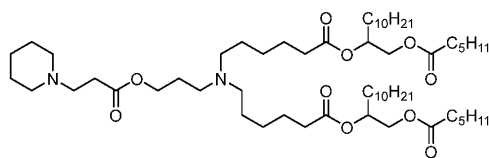
E12LA6B6O3A6



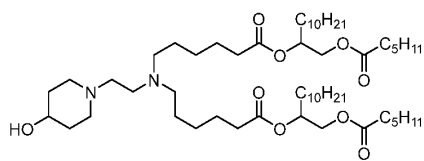
E8LA6B6O3A6



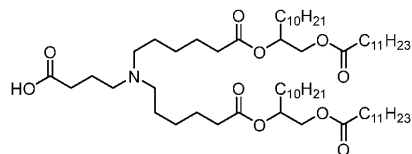
E12LA6B6O3A7



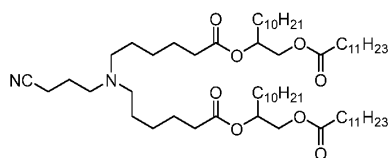
E12LA6B6O3A8



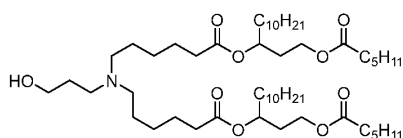
E12LA6B6O15



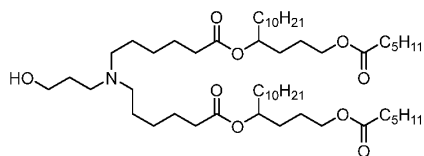
E12LA12B6O30



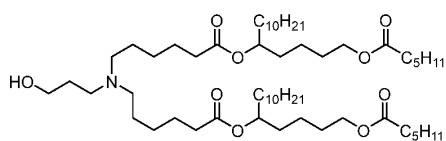
E12LA12B6O31



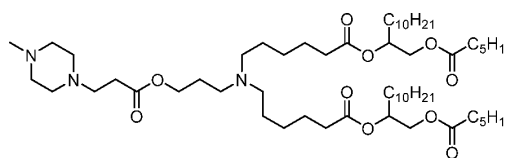
K3LA6B6O3



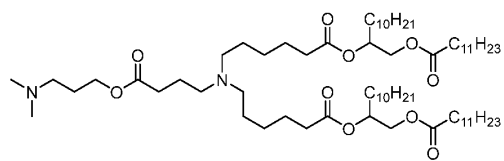
K4LA6B6O3



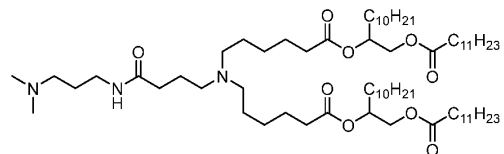
K5LA6B6O3



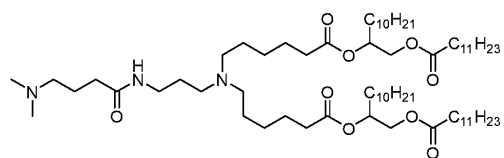
E12LA6B6O3A2



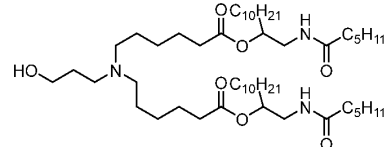
E12LA12B6O30A9



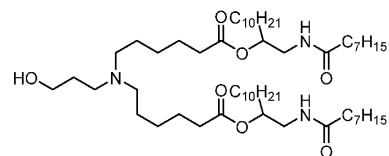
E12LA12B6O30A10



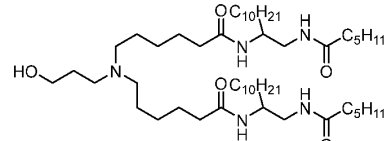
E12LA12B6O3A11



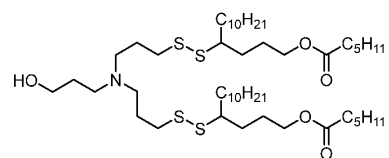
E12N1LA6B6O3



E12N1LA8B6O3



E12N2LA6B6O3



E12S1LA6B6O3

本领域人员可以依照常识对上述针对不同基团的优选实施方式进行组合，得到本发明化合物的更优实施例。

氨基脂质的制备方法

本发明提供上述氨基脂质的制备方法，包括以下步骤：

- 5 S1：环氧化合物和羧酸发生开环反应，制备中间体 1 $R^1-L_1-M_1-OH$ ；
S2：中间体 1 和羧酸化合物原料在缩合剂下发生缩合反应，制备中间体 2 $R^1-L_1-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；
S3：中间体 2 和氨基化合物原料发生一次或多次取代反应，制备目标产物；
或包括以下步骤：
- 10 S1'：二醇经 TBS 保护后，发生氧化反应，氧化产物与格氏试剂发生加成反应，制备中间体 1' $HO-M_1-OTBS$ ；
S2'：中间体 1' 和羧酸化合物在缩合剂下发生缩合反应，制备中间体 2' $TBSO-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；
S3'：中间体 2' $TBSO-M_1-L_2-M_2$ -离去基团脱去 TBS 保护，并与羧酸化合物在缩合剂下
15 发生缩合反应，生成中间体 2 $R^1-L_1-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；
S4'：中间体 2 和氨基化合物原料发生一次或多次取代反应，制备目标产物。
优选地，步骤 S2' 中的羧酸为 $H-L_2-M_2$ -离去基团。
优选地，步骤 S3' 中的羧酸为 R^1-L_1-H 。
优选地，所述离去基团为卤素。
- 20 优选地，制备的各中间体和目标产物均经过柱层析纯化。
在一些实施方式中，所述制备方法包括以下步骤：
开环反应：将羧酸化合物 (1.0 eq)、环氧化合物原料 (0.6~3.0 eq)、三氯化铁 (0.5~10 mol%)、吡啶 (0.2~20 mol%) 混合后，置于室温下搅拌过夜，反应结束后，经柱层析纯化得到中间体 1，收率 56%~99.0%。
- 25 缩合反应：依次将中间体 1 (1.0 eq)、含卤羧酸 (0.6~3.0 eq)、EDCI-HCl (1.0~6.0 eq)、DMAP (0.05~0.5 eq)、DIPEA (1.0~8.0 eq)、DCM 混合后，置于室温搅拌过夜，经柱层析纯化得到中间体 2，收率 46.0%~96.4%。
取代反应：依次将 中间体 2 (1.0~5.0 eq)、碳酸钾 (1.0~5.0 eq)、氨基化合物 (1.0 eq)、碘化钠 (1.0~3.0 eq) 和乙腈混合后，置于 20~100 °C 条件下搅拌过夜，经柱层析纯化得到
30 氨基脂质，收率 32.0%~92.1%。
在一些实施方式中，所述制备方法包括以下步骤：
加成反应：二醇经 TBS 保护后，与 PCC 发生氧化反应，氧化产物 0.9~1.2eq、在无水四氢呋喃中于 -20 °C 下搅拌 2~20 分钟，加入格氏试剂 1.2~1.5eq，在 -20 °C 至 0 °C 搅拌 1~6 小

时，经柱层析纯化得到中间体 1；

缩合反应 1：依次将中间体 1' (1.0 eq)、含卤羧酸(0.6~3.0 eq)、EDCI-HCl (1.0~6.0 eq)、DMAP (0.05~0.5 eq)、DIPEA (1.0~8.0 eq)、DCM 混合后，置于室温搅拌过夜，经柱层析纯化得到中间体 2 ；

5 缩合反应 2：将中间体 2' (1.0 eq)用氯化铵 (5.0~20.0 eq) 脱去 TBS 保护，并且与羧酸 (0.6~3.0 eq)、EDCI-HCl (1.0~6.0 eq)、DMAP (0.05~0.5 eq)、DIPEA (1.0~8.0 eq)、DCM 混合后，置于室温搅拌过夜，经柱层析纯化得到中间体 2；

取代反应：依次将中间体 2 (1.0-5.0 eq)、碳酸钾(1.0~5.0 eq)、氨基化合物 (1.0 eq)、碘化钠 (1.0-3.0 eq) 和乙腈混合后，置于 20~100 °C 条件下搅拌过夜，经柱层析纯化得到
10 氨基脂质。

脂质纳米颗粒

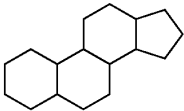
本发明提供一种脂质纳米颗粒，包括上述任一氨基脂质。

可以理解的是，上述氨基脂质的所有选择和优选项本身也适用于本发明的包含氨基脂
15 质的脂质纳米颗粒。

在本发明的一些实施方式中，所述脂质纳米颗粒还包括类固醇、中性脂质和/或聚合物结合的脂质。

类固醇

类固醇 是一种有机化合物，其具有以特定分子构型排列的四个环。它包含以下碳
20 骨架：



类固醇和中性类固醇包括天然存在的类固醇及其类似物(如两亲性脂质胆固醇半琥珀酸酯(CHEMS)，组成为琥珀酸酯化到胆固醇的 -羟基基团作为胆固醇衍生物)。中性类固醇可以是在生理条件下不具有可电离的原子或基团的类固醇，或者可以是两性离子类固醇。在一个优选实施方式中，中性类固醇不含在生理条件下可电离的原子或基团。在一些
25 优选的实施方式中，类固醇或类固醇类似物是胆固醇。术语 类固醇 和 中性类固醇 在本文中可交换使用。

中性脂质

本发明的 中性脂质 ，也称为 辅助脂质 ，优选为磷脂或中性磷脂。如本文中所用，
30 中性磷脂 是一种两亲性化合物，由通常具有两个疏水性脂肪酸 尾 和包含磷酸盐基团的亲水性 头 的分子组成。磷酸盐基团可以用简单的有机分子如胆碱、乙醇胺或

丝氨酸修饰。磷脂在自然界中大量存在。本发明中 磷脂 或 中性磷脂 既包括天然磷脂，也包括合成磷脂。

聚合物结合的脂质

术语 聚合物结合的脂质 指同时包含脂质部分和聚合物部分的分子。优选地，聚合物结合的脂质是聚乙二醇化脂质或 PEG-脂质。术语“聚乙二醇化脂质 或“PEG-脂质是指同时包含脂质部分和聚乙二醇部分的分子。聚乙二醇化脂质是本领域已知的并且包括 PEG-DMG 等。

在具体的实施方式中，所述聚合物结合的脂质其化学式为 P-Y-L，其中 P 是亲水性聚合物部分，Y 是任意的连接物，L 是脂质部分。

具体地，亲水性聚合物部分 P 可以是聚乙二醇 PEG。在具体的实施方式中，PEG 部分的平均分子质量在 1kDa 和 3kDa 之间，例如在 1.5kDa 至 2.5kDa 之间、1.7kDa 至 2.3kDa 之间、1.8kDa 至 2.2kDa 之间、1.9kDa 至 2.1kDa 之间或 2kDa。因此，PEG 可以是通常被称为“PEG 2000”的 PEG。

在另一个实施方式中，聚合物结合的脂质中的亲水性聚合物部分 P 也可以是与上述亲水性聚合物部分不同的实质上亲水性聚合物，即，聚合物结合的脂质中的亲水性聚合物部分 P 可基于聚(环氧丙烷)、聚(乙烯吡咯烷酮)、聚(乙烯醇)、聚-N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺、羟乙基淀粉化(HESylation)过程(根据 PMID 24681396)、PAS 化(PASylation)法(即脯氨酸-丙氨酸-丝氨酸)、本领域已知的 XTEN 法(即基于 PEG 的肽)、聚肌氨酸(polysarcosine)或聚(乙酸乙烯酯)。

具体地，任意的连接物 Y 可以是任何有用的间隔基结构，例如选自那些通常在聚乙二醇化脂质中发现有用的间隔基，例如，但不限于琥珀酰亚胺、胺、醚、酯、酸酐、醛、酮、酰胺、氨基甲酸酯连接物或其组合。

具体地，脂质部分 L 可以是源自磷脂、鞘脂或神经酰胺。如本文中所用，术语 源自磷脂或神经酰胺 包括磷脂和神经酰胺的自由基。实例为包含磷脂酰乙醇胺或磷脂酰甘油部分的聚合物结合的脂质。

在优选的实施方式中，聚合物结合的脂质是聚乙二醇化脂质。所述聚乙二醇化脂质包括但不限于以下聚乙二醇化脂质：聚乙二醇化二酰甘油脂质(PEG-DAG)；聚乙二醇化神经酰胺脂质(PEG-Cer)；聚乙二醇化磷脂酰乙醇胺脂质(PEG-PE)；聚乙二醇化琥珀酸二酰甘油脂质(PEG-S-DAG)；聚乙二醇化二烷氧基丙基氨基甲酸酯脂质；1,2-二肉豆蔻基-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇(“PEG-DMG”或“DMG-PEG”)。

在更优选的实施方式中，所述聚合物结合的脂质为 DMG-PEG2000。

优选地，如本领域中所用，“DMG-PEG 2000”被认为是比率为约 97:3 的

1,2-DMG PEG2000 和 1,3-DMG PEG2000 的混合物。

在本发明的一些实施方式中，所述脂质纳米颗粒中，氨基脂质、类固醇、中性脂质和聚合物结合的脂质的摩尔比为 30-70:30-65:0-30:0.2-5。进一步优选为 30-60:35-60:0-20:0.3-3。

5 在本发明的优选实施方式中，所述脂质纳米颗粒中，所述氨基脂质为前述优选的氨基脂质，所述类固醇为胆固醇，所述中性脂质为磷脂，所述聚合物结合的脂质为聚乙二醇化脂质；氨基脂质、胆固醇、磷脂和聚乙二醇化脂质的摩尔比为 40-50:40-45:10-15:0.5-2。

在一个优选实施方式中，所述脂质纳米颗粒中，所述聚乙二醇化脂质为 DMG-PEG2000。

10 本发明的脂质纳米颗粒不限于任何特定形态，并且应被解释为包括当氨基脂质和任选的一种或多种其他的脂质结合时产生的任何形态，例如在水相环境和/或在存在核酸化合物的情况下。例如，脂质体、脂质复合物、lipoplex 等在脂质纳米颗粒的范围内。

本发明的脂质纳米颗粒可以与至少一种药学上可接受的载体或赋形剂结合，得到药物组合物。因此，组合物可以是干燥组合物，例如粉末或颗粒，或固体单元，例如冻干形式
15 或片剂。作为选择，组合物可以是液体形式，并且每种赋形剂可以以溶解或分散（例如悬浮或乳化）形式独立地加入。在一个优选实施方式中组合物被配制成无菌固体组合物，例如粉末或冻干形式，用于与水性液体载体重组。对于包含下文进一步详细描述的存在生物活性组分的组合物，也优选这种制剂。

如本文中所示，纳米颗粒是具有任何结构或形态的亚微米颗粒。亚微米颗粒也可以称为胶体或胶质。亚微米颗粒也可以称为胶体或胶体。关于纳米颗粒所基于的材料，以及结构或形态，可以将纳米颗粒分类，例如，为纳米胶囊、囊泡、脂质体、脂质纳米颗粒、
20 胶束、交联胶束、lipoplex、多聚物、混合或混合复合物，仅提及特定类型纳米颗粒的几种可能命名。脂质纳米颗粒（LNP）是由脂质形成的纳米颗粒，通常包含至少一种两亲性、成膜脂质和任选的其他脂质，进一步任选地包含载荷材料如核酸化合物。如本文中
25 所用，表述脂质纳米颗粒或 LNP 包括由脂质形成或共同形成的纳米颗粒的任何亚类型和形态，例如脂质体和 lipoplex。

如上文定义，脂质纳米颗粒包括由脂质形成或共同形成的任何类型的纳米颗粒。特别是，脂质纳米颗粒可由包含至少一种两亲性、囊泡形成脂质的脂质组合共同形成。脂质体和 lipoplex 是脂质纳米颗粒的实例。

30 优选地，在本发明的一些实施方式中，所述脂质纳米颗粒还包含生物活性组分。

生物活性组分是指具有生物活性的任何化合物或材料，由于该活性，化合物或材料可用于受试者（如动物，特别是人类受试者）的疾病或状况的预防、管理、改善、治疗或疗

法。

在一些实施方式中，所述生物活性组分是选自由人工 mRNA、包含至少一个编码序列的化学修饰或未修饰的信使 RNA、自复制 RNA、环状 RNA、病毒 RNA 和复制子 RNA 组成的组的核酸化合物；或其任何组合。优选地，其中生物活性组分为 mRNA 或 mRNA 化合物。

在一些实施方式中，所述生物活性组分选自小干扰 RNA (siRNA)、不对称干扰 RNA (aiRNA)、微小 RNA (miRNA)、Dicer-底物 RNA (dsRNA)、小发夹 RNA (shRNA)、信使 RNA (mRNA)及其混合物。

在本发明的实施方式中，mRNA 包括茎环、链终止核苷、polyA 序列、多腺苷酸化信号和/或 5'帽结构中的一种或多种。

在本发明的实施方式中，所述生物活性组分的包封率至少为 50~90%。进一步优选地，所述生物活性组分的包封率至少为 60~80%。

在本发明的实施方式中，所述脂质纳米颗粒中，脂质组分与生物活性组分的重量/重量比为约 10:1 至约 60:1。进一步优选地，脂质组分与生物活性组分的重量/重量比约为 20:1。

在本发明的实施方式中，所述脂质纳米颗粒中 N:P 比率为约 2:1 至约 30:1。进一步优选地，N:P 比约为 5.67:1。

在本发明的实施方式中，所述脂质纳米颗粒的平均尺寸为约 70nm 至约 100nm。

在本发明的实施方式中，所述脂质纳米颗粒的多分散指数为约 0.10 至约 0.20。

在本发明的实施方式中，所述脂质纳米颗粒具有约-10 mV 至约+20 mV 的 zeta 电位。

在优选的实施方式中，所述生物活性组分与一种或多种脂质（例如氨基脂质和/或中性脂质）复合或结合，从而形成脂质体、脂质纳米颗粒（LNP）、lipoplex 和/或纳米脂质体。在上下文中，术语 复合 或 结合 是指生物活性组分与一种或多种脂类基本上稳定的组合成未共价结合的更大的复合物或组装体。

应用

本发明提供利用上述氨基脂质或脂质纳米颗粒或药物组合物进行治疗或预防传染病、癌症、肿瘤疾病、遗传疾病、过敏、毒性、自身免疫性疾病的方法。

相应地，本发明提供上述氨基脂质或脂质纳米颗粒或药物组合物在制备用于治疗或预防传染病、癌症、肿瘤疾病、遗传疾病、过敏、毒性、自身免疫性疾病药物中的应用。

其中，所述传染病包括病毒、细菌或原生动植物传染病。所述病毒包括但不限于 SARS 冠状病毒 2(SARS-CoV-2)、nCoV-2019 冠状病毒、SARS 冠状病毒(SARS-CoV)、布尼亚病毒、巨细胞病毒(CMV)、登革热病毒(DEN-1、DEN-2、DEN-3 和 DEN-4)、埃博拉病毒、黄病毒、乙型肝炎病毒(HBV)、单纯疱疹病毒(HSV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、人类偏肺

病毒(hMPV)、人乳头瘤病毒(HPV)、人类副流感病毒(HPIV)、流感病毒、肠外致病性大肠杆菌、拉沙病毒(LASV)、MERS 冠状病毒、结核分枝杆菌、尼帕病毒、诺如病毒、狂犬病病毒、呼吸道合胞病毒(RSV)、鼻病毒、轮状病毒、痘苗病毒、黄热病病毒、寨卡病毒。

5 所述癌症包括肺癌、胃癌、肝癌、食管癌、结肠癌、胰腺癌、脑癌、淋巴瘤、血癌和前列腺癌。

本发明还提供利用上述氨基脂质或脂质纳米颗粒或药物组合物进行基因治疗、基因疫苗接种、反义治疗、核酸转移或通过干扰 RNA 的治疗方法。

相应地，本发明还提供上述氨基脂质或脂质纳米颗粒在制备用于基因治疗、基因疫苗接种、反义治疗、核酸转移或通过干扰 RNA 的治疗的药物中的应用。

10 本发明还提供一种向受试者递送药剂的方法，包括：向受试者施用配制在上述脂质纳米颗粒中的药剂。

药物施用，根据药物的剂型确定施药方式。药物的剂型与赋形剂和/或载体有关。全身施用的一般途径包括：透皮、口服、肠外途径，包括皮下、静脉、肌肉内、动脉内、皮内和腹腔内注射和/或鼻内施途径。局部施用的途径一般包括皮内、透皮、皮下或肌肉内注射，或病灶内、颅内、肺内、心内、肿瘤内和舌下注射。当药物为疫苗形式时，优选施用途径是肌肉内注射和皮内注射。

以下实施例用于说明本发明，但不用来限制本发明的范围。

20 实施例中未注明具体技术或条件者，按照本领域内的文献所描述的技术或条件，或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可通过正规渠道商购买得到的常规产品。

为了说明的目的，以下实施例中显示了制备本发明提供的化合物的一般方法。对于各个反应步骤的更详细描述，参见以下实施例部分。本领域技术人员能够理解，其它合成途径可用于合成本发明化合物。尽管在方案中描述了并在下面讨论了具体的原料和试剂，但其它原料和试剂可以容易地替代以提供各种衍生物和/或反应条件。此外，结合以下实施例的公开，使用本领域技术人员熟知的常规化学方法，可以进一步修饰通过下述方法制备的许多化合物，并得到本发明限定范围内的其他化合物。

文中的缩写对应物质如下：

Py 吡啶

EDCI 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐

30 DMAP 对二甲氨基吡啶

DIPEA 二异丙基乙胺

DCM 二氯甲烷

MeCN 乙腈

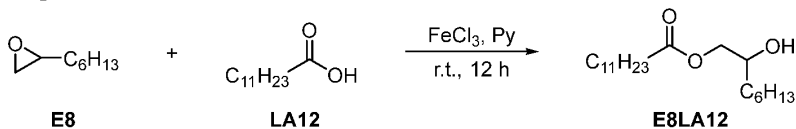
DSPC 二硬脂酰磷脂酰胆碱

DMG-PEG2000 1,2-二肉豆蔻酰基-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇 2000。

5 氨基脂质化化合物的制备

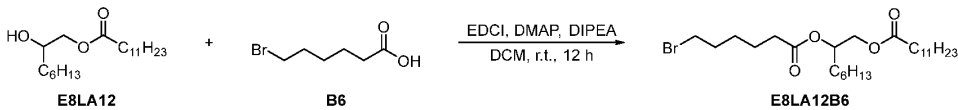
实施例 1 氨基脂质 E8LA12B6O3 的合成

Step 1: E8LA12 的合成：



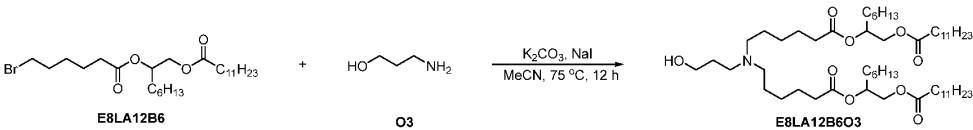
在 25 mL 反应管中依次加入 FeCl₃ (16.2 mg, 2.5 mol%)，Py (4 mg, 1.25 mmol%)，月桂酸 (200.32 g/mol, 800 mg, 4.0 mmol) 和 1,2-环氧辛烷 (128.22 g/mol, 1.02 g, 8 mmol)，室温下搅拌反应过夜，反应结束后，经柱层析分离纯化得到 1.2 g 中间体 E8LA12 (无色油状液体)，收率 91%。

Step 2: E8LA12B6 的合成：



在 25 mL 反应管中依次加入 E8LA12 (328.54 g/mol, 1.2 g, 3.65 mmol)，6-溴己酸 (195.06 g/mol, 855 mg, 4.38 mmol)，EDCI (191.70 g/mol, 2.8 g, 14.6 mmol)，DMAP (45 mg, 0.365 mmol) 和 DIPEA (2.83 g, 21.9 mmol) 和 DCM (10 mL)，室温下搅拌反应过夜。反应结束后，经柱层析分离纯化得到 1.65 g 中间体 E8LA12B6 (无色油状液体)，收率 89%。

Step 3: E8LA12B6O3 的合成：

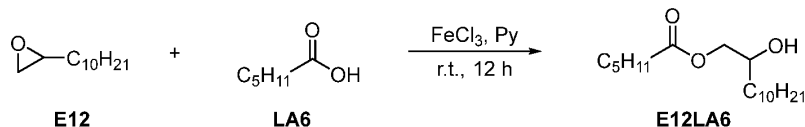


在 25 mL 的反应管中依次加入 E8LA12B6 (505.58 g/mol, 1.65 g, 3.26 mmol)，碳酸钾 (138.21 g/mol, 902 mg, 6.52 mmol)，碘化钠 (149.89 g/mol, 489 mg, 3.26 mmol)，氨基丙醇 (75.11 g/mol, 113 mg, 1.5 mmol) 和乙腈 (10 mL)，在 75 °C 下搅拌反应过夜。反应结束后，经柱层析分离纯化得到 0.94 g E8LA12B6O3 (无色油状液体)，收率 68%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5.08-5.03 (m, 2H), 4.22 (dd, J₁ = 11.6 Hz, J₂ = 3.6 Hz, 2H), 4.02 (dd, J₁ = 12.0 Hz, J₂ = 6.4 Hz, 2H), 3.82 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.96 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.77 (t, J = 6.0 Hz, 4H), 2.34-2.28 (m, 8H), 1.89-1.88 (m, 2H), 1.72-1.56 (m, 12H), 1.40-1.25 (m, 56H), 0.87 (t, J = 7.0

Hz, 12H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 173.1, 70.7, 65.5, 59.0, 58.5, 57.2, 34.2, 33.9, 31.9, 31.8, 30.7, 30.3, 29.6, 29.3, 29.0, 28.0, 26.7, 25.0, 25.3, 24.7, 22.7, 14.1. ESI-MS $\text{C}_{55}\text{H}_{106}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 924.7862, 实测值 924.7850.

实施例 2 氨基脂质 E12LA6B6O3 的合成

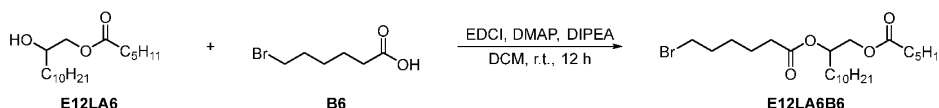
5 Step 1: E12LA6 的合成:



在 25 mL 反应管中依次加入 FeCl_3 (16.2 mg, 2.5 mol%), Py (4 mg, 1.25 mmol%), 正己酸 (116.1600 g/mol, 464 mg, 4.0 mmol) 和 1,2-环氧十二烷 (184.18 g/mol, 1.47 g, 8 mmol), 室温下搅拌反应过夜, 反应结束后, 经柱层析分离纯化得到 1.02 g 中间体

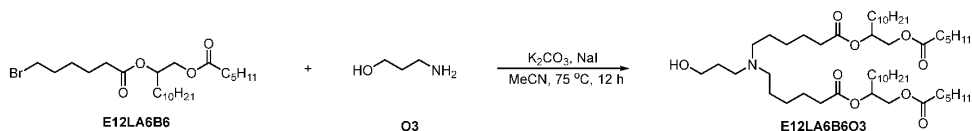
10 E12LA6 (无色油状液体), 收率 85%。

Step 2: E12LA6B6 的合成:



在 25 mL 反应管中依次加入 E12LA6 (300.48 g/mol, 901 mg, 3.0 mmol), 6-溴己酸 (195.06 g/mol, 703 mg, 3.6 mmol), EDCI (191.70 g/mol, 2.3 g, 12.0 mmol), DMAP (37 mg, 0.3 mmol) 和 DIPEA (2.33 g, 18 mmol) 和 DCM (10 mL), 室温下搅拌反应过夜。反应结束后, 经柱层析分离纯化得到 1.08 g 中间体 E12LA6B6 (无色油状液体), 收率 76%。

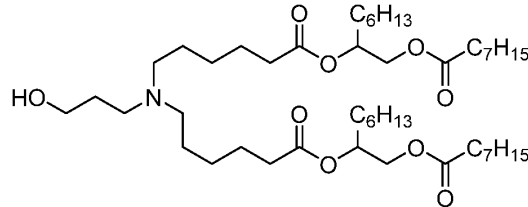
Step 3: E12LA6B6O3 的合成:



20 mL 的反应管中依次加入 E12LA6B6 (477.52 g/mol, 956 mg, 2.0 mmol), 碳酸钾 (138.21 g/mol, 221 mg, 1.6 mmol), 碘化钠 (149.89 g/mol, 120 mg, 0.8 mmol), 氨基丙醇 (75.11 g/mol, 60 mg, 0.8 mmol) 和乙腈 (5 mL), 在 75 °C 下搅拌反应过夜。反应结束后, 经柱层析分离纯化得到 458 mg E12LA6B6O3 (无色油状液体), 收率 66%。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5.08-5.06 (m, 2H), 4.22 (dd, $J_1 = 12.0$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz, 2H), 4.02 (dd, $J_1 = 11.6$ Hz, $J_2 = 6.4$ Hz, 2H), 3.79 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.73-2.70 (m, 2H), 2.52-2.48 (m, 4H), 2.33-2.28 (m, 8H), 1.74-1.50 (m, 14H), 1.42-1.25 (m, 48H), 0.91-0.86 (m, 12H). (如图 1 所示) ESI-MS $\text{C}_{51}\text{H}_{98}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 868.7236, 实测值 868.7234.

实施例 3 氨基脂质 E8LA8B6O3 的合成

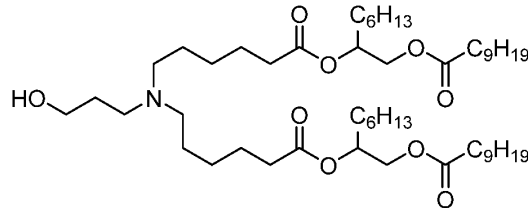
将实施例 1 中的月桂酸替换为辛酸，按照相同的方法可制得氨基脂质 E8LA8B6O3，其结构式如下：



5 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5.08-5.02 (m, 2H), 4.22 (dd, $J_1 = 12.0$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz, 2H), 4.01 (dd, $J_1 = 11.6$ Hz, $J_2 = 6.0$ Hz, 2H), 3.81 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.98 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.79 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H), 2.34-2.27 (m, 8H), 1.92-1.86 (m, 2H), 1.73-1.56 (m, 12H), 1.40-1.26 (m, 40H), 0.88-0.85 (m, 12H). ESI-MS $\text{C}_{47}\text{H}_{90}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 812.6610, 实测值 812.6598.

实施例 4 氨基脂质 E8LA10B6O3 的合成

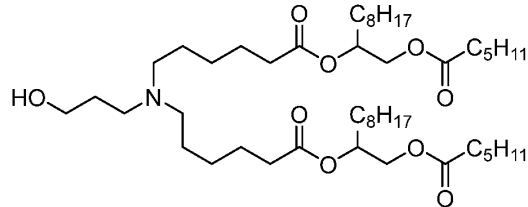
10 将实施例 1 中的月桂酸替换为癸酸，按照相同的方法可制得氨基脂质 E8LA10B6O3，其结构式如下：



15 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 0.85-0.89 (m, 12H), 1.25-1.40 (m, 48H), 1.56-1.72 (m, 12H), 1.88-1.90 (m, 2H), 2.28-2.33 (m, 8H), 2.77-2.79 (m, 4H), 2.96-2.98 (m, 2H), 3.79-3.80 (m, 2H), 4.01-4.05 (m, 2H), 4.21-4.24 (m, 2H), 5.03-5.08 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{51}\text{H}_{98}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 868.7, 实测值 868.7。

实施例 5 氨基脂质 E10LA6B6O3 的合成

将实施例 2 中的 1,2-环氧十二烷替换为 1,2-环氧癸烷，按照相同的方法可制得氨基脂质 E10LA6B6O3，其结构式如下：

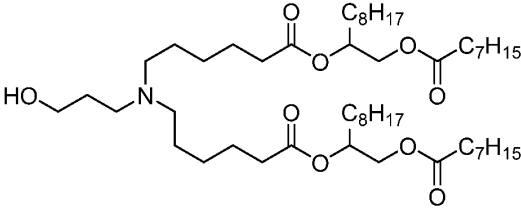


20 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5.08-5.02 (m, 2H), 4.22 (dd, $J_1 = 12.0$ Hz, $J_2 = 3.2$ Hz, 2H), 4.01 (dd, $J_1 = 11.6$ Hz, $J_2 = 6.4$ Hz, 2H), 3.79 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.62 (t,

$J = 8.0 \text{ Hz}$, 4H), 2.36-2.27 (m, 8H), 1.81-1.76 (m, 2H), 1.68-1.53 (m, 12H), 1.37-1.24 (m, 40H), 0.90-0.84 (m, 12H). ESI-MS $\text{C}_{47}\text{H}_{90}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 812.6610, 实测值 812.6634.

实施例 6 氨基脂质 E10LA8B6O3 的合成

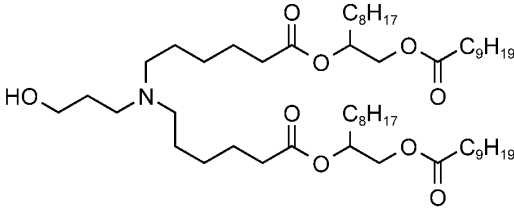
将实施例 1 中的 1,2-环氧辛烷替换为 1,2-环氧癸烷, 将月桂酸替换为正辛酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E10LA8B6O3, 其结构式如下:



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.84-0.89 (m, 12H), 1.26-1.41 (m, 48H), 1.56-1.73 (m, 12H), 1.89-1.91 (m, 2H), 2.26-2.32 (m, 8H), 2.78-2.80 (m, 4H), 2.96-2.98 (m, 2H), 3.80-3.81 (m, 2H), 4.01-4.04 (m, 2H), 4.20-4.24 (m, 2H), 5.03-5.07 (m, 2H). ESI-MS $\text{C}_{51}\text{H}_{98}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 868.7, 实测值 868.7.

实施例 7 氨基脂质 E10LA10B6O3 的合成

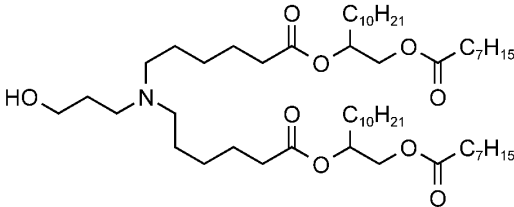
将实施例 1 中的 1,2-环氧辛烷替换为 1,2-环氧癸烷, 将月桂酸替换为癸酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E10LA10B6O3, 其结构式如下:



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 0.86-0.92 (m, 12H), 1.25-1.40 (m, 56H), 1.56-1.71 (m, 12H), 1.87-1.89 (m, 2H), 2.27-2.32 (m, 8H), 2.77-2.80 (m, 4H), 2.97-2.99 (m, 2H), 3.79-3.80 (m, 2H), 4.00-4.04 (m, 2H), 4.21-4.25 (m, 2H), 5.02-5.07 (m, 2H). ESI-MS $\text{C}_{55}\text{H}_{106}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 924.8, 实测值 924.9.

实施例 8 氨基脂质 E12LA8B6O3 的合成

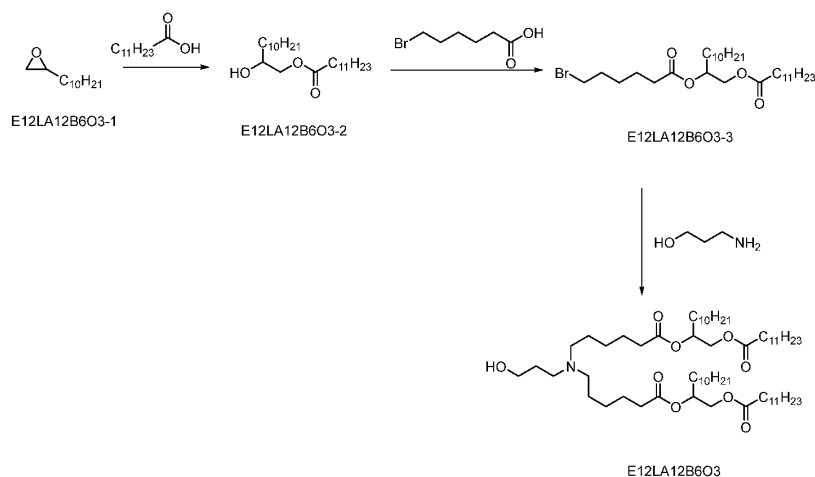
将实施例 2 中正己酸替换为正辛酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA8B6O3, 其结构式如下:



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 5.07-5.04 (m, 2H), 4.23 (dd, $J_1 = 12.0 \text{ Hz}$, $J_2 = 3.6 \text{ Hz}$, 2H),

4.01 (dd, $J_1 = 12.0$ Hz, $J_2 = 6.4$ Hz, 2H), 3.80 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.86 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.66 (t, $J = 7.6$ Hz, 4H), 2.33-2.28 (m, 8H), 1.83-1.80 (m, 2H), 1.69-1.56 (m, 12H), 1.38-1.25 (m, 56H), 0.89-0.85 (m, 12H). ESI-MS $C_{55}H_{106}NO_9^+ [M+H]^+$ 计算值 924.7862, 实测值 924.7891.

实施例 9 化合物 E12LA12B6O3 的合成



5

步骤 1: 化合物 E12LA12B6O3-2 的合成

在 25 mL 反应管中依次加入三氯化铁(16.2 mg, 0.1mmol, 0.025eq)、吡啶 (4 mg, 0.05mmol, 0.0125eq)、月桂酸(800 mg, 4.0 mmol, 1.0eq)和 1,2-环氧十二烷(884mg, 4.8 mmol, 1.2 eq), 室温下搅拌反应过夜, 反应结束后, 反应液浓缩, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =50:1 至 10:1), 得到化合物 **E12LA12B6O3-2**(1.2 g, 86.0%)。ESI-MS $C_{24}H_{49}O_3^+ [M+H]^+$ 计算值 385.4, 实测值 385.4。

步骤 2: 化合物 E12LA12B6O3-3 的合成

在 25 mL 反应管中依次加入 **E12LA12B6O3-2** (1.2 g, 3.65 mmol, 1.0eq)、6-溴己酸(973 mg, 4.38 mmol, 1.2eq)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(2.8 g, 14.6 mmol, 4.0eq)、4-二甲氨基吡啶 (45 mg, 0.365 mmol, 0.1eq) 和 N,N-二异丙基乙胺(2.83 g, 21.9 mmol, 6.0 eq)和 20 mL 二氯甲烷, 室温下搅拌反应过夜, 反应结束后, 反应液浓缩, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 20:1), 得到化合物 **E12LA12B6O3-3** (1.65g, 92.0%)。ESI-MS $C_{30}H_{58}BrO_4^+ [M+H]^+$ 计算值 561.4, 实测值 561.4。

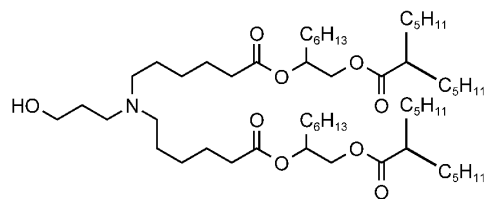
20 步骤 3: E12LA12B6O3 的合成

在 25mL 的反应管中依次加入 **E12LA12B6O3-3** (1.65 g, 3.36 mmol, 2.2eq)、碳酸钾 (464 mg, 3.36 mmol, 2.2eq)、碘化钠 (150 mg, 1.0 mmol, 0.67eq), 3-氨基丙醇 (113 mg, 1.5 mmol), 和 10mL 乙腈, 70~80℃ 下搅拌反应过夜, 反应结束后, 经柱层析分离得到 0.94 g **E12LA12B6O3** (0.94 g, 68%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 0.87-0.91 (m, 12H), 1.24-1.38

(m, 68H), 1.42-1.58 (m, 4H), 1.55-1.69 (m, 14H), 2.29-2.34 (m, 8H), 2.38-2.42 (m, 4H), 2.61-2.64 (m, 2H), 3.78-3.81, (m, 2H), 4.01-4.06 (m, 2H), 4.20-4.24 (m, 2H), 5.04-5.10 (m, 2H)。ESI-MS $C_{63}H_{122}NO_9^+$ $[M+H]^+$ 计算值 1036.9, 实测值 1037.0。

实施例 10 氨基脂质 E8CA5B6O3 的合成

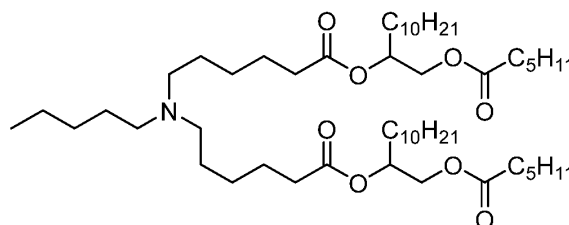
- 5 将实施例 9 中的 1,2-环氧十二烷替换为 1,2-环氧辛烷, 月桂酸替换为 2-戊基-庚酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E8CA5B6O3, 其结构式如下:



- 10 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.85-0.90 (m, 18H), 1.25-1.37 (m, 48H), 1.40-1.70 (m, 18H), 2.25-2.36 (m, 6H), 2.44-2.48 (m, 4H), 2.66-2.68 (m, 2H), 3.77-3.79, (m, 2H), 4.00-4.05 (m, 2H), 4.21-4.25 (m, 2H), 5.03-5.08 (m, 2H)。ESI-MS $C_{55}H_{106}NO_9^+$ $[M+H]^+$ 计算值 924.8, 实测值 924.8。

实施例 11 氨基脂质 E12LA6B6O9 的合成

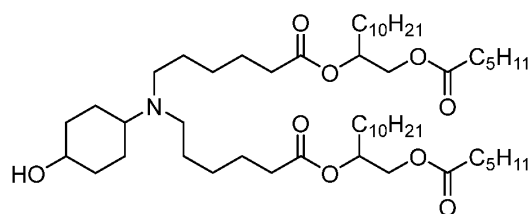
将实施例 2 中的 3-氨基丙醇替换为正戊胺, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O9, 其结构式如下:



- 15 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.85-0.90 (m, 15H), 1.24-1.36 (m, 54H), 1.53-1.74 (m, 16H), 2.27-2.33 (m, 8H), 2.83 (s, 6H), 3.98-4.03 (m, 2H), 4.21-4.25 (m, 2H), 5.02-5.07 (m, 2H)。ESI-MS $C_{53}H_{102}NO_8^+$ $[M+H]^+$ 计算值 880.8, 实测值 880.8

实施例 12 氨基脂质 E12LA6B6O10 的合成

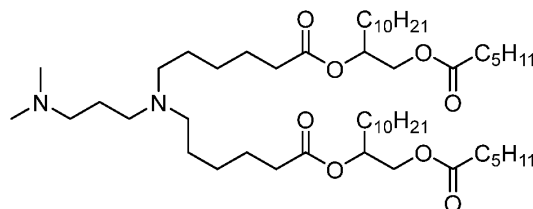
- 20 将实施例 2 中的 3-氨基丙醇替换为反式对氨基环己醇, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O10, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.84-0.90 (m, 12H), 1.24-1.31 (m, 54H), 1.53-1.65 (m, 14H), 1.99-2.01 (m, 2H), 2.26-2.31 (m, 8H), 2.42-2.46 (m, 4H), 3.99-4.03 (m, 2H), 4.19-4.22 (m, 2H), 5.03-5.08 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{54}\text{H}_{102}\text{NO}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 908.8, 实测值 908.7。

5 实施例 13 氨基脂质 E12LA6B6O12 的合成

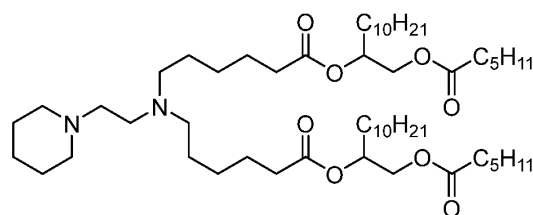
将实施例 2 中的 3-氨基丙醇替换为 3-二甲氨基丙胺, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O12, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.86-0.94 (m, 12H), 1.26-1.35 (m, 42H), 1.41-1.48 (m, 6H), 1.55-1.72 (m, 18H), 2.29-2.36 (m, 8H), 2.70-2.76 (m, 2H), 3.37-3.41 (m, 4H), 3.99-4.04 (m, 2H), 4.24-4.34 (m, 6H), 5.00-5.06 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{53}\text{H}_{103}\text{N}_2\text{O}_8^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 895.8, 实测值 895.8。

实施例 14 氨基脂质 E12LA6B6O13 的合成

将实施例 2 中的 3-氨基丙醇替换为 1-(2-氨基乙基)哌啶, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O13, 其结构式如下:

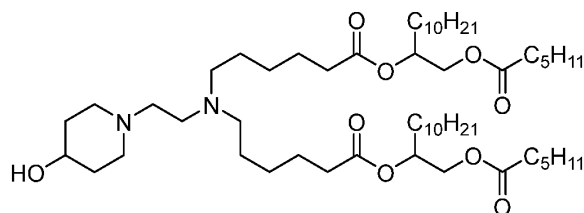


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.82-0.92 (m, 12H), 1.24-1.36 (m, 50H), 1.44-1.69 (m, 18H), 2.27-2.31 (m, 8H), 2.47-2.50 (m, 4H), 2.57-2.61 (m, 4H), 2.72-2.74 (m, 2H), 3.99-4.04 (m, 2H), 4.19-4.23 (m, 2H), 5.03-5.08 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{55}\text{H}_{105}\text{N}_2\text{O}_8^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 921.8, 实测值 921.8。

实施例 15 氨基脂质 E12LA6B6O15 的合成

将实施例 2 中的 3-氨基丙醇替换为 N-(2-氨基乙基)-4-羟基哌啶, 按照相同的方法可制得

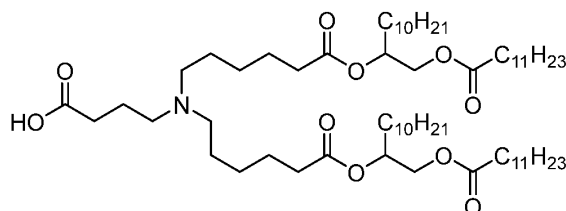
氨基脂质 E12LA6B6O15, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.86-0.90 (m, 12H), 1.26-1.37 (m, 50H), 1.48-1.67 (m, 16H), 2.28-2.33 (m, 8H), 2.54-2.61 (m, 6H), 2.84-2.89 (m, 4H), 3.76 (s, 1H). 4.00-4.07 (m, 2H), 4.20-4.24 (m, 2H), 5.04-5.09 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{55}\text{H}_{105}\text{N}_2\text{O}_9^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 937.8, 实测值 937.9。

实施例 16 氨基脂质 E12LA12B6O30 的合成

将实施例 2 中的 3-氨基丙醇替换为 β -丙氨酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA12B6O30, 其结构式如下:

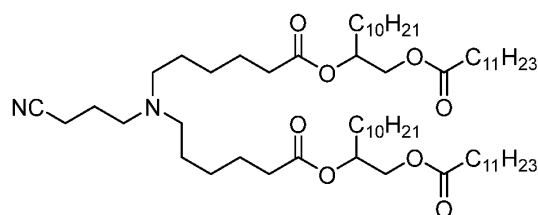


10

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.86-0.92 (m, 12H), 1.24-1.37 (m, 68H), 1.44-1.60 (m, 4H), 1.54-1.70 (m, 14H), 2.29-2.44 (m, 12H), 2.61-2.64 (m, 2H), 3.78-3.81, (m, 2H), 4.01-4.05 (m, 2H), 4.21-4.24 (m, 2H), 5.02-5.08 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{64}\text{H}_{122}\text{NO}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 1064.9, 实测值 1065.0。

15 实施例 17 氨基脂质 E12LA6B6O31 的合成

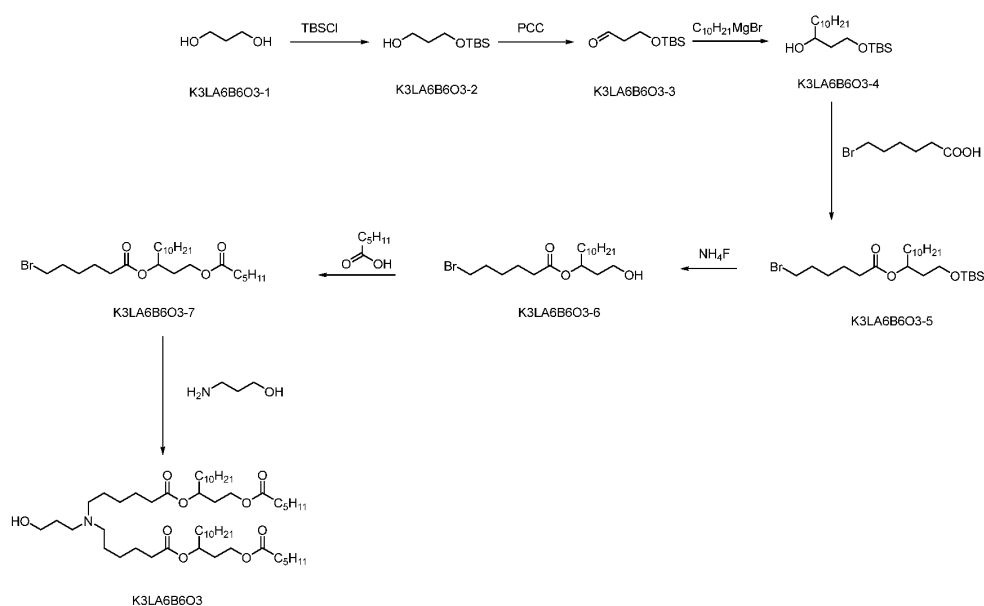
将实施例 2 中的 3-氨基丙醇替换为 4-氨基丁腈, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA12B6O31, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.86-0.91 (m, 12H), 1.25-1.39 (m, 68H), 1.42-1.60 (m, 4H), 1.58-1.72 (m, 12H), 1.78-1.82 (m, 2H), 2.31-2.42 (m, 12H), 2.60-2.64 (m, 2H), 3.79-3.82, (m, 2H), 4.00-4.04 (m, 2H), 4.18-4.22 (m, 2H), 5.02-5.09 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{64}\text{H}_{121}\text{N}_2\text{O}_8^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 1045.9, 实测值 1045.9。

20

实施例 18 氨基脂质 K3LA6B6O3 的合成



步骤 1: 化合物 K3LA6B6O3-2 的合成

- 5 往 250mL 圆底烧瓶中加入咪唑(6.54g, 96 mmol, 1.2 eq), 抽换气使圆底烧瓶内充满氮气, 依次加入二氯甲烷(60mL)和 N,N-二甲基甲酰胺(30mL), 1,3-丙二醇(6.09g, 80 mmol, 1.0 eq), 将混合物在 0℃ 搅拌 10 分钟, 将叔丁基二甲基氯硅烷(12.06g, 80 mmol, 1.0 eq)溶解在二氯甲烷(60mL)中滴加到混合物中, 将所得混合物室温搅拌 4 小时。将反应混合物水洗 3 次, 使用无水硫酸钠干燥, 浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 10:1), 得到化合物 K3LA6B6O3-2(10.96g, 72%), ESI-MS $C_9H_{23}O_2Si^+ [M+H]^+$ 计算值 191.1, 实测值 191.1。

步骤 2: 化合物 K3LA6B6O3-3 的合成

- 15 氯铬酸吡啶鎓盐(6.09g, 80 mmol, 1.0 eq)和化合物 K3LA6B6O3-2(10.96g, 57.6 mmol, 1.0eq)的二氯甲烷(100mL)溶液在室温下搅拌 5 小时。将反应混合物过滤, 滤液浓缩, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 20:1), 得到化合物 K3LA6B6O3-3(8.69g, 80%), ESI-MS $C_9H_{21}O_2Si^+ [M+H]^+$ 计算值 189.1, 实测值 189.1。

步骤 3: 化合物 K3LA6B6O3-4 的合成

- 20 取 500mL 圆底烧瓶, 抽换气使圆底烧瓶内充满氮气, 加入化合物 K3LA6B6O3-3(8.69g, 46.14 mmol, 1.0eq), 无水四氢呋喃(150mL), 将混合物在 -20℃ 下搅拌 10 分钟, 将 70mL 癸基溴化镁溶液(1mol/L 无水四氢呋喃溶液, 1.5eq)滴加到混合物中, 混合物在 -20℃ 至 0℃ 搅拌 3 小时, 加入 50mL 饱和氯化铵溶液淬灭, 用乙酸乙酯萃取三次, 饱和食盐水洗涤一次,

使用无水硫酸钠干燥，浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 20:1)，得到化合物 **K3LA6B6O3-4** (9.93g, 65%), ESI-MS $C_{19}H_{43}O_2Si^+ [M+H]^+$ 计算值 331.3, 实测值 331.4。

步骤 4: 化合物 **K3LA6B6O3-5** 的合成

- 5 **K3LA6B6O3-4** (9.93g, 30 mmol), 6-溴己酸(7.02g, 36mmol, 1.2eq), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(11.50g, 60mmol, 2.0eq), N,N-二异丙基乙胺(15.51g, 120mmol, 4.0eq), 4-二甲氨基吡啶(0.37g, 3mmol, 0.1eq)的二氯甲烷 (100mL)溶液，室温搅拌过夜。TLC 显示反应完全，反应液用二氯甲烷萃取三次，饱和食盐水洗涤一次，使用无水硫酸钠干燥，浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 20:1)，得到化合物
- 10 **K3LA6B6O3-5**(12.79g, 84%), ESI-MS $C_{25}H_{52}BrO_3Si^+ [M+H]^+$ 计算值 507.3, 实测值 507.2。

步骤 5: 化合物 **K3LA6B6O3-6** 的合成

- K3LA6B6O3-5**(12.79g, 25.2mmol, 1.0eq), 氟化铵(9.33g, 252mmol, 10.0eq), 甲醇 (75mL), 65℃回流搅拌 3 小时。TLC 显示反应完全，反应液用乙酸乙酯萃取三次，饱和食
- 15 盐水洗涤一次，使用无水硫酸钠干燥，浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =50:1 至 5:1)，得到化合物 **K3LA6B6O3-6**(8.72g, 88%), ESI-MS $C_{19}H_{38}BrO_3^+ [M+H]^+$ 计算值 393.2, 实测值 393.2。

步骤 6: 化合物 **K3LA6B6O3-7** 的合成

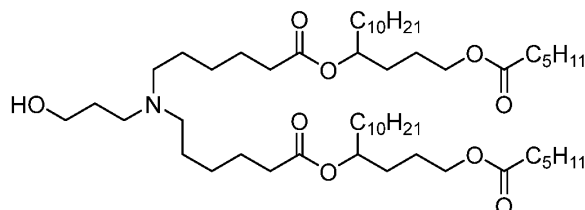
- K3LA6B6O3-6** (8.72g, 22.2 mmol), 己酸(3.09g, 26.64mmol, 1.2eq), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(8.51g, 44.4mmol, 2.0eq), N,N-二异丙基乙胺(11.48g, 88.8mmol, 4.0eq), 4-二甲氨基吡啶(0.27g, 2.2mmol, 0.1eq)的二氯甲烷 (50mL)溶液，室温搅拌过夜。TLC 显示反应完全，反应液用二氯甲烷萃取三次，饱和食盐水洗涤一次，使用无水硫酸钠干燥，浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 20:1)，得到化合物
- 20 **K3LA6B6O3-7**(7.86g, 72%), ESI-MS $C_{25}H_{48}BrO_4^+ [M+H]^+$ 计算值 491.3, 实测值 491.2。

- 25 步骤 7: 化合物 **K3LA6B6O3** 的合成

- 化合物 **K3LA6B6O3-7**(7.86g, 15.99mmol, 3.0eq), 3-氨基丙醇(0.40g, 5.33mmol, 3.0eq), 碳酸钾(1.47g, 10.66mmol, 2.0eq), 碘化钠(0.80g, 5.33mmol, 1.0eq)的乙腈 (10mL)溶液，75℃搅拌过夜，反应浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 =100:1 至 20:1)，得到化合物 **K3LA6B6O3-7**(3.58g, 75%), 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 0.85-0.90 (m, 12H),
- 30 1.24-1.36 (m, 48H), 1.56-1.73 (m, 18H), 2.25-2.29 (m, 8H), 2.48-2.52 (m, 4H), 2.70-2.72 (m, 2H), 3.76-3.79 (m, 2H), 4.03-4.11 (m, 4H), 4.93-4.96 (m, 2H)。ESI-MS $C_{53}H_{102}NO_9^+ [M+H]^+$ 计算值 896.8, 实测值 896.9。

实施例 19 氨基脂质 K4LA6B6O3 的合成

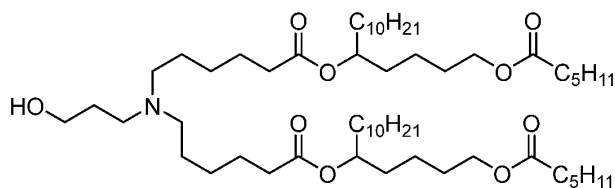
将实施例 18 中的 1,3-丙二醇替换为 1,4-丁二醇, 按照相同的方法可制得氨基脂质 K4LA6B6O3, 其结构式如下:



- 5 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.85-0.91 (m, 12H), 1.26-1.41 (m, 48H), 1.56-1.72 (m, 18H), 2.27-2.33 (m, 8H), 2.81-2.84 (m, 4H), 3.00-3.04 (m, 2H), 3.81-3.84 (m, 2H), 4.04-4.07 (m, 4H), 4.87-4.90 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{55}\text{H}_{106}\text{NO}_9^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 924.8, 实测值 924.8。

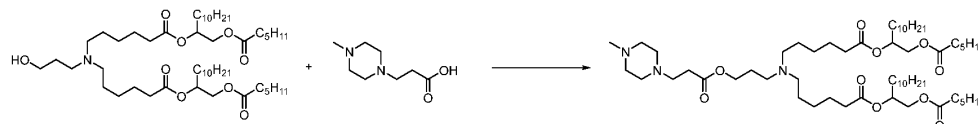
实施例 20 氨基脂质 K5LA6B6O3 的合成

- 10 将实施例 18 中的 1,3-丙二醇替换为 1,5-戊二醇, 按照相同的方法可制得氨基脂质 K5LA6B6O3, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.86-0.91 (m, 12H), 1.26-1.41 (m, 54H), 1.50-1.67 (m, 18H), 2.27-2.34 (m, 8H), 2.91-2.96 (m, 4H), 3.10-3.14 (m, 2H), 3.83-3.85 (m, 2H), 4.03-4.06 (m, 4H), 4.85-4.89 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{57}\text{H}_{110}\text{NO}_9^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 952.8, 实测值 952.8。

- 15 实施例 21 氨基脂质 E12LA6B6O3A2 的合成



步骤 1: 化合物 E12LA6B6O3 的合成

按照实施例 2 的方法, 合成 E12LA6B6O3。

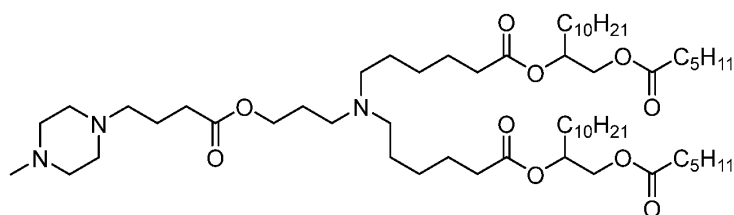
- 20 步骤 2: 化合物 E12LA6B6O3A2 的合成

E12LA6B6O3 (0.87g, 1mmol, 1.0eq), N,N'-二环己基碳二亚胺 (0.41g, 1mmol, 2.0eq), DMAP (0.12g, 0.1mmol, 0.1eq), 3-(4-苯基-1H-咪唑-1-基)-丙酸 (0.26g, 1.5mmol, 1.5eq)的二氯甲烷溶液, 室温搅拌 4 小时, TLC 显示反应完全, 反应液过滤, 滤液浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 = 100:1 至 10:1), 得到化合物 E12LA6B6O3A2 (0.80g, 78%),

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.85-0.90 (m, 12H), 1.25-1.32 (m, 48H), 1.36-1.49 (m, 4H), 1.53-1.66 (m, 12H), 2.27-2.50 (m, 25H), 2.67-2.71 (m, 2H), 4.00-4.04 (m, 2H), 4.08-4.11 (m, 2H), 4.19-4.23 (m, 2H), 5.04-5.09 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{59}\text{H}_{112}\text{N}_3\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 1022.8, 实测值 1022.9。

5 实施例 22 氨基脂质 E12LA6B6O3A3 的合成

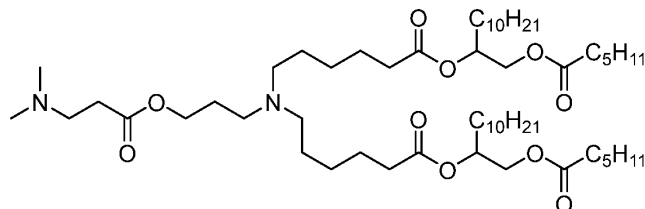
将实施例 21 中的 3-(4-苯基-哌嗪-1-基)-丙酸替换为 4-(4-甲基-1-哌嗪基)丁酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O3A3, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.85-0.90 (m, 12H), 1.25-1.45 (m, 50H), 1.55-1.66 (m, 12H), 1.69-1.83 (m, 4H), 2.27-2.47 (m, 27H), 4.00-4.04 (m, 2H), 4.07-4.10 (m, 2H), 4.19-4.23 (m, 2H), 5.04-5.10 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{60}\text{H}_{114}\text{N}_3\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 1036.8, 实测值 1036.8。

实施例 23 氨基脂质 E12LA6B6O3A4 的合成

将实施例 21 中的 3-(4-苯基-哌嗪-1-基)-丙酸替换为 3-(二甲氨基)丙酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O3A4, 其结构式如下:

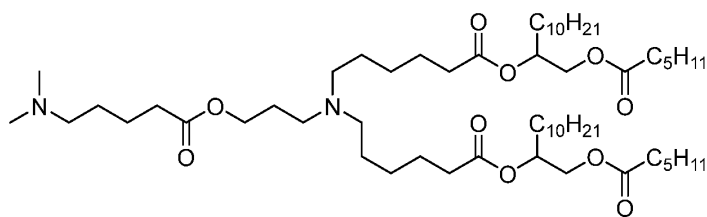


15

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.84-0.89 (m, 12H), 1.24-1.35 (m, 50H), 1.41-1.48 (m, 6H), 1.52-1.65 (m, 12H), 2.23 (s, 6H), 2.26-2.30 (m, 8H), 2.35-2.39 (m, 4H), 2.44-2.48 (m, 4H), 2.58-2.62 (m, 2H), 3.99-4.03 (m, 2H), 4.08-4.11 (m, 2H), 4.18-4.22 (m, 2H), 5.03-5.09 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{56}\text{H}_{107}\text{N}_2\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 967.8, 实测值 967.8。

20 实施例 24 氨基脂质 E12LA6B6O3A5 的合成

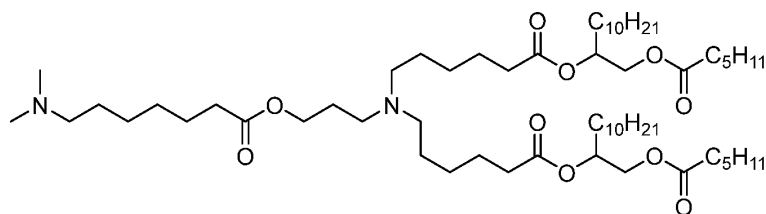
将实施例 21 中的 3-(4-苯基-哌嗪-1-基)-丙酸替换为 5-(二甲氨基)戊酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O3A5, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.84-0.89 (m, 12H), 1.24-1.35 (m, 48H), 1.41-1.75 (m, 18H), 2.21 (s, 6H), 2.22-2.30 (m, 12H), 2.35-2.37 (m, 4H), 2.42-2.45 (m, 2H), 3.98-4.03 (m, 2H), 4.05-4.09 (m, 2H), 4.18-4.22 (m, 2H), 5.03-5.09 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{58}\text{H}_{111}\text{N}_2\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 995.8, 实测值 995.9。

实施例 25 氨基脂质 E12LA6B6O3A6 的合成

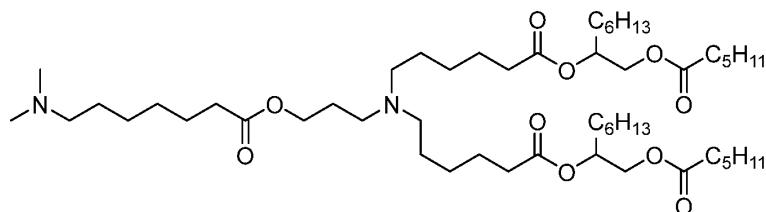
将实施例 21 中的 3-(4-苯基-哌嗪-1-基)-丙酸替换为 7-(二甲氨基)庚酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E12LA6B6O3A3, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.84-0.91 (m, 12H), 1.23-1.37 (m, 50H), 1.39-1.49 (m, 6H), 1.52-1.64 (m, 14H), 2.21 (s, 6H), 2.25-2.30 (m, 12H), 2.33-2.37 (m, 4H), 2.42-2.45 (m, 2H), 3.98-4.03 (m, 2H), 4.05-4.08 (m, 2H), 4.18-4.22 (m, 2H), 5.03-5.08 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{60}\text{H}_{115}\text{N}_2\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 1023.8, 实测值 1023.8。

实施例 26 氨基脂质 E8LA6B6O3A6 的合成

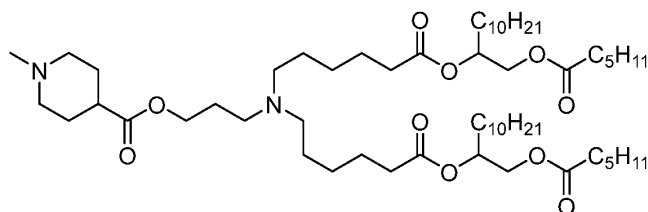
将实施例 21 中的 E12LA6B6O3 替换为 E8LA6B6O3, 按照相同的方法可制得氨基脂质 E8LA6B6O3A6, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.86-0.91 (m, 12H), 1.26-1.43 (m, 36H), 1.39-1.49 (m, 6H), 1.56-1.79 (m, 12H), 2.23-2.48 (m, 24H), 4.00-4.11 (m, 4H), 4.20-4.24 (m, 2H), 5.07-5.11 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{52}\text{H}_{99}\text{N}_2\text{O}_{10}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 911.7, 实测值 911.9。

实施例 27 氨基脂质 E12LA6B6O3A7 的合成

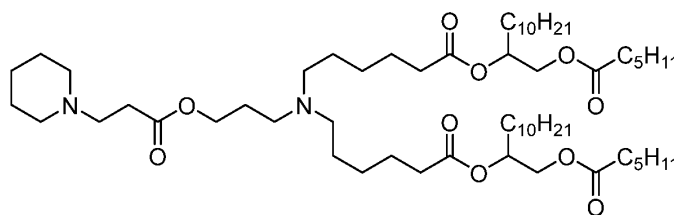
将实施例 21 中的 3-(4-苯基-哌嗪-1-基)-丙酸替换为 1-甲基哌啶-4-甲酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 **E12LA6B6O3A7**, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.87-0.92 (m, 12H), 1.26-1.41 (m, 48H), 1.57-1.83 (m, 20H), 2.24-2.40 (m, 16H), 2.45-2.48 (m, 2H), 2.80-2.84 (m, 2H), 4.01-4.06 (m, 2H), 4.10-4.13 (m, 2H), 4.21-4.25 (m, 2H), 5.06-5.11 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{58}\text{H}_{109}\text{N}_2\text{O}_{10}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 993.8, 实测值 993.7。

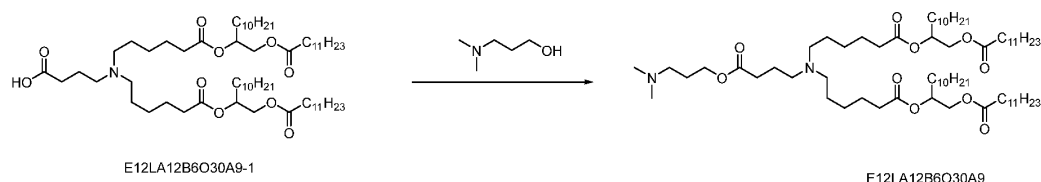
实施例 28 氨基脂质 **E12LA6B6O3A8** 的合成

将实施例 21 中的 3-(4-苯基-哌嗪-1-基)-丙酸替换为 1-哌啶丙酸, 按照相同的方法可制得氨基脂质 **E12LA6B6O3A8**, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.85-0.92 (m, 12H), 1.24-1.36 (m, 44H), 1.40-1.45 (m, 6H), 1.54-1.69 (m, 12H), 2.27-2.30 (m, 8H), 2.34-2.52 (m, 12H), 2.63-2.67 (m, 2H), 4.00-4.04 (m, 2H), 4.07-4.10 (m, 8H), 4.19-4.23 (m, 2H), 5.03-5.09 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{59}\text{H}_{111}\text{N}_2\text{O}_{10}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 1007.8, 实测值 1007.9。

实施例 29 氨基脂质 **E12LA12B6O30A9** 的合成



步骤 1: 化合物 **E12LA12B6O30A9-1** 的合成

按照实施例 16 的方法, 合成 **E12LA12B6O30A9-1**。

步骤 2: 化合物 **E12LA12B6O30A9** 的合成

E12LA12B6O30A9-1 (1.06g, 1mmol, 1.0eq), N,N'-二环己基碳二亚胺 (0.41g, 2mmol, 2.0eq), DMAP (0.12g, 0.1mmol, 0.1eq), 3-二甲氨基丙醇 (0.16g, 1.5mmol, 1.5eq)的二氯甲烷

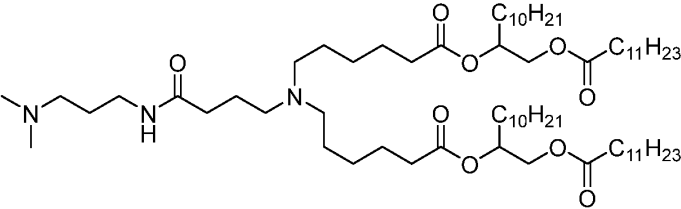
溶液，室温搅拌 4 小时，TLC 显示反应完全，反应液过滤，滤液浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 =50:1 至 10:1)，得到化合物 **E12LA12B6O3A9-1** (0.92g, 80%)，¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 0.86-0.91 (m, 12H), 1.24-1.42 (m, 68H), 1.45-1.72 (m, 20H), 1.84-1.86 (m, 2H), 2.26 (s, 6H),

5 2.30-2.42 (m, 12H), 2.60-2.63 (m, 2H), 3.78-3.81, (m, 2H), 4.01-4.15 (m, 4H), 4.22-4.26 (m, 2H), 5.06-5.12 (m, 2H)。ESI-MS C₆₉H₁₃₃N₂O₁₀⁺ [M+H]⁺ 计算值 1050.0, 实测值 1050.3。

实施例 30 氨基脂质 **E12LA12B6O30A10** 的合成

将实施例 29 中的 3-二甲氨基丙醇替换为 3-二甲氨基丙胺，按照相同的方法可制得氨基脂质 **E12LA12B6O30A10**，其结构式如下：

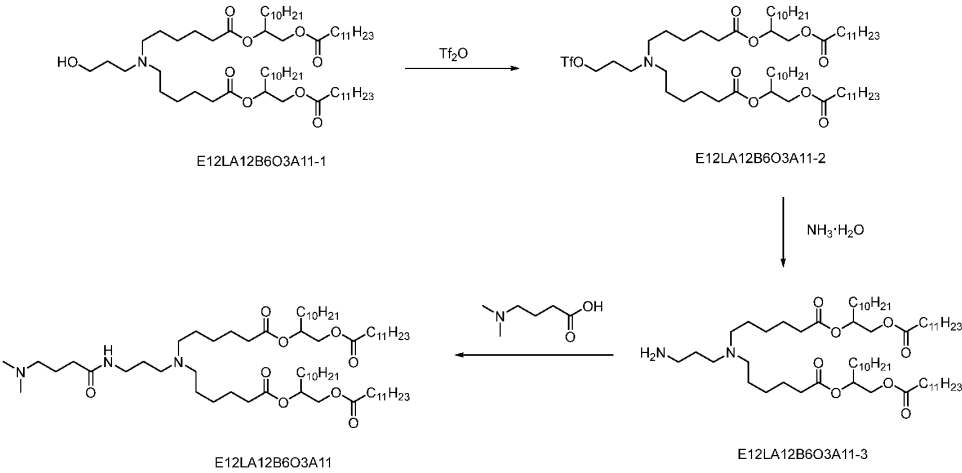
10



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ 0.86-0.91 (m, 12H), 1.24-1.42 (m, 68H), 1.45-1.84 (m, 22H), 2.28 (s, 6H), 2.32-2.44 (m, 12H), 2.60-2.63 (m, 2H), 3.50-3.54, (m, 2H), 3.78-3.82 (m, 2H), 4.00-4.04 (m, 2H), 4.22-4.26 (m, 2H), 5.06-5.12 (m, 2H)。ESI-MS C₆₉H₁₃₄N₃O₉⁺ [M+H]⁺

15 计算值 1149.0, 实测值 1149.0。

实施例 31 氨基脂质 **E12LA12B6O3A11** 的合成



步骤 1: 化合物 **E12LA12B6O3A11-1** 的合成

按照实施例 9 的方法，合成 **E12LA6B6O3A11-1**。

20

步骤 2: 化合物 **E12LA6B6O3A11-1-2** 的合成

取 50mL 圆底烧瓶，抽换气使圆底烧瓶内充满氮气，加入化合物 E12LA6B6O3A11-1(5.18g, 5 mmol, 1.0eq)，无水二氯甲烷(20mL)，将混合物在 0℃下搅拌 10 分钟，滴加三氟甲磺酸酐(2.12g, 7.5 mmol, 1.5eq)，混合物在 0℃下搅拌 10 分钟，加入 2,6 二甲基吡啶(0.80g, 7.5 mmol, 1.5eq)，反应室温搅拌过夜。反应液用水和饱和氯化钠溶液各洗涤一次，使用无水硫酸钠干燥，浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 =50:1 至 20:1)，得到化合物 E12LA6B6O3A11-2(4.38g, 75%)，ESI-MS $C_{64}H_{121}F_3NO_{11}S^+$ $[M+H]^+$ 计算值 1168.9, 实测值 1169.0。

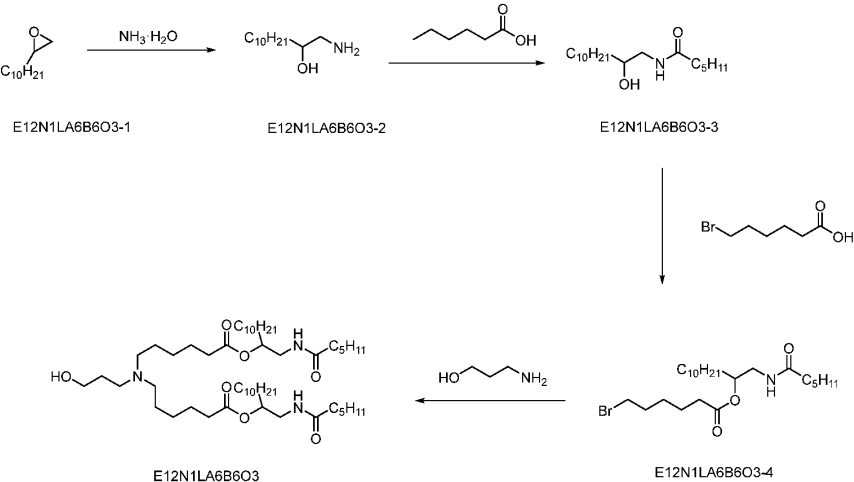
步骤 3: 化合物 E12LA6B6O3A11-3 的合成

取 100mL 耐压瓶,加入 E12LA6B6O3A11-2(4.38g, 3.75mmol, 1.0eq)，20mL 四氢呋喃, 5mL 氨水(质量分数 25%的水溶液)，混合物在 100℃搅拌过夜，反应液用水和饱和氯化钠溶液各洗涤一次，使用无水硫酸钠干燥，浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇=20:1 至 5:1)，得到化合物 E12LA6B6O3A11-3(1.71g, 44%)，ESI-MS $C_{63}H_{123}N_2O_8^+$ $[M+H]^+$ 计算值 1035.9, 实测值 1035.9。

步骤 4: 化合物 E12LA6B6O3A11 的合成

E12LA6B6O3A11-3 (1.71g, 1.65mmol, 1.0eq), N,N'-二环己基碳二亚胺 (0.68g, 3.3mmol, 2.0eq), DMAP (0.20g, 0.16mmol, 0.1eq), 4-二甲氨基丁酸 (0.32g, 2.48mmol, 1.5eq)的二氯甲烷溶液，室温搅拌 4 小时，TLC 显示反应完全，反应液过滤，滤液浓缩后，使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 =50:1 至 10:1)，得到化合物 E12LA6B6O3A11 (1.48g, 78%)， 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 0.85-0.91 (m, 12H), 1.24-1.41 (m, 68H), 1.45-1.82 (m, 22H), 2.27 (s, 6H), 2.32-2.42 (m, 12H), 2.61-2.63 (m, 2H), 3.36-3.42, (m, 2H), 3.77-3.79 (m, 2H), 4.01-4.04 (m, 2H), 4.23-4.26 (m, 2H), 5.04-5.10 (m, 2H)。ESI-MS $C_{69}H_{134}N_3O_9^+$ $[M+H]^+$ 计算值 1049.0, 实测值 1049.1。

实施例 32 氨基脂质 E12N1LA6B6O3 的合成



步骤 1: 化合物 **E12N1LA6B6O3-2** 的合成

1,2 环氧十二烷 (3.69g, 20mmol, 1.0eq), 20mL 氨水(质量分数 25%的水溶液), 乙醇 10mL, 水 10mL, 混合物在 60℃搅拌 16 小时。反应液旋干, 加入 3mL 乙醇和 30mL 正庚烷 60℃打浆 4 小时, 过滤, 滤饼 50℃烘干 10 小时, 得到化合物 **E12N1LA6B6O3-2**(3.46g, 86%), ESI-MS $C_{12}H_{28}NO^+ [M+H]^+$ 计算值 202.2, 实测值 202.2。

步骤 2: 化合物 **E12N1LA6B6O3-3** 的合成

化合物 **E12N1LA6B6O3-2**(3.46g, 17.2mmol, 1.5eq), 己酸(1.34g, 11.5mmol, 1.0eq), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(3.30g, 17.2mmol, 1.5eq), N,N-二异丙基乙胺(2.22g, 17.2mmol, 1.5eq), 4-二甲氨基吡啶(2.10g, 17.2mmol, 1.5eq)的二氯甲烷 (40mL)溶液, 室温搅拌过夜。反应液用二氯甲烷萃取三次, 饱和食盐水洗涤一次, 使用无水硫酸钠干燥, 浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =10:1 至 3:1), 得到化合物 **E12N1LA6B6O3-3**(1.10g, 32%), ESI-MS $C_{18}H_{38}NO_2^+ [M+H]^+$ 计算值 300.3, 实测值 300.2。

步骤 3: 化合物 **E12N1LA6B6O3-4** 的合成

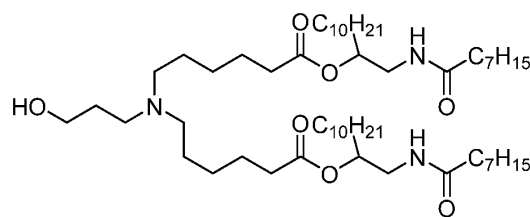
化合物 **E12N1LA6B6O3-3**(1.10g, 3.68 mmol, 1.0eq), 己酸(0.51g, 4.42mmol, 1.2eq), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(1.41g, 7.36mmol, 2.0eq), N,N-二异丙基乙胺(1.90g, 14.2mmol, 4.0eq), 4-二甲氨基吡啶(0.04g, 0.37mmol, 0.1eq)的二氯甲烷 (20mL)溶液, 室温搅拌过夜。TLC 显示反应完全, 反应液用二氯甲烷萃取三次, 饱和食盐水洗涤一次, 使用无水硫酸钠干燥, 浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 20:1), 得到化合物 **E12N1LA6B6O3-4**(1.42g, 81%), ESI-MS $C_{24}H_{47}BrNO_3^+ [M+H]^+$ 计算值 476.3, 实测值 476.3。

步骤 4: 化合物 **E12N1LA6B6O3** 的合成

化合物 **E12N1LA6B6O3-4**(1.42g, 2.99mmol, 3.0eq), 3-氨基丙醇(0.075g, 1.00mmol, 1.0eq), 碳酸钾(0.28g, 2.00mmol, 2.0eq), 碘化钠(0.15g, 1.00mmol, 1.0eq)的乙腈 (10mL)溶液, 75℃搅拌过夜, 反应浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 =100:1 至 20:1), 得到化合物 **E12N1LA6B6O3**(0.68g, 78%)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.86-0.93 (m, 12H), 1.25-1.37 (m, 48H), 1.41-1.69 (m, 16H), 2.14-2.18 (m, 8H), 2.30-2.43 (m, 6H), 3.34-3.48 (m, 4H), 4.90-4.96 (m, 2H)。ESI-MS $C_{51}H_{100}N_3O_7^+ [M+H]^+$ 计算值 866.8, 实测值 866.7。

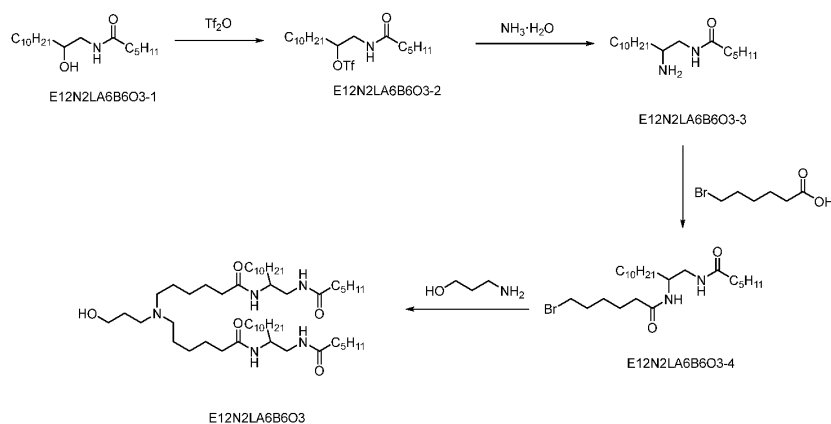
实施例 33 氨基脂质 **E12N1LA8B6O3** 的合成

将实施例 32 中的己酸替换为辛酸,按照相同的方法可制得氨基脂质 **E12N1LA8B6O3**, 其结构式如下:



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 0.86-0.93 (m, 12H), 1.25-1.37 (m, 48H), 1.42-1.70 (m, 18H), 2.14-2.18 (m, 8H), 2.31-2.43 (m, 6H), 3.35-3.48 (m, 4H), 4.90-4.96 (m, 2H)。ESI-MS $\text{C}_{55}\text{H}_{108}\text{N}_3\text{O}_7^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 922.8, 实测值 923.0。

5 实施例 34 氨基脂质 E12N2LA6B6O3 的合成



步骤 1: 化合物 **E12N2LA6B6O3-1** 的合成

按照实施例 32 的步骤 1 和步骤 2, 合成 **E12N2LA6B6O3-1**。

步骤 2: 化合物 **E12N2LA6B6O3-2** 的合成

10 取 50mL 圆底烧瓶, 抽换气使圆底烧瓶内充满氮气, 加入化合物 **E12N2LA6B6O3-1** (1.50g, 5 mmol, 1.0eq), 无水二氯甲烷(20mL), 将混合物在 0℃下搅拌 10 分钟, 滴加三氟甲磺酸酐(2.12g, 7.5 mmol, 1.5eq), 混合物在 0℃下搅拌 10 分钟, 加入 2,6 二甲基吡啶(0.80g, 7.5 mmol, 1.5eq), 反应室温搅拌过夜。反应液用水和饱和氯化钠溶液各洗涤一次, 使用无水硫酸钠干燥, 浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷: 甲醇 =50:1 至 20:1), 得到化合物 **E12N2LA6B6O3-2** (1.51g, 70%), ESI-MS $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{F}_3\text{NO}_4\text{S}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 计算值 432.2, 实测值 432.2。

步骤 3: 化合物 **E12N2LA6B6O3-3** 的合成

20 取 100mL 耐压瓶, 加入 **E12N2LA6B6O3-2** (1.51g, 3.50mmol, 1.0eq), 20mL 四氢呋喃, 5mL 氨水(质量分数 25%的水溶液), 混合物在 100℃搅拌过夜, 反应液用水和饱和氯化钠溶液各洗涤一次, 使用无水硫酸钠干燥, 浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷: 甲醇=20:1 至 5:1), 得到化合物 **E12N2LA6B6O3-3** (0.47g, 45%), ESI-MS $\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$

计算值 299.3, 实测值 299.3。

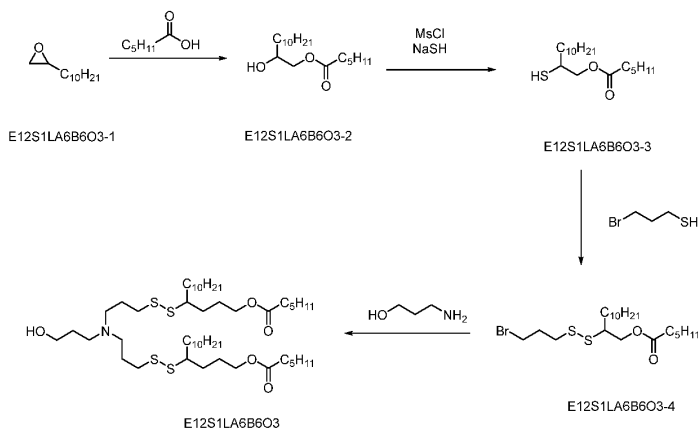
步骤 4: 化合物 **E12N2LA6B6O3-4** 的合成

化合物 **E12N2LA6B6O3-3**(0.74g, 1.58mmol, 3.0eq), N,N'-二环己基碳二亚胺 (0.65g, 3.15mmol, 2.0eq), DMAP (0.20g, 0.16mmol, 0.1eq), N,N-二异丙基乙胺(0.82g, 6.32mmol, 4.0eq), 6-溴己酸 (0.46g, 2.37mmol, 1.5eq)的二氯甲烷溶液, 室温搅拌 4 小时, TLC 显示反应完全, 反应液过滤, 滤液浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯=50:1 至 1:1), 得到化合物 **E12N2LA6B6O3-4** (1.48g, 88%), ESI-MS $C_{24}H_{48}BrN_2O_2^+ [M+H]^+$ 计算值 475.3, 实测值 475.3。

步骤 5: 化合物 **E12N2LA6B6O3** 的合成

化合物 **E12N2LA6B6O3-4** (1.48g, 1.39mmol, 3.0eq), 3-氨基丙醇(0.035g, 0.46mmol, 1.0eq), 碳酸钾(0.13g, 0.92mmol, 2.0eq), 碘化钠(0.069g, 0.46mmol, 1.0eq)的乙腈 (10mL) 溶液, 75℃ 搅拌过夜, 反应浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 =100:1 至 20:1), 得到化合物 **E12N2LA6B6O3**(0.97g, 81%)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.86-0.92 (m, 12H), 1.25-1.37 (m, 42H), 1.41-1.69 (m, 18H), 2.06-2.18 (m, 12H), 2.30-2.42 (m, 4H), 3.32-3.48 (m, 4H), 3.70-3.74 (m, 2H), 4.90-4.96 (m, 2H)。ESI-MS $C_{51}H_{102}N_5O_5^+ [M+H]^+$ 计算值 864.8, 实测值 864.7。

实施例 35 氨基脂质 **E12S1LA6B6O3** 的合成



步骤 1: 化合物 **E12S1LA6B6O3-2** 的合成

在 25 mL 反应管中依次加入三氯化铁(16.2 mg, 0.1mmol, 0.025eq)、吡啶 (4 mg, 0.05mmol, 0.0125eq)、己酸(464 mg, 4.0 mmol, 1.0eq)和 1,2-环氧十二烷(884mg, 4.8 mmol, 1.2 eq), 室温下搅拌反应过夜, 反应结束后, 反应液浓缩, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =50:1 至 10:1), 得到化合物 **E12S1LA6B6O3-2**(1.2 g, 90.0%)。ESI-MS $C_{18}H_{37}O_3^+ [M+H]^+$ 计算值 301.3, 实测值 301.3。

步骤 2: 化合物 **E12S1LA6B6O3-3** 的合成

在 25 mL 反应管中加入 **E12S1LA6B6O3-2**(1.2 g, 3.6mmol, 1.0eq), 三乙胺(0.36 g, 3.6mmol, 1.0eq), 甲磺酰氯(0.49 g, 4.32mmol, 1.2eq), 二氯甲烷 10mL, 混合物室温搅拌 2 小时, 反应液用水和饱和氯化钠溶液各洗涤一次, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩, 加入 10mL N,N-二甲基甲酰胺和硫化氢钠(0.24g, 4.32mmol, 1.2eq), 混合物 45℃搅拌过夜, 反应液用乙酸乙酯萃取三次, 饱和食盐水洗涤一次, 使用无水硫酸钠干燥, 浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 10:1), 得到化合物 **E12S1LA6B6O3-3**(0.69g, 61%), ESI-MS $C_{18}H_{37}O_2S^+ [M+H]^+$ 计算值 317.3, 实测值 317.2。

步骤 3: 化合物 **E12S1LA6B6O3-4** 的合成

在 25 mL 反应管中加入 **E12S1LA6B6O3-3**(0.69g, 2.2mmol, 1.0eq), 二溴海因(0.13 g, 0.44mmol, 0.2eq), 3-溴丙烷-1-硫醇(0.41 g, 2.64mmol, 1.2eq), 二氯甲烷 10mL, 混合物室温搅拌 1 小时, 反应液用乙酸乙酯萃取三次, 饱和食盐水洗涤一次, 使用无水硫酸钠干燥, 浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(正庚烷:乙酸乙酯 =100:1 至 10:1), 得到化合物 **E12S1LA6B6O3-4**(0.70g, 68%), ESI-MS $C_{21}H_{42}BrO_2S_2^+ [M+H]^+$ 计算值 469.2, 实测值 469.2。

步骤 4: 化合物 **E12S1LA6B6O3** 的合成

化合物 **E12S1LA6B6O3-4** (0.70g, 1.50mmol, 3.0eq), 3-氨基丙醇(0.038g, 0.50mmol, 1.0eq), 碳酸钾(0.14g, 1.00mmol, 2.0eq), 碘化钠(0.075g, 0.50mmol, 1.0eq)的乙腈 (10mL) 溶液, 75℃搅拌过夜, 反应浓缩后, 使用快速柱层析系统纯化(二氯甲烷:甲醇 =100:1 至 20:1), 得到化合物 **E12S1LA6B6O3**(1.09g, 80%)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.86-0.91 (m, 12H), 1.25-1.35 (m, 40H), 1.41-1.54 (m, 12H), 1.59-1.67 (m, 10H), 2.09-2.18 (m, 10H), 2.34-2.40 (m, 4H), 2.50-2.54 (m, 2H), 3.64-3.72 (m, 2H), 4.00-4.06 (m, 4H)。 ESI-MS $C_{49}H_{98}NO_5S_4^+ [M+H]^+$ 计算值 908.6, 实测值 908.7。

25 脂质纳米颗粒的制备

实施例 36 脂质纳米颗粒的制备

将本发明的氨基脂质化合物 (或 DLin-MC3 或 SM-102 (均购自艾韦拓 (上海) 医药科技有限公司))、磷脂脂质 (DSPC)、胆固醇、聚乙二醇化脂质 (DMG-PEG2000) 按 47.5:10:41:1.5 的摩尔比混合并溶解在无水乙醇中。使用微流控制备系统使所得的乙醇溶液和溶解有 Luc-mRNA (TriLink) 的柠檬酸缓冲液 (50 mM, pH = 4.0) 以 1:3 的体积比在微流控芯片中混合以制得脂质纳米颗粒的粗溶液, 然后将其用透析盒 (Fisher, MWCO 20,000) 在 1 X PBS、控温 4℃下透析 6 h。使用前再通过 0.22 μm 的微孔滤膜进行过滤。氨基脂质

化合物与萤光素酶 mRNA (Luc mRNA) 的质量比约为 40 : 1。

对所得脂质纳米颗粒进行表征，结果见表 1。

其中，所制备的脂质纳米颗粒的粒径和 PDI (多分散指数) 通过 Nano-ZSZEN3600 (Malvern) 测定。取脂质纳米颗粒 (LNP) 溶液 20 μL 进行粒径测量，循环三次，每次循环 30 s。

包封率测定参照 Quant-iT RiboGreen RNA 试剂盒标准规程进行测定。

表 1 使用代表性氨基脂质化合物制备的 LNP 的表征数据

编号	氨基脂质编号	平均粒径(nm)	PDI	包封率(%)
LNP-1	E8LA8B6O3	84	0.07	90.03
LNP-2	E8LA10B6O3	73	0.09	93.95
LNP-3	E8LA12B6O3	72	0.09	95.67
LNP-4	E10LA6B6O3	92	0.07	95.41
LNP-5	E10LA8B6O3	71	0.11	92.23
LNP-6	E10LA10B6O3	70	0.06	95.90
LNP-7	E12LA6B6O3	75	0.08	98.26
LNP-8	E12LA8B6O3	73	0.10	94.90
LNP-9	E12LA12B6O3	73	0.09	97.5%
LNP-10	E8CA5B6O3	69	0.06	95.8%
LNP-12	E12LA6B6O9	95	0.11	93.2%
LNP-13	E12LA6B6O10	102	0.10	93.0%
LNP-14	E12LA6B6O12	97	0.05	97.6%
LNP-15	E12LA6B6O13	83	0.01	94.4%
LNP-16	E12LA6B6O15	90	0.12	95.2%
LNP-17	E12LA12B6O30	127	0.03	98.2%
LNP-18	E12LA12B6O31	130	0.04	98.4%
LNP-19	K3LA6B6O3	129	0.08	98.8%
LNP-20	K4LA6B6O3	120	0.06	98.9%
LNP-21	K5LA6B6O3	106	0.03	96.2%
LNP-23	E12LA6B6O3A3	53	0.07	94.6%
LNP-24	E12LA6B6O3A4	80	0.03	90.7%
LNP-25	E12LA6B6O3A5	117	0.08	97.8%
LNP-26	E12LA6B6O3A6	103	0.07	98.5%

LNP-27	E8LA6B6O3A6	108	0.07	97.6%
LNP-28	E12LA6B6O3A7	110	0.05	96.5%
LNP-29	E12LA6B6O3A8	124	0.06	95.3%
LNP-30	E12LA12B6O30A9	121	0.14	92.4%
LNP-31	E12LA12B6O30A10	117	0.08	91.8%
LNP-32	E12LA12B6O3A11	132	0.09	95.6%
LNP-33	E12N2LA6B6O3	168	0.06	90.3%
比较 LNP-1	DLin-MC3	72	0.12	89.74
比较 LNP-2	SM-102	79	0.10	94.32

由以上结果可知，本发明提供的脂质纳米颗粒包封率都高于 DLin-MC3，其中绝大多数的脂质纳米颗粒包封率都高于 SM-102。

5 实施例 37 氨基脂质化合物制备的脂质纳米颗粒在 BMDC 原代细胞上的转染

动物准备：选取 6 周龄的雌性 C57BL/6 小鼠，体重在 20 g 左右，饲养环境为 SPF 级的饲养室，动物试验严格按照国家健康机构的指南以及动物伦理要求进行。

细胞获取：把 C57BL/6 小鼠进行脱颈臼处死，并置于 75%酒精中浸泡 5 分钟进行消毒，解剖获取小鼠大腿及小腿胫骨，并把附着的肌肉剔除露出骨质，然后用 1 mL 吸有 PBS 的注射器把胫骨中的骨髓吹出，把所得骨髓吹散后通过 50 μm 滤网滤去杂质，向所得过滤物中加入红细胞裂解液（3~4 mL）后放置 5 分钟后进行 800 g、5 分钟的离心除去上清液，将所得细胞置于 1640 培养基（含 10%胎牛血清、20 ng/mL GMCSF、10 ng/mL IL4）中重悬，并接种于 6 孔板中，接种密度为 100000 个细胞/毫升培养基，放置于 37 °C、含 5%CO₂ 细胞培养箱中，每 2 天进行半换液一次，于第七天收集悬浮细胞和松散贴壁的细胞，并接种到 96 孔全白酶标板接种密度为每孔 20000 个细胞，培养基体积为 100 μL。

细胞转染：向铺有原代细胞的 96 孔全白酶标板中加入包裹萤光素酶 mRNA 的脂质纳米颗粒，控制每孔中的 mRNA 脂质纳米颗粒加入体积为 10 μL。随后放置在 37 °C、含 5% CO₂ 浓度的培养箱中 12 小时。

转染效率检测：往 96 孔全白酶标板中每孔加入 20 μL 底物 ONE-Glo™ Luciferase，1 min 后用多功能酶标仪（Bioek SynergyH1）进行检测。由代表性氨基脂质化合物组成的脂质纳米颗粒（LNP）在 BMDC 上转染 Luc mRNA 的表达强度见表 2，以 DLin-MC3 和 SM0102 作为对照。

表 2 代表性氨基脂质化合物在 BMDC 上的转染的表达强度

序号	氨基脂质编号	荧光强度
LNP-1	E8LA8B6O3	1.3E+05
LNP-2	E8LA10B6O3	5.2E+04
LNP-4	E10LA6B6O3	1.5E+05
LNP-6	E10LA10B6O3	6.9E+04
LNP-7	E12LA6B6O3	1.8E+05
LNP-8	E12LA8B6O3	7.6E+04
LNP-9	E12LA12B6O3	4.1E+05
LNP-10	E8CA5B6O3	2.3E+05
LNP-11	E12LA6B6O3	5.4E+05
LNP-12	E12LA6B6O9	2.2 E+05
LNP-14	E12LA6B6O12	4.9 E+04
LNP-18	E12LA12B6O31	9.6 E+04
LNP-19	K3LA6B6O3	5.4E+05
LNP-20	K4LA6B6O3	4.9 E+05
LNP-21	K5LA6B6O3	4.8E+05
LNP-22	E12LA6B6O3A2	4.0E+05
LNP-25	E12LA6B6O3A5	1.5 E+05
LNP-27	E8LA6B6O3A6	2.8E+05
LNP-28	E12LA6B6O3A7	7.3 E+04
LNP-29	E12LA6B6O3A8	1.9 E+05
LNP-30	E12LA12B6O30A9	2.7 E+05
LNP-31	E12LA12B6O30A10	4.1E+05
LNP-32	E12LA12B6O3A11	1.4E+05
比较 LNP-1	DLin-MC3	4.1E+04
比较 LNP-2	SM-102	1.0E+05

可以看出，本发明提供的氨基脂质表达强度显著优于 DLin-MC3，且其中一些氨基脂质表达强度优于 SM-102。

实施例 38 脂质纳米颗粒的荧光素酶 mRNA 体内递送性能评价

5 脂质纳米颗粒的制备：同实施例 36。

动物实验

动物准备：选取体重约 20 g 的 6 周龄的雌性 C57BL/6 小鼠，于 SPF 级的饲养室中饲养。动物试验严格按照国家健康机构的指南以及动物伦理要求进行。

体内递送：每组随机选取 5 只 C57BL/6 小鼠，按 0.5 mg/kg mRNA 的用量，使用肌肉
10 注射的给药方式注射脂质纳米颗粒溶液。12 小时后，往每只小鼠的腹腔内注射 200 μL 10 mg/mL 的 D-荧光素钾盐，5 分钟后，将小鼠放置于活体成像系统(IVIS-200, Xenogen)下，观察每只小鼠总的荧光强度并拍照记录。代表性氨基脂质化合物组成的 LNP 肌注给药方式递送的 Luc mRNA 的表达强度见表 3，以 DLin-MC3 和 SM-102 作为对照。

表 3 代表性氨基脂质组成的 LNP 肌注给药递送的 Luc mRNA 的表达强度

编号	氨基脂质编号	荧光强度
1	E8LA8B6O3	7.7E+08
2	E10LA6B6O3	1.4E+09
3	E10LA10B6O3	1.2E+09
4	E12LA6B6O3	2.2E+09
5	E12LA8B6O3	8.2E+08
6	E8LA10B6O3	1.6E+09
7	E12LA6B6O10	1.6E+09
8	E10LA8B6O3	1.8E+09
9	E12LA6B6O3A6	1.5E+09
10	K3LA6B6O3	2.0E+09
11	DLin-MC3	7.6 E+08
12	SM-102	1.4E+09

15

实施例 39 氨基脂质化合物制备的脂质纳米颗粒的体内免疫和肿瘤治疗效果评价

制剂方法：将本发明的氨基脂质化合物与 DSPC、胆固醇、DMG-PEG2000 按摩尔比 47.5:10:41:1.5 的比例混合溶解在无水乙醇中。使用微流控制备系统使所得的乙醇溶液和溶解有 OVA-mRNA 的柠檬酸缓冲液（50 mM, pH = 4.0）以 1:3 的体积比在微流控芯片中混

合制得脂质纳米颗粒，再使用透析盒（Fisher，MWCO 20,000）在 1X PBS、控温 4℃下透析 6 h，使用前用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤。氨基脂质化合物与卵清蛋白 mRNA（OVA mRNA）的质量比约为 40：1。

动物准备：选取 5-6 周龄的雌性 C57BL/6 小鼠，体重在 18-20 g 左右，饲养环境为 SPF 级的饲养室动物试验严格按照国家健康机构的指南以及动物伦理要求进行。

体内递送：将 B16-OVA 黑色素瘤细胞（ 1.5×10^5 ）皮下注射到小鼠大腿外侧。当肿瘤大小长到 50 mm³ 时（约在肿瘤接种后第 6 天或第 7 天）开始接种疫苗。通过肌肉注射含有 1 μg OVA-mRNA 的 LNP 制剂对动物进行两次免疫，第二针间隔 7 天。使用数显卡尺每周测量肿瘤生长 3 次，计算公式为 $0.5 \times \text{长度} \times \text{宽度} \times \text{宽度}$ 。当肿瘤体积达到 1500 mm³ 时对小鼠实施安乐死。E12LA6B6O3 组和 E10LA6B6O3 组的肿瘤生长速度显著慢于 MC3 组（如图 2 所示），且分别有 100%（E12LA6B6O3 组）和 80%（E10LA6B6O3 组）的小鼠达到了完全缓解的效果，显著优于 MC3 组（如图 3 所示）。

实施例 40 不同磷脂脂质比例组成 LNP 的荧光素酶 mRNA 体内递送性能评价

脂质纳米颗粒的制备：保持可离子化脂质（E12LA6B6O3）含量为 42.5%、聚乙二醇化脂质 DMG-PEG2000 含量为 1.5%，调整磷脂脂质比例为 15、12.5、10、7.5、5.0、2.5、0，将调整的磷脂脂质摩尔比增加或减少至胆固醇比例上，验证其对脂质纳米颗粒质控评价及荧光素酶 mRNA 体内递送性能影响。各组编号 B1-B7，具体比例见表 4，同时以 ALC-0315 和 SM-102 作为阳性对照。

表 4：不同磷脂脂质下的组分比例

编号	可离子化脂质：磷脂脂质：胆固醇：聚乙二醇化脂质
B1	40：0：58.5：1.5
B2	40：2.5：56：1.5
B3	40：5：53.5：1.5
B4	40：7.5：51：1.5
B5	40：10：48.5：1.5
B6	40：12.5：46：1.5
B7	40：15：43.5：1.5

将 E12LA6B6O3、磷脂脂质（DSPC）、胆固醇、聚乙二醇化脂质 DMG-PEG2000 按表 4 的的摩尔比混合并溶解在无水乙醇中，使用微流控制备系统使所得的乙醇溶液和溶解有 Luc-mRNA（TriLink）的柠檬酸缓冲液（50 mM，pH = 4.0）以 1:3 的体积比在微流控芯

片中混合以制得脂质纳米颗粒的粗溶液，然后将其用透析盒（Fisher，MWCO 20,000）在 1 X PBS、控温 4 ℃下透析 6 h。使用前再通过 0.22 微米的微孔滤膜进行过滤。氨基脂质化合物与萤光素酶 mRNA（Luc mRNA）的碱基摩尔比比约为 6.5：1。在马尔文粒度仪及酶标仪上检测脂质纳米颗粒的质控，同时加入 SM-102 和 ALC-0315（均购自艾韦拓（上海）医药科技有限公司）作为对照组。

动物准备：选取体重约 20g 的 6 周龄的雌性 Balb/C 小鼠，于 SPF 级的饲养室中饲养。动物试验严格按照国家健康机构的指南以及动物伦理要求进行。

体内递送：每组随机选取 3 只 Balb/C 小鼠，按 0.1 mg/kg mRNA 的用量，使用尾静脉注射的给药方式注射脂质纳米颗粒溶液。6 小时后，往每只小鼠的腹腔内注射 150μL 15mg/mL 的 D-萤光素钾盐，10 分钟后，将小鼠放置于活体成像系统(IVIS Spectrum)下，观察每只小鼠总的荧光强度并拍照记录，不同 DSPC 含量组成的 LNP 尾静脉注射给药方式递送的 Luc mRNA 的表达强度见表 5。

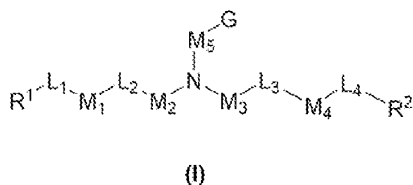
表 5：不同比例磷脂脂质含量组成的 LNP 质控数据及表达强度

编号	磷脂脂质含量%	粒径 (nm)	PDI	包封率 (%)	荧光强度
B1	0	115.2	0.09	93.5	2.86E+11
B2	2.5	106.7	0.09	95.9	2.09E+11
B3	5	97.0	0.11	96.9	2.23E+11
B4	7.5	115.8	0.12	95.6	7.47E+10
B5	10	101.6	0.10	95.9	4.09E+10
B6	12.5	98.1	0.08	95.8	2.33E+10
B7	15	93.9	0.06	96.0	1.34E+10
ALC-0315	10	71.3	0.08	94.1	1.26E+10
SM-102	10	91.9	0.09	96.4	9.86E+9

最后应说明的是：以上实施例仅用以说明本发明的技术方案，而非对其限制；尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明，本领域的普通技术人员应当理解：其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改，或者对其中部分技术特征进行等同替换；而这些修改或者替换，并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的精神和范围。

权利要求书

1、一种氨基脂质，具有通式(I)所示的结构，或其异构体、药学上可接受的盐、前药或溶剂合物：



5

其中，G选自H、OR、CN、-C(=O)OR'、-OC(=O)R'、-C(=O)NR'R''、-NR'C(=O)R''、-NR'R''或至少含有一个杂原子的环状烷基结构；所述环状烷基结构中可被取代的碳原子或杂原子未被取代或被一个或多个羟基、C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₃-C₈环烷基或C₃-C₈环烯基取代；

10 M₁、M₂、M₃、M₄彼此相同或不同，并且各自独立地选自C₁-C₂₄亚烷基、C₃-C₂₄亚环烷基、C₂-C₂₄亚烯基或C₃-C₂₄亚环烯基；

R¹、R²彼此相同或不同，并且各自独立地选自H、C₁-C₂₄烷基、C₃-C₂₄环烷基、C₂-C₂₄烯基或C₃-C₂₄环烯基；

15 L₁、L₂、L₃、L₄彼此相同或不同，并且独立地选自-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-S(=O)-、-OS(=O)₂-、-S(=O)₂O-、-O-、-S-或-S-S-；

R、R'、R''彼此相同或不同，并且各自独立地选自H、C₁-C₁₀烷基、C₃-C₁₀环烷基、C₃-C₁₀烯基、C₃-C₁₀环烯基、末端连接叔胺基的C₁-C₁₀烷基、末端连接叔胺基的C₃-C₁₀环烷基、末端连接叔胺基的C₃-C₁₀烯基、或至少含有一个杂原子的环状烷基，所述环状烷基未被取代或被一个或多个C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₃-C₈环烷基、C₃-C₈环烯基取代；

20 M₅各自独立地选自单键、C₁-C₁₆亚烷基、C₂-C₁₆亚烯基、C₃-C₈亚环烷基或C₃-C₈亚环烯基。

2. 根据权利要求1所述的氨基脂质，其特征在于，G选自H、OR、CN、-C(=O)OR'、-OC(=O)R'、-C(=O)NR'R''、-NR'C(=O)R''、-NR'R''或至少含有一个杂原子的环状烷基结构；所述环状烷基结构可被取代的碳原子或杂原子未被取代或被一个或多个C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₃-C₈环烷基或C₃-C₈环烯基取代；R、R'、R''彼此相同或不同，并且各自独立地选自H、C₁-C₁₀烷基、C₃-C₁₀环烷基、C₃-C₁₀烯基或C₃-C₁₀环烯基、或至少含有一个杂原子的环状烷基，所述环状烷基未被取代或被一个或多个C₁-C₄烷基、C₂-C₄烯基、C₃-C₈环烷基

基、C₃-C₈环烯基取代。

- 3、根据权利要求1或2所述的氨基脂质，其特征在于，通式(I)中，G选自H、OR、CN、-C(=O)OR'、-OC(=O)R'、-C(=O)NR' R''、-NR'C(=O)R''、-NR'R''或至少含有一个杂原子的环状烷基结构；其中杂原子为O或N；所述环状烷基未被取代或被一个或多个C₁-C₄烷基、C₃-C₈环烷基或羟基取代；R、R'、R''彼此相同或不同，并且各自独立地选自H、C₁-C₈烷基、C₃-C₈环烷基、C₃-C₈烯基或C₃-C₈环烯基，末端连接叔胺基的C₁-C₁₀烷基、末端连接叔胺基的C₃-C₁₀环烷基或至少含有一个杂原子的环状烷基，所述环状烷基未被取代或被一个或多个C₁-C₄烷基、C₃-C₈环烷基取代。

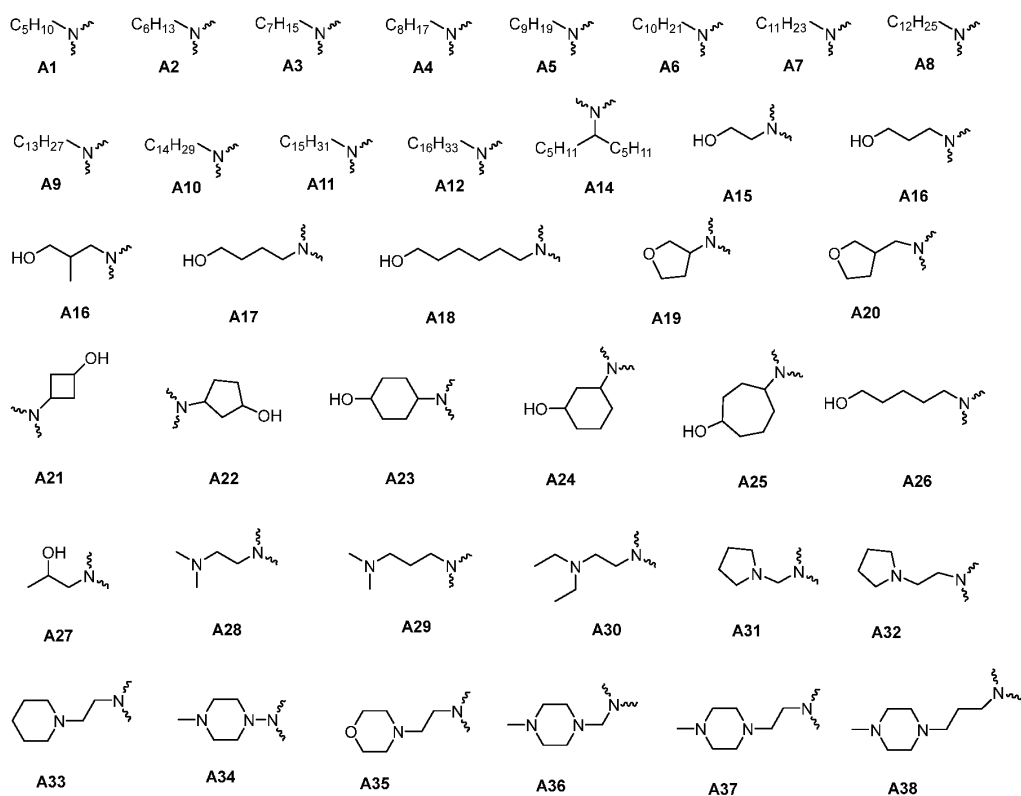
- 4、根据权利要求3所述的氨基脂质，其特征在于，通式(I)中，G选自H、OH或NR'R''，其中R'、R''彼此相同或不同，并且各自独立地选自H或C₁-C₄烷基；

或者，G选自取代或未被取代的氧杂五元环烷基、氮杂五元环烷基、氮杂六元环烷基、双氮杂六元环烷基或氮杂氧杂六元环烷基。

- 5、根据权利要求4所述的氨基脂质，其特征在于，通式(I)中，当G选自取代的双氮杂六元环烷基时，取代基位置为不与M₅相连的氮原子。
- 6、根据权利要求3所述的氨基脂质，其特征在于，通式(I)中，M₅选自单键、C₂-C₁₆亚烷基、C₂-C₁₆亚烯基、C₄-C₈亚环烷基或C₃-C₈亚环烯基。

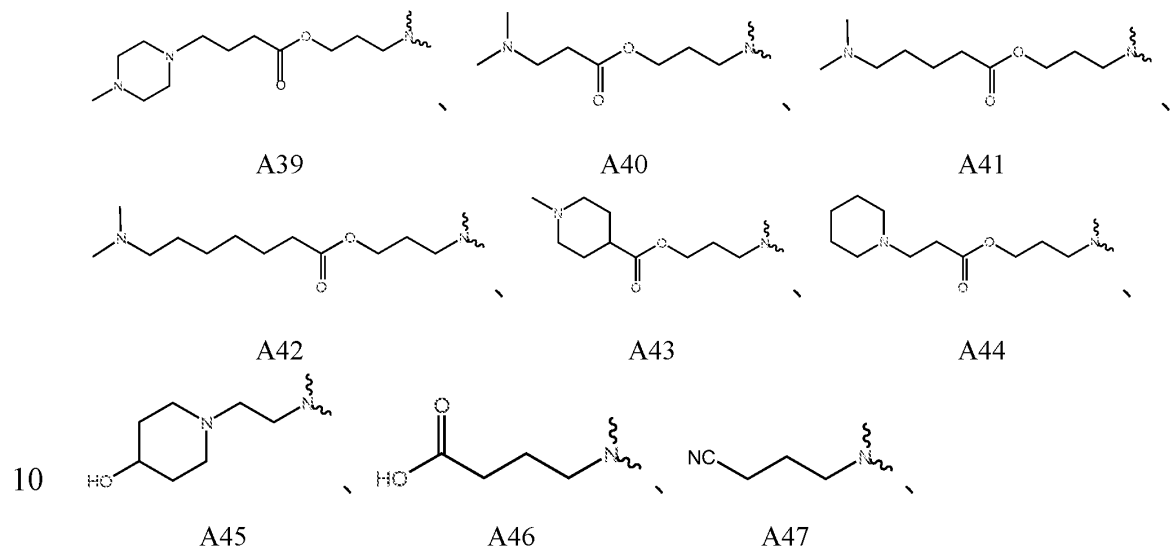
7、根据权利要求6所述的氨基脂质，其特征在于，通式(I)中，M₅选自单键、C₂-C₁₆亚烷基或C₄-C₆亚环烷基。

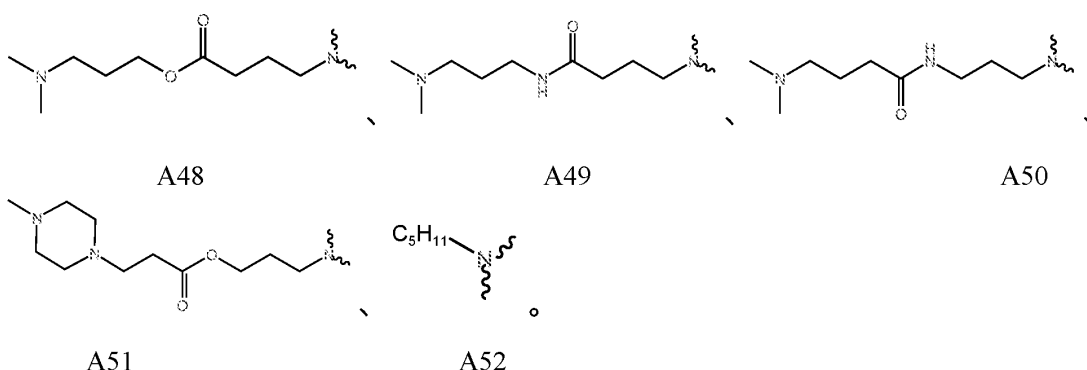
- 8、根据权利要求7所述的氨基脂质，其特征在于，通式(I)中，M₅和G相连形成的
- 20  选自A1~A38中的一种：



9、根据权利要求7所述的氨基脂质，其特征在于，通式(I)中， M_5 和G相连形成的

5 选自 A39~A52 中的一种：





5 10、根据权利要求 8 所述的氨基脂质，其特征在于，所述 $\text{G}-\text{M}_5-\text{N}^{\text{w}}$ 选自 A1-A18、A22-A24、A28-A38 中的一种。

11、根据权利要求 10 所述的氨基脂质，其特征在于，所述 $\text{G}-\text{M}_5-\text{N}^{\text{w}}$ 选自 A15、A16、A17、A23、A29、A30、A33、A37、A38、A42 中的一种。

12、根据权利要求 1-11 任一项所述的氨基脂质，其特征在于，通式 (I) 中， L_1 、 L_2 、 L_3 、 L_4 彼此相同或不同，并且独立地选自 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 或 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 或 $-\text{S}-\text{S}-$ ；

优选的， L_1 与 L_4 相同，且为 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 或 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 。

13、根据权利要求 12 所述的氨基脂质，其特征在于，当 L_1 、 L_2 、 L_3 、 L_4 独立地选自 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}-$ 或 $-\text{NRC}(=\text{O})-$ 时，其中 R 独立地选自 H 或 C_1 - C_{10} 烷基。

14、根据权利要求 1-13 任一项所述的氨基脂质，其特征在于，通式 (I) 中， M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 彼此相同或不同，并且 M_1 和 M_4 各自独立地选自含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烷基、含有支链的 C_4 - C_{22} 亚环烷基、含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烯基或含有支链的 C_4 - C_{22} 亚环烯基， M_2 和 M_3 各自独立地选自 C_4 - C_{22} 亚烷基、 C_4 - C_{22} 亚环烷基、 C_4 - C_{22} 亚烯基或 C_4 - C_{22} 亚环烯基。

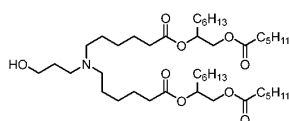
15、根据权利要求 14 所述的氨基脂质，其特征在于，通式 (I) 中， M_2 与 M_3 相同，且为 C_4 - C_{22} 亚烷基；

和/或， M_1 与 M_4 相同，且为含有支链的 C_4 - C_{22} 亚烷基。

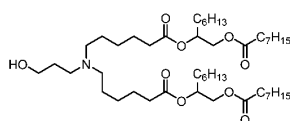
16、根据权利要求 2-15 任一项所述的氨基脂质，其特征在于，通式 (I) 中， R^1 、 R^2 彼此相同或不同，并且各自独立地选自 C_4 - C_{22} 烷基或 C_4 - C_{22} 烯基。

17、根据权利要求 16 所述的氨基脂质，其特征在于，通式 (I) 中， R^1 - L_1 - M_1 - L_2 - M_2 -片段为 $\text{R}^1-\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{M}_1-\text{OC}(=\text{O})-\text{M}_2-$ ， R^2 - L_4 - M_4 - L_3 - M_3 -片段为 $\text{R}^2-\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{M}_4-\text{OC}(=\text{O})-\text{M}_3-$ 。

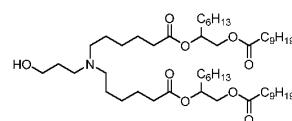
18、根据权利要求 17 所述的氨基脂质，其特征在于，通式 (I) 结构选自以下结构中的一种：



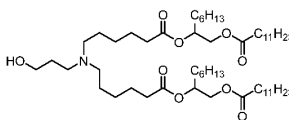
E8LA6B6O3



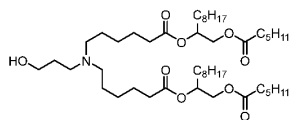
E8LA8B6O3



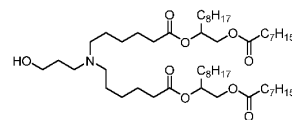
E8LA10B6O3



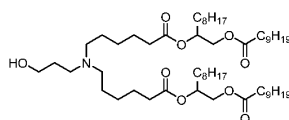
E8LA12B6O3



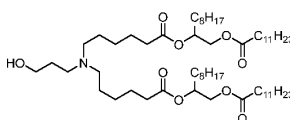
E10LA6B6O3



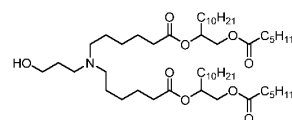
E10LA8B6O3



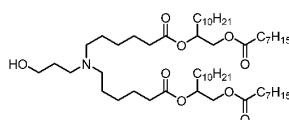
E10LA10B6O3



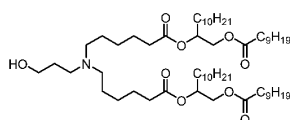
E10LA12B6O3



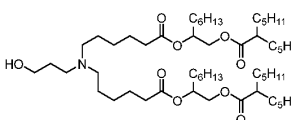
E12LA6B6O3



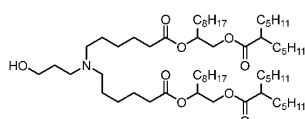
E12LA8B6O3



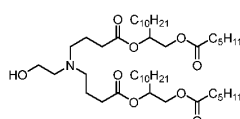
E12LA10B6O3



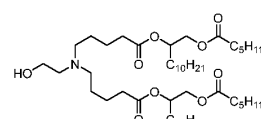
E8CA5B6O3



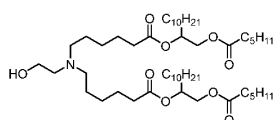
E10CA5B6O3



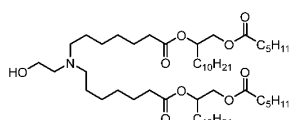
E12LA6B4O2



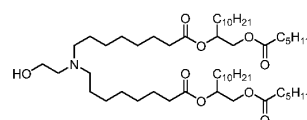
E12LA6B5O2



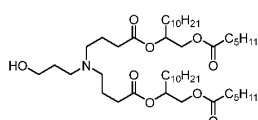
E12LA6B6O2



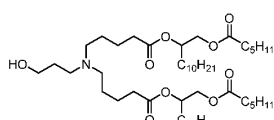
E12LA6B7O2



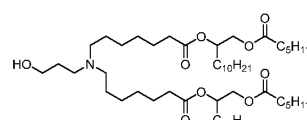
E12LA6B8O2



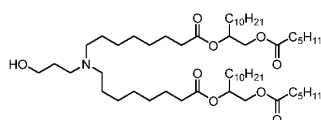
E12LA6B4O3



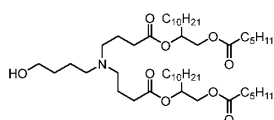
E12LA6B5O3



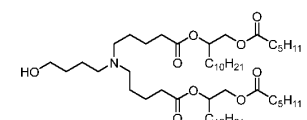
E12LA6B7O3



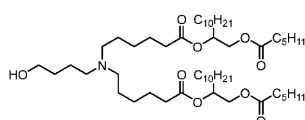
E12LA6B8O3



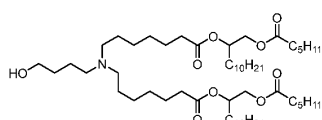
E12LA6B4O4



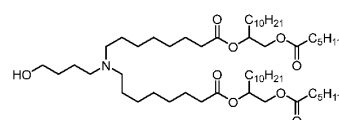
E12LA6B5O4



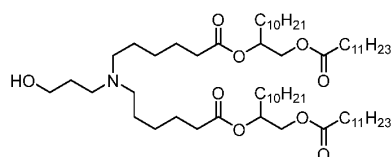
E12LA6B6O4



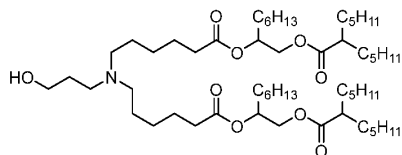
E12LA6B7O4



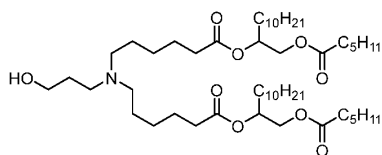
E12LA6B8O4



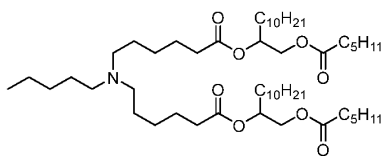
E12LA12B6O3



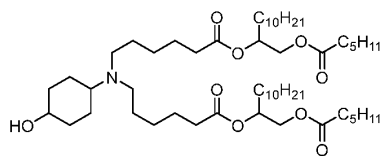
E8CA5B6O3



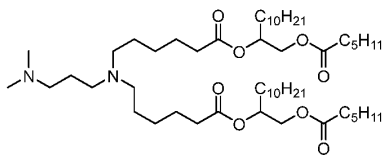
E12LA6B6O3



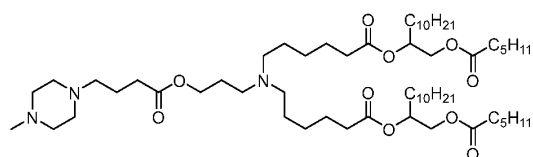
E12LA6B6O9



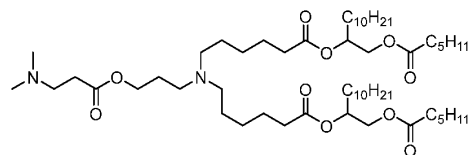
E12LA6B6O10



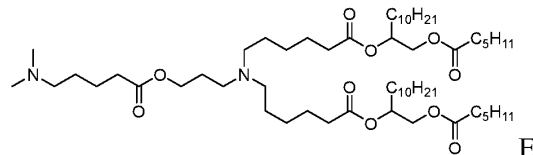
E12LA6B6O12



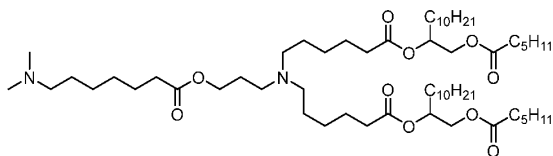
E12LA6B6O3A3



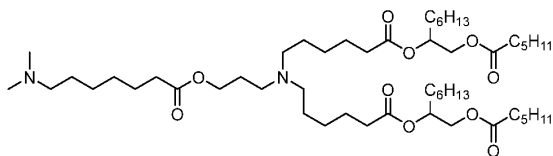
E12LA6B6O3A4



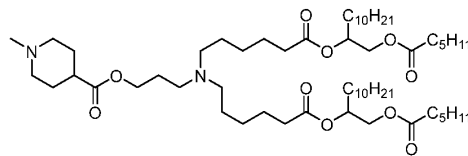
12LA6B6O3A5



E12LA6B6O3A6

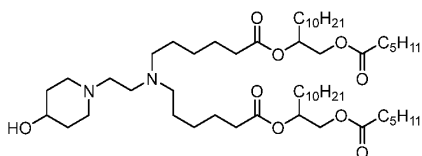


E8LA6B6O3A6

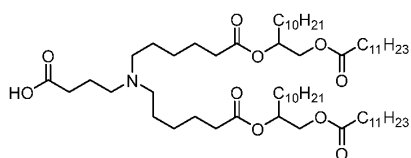


E12LA6B6O3A7

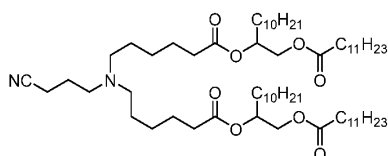
E12LA6B6O13



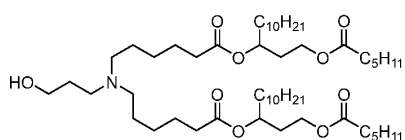
E12LA6B6O15



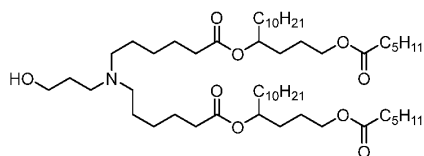
E12LA12B6O30



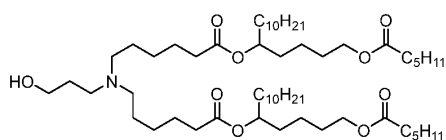
E12LA12B6O31



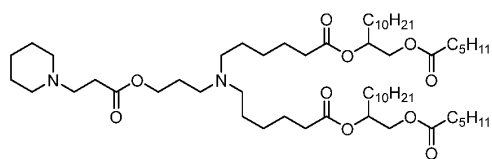
K3LA6B6O3



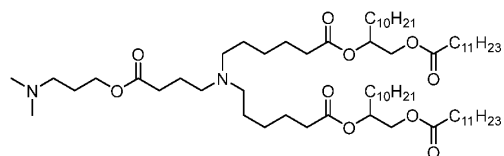
K4LA6B6O3



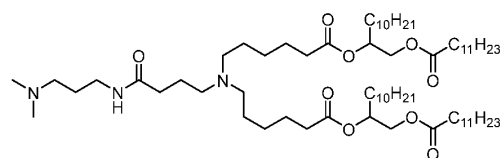
K5LA6B6O3



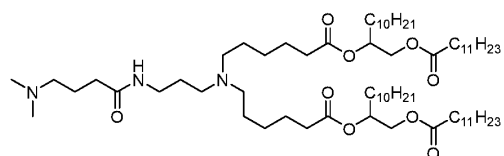
E12LA6B6O3A8



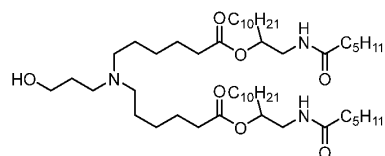
E12LA12B6O30A9



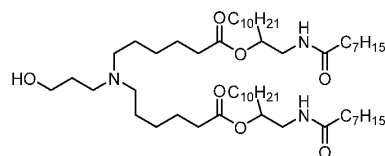
E12LA12B6O30A10



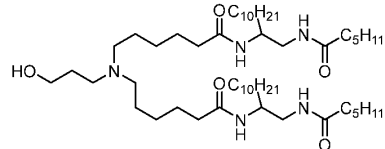
E12LA12B6O3A11



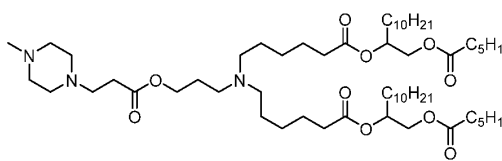
E12N1LA6B6O3



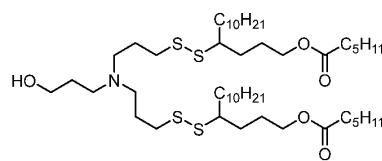
E12N1LA8B6O3



E12N2LA6B6O3



E12LA6B6O3A2



E12S1LA6B6O3

。

19、权利要求 1-18 任一项所述的氨基脂质的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

S1：环氧化合物和羧酸发生开环反应，制备中间体 1 $R^1-L_1-M_1-OH$ ；

5 S2：中间体 1 和羧酸化合物原料在缩合剂下发生缩合反应，制备中间体 2 $R^1-L_1-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；

S3：中间体 2 和氨基化合物原料发生一次或多次取代反应，制备目标产物；

或 S1'：二醇经 TBS 保护后，发生氧化反应，氧化产物与格氏试剂发生加成反应，制备中间体 1' $HO-M_1-OTBS$ ；

10 S2'：中间体 1' 和羧酸化合物原料在缩合剂下发生缩合反应，制备中间体 2' $TBSO-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；

S3'：中间体 2' $TBSO-M_1-L_2-M_2$ -离去基团脱去 TBS 保护，并且与羧酸反应，生成中间体 2 $R^1-L_1-M_1-L_2-M_2$ -离去基团；

S4'：中间体 2 和氨基化合物原料发生一次或多次取代反应，制备目标产物。

20、一种脂质纳米颗粒，其特征在于，包括权利要求 1-18 任一项所述的氨基脂质。

15 21、根据权利要求 20 所述的脂质纳米颗粒，其特征在于，所述脂质纳米颗粒还包括类固醇、中性脂质和/或聚合物结合的脂质；

所述聚合物结合的脂质其化学式为 $P-Y-L$ ，其中 P 是亲水性聚合物部分，Y 是任选的连接物，L 是脂质部分。

22、根据权利要求 21 所述的脂质纳米颗粒，其特征在于，所述类固醇为胆固醇；

20 和/或，所述中性脂质为磷脂；

和/或，所述聚合物结合的脂质为聚乙二醇化脂质。

23、根据权利要求 21 所述的脂质纳米颗粒，其特征在于，所述脂质纳米颗粒中，氨基脂质、类固醇、中性脂质和聚合物结合的脂质的摩尔比为 30-70:30-65:0-30:0.2-5。

24、一种药物组合物，其特征在于，包括权利要求 20-23 中任一项所述的脂质纳米颗粒和药学上可接受的载体。

25 25、一种利用权利要求 1-18 中任一项所述的氨基脂质或权利要求 20-23 中任一项所述的脂质纳米颗粒或权利要求 24 所述的药物组合物治疗或预防传染病、癌症、遗传疾病、

过敏、毒性、自身免疫性疾病的方法。

26、根据权利要求 25 所述的方法，其特征在于，所述癌症包括肺癌、胃癌、肝癌、食管癌、结肠癌、胰腺癌、脑癌、淋巴瘤、血癌和前列腺癌。

5 27、一种利用权利要求 1-18 中任一项所述的氨基脂质或权利要求 20-23 中任一项所述的脂质纳米颗粒或权利要求 24 所述的药物组合物进行基因治疗、基因疫苗接种、反义治疗、核酸转移或通过干扰 RNA 的治疗的方法。

28、权利要求 1-18 中任一项所述的氨基脂质或权利要求 20-23 中任一项所述的脂质纳米颗粒或权利要求 24 所述的药物组合物在制备用于治疗或预防传染病、癌症、遗传疾病、过敏、毒性、自身免疫性疾病药物中的应用。

10 29、根据权利要求 28 所述的应用，其特征在于，所述癌症包括肺癌、胃癌、肝癌、食管癌、结肠癌、胰腺癌、脑癌、淋巴瘤、血癌和前列腺癌。

30、权利要求 1-18 中任一项所述的氨基脂质或权利要求 20-23 中任一项所述的脂质纳米颗粒或权利要求 24 所述的药物组合物在制备用于基因治疗、基因疫苗接种、反义治疗、核酸转移或通过干扰 RNA 的治疗的药物中的应用。

15 31、一种向受试者递送药剂的方法，其特征在于，包括：向受试者施用配制在权利要求 20-23 中任一项所述的脂质纳米颗粒中的药剂。

32、如权利要求 1-18 中任一项所述的氨基脂质，用于治疗或预防传染病、癌症、遗传疾病、过敏、毒性、自身免疫性疾病。