

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年7月6日 (06.07.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/126006 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07C 229/02 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
C07C 227/08 (2006.01) A61K 47/18 (2017.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2023/070008
- (22) 国际申请日: 2023年1月1日 (01.01.2023)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202111678127.5 2021年12月31日 (31.12.2021) CN
- (71) 申请人: 厦门赛诺邦格生物科技股份有限公司 (XIAMEN SINOPEG BIOTECH CO., LTD.) [CN/CN]; 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。

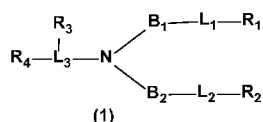
- (72) 发明人: 林昇(LIN, Sheng); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。林铭贵(LIN, Minggui); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。陈丹丹(CHEN,

Dandan); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。王爱兰(WANG, Ailan); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。林聪明(LIN, Congming); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。朱琦(ZHU, Qi); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。翁文桂(WENG, Wengui); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。刘超(LIU, Chao); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。袁金春(YUAN, Jinchun); 中国福建省厦门市火炬高新区翔安产业区建业楼D栋805室, Fujian 361100 (CN)。

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

(54) Title: CATIONIC LIPID CONTAINING FUNCTIONAL GROUP ON SIDE CHAIN, AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种侧链含功能性基团的阳离子脂质及其应用



(57) Abstract: Disclosed are a novel cationic lipid and a PEGylated derivative thereof, and a cationic liposome, cationic liposome nucleic acid pharmaceutical composition, and cationic liposome nucleic acid pharmaceutical composition preparation containing same. Provided in the invention is an ionisable lipid compound with the structure shown in formula (1). The compound is less ionised or electrically neutral at physiological pH, has a greater degree of ionisation under acidic conditions, and has lower systemic toxicity and higher endosomal escape capability; the polar head of the compound has an ionisable tertiary amine group, the side chain may have a functional group, and the tail chain may contain an easily degradable linkage; the cationic liposome containing the compound has higher nucleic acid drug compounding capability and serum stability, no obvious cytotoxicity, and also has high transfection efficiency. Compared with traditional liposomes, the cationic liposome provided in the present invention has higher nucleic acid delivery and transfection efficiency, and can be used as a novel carrier functional reagent in nucleic acid drugs and vaccines.

(57) 摘要: 本发明公开了一种新型的阳离子脂质及其聚乙二醇化衍生物, 以及包含其的阳离子脂质体、阳离子脂质体核酸药物组合物和阳离子脂质体核酸药物组合制剂。本发明提供了一种式(1)所示结构的可电离脂质化合物, 该化合物在生理pH下较少电离或呈电中性, 在偏酸性条件下有较大幅度的电离, 具有较低的体循环毒性和较高的内体逃逸能力; 该化合物的极性头部具有可电离的叔胺基团, 侧链可带有功能性基团, 尾链可含有易降解连接键; 含有该化合物的阳离子脂质体具有较高的核酸药物复合能力、血清稳定性, 无明显细胞毒性, 同时具有高的转染效率。本发明提供的阳离子脂质体与传统脂质体相比, 具有更高的核酸递送与转染效率, 可以作为新型载体功能试剂在核酸类药物、疫苗中进行应用。

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

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚
(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,
HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO,
PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN,
TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 在修改权利要求的期限届满之前进行, 在收到该
修改后将重新公布(细则48.2(h))。

一种侧链含功能性基团的阳离子脂质及其应用

技术领域

本发明属于药物递送领域，具体涉及一种药用载体阳离子脂质，尤其涉及一种侧链含功能性基团的阳离子脂质，以及包含该阳离子脂质的脂质组合物、脂质药物组合物及其制剂和应用。

背景技术

脂质体被广泛用于递送核酸药物、基因疫苗、抗肿瘤药物、小分子药物、多肽药物或蛋白质药物，尤其随着美国食品药品监督管理局（FDA）应对“2019 冠状病毒病”（COVID-19）紧急批准了两款信使核糖核酸（mRNA）疫苗用于接种预防新冠病毒 SARS-CoV-2，负载 mRNA 的脂质纳米粒（lipid nanoparticle, LNP）成为当下热门的递送技术。LNP 除了含有带负电荷的 mRNA 外，还含有可电离的阳离子脂质（ionizable cationic lipids）、中性辅脂质、固醇类脂质和聚乙二醇化脂质四种成分，其中，阳离子脂质通过静电与携带负电荷的 mRNA 相互作用，中性辅脂质一般为磷脂起到防止脂质氧化或将配体连接至脂质体的表面或者减少脂质颗粒的聚集的作用，固醇类脂质有较强的膜融合性，促进 mRNA 胞内摄入和胞质进入；PEG 化脂质位于脂质纳米粒表面，改善其亲水性，避免被免疫系统快速清除，防止颗粒聚集，增加稳定性。制备 LNP 的四种脂质中，最关键的是可电离的阳离子脂质，其在生理条件下不电离或微弱电离而基本呈电中性，避免在体循环中对生物膜造成过多干扰，从而减小毒性，而被细胞摄入后，在内体腔的酸性条件下能电离而带部分正电荷，增加膜渗透性，同时脂质体降解或重组，促进 mRNA 从内体逃逸，释放到细胞质中的 mRNA 进一步翻译，从而完成 mRNA 分子的递送和转染。

许多 LNP 药物制剂已获批上市并用于抗癌、抗真菌、镇痛和疫苗等医疗领域。传统的 LNP 递送系统具有明显局限性，如血液循环时间短、体内稳定性差、药物复合能力差、药效偏低以及针对核酸药物的转染率较低等问题。因此，是否在阳离子脂质的极性头部引入功能性基团，以何种方式引入功能性基团，以及阳离子脂质是否与其他脂质协同发挥作用，都是解决这些问题的重要切入点，尤其是针对纳米粒稳定性和核酸类药物转染效果。

为解决上述问题，需要开发一种新的阳离子脂质及其衍生物。

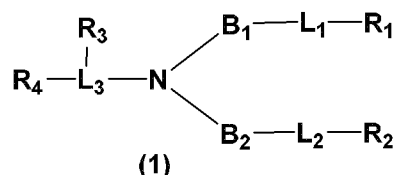
发明内容

本发明提供了新型的阳离子脂质，以及包含该阳离子脂质的脂质组合物、脂质药物组合物及其制剂，用于药物递送领域。本发明的阳离子脂质具有一个可阳离子化的氮支化极性头部，特别地，该极性头部具有包含功能性基团的侧链。用本发明的阳离子脂质制备的脂质组合物，具有较高的核酸药物复合能力和良好的体内稳定性，能够在不造成明显细胞毒性的前提下使核酸类药物充分发挥药效，提高免疫或治疗效果。

本发明的上述目的通过如下技术方案予以实现，

本发明的一种实施方案：

一种阳离子脂质，其特征在于，结构如通式（1）所示：



其中, N 为氮支化中心;

L_1 、 L_2 各自独立地为连接键或二价连接基;

L_3 为三价连接基, 与 R_3 构成侧链为 R_3 的二价连接基- $L_3(R_3)$ -;

B_1 、 B_2 各自独立地为连接键或 C_{1-30} 亚烷基;

R_1 、 R_2 各自独立地为 C_{2-30} 脂肪烃基或含 1-2 个 O 的 C_{2-30} 脂肪烃衍生物残基;

R_3 为 $-OR_d$ 、 $-NR_dR_d$ 、 $-SR_d$ 、 $-(C=O)R_d$ 、 $-(C=O)OR_d$ 、 $-O(C=O)R_d$ 、 $-O(C=O)OR_d$ 或 $\frac{1}{2}(G_1)_j(F_1)_k$; 其中, R_d 每次出现时各自独立地为 C_{1-12} 烷基, G_1 为 $k+1$ 价的支化基团, j 为 0 或 1, F_1 含有功能性基团 R_{01} ; j 为 0 时, G_1 不存在; j 为 1 时, G_1 引出 k 个 F_1 , 且 k 个 F_1 各自独立地为相同或不不同的结构, k 为 2-8 的整数;

R_4 为碳环基、杂环基或 $R'N(R')-R''-N(R')-$; 其中, 杂环基为成环原子含有 1 个、2 个或 2 个以上杂原子的环状基团, 所述杂原子为 B、O、N、Si、P 或 S; 其中, R' 每次出现时各自独立地为 H 或 C_{1-3} 烷基, R'' 为 C_{2-4} 亚烷基;

所述亚烷基、脂肪烃基、脂肪烃衍生物残基、碳环基、杂环基各自独立地为取代的或未取代的;

或其盐、互变异构体、立体异构体或溶剂化物。

本发明还提供了另外一种实施方案:

一种脂质组合物, 包含结构如式 (1) 所示的阳离子脂质。

本发明还提供了另外一种实施方案:

一种脂质药物组合物, 含有脂质组合物和药物, 且所述脂质组合物含有结构如式 (1) 所示的阳离子脂质。

本发明还提供了另一种实施方案:

一种脂质药物组合物制剂, 含有前述的脂质药物组合物和药学上可接受的稀释剂或赋形剂。

与现有技术相比, 本发明具有如下有益效果:

本发明的新型阳离子脂质化合物为极性头部侧链含功能性基团的阳离子脂质, 丰富了阳离子脂质种类, 为脂质纳米粒的构建提供了更多选择, 具体地能应用于核酸药物、抗肿瘤药物、小分子药物、多肽药物或蛋白质药物等的递送, 从而提高这些药物作为预防剂和/或治疗剂的治疗和/或诊断效果。阳离子脂质侧链功能性基团的数量、类型及其位置的选择都是调控脂质纳米粒的细胞摄入效率、不同生理环境下的稳定性、生物分子亲和性、药物结合力以及药物递送效率等性质的重要切入点。特别地, 本发明的阳离子脂质不仅可与常规的聚乙二醇化脂质协同使用, 使脂质纳米粒具有合适尺寸, 优秀的核酸类药物复合能力和药物包封率, 兼备血清稳定性和低毒性, 实现安全高效的核酸类药物递送与转染; 此外, 本发明还提供基于本发明的阳离子脂质衍生的结构相似的聚乙二醇化脂质, 与本发明的阳离子脂质协同使用, 能够进一步提高脂质纳米粒的稳定性以及药物递送效率。

实施方式

术语说明

在本发明中, 除非另外指明, 否则各术语具有以下含义。

本发明中, 除非特别说明, 任两个对象的“选自”/“优选”各自独立, 当具有多级的选自/优选情况时, 任两个对象的选自/优选可以为同级或不同级。例如, “ L_A 、 L_B 各自独立地选自 A、B、C”, 可以是 L_A 、 L_B 均为 A, 也可以是 L_A 为 A 而 L_B 为 B_1 (B_1 为 B 的一种下级情形)。又例如, “ L_A 优选为 A (1 级优选), 更优选为 $A_1 \sim A_3$ (2 级优选),

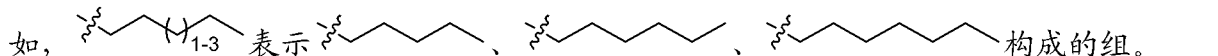
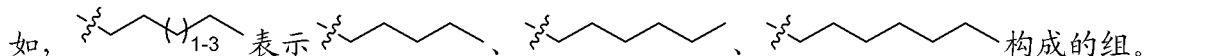
最优选为 A₁₁~A₁₃ (3 级优选), L_B 优选为 B (1 级优选), 更优选为 B₁~B₃ (2 级优选), 最优选为 B₁₁~B₁₃ (3 级优选)”, 优选可以是 A 为 A₁~A₃ (2 级优选) 而 B 为 B₁₁~B₁₃ (3 级优选), 也可以是 A、B 均为 3 级优选。

本发明中, “各自独立地为/选自/优选” 不仅可以指不同类目可以各自独立地为/选自/优选定义里的任一选项, 还可以在加上“每次出现时”表示同一类目在不同位置或不同时间出现时每次独立地为/选自/优选定义里的任一选项, 例如, “二价连接基为 -NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)S-、-C(R_c)=N-NR_c-或-NR_c-N=C(R_c)-; 其中, R_c 每次出现时各自独立地为氢原子或 C₁₋₁₂ 烷基” 这样的说明指出, 在“-NR_c-N=C(R_c)-” 中, 两个 R_c 基团可以相同或不同 (例如, 一个 R_c 为甲基, 另一个 R_c 为氢原子或乙基), 且“-NR_cC(=O)NR_c-” 的任一 R_c 可以和“-NR_cC(=O)O-” 中的 R_c 相同或不同。

本发明中, 当列举了至少两项时, 所列举的项的“组合”指前述列举的项中任两种或任两种以上的组合; 且对项的数量不做限定, 任一项的数量可以为一个或大于一个, 同种项的数量大于 1 时, 可以是满足该项的相同或不同的具体形式。例如, “L 为连接键或选自亚烷基、含杂原子的二价烷基、-O-、-S-、-S-S-、-C(=O)-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-OC(=O)O-、-NH- 中任一种或任一种以上的组合”, L 可以为所列举项中的任一种, 也可以为任两种或任两种以上的组合, 所述组合可以为-CH₂-O-CH₂- (即所列项中-O-和亚烷基的组合, 其中亚烷基的具体形式均为 2 个亚甲基), 也可以为-CH₂-NH-CH₂CH₂- (即所列项中-NH-和亚烷基的组合, 其中亚烷基的具体形式为 1 个亚甲基和 1 个亚乙基)。特别地, 连接键与任意连接基的组合依然为所述连接基本身, 本发明中“连接基”默认含有至少一个原子。

本发明中, 除非特别说明, 否则术语“包括”、“包含”和“含有”以及类似的表述应在本说明书和权利要求书中以开放性和包含性的含义解释为“包括但不限于”或“非限制性地包括”。

本发明中, “包括但不限于”某范围, 指所述范围内的项可选, 但不限定为所述范围的项, 且并非所述范围内的所有结构都适用, 尤其是本发明明确排除的项不在候选之列, 以本发明顺利实施为筛选标准。

本发明中, 数值区间的释义, 既包括短横线标记的数值区间 (如 1-6), 也包括波浪线标记的数值区间 (如 1~6), 还包括“至/到”标记的数值区间 (如, 1 至 6、1 到 6)。在没有特别说明的情况下, 以区间形式标记的区间均可表示该区间范围内所有整数与非整数构成的组, 且该范围包括两个端点。例如, EO 单元平均数选自 22~100, 其选择范围并不限于该区间内的整数, 还可以是任意的非整数。又如, “1-3 中的整数”表示 1、2、3 构成的组。又如, -(CH₂)₁₋₄-表示-CH₂-、-(CH₂)₂-、-(CH₂)₃-、-(CH₂)₄-构成的组。又如,  表示  构成的组。

本发明中的数值范围, 包括但不限于整数、非整数、百分数、分数表示的数值范围, 如无特别说明, 均包括两个端点。




本发明中, 对于聚合物分子量而言, “约”、“左右”一般指 ±10% 的数值范围, 部分情况可放大到 ±15%, 但不超过 ±20%。以预设数值为基数。例如, 11 kDa、12 kDa 与 10 kDa 之间的偏差分别为 10%、20%, “约 10 kDa”包括但不限于 11 kDa 和 12 kDa。又如, 指定通式中某个 PEG 组分的分子量约 5 kDa 时, 允许相应的分子量或数均分子量在 5 kDa ±10%, 也即 4500~5500 Da 的范围内变化。

本发明中, 对于百分数而言, 当给出的数值 (不含百分号) 精确到小数点后第 N 位时, “约”、“左右”一般指 ±(0.5*0.1^N)% 的数值范围。例如, 约 1% 指的是 1 ±(0.5*0.1⁰)% 即 0.5%-1.5% 的范围, 约 2.2% 指的是 2.2 ±(0.5*0.1¹)% 即 2.15%-2.25% 的范围, 约 2.33%

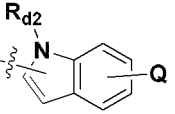
指的是 $2.2 \pm (0.5 * 0.1^2)\%$ 即 2.335%-2.325% 的范围。

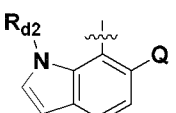
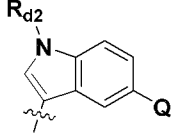
本发明中，聚乙二醇链的聚合度用 n_i 表示 (i 选自 1、2、3、... 的自然数)，同一结构中取值相同的 n_i 可互换表示，例如， $n_2 \approx n_3$ 时，可将 n_2 用 n_3 表示，也可将 n_3 用 n_2 表示。

本发明中的二价连接基，没有特别限定的情况下，其连接其它基团时可选两个连接端中的任一个，例如在 GroupA 和 GroupB 之间以酰胺键作为二价连接基时，未指明特定连接端时，可以为 GroupA-C(=O)NH-GroupB 或 GroupA-NHC(=O)-GroupB。

本发明中，涉及基团的结构表示时，采用“”来标记连接键，如 $G-\text{$ 表示基团-G 或 $G-$ ， $H_3C-\text{$ 表示基团-CH₃ 或 CH₃-。

本发明中，对于从环状结构引出的连接键或基团，当未标记于特定的成环原子，而是指向环内部时，表示该连接键可以从合适的任意成环原子引出，且当被标记的环为并环或稠环结构的一部分时，该连接键可以从所述并环或稠环结构中合适的任意成环原子

引出。如  表示含有任意合理化学连接方式的结构 (包括但不限于

、 等) 所组成的组。

本发明中，基团中的碳原子数范围以下标形式标注在 C 的下标位置，表示该基团具有的碳原子数，除非特别说明，所述碳原子数不含取代基的贡献。例如，C₁₋₁₂ 表示“具有 1 至 12 个碳原子”。又如，C₁₋₁₀ 亚烷基表示碳原子数在下标所示范围中的任一种亚烷基，即 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀ 亚烷基中的任一种，包括但不限于直链的 C₁₋₁₀ 亚烷基 (例如 -(CH₂)₆-) 和支化的 C₁₋₁₀ 亚烷基 (例如 -(CH₂)₃-CH(CH₃)-(CH₂)₃-)。又如，“取代的 C₁₋₁₂ 烷基”指 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈、C₉、C₁₀、C₁₁ 或 C₁₂ 烷基的至少一个氢原子被取代基替换得到的烷基，所述取代基中的碳原子数和杂原子数无特别限制。

本发明中，当涉及到的结构具有同分异构体时，没有特别指定的情况下，可以为其中任一种异构体。例如对于存在顺反异构体的结构，既可以为顺式结构也可以为反式结构；存在 E/Z 异构体的结构，既可以为 E 结构也可以为 Z 结构；有旋光性时可以为左旋或右旋。

本发明中，若本文所描述的结构与该结构的名称之间存在差异，则所描述的结构应具有更大的权重。

本发明中，聚乙二醇及其衍生物的分子量默认指平均分子量，且没有特别规定时，“平均分子量”一般指数均分子量 (M_n)。对于数均分子量，既可以为多分散性嵌段或物质的分子量，也可以为单分散性嵌段或物质的分子量。没有特别写明时，分子量的计量单位为道尔顿 (Da)。还可以用“聚合度”表征聚乙二醇链的分子量大小，具体指其中重复单元 (氧化乙烯基单元) 的数量。相应地，优选“平均聚合度”、“数均聚合度”来表征重复单元数量的平均值、数均值。

本发明中，“任意合适的连接基”、“任意合适的反应性基团”等中的“任意合适的”是指符合化学结构的基本原则，且能够使本发明的制备方法顺利实施的结构。用此方式

描述的化学结构可视为具有清楚的、确定的范围。

本发明中基团的“可稳定存在”和“可降解”是一对相对的概念。

本发明中，“可降解”指发明化学键的断裂，且断裂为彼此独立的至少两个残基。如果经化学变化后改变了结构，但整个连接基仍仅为一个完整的连接基，那么该连接基仍归到“可稳定存在”的范畴。所述可降解的条件没有特别限制，既可为体内生理条件，也可为体外模拟生理环境或其它条件，优选在体内生理条件及体外模拟生理条件。所述生理条件没有特别限制，包括但不限于血清、心、肝、脾、肺、肾、骨骼、肌、脂肪、脑、淋巴结、小肠、生殖腺等部位，可以指细胞内，也可指细胞外基质中，可以指正常生理组织，也可以指病变生理组织（如肿瘤、炎症等）。所述体外模拟环境没有特别限制，包括但不限于生理盐水、缓冲液、培养基等。所述可降解的速度没有特别限制，例如既可以为酶作用下的快速降解，也可以指生理条件下的缓慢水解等。所述的体内生理条件包括治疗时的生理条件，如紫外照射、热疗等情况。包括但不限于在光、热、低温、酶、氧化还原、酸性、碱性、生理条件、体外模拟环境等条件下可降解，优选在光、热、酶、氧化还原、酸性、碱性等条件下可降解。所述可降解指在上述任一条件下的刺激下发生降解。所述光条件包括但不限于可见光、紫外光、红外光、近红外光、中红外光等光照条件。所述热条件指高于正常生理温度，通常指高于 37°C 的温度条件，且通常低于 45°C，优选低于 42°C。所述低温条件指低于人体生理温度，优选低于 25°C，更优选 $\leq 10^{\circ}\text{C}$ ，具体举例如冷藏温度、冷冻温度、液氮治疗温度、2~10°C、4~8°C、4°C、0°C、 $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 等。所述酶条件没有特别限制，生理条件下可生成的酶均包含在内，作为举例，如肽酶、蛋白酶、裂解酶等。所述氧化还原条件没有特别限制，如巯基与二硫键之间的氧化还原转变、氢化还原转变。所述酸性、碱性条件主要指正常组织、病变组织、处于治疗期的器官或组织等体内部位的 pH 条件，比如胃为酸性条件，肿瘤部位也往往偏酸性。这里的可降解指可通过体内代谢作用发生降解（如生理作用、如酶、如氧化还原等）、在体内特定部位因微环境刺激而发生降解（如酸性、碱性）、或在临床治疗刺激下发生降解（如光、如热、如低温）等。需要说明的是，有机化学中相对于生物体而言的一些极端条件，如强酸、强碱、高温（如 100°C 以上）等条件下的键断裂，并不包括在本发明的可降解条件的范畴。又如，虽然醚键可在如氢溴酸的强酸条件下发生断裂，但本发明中始终将其归为可稳定存在的连接基。

本发明中，“可稳定存在”指连接基能保持作为一个完整的连接基存在（一个连接基与其相邻的基团稳定地共价相连接），则定义为“可稳定存在”，其中，允许发生能保持连接基完整性的化学变化。所述化学变化没有特别限制，包括但不限于异构化转变、氧化、还原、离子化、质子化、去质子化、取代反应等。可稳定存在的条件没有特别限制，包括但不限于光、热、低温、酶、氧化还原、中性、酸性、碱性、生理条件、体外模拟环境等条件下可稳定存在，优选在光、热、酶、氧化还原、酸性、碱性等条件下可稳定存在。这里的稳定存在指不进行特殊刺激（如特殊部位的 pH 条件、治疗时的光、热、低温等）的条件下，在体内代谢循环中可保持稳定的连接，不因发生链的断裂而导致分子量降低（只要仍能保持整体性）。

本发明中，对同一个连接基而言，“可稳定存在”并非绝对的概念，比如酰胺键在酸性或碱性条件下比酯键要稳定得多，本发明中的“可稳定存在”的连接基包含了酰胺键。但是，比如肽键，由一分子氨基酸的 α -羧基和一分子氨基酸的 α -氨基脱水缩合形成的一种酰胺键，当遇到特定酶作用时，则可以断裂，因此也包括在“可降解”的连接基中。同样地，氨基甲酸酯基、硫代氨基甲酸酯基等既可以为可稳定存在的连接基，也可以为可降解的连接基。更普遍地，氨基甲酸酯基、硫代氨基甲酸酯基等更倾向会发生缓慢降解，而非肽键的酰胺键则在体内循环过程中可稳定存在。又如常见的酯键可在酸、

碱条件下降解，而包含在特殊结构中的酯键还可在紫外光条件下发生降解。又比如，即使某些化学键在特定酶作用下能发生降解，但如果其在临床使用时，如果循环路径不经过或者基本不经过该特定酶环境（比如定点给药的情况下），相应的化学键仍可以视为是可稳定存在的。

本发明中，所有通式化合物应被理解为包括所述通式化合物的盐。所用术语“盐”选自与无机和/或有机酸形成的酸加成盐和与无机和/或有机碱形成的碱加成盐中的任一种、任二种或者任二种以上的组合。当通式化合物含有碱性部分（例如但不限于吡啶或咪唑）和酸性部分（例如但不限于羧酸），可以形成两性离子（“内盐”）并包括在所用术语“盐”中。“盐”可以是药学上可接受的（即，无毒、生理学上可接受的）盐，也可以是其他盐。通式化合物的盐可通过所述通式化合物与一定量（诸如当量）的酸或碱在诸如盐沉淀的介质中或在水性介质中反应然后冻干而形成。示例性的酸加成盐包括醋酸盐、己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、葡庚酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、草酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、磺酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、十一烷酸盐等；示例性碱加成盐包括铵盐、碱金属盐（诸如钠盐、锂盐和钾盐）、碱土金属盐（诸如钙盐和镁盐）、具有有机碱（例如有机胺）的盐以及具有氨基酸（诸如精氨酸或赖氨酸）的盐。碱性含氮基团可用以下试剂进行季铵化，诸如低级烷基卤化物（例如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物）、二烷基硫酸盐（例如二甲基、二乙基、二丁基和二戊基硫酸盐）、长链卤化物（例如，癸基、月桂基、十四烷基和硬脂基氯化物、溴化物和碘化物）、芳基烷基卤化物（例如，苄基和苯乙基溴化物）及其他。所述酸加成盐和碱加成盐均优选为药学上可接受的盐，并且出于本公开的目的，均被认为等同于对应的通式化合物的游离形式。

本发明中的杂原子没有特别限定，包括但不限于 O、S、N、P、Si、F、Cl、Br、I、B 等。

本发明中，相对于化合物，失去部分原子或基团后形成的基团也称为残基。

本发明中，价态大于或等于 2 的基团统称为“连接基”。连接基可以只含有一个原子，如醚基（-O-）、硫醚基（-S-）。特别地，当某个基团的定义包含“连接键”时，表示该基团可以不包含任何原子且仅起连接作用。

本发明中，关于基团的价态，“多价”指价态至少为 3。

本发明中，二价连接基中的“基”可以替换为“键”，而不改变意义。例如，二价醚基也可称为醚键（-O-），二价的酯基也可以称为酯键（-OC(=O)-或-C(=O)O-），二价的氨基甲酸酯基也可称为氨基甲酸酯键（-OC(=O)NH-或-NHC(=O)O-）。

本发明中，当取代基所含原子数为 1 时，也可称为“取代原子”。

本发明中，所述化合物或基团为“取代的”时，意指所述化合物或所述基团含有一个或多个取代基。

本发明中，除非特别说明，“氨基”与“胺基”意义相同，包括一价、二价、三价、四价的中性基团或阳离子基团，取代的或未取代的。例如， $\text{CH}_3\text{-NH}_2$ 中的 -NH_2 可以称为“氨基”、“胺基”或“伯胺基”。又如， $\text{CH}_3\text{-NH-CH}_3$ 中的 -NH- 可以称为“仲胺基”或“仲氨基”，其中的 -NH-CH_3 也可以理解为甲基取代的胺基。

本发明中，“胺基”包括但不限于伯胺基、仲胺基、叔胺基和季铵离子。例如， $\text{-NR}_1\text{R}_2$ 和 $\text{-N}^+\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3$ ，其中每个 R_i 各自独立地为氢原子或任意烃基结构。

本发明中，未指明价态时，“烃基”可以为一价烃基、二价烃基、三价烃基、...、n价烃基，其中n为所述烃基能具备的最高价态。

本发明中，“亚烃基”为二价烃基。

本发明中的仲胺键、联氨键指“-NH-”或“-NH-NH-”两端均被烃基封端，如-CH₂-NH-CH₂-和-CH₂-NH-NH-CH₂-；而如-C(=O)-NH-则称为酰胺键，不视为含有仲胺键。

本发明中，“官能团”也即“功能性基团”，优选反应性基团、被保护的反应性基团、反应性基团的前体等等。“多元”指官能团的数量至少为3，如多元醇指至少含3个羟基的化合物，多元硫醇指至少含3个巯基的化合物，等。需要说明的是，允许还含有异质的其他类型的官能团，比如三(羟甲基)氨基甲烷为还含有一个氨基的三元醇，柠檬酸为还含有一个羟基的三元羧酸。

本发明的制备方法，除非特别说明，反应性基团还包含其被保护形式，所述被保护形式可在实际制备过程的任一合适步骤中进行脱保护得到相应的活性形式。

本发明中，成环原子为共同构成环骨架的原子。

本发明中，“生物相关物质”包括但不限于文献CN104877127A、WO/2016/206540A、CN106967213A、CN108530637A、CN108530617A及各引用文献中所描述、列举及引用的物质。概括地，生物相关物质包括但不限于以下物质：药物、蛋白质、多肽、寡肽、蛋白模拟物、片段及类似物、酶、抗原、抗体及其片段、受体、小分子药物、核苷、核苷酸、寡核苷酸、反义寡核苷酸、多核苷酸、核酸、适配体、多糖、蛋白多糖、糖蛋白、类固醇、甾类化合物、脂类化合物、激素、维生素、磷脂、糖脂、染料、荧光物质、靶向因子、靶向分子、细胞因子、神经递质、细胞外基质物质、植物或动物提取物、病毒、疫苗、细胞、囊泡、脂质体、胶束等。所述生物相关物质可以为生物相关物质自身，也可以其前体、激活态、衍生物、异构体、突变体、类似物、模拟物、多晶型物、药物学上可接受的盐、融合蛋白、化学改性物质、基因重组物质等，还可以为相应的激动剂、激活剂、活化剂、抑制剂、拮抗剂、调节剂、受体、配体或配基、抗体及其片段、作用酶（如激酶、水解酶、裂解酶、氧化还原酶、异构酶、转移酶、脱氨酶、脱亚胺酶、转化酶、合成酶等）、酶的底物（如凝血级联蛋白酶底物等）等。所述衍生物包括但不限于甙类、核苷类、氨基酸类、多肽类衍生物。形成新的反应性基团的化学修饰产物，即对反应性基团进行改性而改变类型、额外引入功能性基团、反应性基团、氨基酸或氨基酸衍生物、多肽等结构后生成的改性产物，均属于生物相关物质的化学改性物质。生物相关物质在与官能化聚乙二醇结合之前或之后，还允许有与其结合的目标分子、附属物或递送载体，形成改性的生物相关物质或复合的生物相关物质。其中，所述药物学上可接受的盐，既可以为无机盐，如盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐，也可以为有机盐，如草酸盐、苹果酸盐、柠檬酸盐等。其中，本发明中的“药物”包括在体内或体外提供生理或药理作用的任何药剂、化合物、组合物或混合物，且往往提供的是有益效果。其种类没有特别限制，包括但不限于药物、疫苗、抗体、维生素、食品、食品添加剂、营养剂、营养保健品及其它提供有益效果的药剂。所述“药物”在体内产生生理或药理作用的范围没有特别限制，可以为全身效果，也可以只在局部产生效果。所述“药物”的活性没有特别限制，主要为能够与其它物质发生相互作用的活性物质，也可以为不发生相互作用的惰性物质；但惰性的药物可通过体内作用或一定刺激转变为活性形式。其中，“小分子药物”为分子量不超过1000 Da的生物相关物质，或任一生物相关物质的小分子拟态物或活性片段。

本发明中，除非特别说明，“单糖基”即单糖残基，也即单糖骨架，包括开链式单糖基、也包括环状单糖基（如呋喃糖环、吡喃糖环）。

本发明中的单糖基，可以选自包括但不限于单糖、糖醇、脱氧糖、氨基糖、氨基糖

衍生物（如酰胺衍生物）、糖酸、糖苷中任一种化合物的残基，可以为开链结构或环状结构。如氨基糖脱除一个氨基氢原子后形成的氨基残基，又如糖酸脱除羧羟基后形成的酰基等。所述单糖可以包括但不限于醛糖（多羟基醛）、酮糖（多羟基酮）。如烷基醚衍生物，甲基醚衍生物，举例如白雀木醇。本发明中单糖基的碳原子数无特别限制，包括但不限于丁糖、戊糖、己糖、庚糖。优选戊糖、己糖。其中，丁糖、戊糖、己糖、庚糖、糖醇、脱氧糖、氨基糖、氨基糖的酰胺衍生物、糖酸、糖苷等的举例包括但不限于 CN106967213A 中公开的结构。

本发明中的“微修饰”，指经过简单的化学反应过程即可完成的化学修饰过程。所述简单的化学反应过程主要指保护、脱保护、盐络合、解络合、离子化、质子化、去质子化或改变离去基团等化学反应过程。

本发明中，“微变化形式”与“微修饰”相对应，指经历保护、脱保护、盐络合、解络合、离子化、质子化、去质子化或改变离去基团等简单的化学反应过程后能形成目标反应性基团的结构形式。所述改变离去基团，即离去基团的转变，例如但不限于酯形式向酰氯形式的转变。

本发明中的一些具体实施方案中，反应过程中还涉及相关基团的“保护”和“脱保护”过程。为防止某反应性基团对反应产生影响，通常对该反应性基团进行保护。本发明中的一些具体实施方案中，反应性基团为 2 个以上时，选择性地仅使目标反应性基团进行反应，因此对其他反应性基团进行保护。保护基不仅在目标反应进行过程中保持稳定，根据需要，可以通过本领域常规技术手段去除。

本发明中，反应性基团的“保护”，意指通过特定试剂将所要保护的反应性基团可逆地转化为惰性基团（非反应性基团）的策略。被保护的基团中，区别于未保护形式的部分称为“保护基”。例如，-OTBS 是羟基（-OH）的一种被保护形式，其中 TBS 为羟基的保护基。

本发明中，“脱保护”和“去保护”意义相同，皆指将被保护的基团从被保护形式转变为未保护形式的过程。

本发明中，“羟基保护基”包含可作为通常的羟基的保护基而使用的所有的基团。羟基保护基，优选为烷酰基（例如乙酰基、叔丁酰基）、芳烷酰基（例如苄酰基）、苄基、三苯甲基、三甲基硅基、叔丁基二甲硅基、烯丙基、缩醛基或缩酮基。乙酰基的脱去一般在碱性条件下进行，最常用的是 NH_3/MeOH 的氨解和甲醇阴离子催化的甲醇解；苄基在中性溶液中室温下钨催化氢解很容易除去苄基，也可用金属钠在乙醇或液氨中还原裂去；三苯甲基一般是通过催化氢解除去；三甲基硅基通常使用含氟离子的试剂（如四丁基氟化胺/无水 THF 等）除去；叔丁基二甲硅基较为稳定，能够承受醇性氢氧化钾的酯水解条件以及温和的还原条件（如 $\text{Zn}/\text{CH}_3\text{OH}$ 等），可用氟离子（如 $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$ ）在四氢呋喃溶液中脱去，也可用含水乙酸于室温下脱去。二醇的保护，优选形成二氧戊环、二氧六环、环状碳酸酯或环状硼酸酯。

本发明中，“巯基保护基”包含可作为通常的巯基的保护基而使用的所有的基团。与羟基类似，巯基可以硫醚和硫酯的形式来保护。巯基保护基，优选为叔丁基、苄基、取代的苄基、二苯甲基、取代的二苯甲基、三苯甲基、乙酰基、苯甲酰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基、硫代缩醛基或硫代缩酮基。硫醚的去保护可在酸催化下用 Na/NH_3 还原或用重金属离子如 Ag^+ 、 Hg^+ 反应，再用硫化氢处理即可。有些基团包括 S-二苯基甲基、S-三苯基甲基硫醚、S-2-四氢吡喃基、S-异丁氧甲基的半巯基缩醛，可用 $(\text{SCN})_2$ 、碘或亚硫酸氯氧化成二硫醚，接着再还原成硫醇。硫酯的形成及去保护方法与羧酸酯相同。

本发明中，“羧基保护基”是指能通过水解、羧基保护基的去保护反应而转化为羧基的保护基。羧基保护基，优选为烷基（例如甲基、乙基、叔丁基）或芳烷基（例如苄

基), 更优选为叔丁基 (tBu)、甲基 (Me) 或乙基 (Et)。本发明中, “被保护的羧基”是指羧基被适合的羧基保护基保护后所形成的基团, 优选为甲氧羰基、乙氧羰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基。所述羧基保护基可以在酸或碱的催化下水解除去, 偶尔也可用热解反应消除, 例如叔丁基可以在温和的酸性条件下除去, 苄基可以通过氢解脱去。脱除羧基保护基的试剂选自 TFA、H₂O、LiOH、NaOH、KOH、MeOH、EtOH 及其组合, 优选为 TFA 和 H₂O 的组合、LiOH 和 MeOH 的组合、或 LiOH 和 EtOH 的组合。被保护的羧基脱保护, 从而产生相应的游离酸, 所述脱保护在碱存在下进行, 所述碱和由所述脱保护形成的所述游离酸形成药学可接受的盐。

本发明中, “氨基保护基”等同于“胺基保护基”, 包含可作为通常的氨基/胺基的保护基而使用的所有的基, 例如芳基 C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基 C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基、芳基氧基羰基、C₁₋₆烷基磺酰基、芳基磺酰基或甲硅烷基等。氨基保护基优选为 Boc (叔丁氧羰基)、Moz (对甲氧基苄氧羰基) 及 Fmoc (9-芴亚甲氧羰基)。脱除氨基保护基的试剂选自 TFA、H₂O、LiOH、MeOH、EtOH 及其组合, 优选为 TFA 和 H₂O 的组合、LiOH 和 MeOH 的组合、或 LiOH 和 EtOH 的组合。脱除 Boc 保护的试剂为 TFA 或 HCl/EA; 优选 TFA。脱除 Fmoc 保护所用的脱保护剂为含 20% 吡啶的 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 溶液。

本发明中, “炔基保护基”包含可作为通常的炔基的保护基而使用的所有的基, 优选为三甲基硅基 (TMS)、三乙基硅基、叔丁基二甲基硅基 (TBS) 或联苯基二甲基硅基。TMS 保护的炔基在碱性条件下容易完成脱保护, 如 K₂CO₃/MeOH 或 KOH/MeOH。TBS 保护的炔基在四正丁基氟化铵的四氢呋喃溶液中 (TBAF/THF) 可脱除保护基。

本发明中, 被羟基保护基保护的羟基没有特别限制, 例如可以为醇羟基、酚羟基等的羟基; 被氨基保护基保护的氨基/胺基没有特别限制, 例如可以来自伯胺、仲胺、联胺、酰胺等。本发明中胺基没有特别限制, 包括但不限于伯胺基、仲胺基、叔胺基、季铵离子。

本发明中, 聚乙二醇组分的重复单元为氧化乙烯基单元, 即 -CH₂CH₂O- 或 -OCH₂CH₂-, 也记为“EO 单元”, 重复单元的数量也记为 EO 单元数, 重复单元的平均数也记为 EO 单元平均数, 且优选数均平均数。

本发明中, 对于多分散性情况, 化合物单个分子的分子量/聚合度、宏观物质中化合物组分的数均分子量/数均聚合度的“相等”或“相同”或“等于”(包括其他形式的等价表达), 在没有特别指定的情况下, 并不限定在数值上严格相等, 而是指数值相接近或近似相等, 所述相接近或近似相等优选偏差不超过 ±10%, 通常以预设数值为基数。

本发明中, 对于单分散性情况, 单个化合物分子及通式中氧化乙烯基单元数相同或相等是指在数值上严格相等; 例如设定某个 PEG 组分的 EO 单元数为 11, 则等于 12 的设定值不落在设定范畴; 但对于为了获得含设定 EO 单元数的化合物组分, 而采用一定制备方法获得的宏观产物, 由于制备方法、纯化方法的限制, 可能导致该宏观产物中还含有除目标 EO 单元数组分之外的其他 EO 单元数组分, 此时当 EO 单元平均数偏离预设的 EO 单元数不超过 ±5% (基数 ≥ 10) 或者不超过 ±0.5 (基数 < 10) 时, 视为获得了含目标组分的单分散性宏观产物; 此外, 当符合 EO 单元数或 EO 单元平均数范围的组分含量达到一定百分比时 (优选 ≥ 90%, 更优选 > 95%, 更优选大于 96%, 更优选大于 98%, 更优选 99% ~ 100%), 也视为获得了含目标组分的单分散性宏观产物; 即使未达到上述的含量比例, 只要采用了本发明的制备方法或采用基本相同的制备思路的类似方法, 因故获得的含量不足的产品、以主产品、联产品或副产品形式出现的组分, 不论是否进行分离纯化, 均在本发明的范围内。

本发明中, 当用 Da、kDa、重复单元数、EO 单元数描述多分散组分的化合物通式

的分子量时，对于单个化合物分子，分子量数值允许落在给定数值的一定范围内（包括端点，优选 $\pm 10\%$ 范围内）；用氧化乙烯基单元数描述单分散组分的化合物通式的预设分子量时，则无范围波动，为离散点，但其制备产物可能因分子量不均一而使EO单元平均数在一定范围范围内波动（不超过 $\pm 10\%$ 或 ± 1 ，优选不超过 $\pm 5\%$ 或 ± 0.5 ）。例如mPEG（甲氧基聚乙二醇单元）的分子量为5 kDa，指通式中单个分子的分子量数值在4500~5500 Da之间，对应的制备产物相应组分的平均分子量为5 kDa，也即平均分子量的数值在4500~5500 Da之间时的产物为目标产物，且分子量落在该范围的组分才对目标组分的含量有贡献；又如设计mPEG具有22个氧化乙烯基单元，则通式中所有化合物分子的EO单元数均应当严格为22，但制备产物可能是20、21、22、23、24个EO单元的化合物的混合物，此时EO单元的平均数落在 22 ± 2.2 范围内（优选在 22 ± 1.1 范围内）时则视为获得目标组分，而分子量落在该数值范围内的组分均可视为目标组分用以计算纯度。

本发明中，除非特别说明，“mPEG”为甲氧基封端的聚乙二醇链段，其结构式为

$$\text{H}_3\text{C}-\left(\text{OCH}_2\text{CH}_2\right)_{n_i}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\left(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}\right)_{n_i}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$$

或

$$\text{H}_3\text{C}-\left(\text{OCH}_2\text{CH}_2\right)_{n_i}-\text{O}-\left(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}\right)_{n_i}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$$

，其中， n_i 为聚乙二醇链的聚合度。

本发明中，产物PDI <1.005 即可视为单分散性，可记为PDI = 1。

本发明中，“单链组分”中的重复单元个数至少为4。

本发明中，“脂质”又称“脂类”（lipid），包括但不限于脂肪酸的酯，并且以通常在水中有较差的溶解性，但可溶于许多非极性有机物中为特征。尽管脂质通常在水中具有较差的溶解度，但是某些类别的脂质（例如，被极性基团修饰的脂质如DMG-PEG2000）具有有限的水溶性，并且在某些条件下可以溶解于水中。脂质的已知类型包括生物分子，例如脂肪酸、蜡、固醇、脂溶性维生素（如维生素A、D、E和K）、单酸甘油酯、二酸甘油酯、三酸甘油酯和磷脂。

本发明中，脂质包括单纯酯类、复合酯类和衍生脂质。所述单纯酯类为脂肪酸与醇所组成的酯类，它又可分为脂、油及腊三小类。所述复合酯类即“类脂质化合物”，也称为“类脂质”或“类脂”（lipoid），包括磷脂、鞘脂类、糖脂、类固醇及固醇、脂蛋白类。所述衍生脂质，包括简单脂质衍生物和复合脂质衍生物，具有脂质的一般性质。

本发明中，脂质可以是合成的或衍生（分离或修饰）自天然来源或化合物。

本发明中，“脂质纳米粒”或“LNP”（lipid nanoparticle）是指包含一种或多种类型的脂质分子的纳米量级（如1 nm至1000 nm）颗粒。本发明中，LNP可以进一步包含至少一种非脂质有效载荷分子（如，一种或多种核酸分子）。在一些实施方案中，LNP包含部分或完全包封在脂质壳内部的非脂质有效载荷分子。特别地，在一些实施方案中，其中有效载荷是带负电荷的分子（如，编码病毒蛋白的mRNA），并且LNP的脂质组分包含至少一种阳离子脂质和至少一种聚乙二醇化脂质。可以预期的是，阳离子脂质可以与带负电荷的有效负载分子相互作用，并在LNP形成过程中促进有效负载掺入和/或封装到LNP中。如本文提供的，可以形成LNP的一部分的其他脂质包括但不限于中性脂质和类固醇脂质。

本发明中，“阳离子”是指相应的结构永久地、或非永久地能响应某些条件（例如pH）而带有正电荷。因此，阳离子既包括永久性阳离子，也包括可阳离子化的。永久性阳离子是指相应的化合物或基团或原子在其环境的任何pH值或氢离子活性下均带正电荷。典型地，因季氮原子的存在而产生正电荷。当化合物携带多个这样的正电荷时，它可以被称为永久性阳离子。可阳离子化的是指化合物或基团或原子在较低pH下带正电荷并且在其环境的较高pH下不带电荷。另外，在不能测定pH值的非水性环境中，可阳离子化的化合物、基团或原子在高氢离子浓度下带正电荷并且在低氢离子浓度或活性

下不带电荷。它取决于可阳离子化的或可聚阳离子化的化合物的各个性质，特别是相应的可阳离子化基团或原子的 pKa，在所述 pH 或氢离子浓度下它带电荷或不带电荷。在稀释的水性环境中，可以使用所谓的海森巴赫（Henderson-Hasselbalch）方程来估计带有正电荷的可阳离子化的化合物、基团或原子的分率，该方程是本领域技术人员公知的。在一些实施方案中，可阳离子化的化合物的整体或部分在生理 pH 值（例如约 7.0-7.4）下带正电荷。在一些优选的实施方案中，可阳离子化的化合物的整体或部分在生理 pH 值（例如约 7.0-7.4）下是中性的，但在较低 pH 值（例如约 5.5 至 6.5）下带正电荷。在一些实施方案中，可阳离子化的化合物的整体或部分的 pKa 优选范围是约 5 至约 7。

本发明中，“阳离子脂质”是指在其所处环境的任何 pH 值或氢离子活性下带正电荷的脂质，或能够响应其所处环境（例如其预期使用环境）的 pH 值或氢离子活性而带正电荷的脂质。因此，术语“阳离子”涵盖“永久阳离子”和“可阳离子化的”的范围。在一些实施方案中，阳离子脂质中的正电荷源自季氮原子的存在。在一些实施方案中，阳离子脂质包括两性离子脂质，该两性离子脂质在其预期施用的环境中（例如，在内体 pH 下）带正电荷。在一些实施方案中，如果某脂质体中含有可阳离子化脂质，则优选的是，它在约 1 至 9，优选地 4 至 9.5 至 8 或 6 至 8 的 pH 值下，最优选地在内体（endosome）pH 值（例如约 5.5 至 6.5）下，其中约 1% 至 100% 的可阳离子化脂质发生阳离子化。阳离子脂质包括但不限于 N,N-二油基-N,N-氯化二甲铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-溴化二甲铵(DDAB)、N-(1-(2,3-二油酰氧基)丙基)-N,N,N-氯化三甲铵(DOTAP)、N-(1-(2,3-二油基氧基)丙基)-N,N,N-氯化三甲铵(DOTMA)、N,N-二甲基-2,3-二油基氧基丙胺(DODMA)、3-(双十二烷基氨基)-N1,N1,4-三-十二烷基-1-哌嗪乙胺(KL10)、N1-[2-(双十二烷基氨基)乙基]-N1,N4,N4-三-十二烷基-1,4-哌嗪二乙胺(KL22)、14,25-双十三烷基-15,18,21,24-四氮杂-三十八烷(KL25)、1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基氨基丙烷(DLin-DMA)、2,2-二亚油基-4-二甲基氨基甲基-[1,3]-二氧杂环戊烷(DLin-K-DMA)、4-(二甲基氨基)丁酸三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基酯(DLin-MC3-DMA)、2,2-二亚油基-4-(2-二甲基氨基乙基)-[1,3]-二氧杂环戊烷(DLin-KC2-DMA)、CN113402405A 公开的阳离子脂质中任一种及其混合物。

本发明中，“聚乙二醇化脂质”指包含脂质部分和聚乙二醇部分的分子，根据结构可分为线性聚乙二醇化脂质和非线性聚乙二醇化脂质。聚乙二醇化脂质除了本发明所述的聚乙二醇化脂质，还包括但不限于聚乙二醇-1,2 二肉豆蔻酸甘油酯（PEG-DMG）、聚乙二醇-二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺（PEG-DSPE）、PEG-胆固醇、聚乙二醇-二酰基甘油（PEG-DAG）、聚乙二醇-二烷氧基丙基（PEG-DAA），具体地包括聚乙二醇 500-二棕榈酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇 2000-二棕榈酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇 500-硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 2000-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 500-1,2-油酰基磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 2000-1,2-油酰基磷脂酰乙醇胺和聚乙二醇 2000-2,3-二肉豆蔻酰甘油（PEG-DMG）等。

本发明中，“中性脂质”指在选定的 pH 下以无电荷或中性两性离子形式存在的许多脂质物质中的任一种，优选为磷脂。此类脂质包括但不限于 1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（DLPC）、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（MPC）、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（DOPC）、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（DPPC）、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（DSPC）、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（DUPC）、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（POPC）、1,2-二-O-十八碳烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（18:0 Diether PC）、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（OChemPC）、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱（C16 Lyso PC）、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-

二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺 (DOPE)、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺 (ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐 (DOPG)、二油酰基磷脂酰丝氨酸 (DOPS)、二棕榈酰基磷脂酰甘油 (DPPG)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺 (POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰-乙醇胺 (DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺 (DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺 (DMPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-硬脂酰乙醇胺 (SOPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱 (SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱和溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE) 中任一种及其组合物。中性脂质可以是合成的或天然来源的。

本发明中，“类固醇脂质”选自胆固醇、粪固醇、谷固醇、麦角固醇、菜油固醇、豆固醇、菜籽固醇、番茄碱、熊果酸、 α -生育酚中任一种及其混合物。

本发明中的脂质体，含有聚乙二醇化脂质时可以称为“聚乙二醇化脂质体”，含有阳离子脂质时可称为“阳离子脂质体”，同时含有聚乙二醇化脂质和阳离子脂质时，既可称为“聚乙二醇化脂质体”也可称为“阳离子脂质体”。

本发明中，“阳离子脂质体”为含有阳离子脂质的脂质体，可同时含有其他类型的脂质（包括但不限于聚乙二醇化脂质、中性脂质、类固醇脂质等）。

本发明中，“N/P 比”是指阳离子脂质中的氮原子与核酸中磷酸的摩尔比。

本发明中，“核酸”是指 DNA 或 RNA 或其修饰的形式，其包含在 DNA 中存在的嘌呤或嘧啶碱基（腺嘌呤“A”，胞嘧啶“C”，鸟嘌呤“G”，胸腺嘧啶“T”）或在 RNA 中存在的嘌呤或嘧啶碱基（腺嘌呤“A”，胞嘧啶“C”，鸟嘌呤“G”，尿嘧啶“U”）。

本发明中，“RNA”是指可能天然存在或非天然存在的核糖核酸。例如，RNA 可以包括修饰过的和/或非天然存在的组分，如一个或多个核碱基、核苷、核苷酸或连接子。RNA 可以包括帽结构、链终止核苷、茎环、聚腺苷酸序列和/或聚腺苷酸化信号。RNA 可以具有编码所关注多肽的核苷酸序列。例如，RNA 可以是信使 RNA(mRNA)。翻译编码特定多肽的 mRNA，例如在哺乳动物细胞内部体内翻译 mRNA 可以产生编码的多肽。RNA 可以选自由以下组成的非限制性组：小干扰 RNA(siRNA)、不对称干扰 RNA(aiRNA)、微 RNA(miRNA)、Dicer-底物 RNA(dsRNA)、小发夹 RNA(shRNA)、mRNA、单链向导 RNA(sgRNA)、cas9 mRNA 及其混合物。

本发明中，反义寡核苷酸或小干扰 RNA(siRNA)可以在体外或体内抑制靶基因和靶蛋白质的表达。

本发明中，FLuc mRNA 能表达荧光素酶蛋白，其在荧光素底物的存在下发射出生物光，所以 FLuc 常用于哺乳动物细胞培养以测量基因表达和细胞活性。

本发明中，“抑制靶基因的表达”指核酸沉默、减少或抑制靶基因表达的能力。为检验基因沉默的程度，使测试样品（例如，表达靶基因的培养基中的细胞样品）接触抑制靶基因表达的核酸。将测试样品或测试动物中的靶基因的表达与未接触或未施用核酸的对照样品（例如，表达靶基因的培养基中的细胞样品）中的靶基因的表达相比较。对照样品中的靶基因的表达可以指定为 100% 的值。在特定的实施方案中，当测试样品中的靶基因表达水平相对于对照样品或对照哺乳动物中的靶基因表达水平为约 95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5% 或 0% 时，即实现了抑制靶基因的表达。

本发明中，确定靶基因表达水平的方法包括但不限于斑点印迹、northern 印迹、原位

杂交、ELISA、免疫沉淀、酶作用以及表型测定。

本发明中，“转染”是指将一个物种（例如 RNA）引入细胞中。转染可以例如在体外、离体或体内发生。

本发明中，“抗原”典型地是指可以被免疫系统识别，优选地被适应性免疫系统识别，并且能够触发抗原特异性免疫应答，例如通过作为适应性免疫应答的一部分形成抗体和/或抗原特异性 T 细胞的物质。典型地，抗原可以是或可以包含可以由 MHC 呈递给 T 细胞的肽或蛋白。在本发明的意义上，抗原可以是所提供的核酸分子（优选地如本文所定义的 mRNA）的翻译产物。在此上下文中，包含至少一个表位的肽和蛋白的片段、变体和衍生物也被理解为抗原。

本发明中，“递送”是指将实体提供至目标。例如，将药物和/或治疗剂和/或预防剂递送至受试者，所述受试者为人类和/或其它动物的组织和/或细胞。

本发明中“药学上可接受的载体”是指与治疗剂一同给药的稀释剂、辅剂、赋形剂或媒介物，并且其在合理的医学判断的范围内适于接触人类和/或其它动物的组织而没有过度的毒性、刺激、过敏反应或与合理的益处/风险比相应的其它问题或并发症。在本发明的药物组合物中可使用的药学上可接受的载体包括但不限于无菌液体，例如水和油，包括那些石油、动物、植物或合成来源的油，例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当所述药物组合物通过静脉内给药时，水是示例性载体。还可以使用生理盐水和葡萄糖及甘油水溶液作为液体载体，特别是用于注射液。适合的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽糖、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙二醇、水、乙醇等。所述组合物还可以视需要包含少量的湿润剂、乳化剂或 pH 缓冲剂。口服制剂可以包含标准载体，如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。具体地，例如赋形剂包括但不限于抗黏附剂、抗氧化剂、黏合剂、包衣、压缩助剂、崩解剂、染料（色素）、缓和剂、乳化剂、填充剂（稀释剂）、成膜剂或包衣、调味剂、香料、助流剂（流动增强剂）、润滑剂、防腐剂、印刷墨水、吸附剂、悬浮剂或分散剂、甜味剂以及水合用水。更具体地赋形剂包括但不限于丁基化羟基甲苯（BHT）、碳酸钙、磷酸氢二钙、硬脂酸钙、交联羧甲基纤维素钠、交联聚乙烯吡咯烷酮、柠檬酸、交联聚维酮（crospovidone）、半胱氨酸、乙基纤维素、明胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乳糖、硬脂酸镁、麦芽糖醇、甘露糖醇、甲硫氨酸、甲基纤维素、对羟基苯甲酸甲酯、微晶纤维素、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚维酮、预胶化淀粉、对羟基苯甲酸苯酯、视黄醇棕榈酸酯、虫胶、二氧化硅、羧甲基纤维素钠、柠檬酸钠、羟基乙酸淀粉钠、山梨糖醇、淀粉（玉米）、硬脂酸、蔗糖、滑石、二氧化钛、维生素 A、维生素 E（ α -生育酚）、维生素 C、木糖醇。

本发明的药物组合物可以系统地作用和/或局部地作用。为此目的，它们可以适合的途径给药，例如通过注射（如静脉内、动脉内、皮下、腹膜内、肌内注射，包括滴注）或经皮给药；或通过口服、含服、经鼻、透粘膜、局部、以眼用制剂的形式或通过吸入给药。对于这些给药途径，可以适合的剂型给药本发明的药物组合物。所述剂型包括但不限于片剂、胶囊剂、锭剂、硬糖剂、散剂、喷雾剂、乳膏剂、软膏剂、栓剂、凝胶剂、糊剂、洗剂、软膏剂、水性混悬剂、可注射溶液剂、酞剂、糖浆剂。

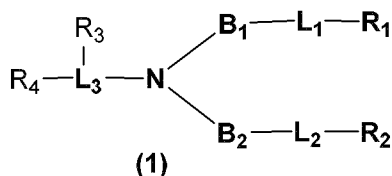
本发明中，疫苗为提供至少一种抗原或抗原功能的预防性或治疗性材料。抗原或抗原功能可以刺激身体的适应性免疫系统提供适应性免疫应答。

本发明，治疗，是指为了抵御疾病、障碍或病症而对患者进行的处理和护理，意在包括延迟疾病、障碍或病症的进展，减轻或缓和症状和并发症，和/或治愈或消除疾病、障碍或病症。待治疗的患者优选哺乳动物，尤其是人。

1. 阳离子脂质

本发明的一种实施方案:

一种阳离子脂质, 其特征在于, 结构如通式(1)所示:



其中, N 为氮支化中心;

L₁、L₂ 各自独立地为连接键或二价连接基;

L₃ 为三价连接基, 与 R₃ 构成侧链为 R₃ 的二价连接基-L₃(R₃)-;

B₁、B₂ 各自独立地为连接键或 C₁₋₃₀ 亚烷基;

R₁、R₂ 各自独立地为 C₂₋₃₀ 脂肪烃基或含 1-2 个 O 的 C₂₋₃₀ 脂肪烃衍生物残基;

R₃ 为 -OR_d、-NR_dR_d、-SR_d、-(C=O)R_d、-(C=O)OR_d、-O(C=O)R_d、-O(C=O)OR_d 或 $\frac{1}{j}(\text{G}_1)_j(\text{F}_1)_k$; 其中, R_d 每次出现时各自独立地为 C₁₋₁₂ 烷基, G₁ 为 k+1 价的支化基团, j 为 0 或 1, F₁ 含有功能性基团 R₀₁; j 为 0 时, G₁ 不存在; j 为 1 时, G₁ 引出 k 个 F₁, 且 k 个 F₁ 各自独立地为相同或不不同的结构, k 为 2-8 的整数;

R₄ 为碳环基、杂环基或 R'¹N(R'¹)-R''-N(R'¹)-; 其中, 杂环基为成环原子含有 1 个、2 个或 2 个以上杂原子的环状基团, 所述杂原子为 B、O、N、Si、P 或 S; 其中, R'¹ 每次出现时各自独立地为 H 或 C₁₋₃ 烷基, R'' 为 C₂₋₄ 亚烷基;

所述亚烷基、脂肪烃基、脂肪烃衍生物残基、碳环基、杂环基各自独立地为取代的或未取代的;

或其盐、互变异构体、立体异构体或溶剂化物。

1.1. 可稳定存在的二价连接基和可降解的二价连接基

本发明中, 除非特别说明, 任一种二价连接基本身或其与相邻杂原子基团组成的二价连接基既可以是可稳定存在的连接基 (STAG), 也可以是可降解的连接基 (DEGG)。

(1) 可稳定存在的二价连接基 (STAG)

STAG 可稳定存在的条件没有特别限制, 在包括但不限于光、热、低温、酶、氧化还原、酸性、碱性条件、生理条件、体外模拟环境等任一条件下可稳定存在, 优选在光、热、酶、氧化还原、酸性、碱性等任一条件下可稳定存在。

STAG 的类型没有特别限制, 包括但不限于亚烷基、二价杂烷基、双键、三键、二价二烯基、二价环烷基、二价环烯基、二价环烯烃基、二价环炔烃基、芳环、脂杂环、杂苯环、芳并杂环、杂稠杂环、取代的亚烷基、取代的杂烷基、取代的二价杂烷基、取代的双键、取代的三键、取代的二烯、取代的二价环烷基、取代的二价环烯基、取代的二价环烯烃基、取代的二价环炔烃基、取代的芳环、取代的脂杂环、取代的杂苯环、取代的芳并杂环、取代的杂稠杂环、醚键、硫醚键、脲键、硫脲键、氨基甲酸酯基、硫代氨基甲酸酯基、-P(=O)-、不含活泼氢的二价硅基、含硼原子的二价连接基、仲氨基、叔氨基、羰基、硫代羰基、酰胺基、硫代酰胺基、磺酰胺基、烯胺基、三氮唑、4,5-二氢异恶唑、氨基酸及其衍生物骨架中任一种二价连接基、任两种或任两种以上基团构成的稳定二价连接基。

具体地, STAG 包括但不限于文献 CN104530413A、CN104530415A、CN104530417A 中所描述及列举的结构。以 CN104530417A 为例, 对应段[0627]~[0704]。两种或两种以上可稳定存在的二价连接基组合成 STAG 的方式没有特别限制, 包括但不限于

CN104530417A 的段[704]。

(2) 本发明中可降解的二价连接基 (DEGG)

DEGG 可降解的条件没有特别限制, 在包括但不限于光、热、低温、酶、氧化还原、酸性、碱性、生理条件、体外模拟环境等任一条件下可降解, 优选在光、热、酶、氧化还原、酸性、碱性等任一条件下可降解。

由任一种 DEGG 与任一种 STAG 组合而成的二价连接基仍为一种可降解的连接基。对于含芳环的可降解的二价连接基, 还可由芳环与可降解的二价连接基组合而成。

DEGG 的类型没有特别限制, 包括但不限于含有二硫键、乙烯醚键、酯基、硫酯基、硫代酯基、二硫代酯基、碳酸酯基、硫代碳酸酯基、二硫代碳酸酯基、三硫代碳酸酯基、氨基甲酸酯基、硫代氨基甲酸酯基、二硫代氨基甲酸酯基、缩醛、环缩醛、缩硫醛、氮杂缩醛、氮杂环缩醛、氮硫杂缩醛、二硫代缩醛、半缩醛、硫代半缩醛、氮杂半缩醛、缩酮、缩硫酮、氮杂缩酮、氮杂环缩酮、氮硫杂缩酮、亚胺键、胺键、酰胺键、脲键、硫脲基、半卡巴脲键、硫代半卡巴脲键、胍基、酰胍基、硫代碳酰胍基、偶氮羰酰胍基、硫代偶氮羰酰胍基、胍基甲酸酯基、胍基硫代甲酸酯基、卡巴胍、硫代卡巴胍、偶氮基、异脲基、异硫脲基、脲基甲酸酯基、硫脲基甲酸酯基、胍基、脒基、氨基胍基、氨基脒基、亚氨基基、亚氨基硫酯基、磺酸酯基、亚磺酸酯基、磺酰胍基、磺酰脲基、马来酰亚胺、原酸酯基、磷酸酯基、亚磷酸酯基、次磷酸酯基、膦酸酯基、磷硅烷酯基、硅烷酯基、碳酰胺、硫代酰胺、磺酰胺基、聚酰胺、磷酰胺、亚磷酰胺、焦磷酰胺、环磷酰胺、异环磷酰胺、硫代磷酰胺、乌头酰基、多肽片段、核苷酸及其衍生物骨架、脱氧核苷酸及其衍生物骨架中任一种二价连接基、任两种或任两种以上二价连接基的组合。

这里的氨基甲酸酯基、硫代氨基甲酸酯基、碳酰胺、磷酰胺等即可以作为可稳定存在的连接基, 也可以作为可降解的连接基。因其使用的环境特点而异。

具体地, DEGG 包括但不限于文献 CN104530413A、CN104530415A、CN104530417A 中所描述及列举的结构。以 CN104530417A 为例, 对应段[705]~[0725]。

1.2. L₁、L₂

本发明的一种具体实施方案中, L₁、L₂ 为以下情形中任一种:

情形 (1): L₁、L₂ 其中一个为连接键, 另一个为二价连接基;

情形 (2): L₁、L₂ 都为连接键;

情形 (3): L₁、L₂ 都为二价连接基, 且 L₁、L₂ 为相同或不同结构;

所述任一情形中, 二价连接基为 -O-、-S-、-S-S-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-C(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)S-、-C(R_c)=N-NR_c-、-NR_c-N=C(R_c)- 中任一种, 或任两种与 C₁₋₁₀ 亚烷基的组合; 其中, R_c 每次出现时各自独立地为 H 或甲基, 优选为 H;

优选 L₁、L₂ 各自独立地为 -O-、-OC(=O)-、-C(=O)O-、-OC(=O)O-、-C(=O)-、-NHC(=O)-、-C(=O)NH-、-(C=O)O(CH₂)_yOC(=O)-、-O(C=O)(CH₂)_yOC(=O)-、-(C=O)O(CH₂)_yC(=O)O-、-O(C=O)(CH₂)_yC(=O)O- 中任一种, 其中 y 为 2-8 的整数。

本发明的一种具体实施方案中, L₁、L₂ 各自独立地选自 -O(C=O)-、-(C=O)O- 和 -O(C=O)O- 中任一种。

本发明的一种具体实施方案中, L₁、L₂ 其中一个为 -(C=O)-, 另一个为 -O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O- 或 -O-。

本发明的一种具体实施方案中, L₁、L₂ 其中一个为 -O(C=O)O-, 另一个为 -O(C=O)- 或者 -(C=O)O-。

本发明的一种具体实施方案中，L₁和L₂同时为-O(C=O)-或同时为-(C=O)O-。

本发明的一种具体实施方案中，L₁和L₂同时为-O(C=O)O-。

本发明的一种具体实施方案中，L₁和L₂同时为-O-。

本发明的一种具体实施方案中，L₁、L₂各自独立地选自-NH(C=O)-、-(C=O)NH-、-O(C=O)-、-(C=O)O-中任一种。

本发明的一种具体实施方案中，L₁和L₂同时为-(C=O)O(CH₂)_yOC(=O)-、-O(C=O)(CH₂)_yOC(=O)-、-(C=O)O(CH₂)_yC(=O)O-、-O(C=O)(CH₂)_yC(=O)O-中任一种，其中y为2-8的整数。

1.3. L₃、R₃

本发明的一种具体实施方案中，二价连接基-L₃(R₃)-选自-L₄-、-Z-L₄-、-L₅-Z-L₄-、-L₄-Z-L₅-、-Z-L₄-Z-L₅-、-L₅-Z-L₄-Z-L₅-、-L₄-Z-L₅-Z-L₅-、-Z-L₅-Z-L₄-和-L₅-Z-L₅-Z-L₄-中任一种，且右端和氮支化中心连接；其中L₄为-(CH₂)_x-CR₃H-(CH₂)_x-，L₅为-(CH₂)_x-，x每次出现时各自独立地为0-3的整数，Z每次出现时各自独立地为-(C=O)-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-O-、-S-、-S-S-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c-和-NR_cC(=O)S-中任一种；其中，R_c每次出现时各自独立地为H或甲基，优选为H；

优选-L₃(R₃)-为-(CH₂)_x-CR₃H-(CH₂)_x-。

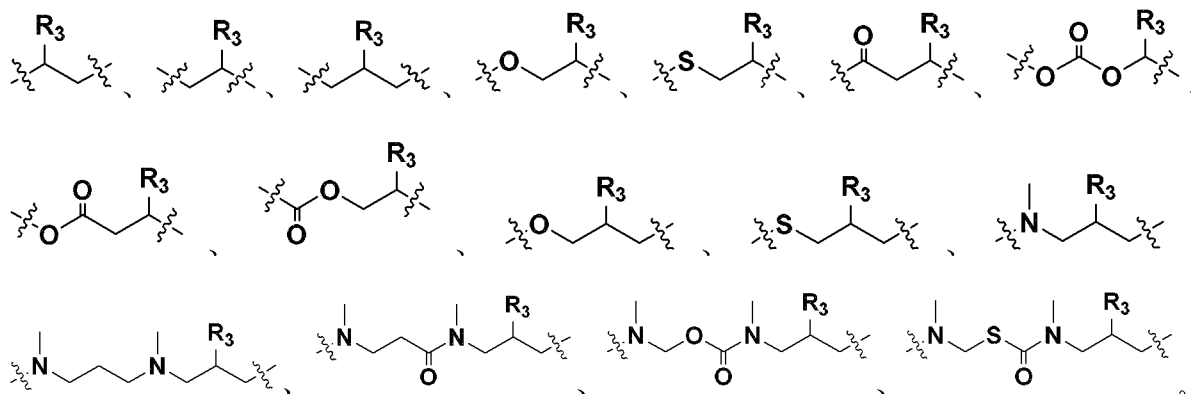
本发明的一种具体实施方案中，前述-L₃(R₃)-的结构为 $a_1 - \overset{\text{R}_3}{\text{L}_3} - a_2$ ，其中a₁为与R₄相连接的连接键，a₂为与通式(1)中氮支化中心相连接的连接键；所述 $a_1 - \overset{\text{R}_3}{\text{L}_3} - a_2$ 优

选自以下结构中任一种：

本发明的一种具体实施方案中，前述 $a_1 - \overset{\text{R}_3}{\text{L}_3} - a_2$ 为 ；

优选为 ；

本发明的一种具体实施方案中，二价连接基-L₃(R₃)-由1个L₄、0-4个Z和0-4个L₅以线性方式组合而成，且L₄、Z、L₅的排列方式没有特别限制；其中L₄为-(CH₂)_x-CR₃H-(CH₂)_x-，L₅为-(CH₂)_x-，x每次出现时各自独立地为0-3的整数，Z每次出现时各自独立地为-(C=O)-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-O-、-S-、-S-S-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c-和-NR_cC(=O)S-中任一种；其中，R_c每次出现时各自独立地为H或甲基；优选-L₃(R₃)-为以下结构中任一种：



1.4. B₁、B₂

本发明的一种具体实施方案中，B₁、B₂各自独立地为连接键或C₁₋₂₀亚烷基；优选B₁、B₂为以下情形中任一种：

情形(1)：B₁、B₂其中一个为连接键，另一个为C₁₋₂₀亚烷基；

情形(2)：B₁、B₂都为连接键；

情形(3)：B₁、B₂各自独立地为C₁₋₂₀亚烷基；

所述C₁₋₂₀亚烷基为取代的或未取代的，选自亚甲基、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、由1个-CR_qH-和0-19个-CH₂-组合而成的二价连接基或由2个-CR_qH-和0-18个-CH₂-组合而成的二价连接基；所述R_q每次出现时各自独立地选自-OH、-(CH₂)_{tq}OH、-(CH₂)_{tq}CH₃、-(CH₂)_{tq}OCH₃、-SH、-(CH₂)_{tq}SH、-(CH₂)_{tq}SCH₃、-NH₂、-N((CH₂)_{tq}CH₃)₂、-(CH₂)_{tq}NH₂和-(CH₂)_{tq}N(CH₃)₂中任一种，其中tq选自0-4的整数；R_q优选为-OH。

本发明的一种具体实施方案中，前述B₁、B₂各自独立地选自以下任一种：连接键、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、-OH取代的亚丁基、-OH取代的亚戊基、-OH取代的亚己基、-OH取代的亚庚基、-OH取代的亚辛基；

优选B₁、B₂均为亚乙基，或B₁、B₂均为亚丁基，或B₁、B₂均为亚己基，或B₁、B₂均为亚庚基，或B₁为亚丁基、B₂为亚庚基，或B₁为亚戊基、B₂为亚己基，或B₁为亚戊基、B₂为亚庚基，或B₁为连接键、B₂为亚己基，或B₁为亚戊基、B₂为-OH取代的亚己基，或B₁、B₂均为-OH取代的亚己基，或B₁为亚己基、B₂为-OH取代的亚己基。

本发明的一种具体实施方案中，B₁、B₂各自独立地为亚丁基、亚戊基、亚己基、亚庚基中任一种。

本发明的一种具体实施方案中，B₁、B₂其中一个为连接键，另一个选自亚戊基、亚己基、亚庚基中任一种。

本发明的一种具体实施方案中，B₁、B₂其中选自亚戊基、亚己基、亚庚基中任一种，

另一个为 。

本发明的一种具体实施方案中，B₁、B₂均为亚乙基，或均为亚丙基，或均为亚丁基，

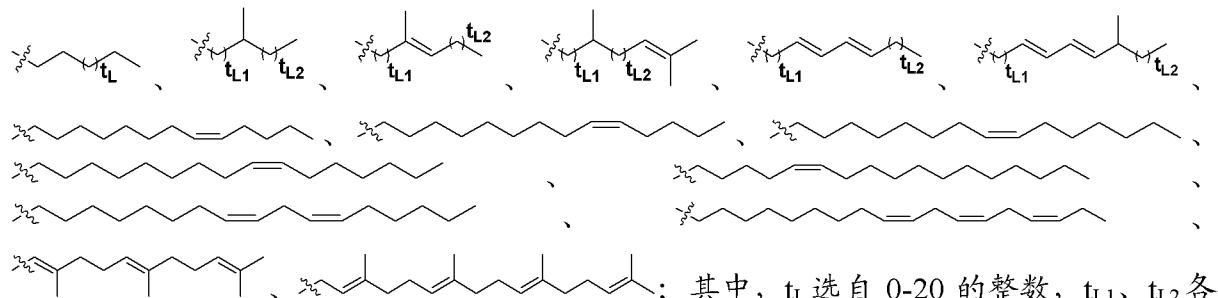
或均为亚戊基，或均为亚己基，或均为亚庚基，或均为 。

本发明的一种具体实施方案中，B₁为亚戊基，B₂为亚庚基。

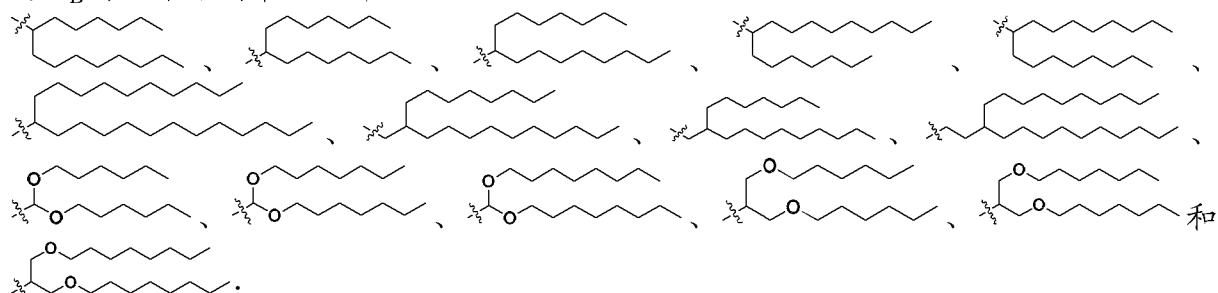
1.5. R₁、R₂

本发明的一种具体实施方案中， R_1 、 R_2 各自独立地选自 R_L 、 R_B 、 R_r 中任一种；所述 R_L 、 R_B 、 R_r 各自独立地含有 0-4 个 R_m 取代基；所述 R_m 每次出现时各自独立地为选自线性 C_{1-12} 烷基或支化 C_{1-3} 烷基，优选为甲基；

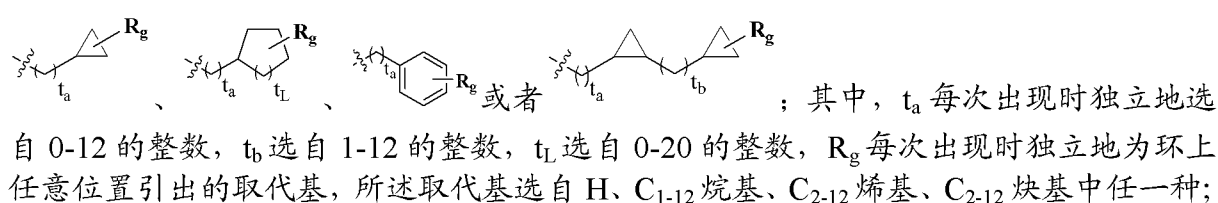
所述 R_L 为直链 C_{2-30} 脂肪烃基，且含有 0-4 个碳碳双键；优选为以下结构中任一种或任一种的顺反异构体：



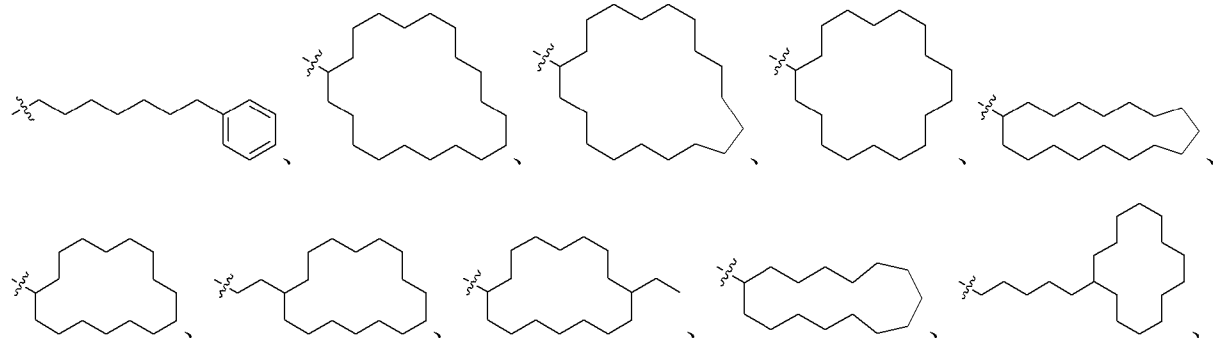
所述 R_B 结构为 $\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---CH}(\text{---}(\text{O})_{t_{01}}\text{---}R_e)(\text{---}(\text{O})_{t_{02}}\text{---}R_f)\text{---}$ ；其中， t 为 0、1 或 2； t_{01} 、 t_{02} 、 t_{03} 、 t_{04} 各自独立地为 0 或 1； R_e 、 R_f 各自独立地为 C_{1-12} 烷基、 C_{3-12} 烯基和 C_{3-12} 炔基中任一种；优选 R_B 为以下结构中任一种：

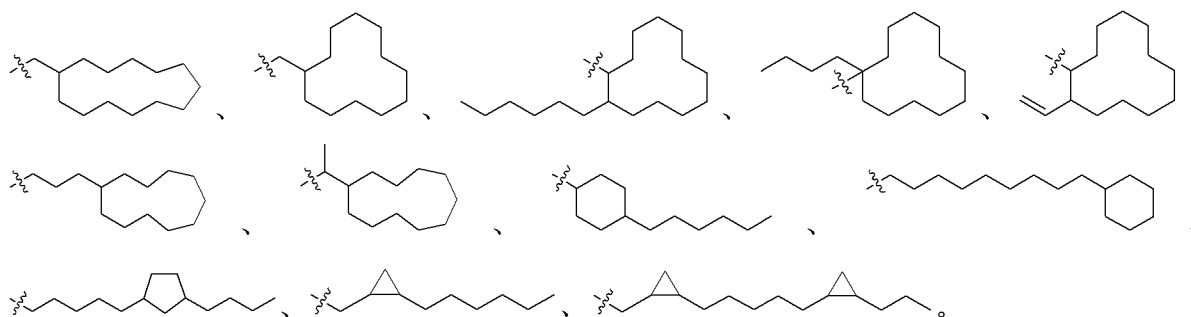


所述 R_r 为含环状结构的 C_{3-30} 脂肪烃基；所述环状结构为 C_{3-20} 碳环，优选为苯环或 C_{3-20} 环烷烃的残基；优选 R_r 为以下结构中任一种：



R_r 进一步优选为以下结构中任一种：





本发明的一种具体实施方案中， R_1 、 R_2 各自独立地含有 0-8 个碳碳双键和/或 0-8 个碳碳三键，优选 R_1 、 R_2 各自独立地为直链状烷基、支链状烷基、直链状烯基、支链状烯基、直链状炔基和支链状炔基中任一种，所述烯基优选含有 1-4 个碳碳双键，所述炔基优选含有 1-4 个碳碳三键。

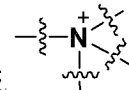
1.6. R_3 、 G_1 、 F_1 、 R_{01}

本发明的一种具体实施方案中， R_3 选自 $-O(CH_2)_rCH_3$ 、 $-S(CH_2)_rCH_3$ 、 $-C(=O)(CH_2)_rCH_3$ 、 $-C(=O)O(CH_2)_rCH_3$ 、 $-OC(=O)(CH_2)_rCH_3$ 、 $-OC(=O)O(CH_2)_rCH_3$ 和 $-(CH_2)_rN(CH_3)_2$ 中任一种，其中， r 为 0-3 的整数，优选为 0 或 1。

本发明的一种具体实施方案中， R_3 为 $\begin{matrix} \text{---} & (G_1) & (F_1) \\ & j & k \end{matrix}$ ， F_1 的结构为 $-(CH_2)_h-R_{01}$ 或 $-(CH_2)_f-Z_3-(CH_2)_g-R_{01}$ ；其中 h 为 0-6 的整数， f 为 0、1 或 2， g 为 2、3 或 4；其中 Z_3 选自 $-(C=O)-$ 、 $-O(C=O)-$ 、 $-(C=O)O-$ 、 $-O(C=O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)-$ 、 $-NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)-$ 、 $-C(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)NR_c-$ 、 $-OC(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)O-$ 、 $-SC(=O)NR_c-$ 和 $-NR_cC(=O)S-$ 中任一种；其中， R_c 每次出现时各自独立地为 H 或甲基，优选为 H；

优选 F_1 为 $-R_{01}$ 、 $-CH_2-R_{01}$ 、 $-(CH_2)_2-R_{01}$ 、 $-O-(CH_2)_2-R_{01}$ 、 $-(C=O)O-(CH_2)_2-R_{01}$ 、 $-O(C=O)-(CH_2)_2-R_{01}$ 、 $-O(C=O)O-(CH_2)_2-R_{01}$ 中任一种。

本发明的一种具体实施方案中， j 为 1， R_3 为 $\begin{matrix} \text{---} & G_1 & (F_1) \\ & & k \end{matrix}$ ， G_1 的结构为 $-(CH_2)_f-(Z_0)_q-(CH_2)_f-G_{01}$ ；其中， q 为 0 或 1； f 每次出现时各自独立地为 0、1 或 2； G_{01}

为三价支化核或四价支化核，选自 $-OCH<$ 、 $-N<$ 或 ，且左端与 $-(CH_2)_f$ 相连接； Z_0 为 Z_1 、 Z_2 或 $-(Z_2)_q-(CH_2)_g-(Z_1)_q$ ，其中 Z_1 、 Z_2 各自独立地为 $-(C=O)-$ 、 $-O(C=O)-$ 、 $-(C=O)O-$ 、 $-O(C=O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)-$ 、 $-NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)-$ 、 $-C(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)NR_c-$ 、 $-OC(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)O-$ 、 $-SC(=O)NR_c-$ 和 $-NR_cC(=O)S-$ 中任一种； R_c 每次出现时各自独立地为 H 或甲基，优选为 H； g 为 2、3 或 4；

优选 G_1 为 $-(CH_2)_fO(CH_2)_fCH<$ ，更优选为 $-OCH_2CH<$ 。

本发明的一种具体实施方案中， R_{01} 选自烷氧基、醇羟基、被保护的醇羟基、巯基、被保护的巯基、羧基、被保护的羧基、氨基、被保护的氨基、醛基、被保护的醛基、酯基、碳酸酯基、氨基甲酸酯基、琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基、被保护的马来酰亚胺基、二甲基氨基、烯基、烯酸酯基、叠氮基、炔基、叶酸基、罗丹明基和生物素基中任一种。

本发明的一种具体实施方案中， R_{01} 选自：反应性基团、反应性基团的变化形式、具有治疗靶向性的功能性基团、荧光性功能基团中任一种；其中，所述变化形式选自反应性基团的前体、以反应性基团作为前体的活性形式、反应性基团被取代的活性形式、反应性基团被保护的非活性形式中任一种；其中，所述反应性基团的前体指经过氧化、还原、水合、脱水、电子重排、结构重排、盐络合与解络合、离子化、质子化、去质子

化中至少一个过程，可转变为所述反应性基团的结构。

本发明的一种具体实施方案中，前述 R_{01} 为选自下述类 A~类 I 中的任一种功能性基团或其变化形式：

类 A：活性酯基、活性酯基的类似结构；其中，活性酯基选自琥珀酰亚胺活性酯基、对硝基苯活性酯基、邻硝基苯活性酯基、1,3,5-三氟苯活性酯基、1,3,5-三氯苯活性酯基、1,3,5-三溴苯活性酯基、1,3,5-三碘苯活性酯基、五氟苯活性酯基、咪唑活性酯基、苯并三唑活性酯基、噻唑烷-2-硫酮活性酯基、四氢吡咯-2-硫酮活性酯基、2-巯基苯并噻唑活性酯基、1-氧代-3-硫氧代异吲哚啉活性酯基中任一种；其中，活性酯基的类似结构为活性羧酸酯基或活性酰基；

类 B：羧基、被保护的羧基、磺酸基、磺酸酯基、亚磺酸基、亚磺酸酯基、次磺酸基、酯基、硫代酯基、二硫代酯基、碳酸酯基、硫代碳酸酯基、二硫代碳酸酯基、三硫代碳酸酯基、黄原酸基、四硫双酯基、砷基、亚砷基、甲基丙烯酰基、异羟肟酸基、硫代异羟肟酸基、磺酰卤基、硫代羧基；

类 C：醛基、水合醛基、硫醛基、酰卤基、酮基、水合酮基、硫酮基、硫酮水合物基、乙二醛基、缩醛基、单缩硫醛基、双缩硫醛基、缩酮基、单缩硫酮基、双缩硫酮基、半缩醛基、硫代半缩醛基、半缩酮基、原酸基、被保护的原酸基、原酸酯基、氰酸酯基、硫氰酸酯基、异氰酸酯基、异硫氰酸酯基、噁唑啉基、异噁唑啉基；

类 D：伯氨基、仲氨基、被保护的氨基、羟胺基、巯基、双硫化合物基、卤原子、卤代乙酰胺基、铵盐、胍基、四甲基哌啶氧基、二氧杂哌啶氧基、O-羰基羟胺基、酰胺基、酰亚胺基、酰胍基、磺酰胍基、脞基、亚胺基、烯胺基、炔胺基、氨基甲酸酯基、一硫代氨基甲酸酯基、二硫代氨基甲酸酯基；

类 E：脲基、硫脲基、胍基及其质子化形式、脒基及其质子化形式、酸酐基、方酸基、方酸酯基、半方酸基、半方酸酯基、咪唑-1-甲酰胺基、亚胺酸酯基、硝酮基、醛肟基、酮肟基；

类 F：马来酰亚胺基、咪唑保护的马来酰亚胺基、丙烯酸酯基、N-丙烯酰胺基、N-甲基丙烯酰胺基、甲基丙烯酸酯基、马来酰胺酸基、1,2,4-三唑啉-3,5-二酮基、线性的偶氮化合物基、环状的偶氮化合物基；

类 G：烯基、烯基烷基、环烯烷基、炔基、炔基烷基、被保护的炔基、环炔烷基、线性的共轭二烯烷基、环状的共轭二烯烷基、含杂原子的环状的共轭二烯烷基、环氧基、1,2,4,5-四嗪基、叠氮基、氧化脒基、氰基、异氰基、重氮基、重氮鎓离子、氧化偶氮基、脒亚胺基、N-氧化醛亚胺基、四氮唑基、4-乙酰基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基及其重氮化形式、咪唑基、吲哚基；其中，环烯烷基选自环辛烯烷基、降冰片烯基、降冰片二烯基、氧杂降冰片烯基、氧杂降冰片二烯基中任一种；

类 H：羟基、被保护的羟基、被保护的双羟基、硅氧基、三羟基硅基、被保护的三羟基硅基；其中，羟基选自醇羟基、酚羟基、烯醇式羟基、半缩醛羟基中任一种；

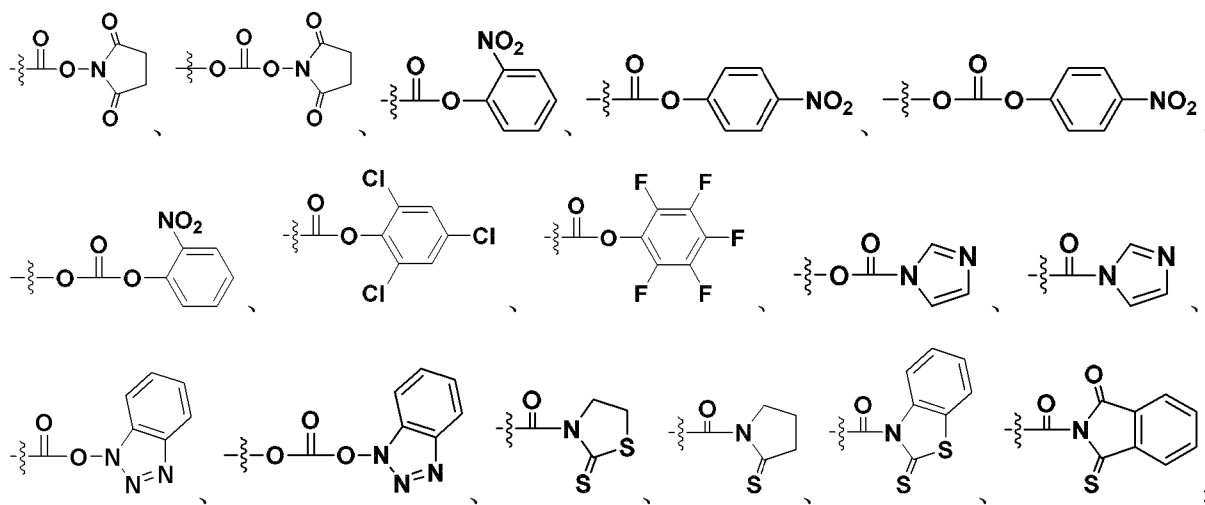
类 I：单糖基，选自阿洛糖、阿卓糖、阿拉伯糖、克拉定糖、赤藓糖、赤藓酮糖、果糖、岩藻糖醇、岩藻糖胺、岩藻糖、墨角藻糖、半乳糖胺、半乳糖胺醇、N-乙酰-半乳糖胺、半乳糖、葡糖胺、N-乙酰-葡糖胺、葡糖胺醇、葡萄糖、葡萄糖-6-磷酸、古洛糖甘油醛、L-甘油-D-甘露-庚糖、甘油、甘油醛、二羟基丙酮、古洛糖、艾杜糖、来苏糖、甘露糖胺、甘露糖、甘露糖-6-磷酸、甘露庚酮糖、阿洛酮糖、奎诺糖、奎诺糖胺、鼠李糖醇、鼠李糖胺、鼠李糖、核糖、核酮糖、脱氧核糖、景天庚酮糖、山梨糖、塔格糖、塔罗糖、酒石酸、苏糖、木糖、木酮糖中任一种或其功能性衍生物的残基；所述单糖基为 D-构型或 L-构型，为环状或链状结构，为取代的或未取代的；

其中，被保护的羟基优选醚、硅醚、酯、碳酸酯、磺酸酯中任一种；被保护的氨基

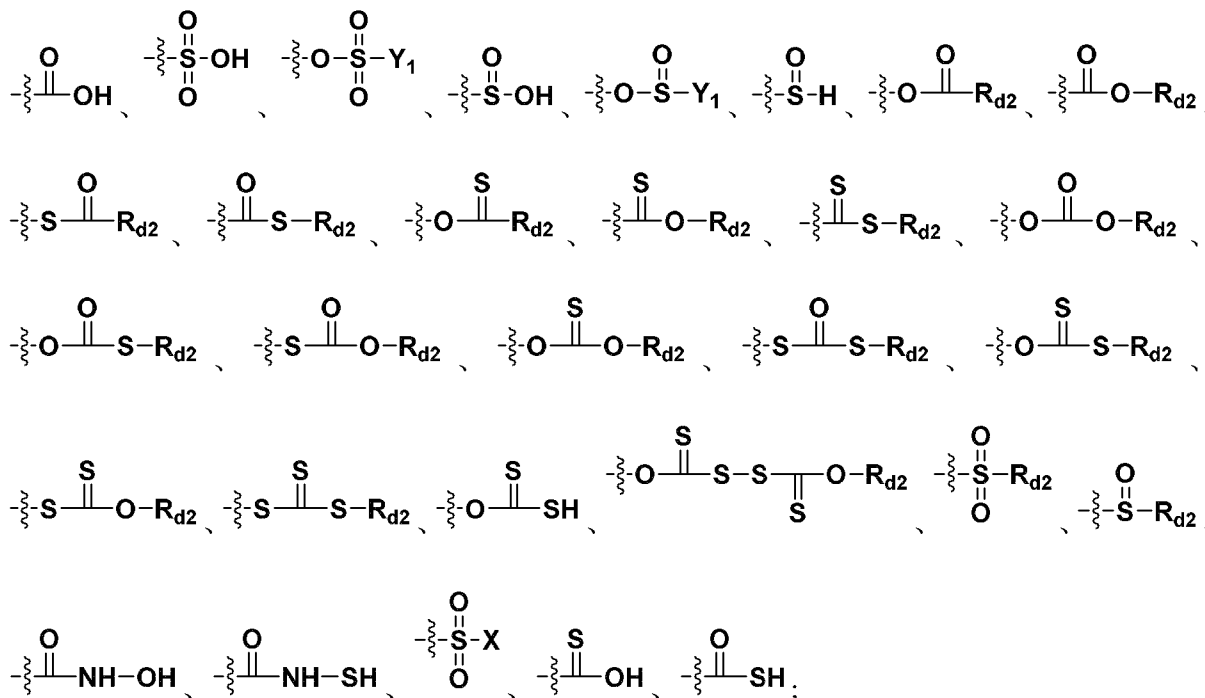
优选氨基甲酸酯、酰胺、酰亚胺、N-烷基胺、N-芳基胺、亚胺、烯胺、咪唑、吡咯、吡啶中任一种；被保护的巯基优选硫醚、二硫醚、硅基硫醚、硫代酯中任一种；被保护的羧基优选为羧基被甲基、乙基、叔丁基、苄基中任一种保护的形式；被保护的炔基优选为炔基被硅基保护的形式；被保护的双羟基优选其保护基与两个氧原子构成五元环或六元环的缩醛结构；所述双羟基的保护基优选为亚甲基或取代的亚甲基，更优选为亚甲基、1-甲基亚甲基、1,1-二甲基亚甲基、1,1-亚环戊烷基、1,1-亚环己烷基、1-苄基亚甲基、3,4-二甲基苄基亚甲基中任一种。

本发明的一种具体实施方案中，R₀₁选自下述类 A~类 I 中的任一种功能性基团或其变化形式：

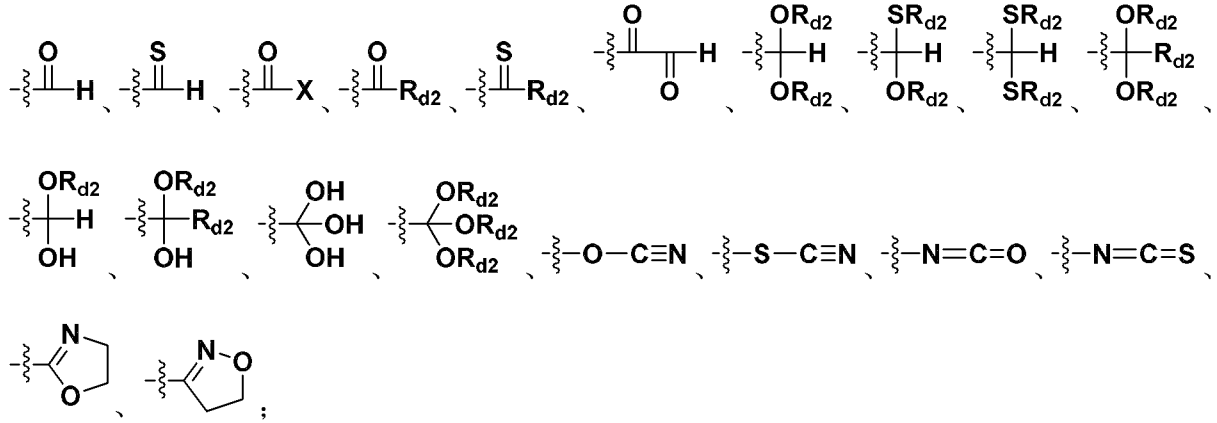
类 A:



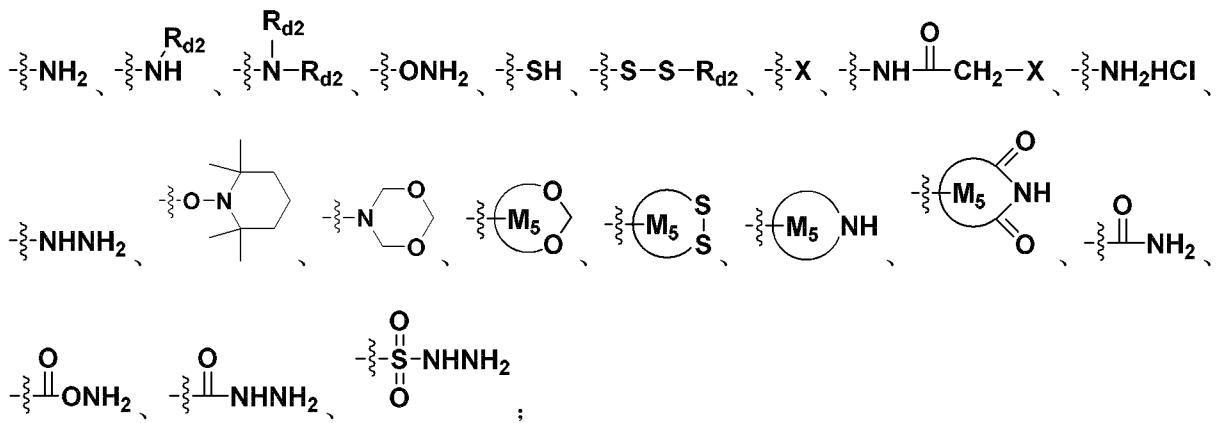
类 B:



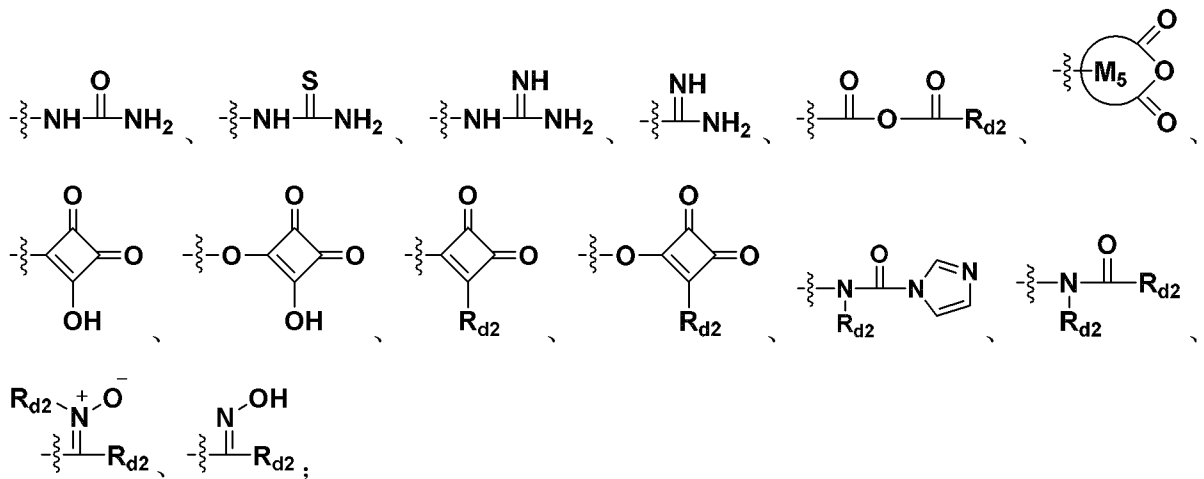
类 C:



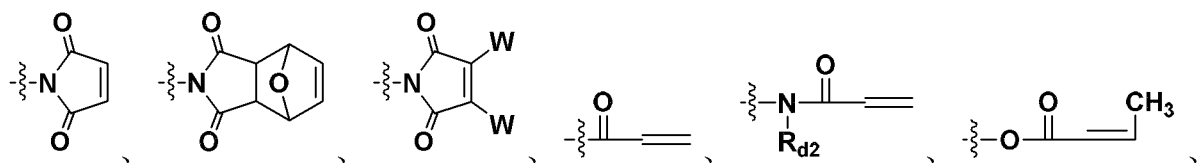
类 D:

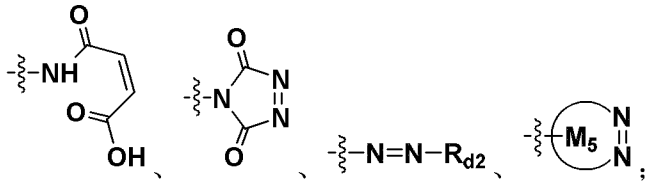


类 E:

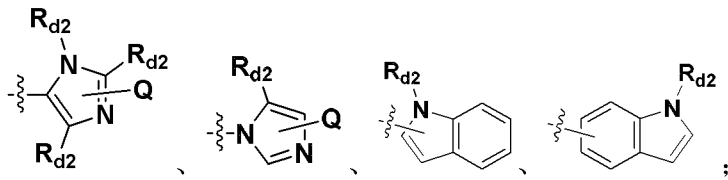
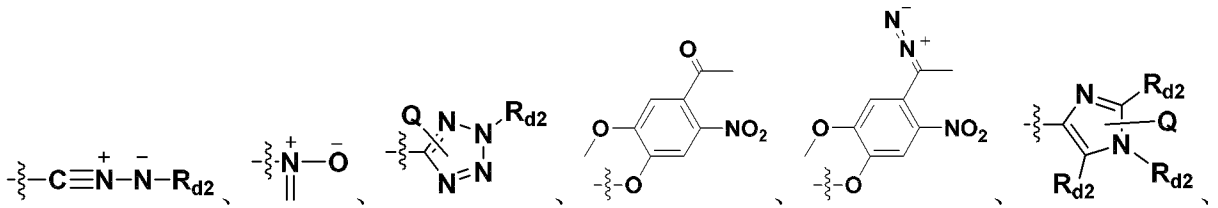
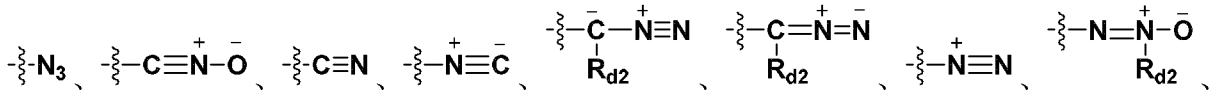
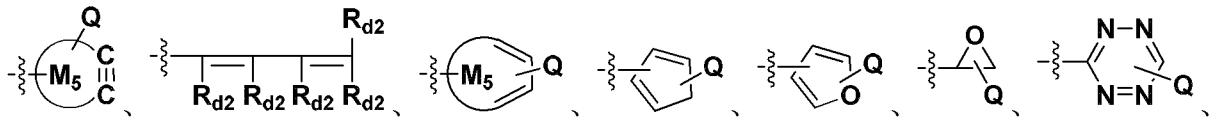
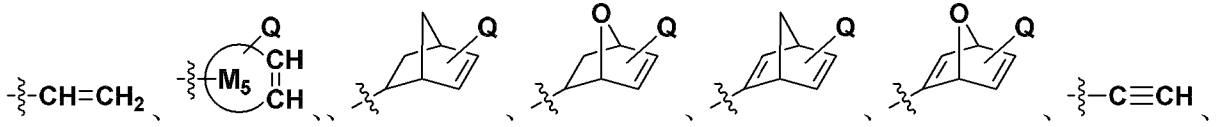


类 F:

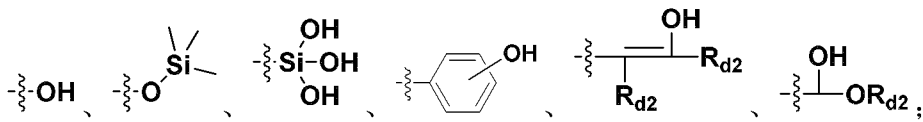




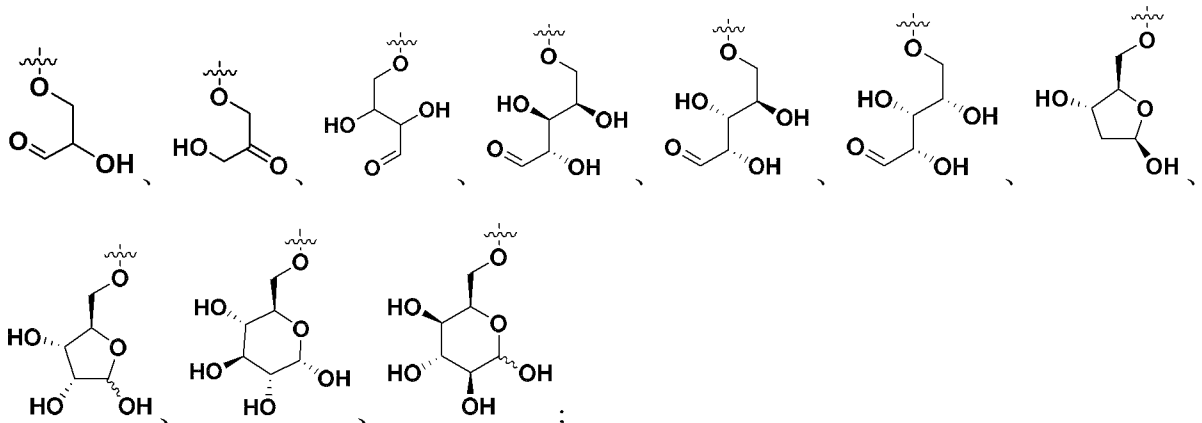
类G:



类H:



类I:



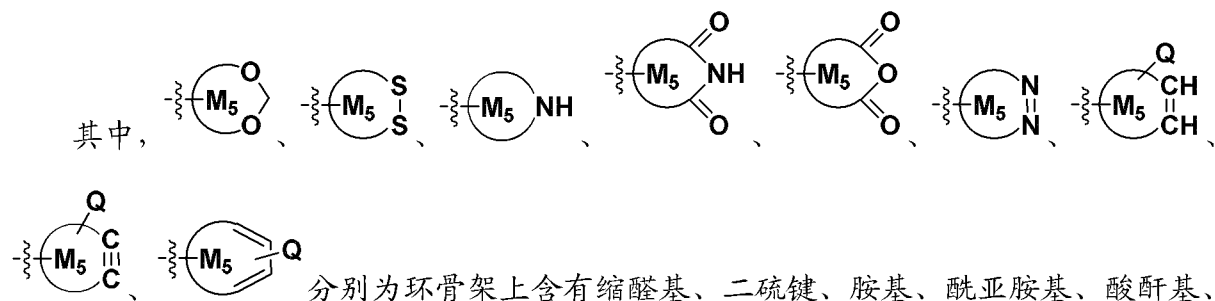
其中, X 为卤素原子, 选自氟原子、氯原子、溴原子和碘原子中任一种;

其中, Y_1 选自 C_{1-5} 烷基、乙烯基、苯基、苄基、对甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、三氟甲基和 2,2,2-三氟乙基中任一种;

其中, R_{d2} 为有机基团, 优选每次出现时各自独立地选自 C_{1-5} 烷基、 C_{2-5} 烯基、 C_{2-5} 炔基和苯基中任一种, 所述烷基、烯基、炔基和苯基各自独立地为取代的或未取代的;

其中, W 为离去基团, 选自 -F、-Cl、-Br、-I 和 -SPh 中任一种;

其中, M_5 为成环原子, 选自碳原子、氮原子、磷原子和硅原子中任一种; M_5 所在的环状结构为 3~30 元环, 优选 3~20 元环, 更优选 3~16 元环, 更优选 5~16 元环; 所述环状结构优选以下组中任一种、任一种的被取代形式、或任一种的被杂化形式: 环己烷、呋喃糖环、吡喃糖环、苯、四氢呋喃、吡咯烷、噻唑烷、环己烯、四氢吡喃、哌啶、1,4-二氧六环、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、1,3,5-三嗪、1,4,7-三氮杂环壬烷、环三肽、茛、二氢茛、吲哚、异吲哚、嘌呤、茶、二氢蒽、氧杂蒽、硫代氧杂蒽、二氢菲、10,11-二氢-5H-二苯并[a,d]环庚烷、二苯并环庚烯、5-二苯并环庚烯酮、喹啉、异喹啉、茛、咔唑、亚氨基二苄、茶乙环、二苯并环辛炔、氮杂二苯并环辛炔;



偶氮基、碳碳双键、碳碳三键、共轭二烯的环状结构, 所述环状结构选自碳环、杂环、苯并杂环、取代的碳环、取代的杂环或取代的苯并杂环;

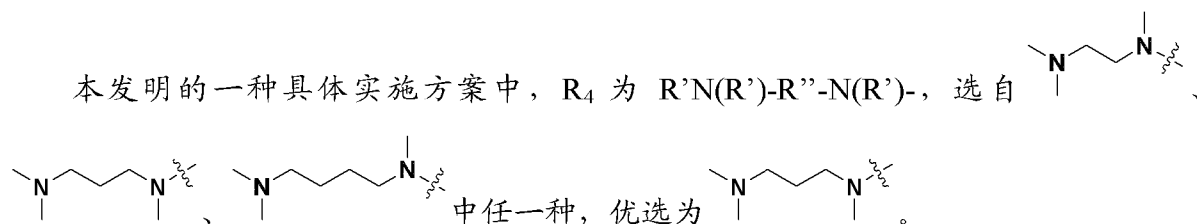
其中, Q 是有助于不饱和键电子的诱导、共轭效应的原子或取代基; 当 Q 处于环上时, 数量是一个或多个; 当数量为多个时, 为相同结构, 或为两种或两种以上不同结构的组合; 当为取代基时, Q 具有直链结构、含侧基的支链结构或含环状结构;

所述变化形式选自反应性基团的前体、以反应性基团作为前体的活性形式、反应性基团被取代的活性形式、反应性基团被保护的非活性形式中任一种; 其中, 所述反应性基团的前体指经过氧化、还原、水合、脱水、电子重排、结构重排、盐络合与解络合、离子化、质子化、去质子化中至少一个过程, 可转变为所述反应性基团的结构。

本发明的一种具体实施方案中, R_{01} 选自羟基、羧基、醛基、氨基、巯基中任一种或其被保护形式, 或选自卤素原子、酯基、磺酸酯基、活性酯基中任一种; 优选为 -OH、-COOH、-C(=O)OCH₃ 中任一种。

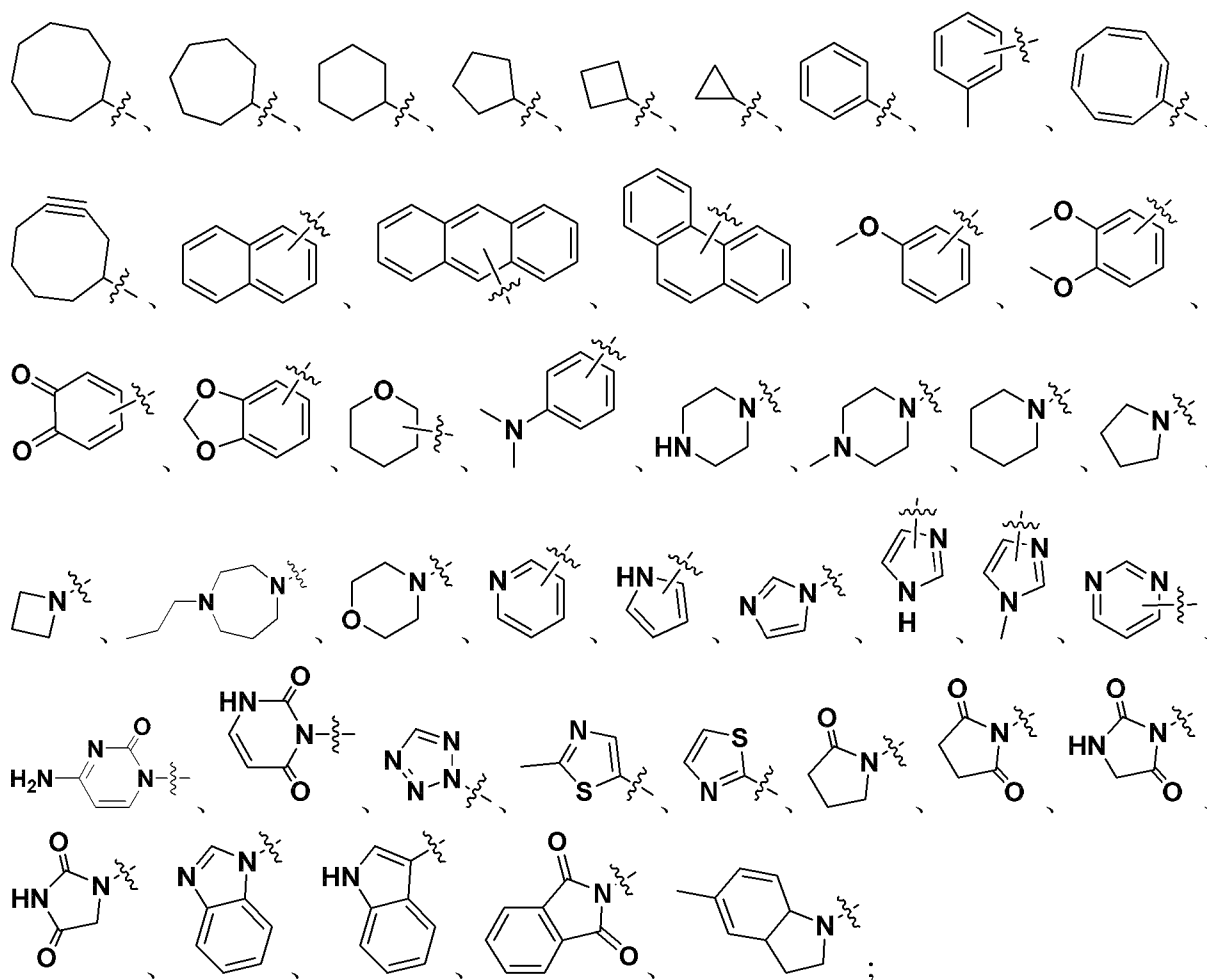
1.7. R_4

本发明的一种具体实施方案中, R_4 为 $R'N(R')-R''-N(R')-$, 选自

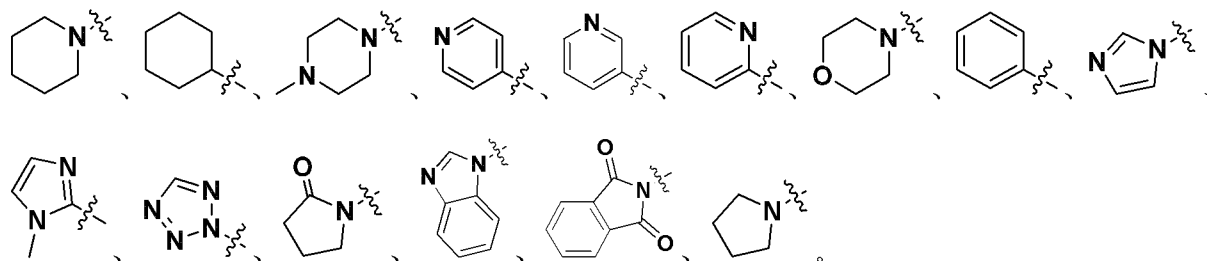


本发明的一种具体实施方案中, R_4 为碳环基或杂环基, 且含有 0-5 个取代基, 所述取代基各自独立地为 -F、-Cl、-Br、-I、-R_d'、-OR_d'、-NR_d'R_d'、-SR_d'、-C(=O)R_d'、-C(=O)OR_d'、-O(C=O)R_d' 或 -O(C=O)OR_d' 其中 R_d' 为 C_{1-3} 烷基;

优选 R₄ 为以下结构中任一种:



更优选为以下结构中任一种:

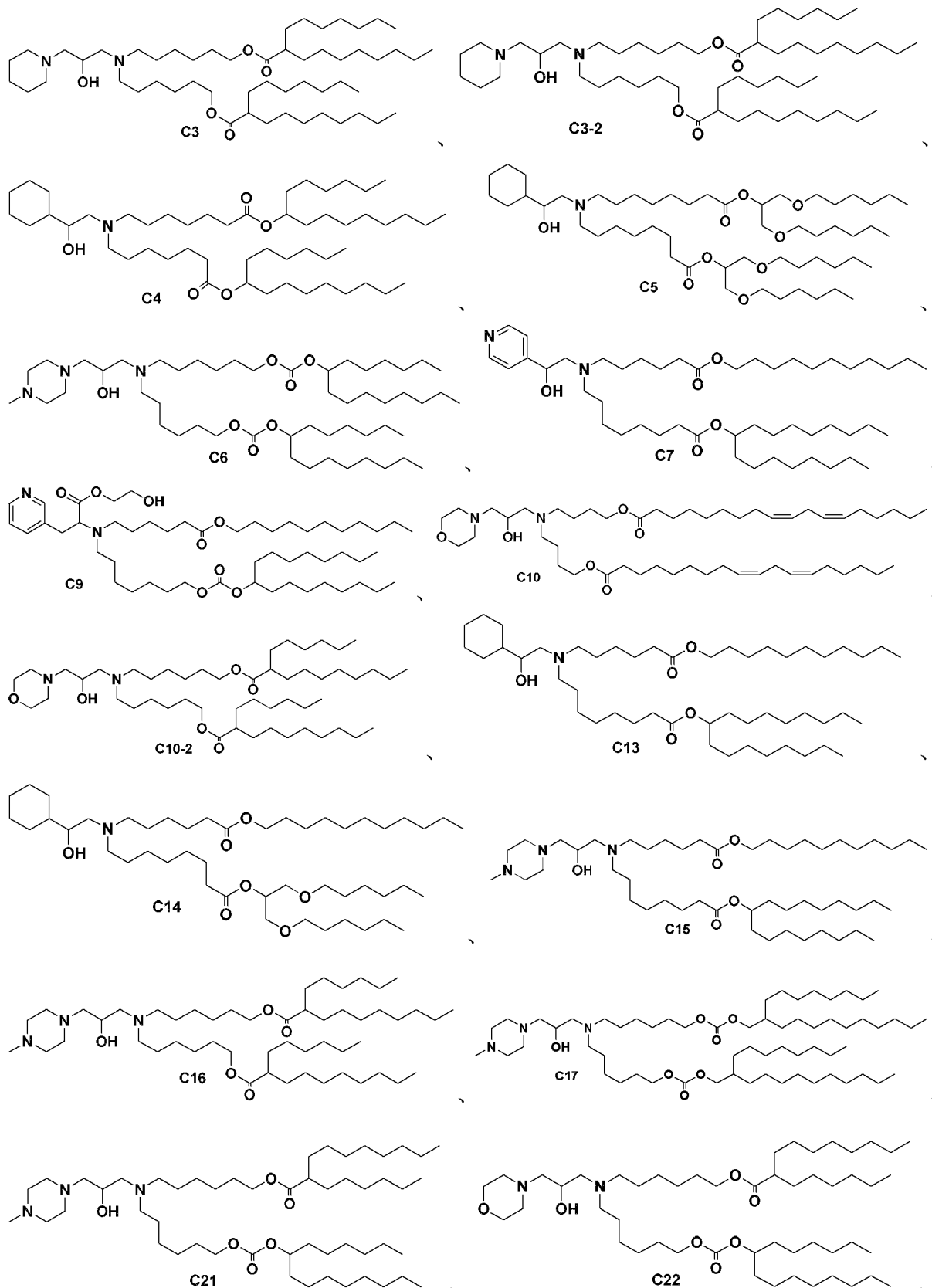


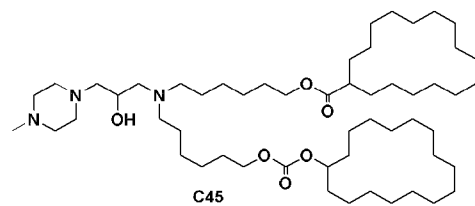
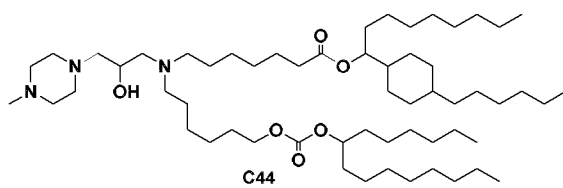
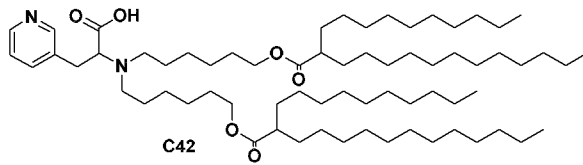
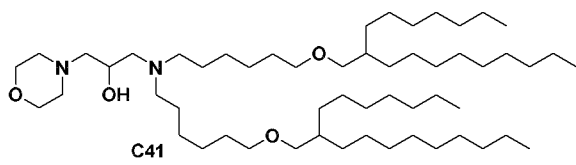
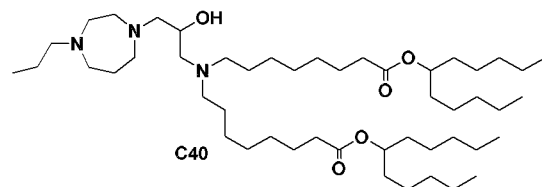
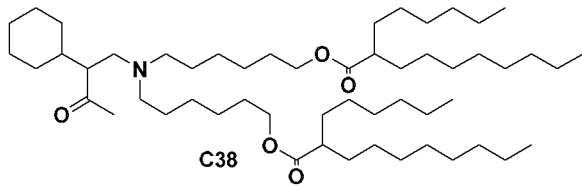
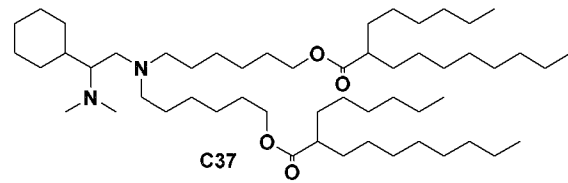
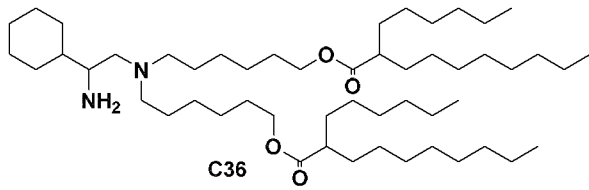
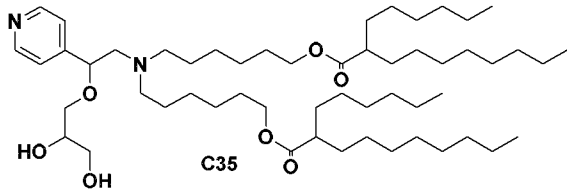
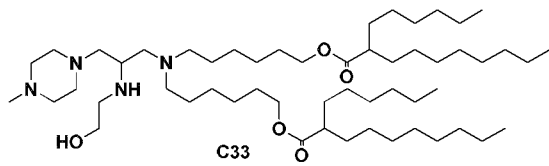
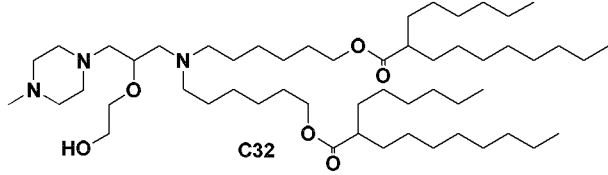
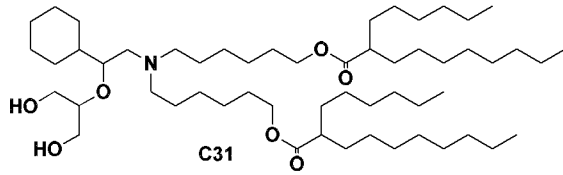
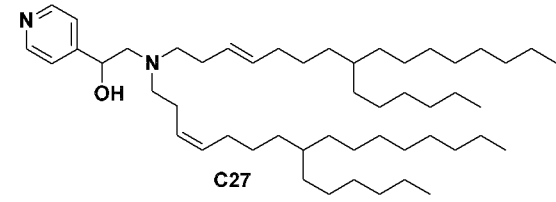
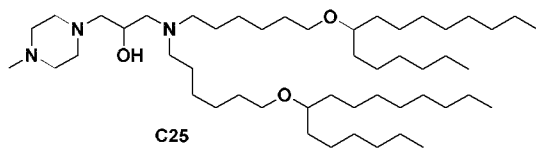
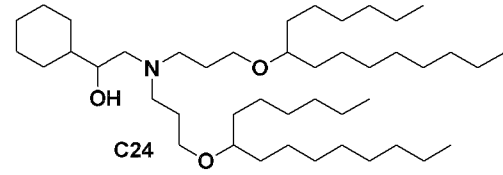
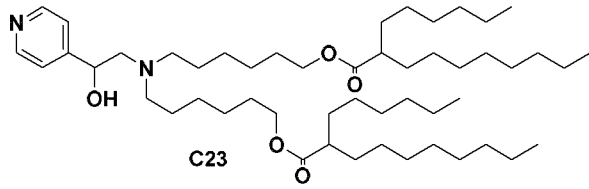
本发明的一种具体实施方案中，R₄选自苯基、苜基、萘基、菲基、蔥基、联苯基、氧杂环烷基、环氧烷基、咪喃基、二氢咪喃基、四氢咪喃基、吡喃基、二氢吡喃基、四氢吡喃基、噻吩基、二氢噻吩基、四氢噻吩基、噻喃基、二氢噻喃基、四氢噻喃基、吡丙啶基、2-吡丙因基、吡丁啶基、吡咯烷基、吡咯烷酮基、哌啶基、哌嗪基、高哌嗪基、吗啉基、吡啶基、二氢吡啶基、四氢吡啶基、吡咯基、吡咯啉基、乙内酰脲基、咪唑基、三氮唑基、四氮唑基、嘧啶基、二氢嘧啶基、四氢嘧啶基、嘌呤基、二氢嘌呤基、四氢嘌呤基、噻唑基、内酰氨基、琥珀酰亚胺基、引哚基和异引哚基等中任一种或任一种的苯并衍生物；R₄为未取代或含有R_n取代基，R_n为一个或多个；R_n数量为多个时，为相同结构，或为两种或两种以上不同结构的组合；每个R_n独立地选自C₁₋₁₀烷基、C₂₋₁₀烯基、C₂₋₁₀炔基、苯基、=O、缩醛基、-NH₂、-OR_j、-NR_jR_j、-SR_j、-(C=O)R_j、-(C=O)OR_j、-O(C=O)R_j、-O(C=O)OR_j、哌啶基、哌嗪基和吗啉基中任一种，其中R_j为C₁₋₁₀烷基，

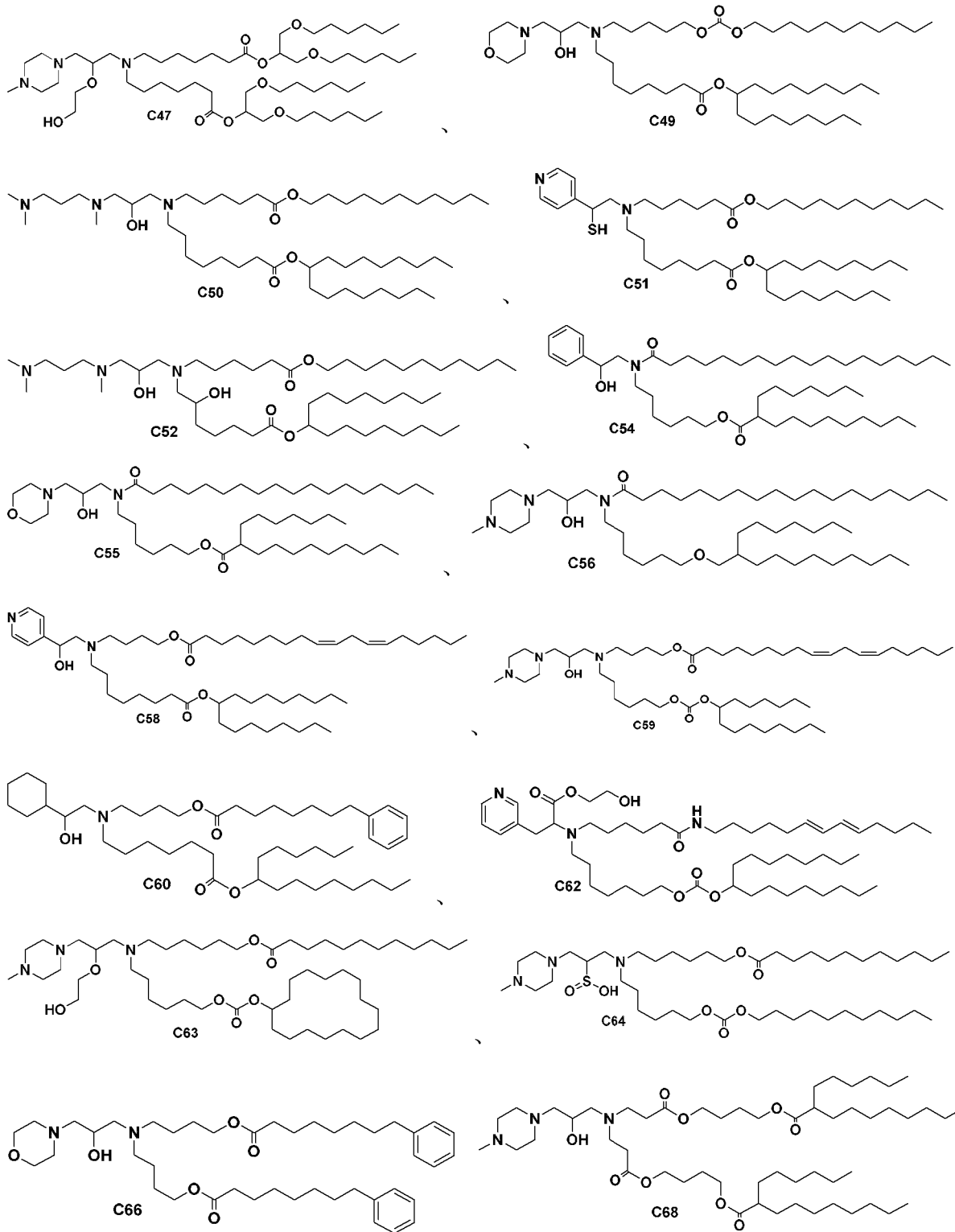
所述烷基、烯基、炔基为线性结构或含环状结构；优选地，每个 R_n 独立地为 C_{3-8} 环烷基、 C_{3-8} 环烯基、环辛炔基。

1.8. 具体的结构举例

本发明的一种具体实施方案中，阳离子脂质的结构选自以下任一种：



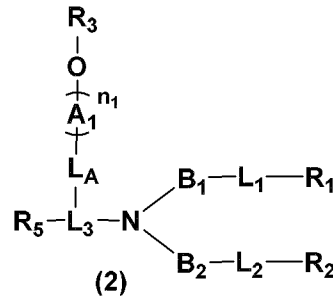




2. 聚乙二醇化脂质

本发明的一种实施方案:

一种基于前述阳离子脂质衍生的聚乙二醇化脂质, 其结构如通式(2)所示:



其中，N为氮支化中心；

L₁、L₂各自独立地为连接键或二价连接基；

L₃为三价连接基，与-L_A(A₁)_{n₁}OR₃构成侧链为-L_A(A₁)_{n₁}OR₃的二价连接基-L₃[L_A(A₁)_{n₁}OR₃]-；

B₁、B₂各自独立地为连接键或C₁₋₃₀亚烷基；

R₁、R₂各自独立地为C₂₋₃₀脂肪烃基或含1-2个O的C₂₋₃₀脂肪烃衍生物残基；

R₃为H、-R_d、-(CH₂)_hNR_dR_d、-(CH₂)_hSR_d、-(C=O)R_d、-(C=O)OR_d或 $\left\{ \begin{matrix} (\text{G}_1) \\ j \end{matrix} \right\} (\text{F}_1)_k$ ；

其中，R_d每次出现时各自独立地为C₁₋₁₂烷基；h为0-6的整数；G₁为k+1价的支化基团，j为0或1，F₁含有功能性基团R₀₁；j为0时，G₁不存在；j为1时，G₁引出k个F₁，且k个F₁各自独立地为相同或不不同的结构，k为2-8的整数；

R₅为C₃₋₁₄烷基、碳环基、杂环基或R'[']N(R'['])-R''-N(R'['])-；其中，杂环基为成环原子含有1个、2个或2个以上杂原子的环状基团，所述杂原子为B、O、N、Si、P或S；其中，R'[']每次出现时各自独立地为H或C₁₋₃烷基，R''为C₂₋₄亚烷基；

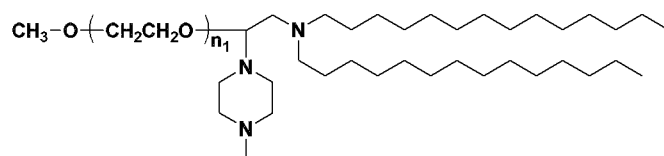
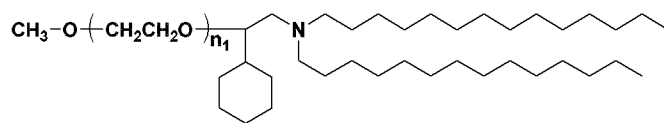
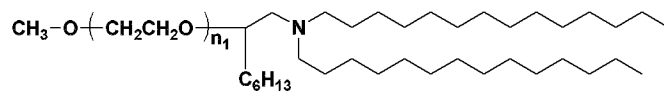
L_A为-(CH₂)_h-或-(CH₂)_f-Z₃-(CH₂)_g-；其中h为0-6的整数，f为0、1或2，g为2、3或4；其中Z₃选自-(C=O)-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-O-、-S-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c-和-NR_cC(=O)S-中任一种；其中，R_c每次出现时各自独立地为H或甲基，优选为H；

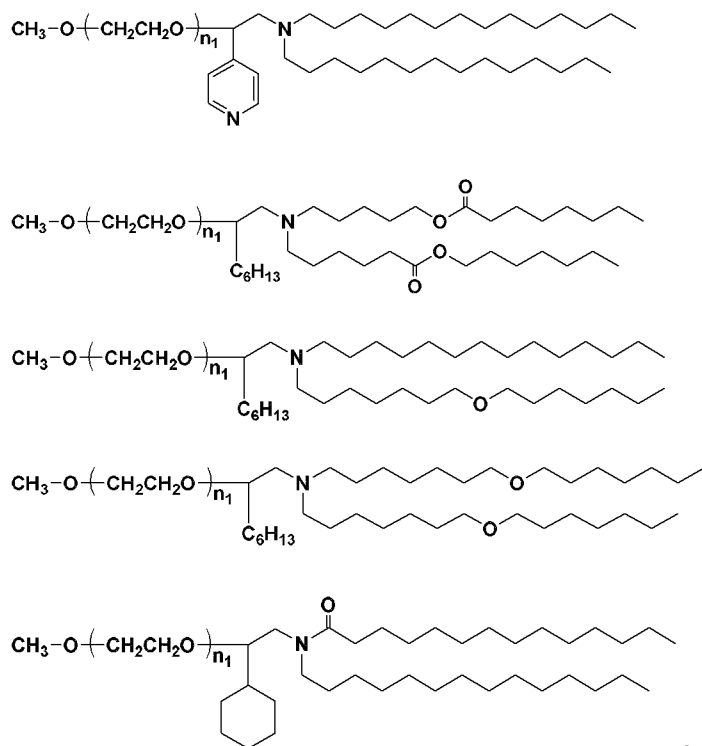
A₁为-OCH₂CH₂-且左端与L_A相连接；

n₁为A₁重复出现的次数，选自20-250的整数；

所述烷基、亚烷基、脂肪烃基、脂肪烃衍生物残基、碳环基、杂环基各自独立地为取代的或未取代的。

本发明的一种具体实施方案中，前述聚乙二醇化脂质的结构为以下任一种：





3. 脂质的制备方法

本发明中，各制备方法中用到的原料可以购买获得或者自行合成获得。

本发明中，两个相同或不同的反应性基团经反应可形成二价连接基。其反应条件，与反应生成的二价连接基类型有关，可采用现有公开技术。例如：氨基分别与活性酯、甲酸活性酯、磺酸酯、醛、 α,β -不饱和键、羧酸基团、环氧化物、异氰酸酯、异硫氰酸酯反应得到酰胺基、尿烷基、氨基、亚胺基（可进一步还原成仲氨基）、氨基、酰胺基、氨基醇、脲键、硫脲键等二价连接基；巯基分别与含有活性酯、甲酸活性酯、磺酸酯、巯基、马来酰亚胺、醛、 α,β -不饱和键、羧酸基团、碘代乙酰胺、酸酐反应得到硫酯基、硫代碳酸酯、硫醚、二硫化物、硫醚、硫代半缩醛、硫醚、硫酯、硫醚、酰亚胺等二价连接基；不饱和键与巯基反应得到硫醚基；羧基或酰卤分别与巯基、氨基反应得到硫酯基、酰胺基等基团；羟基与羧基、异氰酸酯、环氧化物、氯甲酰氧基反应得到酯基、氨基甲酸酯基、醚键、碳酸酯基等二价连接基；羰基或醛基与氨基、肼、酰肼反应得到亚胺键、脞、酰脞等二价连接基；叠氮、炔基、烯基、巯基、叠氮、二烯、马来酰亚胺、1,2,4-三唑啉-3,5-二酮、二硫代酯、羟胺、酰肼、丙烯酸酯、烯丙基氧基、异氰酸酯、四氮唑等反应性基团发生点击化学反应可生成包括但不限于三氮唑、异恶唑、硫醚键等结构的各种二价连接基。

本发明中，偶合反应的类型没有特别限制，只要两个相同或不同的反应性基团经该反应能够形成共价连接基即可；同一制备过程中可含有单步或分步的偶合反应，优选每一步偶合反应各自独立地为烷基化反应、缩合反应、酰胺化反应、酯化反应、硫酯化反应、开环反应、关环缩合反应、加成反应、环加成反应、 α,β -不饱和键加成反应、炔基加成反应、席夫碱反应联合还原反应、click反应、叠氮-炔加成反应、1,3-偶极环加成反应、Diels-Alder加成反应、thiol-yne反应、thiol-ene反应、thiol-vinyl反应和缩合反应中任一种；所述偶合反应的反应条件与反应生成的共价连接基类型有关，可采用现有公开技术；经所述偶合反应生成的共价连接基的价态可以为二价或三价，优选为二价；经所述偶合反应可生成稳定的基团，也可生成可降解的基团。

本发明中，聚乙二醇化脂质通过含有偶合反应和/或聚合反应的制备过程获得。所述聚合反应，至少经历以下两个步骤：小分子引发剂去质子化、环氧乙烷的聚合；所述小分子引发剂可以是直接获得的原料，也可以是制备过程中的中间体。制备过程中，当偶合反应和聚合反应同时存在时，偶合反应、聚合反应的先后顺序没有特别限制。

本发明中，单分散性聚乙二醇化脂质的制备方法中，可以将含聚乙二醇组分的单分散性原料替换为相同组分的多分散性原料，获得相应的多分散性产物；同样地，多分散性聚乙二醇化脂质的制备方法中，可以将含聚乙二醇组分的多分散性原料替换为相同组分的单分散性原料，获得相应的单分散性产物。

本发明中，仅改变所用聚乙二醇或其衍生物试剂原料的数均聚合度和/或 PDI，而不改变其结构式时，反应条件无需进行显而易见的变化也可顺利实施，所述变化不包括溶剂用量的改变。

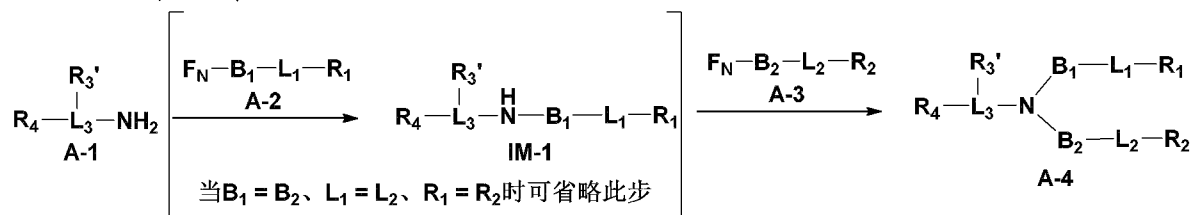
本发明中制备的中间体、终产物都可通过包括但不限于萃取、重结晶、吸附处理、沉淀、反沉淀、薄膜透析或超临界提取等的纯化方法加以纯化。对终产物的结构、分子量的表征确认，可采用包括但不限于核磁、电泳、紫外-可见分光光度计、FTIR、AFM、GPC、HPLC、MALDI-TOF、圆二色谱法等表征方法。

本发明中，分步/多步反应可以在技术人员的多个实际操作中完成，也可以在一个实际操作中完成。

3.1. 阳离子脂质的制备

本发明中，前述的任一种阳离子脂质可以采用以下一般反应方案来制备，所述反应方案并不代表实际的完整制备路线，实际制备过程还可包括本领域技术人员熟悉的任何必要的微修饰、保护/脱保护、中间体制备、后处理或纯化等过程。

一般反应方案 I:

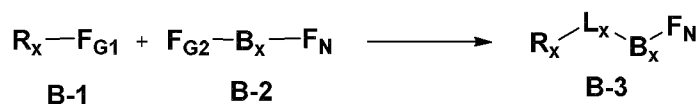


其中， R_3' 与 R_3 的结构可以相同或不同；当 R_3' 与 R_3 的具体结构不相同， R_3' 可在任意反应步骤前后进行微修饰后转变成为 R_3 ，所述微修饰选自以下的化学反应中的任一种、任两种的组合或任两种以上的组合：脱保护、盐络合与解络合、离子化、质子化、去质子化、改变离去基团；优选 R_3 为 R_3' 的脱保护形式，例如，-OTBS经脱保护反应后转化为-OH；

其中， F_N 为能与氨基或者仲氨基反应的反应性基团，优选为-OMs、-OTs、-CHO、-F、-Cl、-Br、-COOH、-COCl或者活化的羧基，所述活化的羧基是指用羧基活化剂对羧基进行活化后得到的；

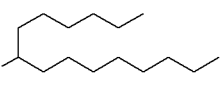
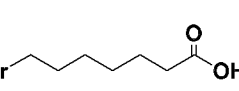
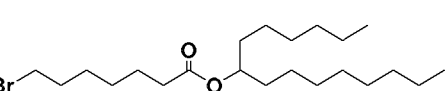
其中， L_1 、 L_2 、 L_3 、 B_1 、 B_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1 和 R_2 的定义与通式(1)中所述的一致，这里就不再赘述；

其中，**A-2**和**A-3**可用以下方法制备：

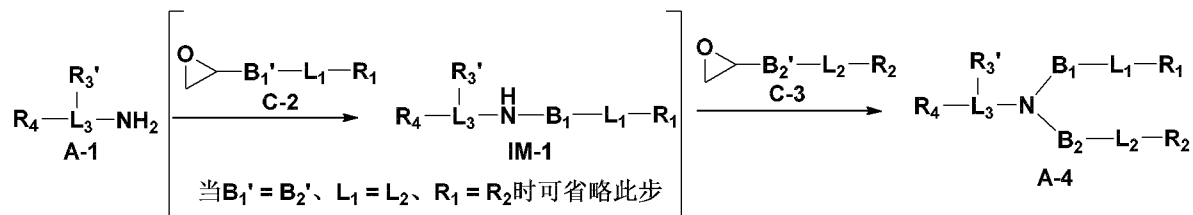


其中， x 为1或2；当 x 为1时，**B-3**等同于**A-2**；当 x 为2时，**B-3**等同于**A-3**；

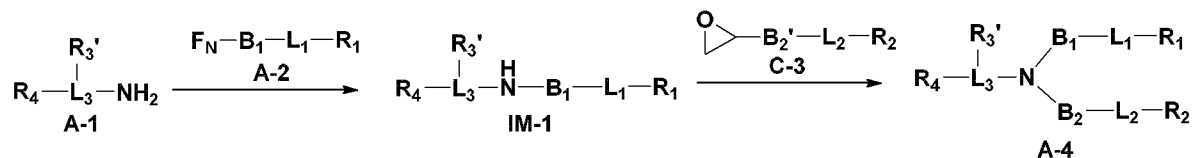
其中， F_{G1} 、 F_{G2} 为反应性基团， F_{G1} 和 F_{G2} 反应生成二价连接基 L_1 或 L_2 ；优选 F_{G1} 、 F_{G2} 各自独立地为-OH、-COOH、-F、-Cl、Br、-OMs、-OTs、-CHO、-COCl、-NH₂、活

性酯基中任一种；例如，**B-1** 为 ，**B-2** 为 ，**B-1** 和 **B-2** 发生酯化反应得到 **B-3** ()，其中 F_N 为 $-Br$ 。

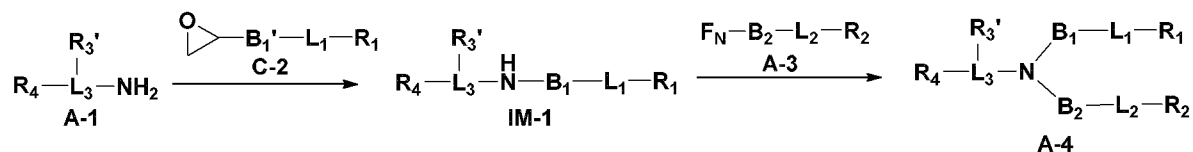
一般反应方案 II:



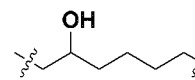
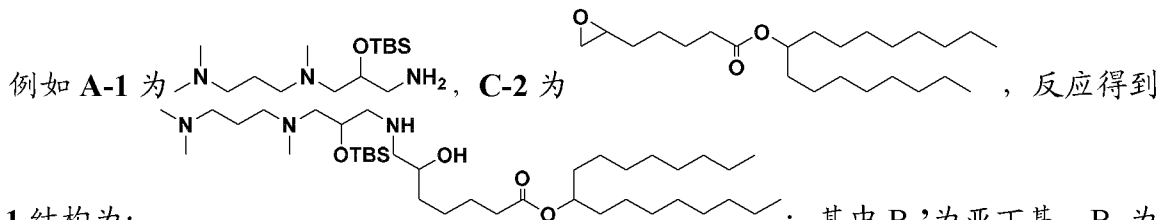
或



或

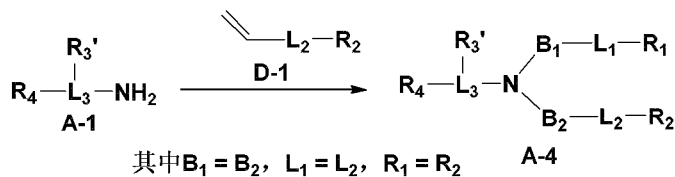


其中， R_3' 与 R_3 的转化关系以及 F_N 的定义参考一般反应方案 I；由 B_1' 得到的 B_1 含有一个羟基取代基，由 B_2' 得到的 B_2 含有一个羟基取代基；



其中， L_1 、 L_2 、 L_3 、 B_1 、 B_2 、 R_3 、 R_4 、 R_1 和 R_2 的定义与通式 (1) 中所述的一致。

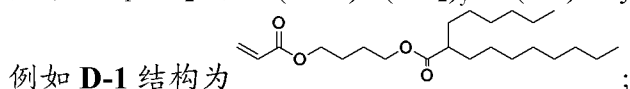
一般反应方案 III:



其中， B_1 、 B_2 均为亚乙基；

其中， R_3' 与 R_3 的转化关系以及 F_N 的定义参考一般反应方案 I；

其中， L_1 、 L_2 均为 $-(C=O)O(CH_2)_yOC(=O)-$ ， y 为 2-8 的整数；



其中, L₁、L₂、L₃、B₁、B₂、R₃、R₄、R₁和R₂的定义与通式(1)中所述的一致。

3.2. 制备过程中相关原料和/或步骤的说明

3.2.1. 羧基活化剂、缩合剂、氧化剂、还原剂

本发明中,“羧基活化”是指用羧基活化剂对羧基进行活化处理,羧基活化后能够促进缩合反应更好的进行,如:抑制缩合反应中消旋杂质的产生、催化加快反应速度等。“羧基活化基”是羧基活化剂的残基。所述羧基活化剂为 N-羟基丁二酰亚胺(NHS)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDCI)、N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二甲酰亚胺(HONb)和 N,N-二环己基碳二亚胺(DCC)中一种或多种的组合,优选为 NHS/EDCI、NHS/DCC 或 HONb/DCC 的组合。

本发明中,反应用到缩合剂并不限制,但优选 N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC),1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC-HCl),2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯(HATU),苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐(HBTU),最优选为 DCC。而一般缩合剂的用量为羧酸摩尔当量的 1 至 20 倍,优选为 5-10 倍,这个反应可以加入适当的催化剂(如 4-二甲基氨基吡啶(DMAP))。

本发明中,反应用到氧化剂没有特别限制,只要能使底物的化合价升高的化合物或多种化合物的组合,优选苯基碘二(三氟乙酸酯)、1,4-苯醌、苄基三甲基三溴化铵、重铬酸吡啶盐、重铬酸钾、臭氧、氧气、次氯酸、次氯酸钠、醋酸高钴、醋酸钴、醋酸锰、醋酸钡、醋酸铜、单过氧邻苯二甲酸、碘、N-碘代丁二酰亚胺、碘酰苯、2-碘酰苯甲酸、二甲基二氧环丙烷、二甲亚砷-草酰氯、二甲亚砷-醋酸酐、DDQ、二氯三(三苯基膦)钨、二氧化锰、二乙酰氧基碘苯、高碘酸、高碘酸钠、高碘酸钠-四氧化钨、高锰酸钾、高硼酸钠、过氧苯甲酸、过氧化二苯甲酰、过氧化镍、过氧化氢、过氧化氢异丙苯、过氧叔丁醇、过氧乙酸、间氯过氧苯甲酸、N-氯代丁二酰亚胺、氯铬酸吡啶、氯化钡-氯化铜、尿素过氧化氢复合物、三苯基甲基四氟硼酸盐、三丁基氧化锡、三氟化钴、三氟氧钨、三氧化铬、三乙酸锰、TEMPO、硝酸铈铵、溴、N-氧化吡啶、氧化银、O-乙基过氧碳酸、乙酰丙酮锰、乙酰丙酮氧钨、异丙醇铝、过硫酸氢钾、二氯碘苯等中的一种或其组合,更优选氧气、次氯酸钠、双氧水、二氯碘苯、过硫酸氢钾等的一种或其组合,氧化剂的量为中间体化合物中羟基摩尔当量的 1 至 50 倍,优选 1 至 20 倍,更优选 5 至 10 倍。

本发明中,反应用到还原剂没有特别限制,只要能将氨与醛或酮生成的希夫碱还原成氨基即可;优选硼氢化钠、氰基硼氢化钠、氢化铝锂、硼烷、二硼烷、二异丁基氢化铝、二异松茨基硼烷、硼氢化锂、硼氢化锌、硼烷-吡啶、硼烷-甲硫醚、硼烷-四氢吡喃等中的一种或组合;更优选氰基硼氢化钠,还原剂的当量为待修饰氨基摩尔当量的 1 至 50 倍,优选 1 至 20 倍,更优选 5 至 10 倍。

本发明中,反应温度为 0 至 200°C,优选 0 至 100°C,更优选为 0 至 25°C,反应时间优选为 10 分钟至 48 小时,更优选为 30 分钟至 24 小时。得到的产物可通过萃取、重结晶、吸附处理、沉淀、反沉淀、薄膜透析或超临界提取等纯化方法加以纯化。

本发明中,反应的溶剂可以是无溶剂或非质子性溶剂,非质子性溶剂包括甲苯、苯、二甲苯、乙腈、乙酸乙酯、乙醚、甲基叔丁基醚、四氢吡喃、氯仿、二氯甲烷、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺,优选四氢吡喃、二氯甲烷、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺。

本发明中,反应用到碱可以为有机碱(如三乙胺、吡啶、4-二甲基氨基吡啶、咪唑或二异丙基乙基胺),优选三乙胺、吡啶。碱的用量为羧酸的摩尔当量的 1 至 50 倍,优选为 1 至 10 倍,更优选为 2 至 3 倍。也可以为无机碱,例如碳酸钾(K₂CO₃)。

3.2.2. 反应过程中涉及相关基团的“保护”和“脱保护”

本发明中，反应过程中还涉及相关基团的“保护”和“脱保护”过程。为防止该官能基对反应产生影响，通常对官能基进行保护。并且，官能基为2个以上时，选择性地仅使目标官能基进行反应，因此对其他官能基进行保护。保护基不仅稳定地保护作为对象的官能基，根据需要，还需轻松地被去除。因此在有机合成中，在适当的条件下仅将与指定的官能基键合的保护基脱保护是很重要的。

本发明中，“羧基保护基”是指能通过水解、羧基保护基的去保护反应而转化为羧基的保护基。羧基保护基，优选为烷基(例如甲基、乙基、叔丁基)或芳烷基(例如苄基)，更优选为叔丁基(tBu)、甲基(Me)或乙基(Et)。本发明中，“被保护的羧基”是指羧基被适合的羧基保护基保护后所形成的基团，优选为甲氧羰基、乙氧羰基、叔丁氧羰基、苄氧羰基。所述羧基保护基可以在酸或碱的催化下水解除去，偶尔也可用热解反应消去，例如叔丁基可以在温和的酸性条件下除去，苄基可以通过氢解脱去。脱除羧基保护基的试剂选自TFA、H₂O、LiOH、NaOH、KOH、MeOH、EtOH及其组合，优选为TFA和H₂O的组合、LiOH和MeOH的组合、或LiOH和EtOH的组合。被保护的羧基脱保护，从而产生相应的游离酸，所述脱保护在碱存在下进行，所述碱和由所述脱保护形成的所述游离酸形成药学可接受的盐。

本发明中，被羟基保护基保护的羟基没有特别限制，例如可以为醇羟基、酚羟基等的羟基；被氨基保护基保护的氨基/胺基没有特别限制，例如可以来自伯胺、仲胺、联胺、酰胺等。本发明中胺基没有特别限制，包括但不限于伯胺基、仲胺基、叔胺基、季铵离子。

本发明中，被保护羟基的脱保护与羟基保护基的类型有关。所述羟基保护基的类型没有特别限制，以苄基、硅醚、缩醛、叔丁基对末端羟基进行保护为例，相应的脱保护方法有：

A: 苄基的脱保护

苄基脱保护可以利用氢化还原剂和氢供体的氢化作用来实现，在这个反应体系中的含水量应小于1%，反应才能顺利进行。

氢化还原催化剂没有限制，优选为钨和镍，但是并不限制载体，但优选氧化铝或碳，更优选碳。钨的用量为含被保护羟基化合物的1至100 wt%，优选为含被保护羟基化合物的1至20% wt%。

反应溶剂没有特别的限制，只要原料和产物均可以溶剂即可，但优选甲醇、乙醇、乙酸乙酯、四氢呋喃，乙酸；更优选甲醇。并不特别限制氢供体，但优选氢气、环己烯、2-丙醇、甲酸铵等。反应温度优选为25至40°C。反应时间没有特别限制，反应时间与催化剂的用量成负相关，优选为1至5个小时。

B: 缩醛、缩酮的脱保护

用于这类羟基保护的缩醛或缩酮化合物优选乙基乙烯基醚、四氢吡喃、丙酮、2,2-二甲氧基丙烷、苯甲醛等。而这类缩醛、缩酮的脱保护通过在酸性条件下实现，溶液pH优选0至4。酸没有特别限制，但优选乙酸、磷酸、硫酸、盐酸、硝酸，更优选盐酸。反应溶剂没有特别的限制，只要能够溶解反应物和产物即可，优选水。反应温度优选0至30°C。

C: 硅醚的脱保护

用于这类羟基保护的化合物包括三甲基硅醚、三乙基硅醚、二甲基叔丁基硅醚、叔丁基二苯基硅醚等。而这类硅醚的脱保护通过含氟离子的化合物，优选四丁基氟化铵、四乙基氟化铵、氢氟酸、氟化钾，更优选四丁基氟化铵、氟化钾。含氟试剂的用量在被保护羟基的摩尔当量的5至20倍，优选8至15倍引发剂，如果含氟的用量小于5倍被保护羟基的摩尔当量，会导致脱保护不完全；当脱保护试剂的用量大于20倍被保护羟

基的摩尔当量,过量的试剂或化合物给纯化带来麻烦,可能混入后续步骤,从而引起副反应。反应溶剂没有特别的限制,只要能够溶解反应物和产物即可,优选非质子性溶剂,更优选四氢呋喃、二氯甲烷。反应温度优选 0 至 30°C,当温度低于 0°C,反应速度较慢,不能完全脱除保护基。

D: 叔丁基的脱保护

叔丁基的脱保护在酸性条件下进行,溶液 pH 优选 0 至 4。酸没有特别限制,但优选乙酸、磷酸、硫酸、盐酸、硝酸,更优选盐酸。反应溶剂没有特别的限制,只要能够溶解反应物和产物即可,优选水。反应温度优选 0 至 30°C。

末端的官能化方法中,优选 $q=0$, $q_1=1$, Z_1 为 1,2-亚甲基。当 q 不为 0, A 与 R_{01} 之间具有如氨基酸、琥珀酰基等连接基时,可采用本技术领域可生成 Z_2 或 Z_1 的现有技术(包括但不限于烷基化、缩合、click 反应等等),并参照下述的线性官能化方法进行制备。

3.2.3. 烷基化反应

本发明的烷基化反应优选基于羟基、巯基或氨基的烷基化的反应,依次对应于醚键、硫醚键、仲氨基或叔氨基的形成。举例如下:

(1) 底物醇与磺酸酯、卤代物发生烷基化

在碱的存在下,由底物醇与磺酸酯衍生物、卤代物亲核取代得到胺中间体。其中,磺酸酯、卤代物的摩尔当量是底物醇的 1 至 50 倍,优选 1 至 5 倍。当磺酸酯、卤代物的摩尔当量的摩尔当量小于底物醇的 1 倍摩尔当量,则反应取代不完全,难以纯化。而当磺酸酯、卤代物的摩尔当量大于底物醇的 50 倍时,过量的试剂给纯化带来麻烦,可能混入后续步骤,从而导致下一步副反应增加,增加纯化难度。

得到的产物为醚中间体和过量的磺酸酯、卤代物的混合物,其可以通过阴离子交换树脂、渗透、超滤等方式进行纯化。其中,阴离子交换树脂没有特别限制,只要目标产物可以在树脂上发生离子交换、吸附即可,优选以葡聚糖、琼脂糖、聚丙烯酰胺、聚苯乙烯、聚二苯乙烯等为骨架的叔胺或季铵盐的离子交换树脂。渗透、超滤的溶剂没有限制,一般可以水或者有机溶剂,其中有机溶剂没有特别限制,只要产物可以在里面溶解即可,优选二氯甲烷、三氯甲烷等。

反应溶剂没有受到限制,优选非质子性溶剂,如甲苯、苯、二甲苯、乙腈、乙酸乙酯、四氢呋喃、氯仿、二氯甲烷、二甲基亚砜、二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺,更优选二甲基甲酰胺、二氯甲烷、二甲亚砜或四氢呋喃。

碱包括有机碱(如三乙胺、吡啶、4-二甲基氨基吡啶、咪唑或二异丙基乙基胺)或无机碱(如碳酸钠、氢氧化钠、碳酸氢钠、乙酸钠、碳酸钾或氢氧化钾),优选有机碱,更优选三乙胺、吡啶。碱的摩尔量为磺酸酯或卤代物摩尔当量的 1 至 50 倍,优选为 1 至 10 倍,更优选为 3 至 5 倍。

(2) 底物胺与醛类衍生物发生烷基化反应

由底物胺与醛类衍生物反应得到亚胺中间体后,在还原剂作用下得到中间体。其中,醛类衍生物的摩尔当量是底物胺的 1 至 20 倍,优选 1 至 2 倍,更优选 1 至 1.5 倍。当醛类衍生物的摩尔当量大于底物胺的 20 倍时,过量的试剂给纯化带来麻烦,可能混入后续步骤,增加纯化难度。当醛类衍生物的摩尔当量小于底物胺的 1 倍时,反应不完全,增加纯化难度。其中,反应后产物可以通过阳离子交换树脂、渗透、超滤等手段纯化得到中间体。所述的阳离子交换树脂没有特别的限制,只要能与季铵阳离子发生交换实现分离效果即可。渗透、超滤的溶剂没有限制,一般可以水或者有机溶剂,其中有机溶剂没有特别限制,只要产物可以在里面溶解即可,优选二氯甲烷、三氯甲烷等。

反应溶剂没有受到限制,优选有机溶剂,如甲醇、乙醇、水、甲苯、苯、二甲苯、

乙腈、乙酸乙酯、四氢呋喃、氯仿、二氯甲烷、二甲基亚砜、二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺等；更优选水和甲醇。

还原剂没有特别限制，只有能过将亚胺还原成胺即可，优选硼氢化钠、氯化铝锂、氰基硼氢化钠、Zn/AcOH 等，更优选氰基硼氢化钠。一般还原剂的用量为醛类衍生物物质的量的 0.5 至 50 倍，更优选 1-10 倍。

3.2.4. R₃ 侧链末端的线性官能化

R₃ 侧链末端线性官能化的方法没有特别限制，与最终的功能性基团或其被保护形式的类型相关。经过末端线性官能化的 R₃ 仍然属于本发明 R₃ 的范围内。

(1) 末端羟基的功能化

从 F₁ 的末端羟基出发，经官能化获得类 A~类 I 的功能性基团或其被保护形式，例如，由 $-(CH_2)_h-R_{01}$ 向 $-(CH_2)_f-Z_3-(CH_2)_g-R_{01}$ 的转变，其中 h 为 0-6 的整数，f 为 0、1 或 2，g 为 2、3 或 4；其中 Z₃ 选自 $-(C=O)-$ 、 $-O(C=O)-$ 、 $-(C=O)O-$ 、 $-O(C=O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)-$ 、 $-NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)-$ 、 $-C(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)NR_c-$ 、 $-OC(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)O-$ 、 $-SC(=O)NR_c-$ 和 $-NR_cC(=O)S-$ 中任一种；其中，R_c 每次出现时各自独立地为 H 或甲基，优选为 H；具体的制备方法包括但不限于文献 CN104530417A 中段落[0960]段到[1205]段记载的。

(2) 基于反应性基团向目标功能性基团或其被保护形式的转变

方式一：直接修饰，基于反应性基团的直接修饰，得到目标功能性基团或其被保护形式。作为举例，如羧基向酰卤、酰肼、酯、硫酯、二硫代酯的转变，如羟基、巯基、炔基、氨基、羧基等向相应的被保护结构的转变等等。又如酸酐对羟基、氨基等的修饰等。

方式二：两个反应性基团之间的偶联反应，以含有 1 种反应性基团及目标功能性基团或其被保护形式的异官能化试剂为原料，通过其中一种反应性基团与 F₁ 末端的反应性基团之间的反应，引入目标功能性基团或其被保护形式。两个反应性基团之间的反应方式、方法没有特别限制，其反应条件与反应生成的二价连接基类型有关，可采用现有技术。如烷基化、烯基加成反应、炔基加成反应、席夫碱反应联合还原反应、缩合反应等。其中，烷基化反应优选为基于巯基或氨基的烷基化的反应，依次对应于硫醚键、仲氨基或叔氨基的形成。其中缩合反应包括但不限于生成酯基、硫酯基、酰胺基、亚胺键、脲键、氨基甲酸酯基等的缩合反应。又如以含叠氮、炔基、烯基、三硫酯基、巯基、二烯基、呋喃基、12,4,5-四嗪基、氰酸根等基团与目标功能性基团或其被保护形式的异官能化试剂为原料，通过 click 反应引入目标功能性基团或其被保护形式。两个反应性基团之间的反应伴随新键的生成，新生成的二价连接基的典型代表为酰胺键、尿烷键、酯基、仲胺键、硫醚键、三氮唑基团等。

方式三：通过直接修饰与偶联反应的组合，获得目标功能性基团或其被保护形式。

4. 脂质组合物、脂质药物组合物及其制剂

4.1. 脂质组合物

本发明的一种具体实施方案中，脂质组合物形成脂质体，优选形成脂质纳米粒 (LNP)。

本发明的脂质组合物可以用于将生物活性成分传递至患者中的以下一或多种：肝脏或肝脏细胞（例如肝细胞）、肾脏或肾脏细胞、肿瘤或肿瘤细胞、CNS 或 CNS 细胞（中枢神经系统，例如脑和/或脊髓）、PNS 或 PNS 细胞（外周神经系统）、肺或肺细胞、血管或血管细胞、皮肤或皮肤细胞（例如真皮细胞和/或滤泡细胞）、眼或眼细胞（例如黄斑、中央凹、角膜、视网膜）、耳或耳细胞（例如内耳、中耳和/或外耳细胞）。

本发明的一种实施方案：

一种脂质组合物，含有任一种前述的阳离子脂质。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物还含有磷脂、类固醇脂质和聚乙二醇化脂质中的一种或者一种以上，选自以下情形中任一种：

情形(1)：还含有磷脂；

情形(2)：还含有类固醇脂质；

情形(3)：还含有聚乙二醇化脂质；

情形(4)：还含有磷脂和类固醇脂质；

情形(5)：还含有磷脂和聚乙二醇化脂质；

情形(6)：还含有类固醇脂质和聚乙二醇化脂质；

情形(7)：还含有磷脂、类固醇脂质和聚乙二醇化脂质；

优选还同时含有磷脂、类固醇脂质和聚乙二醇化脂质三种脂质。

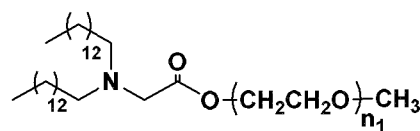
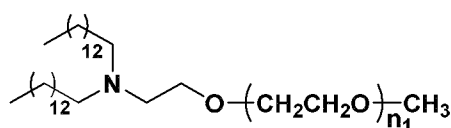
本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物中的磷脂选自 1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二-O-十八碳烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐、二油酰基磷脂酰丝氨酸、二棕榈酰基磷脂酰甘油、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺、二硬脂酰基-磷脂酰-乙醇胺、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺、1-硬脂酰基-2-油酰基-硬脂酰乙醇胺、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱和溶血磷脂酰乙醇胺中任一种及其组合物。

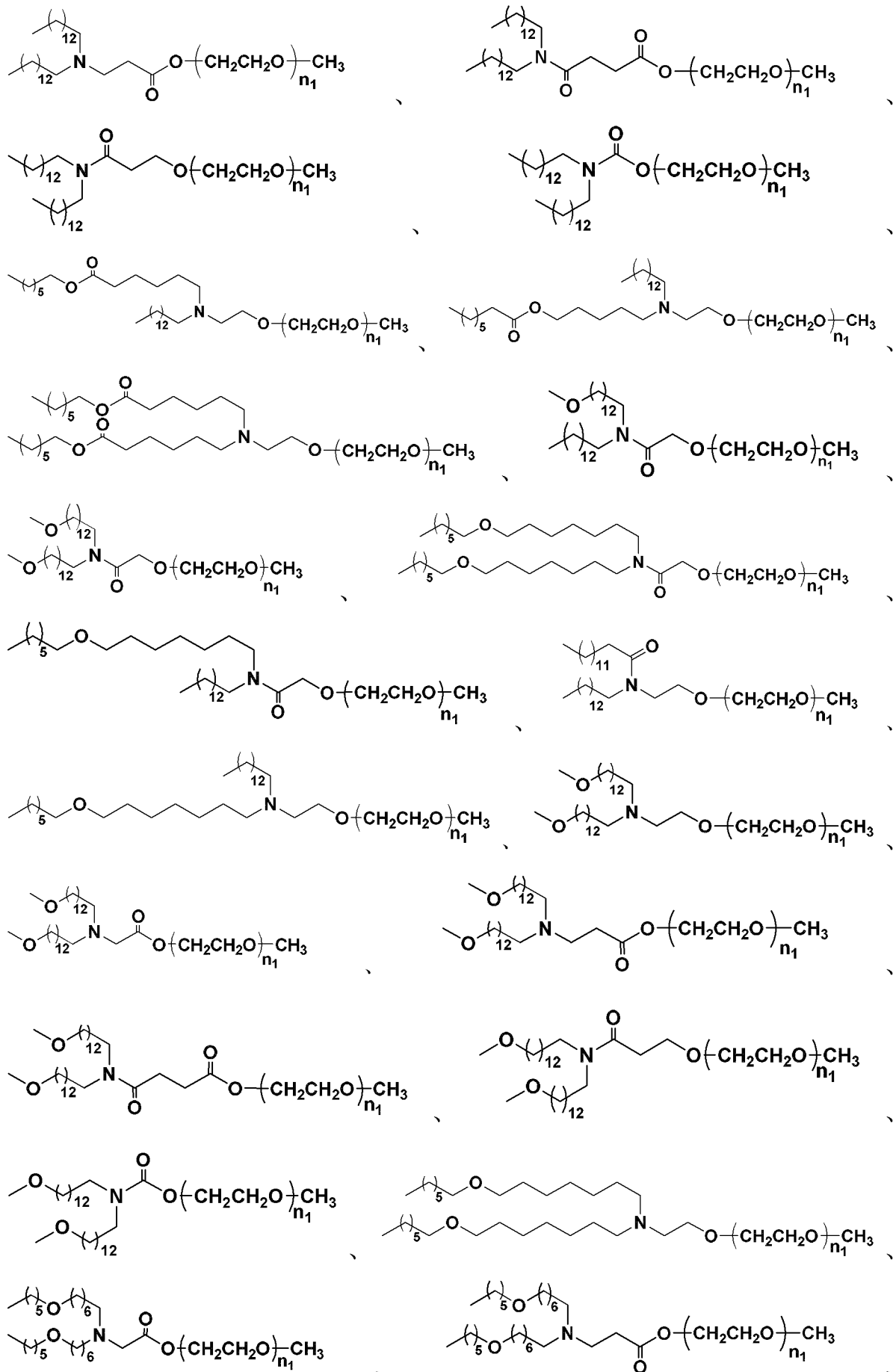
本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物中的类固醇脂质选自胆固醇、粪固醇、谷固醇、麦角固醇、菜油固醇、豆固醇、菜籽固醇、番茄碱、熊果酸、 α -生育酚中任一种及其混合物。

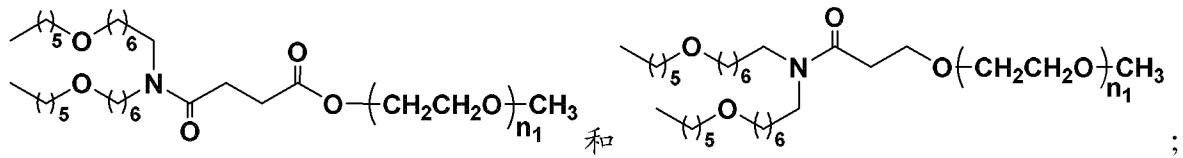
本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物中的聚乙二醇化脂质选自聚乙二醇-1,2-二肉豆蔻酸甘油酯、聚乙二醇-二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺、PEG-胆固醇、聚乙二醇-二酰基甘油，聚乙二醇-二烷氧基丙基，具体地包括聚乙二醇 500-二棕榈酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇 2000-二棕榈酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇 500-硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 2000-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 500-1,2-油酰基磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 2000-1,2-油酰基磷脂酰乙醇胺和聚乙二醇 2000-2,3-二肉豆蔻酰甘油中任一种。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物中的聚乙二醇化脂质选自任一种通式(2)所示的聚乙二醇化脂质。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物中的聚乙二醇化脂质的结构选自以下任一种：







其中 n_1 为选自 20-250 的整数。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物中聚乙二醇化脂质、阳离子脂质、中性脂质、类固醇脂质占总脂质的摩尔百分比没有特别限制，优选：

聚乙二醇化脂质占总脂质的摩尔百分比为 0.5-5%，优选为 1-3%，更优选为 1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%；

阳离子脂质占总脂质的摩尔百分比为 30-65%，优选为 35%、40%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、55%；

磷脂占总脂质的摩尔百分比为 7.5-13%，优选为 8%、9%、10%、11%、12%；

类固醇脂质占总脂质的摩尔百分比为 35-50%，优选为 40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质组合物包含 20-80% 的式 (1) 所示的阳离子脂质、5-15% 的中性脂质、25-55% 的类固醇脂质和 0.5-10% 的聚乙二醇化脂质，所述百分比为各脂质占总脂质的摩尔百分比。

4.2. 脂质药物组合物及其制剂

本发明的一种实施方案：

一种脂质药物组合物，含有任一种前述的脂质组合物和药物，所述药物选自核酸药物、基因疫苗、抗肿瘤药物、小分子药物、多肽药物或蛋白质药物中任一种。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质药物组合物中的药物为核酸药物，选自 DNA、RNA、反义核酸、质粒、干扰核酸、适体、antagomir 和核酶中任一种，所述 RNA 选自 mRNA、saRNA、circRNA、miRNA 和 siRNA 中任一种；优选为 DNA、mRNA、miRNA 和 siRNA 中任一种。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质药物组合物作为药物使用，所述药物选自以下任一种：治疗癌症的药物、抗感染剂、抗生素剂、抗病毒剂、抗真菌剂、疫苗。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质药物组合物中的脂质组合物形成 LNP；所述脂质药物组合物为 LNP-药物组合物，优选为 LNP-核酸药物组合物，更优选为 LNP-mRNA 组合物。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质药物组合物中的药物包括但不限于多柔比星、米托蒽醌、喜树碱、顺铂、博莱霉素、环磷酰胺、链脲佐菌素、放线菌素 D、长春新碱、长春碱、胞嘧啶阿拉伯糖苷、蒽环霉素、氮芥、噻替哌、苯丁酸氮芥、拉奇霉素、美法兰、卡莫司汀、罗莫司丁、白消安、二溴甘露醇、丝裂霉素 C、顺二氯二胺络铂(II)、甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶达卡巴嗪、地布卡因、氯丙嗪、普萘洛尔、第莫洛、拉贝洛尔、可乐定、胍啶嗪、丙咪嗪、阿米替林、多虑平、苯妥英、苯海拉明、氯苯那敏、异丙嗪、庆大霉素、环丙沙星、头孢西丁、咪康唑、特康唑、益康唑、异康唑、布康唑、克霉唑、伊曲康唑、制霉菌素、奈替芬、两性霉素 B、抗寄生虫剂、激素、激素拮抗剂、免疫调节剂、神经递质拮抗剂、抗青光眼药、维生素、镇静剂以及成像剂、紫杉酚、细胞松弛素 B、短杆菌肽 D、溴化乙锭、依米丁、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、秋水仙碱、柔红霉素、二羟基蒽二酮、光辉霉素、1-去氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、嘌呤霉素、类美登素。

本发明的一种具体实施方案中，前述脂质药物组合物中的药物为核酸药物，且 N/P 比为 (0.1~100): 1，优选为 (0.2~30): 1，更优选为 (0.5~20): 1。

本发明的一种实施方案:

一种脂质药物组合物制剂,含有任一种前述的脂质药物组合物和药学上可接受的稀释剂或赋形剂,所述稀释剂或赋形剂优选为去离子水、超纯水、磷酸盐缓冲液和生理盐水中任一种,更优选为磷酸盐缓冲液或生理盐水,最优选为生理盐水。

本发明的一种具体实施方案中,前述脂质药物组合物制剂含有的脂质组合物与工作液的比例没有特别限制,优选脂质组合物:工作液=0.05~20 g:100 mL,更优选脂质组合物:工作液=0.1~10 g:100 mL,最优选脂质组合物:工作液=0.2~5 g:100 mL。

4.3. 制备方法

本发明中的一种具体实施方案中,脂质药物组合物制剂的制备,包含下述步骤:

- (1) 将脂质组分在稀释剂或赋形剂中平衡;
- (2) 将药物加入平衡后的脂质体与稀释剂或赋形剂的混合物中进行复合;

其中,所述平衡时间没有特别限制,优选为 0.1~12 h,更优选为 0.2~6 h,最优选为 0.5~3 h;所述复合时间没有特别限制,优选为 0.1~12 h,更优选为 0.2~5 h,最优选为 0.5~2 h。

本发明中的一种具体实施方案中,LNP-核酸药物组合物的制备,包含下述步骤:

- (1) 将脂质组分溶于有机溶剂,获得有机相溶液;
- (2) 将核酸药物加到缓冲液,获得水相溶液;
- (3) 将有机相溶液和水相溶液混合,获得 LNP-核酸药物组合物,并通过超滤洗涤以除去有机溶剂和游离分子,最后通过无菌过滤器,备用;

其中,有机溶剂优选为甲醇、乙醇、丙醇、叔丁醇、乙腈、二甲基亚砜、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺、N-甲基吡咯烷酮中任一种或任一种以上的混合溶剂;缓冲液优选为柠檬酸盐缓冲液,进一步地,优选其浓度为 5-80 mM, pH 为 2-6,更优选浓度为 10-50 mM, pH 为 3-5;有机相溶液和水相溶液的体积比优选为 1:1-10,更优选为 1:2。

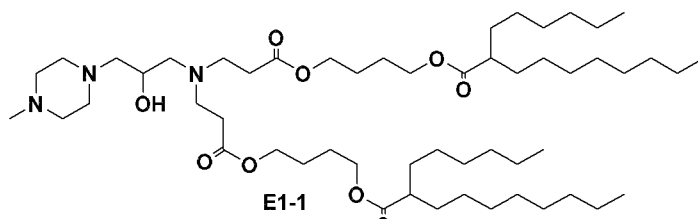
本发明中的一种具体实施方案中,采用超声、挤出或微流控装置控制脂质纳米粒的粒径,所述粒径为 1~1000 nm,优选 20~500 nm,更优选为 60~200 nm,最优选为 60~150 nm。

5. 具体实施方式

下面结合一些具体实施例对阳离子脂质、脂质组合物、脂质药物组合物的制备,以及 LNP-核酸药物组合物的生物活性测试做进一步描述。具体实施例为进一步详细说明本发明,非限定本发明的保护范围。

5.1. 脂质化合物的制备

实施例 1: 阳离子脂质 (E1-1)



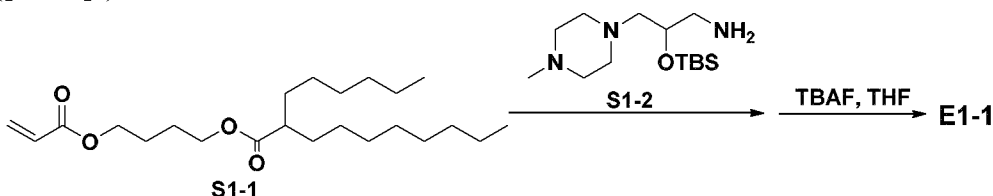
对应通式 (1), E1-1 中, R_1 、 R_2 均为 $\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-}$, B_1 、 B_2 均为亚乙基, L_1 、

L_2 均为 $\text{-(C=O)O-(CH}_2\text{)}_4\text{-OC(=O)-}$, $-L_3(R_3)-$ 为 -CH(OH)- , 其中 R_3 为 -OH , R_4 为 $\text{-N(CH}_2\text{)}_4\text{-}$,

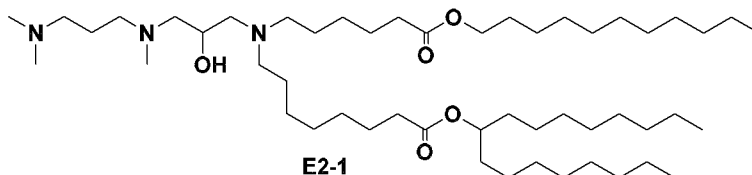
总分子量约为 938 Da。

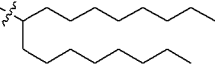
制备过程如下所示：

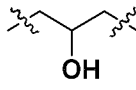
将 **S1-1** (2.53 g, 6.6 mmol, 由 2-己基癸酸和 4-羟基丁基丙烯酸酯进行缩合反应制备得到) 溶于 40 mL 的甲醇中, 加入含 TBS 保护羟基的 1-氨基-3-(4-甲基-1-哌嗪基)-2-丙醇 (**S1-2**, 0.86 g, 3.0 mmol), 35°C 搅拌过夜。反应结束后用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃, 再加入 1M 的 20 mL 四正丁基氟化铵 (TBAF) 的四氢呋喃 (THF) 溶液, 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩, 粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E1-1** (2.59 g)。**E1-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.10-4.06 (m, 8H), 3.88-3.81 (m, 1H), 2.79-2.24 (m, 25H) 1.71-1.19 (m, 56H), 0.85 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 938.82$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

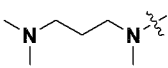


实施例 2: 阳离子脂质 (**E2-1**)



对应通式 (1), **E2-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2

为亚庚基, L_1 、 L_2 均为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为

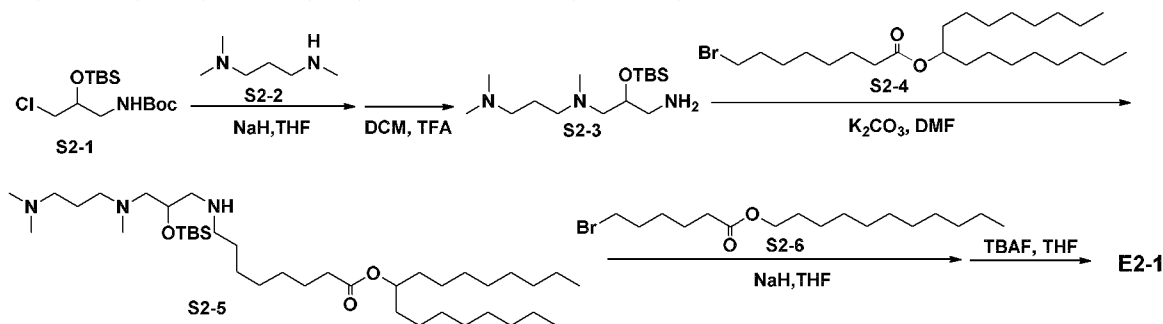
, 总分子量约为 838 Da。

制备过程如下所示：

步骤 a: 将含有 TBS 保护羟基和 Boc 保护氨基的 1-氨基-3-氯-2-丙醇 (**S2-1**, 3.23 g, 10.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 3.98 g, 100.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入三甲基-1,3-丙二胺 (**S2-2**, 1.39 g, 12.0 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 3 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (50 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩, 用二氯甲烷溶解, 加入 TFA 至 0.1 M, 反应 4 小时后, 调节 PH 至中性, 浓缩反应液, 加入纯化水, 用二氯甲烷萃取, 将萃取液用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩滤液, 重结晶得到氨基裸露的中间体 **S2-3** (2.29 g)。

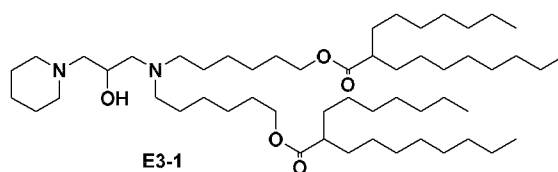
步骤 b: 将 **S2-4** (3.31 g, 7.2 mmol, 由 8-溴辛酸和 9-十七醇进行缩合反应得到) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 **S2-3** (1.82 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S2-5** (3.24 g)。

步骤 c: 将上述化合物 **S2-5** (2.74 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.59 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (1.67 g, 4.8 mmol, 由 6-溴己酸和 1-十一醇进行缩合反应得到的), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (50 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E2-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E2-1** (2.41 g)。**E2-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.83-4.77 (m, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.83-3.77 (m, 1H), 2.66-2.29 (m, 16H), 2.26-2.20 (m, 9H), 1.69-1.21 (m, 64H), 0.86 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 838.83$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 3: 阳离子脂质 (**E3-1**、**E3-2**)

实施例 3.1: 阳离子脂质 **E3-1** 的制备

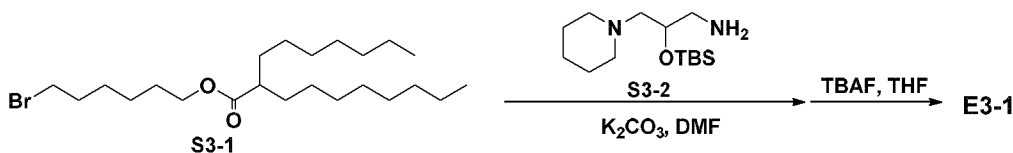


对应通式 (1), **E3-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、

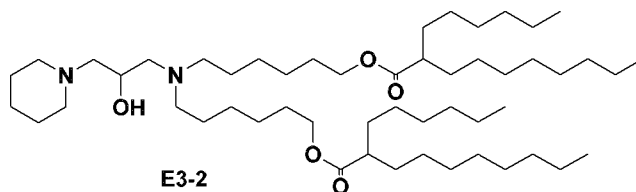
L_2 均为酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 863 Da。

制备过程如下所示:

将 2-庚基癸酸-6-溴己酯 (**S3-1**, 2.85 g, 6.6 mmol, 由 6-溴己醇和 2-庚基癸酸进行缩合反应得到) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 TBS 保护羟基的 1-氨基-3-(1-哌啶基)-2-丙醇 (**S3-2**, 0.82 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E3-1** (2.10 g)。**E3-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.08-4.01 (m, 4H), 3.84-3.75 (m, 1H), 2.62-2.19 (m, 12H), 1.73-1.51 (m, 12H), 1.46-1.20 (m, 64H), 0.86 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 863.88$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



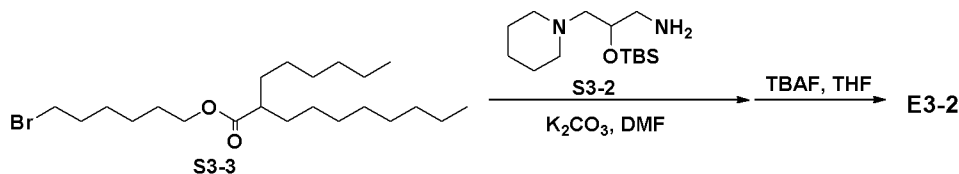
实施例 3.2: 阳离子脂质 E3-2 的制备



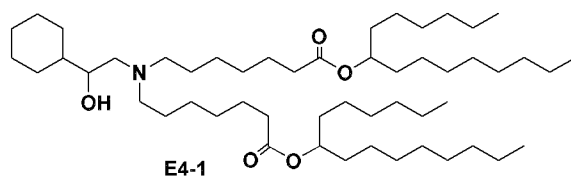
对应通式 (1), **E3-2** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、

L_2 均为酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 835 Da。

参考 **E3-1** 的制备, 将 **S3-1** 替换为 **S3-3** (由 6-溴己醇和 2-己基癸酸进行缩合反应得到), 其余步骤相同, 得到 **E3-2**, 其核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.07-4.01 (m, 4H), 3.84-3.75 (m, 1H), 2.62-2.20 (m, 12H), 1.72-1.50 (m, 12H), 1.45-1.20 (m, 60H), 0.86 (t, 12 H)。MS (ESI): $m/z = 835.80$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 4: 阳离子脂质 (E4-1)



对应通式 (1), **E4-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、

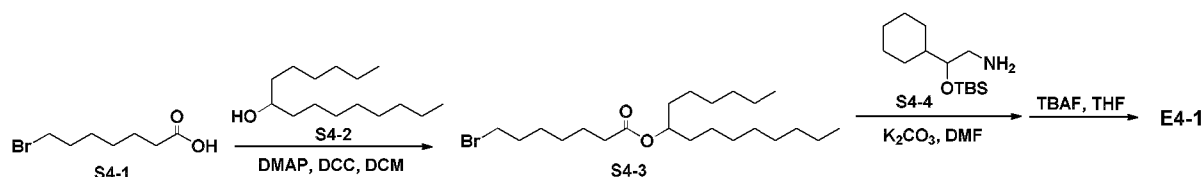
L_2 均为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 820 Da。

制备过程如下所示:

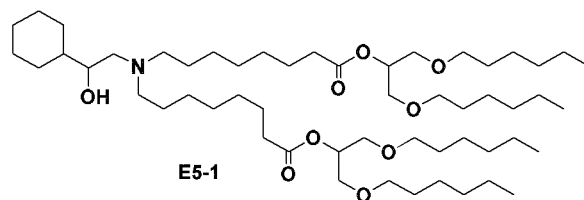
步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (50 mL) 的 7-溴庚酸 (**S4-1**, 2.08 g, 10.0 mmol)、7-十五醇 (**S4-2**, 2.51 g, 11.0 mmol) 和 DMAP (0.31 g, 2.5 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (3.09 g, 15.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 7-溴庚酸-1-己基酯 (**S4-3**, 3.49 g)。

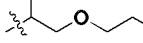
步骤 b: 将 **S4-3** (2.76 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 2-氨基-1-环己基乙醇 (**S4-4**, 0.77 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下



搅拌过夜。反应结束后，将反应混合物减压浓缩，倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃，再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M)，反应过夜，脱除 TBS 保护。反应完成后，浓缩、萃取、合并有机相，经无水硫酸钠干燥，过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E4-1** (1.99 g)。**E4-1** 的核磁氢谱主要数据如下：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.89-4.82 (m, 2H), 3.35-3.28 (m, 1H), 2.60- 2.20 (m, 10H), 1.90 (d, 1H), 1.77-1.39 (m, 20H), 1.32-0.96 (m, 54H), 0.86 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 820.58 ([M+H]⁺)。



实施例 5: 阳离子脂质 (**E5-1**)



对应通式 (1), **E5-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚庚基, L_1 、

L_2 均为酯基 ($-C(=O)O-$), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为 , 总分子量约为 912 Da。

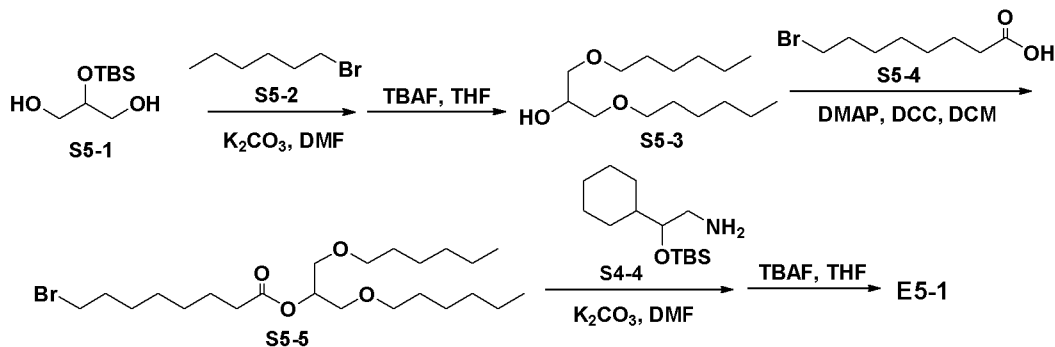
制备过程如下所示:

步骤 a: 在氩气气氛下, 将含有一个 TBS 保护羟基的甘油 (**S5-1**, 4.12 g, 20.0 mmol)、 K_2CO_3 (8.28 g, 60.0 mmol)、溴己烷 (**S5-2**, 3.61 g, 22.0 mmol) 溶解于 100 mL 的 DMF 中, 混合物在 110°C 下搅拌 16 小时, 通过薄层色谱法确认反应完成后, 将反应液倒入水 (100 mL) 中进行沉淀, 过滤, 所得固体溶解于 50 mL 四氢呋喃, 再加入 50 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S5-3** (3.02 g)。

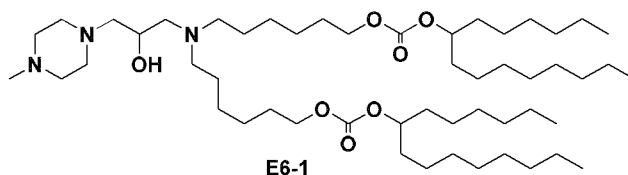
步骤 b: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (50 mL) 的 8-溴辛酸 (**S5-4**, 2.00 g, 9.0 mmol)、**S5-3** (2.57 g, 9.9 mmol) 和 DMAP (0.27 g, 2.3 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (2.78 g, 13.5 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 **S5-5** (3.49 g)。

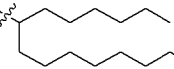
步骤 c: 将 **S5-5** (3.06 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 2-氨基-1-环己基乙醇 (**S4-4**, 0.77 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E5-1** (2.19 g)。**E5-1** 的核磁氢谱主要数据

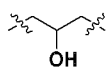

如下： $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.97-4.92 (m, 2H), 3.59-3.27 (m, 17H), 2.60-2.19 (m, 10H), 1.90 (d, 1H), 1.79-1.40 (m, 20H), 1.33-0.95 (m, 42H), 0.86 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 912.84$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 6: 阳离子脂质 (E6-1)



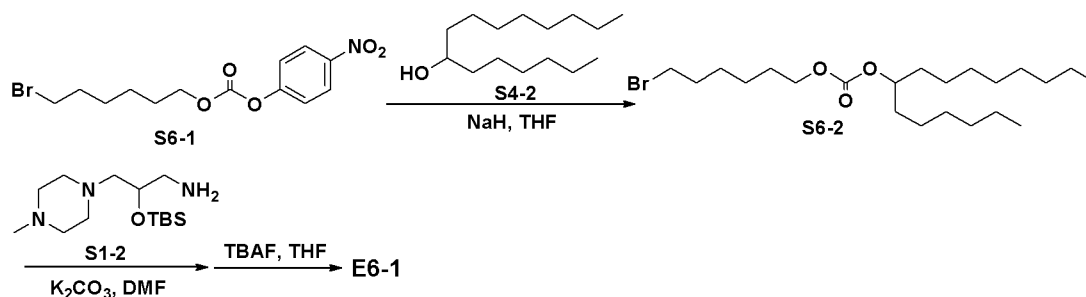
对应通式 (1), E6-1 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、 L_2

均为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 882 Da。

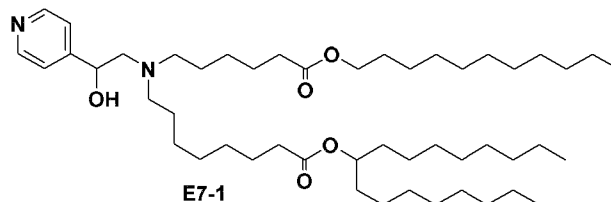
制备过程如下所示:

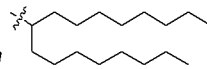
步骤 a: 在氮气的保护下, 将 6-溴己基-4-硝基苯基碳酸酯 (S6-1, 10.35 g, 30.0 mmol, 由对硝基苯基氯甲酸酯和 6-溴正己醇反应得到) 溶于 DCM (350 mL) 中, 室温搅拌下滴加 S4-2 (27.36 g, 120.0 mmol), 随后缓慢滴加吡啶 (3.02 mL, 37.5 mmol) 超过 10 min, 然后一次性加入 DMAP (0.73 g, 6.0 mmol)。室温搅拌反应 16 h, 反应结束后用 DCM 和水进行萃取两次, 合并有机相并用盐水洗涤, 然后用无水硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 硅胶柱分离纯化, 收集目标洗脱液, 浓缩得到 S6-2 (3.39 g)。


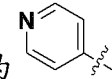
步骤 b: 将 S6-2 (2.86 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 S1-2 (0.86 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 E6-1 (2.20 g)。E6-1 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.15-4.04 (m, 6H), 3.38-2.92 (m, 12H), 2.88-2.37 (m, 8H), 1.75-1.20 (m, 64H), 0.88 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 882.86$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 7: 阳离子脂质 (E7-1)



对应通式 (1), **E7-1** 中, R₁ 为十一烷基, R₂ 为 , B₁ 为亚戊基, B₂

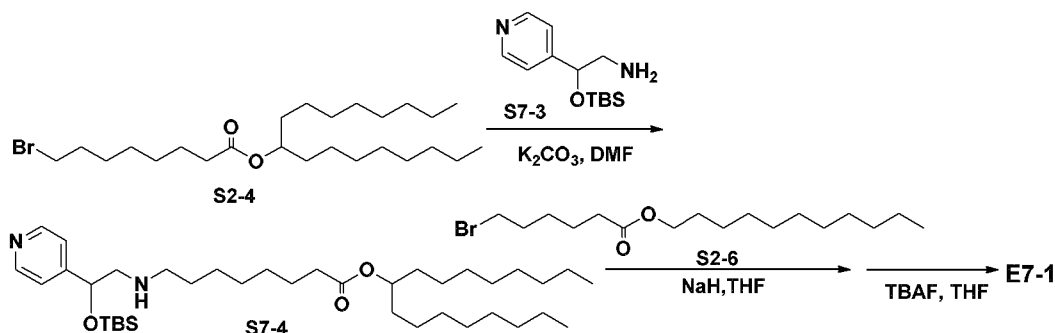
为亚庚基, L₁、L₂ 均为酯基 (-C(=O)O-), -L₃(R₃)-为 , 其中 R₃ 为 -OH, R₄ 为 ,

总分子量约为 787 Da。

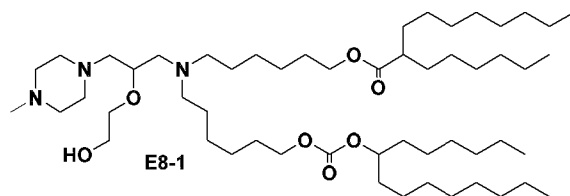
制备过程如下所示:

步骤 a: 将 **S2-4** (4.42 g, 9.6 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 2-氨基-1-(4-吡啶基)乙醇 (**S7-3**, 2.02 g, 8.0 mmol) 和 K₂CO₃ (1.59 g, 11.5 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S7-4** (4.15 g)。

步骤 b: 将上述化合物 **S7-4** (3.80 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (60 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (2.51 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (60 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (30 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (60 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 30 mL 四氢呋喃, 再加入 30 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E7-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E7-1** (3.64 g)。**E7-1** 的核磁氢谱主要数据如下: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.44 (d, 2H), 7.24 (d, 2H), 4.89-4.83 (m, 1H), 4.72-4.68 (m, 1H), 4.07 (t, 2H), 2.56-2.24 (m, 10H), 1.78-1.22 (m, 62H), 0.88 (t, 9H)。MS (ESI): m/z = 787.70 ([M+H]⁺)。



实施例 8: 阳离子脂质 (E8-1)



对应通式 (1), E8-1 中, R_1 、 R_2 均为 $\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-}$, B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1

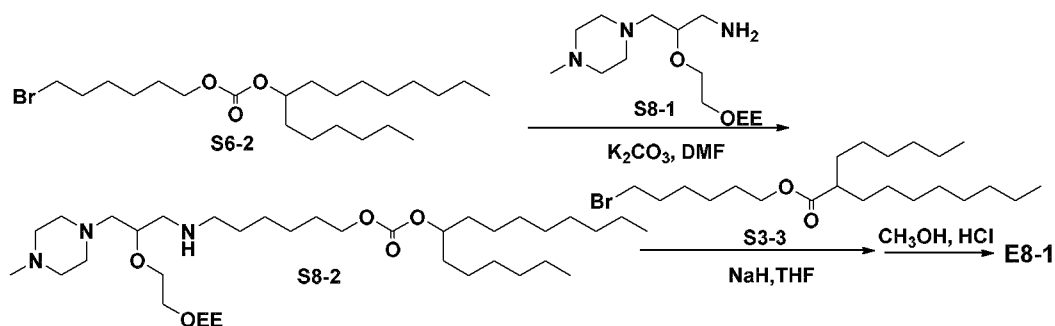
为酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})-$), L_2 为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 $\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$, 其中 R_3 为

$-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, R_4 为 $\text{-N(CH}_2\text{)}_2\text{-}$, 总分子量约为 910 Da。

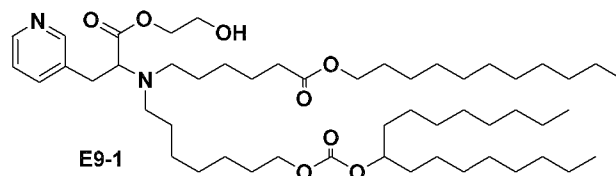
制备过程如下所示:

步骤 a: 将 S6-2 (3.12 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 S8-1 (1.73 g, 6.0 mmol, 参考实施例 42 制备) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 S8-2 (3.09 g)。

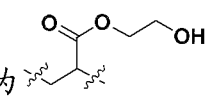
步骤 b: 将上述化合物 S8-2 (2.58 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 S3-3 (2.01 g, 4.8 mmol, 由 6-溴己醇和 2-己基癸酸进行缩合反应得到), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (50 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次, 有机相减压浓缩后, 用甲醇溶解, 加入 1M 盐酸至 pH=3.5, 反应 4 小时后, 浓缩, 沉淀, 过滤, 重结晶, 干燥, 得到羟基裸露的 E8-1 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 E8-1 (3.02 g)。E8-1 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.24-4.03 (m, 5H), 3.91-3.82 (m, 1H), 3.70-3.52 (m, 4H), 2.68-2.20 (m, 20H), 1.75-1.22 (m, 64H), 0.89 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 910.83$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。




实施例 9: 阳离子脂质 (E9-1)



对应通式 (1), E9-1 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2

为亚庚基, L_1 为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), L_2 为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 ,

其中 R_3 为 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 875 Da。

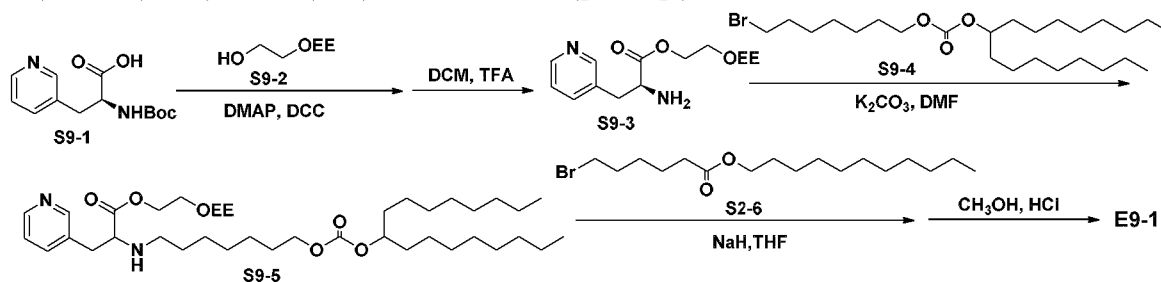
制备过程如下所示:

步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (50 mL) 的含 Boc 保护氨基的 3-(3-吡啶基)-L-丙氨酸 (S9-1, 2.66 g, 10.0 mmol)、含有一个 EE 保护羟基的乙二醇 (S9-2, 1.47 g, 11.0 mmol, 其中 EE 是乙基乙烯基醚与羟基反应生成的 α -乙氧基乙基醚基团, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OEt}$) 和 DMAP (0.31 g, 2.5 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (3.09 g, 15.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 用二氯甲烷溶解, 加入 TFA 至 0.1 M, 反应 4 小时后, 调节 pH 至中性, 浓缩反应液, 加入纯化水, 用二氯甲烷萃取, 将萃取液用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩滤液, 重结晶得到氨基裸露的中间体 S9-3 (1.79 g)。

步骤 b: 将 S9-4 (3.43 g, 7.2 mmol, 由 7-溴庚基-4-硝基苯基碳酸酯和 9-十七醇反应得到) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 S9-3 (1.69 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 S9-5 (3.59 g)。

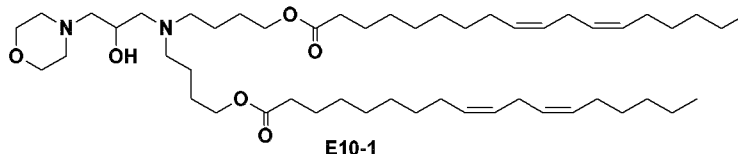
步骤 c: 将上述化合物 S9-5 (2.72 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 S2-6 (1.67 g, 4.8 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (50 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次, 有机相减压浓缩后, 用甲醇溶解, 加入 1M 盐酸至 pH=3.5, 反应 4 小时后, 浓缩, 沉淀, 过滤, 重结晶, 干燥, 得到羟基裸露的 E9-1 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 E9-1 (2.70 g)。E9-1 的核磁

氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.48-7.14 (m, 4H), 4.21-4.05 (m, 7H), 3.86-3.80 (m, 2H), 3.68-3.63 (m, 1H), 3.08-3.01 (m, 2H), 2.69-2.24 (m, 6H), 1.72-1.23 (m, 62H), 0.89 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 875.74$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

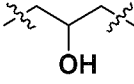
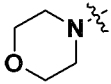


实施例 10: 阳离子脂质 (E10-1、E10-2)

实施例 10.1: 阳离子脂质 E10-1 的制备



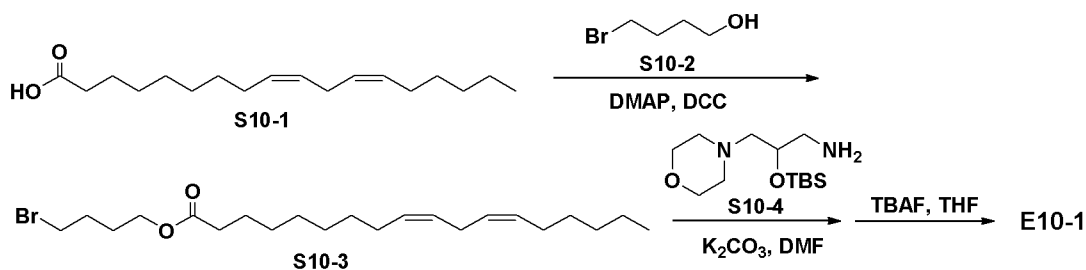
对应通式 (1), E10-1 中, R_1 、 R_2 均为 8,11-十七碳二烯基, B_1 、 B_2 均为亚丁基,

L_1 、 L_2 均为酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 829 Da。

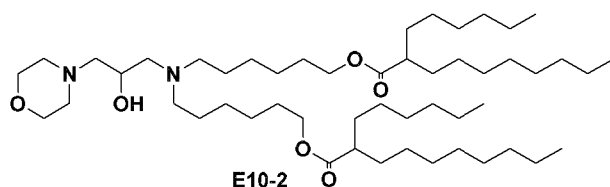
制备过程如下所示:

步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (50 mL) 的亚油酸 (S10-1, 2.80 g, 10.0 mmol)、4-溴丁醇 (S10-2, 1.67 g, 11.0 mmol) 和 DMAP (0.31 g, 2.5 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (3.09 g, 15.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 S10-3 (3.45 g)。

步骤 b: 将 S10-3 (2.73 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 1-氨基-3-(4-吗啉基)-2-丙醇 (S10-4, 0.82 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 E10-1 粗产品。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 E10-1 (1.96 g)。E10-1 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.37-5.33 (m, 8H), 4.03 (t, 4H), 3.92-3.86 (m, 1H), 3.72-3.67 (m, 4H), 2.76 (t, 4H), 2.72-2.42 (m, 10H), 2.39-2.23 (m, 4H, 2H), 2.06-2.00 (m, 8H), 1.69-1.21 (m, 40H), 0.87 (t, 6H)。MS (ESI): $m/z = 829.76$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

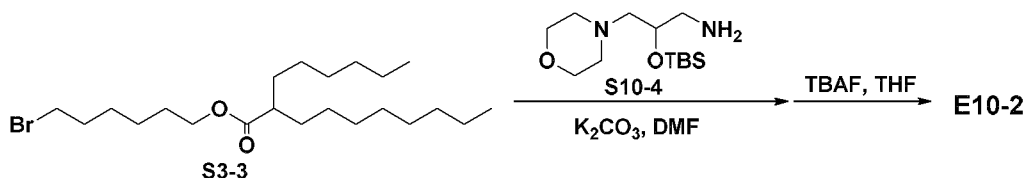


实施例 10.2: 阳离子脂质 E10-2 的制备

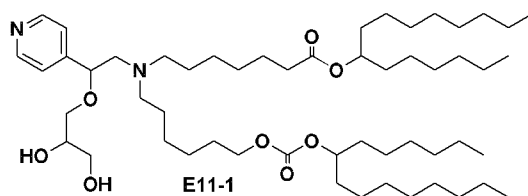


对应通式 (1), **E10-2** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、 L_2 均为酯基 (-OC(=O)-), $-L_3(R_3)$ -为 , 其中 R_3 为 -OH, R_4 为 , 总分子量约为 837 Da。

参考 **E10-1** 的制备, 将 **S10-3** 替换为 **S3-3**, 其余步骤相同, 得到 **E10-2**, 其核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.03 (t, 4H), 3.94-3.87 (m, 1H), 3.71-3.66 (m, 4H), 2.72-2.42 (m, 10H), 2.37-2.24 (m, 2H, 2H), 1.62-1.50 (m, 10H), 1.43-1.32 (m, 10H), 1.26-1.19 (m, 44H), 0.85 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 837.80$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 11: 阳离子脂质 (E11-1)



对应通式 (1), **E11-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 为酯基 (-C(=O)O-), L_2 为碳酸酯基 (-OC(=O)O-), $-L_3(R_3)$ -为 , 其中 R_3 为 , R_4 为 , 总分子量约为 905 Da。

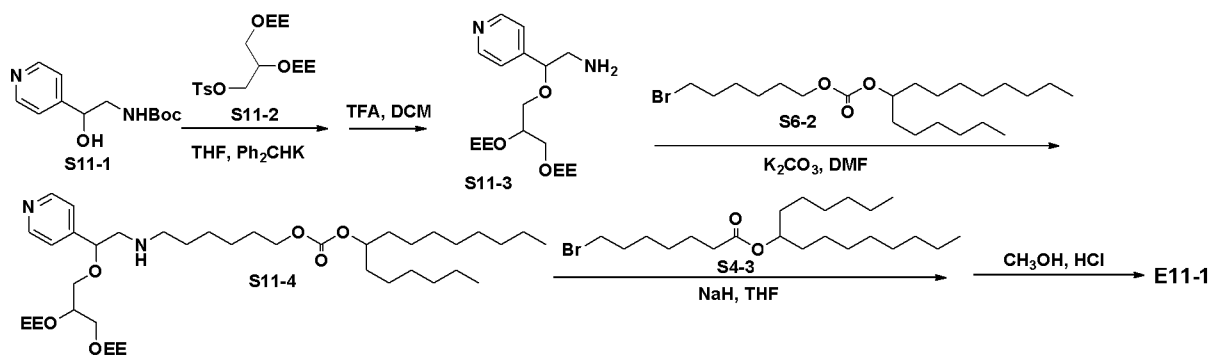
制备过程如下所示:

步骤 a: 往无水无氧的密闭反应釜中, 加入四氢呋喃 200 mL 和过量的二苯基甲基钾 (14.42 g, 70.0 mmol), 再加入含 Boc 保护氨基的 2-氨基-1-(4-吡啶基)乙醇 (**S11-1**, 4.00 g, 16.8 mmol) 和化合物 **S11-2** (6.55 g, 16.8 mmol), 其中, **S11-2** 为一个羟基被对甲苯磺酸酯基 (-OTs) 取代、另两个羟基被 EE 保护的甘油。在 30°C 下反应 12 小时后, 将反应釜打开, 经浓缩、洗涤, 用二氯甲烷溶解, 加入 TFA 至 0.1M, 反应 4 小时后, 调节 PH 至中性, 浓缩反应液, 加入纯化水, 用二氯甲烷萃取, 将萃取液浓缩, 沉淀, 过滤, 干燥, 得到氨基裸露的中间体 **S11-3** (3.51 g)。

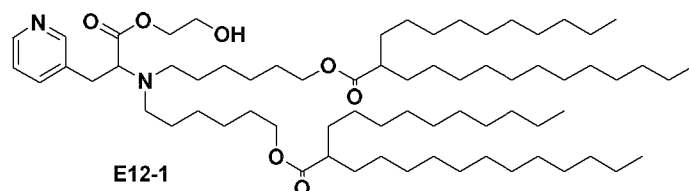
步骤 b: 将 **S6-2** (4.69 g, 10.8 mmol) 溶于 80 mL 的 DMF 中, 加入 **S11-3** (3.20 g, 9.0

mmol, 参考实施例 43 制备) 和 K_2CO_3 (1.79 g, 13.0 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 80 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (40 mL*2)、盐水 (40 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S11-4** (5.31 g)。

步骤 c: 将上述化合物 **S11-4** (4.27 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (80 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 **S4-3** (3.01 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (80 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (40 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (80 mL) 反洗一次, 有机相减压浓缩后, 用甲醇溶解, 加入 1M 盐酸至 pH=3.5, 反应 4 小时后, 浓缩, 沉淀, 过滤, 重结晶, 干燥, 得到羟基裸露的 **E11-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E11-1** (4.40 g)。**E11-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.55 (d, 2H), 7.20 (d, 2H), 4.80-4.75 (m, 1H), 4.30-4.25 (m, 1H), 4.21-4.06 (m, 3H), 3.79-3.73 (m, 1H), 3.64-3.56 (m, 2H), 3.41-3.34 (m, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.60-2.25 (m, 6H), 1.72-1.20 (m, 64H), 0.88 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 905.78$ ($[M+H]^+$)。




实施例 12: 阳离子脂质 (**E12-1**)



对应通式 (1), **E12-1** 中, R_1 、 R_2 均为 $-C_{12}H_{25}$, B_1 、 B_2 均为亚己

基, L_1 、 L_2 均为酯基 ($-OC(=O)-$), $-L_3(R_3)-$ 为 $-C(=O)O(CH_2)_2OH$, 其中 R_3 为 $-C(=O)O(CH_2)_2OH$,

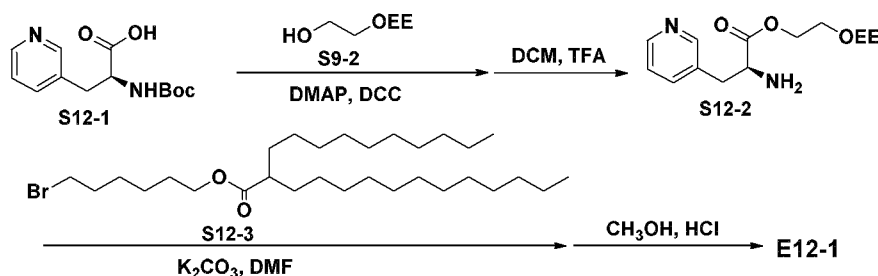
R_4 为 , 总分子量约为 1111 Da。

制备过程如下所示:

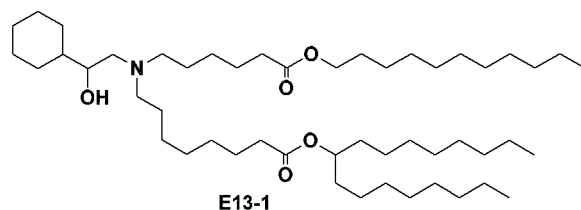
步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (50 mL) 的含 Boc 保护氨基的 3-(3-吡啶基)-L-丙氨酸 (**S12-1**, 2.66 g, 10.0 mmol) 以及含有一个 EE 保护羟基的乙二醇 (**S9-2**, 1.47 g, 11.0 mmol) 和 DMAP (0.31 g, 2.5 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (3.09 g, 15.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 用二氯甲烷溶解, 加

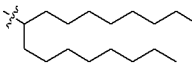
入 TFA 至 0.1 M, 反应 4 小时后, 调节 PH 至中性, 浓缩反应液, 加入纯化水, 用二氯甲烷萃取, 将萃取液用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩滤液, 重结晶得到氨基裸露的中间体 **S12-2** (1.79 g)。

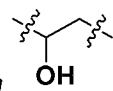
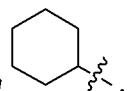
步骤 b: 将 **S12-3** (3.50 g, 6.6 mmol, 由 6-溴正己醇和 2-癸基十四酸进行缩合反应得到) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 **S12-2** (0.85 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后, 用甲醇溶解, 加入 1M 盐酸至 pH=3.5, 反应 4 小时后, 浓缩, 沉淀, 过滤, 重结晶, 干燥, 得到羟基裸露的 **E12-1** 粗产品。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E12-1** (2.77 g)。**E12-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.48-7.14 (m, 4H), 4.23-4.19 (m, 2H), 4.10-4.04 (m, 4H), 3.87-3.82 (m, 2H), 3.69-3.63 (m, 1H), 3.10-3.00 (m, 2H), 2.34-2.25 (m, 2H), 1.74-1.20 (m, 100H), 0.88 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 1111.99 ($[M+H]^+$)。



实施例 13: 阳离子脂质 (**E13-1**)



对应通式 (1), **E13-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2

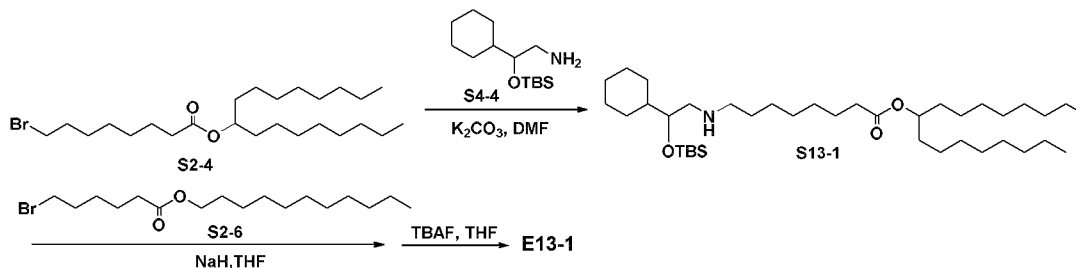
为亚庚基, L_1 、 L_2 均为酯基 ($-C(=O)O-$), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为 , 总分子量约为 792 Da。

制备过程如下所示:

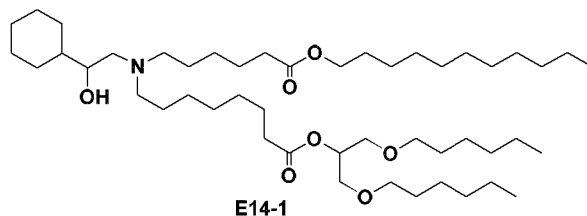
步骤 a: 将 **S2-4** (4.42 g, 9.6 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入 **S4-4** (2.06 g, 8.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.59 g, 11.5 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S13-1** (4.44 g)。

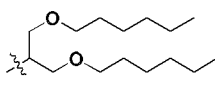
步骤 b: 将上述化合物 **S13-1** (3.83 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (60 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (2.51 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (60 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (30 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱

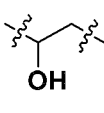
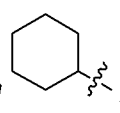
和氯化钠 (60 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 30 mL 四氢呋喃, 再加入 30 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E13-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E13-1** (3.37 g)。**E13-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.87-4.81 (m, 1H), 4.09 (t, 2H), 3.35-3.27 (m, 1H), 2.63-2.24 (m, 10H), 1.90 (d, 1H), 1.78-0.97 (m, 72H), 0.88 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 792.79$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 14: 阳离子脂质 (**E14-1**)



对应通式 (1), **E14-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2

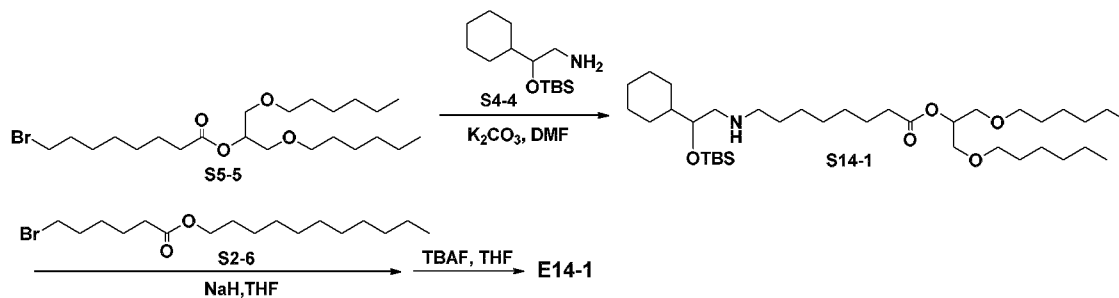
为亚庚基, L_1 、 L_2 均为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 796 Da。

制备过程如下所示:

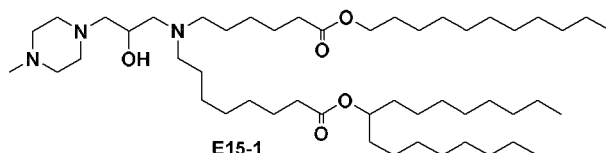
步骤 a: 将 **S5-5** (4.45 g, 9.6 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入 **S4-4** (2.06 g, 8.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.59 g, 11.5 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S14-1** (4.37 g)。

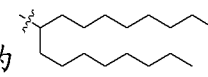
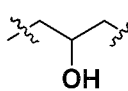
步骤 b: 将上述化合物 **S14-1** (3.85 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (60 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (2.51 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (60 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (30 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (60 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 30 mL 四氢呋喃, 再加入 30 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E14-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E14-1** (3.63 g)。**E14-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.94-4.89 (m, 1H), 4.11 (t, 2H), 3.58-3.29 (m, 9H),

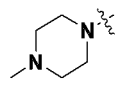
2.65-2.23 (m, 10H), 1.92 (d, 1H), 1.79-0.99 (m, 50H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 796.77$ ($[M+H]^+$)。



实施例 15: 阳离子脂质 (E15-1)



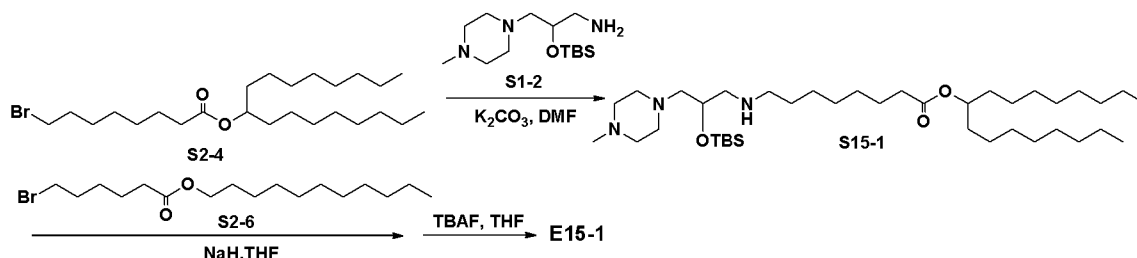
对应通式 (1), E15-1 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2 为亚庚基, L_1 、 L_2 均为酯基 ($-C(=O)O-$), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为

, 总分子量约为 822 Da。

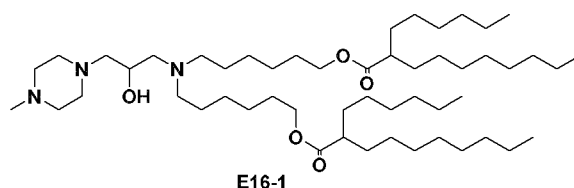
制备过程如下所示:

步骤 a: 将 S2-4 (4.42 g, 9.6 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入 S1-2 (2.30 g, 8.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.59 g, 11.5 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 S15-1 (4.36 g)。

步骤 b: 将上述化合物 S15-1 (4.01 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (60 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 S2-6 (2.51 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (60 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (30 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (60 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 30 mL 四氢呋喃, 再加入 30 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 E15-1 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 E15-1 (3.92 g)。E15-1 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.88-4.80 (m, 1H), 4.08 (t, 2H), 3.84-3.73 (m, 1H), 2.77-2.19 (m, 23H), 1.72-1.18 (m, 62H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 822.81$ ($[M+H]^+$)。



实施例 16: 阳离子脂质 (E16-1)

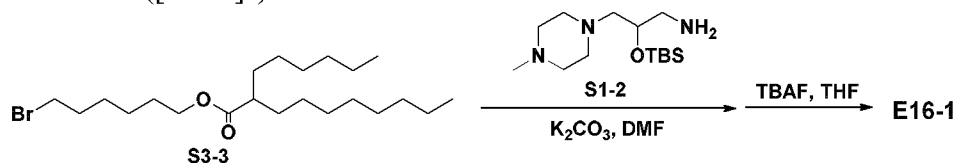


对应通式 (1), E16-1 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、

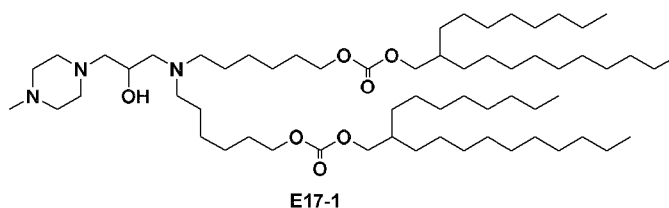
L_2 均为酯基 (-OC(=O)-), $-L_3(R_3)$ -为 , 其中 R_3 为 -OH, R_4 为 , 总分子量约为 850 Da。

制备过程如下所示:

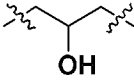
将 S3-3 (2.76 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 S1-2 (0.86 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 E16-1 (2.07 g)。E16-1 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.04 (t, 4H), 3.85-3.77 (m, 1H), 2.80-2.20 (m, 21H), 1.66-1.39 (m, 16H), 1.35-1.20 (m, 48H), 0.86 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 850.83 ($[M+H]^+$)。

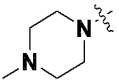


实施例 17: 阳离子脂质 (E17-1)



对应通式 (1), E17-1 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己

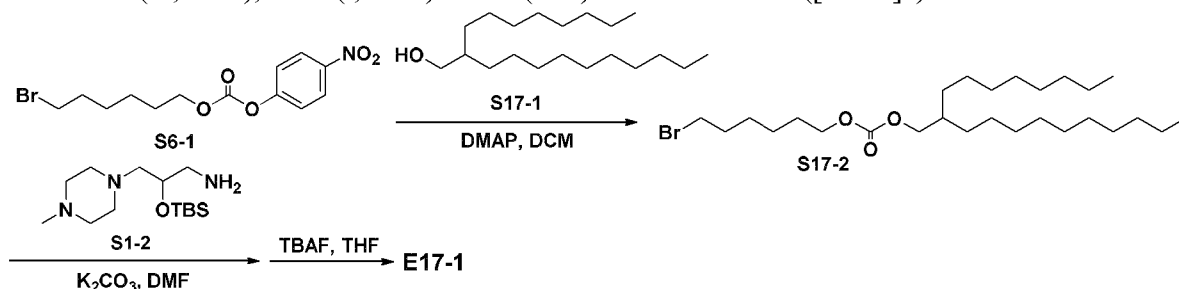
基, L_1 、 L_2 均为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为  , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为

 , 总分子量约为 1022 Da。

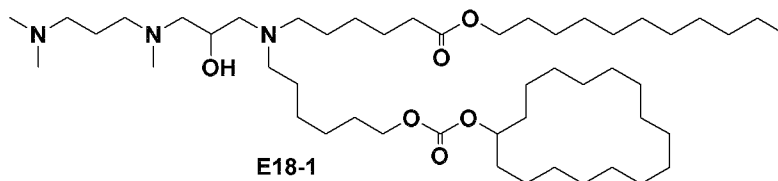
制备过程如下所示:

步骤 a: 在氮气的保护下, 将 6-溴己基-4-硝基苯基碳酸酯 (**S6-1**, 10.35 g, 30.0 mmol) 溶于 DCM (400 mL) 中, 室温搅拌下滴加 2-辛基十二醇 (**S17-1**, 35.76 g, 120.0 mmol), 随后缓慢滴加吡啶 (3.02 mL, 37.5 mmol) 超过 10 min, 然后一次性加入 DMAP (0.73 g, 6.0 mmol)。室温搅拌反应 16 h, 反应结束后用 DCM 和水进行萃取两次, 合并有机相并用盐水洗涤, 然后用无水硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 硅胶柱分离纯化, 收集目标洗脱液, 浓缩得到 **S17-2** (3.63 g)。

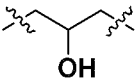
步骤 b: 将 **S17-2** (3.33 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 **S1-2** (0.86 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E17-1** (2.42 g)。**E17-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.13-3.99 (m, 8H), 3.33-2.94 (m, 12H), 2.92-2.57 (m, 6H), 2.55-2.41 (m, 2H), 1.76-1.38 (m, 16H), 1.34-1.22 (m, 66H), 0.88 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 1022.95$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

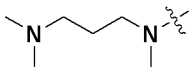


实施例 18: 阳离子脂质 (**E18-1**)



对应通式 (1), **E18-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为环十六烷基, B_1 为亚戊基, B_2 为

亚己基, L_1 酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), L_2 为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为  , 其

中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为  , 总分子量约为 824 Da。

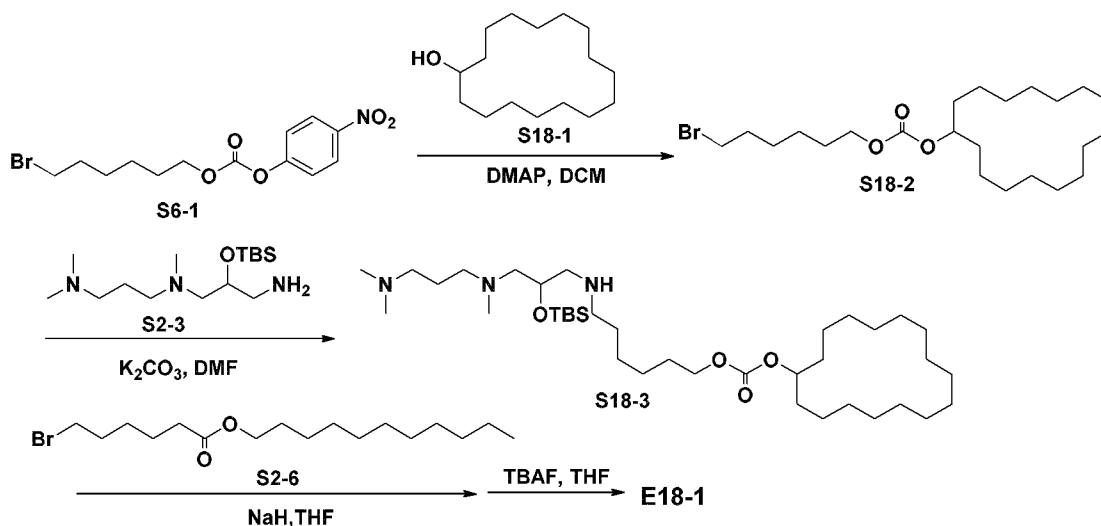
制备过程如下所示:

步骤 a: 在氮气的保护下, 将 **S6-1** (10.35 g, 30.0 mmol) 溶于 DCM (400 mL) 中, 室温搅拌下滴加环十六烷基-1-醇 (**S18-1**, 28.80 g, 120.0 mmol), 随后缓慢滴加吡啶 (3.02

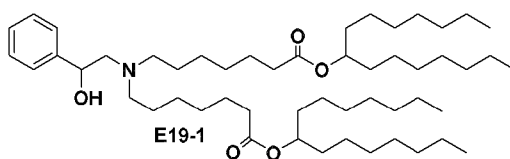
mL, 37.5 mmol) 超过 10 min, 然后一次性加入 DMAP (0.73 g, 6.0 mmol)。室温搅拌反应 16 小时, 反应结束后用 DCM 和水进行萃取两次, 合并有机相并用盐水洗涤, 然后用无水硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 用硅胶柱分离纯化, 收集目标洗脱液, 浓缩得到 **S18-2** (3.75 g)。

步骤 b: 将 **S18-2** (3.21 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 **S2-3** (1.82 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S18-3** (3.34 g)。

步骤 c: 将上述化合物 **S18-3** (2.68 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (40 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.59 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (1.67 g, 4.8 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (40 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (20 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (40 mL) 反洗一次, 有机相减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E18-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E18-1** (2.49 g)。**E18-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.20-4.07 (m, 2H), 4.05 (t, 2H), 3.82-3.77 (m, 1H), 2.65-2.31 (m, 14H), 2.26-2.20 (m, 9H), 1.74-1.25 (m, 64H), 0.89 (t, 3H)。MS (ESI): $m/z = 824.78$ ($[M+H]^+$)。



实施例 19: 阳离子脂质 (**E19-1**)



对应通式 (1), **E19-1** 中, R_1 、 R_2 均为 $-CH_2(CH_2)_6CH_3$, B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、 L_2

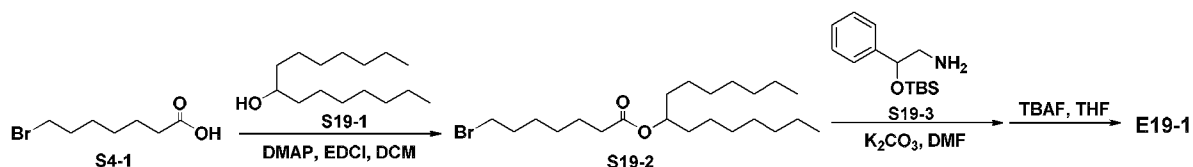
均为酯基 ($-C(=O)O-$), $-L_3(R_3)-$ 为 $-CH(OH)-CH_2-$, 其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为 $-C_6H_5$, 总分子量约

为 814 Da。

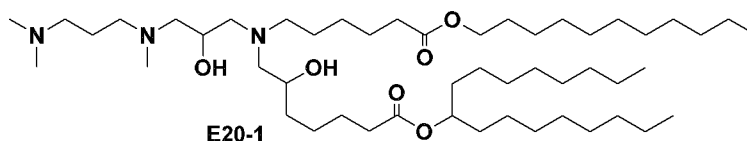
制备过程如下所示：

步骤 a：在氩气气氛下，向装有溶于二氯甲烷（50 mL）的 7-溴庚酸（**S4-1**，2.08 g，10.0 mmol）、8-十五醇（**S19-1**，2.51 g，11.0 mmol）和 DMAP（0.31 g，2.5 mmol）的圆底烧瓶加入 DCC（3.09 g，15.0 mmol），室温下反应 16 h。反应结束后，通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液，得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 **S19-2**（3.68 g）。

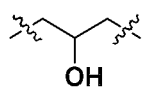
步骤 b：将 **S19-2**（2.76 g，6.6 mmol）溶于 50 mL 的 DMF 中，加入含 TBS 保护羟基的 2-氨基-1-苯基乙醇（**S19-3**，0.75 g，3.0 mmol）和 K_2CO_3 （1.09 g，7.9 mmol），室温下搅拌过夜。反应结束后，将反应混合物减压浓缩，倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸（25 mL*2）、盐水（25 mL*2）洗涤后，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃，再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液（1M），反应过夜，脱除 TBS 保护。反应完成后，浓缩、萃取、合并有机相，经无水硫酸钠干燥，过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E19-1**（1.95 g）。**E19-1** 的核磁氢谱主要数据如下： 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.40-7.22 (m, 5H), 4.86-4.77 (m, 2H), 4.72-4.65 (m, 1H), 2.53-2.24 (m, 10H), 1.69-1.21 (m, 64H), 0.88 (t, 12H)。MS (ESI) : m/z = 814.77 ($[M+H]^+$)。

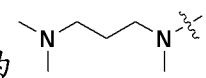


实施例 20：阳离子脂质（**E20-1**）



对应通式（1），**E20-1** 中， R_1 为十一烷基， R_2 为 ， B_1 为亚戊基， B_2

为 -OH 取代的亚己基， L_1 、 L_2 均为酯基（ $-C(=O)O-$ ）， $-L_3(R_3)-$ 为 ，其中 R_3 为

-OH， R_4 为 ，总分子量约为 840 Da。

制备过程如下所示：

步骤 a：在氮气的保护下，将 6-庚烯酸（**S20-2**，2.56 g，20.0 mmol）溶于 DCM（100 mL）中，加入 *N,N*-二异丙基乙胺（DIEA，7.74 g，60.0 mmol）、**S20-1**（7.68 g，30.0 mmol）、EDCI（7.68 g，40.0 mmol）和 DMAP（0.73 g，6.0 mmol）。反应混合物于 $50^\circ C$ 下搅拌反应 10 小时，反应结束后用 DCM 和水进行萃取两次，合并有机相并用盐水洗涤，然后用无水硫酸镁干燥，过滤浓缩，用硅胶柱分离纯化，收集目标洗脱液，浓缩得到 **S20-3**（6.15 g）。

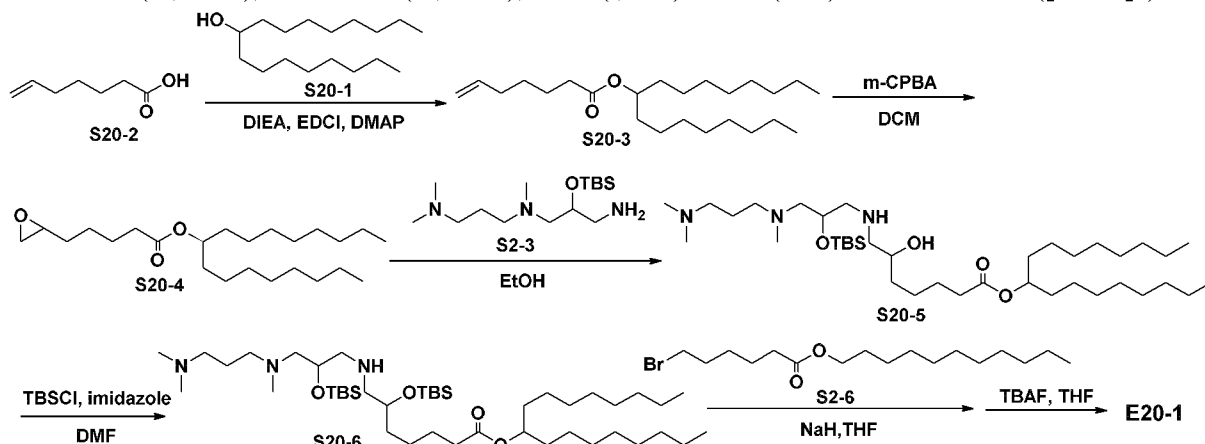
步骤 b：将上述化合物 **S20-3**（5.12 g，14.0 mmol）溶于 70 mL 的 DCM 中，加入间氯过氧苯甲酸（*m*-CPBA，4.84 g，28.0 mmol），室温搅拌反应 10 小时。反应结束后将混合物倒入 70 mL 的饱和碳酸氢钠溶液中，充分混合后，分离水相并用 DCM 萃取（35 mL*2），合并有机相并用饱和食盐水洗涤，然后用无水硫酸镁干燥，过滤浓缩，用硅

胶柱分离纯化, 收集目标洗脱液, 浓缩得到 **S20-4** (4.44 g)。

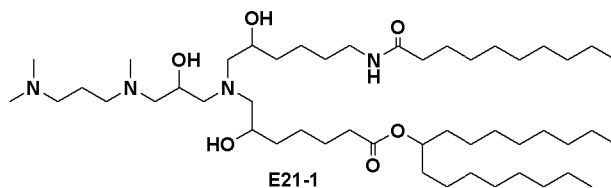
步骤 c: 将上述化合物 **S20-4** (3.67 g, 9.6 mmol) 溶于 50 mL 乙醇, 加入含有 TBS 保护羟基的 **S2-3** (2.42 g, 8.0 mmol), 50°C 下搅拌反应 4 小时。反应结束后, 加入 50 mL 二氯甲烷稀释, 用 100 mL 饱和氯化钠溶液反洗后, 将有机相分离并用无水硫酸钠干燥。过滤浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S20-5** (3.62 g)。

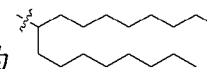
步骤 d: 将上述化合物 **S20-5** (3.43 g, 5.0 mmol) 和咪唑 (0.54 g, 8.0 mmol) 溶于 50 mL 二氯甲烷中, 冰浴搅拌下加入叔丁基二甲基氯硅烷 (1.05 g, 7.0 mmol), 反应 2 小时后, 过滤并用 50 mL 二氯甲烷冲洗, 合并滤液, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得到含两个 TBS 保护羟基的中间体 **S20-6** (3.92 g)。

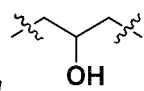
步骤 e: 将 **S20-6** (3.20 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (40 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.59 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (1.67 g, 4.8 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (40 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (20 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (40 mL) 反洗一次, 有机相减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E20-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E20-1** (2.72 g)。**E20-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.85-4.80 (m, 1H), 4.07 (t, 2H), 3.83-3.78 (m, 1H), 3.63-3.59 (m, 1H), 2.67-2.21 (m, 25H), 1.73-1.23 (m, 60H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 840.82$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

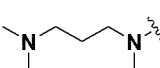


实施例 21: 阳离子脂质 (**E21-1**)



对应通式 (1), **E21-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 、 B_2 均为 -OH

取代的亚己基, L_1 为酰胺基 (-NHC(=O)-), L_2 为酯基 (-C(=O)O-), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 ,

其中 R_3 为 -OH, R_4 为 , 总分子量约为 841 Da。

制备过程如下所示:

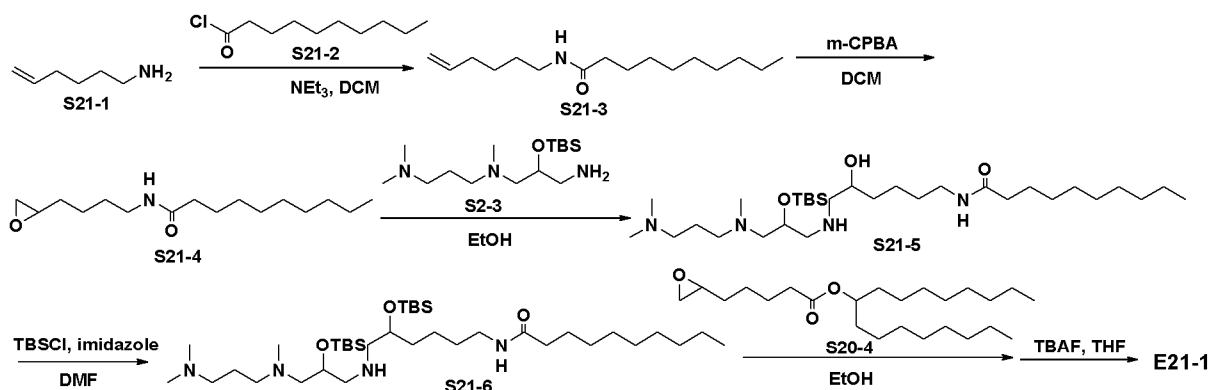
步骤 a: 在氮气保护下, 1-氨基-5-己烯 (S21-1, 1.98 g, 20.0 mmol) 溶解于 50 mL 二氯甲烷后, 将溶液置于冰浴中, 加入三乙胺 (2.77 mL, 20.0 mmol)。搅拌下在 1 小时内加入癸酰氯 (S21-2, 3.80 g, 20.0 mmol)。移去冰浴, 将溶液升至室温。1 小时后加入 50 mL 水搅拌混合, 分离有机层, 将水层用 DCM (25 mL*2) 萃取, 收集有机相合并, 用 100 mL 饱和氯化钠溶液洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂和剩余的三乙胺, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 S21-3 (4.45 g)。

步骤 b: 将上述化合物 S21-3 (3.54 g, 14.0 mmol) 溶于 60 mL 的 DCM 中, 加入间氯过氧苯甲酸 (m-CPBA, 4.84 g, 28.0 mmol), 室温搅拌反应 10 小时。反应结束后将混合物倒入 60 mL 的饱和碳酸氢钠溶液中, 充分混合后, 分离水相并用 DCM 萃取 (20 mL*3), 合并有机相并用饱和食盐水洗涤, 然后用无水硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 S21-4 (3.13 g)。

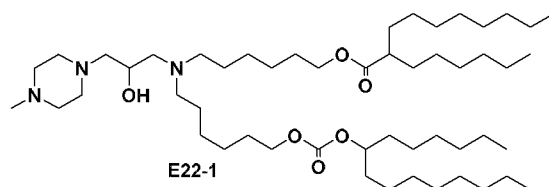
步骤 c: 将上述化合物 S21-4 (2.58 g, 9.6 mmol) 溶于 50 mL 乙醇, 加入含有 TBS 保护羟基的 S2-3 (2.42 g, 8.0 mmol), 50°C 下搅拌反应 4 小时。反应结束后, 加入 50 mL 二氯甲烷稀释, 用 100 mL 饱和氯化钠溶液反洗后, 将有机相分离并用无水硫酸钠干燥。过滤浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 S21-5 (3.12 g)。

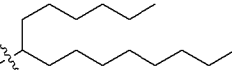
步骤 d: 将上述化合物 S21-5 (2.87 g, 5.0 mmol) 和咪唑 (0.54 g, 8.0 mmol) 溶于 50 mL 二氯甲烷中, 冰浴搅拌下加入叔丁基二甲基氯硅烷 (1.05 g, 7.0 mmol), 反应 2 小时后, 过滤并用 50 mL 二氯甲烷冲洗, 合并滤液, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得到含两个 TBS 保护羟基的中间体 S21-6 (3.37 g)。

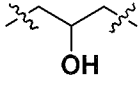
步骤 e: 将上述化合物 S21-6 (2.75 g, 4.0 mmol) 溶于 50 mL 乙醇, 加入 S20-4 (1.67 g, 4.8 mmol), 50°C 下搅拌反应 8 小时。加入 50 mL 二氯甲烷稀释, 用 100 mL 饱和氯化钠溶液反洗后, 将有机相分离, 减压浓缩后加入 30 mL 四氢呋喃, 再加入 30 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得到粗产品, 通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 E21-1 (2.39 g)。E21-1 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.86-4.81 (m, 1H), 3.84-3.78 (m, 1H), 3.66-3.60 (m, 2H), 3.20-3.15 (m, 2H), 2.67-2.19 (m, 23H), 2.13-2.08 (m, 2H), 1.71-1.22 (m, 56H), 0.86 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 841.81$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

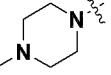


实施例 22: 阳离子脂质 (E22-1)



对应通式 (1), **E22-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1

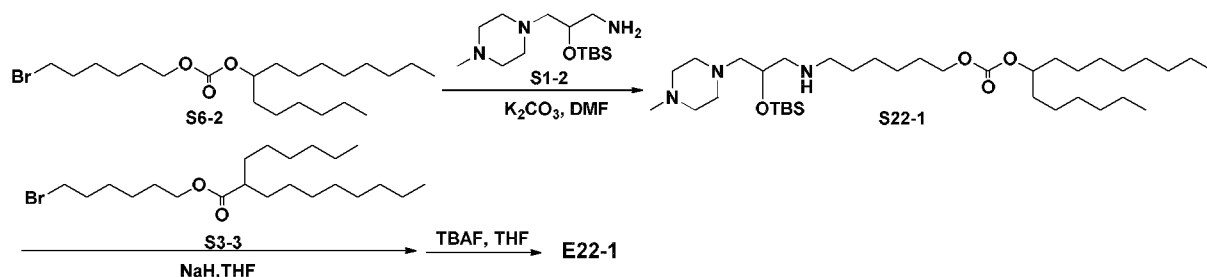
为酯基 (-OC(=O)-), L_2 为碳酸酯基 (-OC(=O)O-), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 -OH,

R_4 为 , 总分子量约为 866 Da。

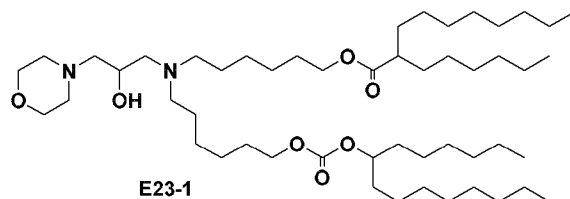
制备过程如下所示:

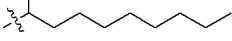
步骤 a: 将 **S6-2** (3.12 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 **S1-2** (1.72 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S22-1** (3.02 g)。

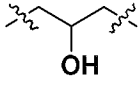
步骤 b: 将上述化合物 **S22-1** (2.57 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (40 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 **S3-3** (2.01 g, 4.8 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (40 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (20 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (40 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E22-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E22-1** (2.60 g)。**E22-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.18-4.06 (m, 5H), 3.87-3.78 (m, 1H), 2.76-2.20 (m, 20H), 1.68-1.21 (m, 64H), 0.88 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 866.84$ ($[M+H]^+$)。

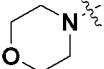


实施例 23: 阳离子脂质 (**E23-1**)



对应通式 (1), **E23-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1

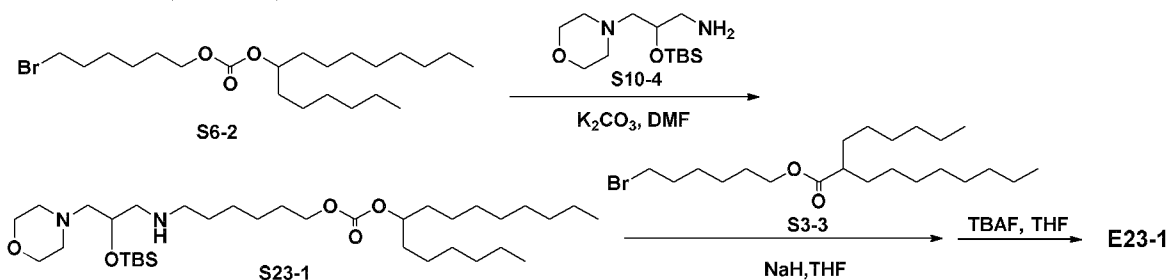
为酯基 (-OC(=O)-), L_2 为碳酸酯基 (-OC(=O)O-), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 -OH,

R₄为，总分子量约为 853 Da。

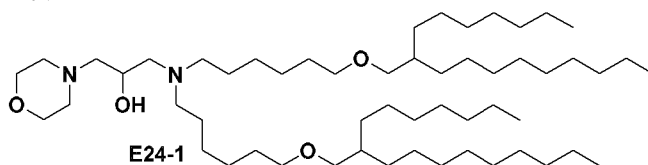
制备过程如下所示：

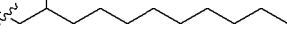
步骤 a: 将 **S6-2** (3.12 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中，加入含 TBS 保护羟基的 1-氨基-3-(4-吗啉基)-2-丙醇 (**S10-4**, 1.64 g, 6.0 mmol) 和 K₂CO₃ (1.19 g, 8.6 mmol)，室温下搅拌过夜。反应结束后，将反应混合物减压浓缩，倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S23-1** (2.94 g)。

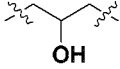
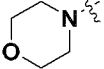
步骤 b: 将上述化合物 **S23-1** (2.52 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (40 mL) 中，冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol)，于冰浴下反应 1 小时。反应结束后，加入化合物 **S3-3** (2.01 g, 4.8 mmol)，冰浴下搅拌反应 1 小时后，反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后，将反应置于冰浴下，缓慢加入 2 mL 水淬灭反应，搅拌 30 分钟后，加入水 (40 mL) 搅拌混合，再用二氯甲烷 (20 mL*2) 萃取两次，收集有机相合并，用饱和氯化钠 (40 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃，再加入 20 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M)，反应过夜，脱除 TBS 保护。反应完成后，浓缩、萃取、合并有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物 **E23-1** 粗产品。通过柱层析纯化，浓缩，油泵抽干得到阳离子脂质 **E23-1** (2.63 g)。**E23-1** 的核磁氢谱主要数据如下：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.21-4.02 (m, 5H), 3.92-3.84 (m, 1H), 3.72-3.64 (m, 4H), 2.71-2.39 (m, 10H), 2.37-2.27 (m, 3H), 1.67-1.21 (m, 64H), 0.86 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 853.81 ([M+H]⁺)。



实施例 24: 阳离子脂质 (**E24-1**)



对应通式 (1)，**E24-1** 中，R₁、R₂ 均为，B₁、B₂ 均为亚己基，

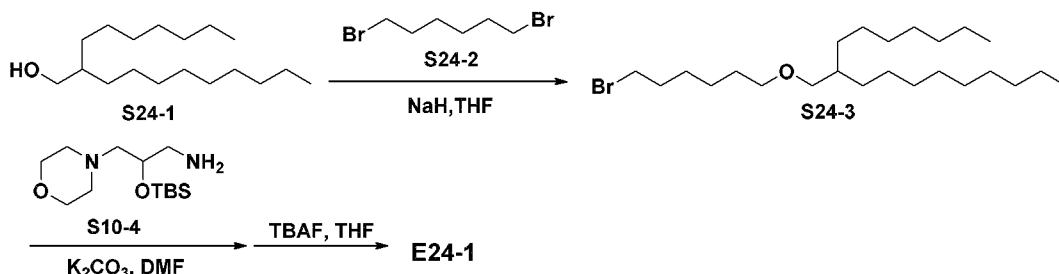
L₁、L₂ 均为 -O-，-L₃(R₃)- 为，其中 R₃ 为 -OH，R₄ 为，总分子量约为 865 Da。

制备过程如下所示：

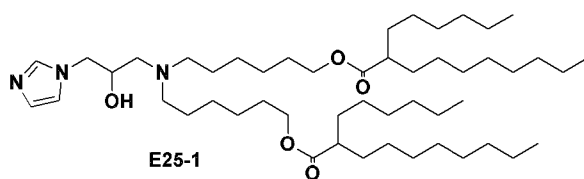
步骤 a: 将 2-庚基十一醇 (**S24-1**, 4.05 g, 15.0 mmol) 溶于干燥的四氢呋喃 (60 mL) 中，氮气保护，冰浴搅拌下，缓慢加入 NaH (60%, 0.60 g, 15.0 mmol)，于冰浴下反应 1 小时，加入 1,6-二溴己烷 (**S24-2**, 4.36 g, 18.0 mmol) 室温反应过夜。加入 3 mL 水，搅拌 10 min，将反应液倒入 60 mL 水中，再用二氯甲烷 (30 mL*2) 萃取两次，收集有机相合

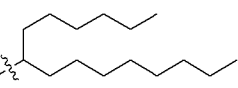
并,用饱和NaCl反洗一次,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,通过柱层析纯化得到小分子中间体**S24-3**(3.50 g)。

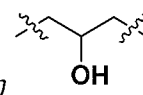
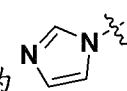
步骤 b: 将**S24-3**(2.85 g, 6.6 mmol)溶于50 mL的DMF中,加入含TBS保护羟基的**S10-4**(0.82 g, 3.0 mmol)和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol),室温下搅拌过夜。反应结束后,将反应混合物减压浓缩,倒入50 mL二氯甲烷。依次用10%柠檬酸(25 mL*2)、盐水(25 mL*2)洗涤后,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩后加入25 mL四氢呋喃,再加入25 mL的TBAF四氢呋喃溶液(1M),反应过夜,脱除TBS保护。反应完成后,浓缩、萃取、合并有机相,用无水硫酸钠干燥,过滤,滤液浓缩得到化合物**E24-1**粗产品。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到**E24-1**(2.26 g)。**E24-1**的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.80-3.41 (m, 13H), 2.72-2.30 (m, 12H), 1.82-1.22 (m, 74H), 0.86 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 865.91 ($[M+H]^+$)。



实施例 25: 阳离子脂质 (**E25-1**)

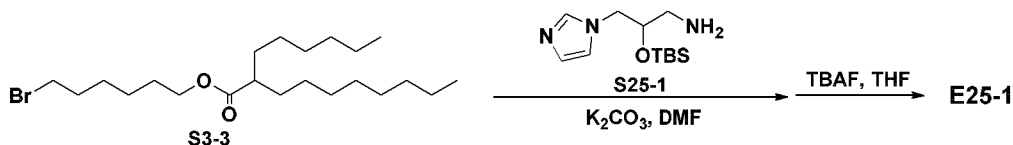


对应通式(1),**E25-1**中, R_1 、 R_2 均为, B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、

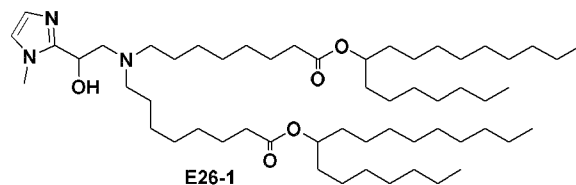
L_2 均为酯基($-OC(=O)-$), $-L_3(R_3)-$ 为,其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为,总分子量约为818 Da。

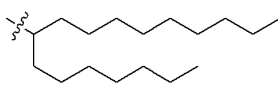
制备过程如下所示:

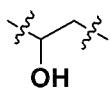

将**S3-3**(2.76 g, 6.6 mmol)溶于50 mL的DMF中,加入1-氨基-3-(1-咪唑基)-2-丙醇(**S25-1**,0.77 g,3.0 mmol)和 K_2CO_3 (1.09 g,7.9 mmol),室温下搅拌过夜。反应结束后,将反应混合物减压浓缩,倒入50 mL二氯甲烷。依次用10%柠檬酸(25 mL*2)、盐水(25 mL*2)洗涤后,有机相用无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩后加入25 mL四氢呋喃,再加入25 mL的TBAF四氢呋喃溶液(1M),反应过夜,脱除TBS保护。反应完成后,浓缩、萃取、合并有机相,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到**E25-1**(1.99 g)。**E25-1**的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.61-6.88 (m, 3H), 4.20-4.14 (m, 2H), 4.09-4.03 (m, 5H), 2.68-2.63 (m, 2H), 2.49-2.42 (m, 4H), 2.36-2.25 (m, 2H), 1.70-1.21 (m, 64H), 0.87 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 818.74 ($[M+H]^+$)。



实施例 26: 阳离子脂质 (E26-1)



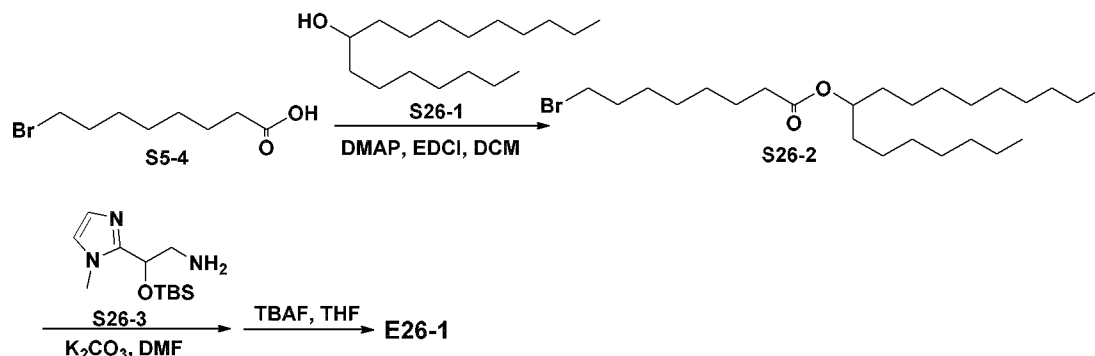
对应通式 (1), **E26-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚庚基,

L_1 、 L_2 均为酯基 ($-C(=O)O-$), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为 , 总分子量约为 902 Da。

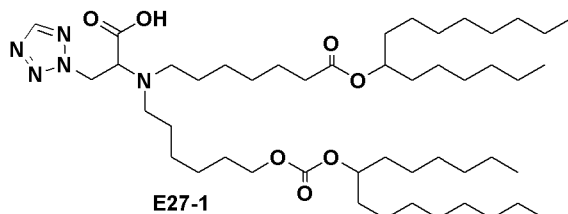
制备过程如下所示:

步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (50 mL) 的 8-溴辛酸 (**S5-4**, 2.22 g, 10.0 mmol)、8-十七醇 (**S26-1**, 2.82 g, 11.0 mmol) 和 DMAP (0.31 g, 2.5 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (3.09 g, 15.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 8-溴辛酸-1-庚基癸酯 (**S26-2**, 3.80 g)。

步骤 b: 将 **S26-2** (3.04 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 2-氨基-1-[2-(1-甲基咪唑基)]乙醇 (**S26-3**, 0.77 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E26-1** (2.19 g)。**E26-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.94-6.91 (m, 1H), 6.88-6.84 (m, 1H), 4.90-4.84 (m, 2H), 4.82-4.78 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.90-2.75 (m, 2H), 2.53-2.22 (m, 8H), 1.75-1.22 (m, 76H), 0.87 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 902.82$ ($[M+H]^+$)。



实施例 27: 阳离子脂质 (E27-1)



对应通式 (1), **E27-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1

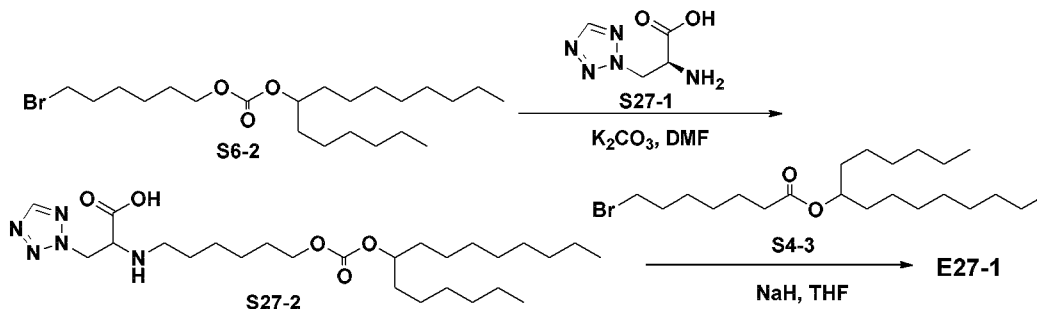
为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), L_2 为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $L_3(R_3)$ 为 , 其中 R_3 为

$-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 850 Da。

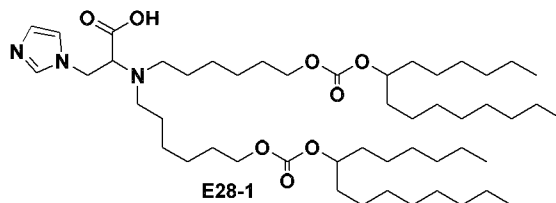
制备过程如下所示:

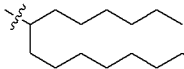
步骤 a: 将 **S6-2** (4.69 g, 10.8 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入 3-(2-四唑基)-L-丙氨酸 (**S27-1**, 1.41 g, 9.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.79 g, 13.0 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S27-2** (3.59 g)。

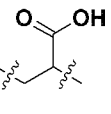
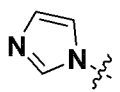
步骤 b: 将上述化合物 **S27-2** (3.07 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 **S4-3** (3.01 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (50 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E27-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E27-1** (4.13 g)。**E27-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.40 (s, 1H), 4.98-4.75 (m, 3H), 4.21-4.09 (m, 3H), 3.50-3.45 (m, 1H), 2.51-2.42 (m, 4H), 2.38-2.32 (t, 2H), 1.72-1.24 (m, 64H), 0.89 (t, 12H)。MS (ESI): $m/z = 850.84$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 28: 阳离子脂质 (**E28-1**)

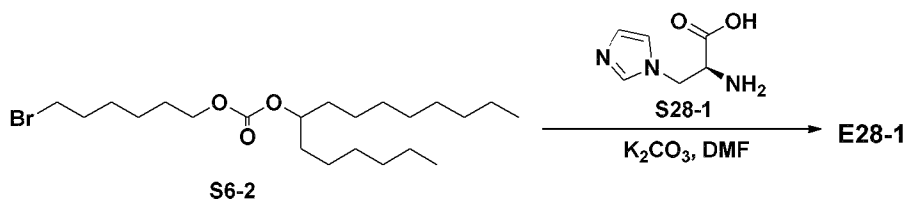


对应通式 (1), **E28-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、

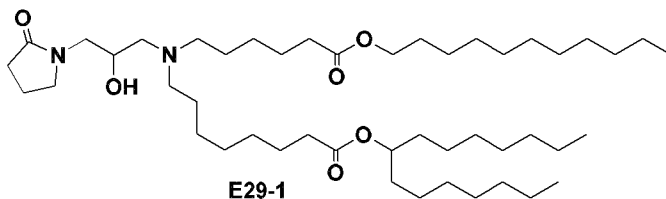
L_2 均为碳酸酯基 (-OC(=O)O-), $-L_3(R_3)$ -为 , 其中 R_3 为 -(C=O)OH, R_4 为 , 总分子量约为 864 Da。

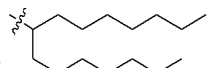
制备过程如下所示:

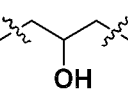
将 **S6-2** (2.86 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 3-咪唑基-L-丙氨酸 (**S28-1**, 0.47 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E28-1** (2.10 g)。**E28-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.63-6.89 (m, 3H), 4.61-4.40 (m, 2H), 4.18-4.06 (m, 6H), 3.49-3.44 (m, 1H), 2.56-2.47 (m, 4H), 1.72-1.22 (m, 64H), 0.88 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 864.80 ($[M+H]^+$)。

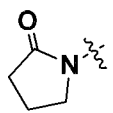


实施例 29: 阳离子脂质 (**E29-1**)



对应通式 (1), **E29-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2

为亚庚基, L_1 、 L_2 均为酯基 (-C(=O)O-), $-L_3(R_3)$ -为 , 其中 R_3 为 -OH, R_4 为



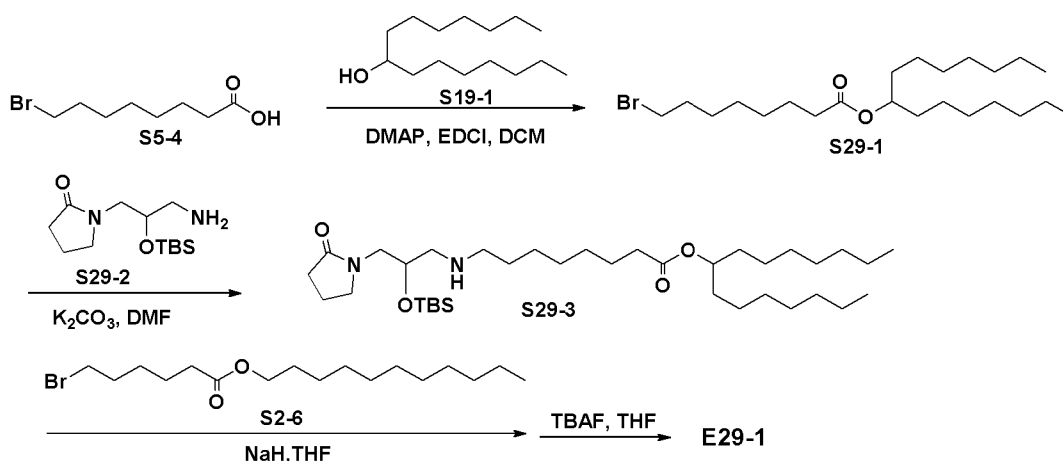
, 总分子量约为 779 Da。

制备过程如下所示:

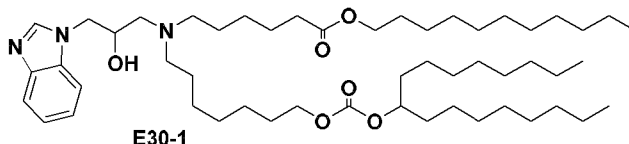
步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (50 mL) 的 **S5-4** (2.66 g, 12.0 mmol)、**S19-1** (3.01 g, 13.2 mmol) 和 DMAP (0.37 g, 3.0 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (3.71 g, 18.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 **S29-1** (4.28 g)。

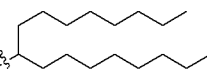
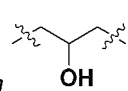
步骤 b: 将 **S29-1** (4.15 g, 9.6 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 1-(3-氨基-2-羟基丙基)吡咯烷-2-酮 (**S29-2**, 2.18 g, 8.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.59 g, 11.5 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S29-3** (4.15 g)。

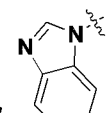
步骤 c: 将上述化合物 **S29-3** (3.75 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (2.51 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (50 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E29-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E29-1** (3.65 g)。**E29-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.90-4.85 (m, 1H), 4.06 (t, 2H), 3.96-3.87 (m, 1H), 3.67-3.52 (m, 4H), 2.64-2.58 (m, 2H), 2.52-2.26 (m, 10H), 2.09-1.94 (m, 2H), 1.74-1.23 (m, 58H), 0.89 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 779.73$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 30: 阳离子脂质 (**E30-1**)



对应通式 (1), **E30-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2 为亚庚基, L_1 为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), L_2 为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 ,

其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 856 Da。

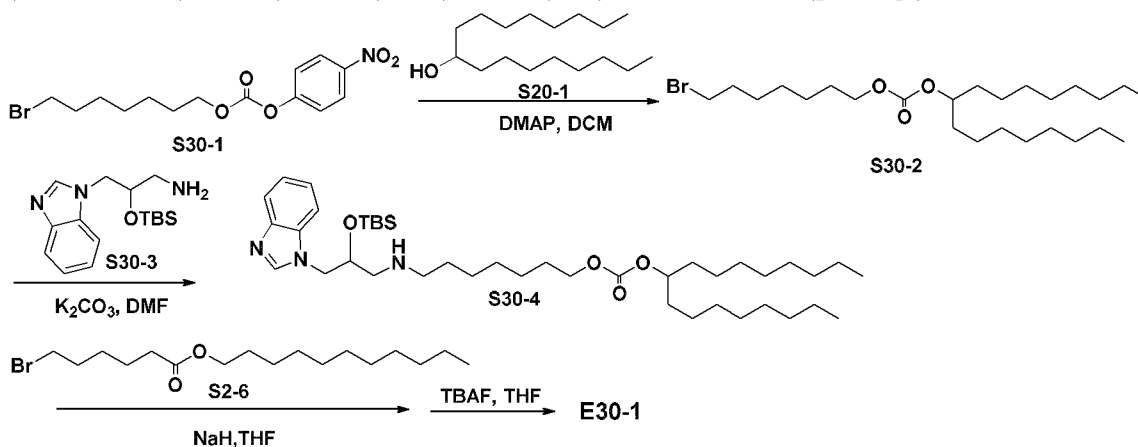
制备过程如下所示:

步骤 a: 在氮气的保护下, 将 7-溴庚基-4-硝基苯基碳酸酯 (**S30-1**, 10.77 g, 30.0 mmol, 由对硝基苯基氯甲酸酯和 7-溴正庚醇反应得到) 溶于 DCM (400 mL) 中, 室温搅拌下滴加 **S20-1** (30.72 g, 120.0 mmol), 随后缓慢滴加吡啶 (3.02 mL, 37.5 mmol) 超过 10 min, 然后一次性加入 DMAP (0.73 g, 6.0 mmol)。室温搅拌反应 16 h, 反应结束后用 DCM 和水进行萃取两次, 合并有机相并用盐水洗涤, 然后用无水硫酸镁干燥, 过滤浓缩, 用

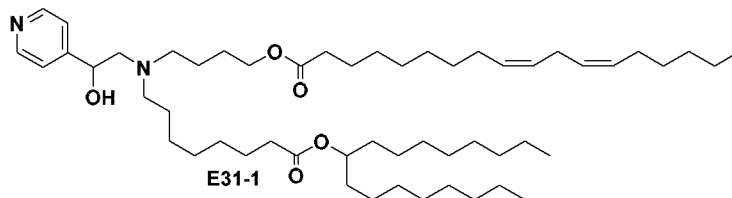
硅胶柱分离纯化，收集目标洗脱液，浓缩得到 **S30-2** (3.71 g)。

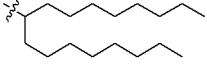
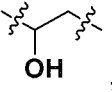
步骤 b: 将 **S30-2** (3.43 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中，加入含 TBS 保护羟基的 1-氨基-3-(1-苯并咪唑基)-2-丙醇 (**S30-3**, 1.83 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol)，室温下搅拌过夜。反应结束后，将反应混合物减压浓缩，倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后，有机相用无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S30-4** (3.30 g)。

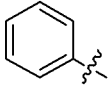
步骤 c: 将上述化合物 **S30-4** (2.81 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中，冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol)，于冰浴下反应 1 小时。反应结束后，加入化合物 **S2-6** (1.67 g, 4.8 mmol)，冰浴下搅拌反应 1 小时后，反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后，将反应置于冰浴下，缓慢加入 2 mL 水淬灭反应，搅拌 30 分钟后，加入水 (50 mL) 搅拌混合，再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次，收集有机相合并，用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃，再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M)，反应过夜，脱除 TBS 保护。反应完成后，浓缩、萃取、合并有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物 **E30-1** 粗产品。通过柱层析纯化，浓缩，油泵抽干得到阳离子脂质 **E30-1** (2.57 g)。**E30-1** 的核磁氢谱主要数据如下： 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.20 (s, 1H), 7.65 (d, 1H), 7.60 (d, 1H), 7.23-7.20 (m, 2H), 4.45-4.39 (m, 1H), 4.36-3.32 (m, 2H), 4.21-4.08 (m, 3H), 4.07 (t, 2H), 2.63-2.23 (m, 8H), 1.70-1.21 (m, 62H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 856.83$ ($[M+H]^+$)。



实施例 31: 阳离子脂质 (**E31-1**)



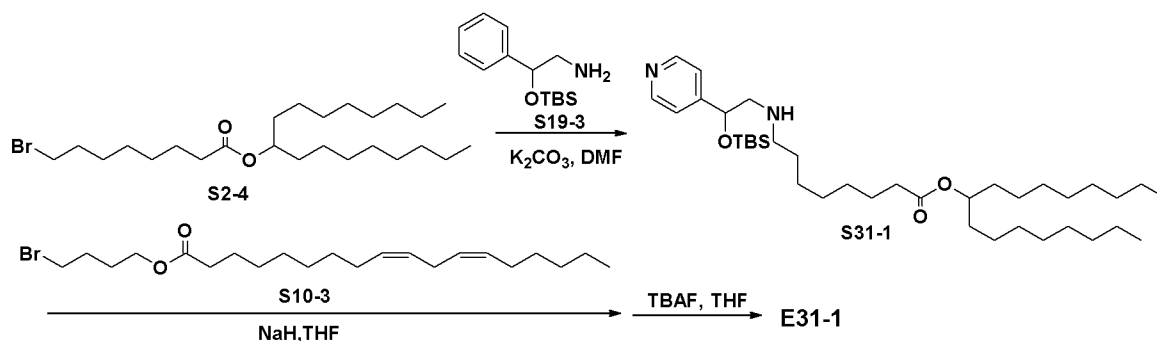
对应通式 (1), **E31-1** 中, R_1 为 8,11-十七碳二烯基, R_2 为 , B_1 为亚丁基, B_2 为亚庚基, L_1 为酯基 ($-OC(=O)-$), L_2 为酯基 ($-C(=O)O-$), $-L_3(R_3)-$ 为 ,

其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为 , 总分子量约为 853 Da。

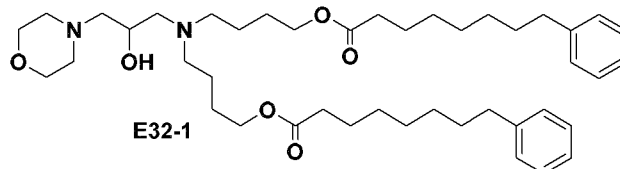
制备过程如下所示:

步骤 a: 将 **S2-4** (4.42 g, 9.6 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 **S19-3** (2.01 g, 8.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.59 g, 11.5 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S31-1** (4.41 g)。

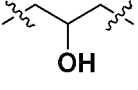
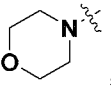
步骤 b: 将上述化合物 **S31-1** (3.80 g, 6.0 mmol) 溶于干燥的 THF (60 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 2.40 g, 60.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S10-3** (2.98 g, 7.2 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (60 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (30 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (60 mL) 反洗一次, 有机相用减压浓缩后加入 30 mL 四氢呋喃, 再加入 30 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E31-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E31-1** (4.04 g)。**E31-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.42 (d, 2H), 7.21 (d, 2H), 5.39-5.34 (m, 4H), 4.86-4.81 (m, 1H), 4.73-4.66 (m, 1H), 4.05 (t, 2H), 2.73 (t, 2H), 2.57-2.23 (m, 10H), 2.04-1.96 (m, 4H), 1.72-1.23 (m, 58H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 853.80$ ($[M+H]^+$)。



实施例 32: 阳离子脂质 (**E32-1**)



对应通式 (1), **E32-1** 中, R_1 、 R_2 均为 7-苄基庚基, B_1 、 B_2 均为亚丁基, L_1 、 L_2

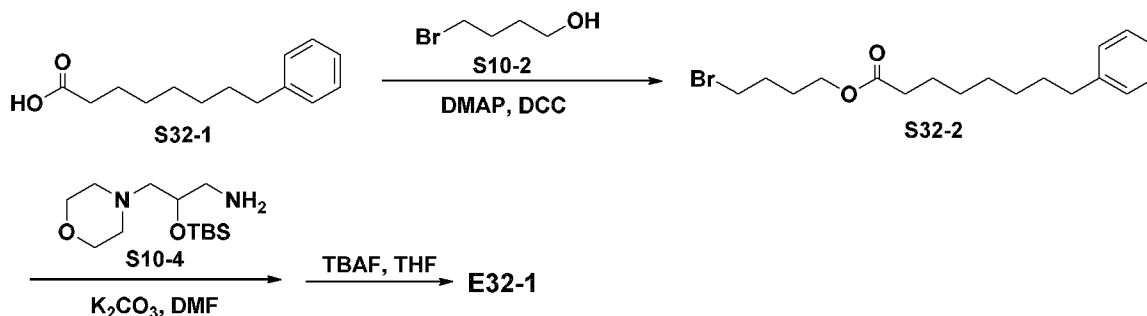
均为酯基 ($-OC(=O)-$), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为 , 总分子量约为 709 Da。

制备过程如下所示:

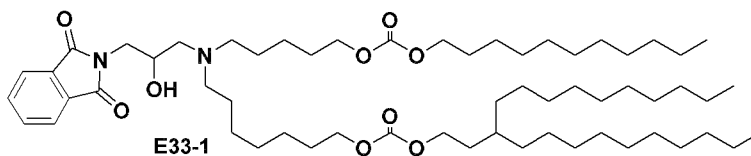
步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (40 mL) 的 8-苄基辛酸 (**S32-1**, 2.20 g, 10.0 mmol)、4-溴丁醇 (**S10-2**, 1.67 g, 11.0 mmol) 和 DMAP (0.31 g, 2.5 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (3.09 g, 15.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 **S32-2** (3.08 g)。

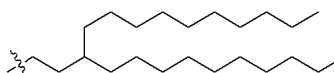
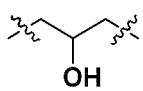
步骤 b: 将 **S32-2** (2.34 g, 6.6 mmol) 溶于 40 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 **S10-4** (0.82 g, 3.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结

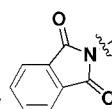
束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 40 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (20 mL*2)、盐水 (20 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E32-1** (1.75 g)。**E32-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.24-7.19 (m, 10H), 3.90-3.85 (m, 1H), 3.74-3.68 (m, 4H), 4.05 (t, 4H), 2.68-2.23 (m, 20H), 1.69-1.24 (m, 28H)。MS (ESI): $m/z = 709.66 \text{ Da}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 33: 阳离子脂质 (**E33-1**)



对应通式 (1), **E33-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2 为亚庚基, L_1 、 L_2 均为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中

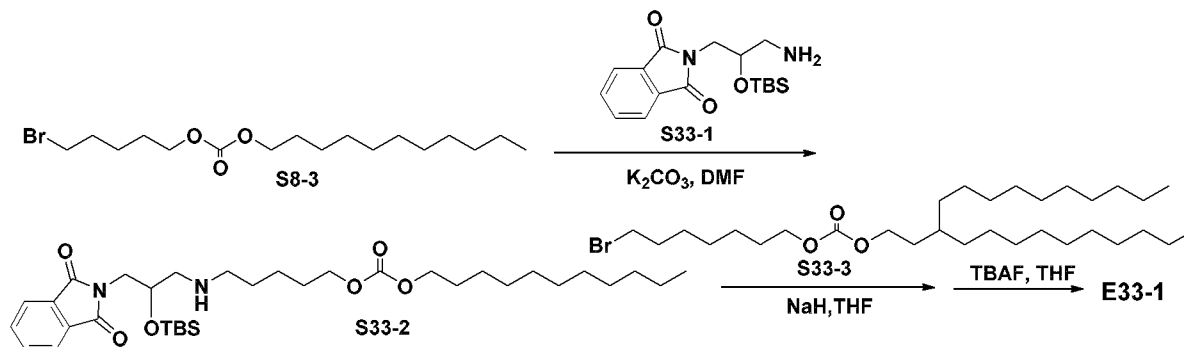
R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 985 Da。

制备过程如下所示:

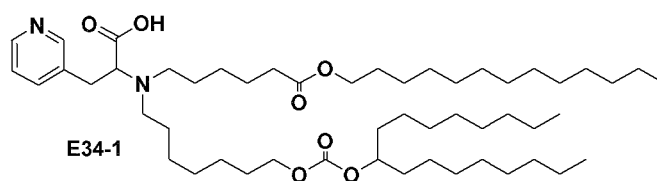
步骤 a: 将 **S8-3** (2.62 g, 7.2 mmol, 由 5-溴戊基-4-硝基苯基碳酸酯和 1-十一醇反应得到) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 2-(3-氨基-2-羟基丙基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮 (**S33-1**, 2.00 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S33-2** (2.89 g)。

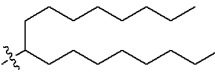
步骤 b: 将上述化合物 **S33-2** (2.47 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (40 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 **S33-3** (2.69 g, 4.8 mmol, 由 7-溴庚基-4-硝基苯基碳酸酯和 3-癸基十三醇反应得到), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (40 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (20 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (40 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 20 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E33-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油

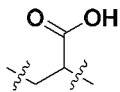
泵抽干得到阳离子脂质 **E33-1** (2.99 g)。 **E33-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.90-7.65 (m, 4H), 4.20-3.98 (m, 9H), 3.66-3.59 (m, 2H), 2.61-2.44 (m, 6H), 1.78-1.24 (m, 73H), 0.90 (t, 9H)。 MS (ESI): $m/z = 985.79$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

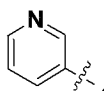


实施例 34: 阳离子脂质 (**E34-1**)



对应通式 (1), **E34-1** 中, R_1 为十三烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基,

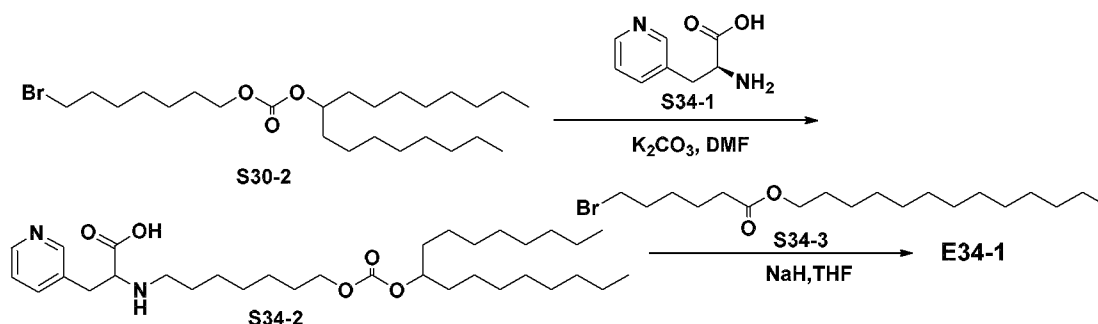
B_2 为亚庚基, L_1 为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), L_2 为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 ,

其中 R_3 为 $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 859 Da。

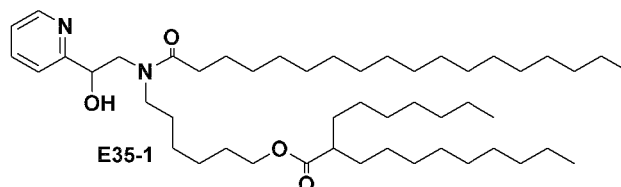
制备过程如下所示:

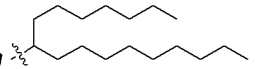
步骤 a: 将 **S30-2** (3.43 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 3-(3-吡啶基)-L-丙氨酸 (**S34-1**, 1.00 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S34-2** (2.66 g)。

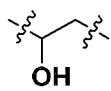
步骤 b: 将上述化合物 **S34-2** (2.25 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (40 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 6-溴己酸十三烷基酯 (**S34-3**, 1.80 g, 7.2 mmol, 由 6-溴己酸和 1-十三醇进行缩合反应得到), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (400 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (20 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (40 mL) 反洗一次, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E34-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E34-1** (2.56 g)。 **E34-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.48-7.14 (m, 4H), 4.22-4.06 (m, 3H), 4.09 (t, 2H), 3.73-3.69 (m, 1H), 3.08-3.03 (m, 2H), 2.54-2.23 (m, 6H), 1.70-1.20 (m, 66H), 0.87 (t, 9H)。 MS (ESI): $m/z = 859.75$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。




实施例 35: 阳离子脂质 (E35-1)



对应通式 (1), **E35-1** 中, R_1 为十七烷基, R_2 为 , B_1 为连接键,

B_2 为亚己基, L_1 为羰基 ($-\text{C}(=\text{O})-$), L_2 为酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中

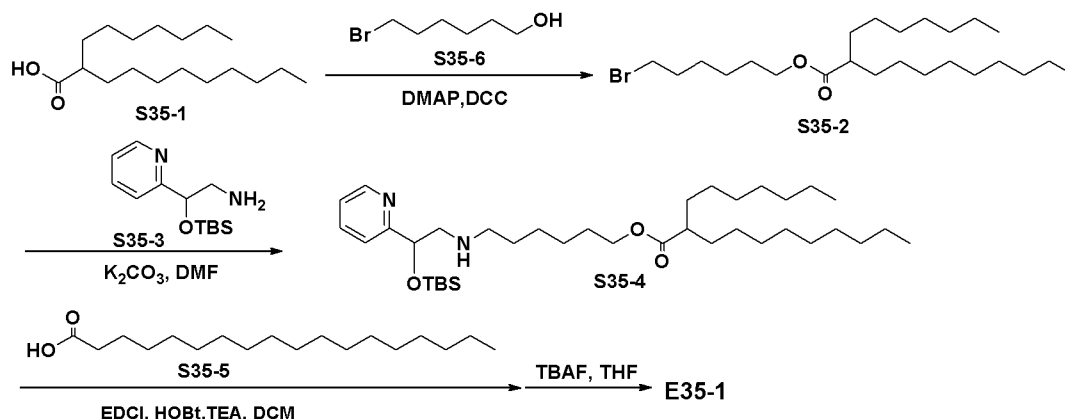
R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 771 Da。

制备过程如下所示:

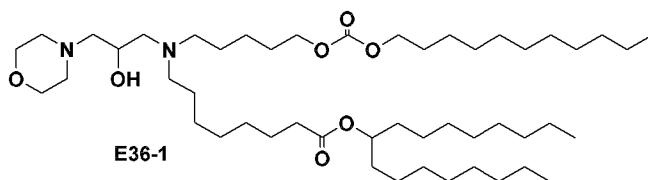
步骤 a: 在氩气气氛下, 向装有溶于二氯甲烷 (70 mL) 的异硬脂酸 (**S35-1**, 5.68 g, 20.0 mmol)、6-溴己醇 (**S35-6**, 3.96 g, 22.0 mmol) 和 DMAP (0.61 g, 5.0 mmol) 的圆底烧瓶加入 DCC (6.18 g, 30.0 mmol), 室温下反应 16 h。反应结束后, 通过过滤将沉淀去除。浓缩滤液, 得到的残余物通过硅胶柱层析纯化得到 **S35-2** (5.98 g)。

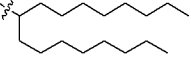
步骤 b: 将 **S35-2** (5.35 g, 12.0 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入含有 TBS 保护羟基的 2-氨基-1-(2-吡啶基)乙醇 (**S35-3**, 2.52 g, 10.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.99 g, 14.4 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S35-4** (4.85 g)。

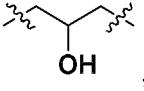
步骤 c: 化合物 **S35-4** (4.64 g, 7.5 mmol), 硬脂酸 (**S35-5**, 1.42 g, 5.0 mmol), 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (EDCI, 1.44 g, 7.5 mmol), 1-羟基苯并三唑 (HOBT, 0.88 g, 6.5 mmol), 三乙醇 (TEA, 1.01 g, 10.0 mmol) 依次溶于二氯甲烷 (60 mL), 于室温下搅拌反应过夜。反应结束后, 反应液用 0.1 mol/L HCl 水溶液 (10% NaCl) (60 mL*2) 反洗两次, 再用饱和 NaCl (60 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 30 mL 四氢呋喃, 再加入 30 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗产品。通过柱层析纯化得到目标化合物 **E35-1** (2.97 g)。E35-1 的核磁氢谱主要数据如下: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.56-8.52 (m, 1H), 7.73-7.65 (m, 1H), 7.55-7.51 (m, 1H), 7.20-7.15 (m, 1H), 4.79-7.76 (m, 1H), 4.10-4.05 (t, 2H), 3.71-3.59 (m, 2H), 3.16 (t, 2H), 2.35-2.28 (m, 1H), 2.23 (t, 2H), 1.70-1.19 (m, 66H), 0.88 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 771.74$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

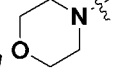


实施例 36: 阳离子脂质 (E36-1)



对应通式 (1), **E36-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为 , B_1 为亚戊基, B_2

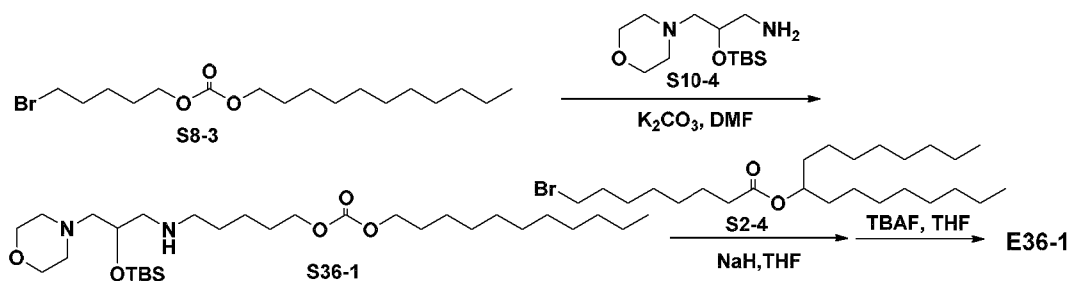
为亚庚基, L_1 为碳酸酯基 ($-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$), L_2 为酯基 ($-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 ,

其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4 为 , 总分子量约为 825 Da。

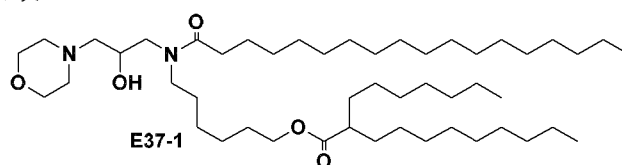
制备过程如下所示:

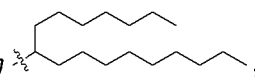
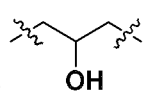
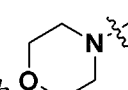
步骤 a: 将 **S8-3** (2.62 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 **S10-4** (1.64 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S36-1** (2.73 g)。

步骤 b: 将上述化合物 **S36-1** (2.23 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (30 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入化合物 **S2-4** (2.21 g, 4.8 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (30 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (15 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (30 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 15 mL 四氢呋喃, 再加入 15 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液浓缩得到化合物 **E36-1** 粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到阳离子脂质 **E36-1** (2.61 g)。**E36-1** 的核磁氢谱主要数据如下: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.89-4.85 (m, 1H), 4.22-4.03 (m, 4H), 3.93-3.85 (m, 1H), 3.73-3.67 (m, 4H), 2.69-2.22 (m, 14H), 1.76-1.22 (m, 62H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 825.78$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。



实施例 37: 阳离子脂质 (E37-1)

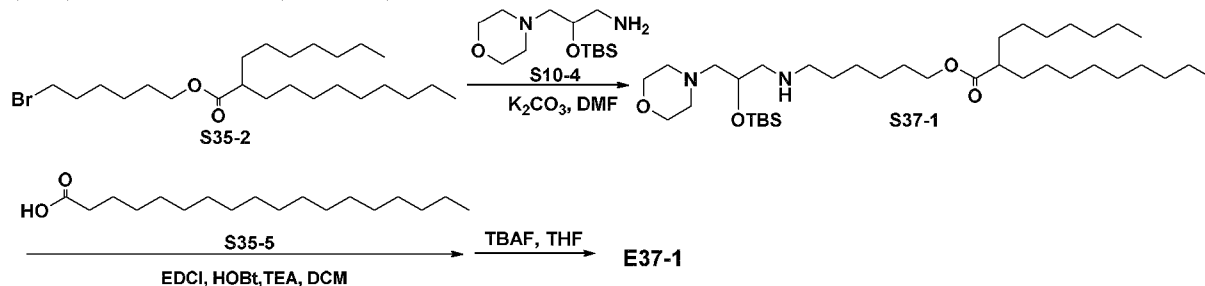


对应通式 (1), **E37-1** 中, R_1 为十七烷基, R_2 为 , B_1 为连接键, B_2 为亚己基, L_1 为羰基 ($-C(=O)-$), L_2 为酯基 ($-OC(=O)-$), $-L_3(R_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-OH$, R_4 为 , 总分子量约为 793 Da。

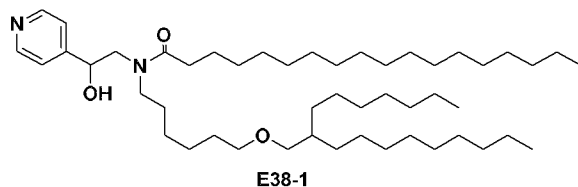
制备过程如下所示:

步骤 a: 将 **S35-2** (5.35 g, 12.0 mmol) 溶于 60 mL 的 DMF 中, 加入含有 TBS 保护羟基的 **S10-4** (2.74 g, 10.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.99 g, 14.4 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 60 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (30 mL*2)、盐水 (30 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S37-1** (5.06 g)。

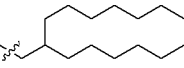
步骤 b: 化合物 **S37-1** (4.81 g, 7.5 mmol), **S35-5** (1.42 g, 5.0 mmol), 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐 (EDCI, 1.44 g, 7.5 mmol), 1-羟基苯并三唑 (HOBt, 0.88 g, 6.5 mmol), TEA (1.01 g, 10.0 mmol) 依次溶于二氯甲烷 (80 mL), 于室温下搅拌反应过夜。反应结束后, 反应液用 0.1 mol/L HCl 水溶液 (10% NaCl) (80 mL*2) 反洗两次, 再用饱和 NaCl (80 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 40 mL 四氢呋喃, 再加入 40 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到目标化合物 **E37-1** (4.16 g)。**E37-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.05 (t, 2H), 3.86-3.80 (m, 1H), 3.69-3.65 (m, 4H), 3.63-3.20 (m, 2H), 3.14 (t, 2H), 2.66-2.19 (m, 9H), 1.68-1.18 (m, 66H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 793.75$ ($[M+H]^+$)。

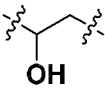


实施例 38: 阳离子脂质 (E38-1)



E38-1

对应通式 (1), **E38-1** 中, R_1 为十七烷基, R_2 为 , B_1 为连接键,

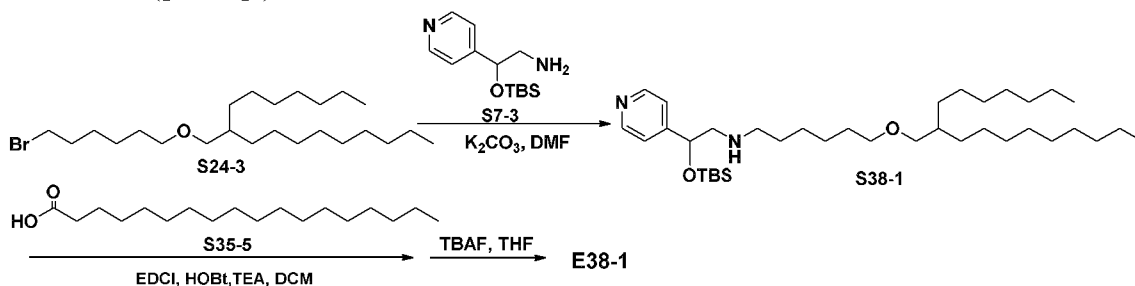
B_2 为亚己基, L_1 为羰基 ($-\text{C}(=\text{O})-$), L_2 为 $-\text{O}-$, $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$ 为 , 其中 R_3 为 $-\text{OH}$, R_4

为 , 总分子量约为 757 Da。

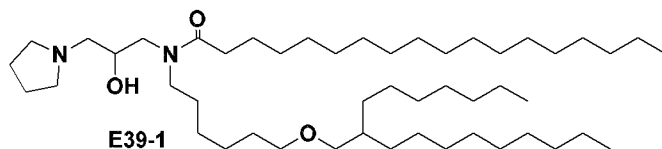
制备过程如下所示:

步骤 a: 将 **S24-3** (3.11 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含 TBS 保护羟基的 **S7-3** (1.51 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S38-1** (2.90 g)。

步骤 b: 化合物 **S38-1** (2.72 g, 4.5 mmol), **S35-5** (0.85 g, 3.0 mmol), EDCI (0.86 g, 4.5 mmol), HOBt (0.53 g, 3.9 mmol), TEA (0.61 g, 6.0 mmol) 依次溶于二氯甲烷 (50 mL), 于室温下搅拌反应过夜。反应结束后, 反应液用 0.1 mol/L HCl 水溶液 (10% NaCl) (50 mL*2) 反洗两次, 再用饱和 NaCl (50 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到目标化合物 **E38-1** (1.75 g)。**E38-1** 的核磁共振氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.44 (d, 2H), 7.24 (d, 2H), 4.74-4.69 (m, 1H), 3.71-3.41 (m, 6H), 3.18 (t, 2H), 2.24 (t, 2H), 1.55-1.21 (m, 67H), 0.88 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 757.77$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

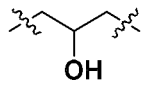


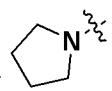
实施例 39: 阳离子脂质 (E39-1)



E39-1

对应通式 (1), **E39-1** 中, R_1 为十七烷基, R_2 为 , B_1 为连接

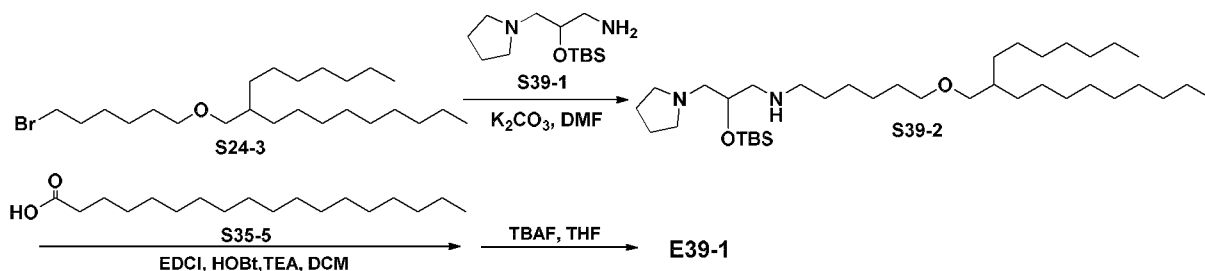
键, B₂ 为亚己基, L₁ 为羰基 (-C(=O)-), L₂ 为-O-, -L₃(R₃)-为  , 其中 R₃ 为-OH,

R₄ 为  , 总分子量约为 763 Da。

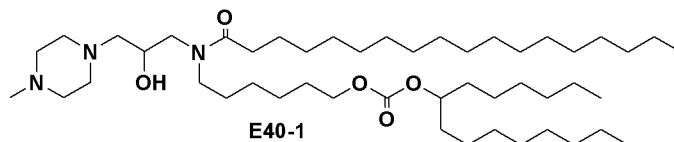
制备过程如下所示:

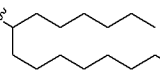
步骤 a: 将 **S24-3** (3.11 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入含有 TBS 保护羟基的 1-氨基-3-(1-吡咯烷基)-2-丙醇 (**S39-1**, 1.55 g, 6.0 mmol) 和 K₂CO₃ (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S39-2** (3.01 g)。

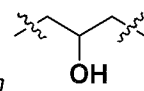
步骤 b: 化合物 **S39-2** (2.75 g, 4.5 mmol), **S35-5** (0.85 g, 3.0 mmol), EDCI (0.86 g, 4.5 mmol), HOBt (0.53 g, 3.9 mmol), TEA (0.61 g, 6.0 mmol) 依次溶于二氯甲烷 (50 mL), 于室温下搅拌反应过夜。反应结束后, 反应液用 0.1 mol/L HCl 水溶液 (10% NaCl) (50 mL*2) 反洗两次, 再用饱和 NaCl (50 mL) 反洗一次。保留有机相, 减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩得到 **E39-1** 粗品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到目标化合物 **E39-1** (1.79 g)。**E39-1** 的核磁氢谱主要数据如下: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.82-3.21 (m, 7H), 3.19 (t, 2H), 2.45-2.38 (m, 2H), 2.25-2.19 (m, 6H), 1.63-1.20 (m, 71H), 0.87 (t, 9H)。MS (ESI): m/z = 763.81 ([M+H]⁺)。

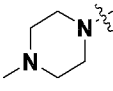


实施例 40: 阳离子脂质 (E40-1)



对应通式 (1), **E40-1** 中, R₁ 为十七烷基, R₂ 为 , B₁ 为连接键, B₂

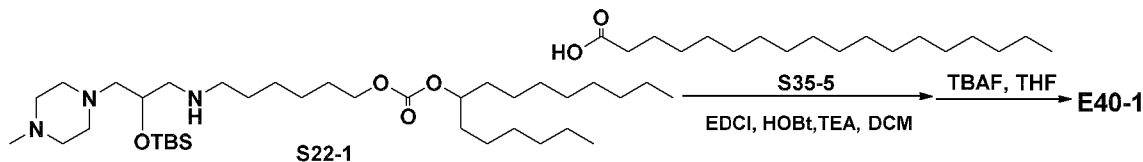
为亚己基, L₁ 为羰基 (-C(=O)-), L₂ 为碳酸酯基 (-OC(=O)O-), -L₃(R₃)-为  ,

其中 R₃ 为-OH, R₄ 为  , 总分子量约为 794 Da。

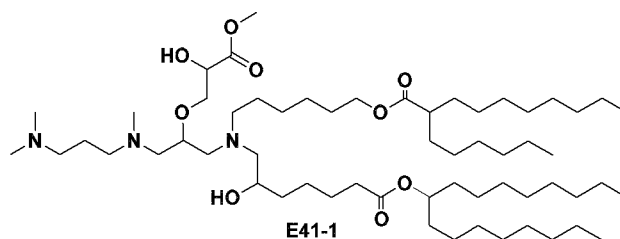
制备过程如下所示:

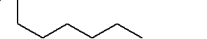
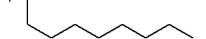
化合物含有 TBS 保护羟基的 **S22-1** (2.89 g, 4.5 mmol), **S35-5** (0.85 g, 3.0 mmol),

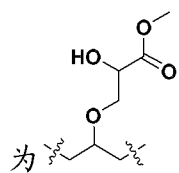
EDCI (0.86 g, 4.5 mmol), HOBt (0.53 g, 3.9 mmol), TEA (0.61 g, 6.0 mmol) 依次溶于二氯甲烷 (50 mL), 于室温下搅拌反应过夜。反应结束后, 反应液用 0.1 mol/L HCl 水溶液 (10% NaCl) (50 mL*2) 反洗两次, 再用饱和 NaCl (50 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃, 再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M), 反应过夜, 脱除 TBS 保护。反应完成后, 浓缩、萃取、合并有机相, 用无水硫酸镁干燥, 过滤, 滤液浓缩得到粗产品。通过柱层析纯化, 浓缩, 油泵抽干得到目标化合物 **E40-1** (2.05 g)。**E40-1** 的核磁氢谱主要数据如下: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.24-4.09 (m, 3H), 3.86-3.79 (m, 1H), 3.64-3.22 (m, 2H), 3.13 (t, 2H), 2.68-2.18 (m, 15H), 1.70-1.19 (m, 62H), 0.86 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 794.77$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$)。

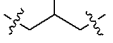
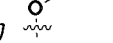


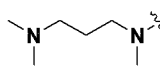
实施例 41: 阳离子脂质 (**E41-1**)



对应通式 (1), **E41-1** 中, R_1 为 , R_2 为 , B_1 为亚己基, B_2 为 -OH 取代的亚己基, L_1 为酯基 (-OC(=O)-), L_2 为酯基 (-C(=O)O-), $-\text{L}_3(\text{R}_3)-$



为 , 其中 R_3 为 , G_1 为 -OCH₂CH<, k 为 2, 两个 F_1 分别为 -OH 和

-C(=O)OCH₃, R_4 为 , 总分子量约为 1012 Da。

制备过程如下所示:

步骤 a: 在干燥的 500 mL 圆底烧瓶中加入 **S2-3** (3.40 g, 18.0 mmol), 加入 60 mL 二氯甲烷溶液, 加入二碳酸二叔丁酯 (4.71 g, 21.6 mmol), 在室温下反应过夜后, 加入饱和碳酸氢钠溶液, 用二氯甲烷 (20 mL*3) 萃取, 合并有机相, 饱和食盐水洗涤, 干燥, 过滤, 浓缩, 重结晶, 得到叔丁氧羰基 (Boc) 保护的胺类衍生物 **S41-1** (4.42 g)。

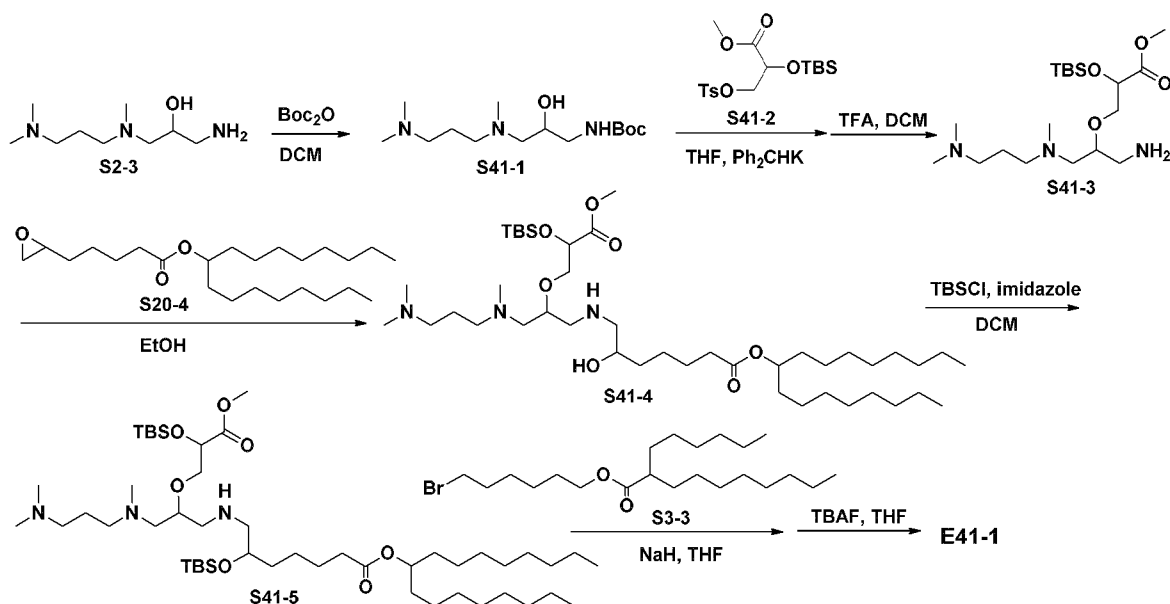
步骤 b: 往无水无氧的密闭反应釜中, 加入四氢呋喃 150 mL 和过量的二苄基甲基钾 (10.30 g, 50.0 mmol), 再加入化合物 **S41-1** (3.76 g, 13.0 mmol) 和化合物 **S41-2** (5.04 g, 13.0 mmol), 其中, **S41-2** 为一个羟基被对甲苯磺酸酯基取代、另一个羟基被 TBS 保护的 2,3-二羟基丙酸甲酯。在 30°C 下反应 12 小时后, 将反应釜打开, 经浓缩、洗涤后, 用二氯甲烷溶解, 加入三氟乙酸 (TFA) 至 0.1 M, 反应 4 小时后, 调节 PH 至中性, 浓缩反应液, 加入纯化水, 用二氯甲烷萃取, 将萃取液用无水硫酸镁干燥, 过滤, 浓缩滤液, 重结晶得到氨基裸露的中间体 **S41-3** (3.56 g)。

步骤 c: 将 **S20-4** (3.21 g, 8.4 mmol) 溶于 50 mL 乙醇, 加入 **S41-3** (2.84 g, 7.0 mmol),

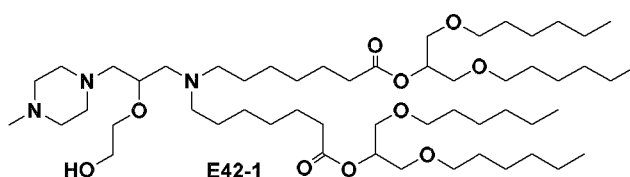
50°C 下搅拌反应 4 小时。反应结束后，加入 50 mL 二氯甲烷稀释，用 100 mL 饱和氯化钠溶液反洗后，将有机相分离并用无水硫酸钠干燥。过滤浓缩，通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S41-4** (3.64 g)。

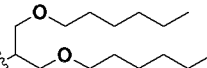
步骤 d: 将上述化合物 **S41-4** (3.15 g, 4.0 mmol) 和咪唑 (0.45 g, 6.6 mmol) 溶于 50 mL 二氯甲烷中，冰浴搅拌下加入叔丁基二甲基氯硅烷 (0.84 g, 5.6 mmol)，反应 2 小时后，过滤并用 50 mL 二氯甲烷冲洗，合并滤液，无水硫酸镁干燥，浓缩得到含两个 TBS 保护羟基的中间体 **S41-5** (3.54 g)。

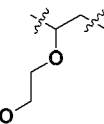
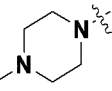
步骤 e: 将上述化合物 **S41-5** (2.71 g, 3.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中，冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.20 g, 30.0 mmol)，于冰浴下反应 1 小时。反应结束后，加入 **S3-3** (1.50 g, 3.6 mmol)，冰浴下搅拌反应 1 小时后，反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后，将反应置于冰浴下，缓慢加入 2 mL 水淬灭反应，搅拌 30 分钟后，加入水 (50 mL) 搅拌混合，再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次，收集有机相合并，用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后加入 25 mL 四氢呋喃，再加入 25 mL 的 TBAF 四氢呋喃溶液 (1M)，反应过夜，脱除 TBS 保护。反应完成后，浓缩、萃取、合并有机相，用无水硫酸钠干燥，过滤，滤液浓缩得到化合物 **E41-1** 粗产品。通过柱层析纯化，浓缩，油泵抽干得到阳离子脂质 **E41-1** (2.46 g)。**E41-1** 的核磁氢谱主要数据如下：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.82-4.75 (m, 1H), 4.15-4.10 (m, 1H), 4.08 (t, 2H), 3.86-3.80 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.65-3.47 (m, 3H), 2.70-2.19 (m, 24H), 1.73-1.23 (m, 68H), 0.87 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 1012.93 ([M+H]⁺)。



实施例 42: 阳离子脂质 (**E42-1**)



对应通式 (1), **E42-1** 中, R_1 、 R_2 均为 , B_1 、 B_2 均为亚己基, L_1 、

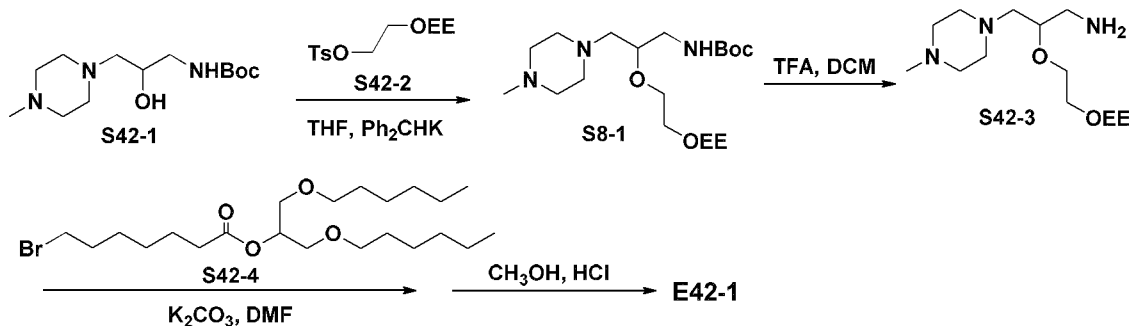
L_2 均为酯基 (-OC(=O)-), $-L_3(R_3)$ -为  , 其中 R_3 为 -O(CH₂)₂OH, R_4 为  , 总分子量约为 958 Da。

制备过程如下所示:

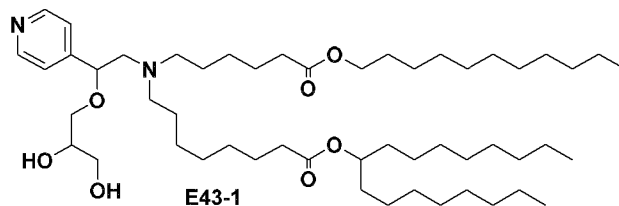
步骤 a: 往无水无氧的密闭反应釜中, 加入四氢呋喃 150 mL 和过量的二苯基甲基钾 (10.30 g, 50.0 mmol), 再加入化合物 **S42-1** (2.73 g, 10.0 mmol) 和化合物 **S42-2** (2.88 g, 10.0 mmol), 其中, **S42-2** 为一个羟基被对甲苯磺酸酯基 (-OTs) 取代、另一个羟基被 EE 保护的乙二醇。在 30°C 下反应 12 小时后, 将反应釜打开, 经浓缩、洗涤、柱层析后得到具有两个被保护羟基和一个被保护氨基的化合物 **S8-1** (3.27 g)。

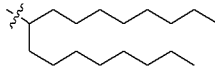
步骤 b: 在干燥洁净的容器中加入 **S8-1** (2.33 g, 6.0 mmol), 用二氯甲烷溶解, 加入 TFA 至 0.1M, 反应 4 小时后, 调节 PH 至中性, 浓缩反应液, 加入纯化水, 用二氯甲烷萃取, 将萃取液浓缩, 沉淀, 过滤, 干燥, 得到氨基裸露的中间体 **S42-3** (1.42 g)。

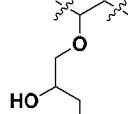
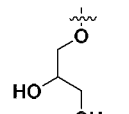
步骤 c: 将 **S42-4** (2.97 g, 6.6 mmol, 由 **S5-3** 和 **S4-1** 进行缩合反应得到) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 **S42-3** (0.87 g, 3.0 mmol) 和 K₂CO₃ (1.09 g, 7.9 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后, 用甲醇溶解, 加入 1M 盐酸至 pH=3.5, 反应 4 小时后, 浓缩, 沉淀, 过滤, 重结晶, 干燥, 得到羟基裸露的 **E42-1** 粗产品。粗产物通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E42-1** (2.34 g)。**E42-1** 的核磁氢谱主要数据如下: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.04-4.96 (m, 2H), 3.89-3.83 (m, 1H), 3.71-3.33 (m, 20H), 2.74-2.24 (m, 23H), 1.77-1.16 (m, 48H), 0.85 (t, 12H)。MS (ESI): m/z = 958.80 ([M+H]⁺)。



实施例 43: 阳离子脂质 (**E43-1**)



对应通式 (1), **E43-1** 中, R_1 为十一烷基, R_2 为  , B_1 为亚戊基, B_2

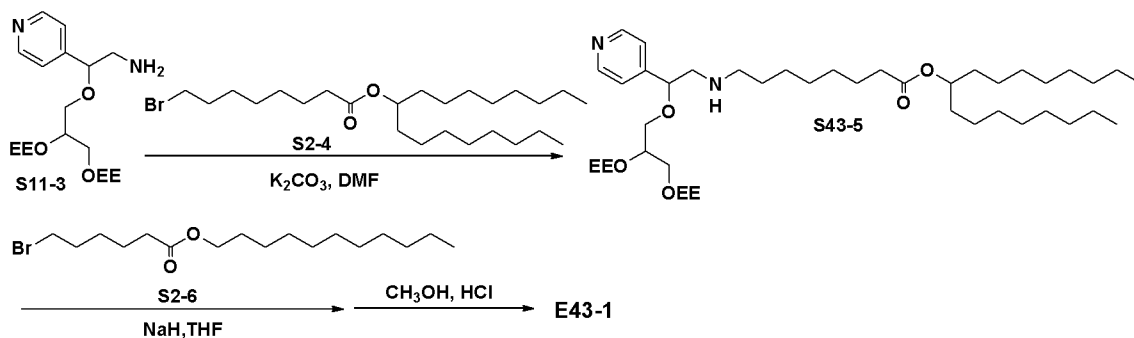
为亚庚基, L_1 、 L_2 均为酯基 (-C(=O)O-), $-L_3(R_3)$ -为  , 其中 R_3 为  , R_4

为 , 总分子量约为 861 Da。

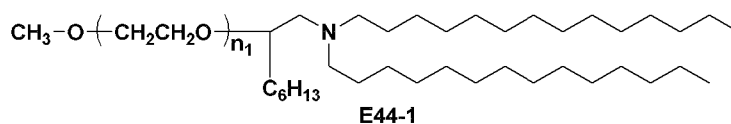
制备过程如下所示:

步骤 a: 将 **S2-4** (3.31 g, 7.2 mmol) 溶于 50 mL 的 DMF 中, 加入 **S11-3** (2.14 g, 6.0 mmol) 和 K_2CO_3 (1.19 g, 8.6 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 50 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (25 mL*2)、盐水 (25 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 通过硅胶柱层析进行纯化得到 **S43-5** (3.63 g)。

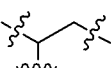
步骤 b: 将上述化合物 **S43-5** (2.95 g, 4.0 mmol) 溶于干燥的 THF (50 mL) 中, 冰浴下缓慢加入 NaH (60%, 1.60 g, 40.0 mmol), 于冰浴下反应 1 小时。反应结束后, 加入 **S2-6** (1.67 g, 4.8 mmol), 冰浴下搅拌反应 1 小时后, 反应液慢慢恢复至室温反应过夜。反应结束后, 将反应置于冰浴下, 缓慢加入 2 mL 水淬灭反应, 搅拌 30 分钟后, 加入水 (50 mL) 搅拌混合, 再用二氯甲烷 (25 mL*2) 萃取两次, 收集有机相合并, 用饱和氯化钠 (50 mL) 反洗一次。有机相减压浓缩后, 用甲醇溶解, 加入 1M 盐酸至 pH=3.5, 反应 4 小时后, 浓缩, 沉淀, 过滤, 重结晶, 干燥, 得到羟基裸露的 **E43-1** 粗产品。通过柱层析纯化得到阳离子脂质 **E43-1** (2.65 g)。**E43-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.55 (d, 2H), 7.20 (d, 2H), 4.84-4.77 (m, 1H), 4.29-4.25 (m, 1H), 4.07 (t, 2H), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.63-3.56 (m, 2H), 3.42-3.36 (m, 2H), 3.01-2.94 (m, 2H), 2.57-2.24 (m, 8H), 1.75-1.23 (m, 62H), 0.89 (t, 9H)。MS (ESI): $m/z = 861.76$ ($[M+H]^+$)。



实施例 44: 聚乙二醇化脂质 (**E44-1**)



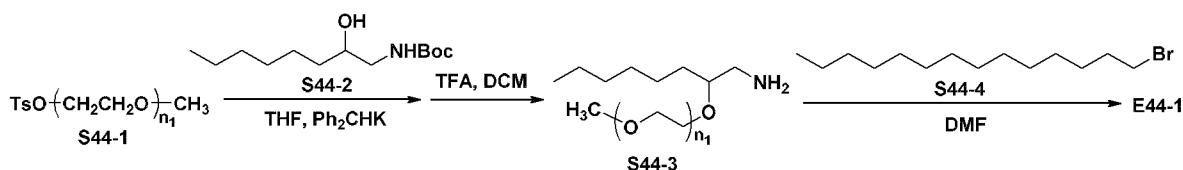
对应通式 (2), **E44-1** 中, R_1 、 R_2 均为十四烷基, B_1 、 B_2 均为连接键, L_1 、 L_2 均为

连接键, L_3 为 , L_A 为 $-(CH_2)_h-$ 且 h 为 0, A_1 为 $-OCH_2CH_2-$, $n_1 \approx 45$, R_3 为甲基, R_5 为己基, 总分子量约为 2.5 kDa。

制备过程如下所示:

步骤 a: 往无水无氧的密闭反应釜中, 加入四氢呋喃 120 mL 和过量的二苯基甲基钾 (10.30 g, 50.0 mmol), 再加入化合物 **S44-2** (2.45 g, 10.0 mmol) 和甲氧基聚乙二醇的磺酸酯衍生物 mPEG- CH_2CH_2OTs (**S44-1**, 12.96 g, 6.0 mmol, $M_n \approx 2.2$ kDa, $n_1 \approx 45$, PDI=1.03)。在 $30^\circ C$ 下反应 12 小时后, 将反应釜打开, 经浓缩、洗涤, 用 TFA/DCM 混合溶液 (1:1 v/v) 脱除 Boc 保护后, 用纯化水洗涤, 再用二氯甲烷萃取, 萃取液用无水硫酸钠干燥, 过滤、浓缩, 柱层析后得到聚乙二醇化中间体 **S44-3** (5.91 g)。

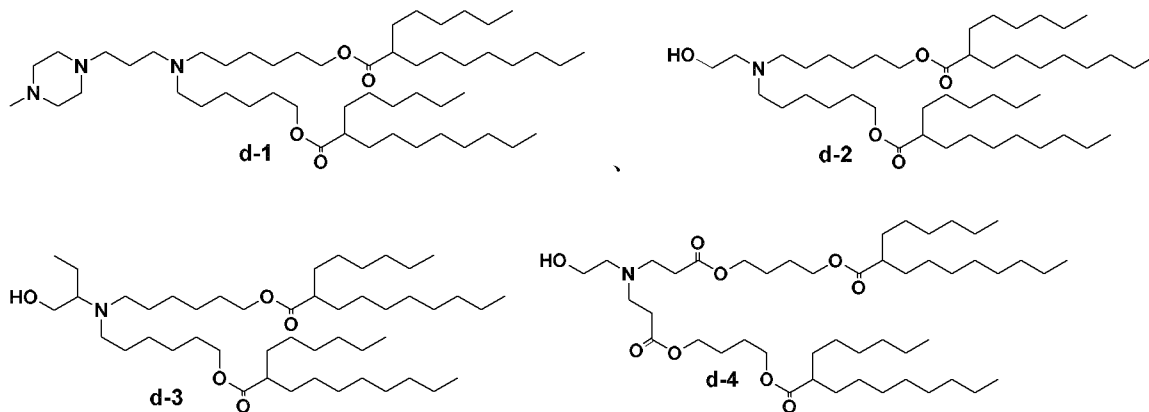
步骤 b: 将 **S44-4** (1.21 g, 4.4 mmol) 溶于 30 mL 的 DMF 中, 加入 **S44-3** (4.28 g, 2.0 mmol, $M_n \approx 2.1$ kDa, $n_1 \approx 45$, PDI=1.03) 和 K_2CO_3 (0.73 g, 5.3 mmol), 室温下搅拌过夜。反应结束后, 将反应混合物减压浓缩, 倒入 30 mL 二氯甲烷。依次用 10% 柠檬酸 (15 mL*2)、盐水 (15 mL*2) 洗涤后, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩后, 得到的粗产品通过硅胶柱层析进行纯化得到 **E44-1** (2.92 g)。**E44-1** 的核磁氢谱主要数据如下: 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.85-3.45 (m, PEG), 3.37 (s, 3H), 3.31-3.26 (m, 1H), 2.67-2.60 (m, 2H), 2.50-2.41 (m, 4H), 1.68-1.19 (m, 58H), 0.88 (t, 9H)。GPC 测试 **E44-1** 的分子量约为 2.5 kDa, PDI=1.03。



5.2. 脂质药物组合物

实施例 45: LNP-mRNA 药物组合物的制备

本实施例中制备了含有 Fluc-mRNA 的 LNP-mRNA 药物组合物 (LNP/Fluc-mRNA), 其含有的中性脂质都为 DSPC, 含有的甾醇类脂质都为胆固醇, 含有的阳离子脂质为本发明的阳离子脂质、DLin-MC3-DMA (简称 MC3) 或对照化合物 **d-1~d-4**, 含有的聚乙二醇化脂质为本发明的聚乙二醇化脂质或 PEG2k-DMG (简称 DMG), 含有的核酸类药物均为 Fluc-mRNA; 其中, **d-1~d-4** 结构如下:



LNP-mRNA 药物组合物的制备方法如下:

步骤 (1): 将阳离子脂质、DSPC、胆固醇和聚乙二醇化脂质 (具体如实施例 46 的表 1 所示) 以 50:10:38:1.5 的摩尔比溶于乙醇, 获得乙醇相溶液。

步骤 (2): 将 Fluc-mRNA 加到 10~50 mM 的柠檬酸盐缓冲液 (pH=4) 中, 获得水相溶液。

步骤 (3): 将乙醇相溶液和水相溶液混合 (1:3 v/v) 制备 LNP/Fluc-mRNA, 并通过多次 DPBS 超滤洗涤以除去乙醇和游离分子, 最后通过 0.2 μm 的无菌过滤器, 备用。

采用上述步骤 (1~3), 各脂质的摩尔比更改为阳离子脂质: DSPC: 胆固醇: 聚乙二醇化脂质=48:9:42:1.5, 其中阳离子脂质采用 **E3-2**, 聚乙二醇化脂质采用 **E44-1**, 其余条件不变, 制备 LNP/Fluc-mRNA。

实施例 46: 脂质药物组合物的生物学活性测试

(1) 纳米粒尺寸与核酸复合能力测定

核酸复合能力测定: 采用凝胶渗透电泳实验考察 LNP/Fluc-mRNA 的核酸复合能力。

称取 0.8 g 的琼脂糖溶于 40 mL 的 TAE 溶液中,在微波炉中加热使琼脂糖颗粒完全溶解,冷却,加入 5 μ L 的核酸染料 GelGreen 于冷却的琼脂糖凝胶中,凝胶加入凝胶槽,自然晾干。将 LNP/Fluc-mRNA 与 2 μ L 的 LoadingBuffer 的混合液加入到琼脂糖凝胶孔内,设置电泳电压为 90 V 进行电泳实验,常温下电泳 10 min。LNP/Fluc-mRNA 实验组 (L-1~L-43、L-3-2-d、PL-0、PL-3-2、PL-4、PL-10-2、PL-16、PL-17) 和 LNP/Fluc-mRNA 对照组 D-0 均基本不存在游离的 Fluc-mRNA,说明本发明的 LNP 有很好的核酸类药物复合能力。

包封率测定:使用超速离心机对 LNP/Fluc-mRNA 超速离心 (4°C, 60000 rpm, 1 h),使用核酸定量仪检测上清中未被包封的 Fluc-mRNA 浓度,计算脂质体对 Fluc-mRNA 的包封率,结果总结于表 1 中,显示本发明的脂质体对核酸药物有较高的包封率,其中,实验组的包封率均在 80% 以上。特别地,与 E16-1 相比, d-1 极性头部不含侧链羟基, d-2 不含支化结构的极性头部, d-3 极性头部不含氮杂环,而相应地,实验组 L-16 的包封率 (95%) 要大于对照组 D-1、D-2 和 D-3 (81%、91%、83%)。E1-1 与 d-4 同样含有多个酯键,而相应地, L-1 的包封率 (87%) 要大于 D-4 (81%)。L3-2-d 与 L3-2 相比,所含脂质种类相同,对各脂质比例进行一定程度的调整,都有较高的包封率。

粒径测定:根据文献 (Hassett 等人, *J. Controlled Release* 2021, 335, 237-246) 可知,包载核酸药物的 LNP 制剂的粒径在 60~150 nm 时能发挥较好的药效。本实施例中,通过动态光散射 (DLS) 测定 LNP/Fluc-mRNA 的粒径。所测定的 LNP/Fluc-mRNA 尺寸均匀性较高,其 PDI 均小于 0.3。实验结果显示,采用本发明的阳离子脂质制备得到的 LNP/Fluc-mRNA 粒径处于约 70 nm 至约 113 nm 的范围内,均为能实现较好药效的粒径。

表 1: LNP/Fluc-mRNA 的粒径和包封率测定

LNP/Fluc-mRNA	D-0	D-1	D-2	D-3	D-4	
阳离子脂质	MC3	d-1	d-2	d-3	d-4	
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	91	81	91	83	81	
粒径/nm	95	78	97	102	96	
LNP/Fluc-mRNA	L-1	L-2	L-3-1	L-3-2	L-4	L-5
阳离子脂质	E1-1	E2-1	E3-1	E3-2	E4-1	E5-1
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	87	96	89	98	92	95
粒径/nm	91	81	85	86	79	78
LNP/Fluc-mRNA	L-6	L-7	L-8	L-9	L-10-1	L-10-2
阳离子脂质	E6-1	E7-1	E8-1	E9-1	E10-1	E10-2
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	85	88	92	87	86	94
粒径/nm	89	94	101	85	113	76
LNP/Fluc-mRNA	L-11	L-12	L-13	L-14	L-15	L-16
阳离子脂质	E11-1	E12-1	E13-1	E14-1	E15-1	E16-1
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	87	90	81	87	88	95
粒径/nm	96	70	99	85	90	80
LNP/Fluc-mRNA	L-17	L-18	L-19	L-20	L-21	L-22
阳离子脂质	E17-1	E18-1	E19-1	E20-1	E21-1	E22-1
聚乙二醇化脂质	DMG					

包封率/%	86	93	87	89	88	94
粒径/nm	79	86	72	78	77	73
LNP/Fluc-mRNA	L-23	L-24	L-25	L-26	L-27	L-28
阳离子脂质	E23-1	E24-1	E25-1	E26-1	E27-1	E28-1
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	88	86	95	96	91	82
粒径/nm	99	89	73	84	91	100
LNP/Fluc-mRNA	L-29	L-30	L-31	L-32	L-33	L-34
阳离子脂质	E29-1	E30-1	E31-1	E32-1	E33-1	E34-1
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	93	90	89	87	99	81
粒径/nm	77	75	79	90	93	82
LNP/Fluc-mRNA	L-35	L-36	L-37	L-38	L-39	L-40
阳离子脂质	E35-1	E36-1	E37-1	E38-1	E39-1	E40-1
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	90	93	91	86	94	99
粒径/nm	98	89	75	97	78	83
LNP/Fluc-mRNA	L-41	L-42	L-43	L-3-2-d		
阳离子脂质	E41-1	E42-1	E43-1	E3-2		
聚乙二醇化脂质	DMG					
包封率/%	82	85	83	93		
粒径/nm	80	83	84	88		
LNP/Fluc-mRNA	PL-0	PL-3-2	PL-4	PL-10-2	PL-16	PL-17
阳离子脂质	MC3	E3-2	E4-1	E10-2	E16-1	E17-1
聚乙二醇化脂质	E44-1					
包封率/%	94	98	95	96	97	90
粒径/nm	91	82	91	72	76	75

(2) 血清稳定性评价

将上述 LNP/Fluc-mRNA (对照组 D-0、D-1、D-2、D-3、D-4; 实验组 L-1、L-3-2、L-4、L-10-2、L-16、L-17、PL-0、PL-3-2、PL-4、PL-10-2、PL-16、PL-17) 加入含有 10% 胎牛血清 (FBS) 的培养基中, 在 37°C 条件下搅拌, 定时取样测定 LNP/Fluc-mRNA 的粒径变化, 通过测试其粒径变化来分析核酸药物制剂的血清稳定性。实验结果显示 (表 2), 在 7 天内, 同时含有本发明的阳离子脂质和本发明的聚乙二醇化脂质的 **PL-3-2**、**PL-4**、**PL-16**、**PL-10-2** 的粒径变化最小 (0~3%), 其余实验组和对照组的粒径变化在 5~16%, 其中阳离子脂质含碳酸酯基或多个酯基的 **D-4**、**L-1**、**L-17** 以及 **PL-17** 的粒径变化稍大。结果说明, 本发明的阳离子脂质用于脂质药物组合物的制备, 得到的脂质纳米粒可以在生理条件下有足够的稳定性, 搭配本发明的聚乙二醇化脂质效果更好。

表 2: LNP/Fluc-mRNA 的稳定性评价

LNP/Fluc-mRNA	D-0	D-1	D-2	D-3	D-4	
粒径变化/%	5	7	6	7	16	
LNP/Fluc-mRNA	L-1	L3-2	L-4	L10-2	L-16	L-17
粒径变化/%	14	8	10	8	7	11

LNP/Fluc-mRNA	PL-0	PL3-2	PL-4	PL10-2	PL-16	PL-17
粒径变化/%	5	0	3	1	0	9

(3) 细胞毒性评价

所用细胞为 Hela 细胞，选用的方法是 CCK-8 试剂盒测定细胞活力法。

用商用转染试剂 Lipofectamine 2000 (L2K) 按照实施例 45 的方法制备复合物 L2K/Fluc-mRNA。

Hela 按 1×10^4 个细胞/孔，每孔体积 100 μL 的比例接种在 96 孔板中，分成 control 组 (空白对照组)、L2K/Fluc-mRNA 组 (阳性对照组) 和 LNP/Fluc-mRNA 组 (表 1 中的实验组)，于 37°C 、5% CO_2 的条件下孵育。细胞孵育 24 小时后，阳性对照组和实验组分别加入 3.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 L2K/Fluc-mRNA 和 3.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 LNP/Fluc-mRNA，于 37°C 、5% CO_2 的条件下继续孵育。孵育 24 小时后，在避光条件下，取出 96 孔板，吸去培养液，以每孔 120 μL 的量加入已稀释好的 CCK-8 溶液。加毕，于 37°C 、5% CO_2 的条件下孵育 1-4 小时。

取出，用酶标仪测定每孔在 450 nm 波长下的吸收值。

重复三次测试的结果取平均值，阳性对照组 L2K/Fluc-mRNA 的细胞存活率为 92%，实验组的细胞存活率均大于 91%，且 L3-2、L-16、PL-3-2、PL-4 和 PL-16 的细胞存活率为 96%及以上。

结果显示，与采用商用转染试剂 Lipofectamine 2000 的 L2K/Fluc-mRNA 相比，本发明的 LNP/Fluc-mRNA 同样对细胞无明显毒性。

(4) 细胞水平转染活性评价

表 3: 细胞转染测试结果

序号	荧光相对值	序号	荧光相对值	序号	荧光相对值
空白	1	L-1	3.8	L-12	2.9
D-0	2.2	L-2	3.3	L-13	2.5
D-1	2.5	L-3-2	3.5	L-14	2.8
D-2	3.0	L-4	3.0	L-15	2.3
D-3	2.7	L-5	3.2	L-16	3.6
D-4	2.6	L-6	3.1	L-17	3.1
		L-7	2.7	L-22	3.2
		L-8	3.0	L-36	3.1
		L-9	2.5	PL-0	2.1
		L-10-2	3.7	PL-1	3.9
		L-11	2.4	PL-3-2	3.7

为了考察本发明实施例 45 中制备的各组 LNP/Fluc-mRNA 组合物在细胞水平的 mRNA 转染率，采用 Luciferase 生物发光进行测试。将 LNP/Fluc-mRNA 组合物制剂溶解于培养基中配成所需剂量，用 Hela 细胞作为细胞模型，以接种密度 6000 个细胞/孔，将细胞悬浮液 100 μL /孔接种到黑边透明底的 96 孔板中。接种之后，在细胞培养箱中孵育培养 24 h，然后按每孔 0.2 μg mRNA 的剂量进行给药，空白对照组加入对应剂量的游离的 Fluc-mRNA，转染 24 小时后，去掉旧培养基，换成含 D-荧光素钠 (1.5mg/mL) 底物的新培养基，并孵育 5 分钟后，使用酶标仪检测生物发光，荧光越强表明转运进入细胞质且翻译出相应的荧光蛋白的 Fluc-mRNA 越多，实验结果如表 3 所示，其中，荧光强度相对值为各组的荧光强度值与空白对照组的荧光强度的比值。结果表明本发明制备

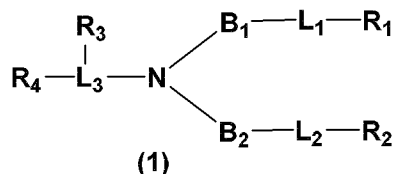
的 LNP/Fluc-mRNA 组合物都具有优异的体外转染效果，即对照组和实验组的 LNP 都是有效的递送载体，且大多数实验组的转染效果优于对照组。当 LNP/Fluc-mRNA 组合物中的聚乙二醇化脂质为 DMG 时，阳离子脂质极性头部含氮杂环的 **L-1**、**L-3-2**、**L-10-2** 和 **L-16** 的转染效果较佳；其中，又以 **L-1** 的转染效果最佳，可能是由于其含有的多个酯键更有利于阳离子脂质在细胞内的降解，促进核酸类药物 Fluc-mRNA 释放至细胞质中。当 LNP/Fluc-mRNA 组合物中的聚乙二醇化脂质为本发明的 **E44-1** 时，不会使转染效率显著降低（如 **L-0** 和 **PL-0** 的转染效率相当），且搭配本发明的阳离子脂质时，转染效率有一定程度的提高（如 **PL-1** 和 **PL-3-2**）。

以上所述仅为本发明的实施例，并非因此限制本发明的专利范围，凡是利用本发明说明书内容所作的等效结构或等效流程变换，或直接或间接运用在其他相关的技术领域，均同理包括在本发明的专利保护范围内。

对于本领域技术人员来说，在不脱离本发明的宗旨和范围，以及无需进行不必要的实验情况下，可在等同参数、浓度和条件下，在较宽范围内实施本发明。虽然本发明给出了特殊的实施例，对此应该理解为，可以对本发明作进一步的改进。总之，按本发明的原理，本申请欲包括任何变更、用途或对本发明的改进，包括脱离了本申请中已公开范围，而用本领域已知的常规技术进行的改变。

权利要求书

1. 一种阳离子脂质，其特征在于，结构如通式（1）所示：



其中，N为氮支化中心；

L₁、L₂各自独立地为连接键或二价连接基；

L₃为三价连接基，与R₃构成侧链为R₃的二价连接基-L₃(R₃)-；

B₁、B₂各自独立地为连接键或C₁₋₃₀亚烷基；

R₁、R₂各自独立地为C₂₋₃₀脂肪烃基或含1-2个O的C₂₋₃₀脂肪烃衍生物残基；

R₃为-OR_d、-NR_dR_d、-SR_d、-(C=O)R_d、-(C=O)OR_d、-O(C=O)R_d、-O(C=O)OR_d或 $\frac{1}{j}(\text{G}_1)_k(\text{F}_1)$ ；其中，R_d每次出现时各自独立地为C₁₋₁₂烷基，G₁为k+1价的支化基团，j为0或1，F₁含有功能性基团R₀₁；j为0时，G₁不存在；j为1时，G₁引出k个F₁，且k个F₁各自独立地为相同或不不同的结构，k为2-8的整数；

R₄为碳环基、杂环基或R'₁N(R')-R''-N(R')-；其中，杂环基为成环原子含有1个、2个或2个以上杂原子的环状基团，所述杂原子为B、O、N、Si、P或S；其中，R'每次出现时各自独立地为H或C₁₋₃烷基，R''为C₂₋₄亚烷基；

所述亚烷基、脂肪烃基、脂肪烃衍生物残基、碳环基、杂环基各自独立地为取代的或未取代的；

或其盐、互变异构体、立体异构体或溶剂化物。

2. 根据权利要求1所述的阳离子脂质，其特征在于，所述L₁、L₂为以下情形中任一种：

情形（1）：L₁、L₂其中一个为连接键，另一个为二价连接基；

情形（2）：L₁、L₂都为连接键；

情形（3）：L₁、L₂都为二价连接基，且L₁、L₂为相同或不同结构；

所述任一情形中，二价连接基为-O-、-S-、-S-S-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-C(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)S-、-C(R_c)=N-NR_c-、-NR_c-N=C(R_c)-中任一种，或任两种与C₁₋₁₀亚烷基的组合；其中，R_c每次出现时各自独立地为H或甲基，优选为H；

优选L₁、L₂各自独立地为-O-、-OC(=O)-、-C(=O)O-、-OC(=O)O-、-C(=O)-、-NHC(=O)-、-C(=O)NH-、-(C=O)O(CH₂)_yOC(=O)-、-O(C=O)(CH₂)_yOC(=O)-、-C(=O)O(CH₂)_yC(=O)O-、-O(C=O)(CH₂)_yC(=O)O-中任一种，其中y为2-8的整数。

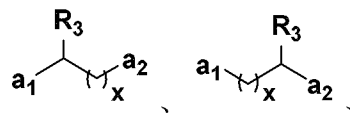
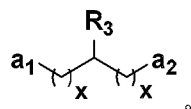
3. 根据权利要求1所述的阳离子脂质，其特征在于，所述-L₃(R₃)-选自-L₄-、-Z-L₄-、-L₅-Z-L₄-、-L₄-Z-L₅-、-Z-L₄-Z-L₅-、-L₅-Z-L₄-Z-L₅-、-L₄-Z-L₅-Z-L₅-、-Z-L₅-Z-L₄-和-L₅-Z-L₅-Z-L₄-中任一种，且右端和氮支化中心连接；其中L₄为-(CH₂)_x-CR₃H-(CH₂)_x-，L₅为-(CH₂)_x-，x每次出现时各自独立地为0-3的整数，Z每次出现时各自独立地为-(C=O)-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-O-、-S-、-S-S-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c-和-NR_cC(=O)S-中任一种；其中，R_c每次出现时各自独立地为H或甲基，优选为H；

优选-L₃(R₃)-为-(CH₂)_x-CR₃H-(CH₂)_x-。

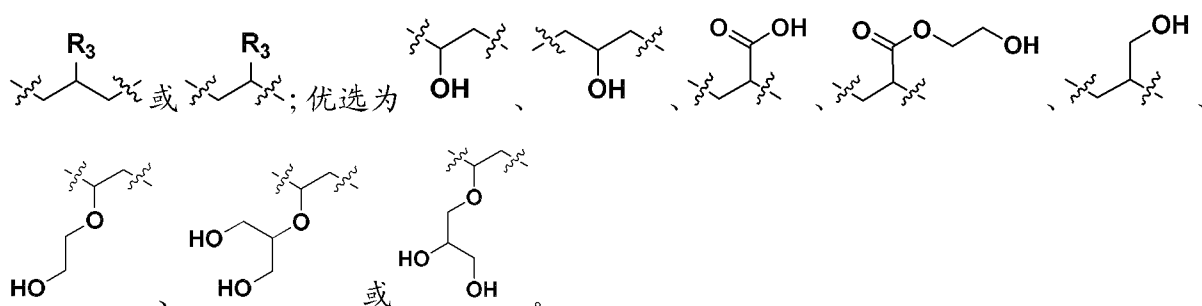
4. 根据权利要求 3 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 $-L_3(R_3)-$ 的结构为

$a_1-L_3-a_2$, 其中 a_1 为与 R_4 相连接的连接键, a_2 为与通式 (1) 中氮支化中心相连接

的连接键; 所述 $a_1-L_3-a_2$ 优选自以下结构中任一种:



5. 根据权利要求 4 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 $a_1-L_3-a_2$ 为



6. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 B_1 、 B_2 各自独立地为连接键或 C_{1-20} 亚烷基; 优选 B_1 、 B_2 为以下情形中任一种:

情形 (1): B_1 、 B_2 其中一个为连接键, 另一个为 C_{1-20} 亚烷基;

情形 (2): B_1 、 B_2 都为连接键;

情形 (3): B_1 、 B_2 各自独立地为 C_{1-20} 亚烷基;

所述 C_{1-20} 亚烷基为取代的或未取代的, 选自亚甲基、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、由 1 个 $-CR_qH-$ 和 0-19 个 $-CH_2-$ 组合而成的二价连接基或由 2 个 $-CR_qH-$ 和 0-18 个 $-CH_2-$ 组合而成的二价连接基; 所述 R_q 每次出现时各自独立地选自 $-OH$ 、 $-(CH_2)_{tq}OH$ 、 $-(CH_2)_{tq}CH_3$ 、 $-(CH_2)_{tq}OCH_3$ 、 $-SH$ 、 $-(CH_2)_{tq}SH$ 、 $-(CH_2)_{tq}SCH_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-N((CH_2)_{tq}CH_3)_2$ 、 $-(CH_2)_{tq}NH_2$ 和 $-(CH_2)_{tq}N(CH_3)_2$ 中任一种, 其中 tq 选自 0-4 的整数; R_q 优选为 $-OH$ 。

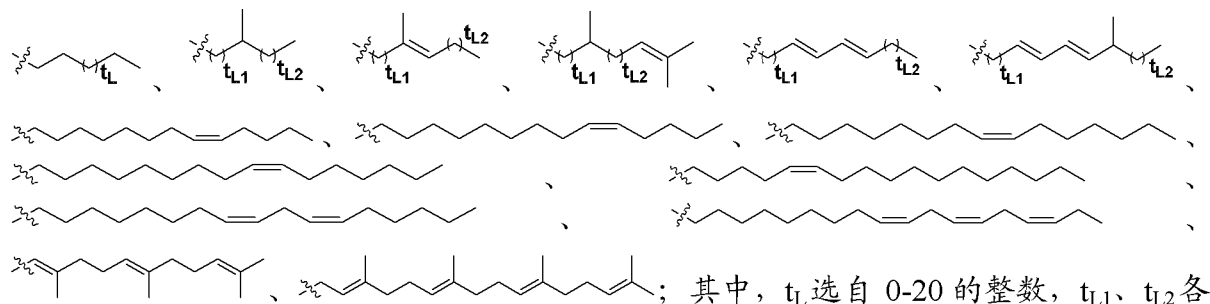
7. 根据权利要求 6 所述的阳离子脂质, 所述 B_1 、 B_2 各自独立地选自以下任一种: 连接键、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基、亚己基、亚庚基、亚辛基、亚壬基、亚癸基、 $-OH$ 取代的亚丁基、 $-OH$ 取代的亚戊基、 $-OH$ 取代的亚己基、 $-OH$ 取代的亚庚基、 $-OH$ 取代的亚辛基;

优选 B_1 、 B_2 均为亚乙基, 或 B_1 、 B_2 均为亚丁基, 或 B_1 、 B_2 均为亚己基, 或 B_1 、 B_2 均为亚庚基, 或 B_1 为亚丁基、 B_2 为亚庚基, 或 B_1 为亚戊基、 B_2 为亚己基, 或 B_1 为亚戊基、 B_2 为亚庚基, 或 B_1 为连接键、 B_2 为亚己基, 或 B_1 为亚戊基、 B_2 为 $-OH$ 取代的亚己基, 或 B_1 、 B_2 均为 $-OH$ 取代的亚己基, 或 B_1 为亚己基、 B_2 为 $-OH$ 取代的亚己基。

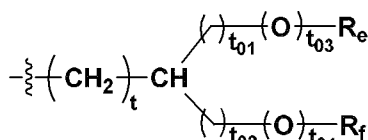
8. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 R_1 、 R_2 各自独立地选自 R_L 、 R_B 、 R_r 中任一种; 所述 R_L 、 R_B 、 R_r 各自独立地含有 0-4 个 R_m 取代基; 所述 R_m

每次出现时各自独立地为选自线性 C₁₋₁₂ 烷基或支化 C₁₋₃ 烷基，优选为甲基；

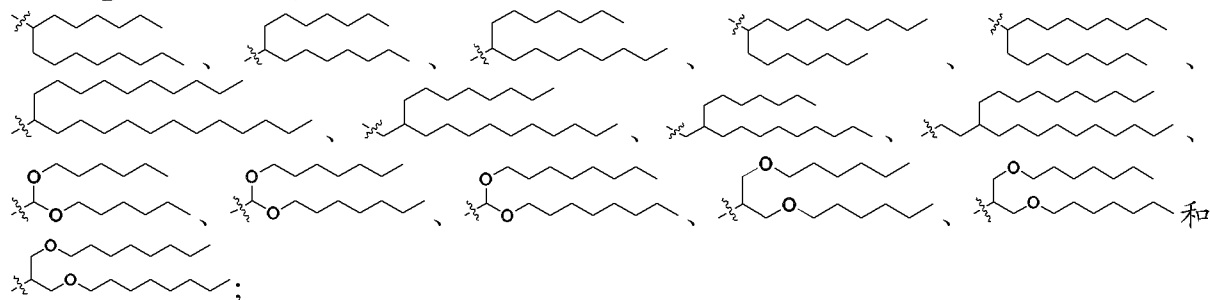
所述 R_L 为直链 C₂₋₃₀ 脂肪烃基，且含有 0-4 个碳碳双键；优选为以下结构中任一种或任一种的顺反异构体：



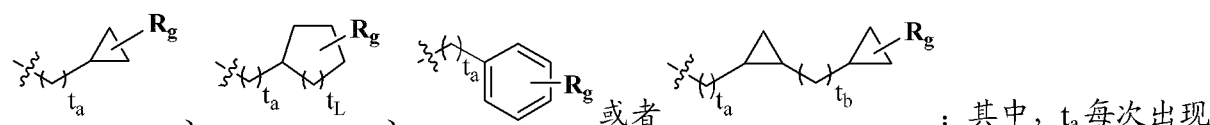
其中，t_L 选自 0-20 的整数，t_{L1}、t_{L2} 各自独立地选自 2-10 的整数；



所述 R_B 结构为
各自独立地为 0 或 1；R_e、R_f 各自独立地为 C₁₋₁₂ 烷基、C₃₋₁₂ 烯基和 C₃₋₁₂ 炔基中任一种；
优选 R_B 为以下结构中任一种：

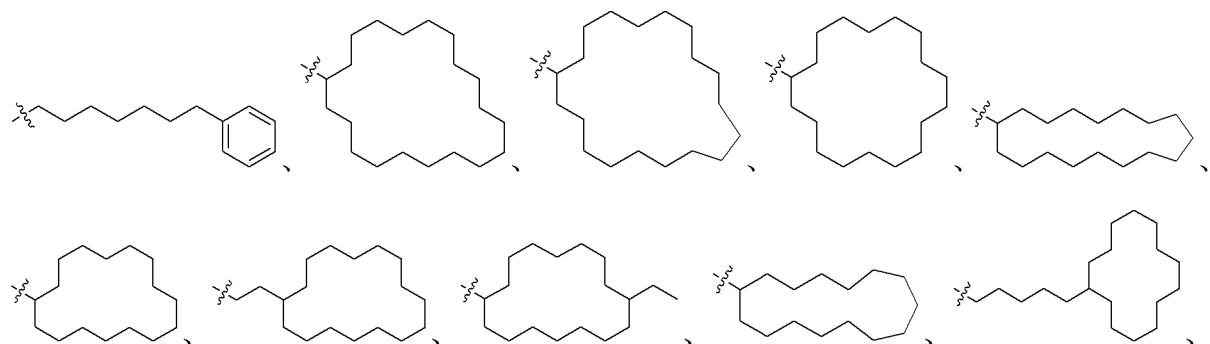


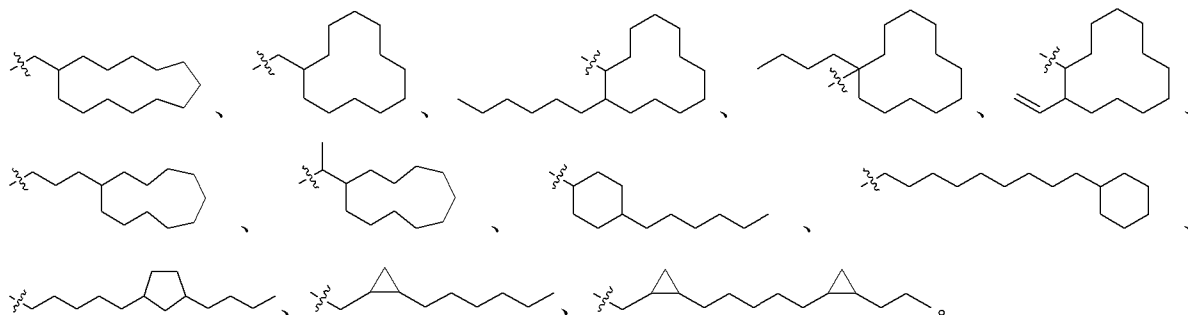
所述 R_r 为含环状结构的 C₃₋₃₀ 脂肪烃基；所述环状结构为 C₃₋₂₀ 碳环，优选为苯环或 C₃₋₂₀ 环烷烃的残基；优选 R_r 为以下结构中任一种：



时独立地选自 0-12 的整数，t_b 选自 1-12 的整数，t_L 选自 0-20 的整数，R_g 每次出现时独立地为环上任意位置引出的取代基，所述取代基选自 H、C₁₋₁₂ 烷基、C₂₋₁₂ 烯基、C₂₋₁₂ 炔基中任一种；

R_r 进一步优选为以下结构中任一种：



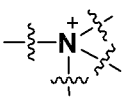


9. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 R₃ 选自 -O(CH₂)_rCH₃、-S(CH₂)_rCH₃、-C(=O)(CH₂)_rCH₃、-C(=O)O(CH₂)_rCH₃、-OC(=O)(CH₂)_rCH₃、-OC(=O)O(CH₂)_rCH₃ 和 -(CH₂)_rN(CH₃)₂ 中任一种, 其中, r 为 0-3 的整数, 优选为 0 或 1。

10. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 R₃ 为 $\frac{-\{G_1\}-(F_1)}{j}^k$, F₁ 的结构为 -(CH₂)_h-R₀₁ 或 -(CH₂)_f-Z₃-(CH₂)_g-R₀₁; 其中 h 为 0-6 的整数, f 为 0、1 或 2, g 为 2、3 或 4; 其中 Z₃ 选自 -(C=O)-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-O-、-S-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c- 和 -NR_cC(=O)S- 中任一种; 其中, R_c 每次出现时各自独立地为 H 或甲基, 优选为 H;

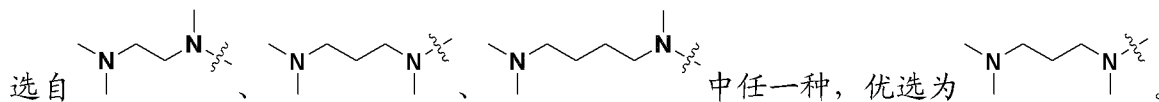
优选 F₁ 为 -R₀₁、-CH₂-R₀₁、-(CH₂)₂-R₀₁、-O-(CH₂)₂-R₀₁、-(C=O)O-(CH₂)₂-R₀₁、-O(C=O)-(CH₂)₂-R₀₁、-O(C=O)O-(CH₂)₂-R₀₁ 中任一种。

11. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 j 为 1, R₃ 为 $\frac{-\{G_1\}-(F_1)}{j}^k$, G₁ 的结构为 -(CH₂)_f-(Z₀)_q-(CH₂)_f-G₀₁; 其中, q 为 0 或 1; f 每次出现时各自独立地为 0、

1 或 2; G₀₁ 为三价支化核或四价支化核, 选自 -OCH<、-N<或 , 且左端与 -(CH₂)_f 相连接; Z₀ 为 Z₁、Z₂ 或 -(Z₂)_q-(CH₂)_g-(Z₁)_q-, 其中 Z₁、Z₂ 各自独立地为 -(C=O)-、-O(C=O)-、-(C=O)O-、-O(C=O)O-、-O-、-S-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-NR_c-、-NR_cC(=O)-、-C(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)NR_c-、-OC(=O)NR_c-、-NR_cC(=O)O-、-SC(=O)NR_c- 和 -NR_cC(=O)S- 中任一种; R_c 每次出现时各自独立地为 H 或甲基, 优选为 H; g 为 2、3 或 4;

优选 G₁ 为 -(CH₂)_fO(CH₂)_fCH<, 更优选为 -OCH₂CH<。

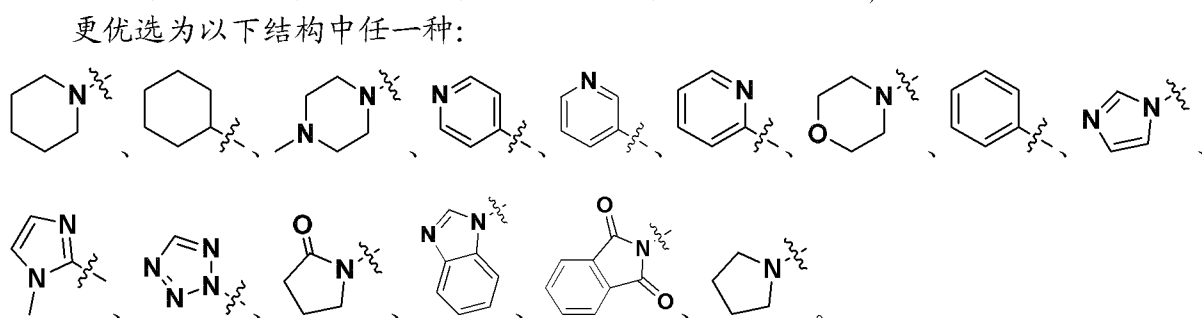
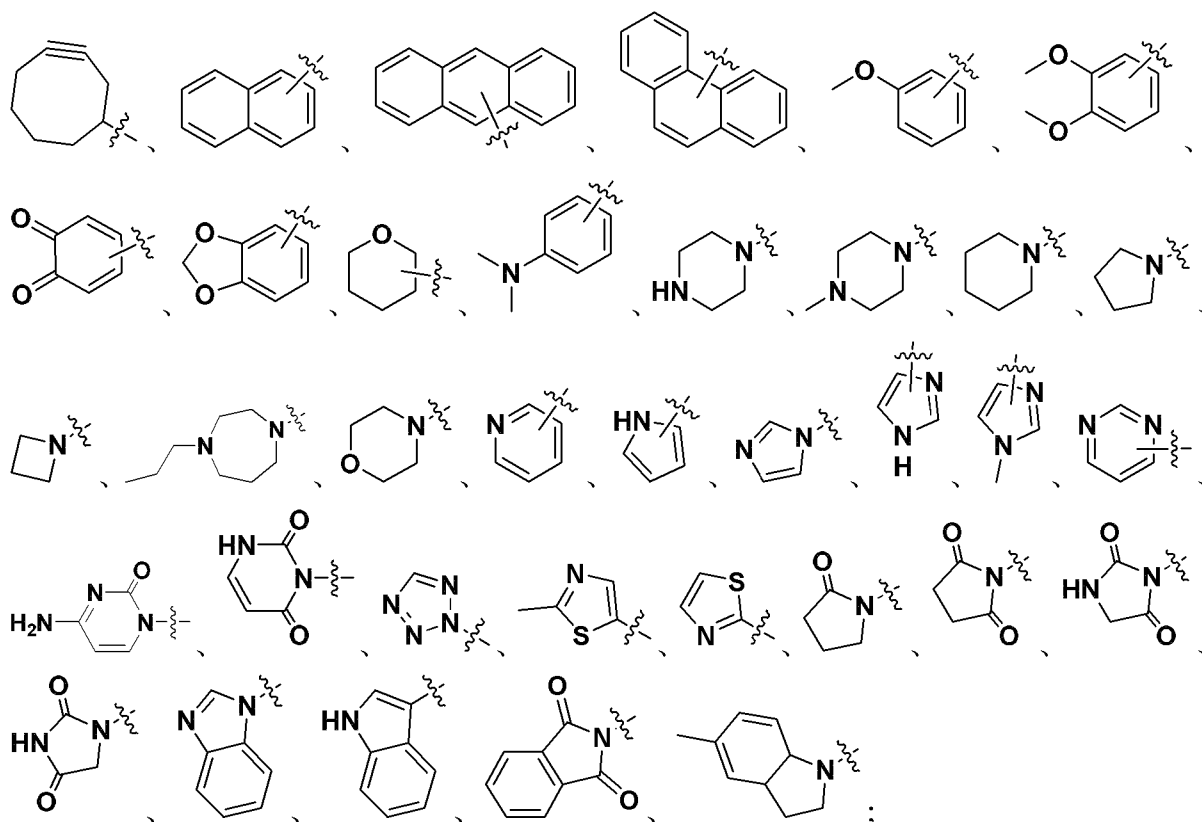
12. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 R₄ 为 R'⁺N(R')-R''-N(R')-,



13. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 R₄ 为碳环基或杂环基, 且含有 0-5 个取代基, 所述取代基各自独立地为 -F、-Cl、-Br、-I、-R_d'、-OR_d'、-NR_d'R_d'、-SR_d'、-(C=O)R_d'、-(C=O)OR_d'、-O(C=O)R_d' 或 -O(C=O)OR_d'-, 其中 R_d' 为 C₁₋₃ 烷基;

优选 R₄ 为以下结构中任一种:





14. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质, 其特征在于, 所述 R_{01} 选自: 反应性基团、反应性基团的变化形式、具有治疗靶向性的功能性基团、荧光性功能基团中任一种; 其中, 所述变化形式选自反应性基团的前体、以反应性基团作为前体的活性形式、反应性基团被取代的活性形式、反应性基团被保护的非活性形式中任一种; 其中, 所述反应性基团的前体指经过氧化、还原、水合、脱水、电子重排、结构重排、盐络合与解络合、离子化、质子化、去质子化中至少一个过程, 可转变为所述反应性基团的结构。

15. 根据权利要求 14 所述的阳离子脂质, 其特征在于, R_{01} 为选自下述类 A~类 I 中的任一种功能性基团或其变化形式:

类 A: 活性酯基、活性酯基的类似结构; 其中, 活性酯基选自琥珀酰亚胺活性酯基、对硝基苯活性酯基、邻硝基苯活性酯基、1,3,5-三氟苯活性酯基、1,3,5-三氯苯活性酯基、1,3,5-三溴苯活性酯基、1,3,5-三碘苯活性酯基、五氟苯活性酯基、咪唑活性酯基、苯并三唑活性酯基、噻唑烷-2-硫酮活性酯基、四氢吡咯-2-硫酮活性酯基、2-巯基苯并噻唑活性酯基、1-氧代-3-硫氧代异吲哚啉活性酯基中任一种; 其中, 活性酯基的类似结构为活性羧酸酯基或活性酰基;

类 B: 羧基、被保护的羧基、磺酸基、磺酸酯基、亚磺酸基、亚磺酸酯基、次磺酸基、酯基、硫代酯基、二硫代酯基、碳酸酯基、硫代碳酸酯基、二硫代碳酸酯基、三硫

代碳酸酯基、黄原酸基、四硫双酯基、砷基、亚砷基、甲基丙烯酰基、异羟肟酸基、硫代异羟肟酸基、磺酰卤基、硫代羧基；

类 C: 醛基、水合醛基、硫醛基、酰卤基、酮基、水合酮基、硫酮基、硫酮水合物基、乙二醛基、缩醛基、单缩硫醛基、双缩硫醛基、缩酮基、单缩硫酮基、双缩硫酮基、半缩醛基、硫代半缩醛基、半缩酮基、原酸基、被保护的原酸基、原酸酯基、氰酸酯基、硫氰酸酯基、异氰酸酯基、异硫氰酸酯基、噁唑啉基、异噁唑啉基；

类 D: 伯氨基、仲氨基、被保护的氨基、羟胺基、巯基、双硫化合物基、卤原子、卤代乙酰胺基、铵盐、胍基、四甲基哌啶氧基、二氧杂哌啶氧基、O-羰基羟胺基、酰胺基、酰亚胺基、酰胍基、磺酰胍基、脞基、亚胺基、烯胺基、炔胺基、氨基甲酸酯基、一硫代氨基甲酸酯基、二硫代氨基甲酸酯基；

类 E: 脲基、硫脲基、胍基及其质子化形式、脒基及其质子化形式、酸酐基、方酸基、方酸酯基、半方酸基、半方酸酯基、咪唑-1-甲酰胺基、亚胺酸酯基、硝酮基、醛肟基、酮肟基；

类 F: 马来酰亚胺基、咪唑保护的马来酰亚胺基、丙烯酸酯基、N-丙烯酰胺基、N-甲基丙烯酰胺基、甲基丙烯酸酯基、马来酰胺酸基、1,2,4-三唑啉-3,5-二酮基、线形的偶氮化合物基、环状的偶氮化合物基；

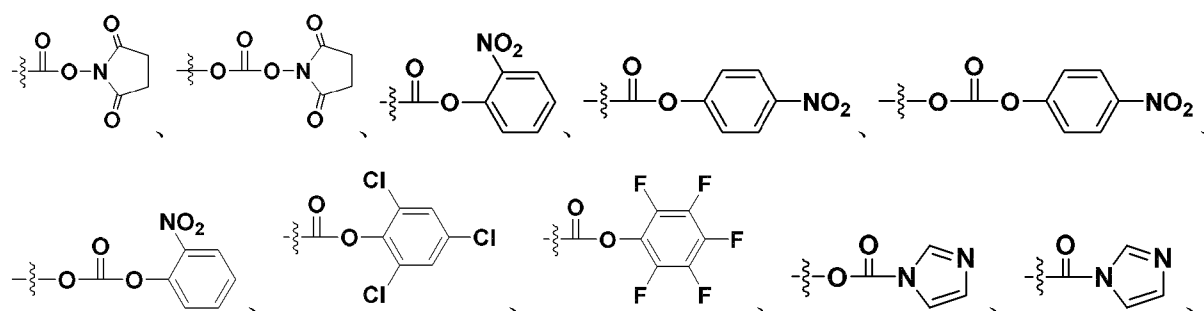
类 G: 烯基、烯基烷基、环烯烷基、炔基、炔基烷基、被保护的炔基、环炔烷基、线性的共轭二烯烷基、环状的共轭二烯烷基、含杂原子的环状的共轭二烯烷基、环氧基、1,2,4,5-四嗪基、叠氮基、氧化脒基、氰基、异氰基、重氮基、重氮鎓离子、氧化偶氮基、脒亚胺基、N-氧化醛亚胺基、四氮唑基、4-乙酰基-2-甲氧基-5-硝基苯氧基及其重氮化形式、咪唑基、吡啶基；其中，环烯烷基选自环辛烯烷基、降冰片烯基、降冰片二烯基、氧杂降冰片烯基、氧杂降冰片二烯基中任一种；

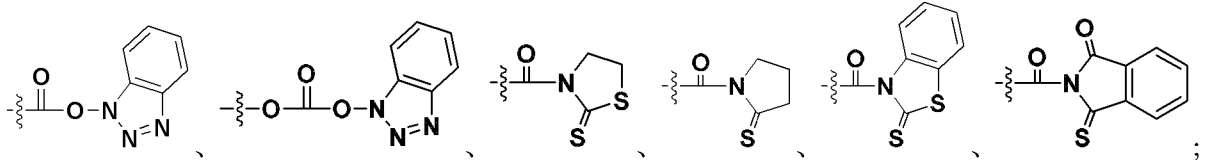
类 H: 羟基、被保护的羟基、被保护的双羟基、硅氧基、三羟基硅基、被保护的三羟基硅基；其中，羟基选自醇羟基、酚羟基、烯醇式羟基、半缩醛羟基中任一种；

类 I: 单糖基，选自阿洛糖、阿卓糖、阿拉伯糖、克拉定糖、赤藓糖、赤藓酮糖、果糖、岩藻糖醇、岩藻糖胺、岩藻糖、墨角藻糖、半乳糖胺、半乳糖胺醇、N-乙酰-半乳糖胺、半乳糖、葡糖胺、N-乙酰-葡糖胺、葡糖胺醇、葡萄糖、葡萄糖-6-磷酸、古洛糖甘油醛、L-甘油-D-甘露-庚糖、甘油、甘油醛、二羟基丙酮、古洛糖、艾杜糖、来苏糖、甘露糖胺、甘露糖、甘露糖-6-磷酸、甘露庚酮糖、阿洛酮糖、奎诺糖、奎诺糖胺、鼠李糖醇、鼠李糖胺、鼠李糖、核糖、核酮糖、脱氧核糖、景天庚酮糖、山梨糖、塔格糖、塔罗糖、酒石酸、苏糖、木糖、木酮糖中任一种或其功能性衍生物的残基；所述单糖基为 D-构型或 L-构型，为环状或链状结构，为取代的或未取代的。

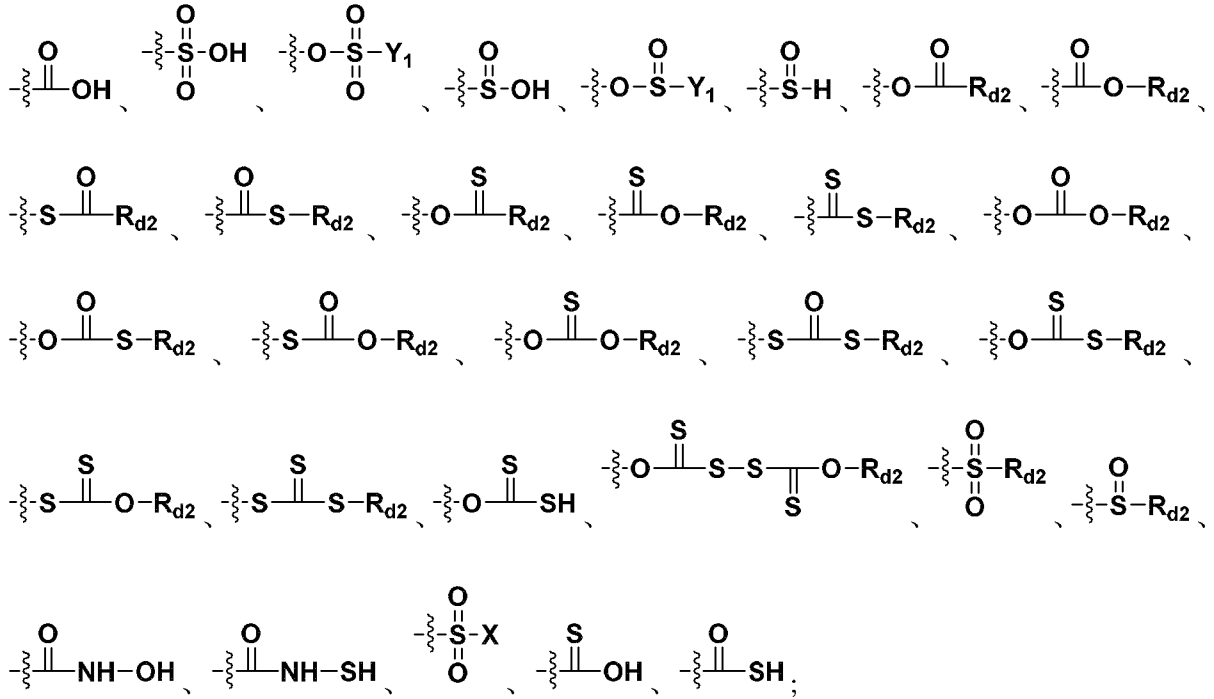
16. 根据权利要求 14 所述的阳离子脂质，其特征在于，所述 R₀₁ 选自下述类 A~类 I 中的任一种功能性基团或其变化形式：

类 A:

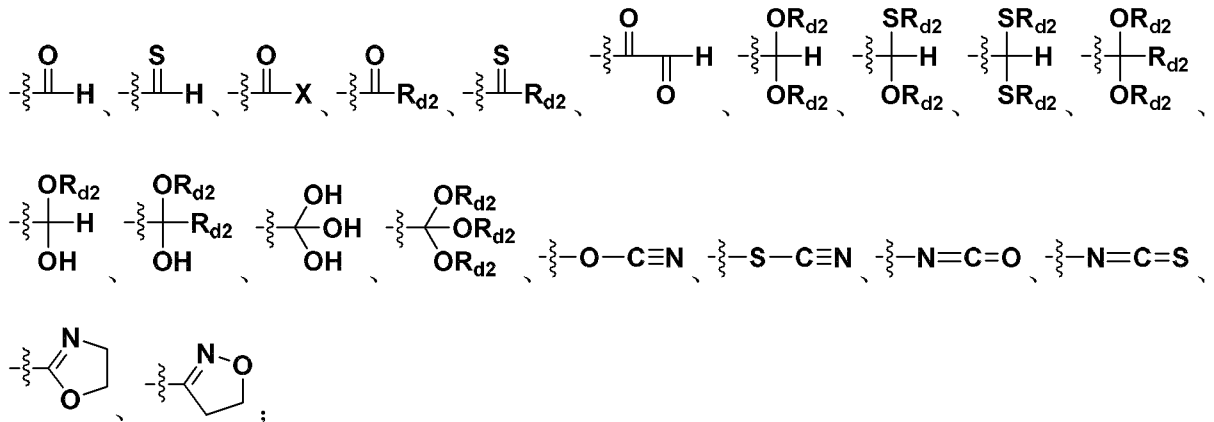




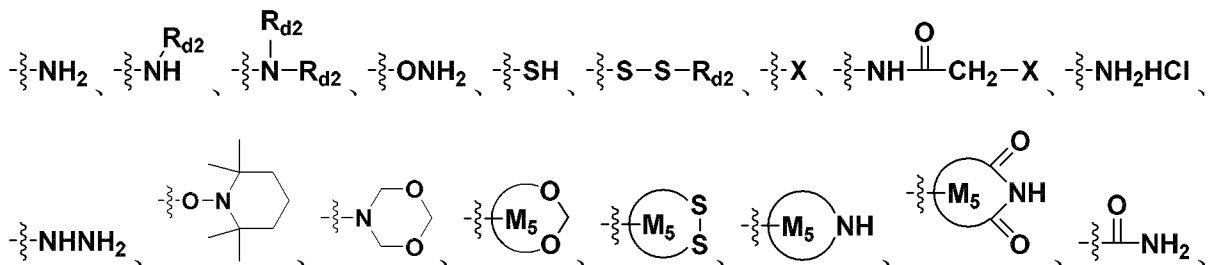
类 B:

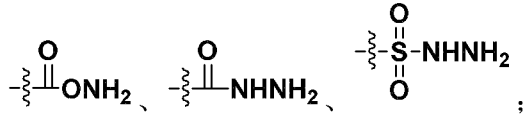


类 C:

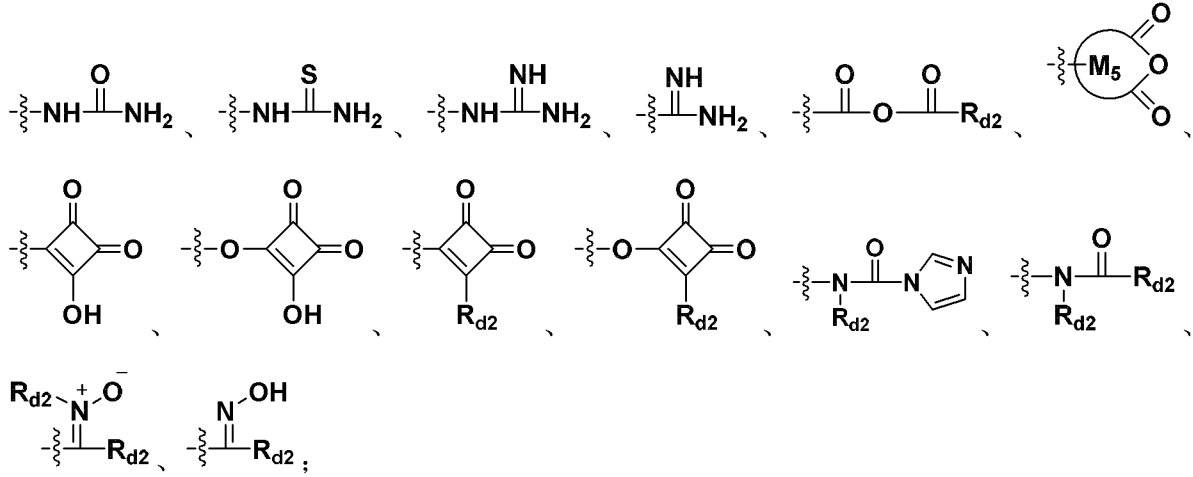


类 D:

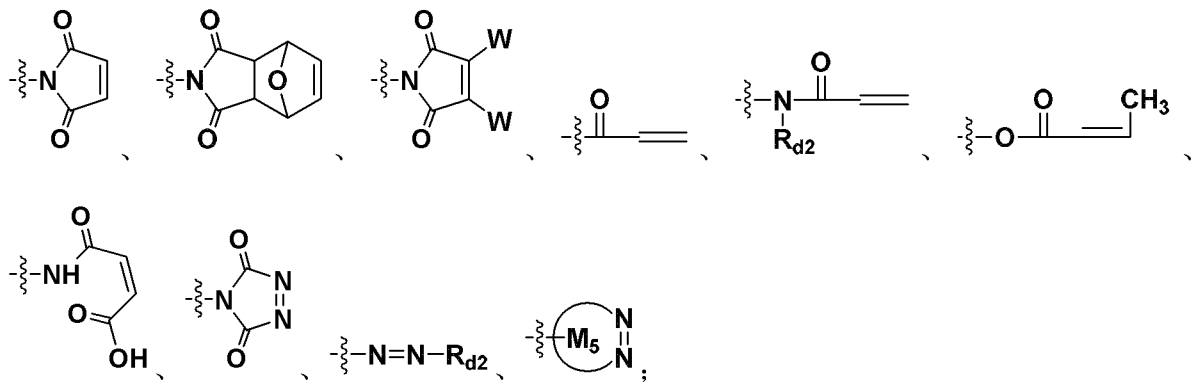




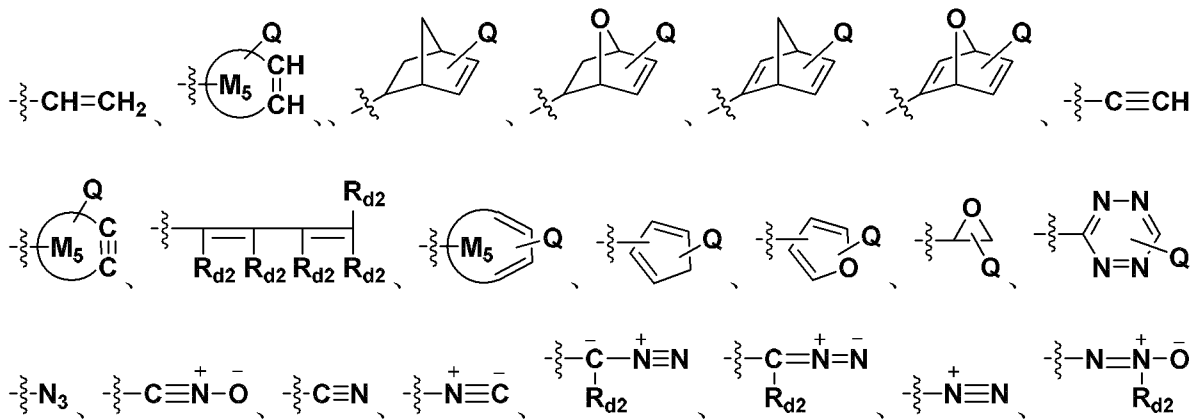
类 E:

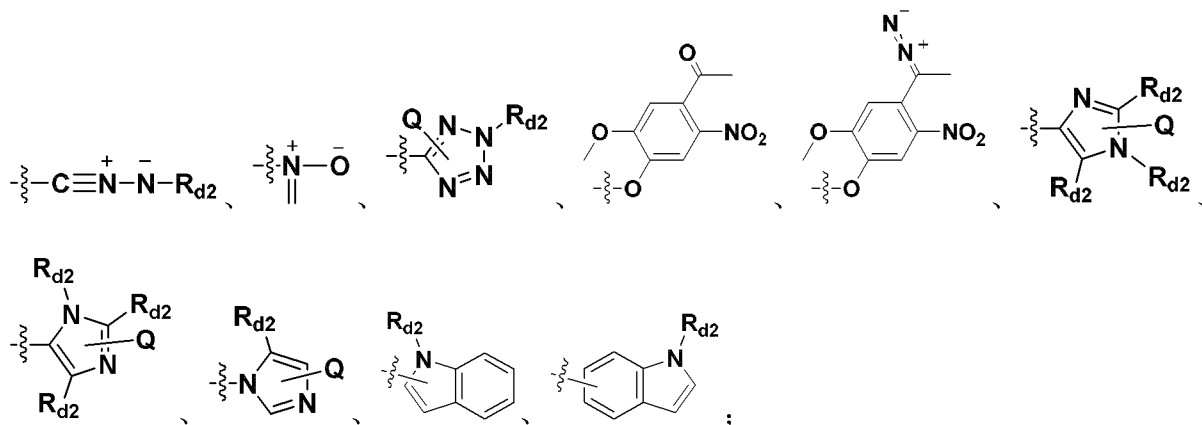


类 F:

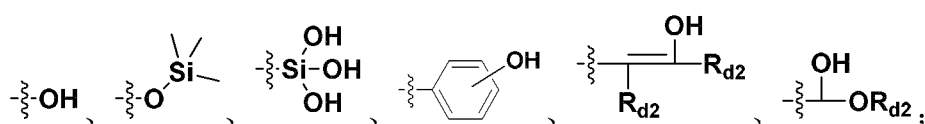


类 G:

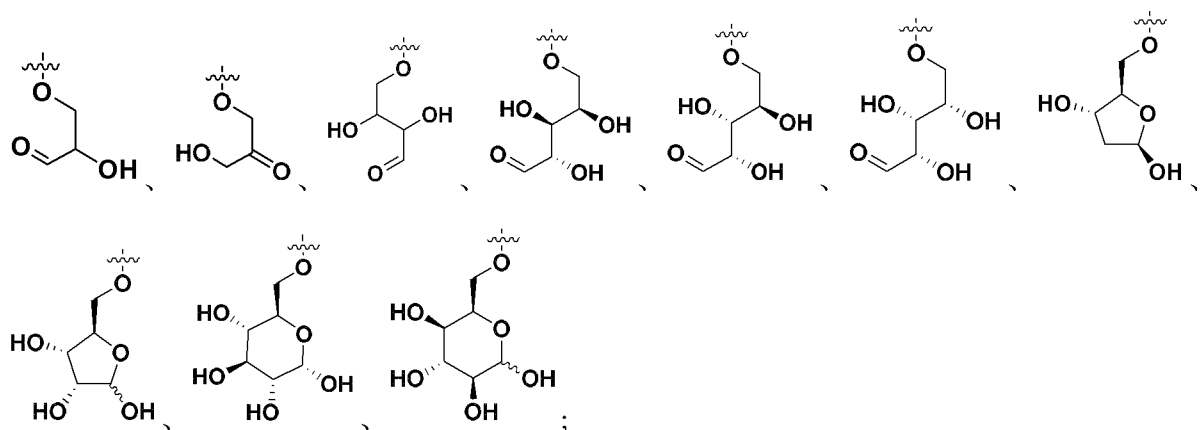




类 H:



类 I:



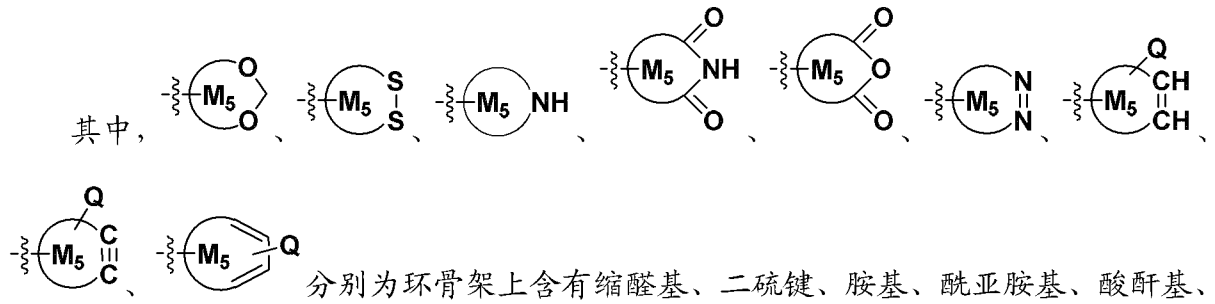
其中，X为卤素原子，选自氟原子、氯原子、溴原子和碘原子中任一种；

其中，Y₁选自C₁₋₅烷基、乙烯基、苯基、苄基、对甲基苯基、4-(三氟甲氧基)苯基、三氟甲基和2,2,2-三氟乙基中任一种；

其中，R_{d2}为有机基团，优选每次出现时各自独立地选自C₁₋₅烷基、C₂₋₅烯基、C₂₋₅炔基和苯基中任一种，所述烷基、烯基、炔基和苯基各自独立地为取代的或未取代的；

其中，W为离去基团，选自-F、-Cl、-Br、-I和-SPh中任一种；

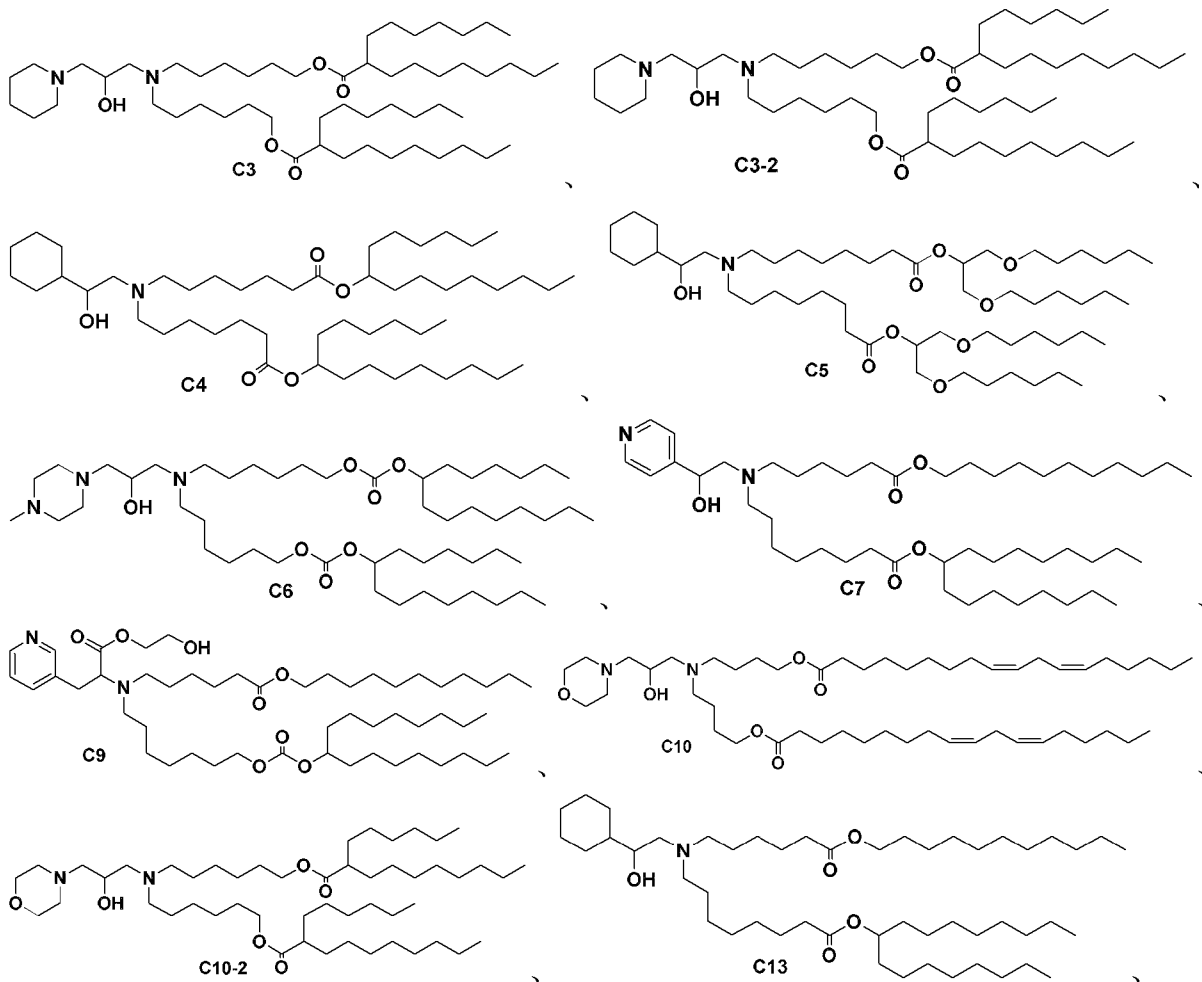
其中，M₅为成环原子，选自碳原子、氮原子、磷原子和硅原子中任一种；M₅所在的环状结构为3~30元环，优选3~20元环，更优选3~16元环，更优选5~16元环；所述环状结构优选以下组中任一种、任一种的被取代形式、或任一种的被杂化形式：环己烷、呋喃糖环、吡喃糖环、苯、四氢呋喃、吡咯烷、噻唑烷、环己烯、四氢吡喃、哌啶、1,4-二氧六环、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、1,3,5-三嗪、1,4,7-三氮杂环壬烷、环三肽、茛、二氢化茛、吡啶、异吡啶、嘌呤、茶、二氢蒽、氧杂蒽、硫代氧杂蒽、二氢菲、10,11-二氢-5H-二苯并[a,d]环庚烷、二苯并环庚烯、5-二苯并环庚烯酮、喹啉、异喹啉、芴、咔唑、亚氨基二苄、萘乙环、二苯并环辛炔、氮杂二苯并环辛炔；

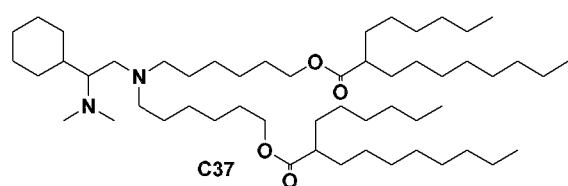
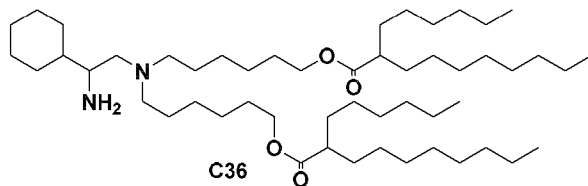
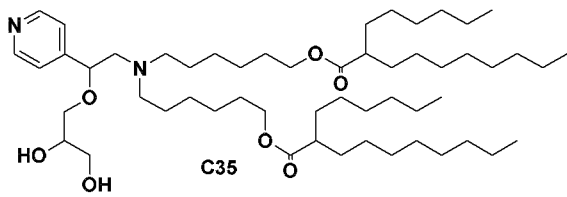
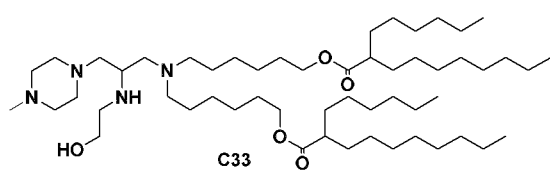
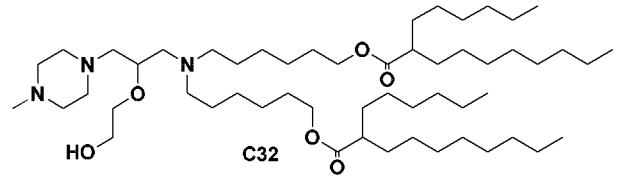
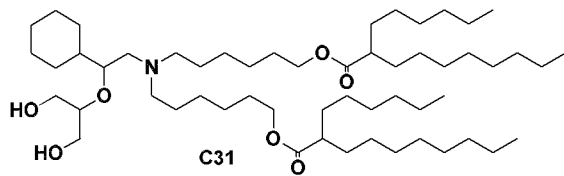
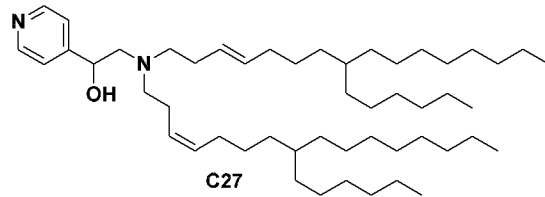
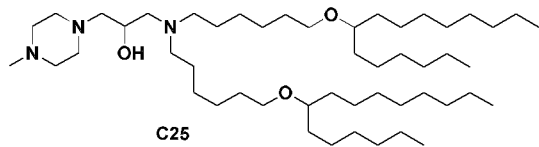
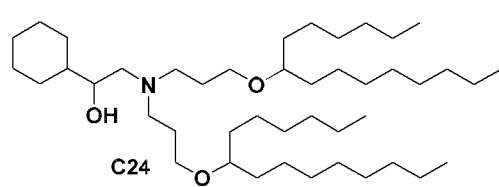
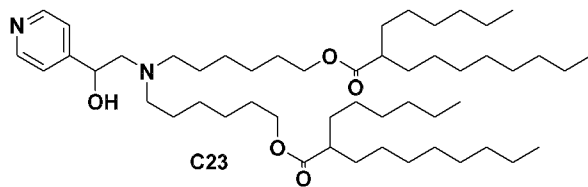
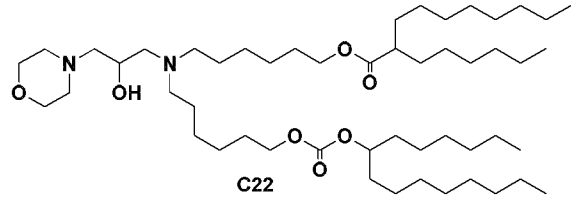
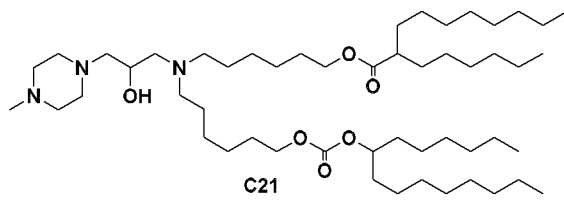
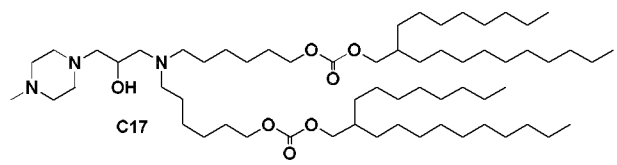
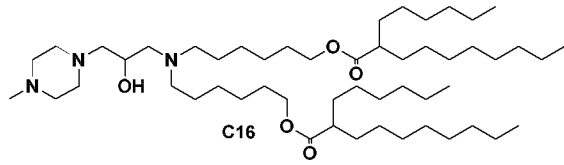
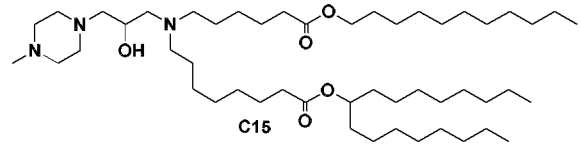
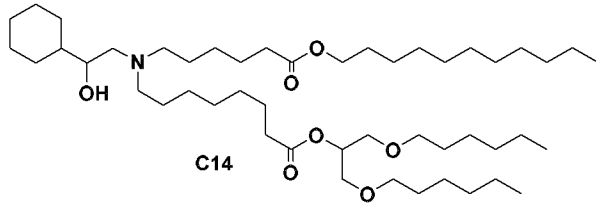


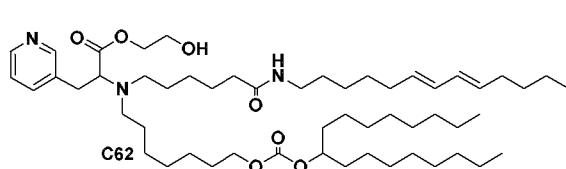
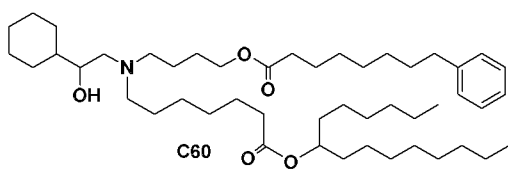
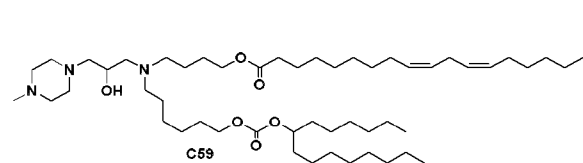
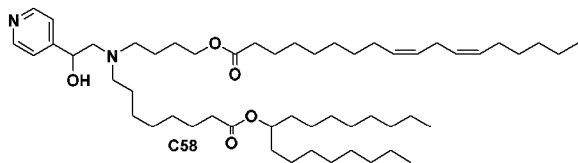
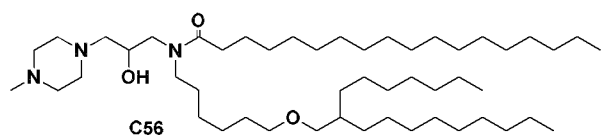
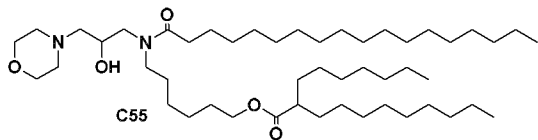
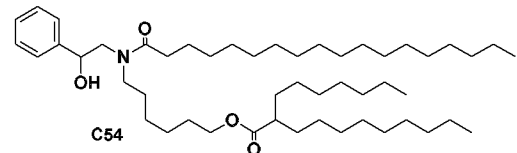
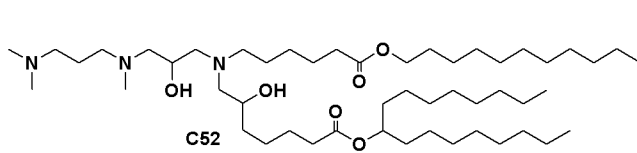
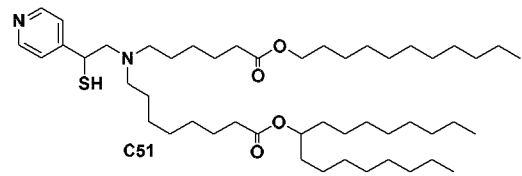
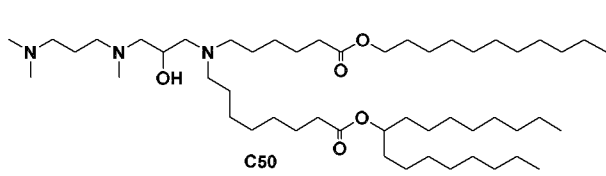
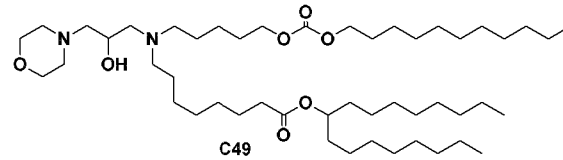
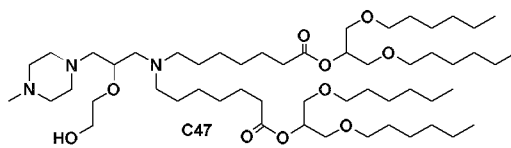
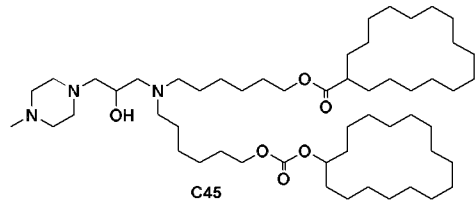
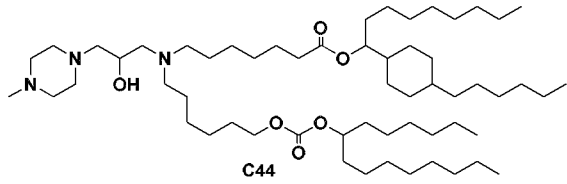
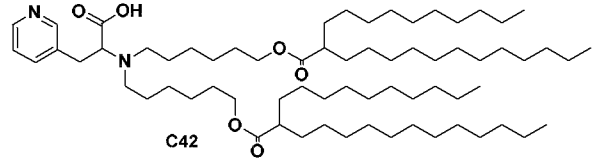
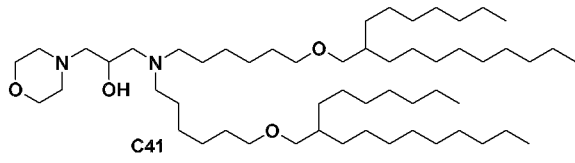
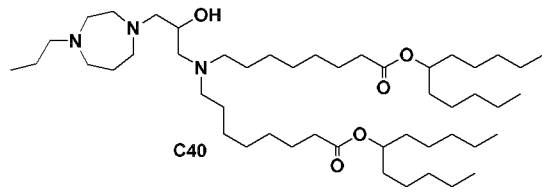
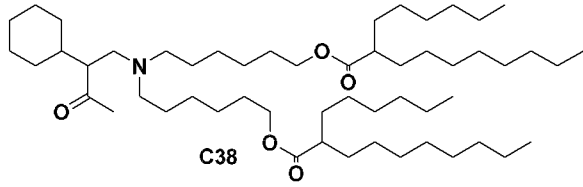
其中，Q是有助于不饱和键电子的诱导、共轭效应的原子或取代基；当Q处于环上时，数量是一个或多个；当数量为多个时，为相同结构，或为两种或两种以上不同结构的组合；当为取代基时，Q具有直链结构、含侧基的支链结构或含环状结构。

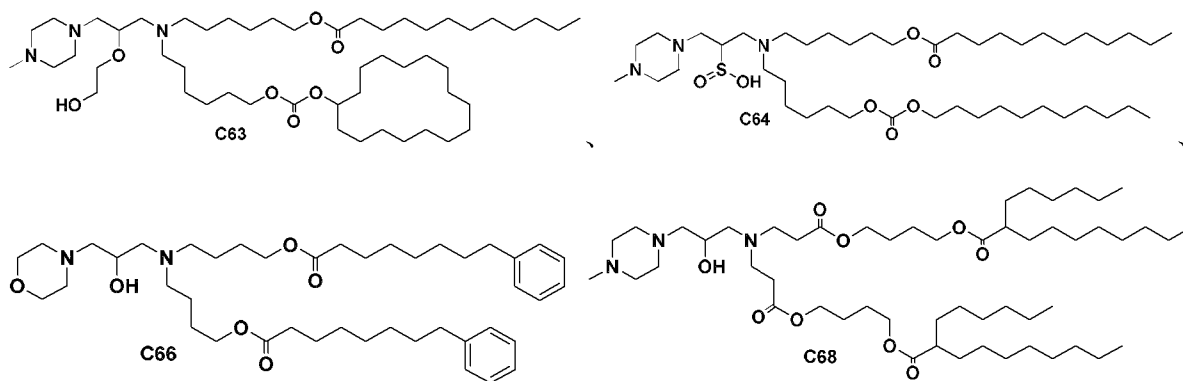
17. 根据权利要求 14 所述的阳离子脂质，其特征在于，所述 R₀₁ 选自羟基、羧基、醛基、氨基、巯基中任一种或其被保护形式，或选自卤素原子、酯基、磺酸酯基、活性酯基中任一种；优选为 -OH、-COOH、-C(=O)OCH₃ 中任一种。

18. 根据权利要求 1 所述的阳离子脂质，其特征在于，其结构选自以下任一种：

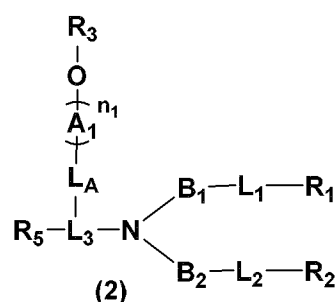








19. 一种基于权利要求 1 所述阳离子脂质衍生的聚乙二醇化脂质, 其结构如通式 (2) 所示:



其中, N 为氮化中心;

L_1 、 L_2 各自独立地为连接键或二价连接基;

L_3 为三价连接基, 与 $-L_A(A_1)_{n_1}OR_3$ 构成侧链为 $-L_A(A_1)_{n_1}OR_3$ 的二价连接基 $-L_3[L_A(A_1)_{n_1}OR_3]-$;

B_1 、 B_2 各自独立地为连接键或 C_{1-30} 亚烷基;

R_1 、 R_2 各自独立地为 C_{2-30} 脂肪烃基或含 1-2 个 O 的 C_{2-30} 脂肪烃衍生物残基;

R_3 为 H、 $-R_d$ 、 $-(CH_2)_hNR_dR_d$ 、 $-(CH_2)_hSR_d$ 、 $-(C=O)R_d$ 、 $-(C=O)OR_d$ 或 $\frac{1}{j} \text{---} (G_1) \text{---} (+F_1)_k$;

其中, R_d 每次出现时各自独立地为 C_{1-12} 烷基; h 为 0-6 的整数; G_1 为 $k+1$ 价的支化基团, j 为 0 或 1, F_1 含有功能性基团 R_{01} ; j 为 0 时, G_1 不存在; j 为 1 时, G_1 引出 k 个 F_1 , 且 k 个 F_1 各自独立地为相同或不不同的结构, k 为 2-8 的整数;

R_5 为 C_{3-14} 烷基、碳环基、杂环基或 $R'N(R')-R''-N(R')$; 其中, 杂环基为成环原子含有 1 个、2 个或 2 个以上杂原子的环状基团, 所述杂原子为 B、O、N、Si、P 或 S; 其中, R' 每次出现时各自独立地为 H 或 C_{1-3} 烷基, R'' 为 C_{2-4} 亚烷基;

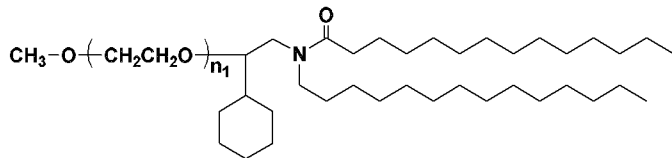
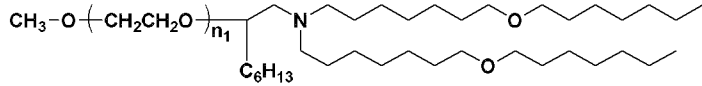
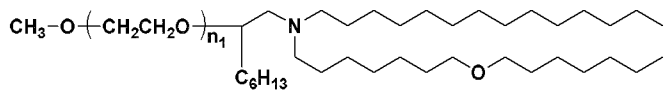
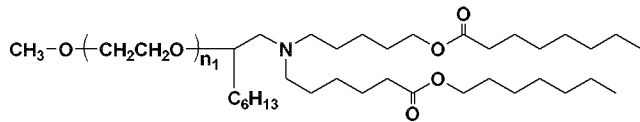
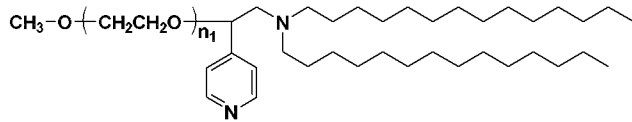
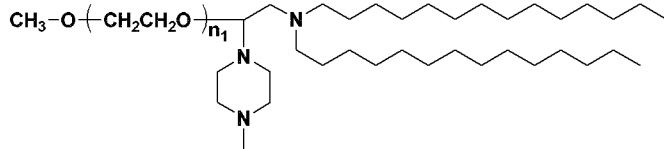
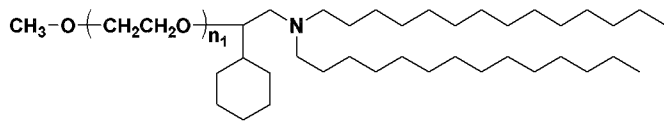
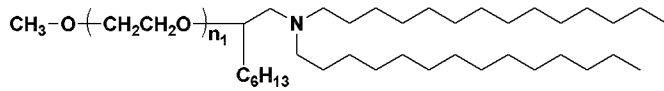
L_A 为 $-(CH_2)_h-$ 或 $-(CH_2)_f-Z_3-(CH_2)_g-$; 其中 h 为 0-6 的整数, f 为 0、1 或 2, g 为 2、3 或 4; 其中 Z_3 选自 $-(C=O)-$ 、 $-O(C=O)-$ 、 $-(C=O)O-$ 、 $-O(C=O)O-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)S-$ 、 $-SC(=O)-$ 、 $-NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)-$ 、 $-C(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)NR_c-$ 、 $-OC(=O)NR_c-$ 、 $-NR_cC(=O)O-$ 、 $-SC(=O)NR_c-$ 和 $-NR_cC(=O)S-$ 中任一种; 其中, R_c 每次出现时各自独立地为 H 或甲基, 优选为 H;

A_1 为 $-OCH_2CH_2-$ 且左端与 L_A 相连接;

n_1 为 A_1 重复出现的次数, 选自 20-250 的整数;

所述烷基、亚烷基、脂肪烃基、脂肪烃衍生物残基、碳环基、杂环基各自独立地为取代的或未取代的。

20. 根据权利要求 19 所述的聚乙二醇化脂质, 其结构为以下任一种:



21. 一种脂质组合物, 其特征在于, 含有权利要求 1-18 中任一项所述的阳离子脂质。

22. 根据权利要求 21 所述的脂质组合物, 其特征在于, 还含有磷脂、类固醇脂质和聚乙二醇化脂质中的一种或者一种以上, 选自以下情形中任一种:

情形 (1): 还含有磷脂;

情形 (2): 还含有类固醇脂质;

情形 (3): 还含有聚乙二醇化脂质;

情形 (4): 还含有磷脂和类固醇脂质;

情形 (5): 还含有磷脂和聚乙二醇化脂质;

情形 (6): 还含有类固醇脂质和聚乙二醇化脂质;

情形 (7): 还含有磷脂、类固醇脂质和聚乙二醇化脂质;

优选还同时含有磷脂、类固醇脂质和聚乙二醇化脂质三种脂质。

23. 根据权利要求 22 所述的脂质组合物, 其特征在于, 所述磷脂选自 1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-磷酸胆碱、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、

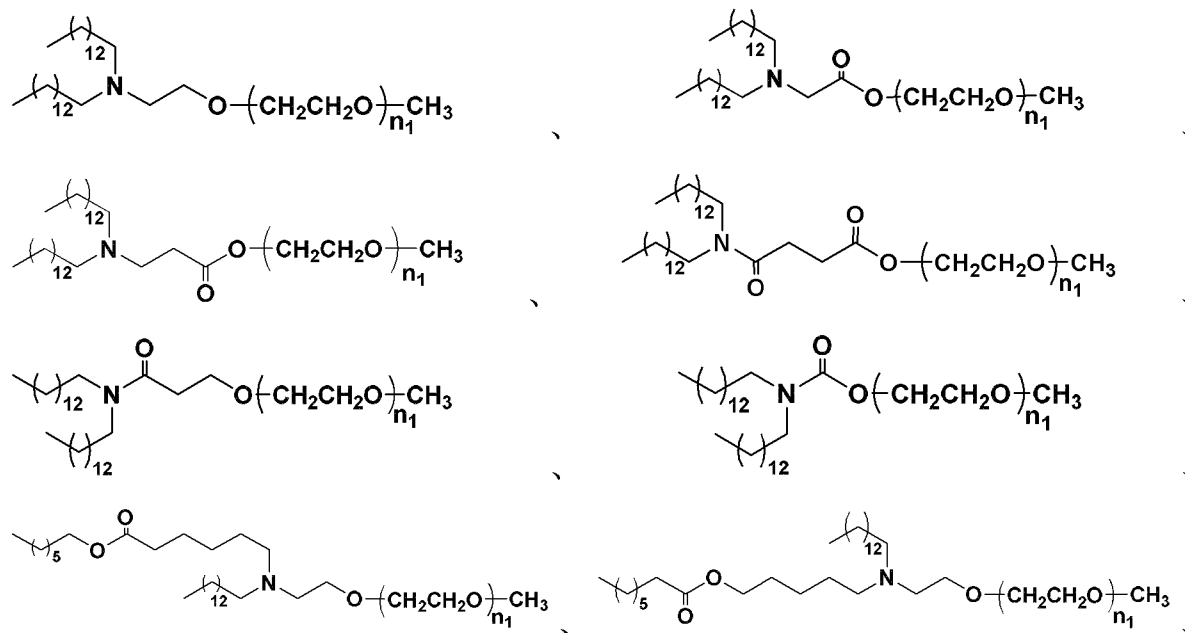
1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-磷酸胆碱、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二-O-十八碳烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐、二油酰基磷脂酰丝氨酸、二棕榈酰基磷脂酰甘油、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺、二硬脂酰基-磷脂酰-乙醇胺、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺、1-硬脂酰基-2-油酰基-硬脂酰乙醇胺、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱和溶血磷脂酰乙醇胺中任一种及其组合物。

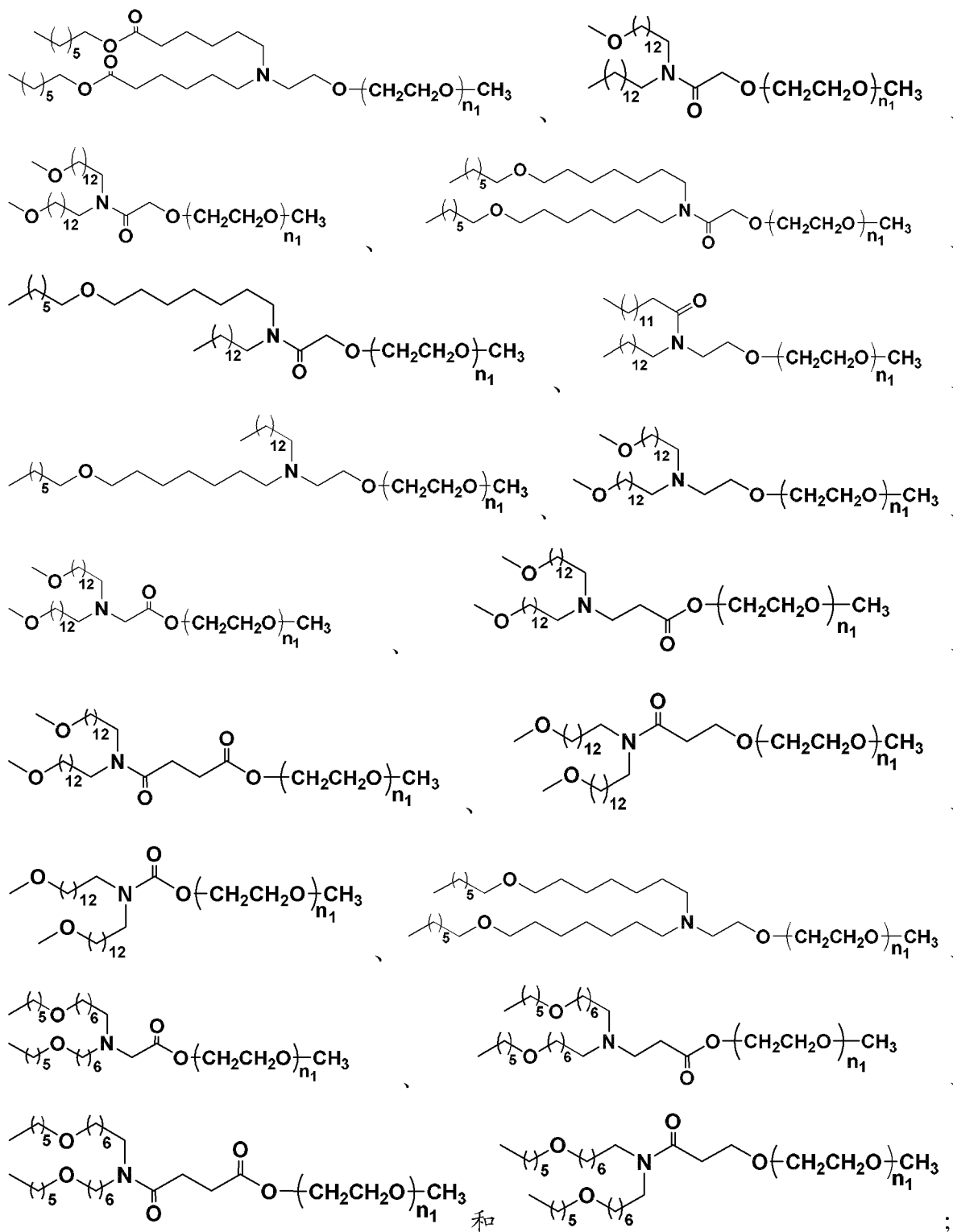
24. 根据权利要求 22 所述的脂质组合物, 其特征在于, 所述类固醇脂质选自胆固醇、粪固醇、谷固醇、麦角固醇、菜油固醇、豆固醇、菜籽固醇、番茄碱、熊果酸、 α -生育酚中任一种及其混合物。

25. 根据权利要求 22 所述的脂质组合物, 其特征在于, 所述聚乙二醇化脂质选自聚乙二醇-1,2 二肉豆蔻酸甘油酯、聚乙二醇-二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺、PEG-胆固醇、聚乙二醇-二酰基甘油, 聚乙二醇-二烷氧基丙基, 具体地包括聚乙二醇 500-二棕榈酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇 2000-二棕榈酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇 500-硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 2000-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 500-1,2-油酰基磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇 2000-1,2-油酰基磷脂酰乙醇胺和聚乙二醇 2000-2,3-二肉豆蔻酰甘油中任一种。

26. 根据权利要求 22 所述的脂质组合物, 其特征在于, 所述聚乙二醇化脂质选自权利要求 19-20 中任一项所述的聚乙二醇化脂质。

27. 根据权利要求 22 所述的脂质组合物, 其特征在于, 所述聚乙二醇化脂质的结构选自以下任一种:





类固醇脂质占总脂质的摩尔百分比为 35-50%，优选为 40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%。

29. 一种脂质药物组合物，其特征在于，含有权利要求 **21-28** 中任一项所述的脂质组合物和药物，所述药物选自核酸药物、基因疫苗、抗肿瘤药物、小分子药物、多肽药物或蛋白质药物中任一种。

30. 根据权利要求 **29** 所述的脂质药物组合物，其特征在于，所述药物为核酸药物，选自 DNA、RNA、反义核酸、质粒、干扰核酸、适体、antagomir 和核酶中任一种，所述 RNA 选自 mRNA、saRNA、circRNA、miRNA 和 siRNA 中任一种；优选为 DNA、mRNA、miRNA 和 siRNA 中任一种。

31. 根据权利要求 **29** 所述的脂质药物组合物，其特征在于，作为药物使用，所述药物选自以下任一种：治疗癌症的药物、抗感染剂、抗生素剂、抗病毒剂、抗真菌剂、疫苗。

32. 根据权利要求 **29** 所述的脂质药物组合物，其特征在于，所述脂质药物组合物为 LNP-药物组合物，优选为 LNP-核酸药物组合物，更优选为 LNP-mRNA 组合物。

33. 一种脂质药物组合物制剂，其特征在于，含有权利要求 **29-32** 中任一项所述的脂质药物组合物和药学上可接受的稀释剂或赋形剂，所述稀释剂或赋形剂优选为去离子水、超纯水、磷酸盐缓冲液和生理盐水中任一种，更优选为磷酸盐缓冲液或生理盐水，最优选为生理盐水。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/070008

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07C229/02(2006.01);C07C227/08(2006.01);A61K31/7088(2006.01);A61K39/00(2006.01);A61K47/18(2017.01);		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07C, A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNTXT, CNKI, VEN, REGISTRY: 赛诺邦格, 阳离子, 脂质, 递送, 氮, 胺, cation, lipid, deliver, nitrogen, amine		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 112979483 A (SUZHOU AIBO BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 18 June 2021 (2021-06-18) claims 7-21	1-18, 21-33
Y	CN 112979483 A (SUZHOU AIBO BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 18 June 2021 (2021-06-18) claims 7-21	19-20
Y	CN 104109235 A (XIAMEN SINOPEG BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 22 October 2014 (2014-10-22) claims 1-38, and description, paragraphs 3-4 and 17	19-20
X	US 2019167811 A1 (MODERNATX INC.) 06 June 2019 (2019-06-06) description, pages 11-16	1-18, 21-33
A	US 2010104629 A1 (ABBOTT LAB) 29 April 2010 (2010-04-29) entire document	1-33
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 May 2023		Date of mailing of the international search report 15 May 2023
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/ CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/070008

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	112979483	A	18 June 2021	CN	112979483	B	06 August 2021
CN	104109235	A	22 October 2014	CN	104109235	B	18 July 2017
US	2019167811	A1	06 June 2019	EP	3442590	A2	20 February 2019
				WO	2017180917	A2	19 October 2017
				WO	2017180917	A3	14 December 2017
				HK	40002936	A0	03 April 2020
US	2010104629	A1	29 April 2010	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/070008

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07C229/02(2006.01)i;C07C227/08(2006.01)i;A61K31/7088(2006.01)i;A61K39/00(2006.01)i;A61K47/18(2017.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07C, A61K</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称,和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNXTX, CNKI, VEN, REGISTRY: 赛诺邦格, 阳离子, 脂质, 递送, 氮, 胺, cation, lipid, deliver, nitrogen, amine</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 112979483 A (苏州艾博生物科技有限公司) 2021年6月18日 (2021 - 06 - 18) 权利要求7-21</td> <td>1-18, 21-33</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 112979483 A (苏州艾博生物科技有限公司) 2021年6月18日 (2021 - 06 - 18) 权利要求7-21</td> <td>19-20</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 104109235 A (厦门赛诺邦格生物科技有限公司) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-38, 说明书第3-4段, 第17段</td> <td>19-20</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2019167811 A1 (MODERNATX INC) 2019年6月6日 (2019 - 06 - 06) 说明书第11-16页</td> <td>1-18, 21-33</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2010104629 A1 (ABBOTT LAB) 2010年4月29日 (2010 - 04 - 29) 全文</td> <td>1-33</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 112979483 A (苏州艾博生物科技有限公司) 2021年6月18日 (2021 - 06 - 18) 权利要求7-21	1-18, 21-33	Y	CN 112979483 A (苏州艾博生物科技有限公司) 2021年6月18日 (2021 - 06 - 18) 权利要求7-21	19-20	Y	CN 104109235 A (厦门赛诺邦格生物科技有限公司) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-38, 说明书第3-4段, 第17段	19-20	X	US 2019167811 A1 (MODERNATX INC) 2019年6月6日 (2019 - 06 - 06) 说明书第11-16页	1-18, 21-33	A	US 2010104629 A1 (ABBOTT LAB) 2010年4月29日 (2010 - 04 - 29) 全文	1-33
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	CN 112979483 A (苏州艾博生物科技有限公司) 2021年6月18日 (2021 - 06 - 18) 权利要求7-21	1-18, 21-33																		
Y	CN 112979483 A (苏州艾博生物科技有限公司) 2021年6月18日 (2021 - 06 - 18) 权利要求7-21	19-20																		
Y	CN 104109235 A (厦门赛诺邦格生物科技有限公司) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-38, 说明书第3-4段, 第17段	19-20																		
X	US 2019167811 A1 (MODERNATX INC) 2019年6月6日 (2019 - 06 - 06) 说明书第11-16页	1-18, 21-33																		
A	US 2010104629 A1 (ABBOTT LAB) 2010年4月29日 (2010 - 04 - 29) 全文	1-33																		
国际检索实际完成的日期	2023年5月11日	国际检索报告邮寄日期	2023年5月15日																	
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	授权官员	尹晓娟 电话号码 (+86) 010-62084570																	

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/070008

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	112979483	A	2021年6月18日	CN	112979483	B	2021年8月6日
CN	104109235	A	2014年10月22日	CN	104109235	B	2017年7月18日
US	2019167811	A1	2019年6月6日	EP	3442590	A2	2019年2月20日
				WO	2017180917	A2	2017年10月19日
				WO	2017180917	A3	2017年12月14日
				HK	40002936	A0	2020年4月3日
US	2010104629	A1	2010年4月29日	无			