(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113924091 A
(43)申请公布日 2022.01.11

(21)申请号 202080042217.2
(22)申请日 2020.04.09
(30)优先权数据
2019901280 2019.04.12 AU
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.12.08
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/AU2020/050360 2020.04.09
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/206504 EN 2020.10.15
(71)申请人 Q生物股份有限公司
地址 澳大利亚昆士兰州
(72)发明人 V·A·戈登 P·W·雷德尔 G·M·博伊尔 J·K·库伦 P·G·帕森斯
(74)专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713
代理人 王思琪 王建秀
(51)Int.Cl.
A61K 31/336(2006.01)

权利要求书4页 说明书19页 附图2页

(54)发明名称

治疗肿瘤的方法

(57)摘要

本发明涉及治疗肿瘤的方法,其包括对癌性肿瘤定位施用例如,瘤内或局部施用环氧巴豆烯酮(epoxytiglienone)化合物(作为单一疗法),以产生全身性抗癌远隔(非注射(anenestic))和/或旁观者效应。

CN 113924091 A

1.一种在有多个肿瘤的受试者中刺激至少一个非靶肿瘤的肿瘤消退的方法，所述方法包括对至少一个靶肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐；其中所述至少一个靶肿瘤和至少一个非靶肿瘤是免疫原性肿瘤，并且其中施用是对至少一个靶肿瘤的定位施用。

2.根据权利要求1所述的方法，其中对一个靶肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐。

3.根据权利要求1所述的方法，其中对一个以上的靶肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的方法，其中所述至少一个靶肿瘤包括原发性肿瘤、继发性肿瘤或原发性肿瘤和一个或更多个继发性肿瘤。

5.根据权利要求1-3中任一项所述的方法，其中所述靶肿瘤是继发性肿瘤。

6.根据权利要求1-5中任一项所述的方法，其中所述至少一个非靶肿瘤是单个肿瘤。

7.根据权利要求1-5中任一项所述的方法，其中所述至少一个非靶肿瘤是一个以上的肿瘤。

8.根据权利要求1-7中任一项所述的方法，其中所述至少一种非靶肿瘤是至少一个旁观者肿瘤、至少一个易受远隔效应影响的肿瘤或至少一个旁观者肿瘤和至少一个易受远隔效应影响的肿瘤。

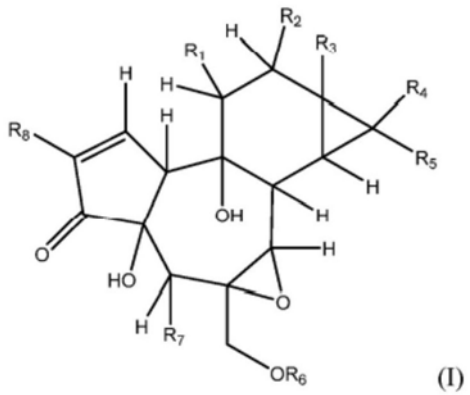
9.根据权利要求8所述的方法，其中所述至少一个非靶肿瘤易受远隔效应影响。

10.根据权利要求1-9中任一项所述的方法，其中所述定位施用是局部施用或瘤内施用。

11.根据权利要求10所述的方法，其中所述定位施用是瘤内施用。

12.根据权利要求1-11中任一项所述的方法，其中所述免疫原性肿瘤选自黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、默克尔细胞癌、肺癌、膀胱癌、淋巴瘤、乳腺腺癌、肝细胞癌、肾细胞癌、髓样癌、结肠直肠癌、组织细胞肉瘤、血管肉瘤或肥大细胞瘤。

13.根据权利要求1-12中任一项所述的方法，其中所述6,7-环氧巴豆烯酮化合物为式(I)的化合物：



(I)

或其几何异构体或立体异构体或药学上可接受的盐；

其中：

R_1是氢或C_{1-6}烷基；

R_2是-OR_9；

R_3是-OH或-OR_9；

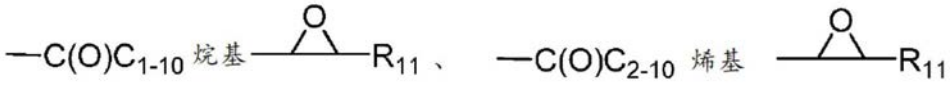
R_4和R_5独立地选自氢和C_{1-6}烷基；

R_6是氢或-R_{10}；

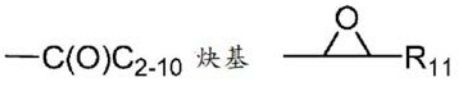
R_7是羟基或-OR_{10}；

R_8是氢或C_{1-6}烷基；

R_9是-C_{1-20}烷基、-C_{2-20}烯基、-C_{2-20}炔基、-C(O)C_{1-20}烷基、-C(O)C_{2-20}烯基、-C(O)C_{2-20}炔基、-C(O)环烷基、-C(O)C_{1-10}烷基环烷基；-C(O)C_{2-10}烯基环烷基、-C(O)C_{2-10}炔基环烷基、-C(O)芳基、-C(O)C_{1-10}烷芳基、-C(O)C_{2-10}烯芳基、-C(O)C_{2-10}炔芳基、-C(O)C_{1-10}烷基C(O)R_{11}、-C(O)C_{2-10}烯基C(O)R_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基C(O)R_{11}、-C(O)C_{1-10}烷基CH(OR_{11})(OR_{11})、-C(O)C_{2-10}烯基CH(OR_{11})(OR_{11})、-C(O)C_{2-10}炔基CH(OR_{11})(OR_{11})、-C(O)C_{1-10}烷基SR_{11}、-C(O)C_{2-10}烯基SR_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基SR_{11}、-C(O)C_{1-10}烷基C(O)OR_{11}、-C(O)C_{2-10}烯基C(O)OR_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基C(O)OR_{11}、-C(O)C_{1-10}烷基C(O)SR_{11}、-C(O)C_{2-10}烯基C(O)SR_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基C(O)SR_{11}，



或



；

R_{10}是-C_{1-6}烷基、-C_{2-6}烯基、-C_{2-6}炔基、-C(O)C_{1-6}烷基、-C(O)C_{2-6}烯基、-C(O)C_{2-6}炔基、-C(O)芳基、-C(O)C_{1-6}烷芳基、-C(O)C_{2-6}烯芳基、-C(O)C_{2-6}炔芳基；且

R_{11}是氢、-C_{1-10}烷基、-C_{2-10}烯基、-C_{2-10}炔基、环烷基或芳基；

其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基或芳基被任选地取代。

14.根据权利要求13所述的方法，其中以下中的一种或更多种适用：

i)R_1是-C_{1-3}烷基；

ii)R_2和R_3独立地选自-OC(O)C_{1-20}烷基、-OC(O)C_{2-20}烯基、-OC(O)C_{2-20}炔基、-OC(O)环烷基、-OC(O)C_{1-10}烷基环烷基；-OC(O)C_{2-10}烯基环烷基、-OC(O)C_{2-10}炔基环烷基、-OC(O)芳基、-OC(O)C_{1-10}烷芳基、-OC(O)C_{2-10}烯芳基、-OC(O)C_{2-10}炔芳基、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{2-10}烯基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{2-10}炔基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{1-10}烷基SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基SR_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)SR_{11}或-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)SR_{11}；特别是-OC(O)C_{1-10}烷基、-OC(O)C_{2-10}烯基、-OC(O)C_{2-10}炔基、-OC(O)环烷基、-OC(O)C_{1-10}烷基环烷基；-OC(O)C_{2-10}烯基环烷基、-OC(O)C_{2-10}炔基环烷基或-OC(O)芳基；

iii)R_4和R_5独立地选自-C_{1-3}烷基；

iv)R_6是氢、-C(O)C_{1-6}烷基、C(O)C_{2-6}烯基、-C(O)C_{2-6}炔基或-C(O)芳基；

v)R_7是羟基、-OC(O)C_{1-6}烷基、-OC(O)C_{2-6}烯基、-OC(O)C_{2-6}炔基，且

vi)R_8是-C_{1-3}烷基。

15.根据权利要求14所述的方法，其中以下中的一种或更多种适用：

i)R_1是-CH3；

ii)R_2和R_3独立地选自-OC(O)C_{1-6}烷基、-OC(O)C_{2-6}烯基或-OC(O)C_{2-6}炔基；

iii)R_4和R_5各自为-CH3；

iv)R_6是氢、-C(O)C_{1-3}烷基、-C(O)C_{2-3}烯基或-C(O)C_{2-3}炔基；

v)R_7是羟基、-OC(O)C_{1-3}烷基、-OC(O)C_{2-3}烯基或-OC(O)C_{2-3}炔基；和

vi)R_8是-CH3。

16.根据权利要求13-15中任一项所述的方法，其中所述6,7-环氧巴豆烯酮化合物选自：

12-巴豆酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物1)；

12,13-二-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物2)；

12-己酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物3)；

12,13-二己酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物4)；

12-肉豆蔻酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物5)；

12-巴豆酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13-五羟基-20-乙酰氧基-1-巴豆烯-3-酮(化合物6)；

12-肉豆蔻酰基-13-乙酰氧基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物7)；

12-丙酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物8)；

12,13-二巴豆酰-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物9)；

12-(2-甲基丁酰基)-13-巴豆酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物10)；

12-丁酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物11)；

12-(3,3-二甲基丁-2-烯酰基)-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物12)；

12-己-2,4-二烯酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物13)；

12-巴豆酰基-13-(2-甲基丙酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物14)；

12-丁-2-烯酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物15)；

12-巴豆酰基-13-丁酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物16)；

12,13-二丁酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物17)；

12,13-二戊酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物18)；

12,13-二-(2E,4E)-己-2,4-二烯酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物19)；

12,13-二-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物20)；

12-(2-甲基丙-2-烯酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物21)；

12-(3-丁烯酰基)-13-壬酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物22)；

12,13-二-壬基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物23)；

12,13-二庚酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物24)；

12,13-二-(3-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物25)；

或其药学上可接受的盐。

17.根据权利要求16所述的方法,其中所述化合物是12-巴豆酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物1)。

治疗肿瘤的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及对癌性肿瘤定位施用例如，瘤内或局部施用环氧巴豆烯酮(epoxytiglienone)化合物(作为单一疗法)，以产生全身性抗癌远隔和/或旁观者效应。

[0002] 发明背景

[0003] 远隔效应是在一些转移性癌症中观察到的现象，并且涉及在对一个或更多个靶肿瘤进行局部治疗后，未治疗的非相邻和远处肿瘤的自发消退。

[0004] 术语远隔最早出现于20世纪50年代，源于拉丁语(ab:“远离”和scopus:“靶”)，并且用于指远离放疗所治疗的原发部位的肿瘤消退。在放疗文献中，远隔效应与第二种类型的“脱靶”反应(旁观者效应)有所区别，后者仅发生在所治疗肿瘤邻近的细胞中(Prise和O’Sullivan，2009年)。旁观者效应和远隔效应的潜在因果机制不同。旁观者效应主要是由于涉及活性氧物质的细胞应激信号传导以及细胞因子(如转化生长因子-β1、肿瘤坏死因子-α)和死亡配体的释放所致，这些细胞因子和死亡配体会直接传递到与辐照治疗野相邻的细胞(Prise和O’Sullivan 2009年)。相反，远隔效应由免疫系统介导，并涉及炎症反应的诱导、辐照肿瘤细胞的坏死、树突细胞的刺激和细胞毒性T细胞的激活(Demaria等人，2004年)。

[0005] 已有报告称，放射单一疗法会对若干种癌症(包括黑色素瘤、鳞状细胞癌、肾细胞癌、乳腺腺癌、肝细胞癌、默克尔细胞癌、髓样癌和淋巴细胞型淋巴瘤)诱导远隔效应(Abuodeh等人，2016年)。在2010年之前，也有少数与其他局部施用的包括光动力学疗法的单一疗法和一些瘤内递送制剂(如卡介苗(BCG))相关的远隔效应的报告，例如Mastrangelo等人，1975年。然而，当单独使用放射疗法或这些其他局部施用疗法时，远隔事件极为罕见，且难以预测。例如，尽管全世界有数百万患者正在接受治疗，但对在放射单一疗法中报告的远隔效应的综述发现，1969年至2014年期间仅报告了46例(Abuodeh等人，2016年)。不足为奇的是，在癌症免疫疗法出现之前，远隔效应一直是一种相对模糊且在很大程度上被忽视的现象。

[0006] 随着对免疫系统在癌症中的作用的认识的科学突破，靶向和调节癌症中的免疫反应已成为开发新抗癌疗法的重点。这些新免疫调节疗法(全身和局部递送治疗)的第一波已经到达临床，并且对远隔效应的报告也越来越多。实际上，全身性远隔效应是某些治疗(如瘤内递送溶瘤病毒，例如FDA批准的用于治疗晚期黑色素瘤的talimogene laherparepvec(T-VEC))疗效的基础。基于这些第一代免疫疗法的成功和一些局限性，对进一步确定免疫肿瘤学药物存在浓厚的兴趣。一组策略涉及使用瘤内治疗(单独或与其他治疗方式联合)诱导癌症免疫的强烈局部引发，将免疫抑制(‘冷’肿瘤)转化为免疫刺激或‘热’肿瘤，然后通过正确激活的抗肿瘤免疫细胞的循环产生全身远隔效应(Aznar等人，2016年;Marabelle等人，2017年)。本质上，这些方法旨在将局部治疗的肿瘤用作自身的“原位疫苗”以在未治疗的肿瘤中产生远隔效应(Hammerich等人，2015年)。正在探索一系列可能的机制来促进这种免疫引发，包括直接激活先天和获得性免疫细胞的效应子功能，抑制高度免疫抑制的肿瘤微环境，增强活肿瘤细胞的抗原释放和呈递，或刺激引发针对死的肿瘤细胞相关抗原的获

得性免疫反应的肿瘤细胞死亡的调节形式。这种作为瘤内免疫刺激剂使用的当前在研试剂的实例包括溶瘤病毒和肽、减毒细菌疫苗、细胞因子(例如IL-2、IL-12、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子)、免疫系统细胞(例如树突细胞、嵌合抗原受体T细胞)、模式识别受体激动剂(例如Toll样受体(TLR)激动剂如咪喹莫特)、一小群常规细胞毒性化疗药物(例如,多柔比星、奥沙利铂、环磷酰胺)和免疫检查点靶向抗体(例如抗CTLA-4)。然而,要最终将许多此类药物转化为广泛的临床应用,存在巨大的潜在技术和实践障碍,尤其是对于成本相对较高且可能具有不良免疫毒性的生物制剂(例如,Boutros等人,2016年;Marin-Acevedo等人,2018年)。这就导致以下建议:在寻找新的免疫肿瘤学药物时,小分子在很大程度上被忽视了,并且其可能提供几种独特的技术和商业优势,包括提供生物免疫疗法无法治疗的细胞内疾病靶点的途径,以及其易于使用性、普遍较低的成本和更简单的供应链(Adams等人,2015年)。

[0007] 环氧巴豆烯酮是强效抗肿瘤化合物,其在体内对一系列癌症类型具有活性(Boyle等人,2014年;Barnett等人,2019年;Miller等人,2019年)。环氧巴豆烯酮作为局部单一疗法通过瘤内或局部施用,根据肿瘤大小对目标肿瘤给药(Miller等人,2019年)。环氧巴豆烯酮通过诱导肿瘤块的快速出血性坏死(包括肿瘤细胞的胀亡和肿瘤血管的破坏)来破坏其被施用的肿瘤(Boyle等人,2014年)。环氧巴豆烯酮在其被施用的局部治疗部位发挥作用,当作为单一疗法递送时,预期不会出现全身性反应。例如,在最近完成的使用原型环氧巴豆烯酮化合物tigilanol tiglate的首次人体临床I期试验方案中(Panizza等人,2019年),当在一个剂量群组的限制内可治疗多个肿瘤时,需要对每个肿瘤单独施用药物,以确保潜在疗效。最近(WO2018/170559,实例7,图7B),在一个严格的同源、免疫功能正常的黑色素瘤小鼠模型中,证明了与免疫检查点抑制剂(ICI)联合使用的环氧巴豆烯酮化合物不仅能更有效地消融局部治疗的靶肿瘤,而且能更有效地消融一些相邻的未治疗的肿瘤。当单独使用任一药物(环氧巴豆烯酮或ICI)时,在本模型或已检测的其他小鼠肿瘤模型中未观察到这种全身性效应。

[0008] 本发明基于在人和犬患者的临床研究中的意外发现,即在许多免疫原性癌症类型(即已知具有高突变负荷的癌症类型)中,当环氧巴豆烯酮化合物作为局部单一疗法递送至一个或更多个靶肿瘤时,其也可刺激全身性远隔效应并消融未施用药物的非相邻和远处转移性肿瘤。

[0009] 发明概述

[0010] 在本发明的一个方面,提供了在有多个肿瘤的受试者中刺激至少一个非靶肿瘤的肿瘤消退的方法,所述方法包括对至少一个靶肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐;其中至少一个靶肿瘤和至少一个非靶肿瘤是免疫原性肿瘤,并且其中施用是对至少一个靶肿瘤的局部施用。

[0011] 在本发明的另一个方面,提供了6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐在生产在有多个肿瘤的受试者中刺激至少一个非靶肿瘤的肿瘤消退的药物中的用途;其中所述药物用于局部施用到至少一个靶肿瘤,并且至少一个靶肿瘤和至少一个非靶肿瘤是免疫原性肿瘤。

[0012] 在本发明的另一个方面,提供了6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐在患有多种肿瘤的受试者中刺激至少一种非靶肿瘤的肿瘤消退的使用;其中6,7-环氧巴豆

烯酮化合物用于局部施用到至少一个靶肿瘤，并且至少一个靶肿瘤和至少一个非靶肿瘤是免疫原性肿瘤。

[0013] 附图简要说明

[0014] 图1是对照个体(其中一个肿瘤用溶媒治疗(a))和个体(其中一个肿瘤用7.5μg化合物1治疗(b))中的治疗的(正方形)和未治疗(圆形)的B16-F10肿瘤的反应的图形呈现。

[0015] 图2是对照个体(其中一个肿瘤用溶媒治疗(a))和个体(其中一个肿瘤用7.5μg化合物1治疗(b))中的治疗的(正方形)和未治疗的(圆形)Panc02肿瘤的反应的图形呈现。

[0016] 详述

[0017] 定义

[0018] 除非另有定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管类似于或等同于本文所述的任何方法和材料可用于实施或测试本发明，但描述了优选的方法和材料。为了本发明的目的，以下术语被定义如下。

[0019] 本文使用的冠词“一个(a)”和“一个(an)”是指该冠词的一个或一个以上(即至少一个)的语法对象。举例来说，“一个要素”意味着一个要素或多于一个要素。

[0020] 如本文所用，术语“约”是指与参考量、水平、值、尺寸、大小或量相比变化高达30％、25％、20％、15％或10％的量、水平、值、尺寸、大小或量。

[0021] 在整个说明书中，除非上下文另有要求，否则词语“包括/包含(comprise)”、“包括/包含(comprises)”和“包括/包含(comprising)”将理解为包括所陈述的步骤或要素或者多个步骤或要素的组，但不排除任何其他步骤或要素或者步骤或要素的组。

[0022] 术语“烷基”是指任选取代的具有1至20个碳原子的直链和支链烃基。在适当的情况下，烷基可以具有特定数量的碳原子，例如-C_1-C_6烷基，其包括具有1、2、3、4、5或6个碳原子按直链或支链排列的烷基。烷基的非限制性实例包括甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基和叔丁基、戊基、2甲基丁基、3-甲基丁基、己基、2-甲基戊基、3甲基戊基、4甲基戊基、2-乙基丁基、3-乙基丁基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、十四烷基和十五烷基。

[0023] 术语“烯基”是指任选取代的、不饱和的直链或支链烃，其具有2-20个碳原子和具有至少一个双键。在适当的情况下，烯基可以具有特定数量的碳原子，例如，C_2-C_6烯基，其包括具有2、3、4、5或6个碳原子按直链或支链排列的烯基。烯基的非限制性实例包括乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、仲丁基和叔丁烯基、戊烯基、己烯基、庚-1,3-二烯、己-1,3-二烯、壬-1,3,5-三烯等。

[0024] 术语“炔基”是指任选取代的不饱和直链或支链烃，其具有2-20个碳原子，具有至少一个三键。在适当的情况下，炔基可以具有特定数量的碳原子，例如，C_2-C_6炔基，其包括具有2、3、4、5或6个碳原子按直链或支链排列的炔基。非限制性实例包括乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基和己炔基。

[0025] 术语“环烷基”和“碳环”是指任选取代的饱和或不饱和单环、二环或三环烃基。在适当的情况下，环烷基可以具有特定数量的碳原子，例如，C_3-C_6环烷基是具有3、4、5或6个碳原子的碳环基团。非限制性实例可包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基等。

[0026] “芳基”是指C_6-C_{14}元单环、二环或三环碳环系统，每个环中具有最多7个原子，其中至少一个环是芳族的。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茚满基和联苯基。芳基可以包含1-3个苯环。如果存在两个或更多个芳环，则这些环可以稠合在一起，使得相邻的环共享一个共同的键。

[0027] 每个烷基、烯基、炔基、环烷基或芳基，无论是单个实体还是作为更大实体的一部分，都可以任选被一个或更多个任选的取代基取代，所述取代基选自由C_{1-6}烷基、C_{2-6}烯基、C_{3-6}环烷基、氧杂(=O)、-OH、-SH、C_{1-6}烷基O-、C_{2-6}烯基O-、C_{3-6}环烷基O-、C_{1-6}烷基S-、C_{2-6}烯基S-、C_{3-6}环烷基S-、-CO_2H、-CO_2C_{1-6}烷基、-NH_2、-NH(C_{1-6}烷基)、-N(C_{1-6}烷基)$_2$、-NH(苯基)、-N(苯基)$_2$、-CN、-NO_2、-卤素、-CF3、-OCF_3、-SCF_3、-CHF_2、-$OCHF_2$、-$SCHF_2$、-苯基、-C_{1-6}烷基苯基、-O苯基、-C(O)苯基、-C(O)C_{1-6}烷基组成的组。合适的取代基的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲丁基、叔丁基、乙烯基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、甲硫基、乙硫基、丙硫基、异丙硫基、丁硫基、羟基、羟甲基、羟乙基、羟丙基、羟丁基、氟基、氯基、溴基、碘基、氰基、硝基、-CO_2H、CO_2CH_3、-C(O)CH_3、三氟甲基、三氟甲氧基、三氟甲硫基、二氟甲基、二氟甲氧基、二氟甲硫基、吗啉基、氨基、甲氨基、二甲氨基、苯基、苯氧基、苯羰基、苄基和乙酰基。

[0028] 环氧巴豆烯酮化合物可以是药学上可接受的盐的形式。然而，应理解，非药学上可接受的盐也属于本发明的范围，因为这些盐可以用作制备药学上可接受的盐的中间体，或者在储存或运输过程中可能有用。合适的药学上可接受的盐包括但不限于药学上可接受的无机酸(例如盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、碳酸、硼酸、氨基磺酸和氢溴酸)的盐，或药学上可接受的有机酸(例如乙酸、丙酸、丁酸、酒石酸、马来酸、羟基马来酸、富马酸、马来酸、柠檬酸、乳酸、粘酸、葡糖酸、苯甲酸、琥珀酸、草酸、苯乙酸、甲磺酸、甲苯磺酸、苯磺酸(benzenesulphonic)、水杨酸、磺胺酸、天冬氨酸、谷氨酸、依地酸、硬脂酸、棕榈酸、油酸、月桂酸、泛酸、鞣酸、抗坏血酸和戊酸)的盐。

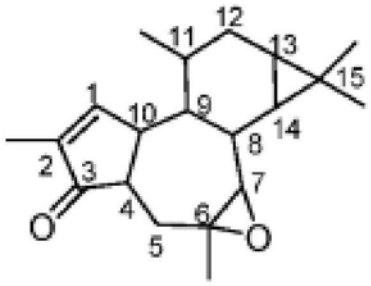
[0029] 碱盐包括但不限于，与药学上可接受的阳离子如钠、钾、锂、钙、镁、铵和烷基铵形成的盐。

[0030] 碱性含氮基团可以用以下试剂季铵化：低级烷基卤化物，如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物；二烷基硫酸酯，如硫酸二甲酯和硫酸二乙酯；和其他试剂。

[0031] 还应认识到，环氧巴豆烯酮化合物可具有不对称中心，因此能够以一种以上的立体异构形式存在。因此，本发明还涉及在一个或更多个不对称中心处以基本上(例如，大于约90％ee，如约95％或97％ee或大于99％ee)纯异构形式存在的化合物，以及混合物，包括外消旋混合物。此类异构体可通过从天然来源中分离、通过不对称合成(例如使用手性中间体)或通过手性拆分获得。本发明的化合物可以以多种几何异构体的形式存在。本发明还涉及以基本上纯的顺式(Z)或反式(E)形式存在的化合物或其混合物。

[0032] 本发明的化合物可以通过从植物或植物部分分离、或通过分离的化合物的衍生化、或通过相关化合物的衍生化获得。分离步骤和衍生步骤可见于WO 2007/070985和WO2014/169356。

[0033] 术语“6,7-环氧巴豆烯酮化合物”是指具有以下碳环结构的化合物：

[0034] 

[0035] 该化合物具有三环[9.3.0.0]十四烷体系,其中稠合环丙烷环附加到六元环上。环氧化物在与6,7-位与七元环稠合,且五元环具有1,2-烯-3-酮结构。

[0036] 如本文所用,术语“靶肿瘤”是指以定位方式被直接施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物的肿瘤。

[0037] 本文所用的术语“非靶肿瘤”是指未以定位方式被直接施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物的肿瘤。尽管未对非靶肿瘤进行直接定位施用,但在对靶肿瘤直接施用后,非靶肿瘤消退。

[0038] 如本文所用,术语“原发性肿瘤”是指受试者中出现的第一个肿瘤。

[0039] 如本文所用,术语“转移性肿瘤”或“继发性肿瘤”是指来源于原发性肿瘤但在不同于原发性肿瘤部位的部位生长的肿瘤。转移性或继发性肿瘤可能位于与原发性肿瘤相同的器官或部位,也可能位于与原发性肿瘤不同的器官或部位。转移性或继发性肿瘤含有与原发性肿瘤相同的肿瘤细胞谱系。

[0040] 卫星肿瘤是指位于原发性肿瘤1厘米范围内部位的分散肿瘤。卫星肿瘤可能是转移性肿瘤,或在UV诱导的皮肤鳞状细胞癌和皮肤血管肉瘤的情况下,从日光性角化症的癌前区域从头分化的肿瘤。

[0041] 如本文所用,术语“旁观者效应”是指肿瘤细胞死亡或与被治疗的靶肿瘤邻近的肿瘤的消退。易受旁观者效应影响的肿瘤细胞,尽管未直接被治疗,但其挨着或接近靶肿瘤,使得它们与靶肿瘤细胞释放的细胞信号(如活性氧物质、细胞因子和死亡配体)接触。

[0042] 如本文所用,术语“远隔效应”是指与施用定位疗法的部位不相邻或位于远离该部位的部位的肿瘤消退。易受远隔效应影响的肿瘤被认为是离散性肿瘤,其不邻近(即,距离超过2cm)被治疗的靶肿瘤,且这种效应是由免疫反应介导的。

[0043] 最近,针对远隔效应、靶肿瘤和非靶肿瘤提出了新的术语学,因为它们与瘤内递送的免疫疗法明确相关(Marabelle等人,2018年)。该术语学旨在区分放疗后发生在辐照野以外的远隔效应与瘤内递送治疗剂至靶肿瘤后出现在未治疗的肿瘤中的效应。根据这些提议,建议在瘤内疗法涉及“非注射部位免疫反应”和“非注射部位肿瘤反应”时,术语“远隔效应”应被替换(Marabelle等人,2018年)。如本文所用,术语“远隔效应”是指非注射部位免疫反应和非注射部位肿瘤反应。进行了瘤内注射的注射部位肿瘤病变本文中称为“靶肿瘤”,而非注射部位的肿瘤病变是未注射肿瘤病变,本文中称为“非靶肿瘤”。

[0044] 如本文所用,术语“定位施用”是指直接施用到靶肿瘤。例如,定位施用可以是局部施用或将治疗剂直接注射到肿瘤中的瘤内施用。

[0045] 如本文所用,术语“肿瘤消退”是指肿瘤的部分或完全消失。在某些情况下,可能会出现肿瘤完全消退和肿瘤消失。在其他情况下,可能发生肿瘤部分消退,以及肿瘤缩小但未完全消失。

[0046] 刺激肿瘤消退的方法

[0047] 本发明涉及在有多个肿瘤的受试者中刺激至少一个非靶肿瘤的肿瘤消退的方法，所述方法包括对至少一个靶肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐;其中至少一个靶肿瘤和至少一个非靶肿瘤是免疫原性肿瘤,并且其中施用是对至少一个靶肿瘤的局部施用。

[0048] 在一些实施方案中,对一个靶肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,对原发性肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物。在一些实施方案中,对继发性肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物。在其它实施方案中,对一个以上的靶肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐,例如2至20个肿瘤,包括2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个肿瘤。例如,靶肿瘤可以位于受试者体内或身上的一个器官或一个部位,例如原发性肿瘤和一个或更多个卫星肿瘤或多个靶肿瘤可以位于受试者体内或身上的多个器官或多个部位。例如,一个以上的靶肿瘤可以位于不同的器官或不同的部位,如颈部肿瘤和位于手臂上的肿瘤。一个以上的靶肿瘤可以是原发性肿瘤和一个或更多个继发性肿瘤,或者一个以上的靶肿瘤可以是一个以上的继发性肿瘤。

[0049] 对至少一个靶肿瘤局部施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物。在特定实施方案中,施用为瘤内施用。在其他实施方案中,施用为局部施用。在一些实施方案中,肿瘤为皮肤肿瘤或皮下肿瘤或可从身体外部可触及的肿瘤,例如易觉察的肿瘤。在其他实施方案中,肿瘤为内部肿瘤。在肿瘤为位于内部的肿瘤的一些实施方案中,当肿瘤暴露并且能够定位施用环氧巴豆烯酮化合物时,可以在手术期间实现定位递送。在其他实施方案中,肿瘤位于内部,且环氧巴豆烯酮化合物通过在成像技术(例如,通过内窥镜超声引导或通过立体定向成像)引导下的注射来递送。在特定实施方案中,从身体外部可触及肿瘤。

[0050] 在一些实施方案中,至少一个非靶肿瘤为单个肿瘤。在一些实施方案中,存在一个非靶肿瘤。在其他实施方案中,至少一个非靶肿瘤为一个以上的肿瘤,例如,2至20个肿瘤,包括2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个肿瘤。非靶肿瘤可以位于受试者体内或身上的一个器官或一个部位,例如,原发性肿瘤和一个或更多个卫星肿瘤或非靶肿瘤可以位于受试者体内或身上的多个器官或多个部位。例如,一个以上的非靶肿瘤可以位于不同的器官或位于不同的部位,如颈部肿瘤和位于手臂上的肿瘤。一个以上的非靶肿瘤可以是原发性肿瘤和一个或更多个继发性肿瘤,或者一个以上的非靶肿瘤可以是一个以上的继发性肿瘤。在一些实施方案中,至少一个非靶肿瘤是至少一个旁观者肿瘤。在特定实施方案中,非靶肿瘤为远离靶肿瘤部位的至少一个肿瘤,并且易受远隔效应影响。在一些实施方案中,至少一个非靶肿瘤为至少一个旁观者肿瘤和至少一个远离靶肿瘤的部位的、易受远隔效应影响的肿瘤。

[0051] 至少一个靶肿瘤和至少一个非靶肿瘤是免疫原性肿瘤。免疫原性肿瘤是易受免疫系统调节的肿瘤。例如,靶肿瘤的治疗可能涉及炎症反应的诱导、肿瘤细胞的坏死、树突细胞的刺激和细胞毒性T细胞的激活,而且非靶肿瘤易受体内产生的免疫反应的影响。免疫原性肿瘤的特征在于具有高肿瘤突变负荷(TMB)。高TMB是肿瘤基因组的每个编码区的体细胞非同义突变总数的定量测量。可通过全基因组测序(WGS)或基因靶向测序在肿瘤中测量TMB(Mel é ndez等人,2018年)。假设具有高TMB的肿瘤细胞具有更多可被肿瘤微环境中的抗癌T细胞识别的新抗原。T细胞对新抗原的识别刺激抗肿瘤免疫反应。

[0052] 癌细胞固有的免疫原性依赖于其诱导特异性肿瘤靶向免疫反应的能力。这种免疫原性主要是由体细胞突变驱动的，体细胞突变导致癌细胞表达正常细胞中不表达的肿瘤特异性突变蛋白(称为新抗原)。已证明此类突变的频率以及肿瘤细胞的潜在新抗原性在不同癌症类型之间差别很大(Schumacher&Streiber，2015年)。TMB是对这种潜在新抗原性的一种被广泛接受的替代测量(Gibney等人，2016)，显示中至高TMB预测使用抑制程序性死亡1蛋白(PD-1)或其配体的单克隆抗体治疗患者中一系列肿瘤类型的有利结果(Goodman等人，2017年；Yarchoan等人，2017年)。使用来自100,000个人类基因组的关于TMB的公开数据(Chalmers等人，2017年)，可以预测在对一个或更多个“靶”肿瘤施用环氧巴豆烯酮化合物后，在未治疗的肿瘤中产生全身性远隔效应的可能性最高的特定癌症类型。在Chalmers等人列出的167种癌症类型中，基于(1)5个以上突变/兆碱基的中位数或(2)超过10％的病例有每兆碱基20个以上的突变，确定了36种具有中至高TMB的癌症类型(由Goodman等人定义，2017年)。在一些实施方案中，免疫原性肿瘤是具有中至高TMB的肿瘤，其定义为具有大于5个突变/兆碱基的中位数或大于10％的病例具有大于20个突变/兆碱基。

[0053] 在一些实施方案中，免疫原性肿瘤选自黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、默克尔细胞癌、肺癌、膀胱癌、淋巴瘤、乳腺腺癌、肝细胞癌、肾细胞癌、髓样癌、结肠直肠癌、组织细胞肉瘤、血管肉瘤或肥大细胞瘤(肥大细胞肿瘤)。在一些实施方案中，免疫原性肿瘤选自黑色素瘤，包括原发性黑色素瘤和头颈部黑色素瘤、皮肤基底细胞癌(BCC)、皮肤鳞状细胞癌(SCC)、头颈部鳞状细胞癌、食管鳞状细胞癌、肺鳞状细胞癌、肛门鳞状细胞癌、直肠鳞状细胞癌、宫颈鳞状细胞癌、外阴鳞状细胞癌、结肠直肠癌、默克尔细胞癌、肺大细胞癌、肺大细胞神经内分泌癌、肺小细胞未分化癌、肺非小细胞肺癌、肺肉瘤样癌、肺腺癌、肺腺鳞癌、膀胱癌、膀胱尿路上皮移行细胞癌(TCC)、原发性尿路上皮癌、输尿管尿路上皮癌、淋巴结弥漫性大B细胞淋巴瘤、淋巴结B细胞淋巴瘤、淋巴结淋巴瘤滤泡性淋巴瘤、原发性肉瘤样癌、肾尿路上皮癌、胃腺癌肠型、子宫内膜腺癌、软组织血管肉瘤、皮肤附件癌、食管癌和胃食管结合部腺癌。在特定的实施方案中，免疫原性肿瘤选自皮肤基底细胞癌(BCC)、皮肤鳞状细胞癌(SCC)、原发性鳞状细胞癌、黑色素瘤、原发性黑色素瘤、头颈部黑色素瘤、默克尔细胞癌、肺大细胞癌、淋巴结弥漫性大B细胞淋巴瘤和软组织血管肉瘤，特别是皮肤基底细胞癌(BCC)、皮肤鳞状细胞癌(SCC)、黑色素瘤、淋巴结弥漫性大B细胞淋巴瘤和软组织血管肉瘤。

[0054] 可以用联合疗法治疗的受试者是哺乳动物、鸟、水生动物如鱼或爬行动物。在一些实施方案中，受试者是人、实验动物如灵长类动物、小鼠、大鼠或兔、伴侣动物如犬或猫、劳作动物如马、驴等、家畜如母牛、公牛、猪、绵羊、山羊、鹿、美洲驼、羊驼等，或圈养野生动物如动物园或野生动物园中的野生动物，包括狮子、豹子、猎豹、大象、斑马、羚羊、长颈鹿、考拉，袋鼠和爬行动物，如鳄鱼、蜥蜴、蛇等；鸟，特别是圈养的鸟，如虎皮鹦鹉或金丝雀、凤头鹦鹉、长尾小鹦鹉、金刚鹦鹉、鹦鹉等；或者鱼，特别是圈养的鱼，如热带鱼(斑马鱼、孔雀鱼、暹罗斗鱼、小丑鱼、宝莲灯鱼(cardinal tetra)等)；海豚、鲸等。在特定实施方案中，受试者是人或伴侣动物。

[0055] “有效量”是指至少部分达到期望反应(如肿瘤消退)所需的量。量根据待治疗个体的健康和身体状况、待治疗个体的分类学组、组合物的配方、医疗状况评估以及其他相关因素而有所不同。预期6,7-环氧巴豆烯酮化合物的有效量将在通过常规试验确定的相对较宽范围内。例如，关于人类患者，有效量可以在每剂量约0.1ng/kg体重至1g/kg体重的范围内。

剂量优选在1μg至1g/kg体重/剂量的范围内，如在1mg至1g/kg体重/剂量的范围内。在一个实施方案中，剂量在1mg至500mg/kg体重/剂量范围内。在另一个实施方案中，剂量在1mg至250mg/kg体重/剂量范围内。在又一个实施方案中，剂量在1mg至100mg/kg体重/剂量的范围内，如至多50mg/kg体重/剂量。在又一个实施方案中，剂量在1μg至1mg/kg体重/剂量范围内。

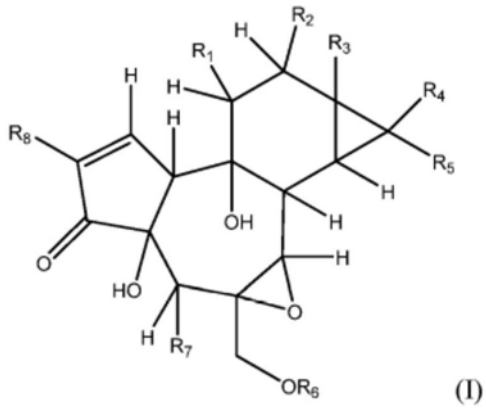
[0056] 以定位方式对肿瘤施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物。根据肿瘤尺寸计算施用剂量。一般来说，药物以药物6,7-环氧巴豆烯酮溶液体积:肿瘤体积为5％至50％的量施用。6,7-环氧巴豆烯酮化合物的溶液浓度通常为0.2mg/mL至5mg/mL，例如0.5mg/mL至2mg/mL或1mg/mL至1.5mg/mL。在一些实施方案中，6,7-环氧巴豆烯酮化合物的剂量在0.005mg至5.0mg化合物/cm^3肿瘤体积的范围内，尤其是0.01mg至2mg化合物/cm^3肿瘤体积，更尤其是0.1mg至0.75mg化合物/cm^3肿瘤体积。

[0057] 可调整剂量方案以提供最佳治疗反应。

[0058] 基于肿瘤大小，6,7-环氧巴豆烯酮化合物的剂量可以是施用到每个靶肿瘤的单一剂量。在一些实施方案中，如果在靶肿瘤中未获得对初始剂量的完全响应，则可以在一个或更多个后续时间重复该剂量。在随后的时间，如果对靶肿瘤施用初始剂量未获得完全响应，则可对非靶肿瘤局部施用6,7-环氧巴豆烯酮化合物。

[0059] 6,7-环氧巴豆烯酮化合物

[0060] 在一些实施方案中，6,7-环氧巴豆烯酮化合物为式(I)的化合物：

[0061] 

(I)

[0062] 或其几何异构体或立体异构体或药学上可接受的盐；

[0063] 其中：

[0064] R_1是氢或C_{1-6}烷基；

[0065] R_2是-OR_9；

[0066] R_3是-OH或-OR_9；

[0067] R_4和R_5独立地选自氢和C_{1-6}烷基；

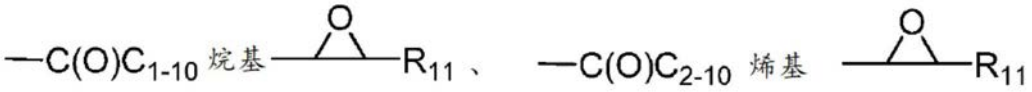
[0068] R_6是氢或-OR_{10}；

[0069] R_7是羟基或-OR_{10}；

[0070] R_8是氢或C_{1-6}烷基；

[0071] R_9是-C_{1-20}烷基、-C_{2-20}烯基、-C_{2-20}炔基、-C(O)C_{1-20}烷基、-C(O)C_{2-20}烯基、-C(O)C_{2-20}炔基、-C(O)环烷基、-C(O)C_{1-10}烷基环烷基；-C(O)C_{2-10}烯基环烷基、-C(O)C_{2-10}炔基环烷基、-C(O)芳基、-C(O)C_{1-10}烷芳基、-C(O)C_{2-10}烯芳基、-C(O)C_{2-10}炔芳基、-C(O)C_{1-10}烷基C(O)R_{11}、-

C(O)C_{2-10}烯基C(O)R_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基C(O)R_{11}、-C(O)C_{1-10}烷基CH(OR_{11})(OR_{11})、-C(O)C_{2-10}烯基CH(OR_{11})(OR_{11})、-C(O)C_{2-10}炔基CH(OR_{11})(OR_{11})、-C(O)C_{1-10}烷基SR_{11}、-C(O)C_{2-10}烯基SR_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基SR_{11}、-C(O)C_{1-10}烷基C(O)OR_{11}、-C(O)C_{2-10}烯基C(O)OR_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基C(O)OR_{11}、-C(O)C_{1-10}烷基C(O)SR_{11}、-C(O)C_{2-10}烯基C(O)SR_{11}、-C(O)C_{2-10}炔基C(O)SR_{11}、



[0072] 或



；

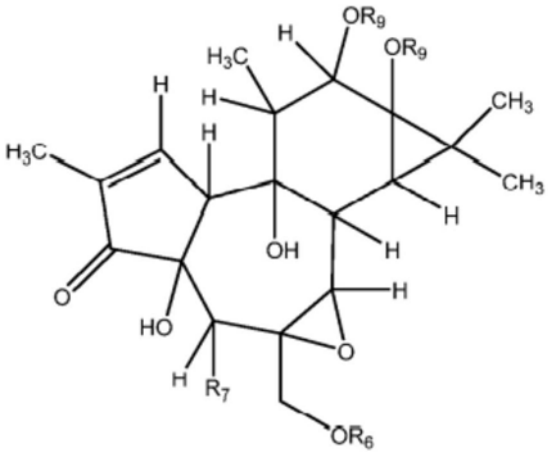
[0073] R_{10}是-C_{1-6}烷基、-C_{2-6}烯基、-C_{2-6}炔基、-C(O)C_{1-6}烷基、-C(O)C_{2-6}烯基、-C(O)C_{2-6}炔基、-C(O)芳基、-C(O)C_{1-6}烷芳基、-C(O)C_{2-6}烯芳基、-C(O)C_{2-6}炔芳基；且

[0074] R_{11}是氢、-C_{1-10}烷基、-C_{2-10}烯基、-C_{2-10}炔基、环烷基或芳基；

[0075] 其中，每个烷基、烯基、炔基、环烷基或芳基被任选地取代。

[0076] 在一些实施方案中，式(I)的6,7-环氧巴豆烯酮化合物为式(Ⅱ)的化合物：

[0077]



(II)

[0078] 或其几何异构体或立体异构体或药学上可接受的盐；其中，R_6、R_7和R_9如对式(I)所定义的。

[0079] 在式(I)和(Ⅱ)的一些实施方案中，R_2和/或R_3或R_9的烷基或烯基是支链烷基或烯基。

[0080] 在一些实施方案中，R_2和/或R_3或R_9的烷基或烯基具有中等疏水性的链长，例如C4、C5或C6。

[0081] 在一些实施方案中，C20羟基被酰基(R_6)取代，例如乙酰基(-C(O)CH_3)、-C(O)CH_2CH_3、-C(O)$CH(CH_3)_2$或-C(O)$CH_2CH_2CH_3$。

[0082] 在一些实施方案中，烷基、烯基、炔基、环烷基或芳基任选被选自氟、氯、溴和碘，特别是氟和氯的卤素基团取代。在一些实施方案中，R_9和R_{10}处的酯的烷基、烯基、炔基、环烷基或芳基被选自氟、氯、溴和碘，特别是氟和氯的卤素基团任选地取代。

[0083] 在式(I)或(Ⅱ)的特定实施方案中，下列的一种或更多种适用：

[0084] R_1是-C_{1-3}烷基，尤其是-CH_3；

[0085] R_2是-OC(O)C_{1-20}烷基、-OC(O)C_{2-20}烯基、-OC(O)C_{2-20}炔基、-OC(O)环烷基、-OC(O)

C_{1-10}烷基环烷基;-OC(O)C_{2-10}烯基环烷基、-OC(O)C_{2-10}炔基环烷基、-OC(O)芳基、-OC(O)C_{1-10}烷芳基、-OC(O)C_{2-10}烯芳基、-OC(O)C_{2-10}炔芳基、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{2-10}烯基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{2-10}炔基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{1-10}烷基SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基SR_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)SR_{11}或-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)SR_{11};特别是-OC(O)C_{1-10}烷基、-OC(O)C_{2-10}烯基、-OC(O)C_{2-10}炔基、-OC(O)环烷基、-OC(O)C_{1-10}烷基环烷基;-OC(O)C_{2-10}烯基环烷基、-OC(O)C_{2-10}炔基环烷基或-OC(O)芳基;更特别地是-OC(O)C_{1-6}烷基、-OC(O)C_{2-6}烯基或-OC(O)C_{2-6}炔基或-OC(O)C_{4-6}烷基、-OC(O)C_{4-6}烯基或-OC(O)C_{4-6}炔基;

[0086] R_3是-OC(O)C_{1-20}烷基、-OC(O)C_{2-20}烯基、-OC(O)C_{2-20}炔基、-OC(O)环烷基、-OC(O)C_{1-10}烷基环烷基;-OC(O)C_{2-10}烯基环烷基、-OC(O)C_{2-10}炔基环烷基、-OC(O)芳基、-OC(O)C_{1-10}烷芳基、-OC(O)C_{2-10}烯芳基、-OC(O)C_{2-10}炔芳基、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)R_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{2-10}烯基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{2-10}炔基CH(OR_{11})(OR_{11})、-OC(O)C_{1-10}烷基SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基SR_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)OR_{11}、-OC(O)C_{1-10}烷基C(O)SR_{11}、-OC(O)C_{2-10}烯基C(O)SR_{11}或-OC(O)C_{2-10}炔基C(O)SR_{11};特别是-OC(O)C_{1-10}烷基、-OC(O)C_{2-10}烯基、-OC(O)C_{2-10}炔基、-OC(O)环烷基、-OC(O)C_{1-10}烷基环烷基;-OC(O)C_{2-10}烯基环烷基、-OC(O)C_{2-10}炔基环烷基或-OC(O)芳基;更特别地是-OC(O)C_{1-6}烷基、-OC(O)C_{2-6}烯基或-OC(O)C_{2-6}炔基或-OC(O)C_{2-6}炔基或-OC(O)C_{4-6}烷基、-OC(O)C_{4-6}烯基或-OC(O)C_{4-6}炔基;

[0087] R_4和R_5独立地选自C_{1-3}烷基,特别是-CH_3;

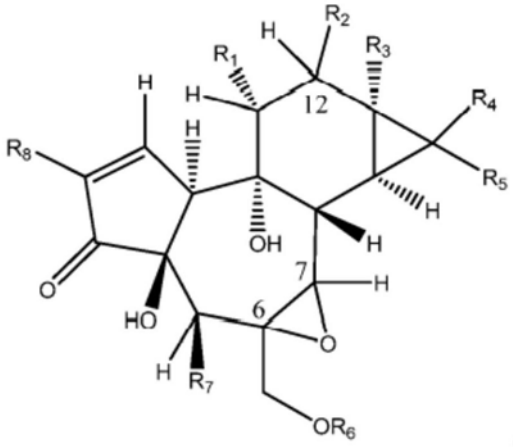
[0088] R_6是氢、-C(O)C_{1-6}烷基、-C(O)C_{2-6}烯基、-C(O)C_{2-6}炔基或-C(O)芳基;特别是氢、-C(O)C_{1-3}烷基、-C(O)C_{2-3}烯基或-C(O)C_{2-3}炔基,更特别地是氢或-C(O)CH_3;

[0089] R_7是羟基、-OC(O)C_{1-6}烷基、-OC(O)C_{2-6}烯基或-OC(O)C_{2-6}炔基,特别是羟基、-OC(O)C_{1-3}烷基、-OC(O)C_{2-3}烯基或-OC(O)C_{2-3}炔基,更特别地是羟基或-OC(O)CH_3;和

[0090] R_8是-C_{1-3}烷基,尤其是-CH_3。

[0091] 在一些实施方案中,式(I)和/或(Ⅱ)的化合物具有如下式(Ⅲ)所示的立体化学:

[0092]



(III)

[0093] 在一些实施方案中,6,7-位的环氧化物在环体系的平面之上。在其他实施方案中,6,7-位的环氧化物在环体系的平面之下。在一些实施方案中,12位的R_2基团是S型,而在其

他实施方案中，12位的R_2基团是R型。

[0094] 在特定实施方案中，环氧巴豆烯酮化合物选自：

[0095] 12-巴豆酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物1)；

[0096] 12,13-二-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物2)；

[0097] 12-己酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物3)；

[0098] 12,13-二己酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物4)；

[0099] 12-肉豆蔻酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物5)；

[0100] 12-巴豆酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13-五羟基-20-乙酰氧基-1-巴豆烯-3-酮(化合物6)；

[0101] 12-肉豆蔻酰基-13-乙酰氧基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物7)；

[0102] 12-丙酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物8)；

[0103] 12,13-二巴豆酰-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物9)；

[0104] 12-(2-甲基丁酰基)-13-巴豆酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物10)；

[0105] 12-丁酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物11)；

[0106] 12-(3,3-二甲基丁-2-烯酰基)-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物12)；

[0107] 12-己-2,4-二烯酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物13)；

[0108] 12-巴豆酰基-13-(2-甲基丙酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物14)；

[0109] 12-丁-2-烯酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物15)；

[0110] 12-巴豆酰基-13-丁酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物16)；

[0111] 12,13-二丁酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物17)；

[0112] 12,13-二戊酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物18)；

[0113] 12,13-二-(2E,4E)-己-2,4-二烯酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物19)；

[0114] 12,13-二-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮

(化合物20)；

[0115] 12-(2-甲基丙-2-烯酰基-13-(2-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物21)；

[0116] 12-(3-丁烯酰基)-13-壬酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物22)；

[0117] 12,13-二-壬基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物23)；

[0118] 12,13-二庚酰基-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物24)；

[0119] 12,13-二-(3-甲基丁酰基)-6,7-环氧-4,5,9,12,13,20-六羟基-1-巴豆烯-3-酮(化合物25)；

[0120] 或其药学上可接受的盐。

[0121] 在特定实施方案中,6,7-环氧巴豆烯酮化合物选自化合物1、2、3、4、6、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21和25,尤其是化合物1、2、6、8、9、10、11、14、15、16、17、18、20和25。

[0122] 组合物

[0123] 虽然6,7-环氧巴豆烯酮化合物或其药学上可接受的盐可以单独施用,但更方便的是将其以药物组合物的形式与药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂一起施用。

[0124] 本领域技术人员容易确定对于药物用途和组合物的剂型和速率。

[0125] 配制6,7-环氧巴豆烯酮化合物以直接定位施用至所治疗的肿瘤上或肿瘤内。在一些实施方案中,将6,7-环氧巴豆烯酮化合物配制成凝胶、软膏、洗剂、霜剂或透皮贴剂的形式用于局部施用,其可直接施用至被治疗的肿瘤上。在其它实施方案中,将环氧巴豆烯酮化合物配制为用于注射,特别是瘤内注射,其中将化合物注射到肿瘤中的一个或更多个位置。

[0126] 合适地,药物组合物包含药学上可接受的赋形剂或可接受的赋形剂。“药学上可接受的赋形剂”是指可安全使用的固体或液体填料、稀释剂或封装物质。根据特定的施用途径,可以使用本领域熟知的多种载体。这些载体或赋形剂可选自包括糖、淀粉、纤维素及其衍生物、环糊精、麦芽、明胶或其他胶凝剂、聚合物、滑石、硫酸钙、植物油、合成油、醇和/或多元醇、褐藻酸、磷酸盐缓冲溶液、乳化剂、等渗盐水和无热原水的组。

[0127] 液体形式制剂包括溶液、混悬液和乳剂,例如水或水-丙二醇溶液。例如,在有或没有缓冲液的情况下,可将可注射液体制剂配制成1,2-丙二醇水溶液、二甲基亚砜(DMSO)、γ-环糊精或2-羟丙基-β-环糊精的水溶液、盐水溶液或聚乙二醇溶液。pH值优选范围为3.0-4.5。合适的缓冲液将制剂缓冲到pH3.5-4.5,且包括但不限于醋酸盐缓冲液和柠檬酸盐缓冲液。

[0128] 因此,6,7-环氧巴豆烯酮化合物的组合物可以配制成用于胃肠外施用(例如通过注射,例如推注),并且可以以单位剂量形式存在于安瓿、预填充注射器、小容量输注或添加防腐剂的多剂量容器中。该组合物可以采取悬浮液、溶液、凝胶或乳剂等形式存在于油性或水性溶媒中,并可能包含悬浮剂、稳定剂和/或分散剂等配制剂。或者,活性成分可以是通过无菌分离灭菌的固体或通过从溶液中冻干获得的粉末形式,以便在使用前使用合适的溶媒(例如无菌、无热原水)配制。

[0129] 适用于施用的6,7-环氧巴豆烯酮化合物的药物组合物可以以分散单元存在,例如

注射器、小瓶、管或小药囊(sachet)，每个单元含有预定量的一种或更多种药物活性的6,7-环氧巴豆烯酮化合物，以粉末或颗粒的形式存在，或以在水性液体、环糊精溶液、非水性液体、水包油乳剂或油包水乳剂中的溶液或悬浮液的形式存在，或作为霜剂或凝胶中的溶液或悬浮液存在，或以掺入6,7-环氧巴豆烯酮化合物的微粒或纳米粒子(包括但不限于二氧化硅或聚乳酸微粒或纳米粒子)的悬浮液存在。这种组合物可以通过任何药学方法制备，但所有方法都包括使一种或更多种本发明的药物活性化合物与构成一种或更多种必要成分的载体结合的步骤。一般来说，通过将本发明的药物与液体载体或细碎的固体载体或两者均匀和紧密地混合，然后，如果需要，将产品成形为所需的外观来制备组合物。

[0130] 对于表皮或其它器官的局部施用，根据本发明所述的化合物可以配制成凝胶、软膏、乳剂、糊剂、霜剂或洗剂，或作为透皮贴剂。可以使用合适的增稠剂并将其加入到化合物的水/醇组合物中来制备凝胶。合适的增稠剂或胶凝剂是本领域已知的，例如聚乙烯基羧基聚合物，卡波姆940。例如，软膏和乳膏可以用水性或油性基并添加合适的增稠剂和/或胶凝剂来配制。洗剂可采用水性或油性基质配制，且通常还包含一种或更多种乳化剂、稳定剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂或着色剂。

[0131] 适用于局部施用的制剂还包括溶液或混悬液，其可以以浴液或浸泡液或喷雾剂的形式局部施用，或者可以吸收到敷料中。

实施例

[0132] 实施例1:化合物1在两名人黑色素瘤患者中的远隔(非注射)效应

[0133] 在具有可触及的皮肤、皮下或淋巴结肿瘤的常规治疗难治的患者中进行了一项瘤内化合物1的I期、开放性、多中心、剂量递增研究(Panizza等人，2019年)。患者在第1天接受化合物1，直接推注到不超过3个选定的浅表肿瘤中。溶液体积由体表面积(BSA)确定，使用的公式为体积＝(BSA×剂量水平)/药物浓度，其中体积单位为mL，BSA单位为m^2，剂量水平单位为mg/m^2，而药物浓度单位为mg/mL。将该溶液注射到估计为注射溶液体积两倍的肿瘤中(例如，1mL化合物1注射到2cm^3肿瘤中)。当肿瘤大于剂量的要求时，对肿瘤的一部分注射。当治疗多个肿瘤时，按每个肿瘤的目标体积按比例分配剂量。使用最少的注射次数施用剂量，以扇形方式使剂量均匀地分布在肿瘤的整个体积上。在第3、5、8、15和22天进行随访评估后，并且如果到第22天仍未出现伤口愈合或稳定，则此后每7天进行一次，直至达到完全愈合或稳定。

[0134] 在本试验招募的患者中，两名患者患有转移性黑色素瘤，在使用化合物1作为单一疗法进行瘤内治疗后，这两名患者均观察到了远隔效应。

[0135] 患者1最初于2011年8月被诊断为黑色素瘤，并通过手术切除了局部肿瘤块。2015年11月的后续手术切除了左腋窝的转移性肿瘤。患者在治疗该疾病期间未接受放疗、化疗或其他干预。在2016年1月，患者已出现更广泛的腋窝淋巴结转移性黑色素瘤，而细针抽吸术(FNA)证实具有对侧腮腺淋巴结黑色素瘤肿块和临床上可疑腿部肿瘤的散布更广的疾病。此时，将化合物1施用到左腋窝的两个新肿瘤中。有完全反应(使用RECIST v1.1标准；Eisenhauer等人，2009年)，施用该药物的两个肿瘤均消退。明显地，使用化合物1治疗后，未经治疗的腮腺肿块和腿部肿块也消退，且该患者在治疗后33个月保持无病，但随后发展为广泛的转移性疾病，尽管腋窝和腮腺淋巴结保持清除。该患者的详细情况和治疗方法见表

1。

[0136] 表1:患者1

[0137]

癌症类型和疾病阶段	所治疗肿瘤的位置和数量	所治疗肿瘤的体积	所治疗肿瘤的反应[1]	非靶肿瘤的位置	非靶肿瘤的反应[1]	无病状态
黑色素瘤第三阶段	腋窝(2)	1 cm^3	完全反应	侧腮腺淋巴结	完全的	患者在第33个月时保持临床和放射学无病，但随后出现进展性疾病
				膝	完全的	

[0138] [1]基于RECIST v1.1标准(Eisenhauer等人,2009年)的反应类别。

[0139] 使用化合物1治疗时,患者2患有黑色素瘤(四级)伴皮肤、淋巴结和胸膜转移。该患者最初于2015年2月被诊断为黑色素瘤,并在2015年2月至2016年3月期间三次接受手术切除肿瘤。随后于2016年6月对胸壁转移进行了一个疗程的放射治疗,产生对放射疗法的部分局部反应。尽管接受了四剂派姆单抗治疗,但很快出现疾病进展且不再响应。在这些既往治疗之后的两个月“洗脱”期后,患者右上肢出现三处皮肤黑色素瘤转移,采用瘤内施用化合物1治疗。出现完全响应(RECIST v1.1),施用该药物的所有三个肿瘤完全消退。明显地,第四个皮肤肿瘤(未注射所研究药物)出现远隔(非注射)反应,在随访期间肉眼可见完全消退。使用化合物1注射上肢肿瘤约4周后,注射了胸骨浅表肿瘤(含活检证实的转移性黑色素瘤),也显示完全响应。值得注意的是,CT扫描显示,在未注射的淋巴结和胸膜肿瘤中出现远隔(非注射)反应,24mm左腋窝淋巴结和29mm右胸膜结节完全消退,右侧腹股沟淋巴结缩小。患者身体良好,停止治疗,直到第二次注射化合物1后14个月进行CT扫描,显示累及骨和淋巴结的肿瘤进展。该患者的详细情况见表2。

[0140] 表2:患者2

[0141]

癌症类型和疾病阶段	所治疗肿瘤的位置和数量	所治疗肿瘤的体积	所治疗肿瘤的响应[1]	非靶肿瘤的位置	非靶肿瘤的响应[1]	无病状态
黑色素瘤四期(BRAF野生型)	上肢 (3)	1.3 cm^3	完全响应	侧腮腺淋巴结	完全的	14个月时CT扫描鉴定到累及骨和淋巴结的疾病进展
	胸骨(1)	1.1 cm^3	完全响应	上肢(卫星转移)	完全的	
				左腋窝淋巴结 (24 mm)	完全的	
				右侧胸膜结节 (29 mm)	完全的	
				右侧腹股沟淋巴结	部分的	

[0142] [1]基于RECIST v1.1标准(Eisenhauer等人,2009年)的响应类别。

[0143] 实施例2:化合物1在五种类型的犬癌症中的远隔效应

[0144] a)犬中自发出现的癌症被认为是许多人类癌症的可靠模型

[0145] 犬自然发生的癌症与人类癌症具有惊人的生物学相似性,且大量最新科学文献证明了犬癌症作为人类疾病"现实世界"模型和预测对新癌症疗法反应的价值(Gardner等人,2016年)。例如,犬癌症与人类癌症共有的重要临床相关特征包括其:

[0146] • 通常是在遗传多样性背景与人类相似的大型远缘杂交哺乳动物中自发形成的相对较大的肿瘤;

[0147] • 是遗传上复杂的肿瘤,其长期发展并在完整免疫系统存在的情况下存在,其中宿主免疫系统和癌细胞之间存在复杂的相互作用,这些相互作用决定了肿瘤的发生和进展;

[0148] • 具有相似的分子和解剖特征;

[0149] • 在患者内部和患者之间具有显著的肿瘤异质性;

[0150] • 复发和转移到与人类类似肿瘤类型相同的部位;和

[0151] • 如果暴露于重复疗程的治疗中,发展耐药性。

[0152] 已发表的科学文献证明与人类疾病模型直接相关的犬癌症实例包括黑色素瘤、鳞状细胞癌、乳腺癌、淋巴瘤、软组织肉瘤、浸润性膀胱癌、胶质瘤和成骨肉瘤。

[0153] b)在犬临床病例研究中,局部施用环氧巴豆烯酮后观察到五种癌症类型的远隔效应

[0154] 原型环氧巴豆烯酮化合物1目前处于后期临床开发阶段,作为定位施用治疗用于犬的肥大细胞瘤(Miller等人,2019年)。同时,该化合物的疗效也正在一系列涵盖更广范围的皮肤和皮下犬癌症类型的病例研究中进行评估。这些临床病例中的大多数涉及非全身性疾病的治疗,其中每名患者身上仅存在一个肿瘤。然而,在许多病例中,患者有全身性多灶性疾病,且在这些情况下,将该化合物施用于存在的肿瘤亚群,目的只是定位缓解。随后在

来自这些病例中的8例具有多灶性疾病的患者中观察到非相邻、未治疗肿瘤中的远隔效应。观察到远隔效应的五种肿瘤类型为肥大细胞瘤(肥大细胞肿瘤)、组织细胞肉瘤(造血源性肿瘤)、皮肤鳞状细胞癌(由日光性角化症引起)、基底细胞癌、皮肤鳞状细胞癌和血管肉瘤混合灶(由日光性角化症引起)和血管肉瘤(表3)。

[0155] 所有定位施用环氧巴豆烯酮的病例研究采用了一致的如下治疗方案。所有犬均为客户所有的动物,并在患者入组和治疗前获得所有者的知情同意。在治疗前7至14天进行活检,以确定肿瘤类型,但肥大细胞瘤(其中肿瘤类型的确认是基于从肿瘤块的细针吸出物中获得的细胞学)除外。在治疗时,对待施用药物的靶肿瘤进行测量。然后根据肿瘤体积,以每立方厘米肿瘤体积0.1mg至0.5mg6,7-环氧巴豆烯酮的比率计算每个肿瘤的瘤内施用剂量。在多灶性疾病的病例中,其中单个肿瘤或存在的少数肿瘤仅为了缓解目的被靶向,在可能的情况下,对患者身上其他可见和可触知的肿瘤进行计数。靶肿瘤的治疗涉及向每个肿瘤内单次注射环氧巴豆烯酮。在紧临治疗前和治疗反应过程中,拍摄靶肿瘤的照片。在28天期间定期评估靶肿瘤,并将治疗的最终结果分类为完全响应(靶肿瘤完全消退)、部分响应(某些肿瘤组织在第28天仍然存在)或不良反应(仍然存在明显的肿瘤块)。兽医指出,具有远隔效应的非靶肿瘤的响应通过这些肿瘤的缩小和消失来表征,有时伴随皮肤的短暂轻微变黑。这与非常独特的出血性坏死和肿瘤脱落形成对比,这是将环氧巴豆烯酮直接注入靶肿瘤时特有的。

[0156] 表3

[0157]

患者ID	癌症类型	治疗史	所治疗肿瘤的位置(数量)	所治疗肿瘤的反应	未经治疗肿瘤的位置和数量	未治疗的反应	远隔反应时间(天)	远隔肿瘤复发/无病状态
C-JN	组织细胞肉瘤	无	左肩(2)	完全的	左肩(6个卫星肿瘤)	完全的	7-14天	6个月后无复发(因无关发病而安乐死)
			右后腿内侧(2)	完全的				
			右后腿腋窝(2)	完全的	右后腿内侧(3个卫星肿瘤)	完全的	7-14天	
					颈后侧(7)	完全的	7-14天	
					右腹(5)	完全的		
C-IS	皮肤鳞状细胞癌	手术	腹部(7)	完全的	腹部(>20个卫星肿瘤)	完全的	7-14天	4个月后无复发

[0158]

C-LW	皮肤鳞状细胞癌/血管肉瘤混合灶*	手术，多次	腹部(6)，3个分散治疗野	完全的	腹部(>15个卫星肿瘤)	完全的	7-14天	治疗野无复发。3个月时从新的分化的日光性角化病的区域出现新肿瘤
C-MC	血管肉瘤	无	右大腿内侧(1)	完全的	右侧腹股沟淋巴结(1)	完全的	14天	36个月后无复发
C-RC	基底细胞癌	手术(6个月前)	左前跗关节(1)	完全的	左前肩	完全的	7-14天	20个月后无复发
			右后跗关节(1)	完全的	右后大腿	完全的	7-14天	
CM-02	肥大细胞瘤	无	左大腿尾部(1)	完全的	大腿颅侧面(右后腿)	完全的	21-28天	3个月后无复发
CD-01	肥大细胞瘤	无	外阴附近	完全的	左前腿近端内侧面	完全的	7天	3个月后无复发
					右后腿上的大腿尾侧面	完全的	14天	3个月后不再复发
CD-02	肥大细胞瘤	无	右腹-颅骨	完全的	左腹-颅骨	完全的	7天	3个月后无复发

[0159] *由日光性角化病引起

[0160] 实施例3:化合物1在免疫活性小鼠癌症模型中的远隔效应

[0161] 一项使用次优剂量的化合物1的体内研究考察了免疫活性C57BL/6小鼠中的远隔效应。选择C57BL/6小鼠品系是因为其广泛用于研究新型药剂诱导远隔效应的能力，特别是与未治疗的肿瘤缩小相关的作用，该未治疗的肿瘤与治疗的靶肿瘤缩小同时发生或在其之后不久发生。

[0162] 使免疫活性小鼠(C57BL/6)上皮下生长B16-F10(黑色素瘤)或Panc02(胰腺)肿瘤(每只小鼠2个肿瘤，每个治疗组5只小鼠)至大小为75-100mm^3，之后，单独使用溶媒(50μL，40％丙二醇(PG)，30mM乙酸钠pH4.3)或含有7.5μg化合物1的溶媒对单个肿瘤进行瘤内注射，以确定化合物1单独施用是否可促进不同癌症亚型的远隔效应的发展。在注射前，先用表达荧光素酶的慢病毒转导小鼠癌症细胞系，以使用生物发光成像来可视化原发性肿瘤负荷和可能的转移灶。对于本研究，所有小鼠按照QIMR Berghofer医学研究所的动物伦理委员会批准的程序进行监测。

[0163] 结果见图1(B16-F10)和图2(Panc02)。结果表明，单独用溶媒治疗一个肿瘤对未治疗的肿瘤的生长没有显著影响。相比之下，用次有效剂量(7.5μg)的化合物1治疗导致所治疗的肿瘤的肿瘤生长降低。此外，未经治疗的相邻肿瘤对化合物1治疗也有反应，而单用溶媒未观察到这种现象。

[0164] 参考文献：

[0165] Abuodeh Y,Venkat P&Kim S(2016).Systematic review of case reports on

the abscopal effect.Current Problems in Cancer 40:25-37.

[0166] Adams JL,Smothers J,Srinivasan R&Hoos A(2015).Big opportunities for small molecules in immuno-oncology.Nature Reviews Drug Discovery 14:603-622.

[0167] Aznar MA,Tinari N,Rullan AJ et al.(2016).Intratumoral delivery of immunotherapy-act locally,think globally.Journal of Immunology 198:32-39.

[0168] Barnett CME,Broit N,Yap PY et al.(2019).Optimising intratumoral treatment of head and neck squamous cell carcinoma models with the diterpene ester Tigilanol tiglate.Investigational New Drugs 37:1-8.

[0169] Boutros C,Tarhini A,Routier O et al.(2016).Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies.Nature Reviews Clinical Oncology 13:473-486

[0170] Boyle GM,D'Souza MM,Pierce CJ et al.(2014).Intra-lesional injection of the novel PKC activator EBC-46 rapidly ablates tumors in mouse models.PLoS One 9(10):e108887.

[0171] Chalmers ZR,Connelly CF,Fabrizio D et al.(2017).Analysis of 100,000 human cancer genomesreveals the landscape of tumor mutational burden.Genome Medicine 9(1):34

[0172] Demaria S,Ng B,Devitt ML et al.(2004)Ionizing radiation inhibition ofdistant untreated tumors(abscopal effect)is immune mediated.International Journal of Radiation Oncology Biology Physics 58:862-870.

[0173] Eisenhauer EA,Therasse P,Bogaerts J et al.(2009).New response criteria in solid tumours:revised RECIST guideline(vetsion 1.1).European Journal of Cancer 45:228-247.

[0174] Gardner et al.2016.Dogs as a model for cancer.Annual Review of Animal Biosciences 4:199-222.

[0175] Gibney GT,Weinet LM&Atkins MB(2016).Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy.Lancet Oncology 16:e542-551.

[0176] Goodman AM,Kato S,Bazhenova L et al.(2017).Tumor mutational burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers.Molecular Cancer Therapeutics 16:2598-2608

[0177] Hammerich L,Binder A&Brody JD(2015).In situ vaccination:cancer immunotherapy both personalized and off the shelf.Molecular Oncology 9:1966-1981.

[0178] Marabelle A,Tselikas L,de Baere T&Houot R(2017).Intratumoral immunotherapy:using the tumor as the remedy.Annals of Oncology 28:xii33-xi43.

[0179] Marabelle A,Andtbacka R,Harrington K,et al.(2018).Starting the fight in the tumor:expert recommendations for the development of human intratumoral immunothereapy(HIT-IT).Annals of Oncology 29:2163-2174.

[0180] Mastrangelo MJ,Bellet RE,Berkelhammer J et al.(1975).Regression of pulmonary metastatic disease associated with intralesional BCG therapy of

intracutaneous melanoma metastases.Cancer 36:1305-1308.

[0181] Marin-Acevedo JA,Dholaria B,Soyano AE et al.(2018).Next generation of immune checkpoint therapy in cancer:new developments and challenges.Journal of Hematology&Oncology 11:39.

[0182] Meléndez B,et al.,(2018).Methods of measurement for tumor mutational burden in tumor tissue.Translational Lung Cancer Research 7(6):661-667.

[0183] Miller J,Campbell J,Blum A et al.(2019).Dose characterization of the investigational anticancer drug tigilanol tiglate(EBC-46)in the local treatment of canine mast cell tumors.Frontiers in Veterinary Science 2019.00106.

[0184] Panizza BJ,de Souza P,Cooper A,Roohullah A,Karapetis CS and Lickliter JD,(2019)Phase I dose-escalation study to determine the safety,tolerability, preliminary efficacy and pharmacokinetics of an intratumoral injection of tigilanol tiglate(EBC-46).EBioMedicine 50:433-441.

[0185] Prise KM&O'Sullivan JM(2009).Radiation induced bystander signalling in cancer therapy.Nature Reviews Cancer 9:351-30.

[0186] Schumacher TN&Schreiber RD(2015).Neoantigens in cancer therapy.Science 348:69-73.

[0187] Yarchoan M,Hopkins A&Jaffee EM(2017).Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition.New England Journal of Medicine 377:2500-2501.

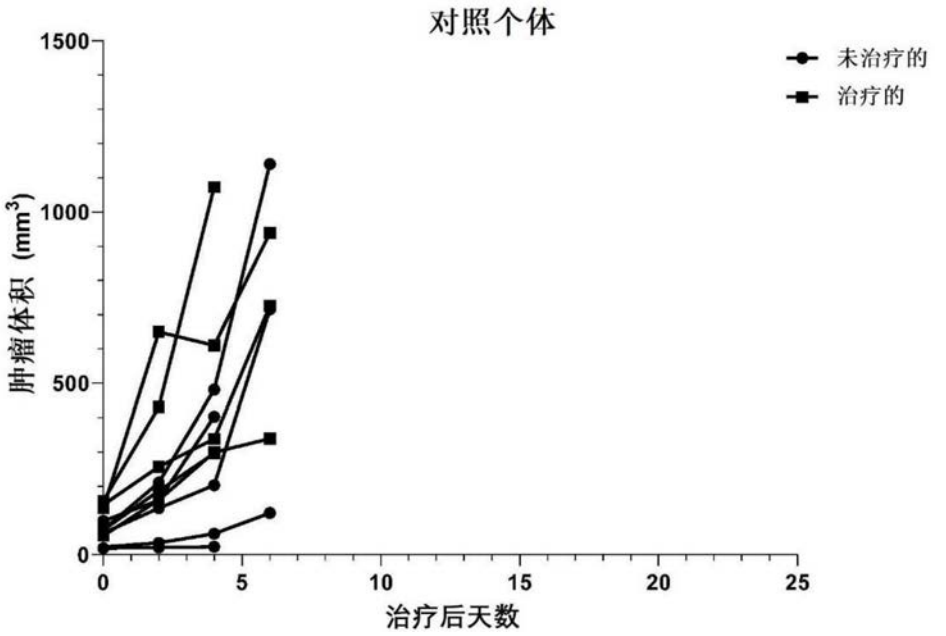

对照个体
未治疗的
治疗的
肿瘤体积 (mm3)
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
治疗后天数

图1a

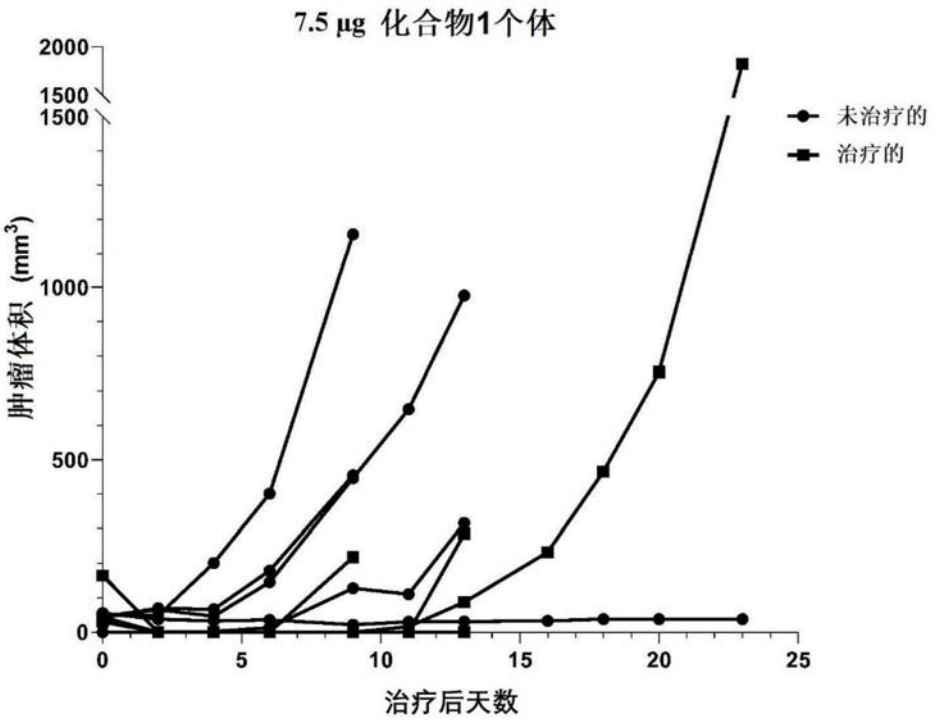

7.5 μg 化合物1个体
未治疗的
治疗的
肿瘤体积 (mm3)
2000
1500
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
治疗后天数

图1b

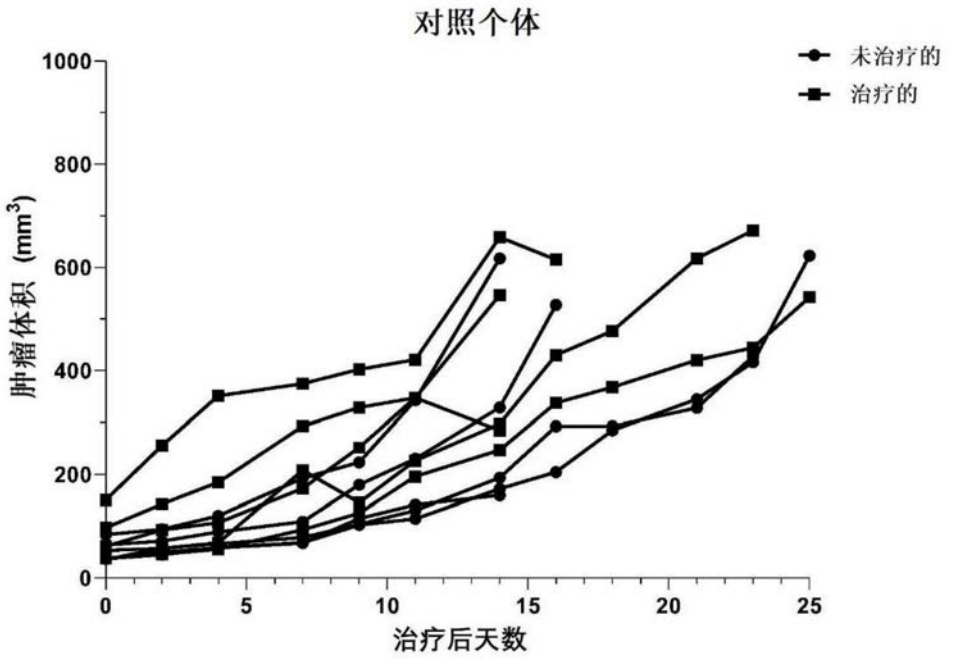

对照个体
未治疗的
治疗的
肿瘤体积 (mm3)
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
治疗后天数

图2a

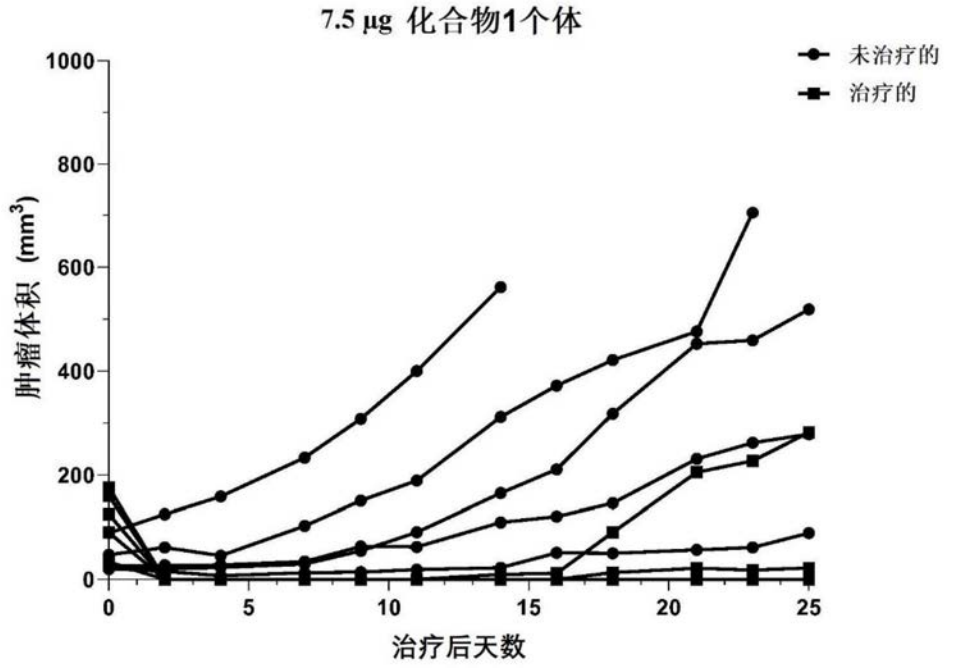

7.5 μg 化合物1个体
未治疗的
治疗的
肿瘤体积 (mm3)
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
治疗后天数

图2b