



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119233828 A

(43) 申请公布日 2024. 12. 31

(21) 申请号 202380040313.7

(22) 申请日 2023.03.13

(30) 优先权数据

63/319,585 2022.03.14 US

63/335,408 2022.04.27 US

63/382,149 2022.11.03 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/064235 2023.03.13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/178038 EN 2023.09.21

(71) 申请人 福君基因公司

地址 美国加利福尼亚州

申请人 复旦大学 ANP科技公司

(72) 发明人 陆路 尹锐 姜世勃 刘泽众

谢明 周洁 王欣玲 王茜 徐巍

潘京 张羽蓓 齐凯 孙群 王林

邹志英 陶春林

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

专利代理师 孙占华 张广育

(51) Int.Cl.

A61K 45/00 (2006.01)

A61K 38/19 (2006.01)

A61K 47/34 (2017.01)

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 31/496 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/4188 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 39/39 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

B82Y 5/00 (2011.01)

权利要求书11页 说明书61页

序列表(电子公布) 附图32页

(54) 发明名称

纳米胶囊化药物组合物及其用途

(57) 摘要

本公开内容涉及一种用于治疗或预防疾病的药物组合物。所述药物组合物可以包括聚合物-药物纳米聚集体,其具有一种聚合物和至少一种生物活性剂,所述生物活性剂可以包括STING多肽、编码所述STING多肽的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合。所述药物组合物可以是疫苗或疫苗佐剂。本公开内容还涉及用于使用所述药物组合物治疗或预防疾病的方法。所述疾病可以包括由病毒或其他病原体导致的传染病,例如流行性感冒、狂犬病或呼吸道疾病,例如由冠状病毒导致的严重急性呼吸综合征(SARS),例如由病毒SARS-CoV-2及其变体导致的MERS-CoV、SARS-CoV和2019冠状病毒病(COVID-19)。

RBD1	- 接头1 -	RBD2	- 接头2 -	RBD3
AG1: SARS-CoV-2 (Delta)		SARS-CoV		MERS-CoV
AG2: SARS-CoV-2 (Delta)		MERS-CoV		SARS-CoV
AG3: MERS-CoV		SARS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)
AG4: MERS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)		SARS-CoV
AG5: SARS-CoV		MERS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)
AG6: SARS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)		MERS-CoV

1. 一种药物组合物,其包括:

一种纳米聚集体,其包括一种聚合物和至少一种生物活性剂,所述生物活性剂包括至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或者其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合;以及

任选地,一种药学上合适的载体;

其中所述药物组合物可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的所述至少一种生物活性剂;

其中所述聚合物是水溶性的;并且

其中所述聚合物包括:

一种第一聚合物,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和一个用亲水部分改性的第二端基,其中所述第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的所述疏水部分,所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,并且所述第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;

一种第二聚合物;或

其组合。

2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述聚合物包括所述第一聚合物。

3. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述第二聚合物包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD);乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合;聚(乙二醇)(PEG);聚(乳酸)(PLA);聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA);聚(环氧丙烷)(PPO);聚己内酯(PCL);**Pluronic**[®](PPO-PEO);聚(γ -L-谷氨酸)(PGA);聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE);聚(L-赖氨酸)(PLL);甲基PEG(mPEG);聚(天冬氨酸)(PasP);聚(L-组氨酸)(PLH);聚(乙烯胺)(PEI);聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP);聚(L-亮氨酸)(PLLeu);脱氧胆酸(DOCA);羟丙基甲基纤维素(HPMC);聚(羟基丁酸酯)(PHB);聚(环氧乙烷)(PEO);聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG);磷脂酰丝氨酸(PS);聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA);聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH);聚(γ -炔丙基)(PP);或其组合。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的药物组合物,其中所述聚合物包括聚噁唑啉(POX),所述聚噁唑啉包括线型部分、支化部分、或其组合,并且其中所述聚噁唑啉(POX)包括聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉),聚(2-丙基噁唑啉)和聚(异丙基噁唑啉),或其组合。

5. 根据权利要求4所述的药物组合物,其中所述聚噁唑啉是聚(2-乙基噁唑啉)。

6. 根据权利要求4至5中任一项所述的药物组合物,其中所述聚噁唑啉包括在50:1至80:1范围内的单体与引发剂的摩尔比。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的药物组合物,其中1%至100%的所述第二端基不含伯胺。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的药物组合物,其中1%至100%的所述第二端基包括羟基。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的药物组合物,其中在冻干前所述纳米聚集体的大小为小于120nm。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的药物组合物,其中所述纳米聚集体具有在约2:1至约200:1范围内的所述聚合物与所述生物活性剂的重量比。

12. 根据权利要求1至11中任一项所述的药物组合物,其中所述纳米聚集体不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。

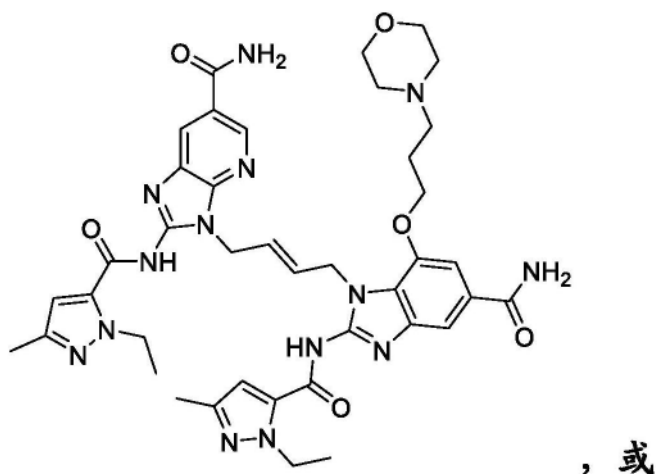
13. 根据权利要求1至12中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。

16. 根据权利要求1至15中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物是用于治疗或预防选自免疫疾病、传染病及其组合的疾病的药物。

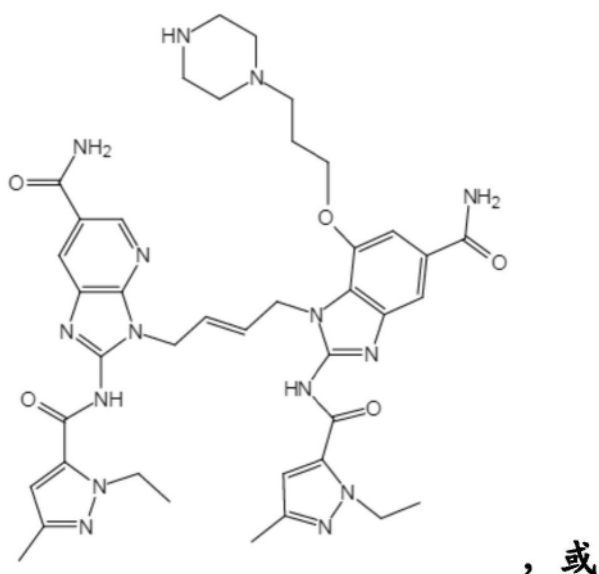
17. 根据权利要求1至16中任一项所述的药物组合物,其中所述生物活性剂包括至少一种具有式(1)至式(29)的化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

18. 根据权利要求1至17中任一项所述的药物组合物,其中所述生物活性剂包括具有下式的化合物

式(1)



式(4)



其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

19. 根据权利要求1至18中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物是疫苗的佐剂。

20. 根据权利要求19所述的药物组合物,其中所述药物组合物是预防性疫苗、治疗性疫苗,或其组合,其中所述药物组合物包括所述佐剂并进一步包括至少一种免疫剂,用于刺激需要其的受试者的免疫应答。

21. 根据权利要求20所述的药物组合物,其中所述免疫剂包括无活性微生物,其选自细菌、病毒、真菌、原生动物、蠕虫、寄生虫、朊病毒、其部分,或其组合;毒素;编码所述毒素的核酸;蛋白质;编码所述蛋白质的核酸;寡核酸;DNA;RNA;mRNA;siRNA;sgRNA;其片段;或其组合。

22. 根据权利要求18至21中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制用于治疗或预防至少一种传染病。

23. 根据权利要求22所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制用于治疗或预防至少一种传染病,所述传染病选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡,及其组合。

24. 根据权利要求23所述的药物组合物,其中所述免疫剂至少包括冠状病毒的刺突(S)糖蛋白的多肽、编码所述刺突(S)糖蛋白的DNA、编码所述刺突(S)糖蛋白的RNA、所述刺突(S)糖蛋白的受体结合结构域(RBD)、编码所述RBD的DNA、编码所述RBD的RNA、其部分,或其组合。

25. 根据权利要求24所述的药物组合物,其中所述冠状病毒包括229E α -冠状病毒、NL63 α -冠状病毒、OC43 β -冠状病毒、HKU1 β -冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2,其变体,或其组合。

26. 根据权利要求24至25中任一项所述的药物组合物,其中所述免疫剂包括所述229E α -冠状病毒、NL63 α -冠状病毒、OC43 β -冠状病毒、HKU1 β -冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、其变体,或其组合的所述刺突(S)糖蛋白的所述受体结合结构域(RBD)中的至少一种。

27. 根据权利要求26所述的药物组合物,其中所述免疫剂包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21,或其组合中的至少一种多肽。

28. 根据权利要求27所述的药物组合物,其中所述免疫剂包括所述SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9中的至少一种多肽。

29. 根据权利要求20至28中任一项所述的药物组合物,其中所述免疫剂与所述佐剂的重量比在1:50至50:1范围内,其中所述的重量比是基于所述免疫剂和作为所述佐剂的所述生物活性剂的重量。

30. 根据权利要求1至29中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物进一步包括一种或多种后续生物活性剂,所述后续生物活性剂选自蛋白质、肽、抗体、抗体片段、化合

物、小分子药物、一种或多种化疗药物及其组合。

31. 一种用于治疗或预防需要其的受试者的疾病的方法, 所述方法包括给予所述受试者有效剂量的药物组合物, 所述药物组合物包括:

一种纳米聚集体, 其包括一种聚合物和至少一种生物活性剂, 所述生物活性剂包括至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或者其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合; 以及

任选地, 一种药学上合适的载体;

其中所述药物组合物可溶于水溶液中, 以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的所述生物活性剂;

其中所述聚合物是水溶性的; 并且

其中所述聚合物包括:

一种第一聚合物, 其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和一个用亲水部分改性的第二端基, 其中所述第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的所述疏水部分, 所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合, 并且所述第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团; 或

一种第二聚合物, 其包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD); 乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合; 聚(乙二醇)(PEG); 聚(乳酸)(PLA); 聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA); 聚(环氧丙烷)(PPO); 聚己内酯(PCL); **Pluronic**[®](PPO-PEO); 聚(γ -L-谷氨酸)(PGA); 聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE); 聚(L-赖氨酸)(PLL); 甲基PEG(mPEG); 聚(天冬氨酸)(PasP); 聚(L-组氨酸)(PLH); 聚(乙烯胺)(PEI); 聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP); 聚(L-亮氨酸)(PLLeu); 脱氧胆酸(DOCA); 羟丙基甲基纤维素(HPMC); 聚(羟基丁酸酯)(PHB); 聚环氧乙烷(PEO); 聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG); 磷脂酰丝氨酸(PS); 聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA); 聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH); 聚(γ -炔丙基)(PP); 或

其组合。

32. 根据权利要求31所述的方法, 其中所述聚合物包括所述第一聚合物。

33. 根据权利要求31所述的方法, 其中所述聚合物包括所述一种或多种羟基树枝状聚合物(HD); 乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合; 聚(乙二醇)(PEG); 聚(乳酸)(PLA); 聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA); 聚(环氧丙烷)(PPO); 聚己内酯(PCL); **Pluronic**[®](PPO-PEO); 聚(γ -L-谷氨酸)(PGA); 聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE); 聚(L-赖氨酸)(PLL); 甲基PEG(mPEG); 聚(天冬氨酸)(PasP); 聚(L-组氨酸)(PLH); 聚(乙烯胺)(PEI); 聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP); 聚(L-亮氨酸)(PLLeu); 脱氧胆酸(DOCA); 羟丙基甲基纤维素(HPMC); 聚(羟基丁酸酯)(PHB); 聚(环氧乙烷)(PEO); 聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG); 磷脂酰丝氨酸(PS); 聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA); 聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH); 聚(γ -炔丙基)(PP); 或其组合。

34. 根据权利要求31至33中任一项所述的方法, 其中所述聚合物包括聚噁唑啉(POX), 所述聚噁唑啉包括线型部分、支化部分、或其组合, 并且其中所述聚噁唑啉(POX)包括聚(2-

甲基噻唑啉)、聚(2-乙基噻唑啉)、聚(2-丙基噻唑啉)和聚(异丙基噻唑啉),或其组合。

35. 根据权利要求34所述的方法,其中所述聚噻唑啉是聚(2-乙基噻唑啉)。

36. 根据权利要求34至35中任一项所述的方法,其中所述聚噻唑啉包括在50:1至80:1范围内的单体与引发剂的摩尔比。

37. 根据权利要求31至36中任一项所述的方法,其中在冻干前所述纳米聚集体的大小为小于120nm。

38. 根据权利要求31至37中任一项所述的方法,其中所述纳米聚集体具有在约2:1至约200:1范围内的所述聚合物与所述生物活性剂的重量比。

39. 根据权利要求31至38中任一项所述的方法,其中所述纳米聚集体不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。

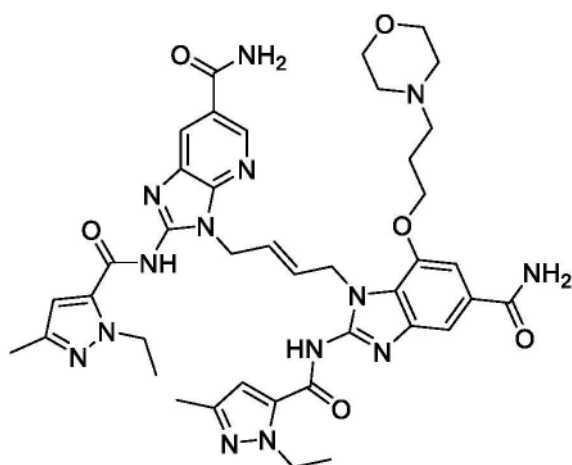
40. 根据权利要求31至39中任一项所述的方法,其中所述药物组合物不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。

41. 根据权利要求31至40中任一项所述的方法,其中所述药物组合物是用于治疗或预防选自免疫疾病、传染病及其组合的疾病的药物。

42. 根据权利要求31至41中任一项所述的方法,其中所述生物活性剂包括至少一种具有式(1)-式(29)的化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

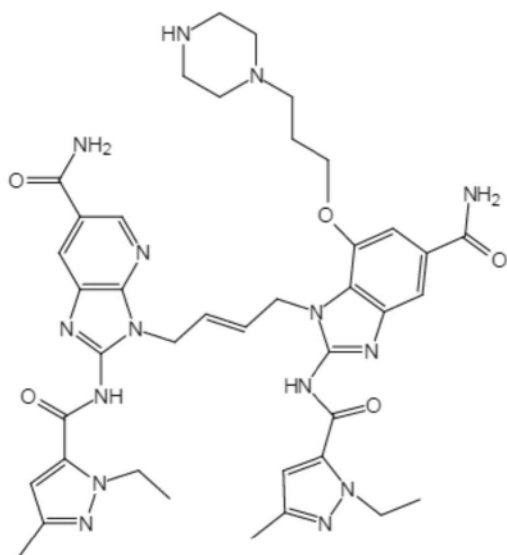
43. 根据权利要求31至42中任一项所述的方法,其中所述生物活性剂包括具有下式的化合物

式(1):



, 或

式(4)



， 或

其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

44. 根据权利要求31至43中任一项所述的方法，其中所述药物组合物是疫苗的佐剂。

45. 根据权利要求44所述的方法，其中所述药物组合物是预防性疫苗、治疗性疫苗、或其组合，其中所述药物组合物包括所述佐剂，并且进一步包括至少一种免疫剂，用于刺激需要其的受试者的免疫应答。

46. 根据权利要求43至45中任一项所述的方法，其中所述药物组合物被选择用于治疗或预防至少一种传染病，所述传染病选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感冒、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV（人乳头瘤病毒）、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒（RSV）、轮状病毒、风疹（德国麻疹）、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡，及其组合。

47. 根据权利要求46所述的方法，其中所述免疫剂至少包括冠状病毒的刺突（S）糖蛋白的多肽、编码所述刺突（S）糖蛋白的DNA、编码所述刺突（S）糖蛋白的RNA、所述刺突（S）糖蛋白的受体结合结构域（RBD）、编码所述RBD的DNA、编码所述RBD的RNA、其部分，或其组合。

48. 根据权利要求47所述的方法，其中所述免疫剂包括至少一种冠状病毒的所述刺突（S）糖蛋白的所述受体结合结构域（RBD），所述冠状病毒为229E α 冠状病毒、NL63 α 冠状病毒、OC43 β 冠状病毒、HKU1 β 冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、其变体、或其组合。

49. 根据权利要求48所述的方法，其中所述免疫剂包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21，或其组合中的至少一种多肽。

50. 根据权利要求49所述的方法，其中所述免疫剂包括所述SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9中的至少一种多肽。

51. 根据权利要求45至50中任一项所述的方法，其中所述免疫剂与所述佐剂的重量比在1:50至50:1范围内，其中所述重量比是基于所述免疫剂和作为所述佐剂的所述生物活性剂的重量。

52. 根据权利要求31至51中任一项所述的方法，其中所述药物组合物是通过静脉内（IV）注射、皮下（SC）注射、肌肉（IM）注射、皮内（ID）注射、鼻喷雾剂、吸入、口服片剂、滴眼

液、直肠免疫、阴道免疫、或其组合给予所述受试者。

53. 根据权利要求31至52中任一项所述的方法,其中1%至100%的所述第二端基不含伯胺。

54. 根据权利要求31至53中任一项所述的方法,其中1%至100%的所述第二端基包括羟基。

55. 根据权利要求31至54中任一项所述的方法,其进一步包括给予所述受试者一种或多种后续生物活性剂的步骤,所述后续生物活性剂选自蛋白质、肽、抗体、抗体片段、化合物、小分子药物、一种或多种化疗药物、疫苗及其组合,其中所述一种或多种后续生物活性剂中的每一种在给予所述药物组合物之前、同时或之后给予受试者。

56. 根据权利要求31至55中任一项所述的方法,其进一步包括给予所述受试者一种或多种所述药物组合物的加强注射的步骤。

57. 一种纳米聚集体,其包括一种聚合物和至少一种生物活性剂,所述生物活性剂包括至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或者其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合;

其中所述纳米聚集体可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的所述生物活性剂;

其中所述聚合物是水溶性的;并且

其中所述聚合物包括:

一种第一聚合物,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和一个用亲水部分改性的第二端基,其中所述第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的所述疏水部分,所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,并且所述第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;或

一种第二聚合物,其包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD);乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合;聚(乙二醇)(PEG);聚(乳酸)(PLA);聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA);聚(环氧丙烷)(PPO);聚己内酯(PCL);**Pluronic**[®](PPO-PEO);聚(γ -L-谷氨酸)(PGA);聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE);聚(L-赖氨酸)(PLL);甲基PEG(mPEG);聚(天冬氨酸)(PasP);聚(L-组氨酸)(PLH);聚(乙烯胺)(PEI);聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP);聚(L-亮氨酸)(PLLeu);脱氧胆酸(DOCA);羟丙基甲基纤维素(HPMC);聚(羟基丁酸酯)(PHB);聚(环氧乙烷)(PEO);聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG);磷脂酰丝氨酸(PS);聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA);聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH);聚(γ -炔丙基)(PP);或

其组合。

58. 根据权利要求57所述的纳米聚集体,其中所述聚合物包括聚噁唑啉(POX),所述聚噁唑啉包括线型部分、支化部分、或其组合,并且其中所述聚噁唑啉(POX)包括聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)和聚(异丙基噁唑啉),或其组合。

59. 根据权利要求58所述的纳米聚集体,其中所述聚噁唑啉是聚(2-乙基噁唑啉)。

60. 根据权利要求57至59中任一项所述的纳米聚集体,其中所述聚噁唑啉包括在50:1至80:1范围内的单体与引发剂的摩尔比。

61. 根据权利要求57至60中任一项所述的纳米聚集体, 其中1%至100%的所述第二端基不含伯胺。

62. 根据权利要求57至61中任一项所述的纳米聚集体, 其中1%至100%的所述第二端基包括羟基。

63. 根据权利要求57至62中任一项所述的纳米聚集体, 其中在冻干前所述纳米聚集体的大小为小于120nm。

64. 根据权利要求57至63中任一项所述的纳米聚集体, 其中所述纳米聚集体具有在约2:1至约200:1范围内的所述聚合物与所述生物活性剂的重量比。

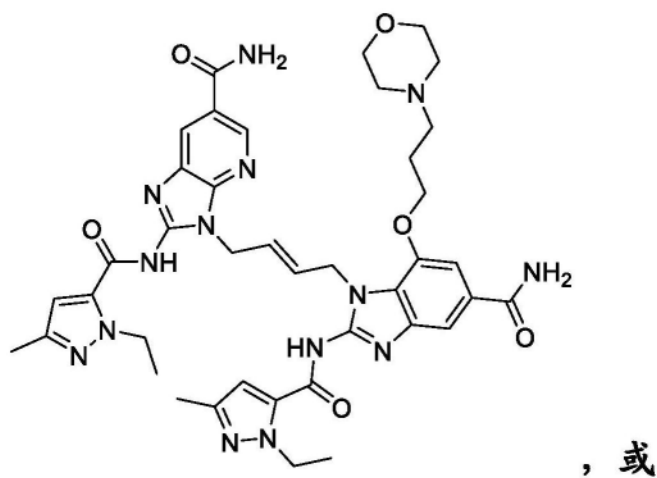
65. 根据权利要求57至64中任一项所述的纳米聚集体, 其中所述纳米聚集体具有在约5:1至约8:1范围内的所述聚合物与所述生物活性剂的重量比。

66. 根据权利要求57至65中任一项所述的纳米聚集体, 其中所述纳米聚集体不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。

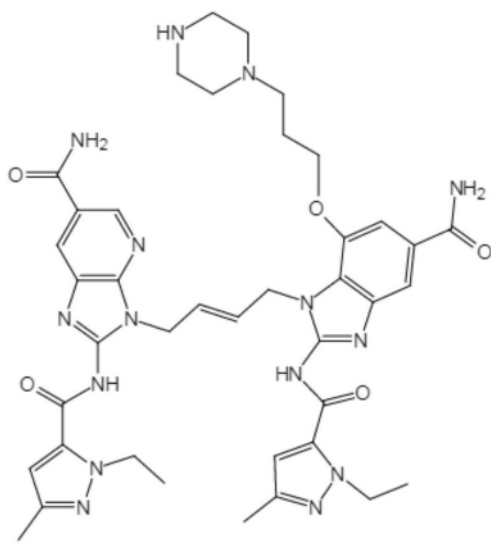
67. 根据权利要求57至66中任一项所述的纳米聚集体, 其中所述药物组合物是用于治疗或预防选自免疫疾病、传染病及其组合的疾病的药物。

68. 根据权利要求57至67中任一项所述的纳米聚集体, 其中所述生物活性剂包括至少一种具有式(1)-式(29)的化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

69. 根据权利要求68所述的纳米聚集体, 其中所述生物活性剂包括具有下式的化合物式(1)



式(4)



，或

其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

70. 纳米聚集体用于制备用于治疗疾病的药物的用途, 所述纳米聚集体包括一种聚合物和至少一种生物活性剂, 所述生物活性剂包括至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或者其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合; 和任选地一种药学上合适的载体;

其中所述疾病选自免疫疾病、传染病,及其组合;

其中所述纳米聚集体可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的所述生物活性剂;

其中所述聚合物是水溶性的;并且

其中所述聚合物包括:

一种第一聚合物,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和一个用亲水部分改性的第二端基,其中所述第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的所述疏水部分,所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,并且所述第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;或

一种第二聚合物,其包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD);乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合;聚(乙二醇)(PEG);聚(乳酸)(PLA);聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA);聚(环氧丙烷)(PPO);聚(己内酯)(PCL);**Pluronic**[®](PPO-PEO);聚(γ -L-谷氨酸)(PGA);聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE);聚(L-赖氨酸)(PLL);甲基PEG(mPEG);聚(天冬氨酸)(PasP);聚(L-组氨酸)(PLH);聚(乙烯胺)(PEI);聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP);聚(L-亮氨酸)(PLL_{eu});脱氧胆酸(DOCA);羟丙基甲基纤维素(HPMC);聚(羟基丁酸酯)(PHB);聚(环氧乙烷)(PEO);聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG);磷脂酰丝氨酸(PS);聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA);聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH);聚(γ -炔丙基)(PP);或

其组合。

71. 根据权利要求70所述的用途,其中所述聚合物包括所述第一聚合物。

72. 根据权利要求70至71中任一项所述的用途,其中所述聚合物包括聚噁唑啉(POX),

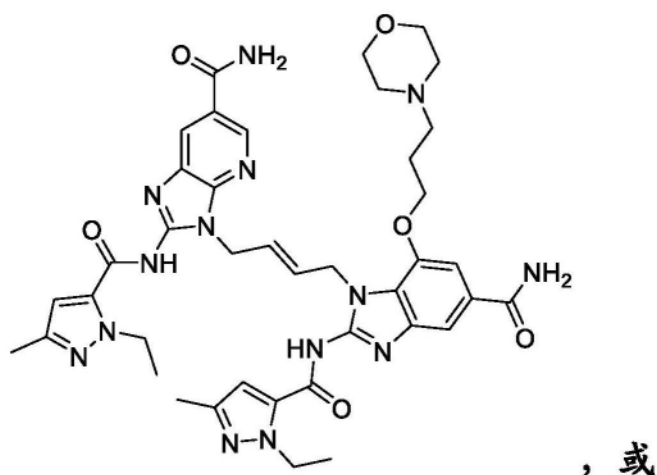
所述聚噁唑啉包括线型部分、支化部分、或其组合,并且其中所述聚噁唑啉(POX)包括聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)和聚(异丙基噁唑啉),或其组合。

73. 根据权利要求70所述的用途,其中所述聚合物包括所述第二聚合物,所述第二聚合物包括所述一种或多种羟基树枝状聚合物(HD); 乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合; 聚(乙二醇)(PEG); 聚(乳酸)(PLA); 聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA); 聚(环氧丙烷)(PPO); 聚(己内酯)(PCL); **Pluronic[®]**(PPO-PEO); 聚(γ -L-谷氨酸)(PGA); 聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE); 聚(L-赖氨酸)(PLL); 甲基PEG(mPEG); 聚(天冬氨酸)(PasP); 聚(L-组氨酸)(PLH); 聚(乙烯胺)(PEI); 聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP); 聚(L-亮氨酸)(PLLeu); 脱氧胆酸(DOCA); 羟丙基甲基纤维素(HPMC); 聚(羟基丁酸酯)(PHB); 聚(环氧乙烷)(PEO); 聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG); 磷脂酰丝氨酸(PS); 聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA); 聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH); 聚(γ -炔丙基)(PP); 或其组合。

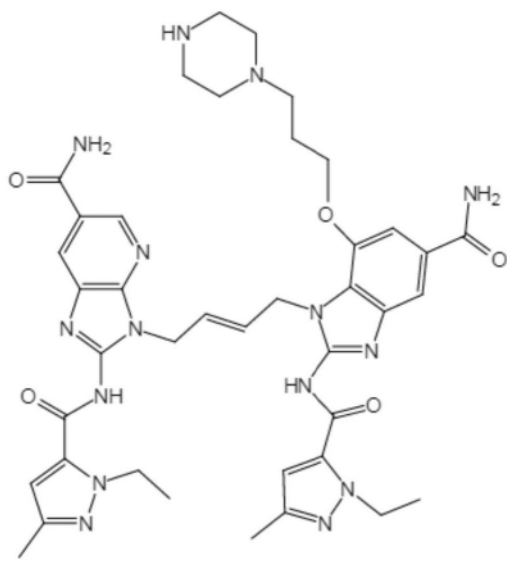
74. 根据权利要求70至73中任一项所述的用途,其中所述药物组合物是用于治疗或预防选自免疫疾病、传染病及其组合的疾病的药物。

75. 根据权利要求70至74中任一项所述的用途,其中所述生物活性剂包括至少一种具有式(1)-式(29)的化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

76. 根据权利要求75所述的用途,其中所述生物活性剂包括具有下式的化合物
式(1)



式(4)



其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

77. 根据权利要求70至76中任一项所述的用途, 其中所述药物是疫苗的佐剂。

78. 根据权利要求70至77中任一项所述的用途, 其中所述药物是预防性疫苗、治疗性疫苗、或其组合, 其中所述药物包括所述佐剂, 并且进一步包括至少一种免疫剂, 用于刺激需要其的受试者的免疫应答。

79. 根据权利要求70至78中任一项所述的用途, 其中所述药物被配制用于治疗或预防至少一种传染病, 所述传染病选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡, 及其组合。

80. 根据权利要求70至79中任一项所述的用途, 其中1%至100%的所述第二端基不含伯胺。

81. 根据权利要求70至80中任一项所述的用途, 其中1%至100%的所述第二端基包括羟基。

纳米胶囊化药物组合物及其用途

[0001] 电子序列表的引用

[0002] 本申请在以下说明书中包含序列表,并且其电子版本以.XML格式通过电子方式提交,并以引用的方式全文纳入本说明书。所述.XML副本创建于2023年2月4日,命名为“010816-16093001.xml”,并且大小为33,108字节。在同时提交的.XML文件中包含的序列表是本说明书的一部分,并以引用的方式全文纳入本说明书。

技术领域

[0003] 本公开内容涉及一种药物组合物和用于治疗或预防需要其的患者的疾病的方法。所述药物组合物可以是疫苗或佐剂。

背景技术

[0004] 合成聚合物已被证明在药物制剂中作为有效的递送载体或作为赋形剂具有重要应用。

[0005] 对称支化聚合物(Symmetrically branched polymers,SBP),例如树枝状聚合物,包括星爆树枝状聚合物(Starburst dendrimer)(或致密星状聚合物(Dense Star polymer)) and 梳爆树枝状接枝物(Combburst dendrigraft)(或超梳状支化聚合物),是一些实例。那些聚合物通常具有:(a)明确限定的核,(b)至少两个具有对称(等长)支链和支链接合点的同心树枝状层(代),以及(c)外部表面基团,例如在美国专利号4,435,548;4,507,466;4,568,737;4,587,329;5,338,532;5,527,524和5,714,166中记载的基于聚酰胺胺(polyamidoamine)(PAMAM)的支化聚合物和树枝状聚合物。其他实例包括聚乙烯亚胺(PEI)树枝状聚合物,例如美国专利号4,631,337中公开的那些树枝状聚合物;聚丙烯亚胺(PPI)树枝状聚合物,例如美国专利号5,530,092;5,610,268和5,698,662中公开的那些树枝状聚合物;Frechet型聚醚和聚酯树枝状聚合物、核壳构造树枝状聚合物(core shell tectodendrimer)和其他树枝状聚合物,例如记载于“Dendritic Molecules,”,edited by Newkome et al.,VCH Weinheim,1996,“Dendrimers and Other Dendritic Polymers,”,edited by Frechet&Tomalia,John Wiley&Sons,Ltd.,2001;和美国专利号7,754,500的树枝状聚合物。

[0006] 梳爆树枝状接枝物是通过逐步合成的方法用一个核分子和具有对称支链的同心层构造。与树枝状聚合物相比,梳爆树枝状接枝物或聚合物是用单分散线型聚合物结构单元(building block)生成的(美国专利号5,773,527、5,631,329和5,919,442)。此外,支化模式与树枝状聚合物不同。例如,梳爆树枝状接枝物沿着聚合物骨架形成支链接合点(链支链),而星爆树枝状接枝物通常在末端支化(末端支链)。由于所使用的活性聚合技术,这些聚合物(核和支链)的分子量分布(M_w/M_n)通常很窄。因此,通过接枝-接枝方法(graft-on-graft process)产生的梳爆树枝状接枝物被明确限定为 M_w/M_n 比通常接近1。

[0007] SBP(例如树枝状聚合物)主要是通过发散或汇聚的合成方法通过重复的保护和脱保护程序产生的。由于树枝状聚合物利用小分子作为核和支链的结构单元,因此树枝状聚

合物的分子量分布通常是被限定的。在较低代的情况下,通常会获得单一分子量的树枝状聚合物。树枝状聚合物通常使用小分子单体作为结构单元,而树枝状接枝物使用线型聚合物作为结构单元。

[0008] 除了树枝状聚合物和树枝状接枝物外,其他SBP可以包括对称的星状(star-shaped)或梳形(comb-shaped)聚合物,例如对称的星状和梳形聚环氧乙烷(PEO)、聚乙二醇(PEG)、聚乙烯亚胺(PEI)、聚丙烯亚胺(PPI)、聚噁唑啉(polyoxazoline,POX)、聚甲基噁唑啉(polymethyloxazoline,PMOX)、聚乙基噁唑啉(polyethyloxazoline)(PEOX)、聚丙基噁唑啉(polypropyloxazoline,PPOX)、聚苯乙烯、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)或聚二甲基硅氧烷。

[0009] 不对称支化聚合物(ABP)可以有两种不同的类型:规整ABP和无规ABP。不对称支化树枝状聚合物或规整ABP(reg-ABP)通常具有核、受控和明确限定的不对称(不等长度)支链和不对称支链接合点,如在美国专利号4,289,872;4,360,646和4,410,688中记载的。另一方面,无规ABP(ran-ABP)具有:a)没有核,b)外部和内部的官能团,c)无规/可变的支链长度和模式(即末端支链和链支链),和d)不均匀分布的内部空隙空间(interior void space)。

[0010] 无规ABP的合成和机理(例如由PEI所制备的那些无规ABP)报道于Jones et al., J.Org.Chem.9,125(1944),Jones et al.,J.Org.Chem.30,1994(1965)和Dick et al., J.Macromol.Sci.Chem.,A4(6),1301-1314,(1970)。无规ABP(例如由POX、聚(2-噁唑啉)、聚(2-甲基噁唑啉)(PMOX)和聚(2-乙基噁唑啉)(PEOX)所制备的那些无规ABP)报道于Litt(J.Macromol.Sci.Chem.A9(5),703-727(1975))和Warakomski(J.Polym.Sci.Polym.Chem.28,3551(1990))。无规ABP的合成通常涉及一锅发散法或一锅汇聚法。

[0011] 聚合物也可以是均聚物或共聚物。共聚物是由不同单体或不同单体重复单元聚合而成的聚合物或聚合物骨架。均聚物可以涉及由相同重复单元组成的聚合物或聚合物骨架,即均聚物是由相同的单体生成的。单体可以是简单的化合物或复合物或化合物的集合物,其中集合物或复合物是均聚物中的重复单元。

[0012] 尽管支化聚合物(包括SBP和ABP)已被用于药物递送,但这些尝试主要集中在药物与聚合物的化学连接上,或通过单分子包封将这些药物物理包封在内部(例如美国专利号5,773,527;5,631,329;5,919,442;和6,716,450中所记载的那些)。例如树枝状聚合物和树枝状接枝物被认为是使用单分子包封方法物理性地捕获生物活性分子,如美国专利号5,338,532、5,527,524和5,714,166中关于致密星状聚合物的记载,以及美国专利号5,919,442中关于超梳状支化聚合物的记载。类似地,使用SBP进行各种药物的单分子包封以形成“树枝状聚合物盒”报道于Tomalia et al.,Angew.Chem.Int.Ed.Engl.,1990,29,138以及“Dendrimers and Other Dendritic Polymers”,edited by Frechet&Tomalia,John Wiley&Sons,Ltd.,2001,第387-424页。

[0013] 具有疏水核和亲水壳的支化核壳聚合物可用于通过分子包封捕获弱水溶性的(poorly water soluble)药物。具有亲水核和疏水壳的无规支化和超支化核壳结构也被用于通过单分子包封和预成型的(pre-formed)纳米胶束运载药物(美国专利号6,716,450,和Liu et al.,Biomaterials 2010,10,1334-1341)。然而,这些单分子和预成型的胶束结构是在不存在药物的情况下生成的。

[0014] 观察嵌段共聚物,例如杂臂聚合物(miktoarm polymer)(即Y形/AB₂型星状聚合物)和线型(A)-树枝状(B)嵌段共聚物与紫杉醇形成立体复合物(Nederberg et al., Biomacromolecules 2009,10,1460-1468和Luo et al., Bioconjugate Chem.2010,21, 1216)。这些嵌段共聚物与传统的脂质或AB型线型嵌段共聚物非常相似,这是用于生成胶束的众所周知的表面活性剂。然而,这样的支化嵌段共聚物很难制备,因此不适合大规模生产。

[0015] 水不溶性(water insoluble)或弱水溶性的生物活性剂很难配制。通常,可能需要多种表面活性剂、去垢剂和其他材料或复杂的高能乳化过程。大生物分子(例如白蛋白)已被用于水不溶性紫杉醇的某些制剂中,例如Celgene和Bristol-Myers Squibb各自商标下的**Abraxane**[®]。然而,这样的生物分子的可用性和大规模生产面临着重大挑战。

[0016] 疫苗可以帮助身体识别和破坏某些靶标,例如导致感染的微生物或其他病原体。佐剂通常用于改性(modify)、增强或增加疫苗的效能或效力,以提供对特定疾病更佳的免疫力。自20世纪30年代以来,含铝佐剂已被用于疫苗。添加少量的铝有助于身体建立对微生物更强的免疫力。单磷酸脂质A(MPL)(也称为“AS04”)用于美国疫苗(**Cervarix**[®]),具有增强免疫的作用。MF59是一种基于水包油乳剂的佐剂,其含有角鲨烯(一种天然存在的油,存在于许多植物和动物细胞以及人体中)。MF59佐剂自1997年起在欧洲和自2016年起在美国用于**Fluad**[®](一种被许可用于65岁或以上成年人的流感疫苗)。另一种佐剂AS01B是与Shingrix疫苗的抗原组分一起使用的佐剂悬液。AS01B由单磷酸脂质A(MPL)和从智利皂皮树(*Quillaja saponaria* Molina)中提取的天然化合物QS-21制备。AS01B也是目前正在临床试验中测试的疫苗(包括疟疾和艾滋病毒疫苗)的一种组分。

[0017] 持续需要可以更有效地递送药物或通过刺激更佳的免疫力来提高免疫原性(例如疫苗效能)的新的药物制剂。

发明内容

[0018] 在一些情况下,本发明涉及一种药物组合物,其包括:纳米聚集体,其包括聚合物和至少一种生物活性剂,例如包括至少一种干扰素基因刺激剂(STING)多肽或其部分、编码STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合;和任选地药学上合适的载体;其中所述药物组合物可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的生物活性剂;其中所述聚合物是水溶性的;并且其中所述聚合物包括:一种第一聚合物,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基(the first terminal group)和一个用亲水部分改性的第二端基(the second terminal group),其中所述第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合;并且第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺(imide)、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;一种第二聚合物;或其组合。

[0019] 在一些情况下,药物组合物可以是用于治疗或预防选自免疫疾病(immune disorder)、传染病及其组合的疾病的药物。在一些情况下,药物组合物可以是佐剂(Nano-Adjuvant(纳米佐剂)),以增强(例如对于疫苗的)免疫应答(immune response)。在一些情

况下,药物组合物可以是预防性疫苗、治疗性疫苗、或其组合,其中药物组合物包括佐剂(Nano-Adjuvant),并进一步包括至少一种用于刺激需要其的受试者的免疫应答的免疫剂。

[0020] 在一些情况下,本发明涉及一种治疗或预防需要其的受试者的疾病的方法,所述方法包括向受试者施用有效剂量的本文公开的药物组合物。

附图说明

[0021] 图1A-图1D SBP的实例包含(图1A)树枝状聚合物,(图1B)树枝状接枝物,(图1C)规整梳状支化聚合物和(图1D)星状支化聚合物。它们都具有一个核,为球形或线型。

[0022] 图2A和图2B对称支化聚丙烯亚胺(PPI)树枝状聚合物的化学结构的实例。图2A:一种含有4-PPI的树枝状聚合物。图2B:一种含有额外的8-PPI的树枝状聚合物。

[0023] 图3对称支化PPI树枝状聚合物的化学改性反应的实例。数字8、16、32、64、128等表示树枝状聚合物表面处的反应性基团(reactive group)的数量。

[0024] 图4A和图4B具有不对称支链接合点和模式的无规(图4A)和规整(图4B)不对称支化聚合物(ABP)的示意性实例。

[0025] 图5无规不对称支化PEI均聚物的化学结构的实例。

[0026] 图6A-图6C合成方案的实例。图6A:无规不对称支化PEI均聚物的化学改性反应。图6B:在聚合物的焦点处具有伯氨基的疏水改性的无规支化聚(2-乙基噁唑啉)的一锅法合成的实例。引发剂/表面基团(I)是溴化的烃。所述反应打开噁唑啉环。图6C:具有不同的第一端基和第二端基的聚合物的非限制性实例。

[0027] 图7A和图7B在支化聚合物(图7A)SBP和(图7B)ABP的表面结构域(domain)或区域(region)中或者表面结构域或区域处负载的药物的举例说明的示意性实例。在本图和其他图中,R表示表面基团,并且实心圆表示生物活性剂,例如目的药物。

[0028] 图8同时含有药物分子(实心圆)和具有表面基团(R)的支化聚合物的纳米颗粒的实例的示意性举例说明。

[0029] 图9A和图9B在支化聚合物(图9A)SBP和/或(图9B)ABP的疏水表面基团处负载的水不溶性或弱水溶性的药物的举例说明的示意性实例。在本图和其他图中,一条细波浪线表示一个疏水表面基团。

[0030] 图10A和图10B各种包括SBP(图10A)和包括ABP(图10B)的含药物的纳米颗粒的示意性实例,所述纳米颗粒还携带至少一个靶向基团或部分,例如抗体,在本图和其他图中以“Y”表示。

[0031] 图11A-图11D STING激动剂的实例的结构式。图11A:式(1)-(6)。图11B:式(7)-(12)。图11C:式(13)-(18)。图11D:式(19)-(24)。图11E:式(25)-(29)。

[0032] 图12具有3个RBD序列的受体结合结构域(RBD)抗原构建体的实例。AG1-AG6中未显示接头(Linker)。

[0033] 图13A-图13F表达盒和相应RBD抗原融合蛋白的实例的代表性示意性举例说明。图13A:一些相关病毒(例如冠状病毒(CoV))的系统发生树。图13B:RBD抗原融合蛋白的实例。图13C:具有3个RBD(带有L15接头)的抗原的实例。图13D:具有3个RBD(带有L20接头)的抗原的实例。图13E:具有2个RBD的抗原的实例。图13F:具有2个RBD的抗原的另一实例。

[0034] 图14来自各种 β 冠状病毒的RBD序列的代表性序列比对的实例。

[0035] 图15A-图15D小鼠中免疫应答的实例。图15A:鼻疫苗接种后6小时的细胞因子mRNA水平。图15B:两剂疫苗接种后,特异性针对SARS-CoV-2RBD的血清IgG水平。图15C:两剂疫苗接种后,特异性针对SARS-CoV RBD的血清IgG水平。图15D:两剂疫苗接种后,特异性针对中东呼吸综合征(Middle East Respiratory Syndrome,MERS)-CoV RBD的血清IgG水平。

[0036] 图16A-图16D首次免疫(3剂)后第63天时小鼠的免疫应答的实例。图16A:三剂疫苗接种后,特异性针对SARS-CoV-2RBD的血清IgG水平。图16B:三剂疫苗接种后,特异性针对SARS-CoV-2RBD的血清IgA水平。图16C:三剂疫苗接种后,特异性针对SARS-CoV-2RBD的BAL IgA水平。图16D:三剂具有不同佐剂的疫苗接种后,特异性针对SARS-CoV-2(D614G)RBD的中和抗体水平。

[0037] 图17A-图17D鼻内(IN)免疫后,肺和脾中细胞免疫应答的实例。图17A:脾IFN- γ 数据。图17B:肺IFN- γ 数据。图17C:脾IL-4数据。图17D:肺IL-4数据。

[0038] 图18A-图18D鼻内(IN)和肌内(IM)免疫的剂量水平和IgG免疫应答的实例。图18A:特异性针对SARS-CoV-2RBD的血清IgG。图18B:特异性针对SARS-CoV RBD的血清IgG。图18C:特异性针对MERS-CoV RBD的血清IgG。

[0039] 图19A-图19D鼻内(IN)免疫的中和抗体的实例。图19A:特异性针对SARS-CoV-2(D614G株)的中和抗体的水平。图19B:特异性针对SARS-CoV-2(BA.5株)的中和抗体的水平。图19C:特异性针对SARS-CoV的中和抗体的水平。图19D:特异性针对MERS-CoV的中和抗体的水平。

[0040] 图20A-图20C猴(恒河猴,Macaca mulatta)的IgG免疫应答的测量数据的实例。图20A:血清中的IgG水平。图20B:BAL中的IgG水平。图20C:NAL中的IgG水平。

[0041] 图21A-图21F猴(恒河猴)的中和抗体的测量数据的实例。图21A:特异性针对SARS-CoV-2(D614G株)的中和抗体的水平。图21B:特异性针对SARS-CoV-2(Delta株)的中和抗体的水平。图21C:特异性针对SARS-CoV-2(BA.5株)的中和抗体的水平。图21D:特异性针对SARS-CoV-2(BA.2.2株)的中和抗体的水平。图21E:特异性针对SARS-CoV的中和抗体的水平。图21F:特异性针对MERS-CoV的中和抗体的水平。

具体实施方式

[0042] 通过阅读以下具体实施方式,本领域普通技术人员将更容易理解本发明的特征和优点。应当理解,上文所述和下文在单独实施方案的背景下所述的本发明的某些特征也可以在单个实施方案中组合提供。相反,为了简洁起见,在单个实施方案的背景下描述的本发明的各种特征也可以单独提供或以任何组合或子组合提供。此外,除非上下文另有明确规定,否则单数形式的参考对象(reference)也可包括复数形式(例如,“一(a)”和“一个(an)”可能指一个,或者一个或多个)。

[0043] 除非另有明确说明,否则本申请中指定的各种范围内的数值的使用都表述为近似值,就像所述范围内的最小值和最大值都以“约”一词修饰一样。通过这种方式,可以使用高于和低于所述范围的微小变化来实现与范围内的值基本相同的结果。此外,范围的公开内容旨在作为一个连续的范围,包括最小值和最大值之间的每个值,并包括引用的最小值和最大值。

[0044] 本公开内容中的药物溶解度(drug solubility)定义为,相对于溶解一部分生物

活性剂或药物所需的溶剂部分,<30(可溶性(soluble))、30-100(弱溶性(poorly soluble))和>100(不溶性(insoluble))。水溶性(Water solubility)在本文中定义为,相对于溶解一部分生物活性剂或药物所需的水部分,<30(水溶性)、30-100(弱水溶性)和>100(水不溶性)。

[0045] 为了本公开内容的目的,尽管存在不同长度的支链并且支链无规地存在,无规支化的PEI仍被视为均聚物,因为所述支化聚合物由单一单体、乙烯亚胺(ethyleneimine)或氮丙啶(aziridine)重复单元组成。由于(AB)重复单元中A和B是不同的单体,具有“(AB)-(AB)-(AB)……”结构的聚合物也可以被视为均聚物。均聚物可以是线型的或支化的。此外,一种或多种单体或复合单体(complex monomer)组分可以被改性、取代、衍生化等,例如改性以携带官能团。为了本公开内容的目的,这样的分子是均聚物,因为聚合物骨架由单一类型的简单单体(simple monomer)或复合单体组成。

[0046] 术语“聚合物”是指如上文和下文所定义的适用于本发明的任何聚合物。在实例中,聚合物可以包括本文公开的聚噁唑啉或改性聚噁唑啉。在进一步的实例中,聚合物可以包括改性聚噁唑啉,其可以包括一个或多个第二端基,例如-NH₂、-NH、-NH₃⁺、其他碱性基团、或其组合,条件是0.01%至100%的第二端基不含伯胺。在一些情况下,0.01%至100%、0.1%至100%,或1%至100%的第二端基不含伯胺。在一些情况下,1%至100%的第二端基可以包括羟基。所有百分比均基于第二端基的总数。

[0047] 术语“生物活性剂(bioactive agent,bioactive agents)”是指可以在体内、体外、或其组合中提供生物活性的分子、化合物、一种或多种化合物或分子的复合物,或其组合。药物组合物可以包括一种或多种生物活性剂,例如,药物活性剂(PAA)或活性药物成分(API),以及其他生物活性或惰性化合物,其可以包括润肤剂、抗氧化剂(例如虾青素)、漂白剂、止汗剂、药物、保湿剂、香味剂(scent)、着色剂、佐剂、颜料、染料、抗氧化剂、油、脂肪酸、脂质、无机盐、有机分子、遮光剂(opacifier)、维生素、药物、角质软化剂(keratolytic agent)、紫外线阻断剂(UV blocking agent)、晒黑促进剂(tanning accelerator)、脱色剂、除臭剂、香水、驱虫剂、或其组合。本公开内容中详细描述了生物活性剂的一些实例。在一些情况下,术语“生物活性剂”可以包括STING多肽、编码所述STING多肽的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合。

[0048] 术语“药学上合适的载体(pharmaceutical suitable carrier,pharmaceutical suitable carriers)”、“药学上合适的载体(pharmaceutically suitable carrier,pharmaceutically suitable carriers)”是指获批准的药物产品中的一种或多种非活性成分。美国食品和药品管理局(FDA)维护和更新的“获批准药物产品中的非活性成分”数据库中列出的非活性成分可能是合适的。在一些情况下,药学上合适的载体也可以称为赋形剂。

[0049] 本公开内容中使用的术语“受试者”是指动物、人类或人类患者。术语“动物”是指野生动物、捕获或动物园饲养的动物、和驯养的动物,其包含牲畜、农场动物、宠物、实验动物,例如马、牛、猪、驴、骡、骆驼、山羊、绵羊、猴、兔、狗、猫、小鼠(mouse)、大鼠(rat)等。温血动物是合适的。术语“人类”是指患有的一种或多种需要治疗的疾病的人类患者、患有与治疗无关的一种或多种疾病的人、或健康人。在一些情况下,受试者可以是人类患者或健康人。

[0050] 术语“抗体(antibody,antibodies)”或“抗体片段(fragment of an antibody)”

可以包括选择性结合抗原的天然或合成抗体。所述术语包括从动物、细胞(包括真核或原核细胞)、无细胞系统或化学合成中产生的多克隆和单克隆抗体。除了完整的免疫球蛋白分子外,术语“抗体”还包括那些免疫球蛋白分子的片段或聚合物,以及选择性结合靶抗原的免疫球蛋白分子的人或人源化形式(version)。

[0051] 本公开内容中使用的术语“水溶液(aqueous solution, aqueous solutions)”是指包括80%至100%水的溶液,百分比基于水溶液的总的非固体重量(non-solid weight)。水溶液可以进一步包括额外的组分,例如盐、酸、碱、缓冲剂、溶剂、有机溶剂、颗粒剂、乳剂、固体或非固体、去垢剂、小分子、大分子、其他成分、或其组合。术语“非固体重量”是指水溶液干燥(例如通过去除所有水或其他液体)后的固体含量的重量。

[0052] 术语“传染病(infectious disease, infectious diseases)”是指由有害生物(病原体)导致的疾病,例如细菌、病毒、真菌、原生动物、蠕虫、寄生虫、朊病毒、其部分、或其组合。传染病可以通过接触动物、昆虫或通过受污染的食物、水或土壤在人与人之间传播。传染病的一些实例可以包括水痘(Chickenpox, Varicella)、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感(Influenza)、肝炎、Hib病(Hib Disease)、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘(Monkeypox)、流行性腮腺炎、诺如病毒(Norovirus)、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹(Herpes zoster)、破伤风(Tetanus, Lockjaw)、百日咳(Whooping Cough, Pertussis)、寨卡和其他已知疾病,或尚未出现或尚未被鉴定的疾病。

[0053] 术语“疫苗(vaccine, vaccines)”是指一种或一组物质,其旨在使受试者(例如,人类或动物)的免疫系统对微生物(例如细菌、病毒、真菌、原生动物、蠕虫、寄生虫、朊病毒或其他有害生物(病原体))产生响应。疫苗可以帮助身体识别和破坏微生物或其他病原体细胞。在一些情况下,疫苗可以包括来自微生物或其他病原体细胞的蛋白质、编码所述蛋白质的核酸、毒素、核酸、寡核酸;DNA;RNA;mRNA;siRNA;单向导RNA(sgRNA);或其组合。在一些情况下,疫苗可以包括旨在使免疫系统对微生物或其他病原体产生响应的改性的蛋白质、编码所述改性的蛋白质的核酸、毒素、核酸、改性的核酸、寡核酸,或改性的寡核酸;DNA;RNA;mRNA;siRNA;sgRNA;或其组合。改性的或合成的DNA、RNA、mRNA、siRNA、sgRNA、或其组合也可能是合适的。

[0054] 术语“佐剂(adjuvant, adjuvants)”是指药物、物质、生物活性剂、试剂、或其组合,其用于改性、增强或增加免疫原(例如疫苗)的效能或效力,以提供针对特定抗原(例如特定疾病)更好的免疫力。佐剂可以包括一种或多种有机分子;可以模拟特定病原体相关分子模式的抗原分子,包括脂质体、脂多糖、抗原的分子笼(molecular cages for antigen)、细菌细胞壁组分和内吞核酸,例如RNA、双链RNA(dsRNA)、DNA、单链DNA(ssDNA)、含甲基化或非甲基化CpG二核苷酸的DNA;无机化合物,例如钾明矾、氢氧化铝、磷酸铝、羟基磷灰石(calcium phosphate hydroxide);油类,例如石蜡油、蜂胶、花生油;细菌产物,例如灭活的细菌;植物产物,例如来自大豆或其他植物的那些产物;细胞因子,例如IL-1、IL-2或IL-12;或其组合。

[0055] 术语“异构体(isomer, isomers)”是指共享相同化学式但其原子以不同方式连接或以不同方式空间排列的分子,包括各原子以不同顺序键合在一起的结构异构体,原子以相同顺序键合但键周围构型不同的几何异构体,例如顺式异构体或反式异构体,以及具有相同化学结构但不对称碳周围的原子的三维排列不同,使得其彼此成镜像的对映异构体。

[0056] 术语“混合(admix,ad-mix,admlxed,admixing)”、“共混合(co-admix,co-admlxed,co-admixing)”或其语法变化是指在给药前混合两种或更多种不同的药物产品,因此对两种或更多种药物产品只进行一次给药,例如注射。混合通常可以在二级容器(secondary container)中进行,在其中两种或更多种药物产品可以混合在一起,并且通常可以在给药前保存有限的时间(通常少于几天,例如少于1-3天、少于24小时、少于8小时或少于4小时)。

[0057] 术语“共配制(coformulation、coformulate、coformulating、co-formulating、co-formulated、co-formulate、co-formulation)”或其语法变化是指在同一初级包装(primary packaging)(用于口服剂量的药丸,例如,用于注射剂的小瓶(vial))中配制在一起的两种或更多种药物物质(drug substance)。由于两种或更多种药物物质已经混合,因此不再需要混合。所述共配制在一起的两种或更多种药物物质可以长时间储存,例如,6个月、12个月、24个月或更长时间。一种或多种药学上可接受的赋形剂可用于共配制中。

[0058] 术语“预混(pre-mix、pre-mixed、premix、premixed)”可以指“混合(admix、admixing、admixed)”、“共配制(coformulate、coformulated、coformulating、co-formulate、co-formulated、co-formulating)”或其组合。

[0059] 本公开内容全文中使用的术语“变体(variant、variants)”、“其变体(variant thereof、variants thereof)”指例如病原体或其部分的变体或非相同的形式。在一些情况下,所述术语可以指病原体的变体蛋白质、DNA或RNA。在一些情况下,所述术语是指冠状病毒的变体。在一些情况下,变体可以包括变体冠状病毒的刺突糖蛋白(S蛋白)或其部分的变体、刺突糖蛋白受体结合结构域(RBD)多肽或其部分的变体、膜蛋白(M蛋白)或其部分的变体、包膜蛋白(E蛋白)或其部分的变体。在一些情况下,变体可以包括在英国发现的变体(B.1.1.7)(带有N501Y突变的SARS-CoV-2 α)、在南非发现的变体(B.1.351)(带有K417N、E484K和N501Y突变的SARS-CoV-2 β)、在日本/巴西发现的变体(P.1)(带有K417T、E484K和N501Y突变的SARS-CoV-2 γ)、在印度发现的变体(SARS-CoV-2 δ)、在美国(加利福尼亚州)发现的变体(B.1.427)、在美国(加利福尼亚州)发现的变体(B.1.429)、B.1.525变体(首次在英国/尼日利亚发现)、B.1.526(首次在美国(纽约)发现)、B.1.526.1、B.1.617(首次在美国发现,带有L452R、E484Q、D614G突变)、B.1.617.1(首次在美国发现,至少带有154K突变和其他位置的突变)、B.1.617.3(首次在美国发现,带有T19R、G142D、L452R、E484Q、D614G、P681R、D950N突变)、P.2(首次在美国发现,带有至少E484K、D614G、V1176F突变),或衍生自SARS-CoV-2的冠状病毒的其他变体,由US CDC(美国疾病预防控制中心)公布(<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-info.html>)。在一些情况下,变体可以包括S蛋白、N蛋白、E蛋白或M蛋白中的突变、缺失、或其组合。在一些情况下,变体可以包括S蛋白的第417、484、501、677或681位,M蛋白的第85位,N蛋白的第377位、或其组合中的一个或多个处的一个或多个突变。在一些情况下,变体可以包括S蛋白的E501Y、E484K、或其组合。

[0060] 在一些情况下,本公开内容涉及一种药物组合物,其包括:

[0061] 一种纳米聚集体,其包括一种聚合物和至少一种生物活性剂,所述生物活性剂包括至少一种STING多肽或其部分、编码STING多肽或者其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合;并且

[0062] 任选地,一种药学上合适的载体;

[0063] 其中所述药物组合物可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的生物活性剂;

[0064] 其中所述聚合物是水溶性的;并且

[0065] 其中所述聚合物包括:

[0066] 一种第一聚合物,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和一个用亲水部分改性的第二端基,其中第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;

[0067] 一种第二聚合物;或

[0068] 其组合。

[0069] 在一些情况下,所述聚合物可以包括一种第一聚合物,如本文所公开的,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和一个用亲水部分改性的第二端基,其中第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分可以包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团。

[0070] 在一些情况下,所述聚合物可以由第一聚合物构成,如本文所公开的,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和一个用亲水部分改性的第二端基,其中第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分可以包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团。在一些情况下,药物组合物可以不含选自以下的聚合物:一种或多种羟基树枝状聚合物(HD);乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物(ethylene diamine-core poly(amidoamine)(PAMAM)hydroxyl-terminated generation-4,5,6,7,8,9,10dendrimers),或其组合;聚(乙二醇)(PEG);聚(乳酸)(PLA);聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(poly(lactic-co-glycolic acid),PLGA);聚(环氧丙烷)(poly(propylene oxide),PPO);聚(己内酯)(PCL);**Pluronic[®]**(PPO-PEO);聚(γ -L-谷氨酸)(PGA);聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE);聚(L-赖氨酸)(PLL);甲基PEG(mPEG);聚(天冬氨酸)(poly(aspartamic acid))(PasP);聚(L-组氨酸)(PLH);聚(乙烯胺)(PEI);聚(N-乙烯吡咯烷酮)(poly(N-vinylpyrrolidone),PVP);聚(L-亮氨酸)(PLLeu);脱氧胆酸(DOCA);羟丙基甲基纤维素(HPMC);聚(羟基丁酸酯)(PHB);聚(环氧乙烷)(PEO);聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG);磷脂酰丝氨酸(PS);聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA);聚(烯丙胺盐酸盐)(poly(allylamine hydrochlorine),PAH);聚(γ -炔丙基)(PP);及其组合。在一些实施方案中,第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分。

[0071] 在一些情况下,聚合物可以包括第二聚合物,所述第二聚合物包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD);乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状大分子,或其组合;聚(乙二醇)(PEG);聚(乳酸)(PLA);聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA);聚(环氧丙烷)(PPO);聚(己内酯)(PCL);**Pluronic[®]**(PPO-PEO);聚(γ -L-谷氨酸)(PGA);聚

(L-苯丙氨酸乙酯) (PAE); 聚(L-赖氨酸) (PLL); 甲基PEG (mPEG); 聚(天冬氨酸) (PasP); 聚(L-组氨酸) (PLH); 聚(乙烯胺) (PEI); 聚(N-乙烯吡咯烷酮) (PVP); 聚(L-亮氨酸) (PLLeu); 脱氧胆酸(DOCA); 羟丙基甲基纤维素(HPMC); 聚(羟基丁酸酯) (PHB); 聚(环氧乙烷) (PEO); 聚(L-谷氨酸- γ -苄酯) (PBLG); 磷脂酰丝氨酸(PS); 聚(氰基丙烯酸异己酯) (PIHCA); 聚(烯丙胺盐酸盐) (PAH); 聚(γ -炔丙基) (PP); 或其组合。

[0072] 在一些情况下, 聚合物可以由以下构成: 一种或多种羟基树枝状聚合物(HD); 乙二胺-核聚(酰胺胺) (PAMAM) 羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合; 聚(乙二醇) (PEG); 聚(乳酸) (PLA); 聚(乳酸-羟基乙酸共聚物) (PLGA); 聚(环氧丙烷) (PPO); 聚(己内酯) (PCL); **Pluronic[®]** (PPO-PEO); 聚(γ -L-谷氨酸) (PGA); 聚(L-苯丙氨酸乙酯) (PAE); 聚(L-赖氨酸) (PLL); 甲基PEG (mPEG); 聚(天冬氨酸) (PasP); 聚(L-组氨酸) (PLH); 聚(乙烯胺) (PEI); 聚(N-乙烯吡咯烷酮) (PVP); 聚(L-亮氨酸) (PLLeu); 脱氧胆酸(DOCA); 羟丙基甲基纤维素(HPMC); 聚(羟基丁酸酯) (PHB); 聚(环氧乙烷) (PEO); 聚(L-谷氨酸- γ -苄酯) (PBLG); 磷脂酰丝氨酸(PS); 聚(氰基丙烯酸异己酯) (PIHCA); 聚(烯丙胺盐酸盐) (PAH); 聚(γ -炔丙基) (PP); 及其组合。在一些情况下, 聚合物可以仅包括上文所列的聚合物, 并且不含上述包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和用亲水部分改性的第二端基的聚合物。

[0073] 在一些情况下, 聚合物可以包括一种第一聚合物和一种或多种后续聚合物(也称为“第二聚合物”), 所述后续聚合物选自一种或多种羟基树枝状聚合物(HD); 乙二胺-核聚(酰胺胺) (PAMAM) 羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合; 聚(乙二醇) (PEG); 聚(乳酸) (PLA); 聚(乳酸-羟基乙酸共聚物) (PLGA); 聚(环氧丙烷) (PPO); 聚(己内酯) (PCL); **Pluronic[®]** (PPO-PEO); 聚(γ -L-谷氨酸) (PGA); 聚(L-苯丙氨酸乙酯) (PAE); 聚(L-赖氨酸) (PLL); 甲基PEG (mPEG); 聚(天冬氨酸) (PasP); 聚(L-组氨酸) (PLH); 聚(乙烯胺) (PEI); 聚(N-乙烯吡咯烷酮) (PVP); 聚(L-亮氨酸) (PLLeu); 脱氧胆酸(DOCA); 羟丙基甲基纤维素(HPMC); 聚(羟基丁酸酯) (PHB); 聚(环氧乙烷) (PEO); 聚(L-谷氨酸- γ -苄酯) (PBLG); 磷脂酰丝氨酸(PS); 聚(氰基丙烯酸异己酯) (PIHCA); 聚(烯丙胺盐酸盐) (PAH); 聚(γ -炔丙基) (PP); 及其组合。

[0074] 在一些情况下, 聚合物可以包括聚噁唑啉(POX), 其包括线型部分、支化部分、或其组合, 并且其中所述聚噁唑啉(POX) 可以包括聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉) 和聚(2-丙基噁唑啉), 或其组合。在一些情况下, 聚噁唑啉可以是聚(2-乙基噁唑啉) (PEOX)。

[0075] 在一些情况下, 聚噁唑啉可以包括在50:1至80:1范围内的单体与引发剂的摩尔比。

[0076] 在一些情况下, 1%至100%的第二端基不含伯胺。在一些情况下, 本文公开的药物组合物, 1%至100%的第二端基可以包括羟基。所有百分比均基于第二端基的总数。

[0077] 在一些情况下, 第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分, 1%至99%的H和1%至99%的疏水部分, 1%至90%的H和10%至99%的疏水部分, 1%至85%的H和15%至99%的疏水部分, 1%至80%的H和20%至99%的疏水部分, 1%至75%的H和25%至99%的疏水部分, 1%至70%的H和30%至99%的疏水部分, 1%至65%的H和35%至99%的疏水部分, 1%至60%的H和40%至99%的疏水部分, 1%至55%的H和45%至99%的疏水部分, 1%至50%的H和50%至99%的疏水部分, 1%至45%的H和55%至99%的疏水部分, 1%至40%的H和60%至99%的疏水部分, 1%至35%的H和65%至99%的疏水部分, 1%至30%

的H和70%至99%的疏水部分,1%至25%的H和75%至99%的疏水部分,1%至20%的H和80%至99%的疏水部分,1%至15%的H和85%至99%的疏水部分,1%至10%的H和90%至99%的疏水部分,1%至5%的H和95%至99%的疏水部分,1%的H和99%的疏水部分的范围,包括在所述范围内的所有百分比,所述百分比基于所述聚合物中第一端基的总数。在一些情况下,第一端基包括1%至50%的H和50%至99%的疏水部分,1%至40%的H和60%至99%的疏水部分,1%至30%的H和70%至99%的疏水部分,1%至20%的H和80%至99%的疏水部分,1%至10%的H和90%至99%的疏水部分,1%至5%的H和95%至99%的疏水部分,或1%至2%的H和98%至99%的疏水部分,包括在所述范围内的所有百分比,所述百分比基于所述聚合物中第一端基的总数。在一些情况下,所述百分比基于所述聚合物中第一端基的摩尔数。

[0078] 或者,可以使用H与烃基(“烃”)的比例来描述聚合物,例如H:烃=0.01:1至100:1。在一些情况下,第一端基包括的H与疏水部分的比例在0.01:1至100:1的范围内,包括所述范围内的所有比例。在一些情况下,第一端基包括的H:疏水部分的比例在0.01:1至100:1、0.1:1至100:1、0.2:1至100:1、0.5:1至100:1、0.7:1至100:1、1:1至100:1、2.0:1至100:1、5:1至100:1、10:1至100:1、20:1至100:1、30:1至100:1、40:1至100:1、50:1至100:1、60:1至100:1、70:1至100:1、80:1至100:1、90:1至100:1、95:1至100:1的范围内,包括所述范围内的所有比例。在一些情况下,第一端基包括的H:疏水部分的比例在0.01:1至10:1、0.1:1至10:1、0.1:1至10:1、0.2:1至10:1、0.5:1至10:1、0.7:1至10:1、1:1至10:1、2.0:1至10:1、5:1至10:1、10:1、20:1至10:1、30:1至10:1、40:1至10:1、50:1至10:1、60:1至10:1、70:1至10:1、80:1至10:1、90:1至10:1、95:1至10:1的范围内,包括所述范围内的所有比例。在一些情况下,第一端基包括的H与疏水部分的比例在0.01:1至5:1、0.1:1至5:1、0.1:1至5:1、0.2:1至5:1、0.5:1至5:1、0.7:1至5:1、1:1至5:1、2.0:1至5:1、5:1、10:1、20:1至5:1、30:1至5:1、40:1至5:1、50:1至5:1、60:1至5:1、70:1至5:1、80:1至5:1、90:1至5:1、95:1至5:1的范围内,包括所述范围内的所有比例。在一些情况下,第一端基包括的H:疏水部分的比例可以选自0.01:1、0.1:1、0.2:1、0.5:1、0.7:1、1:1、2.0:1、3.0:1、4.0:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1、70:1、80:1、90:1、95:1和100:1,包括关于那些比例的比例。所述比例可以基于H和烃基的摩尔比。

[0079] 百分比和比例可以通过传统方法进行转换,例如0.01:1的比例可以转换为约1%、0.2:1可以转换为约17%、0.5:1可以转换为约33%、1:1可以转换为约50%、1.5:1可以转换为约60%、2:1可以转换为约67%、5:1可以转换为约83%、10:1可以转换为约90%、20:1可以转换为约95%、以及100:1可以转换为约99%。

[0080] 氢改性的第一端基和烃改性的第一端基的百分比或比例可以用本领域技术人员已知的HPLC进行测量。

[0081] 在本文公开的药物组合物中,第一端基可以包括H或疏水部分,所述疏水部分可以包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,第二端基可以包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团。

[0082] 在一个实例中第一端基可以包括氢(H),在一个实例中为具有2至22个碳的烃,在另一个实例中为4至22个碳,在又一个实例中为6至22个碳,在又一个实例中为7至22个

碳,在又一个实例中为8至22个碳,在又一个实例中为10至22个碳,在又一个实例中为12至22个碳,在又一个实例中为14至22个碳,在又一个实例中为16至22个碳,在进一步实例中为18至22个碳。在一个具体实例中,第一端基可以包括18个碳,例如, $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17})$ -基团。在一些情况下,第一端基可以包括具有7至22个碳的烃。在一些情况下,第一端基可以包括H。在某些情况下,第一端基可以包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分可以包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃,或其组合。在一些实施方案中,第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分。可以通过选择各种引发剂来改性第一端基。在一些情况下,对甲苯磺酸、三氟乙酸、甲苯磺酸甲酯、HCl、HBr、HI、H-Br、烃-Br,例如 C_1 至 C_{22} -Br,或其组合可以用作引发剂。本文制备的聚合物可以按预定比例混合在一起。

[0083] 引发剂可以包括疏水亲电分子,包含烃、脂族烃、芳香烃、或其组合,以及卤化物官能团,例如烷基卤化物、芳烷基卤化物、酰卤、或其组合。此类化合物的实例可以包括单官能引发剂,例如,具有饱和或不饱和化学键的含有1至约22个碳的烃,例如,甲基碘化物/溴化物/氯化物、乙基碘化物/溴化物/氯化物、1-碘/溴/氯丁烷、1-碘/溴/氯己烷、1-碘/溴/氯十二烷、1-碘/溴/氯十八烷、苄基碘化物/溴化物/氯化物等。其他引发剂可以包括烯丙基溴化物/氯化物。也可以使用酰卤,例如,酰溴/酰氯、苯甲酰溴化物/氯化物和含甲苯磺酰基的化合物,例如,对甲苯磺酸(p-toluenesulfonic acid)、甲苯磺酸甲酯(methyl tosylate)和其他甲苯磺酸酯。任何一种或多种引发剂都可以组合使用。在一些情况下,引发剂还可以包括亲水部分,所述亲水部分包括含质子/H的分子,例如对甲苯磺酸、三氟乙酸、甲苯磺酸甲酯、HCl、HBr、HI,或其组合。

[0084] 在聚合过程中,可以使用引发剂开始聚合。当使用时,单体与引发剂的各种摩尔比可用于获得特定聚合物。特定聚合物可以具有不同的性质,例如分子量、支化的大小和其他性质,包括如本文所公开的申请人意外发现的那些性质。在一些情况下,合适的单体与引发剂的摩尔比可以是20:1至100:1,包含所述范围内的任何和所有比例,例如,20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1、50:1、55:1、60:1、65:1、70:1、75:1、80:1、85:1、90:1、95:1和100:1,包括20:1、21:1、22:1、23:1、24:1、25:1、26:1、27:1、28:1、29:1、30:1、31:1、32:1、33:1、34:1、35:1、36:1、37:1、38:1、39:1、40:1、41:1、42:1、43:1、44:1、45:1、46:1、47:1、48:1、49:1、50:1、51:1、52:1、53:1、54:1、55:1、56:1、57:1、58:1、59:1、60:1、61:1、62:1、63:1、64:1、65:1、66:1、67:1、68:1、69:1、70:1、71:1、72:1、73:1、74:1、75:1、76:1、77:1、78:1、79:1、80:1、81:1、82:1、83:1、84:1、85:1、86:1、87:1、88:1、89:1、90:1、91:1、92:1、93:1、94:1、95:1、96:1、97:1、98:1、99:1、100:1等,这意味着使用上述范围内的单体与引发剂的摩尔比来制备所选聚合物。在一些情况下,本文公开的聚噁唑啉可以包括在50:1至80:1范围内的单体与引发剂的摩尔比,这意味着在50:1至80:1范围内的单体与引发剂的摩尔比(包括所述范围内的任何和所有比例)可以用于产生所选聚合物。

[0085] 聚合物可以使用本文和PCT公开W02014/123791(其全部内容以引用的方式纳入本文)中所述的单体和引发剂制备。

[0086] 可以如上所述使用引发剂制备具有在20:1至100:1范围内的某一单体与引发剂的摩尔比的氢改性的无规支化PEOX聚合物,所述引发剂选自包括含质子/H的分子的亲水部分,例如对甲苯磺酸、三氟乙酸、甲苯磺酸甲酯、HCl、HBr、HI、或其组合。

[0087] 可以如上所述使用引发剂制备具有在20:1至100:1范围内的单体与引发剂的摩尔比的烃 C_1 至 $(CH_3(CH_2)_{21})$ -改性的无规支化PEOX聚合物,所述引发剂选自 CH_3-Br 、 $(CH_3(CH_2))_1-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_2)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_3)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_4)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_5)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_6)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_7)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_8)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_9)-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{10})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{12})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{12})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{13})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{14})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{15})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{16})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{17})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{18})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{19})-Br$ 、 $(CH_3(CH_2)_{20})-Br$ 和 $(CH_3(CH_2)_{21})-Br$ 。引发剂的混合物也可以是合适的。

[0088] 在一些情况下,可以通过以预定比例混合氢改性的无规支化PEOX聚合物和上文制备的烃 C_1 至 $(CH_3(CH_2)_{21})$ -改性的无规支化PEOX聚合物来制备包括烃混合物(例如 C_1 至 $(CH_3(CH_2)_{21})$ -改性的第一端基和H改性的第一端基)的聚合物。在一些情况下,聚合物可以包括1%至99%的烃,例如 C_1 至 $(CH_3(CH_2)_{21})$ -改性的第一端基,以及1%到99%H改性的第一端基。

[0089] 在一些情况下,第一端基可以包括比例在0.01:1至100:1范围内的H与具有 C_1 至 C_{22} 烃的疏水部分(例如 $(CH_3(CH_2)_{17})-$)。在一些情况下,第一端基可以包括比例在0.1:1至5:1的范围内的H与具有 C_1 至 C_{22} 烃的疏水部分(例如 $(CH_3(CH_2)_{17})-$)。

[0090] 包括PEOX的烃 $CH_3(CH_2)_{17}$ -改性的第一末端和H改性的第一末端的混合物的聚合物可以称为“H/ C_{18} PEOXABP”。具有特定引发剂摩尔比(例如60:1、70:1、80:1等)的聚合物可以分别称为“H/ C_{18} PEOXABP60”、“H/ C_{18} PEOXABP70”、“H/ C_{18} PEOXABP80”等。

[0091] 上文和下文公开的聚合物可以是合适的,并且可以包括线型聚合物、支化聚合物、对称支化聚合物,不对称支化聚合物、树枝状聚合物、树枝状接枝物聚合物、梳状支化聚合物、星状支化聚合物,或其组合。所述聚合物是水溶性的。在实例中,聚合物可以溶解在水中以产生12%重量百分比或更高的水溶液。

[0092] 第二端基可以包括被氨、氨衍生物、乙二胺(EDA)、乙二胺衍生物、哌嗪、哌嗪衍生物、三(2-氨基乙基)胺、4-(氨基甲基)哌啶、1,3-二氨基丙烷、2,2'-(亚乙二氧基)双(乙胺)、二亚乙基三胺、1,4,7,10-四氮杂环十二烷、六亚甲基二胺、三亚乙基四胺、1,8-二氨基辛烷、或其组合改性的基团。在又一个实例中,第二端基可以包括被乙二胺(EDA)、乙二胺衍生物、或其组合改性的基团。本文公开的乙二胺的任何衍生物都是合适的。所述聚合物可以具有在1:1至1:100范围内的(例如聚噁唑啉反应性链末端(reactive chain end)与EDA的)反应激发摩尔比(reaction challenge molar ratio)。在一个实例中,所述聚合物可以具有在1:1至1:100范围内的聚噁唑啉反应性链末端与EDA的反应激发摩尔比,在另一个实例中为1:2至1:100,在又一个实例中为1:2至1:50,在又一个实例中为1:2至1:40,在进一步实例中为1:2至1:30,在又一个实例中为1:2至1:20,在又一个实例中为1:2至1:15,以及在进一步实例中为1:5至1:15。在进一步实例中,聚合物可以具有约1:10的聚噁唑啉反应性链末端与EDA的反应激发摩尔比。本文公开的EDA改性的聚噁唑啉可以提供如本文公开的聚合物电荷具有pH依赖性变化的官能团。在一些情况下,本文公开的药物组合物可以包括聚合物,所述聚合物可以具有约1:10的聚噁唑啉反应性链末端与EDA的摩尔比。在一些情况下,1%至99%、1%至90%、1%至80%、1%至70%、1%至60%、1%至50%、1%至40%、1%至30%、1%至20%、1%至10%、1%至5%、1%至4%、1%至3%、1%至2%的第二端基可以包括经EDA改性的基团。在一些情况下,1%至99%、1%至90%、1%至80%、1%至70%、1%至60%、1%至50%、1%至40%、1%至30%、1%至20%、1%至10%、1%至5%、1%至4%、

1%至3%、1%至2%的第二端基可以包括伯胺。

[0093] 在一些情况下,第二端基可以包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团,条件是0.01%至100%、0.1%至100%、1%至100%、5%至100%、10%至100%、15%至100%、20%至100%、30%至100%、40%至100%、50%至100%、60%至100%、70%至100%、80%至100%、90%至100%、95%至100%、99%至100%的第二端基可以不含伯胺。在一些情况下,约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的第二端基可以不含伯胺。在一些情况下,约50%至100%的第二端基可以不含伯胺。在一些情况下,约75%至100%的第二端基可以不含伯胺。在又一些情况下,约90%至100%的第二端基可以不含伯胺。

[0094] 在一些情况下,100%的聚合物的第二端基可以包括经羟基改性的基团。在一些情况下,如本文所公开的, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}\text{-Br}$ 可以被用作通过阳离子开环过程用于2-乙基噁唑啉聚合的引发剂,以生成无规支化聚合物,然后,例如将无规支化聚合物溶解在水中,以产生经羟基改性的第二末端。在一些情况下,引发剂选自包括亲水部分(其包括含质子/H的分子)的引发剂,例如对甲苯磺酸、三氟乙酸、甲苯磺酸甲酯、 HCl 、 HBr 、 HI 、或其组合,所述引发剂可被用作通过阳离子开环过程用于2-乙基噁唑啉聚合的引发剂,以生成无规支化聚合物,随后,例如将无规支化聚合物溶解在水中,以产生经羟基改性的第二末端。在一些情况下,约100%的第二端基可以包括羟基。在一些情况下,约100%的第二端基可以不含伯胺。

[0095] 药物组合物可以具有在约3.0至约10.0范围内的pH值。在一些情况下,药物组合物可以具有在约7.0至约9.0范围内的pH值。在一些情况下,药物组合物可以具有在约7.0至约8.0范围内的pH值。在一些情况下,药物组合物可以具有在约7.0至约7.5范围内的pH值。在一些情况下,药物组合物可以具有在约3.0至约6.9范围内的pH值,或约4.0至约6.9。在一些情况下,药物组合物可以具有在约4.0至约7.0范围内的pH值。在一些情况下,药物组合物可以具有在约4.0至约7.5范围内的pH值。在一些情况下,药物组合物可以具有在约5.6至约6.9范围内的pH值。可以用酸或碱调节药物组合物以达到所需的pH范围。酸(例如 HCl 或其他酸)可以是合适的。碱(例如 NaOH 或其他碱)可以是合适的。

[0096] 在一些情况下,药物组合物可以具有在约3.0至约10.0范围内的pH值,并且其中1%至100%的第二端基不含伯胺。在一些情况下,药物组合物可以具有在约5.6至约6.9范围内的pH值,并且其中约100%的第二端基不含伯胺,即0%的第二端基含有伯胺。在一些情况下,1%至100%的第二端基可以包括羟基,所述百分比基于第二端基的总数。

[0097] 具有羟基作为第二端基的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP}$ 可以称为 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP-OH}$ 。具有特定引发剂摩尔比(例如60:1、70:1、80:1等)的聚合物可以分别称为“ $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60-OH}$ ”、“ $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP70-OH}$ ”、“ $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP80-OH}$ ”等。具有胺基作为第二端基的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP}$ 可以称为 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP-NH}_2$ 。具有特定引发剂摩尔比(例如60:1、70:1、80:1等)的聚合物可以分别称为“ $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60-NH}_2$ ”、“ $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP70-NH}_2$ ”、“ $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP80-NH}_2$ ”等。在一些情况下,本文公开的聚合物的混合物可以是合适的。

[0098] 在上文和下文公开的任何药物组合物中,聚合物可以包括包含线型部分、支化部分、或其组合的聚噁唑啉(POX)。在一个实例中,聚合物可以包括连接在一起的多个线型部分,在另一个实例中,一个或多个线型部分与一个或多个支化部分连接,在又另一个实例

中,一个或多个支化部分连接在一起,例如,图1A-图10B中示意性记载的那些。每个线型部分可以独立地具有各种长度、改性,或其组合。每个支化部分可以独立地具有各种长度、支链数量、改性,或其组合。

[0099] 聚噁唑啉(POX)可以包括聚(2-噁唑啉)、聚(2-取代噁唑啉),其包括聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)、聚(异丙基噁唑啉)(PiPOX),或其组合。在一个实例中,POX可以包括聚(2-甲基噁唑啉)(PMOX),在另一个实例中包括聚(2-乙基噁唑啉)(PEOX),在又一个实例中包括聚(2-丙基噁唑啉)(PPOX),在又一个实例中包括聚(异丙基噁唑啉)(PiPOX),或在又进一步实例中包括两个或更多个聚(2-取代噁唑啉)的组合,其中所述两个或更多个聚(2-取代噁唑啉)可以是聚噁唑啉聚合物中的重复单元,也称为复合单体。聚噁唑啉(POX)是亲水的。聚噁唑啉(POX)可以不含具有疏水侧链的单体,无论是简单单体还是复合单体,例如具有4个或更多个碳(C_4 及以上)的单体。

[0100] 图1A-图1D和图2A-图2B中示意性地描绘了具有对称支链的对称支化聚合物(SBP)的一些实例,其中所有目的均聚物都具有一个核,并且呈现由遍及均聚物的末端支链或链支链构成的对称支链接合点。官能团主要存在于聚合物的外部。

[0101] 改性的SBP可以例如通过将官能团以化学方式连接至以下物质上来获得,例如,对称支化PAMAM或PPI树枝状聚合物(可以从Aldrich商购获得)、聚醚树枝状聚合物、聚酯树枝状聚合物、梳形支化/星状支化聚合物,例如,含有PEO、PEG、PMOX或PEOX的那些;聚苯乙烯,和梳形支化树枝状接枝物,例如,含有PEOX、PMOX或PEI的那些。制备这类SBP/树枝状聚合物的合成程序是已知的,如上文和下文所述。

[0102] 在一些情况下,SBP的较高支化密度可以使聚合物在分子水平上紧凑,并且具有明确限定的内部空隙空间,这使得这样的分子适合作为水不溶性或弱水溶性药物的载体,例如,被捕获或包封在其中的一种或多种生物活性剂。

[0103] 表面改性可以增强所得改性SBP的性能和用途。例如,通过适当的改性,水不溶性SBP可以变成水溶性的,而具有高电荷密度的SBP可以被改性以在聚合物上或聚合物表面携带低电荷或不携带电荷。另一方面,水溶性SBP可以用疏水表面基团改性,以增强在其表面或内部溶解水不溶性或弱水溶性的药物的能力。改性可以发生在聚合物的任何位置,例如,在末端、支链、骨架残基等。

[0104] 在本公开内容的一个实施方案中,SBP(例如,对称支化PEI树枝状聚合物、PPI树枝状聚合物、PAMAM树枝状聚合物或对称支化PEI树枝状接枝物)可以以下方式改性:使用不同种类的例如伯胺基团通过例如迈克尔加成(Michael addition)或将丙烯酸酯加成到均聚物的胺基上。因此,例如通过迈克尔加成反应,丙烯酸甲酯可以被引入到PEI、PPI和聚赖氨酸(PLL)均聚物的伯氨基和/或仲氨基上。然后,酯基可以例如通过酰胺化反应进一步衍生化。因此,这种使用例如乙二胺(EDA)的酰胺化反应可以实现在新形成的支链末端处加成氨基。可以使用已知的化学物质对均聚物进行其他改性,例如,提供于“Poly(amines) and Poly(ammonium salts),”in“Handbook of Polymer Synthesis,”(Part A),Kricheldorf ed.,New York,Marcel Dekker,1994;和“Dendrimers and Other Dendritic Polymers”Frechet&Tomalia,eds.,John Wiley&Sons,Ltd.,2001。也可以使用EDA的衍生物,并且包含任何分子实体,所述分子实体包括反应性EDA、取代EDA或例如聚乙烯胺家族的其他成员,例如二亚乙基三胺(diethylenetriamine)、三亚乙基四胺(triethylenetetramine)、四亚乙

基五胺(tetraethylenepentamine)、五亚乙基六胺(pentaethylenehexamine)等,包括聚乙烯胺、四甲基亚乙基二胺(tetramethylethylenediamine)等。使用例如乙二胺(EDA)的酰胺化反应也可以改性新形成的支链末端处的聚合物电荷密度。如本文所公开的,具有这种酰胺化基团的聚合物的电荷可以具有pH依赖性变化,导致pH依赖性聚合物电荷密度的变化。

[0105] 在某些实施方案中,改性可以包括有助于或增强聚合物或其部分的疏水性的部分。例如,疏水官能团,例如包含包括1至约22个碳的烃链的脂族链(其可以是饱和或不饱和的、线型的、环状的或支化的、芳香结构(例如,含有一个或多个芳香环,其可以是稠环)、或其组合),可以用作改性剂,并如本文教导的通过实施本文提供的化学方法添加到聚合物中。通过这种添加,可以形成改性SBP,例如改性PEI、PPI、PAMAM树枝状聚合物或PEI树枝状接枝物。PAMAM改性PPI树枝状聚合物的一个实例如图3所示。作为SBP(例如PPI和PEI)的延伸,由此所得的改性SBP也是对称支化的。根据溶剂环境(即pH或极性),表面官能团可以携带不同电荷和/或电荷密度,和/或疏水基团。然后,可以基于这些特征性质进一步调整分子形状和表面官能团位置(即表面官能团反向折叠(surface functional group back folding))。

[0106] 在本公开内容的另一个实施方案中,可以使用各种合成程序中的任何一种来制备改性SBP,例如已知易于与均聚物上的合适位点反应的合成方案。此外,可以在选择的合成方案中使用各种试剂中的任何一种,以实现对均聚物骨架的各种改性或加成中的任何一种。因此,例如在上述胺的迈克尔加成反应的情况下,可以例如在烷基化阶段使用各种取代基中的任何一种的加成,例如,使用各种丙烯酸酯试剂中的任何一种,例如,包括烃取代基的丙烯酸酯,例如,包括1至约22个碳的饱和或不饱和烃,其可以是取代的、脂肪族的、芳香族的、环状的、在一个或多个键处饱和的、或其组合。因此,合适的反应物包括丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、丙烯酸丙酯、丙烯酸丁酯、丙烯酸戊酯、丙烯酸己酯、丙烯酸庚酯、丙烯酸辛酯、丙烯酸壬酯、丙烯酸癸酯、丙烯酸十一酯(undecyl acrylate)、丙烯酸十二酯(dodecyl acrylate)等,及其混合物。类似地,在上文示例的实例中的酰胺化阶段,可以使用各种胺中的任何一种。例如,可以使用EDA、单乙醇胺、三(羟甲基)氨基甲烷、烷基胺、烯丙基胺或任何氨基改性的聚合物,包含包括PEG、PEO、全氟聚合物、聚苯乙烯、聚乙烯、聚二甲基硅氧烷、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯等、及其混合物的那些。

[0107] 这种合成策略不仅允许分子的对称生长(其中可以引入更多具有不同化学组成的支链),还运行在聚合物结构的外部加成多个官能团。前体均聚物可以使用相同或不同的合成方法进行连续地改性,直到获得具有适当分子量和官能团的所需SBP。此外,这类聚合物的疏水性质和亲水性质以及电荷密度可以使用用于构建所述均聚物的合适单体和合适改性反应定制以适应特定的应用需求。

[0108] 在本公开内容的另一个实施方案中,如果使用发散合成方法,则对称星状支化或梳状支化均聚物的链末端(例如聚(2-噁唑啉)或聚(2-取代噁唑啉),包括,例如聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)以及聚(2-丁基噁唑啉等)、PEI、PEO/乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚磷酸酯(polyphosphate)、聚乙烯醇(PVA)或聚苯乙烯链末端),可以使用另一种小分子或聚合物改性,以在均聚物链末端生成各种官能团,包含伯胺、仲胺或叔胺、羧酸酯(carboxylate)、羟基、脂肪族(例如烃链)、芳香族、氟烷基、芳基、PEG、PEO、乙酸酯、酰胺和/或酯基。或者,如果采用汇集成合成方法,也可以使用各种引发剂,使得

在链末端引入相同类型的官能团("Dendritic Molecules,"Newkome et al.,eds.,VCH, Weinheim,1996;"Dendrimers and Other Dendritic Polymers,"Frechet&Tomalia,eds., John Wiley&Sons,Ltd.,2001;和J.Macromol.Sci.Chem.A9(5),第703-727页(1975))。

[0109] 具有不对称支链的不对称支化聚合物(ABP)的某些实例在图4A-图4B中示意性地描绘,其中某些目的聚合物没有核,并且呈现出了遍及整个均聚物的由链支链和末端支链构成的不对称支链接合点。连接基团(junctional group)通常既存在于外部也存在于内部。然而,当使用较大的官能团(例如,较大的疏水或亲水基团)时,所述官能团通常可以优先地且可能必然地连接在ABP的外部,例如可能是由于空间效应(steric effect)。因此,此类表面改性的支化聚合物(MBP)可用于水不溶性或弱水溶性的药物的增溶或与其形成纳米聚集体。

[0110] 例如,可以通过将官能团以化学方式连接至规整ABP(例如聚赖氨酸(例如支化PLL))、无规ABP(例如PEI(可从Aldrich、Polysciences或BASF以商品名**Lupasol®**商购获得))或聚噁唑啉来获得改性ABP,其可以根据Litt的程序制备(J.Macromol.Sci.Chem.A9(5),第703-727页(1975))。其他ABP可以包括但不限于聚丙烯酰胺、聚磷酸酯、PVP、PVA等。无规不对称支化PEI主要可以通过具有环张力的环亚胺单体(ring-strained cyclic imine monomer)(例如氮丙啶(乙烯亚胺)和氮杂环丁烷(丙烯亚胺))的阳离子开环聚合来制备,以路易斯酸或布朗斯特酸(Lewis or Bronsted acid)作为引发剂(Dernier et al., "Ethylenediamine and Other Aziridines,"Academic Press,New York,(1969);和Pell,J.Chem.Soc.71(1959))。由于许多方法本质上是一锅法,因此可以产生大量无规ABP。

[0111] 制备ABP的合成方法通常会在大分子内生成各种支化接合点。换句话说,末端和链支链接合点混合分布在整個分子结构中。与树枝状聚合物和树枝状接枝物相比,无规ABP的支化密度可以更低,分子结构可以更开放。虽然支化模式是无规的,但伯胺、仲胺和叔胺基团的平均比例可以相对符合约为1:2:1的比例,例如记载于:Dick et al., J.Macromol.Sci.Chem.,A4(6),1301-1314(1970)和Lukovkin,Eur.Polym.J.9,559(1973)。在一个实例中,本文公开的聚合物可以包括约1:2:1的比例的伯胺、仲胺和叔胺基团。

[0112] 支链接合点的存在可以使无规ABP(例如不对称支化PEI)形成具有可能的球状、卵状或类似构型的大分子。在球状结构中,存在大分子内部的不完全支链接合点形成的各种大小的口袋。与内部口袋总是位于分子的中心核周围的树枝状聚合物和树枝状接枝物不同,无规ABP的口袋不均匀地分布在整個分子中。因此,无规ABP同时具有外部官能团和不均匀分布的内部官能团,其可以进一步与各种分子反应,从而形成新的大分子结构——一种目的改性无规ABP。

[0113] 虽然有一个核,但规整ABP的官能团也可以分布在外部和内部,这与无规ABP非常相似。一种此类均聚物是PLL,其可以按照以下文献中的描述进行制备:美国专利号4,289,872;4,360,646和4,410,688。如本文所教导的和本领域已知的,此类均聚物也可以以类似于无规ABP的方式进行改性。

[0114] 在本公开内容的一个实施方案中,ABP(例如无规不对称支化PEI或规整不对称支化PLL)通过以下方式进行改性:使用不同种类的伯胺和/或仲氨基通过例如迈克尔加成,或将丙烯酸酯加成到聚合物(例如PEI和PLL均聚物)的胺基上。然后,酯基可以例如通过酰胺化反应进一步衍生化。因此,例如,这种使用例如EDA的酰胺化反应可以在新形成的支链末

端处产生氨基的加成。可以使用已知的化学物质(chemistries)对聚合物进行其他改性,例如,如上述“Poly(amines)and Poly(ammonium salts)”中所提供的。通过此类加成,形成改性ABP,例如改性PEI或PLL均聚物。作为ABP(例如PEI和PLL)的延伸,由此所得的改性ABP也是不对称支化的。根据溶剂环境(即pH值或极性),表面官能团可以携带不同的电荷和电荷密度。然后,可以基于这些特征性质进一步调整分子形状和官能团位置(即官能团反向折叠)。

[0115] 在另一个实施方案中,可以使用各种合成方案中的任何一种来制备改性ABP,例如,已知易于与均聚物上的合适位点反应的合成方案。此外,可以在选择的合成方案中使用各种试剂中的任何一种,以实现聚合物骨架的各种改性或加成中的任何一种。因此,例如在上述胺的迈克尔加成反应的情况下,可以在烷基化阶段使用各种取代基中的任何一种的加成,如上文所提供的,例如,使用丙烯酸酯,其可以包括饱和或不饱和烃,例如包括1个碳至约22个碳的烃,其可以是脂肪族的、支化的、饱和的、芳香族的、环状的、或其组合。在一个实例中,烃可以具有2至22个碳,在另一个实例中为4至22个碳,在又一个实例中为6至22个碳,在又一个实例中为7至22个碳,在又一个实例中为8至22个碳,在又一个实例中为10至22个碳,在又一个实例中为12至22个碳,在又一个实例中为14至22个碳,在又一个实例中为16至22个碳,在进一步实例中为18至22个碳,以及在又一个实例中为20至22个碳。在一个特定实例中,第一端基可以包括18个碳,例如 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17})$ -基团。合适的反应物包含丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、丙烯酸丙酯、丙烯酸丁酯、丙烯酸戊酯、丙烯酸己酯、丙烯酸庚酯、丙烯酸辛酯、丙烯酸壬酯、丙烯酸癸酯、丙烯酸十一酯、丙烯酸十二酯等,及其混合物。类似地,在上文示例的实例中的酰胺化阶段,可以在本文提供和本领域已知的方法中使用各种胺中的任何一种。例如,可以使用EDA、单乙醇胺、三(羟甲基)氨基甲烷、烷基胺、烯丙基胺或任何氨基改性的聚合物,包含PEG、全氟聚合物、聚苯乙烯、聚乙烯、聚二甲基硅氧烷、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯等,及其混合物。此外,疏水基团(包括脂肪族(例如 C_1 至约 C_{22} 的烃)基团、芳香族基团、聚乙烯聚合物、聚苯乙烯聚合物、全氟聚合物、聚二甲基硅氧烷、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯)以及亲水基团(包括OH基团、亲水聚合物(例如PEOX、PEG、PEO等))与改性ABP的连接可以通过使用以下反应来实现,例如环氧化反应、酰胺化反应、迈克尔加成反应(包括使用-SH或 $-\text{NH}_2$ 基团与马来酰亚胺反应)、醛/酮-胺/酰胺偶联反应、碘/碘乙酰基-SH偶联反应、羟胺-醛/酮偶联反应等。这类合成策略不仅允许分子的不对称增长(其中引入更多口袋),还允许在所述结构的内部和外部加成多个官能团。均聚物可以使用相同或不同的合成方法进行进一步改性,直到获得具有适当分子量和官能团的所需ABP。此外,这类均聚物的疏水性质和亲水性质以及电荷密度可以使用用于构建所述均聚物的合适的单体和合适的改性反应定制以适应特定的应用需求。一个改性ABP的实例如图5所示。一种改性超支化PEI如图6A所示。

[0116] 在本公开内容的另一个实施方案中,无规ABP(例如POX)的焦点(在汇集成过程中从各种反应性链末端合并),可以被封端或与另一个小分子发生反应,以在均聚物链末端处生成各种官能团,包括伯胺、仲胺或叔胺、羧酸酯、羟基、烷基、氟烷基、芳基、PEG、乙酸酯、酰胺和/或酯基。或者,也可以使用各种引发剂,使得在汇集成过程中聚合开始的表面基团处引入相同类型的官能团(J.Macromol.Sci.Chem.A9(5),第703-727页(1975))。

[0117] 可以使用上述Litt and Warakomski程序制备在支化聚合物的焦点处处具有伯胺

基团的烷基表面改性的无规支化聚(2-乙基噁唑啉)。例如, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}\text{-Br}$ 可以用作通过阳离子开环过程用于2-乙基噁唑啉聚合的引发剂,以生成无规支化聚合物,然后用N-叔-丁氧羰基哌嗪(N-Boc-哌嗪)或EDA淬灭。使用大量过量的EDA的封端可以允许疏水改性的支化聚(2-乙基噁唑啉)聚合物在焦点处被伯胺基团官能化(图6B)。或者,N-Boc-哌嗪-封端的疏水改性的支化聚(2-乙基噁唑啉)聚合物也可以被脱保护以在焦点处生成游离氨基。在一些情况下,聚合物可以包括在聚合物焦点处被伯胺、仲胺或叔胺、羧酸酯、羟基、烷基、氟烷基、芳基、PEG、乙酸酯、酰胺或酯基团官能化的改性的支化聚(2-乙基噁唑啉),其中两个或多个反应性链末端在汇集成过程中合并。

[0118] 在一些情况下,烷基表面改性的无规支化聚(2-乙基噁唑啉)可以在支化聚合物的焦点处具有羟基。例如,聚合物的焦点在溶解于水中(例如,含有例如1N Na_2CO_3)时可以被水解为例如羟基。

[0119] 在一些情况下,本文所述聚合物的焦点可以包括用亲水性部分改性的第二端基。

[0120] 在疏水改性的支化聚(2-噁唑啉)均聚物中引入伯胺基团可以增强药物溶解度,并产生生物活性剂诱导的纳米聚集体(例如,图7A-图7B、图8、图9A-图9B中所示),伯胺基团还允许将各种靶向基团(例如抗体、其抗原结合部分、抗原或结合对的成员)连接至例如疏水改性的支化聚(2-噁唑啉)聚合物上(图10A-图10B)。在混合聚合物和生物活性剂之前,这可能特别有用。含有此类靶向基团及其改性物(modification)的此类纳米聚集体或纳米颗粒,可以在具有生物活性剂的纳米聚集体上提供靶向能力,并使所述生物活性剂能够优先地或仅在所需的治疗位置释放。如上所述,当聚合物用于与生物活性剂混合以产生本公开内容的药物组合物时,优选其中1%至100%的第二端基不含伯胺的聚合物。

[0121] 如本文所公开的,改性的支化聚合物(MBP)(例如疏水改性的均聚物,包含SBP、ABP、或其组合)可用于生成包封聚合物或纳米胶囊,以用于溶解水不溶性生物活性剂。在有机溶剂环境中,亲水性或两亲性内部可以是聚(2-噁唑啉)、聚(2-取代噁唑啉),其中聚(2-取代噁唑啉)可以包括聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)、聚(异丙基噁唑啉)(PiPOX),或其组合,PEG、PEO、聚磷酸酯等。疏水性外部可以包括脂族烃(例如,从 C_1 至约 C_{22})、芳香烃、聚乙烯聚合物、聚苯乙烯聚合物、全氟聚合物、聚二甲基硅氧烷、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯等。在水性环境中,情况正好相反。在水性环境中的药物诱导的纳米聚集体中,药物分子(例如水不溶性生物活性剂)可以与MBP的疏水基/结构域连接(associate)(图9A-图9B)。支化密度(例如,从低代(例如星状和梳状均聚物)至高代的树枝状聚合物和树枝状接枝物),以及支化均聚物的疏水表面基团覆盖率的量(例如,0%至100%的覆盖率)会影响均聚物溶解度,均聚物溶解度又会影响溶解或吸附/吸收生物活性剂的能力。例如,支化密度和疏水基覆盖量的增加将使均聚物与生物活性剂更相容。

[0122] 在进一步的实例中,具有按重量计约0.1至约30%或更多表面疏水组分的ABP和SBP在溶解或分散弱水溶性或水不溶性的生物活性剂方面是有效的。此外,所使用的支化均聚物(例如POX、PMOX、PEOX、PPOX、PEO/PEG、聚丙烯酰胺、聚磷酸酯、PVP和PVA)可溶于水和各种有机溶剂,从而促进形成含有生物活性剂的纳米颗粒或纳米聚集体。良好的水溶性以及(在有或没有其他有机溶剂的情况下)在水溶液中良好的疏水性药物混溶性使得此类均聚物可用于提高弱水溶性的生物活性剂的溶解度。例如,通过减少配制步骤、加工时间,以及使用目前在制药行业中使用复杂和昂贵设备的需求,目的均聚物简化了制造过程并降低了

生产成本。如果需要额外的支化密度,SBP或ABP首先可以使用本文所述的额外的基团进行改性,然后,例如,与额外的疏水官能团连接以增强生物活性剂的溶解度。

[0123] 在一个实例中,配置聚合物以具有有效的支化密度、聚合物表面处疏水基团的量、或其组合,以用于在纳米聚集体中包封水不溶性形式的生物活性剂。有效的支化密度、聚合物表面处疏水基团的量、或其组合可如上文和下文所述更改。

[0124] 在一个实例中,聚合物可具有疏水基团(包括脂族(例如 C_1 至约 C_{22} 的烃)基团、芳族基团、聚乙烯聚合物、聚苯乙烯聚合物、全氟聚合物、聚二甲基硅氧烷、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯),其连接至POX聚合物(包括PEOX聚合物)且还被EDA改性。POX聚合物可以是由包含单一单体的重复单元或在每个重复单元中包含两种或更多种单体的重复单元聚合成的均聚物。

[0125] 在一些情况下,聚合物可包含不对称支化聚合物(ABP)或树枝状不对称支化聚合物,例如由引发剂和单体以本文公开的比例形成的不对称支化PEOX。在一些情况下,聚合物可包含具有一个或多个第一端基(例如本文公开的疏水部分)和一个位于支化聚合物焦点的第二端基的无规支化聚(2-乙基噁唑啉),例如通过用如图6B所举例说明的链转移聚合汇聚合成来聚合反应性线型PEOX聚合物而形成的改性无规支化PEOX。

[0126] 在一些情况下,聚合物可具有不同的第一端基和不同的第二端基。一些实例如图6C所示:聚合物(1)-聚合物(4)具有-OH作为第二端基,聚合物(5)-聚合物(8)具有-NH₂作为第二端基,聚合物(1)和聚合物(5)具有H作为第一端基,聚合物(2)和聚合物(6)具有-CH₃作为第一端基,聚合物(3)和聚合物(7)具有C₁₂作为第一端基,且聚合物(4)和聚合物(8)具有C₁₈作为第一端基。聚噁唑啉(POX)聚合物可为线型聚合物、支化聚合物或具有一个或多个线型部分和一个或多个支化部分的组合的聚合物。聚噁唑啉(POX)可包括聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)、聚(异丙基噁唑啉)(PiPOX)、或其组合。尽管上文描述了特定的第一端基和第二端基,但本文公开的其他第一和第二基团可以是合适的。在一些情况下,第二端基可包含被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团。第一端基和第二端基可按照本领域技术人员已知的方法和工艺改性。如果需要,可使用一种或多种本领域技术人员已知的试剂、接头或中间体。

[0127] 在上文和下文公开的任何药物组合物中,聚噁唑啉可以包括在50:1至80:1范围内的单体和引发剂的摩尔比。

[0128] 药物组合物可包含选自ABP、ABP、MBP的额外的聚合物,例如对称支化的PAMAM或PPI树枝状聚合物、聚醚树枝状聚合物、聚酯树枝状聚合物、梳状支化/星状支化聚合物(例如,包含PEO、PEG、PMOX或PEOX、聚苯乙烯的那些)以及梳状支化树枝状接枝物(例如,包含PEOX、PMOX、PEI、聚赖氨酸(例如支化PLL)、聚丙烯酰胺、聚磷酸酯、PVP、PVA、或其组合的那些)。无规不对称支化PEI可主要通过具有环张力的环亚胺单体(例如氮丙啶(乙烯亚胺)和氮杂环丁烷(亚丙基亚胺)、或其组合)的阳离子开环聚合反应来制备。额外的聚合物可与本文公开的纳米聚集体混合。在一个实例中,形成纳米聚集体后可将其与一种或多种额外的聚合物混合。

[0129] 适用于本公开内容通篇的本文公开的药物组合物、工艺、方法和用途,术语“生物活性剂”是指一种物质,其可以是,如本文所公开的,基于天然或合成小分子的药物、无机基

药物(organic-based drug)、生物药物、基于天然或合成大分子的药物、其改性物和/或衍生物,或其组合。生物活性剂可包括基于天然或合成小分子的药物、无机基药物、生物药物、基于天然或合成大分子的药物、其改性物和/或衍生物,或其组合,其中至少一种药物为弱水溶性或水不溶性。目的药物可为其中分子被改性为水不溶性或弱水溶性的小分子、其盐,或可为被改性为水不溶性或弱水溶性的生物分子,尤其是当水不溶性或弱水溶性形式的药物具有改善的性质时,例如提高的生物利用度、较低的毒性、更好的药代动力学、或其组合。合适的实例可包括弱水溶性或水不溶性的药物,或被改性为水不溶性或弱水溶性以具有改善的性质的药物。生物活性剂可包括生长剂、AIDS辅助剂(adjunct agent)、酒精滥用制品(例如用于治疗依赖或戒断的试剂)、阿尔茨海默病治疗剂、肌萎缩侧索硬化治疗剂、镇痛药、麻醉剂、抗惊厥药、抗糖尿病药、解毒药、抗纤维化治疗药、抗组胺药、抗氧化剂(例如染料和色素,例如虾青素)、抗感染药(例如抗生素、抗病毒药、抗真菌药、杀阿米巴药、驱虫药、抗疟药、抗麻风药等)、抗肿瘤药、抗震颤麻痹药、抗风湿药、食欲刺激剂、生物反应调节剂、生物制剂、血液调节剂(例如抗凝剂、集落刺激因子、止血剂、血浆增容剂、凝血酶抑制剂等)、骨代谢调节剂、心脏保护剂、心血管药(例如肾上腺素能阻滞剂、肾上腺素能刺激剂、血管紧张素转换酶(ACE)抑制剂、抗心律失常药、抗血脂药、钙通道阻滞剂、利尿药、升压药等)、中枢神经系统(CNS)刺激药、胆碱酯酶抑制剂、避孕药、生育治疗药、排卵刺激药、囊性纤维化处理剂(management agent)、戒毒剂(detoxifying agent)、诊断剂、膳食补充剂、多巴胺受体激动剂、子宫内膜异位症处理剂、酶、勃起功能障碍治疗药、足部护理产品、胃肠(GI)治疗剂(例如抗酸药、止泻药、止吐药、抗气胀药、肠排空药、消化酶、组胺受体激动剂、轻泻药、质子泵抑制剂、前列腺素等)、高雪氏症(Gaucher's Disease)治疗剂、痛风治疗剂、顺势疗法药物、皮肤治疗剂、维生素、营养素、激素、高钙血症处置治疗剂、低钙血症处置治疗剂、免疫调节剂、免疫抑制剂、左卡尼汀缺乏治疗剂、肥大细胞稳定剂、偏头痛治疗剂、运动病治疗产品(例如苯那君(benadryl)和非那根(phenergan))、解充血剂、抗组胺药、止咳药、多发性硬化症治疗剂、肌肉松弛剂、鼻用治疗剂(例如抗炎药)、戒烟辅助药物(smoking cessation aid)、食欲抑制剂、核苷类似物、肥胖处置剂、眼用制品(例如抗生素、抗青光眼剂、人工泪液、润滑剂等)、性助剂、骨质疏松症治疗剂、耳用制品(例如抗感染药和耳垢溶解剂(cerumenolytic))、矿物质、催产剂、副交感神经阻滞药、拟副交感神经药、动脉导管未闭药、磷酸盐结合剂、卟啉病药、前列腺素、精神治疗剂、造影剂、呼吸系统药物(例如抗炎药、镇咳剂、支气管扩张剂、解充血剂、祛痰药、白三烯拮抗剂、表面活性剂等)、盐替代品、镇静剂、安眠药、皮肤和粘膜治疗剂(例如痤疮治疗剂)、肛门直肠治疗剂(例如痔疮治疗剂和灌肠剂)、止汗剂、止痒剂、抗银屑病药、抗皮脂溢剂、烧伤治疗药、清洁剂、脱色剂、润肤剂、毛发生长延缓剂、毛发生长刺激剂、角质层分离剂、毛发问题治疗剂、口和咽喉问题治疗剂、光敏剂、疣治疗剂、伤口护理治疗剂、或其组合。生物活性剂还可包括非处方药和产品(例如除臭剂)、图雷特综合征药、震颤治疗剂、泌尿道药(例如酸化剂、碱化剂)、解痉药、良性前列腺增生治疗药、草酸钙结石预防剂、遗尿处置剂、阴道用制品(例如抗感染药、激素等)、血管扩张剂、眩晕治疗药、威尔逊病治疗药等。

[0130] 生物活性剂的进一步实例可包括,可被改性成例如盐、电离形式或亲水形式的药物形式,所述盐、电离形式或亲水形式可被改性以除去这些官能团、改性物等以产生弱水溶性或水不溶性的生物活性剂的未改性形式或其他形式。如果药物组合物包含两种或更多种

生物活性剂,生物活性剂中至少一种可被改性或已被改性为水不溶性或弱水溶性。这些生物活性剂的实例可包括止痛药/退烧药(例如阿司匹林、对乙酰氨基酚、布洛芬、萘普生钠、盐酸丁丙诺啡、盐酸丙氧芬、萘磺酸丙氧芬、盐酸哌替啶、盐酸氢吗啡酮、硫酸吗啡、盐酸氧可酮、磷酸可待因、重酒石酸双氢可待因、盐酸喷他佐辛、重酒石酸氢可酮、酒石酸左啡诺、二氟尼柳、水杨酸三乙醇胺、盐酸纳布啡、甲芬那酸、酒石酸布托啡诺、水杨酸胆碱、布他比妥、柠檬酸苯托沙敏(phenyltoloxamine citrate)、柠檬酸苯海拉明、甲氧异丁嗪、盐酸桂麻黄碱(cinnamedrine hydrochloride)、甲丙氨酯等);麻醉剂(例如环丙烷、恩氟烷、氟烷、异氟烷、甲氧氟烷、氧化亚氮、丙泊酚等);平喘药(例如氮卓斯汀、酮替芬、曲咕诺(traxanox)、氨来咕诺、色甘酸钠、异丁司特、孟鲁司特、奈多罗米、奥沙米特、普仑司特、塞曲司特、甲磺司特、噻拉米特、扎鲁司特、齐留通、倍氯米松、布地奈德、地塞米松、氟尼缩松、曲安奈德等);抗生素(例如新霉素、链霉素、氯霉素、头孢菌素、氨苄西林、青霉素、四环素等);喹诺酮、氟喹诺酮、抗抑郁药(例如奈福泮、奥泼定、盐酸多塞平、阿莫沙平、盐酸曲唑酮、盐酸阿米替林、盐酸马普替林、硫酸苯乙肼、盐酸地昔帕明、盐酸去甲替林、硫酸苯环丙胺、盐酸氟西汀、盐酸多塞平、盐酸丙咪嗪、双羟萘酸丙咪嗪、去甲替林、盐酸阿米替林、异卡波肼(isocarboxazid)、马来酸三甲丙咪嗪、盐酸普罗替林等);抗糖尿病药(例如双胍、激素、磺酰脲衍生物等);抗真菌药(例如灰黄霉素、酮康唑、两性霉素B、制霉菌素、杀假丝菌素等);抗高血压药(例如普萘洛尔、普罗帕酮、氧烯洛尔、硝苯地平、利血平、樟磺咪芬(trimethaphan camsylate)、盐酸酚苄明、盐酸优降宁、地舍平(deserpidine)、二氮嗪、单硫酸胍乙啶、米诺地尔、瑞西那明(rescinnamine)、硝普钠、蛇根木(Rauvolfia serpentina)、蛇根混合碱、甲磺酸酚妥拉明、利血平等);抗炎药(例如甾体化合物,例如吲哚美辛、萘普生、布洛芬、雷米那酮(ramifenazone)、吡罗昔康等;甾体化合物,例如可的松、地塞米松、氟扎可特(fluzacort)、氢化可的松、泼尼松龙、泼尼松等);抗肿瘤药(例如阿霉素、环磷酰胺、放线菌素、博来霉素、柔红霉素、多柔比星、表柔比星、吉西他滨、丝裂霉素、甲氨喋呤、氟尿嘧啶、卡铂、氮芥 β -氯亚硝基脲(卡莫司汀,BCNU)、1-氯乙基-3-环己基-1-亚硝基脲(洛莫司汀,CCNU)、甲基CCNU、顺铂、依托泊苷、干扰素、喜树碱及其衍生物、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泰素(Taxol)及其衍生物、泰索帝(Taxotere)及其衍生物、长春碱、长春新碱、他莫昔芬、依托泊苷、哌泊舒凡(piposulfan)等);抗焦虑药(例如劳拉西泮、盐酸丁螺环酮、普拉西泮、盐酸氯氮卓、奥沙西泮、氯卓酸钾(clorazepate dipotassium)、地西泮、双羟萘酸羟嗪、盐酸羟嗪、阿普唑仑、氟哌利多、哈拉西泮、氯美扎酮、丹曲林等);免疫抑制剂(例如环孢霉素、硫唑嘌呤、咪唑立宾、FK506(他克莫司)、雷帕霉素(西罗莫司)等);抗偏头痛药(例如酒石酸麦角胺、盐酸普萘洛尔、半乳糖二酸异美汀(isometheptene mucate)、氯醛比林(dichloralphenazone)等);镇静剂/催眠药(例如巴比妥类(例如戊巴比妥、戊巴比妥钠、司可巴比妥钠等)或苯二氮卓类(例如盐酸氟西泮、三唑仑、替马西泮(tomazepam)、盐酸咪达唑仑等);抗心绞痛药(例如 β -肾上腺素能阻滞剂、钙通道阻滞剂(例如硝苯地平、盐酸地尔硫卓等)和硝酸酯(例如硝酸甘油、二硝酸异山梨酯、季戊四醇四硝酸酯、丁四硝酸酯(erythrityl tetranitrate)等));抗精神病药(例如氟哌啶醇、琥珀酸洛沙平、盐酸洛沙平、硫利达嗪、盐酸硫利达嗪、替沃噻吨(thiothixene)、盐酸氟奋乃静、氟奋乃静癸酸酯、氟奋乃静庚酸酯、盐酸三氟拉嗪、盐酸氯丙嗪、奋乃静、柠檬酸锂、丙氯拉嗪等);抗躁狂药(如碳酸锂);抗心律失常药(例如甲苯磺酸溴苄铵、盐酸艾司洛尔、盐酸维拉帕米、

胺碘酮、盐酸恩卡尼(encamide hydrochloride)、地高辛、洋地黄毒苷、盐酸美西律、磷酸丙吡胺、盐酸普鲁卡因胺、硫酸奎尼丁、葡萄糖酸奎尼丁、聚半乳糖醛酸奎尼丁、醋酸氟卡胺、盐酸妥卡胺(tocamide hydrochloride)、盐酸利多卡因等);抗关节炎药(例如保泰松、舒林酸、青霉胺、双水杨酯、吡罗昔康、硫唑嘌呤、吲哚美辛、甲氯灭酸钠、硫代苹果酸金钠、酮洛芬、金诺芬、金硫葡萄糖、托美丁钠等);抗痛风药(例如秋水仙碱、别嘌醇等);抗凝血药(例如肝素、肝素钠、华法林钠等);溶血栓药(例如尿激酶、链激酶、阿替普酶(altoplase)等);抗纤维蛋白溶解药(例如氨基己酸);活血药(例如己酮可可碱);抗血小板药(例如阿司匹林、安匹林(empirin)、ascriptin等);抗惊厥药(例如丙戊酸、双丙戊酸钠、苯妥英、苯妥英钠、氯硝西洋、扑米酮、苯巴比妥、苯巴比妥钠、卡马西平、异戊巴比妥钠、甲琥胺、美沙比妥、甲苯比妥、美芬妥英(mephenyloin)、苯琥胺、甲乙双酮、乙妥英、苯乙酰脲、司可巴比妥钠(secobarbitol sodium)、氯卓酸钾、三甲双酮等);抗震颤麻痹药(例如乙琥胺等);抗组胺剂/止痒剂(例如盐酸羟嗪、盐酸苯海拉明、马来酸氯苯那敏、马来酸溴苯那敏、盐酸赛庚啶、特非那定、富马酸氯马斯汀、盐酸曲普利啶、马来酸卡比沙明(carbinoxamine maleate)、盐酸二苯拉林、酒石酸苯茛胺、马来酸阿扎他定、盐酸曲吡那敏、马来酸右氯苯那敏(dexchlorpheniramine maleate)、盐酸甲地嗪、酒石酸异丁嗪等);可用于钙调节的试剂(例如降钙素、甲状旁腺激素等);抗细菌药(例如硫酸阿米卡星、氨曲南、氯霉素、棕榈酸氯霉素、氯霉素琥珀酸钠、盐酸环丙沙星、盐酸克林霉素、克林霉素棕榈酸酯、克林霉素磷酸酯、甲硝唑、盐酸甲硝唑、硫酸庆大霉素、盐酸林可霉素、硫酸妥布霉素、盐酸万古霉素、硫酸多粘菌素B、多粘菌素E甲磺酸钠、硫酸粘菌素等);抗病毒药(例如干扰素 γ 、齐多夫定、盐酸金刚烷胺、利巴韦林、阿昔洛韦等);抗微生物药(如头孢菌素(如头孢唑啉钠、头孢拉定、头孢克洛、头孢匹林钠、头孢唑肟钠、头孢哌酮钠、头孢替坦二钠、头孢呋辛酯(cefutaxime azotil)、头孢噻肟钠、头孢羟氨苄一水合物、头孢他啶、头孢氨苄(cephalexin)、头孢噻吩钠、头孢氨苄盐酸盐一水合物、头孢孟多酯钠、头孢西丁钠、头孢尼西钠、头孢雷特、头孢曲松钠、头孢他啶、头孢羟氨苄、头孢拉定、头孢呋辛钠等)、青霉素类(如氨苄西林、阿莫西林、苄星青霉素G、环己西林(cyclacillin)、氨苄西林钠、青霉素GK、青霉素VK、哌拉西林钠、苯唑西林钠、盐酸巴氨西林、氯唑西林钠、替卡西林钠、阿洛西林钠、羧苄西林茛满钠、普鲁卡因青霉素G、甲氧西林钠、萘夫西林钠等)、红霉素类(例如琥乙红霉素、红霉素、依托红霉素、红霉素乳糖酸酯、红霉素硬脂酸酯、红霉素乙基琥珀酸酯等)、四环素类(例如盐酸四环素、盐酸多西环素、盐酸米诺环素等)等);抗感染药(例如粒细胞巨噬细胞集落刺激因子,GM-CSF);支气管扩张药(例如拟交感神经药(例如盐酸肾上腺素、硫酸奥西那林、硫酸特布他林、乙基异丙肾上腺素(isoetharine)、甲磺酸乙基异丙肾上腺素、盐酸乙基异丙肾上腺素、硫酸沙丁胺醇(albuterol sulfate)、沙丁胺醇(albuterol)、比托特罗(bitolterol)、盐酸甲磺酸异丙肾上腺素、硫酸特布他林、重酒石酸肾上腺素、硫酸奥西那林、肾上腺素、重酒石酸肾上腺素));抗胆碱能药(例如异丙托溴铵);黄嘌呤类(例如氨茶碱、二羟丙茶碱、硫酸奥西那林、氨茶碱);肥大细胞稳定剂(例如色甘酸钠);吸入型皮质类固醇(例如氟尼缩松、二丙酸倍氯米松一水合物等)、沙丁胺醇(salbutamol)、二丙酸倍氯米松(BDP)、异丙托溴铵、布地奈德、酮替芬、昔萘酸沙美特罗(salmeterol xinafoate)、硫酸特布他林、曲安西龙、茶碱、奈多罗米钠、硫酸奥西那林、沙丁胺醇、氟尼缩松等);激素(例如雄激素(例如达那唑、环戊丙酸睾酮、氟甲睾酮(fluoxymesterone)、乙基睾酮(ethyltostosterone)、庚酸睾酮、甲

基甾酮、氟甲甾酮、环戊丙酸甾酮等)、雌激素(例如雌二醇、雌酮硫酸酯哌嗪(estropipate)、缀合的雌激素等)、孕激素(例如醋酸甲羟孕酮、醋酸炔诺酮等)、皮质类固醇(例如曲安西龙、倍他米松、倍他米松磷酸钠、地塞米松、地塞米松磷酸钠、醋酸地塞米松、泼尼松、醋酸甲基泼尼松龙悬液、曲安奈德、甲基泼尼松龙、泼尼松龙磷酸钠、甲基泼尼松龙琥珀酸钠、氢化可的松琥珀酸钠、甲基泼尼松龙琥珀酸钠、羟氟烯索、氢化可的松、氢化可的松环戊丙酸酯、泼尼松龙、醋酸氟氢可的松、醋酸帕拉米松、泼尼松龙叔丁基乙酸酯(prednisolone tebutate)、醋酸泼尼松龙、泼尼松龙磷酸钠、氢化可的松琥珀酸钠等)、甲状腺激素(例如左旋甲状腺素钠);等;降血糖药(例如人胰岛素、纯化牛胰岛素、纯化猪胰岛素、格列本脲(glyburide)、氯磺丙脲、格列吡嗪、甲苯磺丁脲、妥拉磺脲等);降血脂药(例如氯贝丁酯、右甲状腺素钠、普罗布考、洛伐他汀、烟酸等);蛋白质(例如DNA酶、褐藻酸酶(alginase)、超氧化物歧化酶、脂酶等);核酸(例如编码任何治疗上有用的蛋白质(包括任何本文所描述的蛋白质)的正义核酸或反义核酸等);可用于红细胞生成的药(例如促红细胞生成素);抗溃疡或抗反流剂(例如法莫替丁、西咪替丁、盐酸雷尼替丁等);止恶心药或止吐药(例如盐酸氯苯甲嗪、大麻隆、丙氯拉嗪、茶苯海明、盐酸异丙嗪、硫乙拉嗪(thiethylperazine)、东莨菪碱等);油性维生素(例如维生素A、D、E、K等);米托坦、visadine、卤代亚硝基脲、蒽环霉素、玫瑰树碱等;STING抑制剂例如C-176、C-170和C-171;STING激活剂,例如3',3'-cGAMP(3',3'-环GMP-AMP,环GMP-AMP,cGAMP);STING激动剂,例如SR-717锂、 α -倒捻子素或diABZI(氨基苯并咪唑);STING激动剂(diABZI STING激动剂-1,化合物3)、STING激动剂-1(G10)、CF501(式(1))、CF502(式(5))、CF504(式(7))、CF505(式(8))、CF508(式(4))、CF509(式(6))、CF510(式(2))、CF511(式(9))(Liu,et al.,Cell Research,1-19,2022.<https://doi.org/10.1038/s41422-022-00612-2>)或MSA-2(Tocris, Minneapolis,MN);STING拮抗剂,例如SN-011(GUN35901)或H-151;吡啶胺双加氧酶(IDO)抑制剂或IDO1抑制剂,例如艾卡噪司他(Epacadostat)(INCB24360)、BMS-986205、PF-0684003、那伏莫德(Navoximod)、吡啶莫德(Indoximod)、NLG802(吡啶莫德前药)或LY3381916;及其组合。

[0131] 在一些情况下,生物活性剂可包含上文和下文所列生物活性剂中的任一种。在一些情况下,生物活性剂可包含上文和下文所列生物活性剂中的两种或更多种。

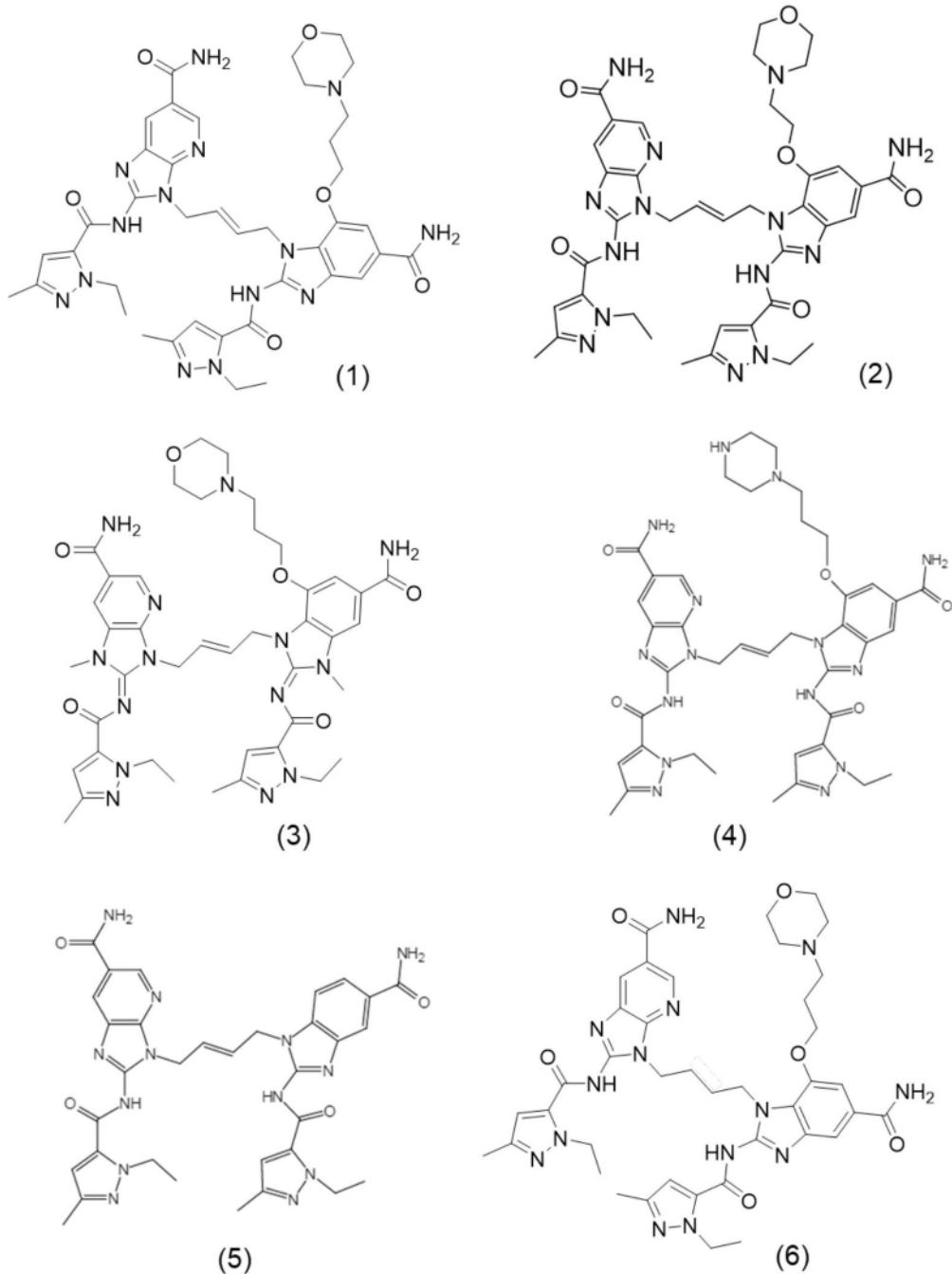
[0132] 在一些情况下,生物活性剂可包含免疫球蛋白,例如IgG、IgM、根据美国专利No.10,688,048(在此通过引用的方式纳入本文)所述工艺和方法公开和制备的一种或多种分子。

[0133] 在一些情况下,生物活性剂可包含至少一种STING多肽或其部分、编码STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、IDO抑制剂、IDO1抑制剂、或其组合。生物活性剂可包含RNA、mRNA、siRNA、sgRNA、DNA、寡核苷酸、或其组合,其各自编码上述STING多肽或其部分、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、IDO抑制剂或IDO1抑制剂中的一种。

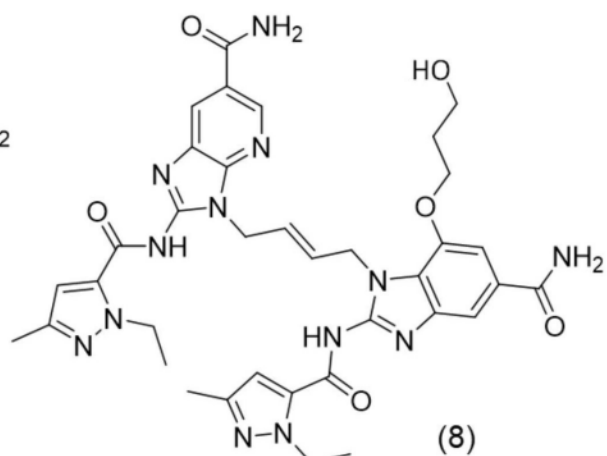
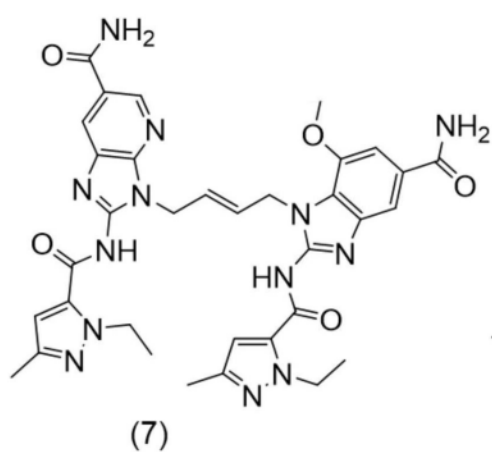
[0134] 在一些情况下,生物活性剂可包含STING(干扰素基因刺激剂)蛋白、STING激动剂、STING激活剂、STING抑制剂、STING拮抗剂、或其组合。在一些情况下,生物活性剂可包含一种或多种IDO或IDO1抑制剂。本文公开或此后发现的任何STING蛋白、STING激动剂、STING激活剂、STING抑制剂、STING拮抗剂、IDO抑制剂或IDO1抑制剂可以是合适的。在一些情况下,

生物活性剂可包含STING调节分子,例如由Liu et al. (Cell Research, 1-19, 2022) 在专利公布W02017175156A1和W02020156363中公开的苯并咪唑化合物、专利公布W02019134705、W02020010451和US20200031825中公开的吡啶基咪唑化合物、或其组合。

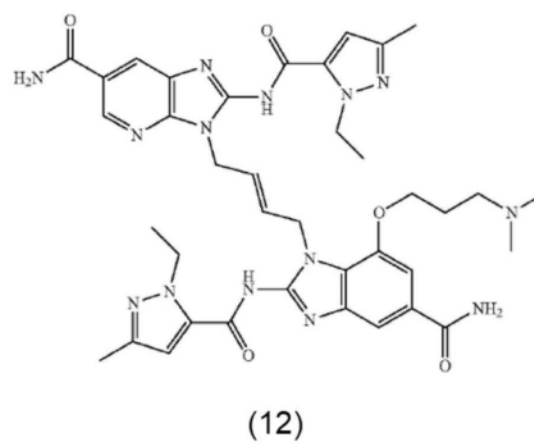
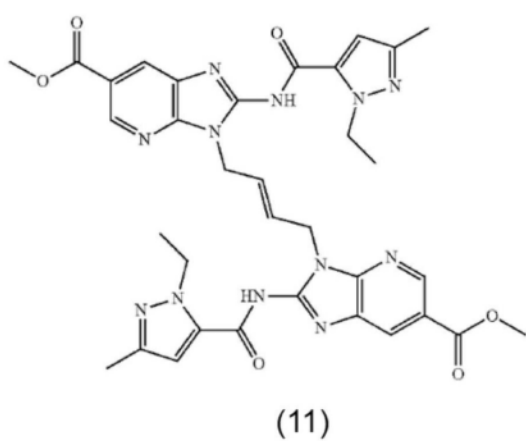
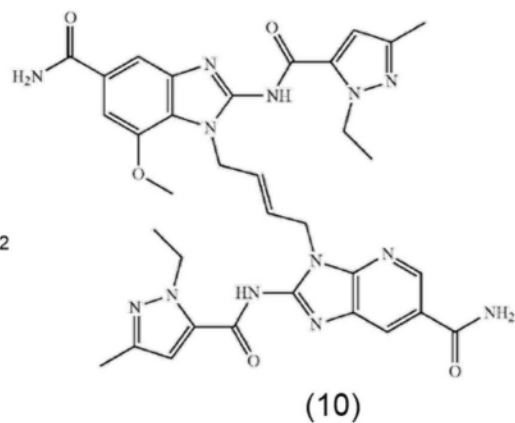
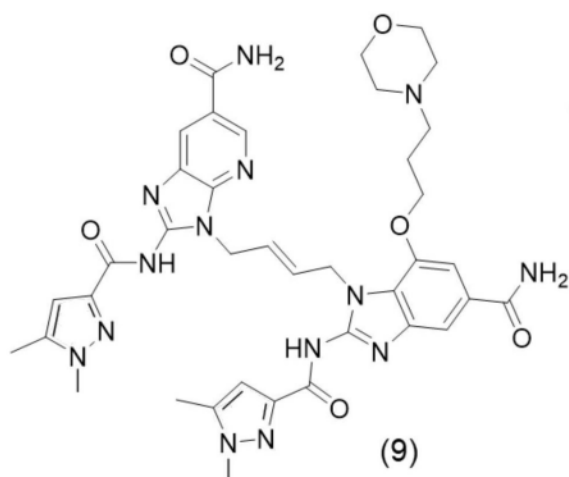
[0135] 在一些情况下,生物活性剂可包含一种或多种STING激动剂。在一些情况下,STING激动剂可包含一种或多种具有式(1) - (29)的化合物(图11A-图11E),

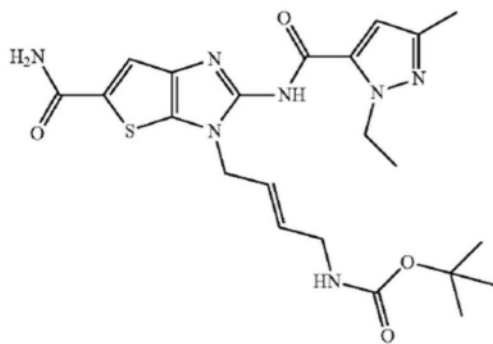


[0136]

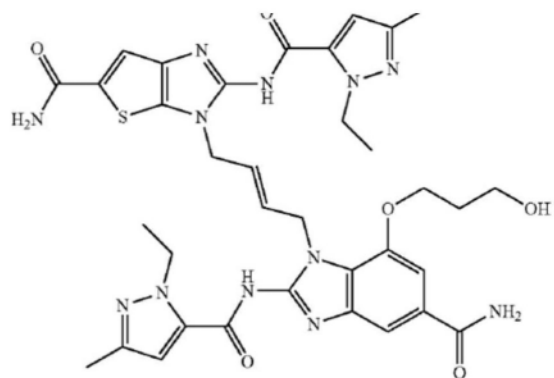


[0137]



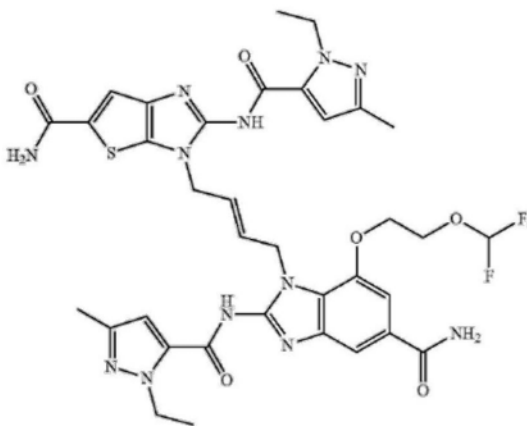


(25)

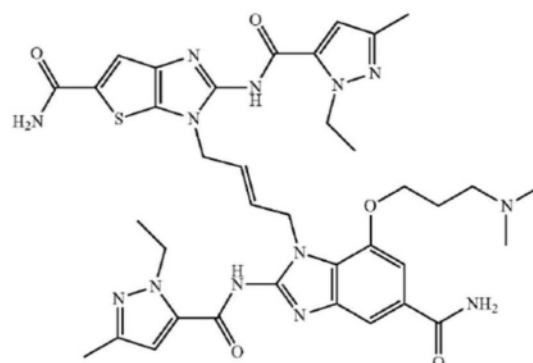


(26)

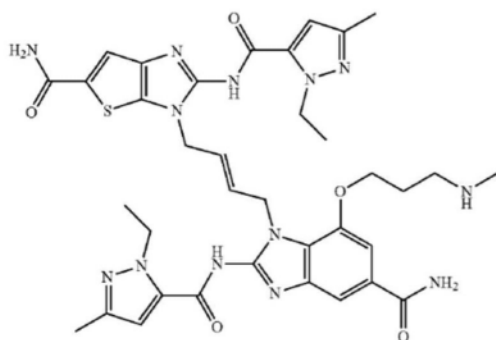
[0140]



(27)



(28)



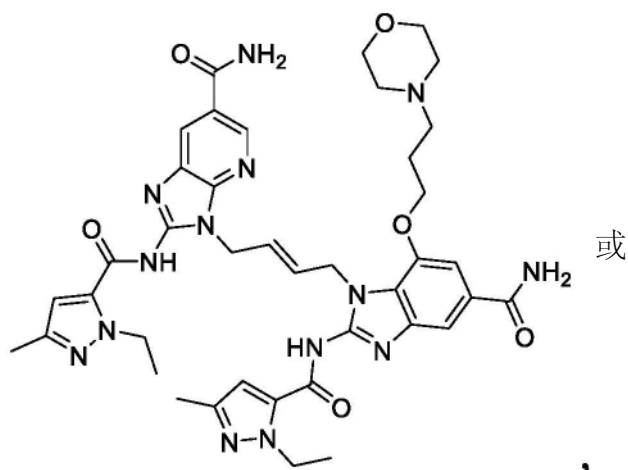
(29)

或其相应的盐、溶剂合物、前药、异构体,或其组合。

[0141] 在一些情况下,生物活性剂可包含具有下式的化合物:

[0142] 式(1)

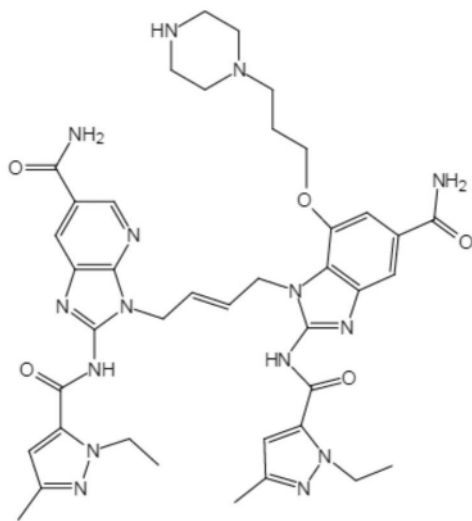
[0143]



或

[0144] 式(4)

[0145]



[0146] 其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

[0147] 在一些情况下,纳米聚集体是水溶性的,并且可包含聚合物和至少一种生物活性剂,所述生物活性剂包含至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合。包含纳米聚集体的药物组合物可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的生物活性剂。在一些情况下,包含纳米聚集体的药物组合物可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少2mg/mL的本文公开的生物活性剂、或其组合。在一些情况下,包含纳米聚集体的药物组合物可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL、1.5mg/mL、2mg/mL、2.5mg/mL、3mg/mL、3.5mg/mL、4mg/mL、4.5mg/mL、5mg/mL、6mg/mL、7mg/mL、8mg/mL、9mg/mL、10mg/mL、15mg/mL、20mg/mL、25mg/mL、30mg/mL或更多的本文公开的生物活性剂、或其组合。

[0148] 任何本文公开的聚合物可以是合适的。在一些实例中,聚合物可包括聚噁唑啉(POX),其包含线型部分、支化部分、或其组合,且其中聚噁唑啉(POX)包括聚(2-噁唑啉)、聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)、聚(异丙基噁唑啉)(PiPOX)、或其组合。在一些实例中,聚噁唑啉可为聚(2-乙基噁唑啉)。

[0149] 如本公开内容通篇所用,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于150nm。在一些情况

下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于120nm。“小于”是指尺寸可小于限定的尺寸(nm)且可为约0nm,即纳米聚集体溶液可为不含可测量的颗粒或聚集体的澄清溶液。例如“小于150nm”指在0nm至150nm范围内,“小于120nm”指在0nm至120nm范围内。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约0.01nm至约100nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约0.01nm至约120nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约0.01nm至约150nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约50至约100nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约50至约120nm。粒径可通过光散射测量。

[0150] 在一些情况下,纳米聚集体可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。在一些情况下,纳米聚集体可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油或游离酸。在一些情况下,纳米聚集体可不含人血清白蛋白。在一些情况下,纳米聚集体可不含有有机溶剂。在一些情况下,纳米聚集体可不含去垢剂。在一些情况下,纳米聚集体可不含油。在一些情况下,纳米聚集体可不含游离酸。在一些情况下,纳米聚集体可不含选自人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油、游离酸及其组合的物质。

[0151] 在一些情况下,药物组合物可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。在一些情况下,药物组合物可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油或游离酸。在一些情况下,药物组合物可不含人血清白蛋白。在一些情况下,药物组合物可不含有有机溶剂。在一些情况下,药物组合物可不含去垢剂。在一些情况下,药物组合物可不含油。在一些情况下,药物组合物可不含游离酸。在一些情况下,药物组合物可不含选自人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油、游离酸及其组合的物质。

[0152] 本公开内容的药物组合物可为用于治疗或预防选自免疫疾病、传染病及其组合的疾病的药物。免疫疾病可包括免疫缺陷疾病、过度活跃免疫疾病、自身免疫病和其他具有异常免疫系统的疾病或症状。在一些情况下,免疫疾病可为各种自身炎症性、自身免疫性和退行性疾病,例如与STING(干扰素基因刺激剂)信号通路或IDO通路相关的那些。在一些情况下,免疫疾病可与感染中STING介导的炎症、细胞应激和组织损伤相关。在一些情况下,本公开内容的药物组合物可包含STING蛋白、STING激动剂、STING激活剂、STING抑制剂、STING拮抗剂、IDO抑制剂、IDO1抑制剂、或其组合。在一些情况下,本公开内容的药物组合物可包含一种或多种STING抑制剂。在一些情况下,本公开内容的药物组合物可包含一种或多种STING激活剂。

[0153] 本公开内容的药物组合物可为用于治疗或预防本文公开的疾病中的一种或多种的药物。

[0154] 在一些情况下,药物组合物可包含两种或更多种生物活性剂,其中所述两种或更多种生物活性剂中的至少一种为水不溶性或弱水溶性。在一些情况下,所述两种或更多种生物活性剂中的至少一种为至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合。在一些情况下,药物组合物可在纳米聚集体中包含至少一种水不溶性或弱水溶性的生物活性剂,以及一种或多种额外的生物活性剂(其包含在纳米聚集体内或不包含在纳米聚集体内)。药物组合物可包含纳米聚集体,所述纳米聚集体包含聚合物和两种或更多种各自为水不溶性或弱水溶性的生物活性剂。药物组合物可包含纳米聚集体,所述纳米聚集体包含聚

合物和至少一种生物活性剂(包含至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合),以及一种或多种各自为水溶性的额外的生物活性剂。

[0155] 用于上文公开的生物活性剂的组合的术语“其组合”是指两种或更多种生物活性剂的组合,其中这种组合不具有不需要的效果,例如生物活性剂之间或之中的不需要的相互作用。应理解生物活性剂的一些组合可能是不合适的,或可能是不合乎需要的,例如具有不需要的相互作用的那些。例如,茶碱和环丙沙星或华法林和二氟尼柳的组合可能是不合适的。因而这些组合或任何由适当的指南或规定确定为不合适的组合被排除。

[0156] 如上所述,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于150nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于120nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约0.01nm或约0nm至约150nm范围内。在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约50nm至约150nm范围内。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约50至约100nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约50至约120nm。在另一个实例中,在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约70至90nm范围内。粒径可通过光散射测量。

[0157] 在上文和下文公开的任何药物组合物中,纳米聚集体可具有在约2:1至约200:1范围内的聚合物和生物活性剂的重量比。纳米聚集体可具有在以下范围内的聚合物和生物活性剂的重量比:一个实例中约2:1至约200:1、另一个实例中约2:1至约150:1、又另一个实例中约2:1至约120:1、又另一个实例中约2:1至约100:1、又另一个实例中约2:1至约80:1、又另一个实例中约2:1至约60:1、又另一个实例中约2:1至约40:1、又另一个实例中约2:1至约30:1、又另一个实例中约2:1至约20:1、又另一个实例中约2:1至约15:1、又另一个实例中约2:1至约10:1、又另一个实例中约2:1至约8:1、又另一个实例中约5:1至约10:1、又另一个实例中约5:1至约8:1、又进一步实例中约5:1、又另一个实例中约6:1至约8:1、又进一步实例中约6:1、又进一步实例中约7:1、又进一步实例中约7.5:1和又进一步实例中约8:1。当药物组合物包含两种或更多种生物活性剂时,聚合物和生物活性剂的比例可基于聚合物和生物活性剂的总重量。

[0158] 在一些情况下,药物组合物可为(例如疫苗的)佐剂。在一些情况下,药物组合物可为用于治疗或预防传染病的疫苗的佐剂,所述传染病选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡及其组合。在一些情况下,药物组合物可为用于治疗或预防传染病的疫苗的佐剂,所述传染病是由229E α -冠状病毒、NL63 α -冠状病毒、OC43 β -冠状病毒、HKU1 β -冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、其变体、或其组合导致。

[0159] 在一些情况下,药物组合物可为预防性疫苗、治疗性疫苗、或其组合,其中所述药物组合物可包含佐剂,例如本文公开的佐剂制剂中的任一种,且还包含至少一种用于在需要其的受试者中激发免疫应答的免疫剂。在一些情况下,佐剂可包含至少一种STING激动剂。在一些情况下,佐剂可包含至少一种具有式(1)-式(29)的化合物、其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。在一些情况下,佐剂可为选自如下文所公开的佐剂制剂1至佐剂制剂6的任一种佐剂制剂。免疫剂可包含选自细菌、病毒、真菌、原生动

物、蠕虫、寄生虫、朊病毒、其部分、或其组合的无活性微生物(inactive microbe);毒素、编码毒素的核酸;蛋白质;编码蛋白质的核酸;寡核酸;DNA;RNA;mRNA;siRNA;sgRNA;其片段;或其组合。

[0160] 在一些情况下,药物组合物可被配制用于治疗或预防至少一种传染病。在一些情况下,药物组合物可被配制用于治疗或预防至少一种传染病,其选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡及其组合。在一些情况下,药物组合物可被配制用于治疗或预防至少一种传染病,其由229E α -冠状病毒、NL63 α -冠状病毒、OC43 β -冠状病毒、HKU1 β -冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、其变体、或其组合导致。

[0161] 在一些情况下,药物组合物可具有在3.0至6.9范围内的pH值。pH值可在药物组合物的水溶液中测量。

[0162] 在一些情况下,药物组合物可包含本文公开的一种或多种生物活性剂、其衍生物、或其组合,其中1%至100%的第二端基不含伯胺,且其中1%至100%的第二端基包含羟基。

[0163] 在一些情况下,药物组合物可进一步包含一种或多种后续生物活性剂,其选自蛋白质、肽、抗体、抗体的片段、化合物、小分子药物、一种或多种化疗药物及其组合。

[0164] 上文和下文公开的药物组合物可进一步包含额外的生物活性剂,其经配制不含聚合物,尤其是本文公开的聚合物。短语“经配制不含聚合物的额外的生物活性剂”是指包含生物活性剂且不含本文公开的聚合物的生物活性剂制剂,其中所述额外的生物活性剂可为盐、碱,用有机溶剂、去垢剂、油或游离酸、蛋白质、脂质、或其组合配制的生物活性剂。在一些情况下,药物组合物可包含一种或多种用铝盐、有机佐剂、或其组合配制的生物活性剂。

[0165] 术语“可溶于水溶液中”是指不含可检测的颗粒或具有可被过滤通过0.22 μ m滤器的颗粒(通过0.22 μ m滤器的过滤率(filtration rating) (R_f) 在50%至100%范围内)的溶液,其中过滤率是指滤器被堵塞导致过滤受阻前通过滤器的体积百分比。如本公开内容通篇所用的,术语“0.22 μ m滤器”是指具有0.22 μ m的过滤孔径的滤器装置。术语“0.8 μ m滤器”是指具有为0.8 μ m的过滤孔径的滤器装置。0.8 μ m滤器和0.22 μ m滤器的组合可以是合适的。

[0166] 本文公开的药物组合物可被配制用于肠胃外、口服、经鼻、经皮(局部)、经粘膜、直肠给药、阴道给药、或其组合,且可包含一种或多种药学上合适的载体。在一些情况下,本文公开的药物组合物可被配制用于静脉内(IV)、皮内(ID)、皮下(SC)、口服、经皮(局部)、经粘膜、直肠给药、或其组合。在一些情况下,本文公开的药物组合物可被配制用于静脉内(IV)、皮内(ID)、皮下(SC)、经皮(局部)、鼻喷雾剂、吸入、口服片剂、滴眼剂、直肠免疫、阴道免疫、经粘膜给药、或其组合。在一些情况下,本文公开的药物组合物可被配制用于口服给药,例如片剂、胶囊剂、口腔喷雾剂、溶液或混悬剂。在一些情况下,本文公开的药物组合物可被配制用于经鼻给药,例如鼻喷雾剂。本文公开的药学上合适的载体可以是合适的。

[0167] 在一些情况下,免疫剂可至少包含冠状病毒刺突(S)糖蛋白的多肽、编码所述刺突(S)糖蛋白的DNA、编码所述刺突(S)糖蛋白的RNA、所述刺突(S)糖蛋白的受体结合结构域(RBD)、编码所述RBD的DNA、编码所述RBD的RNA、其部分、或其组合。

[0168] 冠状病毒为一类在哺乳动物和鸟类(包括人类)中导致疾病的RNA病毒。冠状病毒

可包括(1) α 冠状病毒属,其包括以下种: α 冠状病毒1(TGEV,猫冠状病毒和犬冠状病毒)、人冠状病毒229E、人冠状病毒NL63、长翼蝠属(Miniopterus)蝙蝠冠状病毒1、长翼蝠属蝙蝠冠状病毒HKU8、猪流行性腹泻病毒、菊头蝠属(Rhinolophus)蝙蝠冠状病毒HKU2和黄蝠属(Scotophilus)蝙蝠冠状病毒512;(2) β 冠状病毒属,其包括以下种: β 冠状病毒1(牛冠状病毒和人冠状病毒OC43)、刺猬冠状病毒1、人冠状病毒HKU1、中东呼吸综合征相关冠状病毒、鼠冠状病毒、伏翼属(Pipistrellus)蝙蝠冠状病毒HKU5、果蝠属(Rousettus)蝙蝠冠状病毒HKU9、严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(SARS-CoV和SARS-CoV-2)和扁颅蝠属(Tylonycteris)蝙蝠冠状病毒HKU4;(3) γ 冠状病毒属,其包括以下种:禽冠状病毒和白鲸冠状病毒SW1;以及(4) δ 冠状病毒属,其包括以下种:夜莺冠状病毒HKU11和猪冠状病毒HKU15。一些病毒的系统发育树的一个实例如图13A所示。

[0169] 冠状病毒可包含229E(α 冠状病毒)、NL63(α 冠状病毒)、OC43(β 冠状病毒)、HKU1(β 冠状病毒)、MERS-CoV(导致中东呼吸综合征(或MERS)的 β 冠状病毒)、SARS-CoV(导致严重急性呼吸综合征(或SARS)的 β 冠状病毒)、SARS-CoV-2(导致2019冠状病毒病(或COVID-19)的新型冠状病毒)、其变体、或其组合。

[0170] 在一些情况下,冠状病毒可包含229E α 冠状病毒、NL63 α 冠状病毒、OC43 β 冠状病毒、HKU1 β 冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、其变体、或其组合。

[0171] 在一些情况下,冠状病毒可选自229E α 冠状病毒、NL63 α 冠状病毒、OC43 β 冠状病毒、HKU1 β 冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、其变体及其组合。

[0172] 在一些情况下,免疫剂可包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、或其组合中的至少一种多肽。在一些情况下,免疫剂可包含其中公开的RBD序列中的两种或更多种。在一些情况下,免疫剂可包含其中公开的RBD序列中的三种或更多种。

[0173] 在一些情况下,免疫剂可包含SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9中的至少一种多肽。在一些情况下,免疫剂可包含选自SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9及其组合的免疫剂。

[0174] 在一些情况下,免疫剂:佐剂的重量比可在1:50至50:1范围内,其中重量比是基于免疫剂的和作为佐剂的生物活性剂的重量。在一些情况下,药物组合物可包含在1:50至50:1范围内的RBD抗原融合蛋白:生物活性剂的重量比,其中生物活性剂可选自式(1)-式(29)及其组合。在一些情况下,药物组合物可包含在1:50至50:1范围的RBD抗原融合蛋白:生物活性剂的重量比,其中生物活性剂可选自式(1)、式(4)及其组合。

[0175] 药物组合物可进一步包含一种或多种后续生物活性剂,其选自蛋白质、肽、抗体、抗体的片段、化合物、小分子药物、一种或多种化疗药物及其组合。在一些情况下,后续生物活性剂可为与本文公开的药物组合物相同或不同的疫苗。在一些情况下,药物组合物可为治疗或预防疾病的疫苗,所述疾病由水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡、或其组合导致,且后续生物活性剂可为相同

或不同的疫苗。在一些情况下,药物组合物可为治疗或预防由冠状病毒导致的疾病的疫苗,且后续生物活性剂可为疫苗或用于治疗或预防水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡、或其组合的疫苗。

[0176] 在一些情况下,本公开内容还涉及用于治疗或预防需要其的受试者的疾病的方法,所述方法可包括给予受试者有效剂量的药物组合物,所述药物组合物包含:

[0177] 纳米聚集体,其包含聚合物和至少一种生物活性剂,所述生物活性剂包含至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合;以及

[0178] 任选的药学上合适的载体;

[0179] 其中药物组合物可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的生物活性剂;

[0180] 其中聚合物为水溶性的;且

[0181] 其中聚合物可包含:

[0182] 第一聚合物,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和用亲水部分改性的第二端基,其中第一端基包含1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,且第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;或

[0183] 第二聚合物,其包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD),乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇)(PEG),聚(乳酸)(PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA),聚(环氧丙烷)(PPO),聚(己内酯)(PCL),**Pluronic**[®](PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸)(PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE),聚(L-赖氨酸)(PLL),甲基PEG(mPEG),聚天冬氨酸(PasP),聚(L-组氨酸)(PLH),聚(乙烯胺)(PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP),聚(L-亮氨酸)(PLLeu),脱氧胆酸(DOCA),羟丙基甲基纤维素(HPMC),聚(羟基丁酸酯)(PHB),聚(环氧乙烷)(PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG),磷脂酰丝氨酸(PS),聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH),聚(γ -炔丙基)(PP);或

[0184] 其组合。

[0185] 在一些情况下,聚合物可包含如本文所公开的第一聚合物。

[0186] 在一些情况下,聚合物可由如本文所公开的第一聚合物构成。在一些情况下,药物组合物可不含选自以下的聚合物:一种或多种羟基树枝状聚合物(HD),乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇)(PEG),聚(乳酸)(PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA),聚(环氧丙烷)(PPO),聚(己内酯)(PCL),**Pluronic**[®](PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸)(PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE),聚(L-赖氨酸)(PLL),甲基PEG(mPEG),聚天冬氨酸(PasP),聚(L-组氨酸)(PLH),聚(乙烯胺)(PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP),聚(L-亮氨酸)(PLLeu),脱氧胆酸(DOCA),羟丙基甲基纤维素(HPMC),聚(羟基丁酸酯)(PHB),聚(环氧乙烷)(PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG),磷脂酰丝氨酸(PS),聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH),聚(γ -炔丙基)(PP),及其

组合。

[0187] 在一些情况下,聚合物可包含一种或多种羟基树枝状聚合物(HD),乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇)(PEG),聚(乳酸)(PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA),聚(环氧丙烷)(PPO),聚(己内酯)(PCL),**Pluronic**[®](PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸)(PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE),聚(L-赖氨酸)(PLL),甲基PEG(mPEG),聚天冬氨酸(PasP),聚(L-组氨酸)(PLH),聚(乙烯胺)(PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP),聚(L-亮氨酸)(PLLeu),脱氧胆酸(DOCA),羟丙基甲基纤维素(HPMC),聚(羟基丁酸酯)(PHB),聚(环氧乙烷)(PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG),磷脂酰丝氨酸(PS),聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH),聚(γ -炔丙基)(PP),或其组合。

[0188] 在一些情况下,聚合物可包含第一聚合物和一种或多种后续聚合物(亦称作“第二聚合物”),所述后续聚合物选自一种或多种羟基树枝状聚合物(HD),乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇)(PEG),聚(乳酸)(PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA),聚(环氧丙烷)(PPO),聚(己内酯)(PCL),**Pluronic**[®](PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸)(PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE),聚(L-赖氨酸)(PLL),甲基PEG(mPEG),聚天冬氨酸(PasP),聚(L-组氨酸)(PLH),聚(乙烯胺)(PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP),聚(L-亮氨酸)(PLLeu),脱氧胆酸(DOCA),羟丙基甲基纤维素(HPMC),聚(羟基丁酸酯)(PHB),聚(环氧乙烷)(PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG),磷脂酰丝氨酸(PS),聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH),聚(γ -炔丙基)(PP),及其组合。

[0189] 本文公开的生物活性剂可以是合适的。

[0190] 任何本文公开的聚合物可以是合适的。在一些情况下,聚合物可包括聚噁唑啉(POX),其包含线型部分、支化部分、或其组合,且其中聚噁唑啉(POX)包括聚(2-噁唑啉)、聚(2-甲基噁唑啉)、聚(2-乙基噁唑啉)、聚(2-丙基噁唑啉)、聚(异丙基噁唑啉)、或其组合。在一些情况下,聚噁唑啉为聚(2-乙基噁唑啉)。

[0191] 如上所述,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于150nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于120nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约0.01nm或约0nm至约150nm范围内。在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约50nm至约150nm范围内。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约50至约100nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体或纳米颗粒的尺寸可为约50至约120nm。在另一个实例中,在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约70至90nm范围内。粒径可通过光散射测量。

[0192] 在一些情况下,纳米聚集体可具有在约2:1至约20:1范围内的聚合物和生物活性剂的重量比。在一些情况下,纳米聚集体可具有在约5:1至约8:1范围内的聚合物和生物活性剂的重量比。

[0193] 在一些情况下,纳米聚集体可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。在一些情况下,纳米聚集体可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油或游离酸。在一些情况下,纳米聚集体可不含人血清白蛋白。在一些情况下,纳米聚集体可不含有有机溶剂。在一些情况下,纳米聚集体可不含去垢剂。在一些情况下,纳米聚集体可不含油。在一些情况下,纳米聚集体可不含游离酸。在一些情况下,纳米聚集体可不含选自人血清白蛋白、有机溶剂、去垢

剂、油、游离酸及其组合的物质。

[0194] 在一些情况下,药物组合物可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。在一些情况下,药物组合物可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油或游离酸。在一些情况下,药物组合物可不含人血清白蛋白。在一些情况下,药物组合物可不含有有机溶剂。在一些情况下,药物组合物可不含去垢剂。在一些情况下,药物组合物可不含油。在一些情况下,药物组合物可不含游离酸。在一些情况下,药物组合物可不含选自人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油、游离酸及其组合的物质。

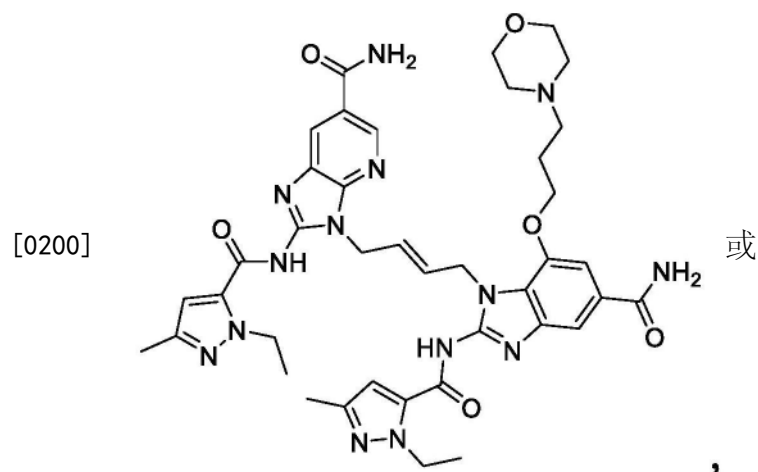
[0195] 在本文公开的方法的一些情况下,1%至100%的第二端基不含伯胺。在一些情况下,1%至100%的第二端基包含羟基。所有百分比均基于第二端基的总数。

[0196] 在一些情况下,药物组合物可具有在约3.0至6.9范围内的pH值。

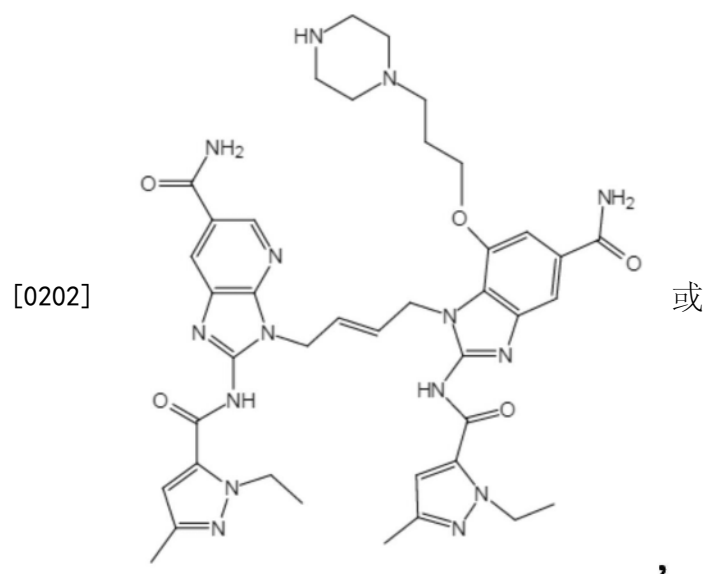
[0197] 在一些情况下,适用于所述方法,生物活性剂可至少包含具有式(1)-式(29)的化合物(图11A-图11E)、其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

[0198] 在一些情况下,生物活性剂可包含具有下式的化合物

[0199] 式(1)



[0201] 式(4)



[0203] 其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

[0204] 在一些情况下,疾病可选自免疫疾病、传染病及其组合。

[0205] 在一些情况下,免疫疾病可包括前述免疫缺陷疾病、过度活跃免疫疾病、自身免疫病和其他具有异常免疫系统的疾病或症状。

[0206] 药物组合物可通过静脉内 (IV) 注射、皮下 (SC) 注射、肌内 (IM) 注射、皮内 (ID) 注射、鼻喷雾剂、吸入、口服片剂、滴眼剂、直肠免疫、阴道免疫、或其组合给予受试者。

[0207] 在一些情况下,药物组合物可为 (例如疫苗的) 佐剂。在一些情况下,药物组合物为预防性疫苗、治疗性疫苗、或其组合,其中药物组合物可包含佐剂,且可进一步包含至少一种用于刺激需要其的受试者的免疫应答的免疫剂。在一些情况下,药物组合物被选择用于治疗或预防至少一种传染病,其选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV (人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒 (RSV)、轮状病毒、风疹 (德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡及其组合。

[0208] 免疫剂可至少包含冠状病毒刺突 (S) 糖蛋白的多肽、编码所述刺突 (S) 糖蛋白的DNA、编码所述刺突 (S) 糖蛋白的RNA、所述刺突 (S) 糖蛋白的受体结合结构域 (RBD)、编码所述RBD的DNA、编码所述RBD的RNA、其部分、或其组合。

[0209] 在一些情况下,免疫剂可包含至少一种229E α 冠状病毒、NL63 α 冠状病毒、OC43 β 冠状病毒、HKU1 β 冠状病毒、MERS-CoV、SARS-CoV、SARS-CoV-2、其变体、或其组合的刺突 (S) 糖蛋白的受体结合结构域 (RBD)。

[0210] 在一些情况下,免疫剂可包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、或其组合中的至少一种多肽。在一些情况下,免疫剂可包含SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9中的至少一种多肽。

[0211] 在一些情况下,免疫剂:佐剂的重量比可在1:50至50:1范围内,其中重量比是基于免疫剂的和作为佐剂的生物活性剂的重量。在一些情况下,适用于所述方法,药物组合物可包含在1:50至50:1范围内的RBD抗原融合蛋白:生物活性剂的重量比,其中生物活性剂可选自式 (1) - 式 (29) 及其组合。在一些情况下,药物组合物可包含在1:50至50:1范围内的RBD抗原融合蛋白:生物活性剂的重量比,其中生物活性剂可选自式 (1)、式 (4) 及其组合。

[0212] 所述方法可进一步包含给予受试者一种或多种后续生物活性剂的步骤,所述后续生物活性剂选自蛋白质、肽、抗体、抗体的片段、化合物、小分子药物、一种或多种化疗药物、疫苗及其组合,其中一种或多种后续生物活性剂各自可在给予所述药物组合物之前、同时或之后给予受试者。在一些情况下,后续生物活性剂可为与药物组合物不同的疫苗。在一些情况下,药物组合物可为治疗或预防由冠状病毒导致的疾病的疫苗,且后续生物活性剂可为疫苗或用于治疗或预防水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV (人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒 (RSV)、轮状病毒、风疹 (德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡、或其组合的疫苗。市售疫苗和美国疾病控制和预防中心 (US Centers for Disease Control and Prevention, CDC) 列出的疫苗可用作后续生物

活性剂。

[0213] 本文所述后续生物活性剂可包括任何化学或小分子药物、化疗药物、无机基药物、生物药物或基于大分子的药物、其改性物或衍生物,及其组合。

[0214] 在一些情况下,药物组合物可包含本文公开的佐剂和免疫剂,其中佐剂在免疫剂被给予受试者之前、同时或之后给予需要其的受试者。在一些情况下,药物组合物可包含含有式(1)-(29)或其组合的佐剂,其中佐剂可在免疫剂(例如市售疫苗、DNA、mRNA或蛋白质,例如本文公开的RBD抗原融合蛋白)之前、一起(共混或共配制)或之后给予需要其的受试者。在一些情况下,佐剂可在免疫剂给药前的1分钟至1天、5天、10天、21天、30天、60天、90天或120天时给药。在一些情况下,佐剂可与免疫剂同时给药。在一些情况下,佐剂可在免疫剂给药后的1分钟至1天、5天、10天、21天、30天、60天、90天或120天时给药。

[0215] 在一些情况下,包含聚合物与式(1)-(29)或其组合的化合物的本公开内容的佐剂可在疫苗给药之前、一起(共混或共配制)或之后给予需要其的受试者,所述疫苗用于治疗或预防选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡及其组合的疾病。

[0216] 在一些情况下,包含聚合物、式(1)-(29)或其组合的化合物和免疫剂(至少包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、或其组合的多肽)的本公开内容的疫苗可在用于治疗或预防疾病的疫苗给药之前、一起(共混或共配制)或之后给予需要其的受试者,所述疾病选自水痘、冠状病毒、登革热、白喉、埃博拉、流行性感、肝炎、Hib病、HIV/AIDS、HPV(人乳头瘤病毒)、日本脑炎、麻疹、脑膜炎球菌病、猴痘、流行性腮腺炎、诺如病毒、肺炎球菌病、脊髓灰质炎、狂犬病、呼吸道合胞病毒(RSV)、轮状病毒、风疹(德国麻疹)、带状疱疹、破伤风、百日咳、寨卡及其组合。

[0217] 在一些情况下,方法可进一步包括给予受试者一次或多次药物组合物(例如本文公开的佐剂或疫苗)的加强注射的步骤。在一些情况下,方法可包括使用佐剂给予一次或多次加强注射的步骤。在一些情况下,方法可包括使用疫苗(包含佐剂和一种或多种免疫剂)给予一次或多次加强注射的步骤。在一些情况下,方法可包括使用本文公开的佐剂(包括式(1)-(29)或其组合)和RBD抗原融合蛋白给予受试者一次或多次加强注射的步骤。

[0218] 后续生物活性组合物可通过静脉内(IV)、肌肉(IM)、皮下(SC)或皮内(ID)注射,口服,通过吸入,经鼻,经眼(例如使用滴剂或软膏),经皮(例如使用贴剂)、或其组合给药。上述任何给药途径的组合也可以是合适的。

[0219] 适用于所述方法,药物组合物可具有在1:50至50:1范围内得到免疫剂:佐剂的重量比,其中重量比是基于免疫剂的和作为佐剂的生物活性剂的重量。

[0220] 如上文和下文所公开的,可将纳米聚集体与靶向部分或基团连接以形成缀合物,使得靶向基团与目的纳米复合物颗粒一同纳入(图10A-10B),所述靶向部分或基团包括但不限于抗体(或其抗原结合部分)、抗原、同源糖类(cognate carbohydrate)(例如唾液酸)、细胞表面受体配体、与细胞表面受体结合的部分(如前列腺特异性膜抗原(PSMA))、与细胞

表面糖类结合的部分、细胞外基质配体、细胞溶质受体配体、生长因子、细胞因子、肠降血糖素、激素、凝集素、凝集素靶标(如半乳糖、半乳糖衍生物、N-乙酰半乳糖胺、甘露糖、甘露糖衍生物等)、维生素(如叶酸、生物素等)、亲和素、链霉亲和素、中性亲和素(neutravidin)等。

[0221] 在一些情况下,可将生物活性剂以最高达40mg/mL的各种量溶于甲醇或乙醇中。可如PCT公开号W02014/123791(其全部公开内容以引用的方式全文纳入本文)所教导的制备烃($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}$)改性的无规支化PEOX60(单体和引发剂的摩尔比=60:1)(本文中称作 $\text{C}_{18}\text{PEOXABP60}$),并且将其以最高达100mg/mL的不同浓度溶于甲醇或乙醇中。然后可将这两种溶液以各种体积混合,以使得混合物中最终的均聚物与生物活性剂的重量比为2:1至20:1以形成纳米聚集体。可将纳米聚集体旋转蒸发至干燥以形成干燥的纳米聚集体。然后可将干燥的纳米聚集体再溶解于水或盐水中,接着用0.22 μm 滤器进行无菌过滤,并根据体积冻干20至72小时,以产生作为干燥粉末的冻干的纳米聚集体。

[0222] 在一些情况下,聚合物混合物H/ $\text{C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 可以是合适的。聚合物混合物H/ $\text{C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 可包含具有被-OH、 NH_2 、或其组合改性的第二端基的聚合物。

[0223] 包含本文公开的纳米聚集体的药物组合物可被配制与预期给药途径相容,且可包含一种或多种药学上合适的载体。给药途径的实例包括肠胃外给药,例如静脉内(IV)、皮内(ID)、皮下(SC)、口服(例如吸入)、经皮(局部)、经粘膜和直肠给药。用于肠胃外、皮内或皮下施用的溶液剂或混悬剂可包括一种或多种药学上合适的载体,例如无菌稀释剂,如注射用水、盐水、油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂;抗细菌剂,如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,如EDTA;缓冲剂,如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐;以及用于调节张力(tonicity)的试剂,如氯化钠或右旋糖(dextrose)。可用酸或碱(如HCl或NaOH)调节pH。肠胃外制剂可封装在用玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中,作为制造品(article of manufacture)。药物组合物可与给药说明书一起包装于容器、包装(pack)或分配器。

[0224] 药物组合物可适用于注射使用,且可包括无菌水溶液或分散液,以及用于即时制备无菌注射液或分散液的无菌粉末。对于静脉内给药,合适的载体可包括生理盐水、抑菌水、**Cremophor**[®]E(BASF; Parsippany, NJ)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。组合物是无菌的且流动性达到存在可注射性的程度。组合物在制造和储存的条件下必须是稳定的,并且必须被保存避免微生物(如细菌和真菌)的污染作用。药物组合物可包含一种或多种溶剂或分散介质,包含例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、液体PEG、聚山梨醇酯等)及其合适的混合物。一些药学上合适的载体可用于维持组合物的适当流动性,例如通过使用包衣(例如卵磷脂)、通过在分散液的情况下维持所需的粒径、使用增稠剂以及使用表面活性剂。进一步药学上合适的载体可包括各种抗细菌剂和抗真菌剂(例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸等)以预防或抑制微生物的生长或作用;且组合物中可包括等渗剂作为药学上合适的载体,例如糖、多元醇(如甘露醇、山梨醇)或氯化钠。延缓吸收的试剂(例如单硬脂酸铝或明胶)亦可用作药学上合适的载体。

[0225] 在进一步的实施方案中,药物组合物可包含一种或多种将保护化合物免于被从受试者身体快速清除的药学上合适的载体,例如控释制剂,包括植入物和微胶囊化的递送系统。可使用可生物降解的、生物相容的聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚

原酸酯和聚乳酸。制备这种制剂的方法对于本领域技术人员而言是显而易见的。材料亦可从例如Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals, Inc商购获得。

[0226] 无菌的可注射溶液可通过以下方式制备:将所需量的活性化合物掺入含以上列举的一种成分或成分的组合(根据需要)的适当溶剂中,接着过滤灭菌。通常,通过将活性化合物掺入包含基础分散介质和来自以上列举的那些的所需的其他成分的无菌载体(vehicle)中制备分散液。在用于制备无菌的可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法为真空干燥和冷冻干燥,所述方法从其之前的无菌过滤的溶液产生活性成分加任何额外的所需成分的粉末。

[0227] 口服组合物通常包括惰性稀释剂或可食用的载体。为了口服治疗给药的目的,活性化合物可以与赋形剂一起掺入并以片剂、锭剂或胶囊剂的形式使用。口服组合物也可使用流体载体制备,以得到糖浆或液体制剂,或用作漱口水,其中流体载体中的化合物通过口服施用,含漱(swished)并吐出或吞服。

[0228] 可以包括药学上相容的粘合剂和/或辅料(adjuvant material)作为组合物的一部分。片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂等可包含下列任何成分或相似性质的化合物:粘合剂,如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶;赋形剂,如淀粉或乳糖;崩解剂,如海藻酸、Primogel或玉米淀粉;润滑剂,如硬脂酸镁或Sterotes;助流剂,如胶态二氧化硅;甜味剂,如蔗糖或糖精;或调味剂,如薄荷、水杨酸甲酯或橙味调味剂。

[0229] 对于吸入给药,化合物以例如气溶胶喷雾的形式递送,所述气溶胶喷雾来自含有合适的推进剂(例如气体,例如二氧化碳)的加压容器或分配器;雾化器;或喷雾器。

[0230] 全身给药也可通过经粘膜或经皮的方式进行。对于经粘膜或经皮给药,在制剂中使用适用于待渗透的屏障的穿透剂。这种穿透剂通常是本领域已知的,并且包括,例如对于经粘膜给药,去垢剂、胆盐和夫西地酸衍生物。经粘膜给药可以通过使用鼻喷雾剂或栓剂实现。对于经皮给药,将活性化合物配制成本领域中通常已知的软膏剂、油膏剂、凝胶剂或乳膏剂。另一种已知的穿透剂为二甲亚砞。

[0231] 化合物也可以被制备成用于直肠递送的栓剂(例如使用常规的栓剂基质,如可可脂和其他甘油酯)或滞留灌肠剂的形式。

[0232] 为了方便给药和剂量均一性,将口服或肠胃外组合物配制为剂量单位形式是有利的。本文使用的剂量单位形式是指适合作为用于待治疗受试者的单一剂量的物理上独立单位(physically discrete unit);每个单位包含经计算以产生所需治疗终点的预定量的活性化合物。所述剂量,例如优选的给药途径和量,可基于临床前和临床研究获得的经验数据,通过实施本领域已知的方法获得。剂量和递送形式可取决于且可依赖于生物活性剂的特征、聚合物的特征、待实现的特定治疗效果、受者(recipient)的特征和状况等。对于在数天或更长时间内的重复给药,根据病症,可以持续治疗直至达到所需终点。

[0233] 在一些情况下,本公开内容涉及包含聚合物和至少一种生物活性剂的纳米聚集体,所述生物活性剂包含至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合;

[0234] 其中纳米聚集体可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的生物活性剂;

[0235] 其中聚合物为水溶性的;且

[0236] 其中聚合物包含:

[0237] 第一聚合物,其包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和用亲水部分改性的第二端基,其中第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分包含具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,且第二端基包含被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;或

[0238] 第二聚合物,其包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD),乙二胺-核聚(酰胺胺)(PAMAM)羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇)(PEG),聚(乳酸)(PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)(PLGA),聚(环氧丙烷)(PPO),聚(己内酯)(PCL),**Pluronic**[®](PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸)(PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯)(PAE),聚(L-赖氨酸)(PLL),甲基PEG(mPEG),聚天冬氨酸(PasP),聚(L-组氨酸)(PLH),聚(乙烯胺)(PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮)(PVP),聚(L-亮氨酸)(PLLeu),脱氧胆酸(DOCA),羟丙基甲基纤维素(HPMC),聚(羟基丁酸酯)(PHB),聚(环氧乙烷)(PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯)(PBLG),磷脂酰丝氨酸(PS),聚(氰基丙烯酸异己酯)(PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐)(PAH),聚(γ -炔丙基)(PP),或其组合。

[0239] 在一些情况下,约1%至100%的第二端基可不含伯胺。在一些情况下,本文公开的纳米聚集体,1%至100%的第二端基可包含羟基。所有百分比均基于第二端基的总数。

[0240] 在一些情况下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于150nm。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可小于120nm。在一些情况下,如前所述,在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约0.01nm或约0nm至约150nm范围内。在一些情况下,在冻干前纳米聚集体的尺寸可在约50nm至约120nm范围内。

[0241] 在一些情况下,聚(2-乙基噁唑啉)可包含在50:1至80:1范围内的单体和引发剂的摩尔比。

[0242] 在一些情况下,纳米聚集体可具有在约2:1至约200:1范围内的聚合物和生物活性剂的重量比。在一些情况下,纳米聚集体可具有在约5:1至约8:1范围内的聚合物和生物活性剂的重量比。

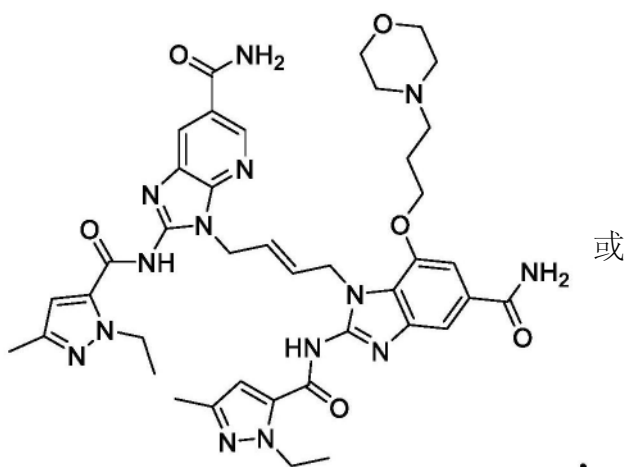
[0243] 纳米聚集体可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂或油。纳米聚集体可不含人血清白蛋白、有机溶剂、去垢剂、油或游离酸。

[0244] 在一些情况下,适用于本文公开的纳米聚集体,生物活性剂可至少包含具有式(1)-式(29)的化合物(图11A-图11E)、其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

[0245] 在一些情况下,生物活性剂可包含具有下式的化合物

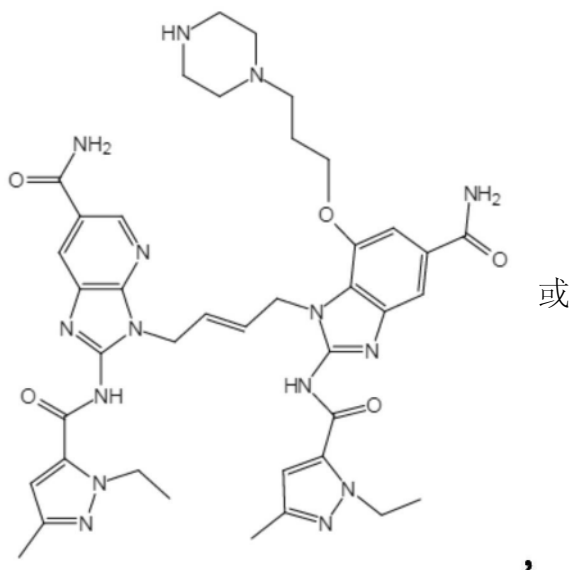
[0246] 式(1)

[0247]



[0248] 式(4)

[0249]



[0250] 其药学上可接受的盐、其溶剂合物、其前药、其异构体、或其组合。

[0251] 本发明进一步涉及含有聚合物和至少一种生物活性剂的纳米聚集体以及任选的药学上合适的载体用于制备用于治疗疾病的药物的用途,所述生物活性剂包括至少一种STING多肽或其部分、编码所述STING多肽或其部分的核酸、STING抑制剂、STING激活剂、STING激动剂、STING拮抗剂、STING调节分子、或其组合;

[0252] 其中疾病选自免疫疾病、传染病及其组合;

[0253] 其中纳米聚集体可溶于水溶液中,以产生溶于所述水溶液中的至少1mg/mL的生物活性剂;

[0254] 其中聚合物为水溶性的;且

[0255] 其中聚合物包含:

[0256] 第一聚合物,包括至少一个用H或疏水部分改性的第一端基和用亲水部分改性的第二端基,其中第一端基包括1%至100%的H和0%至99%的疏水部分,所述疏水部分包括具有1至约22个碳的饱和或不饱和脂族烃、芳香烃、或其组合,且第二端基包括被胺、酰胺、亚胺、酰亚胺、羧基、羟基、酯、醚、乙酸酯、磷酸酯、酮、醛、磺酸酯、或其组合改性的基团;或

[0257] 第二聚合物,其包括一种或多种羟基树枝状聚合物(HD),乙二胺-核聚(酰胺胺)

(PAMAM) 羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇) (PEG),聚(乳酸) (PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物) (PLGA),聚(环氧丙烷) (PPO),聚(己内酯) (PCL), **Pluronic**[®] (PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸) (PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯) (PAE),聚(L-赖氨酸) (PLL),甲基PEG (mPEG),聚天冬氨酸 (PasP),聚(L-组氨酸) (PLH),聚(乙烯胺) (PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮) (PVP),聚(L-亮氨酸) (PLLeu),脱氧胆酸 (DOCA),羟丙基甲基纤维素 (HPMC),聚(羟基丁酸酯) (PHB),聚(环氧乙烷) (PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯) (PBLG),磷脂酰丝氨酸 (PS),聚(氰基丙烯酸异己酯) (PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐) (PAH),聚(γ -炔丙基) (PP);或其组合。

[0258] 在一些情况下,聚合物可包括如本文所公开的第一聚合物。

[0259] 在一些情况下,聚合物可由如本文所公开的第一聚合物构成。在一些情况下,药物组合物可不含选自以下的聚合物:一种或多种羟基树枝状聚合物 (HD),乙二胺-核聚(酰胺胺) (PAMAM) 羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇) (PEG),聚(乳酸) (PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物) (PLGA),聚(环氧丙烷) (PPO),聚(己内酯) (PCL), **Pluronic**[®] (PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸) (PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯) (PAE),聚(L-赖氨酸) (PLL),甲基PEG (mPEG),聚天冬氨酸 (PasP),聚(L-组氨酸) (PLH),聚(乙烯胺) (PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮) (PVP),聚(L-亮氨酸) (PLLeu),脱氧胆酸 (DOCA),羟丙基甲基纤维素 (HPMC),聚(羟基丁酸酯) (PHB),聚(环氧乙烷) (PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯) (PBLG),磷脂酰丝氨酸 (PS),聚(氰基丙烯酸异己酯) (PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐) (PAH),聚(γ -炔丙基) (PP),及其组合。

[0260] 在一些情况下,约1%至100%的第二端基可不含伯胺。在一些情况下,本文公开的纳米聚集体,1%至100%的第二端基可包含羟基。所有百分比均基于第二端基的总数。

[0261] 在一些情况下,聚合物可包含一种或多种羟基树枝状聚合物 (HD),乙二胺-核聚(酰胺胺) (PAMAM) 羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇) (PEG),聚(乳酸) (PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物) (PLGA),聚(环氧丙烷) (PPO),聚(己内酯) (PCL), **Pluronic**[®] (PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸) (PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯) (PAE),聚(L-赖氨酸) (PLL),甲基PEG (mPEG),聚天冬氨酸 (PasP),聚(L-组氨酸) (PLH),聚(乙烯胺) (PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮) (PVP),聚(L-亮氨酸) (PLLeu),脱氧胆酸 (DOCA),羟丙基甲基纤维素 (HPMC),聚(羟基丁酸酯) (PHB),聚(环氧乙烷) (PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯) (PBLG),磷脂酰丝氨酸 (PS),聚(氰基丙烯酸异己酯) (PIHCA),聚(烯丙胺盐酸盐) (PAH),聚(γ -炔丙基) (PP),或其组合。

[0262] 在一些情况下,聚合物可包括第一聚合物和一种或多种后续聚合物(亦称作“第二聚合物”),所述后续聚合物选自一种或多种羟基树枝状聚合物 (HD),乙二胺-核聚(酰胺胺) (PAMAM) 羟基封端-4,5,6,7,8,9,10代树枝状聚合物或其组合,聚(乙二醇) (PEG),聚(乳酸) (PLA),聚(乳酸-羟基乙酸共聚物) (PLGA),聚(环氧丙烷) (PPO),聚(己内酯) (PCL), **Pluronic**[®] (PPO-PEO),聚(γ -L-谷氨酸) (PGA),聚(L-苯丙氨酸乙酯) (PAE),聚(L-赖氨酸) (PLL),甲基PEG (mPEG),聚天冬氨酸 (PasP),聚(L-组氨酸) (PLH),聚(乙烯胺) (PEI),聚(N-乙烯吡咯烷酮) (PVP),聚(L-亮氨酸) (PLLeu),脱氧胆酸 (DOCA),羟丙基甲基纤维素 (HPMC),聚(羟基丁酸酯) (PHB),聚(环氧乙烷) (PEO),聚(L-谷氨酸- γ -苄酯) (PBLG),磷脂酰丝氨酸

[0274] 实施例

[0275] 在以下实施例中进一步限定本发明。应理解这些实施例尽管表示本发明的优选实施方案,但仅以举例说明的方式给出。从上文的讨论和实施例,本领域技术人员能确定本发明的基本特征,并能不偏离其精神和范围的情况下,对本发明进行各种改变和修改以使其适应各种用途和条件。

[0276] 材料和测量**[0277] 聚合物**

[0278] 如PCT公布W02014/123791 (通过引用的方式全文纳入本文) 此前所述,使用引发剂 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17})\text{-Br}$ 制备具有单体和引发剂摩尔比 = 60:1 的烃 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17})$ 改性的无规支化PEOX聚合物(本文中为“ $\text{C}_{18}\text{PEOXABP60}$ ”)。

[0279] 如上所述用引发剂 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5)\text{-Br}$ 制备另一种具有单体和引发剂摩尔比 = 60:1 的烃改性的无规支化PEOX聚合物。

[0280] 如上所述用引发剂 $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11})\text{-Br}$ 制备另一种具有单体和引发剂摩尔比 = 60:1 的烃改性的无规支化PEOX聚合物。

[0281] 如上所述用引发剂对甲苯磺酸甲酯制备另一种具有单体和引发剂摩尔比 = 60:1 的烃改性的无规支化PEOX聚合物。

[0282] 如上所述用引发剂对甲苯磺酸制备具有单体和引发剂摩尔比 = 60:1 的氢改性的无规支化PEOX聚合物(本文中为“ H-PEOXABP60 ”)。

[0283] 如上所述用引发剂三氟乙酸制备另一种具有单体和引发剂摩尔比 = 60:1 的氢改性的无规支化PEOX聚合物。

[0284] 具有单体和引发剂摩尔比 = 60:1 的氢改性的无规支化PEOX聚合物统称为“ H-PEOXABP60 ”。

[0285] 表1示出具有用H(H-PEOXABP60)和 C_{18} 烃($\text{C}_{18}\text{PEOXABP60}$)改性的各种第一末端的聚合物的一些非限制性实例。H和 C_{18} 烃改性的第一端基存在是用HPLC测量。示出H和 C_{18} 烃的摩尔比以及H的百分比。

[0286] 表1. 混合的聚合物实例 H-PEOXABP60 和 $\text{C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 的H与 C_{18} 烃的比例以及H的百分比(摩尔比)。

[0287]

聚合物	H 与 C_{18} 的比例 (H/ C_{18} 摩尔比)	H 的 % (摩尔百分比)
聚合物 1	0.10	9%
聚合物 2	0.33	25%
聚合物 3	0.52	34%
聚合物 4	0.65	39%
聚合物 5	0.76	43%
聚合物 6	0.99	50%
聚合物 7	1.02	50%
聚合物 8	1.49	60%

[0288] 引发剂摩尔比=60:1的包含炔($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}$)改性的第一末端和H改性的第一末端的混合物的聚合物(本文中“ $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ ”)用于产生纳米聚集体。

[0289] 具有约0.3的 H/C_{18} 的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 在水中以作为第二端基的羟基封端(本文中称作“聚合物A1”)。聚合物A1的水溶液的pH值在4.0至6.9范围内。如有需要,可使用HCl或NaOH调整聚合物A1的水溶液以具有在5.6至7.5或4.0至10范围内的pH值。

[0290] 具有0.4的 H/C_{18} 的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 在水中以作为第二端基的羟基封端(本文中称作“聚合物A2”)。可调整聚合物A2的水溶液以具有在4.0至6.9范围内的pH值。可使用HCl或NaOH调整另一聚合物A2的水溶液以具有在7.0至10或5.6至7.5范围内的pH值。

[0291] 具有约0.7的 H/C_{18} 的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 在水中以作为第二端基的羟基封端(本文中称作“聚合物A3”)。聚合物A3的水溶液具有在4.0至6.9范围内的pH值。如有需要,可使用HCl或NaOH调整聚合物A3的水溶液以具有在7.0至10或5.6至7.5范围内的pH值。

[0292] 所有具有羟基作为第二端基的 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 聚合物可称作 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60-OH}$ 。

[0293] 具有约0.7的 H/C_{18} 的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 用EDA封端(聚噁唑啉反应性链末端与EDA的摩尔比为约1:10),产生具有包含用伯胺改性的基团的第二端基的聚合物(本文中称作“聚合物B1”)。聚合物B1的水溶液具有在7.0至10范围内的pH值。可使用HCl或NaOH调整另一聚合物B1的水溶液以具有在8.9至9.7范围内的pH值。可调整另一聚合物B1的水溶液以具有在4.0至6.9范围内的pH值。

[0294] 具有约0.4的 H/C_{18} 的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 用EDA封端(聚噁唑啉反应性链末端与EDA的摩尔比为约1:10),产生具有包含用伯胺改性的基团的第二端基的聚合物(本文中称作“聚合物B2”)。可调整聚合物B2的水溶液以具有在7.0至10范围内的pH值。可使用HCl或NaOH调整另一聚合物B2的水溶液以具有在4.0至10或5.6至7.5范围内的pH值。

[0295] 具有约0.3的 H/C_{18} 的聚合物 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 用EDA封端(聚噁唑啉反应性链末端与EDA的摩尔比为约1:10),产生具有包含用伯胺改性的基团的第二端基的聚合物(本文中称作“聚合物B3”)。可调整聚合物B3的水溶液以具有在7.0至10范围内的pH值。可使用HCl或NaOH调整另一聚合物B3的水溶液以具有在4.0至10或5.6至7.5范围内的pH值。

[0296] 所有具有 $-\text{NH}_2$ 基团作为第二端基的 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60}$ 聚合物可称作 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60-NH}_2$ 。

[0297] 纳米颗粒测量

[0298] 使用Malvern Zetasizer Nano ZS Zen3600粒径分析仪(Malvern Panalytical Inc., Westborough, MA 01581, USA)通过动态光散射(DLS)法测量各种聚合物、仅聚合物的纳米聚集体以及药物诱导的聚合物-药物纳米聚集体的尺寸。

[0299] 实施例1-2

[0300] 具有 $\text{H/C}_{18}\text{PEOXABP60-A}$ (聚合物A1)聚合物:式(1)的纳米颗粒

[0301] 佐剂制剂1:将按照上文聚合物部分制备的具有约0.4的 H/C_{18} 的聚合物A1(200mg)溶于水中以产生100mg/g的溶液。向聚合物溶液中加入式(1)的化合物(8mg)并按照上述方法加工以产生具有聚合物:式(1)的重量比=25:1的含2mg/mL式(1)的纳米聚集体水溶液。将溶液用0.8和0.2 μm 滤器过滤并冻干20-100h以产生冻干的干粉。将小瓶塞住(stopper)并于室温下储存所述即用型白色粉末。

[0302] 佐剂制剂2:将如上文制备的具有约0.4的 H/C_{18} 的聚合物A1(400mg)溶于水中以产

生100mg/g的溶液。向聚合物溶液中加入式(1)的化合物(8mg)并按照上述方法加工以产生具有聚合物:式(1)的重量比=50:1的含2mg/mL式(1)的纳米聚集体水溶液。将溶液用0.8和0.2 μ m滤器过滤并冻干20-100h以产生冻干的干粉。将小瓶塞住并于室温下储存所述即用型白色粉末。

[0303] 实施例3-4

[0304] 具有H/C₁₈PEOXABP60-A (聚合物A2) 聚合物:式(1)的纳米颗粒

[0305] 佐剂制剂3:将如上文制备的具有约0.4的H/C₁₈的聚合物A2(400mg)溶于水中以产生100mg/g的溶液。向聚合物溶液中加入式(1)的化合物(8mg)并按照上述方法加工以产生具有聚合物:式(1)的重量比=50:1的含2mg/mL式(1)的纳米聚集体水溶液。将溶液用0.8/0.2 μ m滤器组过滤并冻干20-100h以产生冻干的干粉。将小瓶塞住并于室温下储存所述即用型白色粉末。

[0306] 佐剂制剂4:将如上文制备的具有约0.7的H/C₁₈的聚合物A3(400mg)溶于水中以产生100mg/g的溶液。向聚合物溶液中加入式(1)的化合物(8mg)并按照上述方法加工以产生具有聚合物:式(1)的重量比=50:1的含2mg/mL式(1)的纳米聚集体水溶液。将溶液用0.8和0.2 μ m滤器过滤并冻干20-100h以产生冻干的干粉。将小瓶塞住并于室温下储存所述即用型白色粉末。

[0307] 实施例5-6

[0308] 佐剂制剂5:将如上文制备的具有约0.3的H/C₁₈的聚合物B3(400mg)溶于水中以产生100mg/g的溶液。向聚合物溶液中加入式(1)的化合物(8mg)并按照上述方法加工以产生具有聚合物:式(1)的重量比=50:1的含2mg/mL式(1)的纳米聚集体水溶液。将溶液用0.8和0.2 μ m滤器过滤并冻干20-100h以产生冻干的干粉。将小瓶塞住并于室温下储存所述即用型白色粉末。

[0309] 佐剂制剂6:将如上文制备的具有约0.3的H/C₁₈的聚合物B3(200mg)溶于水中以产生100mg/g的溶液。向聚合物溶液中加入式(1)的化合物(8mg)并按照上述方法加工以产生具有聚合物:式(1)的重量比=25:1的含2mg/mL式(1)的纳米聚集体水溶液。将溶液用0.8和0.2 μ m滤器过滤并冻干20-100h以产生冻干的干粉。将小瓶塞住并于室温下储存所述即用型白色粉末。

[0310] 佐剂制剂统称为“Nano-Adjuvant”或“Nan-Ad”。

[0311] 实施例7

[0312] 抗原设计、构建、表达和纯化

[0313] 1. RBD抗原融合蛋白的构建

[0314] 将两个或更多来自SARS-CoV-2(Delta)(SEQ ID NO:1)、SARS-CoV(SEQ ID NO:2)、MERS-CoV(SEQ ID NO:3)的RBD(受体结合结构域)抗原序列通过接头序列串联连接到一起,以形成RBD抗原构建体。具有3个RBD序列的构建体的实例AG1-AG6示意性所示出于图12中。接头1和接头2可相同或不同。包含接头L20(SEQ ID NO:4:GGGSGGGSGGGSGGGGS)的具有SARS-CoV-2(Delta)RBD-接头-SARS-CoV RBD-接头-MERS-CoV RBD的AG1 RBD抗原蛋白列于下文序列表中(SEQ ID NO:5)。将AG1的核酸构建体用限制性酶Eco RI和Nco I切割并克隆进表达载体pFUSE-hIgG1-Fc2,从而使目的序列与载体上的人IgG1Fc融合以形成融合表达盒(亦称作“RBD抗原融合蛋白表达盒”)。所述融合蛋白表达盒(亦称作“RBD抗原融合蛋白表达

盒”)被命名为“S2S1ML20盒”(S2:SARS-CoV-2(Delta),S1:SARS-CoV,M:MERS-CoV,L20:接头L20)。自S2S1ML20盒表达的融合蛋白(亦称作“RBD抗原融合蛋白”)被称作S2S1ML20。病毒谱系示出于图13A中。表达盒和相应的RBD抗原融合蛋白的实例于图13B中示意性地举例说明。具有融合蛋白的抗体的实例于图13C-图13F中示意性地举例说明:具有3个RBD以及L15接头的抗原融合蛋白的实例(图13C)、具有3个RBD以及L20接头的抗原融合蛋白的实例(图13D)、具有2个RBD(SARS2 RBD和MERS RBD)的抗原融合蛋白的实例(图13E)以及另一个具有2个RBD(SARS2 RBD和SARS RBD)的抗原融合蛋白的实例(图13F)。接头可位于RBD序列之间,如图13B所示。在实施例中,抗原融合蛋白的形式为类似IgG的免疫球蛋白。代表性RBD抗原氨基酸序列比对如图14所示。如本文所用,术语SARS或SARS-CoV是指SARS-CoV且可互换使用。术语SARS2或SARS-CoV-2是指SARS-CoV-2。术语MERS或MERS-CoV是指MERS-CoV。

[0315] 还产生并包括额外的融合蛋白:具有SARS-CoV-2(Delta)RBD-接头L10-SARS-CoV RBD-接头L10-MERS-CoV RBD的S2S1ML10(SEQ ID NO:6);S2S1ML15:SARS-CoV-2(Delta)RBD-接头L15-SARS-CoV RBD-接头L15-MERS-CoV RBD(SEQ ID NO:7);S2ML15:SARS-CoV-2(Delta)RBD-接头L15-MERS-CoV RBD(SEQ ID NO:8);以及S2SL15:SARS-CoV-2(Delta)RBD-接头L15-SARS-CoV RBD(SEQ ID NO:9)。

[0316] 接头为:接头L15(SEQ ID NO:10)和接头L10(SEQ ID NO:11)。

[0317] 额外的RBD序列包括GenBank登录号UJH58758.1,SARS-CoV-2(WA1)RBD(SEQ ID NO:12);GenBank登录号UNE80990.1,SARS-CoV-2(BA.2)RBD(SEQ ID NO:13);GenBank登录号MT040334.1,穿山甲冠状病毒RBD(SEQ ID NO:14);GenBank登录号YP_009825051.1,SARS-CoV RBD(SEQ ID NO:15);GenBank登录号AGZ48828.1,WIV1RBD(SEQ ID NO:16);GenBank登录号AGZ48818.1,Rs3367 RBD(SEQ ID NO:17);GenBank登录号QJE50589.1,SHC014 RBD(SEQ ID NO:18);GenBank登录号AFS88936.1,MERS-CoV进化枝A(SEQ ID NO:19);GenBank登录号AKJ80137.2,MERS-CoV进化枝B(SEQ ID NO:20);以及GenBank登录号AVN89387.1,MERS-CoV进化枝C(SEQ ID NO:21),也用作抗原或抗原融合蛋白。

[0318] 2.RBD抗原融合蛋白的表达和纯化

[0319] 2.1.使Expi293F细胞生长至细胞密度为 1×10^6 /ml。

[0320] 2.2.使用转染剂EsayTrans(可获自Life-iLab)用含S2S1ML20盒的载体转染细胞。

[0321] 2.3.继续培养细胞5天。然后通过以3000rpm离心沉降细胞收集上清。

[0322] 2.4.在用PBS(磷酸盐缓冲盐水)平衡的重力柱中使用蛋白A小珠(可获自GenScript)于4℃下孵育2小时来纯化表达的S2S1ML20。用PBS洗涤。用甘氨酸溶液洗脱蛋白质。

[0323] 2.5.使用SDS-PAGE检验蛋白质的纯度和大小。

[0324] 实施例8

[0325] 鼻腔疫苗接种

[0326] 将十五只BALB/c小鼠(雌性,8周龄,可获自Vital River Laboratories)随机分为5组,每组3只小鼠。鼻内给予小鼠具有表2中所示抗原蛋白和佐剂制剂的疫苗。在施用鼻腔疫苗组分(亦称作“鼻腔疫苗接种”)后6小时按照批准的方案处死小鼠。将肺样本用TRIzol匀浆并按照TRIzol生产商提供的方法提取总RNA。使用RT-qPCR(逆转录定量聚合酶链反应)试剂盒(可获自Takara)定量样本中细胞因子IFN- β 、CXCL-10、CXCL-9、CCL-2、IL-6、IB-1 β 、

IFN- γ 、TNF- α 、CD40、CD86、TGFB-1和IL-12的mRNA水平。

[0327] 代表性结果示出于图15A中,具有表2中所示组ID及所示具有式(1)的化合物的量。灰度1-4中示出的强度(S:强度标度)反映诱导的细胞因子产生中的免疫应答水平,更深的灰色代表更高的mRNA水平。

[0328] 数据表明具有RBD抗原蛋白和佐剂制剂3的疫苗组分被用于大多数测试。当用细胞因子产生和其他方法测量时,上文实施例1-6中制备的其他佐剂制剂表示类似的更强的免疫应答。

[0329] 表2.鼻腔疫苗组分

[0330]

组ID	PBS	抗原蛋白S2S1ML20	Nano-Adjuvant
PBS	20 μ L	-	-
0	20 μ L	5 μ g	-
1	20 μ L	5 μ g	1 μ g
5	20 μ L	5 μ g	5 μ g
20	20 μ L	5 μ g	20 μ g

[0331] 实施例9

[0332] 诱导 β 冠状病毒特异性IgG中的免疫应答

[0333] 将三十只BALB/c小鼠(可获自Vital River Laboratories)随机分为5组,每组6只小鼠。用表3所示疫苗组分及以所示给药途径免疫小鼠。未处理组(**Naïve** group)未接种疫苗。

[0334] 每只小鼠在第0、28和56天时免疫。在第35和63天时收集血清样本。

[0335] 将收集的血清样本于56℃下热灭活30min。用ELISA测量特异性针对SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV的RBD的IgG的水平。简言之,将SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV的RBD蛋白分别包被于ELISA板的孔中,于4℃下孵育过夜,然后于37℃下用PBS(5%BSA,牛血清白蛋白)封闭2小时。将血清样本连续稀释并加至封闭的ELISA板的孔中。将板于37℃下孵育30min,然后用PBST(含0.05%Tween-20的PBS)洗涤5次。然后向孔中加入HRP标记的兔抗小鼠IgG抗体,并于37℃下孵育30min。将孔用PBST洗涤5次,然后向孔中加入显色底物TMB。用H₂SO₄终止显色反应后,用酶标仪于A₄₅₀下测量板的显色强度。

[0336] 代表性结果示出于图15B-图15D和表4-6中,来自接受2剂次疫苗组分的小鼠。数据表明肌内(IM)注射和鼻内(IN)接种均诱导强烈的免疫应答,所述免疫应答通过特异性针对SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV RBD蛋白的IgG来测量。通过单因素方差分析(One-way ANOVA)将所有P值与未处理组比较。佐剂的量是基于制剂中化合物式(1)的量。

[0337] 表3.疫苗组分

[0338]

组ID	给药	抗原蛋白S2S1ML20	Nano-Adjuvant
IM-20	肌内(IM)	5 μ g	20 μ g
IN-20	鼻内(IN)	5 μ g	20 μ g
IN-5	鼻内(IN)	5 μ g	5 μ g
IN-1	鼻内(IN)	5 μ g	1 μ g
未处理	-	-	-

[0339] 表4.第35天时小鼠血清中的SARS-CoV-2RBD特异性IgG效价

组 ID	IM-20	IN-20	IN-5	IN-1	未处理
RBD 特异性效价 $\pm$ SEM	1239300 $\pm$ 332475	656100 $\pm$ 0	218700 $\pm$ 0	583200 $\pm$ 72900	58.33 $\pm$ 8.333
P 值	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	/

[0341] 表5.第35天时小鼠血清中的SARS-CoV RBD特异性IgG效价

组 ID	IM-20	IN-20	IN-5	IN-1	未处理
RBD 特异性效价 $\pm$ SEM	1126400 $\pm$ 441628	716800 $\pm$ 102400	179200 $\pm$ 25600	307200 $\pm$ 102400	50 $\pm$ 0
P 值	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	/

[0343] 表6.第35天时小鼠血清中的MERS-CoV RBD特异性IgG效价

组 ID	IM-20	IN-20	IN-5	IN-1	未处理
RBD 特异性效价 $\pm$ SEM	179200 $\pm$ 25600	128000 $\pm$ 34346	102400 $\pm$ 32382	44800 $\pm$ 6400	50 $\pm$ 0
P 值	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	/

[0345] 代表性结果示出于图16A和表7中,来自接受3剂次疫苗组分(首次给予疫苗组分后63天)的小鼠。数据表明肌肉(IM)注射和鼻内(IN)接种均诱导更强的免疫应答,所述免疫应答通过SARS-CoV-2RBD特异性IgG的水平来测量。通过单因素方差分析将所有P值与未处理组比较。

[0346] 表7.首次给予疫苗组分后63天时小鼠血清中的SARS-CoV-2RBD特异性IgG效价

组 ID	IM-20	IN-20	IN-5	IN-1	未处理
RBD 特异性效价 $\pm$ SEM	1433600 $\pm$ 204800	1638400 $\pm$ 0	409600 $\pm$ 0	409600 $\pm$ 0	50 $\pm$ 0
P 值	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	/

[0348] 实施例10

[0349] 诱导SARS-CoV-2RBD特异性IgA中的免疫应答

[0350] 用ELISA测量上文免疫的小鼠的特异性针对SARS-CoV-2的IgA的水平。简言之,通过于4℃下孵育过夜将SARS-CoV-2的RBD蛋白包被至ELISA板的孔中。除了使用HRP标记的兔抗小鼠IgA第二抗体外,按照与上述相同的方法。

[0351] 代表性结果在图16B和表8中提供。肌肉(IM)注射后63天时未从小鼠血清中检测到SARS-CoV-2RBD特异性IgA。然而,鼻内(IN)接种在小鼠血清中诱导显著水平的SARS-CoV-2RBD特异性IgA。

[0352] 表8.首次给予疫苗组分后63天时小鼠血清中的SARS-CoV-2RBD特异性IgA效价

组 ID	IM-20	IN-20	IN-5	IN-1	未处理
RBD 特异性 效价± SEM	50 ± 0	1000 ± 268	800 ± 253	1600 ± 0	50 ± 0
P 值	P > 0.9999	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.0001	/

[0354] 实施例11

[0355] 在肺中诱导SARS-CoV-2RBD特异性IgA中的免疫应答

[0356] 用ELISA测量上文免疫的小鼠的肺中特异性针对SARS-CoV-2的IgA的水平。简言之,在第63天时,在小鼠的肺中引入1mL PBS,收集支气管肺泡灌洗(BAL)液。如上所述用ELISA测量SARS-CoV-2特异性IgA。

[0357] 代表性结果示出于图16C和表9中。数据表明鼻内(IN)接种后小鼠BAL液中存在SARS-CoV-2特异性IgA。

[0358] 表9. 首次给予疫苗组分后63天时小鼠血清中的SARS-CoV-2RBD特异性IgA效价

组ID	IN-20	IN-5	IN-1	未处理
RBD特异性效价± SEM	270 ± 0	210 ± 37	270 ± 0	5 ± 0
P值	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.0001	/

[0360] 实施例12

[0361] 用SARS-CoV-2(D614G)和不同佐剂免疫的小鼠中的中和抗体效价

[0362] 用5μg以表10所列佐剂配制的RBD抗原融合蛋白S2S1ML20免疫小鼠。如上所述制备包含化合物式(1)的Nano-Adjuvant(佐剂制剂3)。如上所述测定特异性针对SARS-CoV-2(D614G)的中和抗体。数据示出于表10和图16D中。数据表明Nano-Adjuvant与传统含铝佐剂(可获自Thermo Fisher)相比导致明显更高(超过10倍)的中和抗体效价。肌肉(IM)注射和鼻内(IN)具有相似的结果。

[0363] 表10. 来自用RBD抗原S2S1ML20和不同佐剂免疫的小鼠的中和抗体的效价

组 ID	IM-20	IN-1	铝 IM	未处理
佐剂	Nano-Adjuvant 20 μg	Nano-Adjuvant 1 μg	铝佐剂	/
免疫途径	肌肉(IM)注射	鼻内(IN)	肌肉(IM)注射	/
RBD 抗原 S2S1ML20	5 μg	5 μg	5 μg	/
中和抗体效 价± SD	31525± 9016	19035± 8079	1670± 214	50 ± 0
P 值	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.0001	/

[0365] 实施例13

[0366] 鼻内(IN)接种后肺中的细胞免疫应答

[0367] 测量鼻内(IN)接种(鼻腔免疫)免疫的小鼠(上文表示为IN-1)的IFN-γ和IL-4(特

异性针对SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV RBD)的水平。简言之,在施用鼻腔疫苗组分后第63天,按照批准的方案处死小鼠。收集肺样本并用胶原酶D和DNA酶I处理以产生单个肺细胞悬液。收集脾样本并匀浆以制备单个脾细胞悬液。用红细胞裂解液去除红细胞。用ELISPOT试剂盒(可获自Mabtech)测量特异性针对SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV RBD的IFN- γ 和IL-4的水平。

[0368] 简言之,将约 2×10^5 个肺或脾细胞加至ELISPOT板的预包被的孔。加入约2 μ g SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV蛋白以刺激细胞,将板在不振荡的情况下孵育48小时。然后将孔用PBS洗涤5次。加入生物素标记的IFN- γ 和IL-4抗体,孵育2小时。用PBS洗涤后,加入链霉亲和素标记的ALP(可获自Mabtech),将板孵育1小时。然后向孔中加入比色法磷酸酶底物。计数细胞上的显色位点。

[0369] 代表性结果示出于图17A-图17D中。数据表明疫苗组分在肺中诱导强烈的细胞免疫应答,所述细胞免疫应答在鼻内(IN)接种后通过SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV RBD特异性IFN- γ 和IL-4来测量。数据还表明脾中存在SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV特异性免疫应答。

[0370] 实施例14

[0371] 鼻内(IN)和肌内(IM)免疫的剂量水平和IgG免疫应答

[0372] 上文所示数据表明各种剂量的抗原和Nano-Adjuvant在小鼠中诱导广泛的免疫应答。对于鼻内(IN)免疫测试2 μ g Nano-Adjuvant(佐剂制剂3)的剂量,对于肌内(IM)免疫测试20 μ g Nano-Adjuvant(佐剂制剂3)的剂量。

[0373] 简言之,将24只BALB/c小鼠随机分为4组,每组6只小鼠。以表11所示疫苗剂量且以指定给药途径给予第1组-第3组(G1-G3)的小鼠。在第0天和第28天免疫小鼠。第4组(G4)小鼠未接种疫苗。在第35天,从每只小鼠收集血清。如上所述测量特异性针对SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV RBD蛋白的IgG的水平。

[0374] 代表性示出于图18A-图18C和表12-14中。数据表明对于所有测试的病毒,鼻内(IN)免疫2 μ g和肌内免疫20 μ g的Nano-Adjuvant诱导的IgG水平相似(G1和G2)。不含佐剂的疫苗诱导的应答更弱,如更低的IgG水平所示。所有G1-G3与未处理的第4组(G4)相比IgG水平明显更高。

[0375] 表11.疫苗和免疫给药

	组 ID	给药	抗原蛋白 S2S1ML20	Nano-Adjuvant
[0376]	G1	肌内 (IM)	5 μ g	20 μ g
	G2	鼻内 (IN)	5 μ g	2 μ g
[0377]	G3	鼻内 (IN)	5 μ g	-
	G4	-	-	-

[0378] 表12.首次免疫后35天时SARS-CoV-2特异性IgG的效价

组 ID	G1	G2	G3	G4
[0379] RBD 特异性效价 ± SEM	583200 ± 72900	1239300 ± 332475	6833 ± 3837	50 ± 0
P 值	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	/

[0380] 表13. 首次免疫后35天时SARS-CoV特异性IgG的效价

组 ID	G1	G2	G3	G4
[0381] RBD 特异性效价 ± SEM	1530900 ± 276636	1312200 ± 293417	21667 ± 11172	50 ± 0
P 值	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P = 0.0012$	/

[0382] 表14. 首次免疫后35天时MERS-CoV特异性IgG的效价

组 ID	G1	G2	G3	G4
[0383] RBD 特异性效价 ± SEM	97200 ± 24300	56700 ± 10246	2900 ± 1649	50 ± 0
P 值	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P = 0.0028$	/

[0384] 实施例15

[0385] 鼻内 (IN) 免疫的中和抗体的效价

[0386] 通过假病毒中和测定法测试用本文制备的疫苗诱导的中和抗体。简言之,在存在来自用本文所述疫苗免疫的小鼠的血清的情况下,使含有冠状病毒的三聚体跨膜刺突(S)糖蛋白和荧光素酶的假病毒与含有人血管紧张素转换酶2(ACE2) (SARS-CoV-2受体)的靶细胞(Huh-7细胞)相互作用。若血清含有中和抗体,则荧光素酶活性会降低。

[0387] 使用从上文实施例制备的小鼠血清。

[0388] 1. 含冠状病毒的三聚体跨膜刺突(S)糖蛋白的假病毒的制备:

[0389] 1.1. 使HEK-293T生长约24小时至适当密度。

[0390] 1.2. 用VigoFect转染试剂(可获自VigoFect, 中国)转染HEK-293T细胞,用质粒PNL-4-3(可获自NIH AIDS Reagent Program, US, 目录号:3418)和含有所示病毒的S糖蛋白的质粒(pcDNA3.1-SARS-CoV-2、pcDNA3.1-SARS-CoV或pcDNA3.1-MERS-CoV)共转染。

[0391] 1.3. 培养12小时后更换培养基。

[0392] 1.4. 收集含假病毒的培养上清。

[0393] 2. 用假病毒进行中和测定:

[0394] 2.1. 在96孔板中以10000个细胞每孔铺板Huh-7细胞。

[0395] 2.2. 用DMEM培养基连续稀释小鼠血清。

[0396] 2.3. 混合假病毒和血清,于37℃下孵育30min。

[0397] 2.4. 将假病毒-血清混合物添加至含Huh-7细胞的板孔。

[0398] 2.5. 用荧光素酶试剂盒(可获自Promega)测量光水平生成。

[0399] 代表性结果示出于图19A-图19D和表15-18中。数据表明具有含化合物式(1)的Nano-Adjuvant的疫苗诱导针对病毒SARS-CoV-2(D614G菌株)、SARS-CoV-20micron(BA.5菌株)、SARS-CoV和MERS-CoV的强广谱中和抗体。无Nano-Adjuvant时未检测到明显的中和抗

体。将P值与小鼠未免疫的第4组 (G4) 的水平比较。

[0400] 表15. 首次免疫后35天时SARS-CoV-2 (D614G菌株) 中和抗体的效价

[0401]	组ID	G1	G2	G3	G4
	中和效价 $\pm$ SEM	13423 $\pm$ 3139	7673 $\pm$ 2056	50 $\pm$ 0	50 $\pm$ 0
	P值	P<0.0001	P<0.0001	P>0.9999	/

[0402] 表16. 首次免疫后35天时SARS-CoV-2 (BA.5菌株) 中和抗体的效价

[0403]	组ID	G1	G2	G3	G4
	中和效价 $\pm$ SEM	3375 $\pm$ 1774	16654 $\pm$ 11125	50 $\pm$ 0	50 $\pm$ 0
	P值	P<0.0001	P<0.0001	P>0.9999	/

[0404] 表17. 首次免疫后35天时SARS-CoV中和抗体的效价

[0405]	组ID	G1	G2	G3	G4
	中和效价 $\pm$ SEM	59701 $\pm$ 8000	30293 $\pm$ 5495	493 $\pm$ 370	50 $\pm$ 0
	P值	P<0.0001	P<0.0001	P=0.07	/

[0406] 表18. 首次免疫后35天时MERS-CoV中和抗体的效价

[0407]	组ID	G1	G2	G3	G4
	中和效价 $\pm$ SEM	18804 $\pm$ 2251	10022 $\pm$ 1367	349 $\pm$ 207	50 $\pm$ 0
	P值	P<0.0001	P<0.0001	P=0.11	/

[0408] 实施例16

[0409] 猴(恒河猴)中的IgG免疫应答

[0410] 将三只猴(可获自Beijing Vafory Technology Co.,Ltd.的猕猴(Macaca mulatta))各自用如上制备的包含100 μ g RBD抗原融合蛋白S2S1ML20以及包含400 μ g化合物式(1)的Nano-Adjuvant(佐剂制剂3)的疫苗免疫。在第0天和第28天通过肌肉(IM)注射免疫猴。在第14和35天,从每只猴收集血清样本、支气管肺泡灌洗(BAL)液(2mL)和鼻洗液(NAL)(2mL)。

[0411] 用ELISA测量特异性针对病毒SARS-CoV-2、SARS-CoV或MERS-CoV RBD的猴IgG。简言之:

[0412] 1. 将ELISA板的孔分别用SARS-CoV-2、SARS-CoV或MERS-CoV RBD蛋白预包被。

[0413] 2. 将孔于37 $^{\circ}$ C下用PBS 5% BSA封闭2小时。

[0414] 3. 将血清样本、支气管肺泡灌洗(BAL)液和鼻洗液(NAL)连续稀释然后添加至孔中。将板于37 $^{\circ}$ C下孵育30min。

[0415] 4. 将孔用PBST洗涤5次。

[0416] 5. 添加HRP标记的兔抗猴IgG抗体,并于37 $^{\circ}$ C下孵育30min。

[0417] 6. 将孔用PBST洗涤5次。

[0418] 7. 加入用于显色的TMB底物。

[0419] 8. 用H₂SO₄终止反应。用酶标仪于A₄₅₀下测量显色水平。

[0420] 代表性结果示出于图20A-图20C和表19-27中。数据表明疫苗诱导强烈的免疫应答,所述免疫应答通过特异性针对SARS-CoV-2、SARS-CoV和MERS-CoV RBD蛋白的IgG来测量。数据表明疫苗在猴中诱导显著的免疫应答,所述免疫应答通过特异性针对RBD蛋白的

IgG的水平来测量。

[0421] 表19. 首次免疫后35天时猴血清中SARS-CoV-2RBD特异性IgG的效价

[0422]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	183 $\pm$ 109	1638400 $\pm$ 819200
	P值	/	P=0.0003

[0423] 表20. 首次免疫后35天时猴血清中SARS-CoV RBD特异性IgG的效价

[0424]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	700 $\pm$ 458	2457600 $\pm$ 819200
	P值	/	P=0.0008

[0425] 表21. 首次免疫后35天时猴血清中MERS-CoV RBD特异性IgG的效价

[0426]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	100 $\pm$ 0	614400 $\pm$ 204800
	P值	/	P<0.0001

[0427] 表22. 首次免疫后35天时猴BAL中SARS-CoV-2RBD特异性IgG的效价

[0428]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	5 $\pm$ 0	675 $\pm$ 270
	P值	/	P=0.0002

[0429] 表23. 首次免疫后35天时猴BAL中SARS-CoV RBD特异性IgG的效价

[0430]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	5 $\pm$ 0	675 $\pm$ 270
	P值	/	P=0.0002

[0431] 表24. 首次免疫后35天时猴BAL中MERS-CoV RBD特异性IgG的效价

[0432]	样品	第 0 天	第 35 天
	RBD 特异性效价$\pm$SEM	5$\pm$0	195$\pm$108
[0433]	P 值	/	P = 0.0065

[0434] 表25. 首次免疫后35天时猴鼻洗液 (NAL) 中SARS-CoV-2RBD特异性IgG的效价

[0435]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	5 $\pm$ 0	75 $\pm$ 30
	P值	/	P=0.0022

[0436] 表26. 首次免疫后35天时猴鼻洗液 (NAL) 中SARS-CoV RBD特异性IgG的效价

[0437]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	5 $\pm$ 0	495 $\pm$ 360
	P值	/	P=0.0053

[0438] 表27. 首次免疫后35天时猴鼻洗液 (NAL) 中MERS-CoV RBD特异性IgG的效价

[0439]	样品	第0天	第35天
	RBD特异性效价 $\pm$ SEM	5 $\pm$ 0	25 $\pm$ 10

P值	/	P=0.0161
----	---	----------

[0440] 实施例17

[0441] 猴(恒河猴)中的中和抗体

[0442] 如前文所述进行中和抗体测定。代表性结果示出于图21A-图21F和表28-33中。将P值与第0天的样本比较。数据表明肌内(IM)注射免疫诱导强烈的免疫应答,所述免疫应答通过针对所测试的病毒和变体(包括SARS-CoV、MERS-CoV和SARS-CoV-2及变体)的中和抗体来测量。

[0443] 表28.首次免疫后35天时猴血清中特异性针对SARS-CoV-2(D614G菌株)的中和抗体的效价

	样品	第 0 天	第 14 天	第 35 天
[0444]	中和效价±SEM	50 ± 0	887.0± 303	23141± 9825

[0445]	P 值	/	0.0044	P < 0.0001
--------	-----	---	--------	------------

[0446] 表29.首次免疫后35天时猴血清中特异性针对SARS-CoV-2(BA.5菌株)的中和抗体的效价

[0447]	样品	第0天	第14天	第35天
	中和效价±SEM	50 ± 0	81 ± 15	2329 ± 833
	P值	/	0.375	P<0.0007

[0448] 表30.首次免疫后35天时猴血清中特异性针对SARS-CoV-2(BA.2.2菌株)的中和抗体的效价

[0449]	样品	第0天	第14天	第35天
	中和效价±SEM	50 ± 0	60.33 ± 10.33	2601 ± 793
	P值	/	0.8474	P<0.0001

[0450] 表31.首次免疫后35天时猴血清中特异性针对SARS-CoV-2(Delta菌株)的中和抗体的效价

[0451]	样品	第0天	第14天	第35天
	中和效价±SEM	50 ± 0	959.8 ± 448	14899 ± 7103
	P值	/	0.375	P<0.0001

[0452] 表32.首次免疫后35天时猴血清中特异性针对SARS-CoV的中和抗体的效价

[0453]	样品	第0天	第14天	第35天
	中和效价±SEM	205 ± 6	709 ± 107	21246 ± 7070
	P值	/	0.0239	P<0.0001

[0454] 表33.首次免疫后35天时猴血清中特异性针对MERS-CoV中和抗体的效价

[0455]	样品	第0天	第14天	第35天
	中和效价±SEM	50 ± 0	405 ± 54	3963 ± 1157
	P值	/	0.0006	P<0.0001

[0456] 序列表

[0457] SEQ ID NO:1:SARS-CoV-2(Delta)

[0458] GenBank:ON196573.1

[0459] SARS-CoV-2 (Delta) RBD

[0460] RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSP TKL
NDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPF
ERDISTEIIYQAGSKPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTN

[0465] SEQ ID NO:2:SARS-CoVGenBank:YP_009825051.1

[0466] SARS-CoV RBD

[0467] NITNLCPFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLVNSTFFSTFKCYGVSATKLNLCFSNVYADS
FVVKGGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKL PDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFERDISNVPFSPD
GKPCTPPALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD LIKNQCVNFNFNGLTGTGVL T

[0472] SEQ ID NO:3:MERS-CoVGenBank:AFS88936.1

[0473] MERS-CoV RBD

[0474] QAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDY
FSYPLSMKSDLSVSSAGPISQFNYKQSF SNPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQ
YSPCVSIVPSTVWEDGDYRQKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMFGGITVQYGTDTNSVCPKL

[0479] SEQ ID NO:4:接头L20

[0480] 人工序列

[0481] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

[0482] SEQ ID NO:5:完整构建体AG1 S2S1ML20SARS-CoV-2 (Delta) RBD-接头-SARS-CoV
RBD-接头-MERS-CoV RBD (图12) (SEQ ID NO:5)

[0483] S2S1ML20

[0484] RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSP TKL
NDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPF
ERDISTEIIYQAGSKPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNGGGGSGGGG
SGGGGSGGGGSNITNLCPFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLVNSTFFSTFKCYGVSATKLNLCFSNVY
ADSFVVKGGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKL PDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFERDISNVPF
SPDGKPCTPPALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD LIKNQCVNFNFNGLTGTGVL
LTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPA
AIASNCYSSLILDYFSYPLSMKSDLSVSSAGPISQFNYKQSF SNPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLS
DDRTEVPQLVNANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYRQKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMFGGITVQYGTDTNSVC
PKL

SEQ ID NO:6:完整构建体S2S1ML10S2S1ML10

[0499] RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSP TKL
NDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKL PDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPF
ERDISTEIIYQAGSKPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNGGGGSGGGG
SNITNLCPFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLVNSTFFSTFKCYGVSATKLNLCFSNVYADSFVVKGGD
VRQIAPGQTGVIADYNYKL PDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFERDISNVPFSPDGKPCTPP
ALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD LIKNQCVNFNFNGLTGTGVL TGGGGSGGG
GSGAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDYFSYPLS

MKSDLSVSSAGPISQFNYKQSFNSPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQYSPCVS
IVPSTVWEDGDYRKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGGFQITVQYGTDTNSVCPKL

[0514] SEQ ID NO:7:完整构建体S2S1ML15S2S1ML15

[0515] RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKL
NDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPPDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPF
ERDISTEIIYQAGSKPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNGGGGSGGGG
SGGGGNSITNLCPFGEVFNATKFPVYAWERKKISNCVADYSVLNSTFFSTFKCYGVSA TKLNDLCFSNVYADSFV
VKGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFERDISNPFSPDGK
PCTPPALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD LIKNQCVNFNFNGLTGTGVL TGGG
GSGGGGSGGGGSAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSL
ILDYFSYPLSMKSDLSVSSAGPISQFNYKQSFNSPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLV
NANQYSPCVSIVPSTVWEDGDYRKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGGFQITVQYGTDTNSVCPKL

[0530] SEQ ID NO:8:完整构建体S2ML15S2ML15

[0531] RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKL
NDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPPDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPF
ERDISTEIIYQAGSKPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNGGGGSGGGG
SGGGGSAEGVECDFSPLLSGTPPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDYFS
YPLSMKSDLSVSSAGPISQFNYKQSFNSPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQYS
PCVSIVPSTVWEDGDYRKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGGFQITVQYGTDTNSVCPKL

[0541] SEQ ID NO:9:完整构建体S2SL15S2SL15

[0542] RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKL
NDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPPDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPF
ERDISTEIIYQAGSKPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNGGGGSGGGG
SGGGGNSITNLCPFGEVFNATKFPVYAWERKKISNCVADYSVLNSTFFSTFKCYGVSA TKLNDLCFSNVYADSFV
VKGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFERDISNPFSPDGK
PCTPPALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTD LIKNQCVNFNFNGLTGTGVL T

[0552] SEQ ID NO:10:接头L15

[0553] 人工序列

[0554] L15:GGGGSGGGGSGGGGS

[0555] SEQ ID NO:11:接头L10

[0556] 人工序列

[0557] L10:GGGGSGGGGS

[0558] SEQ ID NO:12

[0559] GenBank:UJH58758.1

[0560] SARS-CoV-2 (WA1) RBD

[0561] RVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNYSASFSTFKCYGVSPTKL
NDLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPPDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYNYLYRLFRKSNLKPF
ERDISTEIIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTN

[0566] SEQ ID NO:13

- [0567] GenBank:UNE80990.1
- [0568] SARS-CoV-2 (BA.2) RBD
- [0569] RVQPTESIVRFPNITNLCPFDEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNFAPFFAFKCYGVSPTKL
NDLCFTNVYADSFVIRGNEVSQIAPGQTGNIADYNYKLPPDFTGCVIAWNSNKLD SKVGGNYNYLYRLFRKSNLKP
ERDISTEIIYQAGNKPCNGVAGFNCYFPLRSYGFRPTYGVGHQPYRVVVL SFELLHAPATVCGPKKSTN
- [0574] SEQ ID NO:14
- [0575] GenBank:MT040334.1
- [0576] 穿山甲冠状病毒RBD
- [0577] RVQPTISIVRFPNITNLCPFGEVFNASKFASVYAWNRKRISNCVADYSVLNSTSFSTFKCYGVSPTKL
NDLCFTNVYADSFVVKGDVVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFTGCVIAWNSVKQDAL TGGNYLYRLFRKSKLKPFER
DISTEIIYQAGSTPCNGQVGLNCYYPLERYGFHPTTGVNYQPFRVVVL SFELLNGPATVCGPKLSTT
- [0582] SEQ ID NO:15
- [0583] GenBank:YP_009825051.1
- [0584] SARS-CoV RBD
- [0585] RVVPSGDVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFPSVYAWERKKISNCVADYSVLNSTFFSTFKCYGVSATKL
NDLCFSNVYADSFVVKGDDVVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNINYKYRYLRHGKLRPF
ERDISNVPFSPDGKPCPTPALNCYWPLNDYGFTTTGIGYQPYRVVVL SFELLNAPATVCGPKLSTD
- [0590] SEQ ID NO:16
- [0591] GenBank:AGZ48828.1
- [0592] WIV1 RBD
- [0593] RVAPSKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATTFPSVYAWERKRISNCVADYSVLNSTSFSTFKCYGVSATKL
NDLCFSNVYADSFVVKGDDVVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFTGCVLAWNTRNIDATQTGNINYKYRSLRHGKLRPF
ERDISNVPFSPDGKPCPTPAFNCYWPLNDYGFIITNGIGYQPYRVVVL SFELLNAPATVCGPKLSTD
- [0598] SEQ ID NO:17
- [0599] GenBank:AGZ48818.1
- [0600] Rs3367 RBD
- [0601] RVAPSKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATTFPSVYAWERKRISNCVADYSVLNSTSFSTFKCYGVSATKL
NDLCFSNVYADSFVVKGDDVVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFTGCVLAWNTRNIDATQTGNINYKYRSLRHGKLRPF
ERDISNVPFSPDGKPCPTPAFNCYWPLNDYGFIITNGIGYQPYRVVVL SFELLNAPATVCGPKLSTD
- [0606] SEQ ID NO:18
- [0607] GenBank:QJE50589.1
- [0608] SHC014 RBD
- [0609] RVAPSKEVVRFPNITNLCPFGEVFNATTFPSVYAWERKRISNCVADYSVLNSTSFSTFKCYGVSATKL
NDLCFSNVYADSFVVKGDDVVRQIAPGQTGVIADYNYKLPPDFLGCVLAWNTNSKDSSTSGNYNYLYRWVRRSKLNPY
ERDLSNDIYSPGGQSCSAVGPNPCYNPLRPYGFFTTAGVGHQPYRVVVL SFELLNAPATVCGPKLSTD
- [0614] SEQ ID NO:19
- [0615] GenBank:AFS88936.1
- [0616] MERS-CoV进化枝A
- [0617] QAEGVECDFSPLLSGTTPQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLSSLFSVNDFTC SQISPAAIASNCYSSLILDY

FSYPLSMKSDLVSSAGPISQFNYKQSFSNPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQ
YSPCVSIVPSTVWEDGDYYRKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMFGITVQYGTDTNSVCPKL

[0622] SEQ ID NO:20

[0623] GenBank:AKJ80137.2

[0624] MERS-CoV进化枝B

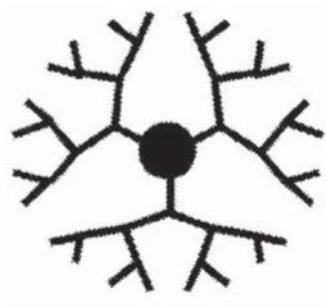
[0625] QAEGVECDFSPLLSGTTPPVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDY
FSYPLSMKSDLVSSAGPISQFNYKQSFSNPTCLILATVPHNLTTITKPLKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQ
YSPCVSIVPSTVWEDGDYYRKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMFGITVQYGTDTNSVCPKL

[0630] SEQ ID NO:21

[0631] GenBank:AVN89387.1

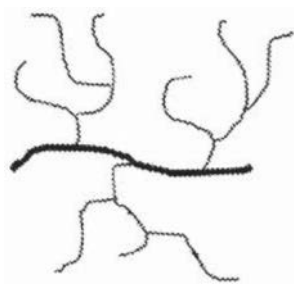
[0632] MERS-CoV进化枝C

[0633] QAEGVECDFSPLLSGTTPPVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFTCSQISPAAIASNCYSSLILDY
FSYPLSMKSDLVSSAGPISQFNYKQSFSNPTCLILATVPHNLTTITKPKYSYINKCSRLLSDDRTEVPQLVNANQ
YSPCVSIVPSTVWEDGDYYRKQLSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMFGITVQYGTDTNSVCPKF



树枝状聚合物

图1A



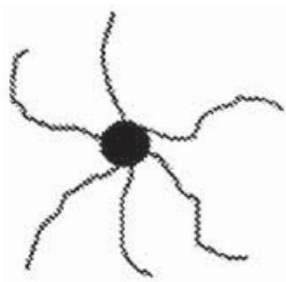
树枝状接枝物

图1B



规则梳状支链

图1C



星状支化

图1D

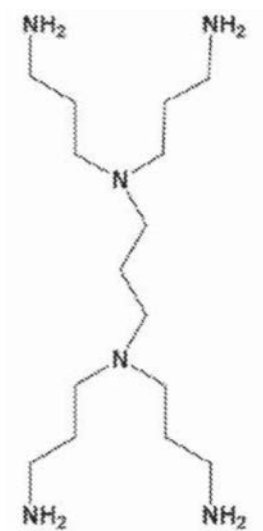
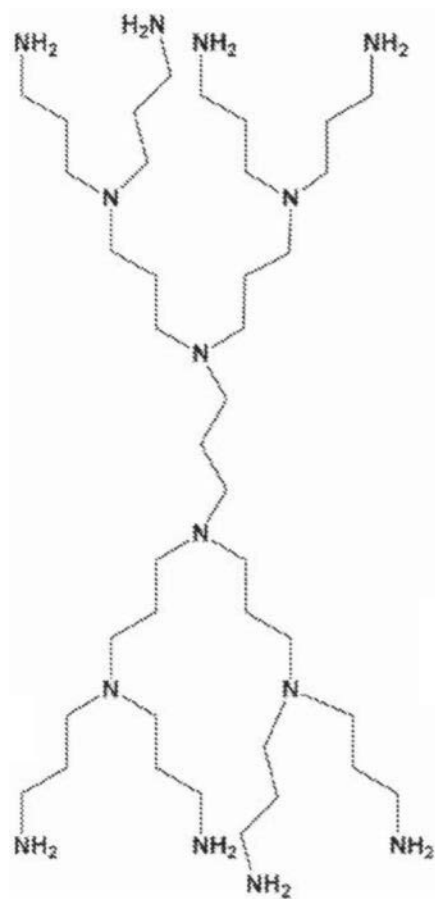
聚丙烯亚胺树枝状
聚合物-4

图2A



聚丙烯亚胺树枝状聚合物-8

图2B

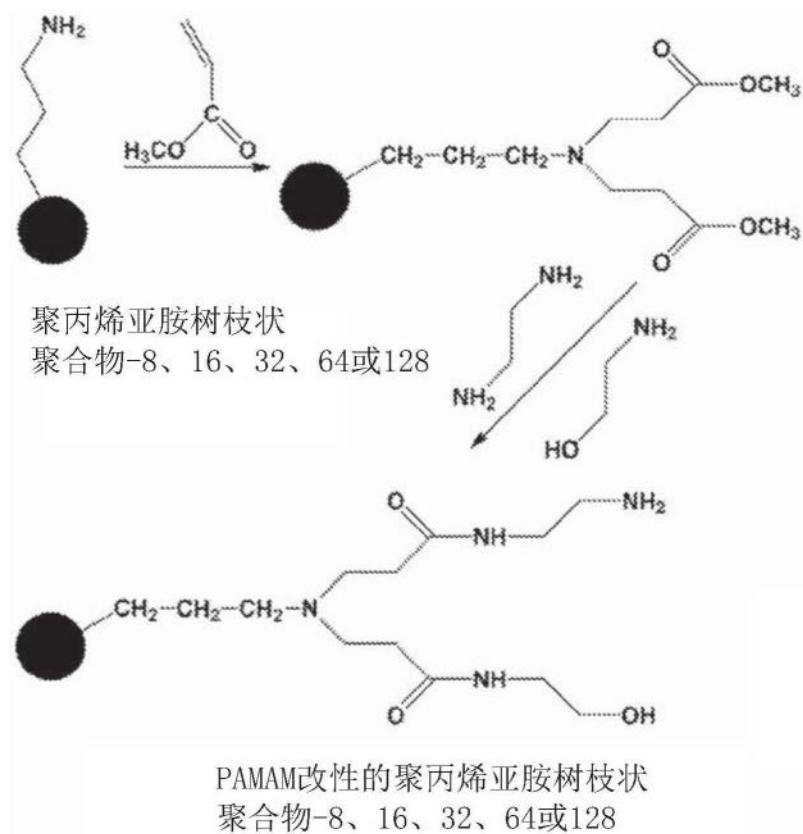


图3

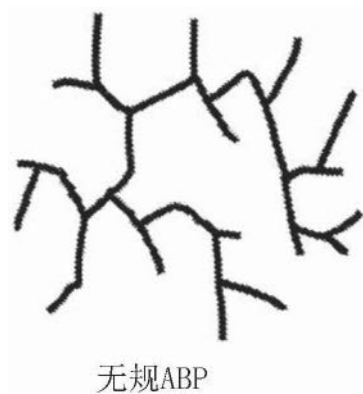
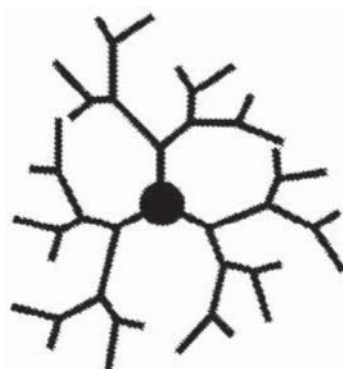


图4A



规整ABP

图4B

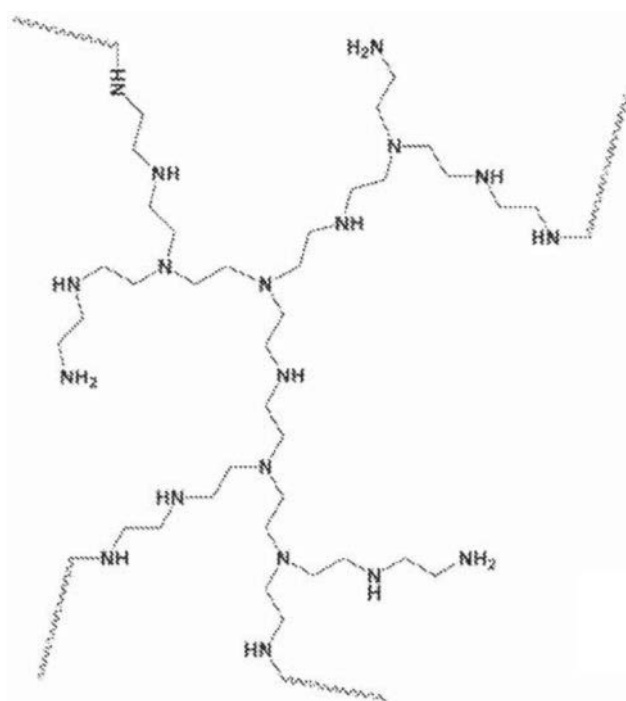


图5

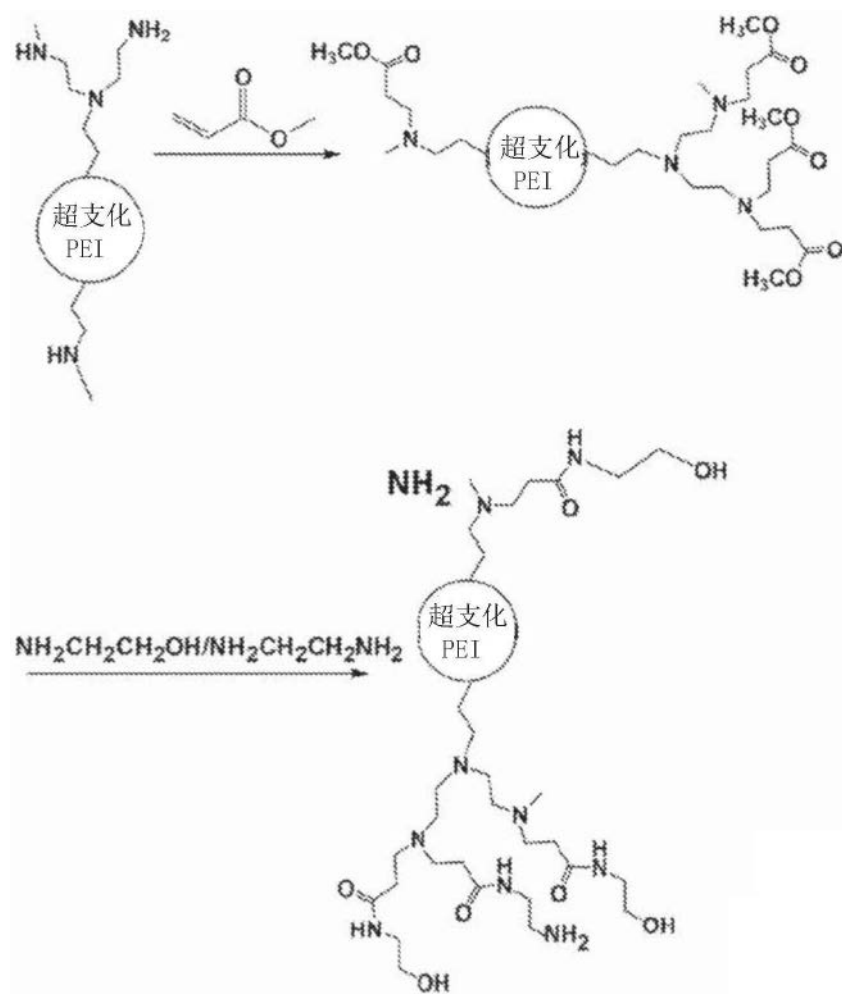


图6A

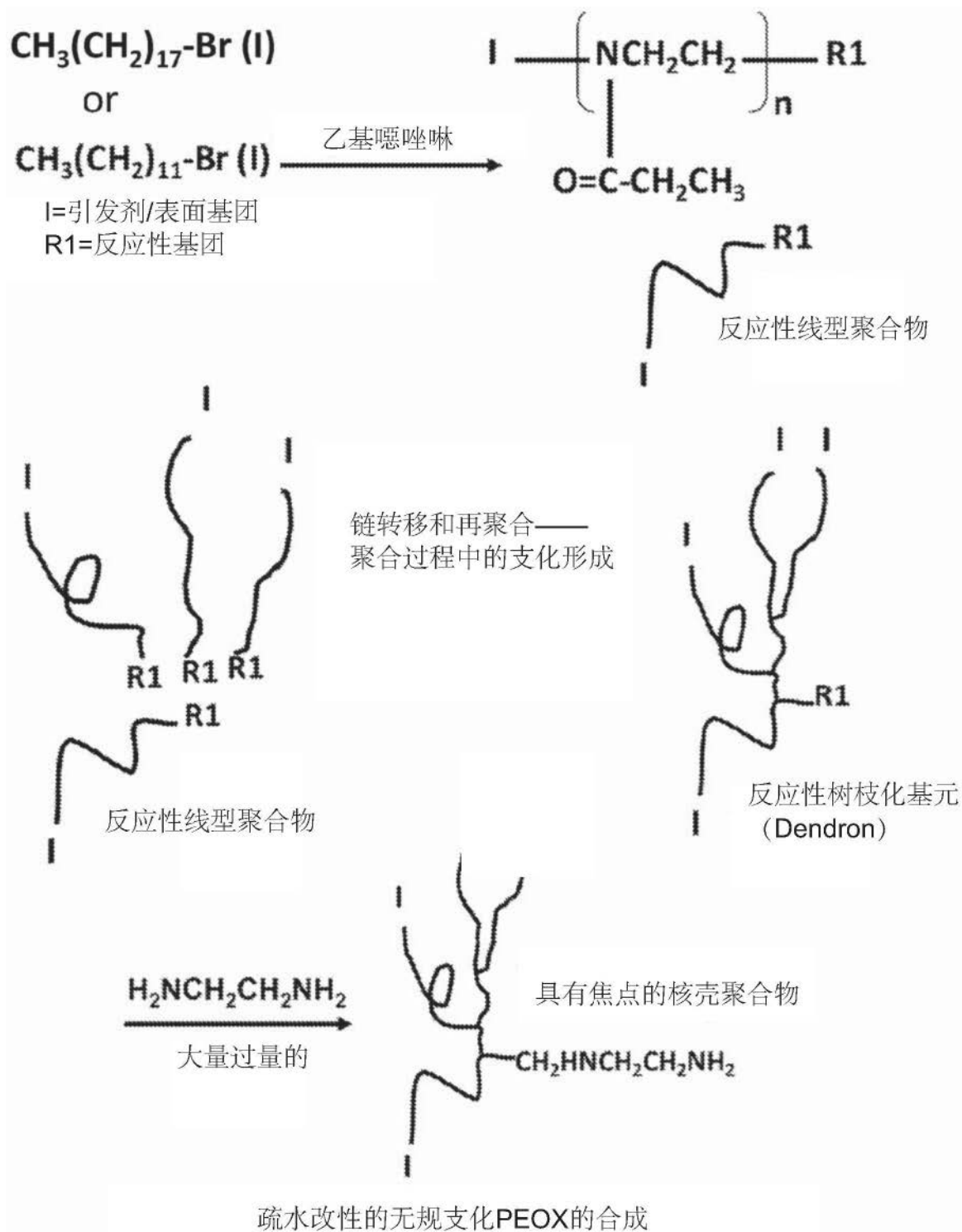
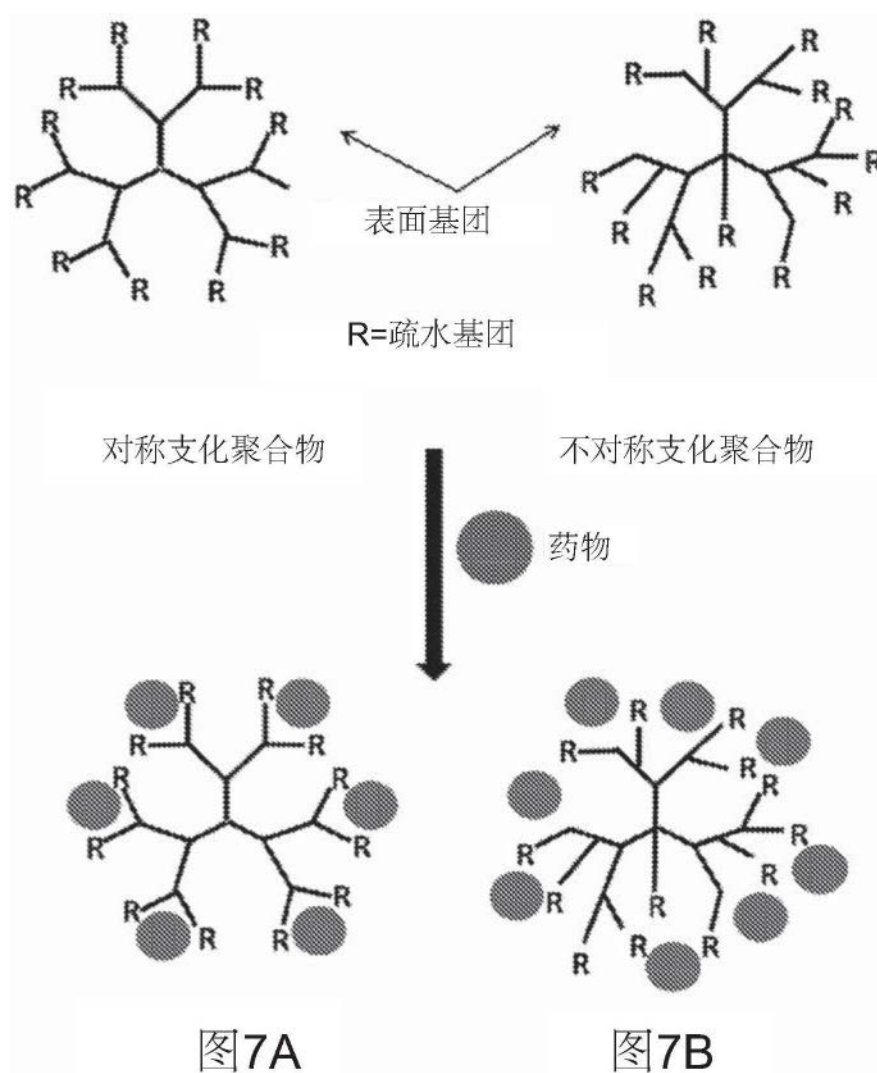


图6B

H-POX-OH	(1)	H-POX-NH₂	(5)
CH₃-POX-OH	(2)	CH₃-POX-NH₂	(6)
CH₃(CH₂)₁₁-POX-OH	(3)	CH₃(CH₂)₁₁-POX-NH₂	(7)
CH₃(CH₂)₁₇-POX-OH	(4)	CH₃(CH₂)₁₇-POX-NH₂	(8)

图6C



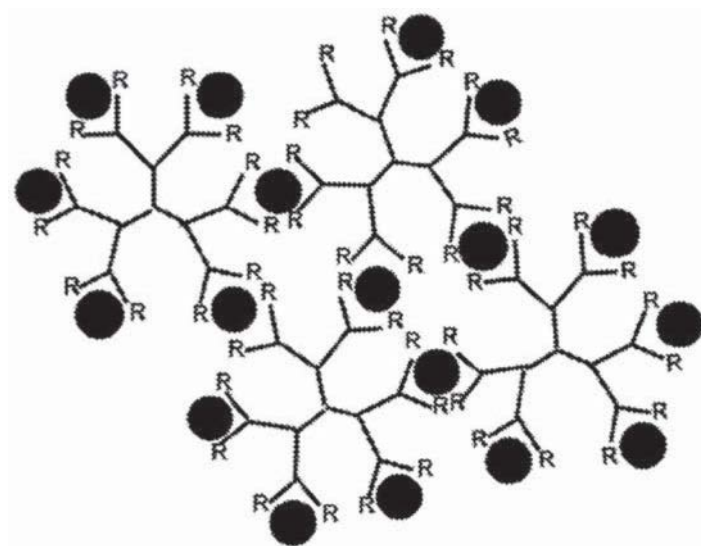
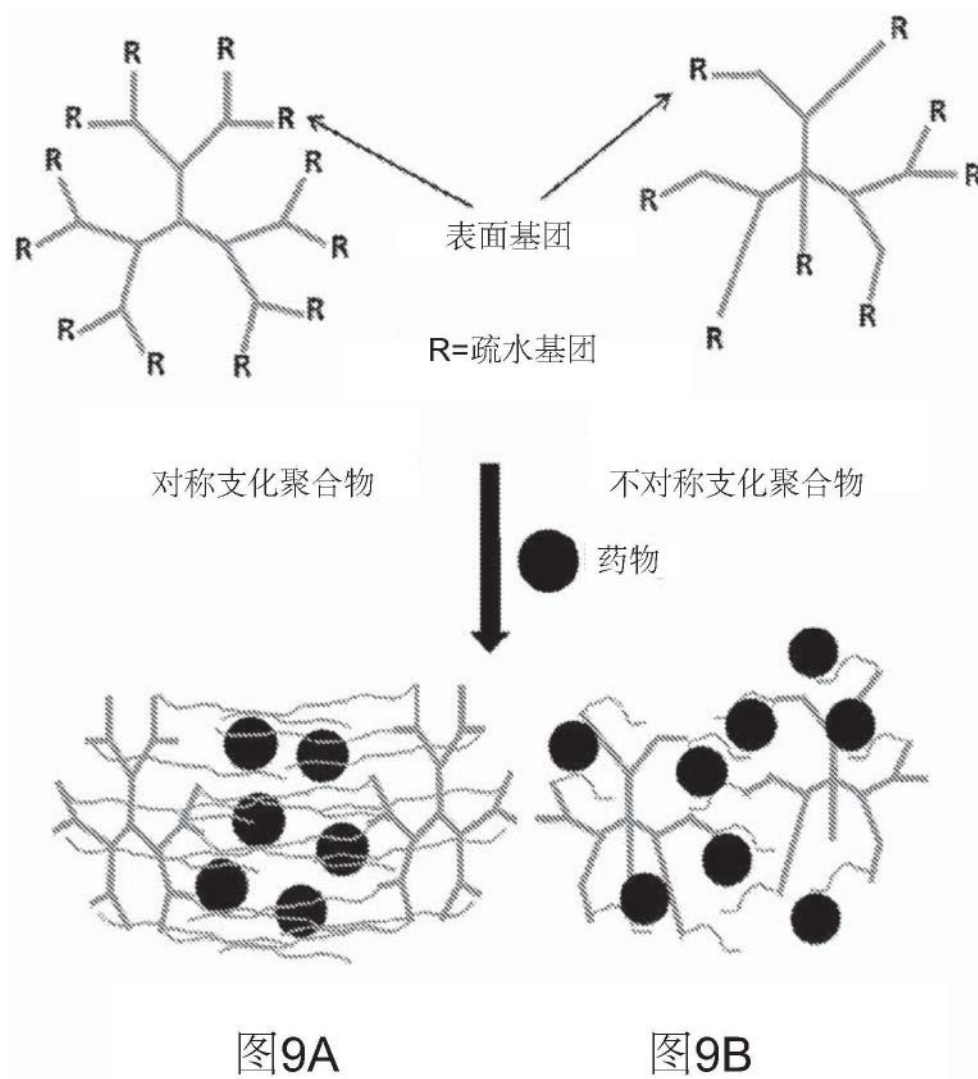


图8



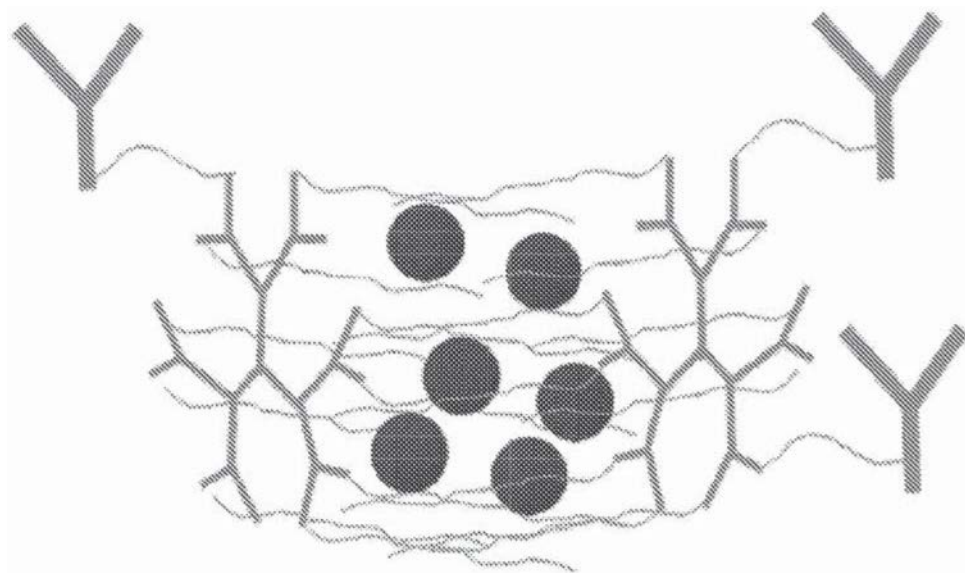


图10A

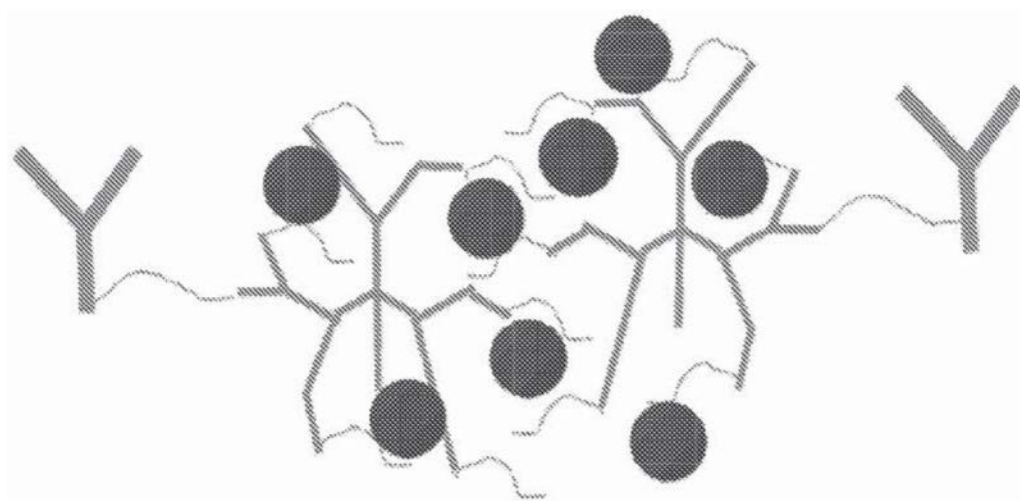


图10B

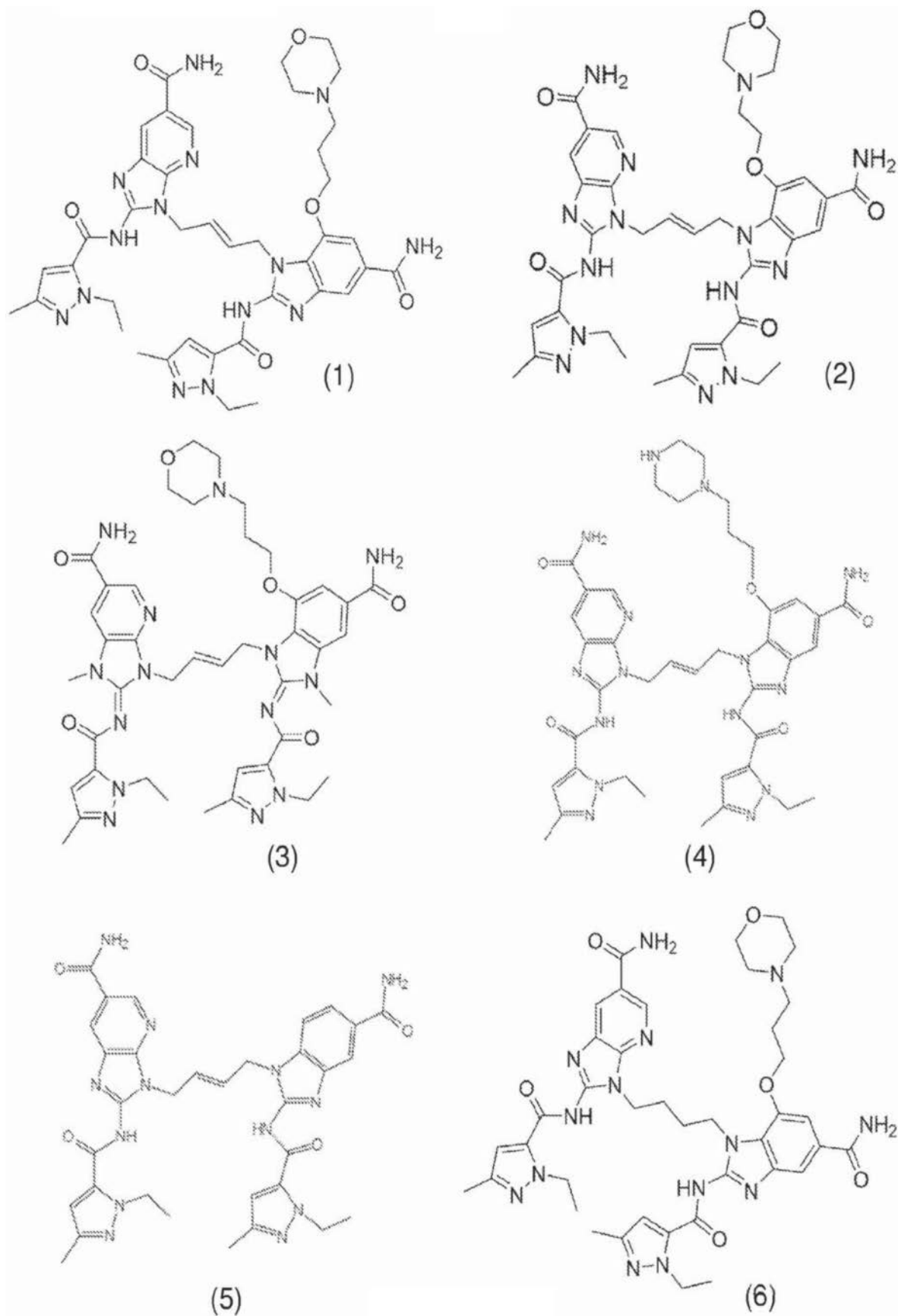


图11A

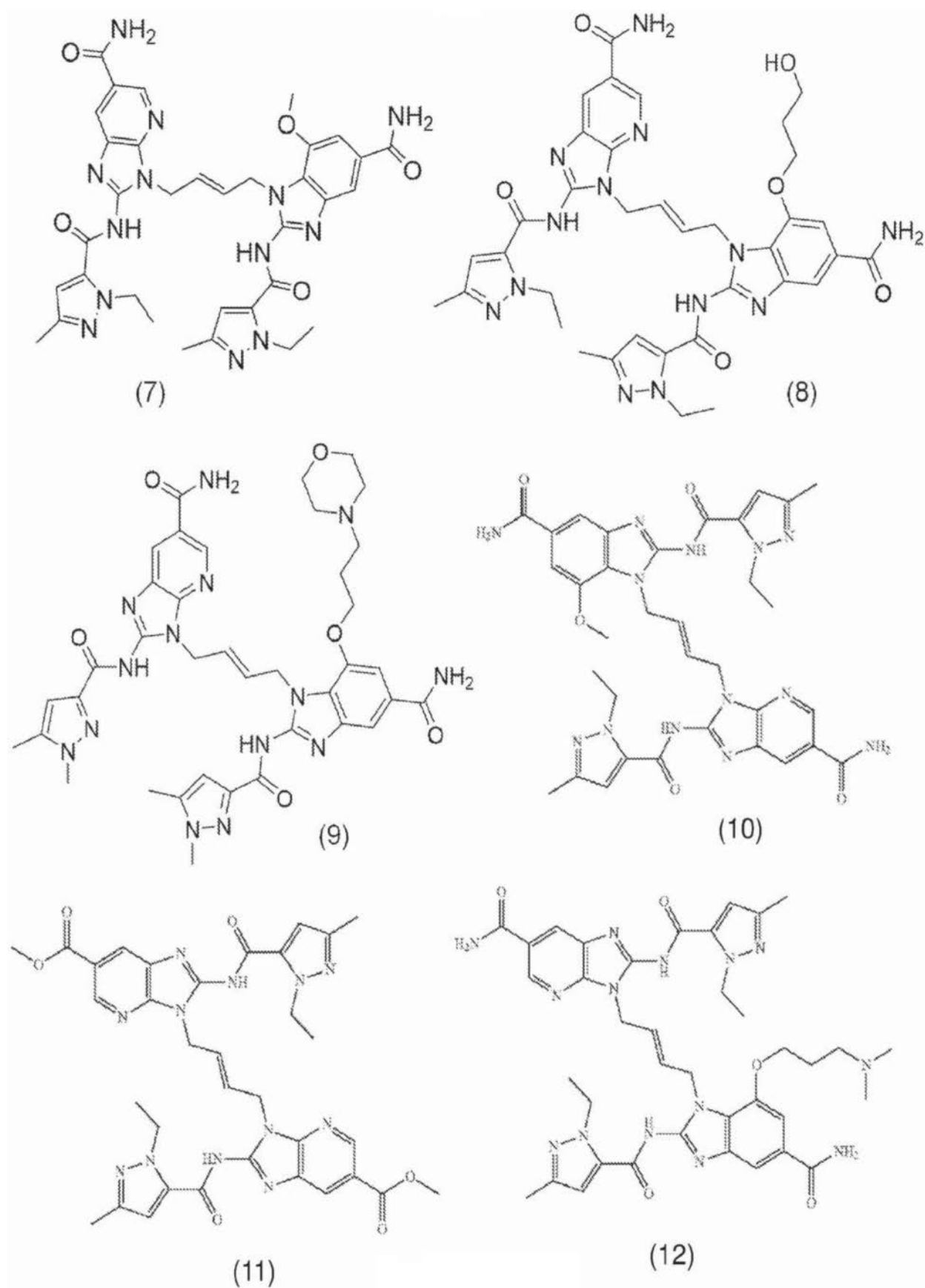


图11B

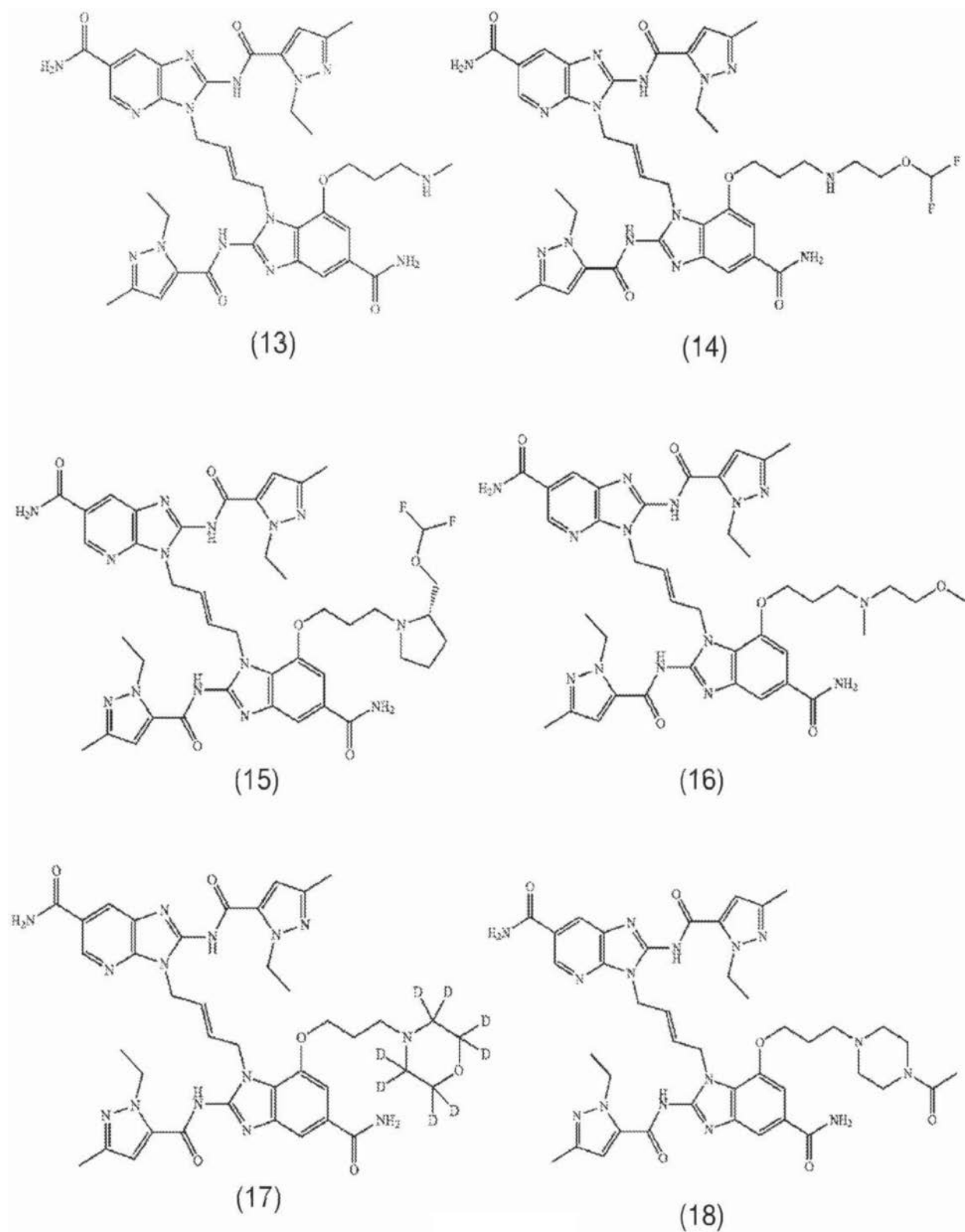
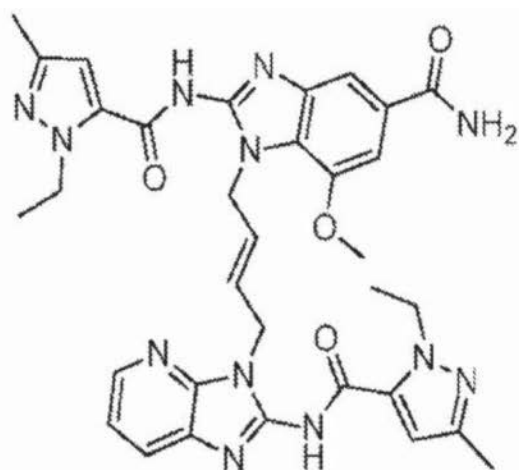
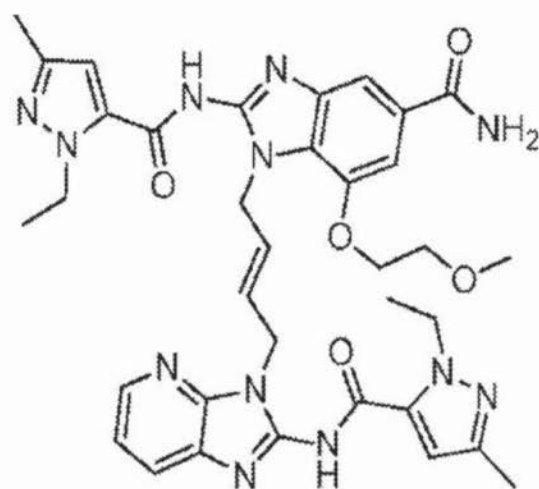


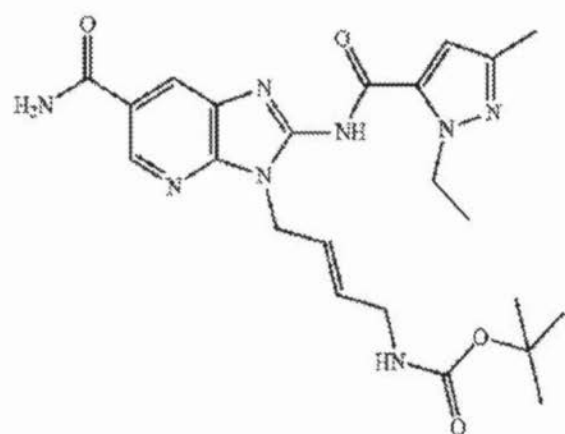
图11C



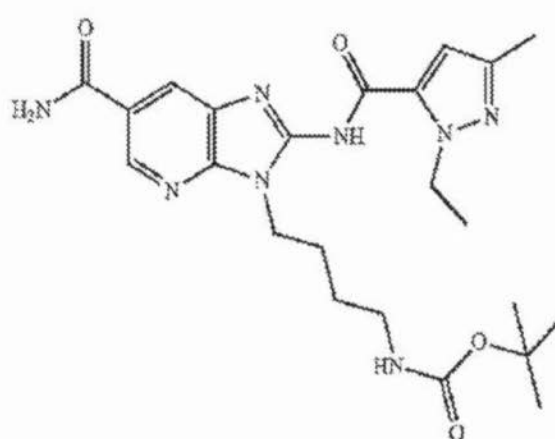
(19)



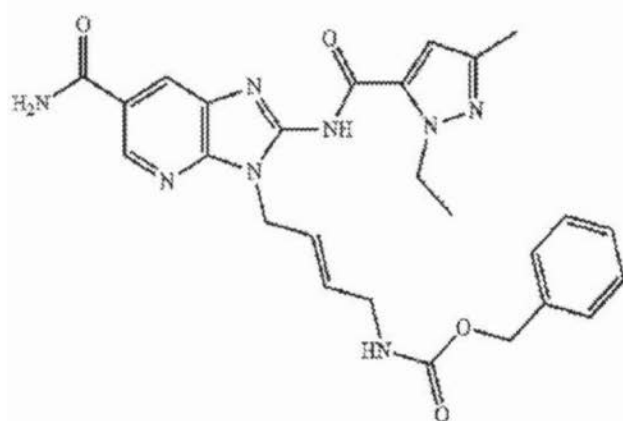
(20)



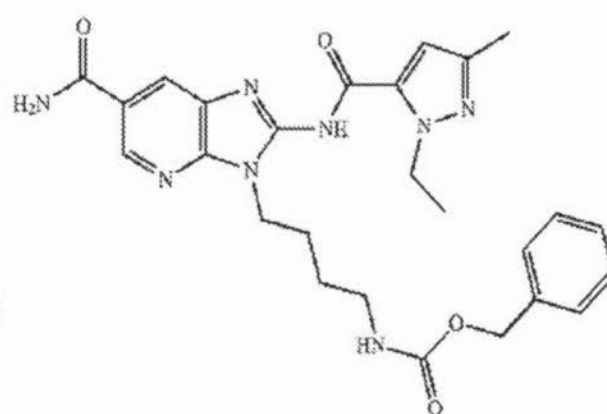
(21)



(22)



(23)



(24)

图11D

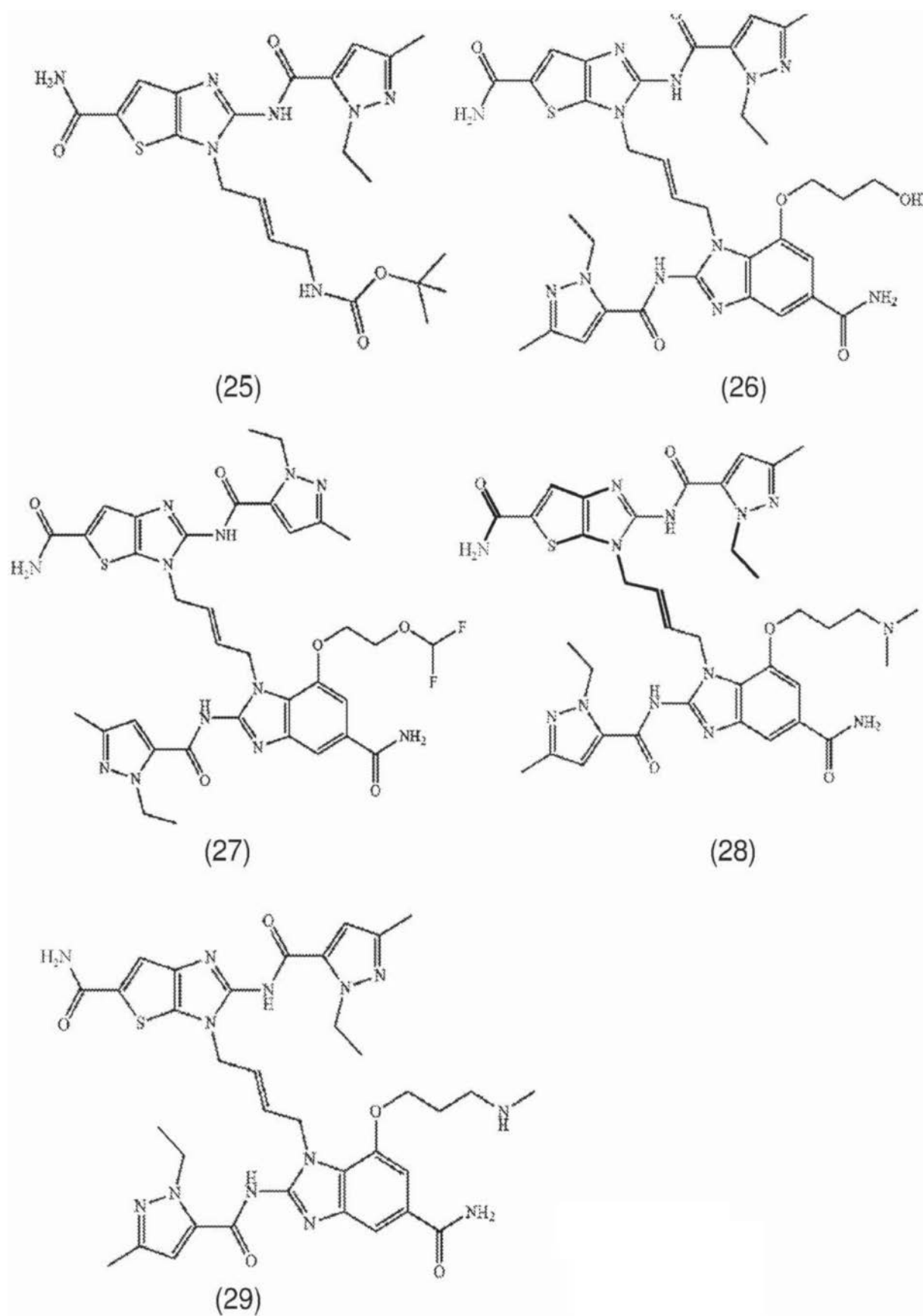


图11E

RBD1	- 接头1 -	RBD2	- 接头2 -	RBD3
AG1: SARS-CoV-2 (Delta)		SARS-CoV		MERS-CoV
AG2: SARS-CoV-2 (Delta)		MERS-CoV		SARS-CoV
AG3: MERS-CoV		SARS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)
AG4: MERS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)		SARS-CoV
AG5: SARS-CoV		MERS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)
AG6: SARS-CoV		SARS-CoV-2 (Delta)		MERS-CoV

图12

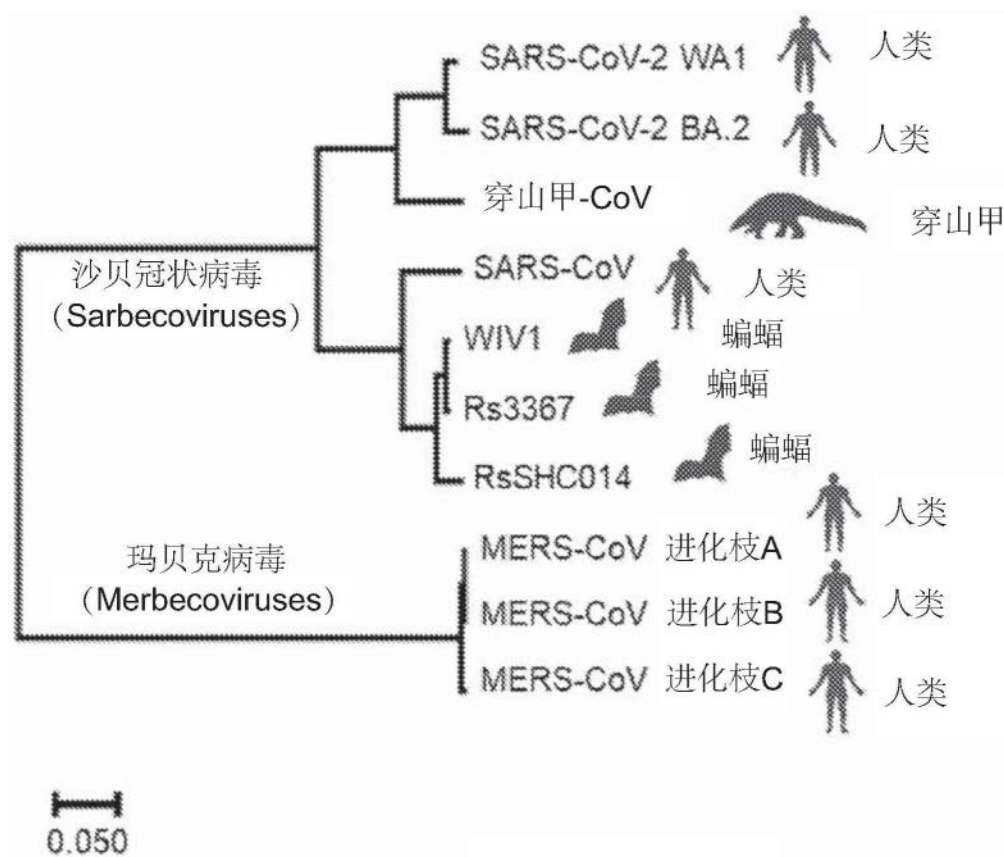


图13A

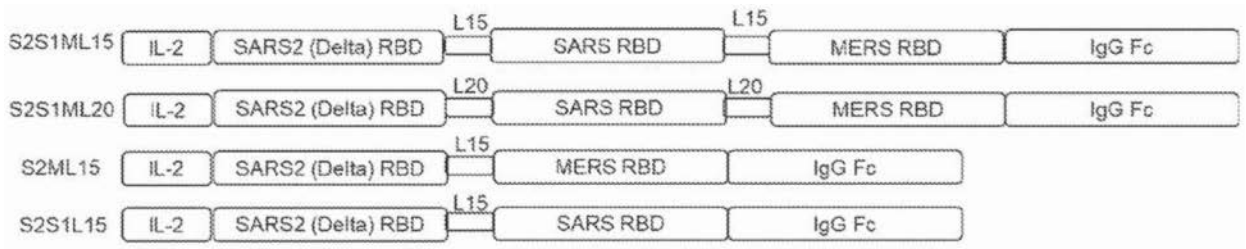


图13B

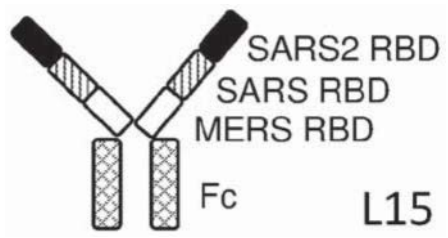


图13C

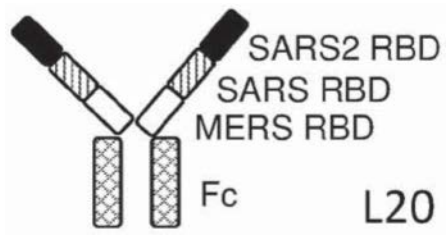


图13D



图13E



图13F

```

SEQ ID NO: 12      RVQPTESIVRFPNITNLCFFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFK 60
SEQ ID NO: 13      RVQPTESIVRFPNITNLCFFGEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNFAPFFAFK 60
SEQ ID NO: 14      RVQPTISIVRFPNITNLCFFGEVFNASKFASVYAWNRKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFK 60
SEQ ID NO: 15      RVVPSGDVVRFPNITNLCFFGEVFNATKFPFSVYAWERKKISNCVADYSVLYNSTFFSTFK 60
SEQ ID NO: 16      RVAPSKEVVRFPNITNLCFFGEVFNATTFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFK 60
SEQ ID NO: 17      RVAPSKEVVRFPNITNLCFFGEVFNATTFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFK 60
SEQ ID NO: 18      RVAPSKEVVRFPNITNLCFFGEVFNATTFPSVYAWERKRISNCVADYSVLYNSTSFSTFK 60
SEQ ID NO: 19      QAEGVE-----CDFSPLLSGTP-PQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFT 48
SEQ ID NO: 20      QAEGVE-----CDFSPLLSGTP-PQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFT 48
SEQ ID NO: 21      QAEGVE-----CDFSPLLSGTP-PQVYNFKRLVFTNCNYNLTKLLSLFSVNDFT 48
                      * * . . * * * . * * . *

SEQ ID NO: 12      CYGVSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS 120
SEQ ID NO: 13      CYGVSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGNEVSQIAPGQTGNIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS 120
SEQ ID NO: 14      CYGVSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGDEVQRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFTGCVIAWNS 120
SEQ ID NO: 15      CYGVSATKLNLCFSNVYADSFVVKGGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFTGCVIAWNT 120
SEQ ID NO: 16      CYGVSATKLNLCFSNVYADSFVVKGGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFTGCVIAWNT 120
SEQ ID NO: 17      CYGVSATKLNLCFSNVYADSFVVKGGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFTGCVIAWNT 120
SEQ ID NO: 18      CYGVSATKLNLCFSNVYADSFVVKGGDDVRQIAPGQTGVIADYNYKLPDDFTGCVIAWNT 120
SEQ ID NO: 19      CSQISPAAIASNCYSSLIIDYFSYPLSMKSDLSVSSAGFISQFNKQSFNSPTCLILATV 108
SEQ ID NO: 20      CSQISPAAIASNCYSSLIIDYFSYPLSMKSDLSVSSAGFISQFNKQSFNSPTCLILATV 108
SEQ ID NO: 21      CSQISPAAIASNCYSSLIIDYFSYPLSMKSDLSVSSAGFISQFNKQSFNSPTCLILATV 108
                      * . * . . * . . * * . . . * * . * . * . * . * . * . * . * .

SEQ ID NO: 12      NNLDKSVGGNYYNYLRLFRKSNLKPFFERDISTEIQAGSTPCNGVEGENCY----- 171
SEQ ID NO: 13      NKLDKSVGGNYYNYLRLFRKSNLKPFFERDISTEIQAGNKPNGVAGFENCY----- 171
SEQ ID NO: 14      VKQDALTG--NYLRLFRKSKLKPFFERDISTEIQAGSTPCNGQVGLNICY----- 169
SEQ ID NO: 15      RNIDATSTGNYYNYKYRSLRHGKLRPFERDISNVFFSPDGKPECT-PPALNICY----- 170
SEQ ID NO: 16      RNIDATQTGNYYNYKYRSLRHGKLRPFERDISNVFFSPDGKPECT-PPAFENCY----- 170
SEQ ID NO: 17      RNIDATQTGNYYNYKYRSLRHGKLRPFERDISNVFFSPDGKPECT-PPAFENCY----- 170
SEQ ID NO: 18      NSKDSSTSGNYYNYLRYWVRSKLNPHYERDLSNDIYSPGGQSCS-AVGPNICY----- 170
SEQ ID NO: 19      PHNLTTITKPLKYSYINKCSRLSDDRTEVPQLVNAVQYSPCVSIVESTVWEDGDYRQK 168
SEQ ID NO: 20      PHNLTTITKPLKYSYINKCSRLSDDRTEVPQLVNAVQYSPCVSIVESTVWEDGDYRQK 168
SEQ ID NO: 21      PHNLTTITKPKKYSYINKCSRLSDDRTEVPQLVNAVQYSPCVSIVESTVWEDGDYRQK 168
                      . * * * * . * . * .

SEQ ID NO: 12      -FPLQSYGEFQPTNGVGYQPYRVVVLSEFLLHAPATVCGPKKSTN 214
SEQ ID NO: 13      -FPLRSYGFRPTYGVGHQPYRVVVLSEFLLHAPATVCGPKKSTN 214
SEQ ID NO: 14      -YPLERYGFHTTGVNYQPYRVVVLSEFLLNGPATVCGPKLSTT 212
SEQ ID NO: 15      -WPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD 213
SEQ ID NO: 16      -WPLNDYGFYITNGIGYQPYRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD 213
SEQ ID NO: 17      -WPLNDYGFYITNGIGYQPYRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD 213
SEQ ID NO: 18      -NPLRPYGFFTTAGVGHQPYRVVVLSEFLLNAPATVCGPKLSTD 213
SEQ ID NO: 19      LSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGFGITVQYGTDTNSVCPKL 212
SEQ ID NO: 20      LSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGFGITVQYGTDTNSVCPKL 212
SEQ ID NO: 21      LSPLEGGGWLVASGSTVAMTEQLQMGFGITVQYGTDTNSVCPKE 212
                      * * * . * . * . * . * . * .

```

图14

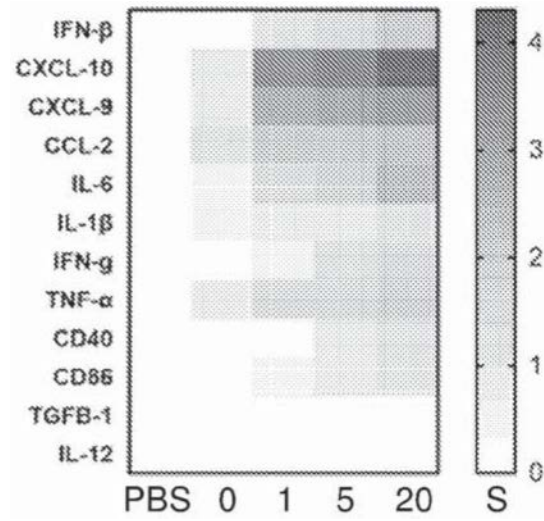


图15A

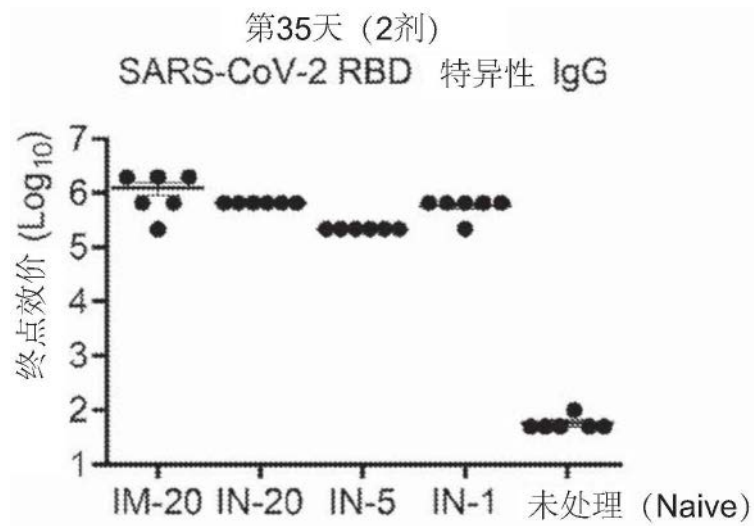


图15B

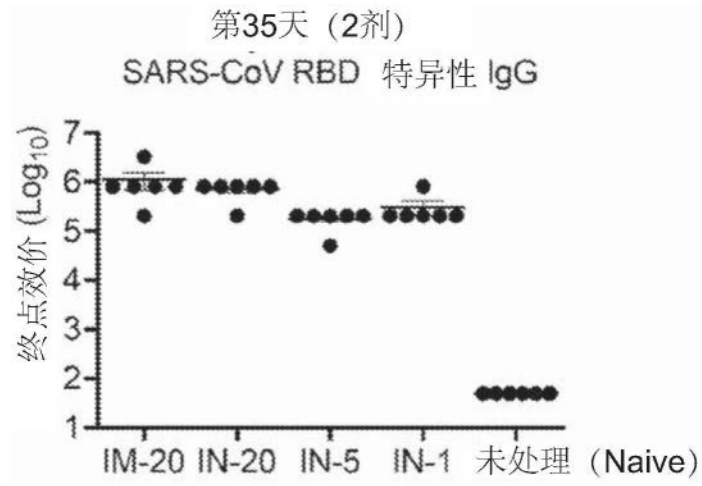


图15C

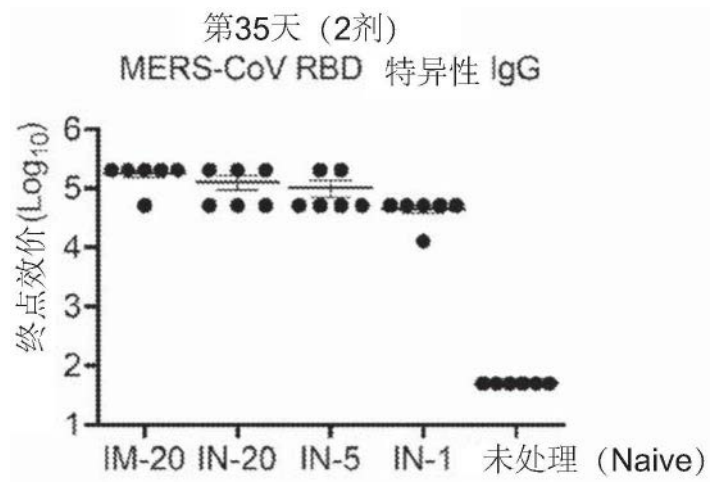


图15D

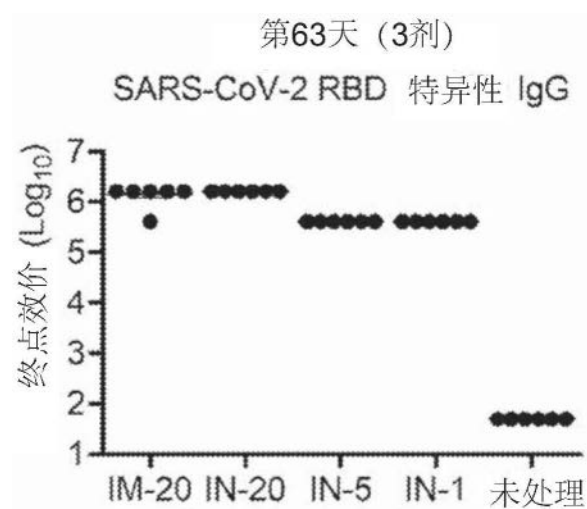


图16A

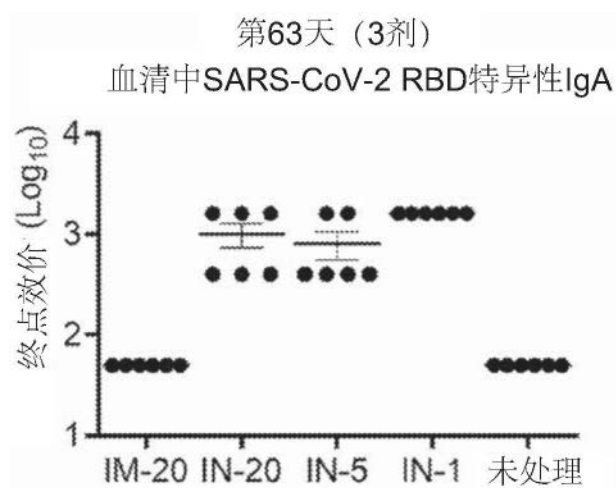
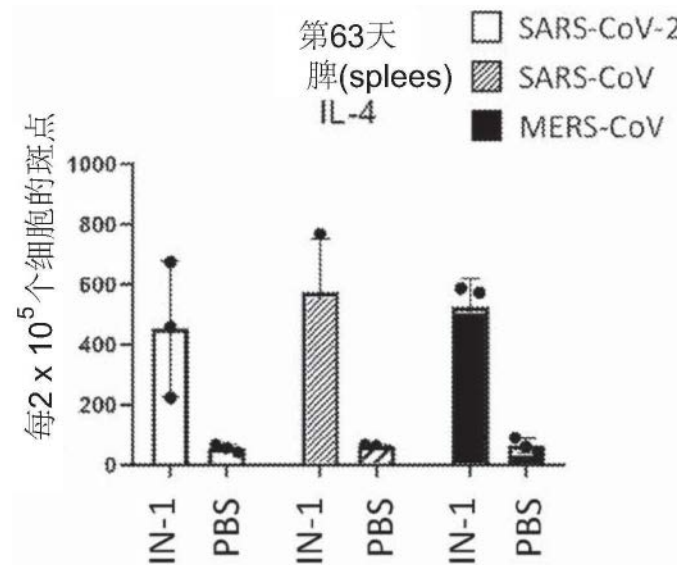
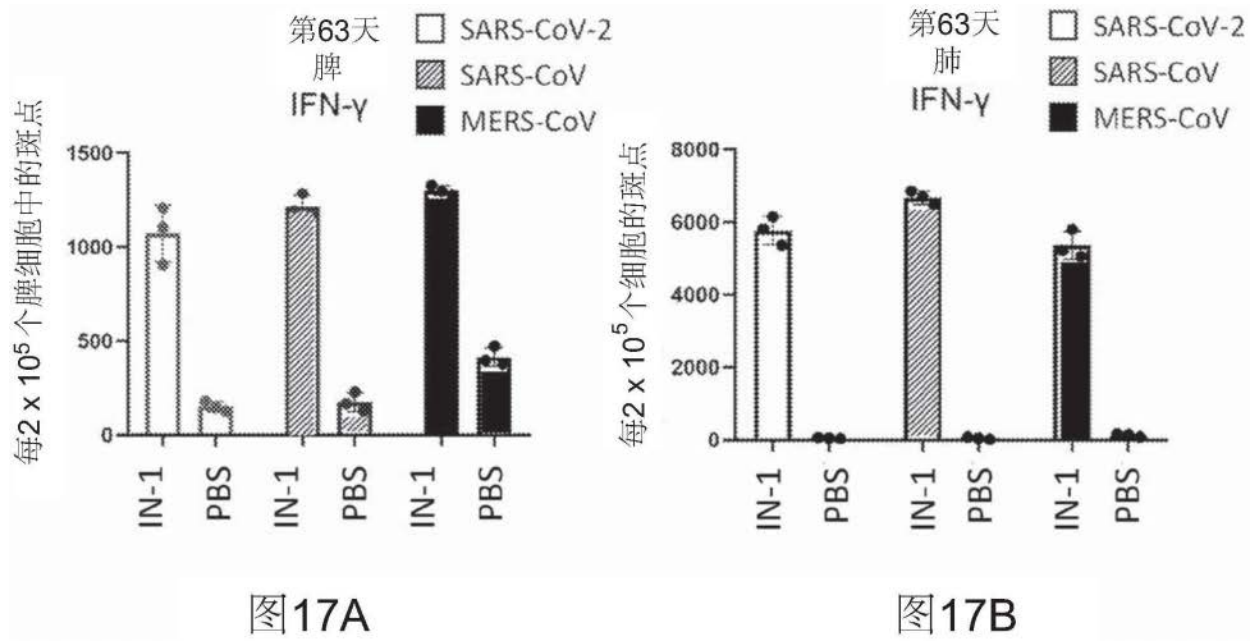


图16B



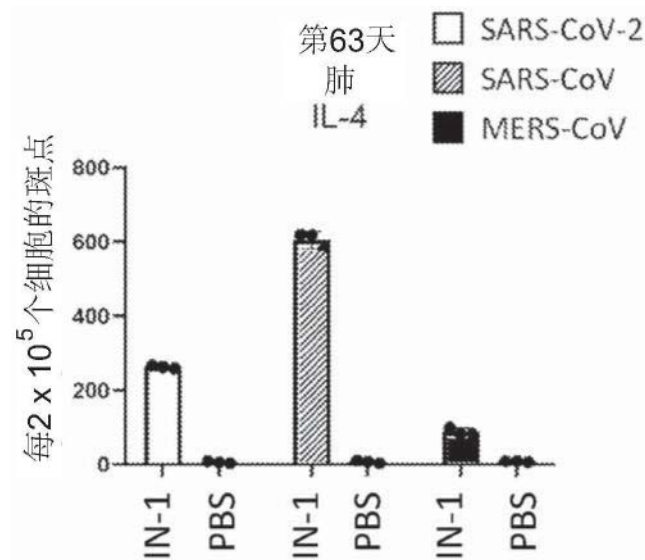


图17D

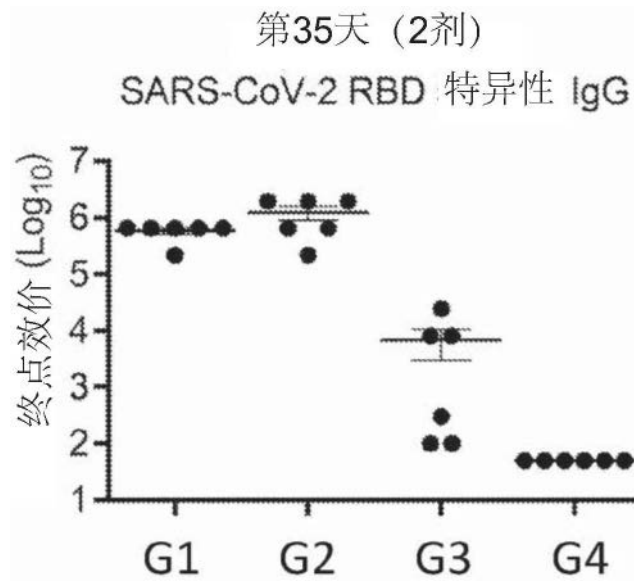


图18A

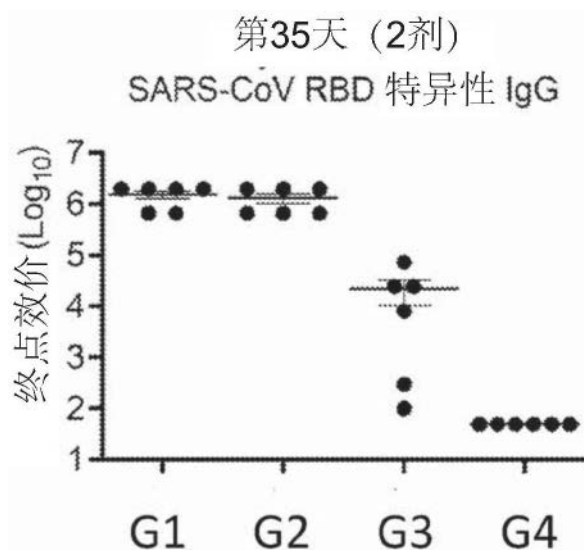


图18B

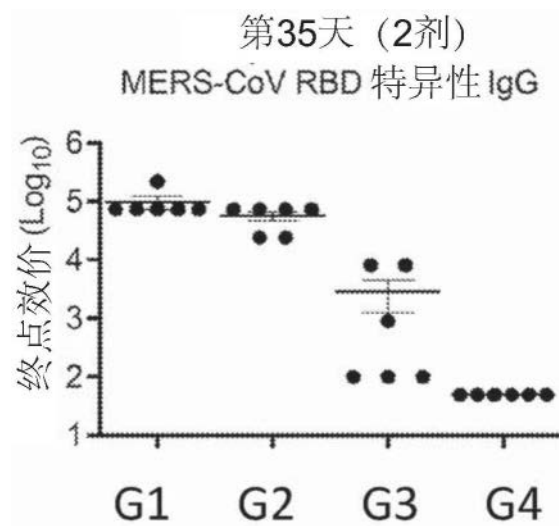


图18C

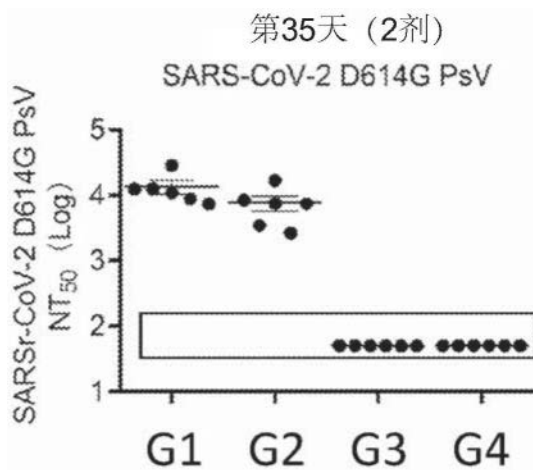


图19A

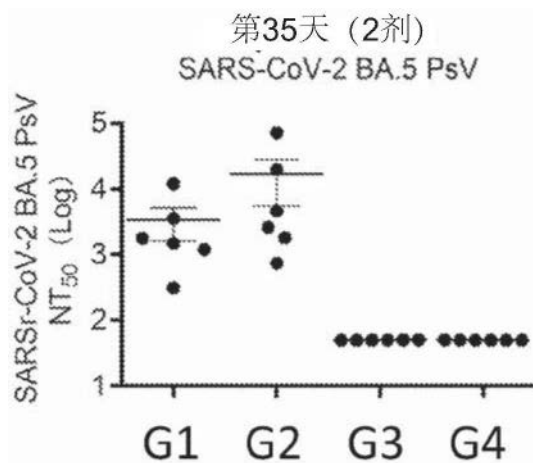


图19B

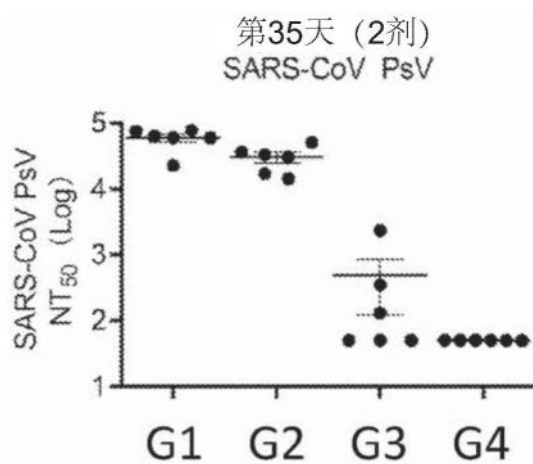


图19C

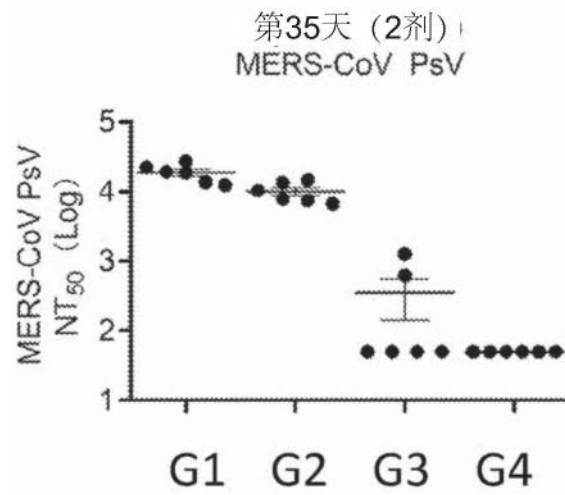


图19D

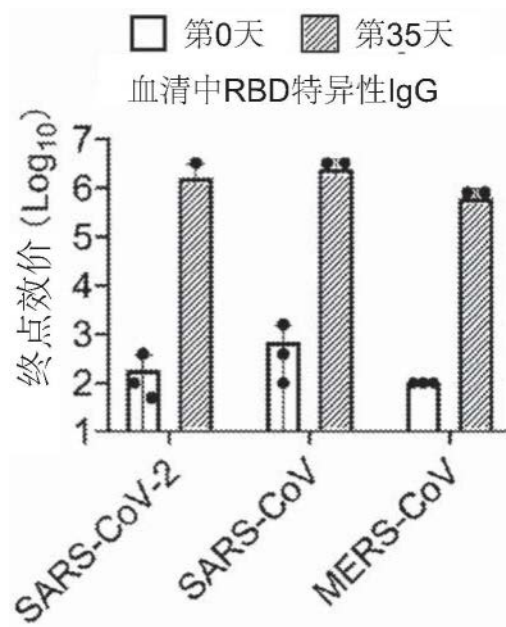


图20A

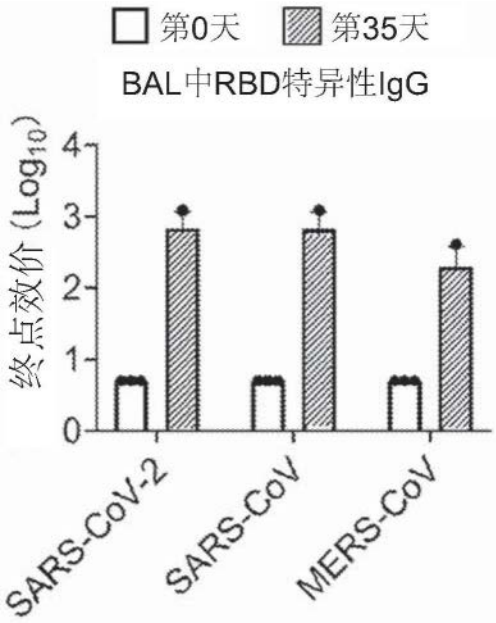


图20B

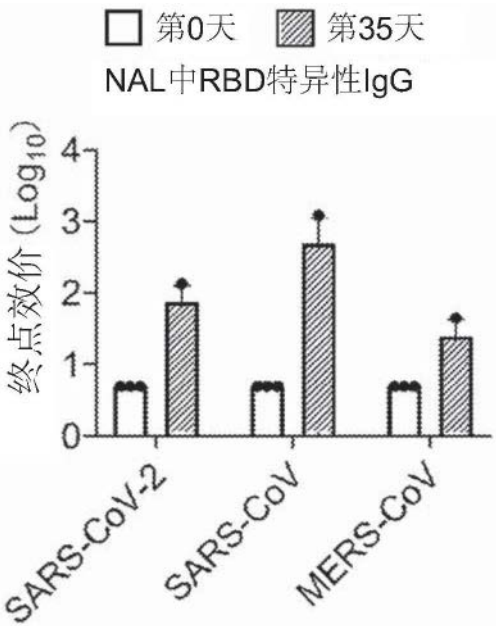


图20C

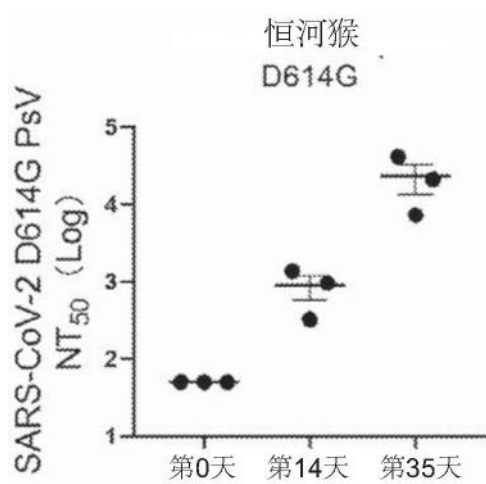


图21A

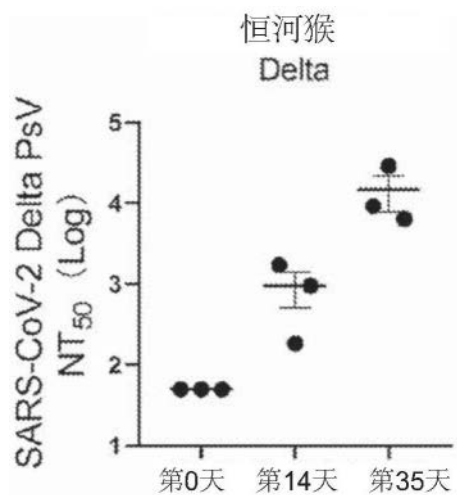


图21B

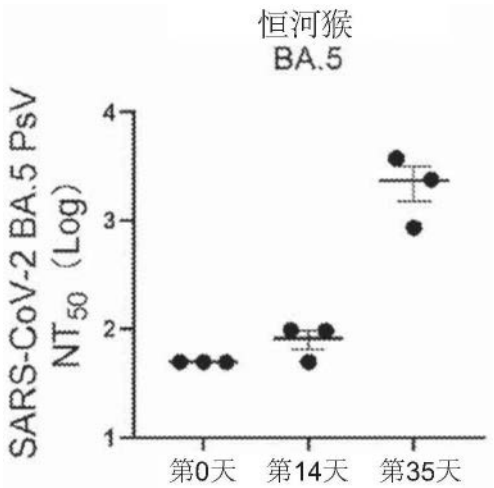


图21C

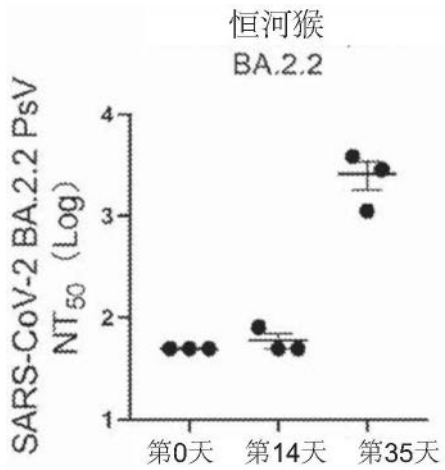


图21D

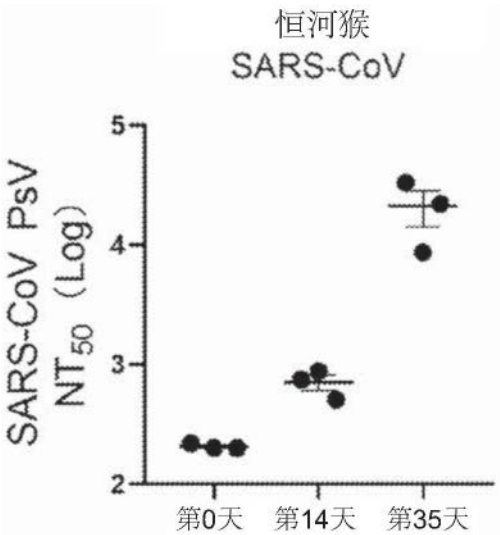


图21E

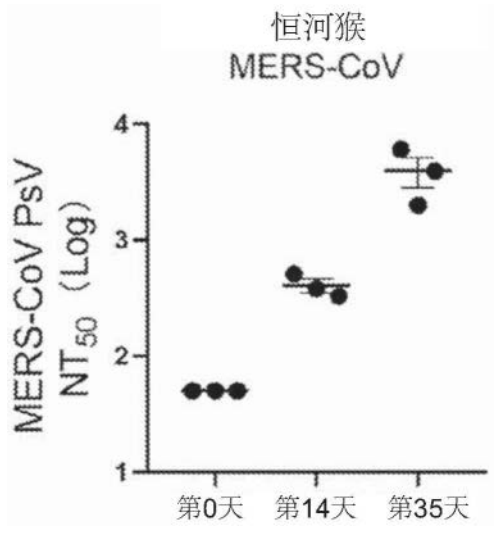


图21F