



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111542597 A

(43)申请公布日 2020.08.14

(21)申请号 201880084804.0

(71)申请人 美真达治疗公司

(22)申请日 2018.10.31

地址 美国马萨诸塞州

(30)优先权数据

(72)发明人 安东尼·博伊坦诺

62/579,803 2017.10.31 US

凯文·A·冈卡夫斯

62/596,676 2017.12.08 US

迈克尔·库克

62/613,383 2018.01.03 US

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

62/625,917 2018.02.02 US

有限公司 11262

62/634,638 2018.02.23 US

代理人 李敏春 郑霞

62/747,068 2018.10.17 US

(51)Int.Cl.

C12N 5/0789(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.06.29

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/058553 2018.10.31

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/089826 EN 2019.05.09

权利要求书18页 说明书94页 附图35页

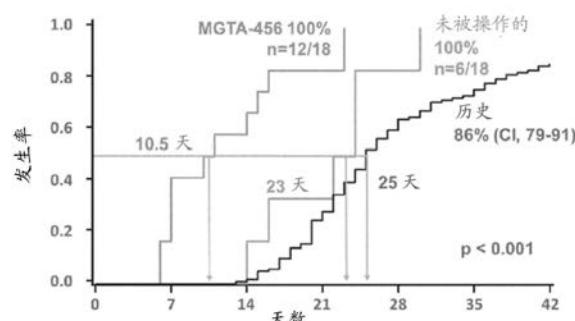
(54)发明名称

用于扩增造血干细胞和祖细胞的组合物和方法

(57)摘要

本文提供了可用于扩增造血干细胞和祖细胞的组合物和方法，所述造血干细胞和祖细胞诸如已经被遗传修饰以便例如表达异源转基因的那些。根据本文描述的组合物和方法，造血干细胞和祖细胞可以是经遗传修饰的，例如，以表达编码治疗性蛋白的转基因。经遗传修饰的造血干细胞和祖细胞可以通过例如用芳香烃受体拮抗剂离体处理来扩增，并且可以被输注到患者，诸如需要造血干细胞移植疗法的患者中。因此，本文提供了用于治疗多种干细胞紊乱包括尤其是造血疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性疾病的方法。

AHR拮抗剂介导的CB HSC的扩增的临床证据



1. 一种离体产生包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体的方法,所述方法包括:

a. 破坏多于一个造血干细胞或祖细胞中的内源性基因,从而产生包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体;以及

b. 使所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中在(a)之前,使所述多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮抗剂接触。

3. 一种离体扩增包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中所述细胞先前已经被遗传修饰以破坏内源性基因,所述方法包括使所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触。

4. 一种产生包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中所述细胞先前已经通过使所述群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触而被离体扩增,所述方法包括破坏所述造血干细胞或祖细胞的扩增的群体中的内源性基因。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其中步骤(a)包括使所述造血干细胞或祖细胞与核酸酶接触,所述核酸酶催化所述造血干细胞或祖细胞中内源核酸的裂解。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述核酸酶是CRISPR相关蛋白。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述核酸酶是胱天蛋白酶9。

8. 根据权利要求5所述的方法,其中所述核酸酶是转录活化因子样效应物核酸酶、兆核酸酶或锌指核酸酶。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少2天。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少3天。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少4天。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少5天。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少6天。

14. 根据权利要求13所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少7天。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细

胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少14天。

16.根据权利要求15所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持所述内源性基因的破坏至少16天。

17.一种离体产生包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体的方法,所述方法包括:

a.将多核苷酸引入多于一个造血干细胞或祖细胞中,从而产生包含表达所述多核苷酸的经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体;以及

b.使所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触。

18.根据权利要求17所述的方法,其中在(a)之前,使所述多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮抗剂接触。

19.一种离体扩增包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中所述细胞先前已经通过将多核苷酸引入所述细胞中而被遗传修饰,所述方法包括使包含所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触。

20.一种产生包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中所述细胞先前已经通过使所述群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触而被离体扩增,所述方法包括将多核苷酸引入所述造血干细胞或祖细胞的扩增的群体中。

21.根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述引入包括使所述造血干细胞或祖细胞与包含所述多核苷酸的载体接触。

22.根据权利要求21所述的方法,其中所述载体是病毒载体。

23.根据权利要求22所述的方法,其中所述病毒载体选自由以下组成的组:腺病毒(Ad)、逆转录病毒、痘病毒、腺相关病毒、杆状病毒、单纯疱疹病毒和痘苗病毒。

24.根据权利要求23所述的方法,其中所述逆转录病毒是慢病毒或 γ 逆转录病毒。

25.根据权利要求21所述的方法,其中所述载体是转座元件。

26.根据权利要求25所述的方法,其中所述转座元件是piggybac转座子或睡美人转座子。

27.根据权利要求17-26中任一项所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少2天。

28.根据权利要求27所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少3天。

29.根据权利要求28所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少4天。

30.根据权利要求29所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少5

天。

31. 根据权利要求30所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少6天。

32. 根据权利要求31所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少7天。

33. 根据权利要求32所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少14天。

34. 根据权利要求33所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植至患者后,所述造血干细胞或祖细胞或其后代持续表达所述多核苷酸至少16天。

35. 根据权利要求1-34中任一项所述的方法,其中所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体还包含未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞。

36. 根据权利要求35所述的方法,其中所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞以与用所述芳香烃受体拮抗剂处理之前存在于所述群体中的经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的相对数量成比例的速率扩增。

37. 根据权利要求35所述的方法,其中所述未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞在被所述芳香烃受体拮抗剂扩增方面不胜过所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞。

38. 根据权利要求35所述的方法,其中所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞比所述未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞更快地扩增。

39. 根据权利要求1-38中任一项所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植到患者中后,所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞或其后代与从所述患者分离的样品骨髓或外周血样品中造血干细胞的总量的比率是在向所述患者施用所述细胞时经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与所述群体中存在的造血干细胞或祖细胞的总量的比率的至少75%。

40. 根据权利要求39所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植到患者中后,所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞或其后代与从所述患者分离的样品骨髓或外周血样品中造血干细胞的总量的比率是在向所述患者施用所述细胞时经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与所述群体中存在的造血干细胞或祖细胞的总量的比率的至少80%。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植到患者中后,所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞或其后代与从所述患者分离的样品骨髓或外周血样品中造血干细胞的总量的比率是在向所述患者施用所述细胞时经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与所述群体中存在的造血干细胞或祖细胞的总量的比率的至少85%。

42. 根据权利要求41所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植到患者中后,所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞或其后代与从所述患者

分离的样品骨髓或外周血样品中造血干细胞的总量的比率是在向所述患者施用所述细胞时经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与所述群体中存在的造血干细胞或祖细胞的总量的比率的至少90%。

43. 根据权利要求42所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植到患者中后,所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞或其后代与从所述患者分离的样品骨髓或外周血样品中造血干细胞的总量的比率是在向所述患者施用所述细胞时经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与所述群体中存在的造血干细胞或祖细胞的总量的比率的至少95%。

44. 根据权利要求43所述的方法,其中在将所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植到患者中后,所述经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞或其后代与从所述患者分离的样品骨髓或外周血样品中造血干细胞的总量的比率与在向所述患者施用所述细胞时经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与所述群体中存在的造血干细胞或祖细胞的总量的比率相同。

45. 根据权利要求1-44中任一项所述的方法,其中相对于未用所述芳香烃受体拮抗剂处理的造血干细胞或祖细胞的群体,所述包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体表现出更高的植入潜力。

46. 根据权利要求1-45中任一项所述的方法,其中在扩增之前,所述造血干细胞或祖细胞被动员并从供体分离。

47. 根据权利要求46所述的方法,其中所述供体是人类。

48. 根据权利要求46或47所述的方法,其中通过将所述造血干细胞或祖细胞与动员量的CXCR4拮抗剂和/或CXCR2激动剂接触来动员所述造血干细胞或祖细胞。

49. 根据权利要求48所述的方法,其中所述CXCR4拮抗剂是普乐沙福或其药学上可接受的盐。

50. 根据权利要求48或49所述的方法,其中所述CXCR2激动剂是Gro- β 、Gro- β T或其变体。

51. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述Gro- β 、Gro- β T或其变体相对于这些肽的脱酰胺形式具有至少约95%的纯度。

52. 根据权利要求1-51中任一项所述的方法,其中在破坏多于一个造血干细胞或祖细胞中的内源性基因从而产生包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体之前,使所述多于一个造血干细胞或祖细胞与根据前述权利要求中任一项所述的芳香烃受体拮抗剂在足以诱导细胞周期的时间段期间接触。

53. 根据权利要求1-51中任一项所述的方法,其中在将多核苷酸引入多于一个造血干细胞或祖细胞中从而产生表达所述多核苷酸的经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体之前,使所述多于一个造血干细胞或祖细胞与根据前述权利要求中任一项所述的芳香烃受体拮抗剂在足以诱导细胞周期的时间段期间接触。

54. 根据权利要求52所述的方法,其中在破坏多于一个造血干细胞或祖细胞中的内源性基因从而产生包含经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体之前,使所述多于一个造血干细胞或祖细胞与根据前述权利要求中任一项所述的芳香烃受体拮抗剂接触至少1天,优选地至少2天,优选地至少3天,优选地至少4天,优选地至少5天。

55. 根据权利要求53所述的方法,其中在将多核苷酸引入多于一个造血干细胞或祖细胞中从而产生包含表达所述多核苷酸的经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体之前,使所述多于一个造血干细胞或祖细胞与根据前述权利要求中任一项所述的芳香烃受体拮抗剂接触至少1天,优选地至少2天,优选地至少3天,优选地至少4天,优选地至少5天。

56. 根据权利要求52-55中任一项所述的方法,其中使所述多于一个造血干细胞或祖细胞与足以在所述时间段期间诱导细胞周期的量的剂接触。

57. 根据权利要求56所述的方法,其中所述剂是一种或更多种细胞因子。

58. 根据权利要求57所述的方法,其中所述细胞因子选自由以下组成的组:SCF、IL6、TP0、FLT3L及其组合。

59. 根据权利要求52-58中任一项所述的方法,其中所述时间段足以在基本上所有的所述多于一个造血干细胞或祖细胞中诱导细胞周期。

60. 一种人类血细胞制品,所述人类血细胞制品包含根据权利要求1-59中任一项的方法制备的造血干细胞或祖细胞或其后代。

61. 一种治疗患者的紊乱的方法,所述方法包括根据权利要求1-59中任一项所述的方法产生造血干细胞或祖细胞的扩增的群体,并且将所得细胞输注到所述患者中。

62. 一种治疗患者的紊乱的方法,所述方法包括将根据权利要求1-59中任一项所述的方法产生的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体输注到所述患者中。

63. 一种治疗患者的紊乱的方法,所述方法包括将根据权利要求60所述的人类血细胞制品输注到所述患者中。

64. 一种治疗患者的紊乱的方法,所述方法包括使造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触,并且将所得细胞输注到所述患者中。

65. 一种治疗患者的紊乱的方法,所述方法包括将通过使造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触而产生的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体输注到所述患者中。

66. 一种治疗有相应需要的患者的紊乱的方法,所述方法包括向所述患者施用造血干细胞的扩增的群体,其中所述造血干细胞的扩增的群体通过使造血干细胞的第一群体与芳香烃受体拮抗剂接触足以产生所述造血干细胞的扩增的群体的时间来制备。

67. 根据权利要求61-66中任一项所述的方法,其中所述患者是人类。

68. 根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述紊乱是血红蛋白异常性紊乱。

69. 根据权利要求68所述的方法,其中所述血红蛋白异常性紊乱选自由以下组成的组:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。

70. 根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述紊乱是骨髓增生异常性紊乱。

71. 根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述紊乱是免疫缺陷性紊乱。

72. 根据权利要求71所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是先天性免疫缺陷。

73. 根据权利要求71所述的方法,其中所述免疫缺陷性紊乱是获得性免疫缺陷。

74. 根据权利要求73所述的方法,其中所述获得性免疫缺陷是人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征。

75. 根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述紊乱是代谢紊乱。

76. 根据权利要求75所述的方法,其中所述代谢紊乱选自由以下组成的组:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积病和异染性脑白质营养不良。

77. 根据权利要求76所述的方法,其中所述紊乱是癌症。

78. 根据权利要求77所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。

79. 根据权利要求77所述的方法,其中所述癌症选自由以下组成的组:白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。

80. 根据权利要求77所述的方法,其中所述癌症是急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

81. 根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述紊乱是选自由以下组成的组的紊乱:腺苷脱氨酶缺乏症和重症联合免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和青少年类风湿性关节炎。

82. 根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述紊乱是自身免疫性紊乱。

83. 根据权利要求82所述的方法,其中所述自身免疫性紊乱选自由以下组成的组:多发性硬化、人类系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴细胞增生综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎性脱髓鞘多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颤动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

84. 根据权利要求61-67中任一项所述的方法,其中所述紊乱是神经紊乱。

85. 根据权利要求84所述的方法,其中所述神经紊乱选自由以下组成的组:帕金森病、阿尔茨海默病、多发性硬化、肌萎缩侧索硬化、亨廷顿病、轻度认知损害、淀粉样变性、艾滋病相关痴呆、脑炎、中风、头部创伤、癫痫、情绪紊乱和痴呆。

86. 根据权利要求61-85中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞或祖细胞对于所述患者是自体的。

87. 根据权利要求61-85中任一项所述的方法,其中所述造血干细胞或祖细胞对于所述患者是同种异体的。

88. 根据权利要求87所述的方法,其中所述造血干细胞或祖细胞对于所述患者是HLA匹配的。

89. 根据权利要求61-88中任一项所述的方法,其中在所述造血干细胞或祖细胞输注到所述患者中两天或更多天后所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持造血干细胞功能潜力。

90. 根据权利要求61-89中任一项所述的方法,其中在所述造血干细胞或祖细胞输注到所述患者中后所述造血干细胞或祖细胞或其后代集中至造血组织和/或重建血细胞生成。

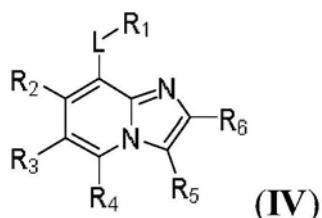
91. 根据权利要求61-90中任一项所述的方法,其中在输注到所述患者中后,所述造血干细胞或祖细胞引起选自由以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

92. 一种在有相应需要的人类患者的中枢神经系统中产生小胶质细胞的方法,所述方法包括向所述患者施用造血干细胞的扩增的群体,其中所述造血干细胞的扩增的群体通过使造血干细胞的第一群体与芳香烃受体拮抗剂接触足以产生所述造血干细胞的扩增的群体的时间来制备,并且其中所述造血干细胞的扩增的群体的施用导致在所述患者的中枢神经系统中形成小胶质细胞。

93. 一种试剂盒,所述试剂盒包含多于一个造血干细胞或祖细胞和包装插页,其中所述包装插页指导使用者执行根据权利要求1-59中任一项所述的方法。

94. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是SR-1或化合物2。

95. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是由式(IV)表示的化合物或其盐



其中L选自由以下组成的组: $-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(O)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-S(O)_2(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(O)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-OC(O)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-OC(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(O)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(O)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-S(O)_2NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}S(O)_2(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(O)NR_{7b}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 和 $-NR_{7a}C(O)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$,其中 R_{7a} 、 R_{7b} 、 R_{8a} 和 R_{8b} 各自独立地选自由以下组成的组:氢和任选地被取代的C1-4烷基,并且每个n独立地是从2至6的整数;

R_{1} 选自由以下组成的组: $-S(O)_2NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(S)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)NR_{9b}R_{9c}$ 、 $-C(O)R_{9a}$ 、 $-C(S)R_{9a}$ 、 $-S(O)_2R_{9a}$ 、 $-C(O)OR_{9a}$ 、 $-C(S)OR_{9a}$ 、 $-C(O)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-C(S)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}S(O)_2R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)OR_{9b}$ 、 $-OC(O)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、 $-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基,其中 R_{9a} 、 R_{9b} 和 R_{9c} 各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

R_{2} 选自由以下组成的组:氢和任选地被取代的C1-4烷基;

R_{3} 选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代

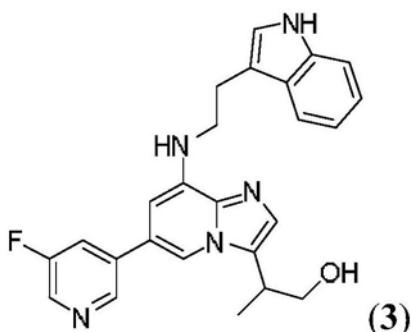
的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

R₄选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C1-4烷基；

R₅选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；并且

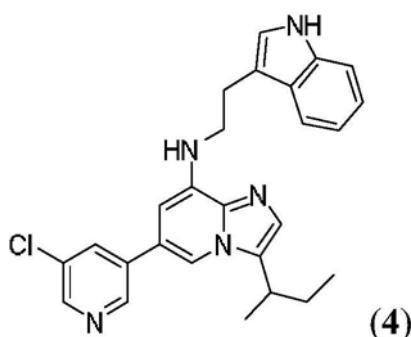
R₆选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

96. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒，其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(3)



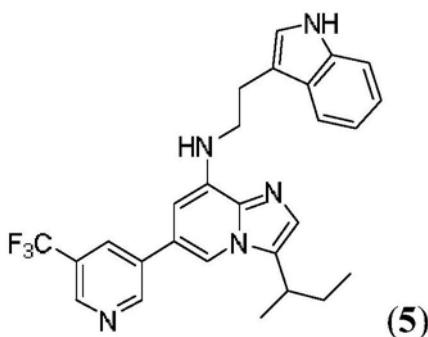
或其盐。

97. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒，其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(4)



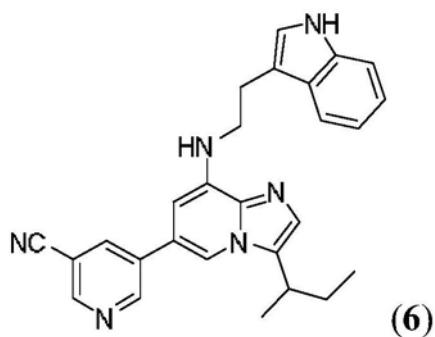
或其盐。

98. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒，其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(5)



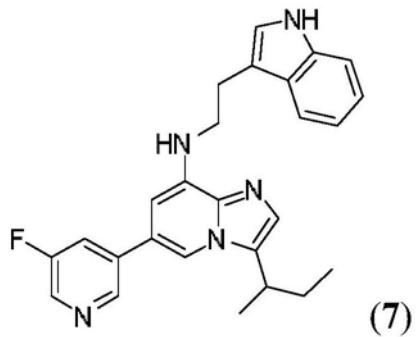
或其盐。

99. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒，其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(6)



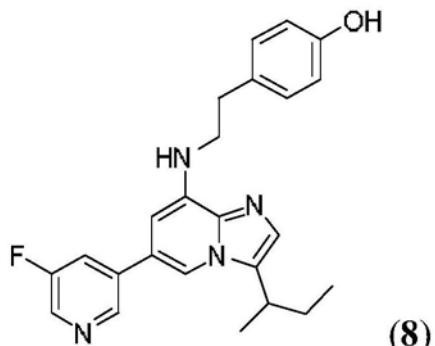
或其盐。

100. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(7)



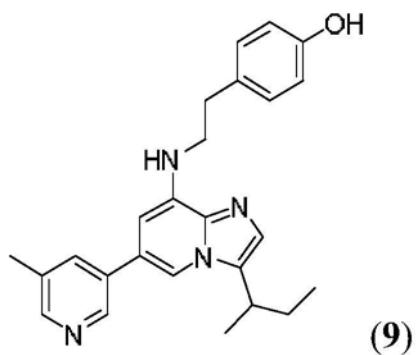
或其盐。

101. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(8)



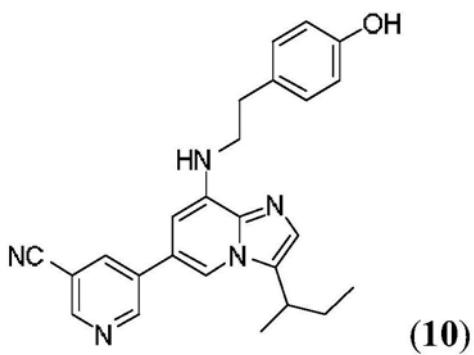
或其盐。

102. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(9)



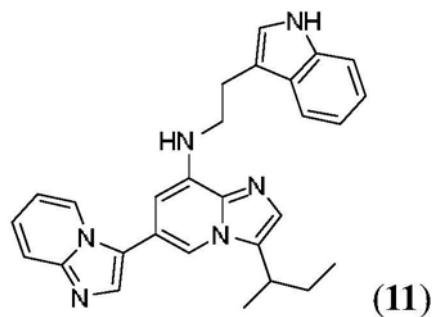
或其盐。

103. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(10)



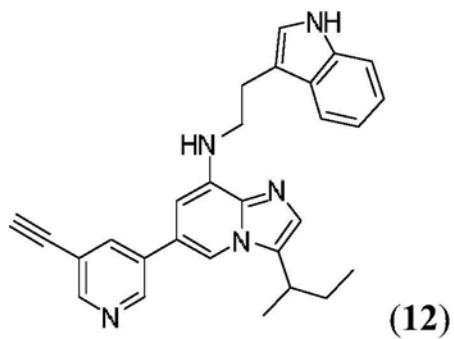
或其盐。

104. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(11)



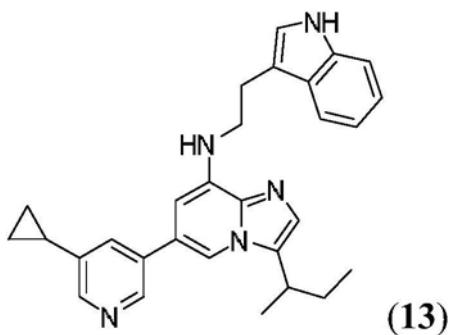
或其盐。

105. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(12)



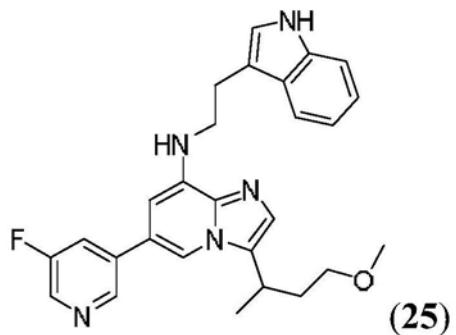
或其盐。

106. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(13)



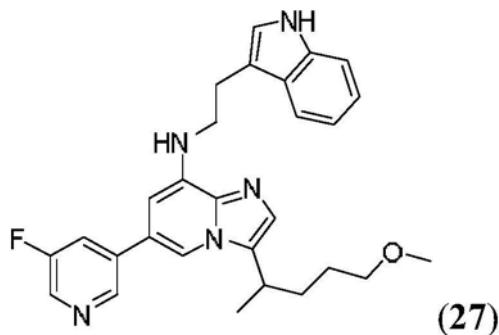
或其盐。

107. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(25)



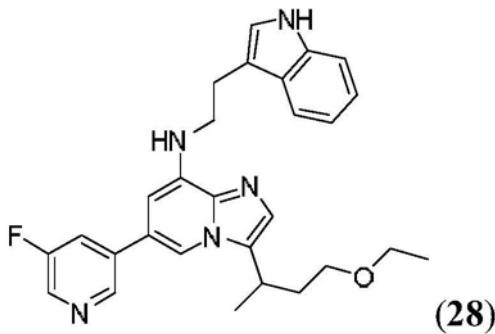
或其盐。

108. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(27)



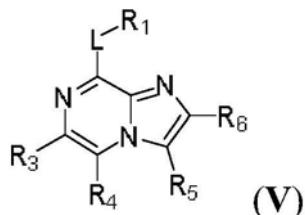
或其盐。

109. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(28)



或其盐。

110. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是由式(V)表示的化合物或其盐



其中L选自由以下组成的组：-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-S(0)₀₋₂(CR_{8a}R_{8b})_n-、-(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-S(0)₂NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}S(0)₂(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C(0)NR_{7b}(CR_{8a}R_{8b})_n-和-NR_{7a}C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-，其中R_{7a}、R_{7b}、R_{8a}和R_{8b}各自独立地选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C₁₋₄烷基，并且每个n独立地是从2至6的整数；

R₁选自由以下组成的组: -S(0)₂NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}C(0)R_{9b}、-NR_{9a}C(S)R_{9b}、-NR_{9a}C(0)NR_{9b}R_{9c}、-C(0)R_{9a}、-C(S)R_{9a}、-S(0)₀-₂R_{9a}、-C(0)OR_{9a}、-C(S)OR_{9a}、-C(0)NR_{9a}R_{9b}、-C(S)NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}S(0)₂R_{9b}、-NR_{9a}C(0)OR_{9b}、-OC(0)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基,其中R_{9a}、R_{9b}和R_{9c}各自独立地选自由以下组成的组: 氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

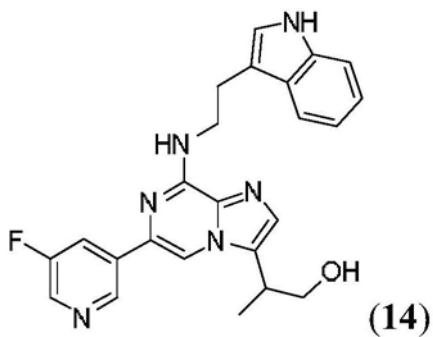
R₃选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

R₄选自由以下组成的组: 氢和任选地被取代的C1-4烷基;

R₅选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；并且

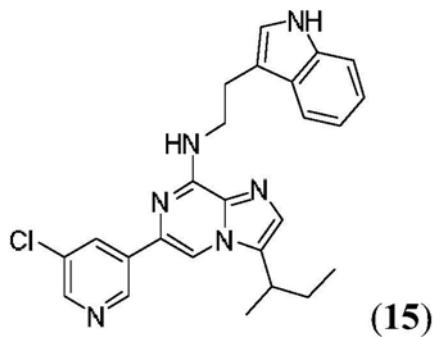
R₆选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

111. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(14)



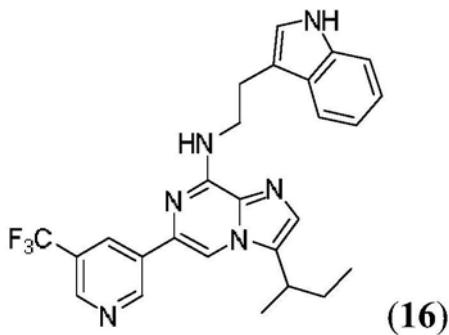
或其盐。

112. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(15)



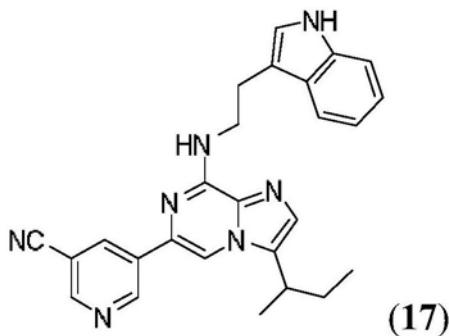
或其盐。

113. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(16)



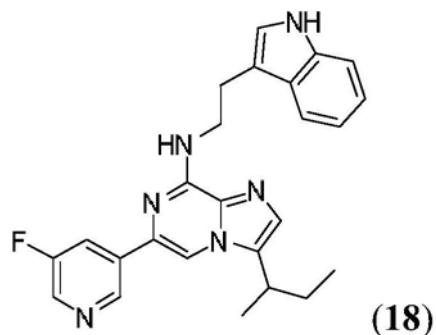
或其盐。

114. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(17)



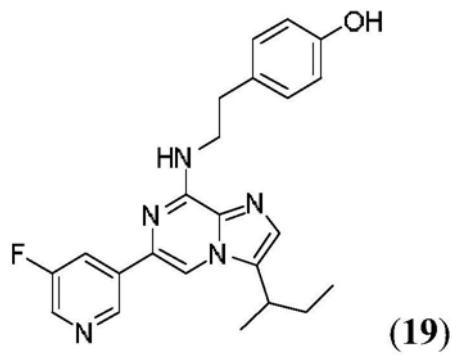
或其盐。

115. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(18)



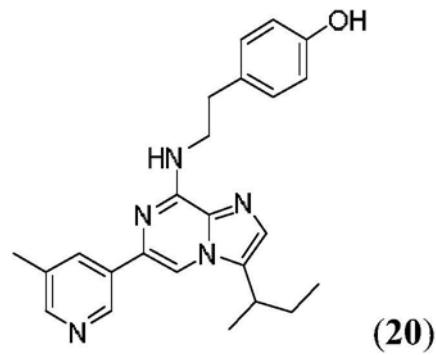
或其盐。

116. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(19)



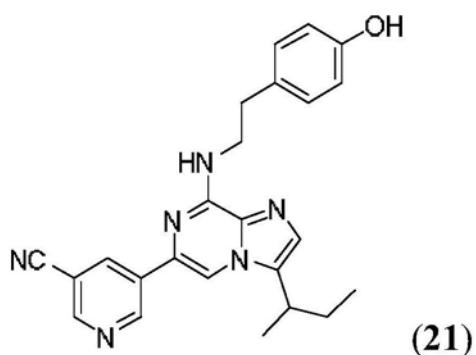
或其盐。

117. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(20)



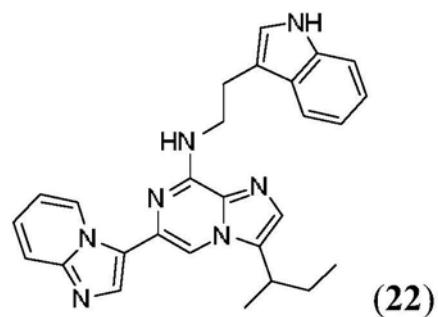
或其盐。

118. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(21)



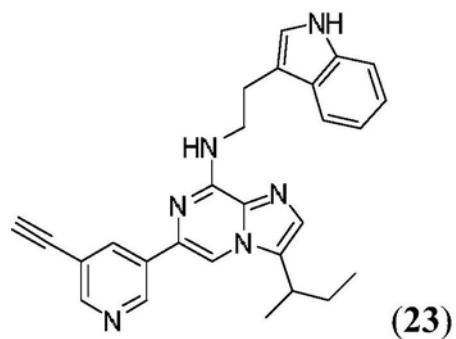
或其盐。

119. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(22)



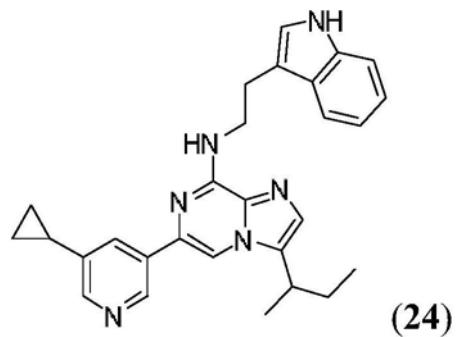
或其盐。

120. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(23)



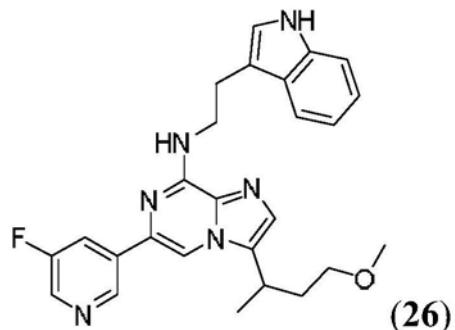
或其盐。

121. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(24)



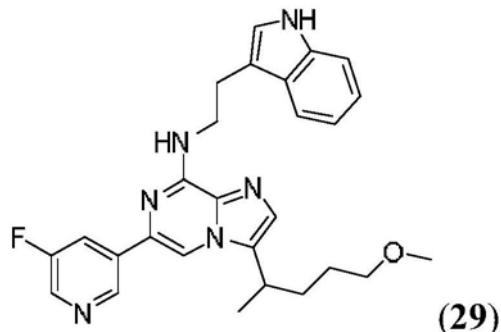
或其盐。

122. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(26)



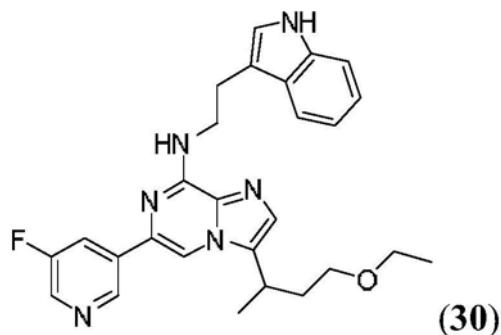
或其盐。

123. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(29)



或其盐。

124. 根据权利要求1-93中任一项所述的方法或试剂盒,其中所述芳香烃受体拮抗剂是化合物(30)



或其盐。

125. 一种组合物,所述组合物用于治疗患者的紊乱,所述组合物包含根据前述权利要求中任一项所述的方法制备的造血干细胞或祖细胞或其后代。

126. 根据前述权利要求中任一项所述的方法制备的包含造血干细胞或祖细胞或其后代的组合物在制备用于治疗患者的紊乱的药物中的用途。

127. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述患者是人类。

128. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述紊乱是

血红蛋白异常性紊乱。

129. 根据权利要求128所述的组合物或用途,其中所述血红蛋白异常性紊乱选自由以下组成的组:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。

130. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述紊乱是免疫缺陷性紊乱。

131. 根据权利要求130所述的组合物或用途,其中所述免疫缺陷性紊乱是先天性免疫缺陷。

132. 根据权利要求130所述的组合物或用途,其中所述免疫缺陷性紊乱是获得性免疫缺陷。

133. 根据权利要求132所述的组合物或用途,其中所述获得性免疫缺陷是人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征。

134. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述紊乱是代谢紊乱。

135. 根据权利要求134所述的组合物或用途,其中所述代谢紊乱选自由以下组成的组:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒病、鞘脂贮积病和异染性脑白质营养不良。

136. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述紊乱是癌症。

137. 根据权利要求136所述的组合物或用途,其中所述癌症是血液学癌症。

138. 根据权利要求136所述的组合物或用途,其中所述癌症选自由以下组成的组:白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤和神经母细胞瘤。

139. 根据权利要求136所述的组合物或用途,其中所述癌症是急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

140. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述紊乱选自由以下组成的组的紊乱:腺苷脱氨酶缺乏症和重症联合免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和青少年类风湿性关节炎。

141. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述紊乱是自身免疫性紊乱。

142. 根据权利要求141所述的组合物或用途,其中所述自身免疫性紊乱选自由以下组成的组:多发性硬化、人类系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴细胞增生综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎性脱髓鞘多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特

发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎、颞动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

143. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述紊乱是神经紊乱。

144. 根据权利要求143所述的组合物或用途,其中所述神经紊乱选自由以下组成的组:帕金森病、阿尔茨海默病、多发性硬化、肌萎缩侧索硬化、亨廷顿病、轻度认知损害、淀粉样变性、艾滋病相关痴呆、脑炎、中风、头部创伤、癫痫、情绪紊乱和痴呆。

145. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述造血干细胞或祖细胞对于所述患者是自体的。

146. 根据权利要求125所述的组合物或根据权利要求126所述的用途,其中所述造血干细胞或祖细胞对于所述患者是同种异体的。

147. 根据权利要求146所述的组合物或用途,其中所述造血干细胞或祖细胞对于所述患者是HLA匹配的。

148. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物或用途,其中在所述造血干细胞或祖细胞输注到所述患者中两天或更多天后所述造血干细胞或祖细胞或其后代保持造血干细胞功能潜力。

149. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物或用途,其中在所述造血干细胞或祖细胞输注到所述患者中后所述造血干细胞或祖细胞或其后代集中至造血组织和/或重建血细胞生成。

150. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物或用途,其中在输注到所述患者中后,所述造血干细胞或祖细胞引起选自由以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

用于扩增造血干细胞和祖细胞的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年10月31日提交的美国申请第62/579,803号、2017年12月8日提交的第62/596,676号、2018年1月3日提交的第62/613,383号、2018年2月2日提交的第62/625,917号、2018年2月23日提交的第62/634,638号和2018年10月17日提交的第62/747,068号的优先权和权益,将其中每一项的全部内容通过引用并入本文。

[0003] 领域

[0004] 本公开内容涉及可用于,通过例如用芳香烃受体拮抗剂离体处理来扩增造血干细胞和祖细胞,诸如已经被遗传修饰以便例如表达编码治疗性蛋白的转基因的造血干细胞和祖细胞,的组合物和方法,以及治疗多种相关病理的方法。

[0005] 背景

[0006] 尽管在医学领域取得了进步,但对治疗造血系统病理,诸如尤其是特定血细胞的疾病、代谢紊乱、癌症和自身免疫性状况仍然存在需求。虽然造血干细胞具有显著的治疗潜力,但阻碍其在临床中使用的一个限制是与扩增造血干细胞的群体以获得足以用于移植的数量同时保留造血干细胞功能潜力相关的困难。目前对用于实现造血干细胞和祖细胞的扩增的组合物和方法存在需求。

[0007] 概述

[0008] 本文提供了用于扩增造血干细胞或祖细胞的群体的组合物和方法,所述造血干细胞或祖细胞诸如,经遗传修饰以便例如破坏感兴趣的基因或增加感兴趣的基因的表达的造血干细胞或祖细胞。

[0009] 在第一方面中,本文提供了离体产生经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体的方法,所述方法包括以下步骤: (a) 破坏多于一个造血干细胞或祖细胞中的内源性基因,从而产生经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体;以及 (b) 使经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触(即,芳香烃受体拮抗剂的量足以使群体中造血干细胞或祖细胞的数量增加例如1.1倍至约1,000倍、约1.1倍至约5,000倍或更多(例如,约1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4倍、4.1倍、4.2倍、4.3倍、4.4倍、4.5倍、4.6倍、4.7倍、4.8倍、4.9倍、5倍、5.1倍、5.2倍、5.3倍、5.4倍、5.5倍、5.6倍、5.7倍、5.8倍、5.9倍、6倍、6.1倍、6.2倍、6.3倍、6.4倍、6.5倍、6.6倍、6.7倍、6.8倍、6.9倍、7倍、7.1倍、7.2倍、7.3倍、7.4倍、7.5倍、7.6倍、7.7倍、7.8倍、7.9倍、8倍、8.1倍、8.2倍、8.3倍、8.4倍、8.5倍、8.6倍、8.7倍、8.8倍、8.9倍、9倍、9.1倍、9.2倍、9.3倍、9.4倍、9.5倍、9.6倍、9.7倍、9.8倍、9.9倍、10倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1,000倍或更多),同时保持造血干细胞功能潜力)。

[0010] 在一些实施方案中,在(a)之前,使多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮抗剂接触。

[0011] 在一些实施方案中,在(a)之前,使多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮

抗剂在足以诱导细胞周期的时间段期间接触。

[0012] 在一些实施方案中,在(a)之前,使多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮抗剂接触至少约1天,优选地至少约2天,优选地至少约3天,优选地至少约4天,优选地至少约5天。

[0013] 在另一方面中,本文提供了离体扩增经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中细胞先前已经被遗传修饰以破坏内源性基因,所述方法包括使经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触。

[0014] 在又另一方面中,本文提供了产生经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中细胞先前已经通过使群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触而被离体扩增,所述方法包括破坏造血干细胞或祖细胞的扩增的群体中的内源性基因。

[0015] 在另一方面中,本文提供了离体产生经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体的方法,所述方法包括以下步骤: (a) 将多核苷酸引入多于一个造血干细胞或祖细胞中,从而产生表达该多核苷酸的经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体; 以及 (b) 使经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触(即,芳香烃受体拮抗剂的量足以使群体中的造血干细胞或祖细胞的数量增加例如1.1倍至约1,000倍、约1.1倍至约5,000倍或更多(例如,约1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4倍、4.1倍、4.2倍、4.3倍、4.4倍、4.5倍、4.6倍、4.7倍、4.8倍、4.9倍、5倍、5.1倍、5.2倍、5.3倍、5.4倍、5.5倍、5.6倍、5.7倍、5.8倍、5.9倍、6倍、6.1倍、6.2倍、6.3倍、6.4倍、6.5倍、6.6倍、6.7倍、6.8倍、6.9倍、7倍、7.1倍、7.2倍、7.3倍、7.4倍、7.5倍、7.6倍、7.7倍、7.8倍、7.9倍、8倍、8.1倍、8.2倍、8.3倍、8.4倍、8.5倍、8.6倍、8.7倍、8.8倍、8.9倍、9倍、9.1倍、9.2倍、9.3倍、9.4倍、9.5倍、9.6倍、9.7倍、9.8倍、9.9倍、10倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1,000倍或更多),同时保持造血干细胞功能潜力)。

[0016] 在一些实施方案中,在(a)之前,使多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮抗剂接触。

[0017] 在一些实施方案中,在(a)之前,使多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮抗剂在足以诱导细胞周期的时间段期间接触。

[0018] 在一些实施方案中,在(a)之前,使多于一个造血干细胞或祖细胞与芳香烃受体拮抗剂接触至少约1天,优选地至少约2天,优选地至少约3天,优选地至少约4天,优选地至少约5天。

[0019] 在另一方面中,本文提供了离体扩增经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中细胞先前已经通过将多核苷酸引入细胞中而被遗传修饰,所述方法包括使经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触。

[0020] 在又另一方面中,本文提供了产生经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体的方法,其中细胞先前已经通过使群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触而被离体扩增,所述方法包括将多核苷酸引入造血干细胞或祖细胞的扩增的群体中。

[0021] 在以上任一方面的一些实施方案中,经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体还包括未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞。

[0022] 经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞可以与最初与芳香烃受体拮抗剂接触时群体中存在的经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的相对数量成比例的速率扩增。在一些实施方案中,经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞和未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞可以与最初与芳香烃受体拮抗剂接触时群体中存在的经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的比率成比例的相对速率扩增。

[0023] 在一些实施方案中,未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞在被芳香烃受体拮抗剂扩增方面不胜过经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞。

[0024] 在一些实施方案中,经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞比未经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞更快地扩增。

[0025] 在以上任一方面的一些实施方案中,在将经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体移植到患者中后,经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞或其后代与从患者分离的样品(例如,骨髓或外周血的样品)中造血干细胞的总量的比率是在向患者施用细胞时经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞与群体中存在的造血干细胞或祖细胞的总量的比率的至少75%(例如,至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)。

[0026] 在一些实施方案中,已经被遗传修饰以破坏内源性基因的造血干细胞或祖细胞的群体在破坏步骤和/或最初用芳香烃受体拮抗剂处理之后,保持基因的破坏至少2天(例如,从约2天至约30天,诸如从约2天至约25天、约2天至约20天、约2天至约16天、约3天至约20天、约3天至约18天、约4天至约20天、约4天至约18天、约5天至约20天、约5天至约18天、约10天至约20天、约12天至约18天、约14天至约18天、至少3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、14天、16天、18天、20天、25天或更长时间)。

[0027] 在一些实施方案中,已经被遗传修饰以表达多核苷酸的造血干细胞或祖细胞的群体在引入步骤和/或最初用芳香烃受体拮抗剂处理之后,持续表现出多核苷酸的表达至少2天(例如,从约2天至约30天,诸如从约2天至约25天、约2天至约20天、约2天至约16天、约3天至约20天、约3天至约18天、约4天至约20天、约4天至约18天、约5天至约20天、约5天至约18天、约10天至约20天、约12天至约18天、约14天至约18天、至少3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、14天、16天、18天、20天、25天或更长时间)。

[0028] 在一些实施方案中,相对于未用芳香烃受体拮抗剂处理的造血干细胞或祖细胞的群体,经遗传修饰的造血干细胞或祖细胞的群体表现出更高的植入潜力。

[0029] 在一些实施方案中,步骤(a)包括使造血干细胞或祖细胞与该多核苷酸和催化造血干细胞或祖细胞中的内源核酸裂解的核酸酶接触。

[0030] 在一些实施方案中,核酸酶是CRISPR相关蛋白,诸如胱天蛋白酶9。核酸酶可以是,例如,转录活化因子样效应物核酸酶、兆核酸酶或锌指核酸酶。

[0031] 在一些实施方案中,步骤(a)包括使造血干细胞或祖细胞与含有待表达的多核苷酸的载体接触。载体可以是,例如,病毒载体,诸如腺病毒(Ad)、逆转录病毒(例如,逆转录病毒是 γ -逆转录病毒或慢病毒)、痘病毒、腺相关病毒、杆状病毒、单纯疱疹病毒或痘苗病毒。在一些实施方案中,载体是转座元件,诸如piggybac转座子或睡美人转座子(sleeping beauty transposon)。

[0032] 在一些实施方案中,在扩增之前,造血干细胞或祖细胞被动员并从供体诸如人类分离。动员可以通过例如用动员量的CXCR4拮抗剂诸如普乐沙福(plerixafor)和/或CXCR2

激动剂诸如Gro- β 、Gro- β T或其变体处理供体来进行。在一些实施方案中,Gro- β 、Gro- β T或其变体具有相对于这些肽的脱酰胺形式至少约95% (例如,从约95%至约99.99%、约96%至约99.99%、约97%至约99.99%、约98%至约99.99%、约99%至约99.99%、约95%至约99.9%、约97%至约99.9%、约99%至约99.9%,诸如95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、99.99%或更高)的纯度。

[0033] 在一个另外的方面中,本文提供了通过根据以上任一方面或实施方案的方法产生造血干细胞或祖细胞的扩增的群体并将所得细胞输注到患者(例如,人类患者)中来治疗患者的干细胞紊乱的方法。

[0034] 在另一方面中,本文提供了通过将根据以上任一方面或实施方案的方法产生的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体输注到患者(例如,人类患者)中来治疗患者的干细胞紊乱的方法。

[0035] 在又另一方面中,本文提供了通过使造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触并将所得细胞输注到患者(例如,人类患者)中来治疗患者的干细胞紊乱的方法。

[0036] 在另一方面中,本文提供了通过将通过使造血干细胞或祖细胞的群体与扩增量的芳香烃受体拮抗剂接触而产生的造血干细胞或祖细胞的扩增的群体输注到患者(例如,人类患者)中来治疗患者的干细胞紊乱的方法。

[0037] 在另一方面中,本文提供了治疗有相应需要的患者(例如,人类患者)的紊乱的方法,所述方法包括向患者施用造血干细胞的扩增的群体,其中造血干细胞的扩增的群体通过使造血干细胞的第一群体与芳香烃受体拮抗剂接触足以产生造血干细胞的扩增的群体的时间来制备。

[0038] 在一些实施方案中,干细胞紊乱是血红蛋白异常性紊乱。血红蛋白异常性紊乱可以是,例如,镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血或威斯科特-奥尔德里奇综合征。

[0039] 在一些实施方案中,干细胞紊乱是骨髓增生异常性紊乱。在一些实施方案中,干细胞紊乱是免疫缺陷性紊乱,诸如先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷,诸如人类免疫缺陷病毒或获得性免疫缺陷综合征。

[0040] 在一些实施方案中,干细胞紊乱是代谢紊乱,诸如糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病(Gaucher's Disease)、赫尔勒综合征(Hurler syndrome)或赫尔勒病(Hurler's Disease)、鞘脂贮积病、黏脂贮积症II或异染性脑白质营养不良。

[0041] 在一些实施方案中,干细胞紊乱是癌症,诸如白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤或神经母细胞瘤。癌症可以是,例如,血液学癌症。在一些实施方案中,癌症是骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0042] 在一些实施方案中,干细胞紊乱是腺苷脱氨酶缺乏症和重症联合免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病(Chediak-Higashi disease)、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化或青少年类风湿性关节炎。

[0043] 在一些实施方案中,干细胞紊乱是自身免疫性紊乱,诸如多发性硬化、人类系统性

红斑狼疮、类风湿性关节炎、炎性肠病、治疗银屑病、1型糖尿病、急性播散性脑脊髓炎、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病、自身免疫性淋巴细胞增生综合征、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎、冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病 (Degos disease)、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征 (Goodpasture's syndrome)、格雷夫斯病、格林-巴利综合征、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征 (Reiter's syndrome)、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、大动脉炎 (Takayasu's arteritis)、颤动脉炎、溃疡性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛和韦格纳肉芽肿病。

[0044] 在一些实施方案中,干细胞紊乱是神经紊乱,诸如帕金森病、阿尔茨海默病、多发性硬化、肌萎缩侧索硬化、亨廷顿病、轻度认知损害、淀粉样变性、艾滋病相关痴呆、脑炎、中风、头部创伤、癫痫、情绪紊乱或痴呆。

[0045] 在一些实施方案中,造血干细胞对于患者是自体的。例如,可以从供体取出自体造血干细胞,并且随后可以将这些细胞施用至患者(例如,输注到患者中),以便再植入 (repopulate) 造血谱系的一种或更多种细胞类型。

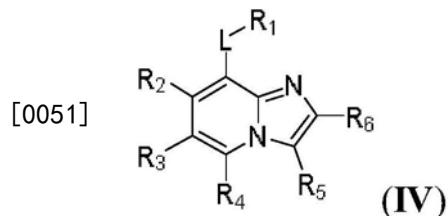
[0046] 在一些实施方案中,造血干细胞对于患者是同种异体的。例如,可以从供体取出同种异体造血干细胞,所述供体诸如对于患者是HLA匹配的供体,例如患者的近亲家庭成员。在一些实施方案中,同种异体造血干细胞对于患者是HLA不匹配的。在从供体抽取同种异体造血干细胞后,可以随后将这些细胞施用至患者(例如,输注到患者中),以便再植入造血谱系的一种或更多种细胞类型。

[0047] 在一些实施方案中,在造血干细胞或祖细胞输注到患者中两天或更多天后造血干细胞或祖细胞或其后代保持造血干细胞功能潜力。在一些实施方案中,在造血干细胞或祖细胞输注到患者中后造血干细胞或祖细胞或其后代集中至造血组织和/或重建血细胞生成。例如,在输注到患者中后,造血干细胞或祖细胞可以引起选自由以下组成的组的细胞的群体的恢复:巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞。

[0048] 在另一方面中,本文提供了在有相应需要的人类患者的中枢神经系统中产生小胶质细胞的方法,所述方法包括向患者施用造血干细胞的扩增的群体,其中造血干细胞的扩增的群体通过使造血干细胞的第一群体与芳香烃受体拮抗剂接触足以产生造血干细胞的扩增的群体的时间来制备,并且其中造血干细胞的扩增的群体的施用导致在患者的中枢神经系统中形成小胶质细胞。

[0049] 在另一方面中,本文提供了包含多于一个造血干细胞或祖细胞和包装插页的试剂盒,该包装插页指导使用者执行以上任一方面或实施方案的方法。

[0050] 在一些实施方案中,芳香烃受体拮抗剂是由式(IV)表示的化合物或其盐



[0052] 其中L选自由以下组成的组: $-\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(O)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(S)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{S(O)}_0-2(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{OCR}_{8a}\text{R}_{8b}_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{C(O)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{C(S)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{OC(O)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{OC(S)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(O)}\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(S)}\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(O)}\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(S)}\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{S(O)}_2\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{S(O)}_2(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{C(O)}\text{NR}_{7b}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 和 $-\text{NR}_{7a}\text{C(O)}\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$,其中 R_{7a} 、 R_{7b} 、 R_{8a} 和 R_{8b} 各自独立地选自由以下组成的组:氢和任选地被取代的C1-4烷基,并且每个n独立地是从2至6的整数;

[0053] R_1 选自由以下组成的组: $-\text{S(O)}_2\text{NR}_{9a}\text{R}_{9b}$ 、 $-\text{NR}_{9a}\text{C(O)}\text{R}_{9b}$ 、 $-\text{NR}_{9a}\text{C(S)}\text{R}_{9b}$ 、 $-\text{NR}_{9a}\text{C(O)}\text{NR}_{9b}\text{R}_{9c}$ 、 $-\text{C(O)}\text{R}_{9a}$ 、 $-\text{C(S)}\text{R}_{9a}$ 、 $-\text{S(O)}_0-2\text{R}_{9a}$ 、 $-\text{C(O)}\text{OR}_{9a}$ 、 $-\text{C(S)}\text{OR}_{9a}$ 、 $-\text{C(O)}\text{NR}_{9a}\text{R}_{9b}$ 、 $-\text{C(S)}\text{NR}_{9a}\text{R}_{9b}$ 、 $-\text{NR}_{9a}\text{S(O)}_2\text{R}_{9b}$ 、 $-\text{NR}_{9a}\text{C(O)}\text{OR}_{9b}$ 、 $-\text{OC(O)}\text{CR}_{9a}\text{R}_{9b}\text{R}_{9c}$ 、 $-\text{OC(S)}\text{CR}_{9a}\text{R}_{9b}\text{R}_{9c}$ 、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基,其中 R_{9a} 、 R_{9b} 和 R_{9c} 各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

[0054] R_2 选自由以下组成的组:氢和任选地被取代的C1-4烷基;

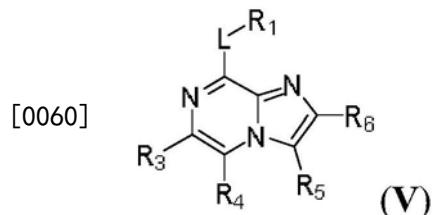
[0055] R_3 选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

[0056] R_4 选自由以下组成的组:氢和任选地被取代的C1-4烷基;

[0057] R_5 选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;并且

[0058] R_6 选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0059] 在一些实施方案中,其中芳香烃受体拮抗剂是由式(V)表示的化合物或其盐



[0061] 其中L选自由以下组成的组: $-\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(O)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(S)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{S(O)}_0-2(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{OCR}_{8a}\text{R}_{8b}_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{C(O)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{C(S)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{OC(O)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{OC(S)}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(O)}\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(S)}\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(O)}\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{C(S)}\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{S(O)}_2\text{NR}_{7a}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{S(O)}_2(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 、 $-\text{NR}_{7a}\text{C(O)}\text{NR}_{7b}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$ 和 $-\text{NR}_{7a}\text{C(O)}\text{O}(\text{CR}_{8a}\text{R}_{8b})_n-$,其中 R_{7a} 、 R_{7b} 、 R_{8a} 和 R_{8b} 各自独立地选自由以下组成的组:氢和任选地被取代的C1-4烷基,并且每个n独立地是从2至6的整数;

(S) (CR_{8a}R_{8b})_n-、-S (0) ₀₋₂ (CR_{8a}R_{8b})_n-、- (CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C (0) (CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C (S) (CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC (0) (CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC (S) (CR_{8a}R_{8b})_n-、-C (0) NR_{7a} (CR_{8a}R_{8b})_n-、-C (S) NR_{7a} (CR_{8a}R_{8b})_n-、-C (0) O (CR_{8a}R_{8b})_n-、-C (S) O (CR_{8a}R_{8b})_n-、-S (0) ₂NR_{7a} (CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}S (0) ₂ (CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C (0) NR_{7b} (CR_{8a}R_{8b})_n-和-NR_{7a}C (0) O (CR_{8a}R_{8b})_n-，其中R_{7a}、R_{7b}、R_{8a}和R_{8b}各自独立地选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C1-4烷基，并且每个n独立地是从2至6的整数；

[0062] R₁选自由以下组成的组：-S (0) ₂NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}C (0) R_{9b}、-NR_{9a}C (S) R_{9b}、-NR_{9a}C (0) NR_{9b}R_{9c}、-C (0) R_{9a}、-C (S) R_{9a}、-S (0) ₀₋₂R_{9a}、-C (0) OR_{9a}、-C (S) OR_{9a}、-C (0) NR_{9a}R_{9b}、-C (S) NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}S (0) ₂R_{9b}、-NR_{9a}C (0) OR_{9b}、-OC (0) CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、-OC (S) CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基，其中R_{9a}、R_{9b}和R_{9c}各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

[0063] R₃选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

[0064] R₄选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C1-4烷基；

[0065] R₅选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；并且

[0066] R₆选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0067] 在另一方面中，本公开内容的特征在于用于治疗患者的紊乱的组合物，所述组合物包含根据以上任一方面或实施方案的方法制备的造血干细胞或祖细胞或其后代。

[0068] 在另一方面中，本公开内容的特征在于包含根据以上任一方面或实施方案的方法制备的造血干细胞或祖细胞或其后代的组合物在制备用于治疗患者的紊乱的药物中的用途。

[0069] 除非另外定义，否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有与本公开内容所属技术领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。在本说明书中，除非上下文另外清楚地规定，否则单数形式也包括复数。尽管与本文描述的方法和材料相似或等同的方法和材料可以用于实践或测试本公开内容，但下文描述了合适的方法和材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利及其他参考文献均被通过引用并入。本文引用的参考文献并非承认是所要求保护的本发明的现有技术。在发生冲突的情况下，将以本说明书包括定义为准。另外，材料、方法和实例仅为说明性的而非意图限制。在本文公开的化合物的化学结构和名称之间发生冲突的情况下，将以化学结构为准。

[0070] 本公开内容的其他特征和优势将从以下详细描述和权利要求变得明显。

[0071] 附图简述

[0072] 图1是说明芳香烃受体(AHR)拮抗剂介导的脐带血来源的造血干细胞的扩增的临床证据的图。特别地，该图示出了与历史组群(n=111)相比，移植了扩增的造血干细胞的患

者($n=17$)的嗜中性粒细胞恢复的发生率。嗜中性粒细胞恢复被定义为连续三天嗜中性粒细胞绝对计数大于或等于 0.5×10^9 个/L。

[0073] 图2A-2D是示出了如下文实施例2中描述的用慢病毒载体转导的CD34+细胞的扩增的一系列图。将动员的外周血(mPB) CD34+细胞解冻,用表达GFP的慢病毒转导,并且用AHR拮抗剂扩增7天。示出了来自扩增后的培养物的细胞数量和GFP阳性细胞百分比。转导率按GFP阳性细胞%来确定。TD:转导的。

[0074] 图3A-3E是示出了如下文实施例2中描述的用于移植到NSG小鼠中的经慢病毒转导的动员的外周血(mPB) CD34+细胞的扩增的一系列图。将动员的外周血(mPB) CD34+细胞解冻,转导,并且用AHR拮抗剂扩增7天。图3A-3C示出了在如所示的模拟转导或GFP-慢病毒载体转导后移植到每只NSG小鼠中的细胞的绝对数量。图3D和图3E是媒介物培养或扩增的细胞的流式细胞术图。示出了总体(bulk) 和CD34+细胞群体的转导率(GFP+细胞)。

[0075] 图4A-4C是示出了如下文实施例2中描述的经慢病毒转导的扩增的mPB CD34+细胞的植入的一系列图。将如图3A-3E中示出的扩增的动员的外周血(mPB) CD34+细胞移植到NSG小鼠中,并且在移植后4周进行评价。图4A-4C示出了用细胞移植的NSG小鼠在移植后4周通过流式细胞术确定的外周血中的植入率和转导率,植入%按%hCD45/%hCD45+%mCD\$%来测量。编辑率按B2M-细胞%来确定。每一个点代表一只小鼠。柱为中值。统计显著性基于Student's t检验来确定。

[0076] 图5A-5E是示出了如下文实施例2中描述的用于移植到NSG小鼠中的编辑的动员的外周血(mPB) CD34+细胞的扩增的一系列图。将动员的外周血(mPB) CD34+细胞解冻,编辑,并且用AHR拮抗剂扩增7天。图5A-5C示出了在如所示的培养和/或编辑后移植到每只NSG小鼠中的细胞的绝对数量。图5D和图5E是媒介物培养的或扩增的细胞的流式细胞术图。示出了总体、CD34+细胞和CD34+CD90+细胞的编辑率。

[0077] 图6A-6I是示出了如下文实施例2中描述的经基因编辑的扩增的mPB CD34+细胞的植入的一系列图。将图5A-5E中示出的扩增的动员的外周血(mPB) CD34+细胞移植到NSG小鼠中,并且在移植后16周进行评价。图6A-6C示出了通过流式细胞术确定的小鼠外周血中的植入率和编辑率。图6D-6F示出了骨髓植入率和编辑率。图6G-6I示出了hCD45+骨髓(BM) 细胞中CD34+细胞的频率和对应的编辑率。植入%按%hCD45/%hCD45+%mCD45来测量。编辑率按B2M-细胞%来确定。每一个点代表一只小鼠。柱为中值。统计显著性基于Student's t检验来确定。

[0078] 图7A-7N是示出了如下文实施例2中描述的经编辑的BM CD34+细胞的扩增和移植到NSG小鼠中的一系列图。将BM来源的CD34+细胞解冻,编辑,并且用AHR拮抗剂扩增7天。图7A-7C示出了在如所示的培养和/或编辑后移植到每只NSG小鼠中的细胞的绝对数量。图7D和图7E是媒介物培养的或扩增的细胞的流式细胞术图。示出了总体、CD34+细胞和CD34+CD90+细胞的编辑率。图7F-7H示出了在移植后12周通过流式细胞术确定的小鼠外周血中的植入率和编辑率。图7I-7K示出了在移植后16周通过流式细胞术确定的小鼠外周血中的植入率和编辑率。图7L-7N示出了在移植后16周通过流式细胞术确定的小鼠骨髓中的植入率和编辑率。植入%按%hCD45/%hCD45+%mCD45来测量。编辑率按B2M-细胞%来确定。每一个点代表一只小鼠。柱为中值。统计显著性基于Student's t检验来确定。

[0079] 图8是示出了如下文实施例4中描述的旨在研究造血干细胞迁移至中枢神经系统

组织并且植入NSG小鼠脑中成为小胶质细胞的能力的实验设计的方案。

[0080] 图9A和图9B是分别示出了在用新鲜分离的造血干细胞、媒介物或MGTA-456处理小鼠后,NSG小鼠脑中hCD45+CD11b+细胞和Ku80+Iba-1+细胞的量的图,MGTA-456是在使用芳香烃受体(AHR)拮抗剂离体扩增脐带血后获得的造血干细胞组合物。这些图示出了在观察每组n=8只个体小鼠时获得的中值。

[0081] 图10是示出了第二次独立实验结果的图,其中在用MGTA-456移植小鼠后,对小胶质细胞在NSG小鼠中的植入进行了第二次流式细胞术定量。星号表示相对于新鲜分离的造血干细胞p<0.05的p值。“##”符号表示相对于媒介物扩增的造血干细胞p<0.01的p值。统计数据使用单尾双样品等方差Student's t检验来计算。

[0082] 图11是示出了移植了媒介物扩增的造血干细胞或MGTA-456的NSG小鼠脑中Ku80+Iba1+小胶质细胞的比例的图。通过IHC从选定的切片对移植了媒介物处理的CD34+细胞或MGTA-456的小鼠脑中Ku80+Iba1+小胶质细胞的频率进行了定量。大多数Ku80+Iba1+小胶质细胞是非血管周的。柱状图示出了在观察每组n=3只小鼠时获得的中值。

[0083] 图12A是示出了在细胞因子和媒介物(DMSO,虚线)或芳香烃受体拮抗剂(化合物26,实线)的存在下,处于G0期、G1期或S-G2-M期的CD34+CD90+动员的外周血细胞的比例随培养天数的变化的图。

[0084] 图12B是示出了在细胞因子和媒介物(DMSO,虚线)或芳香烃受体拮抗剂(化合物26,实线)的存在下,处于G0期、G1期或S-G2-M期的CD34+CD90+脐带血细胞的比例随培养天数的变化的图。

[0085] 图13A和图13B是示出了在基因编辑试剂的存在并且媒介物(DMSO)或芳香烃受体拮抗剂(化合物26)的存在下,在电穿孔之前在培养物中培养1天、2天、3天或4天时,来自动员的外周血(图13A)和脐带血(图13B)的细胞中的基因矫正率的图。

[0086] 图14A和图14B是示出了对于预刺激(Pre-stim)天数和电穿孔后(EP后)培养天数的不同组合,动员的外周血(图14A)和脐带血(图14B)的矫正的细胞总数的图,其中在x轴上,每对数字中的第一个数字是指预刺激的天数,而每对数字中的第二个数字是指电穿孔后培养的天数。

[0087] 详细描述

[0088] 本文提供了用于扩增造血干细胞和祖细胞的组合物和方法,所述造血干细胞和祖细胞诸如已经被遗传修饰以便例如破坏内源性基因(例如,主要组织相容性复合物基因)或表达基因(例如,治疗性转基因)的造血干细胞和祖细胞。现在发现,使用芳香烃受体拮抗剂来扩增造血干细胞或祖细胞的群体,产生了可以被遗传修饰同时保持长期植入潜力和感兴趣的转基因的持续表达的细胞的群体。

[0089] 用于从多种来源如骨髓(BM)动员的外周血(mPB)或脐带血(CB)扩增造血干细胞的组合物和方法可以通过导致更快的植入而对患者结果产生显著影响,这允许患者更早地离开医院;允许扩展可用的CB存量,这允许更多患者接受更匹配的移植物,并且通过增加经编辑或转导的细胞的数量来改进基因疗法的能力,从而改进基因疗法的结果。

[0090] 以下部分更详细地描述了可以用于实现造血干细胞和祖细胞的扩增和遗传修饰的组合物和方法。

[0091] 定义

[0092] 以下列出了在本申请中使用的多种术语的定义。除非在特定情况下单独地或作为更大的组的一部分另外受到限制,否则这些定义适用于贯穿本说明书和权利要求书中使用的术语。

[0093] 如本文使用的,术语“约”是指高于或低于所描述的值的10%以内的值。例如,术语“约5nM”指示从4.5nM至5.5nM的范围。

[0094] 如本文使用的,术语“保守突变”、“保守取代”或“保守氨基酸取代”是指将一个或更多个氨基酸取代为一个或更多个表现出类似的物理化学特性(诸如极性、静电荷和空间体积)的不同的氨基酸。在下表1中总结了20种天然存在的氨基酸中的每一种的这些特性。

[0095] 表1.天然存在的氨基酸的代表性物理化学特性

氨基酸	3字母代 码	1字母代 码	侧链极性	在生理 pH (7.4)的静电 特征	空间体积 [†]
丙氨酸	Ala	A	非极性的	中性的	小的
精氨酸	Arg	R	极性的	阳离子的	大的
天冬酰胺	Asn	N	极性的	中性的	中等的
天冬氨酸	Asp	D	极性的	阴离子的	中等的
半胱氨酸	Cys	C	非极性的	中性的	中等的
谷氨酸	Glu	E	极性的	阴离子的	中等的
谷氨酰胺	Gln	Q	极性的	中性的	中等的
甘氨酸	Gly	G	非极性的	中性的	小的
组氨酸	His	H	极性的	中性形式和 阳离子形式 两者在 pH 7.4 处于平 衡	大的
异亮氨酸	Ile	I	非极性的	中性的	大的
亮氨酸	Leu	L	非极性的	中性的	大的
赖氨酸	Lys	K	极性的	阳离子的	大的
甲硫氨酸	Met	M	非极性的	中性的	大的
苯丙氨酸	Phe	F	非极性的	中性的	大的
脯氨酸	Pro	P	非极性的	中性的	中等的
丝氨酸	Ser	S	极性的	中性的	小的
苏氨酸	Thr	T	极性的	中性的	中等的
色氨酸	Trp	W	非极性的	中性的	庞大的 (bulky)
酪氨酸	Tyr	Y	极性的	中性的	大的
缬氨酸	Val	V	非极性的	中性的	中等的

[0097] [†]基于A3中的体积:50-100是小的,100-150是中等的,150-200是大的,并且>200是庞大的

[0098] 从该表理解,保守氨基酸家族包括,例如,(i) G、A、V、L、I、P和M;(ii) D和E;(iii) C、S和T;(iv) H、K和R;(v) N和Q;以及(vi) F、Y和W。因此,保守突变或取代是将一个氨基酸取代

为同一氨基酸家族的成员的突变或取代(例如,Ser对Thr或Lys对Arg的取代)。

[0099] 如本文使用的,“CRU(竞争性再植入单位(competitive repopulating unit))”是指在体内移植后可以被检测到的长期植入手细胞的测量单位。

[0100] 如本文在Gro- β 、Gro- β T或其变体的上下文中使用的,术语这些肽中的一种或更多种的“脱酰胺形式”是指其中位于Gro- β 的氨基酸序列的位置69处、Gro- β T的氨基酸序列的位置65处以及变体肽的等同位置处的C-末端天冬酰胺残基被转化为天冬氨酸残基的肽的形式。本文在表2中描述了Gro- β 和Gro- β T的脱酰胺形式(分别为Gro- β N69D和Gro- β T N65D)。

[0101] 如本文使用的,关于基因的术语“破坏”是指阻止功能性基因产物的形成。基因产物仅在实现其正常(野生型)功能时才是功能性的。基因的破坏阻止了由基因编码的功能性因子的表达,并且包括在由基因编码的序列和/或对基因在动物中表达所必需的启动子和/或操作子中插入、缺失或取代一个或更多个碱基。被破坏的基因可以通过例如从动物基因组中去除基因的至少一部分、改变基因以阻止由基因编码的功能性因子的表达、干扰性RNA或通过外源性基因表达显性负性(dominant negative)因子来破坏。遗传修饰造血干细胞/祖细胞的材料和方法被详述于US 8,518,701、US2010/0251395和US 2012/0222143中,将其中每一项的公开内容通过引用以其整体并入本文(在发生冲突的情况下,以本说明书为准)。

[0102] 本领域已知的多种技术可以用于使基因失活以制备敲除动物和/或将核酸构建体引入动物中以产生首建动物(founder animal)以及制备动物品系,其中敲除构建体或核酸构建体被整合到基因组中。这样的技术包括但不限于原核显微注射(美国专利第4,873,191号),逆转录病毒介导的基因转移到生殖系中(Van der Putten等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,82:6148-6152,1985),基因靶向到胚胎干细胞中(Thompson等人,Cell,56:313-321,1989),胚胎电穿孔(Lo,Mol.Cell.Biol.,3:1803-1814,1983),精子介导的基因转移(Lavitrano等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,99:14230-14235,2002; Lavitrano等人,Reprod.Fert.Develop.,18:19-23,2006),以及体外转化体细胞,诸如卵丘(cumulus)或乳腺细胞,或成人、胎儿或胚胎干细胞,随后进行核移植(Wilmut等人,Nature,385:810-813,1997;和Wakayama等人,Nature,394:369-374,1998)。原核显微注射、精子介导的基因转移和体细胞核转移是特别有用的技术。经基因组修饰的动物是指其中其所有细胞(包括其种系细胞)都具有遗传修饰的动物。当使用产生遗传修饰呈嵌合体的动物的方法时,可以将动物近交并且可以选择经基因组修饰的后代。如果细胞在胚泡状态被修饰,可以使用例如克隆来制备嵌合体动物,或者当单细胞被修饰时基因组修饰可以发生。取决于所使用的特定方法,经修饰使其不能性成熟的动物对于修饰可以是纯合的或杂合的。如果特定的基因通过敲除修饰被失活,通常将需要纯合性。如果特定的基因通过RNA干扰或显性负性策略被失活,则杂合性通常就足够了。

[0103] 如本文中关于造血干细胞使用的,术语“祖细胞”是指通过细胞分裂产生造血干细胞的亲代细胞或其祖先。例如,造血干细胞的祖细胞可以是通过有丝分裂繁殖产生造血干细胞的亲代细胞或亲代细胞的祖细胞。

[0104] 如本文使用的,术语“供体”是指在将一种或更多种细胞或其后代施用至接受者之前从其分离细胞的受试者,诸如哺乳动物受试者(例如,人类受试者)。所述一种或更多种细

胞可以是,例如,造血干细胞或祖细胞的群体。

[0105] 如本文使用的,术语“内源性”描述在特定生物体诸如人类患者中天然存在的物质,诸如分子、细胞、组织或器官(例如,造血干细胞或造血谱系细胞,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞)。

[0106] 如本文使用的,术语“植入潜力”用于指造血干细胞和祖细胞再植入组织的能力,无论这样的细胞是天然循环性的还是通过移植提供。该术语涵盖围绕或导致植入的所有事件,诸如细胞的组织归巢和细胞在感兴趣组织内的定植。使用本领域技术人员已知的任何临幊上可接受的参数或通过疾病进展、造血干细胞和祖细胞的存活或接受者的存活来评价受试者的进展,植入效率或植入率可被评价或定量,并且可以包括,例如,评估竞争性再植人单位(CRU)、标志物在干细胞归巢、定植或变成植人到其中的一个或更多个组织(tissue(s))中的掺入或表达。植人也可以通过测量移植后期间中外周血中的白细胞计数来确定。植人还可以通过测量骨髓抽出物样品中供体细胞对骨髓细胞的恢复来评估。

[0107] 如本文使用的,术语“外源性”描述在特定生物体诸如人类患者中并不天然存在的物质,诸如分子、细胞、组织或器官(例如,造血干细胞或造血谱系细胞,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞)。外源性物质包括从外部来源提供至生物体的那些物质或从外部来源提取的经培养的物质。

[0108] 如本文使用的,术语“扩增量”是指足以诱导CD34+细胞(例如,CD34+CD90+细胞)的群体增殖例如从约1.1倍至约1,000倍、约1.1倍至约5,000倍或更多(例如,约1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、2.6倍、2.7倍、2.8倍、2.9倍、3倍、3.1倍、3.2倍、3.3倍、3.4倍、3.5倍、3.6倍、3.7倍、3.8倍、3.9倍、4倍、4.1倍、4.2倍、4.3倍、4.4倍、4.5倍、4.6倍、4.7倍、4.8倍、4.9倍、5倍、5.1倍、5.2倍、5.3倍、5.4倍、5.5倍、5.6倍、5.7倍、5.8倍、5.9倍、6倍、6.1倍、6.2倍、6.3倍、6.4倍、6.5倍、6.6倍、6.7倍、6.8倍、6.9倍、7倍、7.1倍、7.2倍、7.3倍、7.4倍、7.5倍、7.6倍、7.7倍、7.8倍、7.9倍、8倍、8.1倍、8.2倍、8.3倍、8.4倍、8.5倍、8.6倍、8.7倍、8.8倍、8.9倍、9倍、9.1倍、9.2倍、9.3倍、9.4倍、9.5倍、9.6倍、9.7倍、9.8倍、9.9倍、10倍、50倍、100倍、200倍、300倍、400倍、500倍、600倍、700倍、800倍、900倍、1,000倍或更多)的剂诸如本文描述的芳香烃受体拮抗剂的量或浓度。

[0109] 在一种实施方案中,扩增量是指足以诱导CD34+细胞(例如,CD34+CD90+细胞)的群体增殖例如从约60倍至约900倍、从约80倍至约800倍、从约100倍至约700倍、从约150倍至约600倍、从约200倍至约500倍、从约250倍至约400倍、从约275倍至约350倍或约325倍的剂诸如本文描述的芳香烃受体拮抗剂的量或浓度。

[0110] 如本文使用的,术语“造血祖细胞”包括能够分化成造血系统的若干种细胞类型,包括但不限于尤其是粒细胞、单核细胞、红细胞、巨核细胞、B细胞和T细胞的多能(pluripotent)细胞。造血祖细胞属于造血细胞谱系并且通常不自我更新。造血祖细胞可以通过例如细胞表面抗原的表达模式来鉴定,并且包括具有以下免疫表型的细胞:Lin-KLS+

F1k2-CD34+。造血祖细胞包括短期造血干细胞、专能 (multipotent) 祖细胞、常见髓样祖细胞、粒细胞-单核细胞祖细胞和巨核细胞-红细胞祖细胞。造血祖细胞的存在可以,例如,通过例如在完整的甲基纤维素测定中检测集落形成单位细胞在功能上来确定,或者通过使用本文描述和本领域已知的流式细胞术和细胞分选测定来检测细胞表面标志物在表型上来确定。

[0111] 如本文使用的,术语“造血干细胞”(“HSC”)是指具有自我更新和分化成含有不同谱系细胞的成熟血细胞的能力的未成熟的血细胞,所述谱系细胞包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,原巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)。这样的细胞可以包括CD34+细胞。CD34+细胞是表达CD34细胞表面标志物的未成熟细胞。在人类中,CD34+细胞被认为包括具有以上定义的干细胞特性的细胞亚群,而在小鼠中,HSC是CD34-。另外,HSC还指长期重建HSC (LT-HSC) 和短期重建HSC (ST-HSC)。基于功能潜力和细胞表面标志物表达,LT-HSC和ST-HSC是分化的。例如,人类HSC是CD34+、CD38-、CD45RA-、CD90+、CD49F+和lin- (对于成熟谱系标志物(包括CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD10、CD11B、CD19、CD20、CD56、CD235A) 呈阴性)。在小鼠中,骨髓LT-HSC是CD34-、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+、CD48-和lin- (对于成熟谱系标志物(包括Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7ra) 呈阴性),而ST-HSC是CD34+、SCA-1+、C-kit+、CD135-、Slamf1/CD150+和lin- (对于成熟谱系标志物(包括Ter119、CD11b、Gr1、CD3、CD4、CD8、B220、IL7ra) 呈阴性)。另外,在内稳态条件下,ST-HSC比LT-HSC更少地静止并且更多地增殖。然而,LT-HSC具有更大的自我更新潜力(即,它们在整个成年期存活,并且可以通过连续接受者连续移植),而ST-HSC具有有限的自我更新(即,它们仅在有限的时间段内存活,并且不具备连续移植潜力)。这些HSC中的任一种都可以用于本文描述的方法中。ST-HSC特别有用,因为它们是高度增殖性的,并且因此可以更快地产生分化的后代。

[0112] 如本文使用的,术语“造血干细胞功能潜力”是指造血干细胞的功能特性,其包括1) 专能性 (multi-potency) (其是指分化成多种不同血液谱系细胞的能力,该血液谱系细胞包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,原巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)),2) 自我更新(其是指造血干细胞产生与母细胞具有等同潜力的子细胞的能力,并且此外该能力可以在个体的整个寿命中反复发生而不会衰竭),以及3) 造血干细胞或其后代被重新引入到移植物接受者的能力,届时它们归巢至造血干细胞小生境 (niche),并且重建富有成效的和持续的血细胞生成。

[0113] 如本文使用的,术语“主要组织相容性复合物抗原”(“MHC”,在人类的上下文中也被称为“人类白细胞抗原”(“HLA”))是指在细胞表面上表达的赋予细胞独特抗原性身份的蛋白。MHC/HLA抗原是被T细胞和NK细胞识别为源自与免疫效应细胞相同的造血干细胞来源(“自身”)或源自另一种造血重建细胞来源(“非自身”)的靶分子。识别出两大类HLA抗原:HLA I类和HLA II类。HLA I类抗原(人类中的A、B和C)使每个细胞都可被识别为“自身”,而HLA II类抗原(人类中的DR、DP和DQ)参与淋巴细胞和抗原呈递细胞之间的反应。两者均与

移植器官的排斥有关。HLA基因系统的一个重要方面是它的多态性。每个基因, MHC I类 (A、B 和C) 和MHC II类 (DP、DQ 和DR) 存在于不同的等位基因中。例如, 两个不相关的个体可能分别携带I类HLA-B基因B5和Bw41。等位基因产物在 α 和/或 β 结构域的一个或更多个氨基酸上不同。使用表达I类和II类分子的白细胞, 使用了大量的特异性抗体或核酸试剂对个体的HLA单体型进行分型。通常用于HLA分型的基因是6种MHC I类和II类蛋白, HLA-A、HLA-B和HLA-DR的每一种有两种等位基因。HLA基因聚簇在染色体位置6p21上存在的一个“超基因座 (super-locus)”中, 其编码6种典型的移植HLA基因和至少132种蛋白编码基因, 这些基因在调控免疫系统以及一些其他的基本的分子和细胞过程中具有重要作用。完整的基因座测量约为3.6Mb, 具有至少有224个基因座。这种聚簇的一个效果是“单体型”, 即从一个亲本遗传的单个染色体上存在的一组等位基因往往作为一个组被遗传。从每个亲本遗传的一组等位基因形成单体型, 其中一些等位基因往往结合在一起。鉴定患者的单体型可以有助于预测发现匹配供体的概率, 并且有助于开发检索策略, 因为一些等位基因和单体型比其他的更常见, 并且它们在不同人种和民族群体中以不同的频率分布。

[0114] 如本文使用的, 术语“HLA匹配”是指这样的供体-接受者对, 其中供体和接受者之间没有HLA抗原不匹配, 诸如供体向需要造血干细胞移植疗法的接受者提供造血干细胞移植植物。HLA匹配(即, 其中所有6种等位基因都匹配)的供体-接受者对具有降低的移植排斥风险, 因为内源性T细胞和NK细胞较不可能将进入的移植植物识别为外源的, 并且因此较不可能针对移植植物产生免疫应答。

[0115] 如本文使用的, 术语“HLA不匹配”是指这样的供体-接受者对, 其中至少一种HLA抗原, 特别是关于HLA-A、HLA-B、HLA-C和HLA-DR的抗原, 在供体和接受者之间不匹配, 诸如供体向需要造血干细胞移植疗法的接受者提供造血干细胞移植植物。在一些实施方案中, 一种单体型匹配而其他单体型不匹配。相对于HLA匹配的供体-接受者对, HLA不匹配的供体-接受者对可能具有增加的移植排斥风险, 因为在HLA不匹配的供体-接受者对的情况下, 内源性T细胞和NK细胞更有可能将进入的移植植物识别为外源的, 并且这样的T细胞和NK细胞因此更有可能针对移植植物产生免疫应答。

[0116] 如本文使用的, 术语“芳香烃受体 (AHR) 调节物”是指引起或促进由AHR受体介导的一种或更多种过程、机制、作用、响应、功能、活性或途径的定性或定量的变化、改变或修饰的剂。由AHR调节物诸如本文描述的AHR的抑制剂或非组成型激动剂介导的这样的变化, 可以指AHR的活性或功能的降低或增加, 诸如AHR的组成型活性的降低、抑制或转移 (diversion)。

[0117] “AHR拮抗剂”是指AHR抑制剂, 其在特异性结合至AHR多肽或编码AHR的多核苷酸时本身不会引起生物响应, 但是阻断或抑制激动剂介导的或配体介导的响应, 即, AHR拮抗剂可以结合但不活化AHR多肽或编码AHR的多核苷酸, 并且该结合破坏相互作用, 取代AHR激动剂和/或抑制AHR激动剂的功能。因此, 如本文使用的, AHR拮抗剂在结合至AHR时不作为AHR活性的诱导剂发挥作用, 即, 它们仅作为AHR抑制剂发挥作用。

[0118] 如本文使用的, “需要”造血干细胞移植植物的患者包括在一种或更多种血细胞类型方面表现出缺乏或缺陷的患者, 以及患有干细胞紊乱、自身免疫性疾病、癌症或本文描述的其他病理的患者。造血干细胞通常表现出: 1) 专能性, 并且因此可以分化成多种不同的血液谱系细胞, 包括但不限于粒细胞(例如, 早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性

粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,原巨核细胞、产生血小板的巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞),2)自我更新并且因此可以产生与母细胞具有等同潜力的子细胞,以及3)被重新引入移植物接受者中的能力,届时它们归巢至造血干细胞小生境并且重建富有成效的和持续的血细胞生成。因此,造血干细胞可以被施用至造血谱系的一种或更多种细胞类型缺乏或缺陷的患者,以便在体内重构缺陷或缺乏的细胞的群体。例如,患者可以罹患癌症,并且缺乏可以通过施用选择性或非特异性地耗尽癌性细胞群体的化学治疗剂或其他药物而引起。另外或可选地,患者可以罹患血红蛋白异常(例如,非恶性血红蛋白异常),诸如镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征。受试者可以是罹患以下的受试者:腺苷脱氨酶重症联合免疫缺陷病(ADA SCID)、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征。受试者可以患有或受以下影响:遗传性血液紊乱(例如,镰状细胞性贫血)或自身免疫性紊乱。另外或可选地,受试者可以患有或受以下影响:恶性肿瘤,诸如神经母细胞瘤或血液学癌症。例如,受试者可以患有白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,受试者患有急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。在一些实施方案中,受试者患有骨髓增生异常综合征。在一些实施方案中,受试者患有自身免疫性疾病,诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、1型糖尿病或本文描述的另一种自身免疫性病理。在一些实施方案中,受试者需要嵌合抗原受体T细胞(CART)疗法。在一些实施方案中,受试者患有或以其他方式受代谢性贮积紊乱影响。受试者可以罹患选自由以下组成的组的代谢紊乱或以其他方式受选自由以下组成的组的代谢紊乱影响:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒综合征或赫尔勒病、鞘脂贮积病、黏脂贮积症II、异染性脑白质营养不良,或可以受益于本文所公开的治疗和疗法的任何其他疾病或紊乱,所述其他疾病或紊乱包括但不限于重症联合免疫缺陷病、Wiscott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM)综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、镰状细胞病、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化、青少年类风湿性关节炎和在"Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,"ASH Education Book, 1:319-338(2000)中描述的那些疾病或紊乱,其公开内容在其涉及可以通过施用造血干细胞移植疗法来治疗的病理时通过引用以其整体并入本文。另外或可选地,“需要”造血干细胞移植物的患者可以是罹患或未罹患前述病理之一但是仍然表现出以下的患者:造血谱系内一种或更多种内源性细胞类型,诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞的减少的水平(例如,与其他健康受试者的水平相比)。例如,除其他程序以外,通过本领域已知的流式细胞术和荧光激活细胞分选(FACS)方法,本领域技术人员可以容易地确定一个人的一种或更多种前述细胞类型或其他血细胞类型的水平相对于其他健康受试者是否减少。

[0119] 如本文使用的,术语“动员(mobilize)”和“动员(mobilization)”是指这样的过程,通过该过程造血干细胞或祖细胞的群体从干细胞小生境诸如受试者的骨髓被释放到外周血循环中。可以通过例如评估从受试者分离的外周血样品中的造血干细胞或祖细胞的数

量或浓度来监测造血干细胞和祖细胞的动员。例如,在将造血干细胞或祖细胞动员方案施用至受试者后,可以从受试者抽取外周血样品,并且随后可以评估外周血样品中的造血干细胞或祖细胞的数量或浓度。动员方案可以包括,例如,CXCR4拮抗剂,诸如本文描述的CXCR4拮抗剂(例如,普乐沙福或其变体),以及CXCR2激动剂,诸如本文描述的CXCR2激动剂(例如,Gro- β 或其变体,诸如Gro- β 的截短体,例如,Gro- β T)。可以将施用动员方案后从受试者分离的外周血样品中造血干细胞或祖细胞的数量或浓度与施用动员方案前从受试者分离的外周血样品中造血干细胞或祖细胞的数量或浓度进行比较。在施用动员方案后,观察到受试者的外周血中造血干细胞或祖细胞的数量或浓度增加,是受试者对动员方案有响应,并且造血干细胞和祖细胞已经从一个或更多个干细胞小生境诸如骨髓被释放到外周血液循环中的指示。

[0120] 如本文使用的,术语“样品”是指取自受试者的样本(例如,血液、血液组分(例如,血清或血浆)、尿液、唾液、羊水、脑脊液、组织(例如,胎盘或真皮)、胰液、绒毛膜绒毛样品和细胞)。

[0121] 如本文使用的,措辞“干细胞紊乱”广义地指可以通过将造血干细胞或祖细胞的群体植入或移植到患者体内的靶组织中来治疗或治愈的任何疾病、紊乱或状况。例如,已经证明通过造血干细胞移植治愈了I型糖尿病以及多种其他紊乱。可以通过将造血干细胞或祖细胞输注到患者中来治疗的疾病包括镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血、威斯科特-奥尔德里奇综合征、ADA SCID、HIV/AIDS、异染性脑白质营养不良、Diamond-Blackfan贫血和Schwachman-Diamond综合征。可以通过移植如本文描述的造血干细胞和祖细胞来治疗的另外的疾病包括血液紊乱(例如,镰状细胞性贫血)和自身免疫性紊乱,诸如硬皮病、多发性硬化、溃疡性结肠炎和克罗恩氏病。可以使用造血干细胞和祖细胞移植疗法治疗的另外的疾病包括癌症,诸如本文描述的癌症。干细胞紊乱包括恶性肿瘤,诸如神经母细胞瘤或血液学癌症,诸如白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。例如,癌症可以是急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤,弥漫性大B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。可以通过向患者移植造血干细胞的群体来治疗的紊乱包括神经紊乱,诸如帕金森病、阿尔茨海默病、多发性硬化、肌萎缩侧索硬化、亨廷顿病、轻度认知损害、淀粉样变性、艾滋病相关痴呆、脑炎、中风、头部创伤、癫痫、情绪紊乱和痴呆。如本文描述的,不受机制限制,造血干细胞移植治疗这样的紊乱的能力可能部分地归因于造血干细胞迁移至中枢神经系统并且分化成小胶质细胞的能力,从而使患有神经紊乱的患者中可能受损或缺陷的造血细胞系被再植入。可使用造血干细胞或祖细胞移植疗法治疗的另外的疾病包括骨髓增生异常综合征。在一些实施方案中,患者患有或以其他方式受代谢性贮积紊乱影响。例如,患者可以罹患选自由以下组成的组的代谢紊乱或以其他方式受选自由以下组成的组的代谢紊乱影响:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒综合征或赫尔勒病、鞘脂贮积病、黏脂贮积症II、异染性脑白质营养不良,或可以受益于本文所公开的治疗和疗法的任何其他疾病或紊乱,所述其他疾病或紊乱包括但不限于重症联合免疫缺陷病、Wiscott-Aldrich综合征、高免疫球蛋白M(IgM)综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、镰状细胞性贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化、青少年类风湿性关节炎和在“Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease,”ASH Education Book, 1:319-338 (2000) 中描述的那些疾病。

或紊乱,其公开内容在其涉及可以通过施用造血干细胞或祖细胞移植疗法来治疗的病理时通过引用以其整体并入本文。

[0122] 如本文使用的,术语“受试者”和“患者”是指接受如本文描述的对特定疾病或状况的治疗的生物体,诸如人类。例如,需要造血干细胞移植的患者,诸如人类患者,可以接受包括造血干细胞的群体的治疗,以便治疗干细胞紊乱,诸如本文描述的癌症、自身免疫性疾病或代谢紊乱。罹患干细胞紊乱的患者,诸如人类患者,可以例如接受造血干细胞的群体的形式的治疗,诸如从约 1×10^6 个至约 1×10^9 个造血干细胞的群体。

[0123] 如本文使用的,术语“接受者”是指接受移植植物诸如含有造血干细胞的群体的移植的患者。被施用至接受者的移植的细胞可以是,例如,自体细胞、同基因(syngeneic)细胞或同种异体细胞。

[0124] 如本文使用的,术语“转染”是指通常用于将外源DNA引入到原核或真核宿主细胞中的多种技术中的任一种,诸如电穿孔、脂质转染、磷酸钙沉淀、DEAE-右旋糖酐转染等。

[0125] 如本文使用的,术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”是指缓解或减轻疾病和/或其伴随症状的方法。如本文使用的,术语“预防(preventing)”或“预防(prevent)”描述减少或消除疾病、状况或紊乱的症状或并发症的发作。如本文使用的,术语“疾病”、“紊乱”和“状况”可互换使用,除非上下文另有明确规定。

[0126] “治疗(treating)”可以指治疗性治疗,其中目的是在正在治疗的患者中预防或减缓(减轻)不期望的生理变化或紊乱,或者促进有益表型。有益或期望的临床结果包括但不限于在造血干细胞或祖细胞移植疗法之后促进患者中外源性造血细胞的植入。另外的有益结果包括在向需要造血干细胞或祖细胞移植的患者施用外源性造血干细胞或祖细胞植入物之后患者中造血干细胞的细胞计数或相对浓度的增加。本文描述的疗法的有益结果还可以包括在随后的造血干细胞移植疗法之后造血谱系细胞中的一种或更多种的细胞计数或相对浓度的增加,所述造血谱系细胞诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞或B淋巴细胞。另外的有益结果可以包括致病细胞群体诸如癌细胞或自身免疫细胞的群体的数量的减少。

[0127] 如本文使用的,术语“变体”和“衍生物”可互换使用,并且是指本文描述的化合物、肽、蛋白或其他物质的天然存在的、合成的和半合成的类似物。本文描述的化合物、肽、蛋白或其他物质的变体或衍生物可以保留或改进原始材料的生物活性。

[0128] 如本文使用的,术语“载体”包括核酸载体,诸如质粒、DNA载体、质粒、RNA载体、病毒或其他合适的复制子。本文描述的表达载体可以含有多核苷酸序列以及例如用于表达蛋白和/或将这些多核苷酸序列整合到哺乳动物细胞基因组中的另外的序列元件。可以用于表达诸如本文描述的那些的肽和蛋白的某些载体包括含有指导基因转录的调控序列(诸如启动子和增强子区)的质粒。用于表达本文描述的肽和蛋白的其他有用的载体含有增强这些基因的翻译速率或改进由基因转录产生的mRNA的稳定性或核输出的多核苷酸序列。这些序列元件可以包括,例如,5'和3'非翻译区以及多腺苷酸化信号位点,以便指导表达载体上携带的基因的有效转录。本文描述的表达载体还可以含有编码用于选择含有这样的载体的细胞的标志物的多核苷酸。合适的标志物的实例包括编码对抗生素(诸如氨基青霉素、氯霉

素、卡那霉素和诺尔丝菌素)的抗性的基因。

[0129] 如本文使用的,术语“烷基”是指在链中具有例如从1个至20个碳原子(或者在某些实施方案中,在链中具有从1个至6个碳原子)的直链或支链烷基基团。烷基基团的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、叔戊基、新戊基、异戊基、叔戊基、己基、异己基等。

[0130] 如本文使用的,术语“亚烷基”是指直链或支链二价烷基基团。二价位置可在烷基链内的相同或不同原子上。亚烷基的实例包括亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚异丙基等。

[0131] 如本文使用的,术语“杂烷基”是指在链中具有例如从1个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如,尤其是氧原子、氮原子或硫原子)的直链或支链烷基基团。

[0132] 如本文使用的,术语“杂亚烷基”是指直链或支链二价杂烷基基团。二价位置可以在杂烷基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0133] 如本文使用的,术语“烯基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子的直链或支链烯基基团。它表示衍生自包含例如具有至少一个碳-碳双键的从2个至6个碳原子的烃部分的单价基团。双键可以是或可以不是与另一个基团的附接点。烯基基团的实例包括但不限于乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、叔丁烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基、己烯基等。

[0134] 如本文使用的,术语“亚烯基”是指直链或支链二价烯基基团。二价位置可以在烯基链内的相同或不同原子上。亚烯基的实例包括亚乙烯基、亚丙烯基、异亚丙烯基、亚丁烯基等。

[0135] 如本文使用的,术语“杂烯基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如尤其是,氧原子、氮原子或硫原子)的直链或支链烯基基团。

[0136] 如本文使用的,术语“杂亚烯基”是指直链或支链二价杂烯基基团。二价位置可以在杂烯基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0137] 如本文使用的,术语“炔基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子和至少一个碳-碳三键的直链或支链炔基基团。炔基基团的实例包括但不限于炔丙基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。

[0138] 如本文使用的,术语“亚炔基”是指直链或支链二价炔基基团。二价位置可以在炔基链内的相同或不同原子上。

[0139] 如本文使用的,术语“杂炔基”是指在链中具有例如从2个至20个碳原子并且在链中还含有一个或更多个杂原子(例如尤其是,氧原子、氮原子或硫原子)的直链或支链炔基基团。

[0140] 如本文使用的,术语“杂亚炔基”是指直链或支链二价杂炔基基团。二价位置可以在杂炔基链内的相同或不同原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0141] 如本文使用的,术语“环烷基”是指是饱和的并且具有例如从3个至12个碳环原子的单环,或稠合、桥连,或螺多环环结构。环烷基基团的实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、双环[3.1.0]己烷等。还设想了衍生自单环或多环碳环环化合物的通过去除至少一个或两个氢原子而具有至少一个碳-碳双键的单价基团。这样的基团的实例包括但不限于环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基。

[0142] 如本文使用的,术语“环亚烷基”是指二价环烷基基团。二价位置可以在环结构内的相同或不同原子上。环亚烷基的实例包括亚环丙基、亚环丁基、亚环戊基、亚环己基等。

[0143] 如本文使用的,术语“杂环烷基”或“杂环基”是指是饱和的并且每个环结构具有例如从3个至12个选自碳原子和选自例如尤其是氮原子、氧原子和硫原子的杂原子的环原子的单环,或稠合、桥连或螺多环环结构。环结构可以例如在碳、氮或硫环成员上含有一个或更多个氧化基团。示例性的杂环烷基基团包括但不限于[1,3]二氧戊环、吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌嗪基、哌啶基、噁唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、噻唑烷基、异噻唑烷基和四氢呋喃基。

[0144] 如本文使用的,术语“杂环亚烷基”是指二价杂环烷基基团。二价位置可以在环结构内的相同或不同原子上。

[0145] 如本文使用的,术语“芳基”是指含有例如从6个至19个碳原子的单环或多环芳族环体系。芳基基团包括但不限于苯基、芴基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0146] 如本文使用的,术语“亚芳基”是指二价芳基基团。二价位置可以在相同或不同的原子上。

[0147] 如本文使用的,术语“杂芳基”是指单环杂芳族或双环或三环稠环杂芳族基团。在某些实施方案中,杂芳基基团包含5个至10个环原子,其中一个环原子选自S、O和N;零个、一个或两个环原子是独立地选自S、O和N的另外的杂原子;并且其余的环原子是碳。杂芳基基团包括但不限于吡啶基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、吡唑基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、1,3,4-三嗪基、1,2,3-三嗪基、苯并呋喃基、[2,3-二氢]苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并三唑基、异苯并噻吩基、吲哚基、异吲哚基、3H-吲哚基、苯并咪唑基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、苯并噁唑基、苯并噁唑基、喹嗪基、喹唑啉基、酞嗪基、喹喔啉基、噌啉基、萘啶基、吡啶并[3,4-b]吡啶基、吡啶并[3,2-b]吡啶基、吡啶并[4,3-b]吡啶基、喹啉基、异喹啉基、四唑基、5,6,7,8-四氢喹啉基、5,6,7,8-四氢异喹啉基、嘌呤基、蝶啶基、咔唑基、咕吨基、苯并喹啉基等。

[0148] 如本文使用的,术语“杂亚芳基”是指二价杂芳基基团。二价位置可以在相同或不同的原子上。二价位置可以是一个或更多个杂原子。

[0149] 除非通过单个取代基的定义另外限制,否则前述化学部分,诸如“烷基”、“亚烷基”、“杂烷基”、“杂亚烷基”、“烯基”、“亚烯基”、“杂烯基”、“杂亚烯基”、“炔基”、“亚炔基”、“杂炔基”、“杂亚炔基”、“环烷基”、“环亚烷基”、“杂环烷基”、“杂环亚烷基”、“芳基”、“亚芳基”、“杂芳基”和“杂亚芳基”基团可以任选地被取代。如本文使用的,术语“任选地被取代的”是指化合物或部分包含由化合物或部分或其位点的化合价所允许的一个或更多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个)取代基,诸如选自由以下组成的组的取代基:烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环烷基、烷基芳基、烷基杂芳基、烷基环烷基、烷基杂环烷基、氨基、铵、酰基、酰氧基、酰基氨基、氨基羧基、烷氧基羧基、脲基、氨基甲酸酯、芳基、杂芳基、亚磺酰基、磺酰基、烷氧基、硫烷基、卤素、羧基、三卤代甲基、氰基、羟基、巯基、硝基等。取代可以包括其中相邻取代基经历环闭合的情况,诸如邻位官能取代基的环闭合,以形成通过例如环闭合形成的内酰胺、内酯、环酐、缩醛、半缩醛、硫缩醛、缩醛胺和半缩

醛胺,以例如提供保护基团。

[0150] 如本文使用的,术语“任选地被取代的”是指化学部分可以具有化合价允许的一个或更多个化学取代基,诸如C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-10环烷基、C3-10杂环烷基、芳基、烷基芳基、杂芳基、烷基杂芳基、氨基、铵、酰基、酰氧基、酰氨基、氨基羰基、烷氨基、酰氨基、脲基、氨基甲酸酯、亚磺酰基、磺酰基、烷氨基、硫烷基、卤素、羧基、三卤代甲基、氰基、羟基、巯基、硝基等。任选地被取代的化学部分可以包含,例如,经历了环闭合,诸如邻位官能取代基的环闭合的相邻取代基,从而形成例如通过环闭合形成的内酰胺、内酯、环酐、缩醛、硫缩醛或缩醛胺,以例如产生保护基团。

[0151] 根据本申请,本文描述的任何芳基、被取代的芳基、杂芳基和被取代的杂芳基可以是任何芳香族基团。

[0152] 如本文使用的,术语“卤素(hal)”、“卤素(halo)”和“卤素(halogen)”是指选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0153] 如本文描述的,本申请的化合物和化合物中存在的部分可以任选地被一个或更多个取代基取代,诸如上文一般性阐述的,或如通过本申请的特定类别、亚类和物质举例说明的。应当理解,措辞“任选地被取代的”可与措辞“被取代的或未被取代的”互换使用。通常,术语“取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,都是指特定结构中的氢基团被特定取代基的基团取代。除非另外指示,否则任选地被取代的基团可以在基团的每个可取代的位置处具有取代基,并且当在任何特定结构中多于一个位置可以被选自指定的组的多于一个取代基取代时,所述取代基可以在每个位置处是相同的或不同的。术语“任选地被取代的”、“任选地被取代的烷基”、“任选地被取代的烯基”、“任选地被取代的炔基”、“任选地被取代的环烷基”、“任选地被取代的环烯基”、“任选地被取代的芳基”、“任选地被取代的杂芳基”、“任选地被取代的芳烷基”、“任选地被取代的杂芳烷基”、“任选地被取代的杂环烷基”以及如本文使用的任何其他任选地被取代的基团是指通过将基团上的一个、两个或三个或更多个氢原子独立地替换为取代基而被取代或未被取代的基团,所述取代基包括但不限于:

[0154] -F、-Cl、-Br、-I、-OH、受保护的羟基、-NO₂、-CN、-NH₂、受保护的氨基、-NH-C₁-C₁₂-烷基、-NH-C₂-C₁₂-烯基、-NH-C₂-C₁₂-炔基、-NH-C₃-C₁₂-环烷基、-NH-芳基、-NH-杂芳基、-NH-杂环烷基、-二烷基氨基、-二芳基氨基、-二杂芳基氨基、-O-C₁-C₁₂-烷基、-O-C₂-C₁₂-烯基、-O-C₂-C₁₂-炔基、-O-C₃-C₁₂-环烷基、-O-芳基、-O-杂芳基、-O-杂环烷基、-C(0)-C₁-C₁₂-烷基、-C(0)-C₂-C₁₂-烯基、-C(0)-C₂-C₁₂-炔基、-C(0)-C₃-C₁₂-环烷基、-C(0)-芳基、-C(0)-杂芳基、-C(0)-杂环烷基、-CONH₂、-CONH-C₁-C₁₂-烷基、-CONH-C₂-C₁₂-烯基、-CONH-C₂-C₁₂-炔基、-CONH-C₃-C₁₂-环烷基、-CONH-芳基、-CONH-杂芳基、-CONH-杂环烷基、-OCO₂-C₁-C₁₂-烷基、-OCO₂-C₂-C₁₂-烯基、-OCO₂-C₂-C₁₂-炔基、-OCO₂-C₃-C₁₂-环烷基、-OCO₂-芳基、-OCO₂-杂芳基、-OCO₂-杂环烷基、-OCO₂HN₂、-OCO₂HN-C₁-C₁₂-烷基、-OCO₂HN-C₂-C₁₂-烯基、-OCO₂HN-C₂-C₁₂-炔基、-OCO₂HN-C₃-C₁₂-环烷基、-OCO₂HN-芳基、-OCO₂HN-杂芳基、-OCO₂HN-杂环烷基、-NHC(0)-C₁-C₁₂-烷基、-NHC(0)-C₂-C₁₂-烯基、-NHC(0)-C₂-C₁₂-炔基、-NHC(0)-C₃-C₁₂-环烷基、-NHC(0)-芳基、-NHC(0)-杂芳基、-NHC(0)-杂环烷基、-NHC(0)-NH-C₁-C₁₂-烷基、-NHC(0)-NH-C₂-C₁₂-烯基、-NHC(0)-NH-C₂-C₁₂-炔基、-NHC(0)-NH-C₃-C₁₂-环烷基、-NHC(0)-NH-芳基、-NHC(0)-NH-杂芳基、-NHC(0)-NH-杂环烷基、-NHC(S)NH₂、-NHC(S)HN-C₁-C₁₂-烷基、-NHC(S)HN-C₂-C₁₂-烯基、-NHC(S)HN-C₂-C₁₂-炔基、-NHC(S)HN-C₃-C₁₂-环烷基、-NHC(S)HN-芳基、-NHC(S)HN-杂芳基、-NHC(S)HN-杂环烷基。

$C_{12}-$ 烷基、 $-NHC(S)NH-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-NHC(S)NH-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-NHC(S)NH-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-NHC(S)NH-$ 芳基、 $-NHC(S)NH-$ 杂芳基、 $-NHC(S)NH-$ 杂环烷基、 $-NHC(NH)NH_2$ 、 $-NHC(NH)NH-C_1-C_{12}-$ 烷基、 $-NHC(NH)NH-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-NHC(NH)NH-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-NHC(NH)NH-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-NHC(NH)NH-$ 芳基、 $-NHC(NH)NH-$ 杂芳基、 $-NHC(NH)NH-$ 杂环烷基、 $-NHC(NH)-C_1-C_{12}-$ 烷基、 $-NHC(NH)-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-NHC(NH)-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-NHC(NH)-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-NHC(NH)-$ 芳基、 $-NHC(NH)-$ 杂芳基、 $-NHC(NH)-$ 杂环烷基、 $-C(NH)NH-C_1-C_{12}-$ 烷基、 $-C(NH)NH-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-C(NH)NH-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-C(NH)NH-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-C(NH)NH-$ 芳基、 $-C(NH)NH-$ 杂芳基、 $-C(NH)NH-$ 杂环烷基、 $-S(O)-C_1-C_{12}-$ 烷基、 $-S(O)-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-S(O)-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-S(O)-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-S(O)-$ 芳基、 $-S(O)-$ 杂芳基、 $-S(O)-$ 杂环烷基、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH-C_1-C_{12}-$ 烷基、 $-SO_2NH-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-SO_2NH-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-SO_2NH-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-SO_2NH-$ 芳基、 $-SO_2NH-$ 杂芳基、 $-SO_2NH-$ 杂环烷基、 $-NHSO_2-C_1-C_{12}-$ 烷基、 $-NHSO_2-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-NHSO_2-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-NHSO_2-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-NHSO_2-$ 芳基、 $-NHSO_2-$ 杂芳基、 $-NHSO_2-$ 杂环烷基、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2SO_2CH_3$ 、 $-$ 芳基、 $-$ 芳基烷基、 $-$ 杂芳基、 $-$ 杂芳基烷基、 $-$ 杂环烷基、 $-C_3-C_{12}-$ 环烷基、聚烷氧基烷基、聚烷氧基、 $-$ 甲氧基甲氧基、 $-$ 甲氧基乙氧基、 $-SH$ 、 $-S-C_1-C_{12}-$ 烷基、 $-S-C_2-C_{12}-$ 烯基、 $-S-C_2-C_{12}-$ 炔基、 $-S-C_3-C_{12}-$ 环烷基、 $-S-$ 芳基、 $-S-$ 杂芳基、 $-S-$ 杂环烷基或甲基硫代甲基。

[0155] 任何特定取代基的数目在未被指定的情况下,可以存在一个或更多个取代基。例如,“卤素取代的C1-4烷基”可以包括一个或更多个相同或不同的卤素。

[0156] 当本文描述的化合物包含烯双键或其他几何不对称的中心时,并且除非另外指定,否则意图的是化合物包括E几何异构体和Z几何异构体两者。同样,也意图包括所有互变异构形式的含羰基化合物。

[0157] 应当理解,本文提供的化合物可以包含手性中心。这样的手性中心可以具有(R)或(S)构型,或者可以是它们的混合物。因此,本文提供的化合物可以是对映异构体纯的,或者可以是立体异构体或非对映异构体混合物。因此,本领域技术人员将认识到,对于在体内经历差向异构化的化合物,施用其(R)形式的化合物等同于施用其(S)形式的化合物。

[0158] 本文描述的化合物包括但不限于上文列出的化合物,以及它们的任何异构体,诸如非对映异构体和对映异构体,以及它们的盐、酯、酰胺、硫酯、溶剂化物和多晶型物,以及上文列出的化合物的外消旋混合物和纯异构体。

[0159] 干细胞

[0160] 在一些实施方案中,用所描述的组合物和方法修饰(例如扩增)其群体的干细胞在接触芳香烃受体拮抗剂后能够被扩增。在一些实施方案中,干细胞是经遗传修饰的干细胞。在一些实施方案中,干细胞是未经遗传修饰的干细胞。

[0161] 在一些实施方案中,干细胞是胚胎干细胞或成体干细胞。在一些实施方案中,干细胞是全能干细胞、多能(pluripotent)干细胞、专能(multipotent)干细胞、寡能干细胞或单能干细胞。在一些实施方案中,干细胞是组织特异性的干细胞。

[0162] 在一些实施方案中,干细胞是造血干细胞、肠干细胞、成骨干细胞、间充质干细胞(即,肺间充质干细胞、骨髓来源的间充质基质细胞或骨髓基质细胞)、神经干细胞(即,神经元多巴胺能干细胞或运动神经元干细胞)、上皮干细胞(即,肺上皮干细胞、乳腺上皮干细胞、血管上皮干细胞或肠上皮干细胞)、心肌细胞祖干细胞、皮肤干细胞(即,表皮干细胞或毛囊(follicular)干细胞(毛囊(hair follicle)干细胞))、骨骼肌干细胞、脂肪干细胞、肝

干细胞、诱导的多能干细胞、脐带干细胞、羊水干细胞、角膜缘干细胞、牙髓干细胞、胎盘干细胞、成肌细胞、内皮祖细胞、脱落牙来源的干细胞或毛囊干细胞。

[0163] 在一些实施方案中,干细胞是造血干细胞。

[0164] 在一些实施方案中,干细胞是原代干细胞。例如,从骨髓、脂肪组织或血液获得干细胞。在一些实施方案中,干细胞是培养的干细胞。

[0165] 在一些实施方案中,干细胞是CD34+细胞。在一些实施方案中,干细胞是CD90+细胞。在一些实施方案中,干细胞是CD45RA-细胞。在一些实施方案中,干细胞是CD34+CD90+细胞。在一些实施方案中,干细胞是CD34+CD45RA-细胞。在一些实施方案中,干细胞是CD90+CD45RA-细胞。在一些实施方案中,干细胞是CD34+CD90+CD45RA-细胞。

[0166] 在一些实施方案中,造血干细胞从骨髓被提取,被动员到外周血中,并且然后通过血液单采术来收集,或者从脐带血单位中被分离。

[0167] 在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD90+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD90+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD90+CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD90+CD45RA-造血干细胞。

[0168] 遗传修饰造血干细胞和祖细胞的方法

[0169] 本文描述的组合物和方法提供了用于破坏感兴趣的基因和用于促进靶基因在造血干细胞和祖细胞的群体中的表达以及用于扩增这些细胞的策略。例如,可以根据本文描述的方法扩增造血干细胞的群体,并且可以进行遗传修饰以例如表现出改变的基因表达模式。可选地,可以富集细胞群体的造血干细胞,或者可以使造血干细胞的群体维持在专能状态,并且可以使用本领域已知的已建立的基因组编辑技术进一步修饰细胞。例如,人们可以使用基因组编辑程序来在造血干细胞内促进外源性基因的表达或抑制内源性基因的表达。造血干细胞的群体可以根据本文描述的方法被扩增、富集或维持在专能状态,并且随后被遗传修饰以表达期望的靶基因,或者这些细胞的群体可以首先被遗传修饰,并且然后被扩增、富集或维持在专能状态。

[0170] 在一些实施方案中,根据本文描述的方法,造血干细胞的群体(例如,多于一个)通过与本文描述的芳香烃受体拮抗剂接触而被扩增、富集或维持在专能状态,并且随后被遗传修饰以表达期望的靶基因并且基本上维持造血干细胞的可植入特性。在一些实施方案中,根据本文描述的方法,造血干细胞的群体(例如,多于一个)通过与本文描述的芳香烃受体拮抗剂接触并且在足以诱导细胞周期的时间段期间经受条件而被扩增、富集或维持在专潜能状态,并且随后被遗传修饰以表达期望的靶基因并且基本上维持造血干细胞的可植入特性。在一种非限制性实施方案中,足以诱导细胞周期的条件可以包括使造血干细胞与足以诱导细胞周期的量的一种或更多种细胞因子接触。细胞因子的非限制性实例包括SCF、IL6、TPO、FLT3L及其组合。也可以使用其他剂或方法来诱导细胞周期。

[0171] 在一些实施方案中,足以诱导细胞周期的时间段可以为至少约1天、至少约2天、至少约3天、至少约4天或至少约5天。在一些实施方案中,足以诱导细胞周期的时间段为约1天至约5天、约1天至约4天、约2至约4天、约1天至约3天或约2天至约3天。在一些实施方案中,足以诱导细胞周期的时间段可以取决于细胞谱系而变化。

[0172] 在一些实施方案中,造血干细胞与芳香烃受体拮抗剂接触不会影响细胞周期。有利的是,活跃地循环的细胞可能比非循环的细胞更容易被遗传修饰以表达期望的靶基因。另外,在一些实施方案中,造血干细胞与芳香烃受体拮抗剂接触不会阻止干细胞进入细胞周期,并且允许干细胞保持为干细胞(例如,包括分裂以便在数量上增加而基本上不分化),相对于未与芳香烃受体拮抗剂接触的细胞(例如,造血干细胞)延迟分化并且延长植入潜能。

[0173] 在一些实施方案中,相对于其中造血干细胞的群体(例如,多于一个)未与本文描述的芳香烃受体拮抗剂在足以诱导细胞周期的时间段期间接触然后随后被遗传修饰的可比较的方法,根据本文描述的方法,造血干细胞的群体(例如,多于一个)通过与本文描述的芳香烃受体拮抗剂在至少足以诱导细胞周期的时间段期间接触而被扩增、富集或维持在专能状态,并且随后被遗传修饰以表达期望的靶基因,导致改进的遗传修饰。

[0174] 在一些实施方案中,相对于其中造血干细胞的群体未与本文描述的芳香烃受体拮抗剂在足以诱导细胞周期的时间段期间接触然后随后被遗传修饰的可比较的方法,根据本文描述的方法,造血干细胞的群体通过与本文描述的芳香烃受体拮抗剂在足以诱导细胞周期的时间段期间接触而被扩增、富集或维持在专能状态,并且随后被遗传修饰以表达期望的靶基因,导致改进的植人潜能。

[0175] 在一些实施方案中,根据本文描述的方法,造血干细胞通过与本文描述的芳香烃受体拮抗剂在足以在基本上所有造血干细胞中诱导细胞周期的时间段期间接触而被扩增、富集或维持在专能状态。

[0176] 在一些实施方案中,造血干细胞的群体(例如,多于一个)在被遗传修饰后被扩增。例如,造血干细胞可以在被遗传修饰后在芳香烃受体拮抗剂的存在下被扩增。可以对经遗传修饰的造血干细胞进行扩增,以例如增加造血干细胞移植物中可植入的经遗传修饰的细胞的数量。

[0177] 已经建立了许多用于将靶基因整合到细胞(例如,哺乳动物细胞,诸如鼠细胞或人类细胞)的基因组中以促进这些基因的表达的方法。

[0178] 编码靶基因的多核苷酸

[0179] 可以用于促进靶基因在造血干细胞中表达的平台的一个实例是通过将编码靶基因的多核苷酸整合到细胞的核基因组中。已经开发了多种用于将外源性基因引入真核基因组中的技术。一种这样的技术包括将靶基因插入载体诸如病毒载体中。用于与本文描述的组合物和方法一起使用的载体可以通过多种方法被引入细胞中,所述方法包括转化、转染、直接摄取、射弹轰击、以及通过将载体包封在脂质体中。转染或转化细胞的合适方法的实例包括磷酸钙沉淀、电穿孔、显微注射、感染、脂质体转染和直接摄取。这样的方法被更详细地描述于,例如,Green等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第四版,Cold Spring Harbor University Press,New York (2014);和Ausubel等人,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,New York (2015)中,将其中每一项的公开内容通过引用并入本文。

[0180] 也可以通过使用包含细胞膜磷脂感兴趣基因的载体将外源性基因引入哺乳动物细胞中。例如,可以通过将载体分子连接至VSV-G蛋白,一种对所有细胞膜磷脂具有亲和力的病毒蛋白,使载体靶向细胞膜的细胞外表面上的磷脂。包含VSV-G蛋白的病毒载体被进一

步详细描述于,例如,US 5,512,421中和US 5,670,354中,将其中每一项的公开内容通过引用并入本文。

[0181] 哺乳动物RNA聚合酶对编码靶基因的多核苷酸识别和结合对于基因表达发生是重要的分子事件。因此,人们可以在多核苷酸中包含对转录因子表现出高亲和力的序列元件,所述转录因子募集RNA聚合酶并且促进转录复合体在转录起始位点的组装。这样的序列元件包括,例如,哺乳动物启动子,其序列可以被特定转录起始因子识别和结合,并且最终被RNA聚合酶识别和结合。可选地,源自病毒基因组的启动子可以用于在哺乳动物细胞中稳定表达靶基因。可以用于促进这些酶的哺乳动物表达的功能性病毒启动子的实例包括腺病毒晚期启动子、痘苗病毒7.5K启动子、SV40启动子、巨细胞病毒启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)启动子、HIV的LTR启动子、moloney病毒的启动子、Epstein barr病毒(EBV)启动子、劳斯肉瘤病毒(RSV)启动子和巨细胞病毒(CMV)启动子。另外的病毒启动子包括来自猿猴病毒40的SV40晚期启动子、杆状病毒多角体增强子/启动子元件、单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV tk)启动子和来自花椰菜花叶病毒的35S启动子。适于与本文描述的组合物和方法一起使用的噬菌体启动子包括但不限于大肠杆菌(E.coli)T7和T3噬菌体启动子、鼠伤寒沙门氏菌(S.typhimurium)噬菌体SP6启动子、枯草芽孢杆菌(B.subtilis)SP01噬菌体和枯草芽孢杆菌噬菌体φ29启动子、以及如US 5,547,892中描述的N4噬菌体和K11噬菌体启动子,将其公开内容通过引用并入本文。

[0182] 在编码靶基因的多核苷酸被掺入细胞的基因组(例如,造血干细胞的核基因组)中后,该多核苷酸的转录可以通过本领域已知的方法来诱导。例如,可以通过将哺乳动物细胞暴露于外部化学试剂,诸如调控转录因子和/或RNA聚合酶与哺乳动物启动子的结合并且从而调控基因表达的剂,来诱导表达。化学试剂可以通过例如去除已经结合启动子的阻遏蛋白来用于促进RNA聚合酶和/或转录因子与哺乳动物启动子的结合。可选地,化学试剂可以用于增强哺乳动物启动子对RNA聚合酶和/或转录因子的亲和力,使得位于启动子下游的基因的转录速率在化学试剂的存在下增加。通过以上机制增强多核苷酸转录的化学试剂的实例包括四环素和多西环素。这些试剂是商业上可得的(Life Technologies,Carlsbad,CA),并且可以被施用至哺乳动物细胞,以便根据已建立的方案促进基因表达。

[0183] 可以被包含在用于与本文描述的组合物和方法一起使用的多核苷酸中的其他DNA序列元件包括增强子序列。增强子代表另一类调控元件,其诱导包含感兴趣的基因的多核苷酸的构象变化,使得DNA采取有利于转录因子和RNA聚合酶在转录起始位点处结合的三维取向。因此,用于与本文描述的组合物和方法一起使用的多核苷酸包括编码靶基因的多核苷酸,并且还包括哺乳动物增强子序列。现在已知许多来自哺乳动物基因的增强子序列,并且实例包括来自编码哺乳动物珠蛋白、弹性蛋白酶、白蛋白、甲胎蛋白和胰岛素的基因的增强子。用于与本文描述的组合物和方法一起使用的增强子还包括源自能够感染真核细胞的病毒的遗传物质的增强子。实例包括复制起点(bp 100-270)的晚期侧上的SV40增强子、巨细胞病毒早期启动子增强子、复制起点的晚期侧上的多瘤病毒增强子和腺病毒增强子。在Yaniv等人Nature 297:17(1982)中公开了诱导真核基因转录活化的另外的增强子序列,将其公开内容通过引用并入本文。可以将增强子剪接到含有编码靶基因的多核苷酸的载体中,例如,在该基因的5'或3'位置处。在优选的取向中,增强子位于启动子的5'侧,启动子继而位于相对于编码靶基因的多核苷酸的5'。

[0184] 除了促进高速率转录和翻译之外,通过将包含外源性基因的多核苷酸整合到细胞的核DNA中,可以实现外源性基因在造血干细胞中的稳定表达。已经开发了多种用于将编码外源性蛋白的多核苷酸递送和整合到哺乳动物细胞的核DNA中的载体。表达载体的实例公开于例如W094/11026中,将其公开内容通过引用并入本文。用于与本文描述的组合物和方法一起使用的表达载体含有编码靶基因的多核苷酸序列,以及例如用于表达这些酶和/或将这些多核苷酸序列整合到哺乳动物细胞的基因组中的另外的序列元件。可以用于表达靶基因的某些载体包括含有指导基因转录的调控序列(诸如启动子和增强子区)的质粒。用于表达靶基因的其他有用载体含有增强这些基因的翻译速率或改进由基因转录产生的mRNA的稳定性或核输出的多核苷酸序列。这些序列元件通常编码RNA转录物中增强这些分子的核输出、细胞质半衰期和核糖体亲和力的特征,例如,5'和3'非翻译区、内部核糖体进入位点(IRES)和多腺苷酸化信号位点,以便指导表达载体上携带的基因的有效转录。示例性表达载体还可以含有编码用于选择含有这样的载体的细胞的标志物的多核苷酸。合适的标志物的非限制性实例包括编码对抗生素(诸如氨苄青霉素、氯霉素、卡那霉素或诺尔丝菌素)的抗性的基因。

[0185] 用于表达靶基因的载体

[0186] 病毒基因组提供了丰富的可以用于将外源性基因有效递送到哺乳动物细胞中的载体来源。病毒基因组是用于基因递送的特别有用的载体,因为被包含在这样的基因组中的多核苷酸通常通过普遍性的或特异性的转导被整合到哺乳动物细胞的核基因组中。这些过程作为天然病毒复制周期的一部分发生,并且通常不需要添加蛋白或试剂来诱导基因整合。病毒载体的实例包括逆转录病毒、腺病毒(例如,Ad5、Ad26、Ad34、Ad35和Ad48)、细小病毒(例如,腺相关病毒)、冠状病毒、负链RNA病毒诸如正粘病毒(例如,流感病毒)、弹状病毒(例如,狂犬病病毒和水泡性口炎病毒)、副粘病毒(例如,麻疹病毒和仙台病毒)、正链RNA病毒诸如小RNA病毒和甲病毒、以及双链DNA病毒,包括疱疹病毒(例如,单纯疱疹病毒1型和2型、Epstein-Barr病毒、巨细胞病毒)和痘病毒(例如,痘苗病毒、修饰的安卡拉痘苗病毒(MVA)、禽痘病毒和金丝雀痘病毒)。例如,其他病毒包括诺沃克病毒、披膜病毒、黄病毒、呼肠孤病毒、乳多空病毒、嗜肝DNA病毒和肝炎病毒。逆转录病毒的实例包括:禽白血病肉瘤病毒,哺乳动物C型病毒、B型病毒、D型病毒,HTLV-BLV群,慢病毒,泡沫病毒(spumavirus)(Coffin, J. M., Retroviridae: The viruses and their replication, In Fundamental Virology, 第3版, B. N. Fields等人, 编著, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 将其公开内容通过引用并入本文)。病毒载体的其他实例包括鼠白血病病毒、鼠肉瘤病毒、鼠乳腺肿瘤病毒、牛白血病病毒、猫白血病病毒、猫肉瘤病毒、禽白血病病毒、人类T细胞白血病病毒、狒狒内源性病毒、长臂猿白血病病毒、Mason Pfizer猴病毒、猿猴免疫缺陷病毒、猿猴肉瘤病毒、劳斯肉瘤病毒和慢病毒。载体的其他实例描述于例如US 5,801,030中,将其公开内容通过引用并入本文。

[0187] 另外的转染方法

[0188] 可以用于将多核苷酸诸如DNA或RNA(例如,mRNA、tRNA、siRNA、miRNA、shRNA、经化学修饰的RNA)引入哺乳动物细胞中的其他技术是本领域熟知的。例如,电穿孔可以通过施加静电势用于使哺乳动物细胞透化。以这种方式经受外部电场的哺乳动物细胞,诸如造血干细胞,随后易于摄取外源性核酸。哺乳动物细胞的电穿孔被详细描述于例如Chu等人

Nucleic Acids Research 15:1311 (1987) 中, 将其公开内容通过引用并入本文。一种类似的技术, NucleofectionTM, 利用施加电场来刺激外源多核苷酸被摄取到真核细胞的细胞核中。NucleofectionTM和可用于执行该技术的方案被详细描述于例如Distler等人Experimental Dermatology 14:315 (2005) 以及US 2010/0317114中, 将其中每一项的公开内容通过引用并入本文。

[0189] 可用于转染造血干细胞的另外的技术包括挤压穿孔法 (squeeze-poration methodology)。该技术诱导细胞的快速机械变形, 以刺激通过响应于施加的压力而形成的膜孔摄取外源性DNA。该技术的优势在于不需要载体来将核酸递送到细胞诸如造血干细胞中。挤压穿孔被详细描述于例如Sharei等人Journal of Visualized Experiments 81: e50980 (2013) 中, 将其公开内容通过引用并入本文。

[0190] 脂质体转染代表了另一种可用于转染造血干细胞的技术。该方法包括将核酸装载到脂质体中, 脂质体通常在其外部展示阳离子官能团, 诸如季铵或质子化胺。由于细胞膜的阴离子性质, 这促进了脂质体与细胞之间的静电相互作用, 这最终导致例如通过脂质体与细胞膜的直接融合或通过对复合物的胞吞作用摄取外源性核酸。脂质体转染被详细描述于例如US7,442,386中, 将其公开内容通过引用并入本文。利用与细胞膜的离子相互作用来引发外源性核酸的摄取的类似技术包括使细胞与阳离子聚合物-核酸复合物接触。与多核苷酸缔合以赋予有利于与细胞膜相互作用的正电荷的阳离子分子包括活化的树枝状大分子 (描述于例如Dennig, Topics in Current Chemistry 228:227 (2003) 中, 将其公开内容通过引用并入本文) 和二乙基氨基乙基 (DEAE) -葡聚糖, 其作为转染剂的用途被详细描述于例如Gulick等人Current Protocols in Molecular Biology 40:I:9.2:9.2.1 (1997) 中, 将其公开内容通过引用并入本文。磁珠是另一种可以用于以温和且有效的方式转染造血干细胞的工具, 因为该方法利用施加磁场来引导核酸的摄取。该技术被详细描述于例如US 2010/0227406中, 将其公开内容通过引用并入本文。

[0191] 另一种用于诱导造血干细胞摄取外源性核酸的有用工具是激光转染 (laserfection), 该技术包括将细胞暴露于特定波长的电磁辐射, 以便温和地使细胞透化并且允许多核苷酸穿过细胞膜。该技术被详细描述于例如Rhodes等人Methods in Cell Biology 82:309 (2007) 中, 将其公开内容通过引用并入本文。

[0192] 微囊泡代表另一种潜在的可以用于根据本文描述的方法修饰造血干细胞的基因组的媒介物。例如, 通过糖蛋白VSV-G与例如基因组修饰蛋白诸如核酸酶的共过表达诱导的微囊泡可以用于将蛋白有效地递送到细胞中, 该蛋白随后催化内源性多核苷酸序列的位点特异性裂解, 以便使细胞的基因组适于感兴趣的多核苷酸诸如基因或调控序列的共价掺入。这样的囊泡 (也被称为Gesicles) 用于遗传修饰真核细胞的用途被详细描述于例如Quinn等人Genetic Modification of Target Cells by Direct Delivery of Active Protein [摘要]中; 于:Methylation changes in early embryonic genes in cancer [摘要]中; 于:Proceedings of the 18th Annual Meeting of the American Society of Gene and Cell Therapy; 2015 May 13, 摘要No.122中。

[0193] 使用基因编辑技术调控基因表达

[0194] 除了病毒载体之外, 还开发了多种可以用于将外源性基因掺入造血干细胞中的另外的工具。一种可以用于将编码靶基因的多核苷酸掺入造血干细胞中的这样的方法包括使

用转座子。转座子是编码转座酶的多核苷酸，并且包含侧翼为5'和3'切除位点的感兴趣的多核苷酸序列或基因。在转座子被递送到细胞中后，转座酶基因表达启动并且产生裂解来自转座子的感兴趣的基因的活性酶。该活性通过转座酶对转座子切除位点的位点特异性识别来介导。在某些情况下，这些切除位点可以是末端重复序列或末端反向重复序列。在被从转座子中切除后，感兴趣的基因可以通过转座酶催化裂解存在于细胞的核基因组中的类似切除位点被整合到哺乳动物细胞的基因组中。这允许感兴趣的基因在互补切除位点处被插入裂解的核DNA中，并且随后将感兴趣的基因与哺乳动物细胞基因组的DNA连接的磷酸二酯键的共价连接完成掺入过程。在某些情况下，转座子可以是逆转录转座子，使得编码靶基因的基因首先被转录成RNA产物，并且然后被逆转录成DNA，然后被掺入哺乳动物细胞基因组中。转座子系统包括piggybac转座子(被详细描述于例如WO 2010/085699中)和睡美人(sleeping beauty)转座子(被详细描述于例如US2005/0112764中)，将其中每一项的公开内容通过引用并入本文。

[0195] 另一种用于破坏靶基因和将靶基因整合到造血干细胞基因组中的有用工具是规律成簇的间隔短回文重复(CRISPR)/Cas系统，该系统原本是细菌和古细菌针对病毒感染而演化的适应性防御机制。CRISPR/Cas系统包括质粒DNA内的回文重复序列和相关的Cas9核酸酶。这种DNA和蛋白的整体通过首先将外源性DNA掺入CRISPR基因座中来指导对靶序列的位点特异性DNA裂解。含有这些外源性序列和CRISPR基因座的重复间隔元件的多核苷酸继而在宿主细胞中被转录，以产生指导RNA，该指导RNA随后可以与靶序列退火并且使Cas9核酸酶定位至该位点。以此方式，可以在外源性多核苷酸中产生高度位点特异性的cas9介导的DNA裂解，因为使cas9与靶DNA分子极为接近的相互作用是由RNA:DNA杂交控制的。因此，理论上人们可以设计裂解任何感兴趣的靶DNA分子的CRISPR/Cas系统。该技术已经被用来编辑真核基因组(Hwang等人Nature Biotechnology 31:227 (2013)，将其公开内容通过引用并入本文)，并且可以用作位点特异性编辑造血干细胞基因组的有效手段，以便裂解DNA，然后掺入编码靶基因的基因。CRISPR/Cas调控基因表达的用途已经被描述于例如US8,697,359中，将其公开内容通过引用并入本文。

[0196] CRISPR/Cas系统可以用于在靶DNA序列中产生一个或更多个双链断裂，然后双链断裂可以通过同源重组(HR)或非同源末端连接(NHEJ)DNA修复途径被修复。Cas9酶和对靶DNA特异的指导RNA(gRNA)可以一起被提供至细胞以诱导一个或更多个双链断裂。Cas9酶可以作为蛋白、作为与指导RNA复合的核糖核蛋白，或作为编码Cas9蛋白的RNA或DNA(然后被细胞用来合成Cas9蛋白)来提供。gRNA可以包含嵌合RNA中的tracrRNA和crRNA序列两者。可选地或另外地，gRNA可以包含与Cas9蛋白结合的支架区以及使gRNA Cas9蛋白复合物靶向特定DNA序列的互补碱基配对区，有时也被称为间隔区。在一些情况下，互补碱基配对区的长度可以是约20个核苷酸，并且与紧邻前间区序列邻近基序(例如，PAM基序)的靶DNA序列互补。在一些情况下，PAM包括序列NGG、NGA或NAG。gRNA的互补碱基配对区与靶DNA序列杂交，并且将gRNA Cas9蛋白复合物引导至靶序列，然后Cas9内切核酸酶结构域在靶序列内切割产生双链断裂，该断裂可能位于PAM的上游3-4个核苷酸。因此，通过改变互补碱基配对区，几乎任何DNA序列都可以被靶向以产生双链断裂。用于选择适当的互补碱基配对区的方法将是本领域技术人员已知的。例如，可以选择gRNA以使gRNA在靶DNA序列中的脱靶结合位点的数目最小化。在一些情况下，可以使用经修饰的Cas9基因组编辑系统来例如增加DNA靶

向特异性。经修饰的Cas9基因组编辑系统的实例包括拆分的Cas9 (split Cas9) 系统, 诸如二聚体Cas9-Fok1基因组编辑系统。

[0197] 通过CRISPR/Cas9基因组编辑系统产生的一个双链断裂或更多个双链断裂可以通过将双链断裂的末端连接在一起的非同源末端连接途径 (NHEJ) 被修复。NHEJ可能导致双链断裂部位周围或附近的DNA的缺失。可选地, 通过CRISPR/Cas9基因组编辑系统产生的双链断裂可以通过同源指导修复 (也被称为同源重组 (HR) 修复途径) 被修复。在HR途径中, 双链断裂通过两个相似或相同的DNA分子之间的序列交换被修复。因此, HR修复途径可以用于将外源性DNA序列引入基因组中。在使用HR途径进行基因组编辑时, 将DNA模板与Cas9和gRNA一起提供至细胞。在一些情况下, 模板可以包含待被经由基因组编辑引入基因组的外源序列, 所述外源序列的侧翼为包含Cas9诱导的双链断裂位点两侧的DNA序列的同源臂。这些同源臂的长度可以是, 例如, 约50个和1000个核苷酸之间, 或者在其他情况下, 多达数千碱基或更长。模板可以是线性DNA或环状DNA诸如质粒, 或者可以使用病毒载体或其他递送手段来提供。模板DNA可以包含双链DNA或单链DNA。将模板DNA、gRNA和Cas9蛋白递送至细胞以实现期望的基因组编辑的所有方法都被设想在本发明的范围内。

[0198] 本公开内容的基于CRISPR/Cas9和HR的基因组编辑系统不仅提供了将外源性DNA序列引入感兴趣的基因组或DNA序列中的方法, 还提供了用于矫正基因突变的平台。突变序列的改变或矫正形式, 例如将一个或更多个点突变改变回野生型共有序列、插入缺失的序列或删除插入的序列的序列, 可以作为模板序列被提供至细胞, 并且该模板序列被细胞用于经由HR途径来修补CRISPR/Cas9诱导的双链断裂。例如, 在带有一种或更多种致病突变的患者中, 可以从体内取出造血干细胞和/或祖细胞, 诸如该患者的造血干细胞和/或祖细胞。然后可以通过CRISPR/Cas9和HR介导的基因组编辑在一个或更多个这些造血干细胞和/或祖细胞的基因组中矫正突变, 用本公开内容的方法扩增矫正的造血干细胞和/或祖细胞, 并且然后将经编辑的细胞群体输注回患者中, 从而提供野生型形式的基因的来源并且治愈由该基因的一个突变或更多个突变引起疾病的患者。可能引起遗传疾病的突变不仅包括点突变, 还包括插入、缺失和倒位。这些突变可以位于蛋白编码序列中, 并且影响蛋白的氨基酸序列, 或者它们可以位于非编码序列诸如基因表达所需的非翻译区、启动子、顺式调控元件, 剪接所需的序列或DNA结构所需的序列中。所有突变都潜在地可以通过本公开内容的CRISPR/Cas9介导的基因组编辑方法进行编辑。在一些情况下, 患者可以被调节以消除或减少携带突变形式的基因的天然造血干细胞和/或祖细胞, 从而富集外源提供的经基因组编辑的造血干细胞和/或祖细胞。经基因组编辑的自体和同种异体的造血干细胞和/或祖细胞两者均可以用于治疗本公开内容的患者的遗传疾病。

[0199] 除了CRISPR/Cas9系统之外, 在将感兴趣的基因掺入造血干细胞和/或祖细胞中之前, 通过位点特异性地裂解基因组DNA来破坏靶DNA的替代方法包括使用锌指核酸酶 (ZFN) 和转录活化因子样效应物核酸酶 (TALEN)。与CRISPR/Cas系统不同, 这些酶不包含用于定位至特定靶序列的指导多核苷酸。替代地, 靶特异性由这些酶内的DNA结合结构域控制。ZFN和TALEN在基因组编辑应用中的用途被描述于, 例如, Urnov等人Nature Reviews Genetics 11:636 (2010) 中; 和Joung等人Nature Reviews Molecular Cell Biology 14:49 (2013) 中, 将两者的公开内容通过引用并入本文。与CRISPR/Cas9基因组编辑系统一样, 通过TALEN或ZFN引入的双链断裂也可以经由HR途径修复, 并且该途径可以用于引入外源性DNA序列或

修复DNA中的突变。

[0200] 可以用于破坏造血干细胞的基因组或将编码靶基因的多核苷酸掺入到造血干细胞基因组中的另外的基因组编辑技术包括使用可以被合理设计以便位点特异性地裂解基因组DNA的ARCUSTM兆核酸酶。考虑到已经为这些酶建立的确定的结构-活性关系,使用这样的酶将编码靶基因的基因掺入哺乳动物细胞的基因组中是有利的。单链兆核酸酶可以在某些氨基酸位置处被修饰,以便产生在期望的位置处选择性地裂解DNA的核酸酶,从而使得能够将靶基因位点特异性地掺入造血干细胞的核DNA中。这些单链核酸酶已经被广泛描述于,例如,US 8,021,867和US 8,445,251中,将其中每一项的公开内容通过引用并入本文。

[0201] 用于扩增造血干细胞的方法

[0202] 在另一方面中,本公开内容的特征在于离体产生造血干细胞的扩增的群体的方法,所述方法包括使造血干细胞的群体与足以产生造血干细胞的扩增的群体的量的以上任一方面或实施方案的化合物接触。

[0203] 在另一方面中,本公开内容的特征在于离体富集细胞群体的造血干细胞的方法,所述方法包括使造血干细胞的群体与足以产生富含造血干细胞的细胞群体的量的以上任一方面或实施方案的化合物接触。

[0204] 在另一方面中,本公开内容的特征在于离体维持造血干细胞的群体的造血干细胞功能潜力两天或更多天的方法,所述方法包括使造血干细胞的第一群体与以上任一方面或实施方案的化合物接触,其中造血干细胞的第一群体在两天或更多天后表现出的造血干细胞功能潜力大于在与造血干细胞的第一群体相同的条件下培养相同的时间但未与所述化合物接触的对照造血干细胞的群体的造血干细胞功能潜力。

[0205] 在一种实施方案中,所述用于扩增造血干细胞的方法包括(a)提供包含造血干细胞的起始细胞群体,并且(b)在以上任一方面或实施方案的AHR拮抗剂化合物的存在下离体培养所述起始细胞群体。

[0206] 包含造血干细胞的起始细胞群体将由本领域技术人员根据设想的用途来选择。包含造血干细胞的多种细胞来源在本领域中已有描述,包括骨髓、外周血、新生儿脐带血、胎盘或其他来源,诸如肝,特别是胎儿肝。

[0207] 细胞群体可以首先经受富集或纯化步骤,包括基于特定的细胞标志物来阴性和/或阳性选择细胞,以便提供起始细胞群体。基于特定的细胞标志物来分离所述起始细胞群体的方法可以使用也被称为流式细胞术的荧光激活的细胞分选(FACS)技术,或结合有与特定的细胞表面标志物相互作用的抗体或配体的固体或不溶性基质。例如,可以使细胞与包含抗体的固体基质(例如,珠的柱、瓶、磁性颗粒)接触,并且去除任何未结合的细胞。当使用包含磁性或顺磁性珠的固体基质时,与珠结合的细胞可以通过磁性分离器被容易地分离。

[0208] 在一种实施方案中,以期望的细胞标志物表型(例如,CD34+、CD133+、CD90+)或基于染料诸如罗丹明、Hoechst的外排(efflux)或醛脱氢酶活性来富集所述起始细胞群体。在一种特定的实施方案中,富集所述起始细胞群体中的CD34+细胞。用于富集血细胞群体中的CD34+细胞的方法包括由Miltenyi Biotec商业化的试剂盒(CD34+直接分离试剂盒,Miltenyi Biotec,Bergisch Gladbach,Germany)或由Baxter商业化的试剂盒(Isolex 3000)。

[0209] 在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干

细胞是CD90+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD90+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD90+CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD90+CD45RA-造血干细胞。

[0210] 在一些实施方案中,造血干细胞是哺乳动物细胞,诸如人类细胞。在一些实施方案中,人类细胞是CD34+细胞,诸如为以下的CD34+细胞:CD34+细胞、CD34+CD38-细胞、CD34+CD38-CD90+细胞、CD34+CD38-CD90+CD45RA-细胞、CD34+CD38-CD90+CD45RA-CD49F+细胞或CD34+CD90+CD45RA-细胞。

[0211] 在一些实施方案中,造血干细胞从人类脐带血、被动员的人类外周血或人类骨髓获得。造血干细胞可以是,例如,从人体新鲜分离的,或者可以是先前低温保存的。

[0212] 来自单次分娩的脐带血的量通常不足以治疗一个成人或较大的儿童。使用本发明的化合物或能够下调芳香烃受体的活性和/或表达和/或芳香烃受体途径的下游效应物的剂的扩增方法的一个优点是,它使得能够仅从一个脐带血单位产生足够量的造血干细胞。

[0213] 相应地,在一种实施方案中,起始细胞群体源自对CD34+细胞富集过的新生儿脐带血细胞。在一种相关的实施方案中,所述起始细胞群体源自一个或两个脐带血单位。

[0214] 在另一种实施方案中,所述起始细胞群体源自对CD34+细胞富集的被动员的人类外周血细胞。在一种相关的实施方案中,所述起始细胞群体源自仅从一个患者分离的被动员的人类外周血细胞。

[0215] 所述对CD34+细胞富集过的起始细胞群体可以优选地包含至少约50%CD34+细胞,在一些实施方案中,多于约90%CD34+细胞,并且可以包含 10^5 个和 10^9 个之间的有核细胞。

[0216] 起始细胞群体可以直接用于扩增或冷冻并储存以便以后使用。

[0217] 用于培养用于造血干细胞扩增的起始细胞群体的条件将取决于尤其是起始细胞群体、期望的最终细胞数目和期望的HSC的最终比例而变化。

[0218] 在一种实施方案中,培养条件包括使用造血干细胞扩增领域中公知的其他细胞因子和生长因子。这样的细胞因子和生长因子包括但不限于IL-1、IL-3、IL-6、IL-11、G-CSF、GM-CSF、SCF、FIT3-L、血小板生成素(TPO)、红细胞生成素及其类似物。如本文使用的,“类似物”包括具有如天然存在的形式的生物活性的细胞因子和生长因子的任何结构变体,包括但不限于当与天然存在的形式相比时具有增强或降低的生物活性的变体或细胞因子受体激动剂诸如抗TPO受体的激动剂抗体(例如,如专利公布WO 2007/145227中详述的VB22B sc (Fv) 2等)。选择细胞因子和生长因子组合来扩增HSC和祖细胞,同时限制终末分化细胞的产生。在一种特定的实施方案中,一种或更多种细胞因子和生长因子选自由以下组成的组:SCF、F1t3-L和TPO。在一种特定的实施方案中,在适合HSC扩增的条件下,在无血清培养基中使用至少TPO。在一种相关的实施方案中,IL6、SCF、F1t3-L和TPO的混合物被与本公开内容的化合物组合用于扩增HSC的方法中。

[0219] HSC的扩增可以在基础培养基中进行,基础培养基可以补充有细胞因子和生长因子的混合物。基础培养基通常包含氨基酸、碳源、维生素、血清蛋白(例如白蛋白)、无机盐、二价阳离子、缓冲液和任何其他适用于HSC扩增的要素。适用于扩增HSC的方法的这样的基础培养基的实例包括但不限于StemSpan® SFEM—无血清扩增培养基(StemCell

Technologies, Vancouver, Canada)、StemSpan® H3000—确定成分培养基 (StemCell Technologies, Vancouver, Canada)、CellGro® SCGM (CellGenix, Freiburg Germany)、StemPro®-34 SFM (Invitrogen)。

[0220] 在一种实施方案中,本公开内容的化合物在所述起始细胞群体的扩增方法期间以适于HSC扩增的浓度被施用。在一种特定的实施方案中,所述化合物或AHR调节剂以包括1pM和100μM之间,例如10pM和10μM之间或100pM和1μM之间的浓度被施用。

[0221] 在起始细胞群体主要由从一个或两个脐带血单位富集的CD34+细胞组成的一种实施方案中,使细胞在用于HSC扩增的条件下生长从约3天至约90天例如7天和21天之间和/或直到获得指定的倍数扩增和特征性细胞群体。在一种特定的实施方案中,使细胞在用于HSC扩增的条件下生长不多于21天、14天或7天。

[0222] 在一种实施方案中,起始细胞群体在足以达到至少10⁵、10⁶、10⁷、10⁸或10⁹个细胞的绝对数量的CD34+细胞的时间期间被培养。在另一种实施方案中,所述起始细胞群体在足以使CD34+细胞扩增10至50000倍,例如扩增100和10000倍之间,例如扩增50和1000倍之间的时间期间被培养。

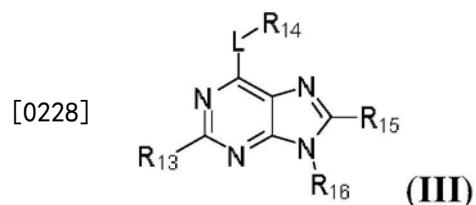
[0223] 扩增方法后获得的细胞群体可以不经进一步纯化而使用,或者可以经受进一步纯化或选择步骤。

[0224] 然后可以洗涤细胞群体以去除本公开内容的化合物和/或细胞培养物的任何其他组分,并且重悬于适合短期使用的细胞悬浮培养基或长期储存培养基例如适于低温保存的培养基中。

[0225] 芳香烃受体拮抗剂

[0226] 在输注到患者中之前,造血细胞和祖细胞可以通过例如使细胞与芳香烃受体拮抗剂接触来离体扩增。可与本文描述的组合物和方法一起使用的芳香烃受体拮抗剂包括美国专利第9,580,426号中描述的那些,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0227] 在一些实施方案中,芳香烃受体拮抗剂包括由式 (III) 表示的那些或其盐



[0229] 其中:

[0230] L选自-NR_{17a} (CH₂)₂₋₃₋、-NR_{17a} (CH₂)₂NR_{17b}-、-NR_{17a} (CH₂)₂S-、-NR_{17a}CH₂CH (OH) -和-NR_{17a}CH (CH₃) CH₂-;其中R_{17a}和R_{17b}独立地选自氢和C₁₋₄烷基;

[0231] R₁₃选自苯硫基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、1H-咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基和噻唑基;在一些实施方案中,其中R₁₃的苯硫基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、1H-咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基或噻唑基可以任选地被1个至3个独立地选自以下的基团取代:氰基、羟基、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、卤素、卤素取代的C₁₋₄烷基、卤素取代的C₁₋₄烷氧基、氨基、-C (O) R_{20a}、-S (O) ₀₋₂R_{20a}、-C (O) OR_{20a}和-C (O) NR_{20a}R_{20b};其中R_{20a}和R_{20b}独立地选自氢和C₁₋₄烷基;

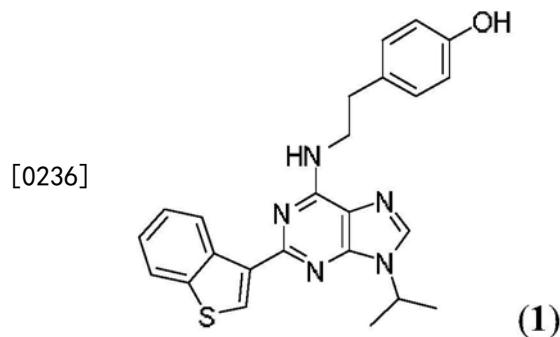
[0232] R₁₄选自-S (O) ₂NR_{18a}R_{18b}、-NR_{18a}C (O) R_{18b}-、-NR_{18a}C (O) NR_{18b}R_{18c}、苯基、1H-吡咯并毗

啶-3-基、1H-吡咯并吡啶-5-基、1H-吲哚基苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基,其中R_{18a}、R_{18b}和R_{18c}独立地选自氢和C₁₋₄烷基;并且R₁₄的苯基、1H-吡咯并吡啶-3-基、1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-5-基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被1个至3个独立地选自以下的基团取代:羟基、卤素、甲基、甲氨基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{19a}R_{19b}、-S(O)₂NR_{19a}R_{19b}、-OS(O)₂NR_{19a}R_{19b}和-NR_{19a}S(O)₂R_{19b};其中R_{19a}和R_{19b}独立地选自氢和C₁₋₄烷基;

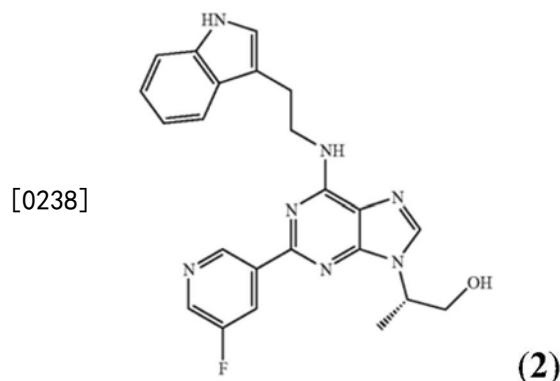
[0233] R₁₅选自氢、C₁₋₄烷基和联苯基;并且

[0234] R₁₆选自C₁₋₁₀烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基,和苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中所述烷基、环丙基、环己基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-3-基、氧杂环丁烷-2-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基可以任选地被1个至3个独立地选自以下的基团取代:羟基、C₁₋₄烷基和卤素取代的C₁₋₄烷基。

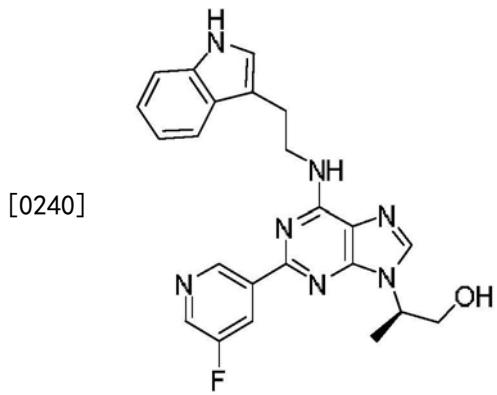
[0235] 在一些实施方案中,可与本文描述的组合物和方法一起使用的芳香烃受体拮抗剂包括由下式(1)表示的SR-1。



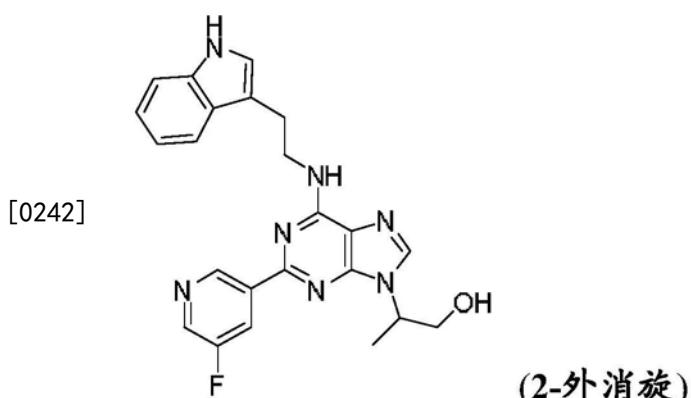
[0237] 在一些实施方案中,可与本文描述的组合物和方法一起使用的芳香烃受体拮抗剂包括由下式(2)表示的化合物2。



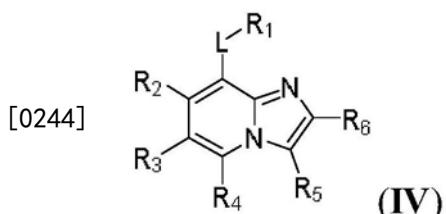
[0239] 在一些实施方案中,可与本文描述的组合物和方法一起使用的芳香烃受体拮抗剂包括由下式(2-对映)表示的化合物2-对映。



[0241] 在一些实施方案中,可与本文描述的组合物和方法一起使用的芳香烃受体拮抗剂包括由下式(2-外消旋)表示的化合物2-外消旋。



[0243] 在一些实施方案中,芳香烃受体拮抗剂包括由式(IV)表示的那些或其盐



[0245] 其中L是选自由以下组成的组的接头: $-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-S(0)_{0-2}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-OC(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-OC(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(0)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-S(0)_{2}NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}S(0)_{2}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(0)NR_{7b}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_nNR_{7a}-$ 、 $-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_nO-$ 、 $-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_nS-$ 、 $-S(CR_{8a}R_{8b})_nNR_{7a}-$ 、 $-S(CR_{8a}R_{8b})_nO-$ 、 $-S(CR_{8a}R_{8b})_nS-$ 和 $-NR_{7a}C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$,其中R_{7a}、R_{7b}、R_{8a}和R_{8b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和任选地被取代的C1-4烷基,并且每个n独立地是从2至6的整数;

[0246] R₁选自由以下组成的组: $-S(0)_{2}NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(0)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(S)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(0)NR_{9b}R_{9c}$ 、 $-C(0)R_{9a}$ 、 $-C(S)R_{9a}$ 、 $-S(0)_{0-2}R_{9a}$ 、 $-C(0)OR_{9a}$ 、 $-C(S)OR_{9a}$ 、 $-C(0)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-C(S)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}S(0)_{2}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(0)OR_{9b}$ 、 $-OC(0)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、 $-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基,其中R_{9a}、R_{9b}和R_{9c}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选

地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

[0247] R_2 选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C1-4烷基；

[0248] R_3 选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

[0249] R_4 选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C1-4烷基；

[0250] R_5 选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；并且

[0251] R_6 选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0252] 如本文中描述接头(在式(IV)、(V)等中由“L”表示)使用的,符号“-(接头)-”(其中“接头”使用以下化学符号来表示：诸如 $NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $O(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $C(O)(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $S(O)_{0-2}(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $(CR_{8a}R_{8b})_n-NR_{7a}C(O)(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $NR_{7a}C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $OC(O)(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $OC(S)(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $C(O)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $C(S)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $C(O)O(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $C(S)O(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $S(O)_{2}NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n$ 、 $NR_{7a}S(O)_{2}(CR_{8a}R_{8b})_n$ 和 $NR_{7a}C(O)NR_{7b}(CR_{8a}R_{8b})_n$ 表示,左连字符表示与咪唑并吡啶或咪唑并哌嗪环系统上指定位置处的共价键,而右连字符表示与 R_1 的共价键。

[0253] 在一些实施方案中, R_1 选自由以下组成的组： $-S(O)_{2}NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(S)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)NR_{9b}R_{9c}$ 、 $-C(O)R_{9a}$ 、 $-C(S)R_{9a}$ 、 $-S(O)_{0-2}R_{9a}$ 、 $-C(O)OR_{9a}$ 、 $-C(S)OR_{9a}$ 、 $-C(O)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-C(S)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}S(O)_{2}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)OR_{9b}$ 、 $-OC(O)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、 $-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基,其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代：氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、 $-O(CH_2)_{2}NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-S(O)_{2}NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-OS(O)_{2}NR_{10a}R_{10b}$ 和 $-NR_{10a}S(O)_{2}R_{10b}$,其中 R_{10a} 和 R_{10b} 各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0254] 在一些实施方案中, R_1 选自由以下组成的组： $-S(O)_{2}NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(S)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)NR_{9b}R_{9c}$ 、 $-C(O)R_{9a}$ 、 $-C(S)R_{9a}$ 、 $-S(O)_{0-2}R_{9a}$ 、 $-C(O)OR_{9a}$ 、 $-C(S)OR_{9a}$ 、 $-C(O)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-C(S)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}S(O)_{2}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)OR_{9b}$ 、 $-OC(O)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 和 $-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 。

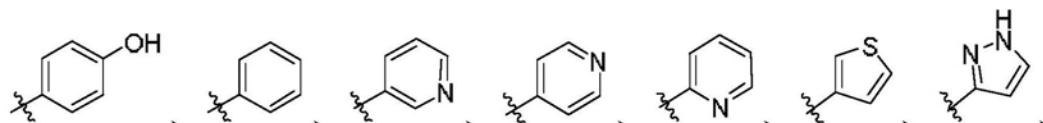
[0255] 在一些实施方案中, R_1 选自由以下组成的组：苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基,其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代：氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷

氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b}。

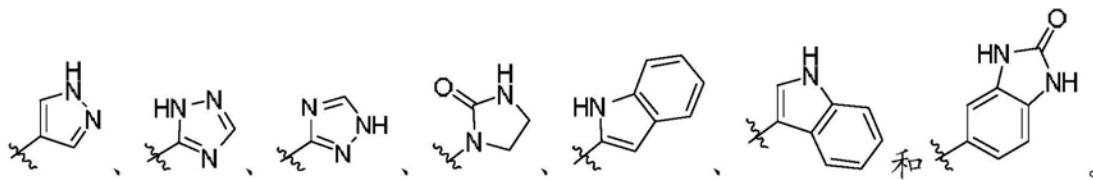
[0256] 在一些实施方案中, R₁选自由以下组成的组: 苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基, 其中苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基或2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代: 氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b}。

[0257] 在一些实施方案中, R₁选自由以下组成的组: 苯基、苯酚-4-基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基。

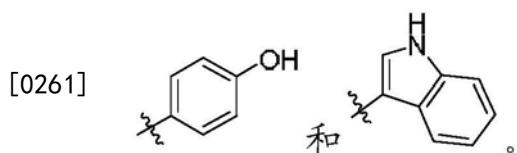
[0258] 在一些实施方案中, R₁选自由以下组成的组:



[0259]



[0260] 在一些实施方案中, R₁选自由以下组成的组:



[0262] 在一些实施方案中, R₁选自由以下组成的组: 苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基。

[0263] 在一些实施方案中, L选自由以下组成的组: -NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-和-O(CR_{8a}R_{8b})_n-。

[0264] 在一些实施方案中, L选自由以下组成的组: -NH(CH₂)₂-和-O(CH₂)₂-。

[0265] 在一些实施方案中, R₂是氢。

[0266] 在一些实施方案中, R₃选自由以下组成的组: 任选地被取代的芳基和任选地被取代的杂芳基。

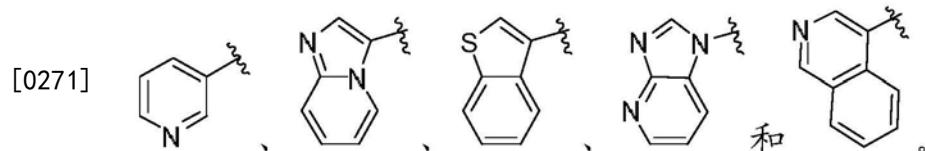
[0267] 在一些实施方案中, R₃选自由以下组成的组: 苯基、苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、喹啉基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基, 其中苯基、苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、喹啉基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基或噻唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代: 氰基、羟基、C1-4烷

基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}，并且其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组：氢和C₁₋₄烷基。

[0268] 在一些实施方案中，R₃选自由以下组成的组：噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基和噻唑-5-基，其中噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基或噻唑-5-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代：氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0269] 在一些实施方案中，R₃选自由以下组成的组：噻吩-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、吡啶-3-基、嘧啶-5-基、1H-咪唑-1-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基和咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基，其中噻吩-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、吡啶-3-基、嘧啶-5-基、1H-咪唑-1-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基或咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代：氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

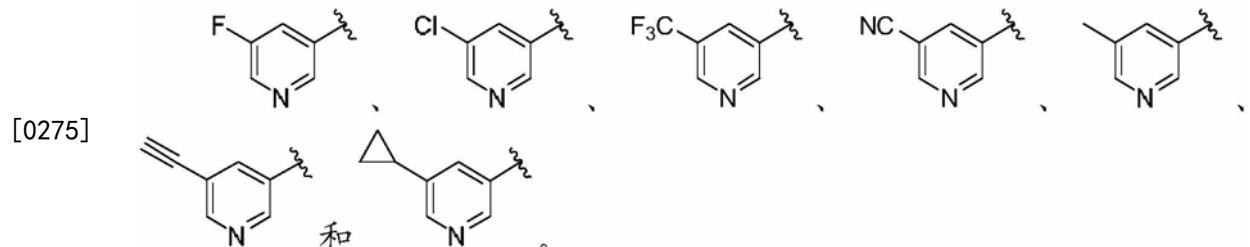
[0270] 在一些实施方案中，R₃选自由任选地被取代的以下组成的组：



[0272] 在一些实施方案中，R₃是吡啶-3-基，其中吡啶-3-基任选地在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代：C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0273] 在一些实施方案中，吡啶-3-基在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代：乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

[0274] 在一些实施方案中，R₃选自由以下组成的组：



[0276] 在一些实施方案中，R₃是咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基，其中咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代：C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)

OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0277] 在一些实施方案中,R₃是苯并[b]噻吩-3-基,其中苯并[b]噻吩-3-基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0278] 在一些实施方案中,R₃是1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基,其中1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0279] 在一些实施方案中,R₃是异喹啉-4-基,其中异喹啉-4-基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0280] 在一些实施方案中,R₄是氢。

[0281] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基。

[0282] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:异丙基、甲基、乙基、丙-1-烯-2-基、异丁基、环己基、仲丁基、(S)-仲丁基、(R)-仲丁基、1-羟基丙烷-2-基、(S)-1-羟基丙烷-2-基、(R)-1-羟基丙烷-2-基和壬烷-2-基。

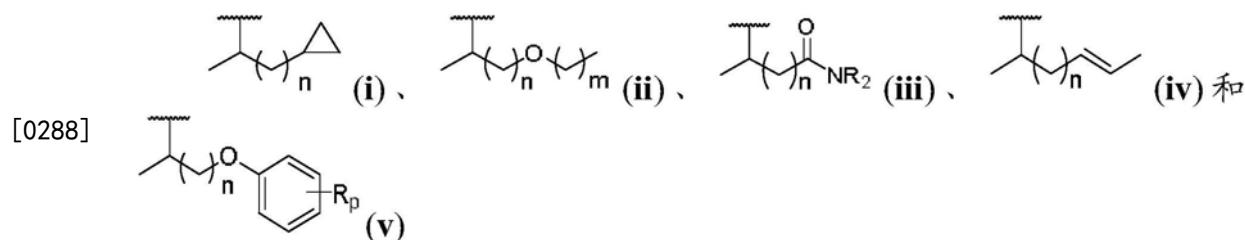
[0283] 在一些实施方案中,R₅是(S)-1-羟基丙烷-2-基。

[0284] 在一些实施方案中,R₅是(R)-1-羟基丙烷-2-基。

[0285] 在一些实施方案中,R₅是(S)-仲丁基。

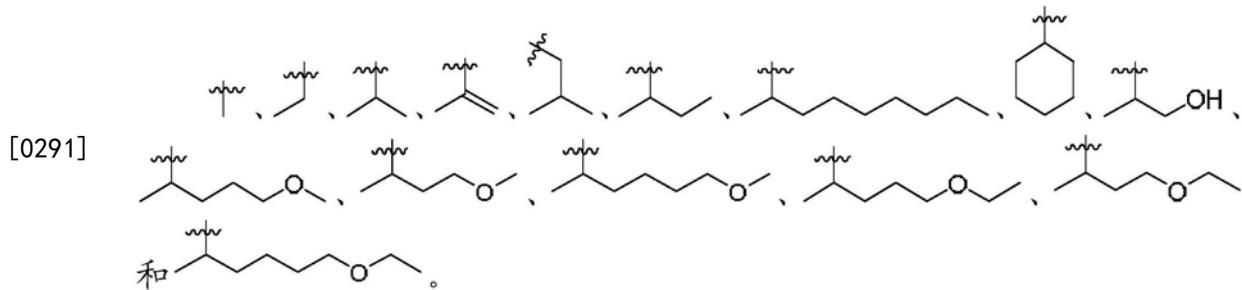
[0286] 在一些实施方案中,R₅是(R)-仲丁基。

[0287] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0289] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基。

[0290] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:



[0292] 在一些实施方案中, R_5 是 (i)。

[0293] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组: 4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0294] 在一些实施方案中, R_5 是 (S)-4-甲氧基丁烷-2-基。

[0295] 在一些实施方案中, R_5 是 (R)-4-甲氧基丁烷-2-基。

[0296] 在一些实施方案中, R_5 是 (S)-5-甲氧基戊烷-2-基。

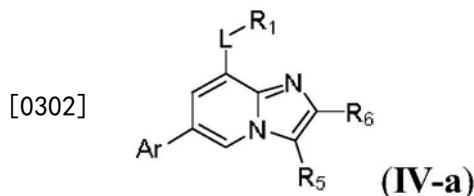
[0297] 在一些实施方案中, R_5 是 (R)-5-甲氧基戊烷-2-基。

[0298] 在一些实施方案中, R_5 是 (S)-4-乙氧基丁烷-2-基。

[0299] 在一些实施方案中, R_5 是 (R)-4-乙氧基丁烷-2-基。

[0300] 在一些实施方案中, R_6 是氢。

[0301] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式 (IV-a) 表示的化合物或其盐



[0303] 其中 L 是选自由以下组成的组的接头: $-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-S(O)_0-2(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(S(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-OC(O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-OC(S(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(O)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(O)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-C(S)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-S(O)_2NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}S(O)_2(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 、 $-NR_{7a}C(O)NR_{7b}(CR_{8a}R_{8b})_n-$ 和 $-NR_{7a}C(O)O(CR_{8a}R_{8b})_n-$, 其中 R_{7a} 、 R_{7b} 、 R_{8a} 和 R_{8b} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢和任选地被取代的 C1-4 烷基, 并且每个 n 独立地是从 2 至 6 的整数;

[0304] R_1 选自由以下组成的组: $-S(O)_2NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(S)R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)NR_{9b}R_{9c}$ 、 $-C(O)R_{9a}$ 、 $-C(S)R_{9a}$ 、 $-C(O)OR_{9a}$ 、 $-C(S)OR_{9a}$ 、 $-C(O)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-C(S)NR_{9a}R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}S(O)_2R_{9b}$ 、 $-NR_{9a}C(O)OR_{9b}$ 、 $-OC(O)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、 $-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}$ 、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基, 其中 R_{9a} 、 R_{9b} 和 R_{9c} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选

地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基(例如, R_1 可以选自由以下组成的组: 苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基, 其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代: 氰基、羟基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、卤素取代的 C_{1-4} 烷基、卤素取代的 C_{1-4} 烷氧基、氨基、 $-O(CH_2)_2NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-S(O)_2NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-OS(O)_2NR_{10a}R_{10b}$ 和 $-NR_{10a}S(O)_2R_{10b}$, 其中 R_{10a} 和 R_{10b} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基);

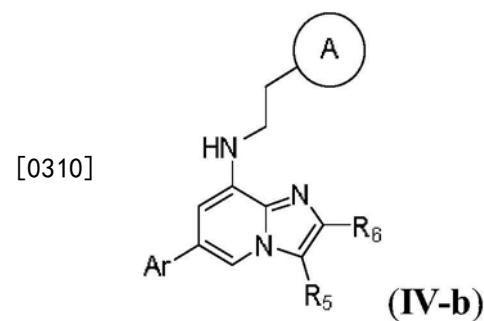
[0305] Ar 选自由以下组成的组: 任选地被取代的单环芳基和杂芳基, 诸如任选地被取代的苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基;

[0306] R_5 选自由以下组成的组: 任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基; 并且

[0307] R_6 选自由以下组成的组: 氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0308] 在一些实施方案中, Ar 是吡啶-3-基, 其中吡啶-3-基任选地在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代: 乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

[0309] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式(IV-b)表示的化合物或其盐



[0311] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统: 苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基, 其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代: 氰基、羟基、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 烷氧基、卤素、卤素取代的 C_{1-4} 烷基、卤素取代的 C_{1-4} 烷氧基、氨基、 $-O(CH_2)_2NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-S(O)_2NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-OS(O)_2NR_{10a}R_{10b}$ 和 $-NR_{10a}S(O)_2R_{10b}$, 其中 R_{10a} 和 R_{10b} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

[0312] Ar选自由以下组成的组:任选地被取代的单环芳基和杂芳基,诸如任选地被取代的苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基;

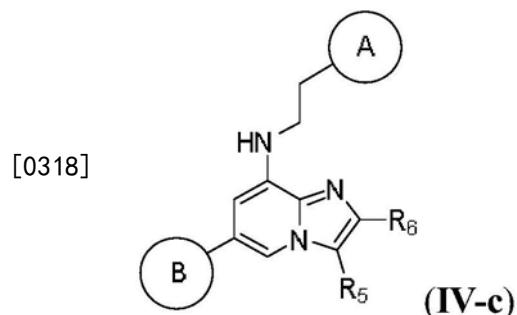
[0313] R₅选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;并且

[0314] R₆选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0315] 在一些实施方案中,A选自由以下组成的组:苯基、苯酚-4-基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基。

[0316] 在一些实施方案中,A选自由以下组成的组:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基。

[0317] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(IV-c)表示的化合物或其盐



[0319] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲哚基,其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲哚基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b},其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

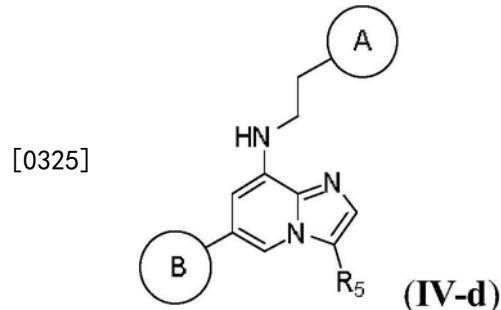
[0320] B是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基,其中苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、1H-咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基或噻唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(O)R_{11a}、-S(O)₂R_{11a}、-C(O)OR_{11a}和-C(O)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C1-4烷基;

[0321] R_5 选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;并且

[0322] R_6 选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0323] 在一些实施方案中, B是吡啶-3-基, 其中吡啶-3-基任选地在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代:乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

[0324] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式 (IV-d) 表示的化合物或其盐

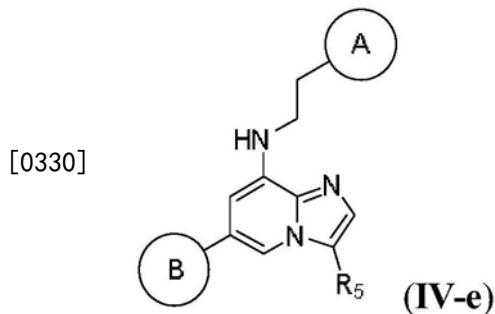


[0326] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基, 其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-0(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(0)NR_{10a}R_{10b}、-OS(0)NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(0)R_{10b}, 其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

[0327] B是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基, 其中苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、1H-咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基或噻唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}, 其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C1-4烷基;并且

[0328] R_5 选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

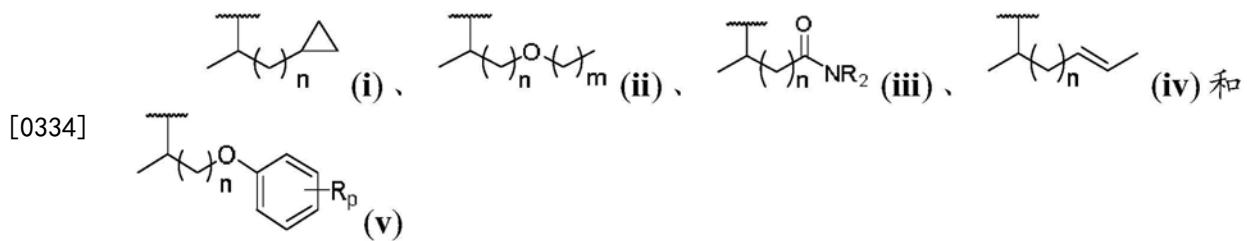
[0329] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式 (IV-e) 表示的化合物或其盐



[0331] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基,其中苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基或2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b},其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

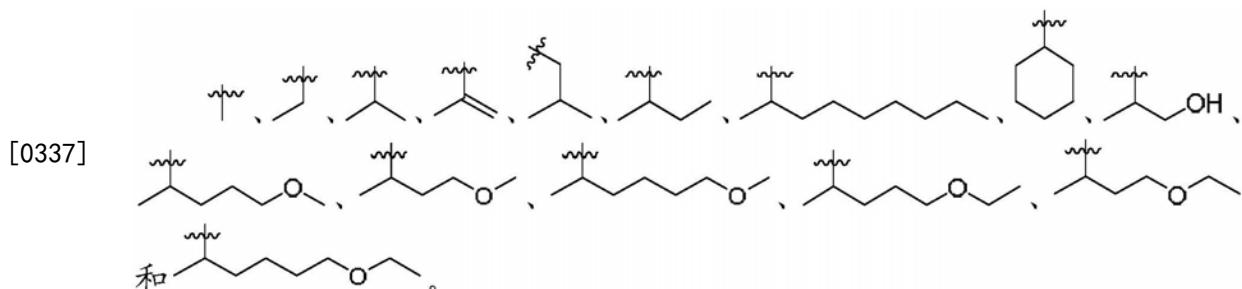
[0332] B是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基和噻唑-5-基,其中噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基或噻唑-5-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(O)R_{11a}、-S(O)₂R_{11a}、-C(O)OR_{11a}和-C(O)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C1-4烷基;并且

[0333] R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基,或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0335] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

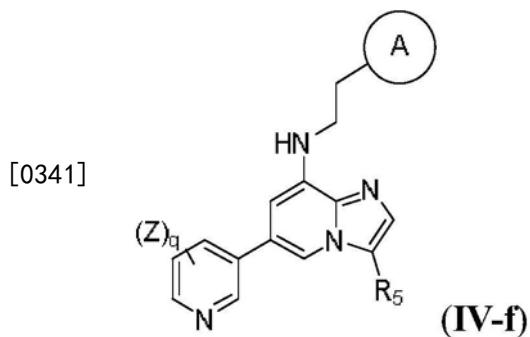
[0336] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:



[0338] 在一些实施方案中,R₅是(i) ;

[0339] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0340] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(IV-f)表示的化合物或其盐

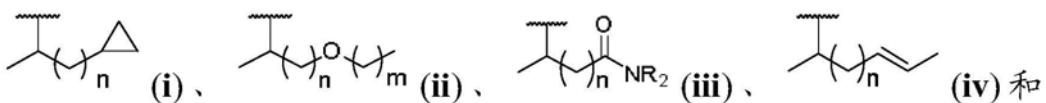


[0342] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

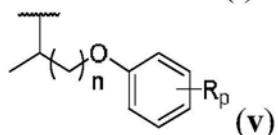
[0343] q是从0至4的整数;

[0344] 每个Z独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;并且

[0345] R_5 选自由以下组成的组:异丙基、甲基、乙基、丙-1-烯-2-基、异丁基、环己基、仲丁基、(S)-仲丁基、(R)-仲丁基、1-羟基丙烷-2-基、(S)-1-羟基丙烷-2-基、(R)-1-羟基丙烷-2-基和壬烷-2-基,或者 R_5 选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)

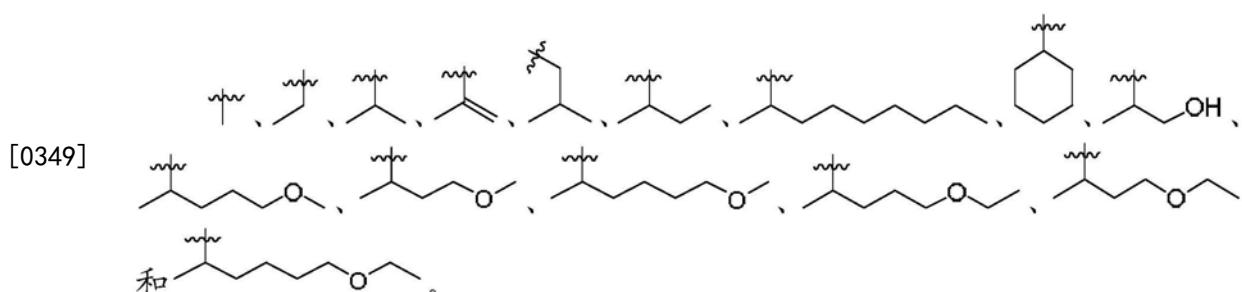


[0346]



[0347] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

[0348] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:

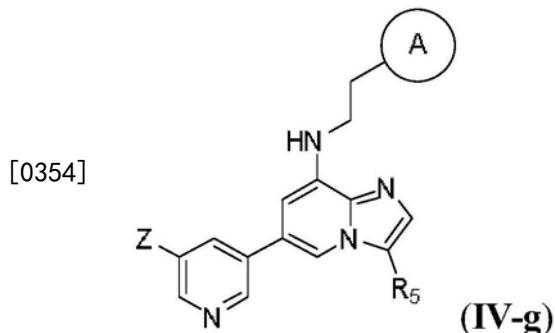


[0350] 在一些实施方案中, R_5 是(ii);

[0351] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0352] 在一些实施方案中,每个Z独立地是选自由以下组成的组的取代基:乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

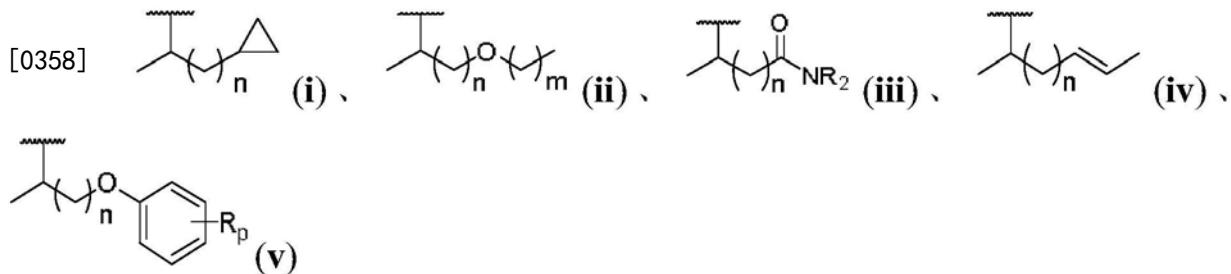
[0353] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(IV-g)表示的化合物或其盐



[0355] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

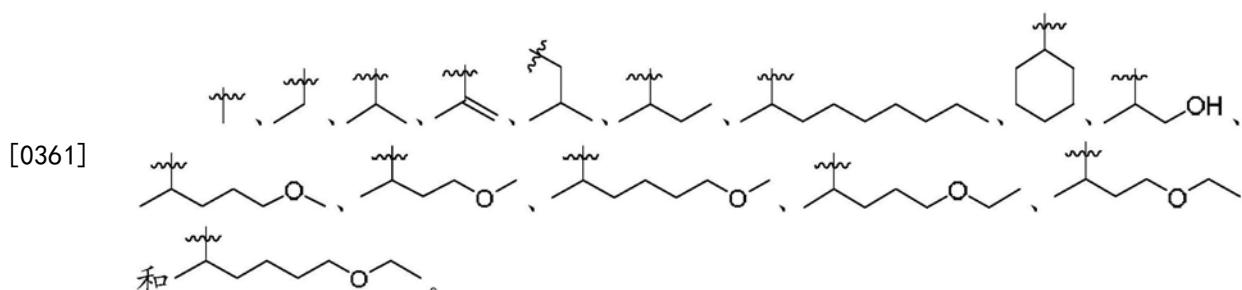
[0356] Z是选自由以下组成的组的取代基: C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}, 其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组: 氢和C₁₋₄烷基; 并且

[0357] R₅选自由以下组成的组: 异丙基、甲基、乙基、丙-1-烯-2-基、异丁基、环己基、仲丁基、(S)-仲丁基、(R)-仲丁基、1-羟基丙烷-2-基、(S)-1-羟基丙烷-2-基、(R)-1-羟基丙烷-2-基和壬烷-2-基, 或者R₅选自由以下组成的组: (i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0359] 其中n是从1至6的整数, m是从0至6的整数, p是从0至5的整数, 并且每个R独立地选自由以下组成的组: 氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b}, 并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组: 氢和C₁₋₄烷基;

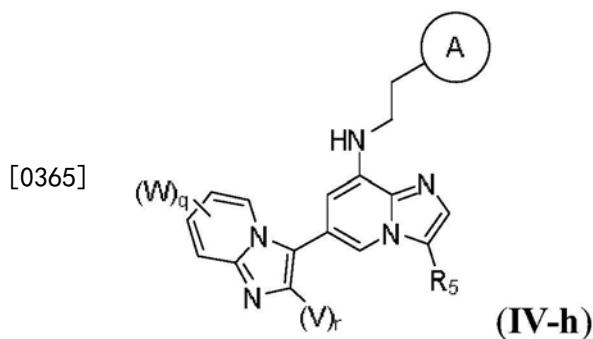
[0360] 在一些实施方案中, R₅选自由以下组成的组:



[0362] 在一些实施方案中, R₅是(i) ;

[0363] 在一些实施方案中, R₅选自由以下组成的组: 4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0364] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式(IV-h)表示的化合物或其盐



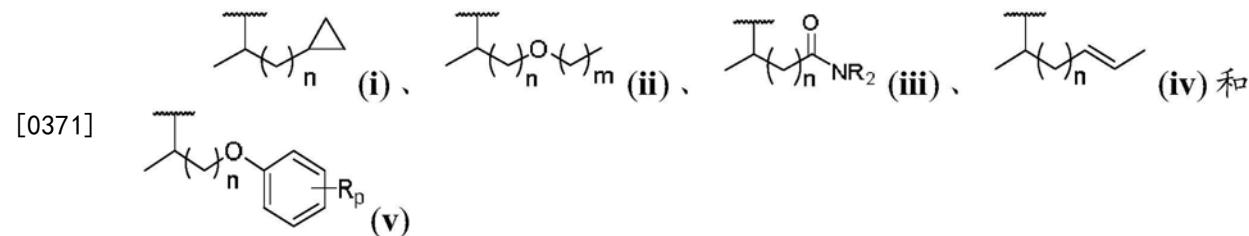
[0366] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统：苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基；

[0367] q是从0至4的整数；

[0368] r是0或1;

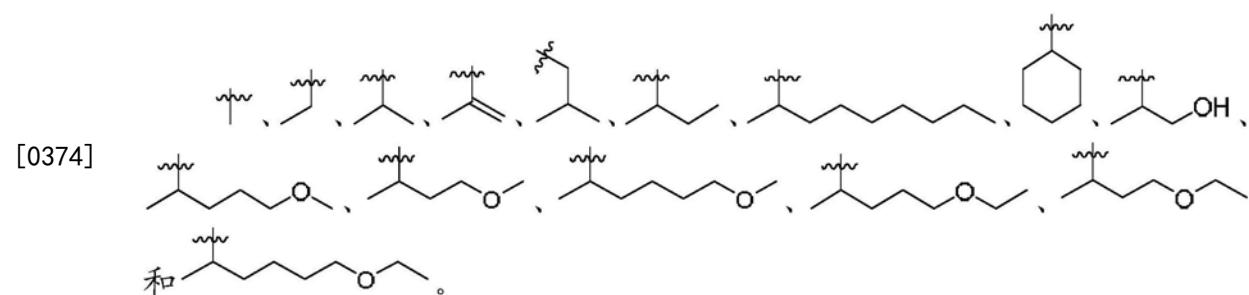
[0369] W和V各自独立地是选自由以下组成的组的取代基: C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(O)R_{11a}、-S(O)O-R_{11a}、-C(O)OR_{11a}和-C(O)NR_{11a}R_{11b}，其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组: 氢和C₁₋₄烷基；并且

[0370] R₅选自由以下组成的组: C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基) (苯基) 甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基) 乙基, 其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基) (苯基) 甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基) 乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代: 羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基, 或者R₅选自由以下组成的组: (i)、(ii)、(iii)、(iv) 和(v)



[0372] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(O)R_{12a}、-S(O)O-R_{12a}、-C(O)OR_{12a}和-C(O)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

[0373] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:

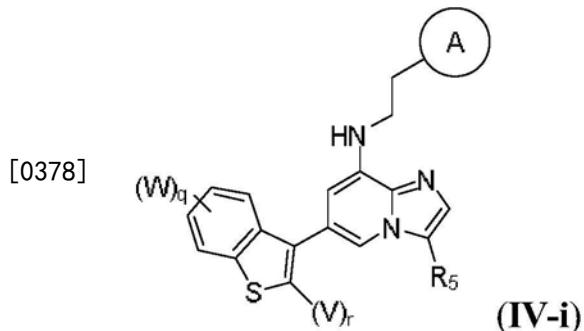


[0375] 在一些实施方案中, R_5 是 (i i);

[0376] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组: 4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己

烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0377] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(IV-i)表示的化合物或其盐



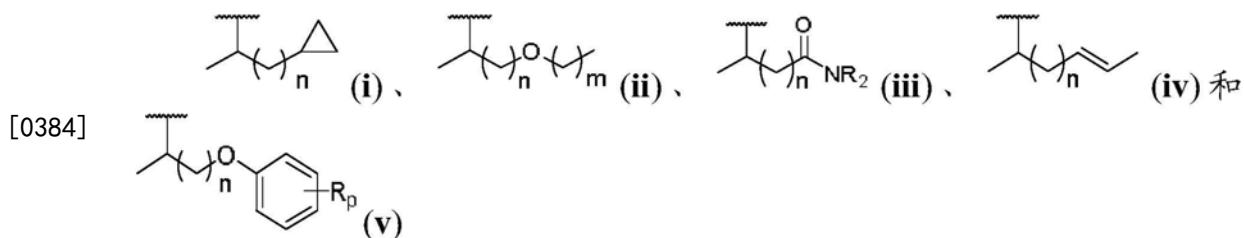
[0379] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

[0380] q是从0至4的整数;

[0381] r是0或1;

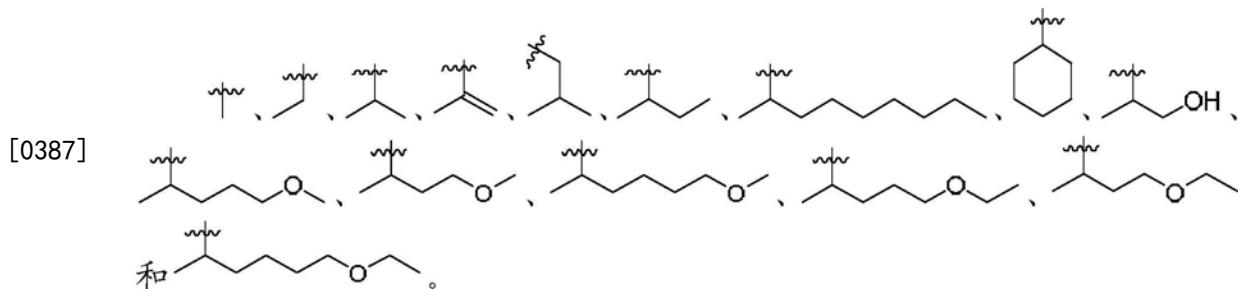
[0382] W和V各自独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;并且

[0383] R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基,或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0385] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

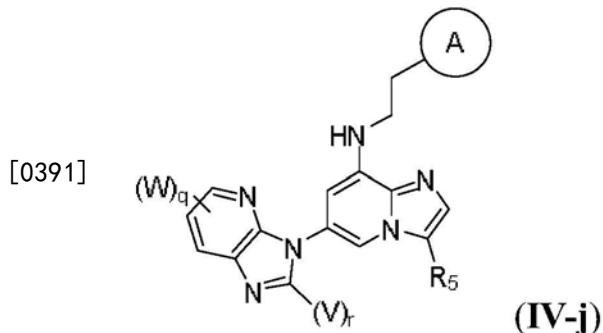
[0386] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:



[0388] 在一些实施方案中, R_5 是(i i) ;

[0389] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0390] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式(IV-j)表示的化合物或其盐



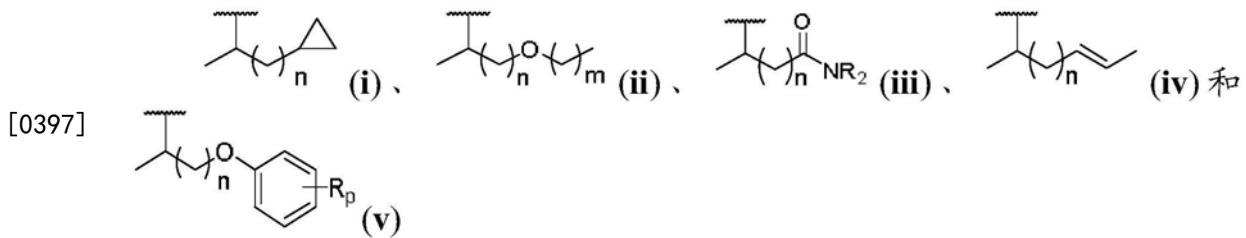
[0392] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

[0393] q是从0至4的整数;

[0394] r是0或1;

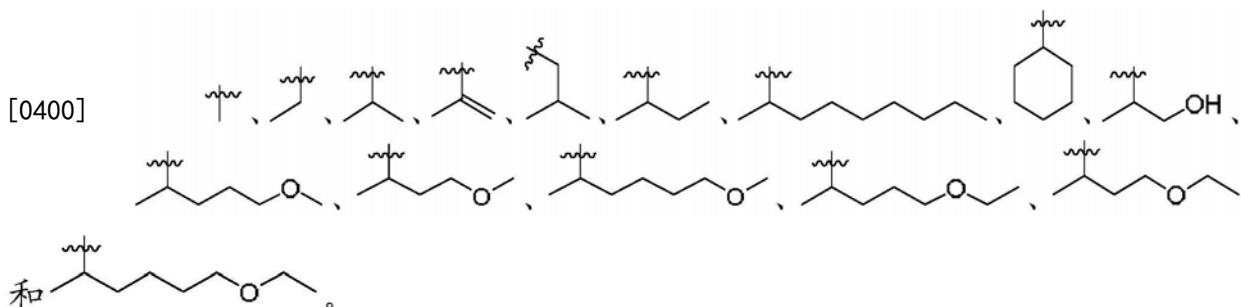
[0395] W和V各自独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}, 其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;并且

[0396] R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基, 其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基, 或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0398] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

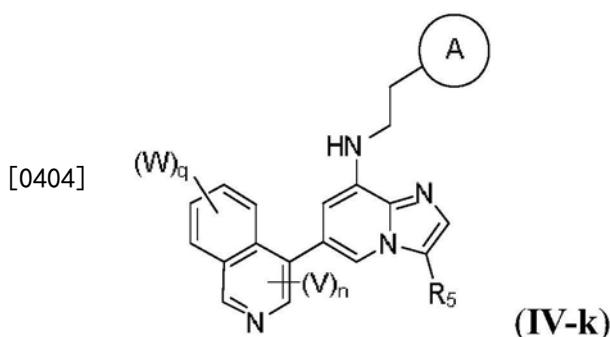
[0399] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:



[0401] 在一些实施方案中,R₅是(i i);

[0402] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0403] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(IV-k)表示的化合物或其盐



[0405] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

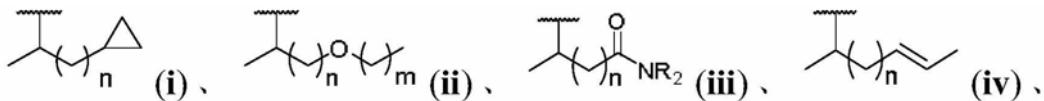
[0406] q是从0至4的整数;

[0407] r是0或1;

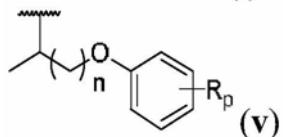
[0408] W和V各自独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},并且其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

2R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;并且

[0409] R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基,或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)

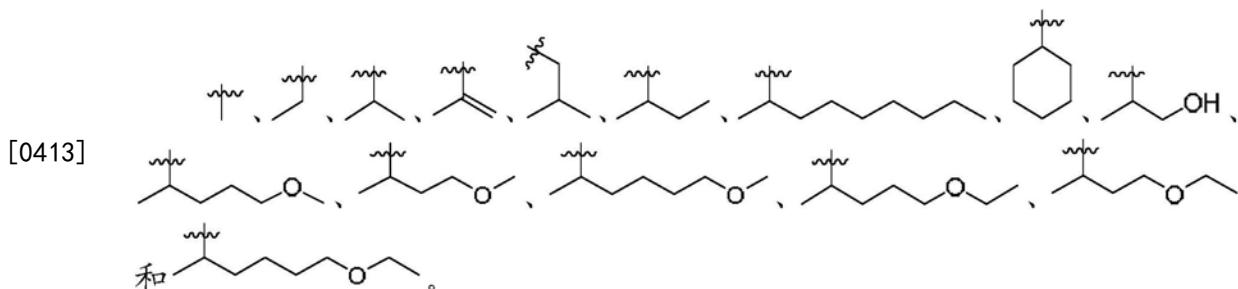


[0410]



[0411] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

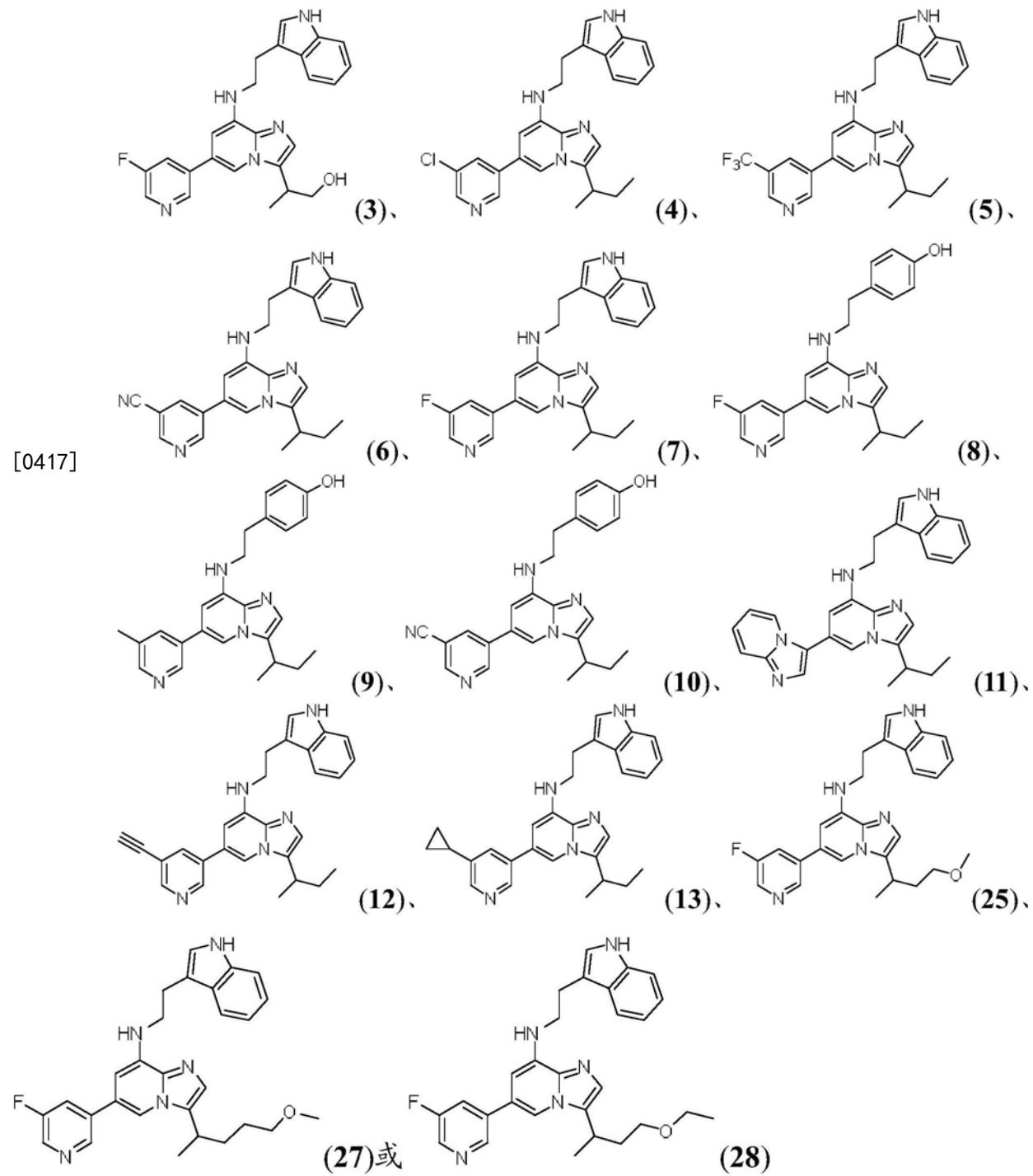
[0412] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:



[0414] 在一些实施方案中,R₅是(ii);

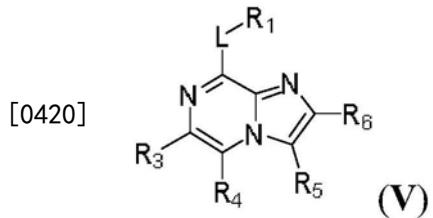
[0415] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0416] 在一些实施方案中,芳香烃受体拮抗剂是化合物(3)、化合物(4)、化合物(5)、化合物(6)、化合物(7)、化合物(8)、化合物(9)、化合物(10)、化合物(11)、化合物(12)、化合物(13)、化合物(25)、化合物(27)或化合物(28)



[0418] 或其盐。

[0419] 在一些实施方案中,芳香烃受体拮抗剂包括由式(V)表示的那些或其盐



NR_{7a}C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-S(0)₂NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}S(0)₂(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C(0)NR_{7b}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_nNR_{7a}-、-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_nO-、-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_nS-、-O(CR_{8a}R_{8b})_nNR_{7a}-、-O(CR_{8a}R_{8b})_nO-、-O(CR_{8a}R_{8b})_nS-、-S(CR_{8a}R_{8b})_nNR_{7a}-、-S(CR_{8a}R_{8b})_nO-、-S(CR_{8a}R_{8b})_nS-和-NR_{7a}C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-，其中R_{7a}、R_{7b}、R_{8a}和R_{8b}各自独立地选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C1-4烷基，并且每个n独立地是从2至6的整数；

[0422] R₁选自由以下组成的组：-S(0)₂NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}C(0)R_{9b}、-NR_{9a}C(S)R_{9b}、-NR_{9a}C(0)NR_{9b}R_{9c}、-C(0)R_{9a}、-C(S)R_{9a}、-S(0)₀₋₂R_{9a}、-C(0)OR_{9a}、-C(S)OR_{9a}、-C(0)NR_{9a}R_{9b}、-C(S)NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}S(0)₂R_{9b}、-NR_{9a}C(0)OR_{9b}、-OC(0)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基，其中R_{9a}、R_{9b}和R_{9c}各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

[0423] R₃选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；

[0424] R₄选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C1-4烷基；

[0425] R₅选自由以下组成的组：任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；并且

[0426] R₆选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0427] 在一些实施方案中，R₁选自由以下组成的组：-S(0)₂NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}C(0)R_{9b}、-NR_{9a}C(S)R_{9b}、-NR_{9a}C(0)NR_{9b}R_{9c}、-C(0)R_{9a}、-C(S)R_{9a}、-S(0)₀₋₂R_{9a}、-C(0)OR_{9a}、-C(S)OR_{9a}、-C(0)NR_{9a}R_{9b}、-C(S)NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}S(0)₂R_{9b}、-NR_{9a}C(0)OR_{9b}、-OC(0)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基，其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代：氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(0)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(0)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(0)₂R_{10b}，其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组：氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0428] 在一些实施方案中，R₁选自由以下组成的组：-S(0)₂NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}C(0)R_{9b}、-NR_{9a}C(S)R_{9b}、-NR_{9a}C(0)NR_{9b}R_{9c}、-C(0)R_{9a}、-C(S)R_{9a}、-S(0)₀₋₂R_{9a}、-C(0)OR_{9a}、-C(S)OR_{9a}、-C(0)NR_{9a}R_{9b}、-C(S)NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}S(0)₂R_{9b}、-NR_{9a}C(0)OR_{9b}、-OC(0)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}和-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}。

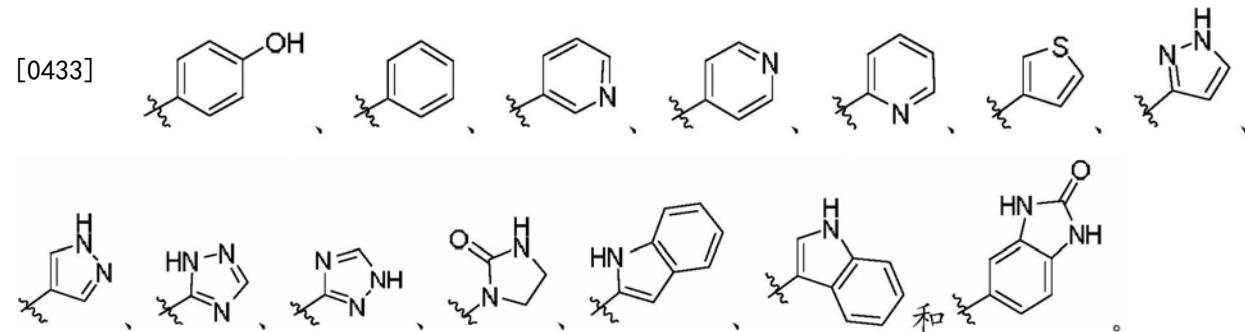
[0429] 在一些实施方案中，R₁选自由以下组成的组：苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并

咪唑基和1H-吲唑基,其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b}。

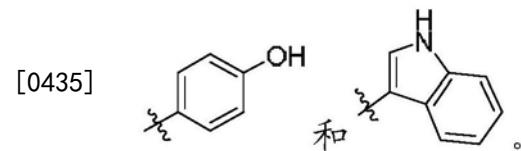
[0430] 在一些实施方案中,R₁选自由以下组成的组:苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基,其中苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基或2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b}。

[0431] 在一些实施方案中,R₁选自由以下组成的组:苯基、苯酚-4-基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基。

[0432] 在一些实施方案中,R₁选自由以下组成的组:



[0434] 在一些实施方案中,R₁选自由以下组成的组:



[0436] 在一些实施方案中,R₁选自由以下组成的组:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基。

[0437] 在一些实施方案中,L选自由以下组成的组:-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-和-O(CR_{8a}R_{8b})_n-。

[0438] 在一些实施方案中,L选自由以下组成的组:-NH(CH₂)₂-和-O(CH₂)₂-。

[0439] 在一些实施方案中,R₃选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基和任选地被取代的杂芳基。

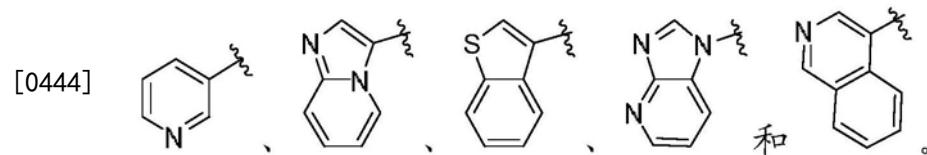
[0440] 在一些实施方案中,R₃选自由以下组成的组:苯基、苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、喹啉基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基,其中苯基、苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、喹啉基、异喹啉基、

咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基或噻唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},并且其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基。

[0441] 在一些实施方案中,R₃选自由以下组成的组:噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基和噻唑-5-基,其中噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基或噻唑-5-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0442] 在一些实施方案中,R₃选自由以下组成的组:噻吩-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、吡啶-3-基、嘧啶-5-基、1H-咪唑-1-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基和咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基,其中噻吩-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、吡啶-3-基、嘧啶-5-基、1H-咪唑-1-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基或咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

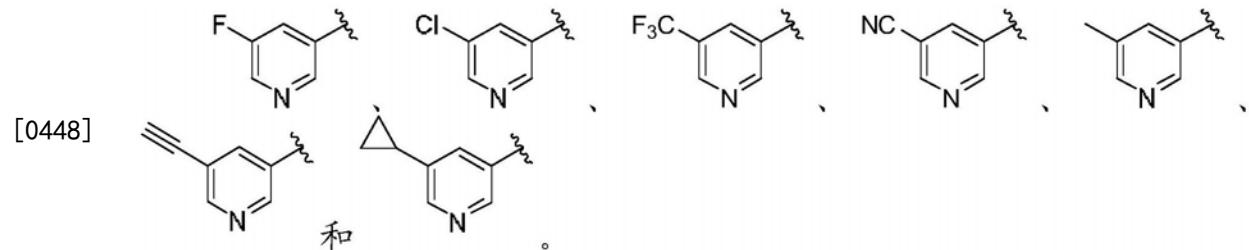
[0443] 在一些实施方案中,R₃选自由任选地被取代的以下组成的组:



[0445] 在一些实施方案中,R₃是吡啶-3-基,其中吡啶-3-基任选地在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0446] 在一些实施方案中,吡啶-3-基在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代:乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

[0447] 在一些实施方案中,R₃选自由以下组成的组:



[0449] 在一些实施方案中,R₃是咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基,其中咪唑并[1,2-a]吡啶-3-

基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代: C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0450] 在一些实施方案中,R₃是苯并[b]噻吩-3-基,其中苯并[b]噻吩-3-基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代: C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0451] 在一些实施方案中,R₃是1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基,其中1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代: C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0452] 在一些实施方案中,R₃是异喹啉-4-基,其中异喹啉-4-基任选地被例如选自由以下组成的组的取代基取代: C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}。

[0453] 在一些实施方案中,R₄是氢。

[0454] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组: C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代: 羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基。

[0455] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组: 异丙基、甲基、乙基、丙-1-烯-2-基、异丁基、环己基、仲丁基、(S)-仲丁基、(R)-仲丁基、1-羟基丙烷-2-基、(S)-1-羟基丙烷-2-基、(R)-1-羟基丙烷-2-基和壬烷-2-基。

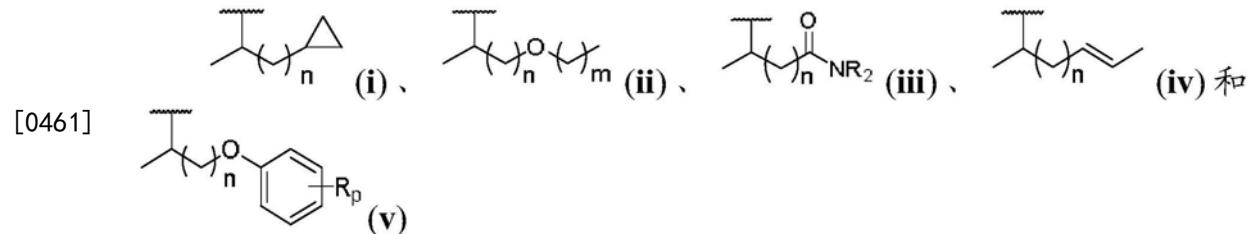
[0456] 在一些实施方案中,R₅是(S)-1-羟基丙烷-2-基。

[0457] 在一些实施方案中,R₅是(R)-1-羟基丙烷-2-基。

[0458] 在一些实施方案中,R₅是(S)-仲丁基。

[0459] 在一些实施方案中,R₅是(R)-仲丁基。

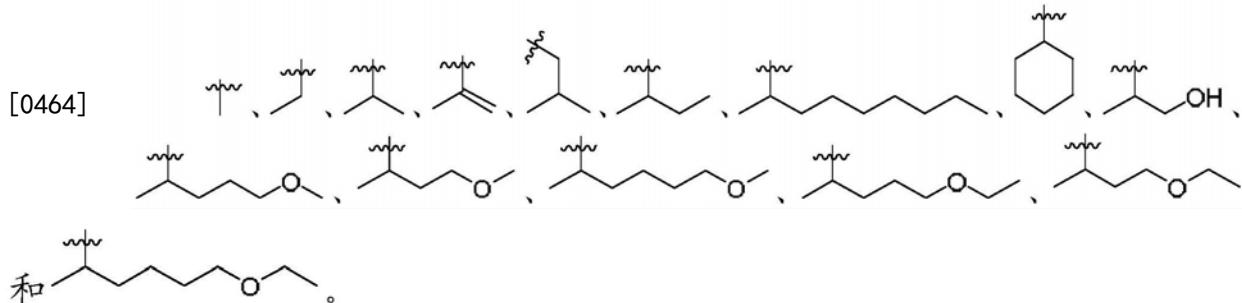
[0460] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组: (i)、(ii)、(iii)、(iv) 和 (v)



[0462] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组: 氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、

卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b}，并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组：氢和C₁₋₄烷基。

[0463] 在一些实施方案中，R₅选自由以下组成的组：



[0465] 在一些实施方案中，R₅是(i)。

[0466] 在一些实施方案中，R₅选自由以下组成的组：4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0467] 在一些实施方案中，R₅是(S)-4-甲氧基丁烷-2-基。

[0468] 在一些实施方案中，R₅是(R)-4-甲氧基丁烷-2-基。

[0469] 在一些实施方案中，R₅是(S)-5-甲氧基戊烷-2-基。

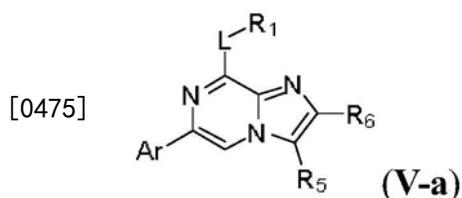
[0470] 在一些实施方案中，R₅是(R)-5-甲氧基戊烷-2-基。

[0471] 在一些实施方案中，R₅是(S)-4-乙氧基丁烷-2-基。

[0472] 在一些实施方案中，R₅是(R)-4-乙氧基丁烷-2-基。

[0473] 在一些实施方案中，R₆是氢。

[0474] 在一些实施方案中，本公开内容的特征在于由式(V-a)表示的化合物或其盐



[0476] 其中L是选自由以下组成的组的接头：-NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-S(0)O₀₋₂(CR_{8a}R_{8b})_n-、-(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC(0)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-OC(S)(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-C(S)O(CR_{8a}R_{8b})_n-、-S(0)NR_{7a}(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}S(0)O₂(CR_{8a}R_{8b})_n-、-NR_{7a}C(0)NR_{7b}(CR_{8a}R_{8b})_n-和-NR_{7a}C(0)O(CR_{8a}R_{8b})_n-，其中R_{7a}、R_{7b}、R_{8a}和R_{8b}各自独立地选自由以下组成的组：氢和任选地被取代的C₁₋₄烷基，并且每个n独立地是从2至6的整数；

[0477] R₁选自由以下组成的组：-S(0)NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}C(0)R_{9b}、-NR_{9a}C(S)R_{9b}、-NR_{9a}C(0)NR_{9b}R_{9c}、-C(0)R_{9a}、-C(S)R_{9a}、-S(0)O₀₋₂R_{9a}、-C(0)OR_{9a}、-C(S)OR_{9a}、-C(0)NR_{9a}R_{9b}、-C(S)NR_{9a}R_{9b}、-NR_{9a}S(0)R_{9b}、-NR_{9a}C(0)OR_{9b}、-OC(0)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、-OC(S)CR_{9a}R_{9b}R_{9c}、任选地被取代的芳基、任选

地被取代的杂芳基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基,其中R_{9a}、R_{9b}和R_{9c}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基(例如,R₁可以选自由以下组成的组:苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基,其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、卤素、卤素取代的C₁₋₄烷基、卤素取代的C₁₋₄烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b},其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基)；

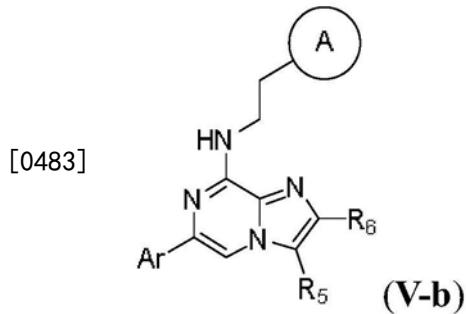
[0478] Ar选自由以下组成的组:任选地被取代的单环芳基和杂芳基,诸如任选地被取代的苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基；

[0479] R₅选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基；并且

[0480] R₆选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0481] 在一些实施方案中,Ar是吡啶-3-基,其中吡啶-3-基任选地在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代:乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

[0482] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(V-b)表示的化合物或其盐



[0484] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲唑基,其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、卤素、卤素取代的C₁₋₄烷基、卤素取代的C₁₋₄烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)₂NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)₂R_{10b},其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成

的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

[0485] Ar选自由以下组成的组:任选地被取代的单环芳基和杂芳基,诸如任选地被取代的苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基;

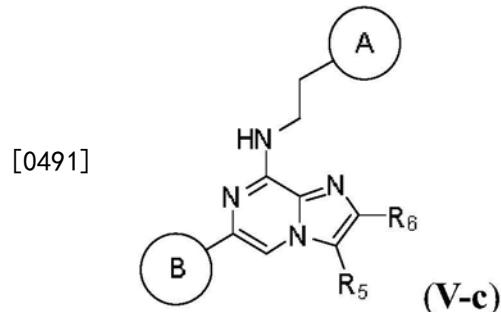
[0486] R₅选自由以下组成的组:任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;并且

[0487] R₆选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0488] 在一些实施方案中,A选自由以下组成的组:苯基、苯酚-4-基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基。

[0489] 在一些实施方案中,A选自由以下组成的组:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基。

[0490] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(V-c)表示的化合物或其盐



[0492] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-吲哚基,其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-吲哚基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-0(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(O)NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)R_{10b},其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

[0493] B是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基,其中苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、1H-咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基或噻唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(O)NR_{10a}R_{10b}、-S(O)NR_{10a}R_{10b}、-OS(O)NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(O)R_{10b},其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

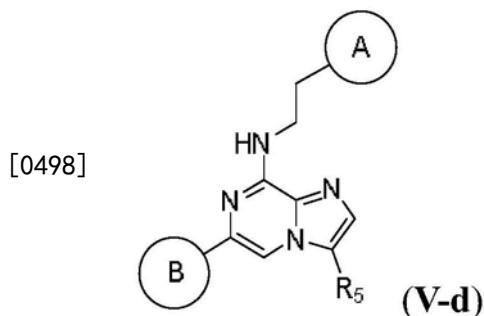
R_{11a} 、 $-S(O)_{0-2}R_{11a}$ 、 $-C(O)OR_{11a}$ 和 $-C(O)NR_{11a}R_{11b}$, 其中 R_{11a} 和 R_{11b} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢和C₁₋₄烷基;

[0494] R_5 选自由以下组成的组: 任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基; 并且

[0495] R_6 选自由以下组成的组: 氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

[0496] 在一些实施方案中, B是吡啶-3-基, 其中吡啶-3-基任选地在C5处被例如选自由以下组成的组的取代基取代: 乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

[0497] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式 (V-d) 表示的化合物或其盐

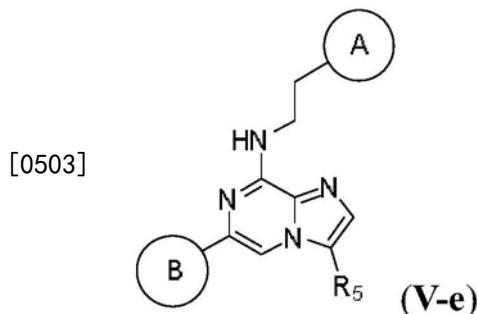


[0499] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统: 苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基和1H-𫫇唑基, 其中苯基、1H-吡咯并吡啶基、1H-吲哚基、苯硫基、吡啶基、1H-1,2,4-三唑基、2-氧代咪唑烷基、1H-吡唑基、2-氧-2,3-二氢-1H-苯并咪唑基或1H-𫫇唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代: 氰基、羟基、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基、卤素、卤素取代的C₁₋₄烷基、卤素取代的C₁₋₄烷氧基、氨基、 $-O(CH_2)_2NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-S(O)_{2}NR_{10a}R_{10b}$ 、 $-OS(O)_{2}NR_{10a}R_{10b}$ 和 $-NR_{10a}S(O)_{2}R_{10b}$, 其中 R_{10a} 和 R_{10b} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

[0500] B是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统: 苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基和噻唑基, 其中苯硫基、呋喃基、1H-苯并咪唑基、异喹啉基、1H-咪唑并吡啶基、苯并苯硫基、嘧啶基、吡啶基、1H-咪唑基、吡嗪基、哒嗪基、1H-吡咯基或噻唑基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代: 氰基、羟基、C₁₋₄烷基、C₂₋₄烯基、C₂₋₄炔基、C₃₋₆环烷基、C₁₋₄烷氧基、卤素、卤素取代的C₁₋₄烷基、卤素取代的C₁₋₄烷氧基、氨基、 $-C(O)R_{11a}$ 、 $-S(O)_{0-2}R_{11a}$ 、 $-C(O)OR_{11a}$ 和 $-C(O)NR_{11a}R_{11b}$, 其中 R_{11a} 和 R_{11b} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢和C₁₋₄烷基; 并且

[0501] R_5 选自由以下组成的组: 任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基。

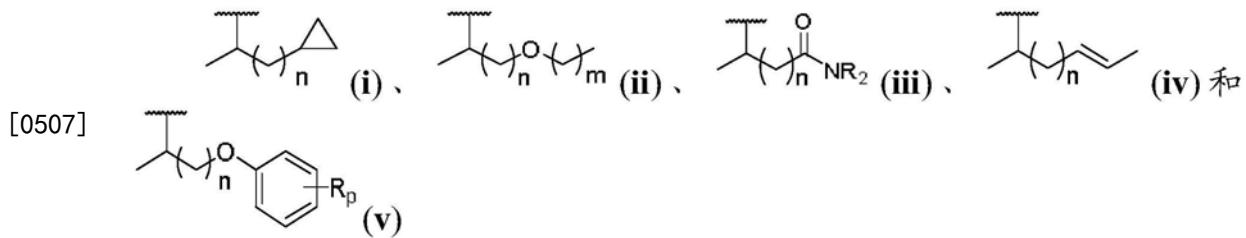
[0502] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式 (V-e) 表示的化合物或其盐



[0504] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基和2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基,其中苯基、1H-吲哚-2-基、1H-吲哚-3-基、噻吩-3-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-1,2,4-三唑-3-基、1H-1,2,4-三唑-5-基、2-氧代咪唑烷-1-基、1H-吡唑-3-基、1H-吡唑-4-基或2-氧-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-O(CH₂)₂NR_{10a}R_{10b}、-S(0)NR_{10a}R_{10b}、-OS(0)NR_{10a}R_{10b}和-NR_{10a}S(0)R_{10b},其中R_{10a}和R_{10b}各自独立地选自由以下组成的组:氢、任选地被取代的芳基、任选地被取代的杂芳基、任选地被取代的烷基、任选地被取代的杂烷基、任选地被取代的环烷基和任选地被取代的杂环烷基;

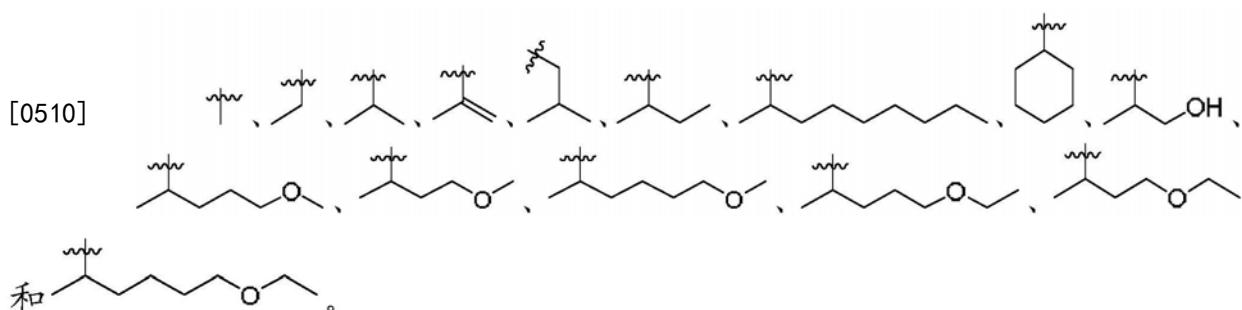
[0505] B是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、咪唑并[1,2-a]吡啶-3-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基和噻唑-5-基,其中噻吩-2-基、噻吩-3-基、呋喃-3-基、1H-苯并[d]咪唑-1-基、异喹啉-4-基、1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-1-基、苯并[b]噻吩-3-基、嘧啶-5-基、吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基、1H-咪唑-1-基、吡嗪-2-基、哒嗪-4-基、1H-吡咯-2-基或噻唑-5-基任选地被例如从1个至3个独立地选自由以下组成的组的取代基取代:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C1-4烷基;并且

[0506] R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基,或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0508] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

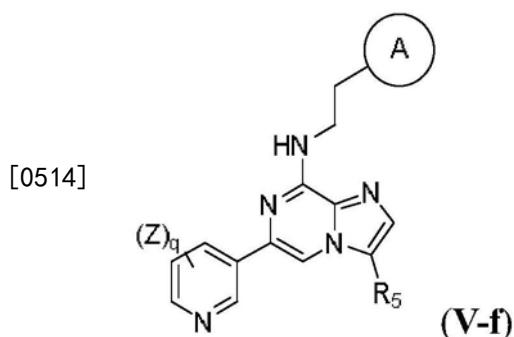
[0509] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:



[0511] 在一些实施方案中,R₅是(i i);

[0512] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0513] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(V-f)表示的化合物或其盐



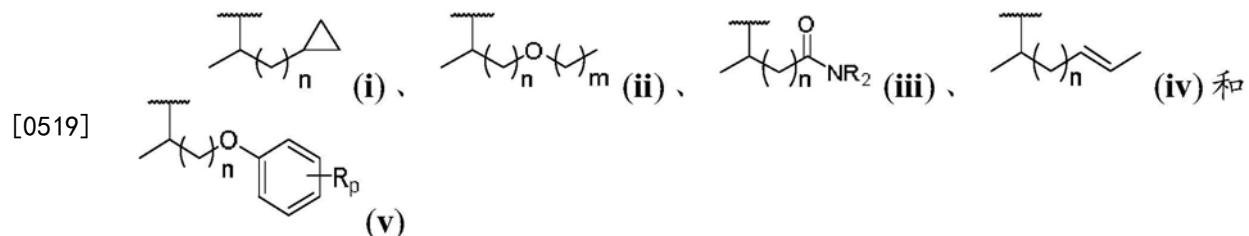
[0515] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

[0516] q是从0至4的整数;

[0517] 每个Z独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;并

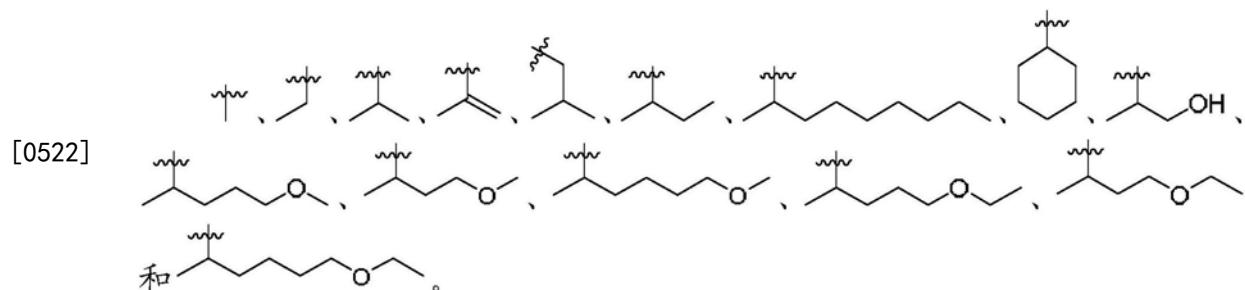
且

[0518] R_5 选自由以下组成的组:异丙基、甲基、乙基、丙-1-烯-2-基、异丁基、环己基、仲丁基、(S)-仲丁基、(R)-仲丁基、1-羟基丙烷-2-基、(S)-1-羟基丙烷-2-基、(R)-1-羟基丙烷-2-基和壬烷-2-基,或者 R_5 选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0520] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、 $-C(O)R_{12a}$ 、 $-S(O)_{0-2}R_{12a}$ 、 $-C(O)OR_{12a}$ 和 $-C(O)NR_{12a}R_{12b}$,并且其中 R_{12a} 和 R_{12b} 各自独立地选自由以下组成的组:氢和C1-4烷基;

[0521] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:

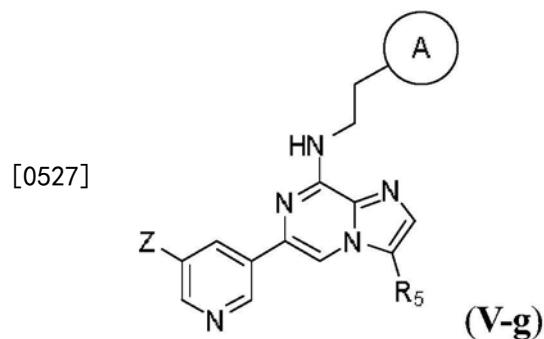


[0523] 在一些实施方案中, R_5 是(ii);

[0524] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0525] 在一些实施方案中,每个Z独立地是选自由以下组成的组的取代基:乙氧基羰基、甲氧基、氰基、甲基、甲基磺酰基、氟、氯、三氟甲基、乙炔基和环丙基。

[0526] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(V-g)表示的化合物或其盐

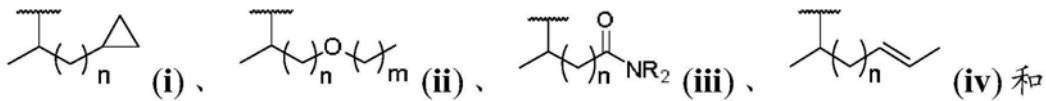


[0528] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-

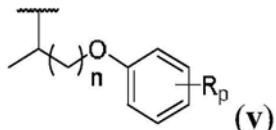
基；

[0529] Z是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b}，其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基；并且

[0530] R₅选自由以下组成的组:异丙基、甲基、乙基、丙-1-烯-2-基、异丁基、环己基、仲丁基、(S)-仲丁基、(R)-仲丁基、1-羟基丙烷-2-基、(S)-1-羟基丙烷-2-基、(R)-1-羟基丙烷-2-基和壬烷-2-基，或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)

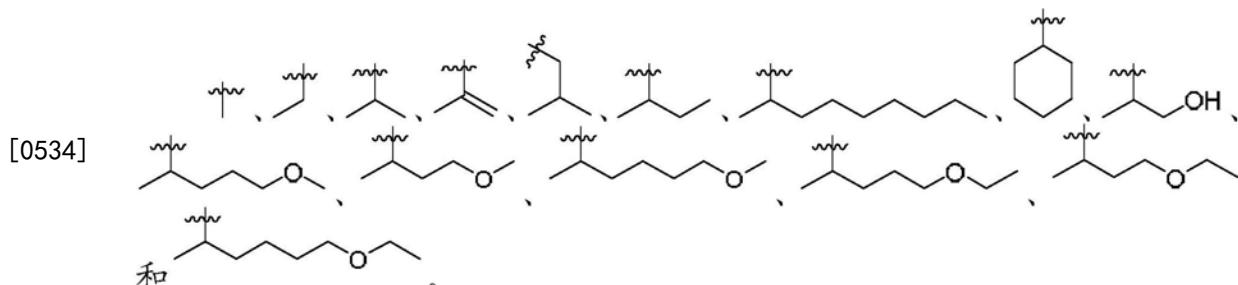


[0531]



[0532] 其中n是从1至6的整数，m是从0至6的整数，p是从0至5的整数，并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b}，并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基；

[0533] 在一些实施方案中，R₅选自由以下组成的组:

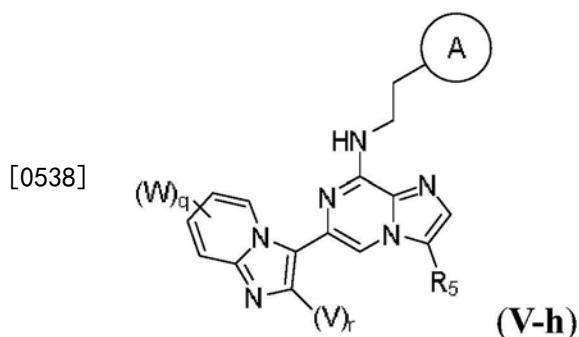


和

[0535] 在一些实施方案中，R₅是(i)；

[0536] 在一些实施方案中，R₅选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0537] 在一些实施方案中，本公开内容的特征在于由式(V-h)表示的化合物或其盐



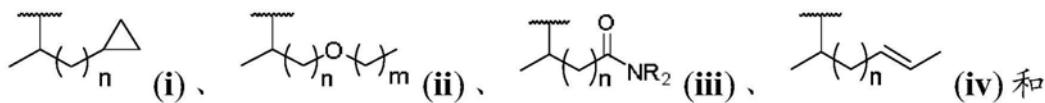
[0539] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

[0540] q是从0至4的整数;

[0541] r是0或1;

[0542] W和V各自独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;并且

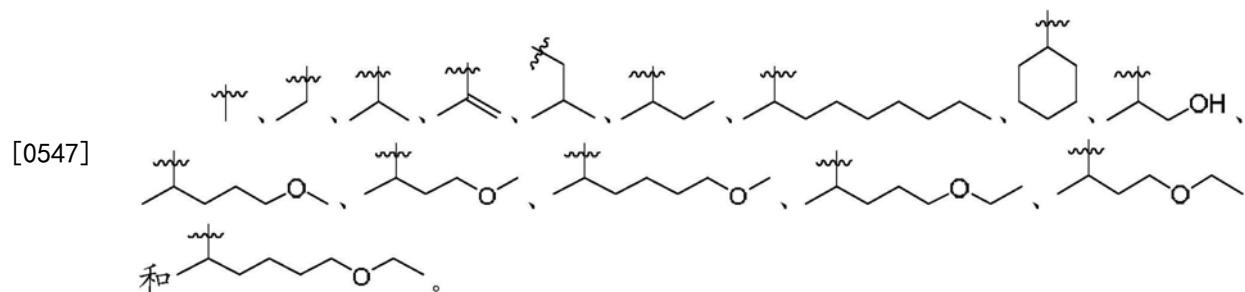
[0543] R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基,或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0544] (v)

[0545] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

[0546] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:

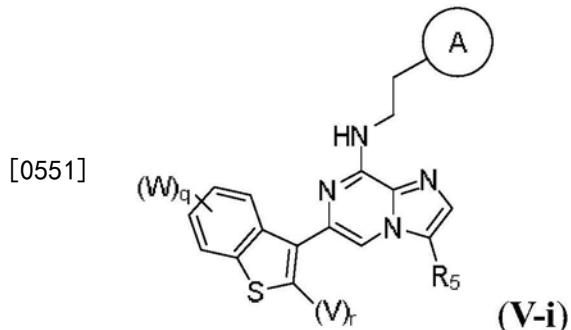


[0548] 在一些实施方案中,R₅是(i);

[0549] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己

烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0550] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(V-i)表示的化合物或其盐



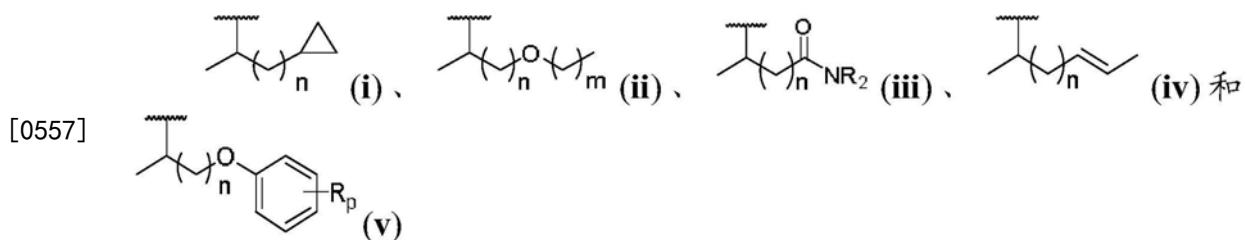
[0552] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

[0553] q是从0至4的整数;

[0554] r是0或1;

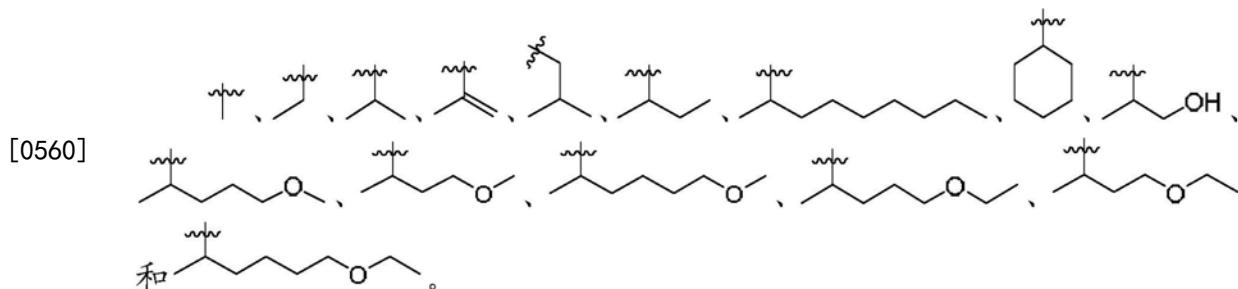
[0555] W和V各自独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;并且

[0556] R₅选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基,或者R₅选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)



[0558] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

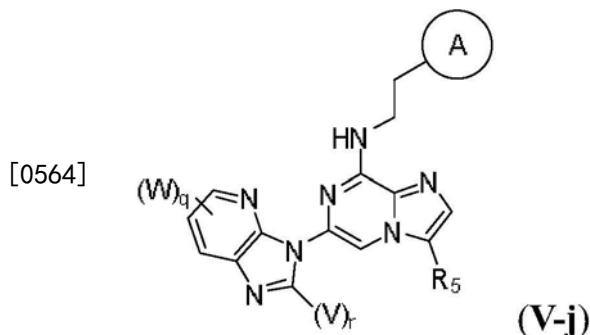
[0559] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:



[0561] 在一些实施方案中, R_5 是 (i i) ;

[0562] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组: 4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0563] 在一些实施方案中, 本公开内容的特征在于由式 (V-j) 表示的化合物或其盐



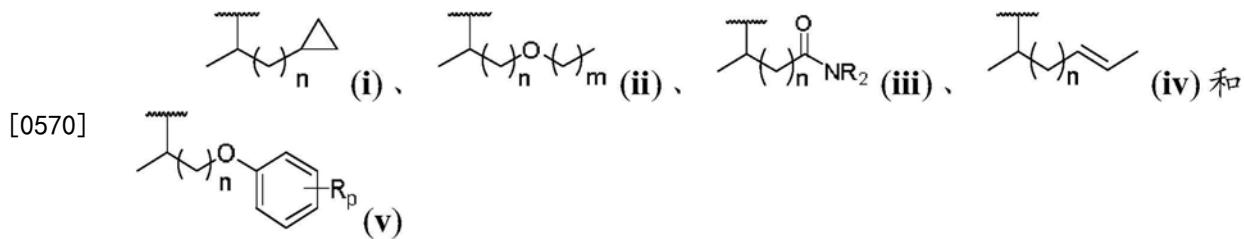
[0565] 其中 A 是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统: 苯酚-4-基和 1H-呡噪-3-基;

[0566] q 是从 0 至 4 的整数;

[0567] r 是 0 或 1;

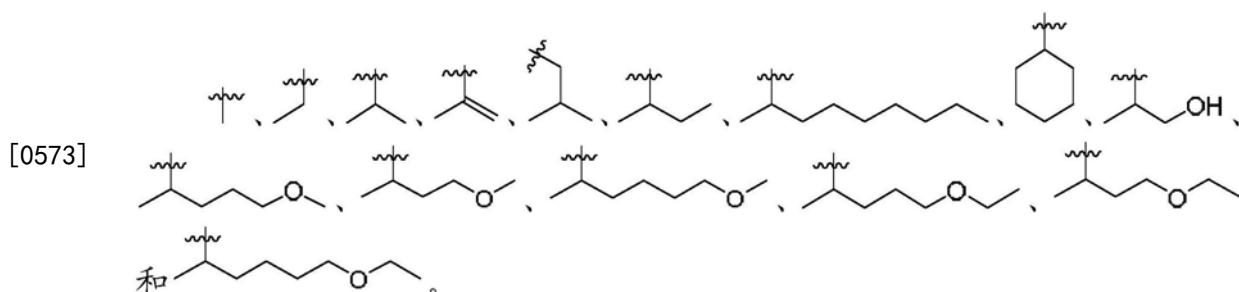
[0568] W 和 V 各自独立地是选自由以下组成的组的取代基: C1-4 烷基、卤素、卤素取代的 C1-4 烷基、C2-4 烯基、C2-4 炔基、C3-6 环烷基、C1-4 烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a} 和 -C(0)NR_{11a}R_{11b}, 其中 R_{11a} 和 R_{11b} 各自独立地选自由以下组成的组: 氢和 C₁₋₄ 烷基; 并且

[0569] R_5 选自由以下组成的组: C1-10 烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-呡喃-2-基、四氢-2H-呡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基) (苯基) 甲基和 1-(1-(2-氧-6, 9, 12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1, 2, 3-三唑-4-基) 乙基, 其中 C1-10 烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-呡喃-2-基、四氢-2H-呡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基) (苯基) 甲基或 1-(1-(2-氧-6, 9, 12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1, 2, 3-三唑-4-基) 乙基任选地被从 1 个至 3 个独立地选自由以下组成的组的基团取代; 羟基、C1-4 烷基和卤素取代的 C1-4 烷基, 或者 R_5 选自由以下组成的组: (i)、(ii)、(iii)、(iv) 和 (v)



[0571] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、-C(0)R_{12a}、-S(0)O₀₋₂R_{12a}、-C(0)OR_{12a}和-C(0)NR_{12a}R_{12b},并且其中R_{12a}和R_{12b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄烷基;

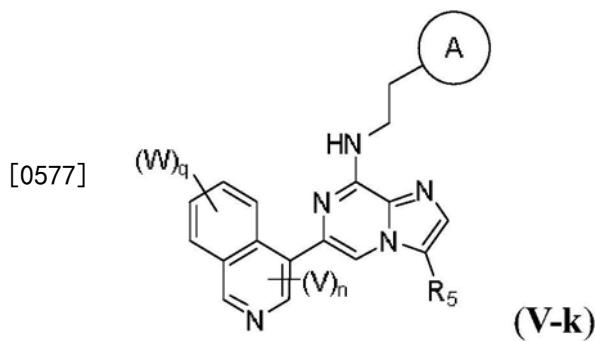
[0572] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:



[0574] 在一些实施方案中,R₅是(i);

[0575] 在一些实施方案中,R₅选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0576] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于由式(V-k)表示的化合物或其盐



[0578] 其中A是任选地被取代的选自由以下组成的组的环系统:苯酚-4-基和1H-吲哚-3-基;

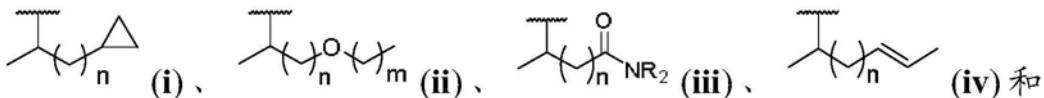
[0579] q是从0至4的整数;

[0580] r是0或1;

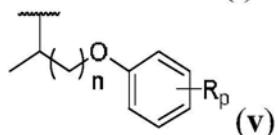
[0581] W和V各自独立地是选自由以下组成的组的取代基:C1-4烷基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、氰基、氨基、C(0)R_{11a}、-S(0)O₀₋₂R_{11a}、-C(0)OR_{11a}和-C(0)NR_{11a}R_{11b},其中R_{11a}和R_{11b}各自独立地选自由以下组成的组:氢和C₁₋₄

烷基;并且

[0582] R_5 选自由以下组成的组:C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基和1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基,其中C1-10烷基、丙-1-烯-2-基、环己基、环丙基、2-(2-氧代吡咯烷-1-基)乙基、氧杂环丁烷-2-基、氧杂环丁烷-3-基、二苯甲基、四氢-2H-吡喃-2-基、四氢-2H-吡喃-3-基、苯基、四氢呋喃-3-基、苄基、(4-戊基苯基)(苯基)甲基或1-(1-(2-氧-6,9,12-三氧杂-3-氮杂十四烷-14-基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)乙基任选地被从1个至3个独立地选自由以下组成的组的基团取代:羟基、C1-4烷基和卤素取代的C1-4烷基,或者 R_5 选自由以下组成的组:(i)、(ii)、(iii)、(iv)和(v)

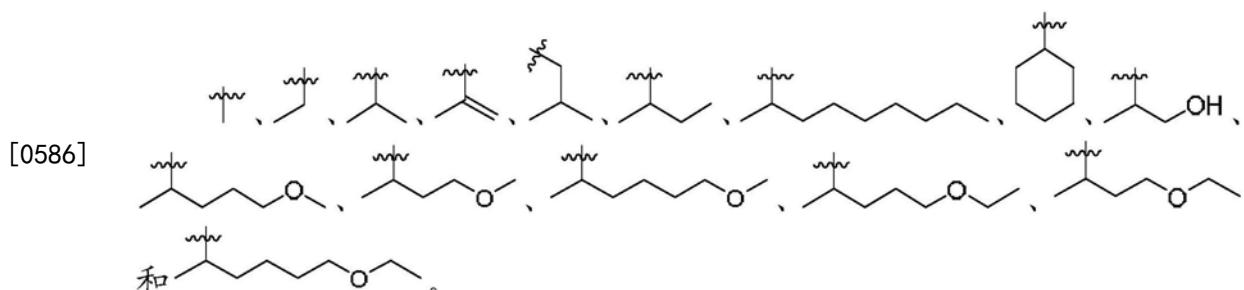


[0583]



[0584] 其中n是从1至6的整数,m是从0至6的整数,p是从0至5的整数,并且每个R独立地选自由以下组成的组:氰基、羟基、C1-4烷基、C2-4烯基、C2-4炔基、C3-6环烷基、C1-4烷氧基、卤素、卤素取代的C1-4烷基、卤素取代的C1-4烷氧基、氨基、 $-C(O)R_{12a}$ 、 $-S(O)_{0-2}R_{12a}$ 、 $-C(O)OR_{12a}$ 和 $-C(O)NR_{12a}R_{12b}$,并且其中 R_{12a} 和 R_{12b} 各自独立地选自由以下组成的组:氢和C1-4烷基;

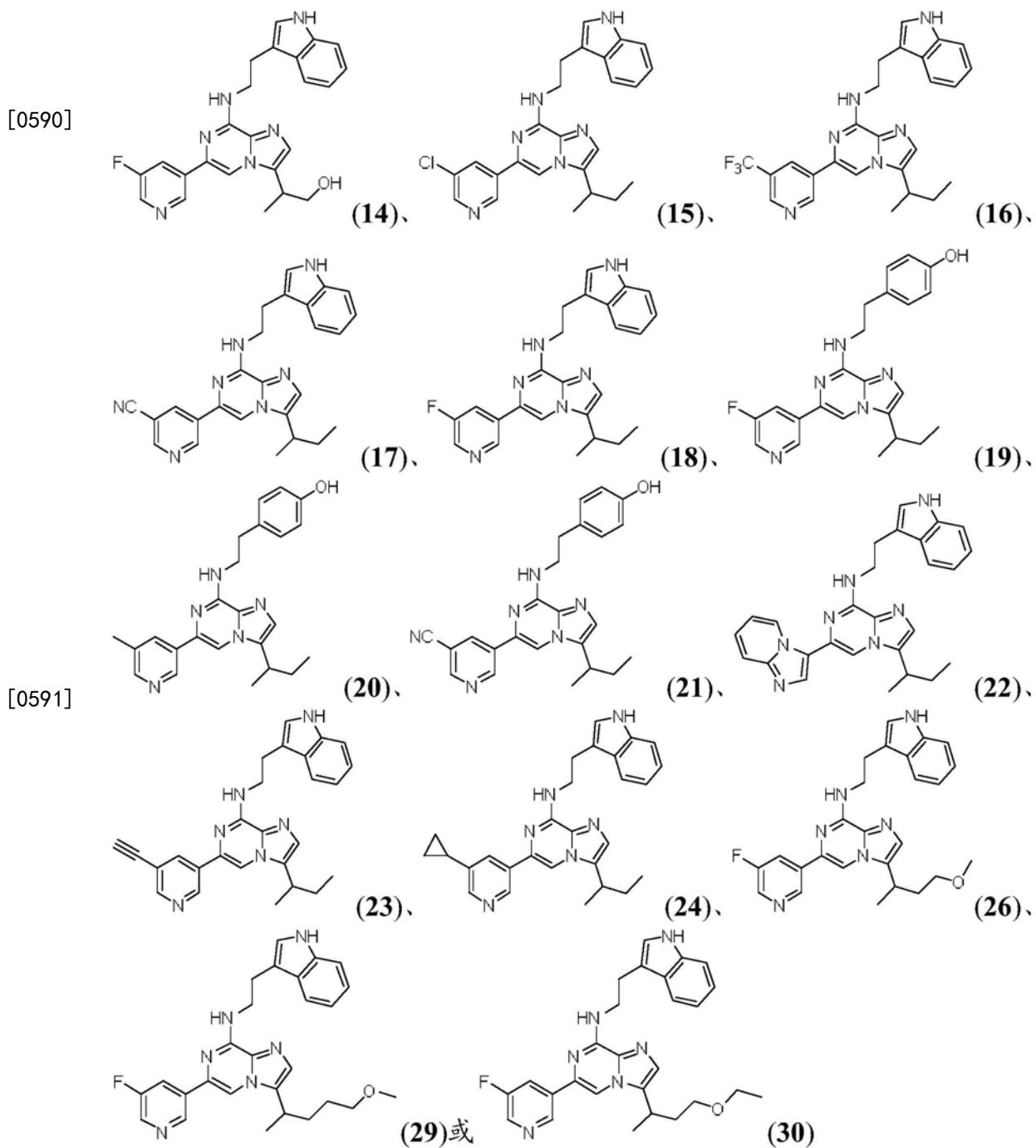
[0585] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:



[0587] 在一些实施方案中, R_5 是(i) ;

[0588] 在一些实施方案中, R_5 选自由以下组成的组:4-甲氧基丁烷-2-基、(S)-4-甲氧基丁烷-2-基、(R)-4-甲氧基丁烷-2-基、4-乙氧基丁烷-2-基、(S)-4-乙氧基丁烷-2-基、(R)-4-乙氧基丁烷-2-基、5-甲氧基戊烷-2-基、(S)-5-甲氧基戊烷-2-基、(R)-5-甲氧基戊烷-2-基、5-乙氧基戊烷-2-基、(S)-5-乙氧基戊烷-2-基、(R)-5-乙氧基戊烷-2-基、6-甲氧基己烷-2-基、(S)-6-甲氧基己烷-2-基、(R)-6-甲氧基己烷-2-基、6-乙氧基己烷-2-基、(S)-6-乙氧基己烷-2-基和(R)-6-乙氧基己烷-2-基。

[0589] 在一些实施方案中,芳香烃受体拮抗剂是化合物(14)、化合物(15)、化合物(16)、化合物(17)、化合物(18)、化合物(19)、化合物(20)、化合物(21)、化合物(22)、化合物(23)、化合物(24)、化合物(26)、化合物(29)或化合物(30)



[0592] 或其盐。

[0593] CXCR4拮抗剂

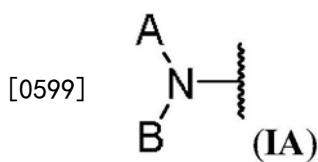
[0594] 用于与本文描述的组合物和方法一起使用的示例性CXCR4拮抗剂是由式(I)表示的化合物

[0595] Z-接头-Z' (I)

[0596] 或其药学上可接受的盐,其中Z是:

[0597] (i)含有从9个至32个环成员的环聚胺,其中从2个至8个环成员是由2个或更多个碳原子彼此隔开的氮原子;或

[0598] (ii)由式(IA)表示的胺

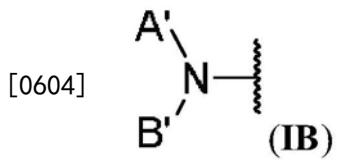


[0600] 其中A包含含有至少一个氮原子的单环或双环稠环系统,并且B是H或具有从1个至20个原子的取代基;

[0601] 并且其中Z'是:

[0602] (i)含有从9个至32个环成员的环聚胺,其中从2个至8个环成员是由2个或更多个碳原子彼此隔开的氮原子;

[0603] (ii)由式(IB)表示的胺



[0605] 其中A'包含含有至少一个氮原子的单环或双环稠环系统,并且B'是H或具有从1个至20个原子的取代基;或

[0606] (iii)由式(IC)表示的取代基

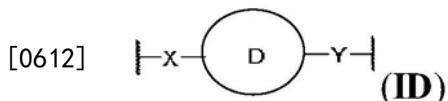
[0607] $-N(R)-(CR_2)_n-X$ (IC)

[0608] 其中每个R独立地是H或C₁—C₆烷基,n是1或2,并且X是芳基或杂芳基基团或硫醇;

[0609] 其中接头是键、任选地被取代的亚烷基(例如,任选地被取代的C₁—C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(例如,任选地被取代的C₁—C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如,任选地被取代的C₂—C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如,任选地被取代的C₂—C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如,任选地被取代的C₂—C₆亚炔基)、任选地被取代的杂亚炔基(例如,任选地被取代的C₂—C₆杂亚炔基)、任选地被取代的环亚烷基、任选地被取代的杂环亚烷基、任选地被取代的亚芳基或任选地被取代的杂亚芳基。

[0610] 在一些实施方案中,Z和Z'可以各自独立地是含有从9个至32个环成员的环聚胺,其中从2个至8个环成员是由2个或更多个碳原子彼此隔开的氮原子。在一些实施方案中,Z和Z'是相同的取代基。例如,Z可以是包含从10个至24个环成员的环聚胺。在一些实施方案中,Z可以是含有14个环成员的环聚胺。在一些实施方案中,Z包含4个氮原子。在一些实施方案中,Z是1,4,8,11-四偶氮环十四烷。

[0611] 在一些实施方案中,接头由式(ID)表示

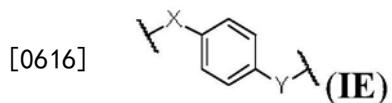


[0613] 其中环D是任选地被取代的芳基基团、任选地被取代的杂芳基基团、任选地被取代的环烷基基团或任选地被取代的杂环烷基基团;并且

[0614] X和Y各自独立地是任选地被取代的亚烷基(例如,任选地被取代的C₁—C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(例如,任选地被取代的C₁—C₆杂亚烷基)、任选地被取代的亚烯基(例如,任选地被取代的C₂—C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如,任选地被取代的C₂—C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如,任选地被取代的C₂—C₆亚炔基)或任选地被取代

的杂亚炔基(例如,任选地被取代的C₂—C₆杂亚炔基)。

[0615] 例如,接头可以由式(IE)表示

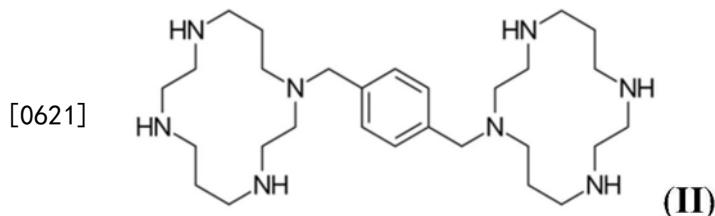


[0617] 其中环D是任选地被取代的芳基基团、任选地被取代的杂芳基基团、任选地被取代的环烷基基团或任选地被取代的杂环烷基基团;并且

[0618] X和Y各自独立地是任选地被取代的亚烷基(例如,任选地被取代的C₁—C₆亚烷基)、任选地被取代的杂亚烷基(例如,任选地被取代的C₁—C₆杂亚烷基)、任选地被取代的C₂—C₆亚烯基(例如,任选地被取代的C₂—C₆亚烯基)、任选地被取代的杂亚烯基(例如,任选地被取代的C₂—C₆杂亚烯基)、任选地被取代的亚炔基(例如,任选地被取代的C₂—C₆亚炔基)或任选地被取代的杂亚炔基(例如,任选地被取代的C₂—C₆杂亚炔基)。在一些实施方案中,X和Y各自独立地是任选地被取代的C₁—C₆亚烷基。在一些实施方案中,X和Y是相同的取代基。在一些实施方案中,X和Y可以各自是亚甲基、亚乙基、正亚丙基、正亚丁基、正亚戊基或正亚己基基团。在一些实施方案中,X和Y各自是亚甲基基团。

[0619] 接头可以是,例如,1,3-亚苯基、2,6-吡啶、3,5-吡啶、2,5-噻吩、4,4'-(2,2'-联吡啶)、2,9-(1,10-菲咯啉)等。在一些实施方案中,接头是1,4-亚苯基-双-(亚甲基)。

[0620] 可与本文描述的组合物和方法一起使用的CXCR4拮抗剂包括普乐沙福(本文中也被称为“AMD3100”和“Mozobil”)或其药学上可接受的盐,由式(II)表示,1,1'-[1,4-亚苯基双(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四-氮杂环十四烷。



[0622] 可以与本文描述的组合物和方法一起使用的另外的CXCR4拮抗剂包括普乐沙福的变体,诸如美国专利第5,583,131号中描述的化合物,将该专利的公开内容在其涉及CXCR4拮抗剂时通过引用并入本文。在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂可以是选自由以下组成的组的化合物:1,1'-[1,3-亚苯基双(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四-氮杂环十四烷、1,1'-[1,4-亚苯基-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[1,4-亚苯基-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷的双-锌或双-铜配合物、1,1'-[3,3'-亚联苯基-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、11,11'-[1,4-亚苯基-双-(亚甲基)]-双-1,4,7,11-四氮杂环十四烷、1,11'-[1,4-亚苯基-双-(亚甲基)]-1,4,8,11-四氮杂环十四烷-1,4,7,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[2,6-吡啶-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[3,5-吡啶-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[2,5-噻吩-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[4,4'-(2,2'-联吡啶)-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[2,9-(1,10-菲咯啉)-双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[1,3-亚苯基-双-(亚甲基)]-双-1,4,7,10-四氮杂环十四烷、1,1'-[1,4-亚苯基-双-(亚甲基)]-双-1,4,7,10-四氮杂环十四烷、1'-[5-硝基-1,3-亚苯基双(亚甲基)]

双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1',1'-[2,4,5,6-四氯-1,3-亚苯基双(亚甲基)]双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[2,3,5,6-四-氟-1,4-亚苯基双(亚甲基)]双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[1,4-萘-双-(亚甲基)]双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[1,3-亚苯基双-(亚甲基)]双-1,5,9-三氮杂环十二烷、1,1'-[1,4-亚苯基-双-(亚甲基)]-1,5,9-三氮杂环十二烷、1,1'-[2,5-二甲基-1,4-亚苯基双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1,1'-[2,5-二氯-1,4-亚苯基双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷和1,1'-[6-苯基-2,4-吡啶双-(亚甲基)]-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷。

[0623] 在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂是US 2006/0035829中描述的化合物,将该专利的公开内容在其涉及CXCR4拮抗剂时通过引用并入本文。在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂可以是选自由以下组成的组的化合物:3,7,11,17-四氮杂双环(13.3.1)十七-1(17),13,15-三烯、4,7,10,17-四氮杂双环(13.3.1)十七-1(17),13,15-三烯、1,4,7,10-四氮杂环十四烷、1,4,7-三氮杂环十四烷和4,7,10-三氮杂双环(13.3.1)十七-1(17),13,15-三烯。

[0624] CXCR4拮抗剂可以是WO 2001/044229中描述的化合物,将该专利的公开内容在其涉及CXCR4拮抗剂时通过引用并入本文。在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂可以是选自由以下组成的组的化合物:N-[4-(11-氟-1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[4-(11,11-二氟-1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[4-(1,4,7-三氮杂环十四烷-2-酰基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[12-(5-氧-1,9-二氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[4-(11-氧-1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[4-(11-硫杂-1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[4-(11-硫杂(sulfoxo)-1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶和N-[4-(3-羧杂(carboxo)-1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶。

[0625] 可与本文描述的组合物和方法一起使用的另外的CXCR4拮抗剂包括WO 2000/002870中描述的化合物,将该专利的公开内容在其涉及CXCR4拮抗剂时通过引用并入本文。在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂可以是选自由以下组成的组的化合物:N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双-(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-N-甲基-2-(氨基甲基)吡啶、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-4-(氨基甲基)吡啶、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-3-(氨基甲基)吡啶、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-(2-氨基甲基-5-甲基)吡嗪、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基乙基)吡啶、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)噻吩、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)硫醇、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-氨基苄胺、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-4-氨基苄胺、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-4-(氨基乙基)咪唑、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-苄胺、N-[4-(1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-

2-(氨基甲基)吡啶、N-[7-(4,7,10,17-四氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[7-(4,7,10-三氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[1-(1,4,7-三氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[4-[4,7,10,17-四氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯基]-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶、N-[1,4,8,11-四氮杂环十四烷基-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-4-苯基哌嗪、N-[4-(1,7-二氮杂环十四烷基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶和N-[7-(4,10-二氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯基)-1,4-亚苯基双(亚甲基)]-2-(氨基甲基)吡啶。

[0626] 在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂是选自由以下组成的组的化合物:1-[2,6-二甲氧基吡啶-4-基(亚甲基)]-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1-[2-氯吡啶-4-基(亚甲基)]-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1-[2,6-二甲基吡啶-4-基(亚甲基)]-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1-[2-甲基吡啶-4-基(亚甲基)]-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、1-[2-氯吡啶-5-基(亚甲基)]-1,4,8,11-四氮杂环十四烷和7-[4-甲基苯基(亚甲基)]-4,7,10,17-四氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯。

[0627] 在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂是美国专利第5,698,546号中描述的化合物,将该专利的公开内容在其涉及CXCR4拮抗剂时通过引用并入本文。在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂可以是选自由以下组成的组的化合物:7,7'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双-3,7,11,17-四氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯、7,7'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双[15-氯-3,7,11,17-四氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯]、7,7'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双[15-甲氧基-3,7,11,17-四氮杂双环[13.3.1]十七-1(17),13,15-三烯]、7,7'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双-3,7,11,17-四氮杂双环[13.3.1]-十七-13,16-三烯-15-酮、7,7'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双-4,7,10,17-四氮杂双环[13.3.1]-十七-1(17),13,15-三烯、8,8'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双-4,8,12,19-四氮杂双环[15.3.1]十九-1(19),15,17-三烯、6,6'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双-3,6,9,15-四氮杂双环[11.3.1]十五-1(15),11,13-三烯、6,6'-[1,3-亚苯基-双(亚甲基)]双-3,6,9,15-四氮杂双环[11.3.1]十五-1(15),11,13-三烯和17,17'-[1,4-亚苯基-双(亚甲基)]双-3,6,14,17,23,24-六氮杂三环[17.3.1.1^{8,12}]二十四-1(23),8,10,12(24),19,21-己烯。

[0628] 在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂是美国专利第5,021,409号中描述的化合物,将该专利的公开内容在其涉及CXCR4拮抗剂时通过引用并入本文。在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂可以是选自由以下组成的组的化合物:2,2'-双环胺(bicyclam)、6,6'-双环胺、3,3'-(双-1,5,9,13-四氮杂环十六烷)、3,3'-(双-1,5,8,11,14-戊氮杂环十六烷)、亚甲基(或聚亚甲基)二-1-N-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、3,3'-双-1,5,9,13-四氮杂环十六烷、3,3'-双-1,5,8,11,14-戊氮杂环十六烷、5,5'-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、2,5'-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、2,6'-双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、11,11'-(1,2-乙烷二基)双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、11,11'-(1,2-丙烷二基)双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷、11,11'-(1,2-戊烷二基)双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷和11,11'-(1,2-己烷二基)双-1,4,8,11-四氮杂环十四烷。

[0629] 在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂是WO 2000/056729中描述的化合物,将该专利的公开内容在其涉及CXCR4拮抗剂时通过引用并入本文。在一些实施方案中,CXCR4拮抗剂可以是选自由以下组成的组的化合物:N-(2-吡啶基甲基)-N'-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(6,7-二氢-5H-环戊[b]吡啶-7-基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1,2,3,4-四氢-1-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(2-吡啶基甲基)氨基]乙基]-N'-(1-甲基-1,2,3,4-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(1H-咪唑-2-基甲基)氨基]乙基]-N'-(1-甲基-1,2,3,4-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1,2,3,4-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(1H-咪唑-2-基甲基)氨基]乙基]-N'-(1,2,3,4-四氢-1-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-苯基-5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N'-(2-苯基-5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-5-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-5-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-氨基-3-苯基)丙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-咪唑-4-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-喹啉基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-(2-萘甲酰基)氨基乙基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(S)-(2-乙酰氨基-3-苯基)丙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(S)-(2-乙酰氨基-3-苯基)丙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[3-((2-萘基甲基)氨基)丙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-(S)-吡咯烷基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-(R)-吡咯烷基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[3-吡唑基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-吡咯基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-噻吩基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-噻唑基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-呋喃基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(苯基甲基)氨基]乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-氨基乙基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(3-吡咯烷基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(4-哌啶基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(4-哌啶基)-N'-(7-甲氧基-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(6-甲氧基-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1-甲基-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(7-甲氧基-3,4-二氢-2-萘基)-1-(氨基甲基)-4-苯甲酰胺、N-

(2-吡啶基甲基)-N'-(6-甲氧基-3,4-二氢萘基)-1-(氨基甲基)-4-苯甲酰胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-咪唑-2-基甲基)-N'-(7-甲氧基-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(8-羟基-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-咪唑-2-基甲基)-N'-(8-羟基-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(8-氟-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-咪唑-2-基甲基)-N'-(8-氟-1,2,3,4-四氢-2-萘基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-7-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-7-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(2-萘基甲基)氨基]乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-(异丁基氨基)乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(2-吡啶基甲基)氨基]乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(2-呋喃基甲基)氨基]乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-胍基乙基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-[(2-甲氧基)苯基甲基]氨基]乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-苯基脲基)乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[N''-(正丁基)甲酰氨基]甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(甲酰氨基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(N''-苯基)甲酰氨基甲基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(羧甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(苯基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-苯并咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(5,6-二甲基-1H-苯并咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺(氢溴酸盐)、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(5-硝基-1H-苯并咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(1H-5-氮杂苯并咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(4-苯基-1H-咪唑-2-基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-苯并噁唑基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(反式-2-氨基环己基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(2-苯基乙基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(3-苯基丙基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N'-(反式-2-氨基环戊基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[4-[(2-吡啶基甲基)氨基]甲基]苯基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-甘氨酰胺、N-[4-[(2-吡啶基甲基)氨基]甲基]苯基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-(L)-丙氨酰胺、N-[4-[(2-吡啶基甲基)氨基]甲基]苯基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-(L)-天冬酰胺、N-[4-[(2-吡啶基甲基)氨基]甲基]苯基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-吡嗪酰

胺、N-[[4-[[2-吡啶基甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-(L)-脯氨酰胺、N-[[4-[[2-吡啶基甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-(L)-赖氨酰胺、N-[[4-[[2-吡啶基甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-苯甲酰胺、N-[[4-[[2-吡啶基甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-吡啶甲酰胺、N'-苄基-N-[[4-[[2-吡啶基甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-脲、N'-苯基-N-[[4-[[2-吡啶基甲基]氨基]甲基]苯基]甲基]-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-脲、N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[细菌吡啶-9-基]-4-[[2-吡啶基甲基]氨基]甲基]苯甲酰胺、N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-4-[[2-吡啶基甲基]氨基]苯甲酰胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N'-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[细菌吡啶-9-基]-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N'-(6,7-二氢-5H-环戊[细菌吡啶-7-基]-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N'-(1,2,3,4-四氢-1-萘基)-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)甲基]-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N'-(6,7-二氢-5H-环戊[细菌吡啶-7-基]甲基]-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N-(2-甲氧基乙基)-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-吡啶基甲基)-N-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]-N'-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)苯二甲胺、N-[2-(3-二甲氧基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N-[1-(N''-苯基-N''-甲基脲基)-4-哌啶基]-1,3-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N-[N''-对甲苯磺酰苯丙氨酰基]-4-哌啶基]-1,3-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N-[1-(2-氯苯基)-5-甲基-异噁唑-4-酰基]-4-哌啶基]-1,3-苯二甲胺、N-[2-(2-羟基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[细菌吡啶-9-基]-1,4-苯二甲胺、N-[4-氰基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[细菌吡啶-9-基]-1,4-苯二甲胺、N-[4-氰基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[4-乙酰胺基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[4-苯氧基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[细菌吡啶-9-基]-1,4-苯二甲胺、N-[1-(甲基-2-甲酰氨基)乙基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[4-苄氧基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[细菌吡啶-9-基]-1,4-苯二甲胺、N-[1-(2-噻吩-2-基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[细菌吡啶-9-基]-1,4-苯二甲胺、N-[1-(1-甲基-3-(吡唑-3-基)丙基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1-(苯基)乙基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[3,4-亚甲二氧基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-苄基-3-羧甲基-4-哌啶基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[3,4-亚甲二氧基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[3-吡啶基甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-甲基-2-(2-甲苯基)甲酰氨基]乙基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1-(1,5-二甲基-2-苯基-3-吡唑啉酮-4-基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[4-丙氧基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-

(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(1-苯基-3,5-二甲基吡唑啉-4-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[H-咪唑-4-基甲基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[(3-甲氧基-4,5-亚甲二氧基苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[(3-氰基苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[(3-氰基苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(5-乙基噻吩-2-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(5-乙基噻吩-2-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[(2,6-二氟苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[(2,6-二氟苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[(2-二氟甲氧基苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-二氟甲氧基苯基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(1,4-苯并二氧六环-6-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N-[1-(N"-苯基-N"-甲基脲基)-4-哌啶基]-1,4-苯二甲胺、N,N'-双(2-吡啶基甲基)-N-[N"-对甲苯磺酰基苯丙氨酰基)-4-哌啶基]-1,4-苯二甲胺、N-[1-(3-吡啶甲酰氨基)-4-哌啶基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(环丙基甲酰氨基)-4-哌啶基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(1-苯基环丙基甲酰氨基)-4-哌啶基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-(1,4-苯并二氧六环-6-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-[3-(2-氯苯基)-5-甲基-异噁唑-4-甲酰氨基]-4-哌啶基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(2-硫代甲基吡啶-3-甲酰氨基)-4-哌啶基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[(2,4-二氟苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(1-甲基吡咯-2-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[(2-羟基苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[(3-甲氧基-4,5-亚甲二氧基苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[2-(N"-吗啉代甲基)-1-环戊基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[(1-甲基-3-哌啶基) 丙基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(1-甲基苯并咪唑-2-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(苯基)-3-吡咯烷基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[(1-苯基-3-(N"-吗啉代))丙基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(异丙基)-4-哌啶基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(乙氧羰基)-4-哌啶基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[(1-甲基-3-吡唑基) 丙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-甲基-2-(N",N"-二乙基甲酰氨基)乙基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[(1-甲基-2-苯磺酰基) 乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[(2-氯-4,5-亚甲二氧基苯基) 甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-甲基-2-[N"- (4-氯苯基) 甲酰氨基]乙基]-N'-(2-吡啶

基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(1-乙酰氧基吲哚-3-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[3-苄氧基-4-甲氧基苯基]甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(3-喹啉基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-[8-羟基]-2-喹啉基甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[4-乙酰胺基苯基]甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[1H-咪唑-2-基甲基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-(3-喹啉基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(2-噻唑基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(4-吡啶基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[5-苄氧基]苯并[b]吡咯-3-基甲基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-(1-甲基吡唑-2-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[4-甲基]-1H-咪唑-5-基甲基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[[(4-二甲基氨基)-1-萘基]甲基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1,5-二甲基-2-苯基-3-吡唑啉酮-4-基甲基]-N,N'-双(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-(1-乙酰基-2-(R)-脯氨酰基)-4-哌啶基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1-[2-乙酰胺基苯甲酰基-4-哌啶基]-4-哌啶基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[2-(2-氰基-2-苯基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[N"-乙酰色氨酰基]-4-哌啶基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[N"-苯甲酰缬氨酰基]-4-哌啶基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[4-二甲基氨基苯基]甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-(4-吡啶基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(1-甲基苯并咪唑-2-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-丁基-4-哌啶基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1-苯甲酰基-4-哌啶基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1-(苄基)-3-吡咯烷基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1-(甲基)苯并[b]吡咯-3-基甲基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1H-咪唑-4-基甲基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,3-苯二甲胺、N-[1-(苄基)-4-哌啶基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[1-甲基苯并咪唑-2-基甲基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[2-(2-苯基)苯并[b]吡咯-3-基甲基]-N-[2-(2-吡啶基)乙基]-N'-(2-吡啶基甲基)-1,4-苯二甲胺、N-[6-甲基吡啶-2-基]甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,4-苯二甲胺、N-(3-甲基-1H-吡唑-5-基甲基)-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,3-苯二甲胺、N-[2-(2-甲氧基苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,3-苯二甲胺、N-[2-(2-乙氧苯基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(6,7,8,9-四氢-5H-环庚[b]吡啶-9-基)-1,3-苯二甲胺、N-(苄氧基乙基)-

N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,3-苯二甲胺、N-[(2-乙氧基-1-萘基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,3-苯二甲胺、N-[(6-甲基吡啶-2-基)甲基]-N'-(2-吡啶基甲基)-N-(5,6,7,8-四氢-8-喹啉基)-1,3-苯二甲胺、1-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基] 脯、N-(2-吡啶基甲基)-N-(8-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]辛-3-基)-1,4-苯二甲胺、1-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基] 高哌嗪、1-[[3-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基] 高哌嗪、反式和顺式-1-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基]-3,5-哌啶二胺、N,N'-[1,4-亚苯基双(亚甲基)] 双-4-(2-嘧啶基) 哌嗪、1-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基]-1-(2-吡啶基) 甲基胺、2-(2-吡啶基)-5-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基]-1,2,3,4-四氢异喹啉、1-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基]-3,4-二氨基吡咯烷、1-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基]-3,4-二乙酰氨基吡咯烷、8-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基]-2,5,8-三氮杂-3-氧杂双环[4.3.0]壬烷和8-[[4-[[(2-吡啶基甲基) 氨基] 甲基] 苯基] 甲基]-2,5,8-三氮杂双环[4.3.0]壬烷。

[0630] 可用于与本文描述的组合物和方法一起使用的另外的CXCR4拮抗剂包括在W0 2001/085196、W0 1999/050461、W0 2001/094420和W0 2003/090512中描述的那些, 将其中每一项的公开内容在其涉及抑制CXCR4活性或表达的化合物时通过引用并入本文。

[0631] CXCR2激动剂

[0632] Gro- β 、Gro- β T及其变体

[0633] 可以与本文描述的组合物和方法一起使用的示例性CXCR2激动剂是Gro- β 及其变体。Gro- β (也被称为生长调控蛋白 β 、趋化因子(C-X-C基序)配体2(CXCL2)和巨噬细胞炎性蛋白2- α (MIP2- α))是一种能够例如通过刺激从外周嗜中性粒细胞释放蛋白酶特别是MMP9而动员造血干细胞和祖细胞的细胞因子。不受机制的限制,MMP9可以通过刺激蛋白诸如干细胞因子、其对应的受体CD117和CXCL12(所有这些通常保持造血干细胞和祖细胞固定在骨髓中)的降解而诱导造血干细胞和祖细胞从干细胞小生境诸如骨髓动员至循环外周血。

[0634] 除了Gro- β 之外, 可以与本文描述的组合物和方法一起使用的示例性CXCR2激动剂是Gro- β 的截短形式, 诸如特征在于在Gro- β 的N-末端处缺失从1个至8个氨基酸的那些(例如, 特征在于1个氨基酸、2个氨基酸、3个氨基酸、4个氨基酸、5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸或8个氨基酸的N-末端缺失的肽)。在一些实施方案中, 可以与本文描述的组合物和方法一起使用的CXCR2激动剂包括Gro- β T, 其特征在于从Gro- β 的N-末端缺失前四个氨基酸。Gro- β 和Gro- β T被描述于例如美国专利第6,080,398号中, 将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0635] 另外, 可以与本文描述的组合物和方法一起使用的示例性CXCR2激动剂是含有在SEQ ID N0:1的位置69处取代了天冬酰胺残基的天冬氨酸残基的Gro- β 变体。该肽在本文中被称为Gro- β N69D。类似地, 可以与本文描述的组合物和方法一起使用的CXCR2激动剂包括含有在SEQ ID N0:2的位置65处取代了天冬酰胺残基的天冬氨酸残基的Gro- β 变体。该肽在本文中被称为Gro- β T N65D。Gro- β N69D和Gro- β T N65D被描述于例如美国专利第6,447,766号中。

[0636] 在下表2中列出了Gro- β 、Gro- β T、Gro- β N69D和Gro- β T N65D的氨基酸序列。

[0637] 表2.Gro- β 及其选择的变体的氨基酸序列

SEQ NO.	ID	描述	氨基酸序列
[0638]	1	Gro- β	APLATELRCQCLQTLQGIHLKNI QSVVKVKSPGPAPHCAQTEVIATLK NGQKACLNPAASPMVKKIIIEKML KNGKSN
	2	Gro- β -T	TELRCQCLQTLQGIHLKNIQSV KVKSPGPAPHCAQTEVIATLKNGQ KACLNPAASPMVKKIIIEKMLKNG
[0639]	3	Gro- β N69D	KSN APLATELRCQCLQTLQGIHLKNI QSVVKVKSPGPAPHCAQTEVIATLK NGQKACLNPAASPMVKKIIIEKML KDGKSN
	4	Gro- β -T N65D	TELRCQCLQTLQGIHLKNIQSV KVKSPGPAPHCAQTEVIATLKNGQ KACLNPAASPMVKKIIIEKMLKDG KSN

[0640] 可以与本文描述的组合物和方法一起使用的另外的CXCR2激动剂包括Gro- β 的其他变体,诸如相对于Gro- β 具有一个或更多个氨基酸取代、插入和/或缺失的肽。在一些实施方案中,可以与本文描述的组合物和方法一起使用的CXCR2激动剂包括与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的肽(例如,与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或100%序列同一性的肽)。在一些实施方案中,CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异为仅一个或更多个保守氨基酸取代。在一些实施方案中,CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:1的氨基酸序列差异为不多于20个、不多于15个、不多于10个、不多于5个或不多于1个非保守氨基酸取代。

[0641] 可与本文描述的组合物和方法一起使用的CXCR2激动剂的另外的实例是Gro- β T的变体,诸如相对于Gro- β T具有一个或更多个氨基酸取代、插入和/或缺失的肽。在一些实施方案中,CXCR2激动剂可以是与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的肽(例如,与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或100%序列同一性的肽)。在一些实施方案中,CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:2的氨基酸序列差异为仅一个或更多个保守氨基酸取代。在一些实施方案中,CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:2的氨基酸序列差异为不多于20个、不多于15个、不多于10个、不多于5个或不多于1个非保守氨基酸取代。

[0642] 可与本文描述的组合物和方法一起使用的CXCR2激动剂的另外的实例是Gro- β N69D的变体,诸如相对于Gro- β N69D具有一个或更多个氨基酸取代、插入和/或缺失的肽。在一些实施方案中,CXCR2激动剂可以是与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的肽(例如,与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或100%序列同一性的肽)。在一些实施方案中,CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的氨基酸序列差异为仅一个或更多个保守氨基酸取代。在一些实施方案中,

CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:3的氨基酸序列差异为不多于20个、不多于15个、不多于10个、不多于5个或不多于1个非保守氨基酸取代。

[0643] 可与本文描述的组合物和方法一起使用的CXCR2激动剂的另外的实例是Gro- β T N65D的变体,诸如相对于Gro- β T N65D具有一个或更多个氨基酸取代、插入和/或缺失的肽。在一些实施方案中,CXCR2激动剂可以是与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少85%序列同一性的肽(例如,与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或100%序列同一性的肽)。在一些实施方案中,CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:4的氨基酸序列差异为仅一个或更多个保守氨基酸取代。在一些实施方案中,CXCR2激动剂的氨基酸序列与SEQ ID NO:4的氨基酸序列差异为不多于20个、不多于15个、不多于10个、不多于5个或不多于1个非保守氨基酸取代。

[0644] 激活性抗CXCR2抗体及其抗原结合片段

[0645] 在一些实施方案中,CXCR2激动剂是结合CXCR2并活化CXCR2信号转导的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,CXCR2激动剂可以是与Gro- β 或其变体或截短体诸如Gro- β T结合CXCR2上相同表位(如通过例如竞争性CXCR2结合测定评估的)的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,CXCR2激动剂是与Gro- β 或其变体或截短体诸如Gro- β T竞争结合CXCR2的抗体或其抗原结合片段。

[0646] 在以上方面中任一个的一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段选自由以下组成的组:单克隆抗体或其抗原结合片段、多克隆抗体或其抗原结合片段、人源化抗体或其抗原结合片段、双特异性抗体或其抗原结合片段、双重可变免疫球蛋白结构域、单链Fv分子(scFv)、双体(diabody)、三体(triabody)、纳米抗体(nanobody)、抗体样蛋白支架、Fv片段、Fab片段、F(ab')₂分子和串联二-scFv(tandem di-scFv)。在一些实施方案中,抗体具有选自由以下组成的组的同种型:IgG、IgA、IgM、IgD和IgE。

[0647] 合成的CXCR2激动剂

[0648] 本文描述的肽类CXCR2激动剂,诸如Gro- β 、Gro- β T及其变体,可以例如使用固相肽合成技术来合成制备。用于进行固相肽合成的系统和方法包括本领域已知并且已经被描述于例如尤其是美国专利第9,169,287号、第9,388,212号、第9,206,222号、第6,028,172号和第5,233,044号中的系统和方法,将其中每一项的公开内容在其涉及用于在固体支持物上合成肽的方案和技术时通过引用并入本文。固相肽合成是一种藉以将氨基酸残基添加至固定在固体支持物诸如聚合树脂(例如,亲水性树脂,诸如含聚乙二醇的树脂,或疏水性树脂,诸如基于聚苯乙烯的树脂)上的肽的方法。

[0649] 肽,诸如在尤其是氨基、羟基、硫醇和羧基取代基处含有保护基团的肽,可以被结合至固体支持物,使得肽被有效地固定在固体支持物上。例如,肽可以经由其C末端与固体支持物结合,从而固定肽以随后在树脂-液体界面中进行反应。

[0650] 向固定的肽添加氨基酸残基的方法可以包括将固定的肽暴露于脱保护试剂,以从至少一部分固定的肽去除至少一部分保护基团。脱保护试剂暴露步骤可以被配置,例如,使得侧链保护基团被保留,而N-末端保护基团被去除。例如,示例性的氨基保护包含芴基甲氨基碳酸基(Fmoc)取代基。可以将固定的肽暴露于含有强碱性物质诸如哌啶(例如,在适当的有机溶剂诸如二甲基甲酰胺(DMF)中的哌啶溶液)的脱保护试剂,使得从至少一部分固定的肽去除Fmoc保护基团。适于保护氨基取代基的其他保护基团包括,例如,叔丁氧基碳酸基(Boc)

部分。可以将含有受Boc保护的氨基取代基的固定的肽暴露于包含强酸诸如三氟乙酸(TFA)的脱保护试剂,以便通过离子化过程去除Boc保护基团。以此方式,肽可以在特定位点处诸如在固定的肽的一个或更多个侧链处或在N-末端或C-末端处被保护和脱保护,以便在这些位置中的一个或更多个处区域选择性地附加化学官能度。这可以用于例如衍生固定的肽的侧链,或例如从C-末端向N-末端合成肽。

[0651] 向固定的肽添加氨基酸残基的方法可以包括,例如,将受保护的活化的氨基酸暴露于固定的肽,使得至少一部分活化的氨基酸与固定的肽键合以形成新键合的氨基酸残基。例如,可以将肽暴露于与肽的脱保护的N-末端反应的活化的氨基酸,从而将肽链延长一个氨基酸。可以通过氨基酸与增强氨基酸的骨架羧基碳的亲电性的剂反应来活化氨基酸以便与脱保护的肽反应。例如,在叔碱(例如,尤其是二异丙基乙胺(DIPEA)和三乙胺(TEA))的存在下,𬭸盐和脲盐可以将受保护的氨基酸转化为活化的物质(例如,BOP、PyBOP、HBTU和TBTU都生成HOBt酯)。其他试剂可以用于帮助防止在碱存在下可能诱导的外消旋化。这些试剂包括添加有辅助性亲核体(例如,1-羟基-苯并三唑(HOBt)、1-羟基-氮杂苯并三唑(HOAt)或HOSu)的碳二亚胺(例如,DCC或WSCDI)或其衍生物。另一种可以用于防止外消旋化的试剂是TBTU。也可以使用混合酸酐法(使用氯甲酸异丁酯,添加或不添加辅助性亲核体),以及叠氮化物法,因为与该试剂相关的外消旋作用低。这些类型的化合物还可以增加碳二亚胺介导的偶联速率以及防止Asn和Gln残基脱水。典型的另外试剂还包括碱,诸如N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)、三乙胺(TEA)或N-甲基吗啉(NMM)。这些试剂被详细描述于例如美国专利第8,546,350号中,将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

[0652] 在Gro- β 和Gro- β T在水性溶液中重组表达和折叠期间,一个特别的C-末端天冬酰胺残基(Gro- β 中的Asn69和Gro- β T中的Asn65)易于脱酰胺。该过程导致天冬酰胺残基向天冬氨酸的转化。不希望受任何理论的束缚,Gro- β 和Gro- β T的化学合成可以例如通过提供减少该天冬酰胺残基暴露于亲核溶剂的条件而克服该问题。例如,当合成制备(即,化学合成)时,使用例如上文描述的固相肽合成技术,可以与本文描述的组合物和方法一起使用的合成的Gro- β 、Gro- β T及其变体相对于这些肽的脱酰胺形式可以具有例如至少约95%的纯度(即,含有少于5%的对应的脱酰胺的肽)。例如,可以与本文描述的组合物和方法一起使用的合成的Gro- β 、Gro- β T及其变体相对于这些肽的脱酰胺形式(例如,SEQ ID NO:1的Asn69脱酰胺形式或SEQ ID NO:2的Asn65脱酰胺形式)可以具有约95%、95.5%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%、99.9%、99.99%或更高的纯度。例如,合成的Gro- β 、Gro- β T及其变体相对于这些肽的脱酰胺形式(例如,SEQ ID NO:1的Asn69脱酰胺形式或SEQ ID NO:2的Asn65脱酰胺形式)可以具有例如从约95%至约99.99%的纯度,诸如从约95%至约99.99%、约96%至约99.99%、约97%至约99.99%、约98%至约99.99%、约99%至约99.99%、约99.9%至约99.99%、约95%至约99.5%、约96%至约99.5%、约95%至约99%或约97%至约99%的纯度。

[0653] 通过扩增方法获得的具有扩增的造血干细胞的细胞群体和治疗性组合物

[0654] 在另一方面中,本公开内容的特征在于包含造血干细胞的群体的组合物,其中造血干细胞或其祖细胞已经与以上任一方面或实施方案的化合物接触,从而扩增造血干细胞或其祖细胞。

[0655] 本发明还提供了具有通过上文描述的扩增方法可获得或获得的扩增的造血干细

胞的细胞群体。在一种实施方案中,将这样的细胞群体重悬于适于向哺乳动物宿主施用的药学上可接受的培养基中,从而提供治疗性组合物。

[0656] 如本公开内容中定义的化合物使得能够例如仅从一个或两个脐带血单位扩增HSC,以提供定量和定性上适于在有相应需要的人类患者中进行有效的短期和长期植入的细胞群体。在一种实施方案中,本公开内容涉及一种治疗性组合物,其包含具有源自不多于一个或两个脐带血单位的扩增的HSC的细胞群体。在一种实施方案中,本公开内容涉及一种治疗性组合物,其含有至少约 10^5 个、至少约 10^6 个、至少约 10^7 个、至少约 10^8 个或至少约 10^9 个细胞的细胞总量,其中总细胞的约20%至约100%,例如约43%至约80%之间为CD34+细胞。在某些实施方案中,所述组合物包含的总细胞的20%-100%之间,例如43%-80%之间为CD34+CD90+CD45RA-。

[0657] 在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD90+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD90+造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD45RA-造血干细胞。在一些实施方案中,造血干细胞是CD34+CD90+CD45RA-造血干细胞。

[0658] 在一些实施方案中,治疗性组合物中的造血干细胞是哺乳动物细胞,诸如人类细胞。在一些实施方案中,人类细胞是CD34+细胞,诸如为以下的CD34+细胞:CD34+细胞、CD34+CD38-细胞、CD34+CD38-CD90+细胞、CD34+CD38-CD90+CD45RA-细胞、CD34+CD38-CD90+CD45RA-CD49F+细胞或CD34+CD90+CD45RA-细胞。

[0659] 在一些实施方案中,治疗性组合物中的造血干细胞从人类脐带血、被动员的人类外周血或人类骨髓获得。造血干细胞可以是,例如,从人体新鲜分离的,或者可以是先前低温保存的。

[0660] 治疗方法

[0661] 如本文描述的,造血干细胞移植疗法可以被施用至需要治疗的受试者,以使一种或更多种血细胞类型诸如罹患干细胞紊乱的患者中缺乏或缺陷的血细胞谱系植入或再植。造血干细胞和祖细胞表现出专潜能性,并且因此可以分化成多种不同的血液谱系,包括但不限于粒细胞(例如,早幼粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)、红细胞(例如,网织红细胞、红细胞)、凝血细胞(例如,原巨核细胞、血小板产生巨核细胞、血小板)、单核细胞(例如,单核细胞、巨噬细胞)、树突状细胞、小胶质细胞、破骨细胞和淋巴细胞(例如,NK细胞、B细胞和T细胞)。另外,造血干细胞能够自我更新并且因此可以产生与母细胞具有等同潜力的子细胞,并且还具有被重新引入移植物接受者的能力的特征,届时它们归巢至造血干细胞小生境并且重建富有成效的和持续的血细胞生成。因此,造血干细胞和祖细胞代表了一种用于治疗患者患有造血谱系细胞类型的缺陷或缺乏的许多种紊乱的有用治疗方法。缺陷或缺乏可以由例如由于施用化学治疗剂(例如,在患者罹患癌症诸如本文描述的血液学癌症的情况下)而导致的造血系统的内源性细胞群体的耗尽而引起。缺陷或缺乏可以由例如由于自身反应性免疫细胞诸如与自身抗原交叉反应的T淋巴细胞或B淋巴细胞的活性(例如,在患者罹患自身免疫性紊乱诸如本文描述的自身免疫性紊乱的情况下)而导致的内源性造血细胞群体的耗尽而引起。另外或可选地,细胞活性的缺陷或缺乏可以由酶的异常表达(例如,在患者罹患多种代谢紊乱诸如本文描述的代谢紊乱的情况下)而引

起。

[0662] 因此,造血干细胞可以被施用至造血谱系的一种或更多种细胞类型缺乏或缺陷的患者,以便在体内重构缺陷或缺乏的细胞的群体,从而治疗与内源性血细胞群体的缺陷或耗尽相关的病理。造血干细胞和祖细胞可以用于治疗,例如,非恶性血红蛋白异常(例如,选自由以下组成的组的血红蛋白异常:镰状细胞性贫血、地中海贫血、范可尼贫血、再生障碍性贫血和威斯科特-奥尔德里奇综合征)。在这些情况下,例如,可以将CXCR4拮抗剂和/或CXCR2激动剂施用至供体,诸如被鉴定为有可能响应于这样的治疗而表现出造血干细胞和祖细胞的群体从干细胞小生境诸如骨髓释放到循环外周血中的供体。然后,可以从供体抽取这样动员的造血干细胞和祖细胞并且施用至患者,在此处细胞可以归巢至造血干细胞小生境并且重构在患者中受损或缺陷的细胞的群体。

[0663] 被动员至受试者的外周血的造血干细胞或祖细胞可以通过任何合适的技术从受试者抽取(例如,收获或收集)。例如,造血干细胞或祖细胞可以通过抽血来抽取。在一些实施方案中,如本文所设想的被动员至受试者的外周血的造血干细胞或祖细胞可以使用血液单采术来收获(即,收集)。在一些实施方案中,血液单采术可以用于富集供体的血液中被动员的造血干细胞或祖细胞。

[0664] 如果本公开内容的扩增的造血干细胞组合物的剂量缓解了疾病的体征或症状,则认为该剂量实现了治疗益处。疾病的体征或症状可以包括一种或更多种与疾病相关的生物标志物,或疾病的一种或更多种临床症状。

[0665] 例如,施用扩增的造血干细胞组合物可以导致罹患疾病的个体中提高的生物标志物的减少,或提高罹患疾病的个体中减少的生物标志物的水平。

[0666] 例如,施用本公开内容的扩增的造血干细胞组合物可以提高罹患代谢紊乱的个体中减少的酶的水平。生物标志物水平的这种变化可以是部分的,或者生物标志物水平可以恢复到健康个体中常见的水平。

[0667] 在一种实施方案中,当疾病是例如关于神经组分的遗传性代谢紊乱时,扩增的造血干细胞组合物可以部分或完全地减少遗传性代谢紊乱的一种或更多种临床症状。可以受施用本公开内容的扩增的造血干细胞组合物影响的示例性而非限制性的症状包括共济失调、肌张力障碍、运动紊乱、癫痫和周围神经病。

[0668] 在一些情况下,关于神经组分的遗传性代谢紊乱的体征或症状包括心理学体征或症状。例如,紊乱的体征或症状可以包括急性精神紊乱、幻觉、抑郁综合征、其他症状或症状的组合。评价与关于神经组分的代谢紊乱相关的心理学体征或症状的方法将是本领域普通技术人员已知的。

[0669] 遗传性代谢紊乱可以发生于成人或小儿。

[0670] 遗传性代谢紊乱可以导致神经系统退行。

[0671] 缓解紊乱的体征或症状可以包括减缓神经退行的速率或疾病的进展速率。

[0672] 缓解紊乱的体征或症状可以包括逆转神经退行或逆转疾病的进展。神经退行的示例性症状包括记忆丧失、情感淡漠、焦虑、烦躁、抑制丧失(loss of inhibition)和情绪变化。评价神经退行及其进展的方法将是本领域普通技术人员已知的。

[0673] 例如,在罹患赫尔勒综合征的患者中,硫酸乙酰肝素和硫酸皮肤素的积聚由α-L-艾杜糖醛酸酶缺陷引起。更佳地清除这些积聚的物质的治疗将更佳地矫正潜在的紊乱。

[0674] 另外或可选地,造血干细胞和祖细胞可以用于治疗免疫缺陷,诸如先天性免疫缺陷。另外或可选地,本文描述的组合物和方法可以用于治疗获得性免疫缺陷(例如,选自由以下组成的组的获得性免疫缺陷:HIV和AIDS)。在这些情况下,例如,可以将CXCR4拮抗剂和/或CXCR2激动剂施用至供体,诸如被鉴定为有可能响应于这样的治疗而表现出造血干细胞和祖细胞的群体从干细胞小生境诸如骨髓释放到循环外周血中的供体。然后,可以从供体抽取这样动员的造血干细胞和祖细胞并且施用至患者,在此处细胞可以归巢至造血干细胞小生境并且重构在患者中受损或缺陷的免疫细胞的群体(例如,T淋巴细胞、B淋巴细胞、NK细胞或其他免疫细胞)。

[0675] 造血干细胞和祖细胞还可以用于治疗代谢紊乱(例如,选自由以下组成的组的代谢紊乱:糖原贮积病、黏多糖贮积病、高歇氏病、赫尔勒综合征或赫尔勒病、鞘脂贮积病、Sly综合征、 α -甘露糖苷贮积症、X-ALD病、天冬氨酰基葡萄糖胺尿症、Wolman病、晚期婴儿异染性脑白质营养不良、C型尼曼-匹克病(Niemann Pick Type C disease)、B型尼曼-匹克病、青少年泰伊-萨克斯病(Juvenile Tay Sachs)、婴儿泰伊-萨克斯病、青少年山德霍夫氏病(Juvenile Sandhoff)、婴儿山德霍夫氏病、GM1神经节苷脂贮积病、MPSIV(Morquio)、症状前或较轻形式的球样细胞脑白质营养不良、新生儿和无症状时的婴儿克拉伯病、早期诊断岩藻糖苷贮积病、法布里病(Fabry),联合ERT治疗或其中同种抗体减弱ERT疗效的MPSIS、MPSIH/S、MPSII、MPSVI、其中同种抗体减弱ERT疗效的庞贝病(Pompe)、粘脂贮积病II和异染性脑白质营养不良)。在这些情况下,例如,可以将CXCR4拮抗剂和/或CXCR2激动剂施用至供体,诸如被鉴定为有可能响应于这样的治疗而表现出造血干细胞和祖细胞的群体从干细胞小生境诸如骨髓释放到循环外周血中的供体。然后,可以从供体抽取这样动员的造血干细胞和祖细胞并且施用至患者,在此处细胞可以归巢至造血干细胞小生境并且重构在患者中受损或缺陷的造血细胞的群体。

[0676] 另外或可选地,造血干细胞或祖细胞可以用于治疗恶性肿瘤或增生性紊乱,诸如血液学癌症或骨髓增生性疾病。在癌症治疗的情况下,例如,可以将CXCR4拮抗剂和/或CXCR2激动剂施用至供体,诸如被鉴定为有可能响应于这样的治疗而表现出造血干细胞和祖细胞的群体从干细胞小生境诸如骨髓释放到循环外周血中的供体。然后,可以从供体抽取这样动员的造血干细胞和祖细胞并且施用至患者,在此处细胞可以归巢至造血干细胞小生境并且重构在患者中受损或缺陷的细胞的群体,诸如由于向患者施用一种或更多种化学治疗剂而受损或缺陷的造血细胞的群体。在一些实施方案中,可以将造血干细胞或祖细胞输注到患者中,以便再植人在癌细胞消除期间诸如在全身化学疗法期间耗尽的细胞的群体。可以通过根据本文描述的组合物和方法施用造血干细胞和祖细胞来治疗的示例性血液学癌症是急性骨髓性白血病、急性淋巴性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、多发性骨髓瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤,以及其他癌性状况,包括神经母细胞瘤。

[0677] 可以通过向患者施用造血干细胞和祖细胞来治疗的另外的疾病包括但不限于腺苷脱氨酶缺乏症和重症联合免疫缺陷病、高免疫球蛋白M综合征、切东病、遗传性淋巴组织细胞增多症、骨硬化病、成骨不全症、贮积病、重型地中海贫血、系统性硬化、系统性红斑狼疮、多发性硬化和青少年类风湿性关节炎。

[0678] 另外,施用造血干细胞和祖细胞可以用于治疗自身免疫性紊乱。在一些实施方案

中,在输注到患者中后,移植的造血干细胞和祖细胞可以归巢至干细胞小生境诸如骨髓,并且建立富有成效的血细胞生成。这继而可以重构在自身免疫性细胞清除期间耗尽的细胞群体,所述自身免疫性细胞可能由于自身反应性淋巴细胞(例如,自身反应性T淋巴细胞和/或自身反应性B淋巴细胞)的活性而出现。可以通过向患者施用造血干细胞和祖细胞来治疗的自身免疫性疾病包括但不限于银屑病、银屑病性关节炎、1型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus)(1型糖尿病(Type 1 diabetes))、类风湿性关节炎(RA)、人类系统性红斑狼疮(SLE)、多发性硬化(MS)、炎性肠病(IBD)、淋巴细胞性结肠炎、急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、爱迪生氏病、普秃、强直性脊柱炎、抗磷脂抗体综合征(APS)、再生障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性肝炎、自身免疫性内耳病(AIED)、自身免疫性淋巴细胞增生综合征(ALPS)、自身免疫性卵巢炎、巴洛病、白塞氏病、大疱性类天疱疮、心肌病、恰加斯氏病、慢性疲劳免疫功能障碍综合征(CFIDS)、慢性炎性脱髓鞘多发性神经病、克罗恩氏病、瘢痕性类天疱疮、乳糜泻-疱疹样皮炎,冷凝集素病、CREST综合征、恶性萎缩性丘疹病、盘状红斑狼疮、自主神经功能障碍、子宫内膜异位、原发性混合型冷球蛋白血症、纤维肌痛-纤维肌炎、肺出血肾炎综合征、格雷夫斯病、格林-巴利综合征(GBS)、桥本氏甲状腺炎、化脓性汗腺炎、特发性和/或急性血小板减少性紫癜、特发性肺纤维化、IgA神经病变、间质性膀胱炎、青少年关节炎、川崎病、扁平苔藓、莱姆病、梅尼埃病、混合性结缔组织病(MCTD)、重症肌无力、神经性肌强直、斜视眼阵挛肌阵挛综合征(OMS)、视神经炎、奥德氏甲状腺炎、寻常型天疱疮、恶性贫血、多软骨炎、多肌炎和皮肌炎、原发性胆汁性肝硬化、结节性多动脉炎、多腺体综合征、风湿性多肌痛、原发性无丙种球蛋白血症、雷诺现象、莱特尔综合征、风湿热、结节病、硬皮病、干燥综合征、僵人综合征、高安氏动脉炎、颤动脉炎(又称“巨细胞动脉炎”)、溃疡性结肠炎、胶原性结肠炎、葡萄膜炎、血管炎、白癜风、外阴痛(“外阴前庭炎”)和韦格纳肉芽肿病。

[0679] 造血干细胞移植疗法还可以用于治疗神经紊乱,诸如帕金森病、阿尔茨海默病、多发性硬化、肌萎缩侧索硬化、亨廷顿病、轻度认知损害、淀粉样变性、艾滋病相关痴呆、脑炎、中风、头部创伤、癫痫、情绪紊乱和痴呆。如本文描述的,在移植到患者中后,造血干细胞可迁移至中枢神经系统并且分化成例如小胶质细胞,从而重构在罹患神经紊乱的患者中可能受损或缺陷的细胞的群体。在这些情况下,例如,可以将造血干细胞的群体施用至罹患神经紊乱的患者,在患者中细胞可以归巢至患者的中枢神经系统诸如脑,并且重构在患者中受损或缺陷的造血细胞(例如,小胶质细胞)的群体。

[0680] 治疗遗传性代谢紊乱的方法—施用扩增的CD90+干细胞以在脑中植入小胶质细胞

[0681] 如本文描述的,造血干细胞移植疗法可以被施用至需要治疗的受试者,以便植入或再植入一种或更多种血细胞类型诸如罹患干细胞紊乱的患者中缺乏或缺陷的血细胞谱系。造血干细胞和祖细胞表现出专能性,并且因此可以分化成多种不同的血液谱系,在一种实施方案中,包括小胶质细胞。

[0682] 在一种实施方案中,造血干细胞移植疗法或遗传代谢紊乱的造血干细胞移植可以使用交叉矫正来实现。(Wynn, R. "Stem Cell Transplantation in Inherited Metabolic Disorders" Hematology 2011, 285-291页。)交叉矫正包括在患者或宿主组织中植入扩增的HSC,在此处所植入的细胞分泌缺乏的酶,并且然后所述缺乏的酶被缺乏该酶的患者的细胞摄取。

[0683] 在一种实施方案中,待治疗的遗传性代谢紊乱选自赫尔勒综合征(赫尔勒病)、粘多糖紊乱(例如,Maroteaux Lamy综合征)、溶酶体贮积紊乱和过氧化物酶体紊乱(例如,X-连锁肾上腺脑白质营养不良)、糖原贮积病、粘多糖贮积病、粘脂贮积病II、高歇氏病、鞘脂贮积病和异染性脑白质营养不良。

[0684] 在某些实施方案中,使用本公开内容的CXCR2激动剂和/或CXCR4拮抗剂来动员患者中或健康供体中的HSC。CXCR4拮抗剂可以是普乐沙福或其变体,而CXCR2激动剂可以是Gro- β 或其变体,诸如Gro- β 的截短体,例如,Gro- β T。然后从受试者的外周血样品分离动员的HSC。分离HSC的方法对于本领域普通技术人员将是明显的。如果HSC是从患有遗传性代谢紊乱的受试者分离的,则然后可以对HSC进行遗传修饰以矫正导致紊乱的遗传缺陷,使用本公开内容的方法进行扩增,并且然后将矫正的扩增的细胞移植回患者中(自体移植)。任选地,可以在遗传修饰之前扩增HSC。可选地,可以在健康个体中使用本公开内容的CXCR2激动剂和/或CXCR4拮抗剂来动员HSC,所述健康个体(1)未罹患遗传性代谢紊乱,并且(2)是罹患遗传性代谢紊乱的受试者的相容供体。可以从动员后收集的取自该健康个体的血液样品分离HSC,然后可以使用本公开内容的扩增方法扩增HSC,并且将扩增的细胞移植到患有遗传性代谢紊乱的受试者中。

[0685] 已经发现,用本公开内容的方法制备的HSC导致比新鲜细胞或在细胞因子存在下培养的细胞植入更多的小胶质细胞。这是由于在扩增的细胞群体中存在更多的CD90+细胞。

[0686] 本文公开的用于治疗有相应需要的受试者的遗传性代谢紊乱的方法包括向有相应需要的受试者施用造血干细胞的扩增的群体。在一种实施方案中,向受试者施用的扩增的造血干细胞的数量等于或大于为了获得治疗益处所需的造血干细胞的数量。在一种实施方案中,向受试者施用的扩增的造血干细胞的数量大于为了获得治疗益处所需的造血干细胞的数量。在一种实施方案中,所获得的治疗益处与所施用的扩增的造血干细胞的数量成比例。

[0687] 如果本公开内容的扩增的造血干细胞组合物的剂量缓解了疾病的体征或症状,则认为该剂量实现了治疗益处。疾病的体征或症状可以包括一种或更多种与疾病相关的生物标志物,或疾病的一种或更多种临床症状。

[0688] 例如,施用扩增的造血干细胞组合物可以导致罹患疾病的个体中提高的生物标志物的减少,或提高罹患疾病的个体中减少的生物标志物的水平。

[0689] 例如,施用本公开内容的扩增的造血干细胞组合物可以提高罹患代谢紊乱的个体中减少的酶的水平。生物标志物水平的这种变化可以是部分的,或者生物标志物水平可以恢复到健康个体中常见的水平。

[0690] 在一种实施方案中,当疾病是例如关于神经组分的遗传性代谢紊乱时,扩增的造血干细胞组合物可以部分或完全地减少遗传性代谢紊乱的一种或更多种临床症状。可以受施用本公开内容的扩增的造血干细胞组合物影响的示例性但非限制性的症状包括共济失调、肌张力障碍、运动紊乱、癫痫和周围神经病。

[0691] 在一些情况下,关于神经组分的遗传性代谢紊乱的体征或症状包括心理学体征或症状。例如,紊乱的体征或症状可以包括急性精神紊乱、幻觉、抑郁综合征、其他症状或症状的组合。评价与关于神经组分的代谢紊乱相关的心理学体征或症状的方法将是本领域普通技术人员已知的。

[0692] 遗传性代谢紊乱可以发生于成人或小儿。

[0693] 遗传性代谢紊乱可以导致神经系统退行。

[0694] 缓解紊乱的体征或症状可以包括减缓神经退行的速率或疾病的进展速率。

[0695] 缓解紊乱的体征或症状可以包括逆转神经退行或逆转疾病的进展。神经退行的示例性症状包括记忆丧失、情感淡漠、焦虑、烦躁、抑制丧失和情绪变化。评价神经退行及其进展的方法将是本领域普通技术人员已知的。

[0696] 例如,在罹患赫尔勒综合征的患者中,硫酸乙酰肝素和硫酸皮肤素的积聚由α-L-艾杜糖醛酸酶缺陷引起。更佳地清除这些积聚的物质的治疗将更佳地矫正潜在的紊乱。

[0697] 供体和患者的选择

[0698] 在一些实施方案中,患者是供体。在这样的情况下,抽取的造血干细胞或祖细胞可以被重输注到患者中,使得细胞可以随后归巢至造血组织并且建立富有成效的血细胞生成,从而植入或再植入患者中缺乏或缺陷的细胞系(例如,巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞、粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞的群体)。在该情况下,所移植的造血干细胞或祖细胞最不可能经历移植排斥,因为所输注的细胞源自患者并表达与患者表达的相同的HLA I类和II类抗原。

[0699] 可选地,患者和供体可以是不同的。在一些实施方案中,患者和供体是相关的,并且可以例如是HLA匹配的。如本文描述的,由于移植物接受者中的内源性T细胞和NK细胞较不可能将进入的造血干细胞或祖细胞移植物识别为外源的,并且因此较不可能针对移植物产生免疫应答,因此,HLA匹配的供体-接受者对具有降低的移植排斥风险。示例性的HLA匹配的供体-接受者对是遗传相关的供体和接受者,诸如家族性供体-接受者对(例如,同胞供体-接受者对)。

[0700] 在一些实施方案中,患者和供体是HLA不匹配的,这发生在供体和接受者之间至少一种HLA抗原,特别是关于HLA-A、HLA-B和HLA-DR的抗原不匹配时。为了减少移植排斥的可能性,在供体和接受者之间可以,例如,一个单体型匹配,而另一个单体型可以不匹配。

[0701] 造血干细胞或祖细胞的施用和剂量

[0702] 本文描述的造血干细胞和祖细胞可以通过一种或更多种施用途径被施用至罹患本文描述的疾病、状况或紊乱的受试者,诸如哺乳动物受试者(例如,人类受试者)。例如,本文描述的造血干细胞可以通过静脉内输注被施用至受试者。造血干细胞可以以任何合适的剂量被施用。剂量的非限制性实例包括约 1×10^5 个CD34+细胞/kg接受者至约 1×10^7 个CD34+细胞/kg(例如,尤其是从约 2×10^5 个CD34+细胞/kg至约 9×10^6 个CD34+细胞/kg、从约 3×10^5 个CD34+细胞/kg至约 8×10^6 个CD34+细胞/kg、从约 4×10^5 个CD34+细胞/kg至约 7×10^6 个CD34+细胞/kg、从约 5×10^5 个CD34+细胞/kg至约 1×10^7 个CD34+细胞/kg、从约 6×10^5 个CD34+细胞/kg至约 1×10^7 个CD34+细胞/kg、从约 7×10^5 个CD34+细胞/kg至约 1×10^7 个CD34+细胞/kg、从约 8×10^5 个CD34+细胞/kg至约 1×10^7 个CD34+细胞/kg、从约 9×10^5 个CD34+细胞/kg至约 1×10^7 个CD34+细胞/kg,或从约 1×10^6 个CD34+细胞/kg至约 1×10^7 个CD34+细胞/kg)。

[0703] 本文描述的造血干细胞或祖细胞和药物组合物可以以一次或更多次剂量向受试者施用。当施用多次剂量时,可以在初次剂量后一天或更多天、一周或更多周、一个月或更

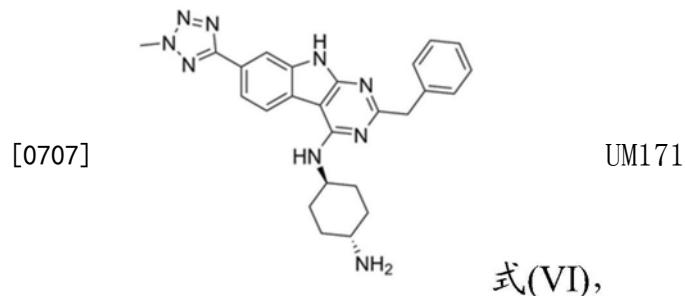
多个月,或者一年或更多年后,提供后续剂量。

实施例

[0704] 提出以下实施例以向本领域普通技术人员提供可以如何使用、制备和评价本文描述的组合物和方法的描述,并且意图对本发明仅仅是示例性的,并且不意图限制本发明人认为是其发明的范围。

[0705] 实施例1.通过用芳香烃受体拮抗剂处理来扩增经基因修饰的造血干细胞或祖细胞

[0706] 方法.在细胞因子的存在下,对包括SR1在内的一系列芳香烃受体拮抗剂连同组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂和UM171[式(VI)]离体扩增原代人类CD34+细胞进行了评价。细胞数量和免疫表型通过流式细胞术来评估,而HSC功能通过体外细胞和分子测定来评价。将扩增的细胞移植到经亚致死辐照的NSG小鼠中,以评价体内植入潜力。对于编辑研究,用靶向 β -2微球蛋白(B2M)细胞表面蛋白的CRISPR/Cas9 RNP电穿孔(electroporate)mPB和BM CD34+细胞。编辑率通过基于蛋白表达损失的流式细胞术和TIDE分析来评价。在AHR拮抗剂或媒介物的存在下扩增经编辑的细胞并将其移植到NSG小鼠中。在本实施例中描述的实验中使用的AHR拮抗剂是本文的化合物26。植入率和编辑率通过对外周血和骨髓进行流式细胞术来评价。



[0708] 结果.基于这些实验的结果,与未被操作的细胞相比,用AHR拮抗剂扩增的培养物在NSG植入水平方面显示出最大的改进。相对于媒介物培养的CB来源的CD34+细胞,用SR1或另一种AHR拮抗剂化合物26培养CD34+细胞,导致CD34+数量增加了6倍,并且在NSG小鼠中的植入显著增加。芳香烃受体拮抗剂A在二噁英反应元件萤光素酶报道物测定中显示出完全的AHR拮抗作用,并且与SR1相比是更有效的拮抗剂(效力增加了12倍)。为了评价AHR拮抗剂化合物有效扩增经基因编辑的细胞的能力,用媒介物或AHR拮抗剂处理mPB和BM来源的CD34+细胞,并且在第二天用靶向B2M的CRISPR/Cas9 RNP编辑。在扩增7天后,媒介物或AHR拮抗剂处理的细胞分别显示出87%和84%的靶蛋白损失。扩增的培养物包含的CD34+CD90+细胞比媒介物处理的细胞多3.4倍。在移植后,接受扩增的细胞的小鼠与接受媒介物处理的细胞的小鼠相比,显示出植入增加了大于2倍。重要的是,扩增的细胞的编辑率在体内得以维持,在小鼠外周中平均有>75%的人类细胞显示出靶蛋白的损失。

[0709] 结论.这些研究证明,AHR拮抗剂是有效的扩增功能性HSC的策略,并且抑制AHR的小分子可以扩增经基因修饰的来自mPB和BM的HSC。

[0710] 实施例2.通过CRISPR/Cas9介导的基因沉默和慢病毒介导的基因表达修饰的造血干细胞或祖细胞的扩增和移植

[0711] 获得高剂量的造血干细胞,诸如经遗传修饰的造血干细胞,对于成功的基因疗法是重要的。造血干细胞的离体扩增代表了一种方法,通过该方法可以获得用于治疗性应用的提高的量的细胞。如图1中示出的,一项其中患者接受了通过在AHR拮抗剂的存在下培养细胞而离体扩增的脐带血(CB)来源的造血干细胞的临床试验显示出植入时间的改进。本实施例证明了AHR拮抗剂离体扩增经遗传修饰的造血干细胞的能力,以及促进这样的细胞在体内植入和保留遗传修饰的能力。

[0712] 为了研究这些活性,进行了一系列实验,其中造血干细胞和祖细胞通过慢病毒转导或CRISPR/Cas9介导的基因编辑被遗传改变,随后通过用AHR拮抗剂处理来离体扩增。在本实施例中描述的实验中使用的AHR拮抗剂是本文的化合物26。然后将细胞输注到NSG小鼠中,并且评估植入率和遗传修饰的保留。以下章节解释了用于这些研究的方法,并且详述了来自这些实验的多种发现。

[0713] 方法

[0714] 慢病毒转导:将低温保存的来自动员的外周血(mPB)的CD34+细胞解冻,并且在含有细胞因子和媒介物(DMSO)或细胞因子和AHR拮抗剂(扩增的)的培养基中培养过夜。第二天,在媒介物或AHR拮抗剂的存在下,将细胞铺在纤维连接蛋白包被的板上,并且用含有在MND启动子的控制下的绿色荧光蛋白(GFP)转基因的慢病毒载体以50的MOI转导。24小时后,收获细胞,洗涤并且重悬于含有细胞因子和适当化合物的培养基中。

[0715] CRISPR/Cas9编辑和扩增:将低温保存的来自mPB和骨髓(BM)的CD34+细胞解冻,并且在含有细胞因子和媒介物或细胞因子和AHR拮抗剂的培养基中培养过夜。将细胞用Cas9蛋白(Aldevron)和作为核糖核苷酸蛋白(RNP)的合成的经化学修饰的靶向β-2-微球蛋白(B2M)的gRNA(Syntheego)来电穿孔转染。

[0716] 移植到NSG小鼠中:将来自培养的细胞的所有子代移植到经亚致死辐照的雌性6-8周龄NSG小鼠中。通过流式细胞术每月监测植入率和转导率/编辑率。在编辑后一天移植“最小操作的”对照,总培养时间为2天。

[0717] 结果

[0718] 在动员和低温保存来自外周血的CD34+细胞后,用慢病毒GFP-MND载体转导细胞或使细胞经受CRISPR/Cas9介导的B2M细胞表面蛋白沉默。然后将细胞在AHR拮抗剂的存在下培养7天,此时对细胞进行定量并且评估遗传修饰的保留。如图2A-2D中示出的,相对于媒介物处理的细胞,用AHR拮抗剂处理导致细胞总量增加。此外,相对于媒介物处理的细胞和未处理的细胞,用AHR拮抗剂处理促进了CD34+CD90+细胞量的大幅增加。与媒介物处理或完全缺乏处理相比,用AHR拮抗剂扩增也在更大程度上增加了GFP+CD34+CD90+细胞的量。转向经受慢病毒转导的细胞,如图3A-3E中示出的,相对于媒介物处理的细胞和未处理的细胞,用AHR拮抗剂处理导致总细胞、CD34+细胞和CD34+CD90+细胞的量高得多。转向经受CRISPR/Cas9介导的B2M编辑的细胞,如图5A-5E中示出的,相对于媒介物处理的细胞和未处理的细胞,用AHR拮抗剂处理导致总细胞、CD34+细胞和CD34+CD90+细胞的量高得多。这些附图还证明,经转导/编辑的扩增的mPB细胞提供了比媒介物培养的细胞更高的植入率。

[0719] 在遗传修饰和扩增之后,将CD34+细胞移植到NSG小鼠中,并且移植后每月评估细胞的植入。如图4A-4C和图6A-6I中示出的,相对于媒介物处理的细胞,在移植前用AHR拮抗剂处理以离体扩增的细胞通常表现出更高的植入率。此外,相对于媒介物处理的细胞,AHR

拮抗剂处理的细胞在移植后表现出更多的B2M-表型的保留。如图7A-7N中示出的,还发现扩增的经编辑的mPB和BM细胞表现出比最小操作的细胞更高的植入率。

[0720] 结论

[0721] 综上所述,从这些实验中收集的数据证明,与最小操作的和媒介物对照相比,用AHR拮抗剂扩增mPB和BM造血干细胞导致在移植到NSG小鼠中后的植入增加。在mPB CD34+细胞和BM CD34+细胞两者中均达到80%的编辑率,并且在移植到NSG小鼠中之后得以维持。另外,与媒介物培养的细胞相比,经编辑的扩增的细胞的移植在16周后在小鼠的PB和BM两者中均导致大于2倍的植入改进。因此,通过用AHR拮抗剂处理来扩增经基因修饰的细胞同时允许增加植入率且保持高的基因编辑和转导效率。

[0722] 实施例3.通过施用造血干细胞或祖细胞移植物来治疗血液学紊乱

[0723] 使用本文描述的组合物和方法,可以通过向患者施用造血干细胞或祖细胞移植物来治疗干细胞紊乱,诸如本文描述的血液学病理。例如,可以从供体分离造血干细胞或祖细胞的群体。在分离过程之后,然后患者可以接受动员的和分离的造血干细胞或祖细胞的输注(例如,静脉内输注)。患者可以是供体,或者可以是相对于供体HLA匹配的患者,从而减少移植排斥的可能性。患者可以是罹患例如癌症诸如本文描述的血液学癌症的患者。另外或可选地,患者可以是罹患本文描述的自身免疫性疾病或代谢紊乱的患者。

[0724] 可以例如通过在施用移植物后从患者抽取血液样品并确定造血干细胞或造血谱系细胞(诸如巨核细胞、凝血细胞、血小板、红细胞、肥大细胞、原粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、小胶质细胞,粒细胞、单核细胞、破骨细胞、抗原呈递细胞、巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞)的浓度的增加来监测造血干细胞移植物的植入。该分析可以在例如造血干细胞移植疗法后1小时至6个月或更长时间(例如,1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、2天、3天、4天、5天、6天、7天、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、13周、14周、15周、16周、17周、18周、19周、20周、21周、22周、23周、24周或更长时间)进行。这一发现,即在移植疗法后造血干细胞或造血谱系细胞的浓度相对于在移植疗法之前对应的细胞类型的浓度是增加的(例如,增加1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、500%或更多),提供了一个指示,即造血干细胞或祖细胞移植疗法在治疗干细胞紊乱方面是有效的。

[0725] 实施例4.造血干细胞移植后小胶质细胞在NSG小鼠脑内的植入

[0726] 在过去的30年中,进行了约1,000次同种异体造血细胞移植(HSCT),用于治疗不同的遗传性代谢紊乱,以预防症状发作、抑制疾病进展和改进患者预后。HSCT在这些疾病中的目标是提供产生功能性酶的细胞,否则这些细胞在遗传性代谢紊乱患者中是缺乏的。从机理上来说,这是通过供体来源的细胞对髓细胞区室(包括脑小胶质细胞)的再植入来实现的。小胶质细胞分解代谢组织中的储存物质;用正常细胞替代有缺陷的小胶质细胞,重建了一种重要的在遗传性代谢紊乱患者中缺陷性的清除功能。此外,这些正常细胞分泌溶酶体酶,溶酶体酶可被邻近细胞吸收,从而交叉矫正代谢紊乱。尽管HSCT有效地阻止了疾病的发展,但在HSCT之后,中枢神经系统的稳定需要6-12个月,这也许反映了供体来源的细胞替代小胶质细胞的缓慢动力学。

[0727] 我们比较了未被操作的脐带血或使用芳香烃受体(AHR)拮抗剂离体扩增的脐带血将MGTA-456植入大脑小胶质细胞区室的能力。该实施例中描述的实验设计如图8所示。在本实施例中描述的实验中使用的AHR拮抗剂是本文中由式(2)表示的化合物2。AHR拮抗是扩增脐带血来源的CD34+细胞的有效策略,可减少移植失败,加速嗜中性粒细胞恢复并提供稳定的长期植入(Wagner等人,Cell Stem Cell,2016)。

[0728] 在该研究中,移植了MGTA-456的小鼠在第13周显示出比移植了未扩增的新鲜脐带血或媒介物处理的CD34+细胞的小鼠高2.8倍的外周血中人CD45植入(图9A和9B)。如图10中示出的,我们观察到在移植了MGTA-456的NSG小鼠的脑中,人CD45+CD11b+骨髓细胞增加了约10倍(n=15,p<0.0001)。为了证实小胶质细胞在脑中的植入,我们还在移植后通过形态学评估和免疫组织化学评估了脑切片中Ku80+Iba1+小胶质细胞的存在,其结果显示在例如图11中。

[0729] 这些数据表明,离体扩增的人类脐带血CD34+细胞MGTA-456显著改进了人小胶质细胞在NSG小鼠脑中的植入。这些发现证明,用芳香烃受体拮抗剂离体扩增的造血干细胞,例如用化合物2扩增的MGTA-456,是加速患有神经和遗传代谢紊乱的患者恢复的有效方法。

[0730] 材料和方法

[0731] 脐带血扩增和移植

[0732] 将约60,000个脐带血CD34+细胞接种在T25瓶中,最终体积为12mL,在HSC生长培养基中(补充有Pen/Strep、50ng/mL FLT3L、TPO、SCF和IL-6的SFEM)。将瓶在37°C/5%CO₂孵育10天。在指示时,将细胞在500nM AHR拮抗剂的存在下培养。在整个培养期间,当需要将细胞保持在小于1×10⁶个细胞/mL的密度时,将细胞转移到较大的瓶中。

[0733] 解冻时,将与起始细胞培养物相同数量的细胞注射到NSG小鼠体内,该NSG小鼠在注射前24小时进行亚致死辐照(200cGy)。培养10天后,将培养物的整个后代注射到NSG小鼠体内。在约第4周和第8周通过眶后出血或在第12周通过心脏穿刺收集外周血,并使用抗hCD45、mCD45、hCD33、hCD19、hCD3的抗体和活性染料(viability dye)通过流式细胞术评估嵌合体。

[0734] 脑收获和处理

[0735] 3个月时,收获脑。将1个半球固定在福尔马林中,包埋,并用于免疫组织化学。将另一个半球在杜恩斯缓冲液(Dounce buffer)(15mM HEPES/0.5%葡萄糖,在无酚红HBSS中)中粉碎,过滤通过40μm过滤器,形成单细胞悬液,并重悬于900μL 0.5%BSA/PBS中。按照制造商的说明,通过将脑样品与100μL髓磷脂去除珠(Miltenyi Biotec)一起孵育,在4°C下孵育15分钟,用PBS洗涤,并在1mL MACS缓冲液中重悬,随后在AutoMACs Pro上检测,从脑样品耗尽髓磷脂。

[0736] 流式细胞术检测小胶质细胞

[0737] 将髓磷脂耗尽的样品重悬于100μL的PBS中,并用抗hCD45、mCD45、CD11b、CD19、CD3的抗体和7-AAD活性染料染色。将细胞在PBS中洗涤一次,并重悬于300μL最终体积中。通过流式细胞术(BD Celesta)获取整个样品,以定量每个大脑半球的小胶质细胞数量。

[0738] 小胶质细胞的免疫组织化学检测

[0739] 将包埋的大脑以约5微米进行切片,并用Ku80(棕色)和Iba-1(红色)一级抗体染色。从每只移植的小鼠分析小鼠大脑,并各分析五个水平。使用Aperio AT2全载玻片扫描仪

以20X扫描载玻片。使用Visiopharm软件对数字幻灯片图像进行图像分析。

[0740] 实施例5. 基因矫正的可植入细胞的扩增

[0741] 结果

[0742] 图12A示出了在细胞因子的存在下,在有或没有芳香烃拮抗剂(AHR拮抗剂)化合物26的情况下,处于G0期、G1期或S-G2-M期的动员的外周血细胞中CD34+CD90+的比例随着培养天数的变化。数据表明,在芳香烃受体拮抗剂的存在或不存在下,在培养约3天后,动员的外周血中的基本上所有的CD34+CD90+细胞离开G0期并进入细胞复制周期。

[0743] 图12B示出了在细胞因子的存在下,在有或没有芳香烃拮抗剂(AHR拮抗剂)化合物26的情况下,处于G0期、G1期或S-G2-M期的脐带血细胞中CD34+CD90+的比例随着培养天数的变化。数据表明,在芳香烃受体拮抗剂的存在或不存在下,在培养约3天后,脐带血中基本上所有的CD34+CD90+细胞离开G0期并进入细胞复制周期。

[0744] 图13A显示,与用基因编辑试剂进行电穿孔前预刺激1天(1天)的动员的外周血细胞相比,在用基因编辑试剂进行电穿孔前,在化合物26的存在下预刺激(预刺激)(即在培养物中生长)4天(4天)的动员的外周血细胞,获得了更高的基因矫正率。将图13A中的数据与图12中的数据进行比较,这些结果表明,利用活跃的周期中细胞可以获得更高的基因矫正率。

[0745] 图13B显示,与在用基因编辑试剂电穿孔前预刺激1天的脐带血细胞相比,在用基因编辑试剂电穿孔前预刺激4天的脐带血细胞获得了相似的基因矫正率。比较图13A和图13B中的数据,与动员的外周血细胞预刺激1天相比,在脐带血细胞预刺激1天后观察到更高的基因矫正率。这些数据表明,与动员的外周血细胞相比,更高比例的脐带血细胞在预刺激1天后活跃地进行周期循环。

[0746] 在图14A和图14B中,将2+2(刺激前天数+EP后培养天数)的数据与4+4的数据进行比较,对于矫正的动员的外周血细胞和矫正的脐带血细胞,观察到基因矫正的细胞总数显著增加。

[0747] 材料和方法

[0748] 将动员的外周血(mPB)CD34+或脐带血(CB)CD34+细胞解冻并在化合物26(500nM)的存在或不存在下,在无血清培养基(补充有细胞因子SCF、IL6、TPO和FLT3L的SFEM培养基)中预刺激(即培养)。在用gRNA/Cas9和寡核苷酸供体进行电穿孔前1、2、3或4天对细胞进行预刺激。将细胞在电穿孔后再培养8天,并在电穿孔后2、4、6或8天使用基于Trucount对CD34、CD90和CD45RA定量的方法进行分析。将细胞传代培养以保持细胞密度低于 1×10^6 个细胞/mL。在第8天,从细胞团培养物提取基因组DNA,并通过qPCR评估矫正率。矫正的细胞的数量由在所示时间点的总细胞数量乘以该预刺激条件的矫正率来确定。

[0749] 其他实施方案

[0750] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文,其程度如同每个单独的出版物或专利申请被具体和单独地指示通过引用并入的相同程度。

[0751] 虽然已经结合本发明的具体实施方案描述了本发明,但是应该理解,本发明能够具有进一步的修改,并且本申请意图覆盖本发明的任何变化、用途或修改,所述本发明的任何变化、用途或修改在总体上遵循本发明的原则,并且包括在本发明所属的领域内是已知或惯用实践之内的并且可以被应用于在上文中陈述的必要特征且落入本权利要求书的范

围的此类偏离。

[0752] 其他实施方案落入本权利要求书内。

AHR拮抗剂介导的CB HSC的扩增的临床证据

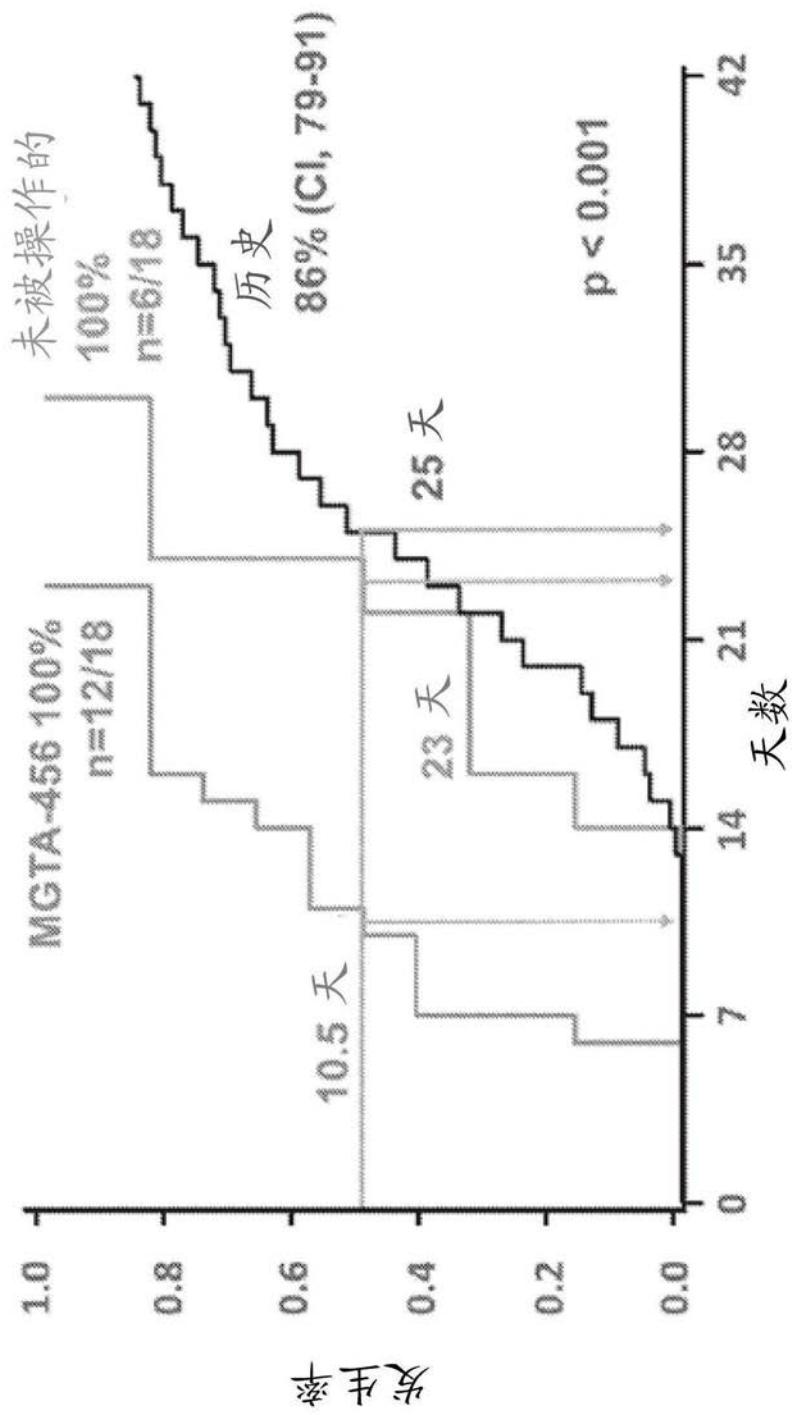


图1

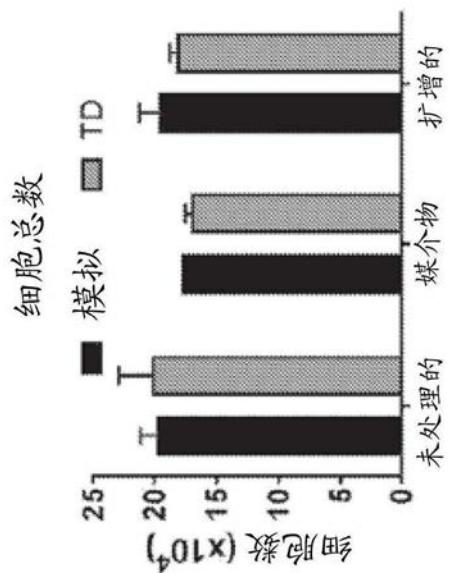


图 2A

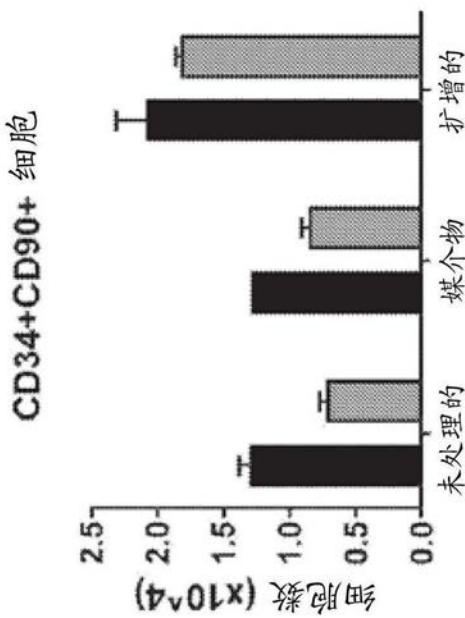


图 2B

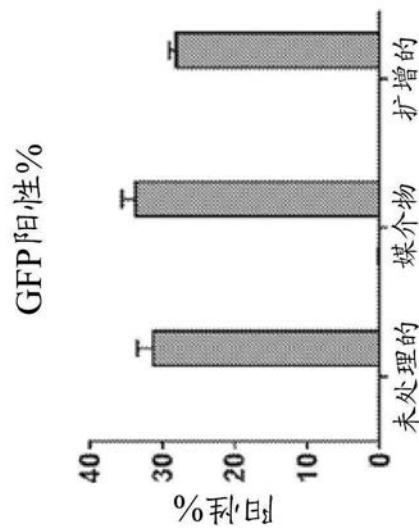


图2C

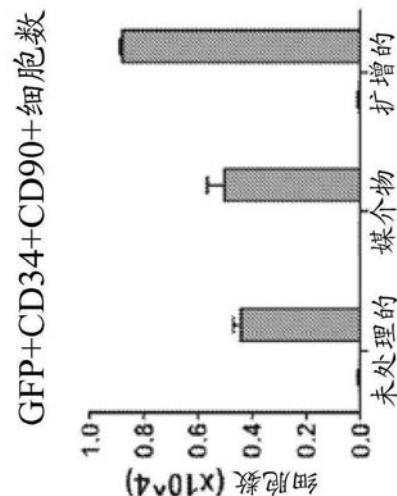


图2D

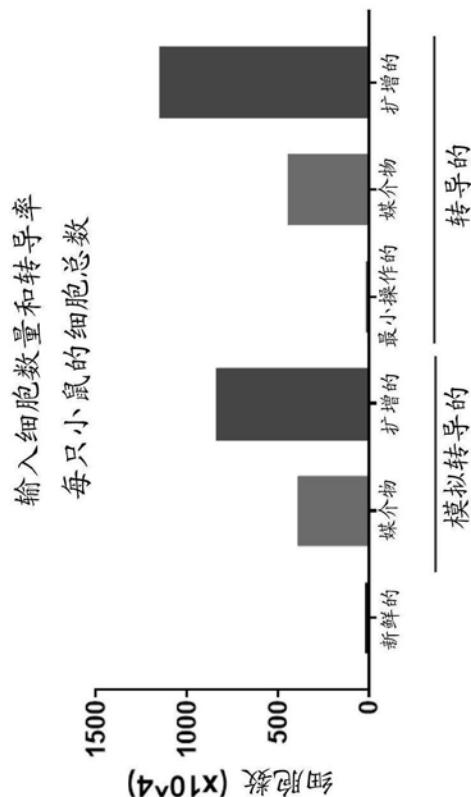


图3A

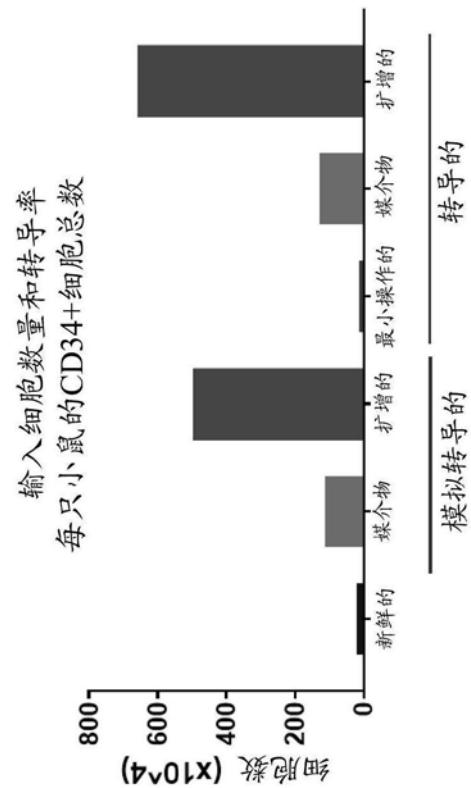


图3B

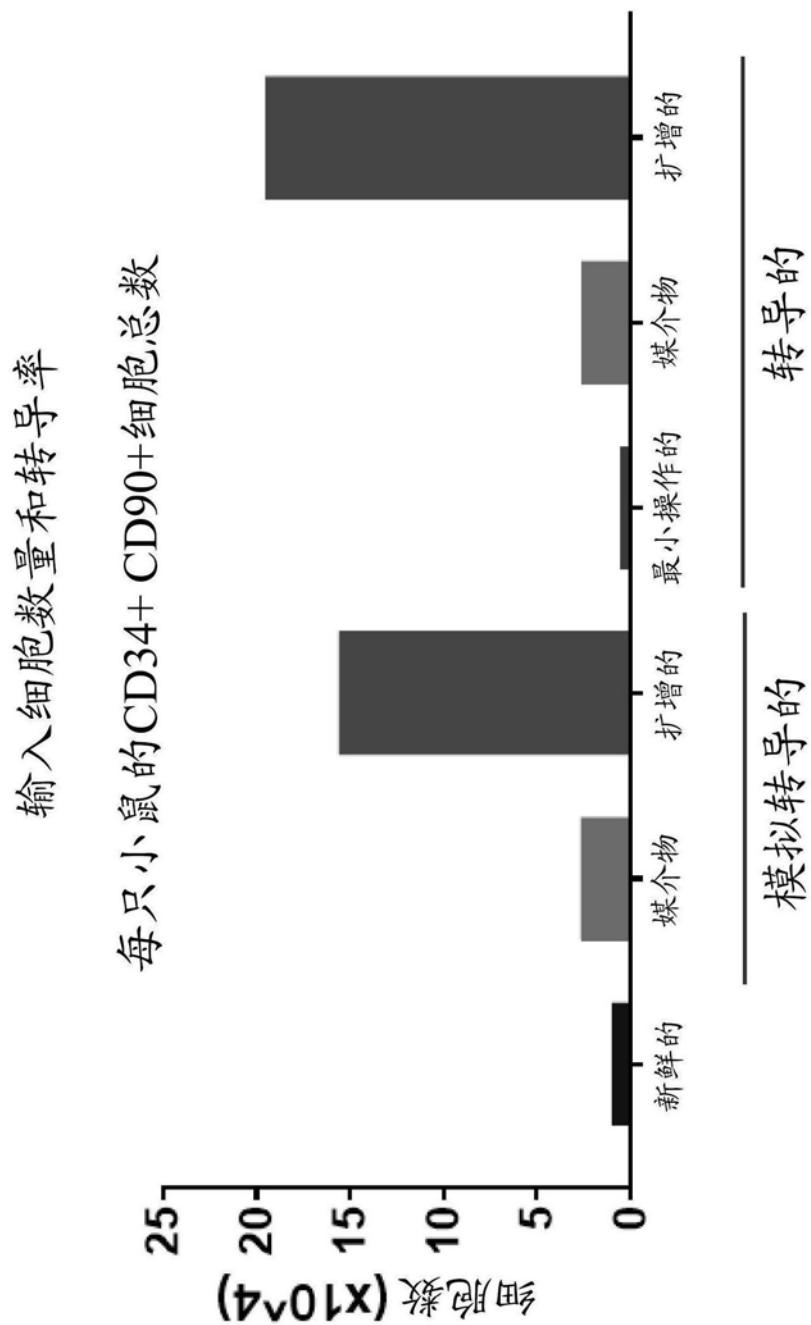


图3C

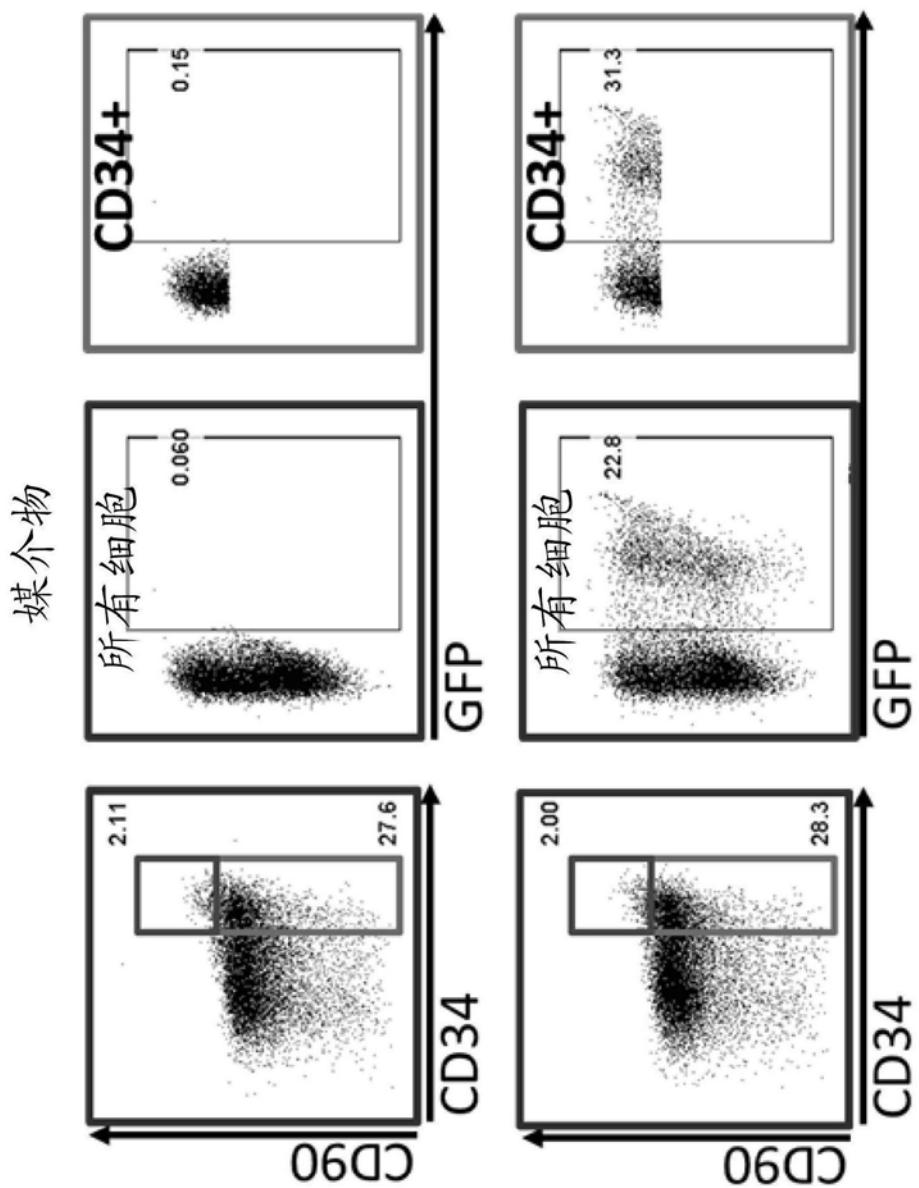


图3D

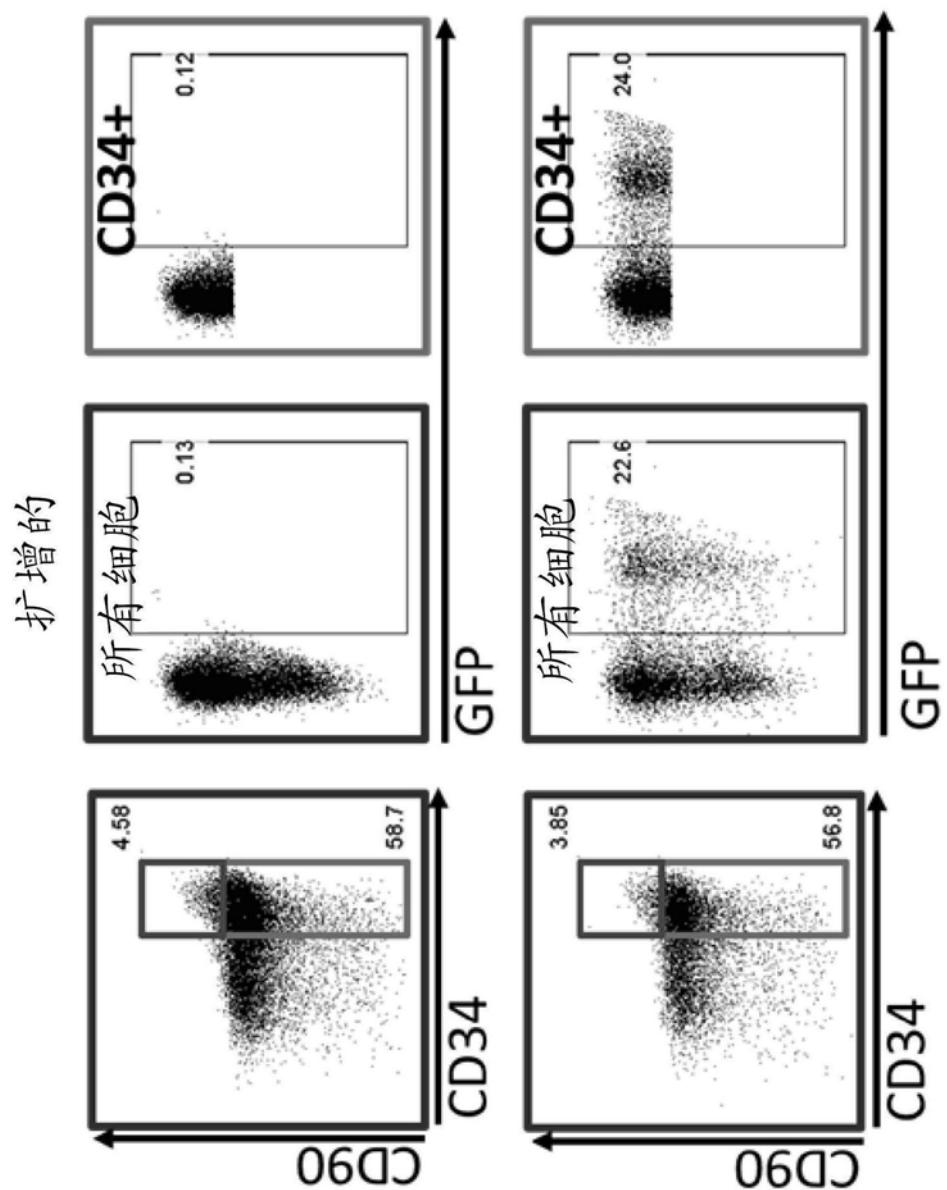


图3E

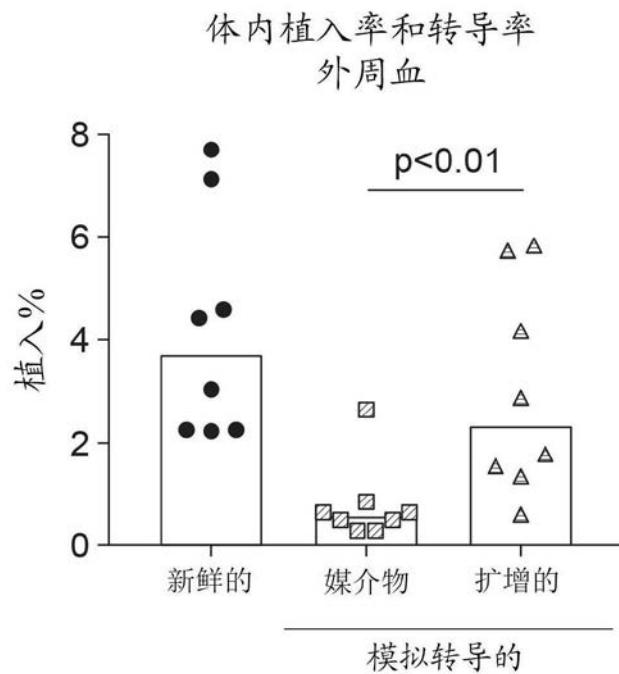


图4A

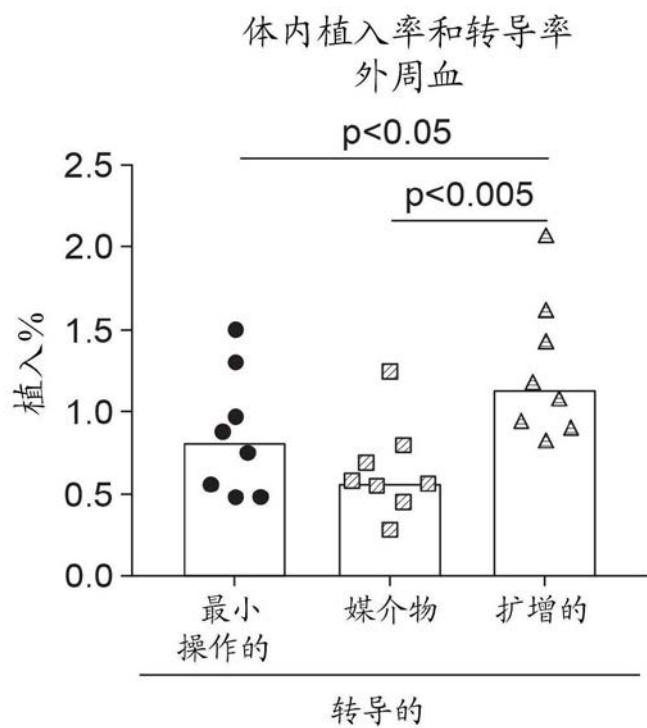


图4B

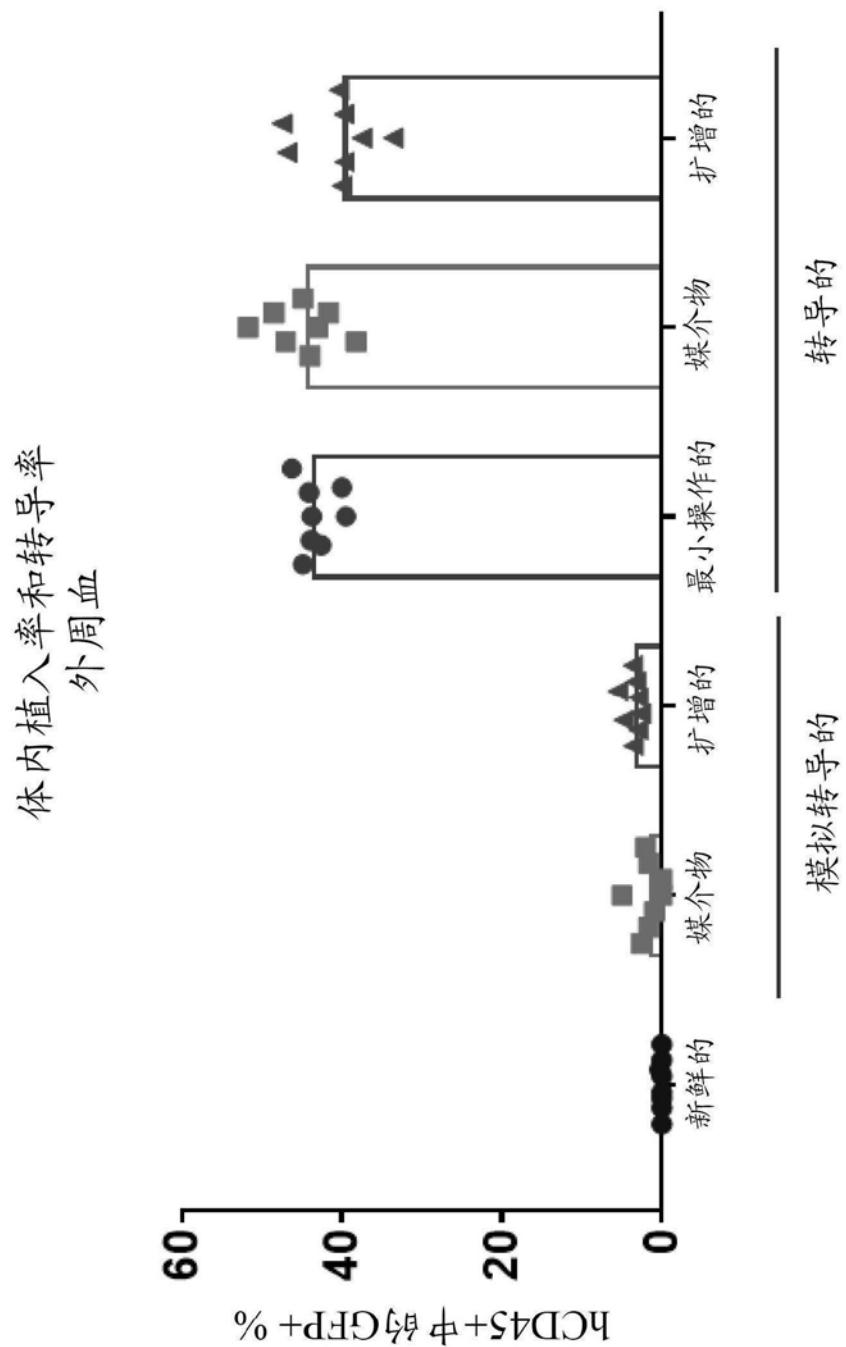


图4C

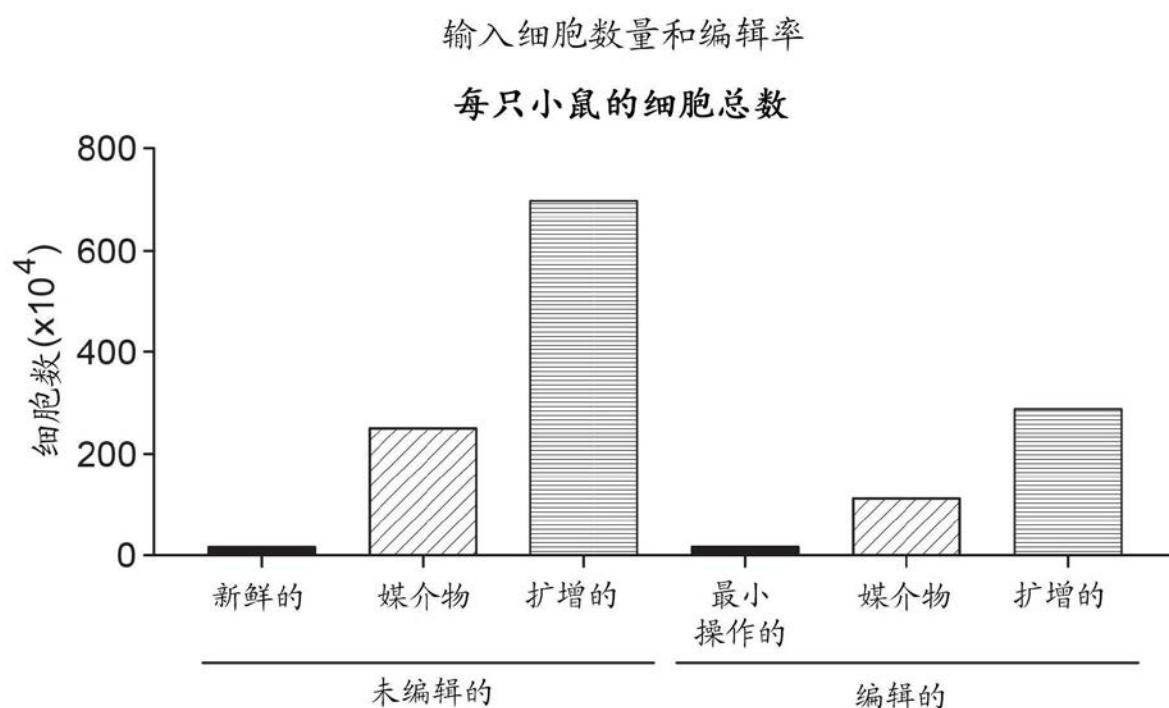


图5A

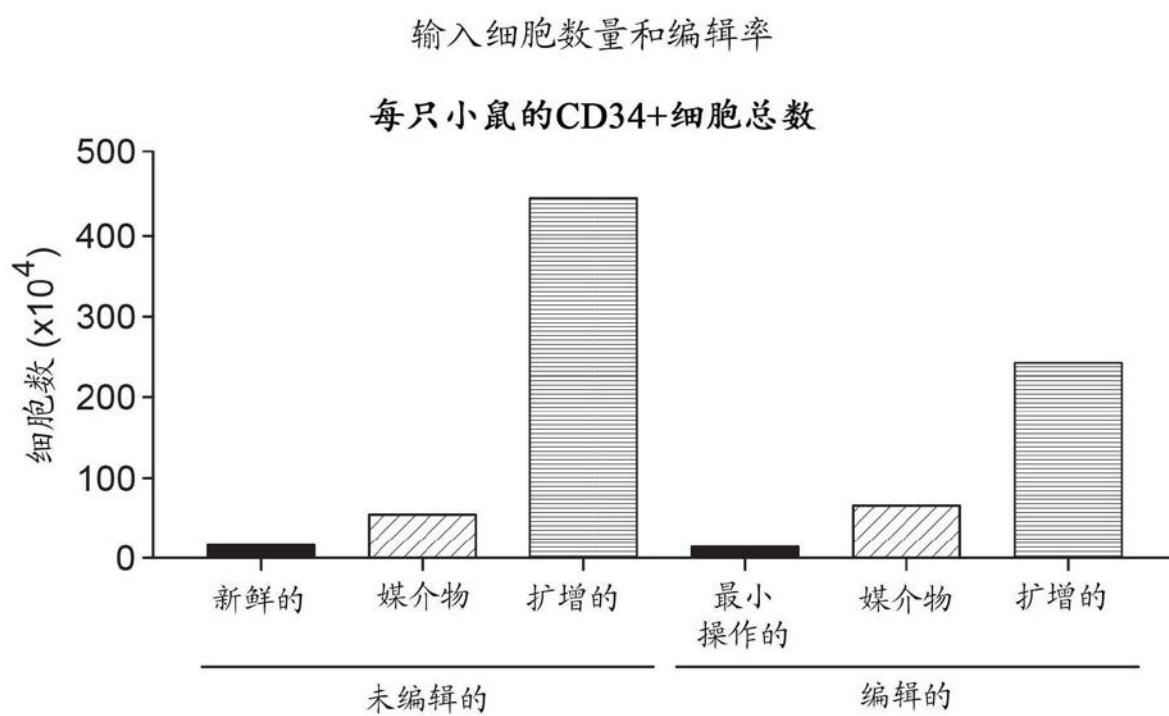


图5B

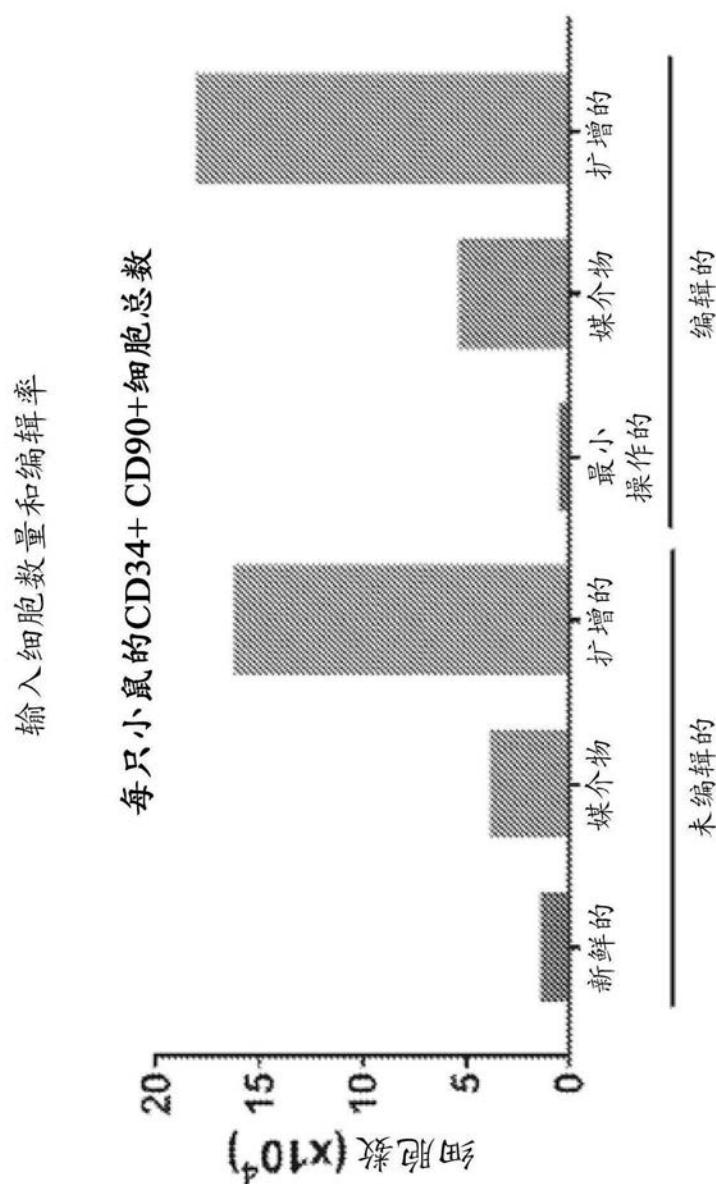


图5C

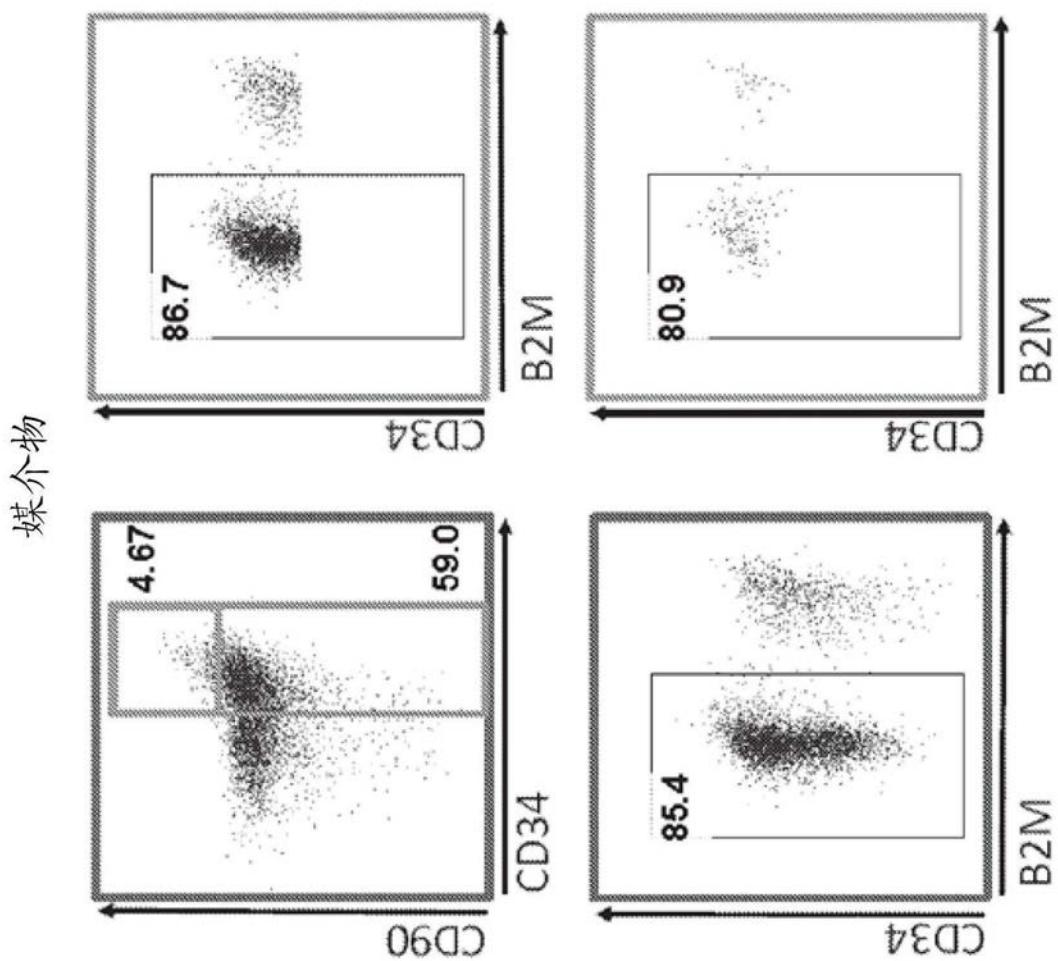


图5D

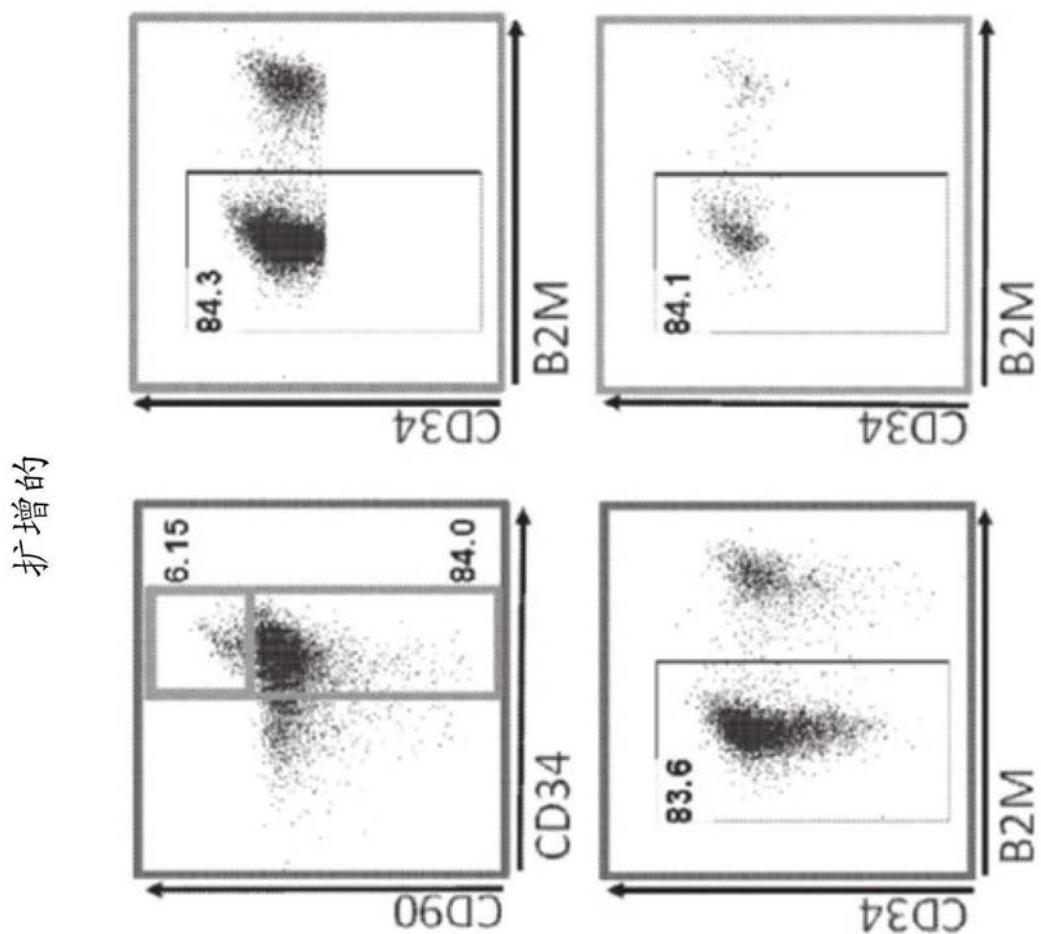


图5E

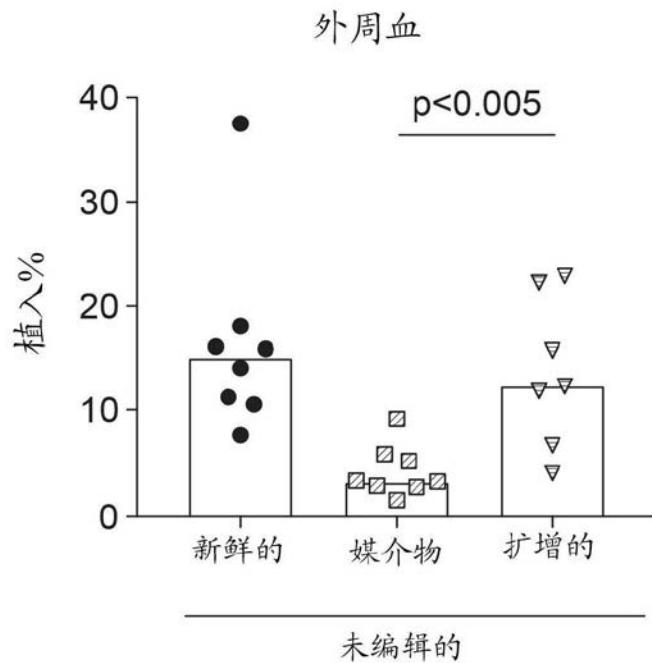


图6A

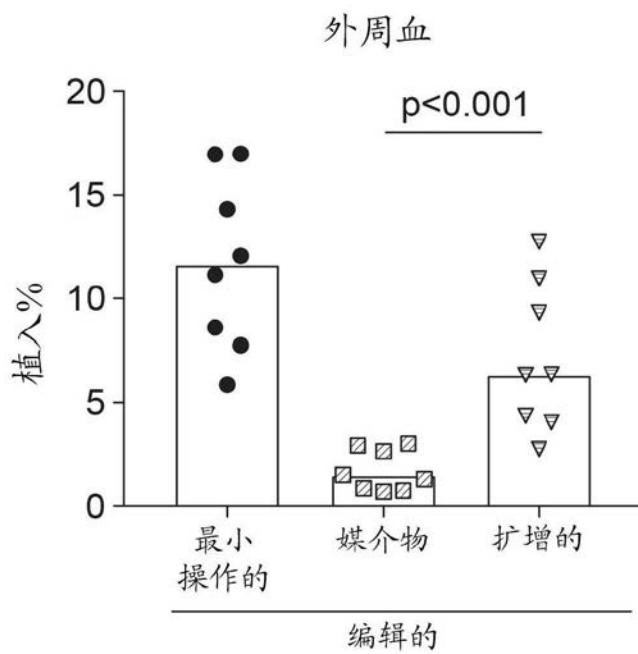


图6B

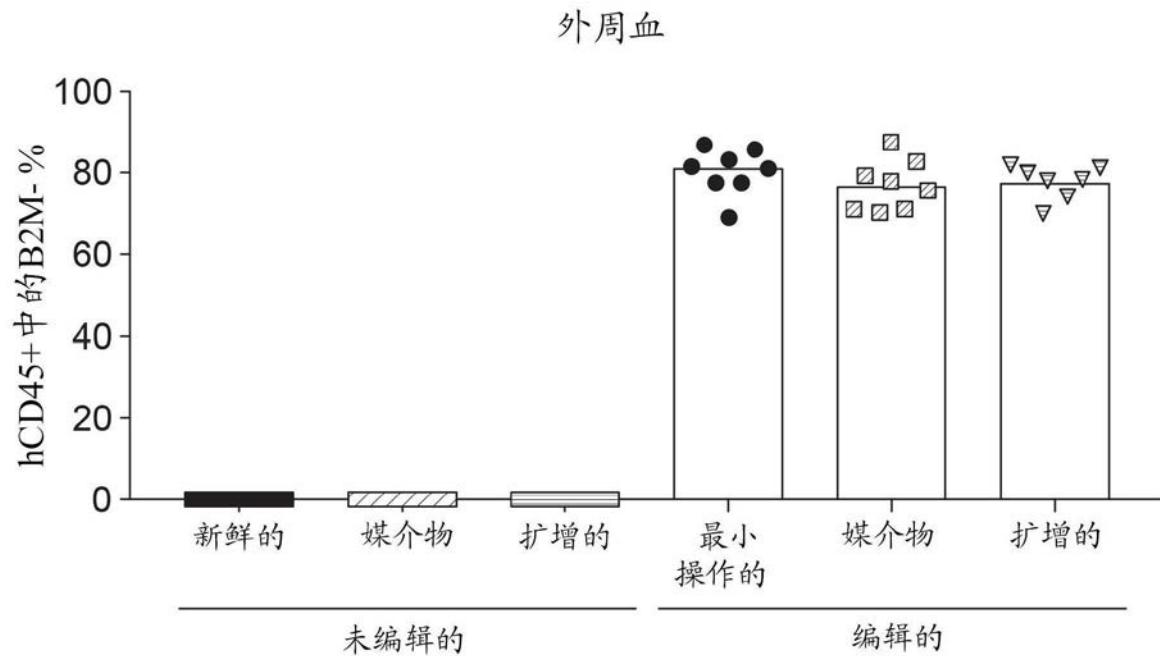


图6C

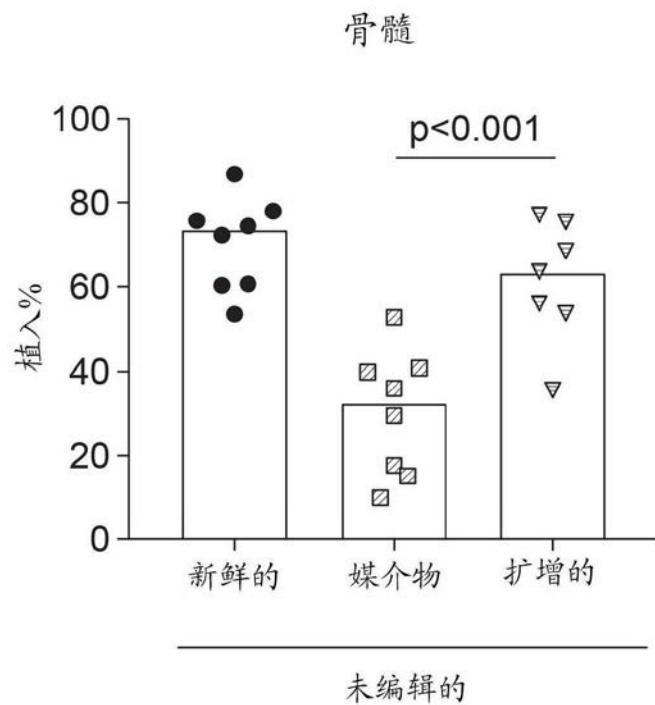


图6D

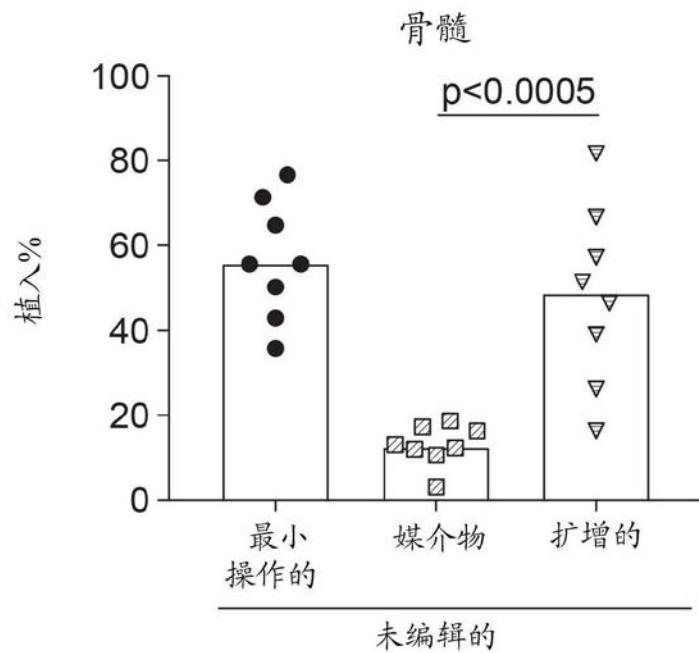


图6E

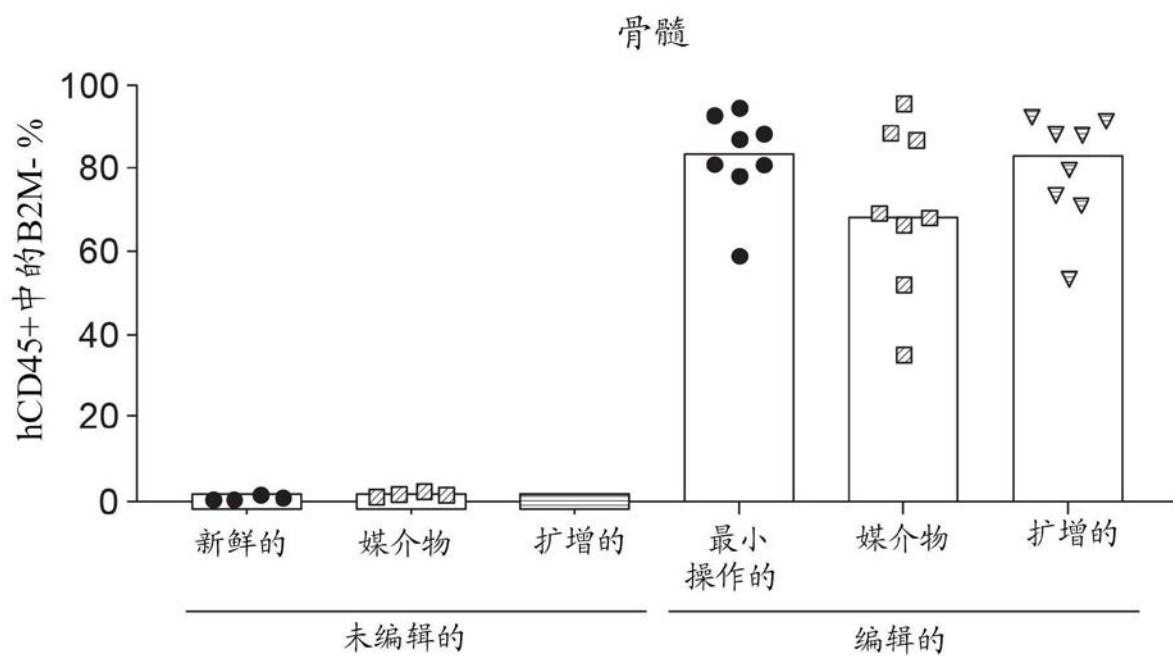


图6F

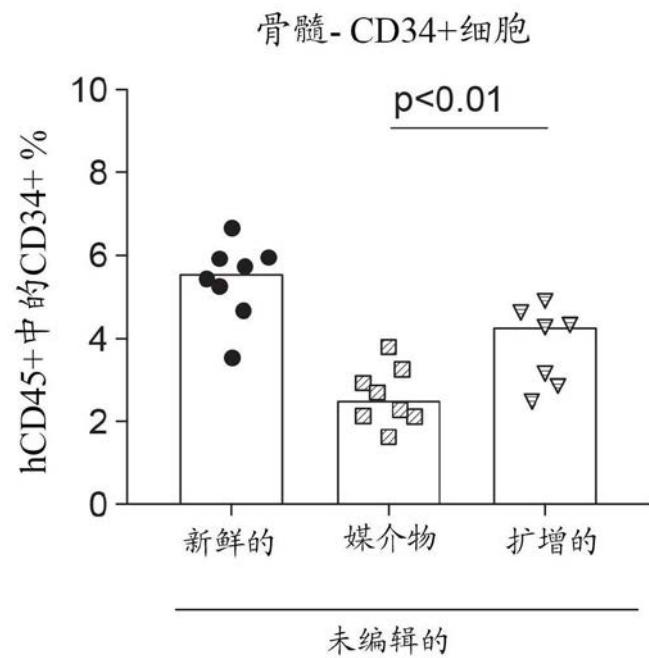


图6G

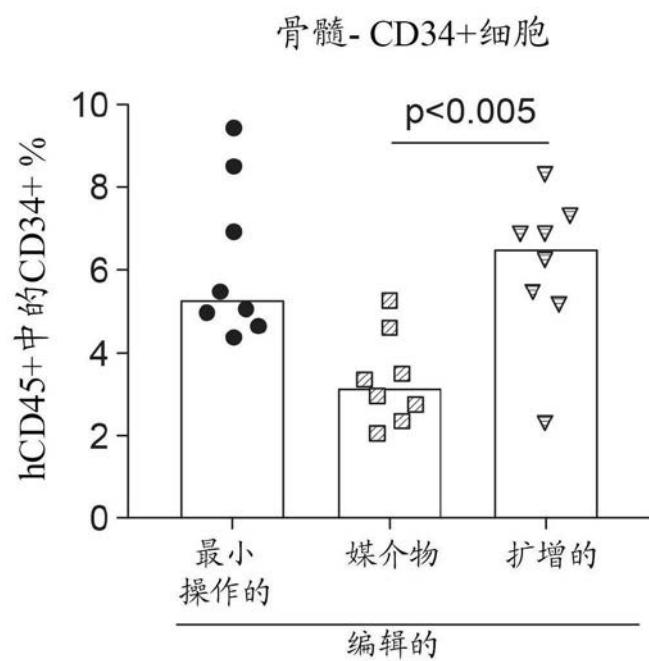


图6H

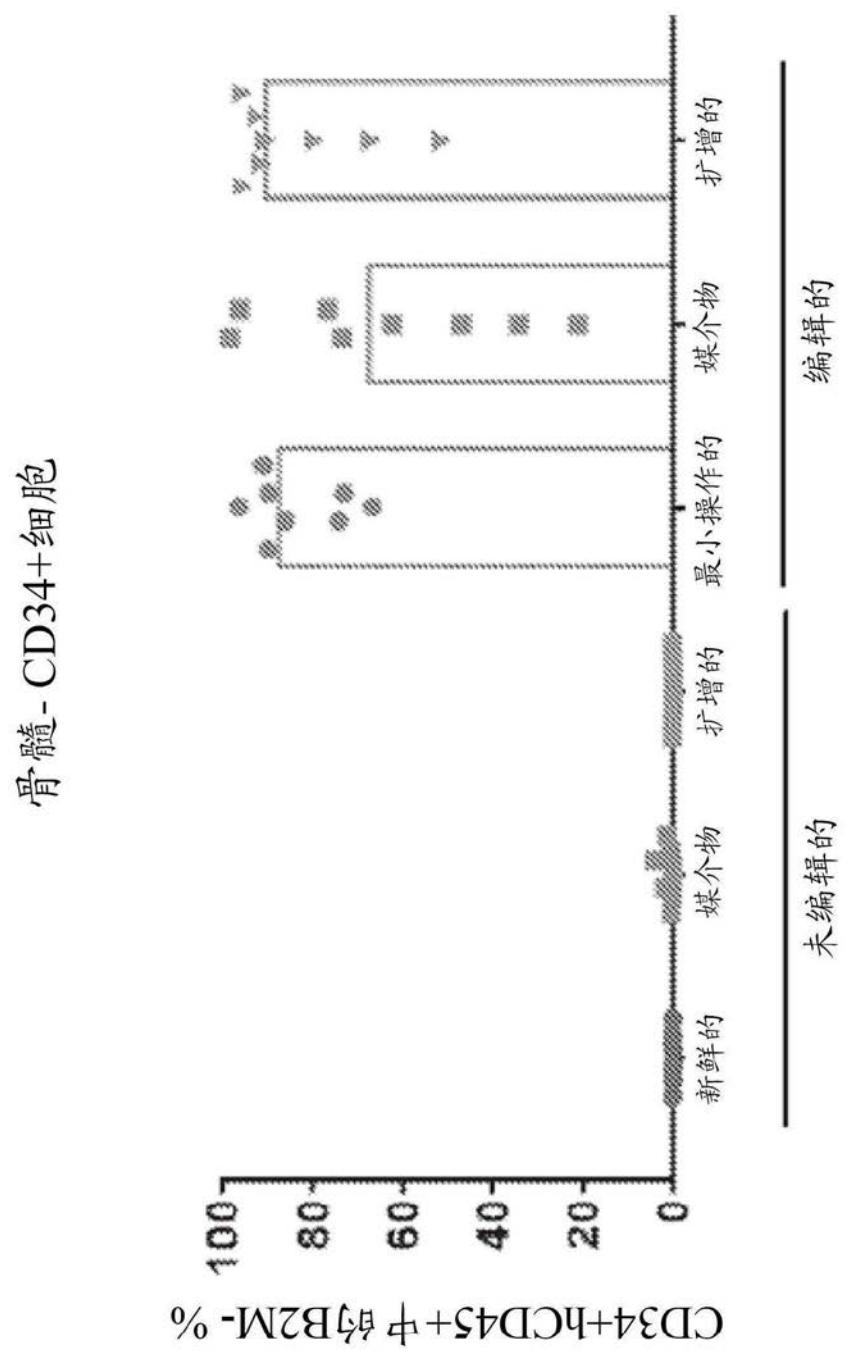


图19

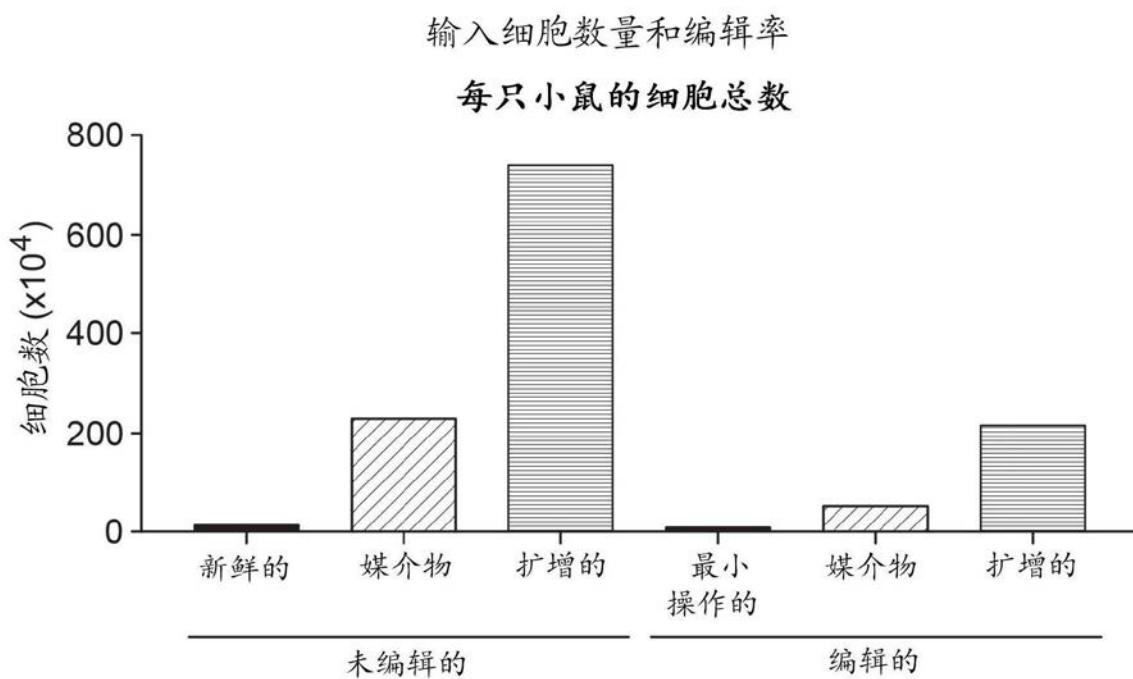


图7A

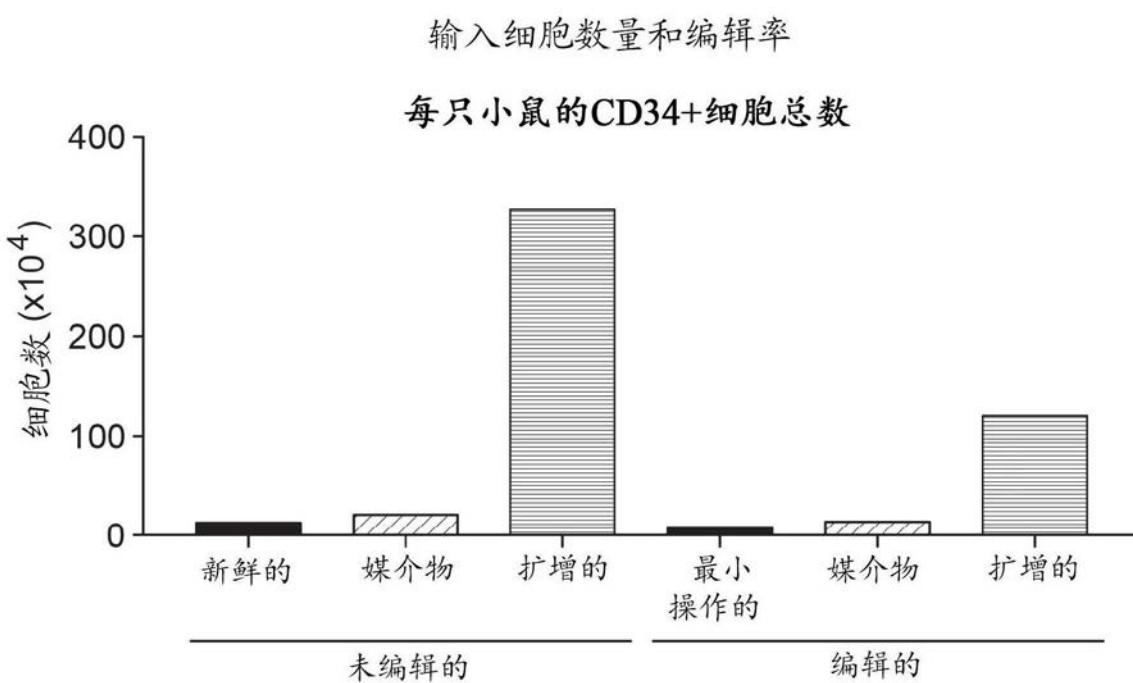


图7B

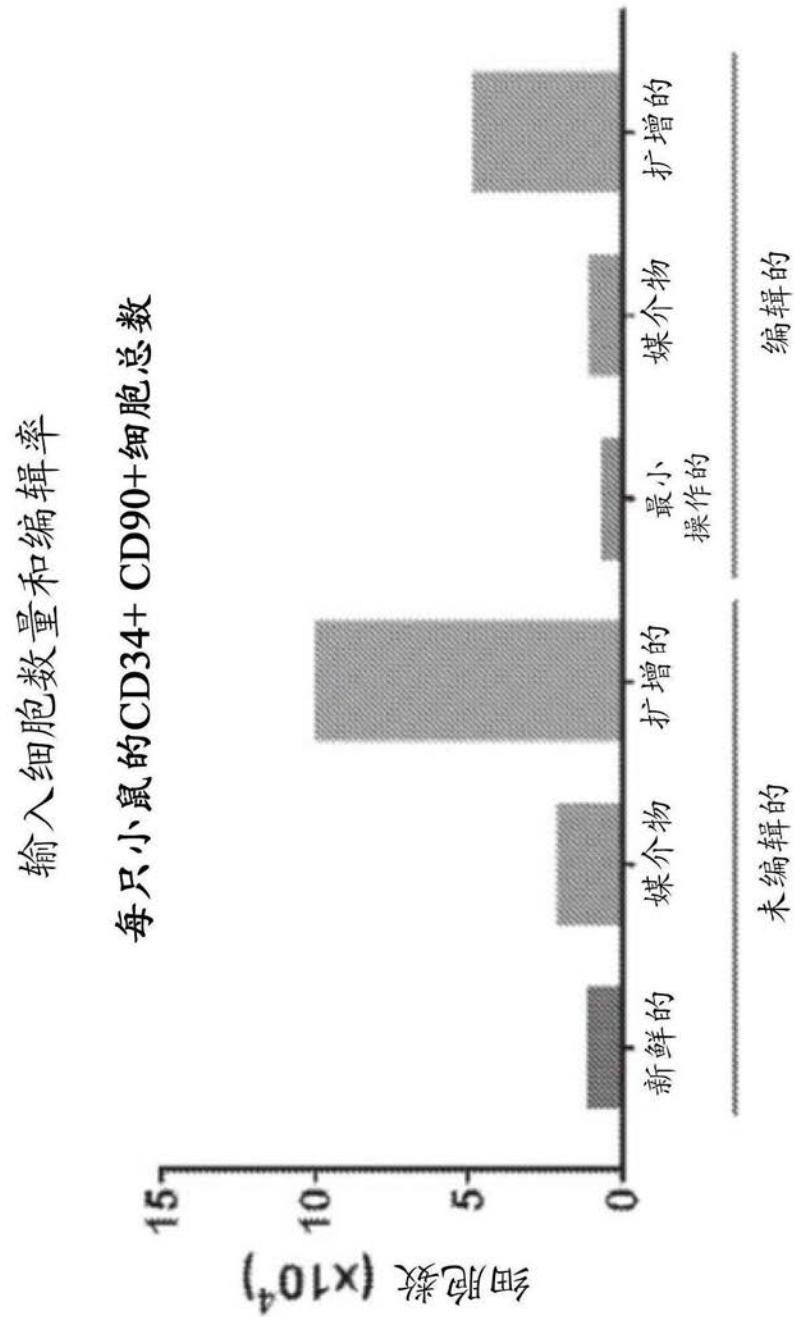


图7C

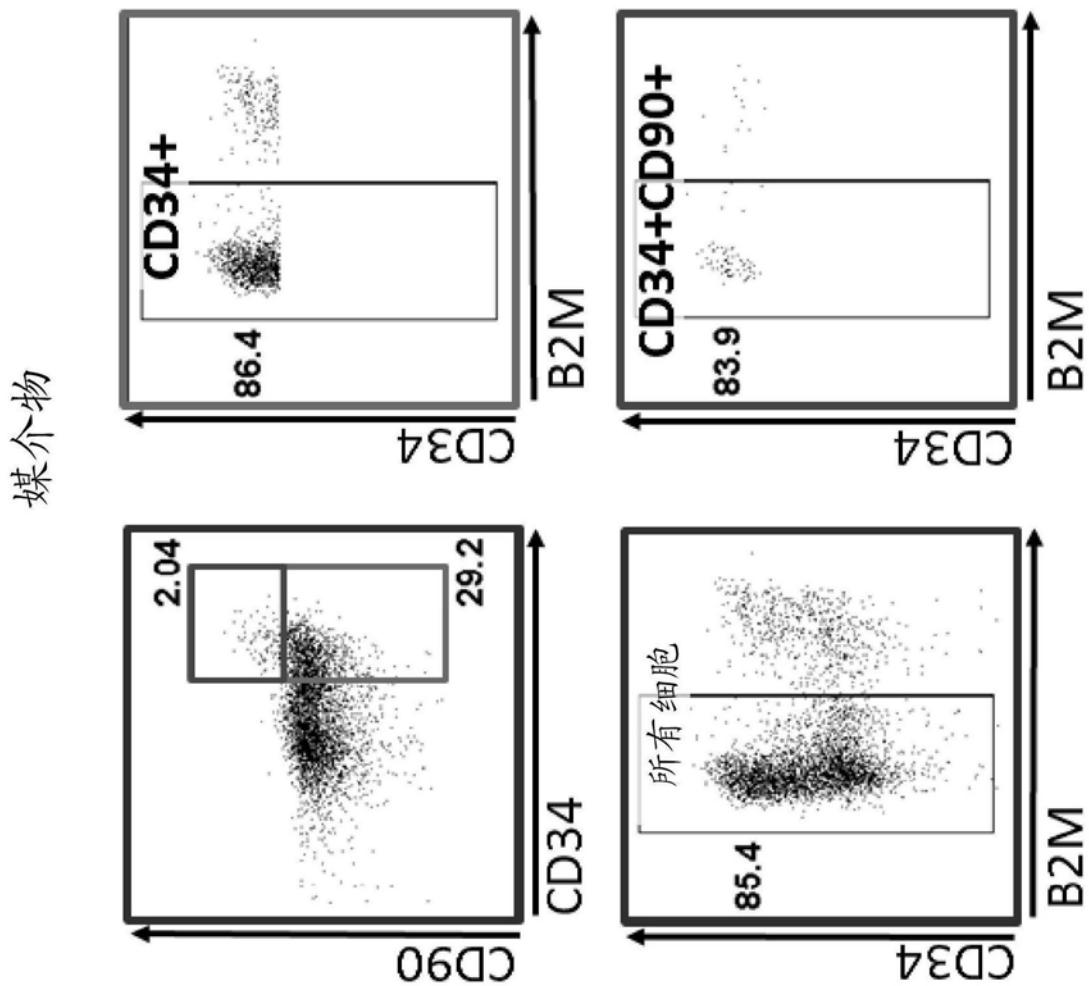


图7D

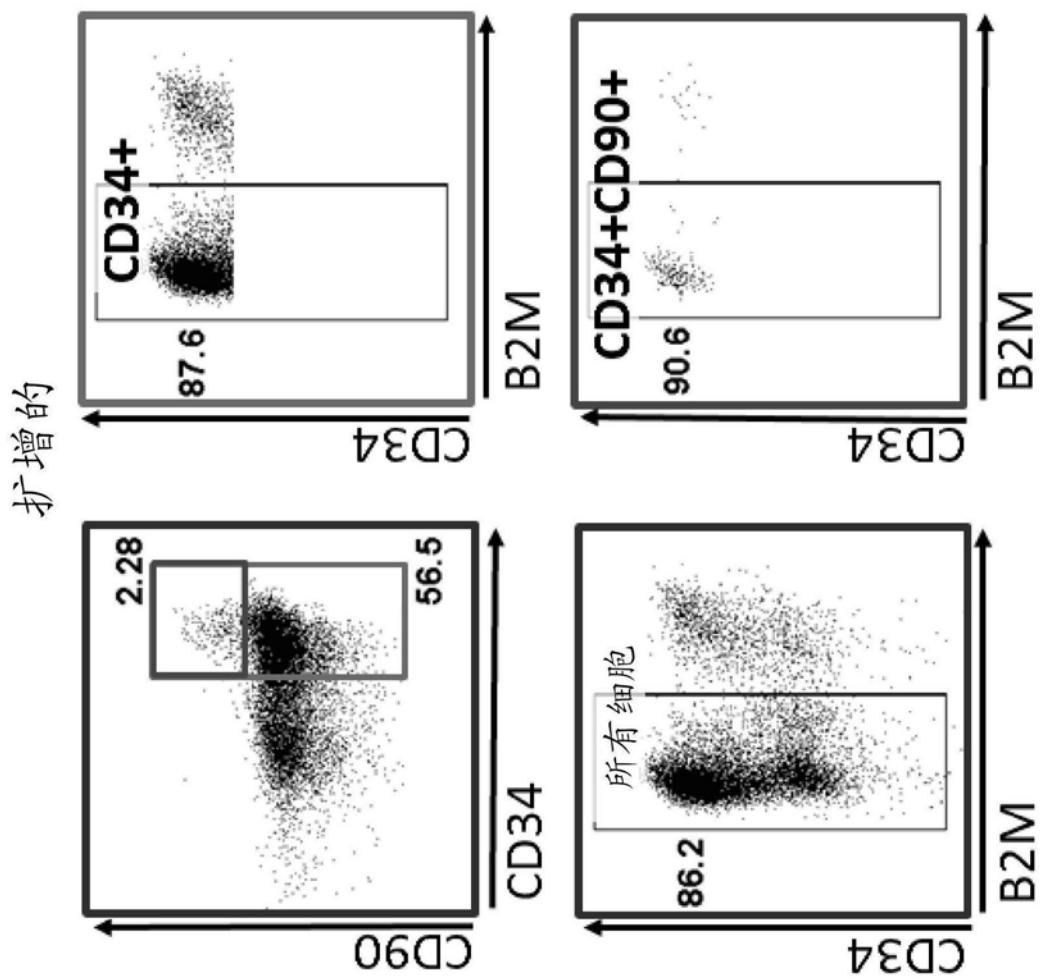


图7E

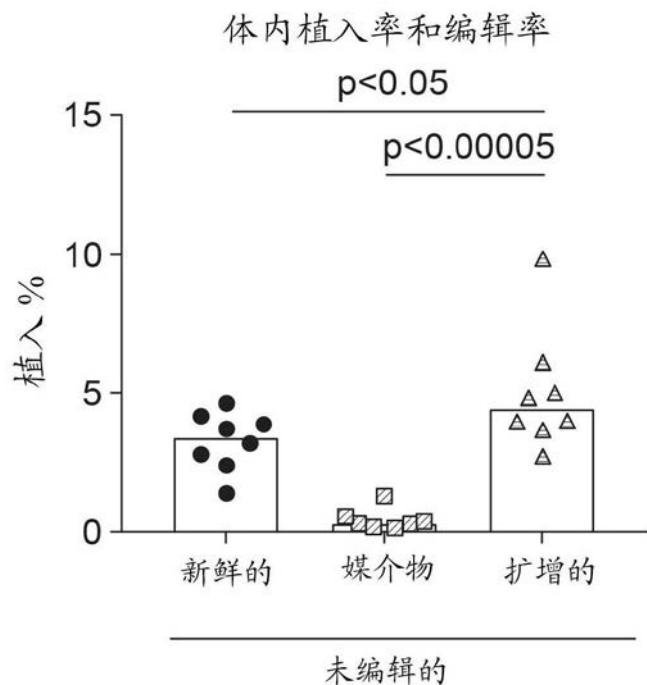


图7F

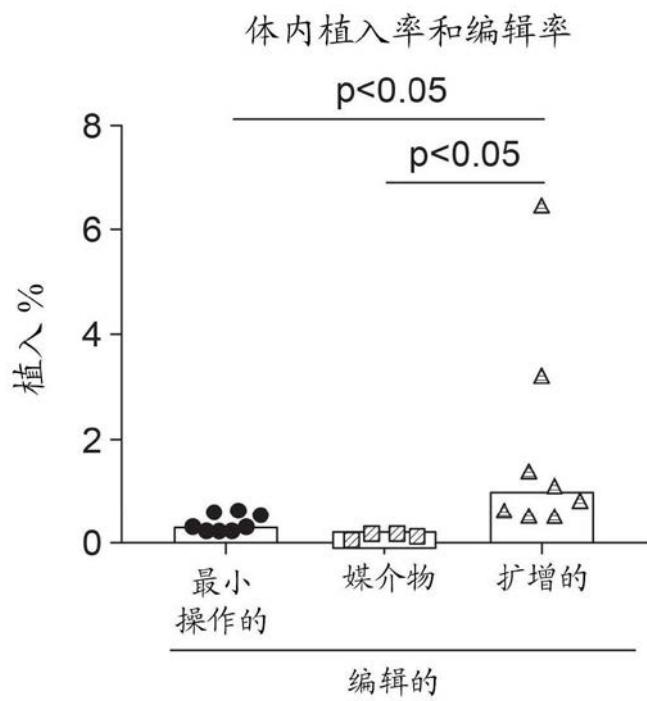


图7G

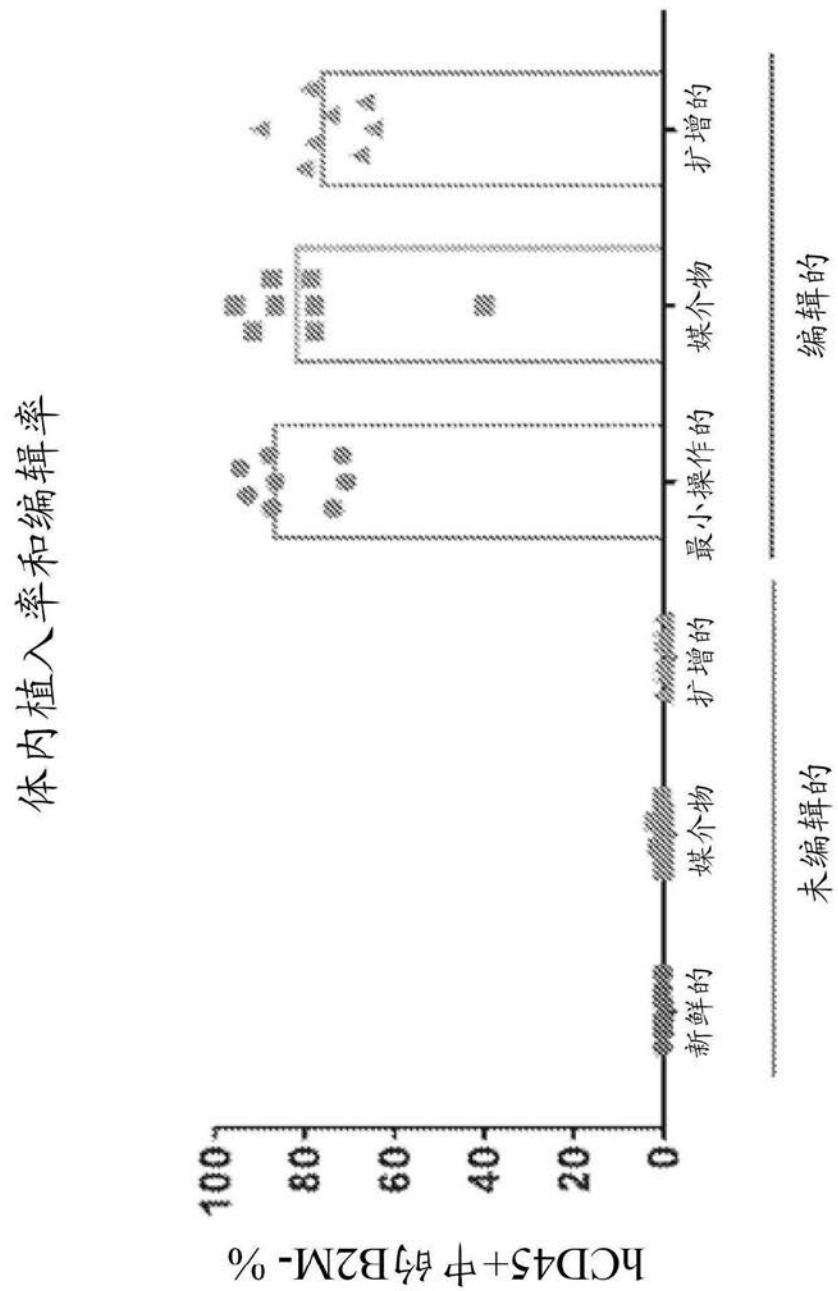


图 7H

体内植入率和编辑率
外周血

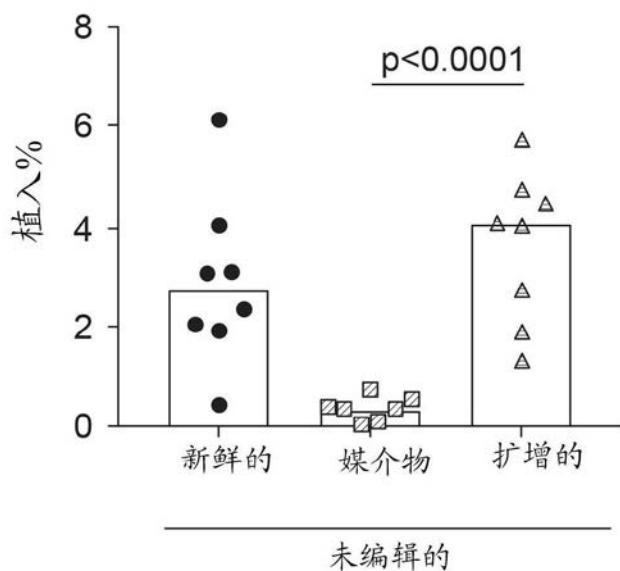


图7I

体内植入率和编辑率
外周血

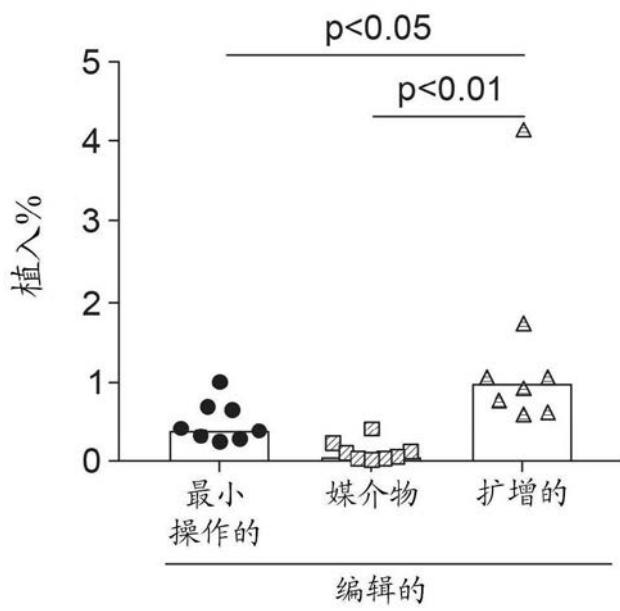


图7J

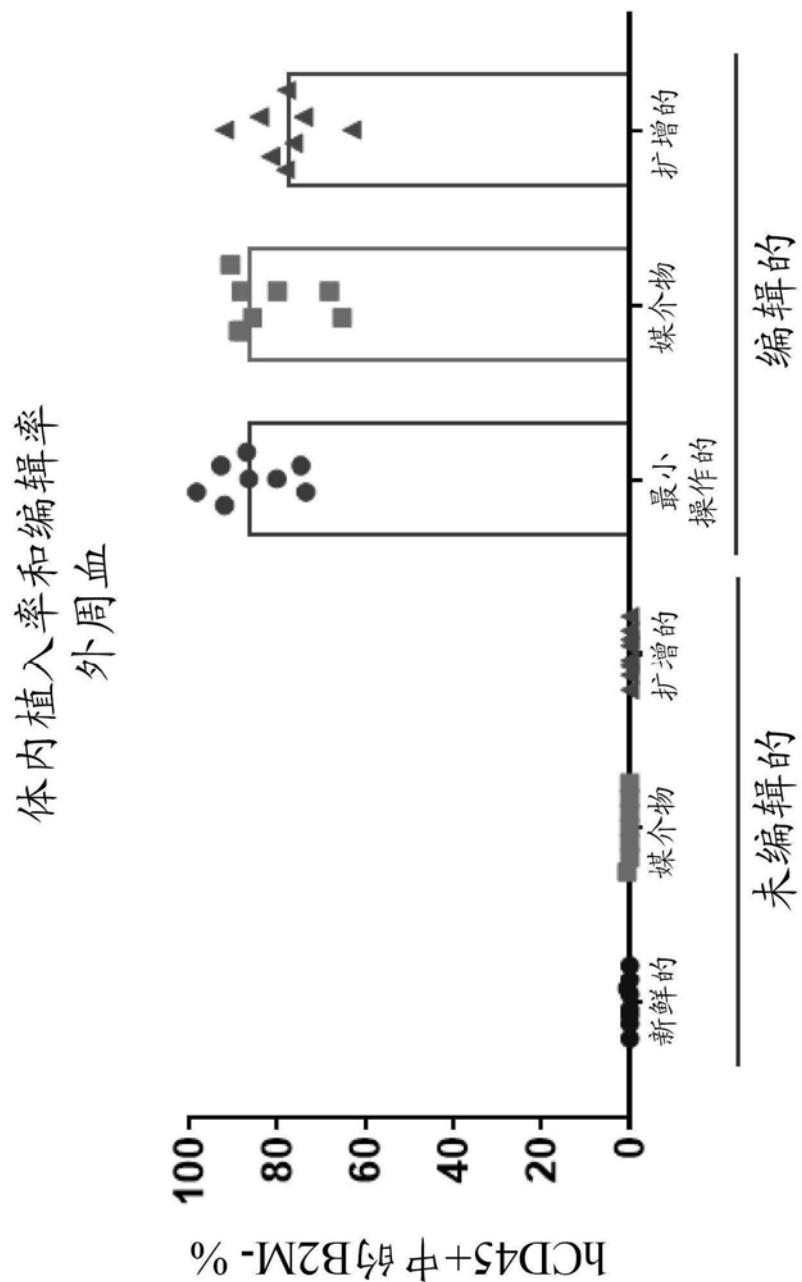


图7K

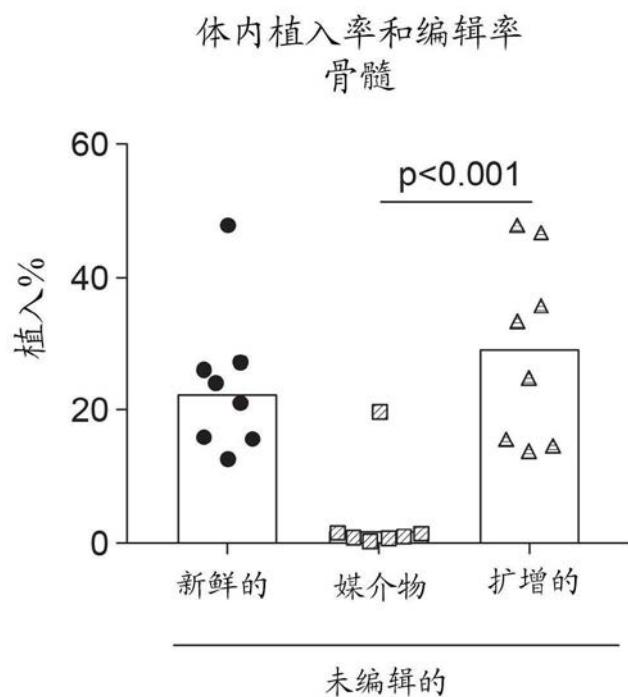


图7L

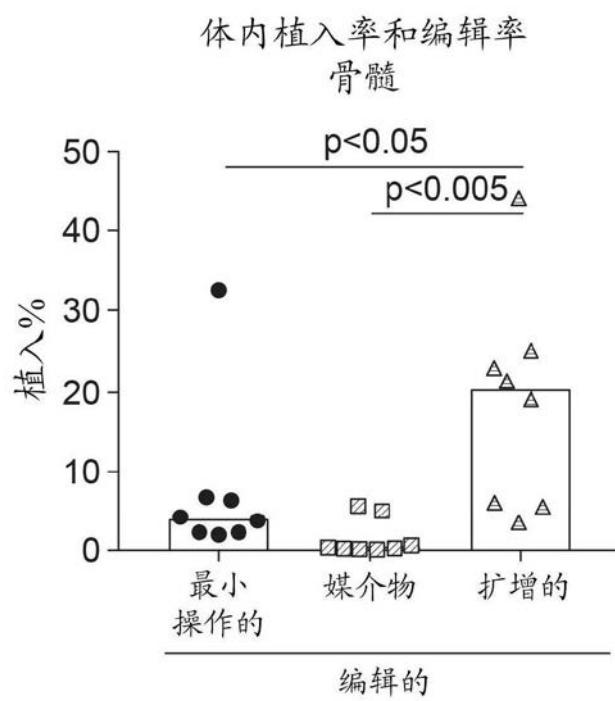


图7M

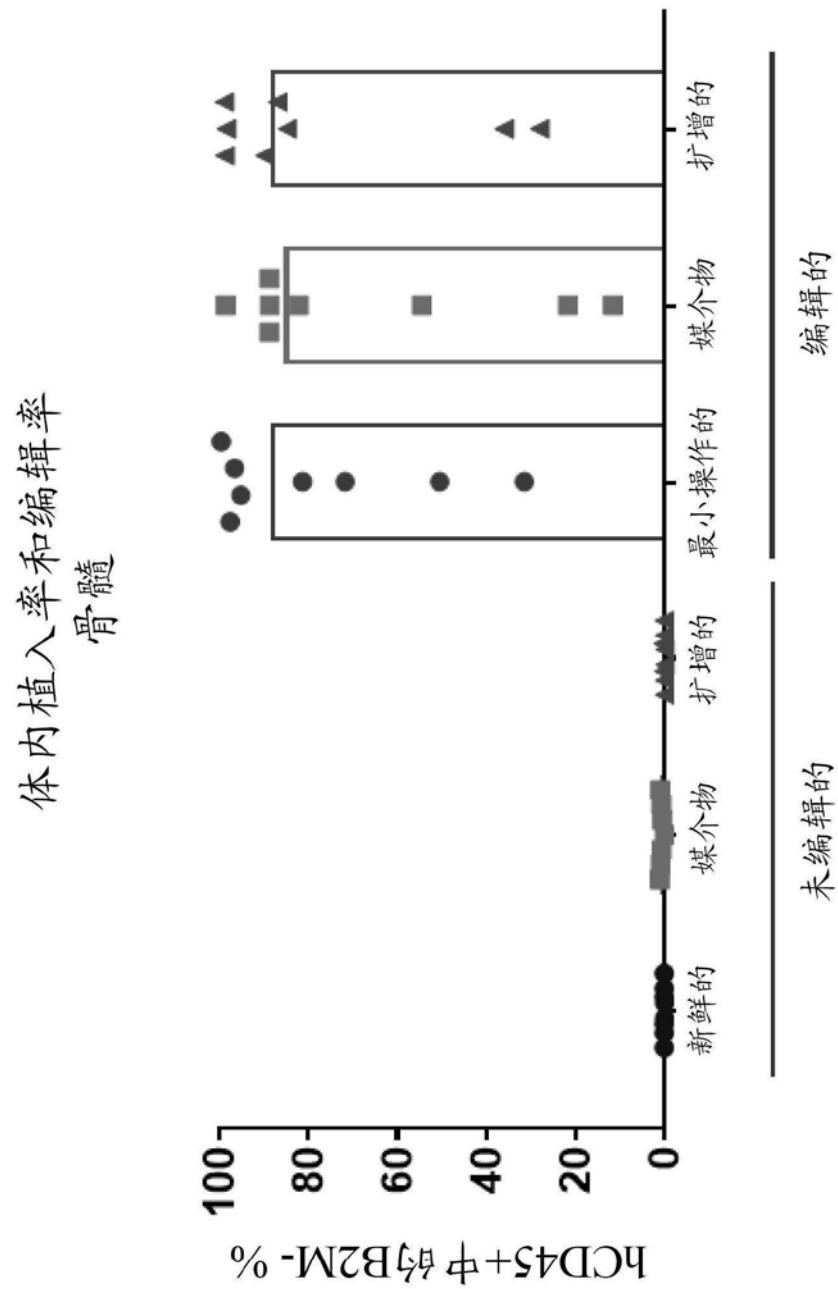


图7N



图8

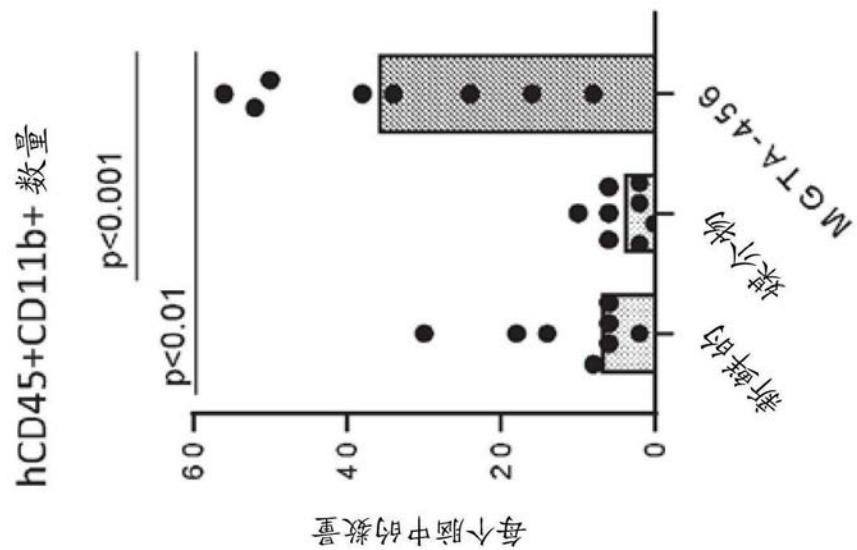


图9A

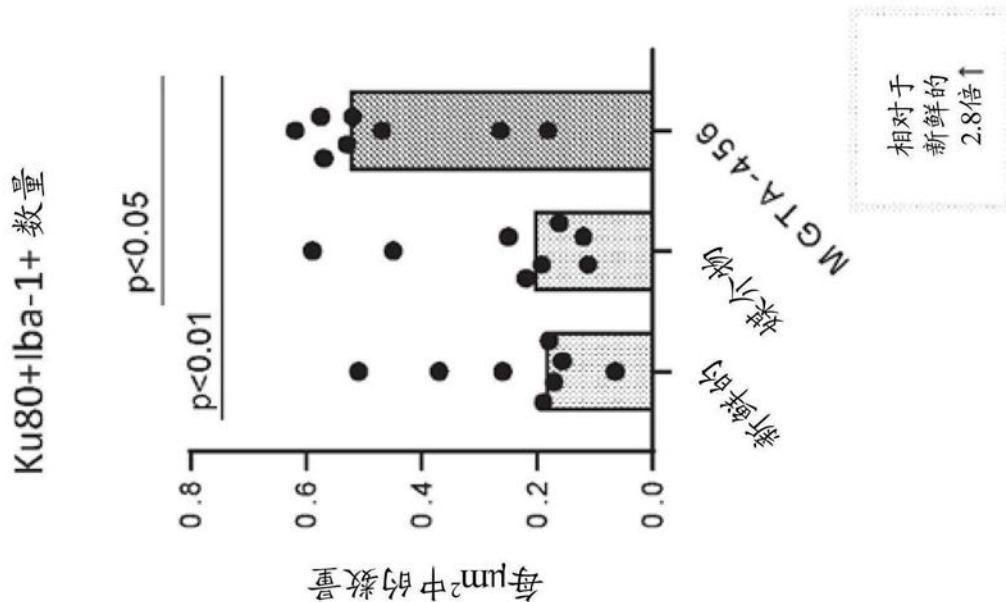


图9B

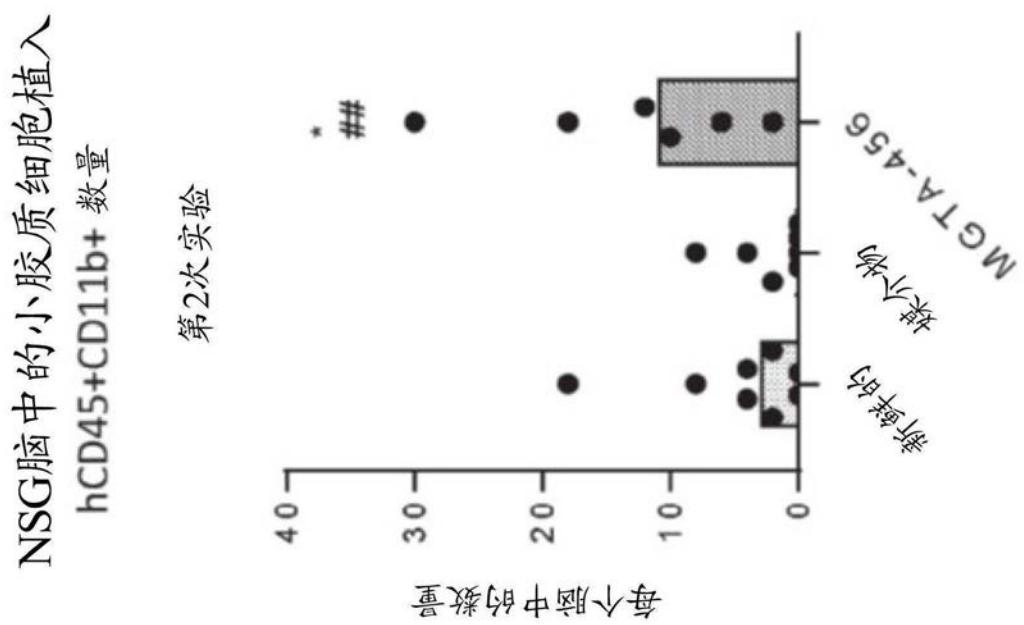


图10

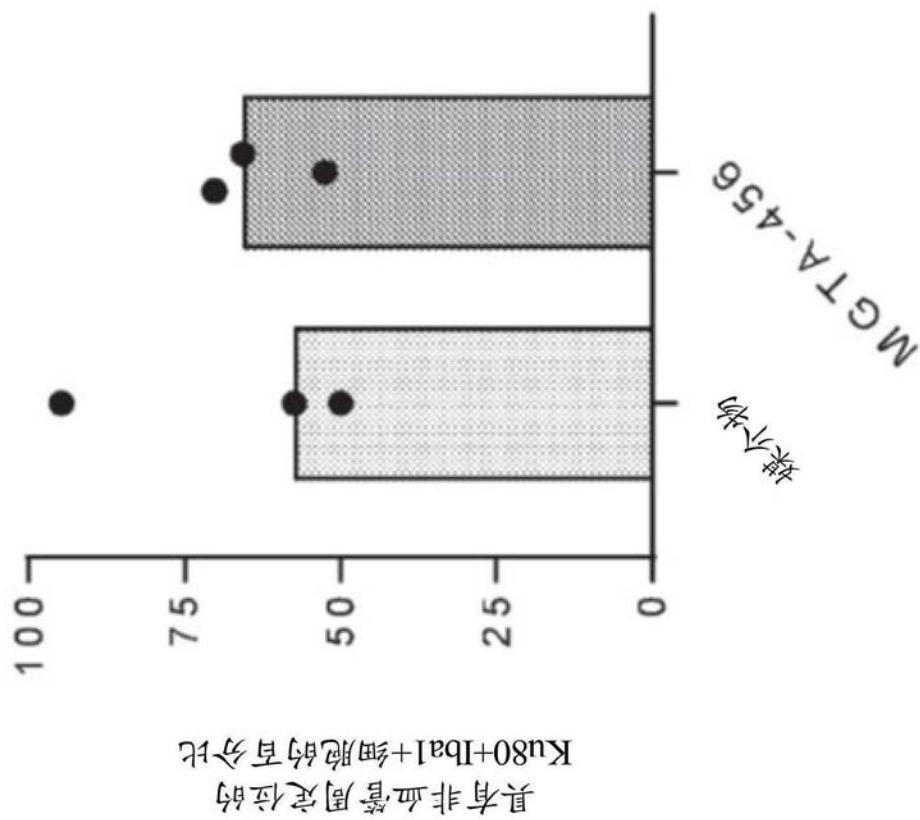


图11

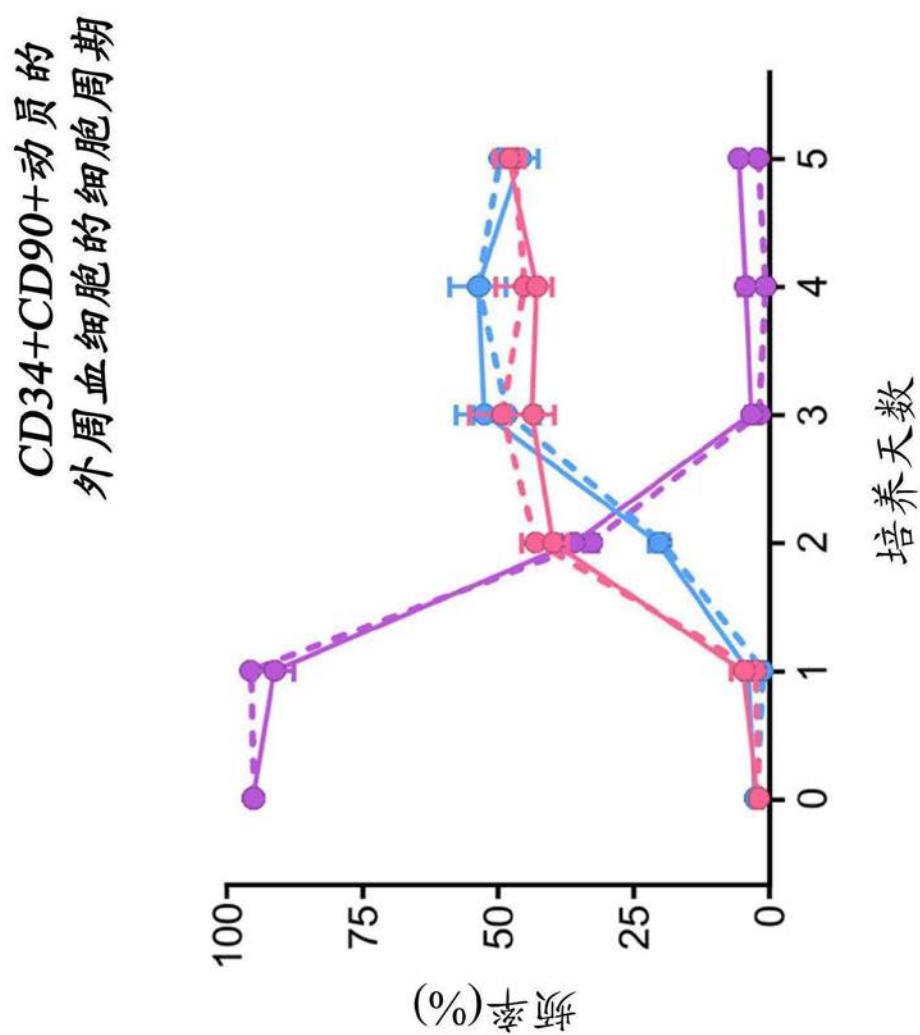


图12A

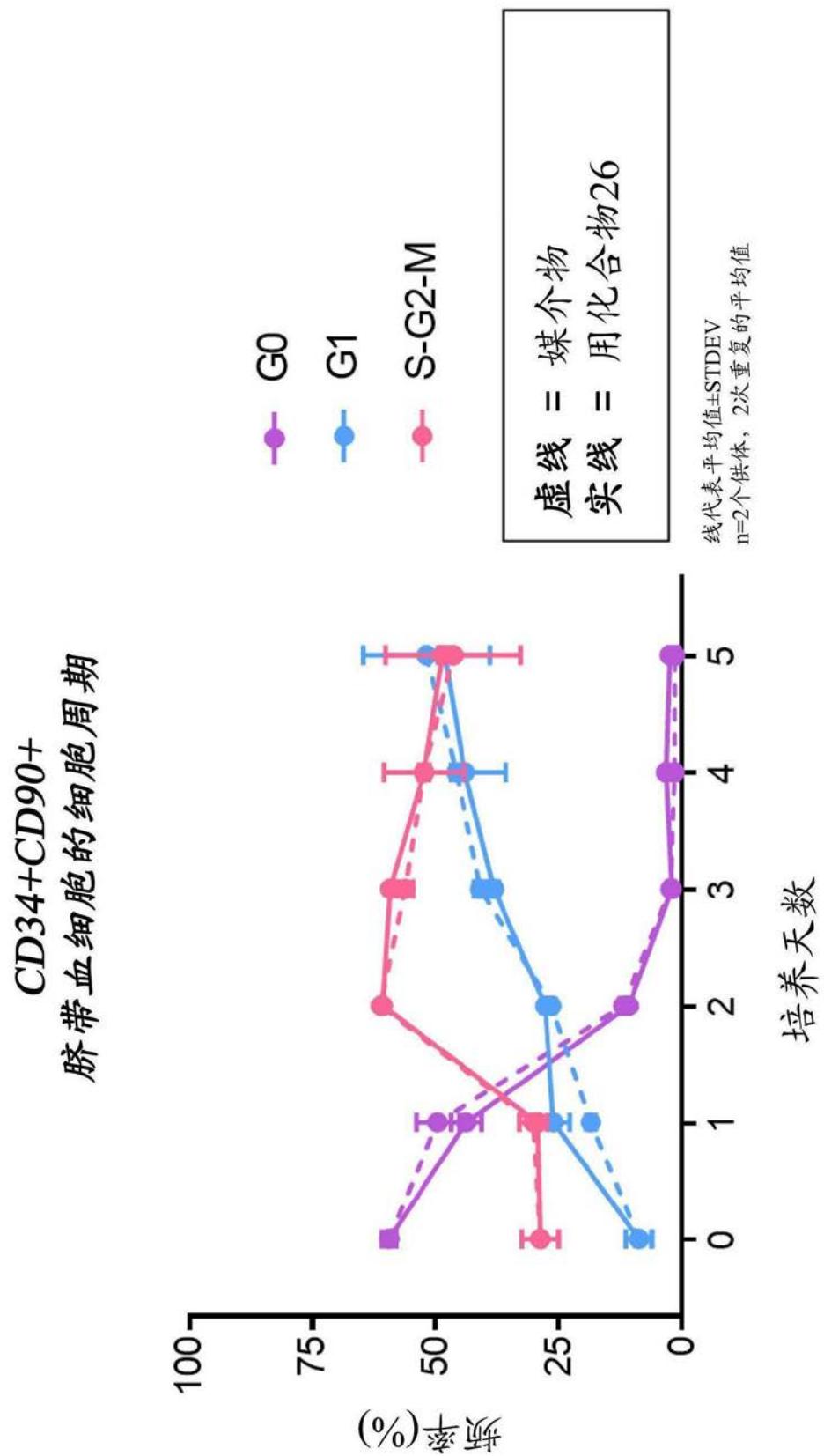


图12B

动员的外周血中的矫正率

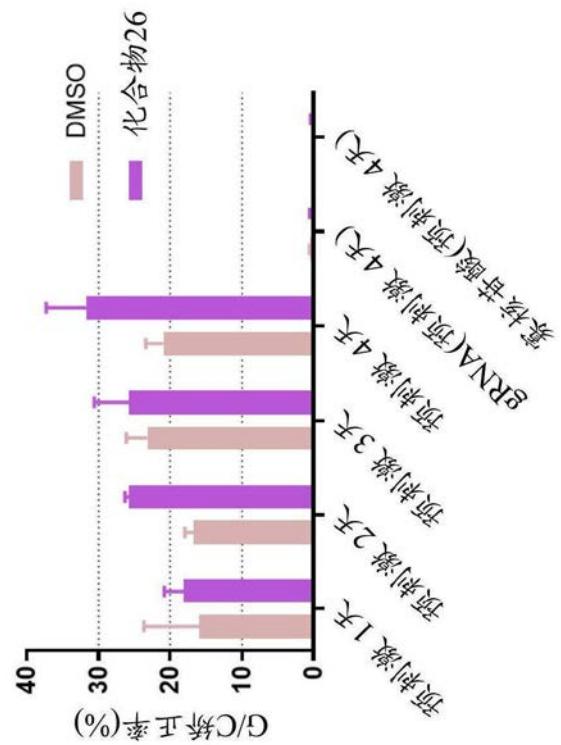


图13A

脐带血中的矫正率

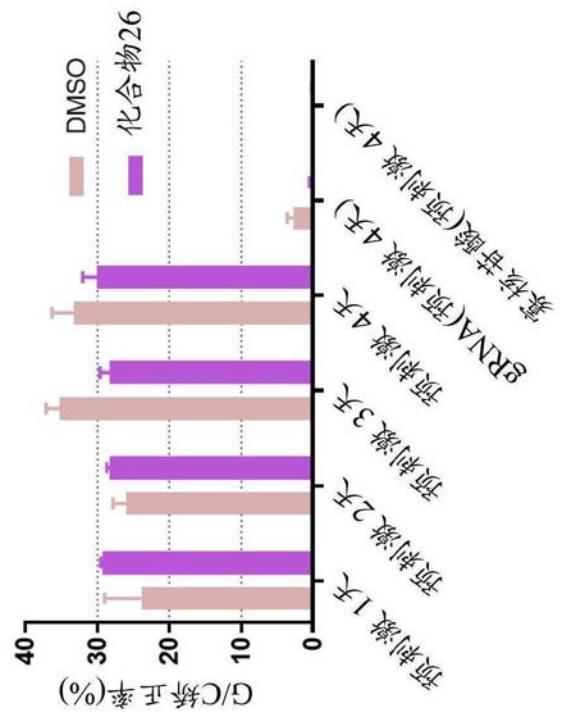


图13B

校正的动员的
外周血细胞的数量

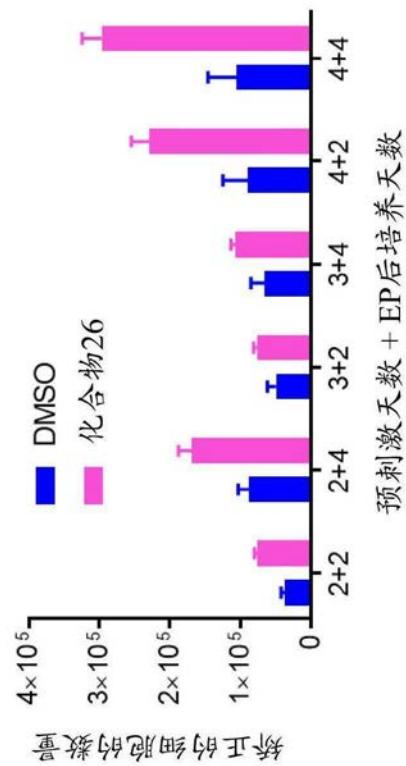


图14A

校正的脐带血
细胞的数量

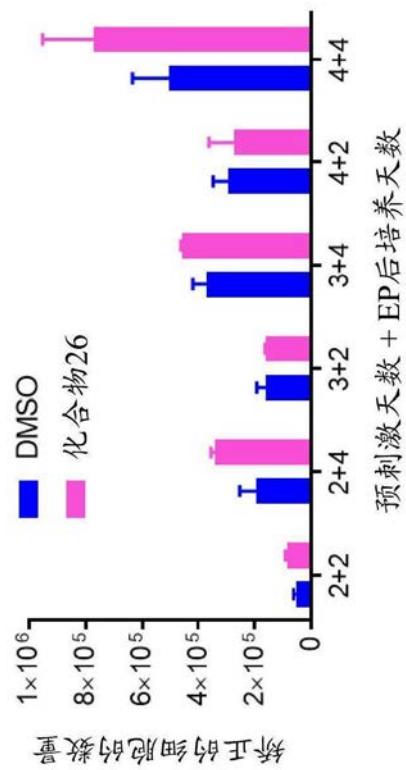


图14B