(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107412766 A

(43)申请公布日 2017.12.01

(21)申请号 201710534045.0

(22)申请日 2013.04.12

(30)优先权数据

61/623,393 2012.04.12 US

13/842,424 2013.03.15 US

(62)分案原申请数据

201380026285.X 2013.04.12

(71)申请人 阿文蒂极性脂类有限公司

地址 美国阿拉巴马州

申请人 AC免疫有限公司

(72)发明人 沃尔特·A·肖

斯蒂芬·W·伯吉斯 盛荣·李

D·T·希克曼

M·P·洛佩兹德贝尔

(74)专利代理机构 北京同达信恒知识产权代理有限公司 11291

代理人 黄志华 石磊

(51)Int.Cl.

A61K 39/39(2006.01)

A61K 39/00(2006.01)

A61P 37/04(2006.01)

C07H 13/06(2006.01)

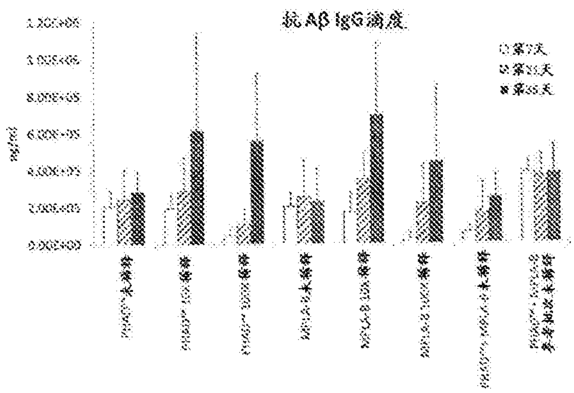
权利要求书1页 说明书45页 附图6页

(54)发明名称

二糖合成脂质化合物及其用途

(57)摘要

本发明涉及二糖合成脂质化合物及其用途。提供了一种药物组合物，包含：a.药学上可接受的载体；b.抗原；和c.具有式(IV)结构的化合物；其中：A_1、A_2和A_4各自为C_9至C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{11}至C_{15}未经取代的烷基，条件是酰基链的长度相同；R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且m和n各自独立地为0至5的整数。



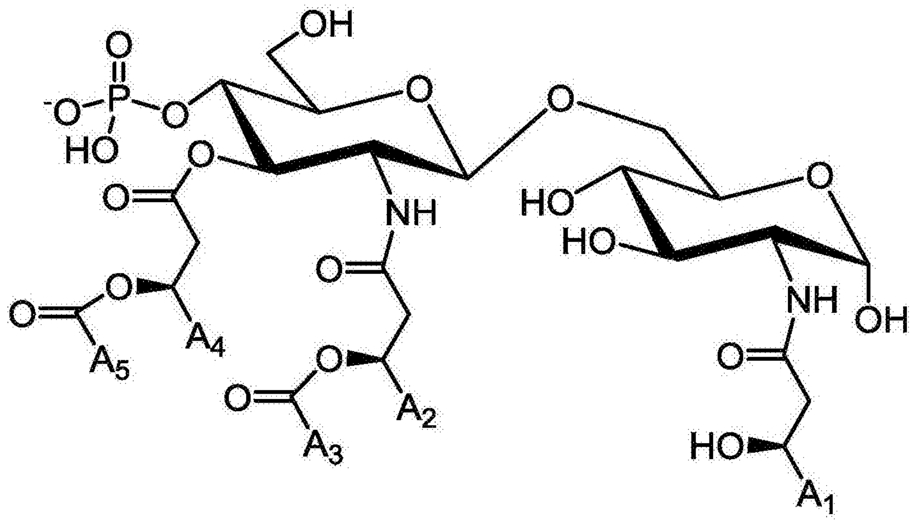
CN 107412766 A

1.一种药物组合物,包含:

a.药学上可接受的载体;

b.抗原;和

c.具有以下结构的化合物



其中:

A_1、A_2和A_4各自为C_9至C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{11}至C_{15}未经取代的烷基,条件是酰基链的长度相同;

R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基;

R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基;并且

m和n各自独立地为0至5的整数。

2.根据权利要求1所述的药物组合物,其中A_1、A_2和A_4各自为C_{12}经取代的或未经取代的烷基或烯基且A_3和A_5各自为C_{14}经取代的或未经取代的烷基或烯基。

3.根据权利要求1所述的药物组合物,其中A_1、A_2和A_4各自为C_{10}经取代的或未经取代的烷基或烯基且A_3和A_5各自为C_{12}经取代的或未经取代的烷基或烯基。

4.根据权利要求1所述的药物组合物,其中A_1、A_2和A_4各自为C_{13}经取代的或未经取代的烷基或烯基且A_3和A_5各自为C_{15}经取代的或未经取代的烷基或烯基。

5.根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述化合物相对于合成二糖脂质化合物按重量计为至少95%纯。

6.根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述化合物相对于合成二糖脂质化合物按重量计为至少99%纯。

7.根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述组合物包含一种抗原。

8.根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述组合物进一步包含第二佐剂。

9.根据权利要求8所述的药物组合物,其中所述第二佐剂为单磷酸化六酰基二糖。

10.根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述组合物为疫苗组合物。

11.根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述组合物用于刺激或增强受试者的免疫反应。

12.根据权利要求1至权利要求11的任意一项所述的药物组合物,其中所述药学上可接受的载体为脂质体。

二糖合成脂质化合物及其用途

[0001]　本申请是申请日为2013年4月12日、申请号为201380026285.X、发明名称为“二糖合成脂质化合物及其用途”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002]　本公开总体上涉及用于增强或刺激免疫反应的化合物。更具体地说，本公开涉及具有式(I)-(XXV)的合成二糖脂质A类似物或其药学上可接受的盐。还公开了此类化合物用于诱导和刺激免疫反应的用途、含有此类化合物的药物组合物和包含此类化合物的疫苗组合物。

背景技术

[0003]　已知为各种革兰氏阴性杆菌(Gram negative bacilli)的外膜组分的内毒素具有各种生物活性，例如增强免疫功能。内毒素的主要活性部分存在于称为脂质A的二糖部分中。已经研究了各种脂质A衍生物并且报道具有与天然脂质A相似的生物活性。然而，从天然源纯化了许多此类化合物，这可导致关于这些化合物一致性和纯度的问题。许多研究已经以提供此类化合物的纯或基本上纯的形式为中心。

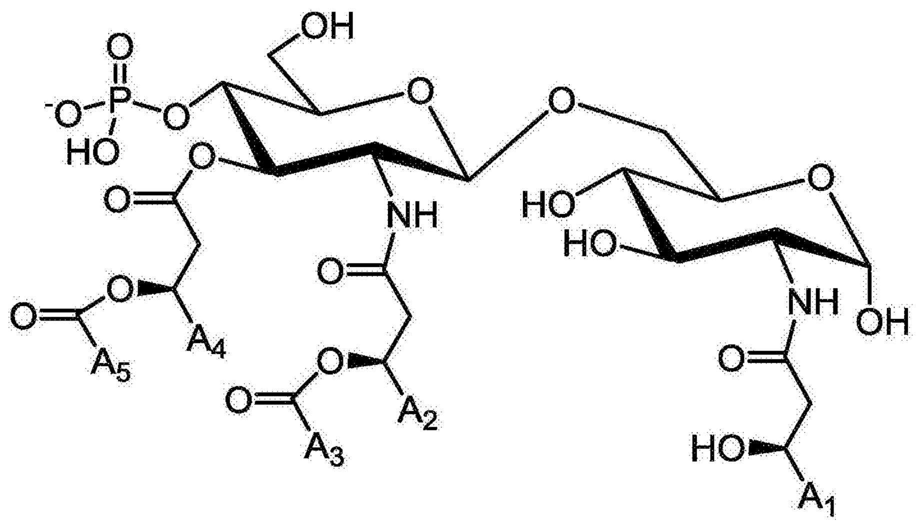
发明内容

[0004]　本发明提供了一种药物组合物，包含：

[0005]　a.药学上可接受的载体；

[0006]　b.抗原；和

[0007]　c.具有以下结构的化合物

[0008]


[0009]　其中：

[0010]　A_1、A_2和A_4各自为C_9至C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{11}至C_{15}未经取代的烷基，条件是酰基链的长度相同；

[0011]　R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0012] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基;并且

[0013] m和n各自独立地为0至5的整数。

[0014] 根据本发明的一个实施方式,其中A_1、A_2和A_4各自为C_{12}经取代的或未经取代的烷基或烯基且A_3和A_5各自为C_{14}经取代的或未经取代的烷基或烯基。

[0015] 根据本发明的另一实施方式,其中A_1、A_2和A_4各自为C_{10}经取代的或未经取代的烷基或烯基且A_3和A_5各自为C_{12}经取代的或未经取代的烷基或烯基。

[0016] 根据本发明的又一实施方式,其中A_1、A_2和A_4各自为C_{13}经取代的或未经取代的烷基或烯基且A_3和A_5各自为C_{15}经取代的或未经取代的烷基或烯基。

[0017] 根据本发明的一个实施方式,其中所述化合物相对于合成二糖脂质化合物按重量计为至少95%纯。

[0018] 根据本发明的另一实施方式,其中所述化合物相对于合成二糖脂质化合物按重量计为至少99%纯。

[0019] 根据本发明的一个实施方式,其中所述组合物包含一种抗原。

[0020] 根据本发明的一个实施方式,其中所述组合物进一步包含第二佐剂。

[0021] 根据本发明的一个实施方式,其中所述第二佐剂为单磷酸化六酰基二糖。

[0022] 根据本发明的一个实施方式,其中所述组合物为疫苗组合物。

[0023] 根据本发明的一个实施方式,其中所述组合物用于刺激或增强受试者的免疫反应。

[0024] 根据本发明的一个实施方式,其中所述药学上可接受的载体为脂质体。

附图说明

[0025] 图1A示出了本公开的合成二糖脂质化合物对体外小鼠脾细胞增殖的影响。

[0026] 图1B示出了本公开的合成二糖脂质化合物对体外小鼠B细胞增殖的影响。

[0027] 图2A示出了本公开的合成二糖脂质化合物对体外小鼠脾细胞活力的影响。

[0028] 图2B示出了本公开的合成二糖脂质化合物对体外小鼠B细胞活力的影响。

[0029] 图3A示出了本公开的合成二糖脂质化合物对从体外小鼠脾细胞分泌IgM的影响。

[0030] 图3B示出了本公开的合成二糖脂质化合物对从体外小鼠B细胞分泌IgM的影响。

[0031] 图4A示出了本公开的合成二糖脂质化合物对从体外小鼠脾细胞分泌IgG的影响。

[0032] 图4B示出了本公开的合成二糖脂质化合物对从体外小鼠B细胞分泌IgG的影响。

[0033] 图5示出了本公开的合成二糖脂质化合物对由体外小鼠单核细胞/巨噬细胞生成IL-12的影响。

[0034] 图6示出了疫苗制剂中本公开的合成二糖脂质化合物对刺激体内抗原特异性免疫反应的影响。

具体实施方式

[0035] 定义

[0036] 如本文所使用,如本文所使用的术语“预防(prevention)”、“预防(prevent)”、“预防(preventing)”、“抑制(suppression)”、“抑制(suppress)”和“抑制(suppressing)”指在疾病或病状的症状、方面或特征出现之前引发的作用过程(例如施用化合物或药物组合

物)，以便预防或减轻此类症状、方面或特征。此类预防和抑制无需绝对有用。

[0037] 如本文所使用，如本文所使用的术语“治疗(treat)”、“治疗(treatment)”和“治疗(treating)”指在疾病或病状的症状、方面或特征出现之后引发的作用过程(例如施用化合物或药物组合物)，以便消除或减轻此类症状、方面或特征。此类治疗无需绝对有用。

[0038] 如本文所使用，如本文所使用的术语“需要治疗”指由护理者做出的患者需要或将受益于治疗的判断。基于在护理者专业知识领域内，但是包括认为患者生病，或将要生病，因为可通过本公开的方法或化合物治疗的疾病或病状的多种因素做出这种判断。

[0039] 如本文所使用，如本文所使用的术语“需要预防”指由护理者做出的患者需要或将受益于预防的判断。基于在护理者专业知识领域内，但是包括认为患者将要生病或可能生病，因为可通过本公开的方法或化合物预防的疾病或病状的多种因素做出这种判断。

[0040] 如本文所使用，如本文所使用的术语“个体”、“受试者”或“患者”指任何动物，包括哺乳动物，例如小鼠、大鼠、其它啮齿动物、兔子、狗、猫、猪、牛、羊、马或灵长类动物和人。术语可指定雄性或雌性或二者，或排除雄性或雌性。

[0041] 如本文所使用，如本文所使用的术语“治疗有效量”指单独或作为药物组合物的一部分，能够对疾病或病状的任何症状、方面或特征有任何可检测的积极影响的化合物的量。此类影响无需绝对有益。

[0042] 如本文所使用，术语“烷基，”无论单独使用还是作为取代基或连接基团的一部分，包括包含1-20个碳原子的直链烃基。因此所述短语包括直链烷基，例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基等。所述短语还包括直链烷基的支链异构体，包括但不限于举例提供的下列基团：$-CH(CH_3)_2$、$-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$、$-CH(CH_2CH_3)_2$、$-C(CH_3)$、$-C(CH_2CH_3)_3$、$-CH_2CH(CH_3)_2$、$-CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)$、$-CH_2CH(CH_2CH_3)_2$、$-CHC(CH_3)_3$、$-CH_2C(CH_2CH_3)_3$、$-CH(CH_3)CH(CH_3)(CH_2CH_3)$、$-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$、$-CH_2CH_2CH(CH_3)(CH_2CH_3)-$、$-CH_2CH_2CH(CH_2CH_3)_2$、$-CH_2CH_2C(CH_3)_3$、$-CH_2CH_2C(CH_2CH_3)_3$、$-CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$、$-CH(CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)_2$、$-CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)CH(CH_3)CH(CH_2CH_3)$等。所述短语还包括环状烷基，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基及经如以上定义的直链和支链烷基取代的此类环。所述短语还包括多环烷基，例如但不限于金刚烷基、降莰烷基和双环[2.2.2]辛基及经如以上定义的直链和支链烷基取代的此类环。

[0043] 如本文所使用，术语“亚烷基”，无论单独使用还是作为取代基的一部分，包括通过从烷基去除氢原子获得的任何基团；亚烷基与其它基团形成两个键。

[0044] 如本文所使用，术语“烯基”，无论单独使用还是作为取代基的一部分，包括在任两个相邻碳原子之间具有至少一个双键的烷基。

[0045] 如本文所使用，术语“未经取代的烷基”和“未经取代的烯基”指不含杂原子的烷基和烯基。

[0046] 短语“经取代的烷基”和“经取代的烯基”指如以上定义的其中与碳或氢的一个或多个键经与非氢或非碳原子的键置换的烷基和烯基，例如但不限于，卤化物中的卤素原子例如F、Cl、Br和I；和例如羰基、羧基、羟基、烷氧基、芳氧基和酯基等基团中的氧原子；例如硫醇基、烷基和芳基硫化物基团、砜基、磺酰基和亚砜基等基团中的硫原子；例如胺、酰胺、烷基胺、二烷基胺、芳基胺、烷基芳基胺、二芳基胺、N-氧化物、酰亚胺、烯胺、亚胺、肟、腙和腈等基团中的氮原子；例如三烷基甲硅烷基、二烷基芳基甲硅烷基、烷基二芳基甲硅烷基和

三芳基甲硅烷基等基团中的硅原子；和各种其它基团中的其它杂原子。其它烷基包括其中碳或氢原子的一个或多个键经与氧原子的键置换的烷基，以致经取代的烷基含有羟基、烷氧基、芳氧基或杂环氧基。还有其它烷基包括具有胺、烷基胺、二烷基胺、芳基胺、(烷基)(芳基)胺、二芳基胺、杂环基胺、(烷基)(杂环基)-胺、(芳基)(杂环基)胺或二杂环基胺基团的烷基。

[0047] 二糖合成脂质化合物

[0048] 本公开提供了以下通用结构I-XXV的合成二糖脂质化合物。在一个实施方案中，所述合成二糖脂质化合物在本文公开的位置含有3-5个酰基。在另一实施方案中，公开的合成二糖脂质化合物为3-O-脱酰基二糖化合物。又一实施方案中，3-O-脱酰基二糖化合物在本文公开的位置含有3-5个酰基。在前述一个特定实施方案中，所述化合物为单磷酰基。此类化合物用作诱导和刺激免疫反应的免疫刺激剂并且在免疫原性组合物，例如但不限于疫苗中用作佐剂。

[0049] 本公开的化合物经化学合成并且因此呈基本上纯的形式提供。用“基本上纯”，意指就合成二糖脂质化合物(按重量测量)而言，合成二糖脂质化合物为至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％纯。在一个特定方面，合成二糖脂质化合物为至少95％纯(按重量测量)。另一方面，合成二糖脂质化合物为至少96％纯(按重量测量)。另一方面，合成二糖脂质化合物至少97％纯(按重量测量)。另一方面，合成二糖脂质化合物为至少98％纯(按重量测量)。另一方面，合成二糖脂质化合物为至少99％纯(按重量测量)。

[0050] 因为天然纯化的脂质A化合物不适合，这种纯度水平允许本公开的合成二糖脂质化合物用于各种药理学应用。例如，天然纯化的脂质A化合物与不同量的蛋白质、核酸、其它脂质和来自从中纯化脂质A化合物的细菌细胞的其它产物一起共同纯化。另外，此类杂质的水平因纯化而不同。此外，天然纯化的脂质A化合物常常呈不同形式存在。例如，在指定制剂中二糖骨架上存在的酰基链的数量，以及在特定位置的指定酰基链的长度可能不同。因此，本公开的化合物基本上没有在从天然源纯化的化合物中发现的污染物，例如但不限于蛋白质、核酸、其它脂质和来自细菌细胞的其它产物。另外，本公开的化合物基本上没有化学合成期间生成的污染物。正因如此，本公开的化合物提供了胜过本领域中已知化合物的优点。

[0051] 如本文所使用，术语“基本上没有”意指就合成二糖脂质化合物(按重量测量)而言测定，本公开的化合物含有小于1％、小于2％、小于3％、小于4％、小于5％、小于10％、小于15％或小于20％的此类污染物。有关污染物包括但不限于具有不同数量和/或长度的酰基链的相关化合物，从天然源分离相应化合物期间遇到的那些污染物和由于化学合成遇到的污染物。一方面，就合成二糖脂质化合物(按重量测量)而言测定，合成二糖脂质化合物含有小于1％的此类污染物。一方面，就合成二糖脂质化合物(按重量测量)而言测定，合成二糖脂质化合物含有小于2％的此类污染物。一方面，就合成二糖脂质化合物(按重量测量)而言测定，合成二糖脂质化合物含有小于3％的此类污染物。一方面，就合成二糖脂质化合物(按重量测量)而言测定，合成二糖脂质化合物含有小于4％的此类污染物。一方面，就合成二糖脂质化合物(按重量测量)而言测定，合成二糖脂质化合物含有小于5％的此类污染物。

[0052] 前述问题导致天然纯化的脂质化合物A的性质因制备而可变。此外，个别受试者对此类天然存在的脂质A化合物的反应也可能不同。供给呈基本上纯形式的本公开化合物减

少了前述问题并且允许本公开的化合物用于天然存在的脂质A组合物不适合的应用中。

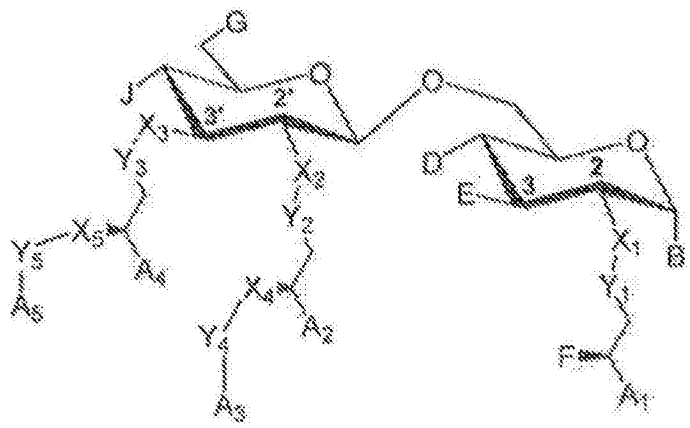
[0053] 本领域还知道各种单磷酸化六酰基二糖化合物。例如，此类化合物以名称PHAD(或PHAD™)提供并且可从Avanti Polar Lipids(Alabaster.Alabama)得到。然而，这些化合物在3位置处具有酰基。

[0054] 在本领域中已知3-O-脱酰基单磷酸化二糖化合物，包括但不限于五酰基化合物。然而，已经从天然源纯化出此类3-O-脱酰基单磷酸化二糖化合物并且经化学处理以去除3位置处存在的酰基链。因此，现有技术3-O-脱酰基单磷酸化二糖化合物组成的可变性有关。另外，前述化学修饰程序还引入了附加可变性。

[0055] 因此，现有技术尚未提供呈基本上纯形式和/或基本上没有污染物的合成二糖脂质化合物。本公开提供了含有3-5条酰基链的合成二糖脂质化合物。在一个实施方案中，合成二糖脂质化合物为3-O-脱酰基二糖化合物。在前述的一个实施方案中，合成二糖脂质化合物含有3-5条酰基链。在一个实施方案中，所述3-5条酰基链分别位于非还原和还原糖的2’、3’和2位置处。在另一实施方案中，所述3-5条酰基链分别位于非还原和还原糖的2’、3’、2和3位置处。再一实施方案中，所述3-5条酰基链分别位于非还原和还原糖的3’、2和3位置处。

[0056] 以下示出了具有2’、3’、2和3位置的代表性二糖化合物。

[0057]



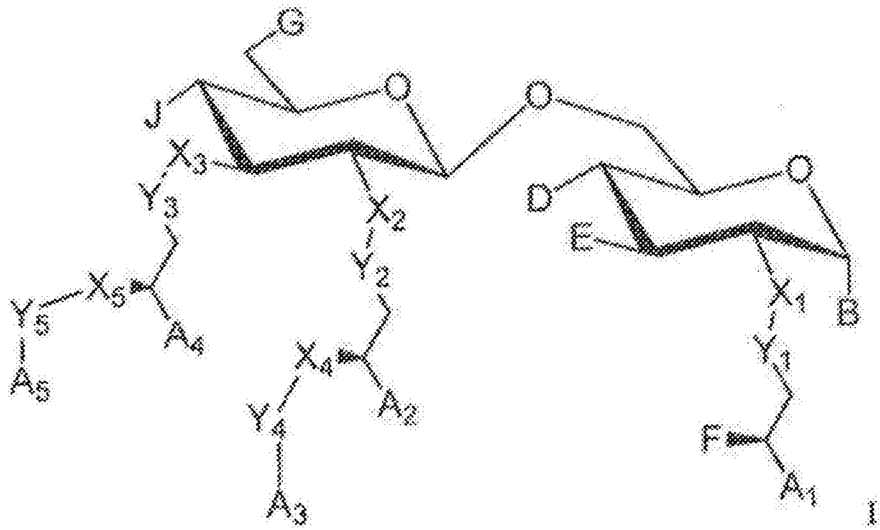
[0058] 为了清楚起见，酰基链无需存在于位置2’、3’或2的每一处，条件是合成二糖脂质化合物在所叙述的位置(2’、3’和2)总共具有3-5条酰基链。此外，一个所叙述的位置可能含有1条以上的酰基链，而另一个所叙述的位置可能未与酰基链缔合，条件是合成二糖脂质化合物在所叙述的位置(2’、3’和2)总共具有3-5条酰基链。

[0059] 例如，本公开的示例性合成二糖脂质化合物可能在3’位置含有2条酰基链，在2位置含有2条酰基链而在2’位置含有1条酰基链(总共5条酰基链)。此外，本公开的示例性合成二糖脂质化合物可能在3’位置含有2条酰基链，在2位置含有1条酰基链而在2’位置含有1条酰基链(总共4条酰基链)。更进一步地，本公开的示例性合成二糖脂质化合物可能在3’位置不含酰基链，在2’位置含有2条酰基链，在3位置含有1条酰基链而在3位置含有1条酰基链(总共4条酰基链)。更进一步地，本公开的示例性合成二糖脂质化合物可能在3’位置含有1条酰基链，在2位置含有2条酰基链而在2’位置含有1条酰基链(总共4条酰基链)。更进一步地，本公开的示例性合成二糖脂质化合物可能在3’位置不含酰基链，在2位置含有2条酰基链而在2’位置含有1条酰基链(总共3条酰基链)。

[0060] 本公开的合成二糖脂质化合物含有3-5条酰基链。在一个实施方案中，酰基链的长

度可从6到19个碳长变化。为清楚起见，3种合成二糖脂质化合物中存在的3-5条酰基链的长度可能各自相同或可能不同。在一个特定实施方案中，3-5条酰基链的长度相同。所述3-5条酰基链可能饱和并且不含双键或所述3-5条酰基链可能不饱和。当此类酰基链不饱和时，每条不饱和酰基链可能含有1-3个双键。在一个实施方案中，所述3-5条酰基链全部饱和。在另一实施方案中，所述3-5条酰基链中至少一条不饱和并且含有单个双键而其余酰基链饱和。

[0061] 在一个实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式I中所示的通用结构：

[0062] 

I

[0063] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0064] X_1、X_2、X_3、X_4和X_5各自独立地不存在或选自C_1-C_8烷基、-O-、-NH-或-CH_2-；

[0065] Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5各自独立地选自H、C_1-C_4烷基、-CH_2-或-C(=O)-，条件是Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中至少3个为除H或C_1-C_4烷基之外的基团并且进一步条件是当Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5其中一个为H时，则直接或间接与Y_1、Y_2、Y_3、Y_4或Y_5连接的基团不存在；

[0066] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、-OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH、-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)$CH_2$CH(OH)$(CH_2)_nCH_3$；

[0067] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)$(O\ R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0068] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0069] A_3和A_5各自独立地选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0070] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0071] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0072] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0073] 在该实施方案的第一方面，X_3、X_4和X_5中的至少一个为-O-，X_3、X_4和X_5中的至少两个为-O-，或X_3、X_4和X_5中三个全部为-O-。

[0074] 在该实施方案的第二方面，X_1和X_2中的至少一个为-NH-，或X_1和X_2二者均为-NH-。

[0075] 在该实施方案的第三方面，X_3、X_4和X_5为-O-并且X_1和X_2为-NH-。

[0076] 在该实施方案的第四方面，X_1-X_5如第一至第三方面中所定义并且Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少两个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少三个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少四个为-C(=O)-，或Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5全部为-C(=O)-。

[0077] 在该实施方案的第五方面，X_3、X_4和X_5为-O-并且X_1和X_2为-NH-，并且Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5全部为-C(=O)-。

[0078] 在该实施方案的第六方面，X_1-X_5如第一至第五方面中所定义，Y_1-Y_5如第四和第五方面中所定义并且J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH。

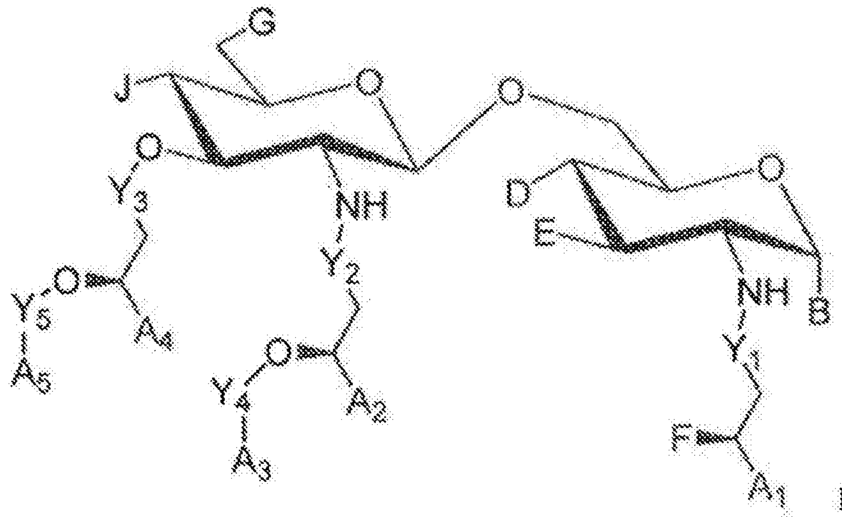
[0079] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0080] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0081] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0082] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0083] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式II中所示的通用结构：

[0084] 

II

[0085] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0086] Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-，条件是Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中至少3个为除H之外的基团并且进一步条件是当Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5其中一个为H时，则直接或间接与Y_1、Y_2、Y_3、Y_4或Y_5连接的基团不存在；

[0087] D、E、G和F各自独立地选自-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0088] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)$(O\ R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0089] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0090] A_3和A_5各自独立地选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0091] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0092] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0093] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0094] 在该实施方案的第一方面，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少两个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少三个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5中的至少四个为-C(=O)-，或Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5全部为-C(=O)-。

[0095] 在该实施方案的第二方面，Y_1、Y_2、Y_3、Y_4和Y_5如第一方面中所定义并且J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH。

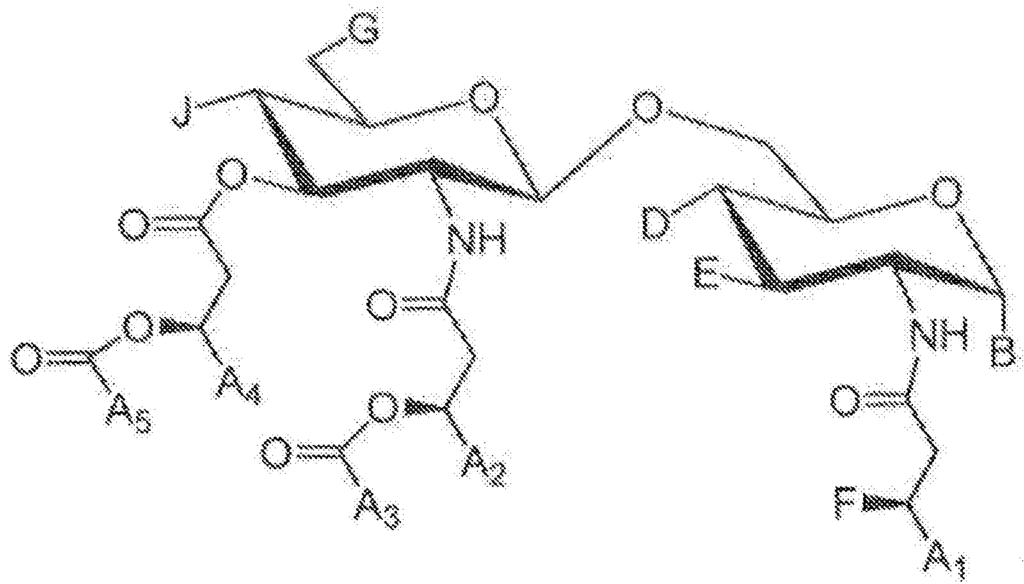
[0096] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0097] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0098] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0099] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C1未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0100] 再一实施方案中，合成二糖脂质化合物具有式III中所示的通用结构：

[0101] 

III

[0102] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0103] D、E、G和F各自独立地选自-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0104] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)(OH)$_2$-、OP(=O)(O R_2)$_2$-、-OS(=O)(OH)$_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS(OH)$_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0105] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0106] A_3和A_5各自独立地选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0107] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0108] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0109] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0110] 在该实施方案的第一方面，-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH。

[0111] 在该实施方案的第二方面，D、E、F和G各自为OH。

[0112] 在该实施方案的第三方面，-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH并且D、E、F和G各自为OH。

[0113] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

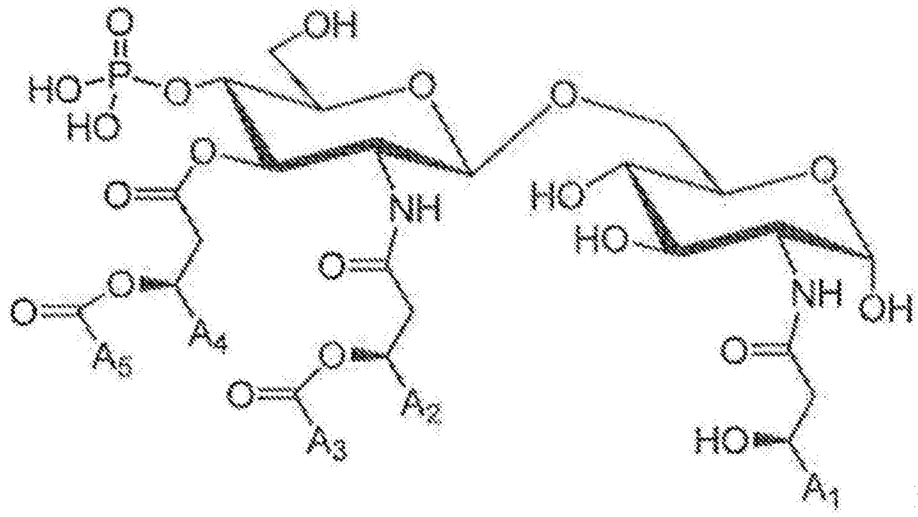
[0114] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷

基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0115] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0116] 再一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式IV中所示的通用结构：

[0117]



IV

[0118] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0119] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；并且

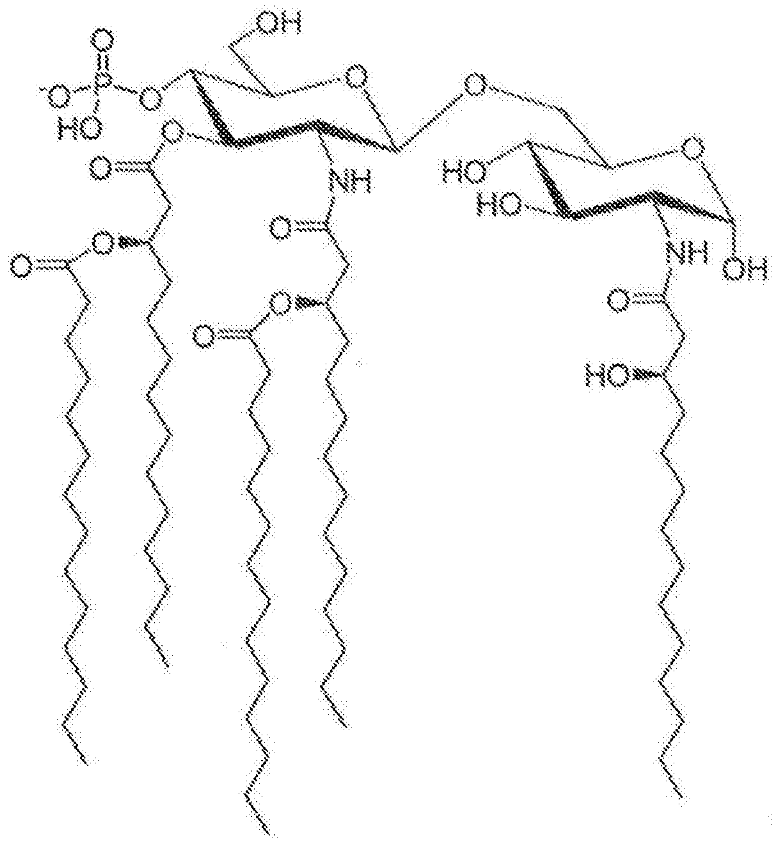
[0120] A_3和A_5各自独立地选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基。

[0121] 在该实施方案的第一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0122] 在该实施方案的的第二方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0123] 在该实施方案的的第三方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

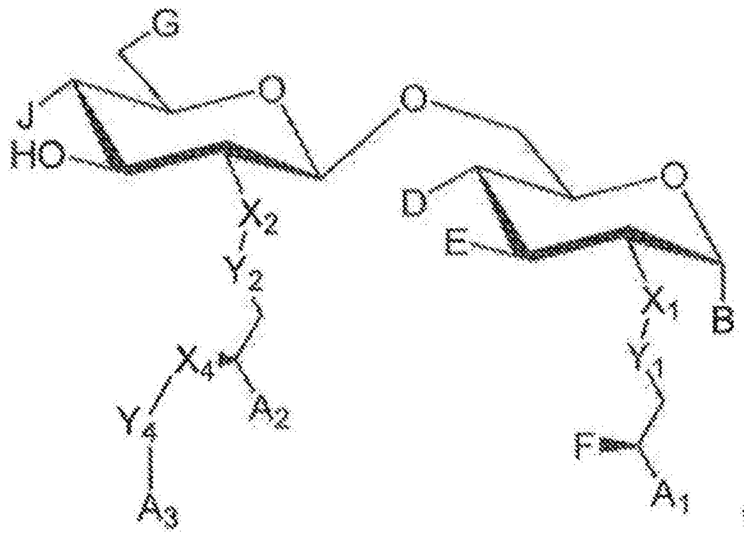
[0124] 又一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式V中所示的通用结构：

[0125] 

V

[0126] 或其药学上可接受的盐或前药。

[0127] 在一个实施方案中,此类合成二糖脂质化合物具有式VI中所示的通用结构:

[0128] 

VI

[0129] 或其药学上可接受的盐或前药,其中:

[0130] X_1、X_2和X_4各自独立地选自C_1-C_8烷基、-O-、-NH-或-CH_2-;

[0131] Y_1、Y_2和Y_4各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-;

[0132] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH;

[0133] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)(O $R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团;

[0134] A_1和A_2各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基;

[0135] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0136] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0137] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0138] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0139] 前述结构VI由结构I中所示的结构得到，其中基团X_3为O，Y_3为H并且与Y_3连接的基团(X_5、Y_5、A_5和A_4)不存在。

[0140] 在该实施方案的第一方面，X_1和X_2中的至少一个为-NH-，或X_1和X_2二者均为-NH-。

[0141] 在该实施方案的第二方面，X_4为-O-。

[0142] 在该实施方案的第三方面，X_4为-O-并且X_1和X_2为-NH-。

[0143] 在该实施方案的第四方面，X_1、X_2和X_4如第一至第三方面中所定义并且Y_1、Y_2和Y_4中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2和Y_4中的至少两个为-C(=O)-或Y_1、Y_2和Y_4全部为-C(=O)-。

[0144] 在该实施方案的第五方面，X_4为-O-，X_1和X_2为-NH-并且Y_1、Y_2和Y_4全部为-C(=O)-。

[0145] 在该实施方案的第六方面，X_1、X_2和X_4如第一至第五方面中所定义，Y_1、Y_2和Y_4如第四和第五方面中所定义并且J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH。

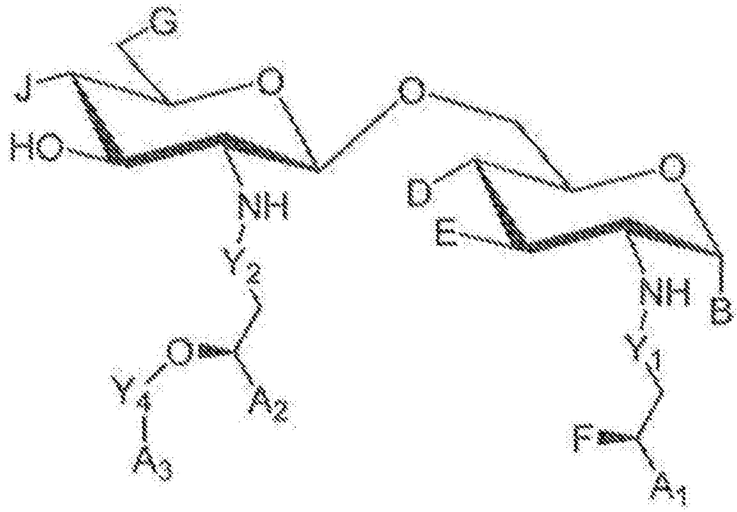
[0146] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0147] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0148] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0149] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0150] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式VII中所示的通用结构：

[0151] 

VII

[0152] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0153] Y_1、Y_2和Y_4各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-；

[0154] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)(CH_2)$_m$-CH_3、OC(=O)(CH_2)$_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH(NH_2)(CH_2)$_n$C(=O)OH；

[0155] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)(OH)$_2$-、OP(=O)(O R_2)$_2$-、-OS(=O)(OH)$_2$-、-OS(=O)(OR_2)$_2$-、-OS(OH)$_2$-、-OS(OR_2)$_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0156] A_1和A_2各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0157] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0158] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0159] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0160] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0161] 在该实施方案的第一方面，Y_1、Y_2和Y_4中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2和Y_4中的至少两个为-C(=O)-或Y_1、Y_2和Y_4全部为-C(=O)-。

[0162] 在该实施方案的第二方面，Y_1、Y_2和Y_4如第一方面中所定义并且J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH。

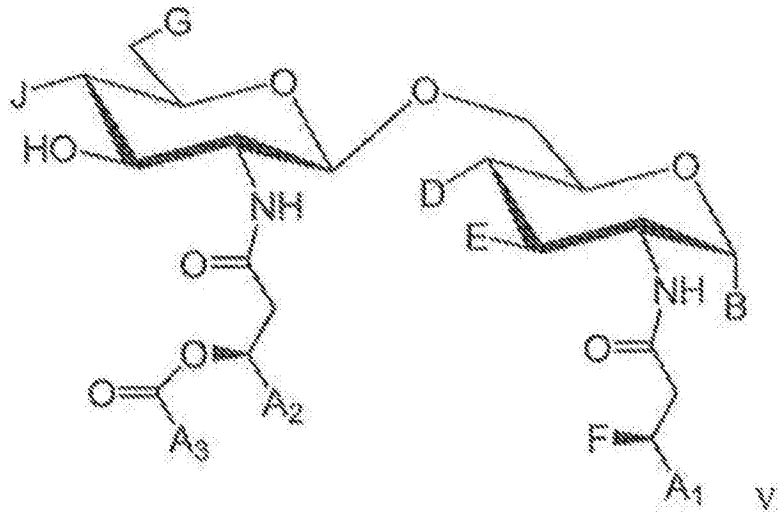
[0163] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0164] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0165] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0166] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0167] 再一实施方案中，合成二糖脂质化合物具有式VIII中所示的通用结构：

[0168] 

VIII

[0169] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0170] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)(CH$_2$)$_m$-CH$_3$、OC(=O)(CH$_2$)$_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH(NH$_2$)(CH$_2$)$_n$C(=O)OH；

[0171] J和B各自独立地选自OH、OR$_1$、H、-OP(=O)(OH)$_2$-、OP(=O)(O R$_2$)$_2$-、-OS(=O)(OH)$_2$-、-OS(=O)(OR$_2$)$_2$-、-OS(OH)$_2$-、-OS(OR$_2$)$_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR$_2$-或酸性基团；

[0172] A_1和A_2各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0173] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0174] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0175] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0176] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0177] 在该实施方案的第一方面，J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH。

[0178] 在该实施方案的第二方面，D、E、F和G各自为OH。

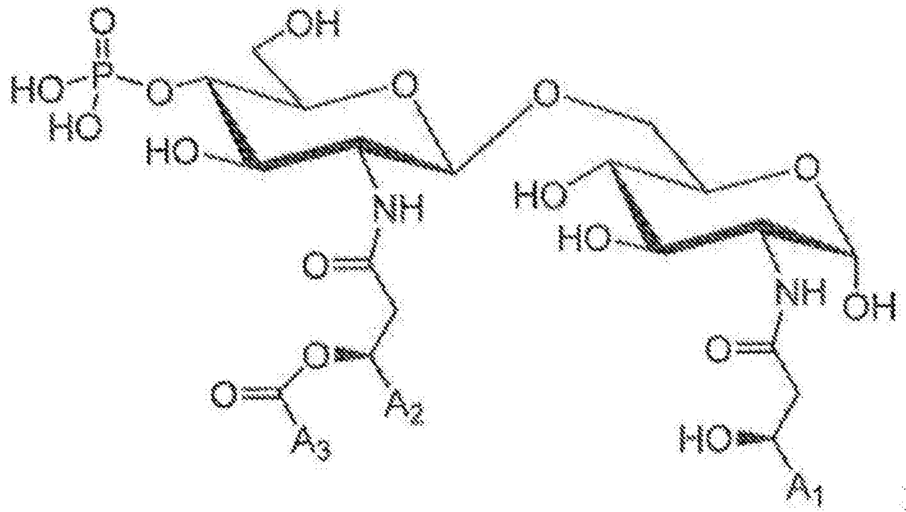
[0179] 在该实施方案的第三方面，J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH并且D、E、F和G各自为OH。

[0180] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0181] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0182] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0183] 再一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式IX中所示的通用结构：

[0184] 

IX

[0185] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0186] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；并且

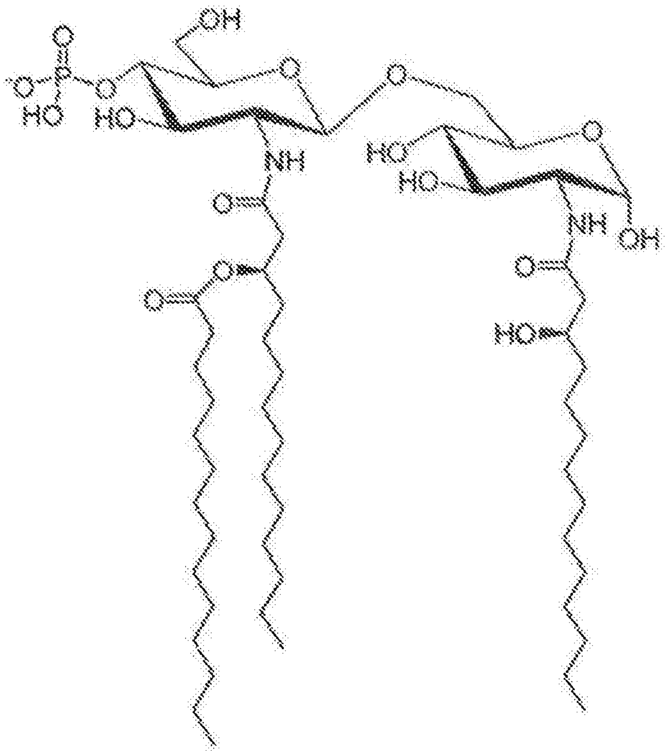
[0187] A_3和A_5各自独立地选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基。

[0188] 在该实施方案的第一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自独立地为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0189] 在该实施方案的第二方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3和A_5各自为C_{13}未经取代的烷基。

[0190] 在该实施方案的第三方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

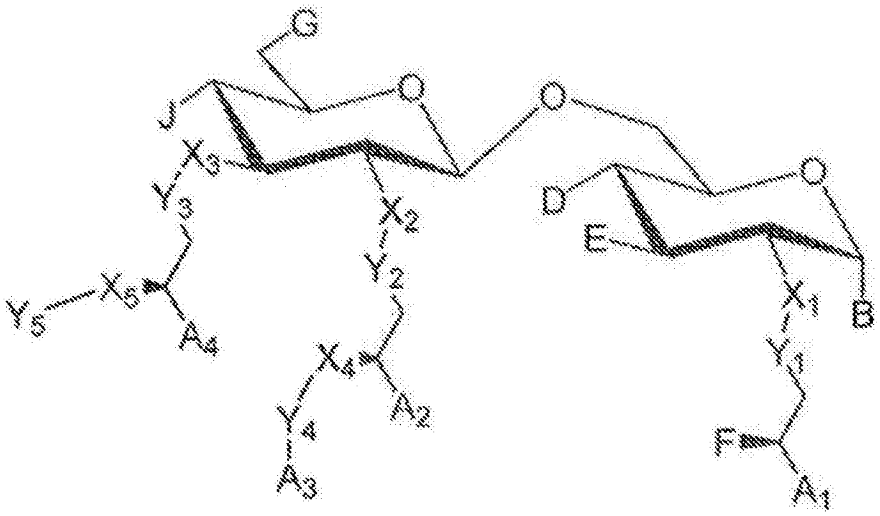
[0191] 又一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式X中所示的通用结构：

[0192] 

X

[0193] 或其药学上可接受的盐或前药。

[0194] 在一个实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XI中所示的通用结构：

[0195] 

XI

[0196] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0197] X_1、X_2、X_3、X_4和X_5各自独立地不存在或选自C_1-C_8烷基、-O-、-NH-或-CH_2-；

[0198] Y_1、Y_2、Y_3和Y_4各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-；

[0199] Y_5为H或C_1-C_4烷基；

[0200] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0201] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)$(O\ R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0202] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0203] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0204] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0205] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0206] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0207] 前述结构XI由结构I中所示的结构得到，其中基团X_5为O，Y_5为H并且与Y_5连接的基团(A_5)不存在。

[0208] 在该实施方案的第一方面，X_3、X_4和X_5中的至少一个为-O-，X_3、X_4和X_5中的至少两个为-O-，或X_3、X_4和X_5中三个全部为-O-。

[0209] 在该实施方案的第二方面，X_1和X_2中的至少一个为-NH-，或X_1和X_2二者均为-NH-。

[0210] 在该实施方案的第三方面，X_3、X_4和X_5为-O-并且X_1和X_2为-NH-。

[0211] 在该实施方案的第四方面，X_1-X_5如第一至第三方面中所定义，Y_1、Y_2、Y_3和Y_4中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3和Y_4中的至少两个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3和Y_4中的至少三个为-C(=O)-或Y_1、Y_2、Y_3和Y_4全部为-C(=O)-而Y_5为H。

[0212] 在该实施方案的第五方面，X_3、X_4和X_5为-O-，X_1和X_2为-NH-并且Y_1、Y_2、Y_3和Y_4全部为-C(=O)-而Y_5为H。

[0213] 在该实施方案的第六方面，X_1-X_5如第一至第五方面中所定义，Y_1-Y_5如第四和第五方面中所定义并且J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH。

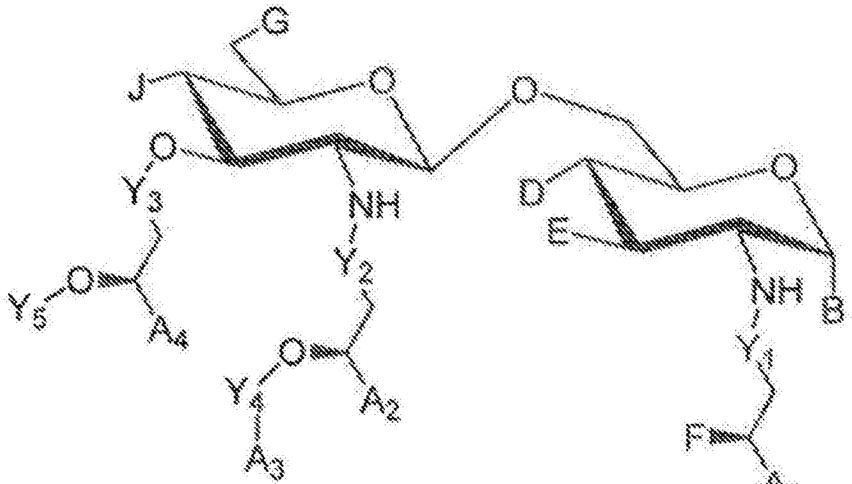
[0214] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0215] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0216] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3为C_{13}未经取代的烷基。

[0217] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XII中所示的通用结构：

[0218]



XII

[0219] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0220] Y_1、Y_2、Y_3和Y_4各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-；

[0221] Y_5为H或C_1-C_4烷基；

[0222] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0223] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)(OH)$_2$-、OP(=O)(O R_2)$_2$-、-OS(=O)

$(OH)_2$-、$-OS(=O)(OR_2)_2$-、$-OS(OH)_2$-、$-OS(OR_2)_2$-、$-C(=O)OH$-、$-C(=O)OR_2$-或酸性基团；

[0224] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0225] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0226] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0227] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0228] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0229] 在该实施方案的第一方面，Y_1、Y_2、Y_3和Y_4中的至少一个为$-C(=O)-$，Y_1、Y_2、Y_3和Y_4中的至少两个为$-C(=O)-$，Y_1、Y_2、Y_3和Y_4中的至少三个为$-C(=O)-$或Y_1、Y_2、Y_3和Y_4全部为$-C(=O)-$而Y_5为H。

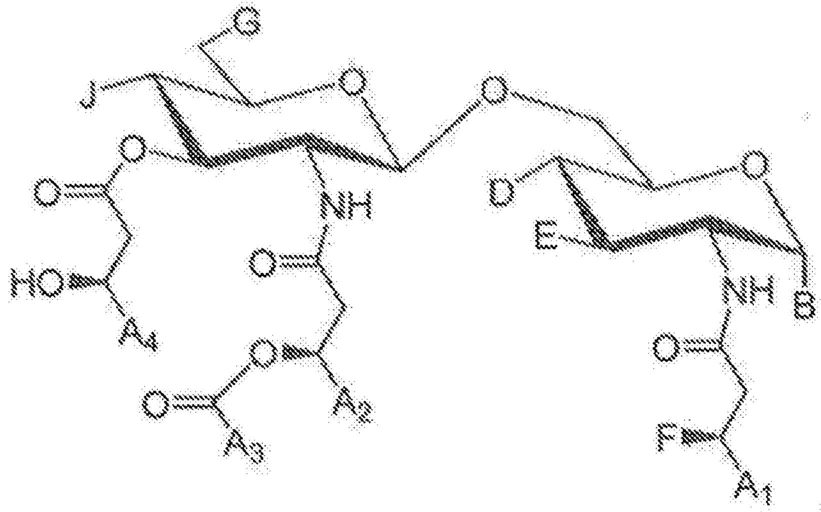
[0230] 在该实施方案的第二方面，Y_1-Y_5如第一方面中所定义并且J为$-OP(=O)(OH)_2$-而B为-OH。

[0231] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0232] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0233] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3为C_{13}未经取代的烷基。

[0234] 再一实施方案中，合成二糖脂质化合物具有式XIII中所示的通用结构：

[0235] 

XIII

[0236] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0237] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、$-OC(=O)(CH_2)_m-CH_3$、$OC(=O)(CH_2)_nC(=O)OH$或$-OC(=O)CH(NH_2)(CH_2)_nC(=O)OH$；

[0238] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、$-OP(=O)(OH)_2$-、$OP(=O)(O\ R_2)_2$-、$-OS(=O)(OH)_2$-、$-OS(=O)(OR_2)_2$-、$-OS(OH)_2$-、$-OS(OR_2)_2$-、$-C(=O)OH$-、$-C(=O)OR_2$-或酸性基团；

[0239] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0240] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0241] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0242] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0243] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0244] 在该实施方案的第一方面，J为$-OP(=O)(OH)_2$-而B为-OH。

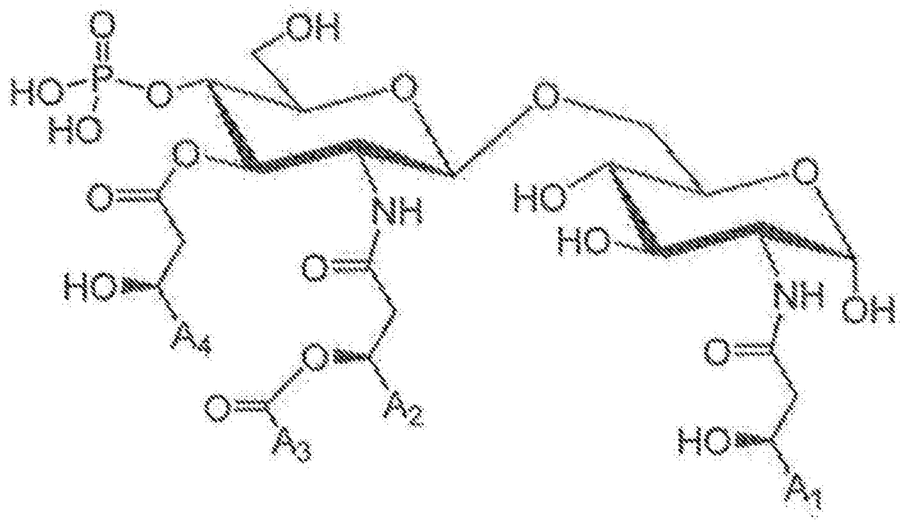
[0245] 在该实施方案的第二方面，D、E、F和G各自为OH。

[0246] 在该实施方案的第三方面，J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH并且D、E、F和G各自为OH。

[0247] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基，A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0248] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_3为C_{13}未经取代的烷基。

[0249] 再一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XIV中所示的通用结构：

[0250] 

XIV

[0251] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

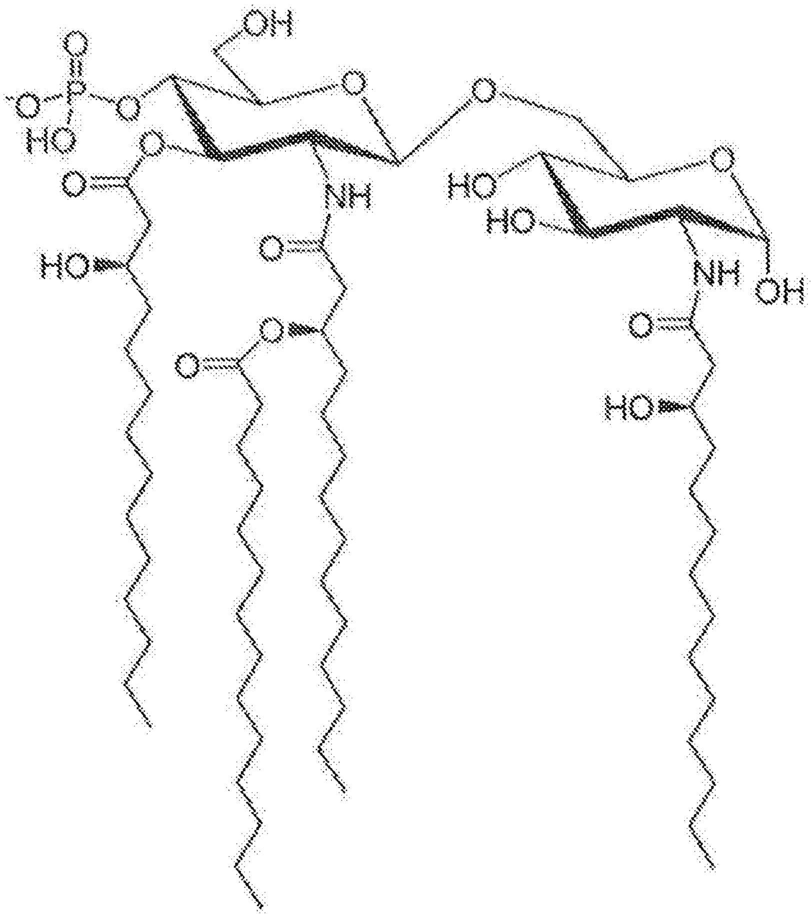
[0252] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；并且

[0253] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基。

[0254] 在该实施方案的第一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0255] 在该实施方案的第二方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3为C_{13}未经取代的烷基。

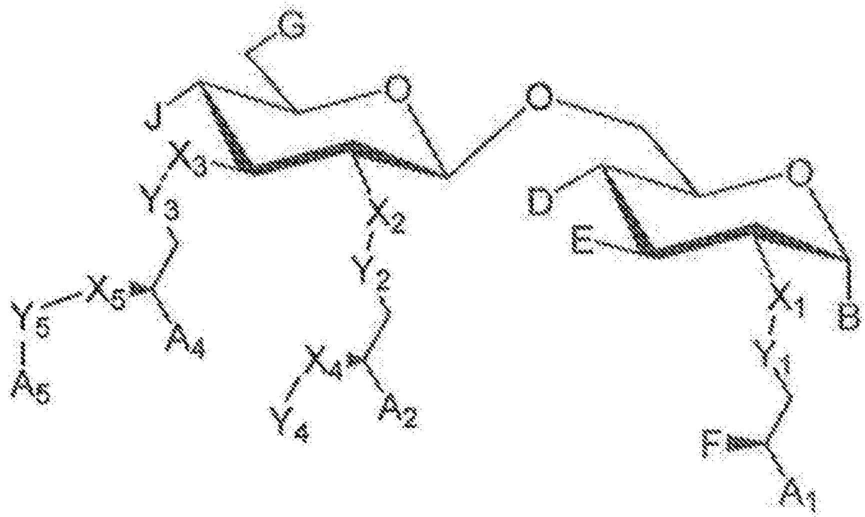
[0256] 又一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XV中所示的通用结构：

[0257] 

XV

[0258] 或其药学上可接受的盐或前药。

[0259] 在一个实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XVI中所示的通用结构：

[0260] 

XVI

[0261] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0262] X_1、X_2、X_3、X_4和X_5各自独立地选自C_1-C_8烷基、-O-、-NH-或-CH_2-；

[0263] Y_1、Y_2、Y_3和Y_5各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-；

[0264] Y_4为H或C_1-C_4烷基；

[0265] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0266] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)(O $R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0267] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0268] A_5选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0269] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0270] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0271] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0272] 前述结构XVI由结构I中所示的结构得到，其中基团X_4为O，Y_4为H并且与Y_4连接的基团(A_3)不存在。

[0273] 在该实施方案的第一方面，X_3、X_4和X_5中的至少一个为-O-，X_3、X_4和X_5中的至少两个为-O-，或X_3、X_4和X_5中三个全部为-O-。

[0274] 在该实施方案的第二方面，X_1和X_2中的至少一个为-NH-，或X_1和X_2二者均为-NH-。

[0275] 在该实施方案的第三方面，X_3、X_4和X_5为-O-并且X_1和X_2为-NH-。

[0276] 在该实施方案的第四方面，X_1-X_5如第一至第三方面中所定义，Y_1、Y_2、Y_3和Y_5中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3和Y_5中的至少两个为-C(=O)，Y_1、Y_2、Y_3和Y_5中的至少三个为-C(=O)-，或Y_1、Y_2、Y_3和Y_5全部为-C(=O)-并且Y_4为H。

[0277] 在该实施方案的第五方面，X_3、X_4和X_5为-O-，X_1和X_2为-NH-，并且Y_1、Y_2、Y_3和Y_5全部为-C(=O)-并且Y_4为H。

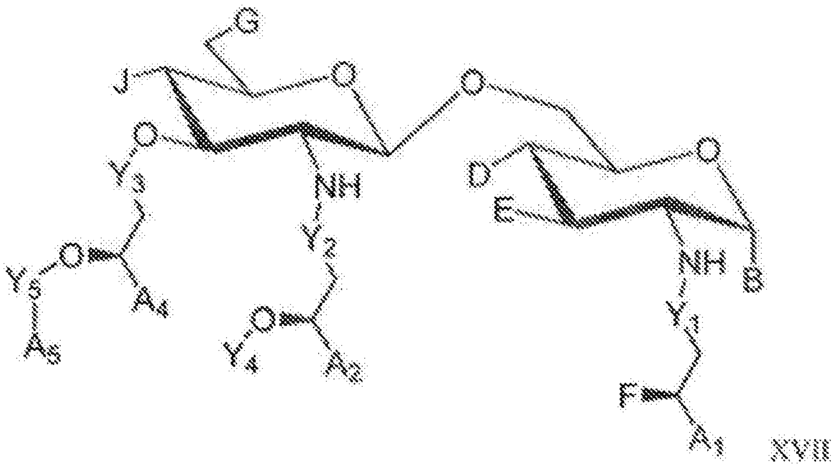
[0278] 在该实施方案的第六方面，X_1-X_5如第一至第五方面中所定义，Y_1-Y_5如第四和第五方面中所定义并且J为-OP(=O)$(OH)_2$-而B为-OH。

[0279] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0280] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_5为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0281] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0282] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XVII中所示的通用结构：

[0283] 

XVII

[0284] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0285] Y_1、Y_2、Y_3和Y_5各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-；

[0286] Y_4为H或C_1-C_4烷基；

[0287] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0288] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)$(O\ R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0289] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0290] A_5选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0291] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0292] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0293] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0294] 在该实施方案的第一方面，Y_1、Y_2、Y_3和Y_5中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_3和Y_5中的至少两个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_4和Y_5中的至少三个为-C(=O)，或Y_1、Y_2、Y_3和Y_5全部为-C(=O)-并且Y_4为H。

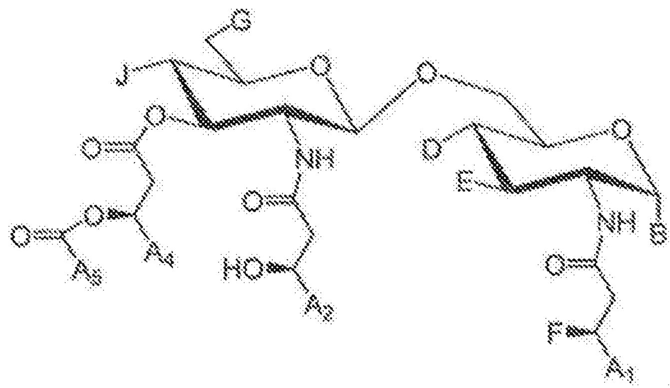
[0295] 在该实施方案的第二方面，Y_1-Y_5如第一方面中所定义并且J为-OP(=O)$(OH)_2$-而B为-OH。

[0296] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，D、E、F和G各自为OH。

[0297] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_5为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0298] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0299] 再一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XVIII中所示的通用结构：

[0300] 

XVIII

[0301] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0302] D、E、G和F各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0303] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)$(O\ R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0304] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0305] A_5选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0306] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0307] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0308] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0309] 在该实施方案的第一方面，J为-OP(=O)$(OH)_2$-而B为-OH。

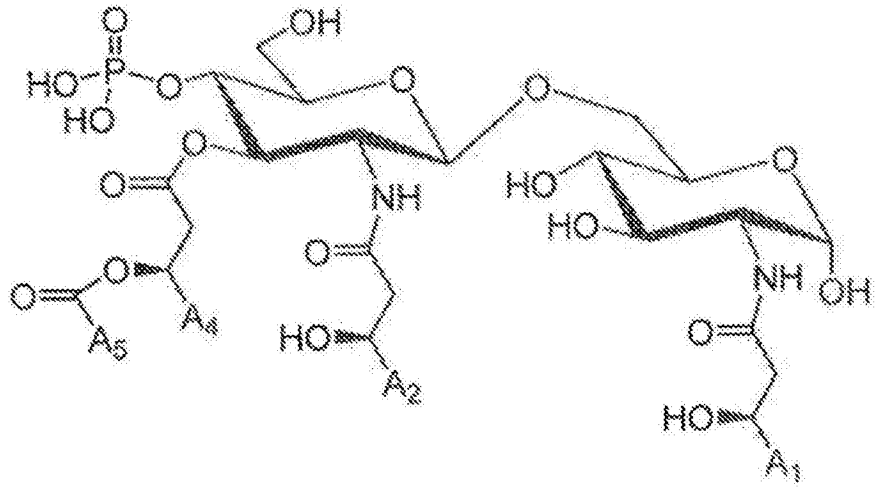
[0310] 在该实施方案的第二方面，D、E、F和G各自为OH。

[0311] 在该实施方案的第三方面，J为-OP(=O)(OH)$_2$-而B为-OH并且D、E、F和G各自为OH。

[0312] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基，A_5为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0313] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基，A_5为C_{13}未经取代的烷基。

[0314] 再一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XIX中所示的通用结构：

[0315] 

XIX

[0316] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

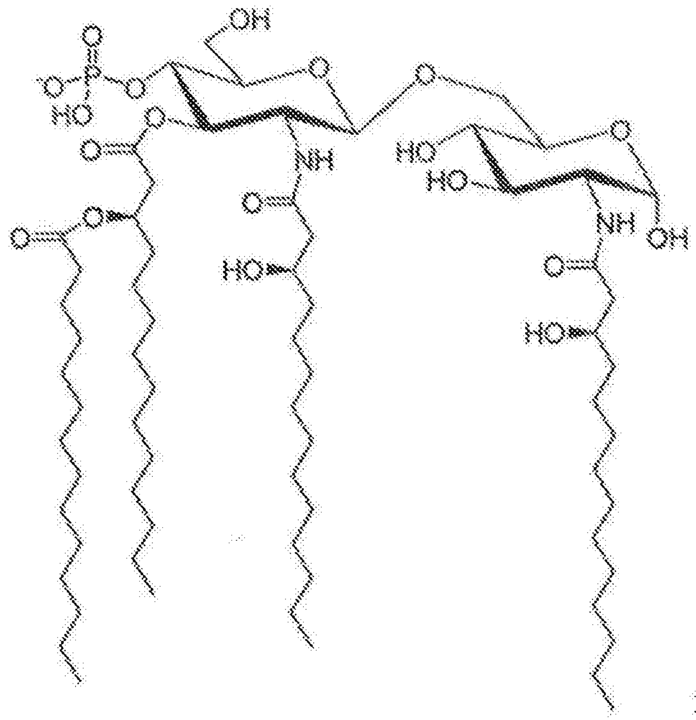
[0317] A_1、A_2和A_4各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；并且

[0318] A_5选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基。

[0319] 在该实施方案的第一方面，A_1、A_2和A_4各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_5为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0320] 在该实施方案的第二方面，A_1、A_2和A_4各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_5为C_{13}未经取代的烷基。

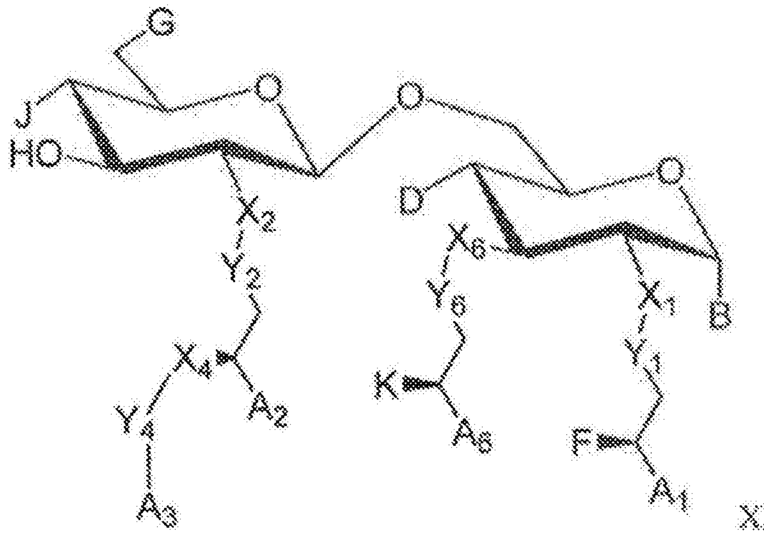
[0321] 又一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XX中所示的通用结构：

[0322] 

XX

[0323] 或其药学上可接受的盐或前药。

[0324] 在一个实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XXI中所示的通用结构：

[0325] 

XXI

[0326] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0327] X_1、X_2、X_4和X_6各自独立地不存在或选自C_1-C_8烷基、-O-、-NH-或-CH_2；

[0328] Y_1、Y_2、Y_4和Y_6各自独立地选自-CH_2-或-C(=O)-；

[0329] D、G、F和K各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0330] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)$(O\ R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0331] A_1、A_2和A_6各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0332] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0333] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0334] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0335] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0336] 前述结构XXI由结构I中所示的结构得到，其中基团X_3为O，Y_3为H，与Y_3连接的基团不存在并且E为$-OC(=O)CH_2CH(OH)(CH_2)_nCH_3$。

[0337] 在该实施方案的第一方面，X_4和X_6中的至少一个为-O-，或X_4和X_6二者均为-O-。

[0338] 在该实施方案的第二方面，X_1和X_2中的至少一个为-NH-，或X_1和X_2二者均为-NH-。

[0339] 在该实施方案的第三方面，X_4和X_6为-O-并且X_1和X_2为-NH-。

[0340] 在该实施方案的第四方面，X_1、X_2、X_4和X_6如第一至第三方面中所定义，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6中的至少一个为$-C(=O)-$，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6中的至少两个为$-C(=O)-$，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6中的至少三个为$-C(=O)-$或Y_1、Y_2、Y_4和Y_6全部为$-C(=O)$。

[0341] 在该实施方案的第五方面，X_4和X_6为-O-，X_1和X_2为-NH-并且Y_1、Y_2、Y_4和Y_6全部为$-C(=O)-$。

[0342] 在该实施方案的第六方面，X_1、X_2、X_4和X_6如第一至第五方面中所定义，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6如第四和第五方面中所定义并且J为$-OP(=O)(OH)_2-$而B为-OH。

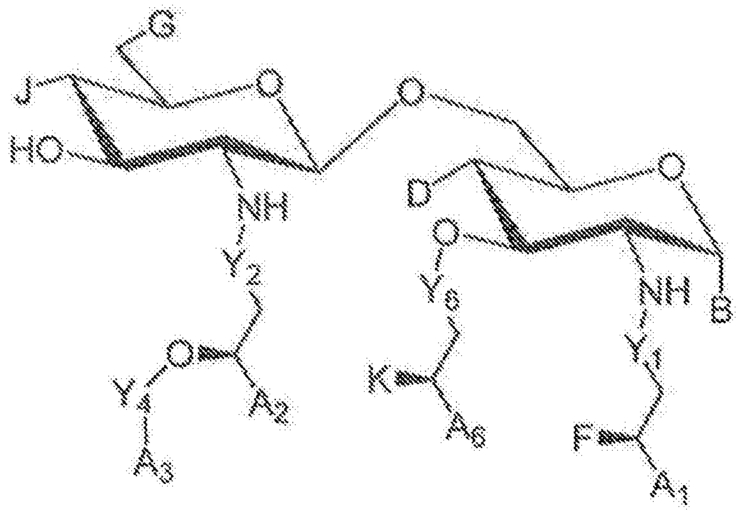
[0343] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，D、G、F和K各自为OH。

[0344] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_6各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0345] 在该实施方案的第一至第六方面中的任一方面，A_1、A_2和A_6各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3为C_{13}未经取代的烷基。

[0346] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XXII中所示的通用结构：

[0347]



XXII

[0348] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0349] Y_1、Y_2、Y_4和Y_6各自独立地选自$-CH_2-$或$-C(=O)-$；

[0350] D、G、F和K各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、$-OC(=O)(CH_2)_m-CH_3$、$OC(=O)(CH_2)_nC(=O)OH$或$-OC(=O)CH(NH_2)(CH_2)_nC(=O)OH$；

[0351] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、$-OP(=O)(OH)_2-$、$OP(=O)(O\ R_2)_2-$、$-OS(=O)(OH)_2-$、$-OS(=O)(OR_2)_2-$、$-OS(OH)_2-$、$-OS(OR_2)_2-$、$-C(=O)OH-$、$-C(=O)OR_2-$或酸性基团；

[0352] A_1、A_2和A_6各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0353] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0354] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0355] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0356] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0357] 在该实施方案的第一方面，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6中的至少一个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6中的至少两个为-C(=O)-，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6中的至少三个为-C(=O)-或Y_1、Y_2、Y_4和Y_6全部为-C(=O)。

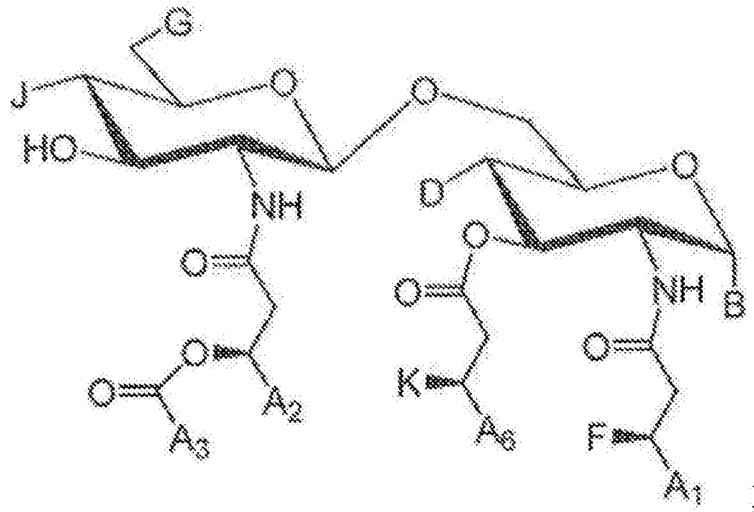
[0358] 在该实施方案的第二方面，Y_1、Y_2、Y_4和Y_6如第一方面中所定义并且J为-OP(=O)$(OH)_2$-而B为-OH。

[0359] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，D、G、F和K各自为OH。

[0360] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_6各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0361] 在该实施方案的第一至第二方面中的任一方面，A_1、A_2和A_6各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3为C_{13}未经取代的烷基。

[0362] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XXIII中所示的通用结构：

[0363] 

XXIII

[0364] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0365] D、G、F和K各自独立地选自C_1-C_4烷基、-OH、-SH、-OC(=O)$(CH_2)_m$-CH_3、OC(=O)$(CH_2)_n$C(=O)OH或-OC(=O)CH$(NH_2)$$(CH_2)_n$C(=O)OH；

[0366] J和B各自独立地选自OH、OR_1、H、-OP(=O)$(OH)_2$-、OP(=O)$(O\ R_2)_2$-、-OS(=O)$(OH)_2$-、-OS(=O)$(OR_2)_2$-、-OS$(OH)_2$-、-OS$(OR_2)_2$-、-C(=O)OH-、-C(=O)OR_2-或酸性基团；

[0367] A_1、A_2和A_6各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0368] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0369] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基；

[0370] R_2在每次出现时独立地为H、烷基、经取代的烷基或N-连接的氨基酸残基；并且

[0371] m和n各自独立地为0-5的整数。

[0372] 在该实施方案的第一方面，J为-OP(=O)$(OH)_2$-而B为-OH。

[0373] 在该实施方案的第二方面，D、G、F和K各自为OH。

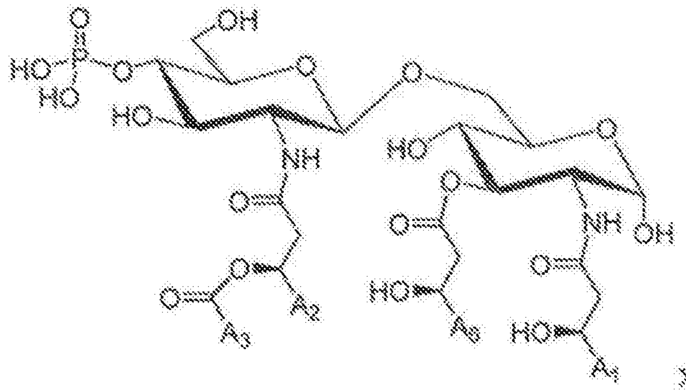
[0374] 在该实施方案的第三方面，J为-OP(=O)$(OH)_2$-，B为-OH并且D、G、F和K各自为OH。

[0375] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_6各自独立地为C_9-C_{13}未

经取代的烷基并且A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0376] 在该实施方案的第一至第三方面中的任一方面，A_1、A_2和A_6各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3为C_{13}未经取代的烷基。

[0377] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XXIV中所示的通用结构：

[0378] 

XXIV

[0379] 或其药学上可接受的盐或前药，其中：

[0380] A_1、A_2和A_6各自独立地选自C_6-C_{18}经取代或未经取代的烷基或烯基；

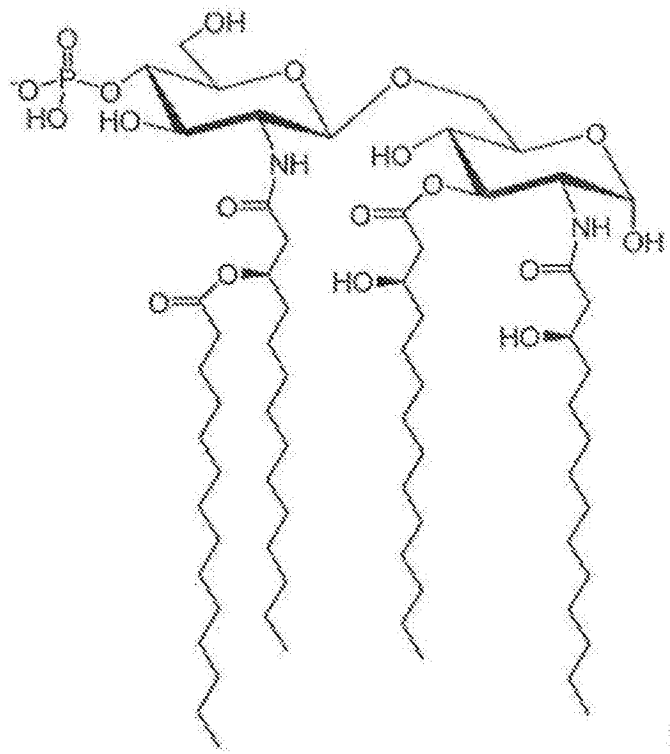
[0381] A_3选自C_7-C_{19}经取代或未经取代的烷基或烯基；

[0382] R_1为经取代或未经取代的C_1-C_4烷基。

[0383] 在该实施方案的第一方面，A_1、A_2和A_6各自独立地为C_9-C_{13}未经取代的烷基并且A_3为C_{11}-C_{15}未经取代的烷基。

[0384] 在该实施方案的第二方面，A_1、A_2和A_6各自为C_{11}未经取代的烷基并且A_3为C_{13}未经取代的烷基。

[0385] 在另一实施方案中，此类合成二糖脂质化合物具有式XXIV中所示的通用结构：

[0386] 

XXV

[0387] 或其药学上可接受的盐或前药。

[0388] 使用本公开的化合物的方法

[0389] 本公开显示二糖合成脂质化合物可制备成基本上纯的形式。因此，供给本公开基本上纯的合成二糖脂质化合物考虑到没有本领域中已知化合物的缺点，刺激受试者免疫反应的方法。

[0390] 在一个实施方案中，本公开提供了刺激或引起受试者免疫反应的方法。此类方法包括向受试者施用一定量的本公开的合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐的步骤。一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐单独施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与第二佐剂或附加佐剂一起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原一起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原和第二佐剂或附加佐剂一起施用。在一个实施方案中，此类施用增加了受试者的免疫反应。当包括抗原时，此类施用增加了受试者至少部分对递送的抗原有特异性的免疫反应。

[0391] 在一个实施方案中，本公开提供了增强受试者的免疫反应的方法。此类方法包括向受试者施用一定量的本公开的合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐的步骤。一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐单独施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与第二佐剂或附加佐剂一起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原一起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原和第二佐剂或附加佐剂一起施用。在一个实施方案中，此类施用增加了受试者的免疫反应。当包括抗原时，此类施用增加了受试者至少部分对递送的抗原有特异性的免疫反应。

[0392] 在一个实施方案中，本公开提供了刺激受试者的免疫球蛋白生成的方法。在一个实施方案中，所述免疫球蛋白为IgG。在另一实施方案中，所述免疫球蛋白为IgM。此类方法包括向受试者施用一定量的本公开的合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐的步骤。一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐单独施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与第二佐剂或附加佐剂一起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原一起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原和第二佐剂或附加佐剂一起施用。在一个实施方案中，此类施用刺激或增强了受试者的免疫反应。当包括抗原时，生成的免疫球蛋白可能对递送的抗原有特异性。

[0393] Toll样受体(TLR)，包括TLR4，为模式识别受体(PRR)。TLR在免疫反应的引发中起到众所周知的作用。在人类中已经鉴定了至少10个功能TLR。每种TLR检测源自病毒、细菌、分支杆菌、真菌和寄生虫的不同病原相关分子模式。通常通过以与LPS结合蛋白(LBP)的复合物与TLR4、CD14和相关蛋白(MD-2)的受体复合物结合的细胞壁组分脂多糖(LPS)感受革兰氏阴性细菌。然后TLR4介导的信号级联调节对生成多种促炎性细胞因子例如白细胞间素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)-α和IL-12的基因表达。另外，这些信号事件增强了单核细胞的协同刺激功能。

[0394] 在一个实施方案中，本公开提供了刺激TLR4和/或刺激TLR4反应的方法。刺激TLR4反应包括刺激TLR4信号。此类方法包括向受试者施用一定量的本公开的合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐的步骤。一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐单独施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与第二佐剂或附加佐剂一

起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原一起施用。另一方面，合成二糖脂质化合物或其药学上可接受的盐与抗原和第二佐剂或附加佐剂一起施用。在一个实施方案中，此类施用刺激或增强了受试者的免疫反应。当包括抗原时，此类施用刺激或增强了受试者至少部分对递送的抗原有特异性的免疫反应。

[0395] 在这些实施方案的一方面，本公开为单独使用本公开的合成二糖脂质化合物(即，未添加抗原或其它免疫反应调节剂)的单一疗法而提供。在这一方面，为了治疗和/或预防受试者的疾病或病状，合成二糖脂质化合物刺激受试者的非特异性免疫反应。

[0396] 在这些实施方案的一方面，本公开为使用本公开的合成二糖脂质化合物与第二佐剂(但未添加抗原)的疗法而提供。在这一方面，为了治疗和/或预防受试者的疾病或病状，合成二糖脂质化合物和第二佐剂刺激受试者的非特异性免疫反应。

[0397] 在这些实施方案的一方面，本公开为包含与抗原和任选第二佐剂及本文所述其它组分组合的本公开的合成二糖脂质化合物的药物组合物，例如疫苗而提供。在这一方面，为了治疗和/或预防受试者的疾病或病状，药物组合物刺激受试者的特异性免疫反应。

[0398] 在这些实施方案的一方面，合成二糖脂质化合物为通式(I)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(II)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(III)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(IV)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(V)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(VI)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(VII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(VII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(IX)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(X)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XI)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XIV)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XV)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XVI)的化合物。若需要在叙述的方法中可使用一种以上的合成二糖脂质化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XVII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XVIII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XIX)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XX)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XXI)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XXII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XXIII)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XXIV)的化合物。在这些实施方案的另一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XXV)的化合物。

[0399] 在这些实施方案的一方面，合成二糖脂质化合物为通式(V)、(X)、(XV)、(XX)或(XXV)的化合物。在这些实施方案的一方面，合成二糖脂质化合物为通式(V)的化合物。在这些实施方案的一方面，合成二糖脂质化合物为通式(X)的化合物。在这些实施方案的一方面，合成二糖脂质化合物为通式(XV)的化合物。在这些实施方案的一方面，合成二糖脂质化

合物为通式(XX)的化合物。在这些实施方案的一方面,合成二糖脂质化合物为通式(XXV)的化合物。

[0400] 在这些实施方案的一方面,第二佐剂为具有免疫刺激作用,非本公开的合成二糖脂质化合物的任何化合物。如本文所使用,术语免疫刺激和类似术语意指化合物或组合物提供了以通用方式或响应于抗原增强受试者的免疫反应的试剂。

[0401] 在这些实施方案的一方面,第二佐剂为单磷酰脂质A(也称为单磷酸化六酰基二糖和PHAD™)(Avanti Polar Lipids,Alabaster AL;产品编号699800)。在这些实施方案的另一方面,第二佐剂为TLR激动剂。

[0402] 在这些实施方案的一方面,本公开的合成二糖脂质化合物可单独或作为如本文所述的药物组合物的一部分施用。可施用通式(I)-(XXV)的单种化合物;可施用通式(I)-(XXV)的多种化合物。

[0403] 在这些实施方案的一方面,确定受试者需要此类治疗。在这些实施方案的另一方面,按治疗有效量施用合成二糖脂质化合物。此外,在上述方法的一方面,合成二糖脂质化合物为通式V、X或XV的化合物。在上述方法的一方面,合成二糖脂质化合物为通式V的化合物。在上述方法的一方面,合成二糖脂质化合物为通式X的化合物。在上述方法的一方面,合成二糖脂质化合物为通式XV的化合物。

[0404] 在本文公开的方法中,受试者可为哺乳动物。在某些实施方案中,受试者为人。

[0405] 可按多个剂量范围施用所述化合物和药物组合物。在前述实施方案的一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约0.0001μg/kg至约5mg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约0.01μg/kg至约2mg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约0.1μg/kg至约1mg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约0.1μg/kg至约0.1mg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约1ug/kg至约50μg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约1μg/kg至约25μg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约1ug/kg至约15ug/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约0.001μg/kg至约15μg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约0.01μg/kg至约15μg/kg。在前述实施方案的另一方面,合成二糖脂质化合物的剂量从约0.1μg/kg至约15μg/kg。

[0406] 在本文所述的方法中,治疗的受试者可进一步用一种或多种附加活性剂治疗。这些附加活性剂可与本公开的合成二糖脂质化合物一起或分开递送。对于本领域的技术人员显而易见的是,施用的次数和频率将取决于受试者的反应。

[0407] 抗原

[0408] 用于本文所述的某些实施方案中的抗原可为产生免疫反应的任何分子或分子复合物。在一个实施方案中,分子或分子复合物产生微弱或不完全的免疫反应。在一个实施方案中,抗原为免疫反应需要的靶表位、分子(包括生物分子例如多肽或核酸)、分子复合物(包括含有生物分子的分子复合物)、亚细胞部分、需要对其引起免疫反应的细胞或组织(或任一种的一部分)。当多肽为抗原时,多肽可天然存在或重组。在一个实施方案中,本发明的疫苗制剂含有能够引起对人或哺乳动物病原体的免疫反应的抗原或抗原性组合物;在这样的实施方案中,抗原可源自此类病原体或可为与此类病原体交叉反应的抗原。

[0409] 药物组合物

[0410] 本公开提供了各种药物组合物。在一个实施方案中，本公开的药物组合物包含、由或基本上由本公开的至少一种合成二糖脂质化合物和药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂组成。本公开的药物组合物可进一步包含附加试剂，例如但不限于第二佐剂和抗原。

[0411] 在一个实施方案中，本公开的药物组合物包含、由或基本上由本公开的至少一种合成二糖脂质化合物和药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂组成。

[0412] 在一个实施方案中，本公开的药物组合物包含、由或基本上由本公开的至少一种合成二糖脂质化合物和药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂和抗原组成。

[0413] 在另一实施方案中，本公开的药物组合物包含、由或基本上由本公开的至少一种合成二糖脂质化合物和药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂和第二佐剂组成。

[0414] 再一实施方案中，本公开的药物组合物包含、由或基本上由本公开的至少一种合成二糖脂质化合物、药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂、抗原和第二佐剂组成。

[0415] 在前述实施方案的一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(I)的化合物。在前述实施方案的另一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(II)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(III)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(IV)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(V)的化合物。在前述实施方案的一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(VI)的化合物。在前述实施方案的另一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(VII)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(VIII)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(IX)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(X)的化合物。在前述实施方案的一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XI)的化合物。在前述实施方案的另一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XII)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XIII)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XIV)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XV)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XVI)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XVII)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XVIII)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XIX)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XX)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XXI)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XXII)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XXIII)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合

物为通用结构(XXIV)的化合物。在前述实施方案的再一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XXV)的化合物。

[0416] 在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(V)、(X)、(XV)、(XX)或(XXV)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(V)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(X)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XV)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XX)的化合物。在前述实施方案的又一方面，本公开的所述至少一种合成二糖脂质化合物为通用结构(XXV)的化合物。

[0417] 在前述实施方案的一方面，药物组合物为疫苗组合物。此类疫苗组合物可能仅含本公开的合成二糖脂质化合物和药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂。正因如此，将由合成二糖脂质化合物提供免疫刺激作用。此外，如上所述，此类疫苗组合物可能仅含本公开的合成二糖脂质化合物、药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂和抗原。正因如此，将由合成二糖脂质化合物和/或抗原提供免疫刺激作用。此外，如上所述，此类疫苗组合物可能仅含本公开的合成二糖脂质化合物、药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂、抗原和第二佐剂。因如此，将由合成二糖脂质化合物、抗原和/或第二佐剂提供免疫刺激作用。

[0418] 在前述实施方案的一方面，第二佐剂为本领域已知的任何佐剂。第二佐剂为施用给受试者时展示出佐剂活性(即，如Powell和Newman，"Vaccine design-The Subunit and Adjuvant Approach",1995,Plenum Press,New York所述，改变、提高或降低免疫反应的效力和/或有效期)的化合物。第二佐剂包括但不限于皂苷和皂苷模拟物(例如但不限于QS21、QS17、QS7和模拟物)、明矾、植物生物碱(例如但不限于番茄碱糖苷)、洗涤剂(例如但不限于皂苷、七叶树皂角素、洋地黄皂苷聚山梨醇酯80、Span 85和硬脂酰酪氨酸)、嵌段共聚物或生物可降解聚合物(例如但不限于普朗尼克(Pluronic)、L121、CRL1005、(乳酸-乙醇酸)共聚物、聚(乳酸)、(D,L-丙交酯-乙交酯)共聚物和聚肌苷酸:聚胞苷酸)、一种或多种细胞因子(例如但不限于GM-CSF、IL-2、IL-7、IL-12、TNF-α、IFN-γ)和咪唑喹啉免疫反应调节剂(例如但不限于雷西莫特(resiquimod)(R848)、咪喹莫特(imiquimod)和噶德莫特(gardiquimod))。可使用一种以上的第二佐剂。

[0419] 在前述实施方案的一方面，药物组合物的附加组分没有诱导免疫反应的化合物(除合成二糖脂质化合物、抗原和第二佐剂外)。

[0420] 公开的药物组合物可包含单独或与附加活性剂组合，与药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂组合的本公开的一种或多种化合物。此类载体、赋形剂或稀释剂和配制方法的实例可在Remington:The Science and Practice of Pharmacy(20～"版,Lippincott,Williams和Wilkins,Daniel Limmer编辑)中找到。此类药物组合物可用于生产用于本文所述治疗和预防方法中的药剂。本公开的化合物呈游离形式和药学上可接受的盐形式均有用。

[0421] 本文所述的药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂为本领域的技术人员众所周知。载体、赋形剂或稀释剂的选择将部分由特定化合物以及用于施用组合物的特定方法决定。相应地，有各种适合剂型的本发明药物组合物。下列方法和描述仅为示例性而决非限制

性。适合的载体、赋形剂或稀释剂包括溶剂(例如水、醇和丙二醇)、固体吸收剂和稀释剂、表面活性剂、悬浮剂、压片粘合剂、润滑剂、调味剂和着色剂。药学上可接受的载体可包括聚合物和聚合物基体。通常,前述对组合物中的活性剂具有化学惰性并且在使用条件下没有有害副作用或毒性。可通过可用的任何常规方法,连同作为单独治疗剂或与另外的治疗剂组合的药品一起施用本公开的化合物和如本公开中描述的含有此类化合物的药物组合物。

[0422] 在一个实施方案中,按治疗有效量,单独或作为药物组合物的一部分施用本公开的化合物。当然,治疗有效量和施用的剂量将根据已知因素改变,例如特定试剂的药效特征及其施用模式和途径、受者的年龄、健康和体重;疾病状态或病状的严重程度和阶段;同步治疗的种类;治疗的频率;和预期效果。

[0423] 施用的化合物的总量也将由施用途径、时间和频率以及可能伴随化合物施用的任何不良副作用的存在、性质和程度和预期生理效应决定。本领域的技术人员将认识到,各种病状或疾病状态,尤其是慢性病状或疾病状态,可能需要牵涉多次施用的长期治疗。

[0424] 药物组合物可呈允许将所述组合物施用给患者的任何形式。例如,所述组合物可呈固体、液体或气体(气溶胶)形式。典型施用途径包括但不限于口服、局部、肠胃外、舌下和鼻内(例如,作为喷雾)。如本文所使用的术语肠胃外包括离子电渗入疗法、被动经皮注射并且还包括皮下注射、静脉内、肌肉、胸骨内、海绵体内、鞘内、耳道内注射或输注技术。将药物组合物配制成允许其中所含的本公开的化合物在施用后生物可降解。

[0425] 在一个实施方案中,药物组合物为小于0.1μm、0.2μm或0.3μm的稳定悬浮液(例如但不限于水悬浮液)并且进一步包含选自磷脂、脂肪酸、表面活性剂、洗涤剂、皂苷、氟化脂质等的至少一种组分。适合肠胃外施用的制剂包括水和非水、等张无菌注射液,其可含有抗氧化剂、缓冲液、抑菌剂和使制剂与患者血液等张的溶质;及水和非水无菌悬浮液,其可包括悬浮剂、助溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。所述化合物可在药学上可接受的载体中的生理上可接受的稀释剂中施用,例如无菌液体或液体混合物,包括水、盐水、含水葡萄糖和相关糖溶液、醇例如乙醇、异丙醇或鲸蜡醇、二醇(例如丙二醇或聚乙二醇(例如聚(乙二醇)400))、丙三醇缩酮(例如2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-甲醇)、醚、油、脂肪酸、脂肪酸酯或甘油酯或乙酰化脂肪酸甘油酯,添加或未添加药学上可接受的表面活性剂,例如肥皂或洗涤剂、悬浮剂(例如果胶、卡波姆(carbomer)、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羧甲基纤维素)或乳化剂和其它药物佐剂。

[0426] 可用于肠胃外制剂中的油包括石油、动物、植物或合成油。油的特定实例包括花生、大豆、芝麻、棉籽、玉米、橄榄、凡士林和矿物。用于肠胃外制剂中的适合脂肪酸包括油酸、硬脂酸和异硬脂酸。油酸乙酯和肉豆蔻酸异丙酯为适合脂肪酸酯的实例。用于肠胃外制剂中的适合肥皂包括脂肪碱金属、铵和三乙醇胺盐,并且适合的洗涤剂包括(a)阳离子洗涤剂,例如二甲基二烷基卤化铵和烷基卤化吡啶,(b)阴离子洗涤剂,例如烷基、芳基和烯烃磺酸盐、烷基、烯烃、醚和硫酸单甘油酯盐和磺基琥珀酸酯,(c)非离子洗涤剂,例如脂肪胺氧化物、脂肪酸烷醇酰胺和聚氧乙烯聚丙烯共聚物,(d)两性离子洗涤剂,例如烷基.β.-氨基丙酸酯和2-烷基咪唑啉季铵盐及(e)其混合物。

[0427] 肠胃外制剂通常在溶液中含有约0.5重量%至约50重量%的化合物。在此类制剂中可使用适合的防腐剂和缓冲剂。

[0428] 为了最小化或消除在注射部位的刺激,此类组合物可能含有亲水亲油平衡值

(HLB)为约12至约17的一种或多种非离子表面活性剂。此类制剂中表面活性剂的量范围从约5重量%至约15重量%。适合的表面活性剂包括聚乙烯山梨糖醇脂肪酸酯,例如山梨糖醇单油酸酯和环氧乙烷与通过环氧丙烷与丙二醇缩合形成的疏水性碱的高分子量加成物。

[0429] 在一个实施方案中,以可以雾化以经由鼻或肺吸入递送的方式配制药物组合物。可将这些气溶胶制剂放入加压可接受的推进剂中,例如二氯二氟甲烷、丙烷和氮气。此类气溶胶制剂可通过定量吸入器施用。它们也可配制成用于非加压制剂的药品,例如在喷雾器或雾化器中。

[0430] 本公开的化合物,单独或与其它适合组分组合,可于水溶液中呈鼻或肺喷雾施用并且可呈喷雾形式通过本领域技术人员已知的多种方法分配。在美国专利第4,511,069号中公开了分配呈鼻喷雾的液体的系统。可在多剂量容器,例如在美国专利第4,511,069号中公开的密封分配系统中提供所述制剂。另外的气溶胶递送形式可包括(例如)压缩空气、喷射、超声和压电喷雾器,其递送溶解或悬浮于药物溶剂,例如水、乙醇或其混合物中的活性剂。本发明的鼻或肺部溶液通常包含待递送,任选配有表面活性剂(例如非离子表面活性剂(例如,聚山梨醇酯-80))和一种或多种缓冲液的药物。在本发明的一些实施方案中,鼻喷雾溶液进一步包含推进剂。鼻喷雾溶液的pH任选地介于约pH 3.0和6.0之间,优选为4.5±0.5。用于这些组合物中的适合缓冲液如上所述或如本领域中另外已知。可添加其它组分以增强或维持化学稳定性,包括防腐剂、表面活性剂、分散剂或气体。适合的防腐剂包括但不限于苯酚、尼泊金甲酯、尼泊金(paraben)、间甲酚、硫柳汞、氯丁醇、苯扎氯铵等。适合的表面活性剂包括但不限于油酸、山梨糖醇三油酸酯、聚山梨醇酯、卵磷脂、磷脂酰胆碱和各种长链甘油二酯和磷脂。适合的分散剂包括但不限于乙二胺四乙酸等。适合的气体包括但不限于氮气、氦气、含氯氟烃(CFC)、含氢氟烃(HFC)、二氧化碳、空气等。

[0431] 在替代实施方案中,鼻和肺制剂可作为包含用于鼻内递送的适当粒度或在适当粒度范围内的干燥(通常冻干)形式的活性剂的干粉制剂施用。

[0432] 适于在鼻或肺部通道内沉积的最小粒度常常为约0.5μm质量中值当量气动直径(MMEAD),一般为约1μm MMEAD,并且更通常为约2μm MMEAD。适于在鼻部通道内沉积的最大粒度常常为约10μm MMEAD,一般为约8μm MMEAD,并且更通常为约4μm MMEAD。可通过多种常规技术,例如喷射研磨、喷雾干燥、溶剂沉淀、超临界流体冷凝等生产在这些尺寸范围内的鼻内和肺部可呼吸粉末。可经由依靠患者的呼吸,在肺或鼻部吸入后,将粉末分散至雾化量的常规干粉吸入器(DPI)将这些适当MMEAD的干粉施用给患者。可选地,可经由使用外部电源将粉末分散至雾化量的空气辅助装置,例如活塞泵施用干粉。

[0433] 为配制供鼻或肺部递送的组合物,可将活性剂与各种药学上可接受的添加剂以及用于分散活性剂的碱或载体组合。所需添加剂包括但不限于pH控制剂,例如精氨酸、氢氧化钠、甘氨酸、盐酸、柠檬酸等。另外,也可包括局部麻醉剂(例如,苯甲醇)、等张剂(例如,氯化钠、甘露糖醇、山梨糖醇)、吸附抑制剂(例如,吐温80(Tween 80))、溶解性增强剂(例如,环糊精及其衍生物)、稳定剂(例如,血清白蛋白)和还原剂(例如,谷胱甘肽)。当供鼻或肺部递送的组合物为液体时,正如根据统一服用的0.9%(w/v)生理盐溶液的张力所测量,通常将所述制剂的张力调节到在施用部位的鼻粘膜内不会引起实质性、不可逆的组织损伤的值。通常,将溶液的张力调节到约1/3至3,更通常1/2至2,并且最常为3/4至1.7的值。

[0434] 在一个实施方案中,本公开的药物组合物为乳液。单相或多相乳液体系在本领域

中已知并且可使用。可使用水包油乳液佐剂和油包水乳液。在一个实施方案中，本公开的药物组合物为水包油乳液，其中合成二糖脂质化合物并入油相中。所述油可为对受试者无毒并且能够通过代谢转化的任何植物油、鱼油、动物油或合成油。坚果(例如花生油)、种子和谷物是常见的植物油来源。鲨烯是在鲨鱼肝油中大量存在而在橄榄油、小麦胚芽油、米糠油和酵母中少量存在的不饱和油。在一个实施方案中，水包油乳液为水包鲨稀乳液。此类乳液可含有附加组分(例如第二佐剂)和其它化合物(例如抗氧化剂和稳定乳液的其它脂质化合物)。稳定的水包油乳液中存在的油滴的尺寸优选小于1μm，例如在25-500nm范围内。生产水包油乳液的方法众所周知。

[0435] 本公开的化合物和组合物可于单位剂量或多剂量密封容器，例如安瓿和小瓶中提供，仅需在使用之前直接添加无菌液体赋形剂，例如注射用水。若需要，可将某些组合物呈冷冻干燥(冻干)状态储存。可由无菌粉末、颗粒和片剂制备临时注射溶液和悬浮液。对用于可注射组合物的有效的药学上可接受的载体的要求为本领域的普通技术人员众所周知。见Pharmaceutical and Pharmacy Practice，J.B.Lippincott Co.，Philadelphia，Pa.，Banker和Chalmers编辑，238-250(1982)和ASHP Handbook on Injectable Drugs，Toissel，第4版，622-630(1986)。

[0436] 在一个实施方案中，所述药物组合物呈脂质体或其它缓释机制形式。在美国专利第5,888519号中(其据此通过引用并入用于此类教学)描述了适合的缓释机制并且包括各种类型的聚合物、微胶囊和微球。

[0437] Bangham(Bangham等，1965)描述了制备脂质体制剂的优选方法。这种制剂包括将磷脂溶于有机溶剂中，然后将其蒸发至干，在试管内部留下脂质薄膜。然后于适量水相中水合干燥脂质膜并且将混合物加热至高于脂质的相变温度并使其“膨胀”。通过振荡试管分散所得到的由多层囊泡(MLV)组成的脂质体。组织构成囊状双层膜的脂质，以致疏水烃“尾部”朝向双层的中心而亲水“头部”分别朝向内部和外部水相。这种制剂为通过诸如超声处理(Papahadjopoulos等，1967)或美国专利第5,008,050号中Cullis等描述的挤出等方法(前述各自据此通过引用并入用于此类教学)生产单层囊泡(UV)提供了基础。

[0438] 通常认为脂质体由能够封闭内部含水空间的脂质膜组成并且所述膜可能由多种类型的脂质组成。为了清楚起见，不得将术语脂质体解释为需要闭合膜的存在，而应将术语理解为需要脂质自身缔合，以致其形成微粒结构。在已经单独或与其它脂质组合用于构建脂质体的脂质中包括磷脂、糖脂、糖磷脂、甘油二酯、甘油三酯、固醇、类固醇、萜类、游离脂肪酸和类脂维生素。

[0439] 物质从脂质体的释放最常通过扩散发生，但是许多其它释放机制也可能适用。此外，脂质体可能仅作为载体，而不作为药物释放贮库。结果是化合物从脂质体缓慢释放。在Langer，R.，New methods of drug delivery.Science 249:1527-1533(1990)中更加详细地描述了这些机制。在一个特定实施方案中，用于本公开的药物制剂中的脂质体包含二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油酯(DMPG)和胆固醇(Chol)。在一个特定实施方案中，DMPC/DMPG/Chol按9/1/7的摩尔比存在。在另一特定实施方案中，DMPC/DMPG/Chol按1.8/0.2/1.5的摩尔比存在。如本领域中所知(见例如，PCT公布第WO2007/068411和WO2005/081872号，其据此通过引用并入本文用于此类教学)和本文所述，本公开的化合物可并入此类脂质体中。

[0440] 实施例

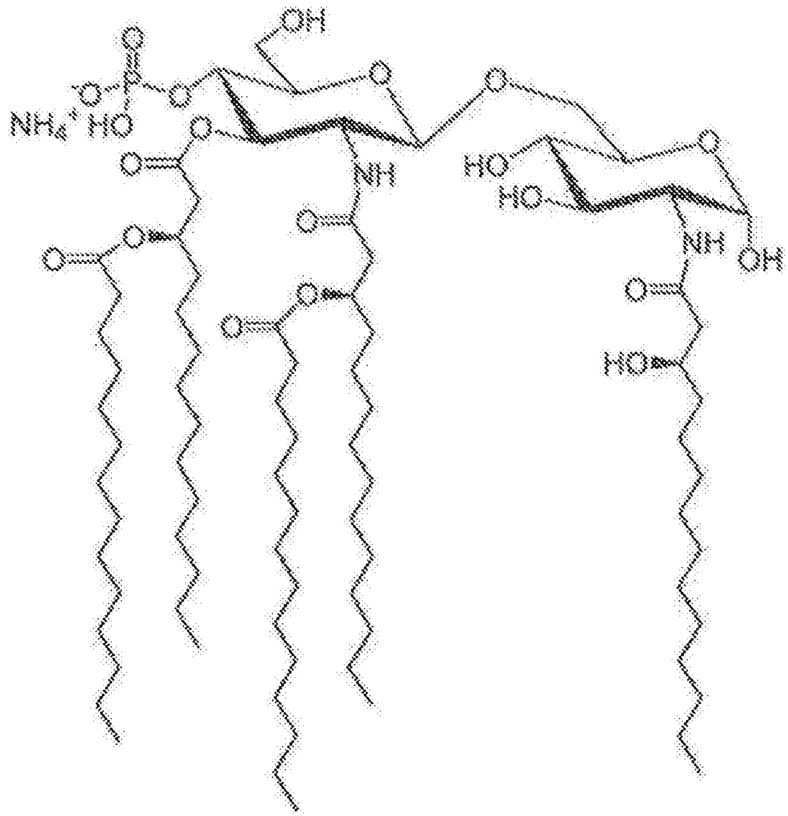
[0441] 实施例1—合成二糖脂质化合物的纯度

[0442] 合成并表征本公开的合成二糖脂质化合物。合成的化合物包括通用结构式V(有时称为MPLA-B)、X(有时称为MPLA-D)和XV(有时称为MPLA-C)的化合物。

[0443] MPLA-B的纯度

[0444] MPLA-B具有以下所示结构(以及通用结构式V)。这种化合物的分子量为1537.11($C_{82}H_{158}N_3O_{20}P$)。

[0445]



[0446] 在这种化合物中，在2、2'和3'位置存在酰基链，在2'和3'位置存在2条酰基链。每条酰基链的链长度为14个碳并且每条酰基链均饱和。

[0447] 通过TLC、磷NMR、质子NMR和质谱法分析所述化合物。在下面表1A中示出了结果。正如所见，经测定化合物纯度超过99%并且具有与以上所示结构一致的结构。

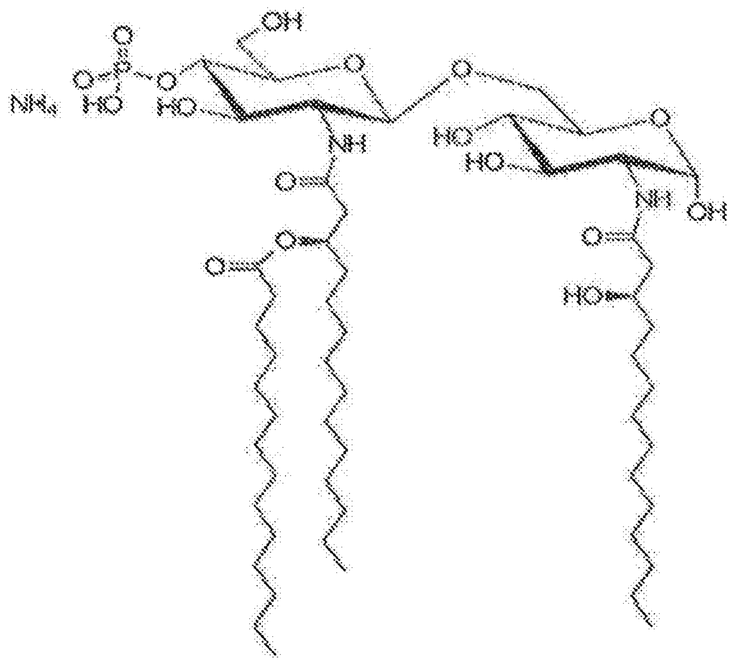
[0448]

表1A		
试验	限度	结果
TLC	>99%纯度	>99%纯度
茚三酮	负	负
磷	正	正
碘	一个点	一个点
木炭	正	正
磷NMR	与结构一致，1个含磷峰值	忽略
质子NMR	与结构一致	忽略
质谱法	$[M-NH4]^-=1518.11\pm1$ amu	$[M-NH4]^-=1518.40$ amu

[0449] MPLA-D的纯度

[0450] MPLA-D具有以下所示结构(以及通用结构式X)。这种化合物的分子量为1100.40 ($C_{54}H_{106}N_3O_{17}P$)。

[0451]



[0452] 在这种化合物中，在2和2'位置存在酰基链，在2'处存在2条酰基链并且在2位置处存在一条酰基链。每条酰基链的链长度为14个碳并且每条酰基链均饱和。

[0453] 通过TLC、磷NMR、质子NMR和质谱法分析所述化合物。在下面表1B中示出了结果。正如所见，经测定化合物纯度超过99%并且具有与以上所示结构一致的结构。

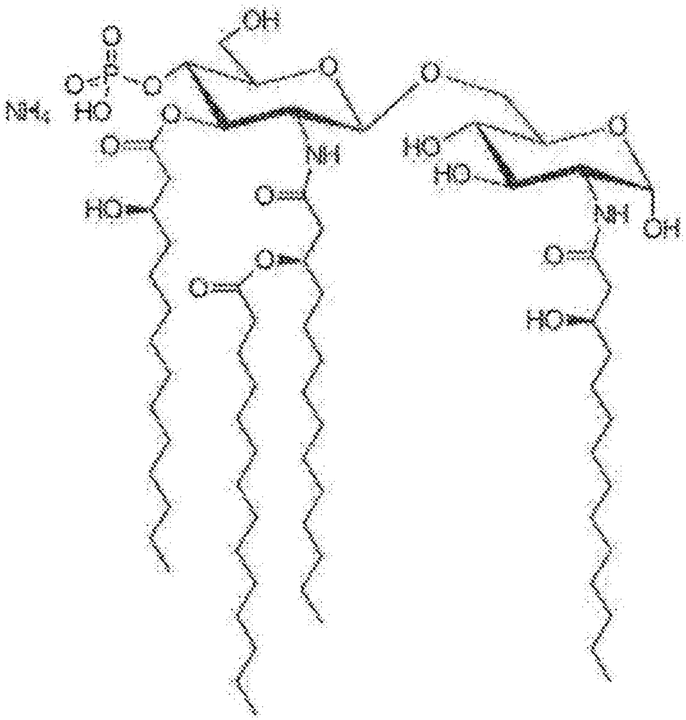
[0454]

表1B		
试验	限度	结果
TLC	>99%纯度	>99%纯度
茚三酮	负	负
磷	正	正
碘	一个点	一个点
木炭	正	正
质子NMR	与结构一致	忽略
质谱法	$[M\text{-}NH4]^-$=1082.4±1amu	$[M\text{-}NH4]^-$=1082.4amu

[0455] MPLA-C的纯度

[0456] MPLA-C具有以下所示结构(以及通用结构式XV)。这种化合物的分子量为1326.76 ($C_{68}H_{132}N_3O_{19}P$)。

[0457]



[0458] 在这种化合物中,在2、2’和3’位置存在酰基链,在2’处存在2条酰基链并且在3’和2位置存在一条酰基链。每条酰基链的链长度为14个碳并且每条酰基链均饱和。

[0459] 通过TLC、磷NMR、质子NMR和质谱法分析所述化合物。在下面表1C中示出了结果。正如所见,经测定化合物纯度超过99%并且具有与以上所示结构一致的结构。

[0460]

表1C		
试验	限度	结果
TLC	>99%纯度	>99%纯度
茚三酮	负	负
磷	正	正
碘	一个点	一个点
木炭	正	正
质子NMR	与结构一致	忽略
质谱法	$[M-NH4]^{-}$=1308.76±1amu	$[M-NH4]^{-}$=1305.5 amu

[0461] 实施例2—合成二糖脂质化合物刺激人和小鼠TLR-4受体

[0462] 在该实施例中，测试了本公开的合成二糖脂质化合物激活人和小鼠Toll样受体4(TLR-4)的能力。TLR-4检测在大多数革兰氏阴性菌中存在的脂多糖(LPS)并且因此在先天免疫系统的激活中很重要。TLR-4也称为CD284。TLR-4通过与另外两种细胞表面蛋白LY96(或MD2)和CD14缔合对LPS的存在发信号，并且当TLR-4:LY96:CD14复合物结合LPS时，激活了细胞内NFκB信号途径。已经将TLR4基因的突变与LPS反应性的差异相联系。结果显示本公开的合成二糖脂质化合物对刺激人和小鼠TLR-4受体有效。

[0463] 在下面的实验中利用了经工程化以功能性过表达人或鼠TLR-4受体的HEK-293细胞系。这些细胞还含有受NFκB诱导型启动子控制的报告基因(分泌型碱性磷酸酶)。TLR-4激活结果作为刺激指定HEK-293细胞系18h后的光密度(OD)值给出。

[0464] 对重组HEK-293细胞系试验样品和对照，一式两份。用于测定的阴性对照为仅用报告基因转染的亲本HEK-293细胞系。用TNF-α，一种NFκB活性诱导剂，刺激阴性对照细胞。用于测定的阳性对照为用人TLR-4(hTLR-4)或小鼠TLR-4(mTLR-4)，连同报告构建体一起转染的HEK-293细胞系并且用100ng/ml-0.01ng/ml的LPS 0111(从大肠杆菌(E.coli)0111:B4菌株获得)或用100ng/ml-0.01ng/ml的LPS K12(从大肠杆菌K12菌株获得)激活。

[0465] 用于该测定的合成二糖脂质化合物是结构V的化合物(本文称为MPLA-B)。作为比较，还使用称为PHAD™(Avanti Polar Lipids,Alabaster,AL)的六酰基二糖脂质化合物呈现了结果。已经证实PHAD™具有免疫刺激性质。当单独试验时按10μg/ml(对于PHAD™而言对应5.7μM而对于MPLA-B而言对应6.5μM)至0.01μg/ml的浓度，或当组合试验时各按5μg/ml至0.005μg/ml的浓度使用试验化合物。

[0466] 表2-10中呈现了结果。表2和3示出了hTLR-4的阴性对照结果，表明单独或组合的试验化合物都不刺激鼠亲本细胞系(mTLR)。

[0467] 表2

[0468]

	100 ng/ml	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml
TNF-α	0.477	0.470	0.047	0.005	0.009	0.004
	10 μg/ml	1 μg/ml	0.3 μg/ml	0.1 μg/ml	0.03 μg/ml	0.01 μg/ml
MPLA-B	-0.015	0.005	0.019	0.011	0.003	0.031
PHAD™	-0.009	-0.026	0.015	-0.013	-0.003	0.003

[0469] 表3

[0470]

	100 ng/ml	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml
TNF-α	0.477	0.470	0.047	0.005	0.009	0.004
	5 μg/ml	0.5 μg/ml	0.15 μg/ml	0.05 μg/ml	0.015 μg/ml	0.005 μg/ml
MPLA-B + PHAD™	0.002	-0.003	0.011	0.001	0.002	0.021

[0471] 表4和5显示单独和组合的试验化合物均刺激hTLR-4受体。

[0472] 表4

[0473]

	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml	0.1 ng/ml
LPS 0111	1.387	1.262	1.135	0.899	0.577	0.275
	10 μg/ml	1 μg/ml	0.3 μg/ml	0.1 μg/ml	0.03 μg/ml	0.01 μg/ml
MPLA-B	1.169	0.835	0.697	0.510	0.102	-0.017
PHAD™	1.539	1.347	1.187	1.191	0.071	0.033

[0474] 表5

[0475]

	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml	0.1 ng/ml
TNF-α	1.387	1.262	1.135	0.899	0.577	0.275
	5 μg/ml	0.5 μg/ml	0.15 μg/ml	0.05 μg/ml	0.015 μg/ml	0.005 μg/ml
MPLA-B + PHAD™	1.487	1.332	1.234	0.866	-0.002	0.014

[0476] 表6和7示出了mTLR-4细胞的阴性对照结果，表明单独或组合的试验化合物都不刺激鼠亲本细胞系(mTLR)。

[0477] 表6

[0478]

	100 ng/ml	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml
TNF-α	3.935	3.586	1.233	0.033	0.017	0.035
	10 μg/ml	1 μg/ml	0.3 μg/ml	0.1 μg/ml	0.03 μg/ml	0.01 μg/ml
MPLA-B	-0.004	-0.016	0.007	-0.009	0.000	0.165
PHAD™	-0.021	-0.010	0.001	-0.019	0.010	0.024

[0479]　表7

[0480]

	100 ng/ml	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml
LPS 0111	3.935	3.586	1.233	0.033	0.017	0.035
	5 μg/ml	0.5 μg/ml	0.15 μg/ml	0.05 μg/ml	0.015 μg/ml	0.005 μg/ml
MPLA-B + PHAD™	-0.012	0.003	0.003	-0.023	-0.001	0.016

[0481]　表8和9显示单独和组合的试验化合物均刺激mTLR-4受体。

[0482]　表8

[0483]

	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml	0.1 ng/ml
LPS 0111	3.470	3.473	3.382	3.106	2.578	1.795
	10 μg/ml	1 μg/ml	0.3 μg/ml	0.1 μg/ml	0.03 μg/ml	0.01 μg/ml
MPLA-B	3.179	2.667	2.450	2.267	1.552	0.065
PHAD™	3.490	3.308	3.164	3.171	0.869	0.373

[0484]　表9

[0485]

	30 ng/ml	10 ng/ml	3 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml	0.1 ng/ml
LPS 0111	1.387	1.262	1.135	0.899	0.577	0.275
	5 μg/ml	0.5 μg/ml	0.15 μg/ml	0.05 μg/ml	0.015 μg/ml	0.005 μg/ml
MPLA-B + PHAD™	3.416	3.129	2.993	2.627	0.449	0.155

[0486]　在该测定中用于独立实验的另一种合成二糖脂质化合物为结构X的化合物(本文称为MPLA-D)。作为比较，还使用称为PHAD™(Avanti Polar Lipids,Alabaster,AL)的六酰基二糖脂质化合物呈现了结果。已经证实PHAD™具有免疫刺激性质。试验化合物按下列浓度使用：5.7μM/570nM/171nM/57nM/17nM/5.7nM/孔，以刺激表达mTLR4的细胞系，一式两份。

[0487]　表10中呈现了结果。表10显示MPLA-D激活表达mTLR4的细胞系至570nM。

[0488]　表10

[0489]

	10ng/ml	3ng/ml	1ng/ml	0.3	0.1	0.03	0.01
				ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
LPS K12	3.108	2.709	1.878	0.984	0.485	0.101	-0.065
	5.7μM	570nM	171nM	57nM	17nM	5.7nM	
MPLA-D	2.541	0.880	0.251	0.073	-0.004	0.003	
PHAD™	3.884	3.917	3.756	3.703	3.640	3.368	

[0490] 表11示出了阴性对照结果,表明两种试验化合物(PHADTM和MPLA-D)均不刺激鼠亲本细胞系(mTLR)。

[0491] 表11

[0492]

	100ng/ml	30ng/ml	10ng/ml	3ng/ml	1ng/ml	0.3ng/ml
TNF-α	3.628	3.502	0.553	0.027	0.003	0.025
	5.7μM	570nM	171nM	57nM	17nM	5.7nM
PHAD™	-0.033	0.001	-0.024	-0.029	-0.031	-0.019
MPLA-D	-0.034	-0.028	-0.044	-0.019	-0.020	-0.034

[0493] 在该测定中用于独立实验的另一种合成二糖脂质化合物为结构XV的化合物(本文称为MPLA-C)。作为比较,还使用称为PHAD™(Avanti Polar Lipids,Alabaster,AL)的六酰基二糖脂质化合物呈现了结果。已经证实PHADTM具有免疫刺激性质。试验化合物按下列浓度使用:5.7μM/570nM/171nM/57nM/17nM/5.7nM/孔,以刺激表达hTLR4和mTLR4的细胞系,一式两份。

[0494] 表12-15中呈现了结果。表12显示MPLA-C激活表达hTLR4的细胞系。

[0495] 表12

[0496]

	10 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml	0.1 ng/ml	0.03 ng/ml	0.01 ng/ml
LPS 0111	1.841	1.418	0.948	0.624	0.172	0.032
LPS K12	1.806	1.749	1.598	1.182	0.532	0.290
	5.7 μM	570 nM	171 nM	57 nM	17 nM	5.7 nM
PHAD™	1.982	1.716	1.674	1.588	0.630	0.348
MPLA-C	0.944	0.700	0.529	0.370	0.164	0.045

[0497] 表13示出了阴性对照结果,表明两种试验化合物(PHAD™和MPLA-C)均不刺激人亲本细胞系(hTLR)。

[0498] 表13

[0499]

	100ng/ml	30ng/ml	10ng/ml	3ng/ml	1ng/ml	0.3ng/ml
TNF-α	1.272	1.268	0.257	0.034	0.029	0.052
	5.7μM	570nM	171nM	57nM	17nM	5.7nM
PHAD™	-0.012	-0.032	-0.010	0.011	-0.011	-0.004

MPLA-C	-0.010	-0.007	-0.013	0.030	-0.006	0.041

[0500] 表14显示MPLA-C激活表达mTLR4的细胞系。

[0501] 表14

[0502]

	10 ng/ml	1 ng/ml	0.3 ng/ml	0.1 ug/ml	0.03 ng/ml	0.01 ng/ml
LPS 0111	3.810	3.474	2.632	1.440	0.747	0.255
LPS K12	3.695	3.275	2.387	1.395	0.463	0.168
	5.7 μM	570 nM	171 nM	57 nM	17 nM	5.7 nM
PHAD™	4.298	4.146	4.081	3.936	1.624	1.258
MPLA-C	3.438	3.348	3.182	3.023	2.705	1.787

[0503] 表15示出了阴性对照结果,表明两种试验化合物(PHADTM和MPLA-C)均不刺激鼠亲本细胞系(mTLR)。

[0504] 表15

[0505]

	100ng/ml	30ng/ml	10ng/ml	3ng/ml	1ng/ml	0.3ng/ml
TNF-α	4.061	3.663	0.393	0.024	0.045	0.027
	5.7μM	570nM	171nM	57nM	17nM	5.7nM
PHAD™	-0.019	-0.015	-0.019	-0.036	-0.013	0.000
MPLA-C	-0.035	-0.019	-0.035	-0.039	-0.011	-0.007

[0506] 结果显示本公开的合成二糖脂质化合物对激活人和鼠TLR-4有效。

[0507] 实施例3-合成二糖脂质化合物刺激小鼠脾细胞和B细胞增殖并增强体外活力

[0508] 在该实施例中,测试了本公开的合成二糖脂质化合物刺激增殖和增强小鼠脾细胞和B细胞体外活力的能力。用于该测定的合成二糖脂质化合物是结构V的化合物(本文称为MPLA-B)。作为比较,还使用称为PHAD™(Avanti Polar Lipids,Alabaster,AL)的六酰基二糖脂质化合物呈现了结果。已经证实PHAD™具有免疫刺激性质。

[0509] PHAD™和MPLA-B呈粉末形式提供并且按5mg/ml溶于DMSO中,然后用无菌无热源蒸馏水稀释为500μg/ml的原液浓度。将这些原液进一步稀释于PRMI完全培养基中以制备300μg/ml、100μg/ml和30μg/ml的工作液,然后按1:100稀释度将其稀释到适当细胞培养孔中,最终试验浓度为3、1和0.3μg/ml;对于PHAD™和MPLA-B的组合而言,按1:200稀释比将两种300μg/ml工作原液稀释到适当细胞培养孔中,最终试验浓度各为1.5μg/ml。作为溶剂对照,将10%DMSO(于无菌无热源蒸馏水中)稀释于PRMI完全培养基中以达到6%DMSO的浓度,然后按1:100将其稀释到适当细胞培养孔中,最终浓度为0.06%DMSO。

[0510] 收集来自6只C57BL/6小鼠的脾脏并且用70μm细胞滤网将每个脾脏分离成单细胞悬液。然后将每种脾脏单细胞悬液稀释于完全培养基(PRMI+10%热灭活FBS、2mM L-谷氨酰胺、100U/mL青霉素、100μg/mL链霉素和50μm 2-巯基乙醇)中并且进行有核活细胞(即,除红细胞外的所有细胞)的手动计数。将来自3只小鼠的脾细胞用于如下所述的B细胞分离。

[0511] 使用EasySep™小鼠B细胞富集试剂盒(STEMCELL Technologies,,目录号19754A,批号11K41946),根据生产商的说明将3只小鼠的脾细胞与B细胞分离。为了测定细胞分离后

的纯度，用抗CD45(造血标记物；BD Bioscience，目录号553080，批号49362)和CD19(B细胞标记物；eBioscience，目录号1209382，批号E01113-1620)的抗体为细胞染色，并且通过流式细胞术(Accuri® C6流式细胞仪)分析CD45+/CD19+的百分比。

[0512] 为了分析增殖，在37℃下于5%CO2中，在单独和组合的PHAD™和MPLA-B或溶剂对照的存在下培养脾细胞和B细胞。48h后，使用细胞增殖ELISA，BrdU(Roche Diagnostics，目录号11 647 229 001，批号13073200)，按照生产商的说明，利用M5SpectraMax酶标仪(Molecular Devices，Sunnyvale，CA)测量细胞增殖的检测和定量。用BrdU孵育后，离心细胞板以沉淀细胞(板1)，并且将上清液转移到新板(板2)上，新板也经离心以沉淀剩余的所有漂浮细胞。然后将来自板2的上清液转移到新板上并于-20℃冷冻。然后将细胞板1和2用于增殖测定以测定增殖的量，如每个孔的吸光度(OD)所表示。通过减去对照孔的OD值对非特异性结合调整每个样品的OD值。然后将来自板1和2的OD值加到一起以给出每个样品的总增殖指数。对于OD值经调整的样品而言，在图2A和图2B中降到0.05以下设为0.05。

[0513] 为了分析活力，在37℃下于5%CO2中，在单独和组合的PHAD™和MPLA-B或溶剂对照的存在下培养脾细胞和B细胞。孵育72h后，离心细胞板以沉淀细胞并且将上清液转移到新板上并再次离心以沉淀剩余的所有漂浮细胞。然后将上清液转移到新板上并于-20℃冷冻，用于后续IgM/IgG评定(见下文)，而将来自两块板的细胞团块合并且使用细胞-滴度Glo(Promega，目录号G7571/2/3，批号9218)，按照生产商的说明进行活力评估。

[0514] 为了细胞增殖和活力测定，将细胞接种在平底96孔组织培养处理板(Corning® Costar® 3595)中。对于增殖测定(2个孔/种条件)按1×10^5个细胞/孔而对于活力测定(1个孔/种条件)按1×10^6个细胞/孔的密度接种脾细胞；对于两种测定(2个孔/种条件)按1×10^5个细胞/孔接种B细胞。每个孔装有最终体积250μL。每天监测细胞培养物的培养物形态或培养基的变化(例如，培养基变黄)。

[0515] 如图1A和图1B所示，孵育48h后，单独和组合的PHAD™和MPLA-B均刺激体外小鼠脾细胞和B细胞的增殖。用单独和组合的PHAD™和MPLA-B或作为对照的溶剂孵育脾细胞和B细胞以检查对细胞增殖的诱导。孵育48h后，使用比色免疫测定法，基于对并入增殖细胞的BrdU的测量，测量细胞增殖的定量。图1A和图1B示出了基于BrdU的并入，每种试验条件下脾细胞和B细胞的增殖。PHAD™和MPLA-B均在脾细胞(图1A)和B细胞(图1B)中以剂量依赖方式诱导增殖，在B细胞培养物中观察到略高的增殖水平。PHAD™和MPLA-B的组合(各1.5μg/ml；总共3μg/ml)诱导与PHAD™(3μg/ml)和MPLA-B(3μg/ml)相似的增殖水平。

[0516] 如图2A和图2B所示，孵育72h后，单独和组合的PHAD™和MPLA-B对小鼠脾细胞或B细胞的活力均无有害影响。事实上，单独和组合的PHAD™和MPLA-B均增强了受试验的脾细胞和B细胞的活力。用单独和组合的PHAD™和MPLA-B或作为对照的溶剂孵育脾细胞和B细胞。孵育72h后，收获上清液用于IgM/IgG测定(见下文)，并且使用细胞滴度Glo测定剩余细胞的活力。图2A和图2B分别示出了每种试验条件下脾细胞和B细胞的活力。与溶剂对照相比时，用单独的PHAD™和MPLA-B处理的脾细胞显示出相似增高水平的活力；用PHAD™和MPLA-B的组合(各1.5μg/ml；总共3μg/ml)处理的培养物诱导与PHAD™(3μg/ml)和MPLA-B(3μg/ml)相似的活力水平(图2A)。相反，与溶剂对照相比时，用PHAD™和MPLA-B处理的B细胞培养物显示出剂量依赖型活力增加；用PHAD™和MPLA-B的组合(各1.5μg/ml；总共3μg/ml)处理的培养物展示出与PHAD™(3μg/ml)和MPLA-B(3μg/ml)相似的活力水平(图2B)。

[0517] 实施例4—合成二糖脂质化合物刺激IgM和IgG从体外小鼠脾细胞和B细胞分泌

[0518] 在该实施例中，测试了合成二糖脂质化合物刺激IgM和IgG从体外小鼠脾细胞和B细胞分泌的能力。用于该测定的合成二糖脂质化合物是结构V的化合物(本文称为MPLA-B)。作为比较，还使用称为PHAD™(Avanti Polar Lipids,Alabaster,AL)的六酰基二糖脂质化合物呈现了结果。已经证实PHAD™具有免疫刺激性质。

[0519] 用于脾细胞和B细胞培养的材料和条件如实施例3所述。按1×10^6个细胞/孔的密度(1个孔/种条件)接种脾细胞并且按1×10^5个细胞/孔(2个孔/种条件)接种B细胞。

[0520] 为了评估IgM和IgG分泌，在37℃下于5％CO2中，在单独和组合的PHAD™和MPLA-B或溶剂对照的存在下培养脾细胞和B细胞。孵育72h后，离心细胞板以沉淀细胞并且将上清液转移到新板上并再次离心以沉淀剩余的所有漂浮细胞。然后将上清液转移到新板上并于-20℃冷冻。按照生产商的说明进行IgM(小鼠IgM ELISA定量装置,Bethyl Laboratories,目录号E90-101,批号E90-101-25)和IgG(小鼠IgG ELISA定量装置,Bethyl Laboratories,目录号E90-131,批号E90-131-29)的ELISA。在ELISA之前按1:2、1:10和1:50稀释所有上清液样品。为了测定免疫球蛋白浓度，仅将OD值介于标准曲线最高浓度的平均OD的90-10％范围之间的样品视为可接受并且用于测定免疫球蛋白浓度，而将10％的值视为测定定量极限(LOQ)。对于每种试验条件，平均所有可接受的数据点，并在可能的情况下测定标准偏差。如果无法测定浓度值，则将浓度值报告为小于对应LOQ乘以测定中所用的最低稀释度的浓度值。为了计算和以图片呈现，使用LOQ乘以最低稀释度。

[0521] 用单独和组合的PHAD™和MPLA-B或作为对照的溶剂孵育脾细胞和B细胞以检查对IgM分泌的影响。孵育72h后，收获上清液用于IgM测定。在图3A和图3B中分别示出了脾细胞和B细胞通过ELISA量化的IgM水平。一般而言，PHAD™和MPLA-B在脾细胞(图3A)和B细胞(图3B)中均以剂量依赖方式诱导IgM生成，在脾细胞培养物中观察到总体较高的IgM水平。PHAD™和MPLA-B的组合(各1.5μg/ml；总共3μg/ml)诱导与PHAD™(3μg/ml)和MPLA-B(3μg/ml)相似水平的IgM。

[0522] 用单独和组合的PHAD™和MPLA-B或作为对照的溶剂孵育脾细胞和B细胞72小时以检查对IgG分泌的影响。孵育72h后，收获上清液用于IgG测定。在图4A和图4B中分别示出了脾细胞和B细胞通过ELISA量化的IgG水平。在脾细胞中，PHAD™和MPLA-B通常在所有浓度下在小鼠2和3中诱导出相似水平的IgG，PHAD™和MPLA-B的组合展示出最高的IgG水平，而在小鼠1中以剂量依赖方式诱导IgG(图4A)。在B细胞中，通常仅在最高浓度的PHAD™和MPLA-B(3μg/ml)下，在所有3只小鼠中观察到可检测水平的IgG(图4B)。

[0523] 实施例5—合成二糖脂质化合物刺激体外IL-12生成

[0524] 在该实施例中，测试了本公开的合成二糖脂质化合物刺激由体外J774A细胞(鼠单核细胞/巨噬细胞在雌性BALB/c小鼠中衍生出肿瘤)生成白细胞间素(IL)-12的能力。因为其在微生物感染期间的生成调节了先天性反应并且确定了适应性免疫反应的类型和持续时间，所以IL-12是一种重要的免疫调节剂。IL-12诱导由天然杀伤细胞、T细胞、树突细胞和巨噬细胞生成干扰素-γ(IFN-γ)。IL-12还促进天然$CD4^+$T细胞分化为依次生成IFN-γ并且有助于细胞介导的免疫的T辅助1(Th1)细胞。因此，IL-12在协调先天性和适应性免疫中起主要作用并且其生成是化合物免疫刺激性质的标志。

[0525] 用于该测定的合成二糖脂质化合物是结构V的化合物(本文称为MPLA-B)。作为比

较，还使用称为PHAD™(Avanti Polar Lipids,Alabaster,AL)的六酰基二糖脂质化合物呈现了结果。已经证实PHAD™具有免疫刺激性质。

[0526] 按10^5个细胞/孔的密度将J774A细胞接种在24孔板上并使其在标准细胞培养条件下于具有10％FBS的DMEM中生长48h。在含有DMEM+0.5％FBS的培养基中使细胞经血清剥夺18h。连续稀释溶于DMSO中的PHAD™和MPLA-B并添加到血清剥夺细胞中(10μL-1mL培养基)并且再孵育24h。对照孔接受单独的DMSO媒介物。然后收获细胞培养基并且在16,900×g下离心10min。将上清液转移到新管中并且在-80℃下冷冻直至分析。用小鼠IL-12p40非等位基因特异性Quantikine ELISA(R&D Systems,Minneapolis,MN;目录号MP 400)测定小鼠IL-12(p40)。

[0527] 图5中呈现了结果。正如可见，在MPLA-B和PHAD™在相似浓度下刺激由J774A细胞生成IL-12。在1-10μg/ml范围内看到最大刺激。

[0528] 实施例6—合成二糖脂质化合物刺激体外免疫反应

[0529] 在该实施例中，测试了本公开的合成二糖脂质化合物在小鼠模型中刺激体外免疫反应的能力。雌性C57BL/6小鼠总共接受3次皮下注射0.2ml本公开的示例性合成二糖脂质化合物(所示化合物具有通用结构V，也称为MPLA-B或同源物B)、称为PHAD™的六酰基二糖脂质化合物(Avanti Polar Lipids,Alabaster,AL)或前述化合物的组合(第0天、第14天和第28天)。已经证实PHAD™具有免疫刺激性质。与专利脂质体疫苗制剂(AC Immune,Lausanne,Switzerland)组合的专利抗原(Pal1-15)用于疫苗制剂并且用于诱导淀粉样蛋白-β(Aβ)特异性抗体反应。在标题为的Therapeutic Vaccine的PCT公布第WO2007/068411号中(其据此通过引用并入用于此类教学)描述了疫苗制剂。在第7、21和35天，收集血样并且通过ELISA测定总Aβ特异性抗体反应。测试了3种不同疫苗稀释度。疫苗施用方法的详情如表16所示。在磷酸盐缓冲盐水中产生所示稀释度。

[0530] 表16

[0531]

组别	每个组的小鼠	批次和体积[a]	施用途径[b]	Pal1-15(μg/剂)[c]	PHAD的量(μg/剂)[c]	MPLA-B的量(μg/剂)[c]
A	5	0.2ml(未稀释疫苗)	皮下	98.2	9.4	-
B	5	0.2ml(未稀释疫苗)	皮下	91.6	-	12.4
C	5	0.2ml(10×稀释疫苗)	皮下	9.82	0.94	-
D	5	0.2ml(10×稀释疫苗)	皮下	9.16	-	1.24
E	5	0.2ml(100×稀释疫苗)	皮下	0.98	0.09	-
F	5	0.2ml(100×稀释疫苗)	皮下	0.92	-	0.12

[0532]

G	5	0.2ml(未稀释疫苗)参考批次	皮下	84	9.6	7
H	10	0.2ml(未稀释疫苗)	皮下	94.6	5.6	4.8

[0533] [a]-理论体积/剂

[0534] [b]-皮下

[0535] [c]-分析后测定的测得量

[0536] 如图6所示，所有疫苗制剂均诱导与参考批次相似的高抗AβIgG抗体反应(y轴以

ng/ml示出了抗体的浓度)。在任何时间点，用PHAD™或MPLA-B制备的两种疫苗之间抗AβIgG水平无差异(双因素ANOVA，邦弗朗尼事后检验(Bonferroni posttest):$P>0.05$)。还测试了经稀释的疫苗(见表16)。抗AβIgG的水平保持升高并且与未稀释疫苗相似。然而，在第35天观察到加强效应，在第35天与未稀释疫苗相比，对于经10×和100×稀释的疫苗而言，抗体滴度显著增加(双因素ANOVA，邦弗朗尼事后检验:对于含PHAD™的经稀释疫苗而言，$P<0.05$;对于含MPLA-B的经稀释疫苗而言，$P<0.001$)。在相等剂量下(每次注射0.1μg、1μg或10μg的PHAD™或MPLA-B)，在PHAD™和MPLA-B之间未发现显著差异，证明用PHAD™或MPLA-B制备的这些抗Aβ疫苗的免疫原性相当。PHAD™和MPLA-B的组合也有效。结果表示为在5只或10只小鼠组中得到的平均值±标准偏差。

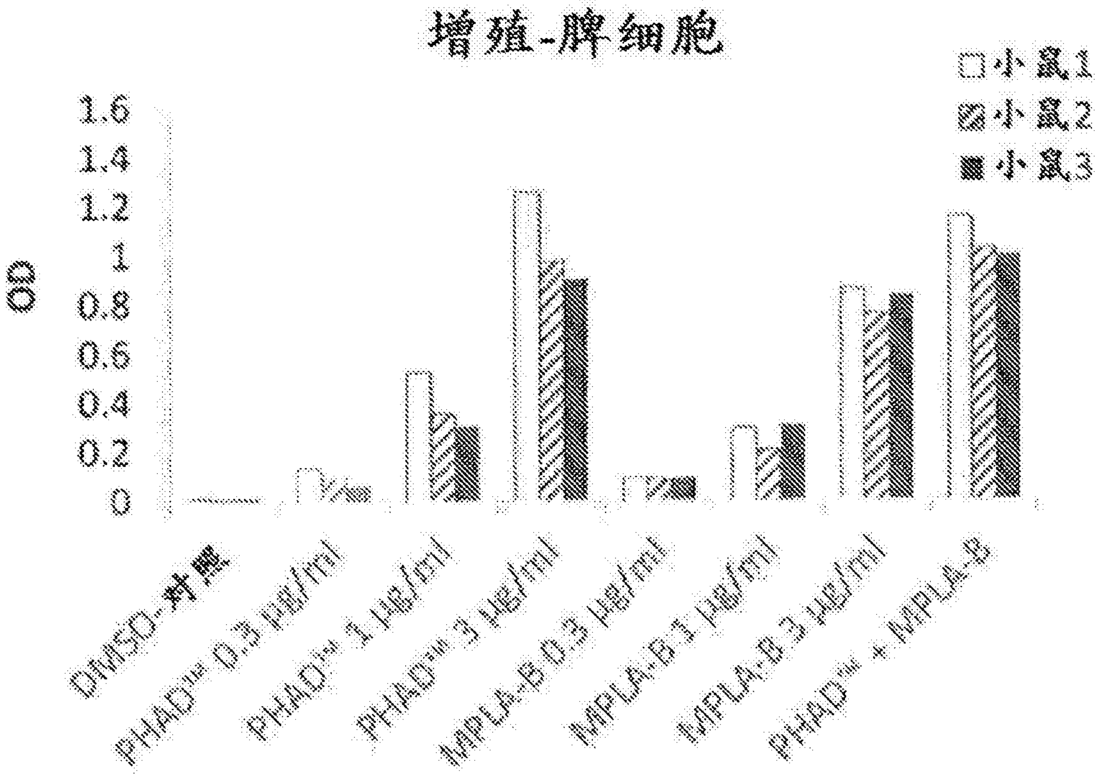

增殖-脾细胞
小鼠1
小鼠2
小鼠3
OD
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
DMSO-对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图1A

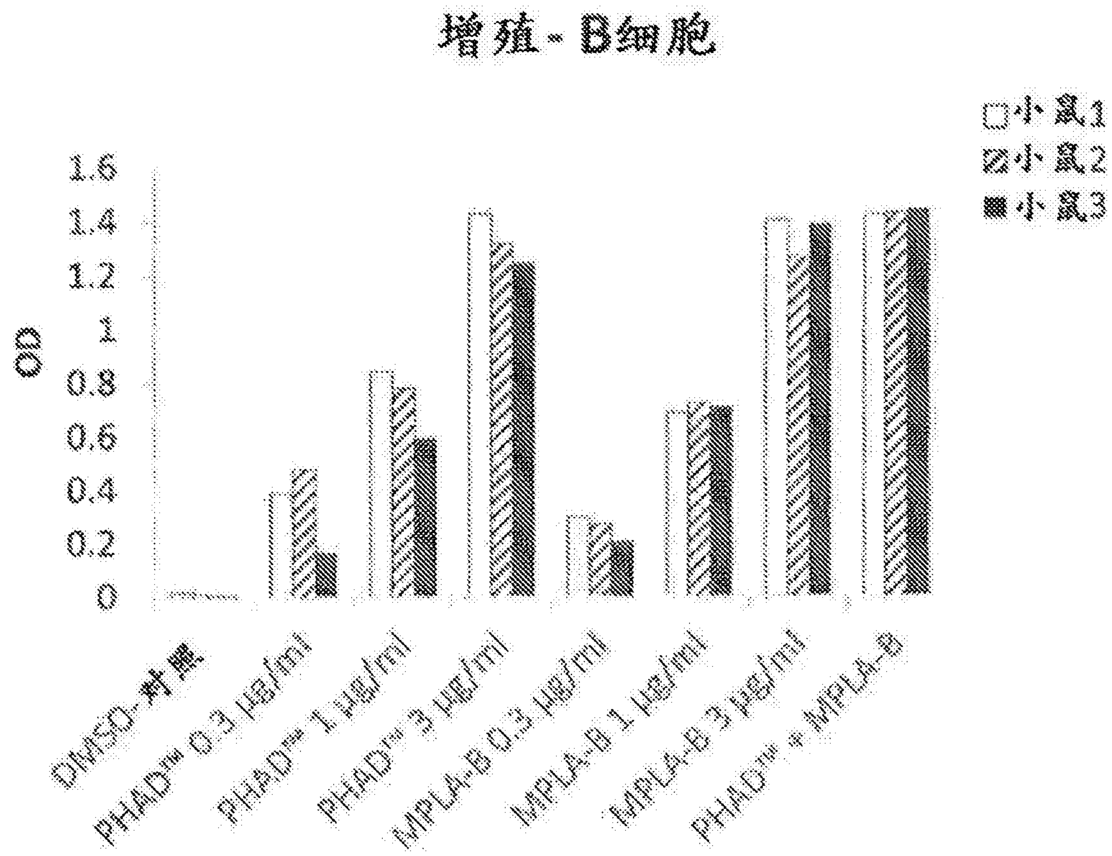

增殖-B细胞
小鼠1
小鼠2
小鼠3
OD
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
DMSO-对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图1B

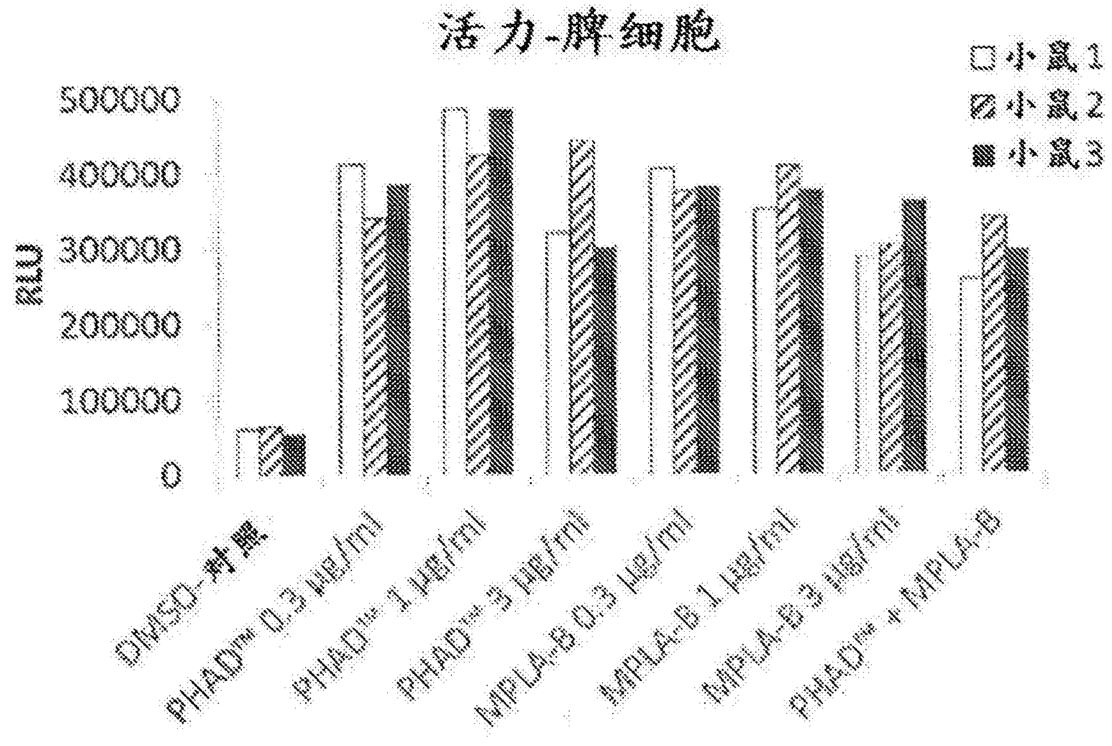

活力-脾细胞
小鼠1
小鼠2
小鼠3
RLU
500000
400000
300000
200000
100000
0
DMSO-对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图2A

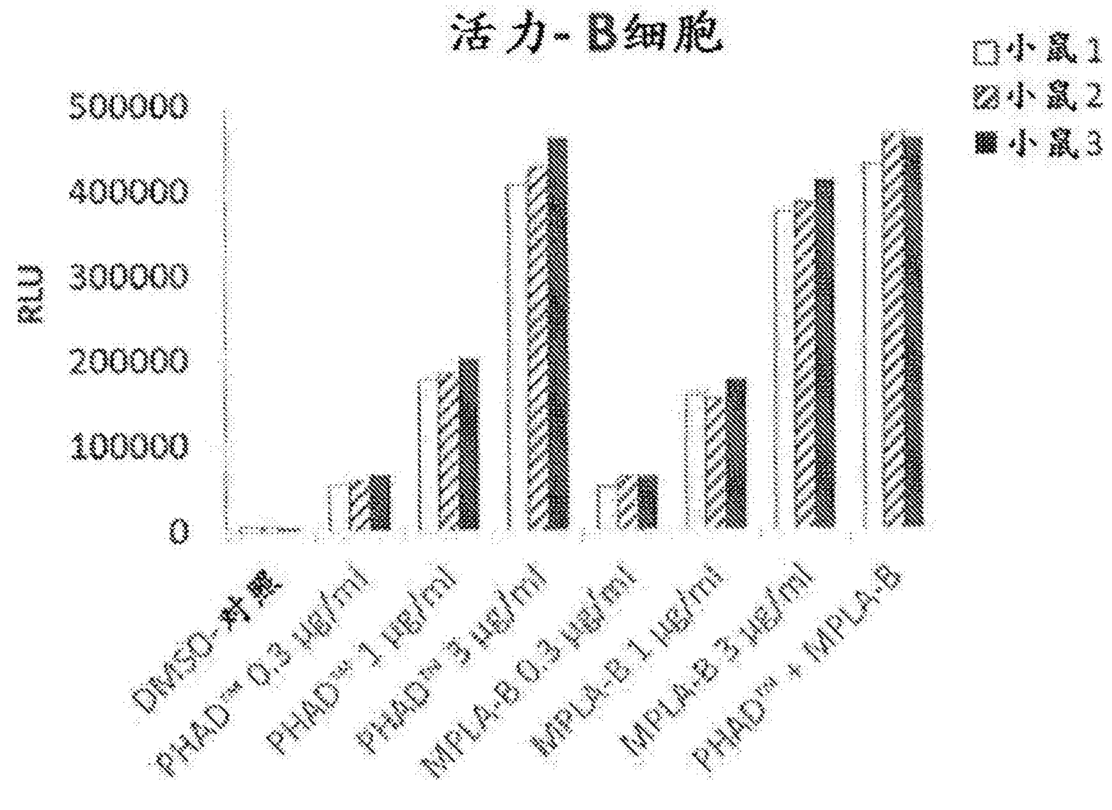

活力-B细胞
小鼠1
小鼠2
小鼠3
RLU
500000
400000
300000
200000
100000
0
DMSO-对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图2B

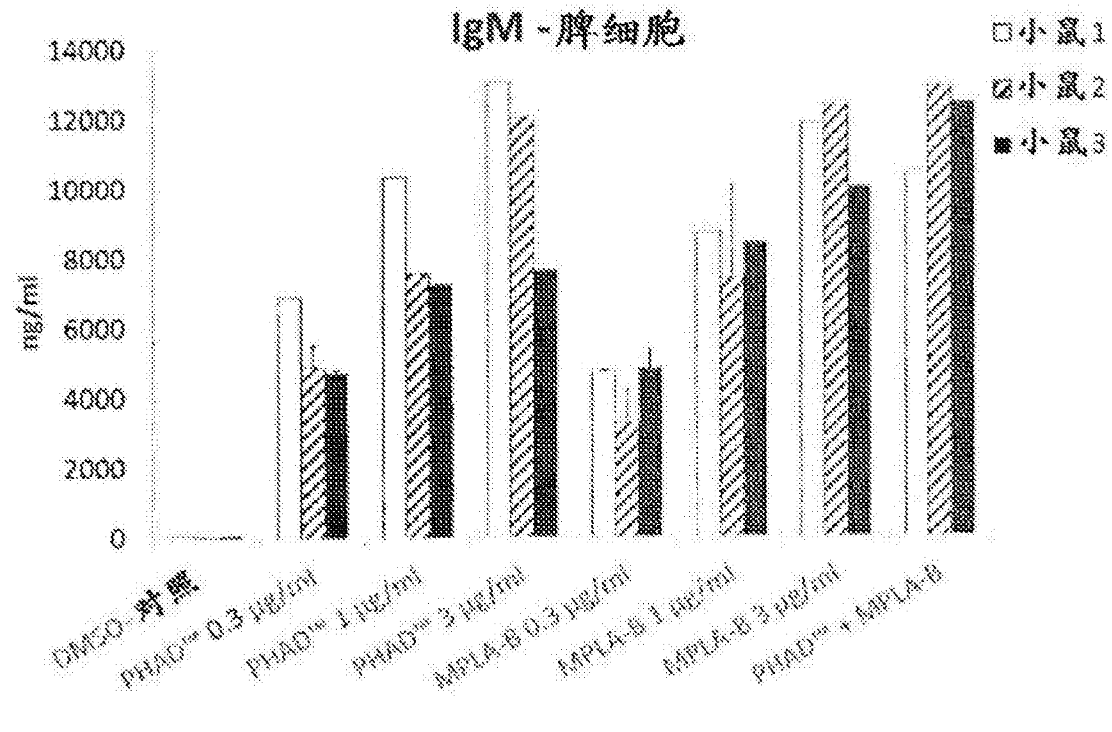

IgM -脾细胞
小鼠1
小鼠2
小鼠3
ng/ml
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
DMSO-对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图3A

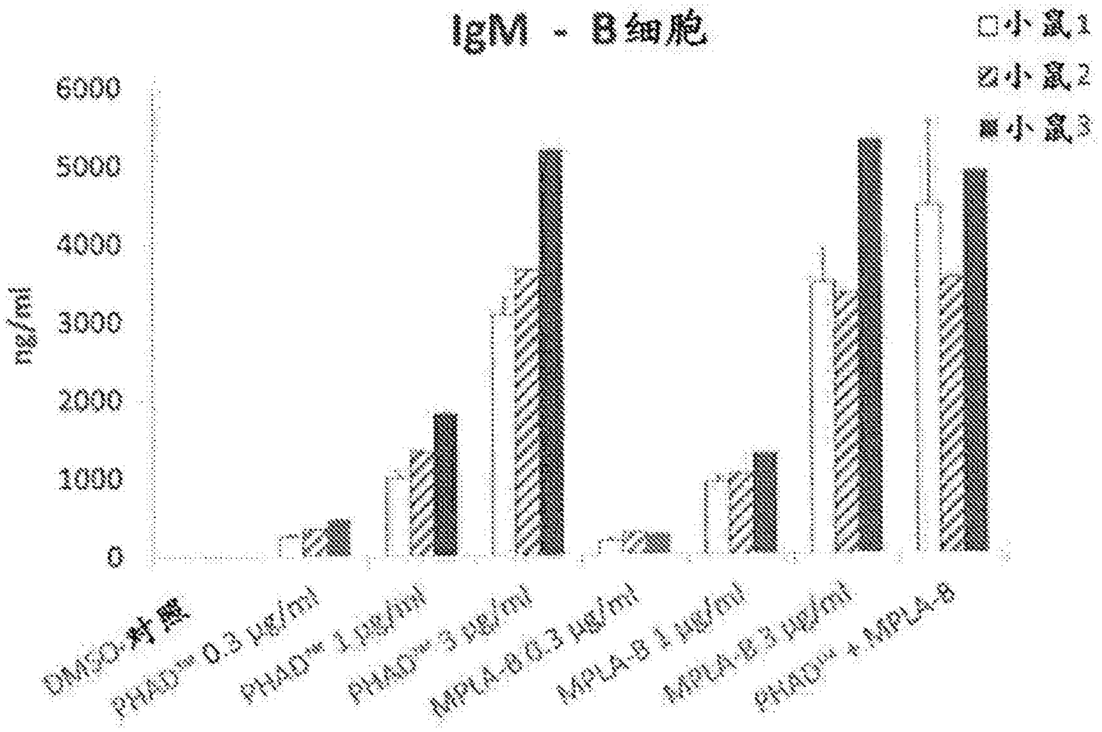

IgM - B细胞
□小鼠1
▨小鼠2
■小鼠3
ng/ml
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
DMSO-对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图3B

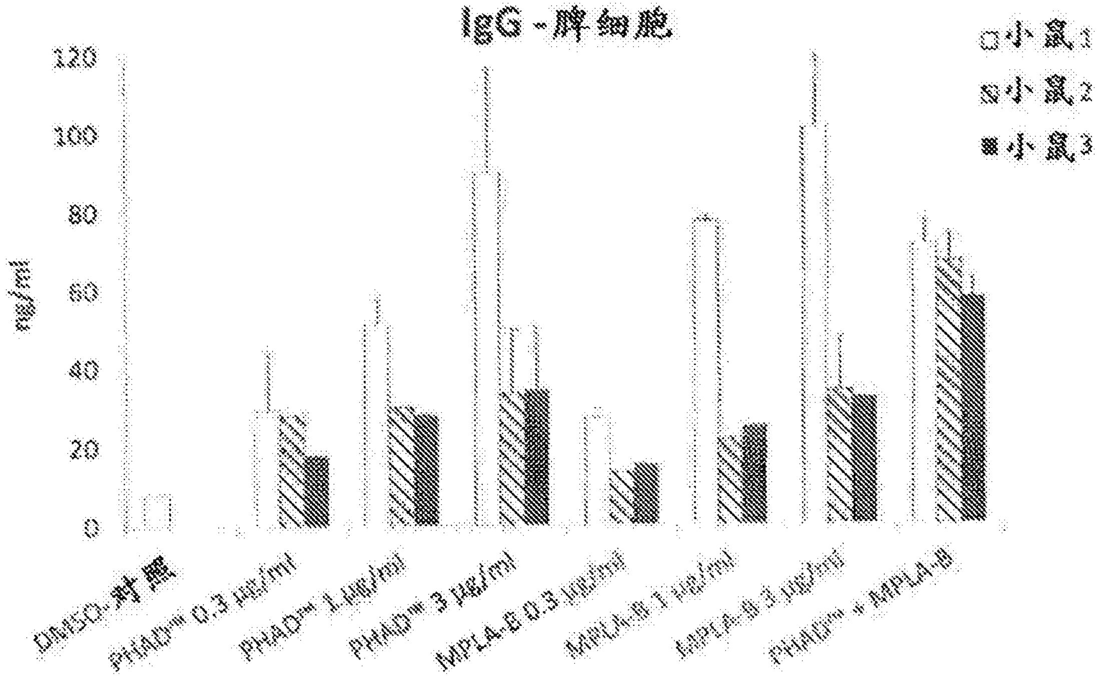

IgG -脾细胞
□小鼠1
▧小鼠2
■小鼠3
ng/ml
120
100
80
60
40
20
0
DMSO-对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图4A

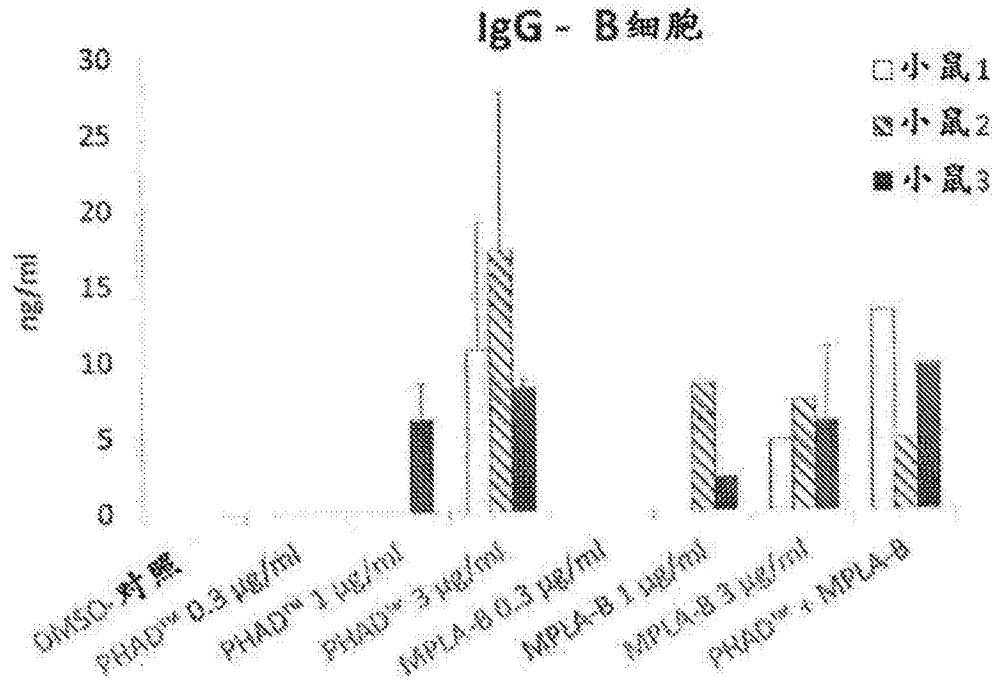

IgG - B细胞
□小鼠1
小鼠2
■小鼠3
ng/ml
30
25
20
15
10
5
0
DMSO 对照
PHAD™ 0.3 μg/ml
PHAD™ 1 μg/ml
PHAD™ 3 μg/ml
MPLA-B 0.3 μg/ml
MPLA-B 1 μg/ml
MPLA-B 3 μg/ml
PHAD™ + MPLA-B

图4B

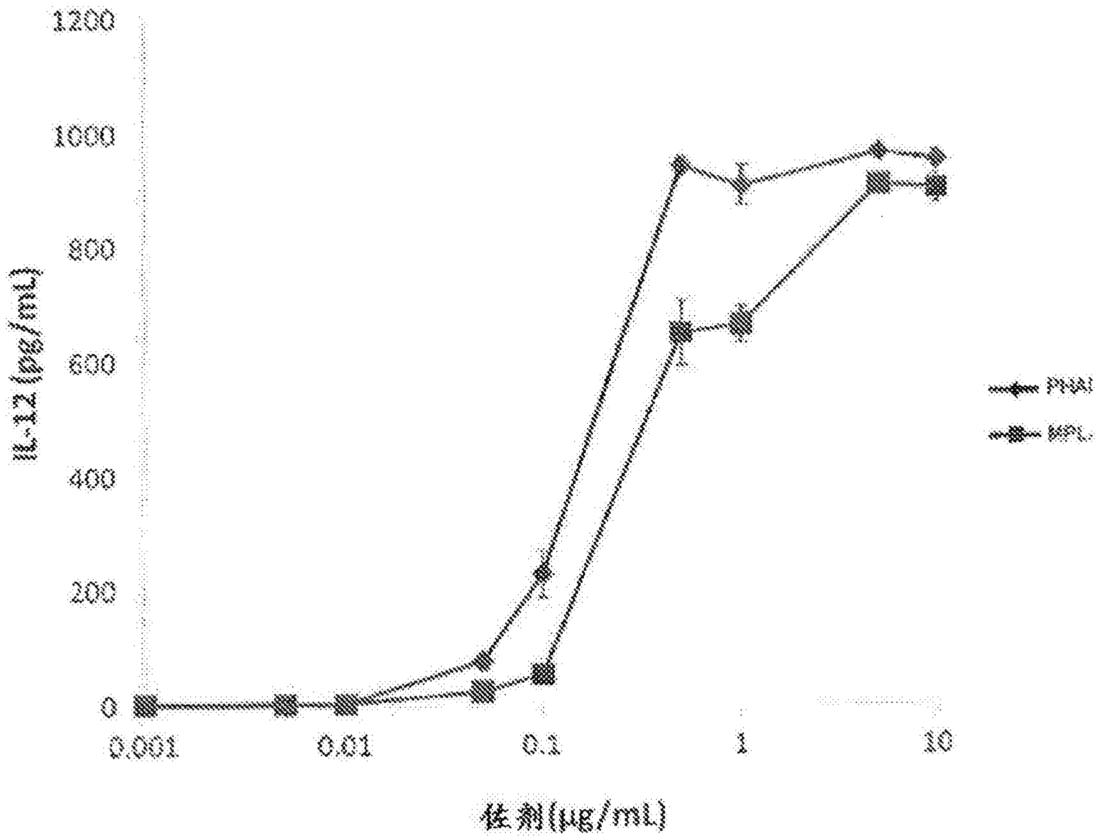

1200
1000
800
600
400
200
0
IL-12 (pg/mL)
0.001
0.01
0.1
1
10
佐剂(μg/mL)

图5

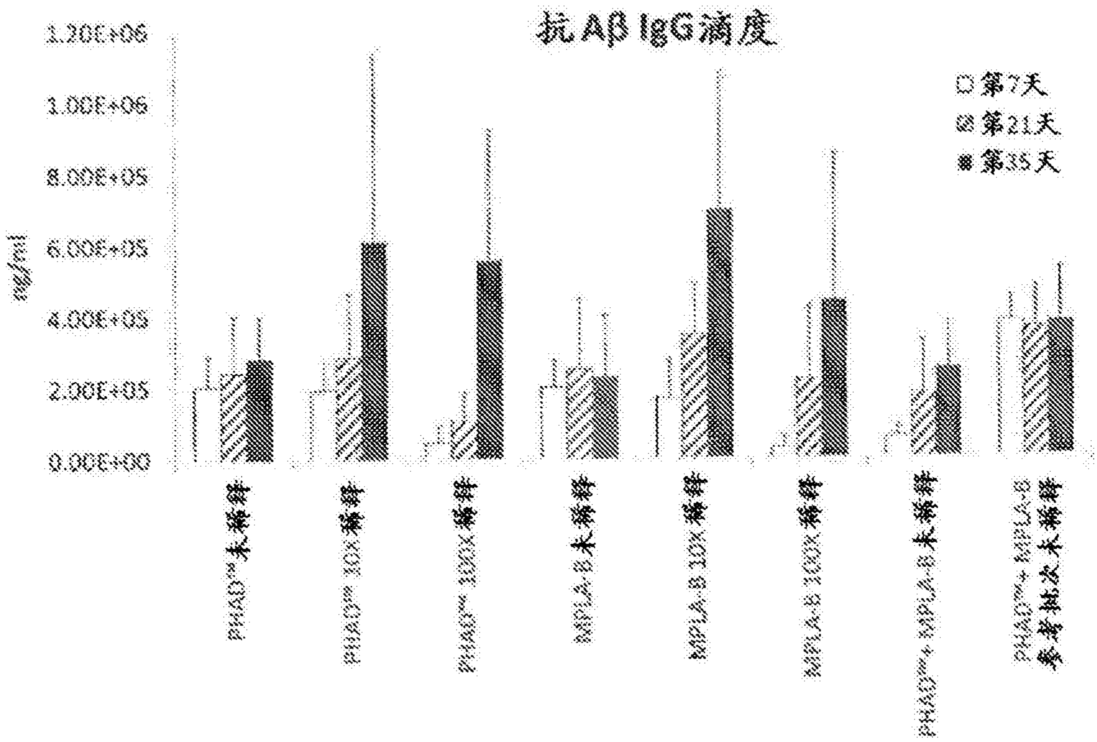

抗Aβ IgG滴度
□第7天
▨第21天
▩第35天
ng/ml
1.20E+06
1.00E+06
8.00E+05
6.00E+05
4.00E+05
2.00E+05
0.00E+00
PHAD™未稀释
PHAD™ 10X稀释
PHAD™ 100X稀释
MPLA-B未稀释
MPLA-B 10X稀释
MPLA-B 100X稀释
PHAD™+MPLA-B未稀释
PHAD™+MPLA-B多个批次未稀释

图6