



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114340680 A

(43) 申请公布日 2022.04.12

(21) 申请号 202080049756.9

S·斯里尼瓦桑 M·扎哈里安

(22) 申请日 2020.07.06

(74) 专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713

(30) 优先权数据

代理人 王思琪 王建秀

62/871,051 2019.07.05 US

62/971,196 2020.02.06 US

62/981,401 2020.02.25 US

(51) Int.Cl.

A61K 47/54 (2017.01)

A61K 47/61 (2017.01)

A61K 47/69 (2017.01)

A61K 45/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07H 21/02 (2006.01)

C08B 37/08 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.01.04

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/040891 2020.07.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/007160 EN 2021.01.14

(71) 申请人 坦博公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 J·M·美佳奥尼托 N·A·叶

权利要求书8页 说明书139页 附图11页

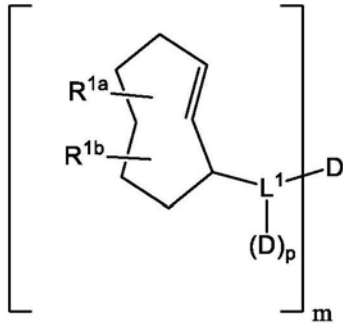
(54) 发明名称

反式环辛烯生物正交剂及在癌症和免疫疗法中的用途

(57) 摘要

治疗剂的反式环辛烯缀合物可用于向受试者的目标位置的生物正交递送。这些化合物和方法具有在治疗各种疾病或病症,包括癌症、肿瘤生长和细菌感染中的应用。

1. 一种具有式 (I) 的化合物, 或其药学上可接受的盐



(I)

其中

R^{1a}在每次出现时独立地选自由C₁₋₄烷基、氢和C₁₋₄卤代烷基组成的组;

R^{1b}在每次出现时独立地选自由C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-CO₂H、C(O)OH、C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H、C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-C(O)OC₁₋₄烷基、C(O)OC₁₋₄烷基、C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC₁₋₄烷基、氢、C₁₋₄烷基和C₁₋₄卤代烷基组成的组;

R^{1c}在每次出现时独立地是氢或C₁₋₄烷基;

R^{1e}在每次出现时独立地是-C₁₋₄亚烷基-CO₂H、-C₁₋₄亚烷基-CONH₂或-C₁₋₄亚烷基-OH;

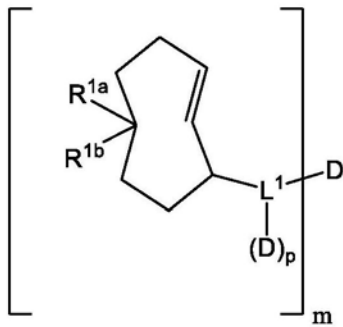
D在每次出现时独立地是环状二核苷酸;

L¹在每次出现时独立地是接头;

m在每次出现时独立地是1、2或3; 并且

p在每次出现时独立地是0、1或2。

2. 如权利要求1所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 该化合物具有式 (I-A)



(I-A)。

3. 如权利要求1或2所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中R^{1a}是氢。

4. 如权利要求1或2所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中R^{1a}是C₁₋₄烷基。

5. 如权利要求1或2所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中R^{1a}是CH₃。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中R^{1b}是氢。

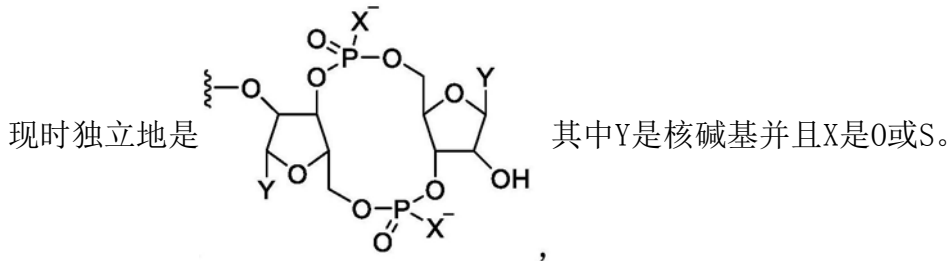
7. 如权利要求1-5中任一项所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中R^{1b}是C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-CO₂H。

8. 如权利要求7所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中R^{1b}是C(O)N(R^{1c})CH₂CO₂H。

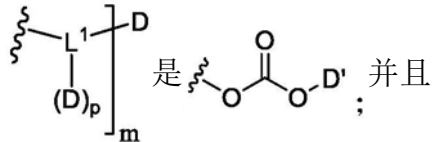
9. 如权利要求1-5或7-8中任一项所述的化合物, 或其药学上可接受的盐, 其中R^{1c}是氢。

10. 如权利要求1-5中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R^{1b}是C(O)OH。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中D在每次出

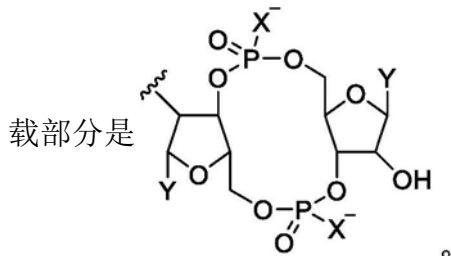


12. 如权利要求1-11中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中:

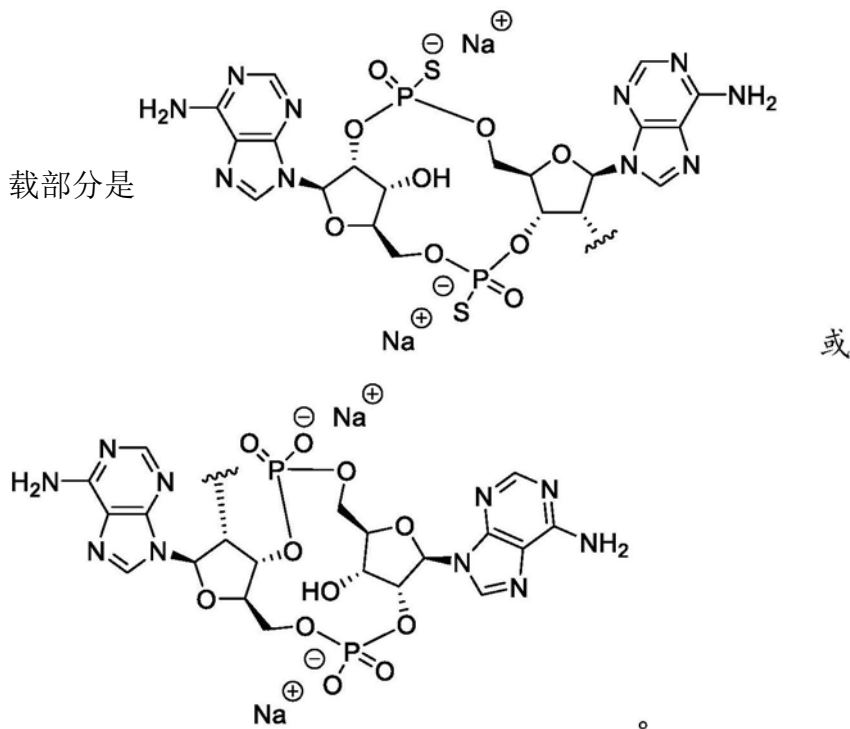


D' 是环状二核苷酸有效负载部分。

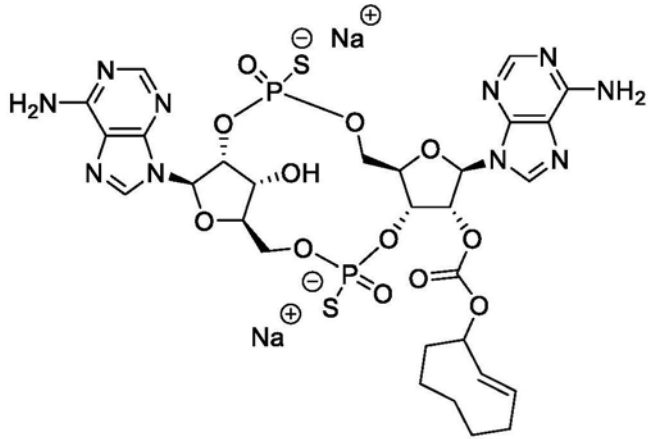
13. 如权利要求12所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中该环状二核苷酸有效负



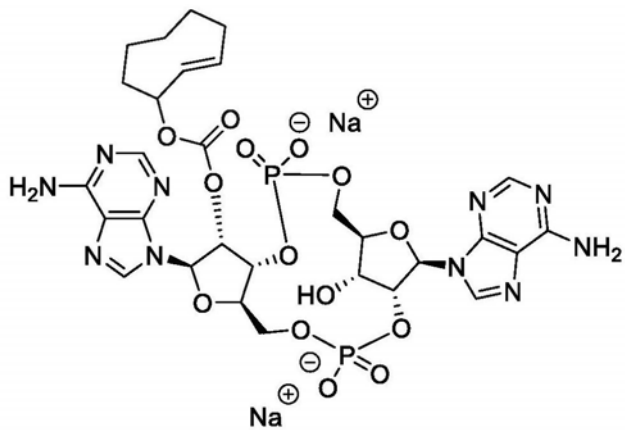
14. 如权利要求12所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中该环状二核苷酸有效负



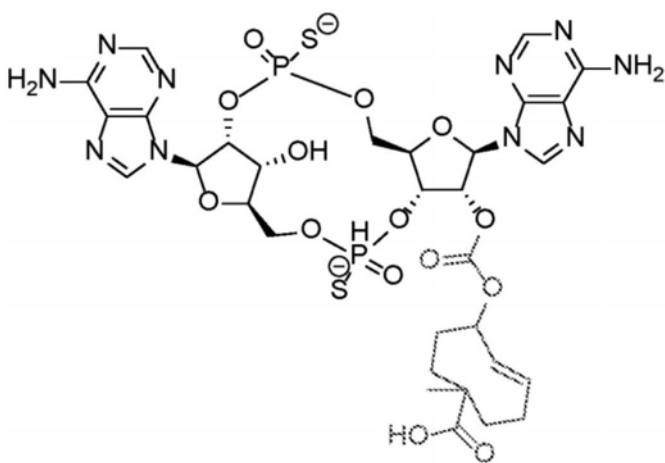
15. 如权利要求1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,该化合物选自由以下组成的组:



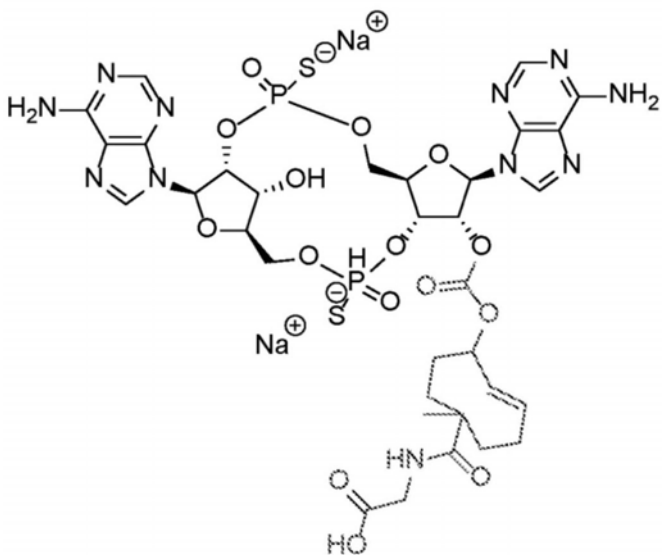
TCO-ADU-S100



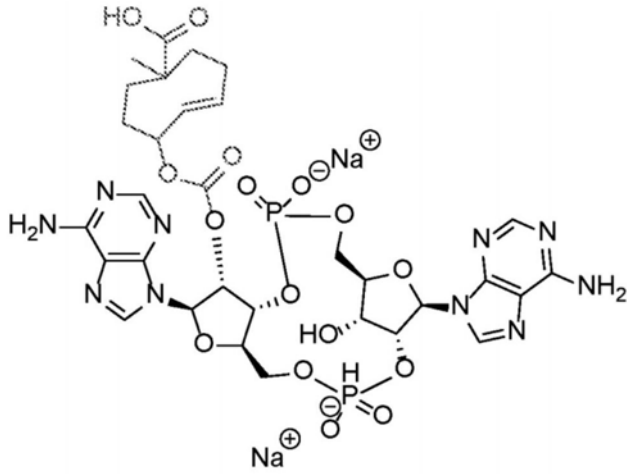
TCO-2'3'-cGAMP



ADU-S100-TCO-酸

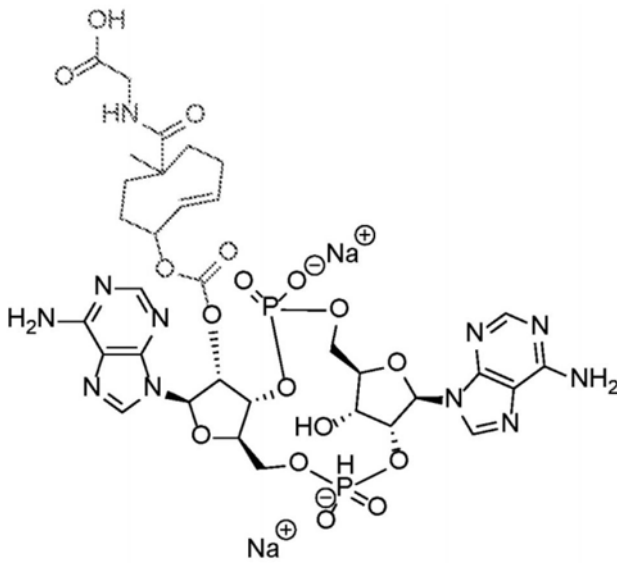


ADU-S100-TCO-甘氨酸



2'3'-cGAMP-TCO- 酸

、 或

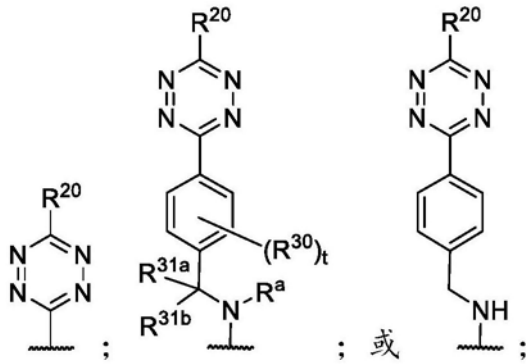


2'3'-cGAMP-TCO- 甘氨酸

。

16. 一种药物组合物,其包含如权利要求1-15中任一项所述的化合物、或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载剂。

17. 一种药物组合,其用于在治疗癌症中使用;或用于在增强或引发免疫应答中使用,该药物组合包含如权利要求1-15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、或如权利要求16所述的药物组合物、以及治疗性支持体组合物,该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



其中

R^{20} 选自由以下组成的组: 氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$;

R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;

R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基;

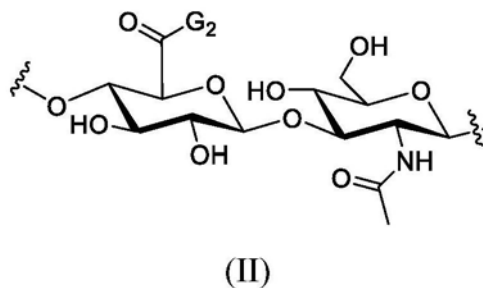
R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基; 烯基、炔基、烷氧基; 卤代烷氧基; 杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基;

R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1 - C_6 -烷基或 C_1 - C_6 -卤代烷基; 并且

t 是 0、1、2、3 或 4。

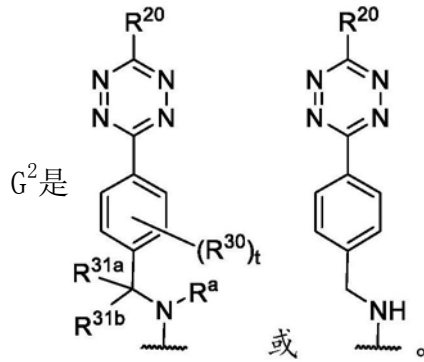
18. 如权利要求 17 所述的药物组合, 其中该含四嗪的基团连接至或直接键合至透明质酸生物相容性支持体。

19. 如权利要求 17 所述的药物组合, 其中该治疗性支持体组合物包含经取代的具有式 (II) 的透明质酸单元,

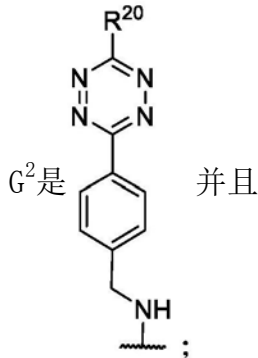


R^{22} 是 1 至 100 个连接原子的接头。

20. 如权利要求 19 所述的药物组合, 其中:



21. 如权利要求19所述的药物组合,其中



R^{20} 是氢或 C_{1-4} 烷基。

22. 如权利要求17-21中任一项所述的药物组合,其中该使用是用于治疗或预防癌症。

23. 如权利要求22所述的药物组合,其中该癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤或胰腺癌。

24. 如权利要求22或23所述的药物组合,其中该癌症是实体瘤。

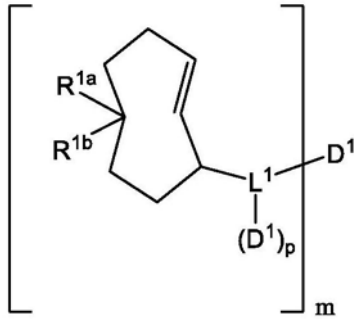
25. 如权利要求22或23所述的药物组合,其中该癌症是软组织肉瘤。

26. 如权利要求25所述的药物组合,其中该软组织肉瘤是纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、或尤因肉瘤。

27. 如权利要求17-21中任一项所述的药物组合,其中该使用是用于增强或引发免疫应答。

28. 如权利要求27所述的药物组合,其中该免疫应答是白细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞的一种或多种的增加。

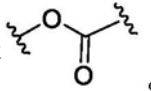
29. 如权利要求17-28中任一项所述的药物组合,其进一步包含另外的治疗剂,该治疗剂选自由以下组成的组:抗癌剂、免疫检查点抑制剂、或具有式(I-B)的化合物或其药学上可接受的盐,

**(I-B)**

其中

D¹在每次出现时独立地是有效负载,该有效负载选自抗癌药物有效负载、微生物免疫抑制药物有效负载、抗再狭窄药物有效负载、抗生素药物有效负载、抗真菌药物有效负载、抗病毒药物有效负载、抗炎药物/抗关节炎药物有效负载、皮质类固醇药物有效负载和免疫抑制剂药物有效负载;并且

R^{1a}、R^{1b}、L¹、p和m是如权利要求1-11中任一项所定义的。

30. 如权利要求29所述的药物组合,其中p是0;m是1;并且-L¹-是 。

31. 如权利要求29或30所述的药物组合,其中该抗癌药物是阿霉素。

32. 一种试剂盒,其包含如权利要求1-15中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、或如权利要求16所述的药物组合物、及其使用说明书。

33. 如权利要求32所述的试剂盒,其进一步包含如权利要求19-23中任一项所定义的治疗性支持体组合物。

34. 如权利要求32或33所述的试剂盒,其进一步包含如权利要求29-31中任一项所定义的具有式(I-B)的化合物。

反式环辛烯生物正交剂及在癌症和免疫疗法中的用途

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2019年7月5日提交的美国临时专利申请号62/871,051、于2020年2月6日提交的美国临时专利申请号62/971,196、和于2020年2月25日提交的美国临时专利申请号62/981,401的优先权,这些申请中的每一个通过引用以其全文并入本文。

技术领域

[0003] 本披露提供了反式环辛烯衍生物及在癌症和/或免疫疗法的受试者中用于生物正交递送的用途。

背景技术

[0004] 增强免疫系统对抗肿瘤生长和癌症扩散的免疫疗法已得到临床验证。免疫疗法策略利用免疫细胞并且包括针对肿瘤抗原的单克隆抗体、免疫检查点抑制剂、疫苗接种、过继细胞疗法(例如,CAR-T细胞)和细胞因子施用。

[0005] TLR激动剂在激活先天性和获得性免疫应答方面发挥着重要的作用。在小鼠模型中,使用TLR激动剂治疗已示出减少肿瘤生长,并且在一些情况下,当与其他治疗剂(如化疗药物、mAb、和呈蛋白质、肽或质粒DNA形式的各种肿瘤抗原疫苗)组合使用时,破坏已形成的肿瘤。TLR激动剂激活专职抗原呈递细胞(APC),即树突状细胞(DC)。TLR可以通过引发炎症细胞因子表达和细胞毒性T淋巴细胞(CTL)应答来诱导优选的抗肿瘤作用。作为佐剂,TLR激动剂可以发起强烈的免疫应答来辅助癌症放疗和生物化疗。最近证明各种T细胞子集上的TLR的接合可以增强它们的应答并且因此代表了一种增强癌症免疫疗法的功效的新的、有前景的策略。

[0006] STING在控制抗癌症免疫应答中的核心作用通过以下观察结果来例证:在不存在STING的情况下自发和辐射诱导的适应性抗癌症免疫力降低,这说明了STING靶向用于癌症免疫疗法的潜力。

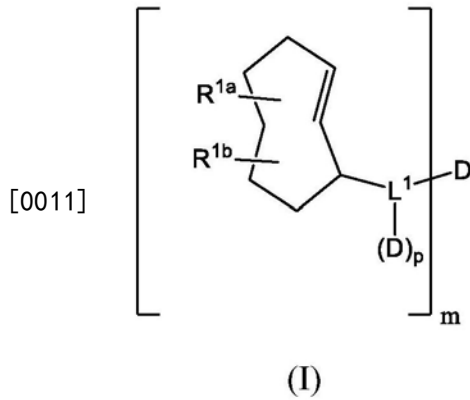
[0007] 生物正交缀合或点击反应是生物系统中发现的选择性和正交(非相互作用)功能性,并且已在化学、化学生物学、分子诊断和医学领域的各种应用中使用,在这些领域中它们可用于促进分子、细胞、颗粒和表面的选择性操纵,以及体外和体内生物分子的标记和追踪。这些反应包括施陶丁格连接(Staudinger ligation)、叠氮化物-环辛炔环加成和反电子需求狄尔斯-阿尔德反应(inverse-electron-demand Diels-Alder reaction)。

[0008] WO 2017/044983描述了阿霉素的反式环辛烯缀合物的抗肿瘤作用,该作用通过与植入肿瘤部位处的四嗪官能化藻酸盐的生物正交反应在肿瘤部位释放阿霉素来实现。

发明内容

[0009] 本披露提供了用于使用生物正交化学在受试者中递送有效负载分子的反式环辛烯衍生物。本披露还提供生产这些组合物的方法以及使用这些组合物的方法。

[0010] 在一方面,本发明提供了具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐,



[0012] 其中

[0013] R^{1a} 在每次出现时独立地选自由氢、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 卤代烷基组成的组；

[0014] R^{1b} 在每次出现时独立地选自由氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、 $C(O)OH$ 、 $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 和 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-4}$ 烷基组成的组；

[0015] R^{1c} 在每次出现时独立地是氢或 C_{1-4} 烷基；

[0016] R^{1e} 在每次出现时独立地是- C_{1-4} 亚烷基- CO_2H 、- C_{1-4} 亚烷基- $CONH_2$ 或- C_{1-4} 亚烷基-OH；

[0017] D在每次出现时独立地是有效负载，该有效负载选自由toll样受体 (TLR) 激动剂和干扰素基因刺激蛋白 (STING) 激动剂组成的组；

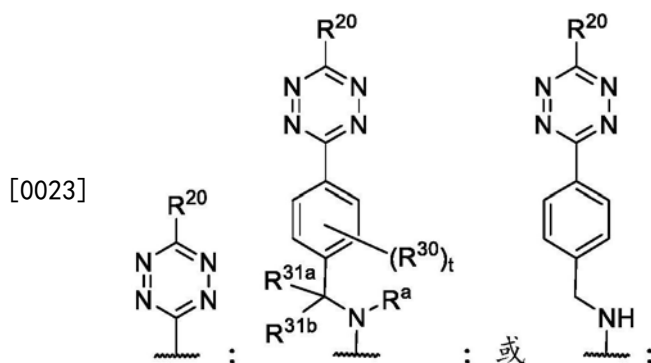
[0018] L^1 在每次出现时独立地是接头；

[0019] m在每次出现时独立地是1、2或3；并且

[0020] p在每次出现时独立地是0、1或2。

[0021] 在另一个方面，本发明提供了一种药物组合物，该药物组合物包含具有式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的载剂。

[0022] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗或预防病症或障碍或增强或引发免疫应答的方法，该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物；和治疗性支持体组合物，该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



[0024] 其中

[0025] R^{20} 选自由以下组成的组：氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 SC

(=O)R''、OC(=S)R''、SC(=S)R''、S(=O)R'、S(=O)₂R''、S(=O)₂NR'R''、C(=O)O-R'、C(=O)S-R'、C(=S)O-R'、C(=S)S-R'、C(=O)NR'R''、C(=S)NR'R''、NR'R''、NR'C(=O)R''、NR'C(=S)R''、NR'C(=O)OR''、NR'C(=S)OR''、NR'C(=O)SR''、NR'C(=S)SR''、OC(=O)NR'R''、SC(=O)NR'R''、OC(=S)R'R''、SC(=S)R'R''、NR'C(=O)NR'R''、以及NR'C(=S)NR'R''；

[0026] R'和R''在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基；

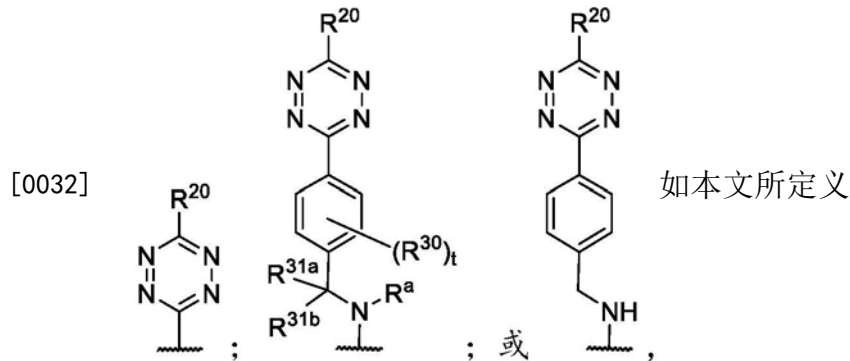
[0027] R''在每次出现时独立地选自芳基和烷基；

[0028] R³⁰是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基；烯基、炔基、烷氧基；卤代烷氧基；杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基；

[0029] R^a、R^{31a}和R^{31b}各自独立地是氢、C₁-C₆-烷基或C₁-C₆-卤代烷基；并且

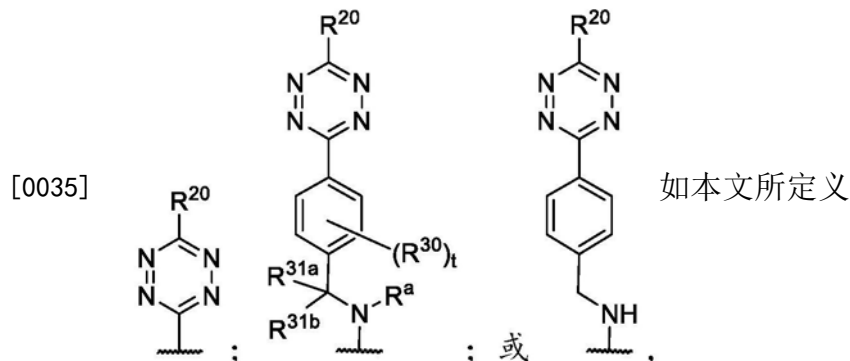
[0030] t是0、1、2、3或4。

[0031] 在另一个方面，本发明提供了一种药物组合，该药物组合包含具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物；和治疗性支持体组合物，该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团

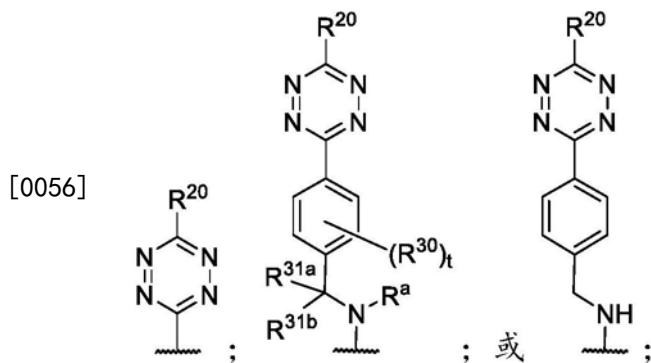


[0033] 该药物组合用于治疗或预防疾病或障碍，例如癌症、感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎；或用于在增强或引发免疫应答中使用。

[0034] 在另一个方面，本发明提供了一种组合在制造药物中的用途，该组合包含具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物；和治疗性支持体组合物，该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



[0036] 该药物用于治疗或预防病症或障碍，例如癌症、感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎；或用于在增强或引发



[0057] 其中 R^{20} 选自由以下组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$; R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;并且 R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基; R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基; R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -卤代烷基;并且 t 是0、1、2、3或4;

[0058] 其中该含四嗪的基团连接至或直接键合至该支持体;

[0059] 和

[0060] c) 治疗有效量的一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐。

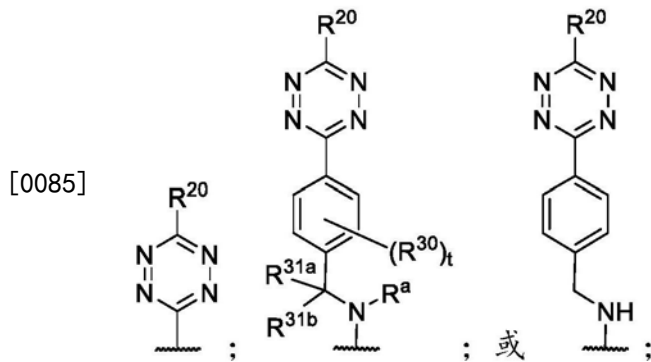
[0061] 在另一个方面,本发明提供了一种包含以下的药物组合:具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;治疗性支持体组合物;和免疫调节剂,该药物组合用于治疗或预防疾病或障碍,例如癌症、感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎;或用于在增强或引发免疫应答中使用。

[0062] 在另一个方面,本发明提供了一种组合在制造药物中的用途,该组合包含:具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;治疗性支持体组合物;和免疫调节剂,该药物用于治疗或预防病症或障碍,例如癌症、感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎;或用于在增强或引发免疫应答中使用。

[0063] 本发明的另一方面提供了一种试剂盒,该试剂盒包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;b)免疫调节剂或其药学上可接受的盐或组合物;和c)使用说明书。

[0064] 本发明的另一方面提供了一种试剂盒,该试剂盒包含a)治疗性支持体组合物;b)免疫调节剂或其药学上可接受的盐或组合物;和c)使用说明书。

[0065] 本发明的另一方面提供了一种药物组合物,该药物组合物包含a)具有式(II-A)或



[0086] 其中 R^{20} 选自由以下组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$; R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;并且 R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基; R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基; R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -卤代烷基;并且 t 是0、1、2、3或4;

[0087] 其中该含四嗪的基团连接至或直接键合至该支持体;

[0088] 其中该受试者患有第二肿瘤并且a)的施用和b)的施用抑制了该受试者的第二肿瘤的生长。

[0089] 在另一个方面,本发明提供了一种在受试者中增强或引发针对第二肿瘤的免疫应答的方法,该方法包括a)向该受试者施用具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐;b)向该受试者在第一肿瘤处局部施用治疗性支持体组合物;其中该具有式(II-A)或(III-A)的化合物和该治疗性支持体组合物是如本文所定义的,并且a)的施用和b)的施用增强或引发了针对第二肿瘤的免疫应答。

[0090] 在另一个方面,本发明提供了一种在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移的方法,该方法包括a)向该受试者施用具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐;和b)向该受试者在第一肿瘤处局部施用治疗性支持体组合物;其中该具有式(II-A)或(III-A)的化合物和该治疗性支持体组合物是如本文所定义的。

[0091] 在另一个方面,本发明提供了一种药物组合,该药物组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物组合用于在抑制受试者的第二肿瘤生长的方法中使用,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0092] 在另一个方面,本发明提供了一种药物组合,该药物组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物组合用于在一种在受试者中增强或引发针对第二肿瘤的免疫应答的方法中使用,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合

物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0093] 在另一个方面,本发明提供了一种药物组合,该药物组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物组合用于在一种在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移的方法中使用,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0094] 在另一个方面,本发明提供了一种组合在制造药物中的用途,该组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物用于抑制第二肿瘤的生长,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0095] 在另一个方面,本发明提供了一种组合在制造药物中的用途,该组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物用于增强或引发针对第二肿瘤的免疫应答,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(I-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0096] 在另一个方面,本发明提供了一种组合在制造药物中的用途,该组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物用于在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

附图说明

[0097] 图1A示出了在右侧腹注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水(G1)、前药1(G2)或前药1和TLR9a激动剂(G3)的全身治疗的小鼠中的体重影响,如实例B1和C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。

[0098] 图1B示出了在右侧腹和左侧腹二者注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在右侧腹的肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水(G4)、阿霉素(G5)、阿霉素和TLR9a激动剂(G6)、前药1和TLR9a激动剂(G7)、或前药1(G8)的全身治疗的小鼠中的体重影响,如实例C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。

[0099] 图2A示出了在右侧腹注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水(G1)、前药1(G2)或前药1和TLR9a激动剂(G3)的全身治疗的小鼠中对肿瘤大小的影响,如实例B1和C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。

[0100] 图2B示出了在右侧腹和左侧腹二者注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在右侧腹的肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水(G4)、阿霉素(G5)、阿霉素和TLR9a激动剂(G6)、前药1和TLR9a激动剂(G7)、或前药1(G8)的全身治疗的小鼠中对右侧腹肿瘤大小的影响,如实例C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误

差 (SEM)。

[0101] 图3A示出了在右侧腹注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水 (G1)、前药1 (G2) 或前药1和TLR9a激动剂 (G3) 的全身治疗的小鼠中对肿瘤大小的影响,如实例B1和C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误差 (SEM)。

[0102] 图3B示出了在右侧腹和左侧腹二者注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在右侧腹的肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水 (G4)、阿霉素 (G5)、阿霉素和TLR9a激动剂 (G6)、前药1和TLR9a激动剂 (G7)、或前药1 (G8) 的全身治疗的小鼠中对右侧腹肿瘤大小的影响,如实例C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误差 (SEM)。

[0103] 图4示出了在右侧腹和左侧腹二者注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在右侧腹的肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水 (G4)、阿霉素 (G5)、阿霉素和TLR9a激动剂 (G6)、前药1和TLR9a激动剂 (G7)、或前药1 (G8) 的全身治疗的小鼠中对左侧腹肿瘤大小的影响,如实例C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误差 (SEM)。

[0104] 图5示出了在右侧腹和左侧腹二者注射了MC38结直肠肿瘤细胞并且在右侧腹的肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用盐水 (G4)、阿霉素 (G5)、阿霉素和TLR9a激动剂 (G6)、前药1和TLR9a激动剂 (G7)、或前药1 (G8) 的全身治疗的小鼠中对左侧腹肿瘤大小的影响,如实例C1中所述。数据点表示组平均体重。误差条表示平均值的标准误差 (SEM)。

[0105] 图6A示出治疗组G4、G5和G8的治疗时间表。

[0106] 图6B示出了右侧腹肿瘤注射了生物材料随后进行治疗组G4、G5和G8的治疗对其体积生长的影响的比较。阴影区域代表生物材料1/前药1治疗持续时间。

[0107] 图6C示出了左侧腹肿瘤未注射生物材料随后进行治疗组G4、G5和G8的治疗对其体积生长的影响的比较。阴影区域代表生物材料1/前药1治疗持续时间。

[0108] 图6D示出了治疗组G4、G5和G8中小鼠的卡普兰梅耶 (Kaplan-Meier) 存活曲线。

[0109] 图7A示出了治疗组G8中单个小鼠的肿瘤生长曲线。

[0110] 图7B示出了治疗组G5中单个小鼠的肿瘤生长曲线。

[0111] 图7C示出了治疗组G4中单个小鼠的肿瘤生长曲线。

[0112] 图8示出了在治疗后2周治疗组G8在注射了生物材料的右侧腹肿瘤中的肿瘤浸润免疫细胞谱。

[0113] 图9示出了在治疗后2周治疗组G8在未注射生物材料的左侧腹肿瘤中的肿瘤浸润免疫细胞谱。

[0114] 图10A示出了在右侧腹注射了MC38结直肠肿瘤细胞 (第0天) 并且在肿瘤注射部位处用修饰的透明质酸钠生物材料治疗结合用前药1 (G2) 的全身治疗随后是在左侧腹进行MC38结直肠肿瘤细胞的第二次注射 (在第70天) (如在图10A中的箭头所示出) 的一只小鼠中对肿瘤大小的影响,如实例C1中所述。

[0115] 图10B示出了图10A的治疗组与在同一天注射了MC38结直肠肿瘤细胞的五只首次接受试验的小鼠的影响的比较。

[0116] 图11示出了治疗组G4、G6和G7中小鼠的卡普兰梅耶 (Kaplan-Meier) 存活曲线。存活的统计显著性***通过对数秩 (曼特尔-考克斯 (Mantel-Cox)) 检验来确定。

具体实施方式

[0117] 1. 定义

[0118] 除非另外定义,本文所用的所有技术术语和科学术语均与本领域普通技术人员通常所理解的具有相同的含义。在有矛盾的情况下,将以本文件(包括定义)为准。虽然类似或者等效于本文所述的那些的方法以及材料可以用于本发明的实践或者测试中,但是以下描述了优选的方法以及材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用以其全文并入。本文披露的材料、方法以及实例仅是说明性的并且不旨在是限制性的。

[0119] 如本文所用,术语“包含 (comprise (s))”、“包括 (include (s))”、“具有 (having)”、“有 (has)”、“可以 (can)”、“含有 (contain (s))”及其变体旨在是不排除另外的行为或结构可能性的开放式过渡短语、术语或单词。单数形式“一个/种 (a/an)”和“该 (the)”包括复数个指示物,除非上下文中另外明确指明。本披露还设想其他实施例,这些实施例“包括”本文所提出的实施例或要素、“由其组成”和“基本上由其组成”,不管是否明确阐述。

[0120] 与数量结合使用的修饰语“约”包括所述值并具有上下文所指示的含义(例如,它至少包括与特定数量的测量相关的误差度)。修饰语“约”也应被视为披露由两个端点的绝对值所定义的范围。例如,表达“从约2至约4”也披露了“从2到4”的范围。术语“约”可以指指示数的正或负10%。例如,“约10%”可表示9%至11%的范围,并且“约1”可意指从0.9-1.1。从上下文中可以明显看出“约”的其他含义,例如四舍五入,因此,例如“约1”也可以意指从0.5至1.4。

[0121] 连接术语“或”包括通过该连接术语关联的一种或多种所列出的要素的任何和所有组合。例如,短语“包括A或B的设备”可以指包括A的设备(其中不存在B)、包括B的设备(其中不存在A)、或者A和B两者均存在的设备。短语“A、B、...以及N中的至少一个”或者“A、B、...N中的至少一个或其组合”在最广义的意义上定义为意指选自包括A、B、...以及N的组的一种或多种要素,也就是说,要素A、B、...或N中的一种或多种的任何组合包括单独的或与一种或多种其他要素组合的任一种要素,这些其他要素也可以包括组合的未列出的另外要素。

[0122] 下文更详细地描述特定官能团和化学术语的定义。出于本披露的目的,化学元素根据元素周期表,CAS版,Handbook of Chemistry and Physics[化学与物理手册],第75版,内封面进行鉴定,并且特定官能团通常如其中所述定义。此外,有机化学的一般原理以及特定官能部分和反应性描述于Organic Chemistry[有机化学],Thomas Sorrell, University Science Books[大学科学书籍],索萨利托,1999;Smith和March March's Advanced Organic Chemistry[马奇的高等有机化学],第5版,John Wiley&Sons, Inc.[约翰威利父子出版公司],纽约,2001;Larock,Comprehensive Organic Transformations[综合有机转化],VCH Publishers, Inc.[VCH出版公司],纽约,1989;Carruthers,Some Modern Methods of Organic Synthesis[有机合成中的一些新方法],第3版,Cambridge University Press[剑桥大学出版社],剑桥,1987;这些参考文献各自的全部内容均通过引用并入本文。

[0123] 如本文所用的术语“烷氧基”是指通过氧原子附接至母体分子部分的如本文所定义的烷基基团。烷氧基的代表性实例包括但不限于：甲氧基、乙氧基、丙氧基、2-丙氧基、丁氧基和叔丁氧基。

[0124] 如本文所用的术语“烷基”意指含有从1至30个碳原子的直链或支链的饱和烃链。术语“低级烷基”或“C₁-C₆-烷基”意指含有从1至6个碳原子的直链或支链烃。术语“C₁-C₃-烷基”意指含有从1至3个碳原子的直链或支链烃。烷基的代表性实例包括但不限于：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正庚基、正辛基、正壬基、和正癸基。

[0125] 如本文所用的术语“烯基”意指具有至少一个碳-碳双键的含有从2至30个碳原子的烃链。烯基基团可以是取代的或未取代的。例如，烯基基团可以被芳基基团如苯基取代。

[0126] 如本文所用，术语“炔基”是指具有从2至30个碳原子，如2至20或2至10个碳原子且具有至少1个三键不饱和位点的直链或支链的单价烃基基团。术语“炔烃”还包括具有从5至20个碳原子（如从5至10个碳原子）、具有单个或多个环且具有至少一个三键的非芳香族环烷基基团。这样的炔基基团的实例包括但不限于乙炔基（-C≡CH）和炔丙基（-CH₂C≡CH）以及环炔基部分，如但不限于取代的或未取代的环辛炔部分。

[0127] 如本文所用的术语“烷氧基烷基”是指通过如本文所定义的烷基基团附接至母体分子部分的如本文所定义的烷氧基基团。

[0128] 如本文所用，术语“亚烷基”是指衍生自具有1至30个碳原子，例如具有2至10个碳原子的直链或支链烃的二价基团。亚烷基的代表性实例包括但不限于：-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂CH₂-、和-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-。

[0129] 术语“氨基酸”是指天然氨基酸和非天然氨基酸两者。它还包括受保护的天然氨基酸和非天然氨基酸。

[0130] 如本文所用的术语“芳基”是指苯基基团或双环芳基或三环芳基稠合环系统。双环稠合环系统由附接至母体分子部分并与苯基基团稠合的苯基基团举例说明。三环稠合环系统由附接至母体分子部分并与两个其他苯基基团稠合的苯基基团举例说明。双环芳基的代表性实例包括但不限于萘基。三环芳基的代表性实例包括但不限于蒽基。单环、双环和三环芳基通过这些环内包含的任何碳原子连接至母体分子部分，并且可以是未取代的或取代的。

[0131] 如本文所用的术语“叠氮化物”是指官能团-N₃。

[0132] 如本文所用的术语“环烷基”是指含有三至十个碳原子、零个杂原子和零个双键的碳环环系统。环烷基的代表性实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基、以及环癸基。“环烷基”还包括碳环环系统，其中环烷基基团附接至母体分子部分并与如本文所定义的芳基基团、如本文所定义的杂芳基基团或如本文所定义的杂环稠合。

[0133] 如本文所用的术语“环烯基”是指含有至少一个碳-碳双键且优选每个环具有从5-10个碳原子的非芳香族单环或多环的环系统。示例性的单环环烯基环包括环戊烯基、环己烯基或环庚烯基。

[0134] 如本文所用的术语“环辛烯”是指具有8个碳原子且具有带双键的单环的取代的或未取代的非芳香族环状烷基基团。这样的环辛烯基团的实例包括但不限于取代的或未取代

的反式环辛烯(TCO)。

[0135] 如本文所用的术语“氟烷基”意指其中一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被氟替代的如本文所定义的烷基基团。氟烷基的代表性实例包括但不限于:2-氟乙基、2,2,2-三氟乙基、三氟甲基、二氟甲基、五氟乙基、和三氟丙基例如3,3,3-三氟丙基。

[0136] 如本文所用的术语“烷氧基氟烷基”是指通过如本文所定义的氟烷基基团附接至母体分子部分的如本文所定义的烷氧基基团。

[0137] 如本文所用的术语“氟烷氧基”意指如本文所定义的至少一个氟烷基基团通过氧原子附接至母体分子部分。氟烷氧基的代表性实例包括但不限于二氟甲氧基、三氟甲氧基和2,2,2-三氟乙氧基。

[0138] 如本文所用的术语“卤素”或“卤代”意指Cl、Br、I或F。

[0139] 如本文所用的术语“卤代烷基”意指其中一个、二个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被卤素替代的如本文所定义的烷基基团。

[0140] 如本文所用的术语“卤代烷氧基”意指如本文所定义的至少一个卤代烷基基团通过氧原子附接至母体分子部分。

[0141] 如本文所用的术语“杂烷基”意指其中一个或多个碳原子已被选自S、Si、O、P和N的杂原子替代的如本文所定义的烷基基团。杂原子可以被氧化。杂烷基的代表性实例包括但不限于:烷基醚、烷基仲胺和烷基叔胺、和烷基硫化物。

[0142] 如本文所用的术语“杂芳基”是指芳香族单环或芳香族双环的环系统或芳香族三环的环系统。芳香族单环是含有至少一个独立地选自由N、O和S组成的组的杂原子(例如,独立地选自O、S和N的1、2、3或4个杂原子)的五元或六元环。该五元芳香族单环具有两个双键,并且该六元芳香族单环具有三个双键。双环杂芳基由以下举例说明:与母体分子部分附接并与如本文所定义的单环烷基基团、如本文所定义的单环芳基基团、如本文所定义的单环杂芳基基团或如本文所定义的单环杂环稠合的单环杂芳基环。三环杂芳基基团由附接至母体分子部分并与如本文所定义的单环烷基基团、如本文所定义的单环芳基基团、如本文所定义的单环杂芳基基团或如本文所定义的单环杂环中的两个稠合的单环杂芳基环举例说明。单环杂芳基的代表性实例包括但不限于吡啶基(包括吡啶-2-基、吡啶-3-基、吡啶-4-基)、嘧啶基、吡嗪基、噻吩基、呋喃基、噻唑基、噻二唑基、异噻唑基、吡唑基、以及2-氧代-1,2-二氢吡啶基。双环杂芳基的代表性实例包括但不限于色烯基、苯并噻吩基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并三唑基、喹啉基、噻吩并吡咯基、噻吩并噻吩基、咪唑并噻唑基、苯并噻唑基、苯并呋喃基、吲哚基、喹啉基、咪唑并吡啶、苯并噻二唑基、以及苯并吡唑基。三环杂芳基的代表性实例包括但不限于二苯并呋喃基和二苯并噻吩基。单环杂芳基、双环杂芳基和三环杂芳基通过这些环内包含的任何碳原子或任何氮原子连接至母体分子部分,并且可以是未取代的或取代的。

[0143] 如本文所用的术语“杂环”或“杂环的”意指单环杂环、双环杂环、或三环杂环。单环杂环是含有至少一个独立地选自由O、N和S组成的组的杂原子的三元、四元、五元、六元、七元或八元环。三元或四元环含有零个或一个双键和一个选自由O、N和S组成的组的杂原子。五元环含有零个或一个双键和一个、两个或三个选自由O、N和S组成的组的杂原子。六元环含有零个、一个或两个双键和一个、两个或三个选自由O、N和S组成的组的杂原子。七元和八

元环含有零个、一个、两个或三个双键和一个、两个或三个选自由O、N和S组成的组的杂原子。单环杂环的代表性实例包括但不限于氮杂环丁烷基、氮杂环庚烷基、氮丙啶基、二氮杂环庚烷基、1,3-二噁烷基、1,3-二氧戊环基、1,3-二硫戊环基、1,3-二噻烷基、1,3-二甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑啉基、异噻唑烷基、异噻唑啉基、异噻唑烷基、吗啉基、噁二唑啉基、噁二唑烷基、噁唑啉基、噁唑烷基、氧杂环丁烷基、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡啉基、吡啶烷基、吡咯啉基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢吡啶基、四氢噻吩基、噻二唑啉基、噻二唑烷基、1,2-噻嗪烷基、1,3-噻嗪烷基、噻唑啉基、噻唑烷基、硫代吗啉基、1,1-二氧化硫代吗啉基(硫代吗啉砜)、噻喃基、以及三硫烷基。该双环杂环是与苯基基团稠合的单环杂环、或与单环烷基稠合的单环杂环、或与单环烯基稠合的单环杂环、或与单环杂环稠合的单环杂环、或螺杂环基、或桥联的单环杂环系统,其中该环的两个非相邻原子通过1、2、3或4个碳原子的亚烷基桥连接,或通过两个、三个或四个碳原子的亚烯基桥连接。双环杂环的代表性实例包括但不限于苯并吡喃基、苯并噻喃基、苯并二氢吡喃基、2,3-二氢苯并呋喃基、2,3-二氢苯并噻吩基、2,3-二氢异喹啉、2-氮杂螺[3.3]庚-2-基、氮杂双环[2.2.1]庚基(包括2-氮杂双环[2.2.1]庚-2-基)、2,3-二氢-1H-吡啶基、异吡啶基、八氢环戊[c]吡咯基、八氢吡咯并吡啶基、以及四氢异喹啉基。三环杂环由以下举例说明:与苯基基团稠合的双环杂环、或与单环烷基稠合的双环杂环、或与单环烯基稠合的双环杂环、或与单环杂环稠合的双环杂环,或双环杂环,其中该双环的两个不相邻的原子通过1、2、3或4个碳原子的亚烷基桥或二个、三个或四个碳原子的亚烯基桥连接。三环杂环的实例包括但不限于八氢-2,5-环氧并环戊二烯、六氢-2H-2,5-桥亚甲基环戊二烯并[b]呋喃、六氢-1H-1,4-桥亚甲基环戊二烯并[c]呋喃、氮杂-金刚烷(1-氮杂三环[3.3.1.1^{3,7}]癸烷)、以及氧杂-金刚烷(2-氧杂三环[3.3.1.1^{3,7}]癸烷)。单环杂环、双环杂环和三环杂环通过这些环内包含的任何碳原子或任何氮原子连接至母体分子部分,并且可以是未取代的或取代的。

[0144] 如本文所用的术语“羟基”意指-OH基团。

[0145] 如本文所用的术语“羟基烷基”意指其中一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或八个氢原子被羟基基团替代的如本文所定义的烷基基团。

[0146] 在一些情况下,烃基取代基(例如,烷基或环烷基)中的碳原子数由前缀“C_x-C_y-”或“C_{x-y}”表示,其中x是该取代基中碳原子的最小数目并且y是最大数目。因此,例如“C₁-C₃-烷基”和“C₁₋₃烷基”是指含有从1至3个碳原子的烷基取代基。两种惯例“C_x-C_y-”和“C_{x-y}”可以互换使用并且具有相同的含义。

[0147] 在一些情况下,烃基取代基(例如,烷基或环烷基)中的碳原子数由前缀“C_x-C_y-”表示,其中x是该取代基中碳原子的最小数目并且y是最大数目。因此,例如,“C₁-C₃-烷基”是指含有从1至3个碳原子的烷基取代基。

[0148] 术语“取代的”是指可以进一步被一个或多个非氢取代基基团取代的基团。取代基基团包括但不限于卤素、=O、=S、氰基、硝基、氟烷基、烷氧基氟烷基、氟烷氧基、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、卤代烷氧基、杂烷基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基烷基、杂芳基烷基、芳基烷基、羟基、羟基烷基、烷氧基、烷氧基烷基、亚烷基、芳氧基、苯氧基、苄氧基、氨基、烷基氨基、酰基氨基、氨基烷基、芳基氨基、磺酰基氨基、亚磺酰基氨基、磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、氨基磺酰基、亚磺酰基、-COOH、酮、酰胺、氨基甲酸酯、以及酰基。

[0149] 术语“四嗪”是指具有2个碳原子和4个氮原子且具有带三个双键的单环的取代的或未取代的芳香族环状基团。四嗪基团的实例包括1,2,3,4-四嗪和1,2,4,5-四嗪。如本文所用,1,2,4,5-四嗪被称为“Tz”基团。

[0150] 术语“选择性递送”是指将药剂(例如有效负载)递送至需要治疗或诊断的器官或组织(或其部分),而不与其他非目标器官或组织(或其部分)显著结合。

[0151] 术语“有效负载”是指用于递送至受试者中的目标部位的药剂。有效负载包括治疗剂。

[0152] 术语“治疗剂”是指能够治疗和/或改善受试者中的病症或疾病或其一种或多种症状的药剂。本披露的治疗剂还包括治疗剂的前药形式。

[0153] 术语“诊断剂”是指有助于诊断病症或疾病的药剂。代表性诊断剂包括显像剂,如顺磁剂、光学探针、放射性核素等。顺磁剂是在外部施加的场下具有磁性的显像剂。顺磁剂的实例包括但不限于铁颗粒,包括铁纳米颗粒和铁微颗粒。光学探针是可以通过在一个辐射波长下激发并在第二不同的辐射波长下检测而检测到的荧光化合物。本披露的光学探针包括但不限于Cy5.5、Alexa 680、Cy5、DiD(1,1'-双十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吡啶二碳菁高氯酸盐)、以及DiR(1,1'-双十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吡啶三羧菁碘化物)。其他光学探针包括量子点。放射性核素是经历可检测的放射性衰变的元素。可用于本披露的实施例的放射性核素包括但不限于³H、¹¹C、¹³N、¹⁸F、¹⁹F、⁶⁰Co、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁸Ga、⁸²Rb、⁹⁰Sr、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、¹³⁷Cs、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²¹¹At、Rn、Ra、Th、U、Pu、以及²⁴¹Am。

[0154] 术语“靶向剂”是指特异性地结合至靶标(例如目标器官或组织)、由此在靶向剂与特定靶标之间形成稳定缔合的化学或生物剂。“稳定缔合的”或“稳定的缔合”是指部分在标准生理条件下与另一部分或结构结合或以其他方式缔合。键可以包括共价键和非共价相互作用,如但不限于离子键、疏水相互作用、氢键、范德瓦尔斯力(例如伦敦色散力)、偶极-偶极相互作用等。靶向剂可以是特异性结合对的成员,如但不限于:受体/配体对的成员;受体的配体结合部分;抗体/抗原对的成员;抗体的抗原结合片段;半抗原;凝集素/碳水化合物对的成员;酶/底物对的成员;生物素/抗生物素蛋白;生物素/链霉抗生物素蛋白;地高辛/抗地高辛;DNA或RNA适体结合对的成员;肽适体结合对的成员等。靶向剂包括特异性地结合(或基本上特异性地结合)特定临床上相关的靶受体或细胞表面靶标的配体。配体可以是对靶受体或细胞表面靶标具有特异性亲和力的抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或其他分子。受体和细胞表面靶标的实例包括但不限于PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、BCR-ABL、SRC、JAK2、MAP2K、EML4-ALK、BRAF V600E、4-1BB、GITR、GSK3β、LT4-人mAb,其针对抑制性免疫检查点受体免疫球蛋白样转录物4(ILT4;白细胞免疫球蛋白样受体亚家族B成员2(LILRB2)、淋巴细胞免疫球蛋白样受体2(LIR2)、单核细胞/巨噬细胞免疫球蛋白样受体10(MIR-10)、CD85d或其他细胞受体或细胞表面靶标。

[0155] 术语“目标器官或组织”是指正被靶向用于递送有效负载的器官或组织。用于靶向的代表性器官和组织包括可以被化学或生物靶向剂靶向的那些器官和组织,以及不能被化学或生物靶向剂靶向的那些器官和组织。

[0156] 术语“植入”是指手术植入到受试者的体内。

[0157] 术语“接触(contacting或contact)”是指使至少两种不同的物质接触以使得它们

可以如非共价或共价结合相互作用或结合反应中彼此相互作用的过程。然而,应认识到,所得到的复合物或反应产物可以直接由所添加的试剂之间的相互作用或反应产生或由可以在接触混合物中产生的来自一种或多种所添加的试剂或部分的中间体产生。

[0158] 术语“结合剂”是指具有能够与生物环境中的另一种结合剂的互补官能团形成共价键的官能团的试剂。生物环境中的结合剂之间的结合也可以被称为生物缀合。结合剂包括生物正交结合剂,其是具有生物正交官能团的结合剂。生物正交结合剂的生物正交官能团选择性地与另一生物正交结合配偶体的互补生物正交官能团反应。生物正交结合配偶体之间的选择性反应可以使与其他结合剂、生物化合物或其他非互补生物正交结合剂或非互补生物正交官能团的副反应最小化。生物正交结合剂的生物正交官能团包括但不限于用于经由点击化学反应形成三唑的叠氮化物和炔烃、反式环辛烯(TCO)和四嗪(Tz)(例如1,2,4,5-四嗪)等。可用于本披露的结合剂可以与相应的结合剂具有高反应性,以使得反应是快速的。

[0159] 术语“官能化的”是指具有与该部分附接的官能团的部分,例如像具有与其附接的结合剂官能团(例如生物正交官能团)的部分。

[0160] 术语“施用”是指施用至受试者的任何适合的途径,如但不限于口服施用、作为栓剂施用、局部接触、肠胃外、静脉内、腹膜内、肌肉内、病灶内、鼻内或皮下施用、鞘内施用、或向受试者植入缓释装置,例如微型渗透泵。

[0161] 如本文所用,术语“肠胃外”是指施用的方式,包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下以及关节内注射和输注。

[0162] 术语“离去基团”是指具有吸电子能力的原子(或一组原子),其可以作为稳定的物质被代替,同时带走键合电子。合适的离去基团的实例包括卤化物(例如,Br、Cl、I)、磺酸酯(例如三氟甲磺酸酯、甲磺酸酯、甲苯磺酸酯和对溴苯磺酸酯)、以及硝基酚。

[0163] 术语“药学有效量”和“治疗有效量”是指足以治疗特定障碍或疾病或其一种或多种症状和/或预防该疾病或障碍或其一种或多种症状或降低该疾病或障碍或其一种或多种症状的发生或复发的风险的化合物的量。关于致癌性增生性障碍,药学或治疗有效量包括足以(除其他方面外)引起肿瘤缩小或降低肿瘤生长速率的量。

[0164] 如本文所用,术语“受试者”、“患者”或“生物体”包括人类和哺乳动物(例如,小鼠、大鼠、猪、猫、狗和马)。可以向其施用本披露的一种或多种药剂的典型受试者可以包括哺乳动物,特别是灵长类动物,尤其是人类。对于兽医应用,合适的受试者可以包括例如家畜像牛、绵羊、山羊、奶牛、猪等;家禽像鸡、鸭、鹅、火鸡等;和驯养动物,特别是宠物像狗和猫。对于诊断或研究应用,合适的受试者可以包括哺乳动物,例如啮齿动物(如小鼠、大鼠、仓鼠)、兔、灵长类动物和猪例如近交系猪等。

[0165] 如本文所用的术语“治疗(treating或treatment)”意指患者如哺乳动物(特别是人类)的疾病或医学病症或其一种或多种症状的治疗(treating或treatment),该治疗包括:(a)改善患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状,如消除该疾病或医学病症或其一种或多种症状或引起该疾病或医学病症或其一种或多种症状消退;(b)抑制患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状,例如通过减缓或阻止该疾病或医学病症或其一种或多种症状的发展;或(c)减轻患者的疾病或医学病症或其一种或多种症状的症状。

[0166] 术语“生理条件”意在涵盖与活细胞相容的那些条件,例如主要是与活细胞相容的

温度、pH、盐度等的水性条件。

[0167] 对于本文所述的化合物,其基团和取代基可根据原子和取代基的所允许化合价进行选择,使得选择和取代产生稳定的化合物,例如,该化合物不会自发地经历转化,例如通过重排、环化、消除等。

[0168] 在提供值的范围的情况下,应理解在该范围的上限与下限之间的每个居中值(到下限的十分之一单位,除非上下文中另外明确指明)以及在所陈述范围内的任何其他所陈述的值或居中值均被涵盖在本发明之内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在这些较小范围内,并且也涵盖在本发明内,服从所陈述范围中任何特别排除的限值。在所陈述的范围包括一个或两个限值时,排除了那些被包括的限值的任一个或两个的范围也被包括在本发明之内。

[0169] 对于本文中数字范围的表述,明确地考虑了其具有相同精确度的每个居中数字。例如,对于6-9的范围,除了6和9之外还考虑数字7和8,并且对于范围6.0-7.0,明确考虑了数字6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、和7.0。

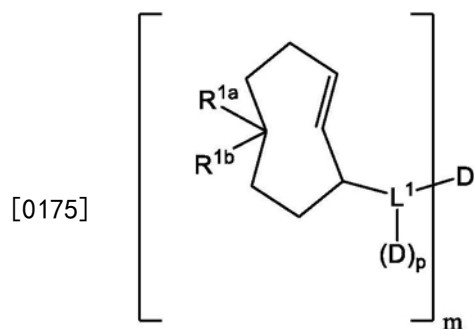
[0170] 应理解的是,为清楚起见,在单独的实施例的上下文中描述的本发明的某些特征也可以在单个实施例中组合提供。相反,为简洁起见,在单一实施例的上下文中描述的本发明的多个特征也可单独提供或以任何合适的子组合提供。与本发明有关的实施例的所有组合明确地由本发明包含并且就如同每个和每一组合被单独地并明确地披露一样在本文中披露,程度为这样的组合包含为例如为稳定化合物(即,可被制备、分离、表征且测试生物活性的化合物)的化合物的主题。此外,各种实施例及其要素(例如,在描述这样的变量的实施例中列举的化学基团的要素)的所有子组合也明确地由本发明包含,并且就如同每个和每一这样的子组合被单独地并明确地在本文中披露一样在本文中披露。

[0171] 2. 组合物

[0172] A. 反式环辛烯官能化的有效负载

[0173] 本披露的反式环辛烯官能化的有效负载包括具有式(I)的化合物,其中 D 、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 L^1 、 m 和 p 是如本文所定义的。

[0174] 具有式(I)的化合物可以具有式(I-A),其中 D 、 R^{1a} 、 R^{1b} 、 L^1 、 m 和 p 是如本文所定义的。



(I-A)。

[0176] 在本文所述的化合物中, R^{1a} 和 R^{1b} 可以是氢。

[0177] 在本文所述的化合物中, R^{1a} 是 C_{1-4} 烷基;并且 R^{1b} 可以选自由 $C(O)OH$ 、 $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、和 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-4}$ 烷基组成的组。 R^{1b} 可以进一步选自由 $C(O)OH$ 、 $C(O)N(R^{1c})$

CHR^{1e}CO₂H和C(O)N(R^{1c})CH₂CO₂H组成的组。

[0178] 在本文所述的化合物中, R^{1e}可以是 -CH₂CO₂H、-CH₂CH₂CO₂H、-CH₂CONH₂、-CH₂CH₂CONH₂、-CH₂OH、或 -CH(CH₃)OH; 或R^{1e}可以是 -C₁₋₄亚烷基-CO₂H; 或R^{1e}是 -CH₂CO₂H。

[0179] 在本文所述的化合物中, R^{1a}可以是氢。

[0180] 在本文所述的化合物中, R^{1a}可以是C₁₋₄烷基。

[0181] 在本文所述的化合物中, R^{1a}可以是CH₃。

[0182] 在本文所述的化合物中, R^{1b}可以是氢。

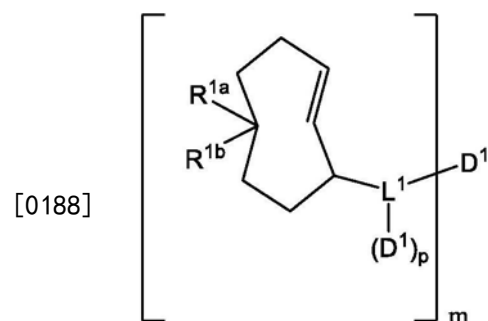
[0183] 在本文所述的化合物中, R^{1b}可以是C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-CO₂H。

[0184] 在本文所述的化合物中, R^{1b}可以是C(O)N(R^{1c})CH₂CO₂H。

[0185] 在本文所述的化合物中, R^{1b}可以是C(O)OH。

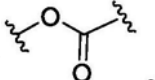
[0186] 在本文所述的化合物中, R^{1c}可以是氢。

[0187] 本披露的反式环辛烯官能化的有效负载包括具有式(I-B)的化合物或其药学上可接受的盐,



(I-B)

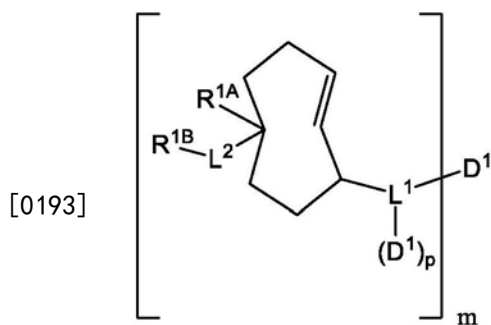
[0189] 其中D¹在每次出现时独立地是有效负载, 该有效负载选自抗癌药物有效负载、微生物免疫抑制药物有效负载、抗再狭窄药物有效负载、抗生素药物有效负载、抗真菌药物有效负载、抗病毒药物有效负载、抗炎药物/抗关节炎药物有效负载、皮质类固醇药物有效负载和免疫抑制剂药物有效负载; 并且R^{1a}、R^{1b}、L¹、p和m是如本文对于式(I-B)所定义的。例如,

p可以是0; m是1; 并且L¹是 。

[0190] 在一些实施例中, 抗癌药物是阿霉素。

[0191] 本披露的反式环辛烯官能化的有效负载包括具有式(II-A)的化合物, 其中D¹、R^{1A}、R^{1B}、L¹、L²、m和p是如本文所定义的。

[0192] 具有式(II-A)的化合物可以具有式(II-A'), 其中D¹、R^{1A}、R^{1B}、L¹、m和p是如本文所定义的。



(II-A')

[0194] 在一些实施例中, R^{1B} 选自由 G^1 、OH、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- G^1 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 、和 $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ 组成的组; R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2OH$ 、或 $-CH(CH_3)OH$; 并且 R^{1f} 是氢或 CH_2CO_2H , 其中 n 、 G^1 和 R^{1c} 是如本文所定义的。

[0195] 在一些实施例中, R^{1A} 是 C_{1-4} 烷基; R^{1B} 选自由 G^1 、OH、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- G^1 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 、和 $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ 组成的组; R^{1e} 是 $-C_{1-4}$ 亚烷基- CO_2H ; R^{1f} 是氢或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ; G^1 是含有第一氮和任选地一个另外的选自氮、氧和硫的杂原子的 4 至 8 元单环的杂环基, G^1 附接在该第一氮处并且任选地被 1-4 个独立地选自 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤代、氰基、OH、 $-OC_{1-4}$ 烷基、和氧代组成的组的取代基取代; 并且 n 是 0、1 或 2, 其中 R^{1c} 和 R^{1d} 是如本文所定义的。

[0196] 在一些实施例中, R^{1A} 是 CH_3 ; R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$; R^{1f} 是氢或 CH_2CO_2H ; 并且 G^1 是哌嗪基 (如哌嗪-1-基)、吗啉基 (如吗啉-4-基)、哌啶基 (如哌啶-1-基)、氮杂环庚烷基 (如氮杂环庚烷-1-基)、或吡咯烷基 (如吡咯烷-1-基), G^1 通过环氮原子附接并且任选地被 1-4 个独立地选自 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤代、氰基、OH、 $-OC_{1-4}$ 烷基、和氧代组成的组的取代基取代。

[0197] 在一些实施例中, L^2 是 $-C(O)-$ 。

[0198] 在一些实施例中, R^{1B} 选自由 OH、 $N(H)CH_2CO_2H$ 、 $-N(H)CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(H)-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ 、和 $-N(CH_2CO_2H)-CH_2CH_2-N(CH_2CO_2H)_2$ 组成的组; 并且 R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$ 。

[0199] 在一些实施例中, L^2 是 $-C(O)-$; R^{1A} 是 C_{1-4} 烷基; R^{1B} 是 OH、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、或 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 亚烷基- $(N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)-C_{2-4}$ 亚烷基) $_n-N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)_2$; R^{1c} 是氢或 C_{1-4} 烷基; R^{1e} 是 $-C_{1-4}$ 亚烷基- CO_2H ; R^{1f} 是氢或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ; 并且 m 、 n 、 p 、 D^1 、和 L^1 是如本文所定义的。

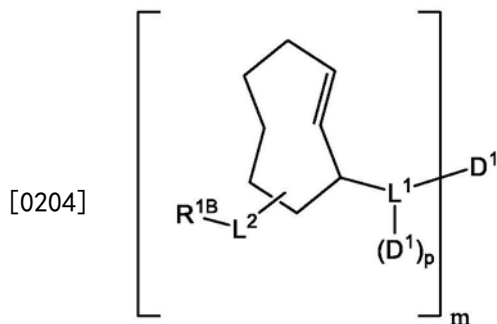
[0200] 在一些实施例中, L^2 是 $-C(O)-$; R^{1A} 是 C_{1-4} 烷基; R^{1B} 是 OH、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 、或 $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$; R^{1c} 是氢或 C_{1-4} 烷基; R^{1e} 是 $-C_{1-4}$ 亚烷基- CO_2H ; R^{1f} 是氢或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ; 并且 m 、 n 、 p 、 D^1 、和 L^1 是如本文所定义的。

[0201] 在进一步的实施例中, L^2 是 $-C(O)-$; R^{1A} 是 CH_3 ; R^{1B} 是 OH、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 、或 $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$; R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2OH$ 、或 $-CH(CH_3)OH$; R^{1f} 是氢或 CH_2CO_2H , R^{1c} 是氢或 CH_3 ; 并且 m 、 n 、 p 、 D^1 、和 L^1 是如本文所定义的。

[0202] 在仍进一步的实施例中, L^2 是 $-C(O)-$; R^{1A} 是 CH_3 ; R^{1B} 是 OH、 $N(H)CH_2CO_2H$ 、 $-N(H)$

$\text{CHR}^{1e}\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2\text{CH}_2)_n-\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$ 、或 $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$; R^{1e} 是 $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$; 并且 m 、 n 、 p 、 D^1 和 L^1 是如本文所定义的。

[0203] 本披露的反式环辛烯官能化的有效负载包括具有式(III-A)的化合物, 其中 D^1 、 R^{1B} 、 L^1 、 L^2 、 m 和 p 是如本文对于式(II-A)和(II-A')所定义的。



(III-A)

[0205] 在本文所述的化合物中, 接头 L^1 可以具有1至100个连接原子, 并且可以包括乙烯-氧基基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、以及酮官能团。例如, 接头可以具有从1至50个连接原子, 或从5至50个连接原子, 或从10至50个连接原子。

[0206] 接头可以是不可释放的接头。不可释放的接头是在至少两个部分之间形成附接的接头, 其中在使用利用不可释放的接头的组合物的条件下附接未被显著破坏(例如, 接头中的共价键保持完整并且是未裂解的)。

[0207] 接头可以是可释放接头。可释放接头是在至少两个部分之间形成附接的接头, 其中该附接可以在释放条件下被破坏, 以使得这些部分不再彼此附接(例如, 接头中的一个或多个共价键可以被裂解)。可释放接头可以在这些部分之间具有通过使可释放接头暴露于释放条件而破坏的附接, 这些释放条件如但不限于光、热、声音、释放剂(例如, 化学释放剂(例如酸、碱、氧化剂、还原剂)、溶剂、酶等)、其组合等。在一些实施例中, 可释放接头可能不需要施加外部刺激或与释放条件接触来破坏这些部分之间的附接。例如, 可释放接头可以在接头中包括一个或多个不稳定键或官能团, 这些不稳定键或官能团可以自发裂解而无需与外部刺激或释放条件接触, 从而从支持体组合物释放有效负载。可以如以上所描述自发裂解的键或官能团的实例包括但不限于氨基甲酸酯, 其在自发裂解时释放二氧化碳。本披露的包含可释放接头的官能化的有效负载可以有助于将有效负载递送至受试者中的目标位置。

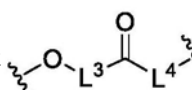
[0208] 在一些情况下, 可以如以上所描述通过使可释放接头与释放条件接触来释放有效负载。释放条件可以是靶标特异性的, 如直接应用于受试者中所希望的目标位置(例如, 治疗性支持体组合物所存在的目标位置)的释放条件。在一些实施例中, 释放条件可以是非特异性的, 如通过使可释放接头暴露于细胞外机制(例如, 肿瘤组织中的低pH、低氧、酶等)。在其他情况下, 有效负载的释放可以通过细胞内(如溶酶体)释放机制(例如, 谷胱甘肽、蛋白酶(例如组织蛋白酶)、分解代谢等)实现。在这些情况下, 可以使治疗性支持体组合物在细胞内内化并随后暴露于该细胞内存在的释放条件。细胞内释放条件(例如, 谷胱甘肽、组织蛋白酶等)可以引起有效负载从治疗性支持体组合物释放, 以使得有效负载可以从细胞分散并对邻近细胞提供治疗效果。这些类型的可释放接头的实例包括但不限于脘(酸不稳定

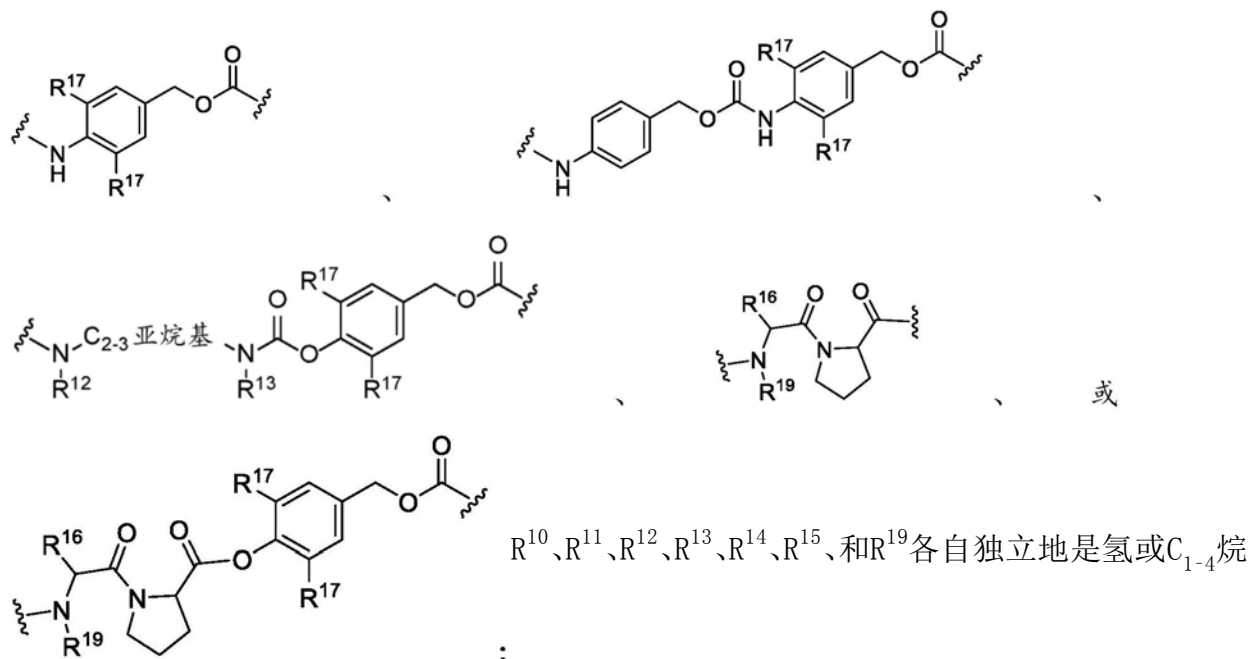
的)、肽接头(组织蛋白酶B可裂解的)、二硫化物部分(硫醇可裂解的)等。这种类型的释放作用机制可以有助于对诸如肿瘤(例如,具有异质受体表达的肿瘤,或具有较差mAb渗透的肿瘤)的疾病或病症提供治疗。

[0209] 在某些实施例中,有效负载和反式环辛烯之间的接头是牺牲型接头。

[0210] 在某些实施例中,有效负载和反式环辛烯之间的接头是pH可调节接头。

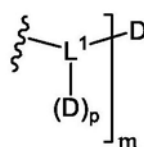
[0211] 在一些情况下,治疗剂通过酰胺键共价附接至接头;例如,治疗剂可以是含胺治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的羰基基团,或者在其他情况下,治疗剂可以是含羧基的治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的胺基团。在一些情况下,治疗剂和接头一起形成氨基甲酸酯基团;例如,治疗剂可以是含胺治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的酰氧基基团。在一些情况下,治疗剂和接头一起形成碳酸酯基团;例如,治疗剂可以是含羟基的治疗剂以用于将治疗剂附接至接头的酰氧基基团。

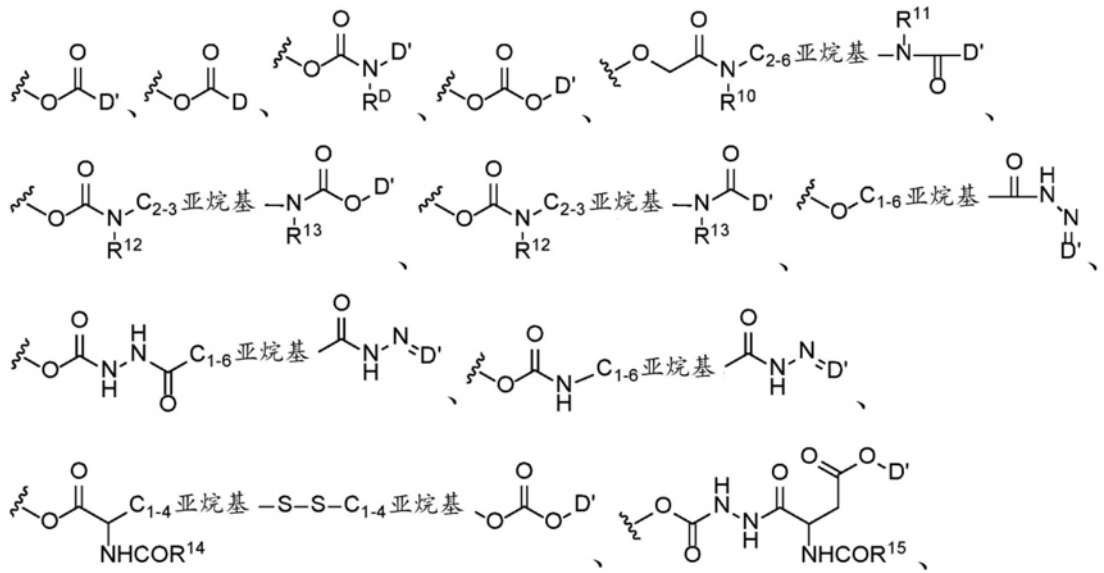
[0212] 例如,在本文所述的化合物中, L^1 可以是  或 -O-; 其中 L^3 是键或 C_{1-6} 亚烷基; L^4 是键、-NHN:、-N(R^{10})- C_{2-6} 亚烷基-N(R^{11})-、-N(R^{12})- C_{2-3} 亚烷基-N(R^{13})C(O)-、-N(R^{10})- C_{1-6} 亚烷基-C(O)NHN:、-NHNHC(O) C_{1-6} 亚烷基-C(O)NHN:、-CH(NHC(O) R^{14}) C_{1-4} 亚烷基-S-S- C_{1-4} 亚烷基-OC(O)-、-NHNHC(O)CH(NHC(O) R^{15}) CH_2 C(O)-、- C_{1-6} 亚烷基-CH(G^x)OC(O)-、



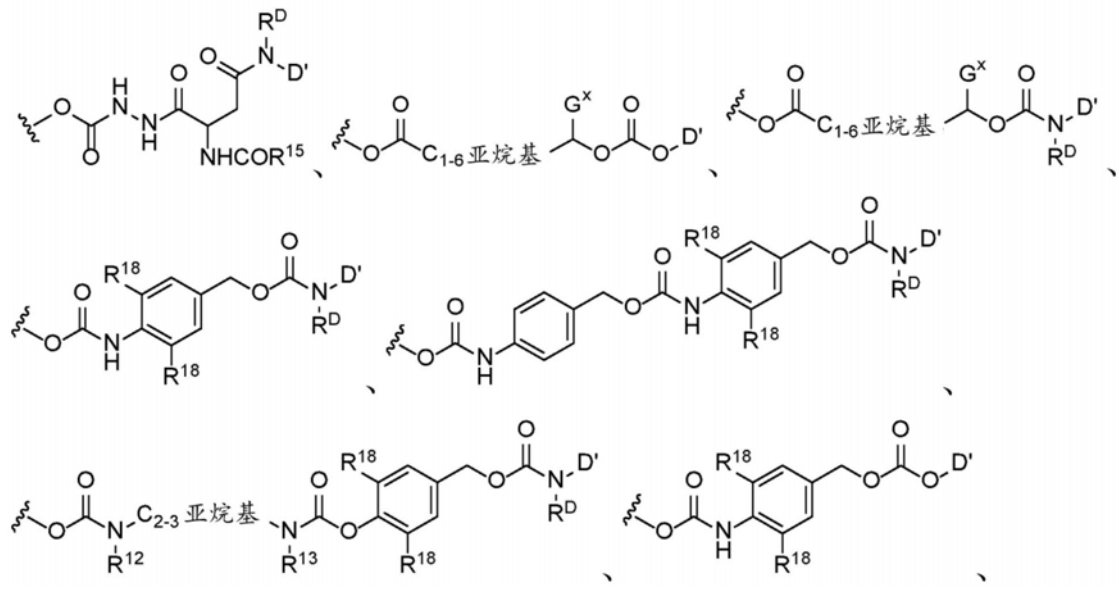
R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、和 R^{19} 各自独立地是氢或 C_{1-4} 烷基;

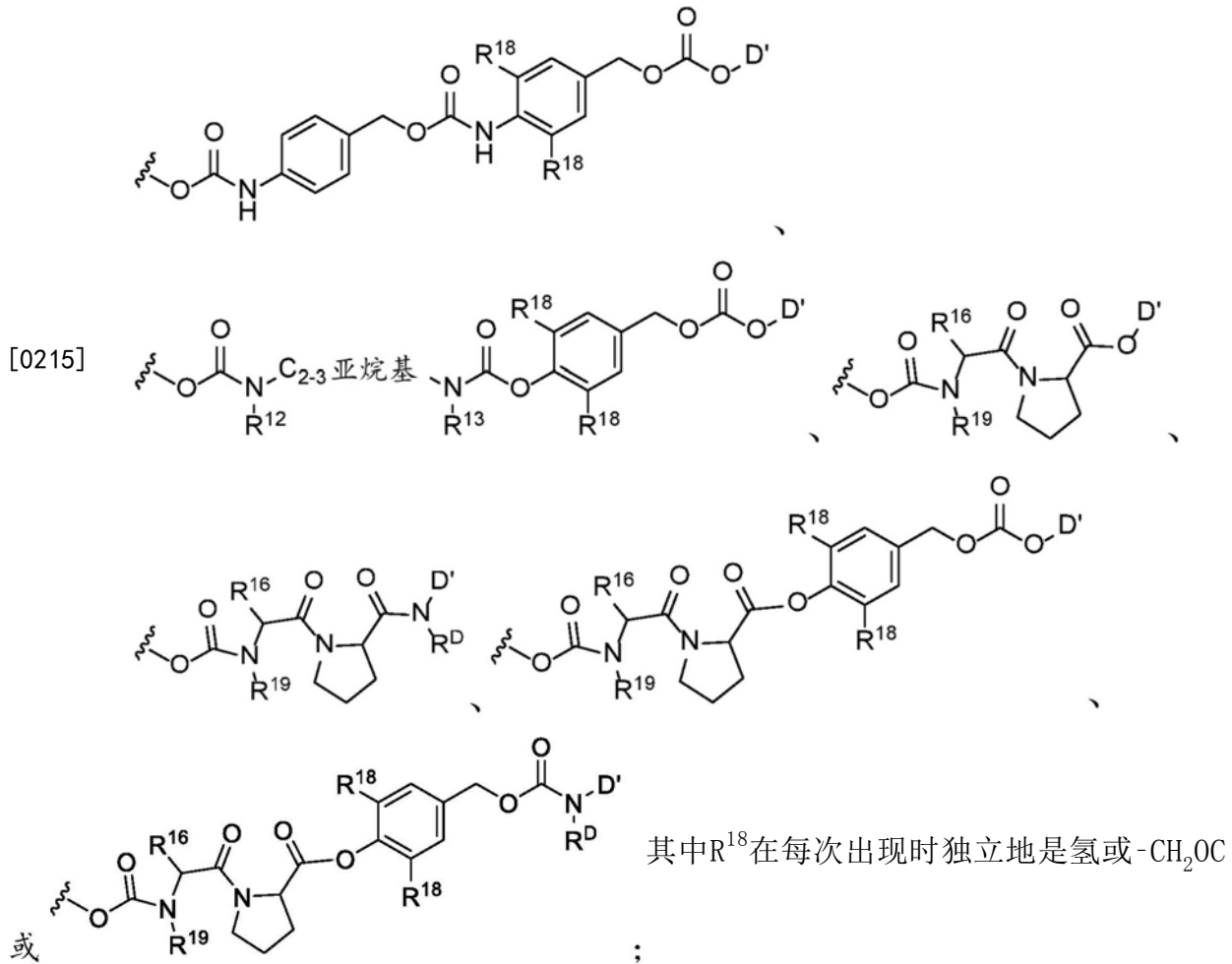
R^{16} 是氢、 C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 亚烷基-OH、- C_{1-4} 亚烷基-OC C_{1-4} 烷基、- C_{1-4} 亚烷基-CO $_2$ H、或- C_{1-4} 亚烷基-CONH $_2$; R^{17} 在每次出现时独立地是氢或-CH $_2$ OC(O)-; 并且 G^x 是任选地被1-5个独立地选自下组的取代基取代的苯基,该组由卤素、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、 C_{1-4} 烷氧基、氰基、和硝基组成。

[0213] 在本文所述的化合物中,m可以是1。在m是1的情况下,  可以是



[0214]

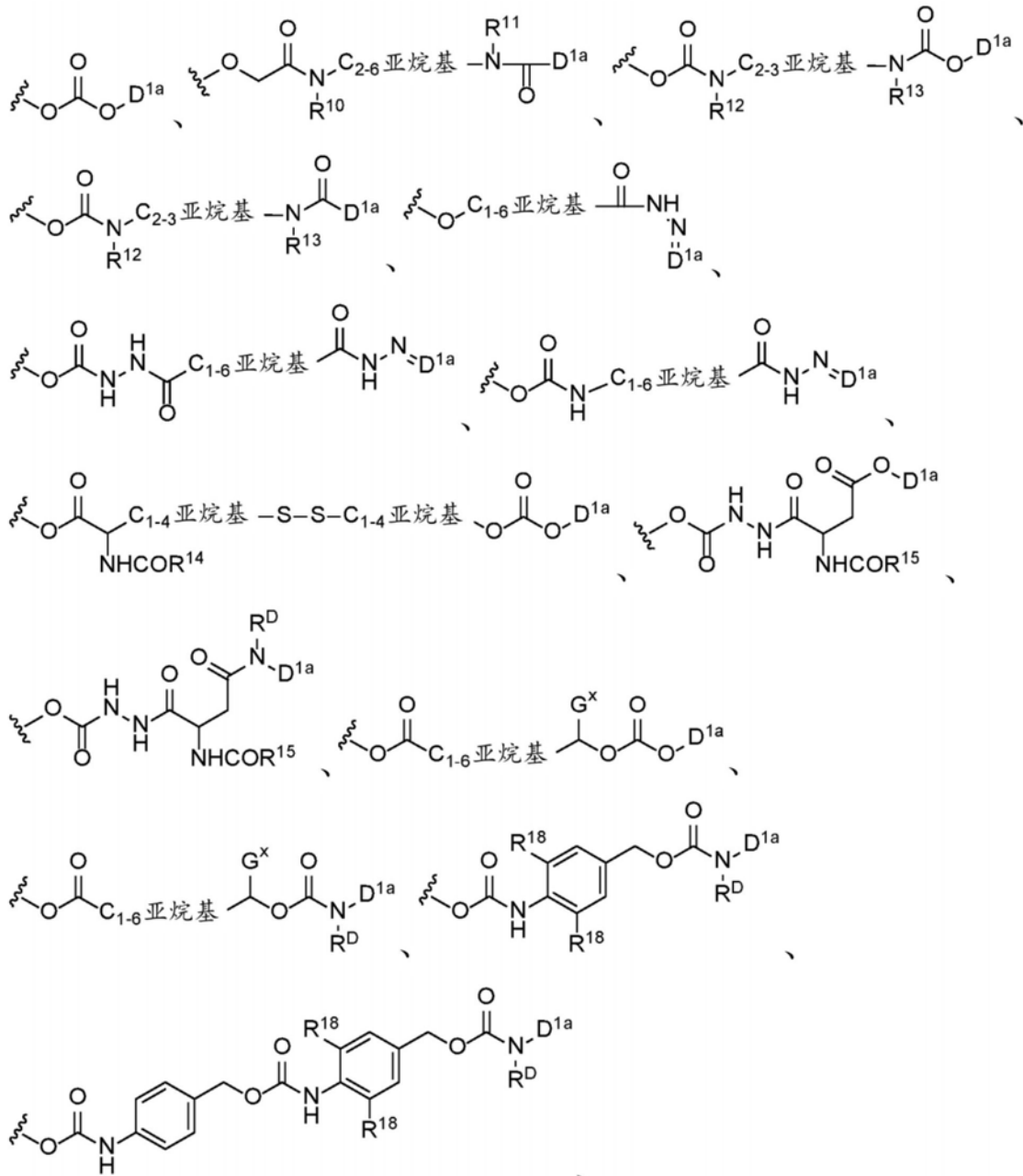


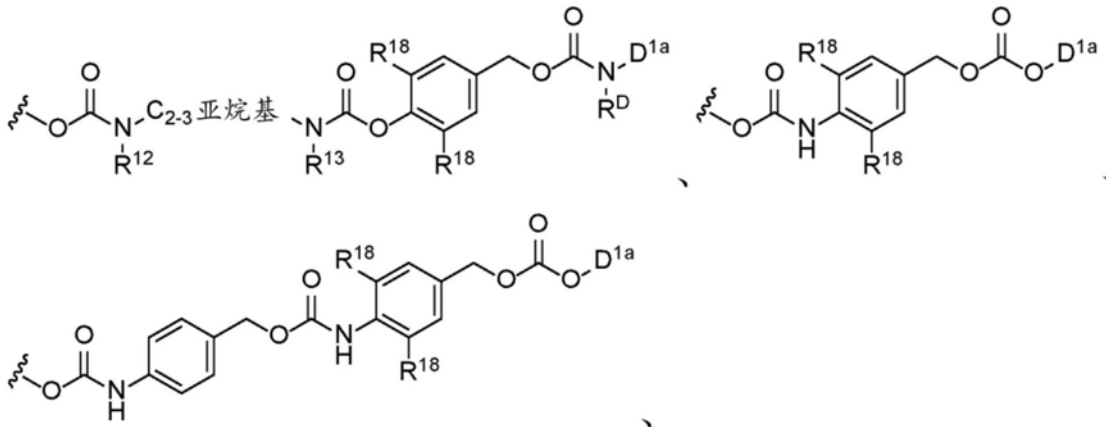


(O)NHD' ; R^D 是有效负载的氮原子上的氢或 C_{1-4} 烷基;并且 D' 是有效负载部分(例如,环状二核苷酸有效负载部分、咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺有效负载部分、TLR激动剂有效负载部分、STING激动剂有效负载部分)。

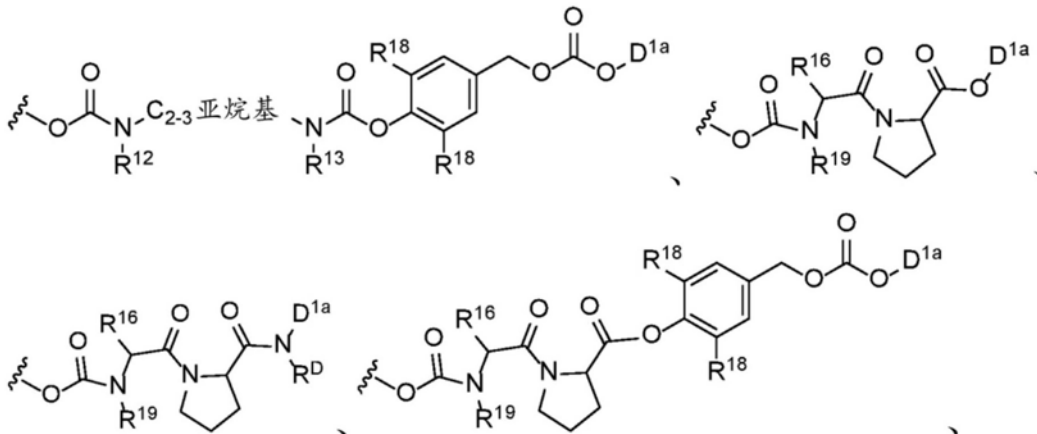
[0216] 在本文所述的化合物中, $\left[\begin{array}{c} \text{S} \\ | \\ \text{L}^1 \\ | \\ (\text{D})_p \end{array} \right]_m \text{D}$ 可以是 $\text{S}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{D}'$, 其中 D' 是环状二核苷酸有效负载部分。

[0217] 在 m 是1的情况下, $\left[\begin{array}{c} \text{S} \\ | \\ \text{L}^1 \\ | \\ (\text{D}^1)_p \end{array} \right]_m \text{D}^1$ 可以是 $\text{S}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{D}^{1a}$, $\text{S}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{D}^1$, $\text{S}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}^D)-\text{D}^{1a}$

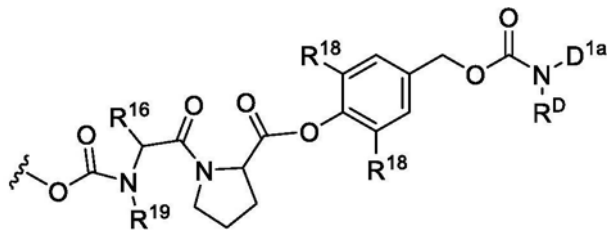




[0218]



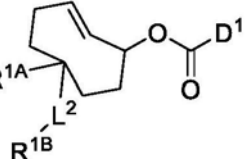
或

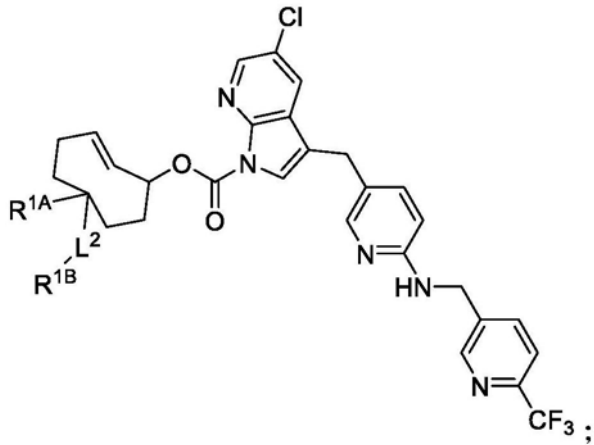
其中 R^{18} 在每次出现时独立地是氢或-

$CH_2OC(O)NHD^{1a}$; R^D 是有效负载的氮原子上的氢或 C_{1-4} 烷基;并且 D^{1a} 是有效负载部分(例如,抗癌有效负载部分)。

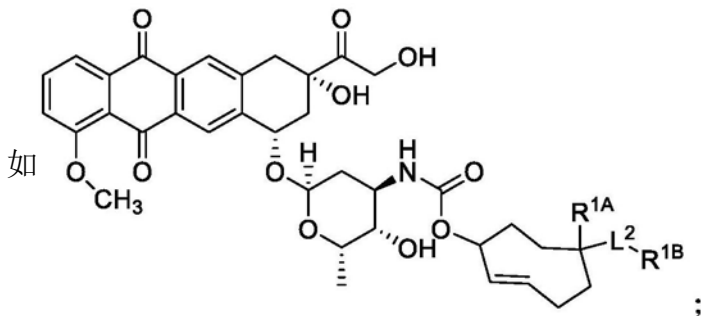
[0219] 本领域技术人员将认识到,与接头键合的有效负载 D/D^1 不是指有效负载分子本身,而是指有效负载分子与接头键合的部分。从本文的化合物释放有效负载 D/D^1 ,释放了有效负载本身。

[0220] 如本文所用的“有效负载部分”是指有效负载 D/D^1 减去其与接头附接的亲核基团(例如 NH 、 NC_{1-4} 烷基、 O 、或 S)或减去其与接头附接的亲电子基团(例如 $C(O)$),即有效负载的

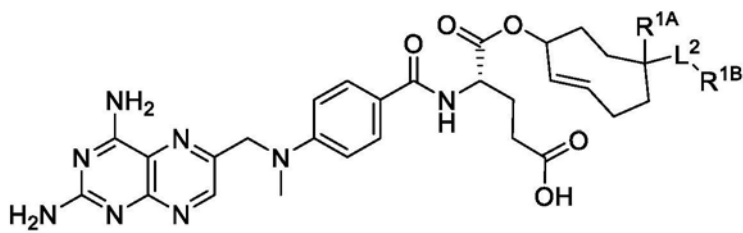
剩余部分。例如,具有式  的化合物包括化合物,例如



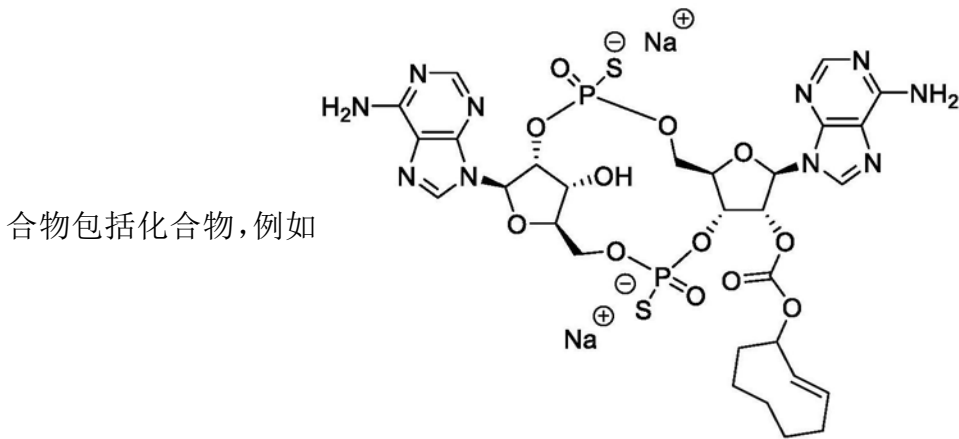
化合物 R^{1A} R^{1B} L^2 H D^{1a} 包括化合物, 例



R^{1A} R^{1B} L^2 D^{1a} 包括化合物, 例如



具有式 R^{1a} R^{1b} D' 的化

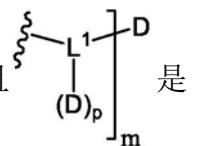


D^1H 、 NH_2 - D^{1a} 、 $HOOC-$

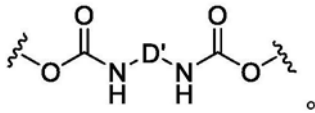
D^{1a} 、或 $HO-D'$ 的释放, 释放了有效负载分子本身。

[0221] 在本文所述的化合物中, p 可以是 0。

[0222] 在本文所述的化合物中, m 可以是 2 或 3。在一些实施例中, m 是 2 并且



是



[0223] 在一些实施例中, m 是 2 并且 $\left[\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{L}^1 \\ | \\ (\text{D}^1)_p \\ | \\ \text{---} \end{array} \right]_m$ 是 $\text{---O---C(=O)---NH---D}^{1a}\text{---NH---C(=O)---O---}$ 。

[0224] D^1 可以是药物有效负载, 其选自抗癌药物有效负载、微生物免疫抑制药物有效负载、或抗再狭窄药物有效负载。抗癌药物可以是选自甲氨蝶呤、嘌呤、嘧啶、植物碱、埃坡霉素、雷公藤甲素化合物、抗生素 (特别是放线菌素 D)、激素、以及抗体的一种或多种。在植物碱中, 可以特别提及紫杉醇、阿霉素、美登素、奥瑞斯他汀、刺孢霉素、倍癌霉素 (duocarmycin)、微管溶素 (tubulysin)、以及喜树碱。微生物免疫抑制药物可以是选自环孢菌素 A、他克莫司及其类似物、德斯格埃林 (despergualin)、霉酚酸酯、雷帕霉素及其衍生物、来自链霉菌属菌株的 FR-900520 物质、来自链霉菌属菌株的 FR-900523 物质、达利珠单抗、戊酰胺、康乐霉素 C、精肌菌素、灵菌红素-25C、曲尼司特、多球壳菌素、环孢菌素 C、布雷青霉素 (bredinin)、霉酚酸、布雷菲德菌素 A、以及酮类固醇的一种或多种。抗再狭窄药物可以是选自巴马司他、金属蛋白酶抑制剂、 17β -雌二醇、NO 供体、2-氯脱氧腺苷、2-脱氧考福霉素、芬戈莫德、霉酚酸钠、 $\text{ISA}_{\text{TX}}247$ (环孢菌素 A 衍生物)、艾赛布可、达利珠单抗、巴利昔单抗、抗胸腺细胞球蛋白、依维莫司、甲氨蝶呤、neoral、环磷酰胺、布喹那钠、来氟米特、以及咪唑立宾的一种或多种。

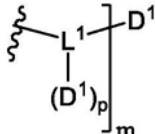
[0225] 示例性抗癌药物包括但不限于醋酸阿比特龙、阿比曲特 (Abitrexate) (甲氨蝶呤)、白蛋白结合型紫杉醇 (Abraxane) (紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品)、ABVD、ABVE、ABVE-PC、AC、AC-T、Adcetris (贝伦妥单抗-维多汀)、ADE、阿多-曲妥珠单抗恩他新、阿霉素 (盐酸阿霉素)、Adrucil (氟尿嘧啶)、二马来酸阿法替尼、Afinitor (依维莫司)、艾特乐 (咪喹莫特)、阿地白介素、阿仑单抗、爱宁达 (培美曲塞二钠)、阿乐喜 (盐酸帕洛诺司琼)、Ambochlorin (苯丁酸氮芥)、Amboclorin (苯丁酸氮芥)、氨基乙酰丙酸、阿那曲唑、阿瑞匹坦、阿可达 (帕米膦酸二钠)、瑞宁得 (阿那曲唑)、阿诺新 (依西美坦)、阿仑恩 (奈拉滨)、三氧化二砷、阿泽那 (奥法木单抗)、天冬酰胺酶菊欧文氏菌、阿瓦斯汀 (贝伐单抗)、阿西替尼、阿扎胞苷、BEACOPP、盐酸苯达莫司汀、BEP、贝伐单抗、蓓萨罗丁、百克沙 (托西莫单抗和 I131 碘托西莫单抗)、比卡鲁胺、博来霉素、硼替佐米、Bosulif (博舒替尼)、博舒替尼、贝伦妥单抗-维多汀、白消安、白舒非 (白消安)、卡巴他塞、苹果酸卡博替尼、CAF、坎帕斯 (阿仑单抗)、开普拓 (盐酸伊立替康)、卡培他滨、CAPOX、卡铂、卡铂-紫杉酚、卡非佐米、康士得 (比卡鲁胺)、CeeNU (洛莫司汀)、司比定 (盐酸柔红霉素)、希瑞适 (重组 HPV 二价疫苗)、西妥昔单抗、苯丁酸氮芥、苯丁酸氮芥-泼尼松、CHOP、顺铂、克拉芬 (环磷酰胺)、氯法拉滨、克洛法里 (氯法拉滨)、科罗拉 (氯法拉滨)、CMF、Cometriq (苹果酸卡博替尼)、COPP、COPP-ABV、可美净 (更生霉素)、克唑替尼、CVP、环磷酰胺、Cyfos (异环磷酰胺)、阿糖胞苷、阿糖胞苷、脂质体、赛德萨-U (阿糖胞苷)、癌得星 (环磷酰胺)、达拉菲尼、达卡巴嗪、达克金 (地西他滨)、更生霉素、达沙替尼、盐酸柔红霉素、地西他滨、地加瑞克、地尼白介素-毒素连接物、地诺单抗、DepoCyt (脂质体阿糖胞苷)、DepoFoam (脂质体阿糖胞苷)、盐酸右雷佐生、多西他赛、Doxil (盐酸阿霉素脂质体、盐酸阿霉素脂质体、Dox-SL (盐酸阿霉素脂质体)、DTIC-Dome (达卡巴

嗉)、氟优(氟尿嘧啶)、埃立特(拉布立酶)、艾伦斯(盐酸表柔比星)、乐沙定(奥沙利铂)、艾曲波帕乙醇胺、伊蒙德(阿瑞吡坦)、恩扎鲁胺、盐酸表柔比星、EPOCH、爱必妥(西妥昔单抗)、甲磺酸艾日布林、Erivedge(维莫德吉)、盐酸埃罗替尼、Erwinaze(天门冬酰胺酶菊欧文氏菌)、凡毕复(磷酸依托泊苷)、依托泊苷、磷酸依托泊苷、Evacet(盐酸阿霉素脂质体)、依维莫司、易维特(盐酸雷洛昔芬)、依西美坦、法乐通(托瑞米芬)、法洛德(氟维司群)、FEC、弗隆(来曲唑)、非格司亭、福达华(磷酸氟达拉滨)、磷酸氟达拉滨、Fluoroplex(氟尿嘧啶)、氟尿嘧啶、Folex(甲氨蝶呤)、Folex PFS(甲氨蝶呤)、Folfiri、Folfiri-贝伐单抗、Folfiri-西妥昔单抗、Folfirinox、Folfox(甲酰四氢叶酸、氟尿嘧啶、奥沙利铂)、Folotyn(普拉曲沙)、FU-LV、氟维司群、加德西(重组HPV四价疫苗)、Gazyva(奥比妥珠单抗)、吉非替尼、盐酸吉西他滨、吉西他滨-顺铂、吉妥珠单抗奥唑米星、健择(盐酸吉西他滨)、Gilotrif(二马来酸阿法替尼)、格列卫(甲磺酸伊马替尼)、羧肽酶、醋酸戈舍瑞林、Halaven(甲磺酸艾日布林)、赫赛汀(曲妥珠单抗)、重组HPV二价疫苗、重组HPV四价疫苗、和美新(盐酸托泊替康)、Hyper-CVAD、替伊莫单抗、依布替尼、ICE、Iclusig(盐酸普那替尼)、Ifex(异环磷酰胺)、异环磷酰胺(Ifosfamide)、异环磷酰胺(Ifosfamidum)(异环磷酰胺(Ifosfamide))、甲磺酸伊马替尼、Imbruvica(伊布替尼)、咪喹莫特、Inlyta(阿昔替尼)、内含子A(重组干扰素 α -2b)、碘131托西莫单抗和托西莫单抗、伊匹单抗、易瑞沙(吉非替尼)、盐酸伊立替康、Istodax(罗米地辛)、伊沙匹隆、Ixempra(伊沙匹隆)、Jakafi(磷酸鲁索替尼)、Jevtana(卡巴他赛)、Kadcyla(阿多-曲妥珠单抗恩他新)、Keoxifene(盐酸雷洛昔芬)、Kepivance(帕利夫明)、Kyprolis(卡非佐米)、二甲苯磺酸拉帕替尼、来那度胺、来曲唑、甲酰四氢叶酸钙、瘤可宁(苯丁酸氮芥)、醋酸亮丙瑞林、Levulan(氨基乙酰丙酸)、Linfolizin(苯丁酸氮芥)、LipoDox(盐酸阿霉素脂质体)、脂质体阿糖胞苷、罗氮芥、利普安(醋酸亮丙瑞林)、利普安储库(醋酸亮丙瑞林)、利普安储库-Ped(醋酸亮丙瑞林)、利普安储库-3个月(醋酸亮丙瑞林)、利普安储库-4个月(醋酸亮丙瑞林)、Marqibo(硫酸长春新碱脂质体)、Matulane(盐酸丙卡巴肼)、盐酸氮芥、梅格施(醋酸甲地孕酮)、醋酸甲地孕酮、Mekinist(曲美替尼)、巯嘌呤、美司钠、Mesnex(美司钠)、Methazolastone(替莫唑胺)、甲氨蝶呤、甲氨蝶呤LPF(甲氨蝶呤)、Mexate(甲氨蝶呤)、Mexate-AQ(甲氨蝶呤)、丝裂霉素C、Mitozytrex(丝裂霉素C)、MOPP、Mozobil(普乐沙福)、Mustargen(盐酸氮芥)、Mutamycin(丝裂霉素C)、马利兰(白消安)、Mylosar(阿扎胞苷)、麦罗塔(吉妥单抗奥佐米星)、纳米颗粒紫杉醇(紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品)、诺维本(酒石酸长春瑞滨)、奈拉滨、Neosar(环磷酰胺)、优保津(非格司亭)、Nexavar(甲磺酸索拉非尼)、尼洛替尼、诺瓦得士(柠檬酸他莫昔芬)、Nplate(罗米司亭)、奥比妥珠单抗、奥法木单抗、高三尖杉酯碱、Oncaspar(培门冬酶)、Ontak(地尼白介素-毒素连接物)、OEPA、OPPA、奥沙利铂、紫杉醇、紫杉醇白蛋白稳定的纳米颗粒配制品、帕利夫明、盐酸帕洛诺司琼、帕米膦酸二钠、帕尼单抗、Paraplat(卡铂)、Paraplatin(卡铂)、盐酸帕唑帕尼、培门冬酶、聚乙二醇干扰素 α -2b、PEG-内含子(聚乙二醇干扰素 α -2b)、培美曲塞二钠、Perjeta(帕妥珠单抗)、帕妥珠单抗、Platinol(顺铂)、Platinol-AQ(顺铂)、普乐沙福、泊马度胺、Pomalyst(泊马度胺)、盐酸帕纳替尼、普拉曲沙、泼尼松、盐酸丙卡巴肼、普留净(阿地白介素)、普罗利亚(地诺单抗)、Promacta(艾曲波帕乙醇胺)、普罗文奇(西普鲁塞-T)、巯基嘌呤(巯嘌呤)、二氯化镭223、盐酸雷洛昔芬、拉布立酶、R-CHOP、R-CVP、重组HPV二价疫苗、重组HPV四价疫苗、重组干扰素 α -2b、瑞戈非尼、Revlimid(来那度胺)、Rheumatrex

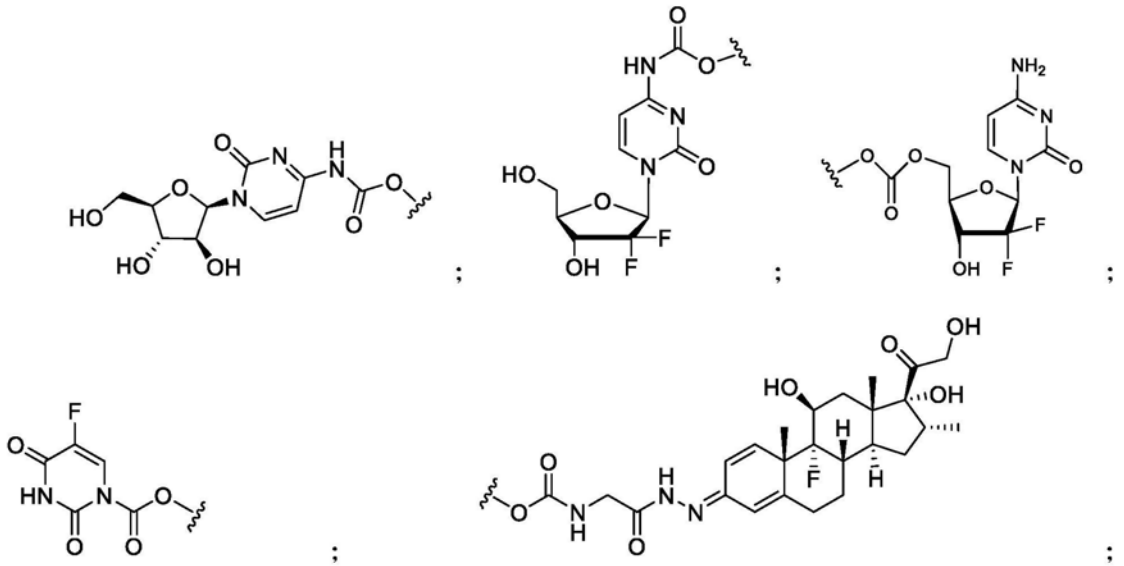
(甲氨蝶呤)、美罗华(利妥昔单抗)、利妥昔单抗、罗米地辛、罗米司亭、红比霉素(盐酸柔红霉素)、磷酸鲁索替尼、Sclerosol胸膜内气雾剂(滑石)、西普鲁塞-T、甲苯磺酸索拉非尼、施达赛(达沙替尼)、斯坦福V、无菌滑石粉(滑石)、Steritalc(滑石)、Stivarga(瑞戈非尼)、苹果酸舒尼替尼、索坦(苹果酸舒尼替尼)、Sylatron(聚乙二醇干扰素 α -2b)、昔诺韦(沙利度胺)、Synribo(高三尖杉酯碱)、Tafinlar(达拉菲尼)、滑石、柠檬酸他莫昔芬、Tarabine PFS(阿糖胞苷)、特罗凯(盐酸埃罗替尼)、Targretin(蓓萨罗丁)、Tasigna(尼罗替尼)、紫杉酚(紫杉醇)、泰索帝(多西他赛)、Temodar(替莫唑胺)、替莫唑胺、坦罗莫司、沙利度胺、Thalomid(沙利度胺)、Toposar(依托泊苷)、盐酸托泊替康、托瑞米芬、Torisel(坦罗莫司)、托西莫单抗和 131 碘托西莫单抗、Totect(盐酸右雷佐生)、曲美替尼、曲妥珠单抗、Treanda(盐酸苯达莫司汀)、Trisenox(三氧化二砷)、泰克博(二甲苯磺酸拉帕替尼)、凡德他尼、VAMP、维克替比(帕尼单抗)、VelP、Velban(硫酸长春花碱)、万珂(硼替佐米)、Velsar(硫酸长春花碱)、威罗非尼、VePesid(依托泊苷)、Viadur(醋酸亮丙瑞林)、维达扎(阿扎胞苷)、硫酸长春花碱、Vincasar PFS(硫酸长春新碱)、硫酸长春新碱脂质体、酒石酸长春瑞滨、维莫德吉、Voraxaze(羧肽酶)、伏立诺他、福退癌(盐酸帕唑帕尼)、维尔康沃林(甲酰四氢叶酸钙)、赛可瑞(克唑替尼)、希罗达(卡培他滨)、Xelox、Xgeva(地诺单抗)、Xofigo(二氯化镭223)、安可坦(恩杂鲁胺)、Yervoy(伊匹单抗)、Zaltrap(阿柏西普)、泽波拉夫(威罗菲尼)、泽娃灵(替伊莫单抗)、Zinecard(盐酸右雷佐生)、阿柏西普、诺雷德(醋酸戈舍瑞林)、唑来膦酸、Zolanza(伏立诺他)、择泰(唑来膦酸)、以及Zytiga(醋酸阿比特龙)。

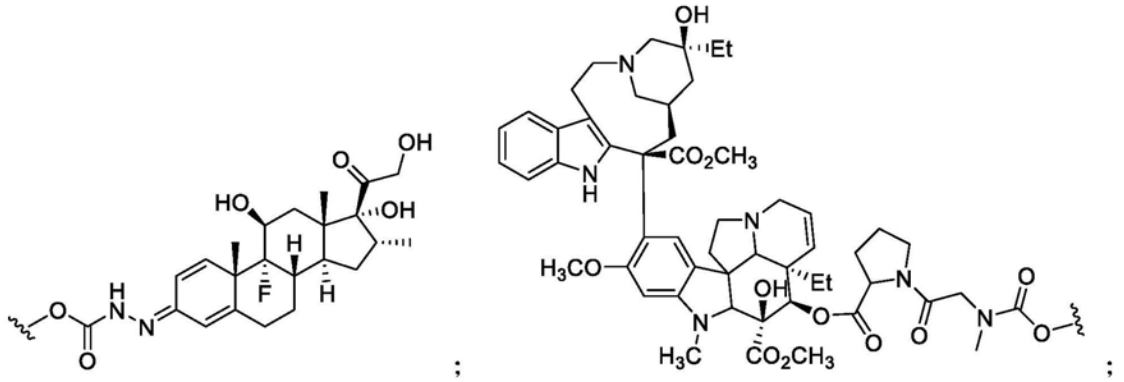
[0226] 在某些实施例中, D^1 的药物有效负载是PBD二聚体、刺孢霉素、speromycin、微管溶素B、根霉素、尾海兔素、膜海鞘素B、喜树碱、CBI、坦罗莫司、放线菌素D、埃博霉素B、紫杉酚、念珠藻素、SN38、万珂、鸦胆亭、DAVLBH、DM1、叶下珠苷(Phyllanthoside)、爱宁达、T2毒素、MMC、瓦他拉尼、长春瑞滨、布雷菲德菌素、舒尼替尼、柔红霉素、司马沙尼、特罗凯、易瑞沙、伊立替康、LY-541503、格尔德霉素、吉西他滨、甲氨蝶呤、格列卫、托泊替康、博来霉素、阿霉素、顺铂、氮芥、依托泊苷或5-FU。

[0227] 在某些实施例中, 抗癌药物是葱环类。在某些实施例中, 抗癌药物是紫杉烷。在某些实施例中, 抗癌药物是吉西他滨。在某些实施例中, 抗癌药物是阿霉素。在某些实施例中, 抗癌药物是多西他赛。在某些实施例中, 抗癌药物是SN38。在某些实施例中, 抗癌药物是单甲基奥瑞斯他汀E。在某些实施例中, D^1 的药物有效负载是地塞米松。在某些实施例中, D^1 的药物有效负载是塞来昔布。在某些实施例中, D^1 的药物有效负载是庆大霉素。在一些实施例中, D^1 的药物有效负载是万古霉素。在一些实施例中, D^1 的药物有效负载是达托霉素。在一些实施例中, D^1 的药物有效负载是阿霉素。在一些实施例中, D^1 的药物有效负载是吉西他滨。在一些实施例中, D^1 的药物有效负载是多西他赛。在一些实施例中, D^1 的药物有效负载是环腺苷单磷脂酰(c-AMP)。

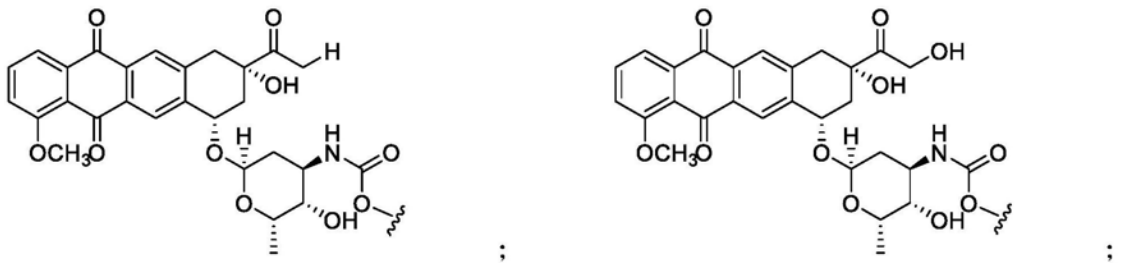
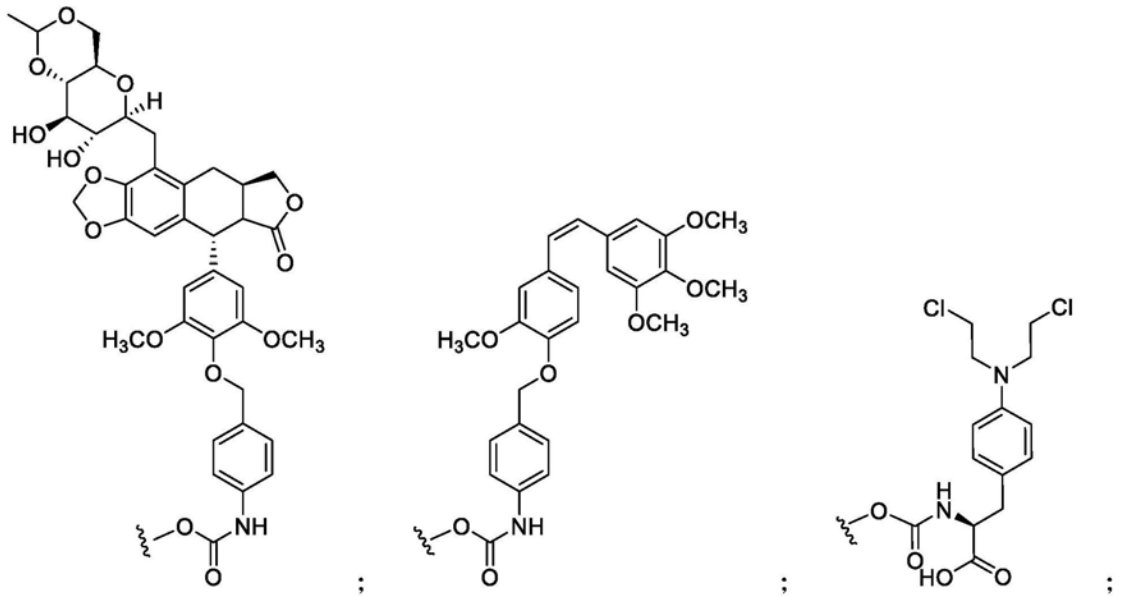
[0228] 特定的  包括

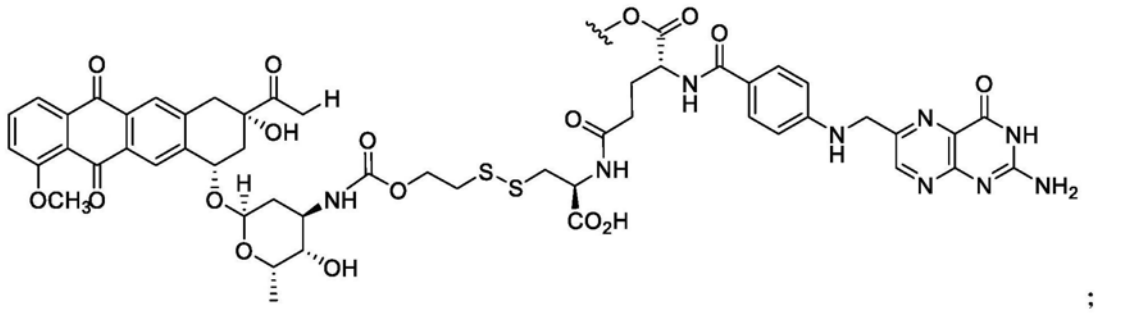
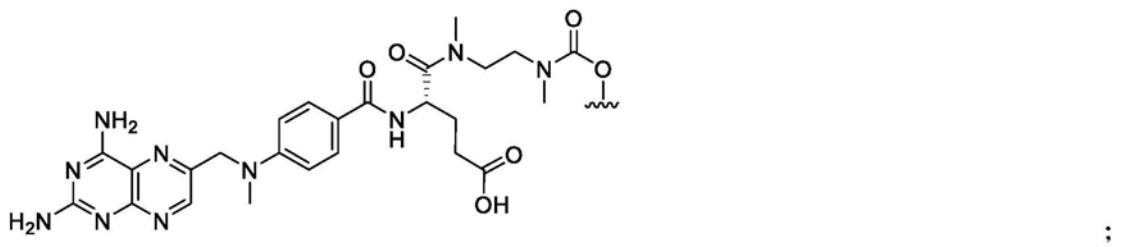
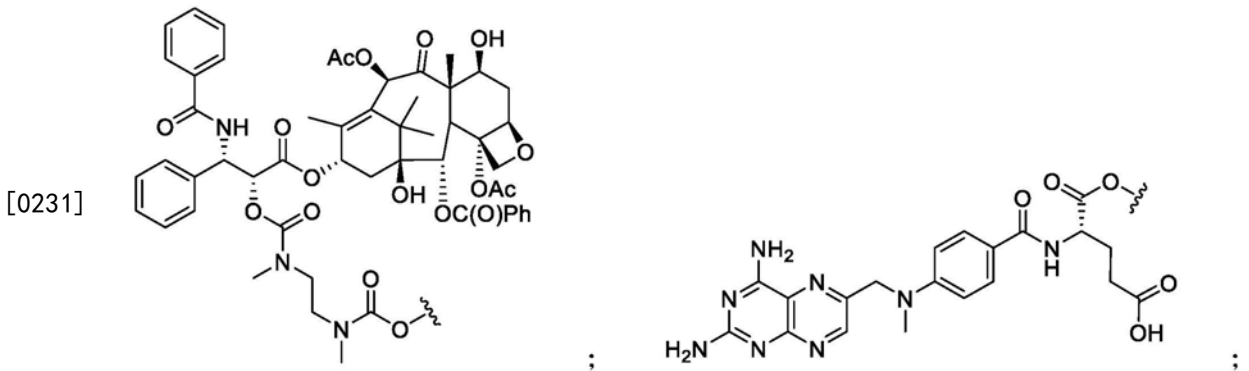
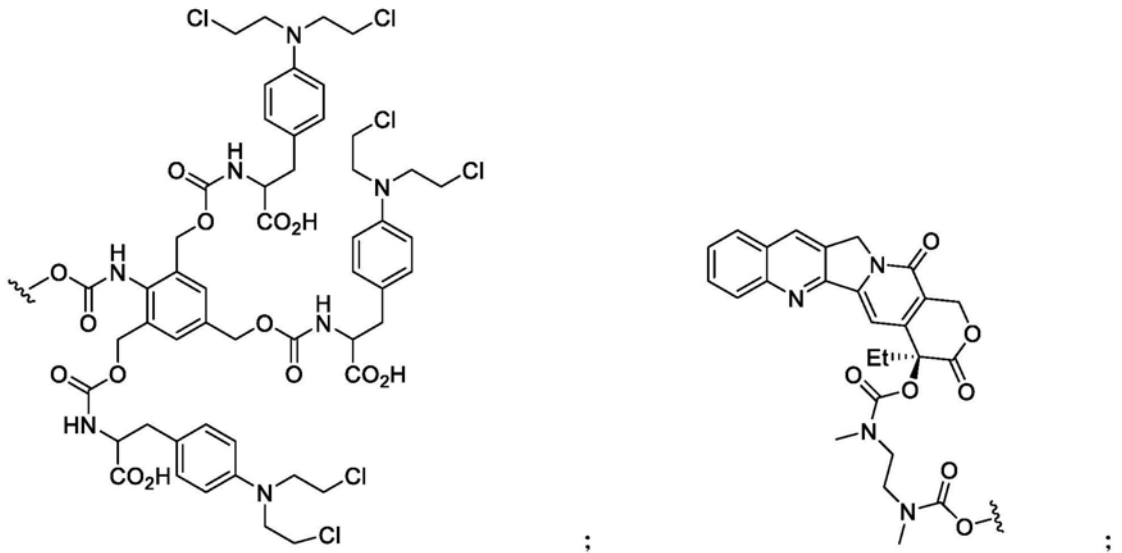
[0229]

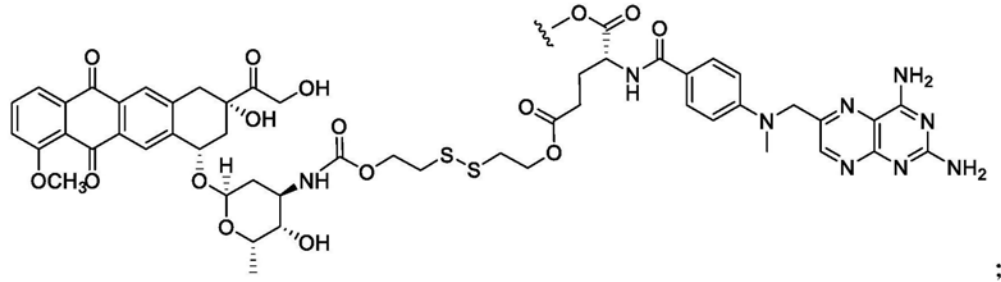
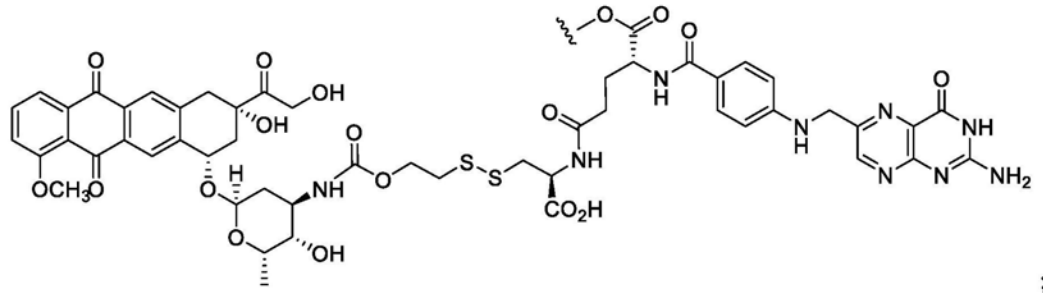




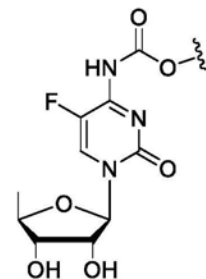
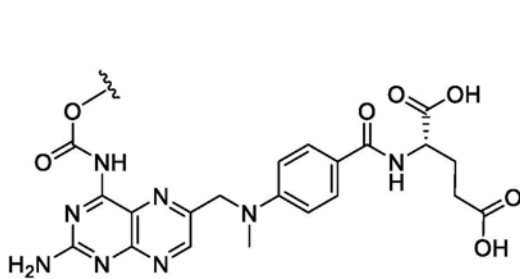
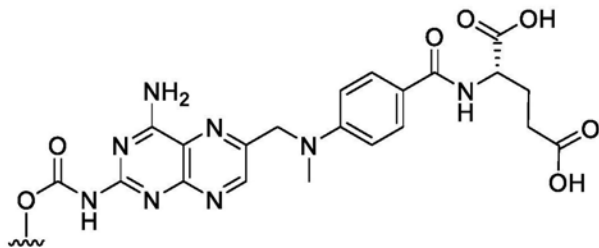
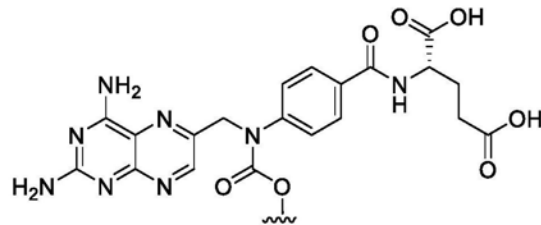
[0230]

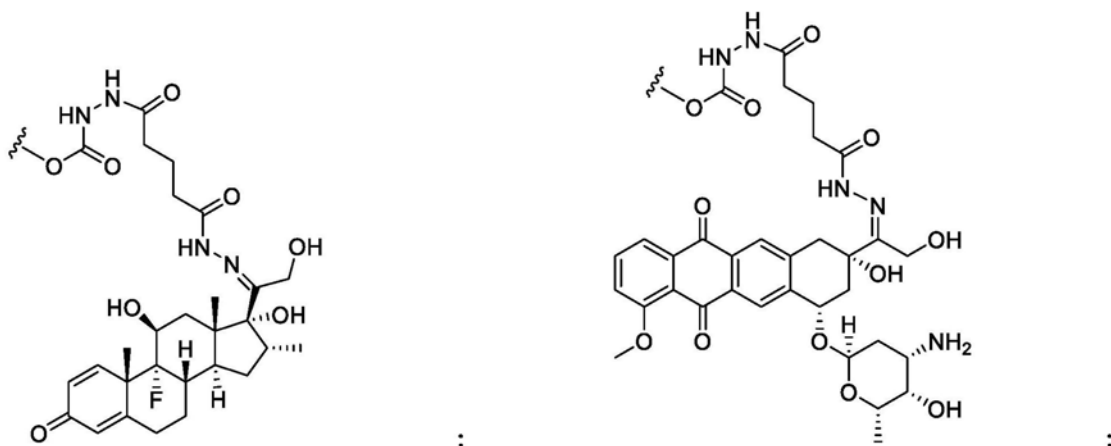
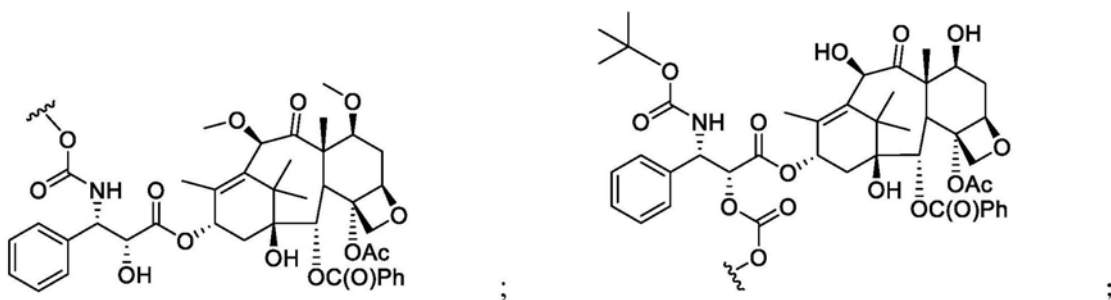




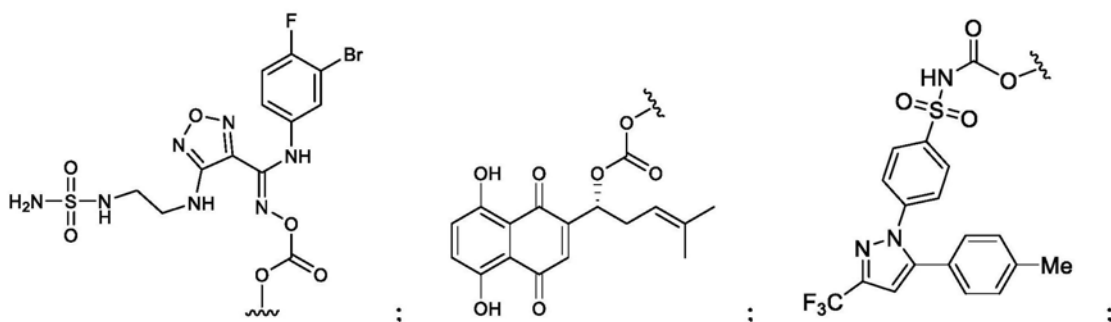
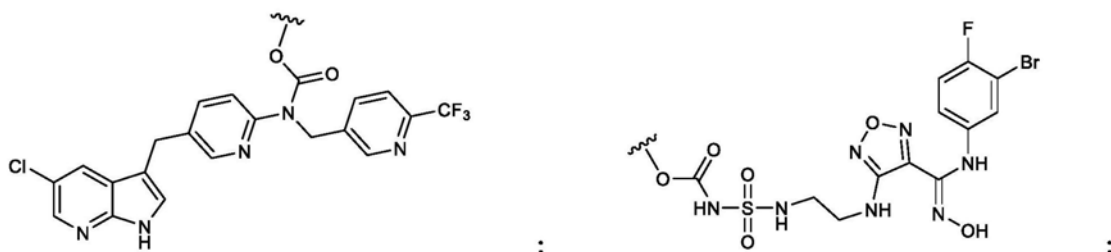
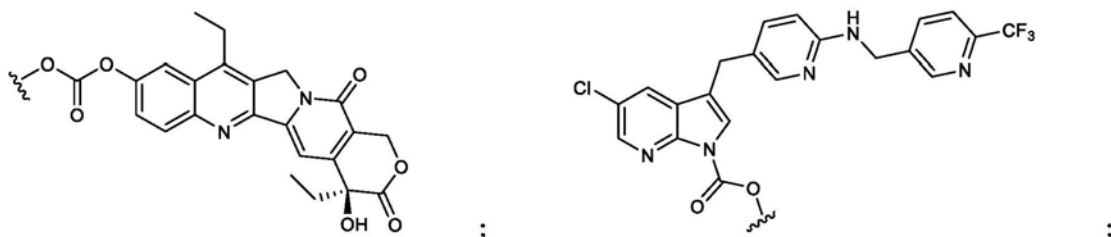


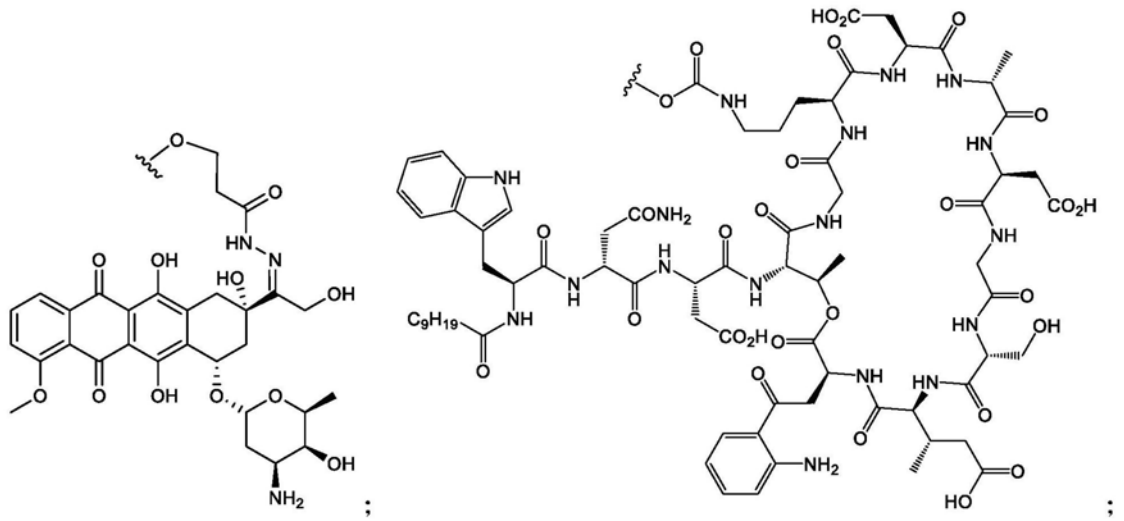
[0232]



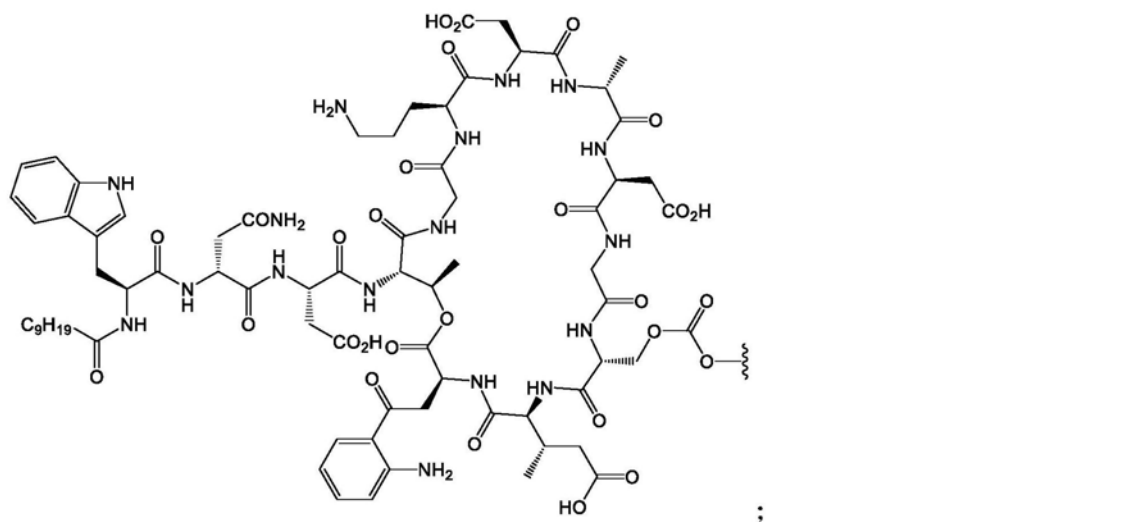
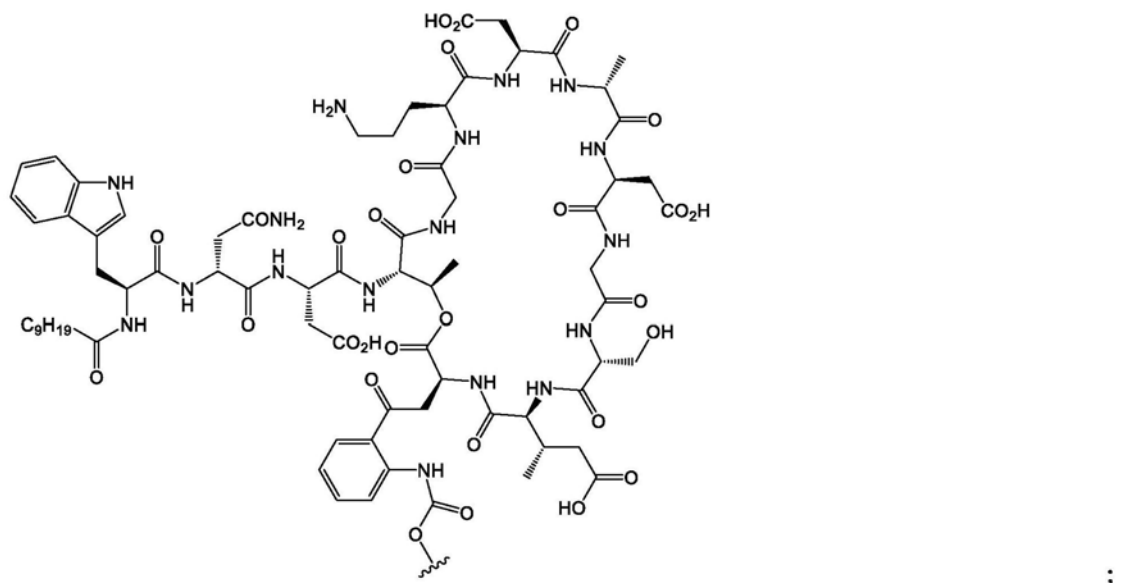


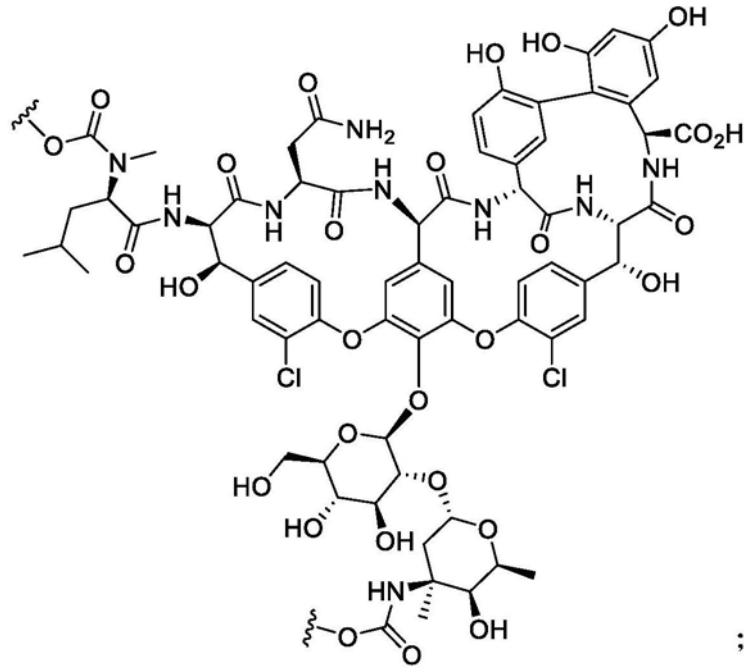
[0233]



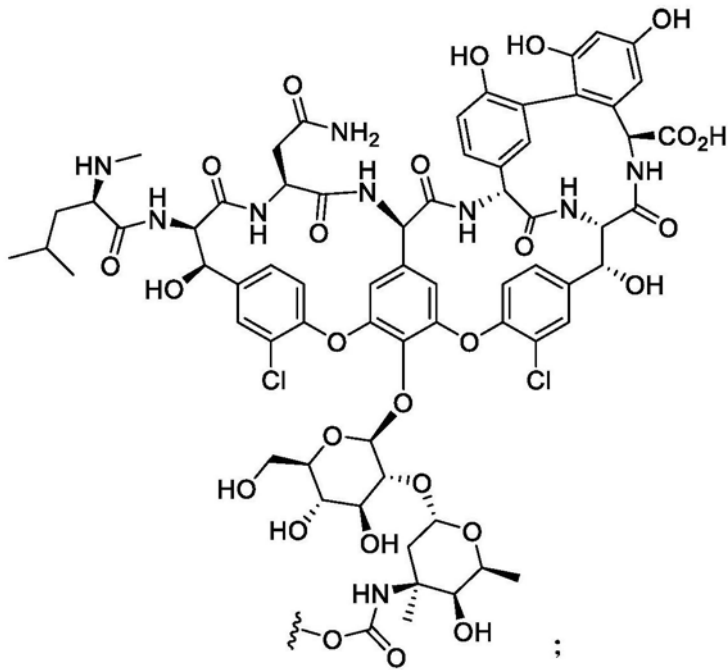


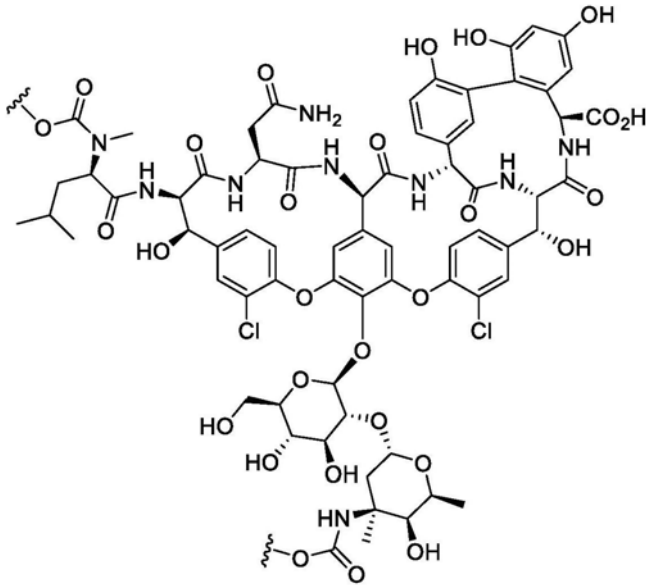
[0234]



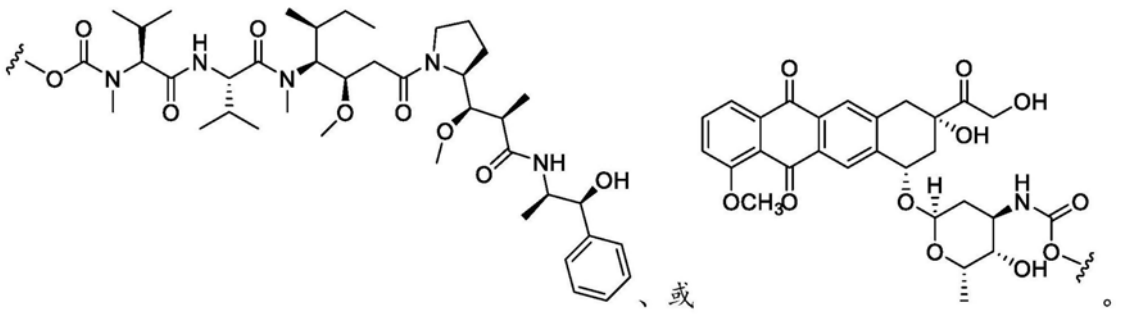


[0235]

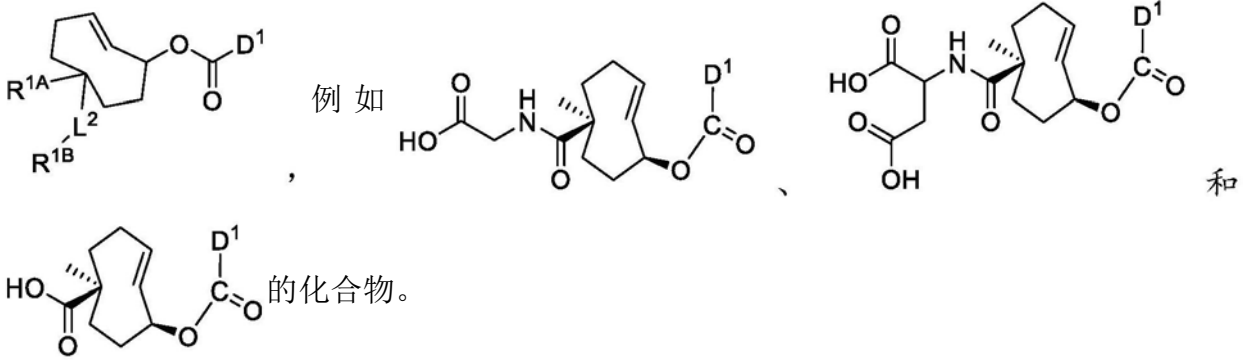




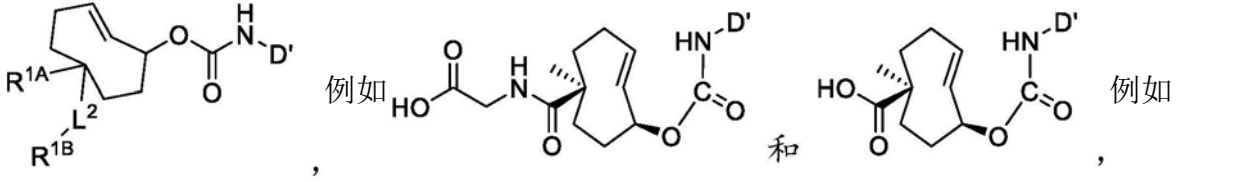
[0239]

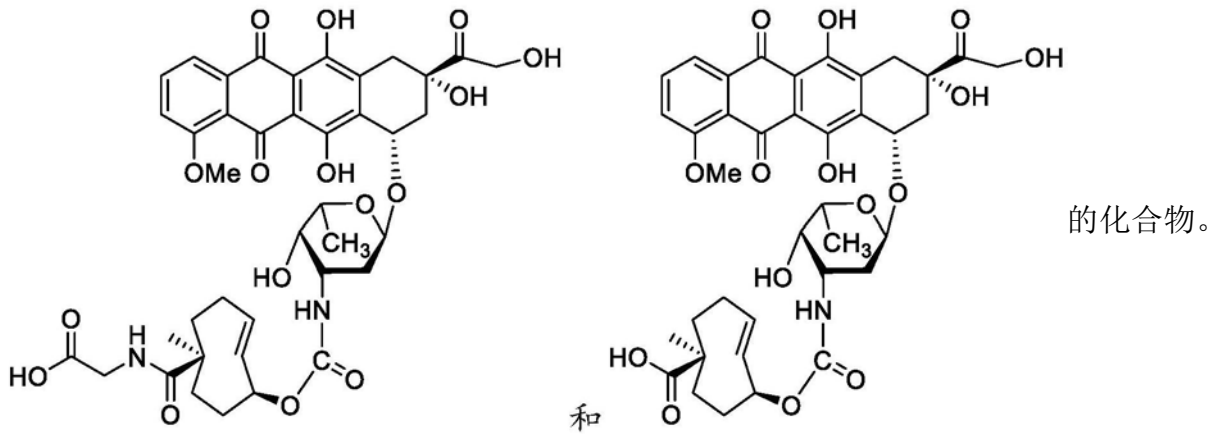


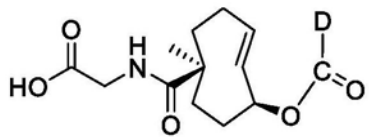
[0240] 优选的具有式 (I-B) 和 (II-A) 的化合物包括具有式 R^{1a} R^{1b} D^1 和

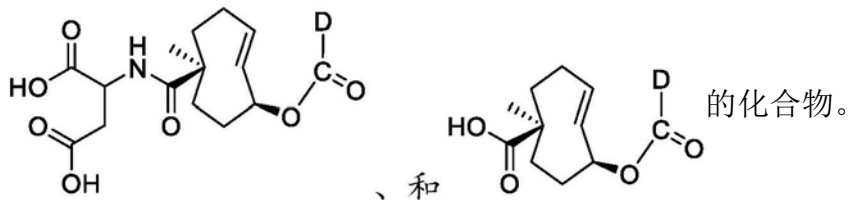


[0241] 优选的具有式 (I-B) 和 (II-A) 的化合物包括具有式 R^{1a} R^{1b} D^1 和





[0242] 优选的具有式 (I-A) 的化合物包括具有式 、

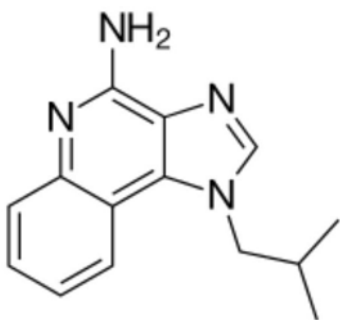


[0243] 有效负载D是TLR激动剂或STING激动剂。

[0244] TLR激动剂是免疫调节剂。应答于病原相关分子模式 (PAMP) 的TLR介导的信号传导是转录调控事件的连续级联,其根据TLR激动剂、所涉及的细胞类型和抗原的致病性而变化。单个基因 (特别是促炎细胞因子,例如IL-1 (α 和 β)、IL-6、IL-18、TNF-C) 被瞬时诱导,这反映先天免疫系统必须能感知感染并协调适当的应答同时促进消退 (T. Ravasi, C.A. Wells, D.A. Hume, Bioessays [生物学论文集] 29, 1215 (2007年11月15日); J.C. Roach等人, Proc Natl Acad Sci USA [美国国家科学院院刊] 104, 16245 (2007年10月9日); M. Gilchrist等人, Nature [自然] 441, 173 (2006年5月11日))。

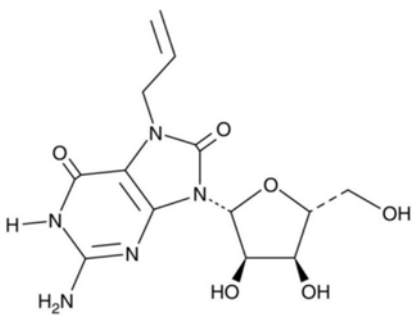
[0245] TLR激动剂包括但不限于以下的激动剂: TLR1/2异源二聚体 (例如Pam3CSK4, 即, 三棕榈酰基CysSerLysLysLysLys)、TLR3 (例如聚I:C、聚ICLC)、TLR4 (例如, 单磷酸脂质A、脂多糖、GLA-SE、G100)、TLR5 (例如, 鞭毛蛋白)、TLR2/6异源二聚体 (例如, 革兰氏阳性细菌、支原体 and 真菌的二酰基脂肽)、TLR7 (例如, 咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺 (例如咪喹莫特) 且如美国专利号4,689,338所述, 该专利通过引用并入本文; 以及聚核糖肌苷酸-聚核糖胞苷酸 (聚I:C)、TLR3 (聚腺苷酸-聚尿苷酸 (聚A:U))、TLR2 (肽聚糖)、TLR2和TLR4 (例如是卡介苗 (BCG))、

[0246]



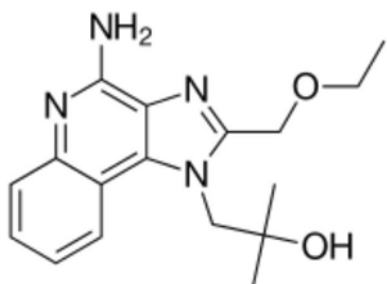
咪喹莫特

[0247] TLR7/8 (例如, 洛索立宾; 咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺例如瑞喹莫德 (R848) 和 MEDI9197)、



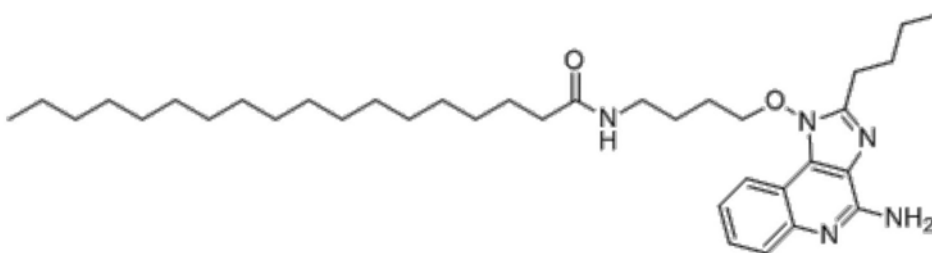
洛索立宾

[0248]



瑞喹莫德

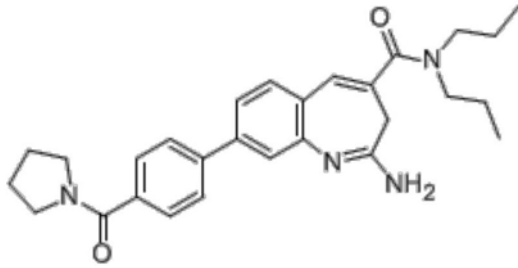
[0249]



MEDI9197

[0250] TLR8 (例如, VTX-2337)

[0251]



VTX-2337

[0252] 和TLR9 (例如, CpG ODN例如ODN D-SL01、MGN1703、CPG7909、SD-101、EMD 1201081)。CpG ODN是在特定序列背景(CpG基序)中含有未甲基化CpG二核苷酸的短合成单链DNA分子。与在基因组细菌DNA中发现的天然磷酸二酯(PO)骨架相反,CpG ODN具有部分或完全硫代磷酸酯化的(PS)骨架。基于结构特征和对人外周血单核细胞(PBMC)(特别是B细胞和浆细胞样树突状细胞(pDC))的活性,已经鉴定了三类主要的刺激性CpG ODN。CpG-A ODN的特征在于含有PO中心CpG的回文基序和经PS修饰的3'聚-G串。它们诱导来自pDC的高IFN- α 产生,但是为TLR9依赖性NF- κ B信号传导和促炎细胞因子(例如IL-6)产生的弱刺激物。CpG-B ODN含有具有一个或多个CpG二核苷酸的完整PS骨架。它们强烈激活B细胞和TLR9依赖性NF- κ B信号传导,但弱刺激IFN- α 分泌。CpG-C ODN组合了类别A和类别B的特征。它们含有完整的PS骨架和含CpG的回文基序。C类CpG ODN诱导来自pDC的强IFN- α 产生以及B细胞刺激。

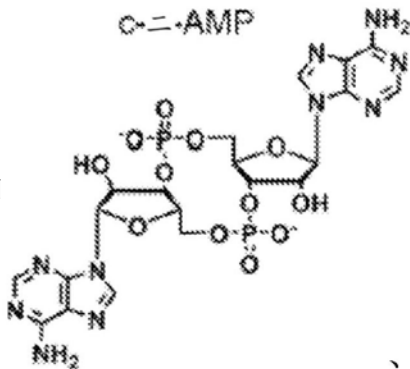
[0253] 另外的TLR9激动剂描述于WO 2019/115402、EP 2017281、US 2019/0160173、US 2019/0151345、US 2011/0311518、US 2011/0293565,它们各自通过引用并入本文。

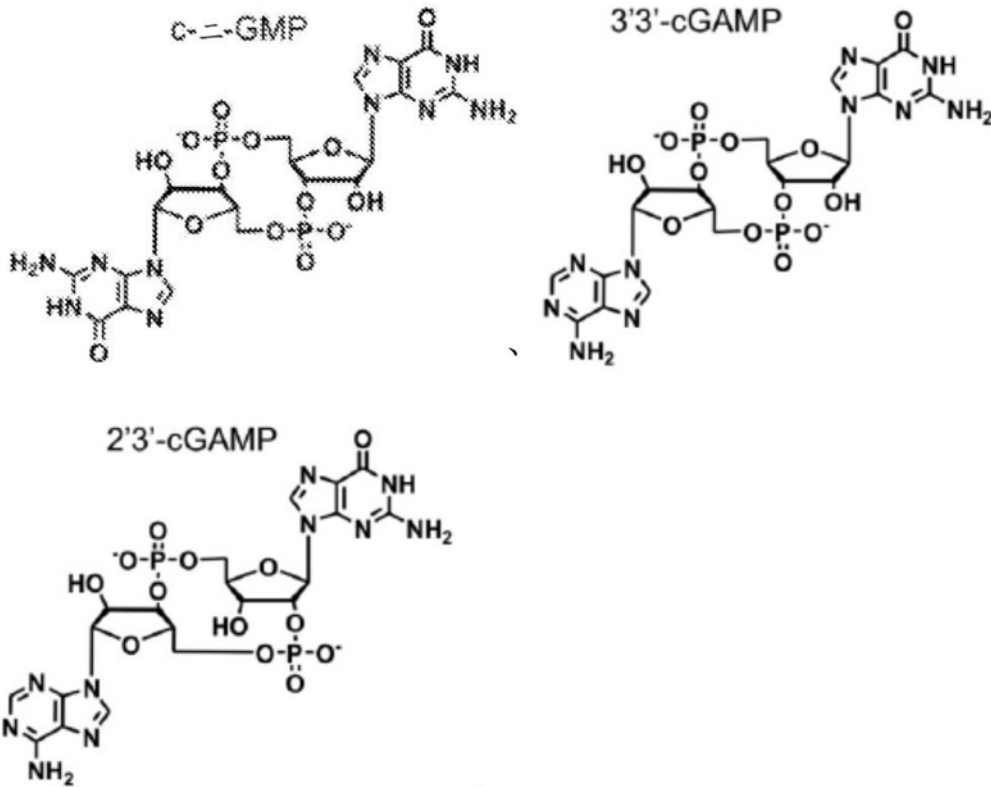
[0254] 单链和双链RNA可以用作TLR激动剂,如由Roers等人在Immunity[免疫力](2016) 44,739-754中所述,该文献通过引用并入本文。

[0255] STING激动剂是负责在识别细胞的胞质溶胶中的环状二核苷酸后控制许多促炎宿主防御基因的免疫调节剂,包括I型干扰素和促炎细胞因子。然后,这些信号可以通过抗原的交叉呈递和T细胞引发以及其他机制来刺激获得性免疫系统(Barber GN.STING:infection,inflammation and cancer[STING:感染、炎症和癌症].Nat Rev Immunol.[自然综述免疫学]2015;15(12):760-70)。TLR和STING激动剂还能够促进接受免疫疗法治的实体癌和癌症的抗肿瘤免疫应答(Berger G,Marloye M,Lawler SE.Immunotherapy[免疫疗法].Trends Mol Med.[分子医学发展趋势]2019;25(5):412-427)。

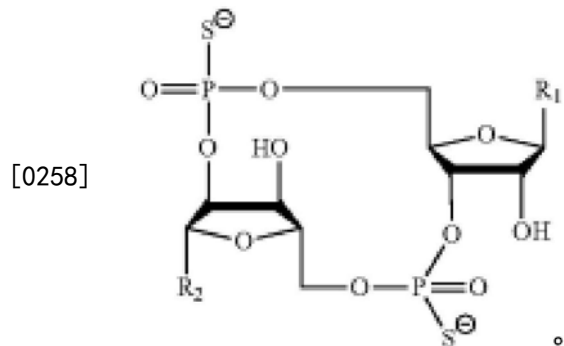
[0256] STING激动剂包括ADU-S100和2' 3'-cG^SA^MP。STING激动剂包括环状二核苷酸及其

类似物,例如





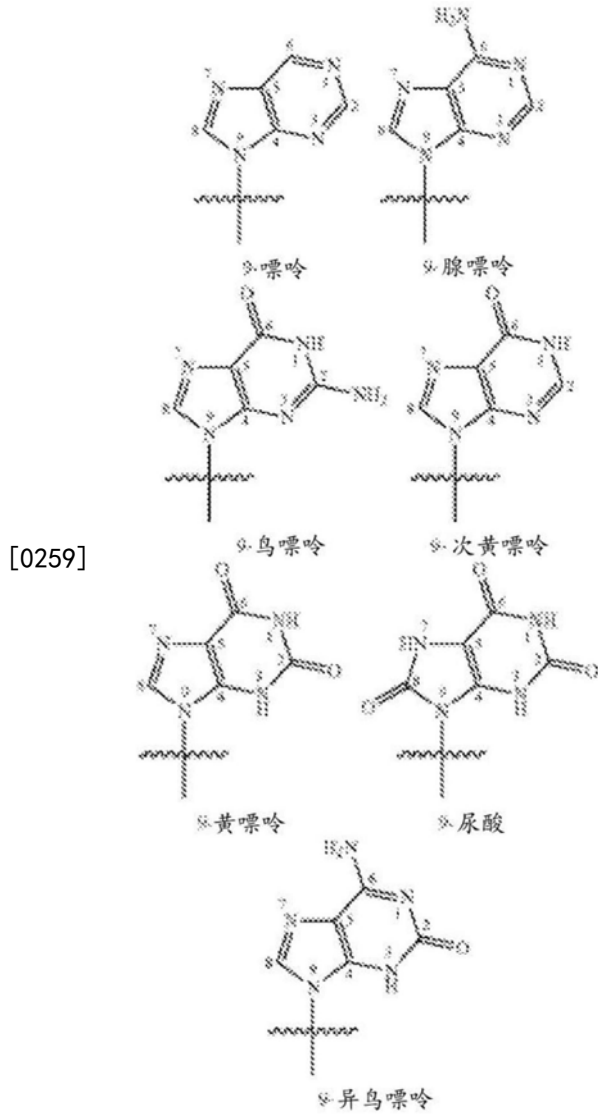
[0257] STING激动剂进一步包括修饰的环状二核苷酸。在一些实施例中，修饰的环状二核苷酸可能不存在于自然界中，或者可能是化学合成的。在一些实施例中，修饰的环状二核苷酸是具有下式的化合物：



[0258]

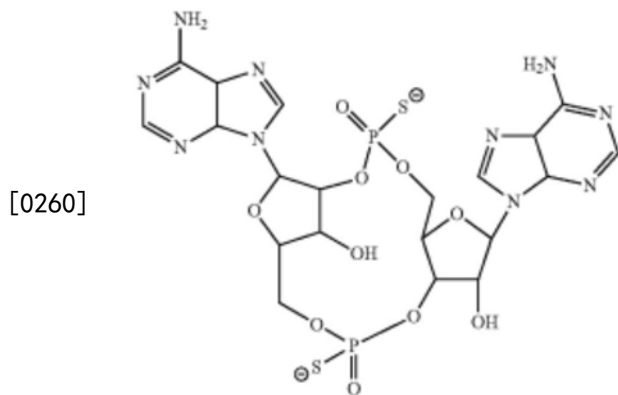
在一些实施例中， R_1 和 R_2 可以各自独立地为9-嘌呤、9-腺嘌呤、9-鸟嘌呤、9-次黄嘌呤、9-黄嘌呤、9-尿酸或9-异鸟嘌呤，其结构如下所示，其结构为：

9-嘌呤、9-腺嘌呤、9-鸟嘌呤、9-次黄嘌呤、9-黄嘌呤、9-尿酸或9-异鸟嘌呤，其结构如下所示，其结构为：

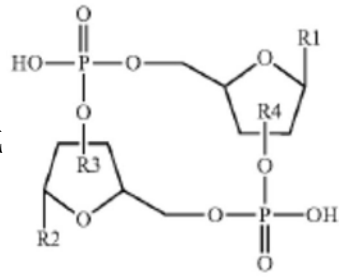


R_1 和 R_2 可以是相同的或不同的。在一些实施例中

中,该化合物可以主要地以其 $R_p.R_p$ 或 $R_p.S_p$ 立体异构体、或前药、或药学上可接受的盐的形式提供,如US 2016/0287623中所述,该专利通过引用并入本文。在一些实施例中,该化合物可以主要地以 $R_p.R_p$ 立体异构体的形式提供。在特定的实施例中,该化合物可以是具有下式的化合物或主要地处于其 $R_p.R_p$ 立体异构体的形式:



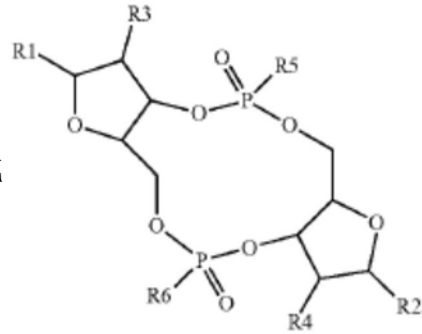
[0261] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US 2017/

0333552中所述,该专利通过引用并入本文。

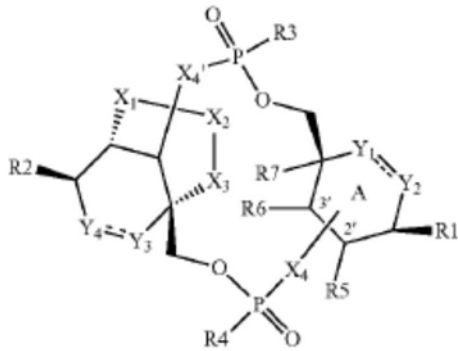
[0262] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2018/0064745中所述,该专利通过引用并入本文。

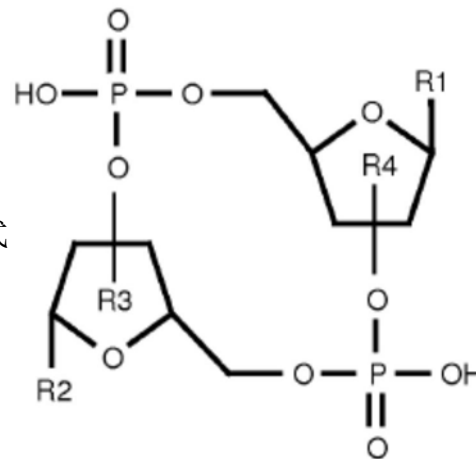
[0263] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2019/0185511中所述,该专利通过引用并入本文。

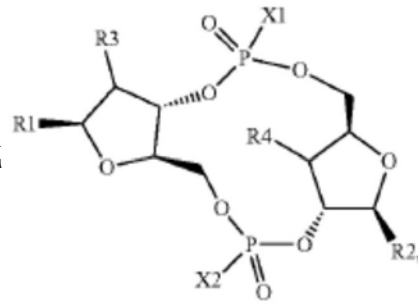
[0264] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0

2014/189806中所述,该专利通过引用并入本文。

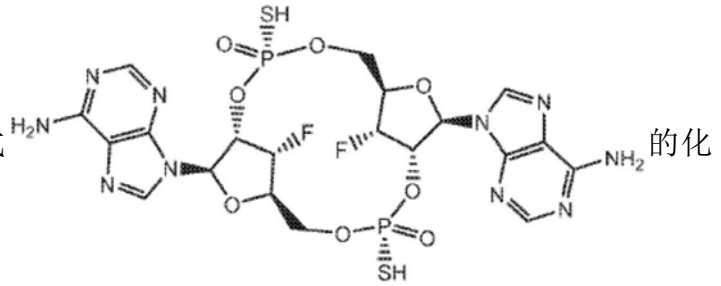
[0265] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2019/0062365中所述,该专利通过引用并入本文。

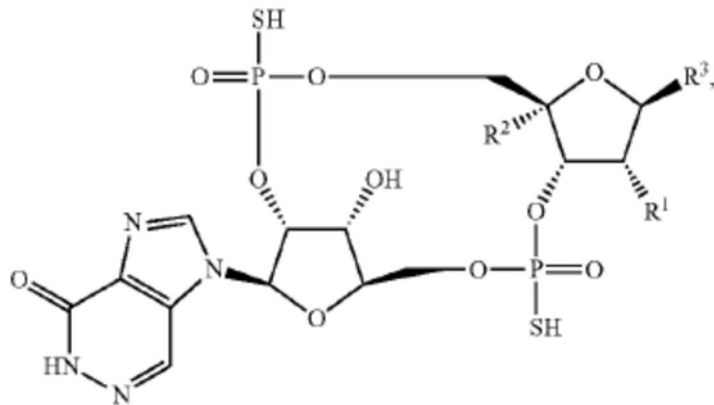
[0266] STING激动剂可以包括具有式



的化

合物,如W0 2018/198076中所述,该专利通过引用并入本文。

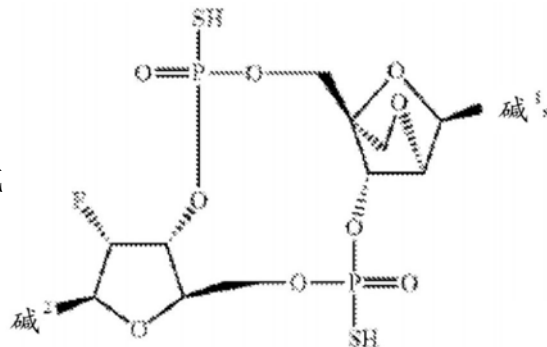
[0267] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US 2018/0092937中所

述,该专利通过引用并入本文。

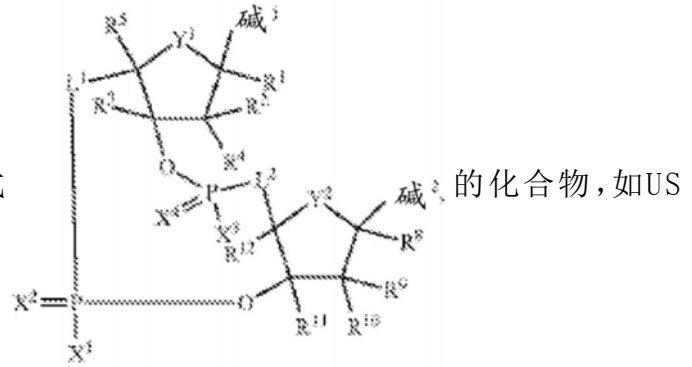
[0268] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,

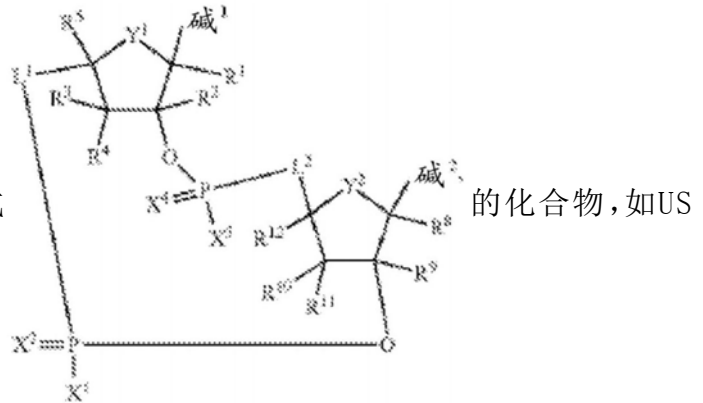
如US 2018/0273578中所述,该专利通过引用并入本文。

[0269] STING激动剂可以包括具有式



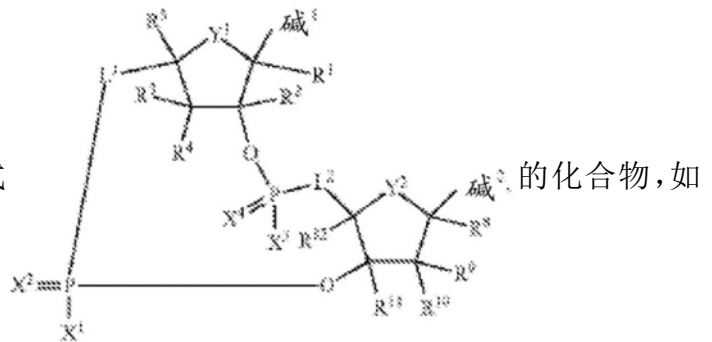
2019/0183917中所述,该专利通过引用并入本文。

[0270] STING激动剂可以包括具有式



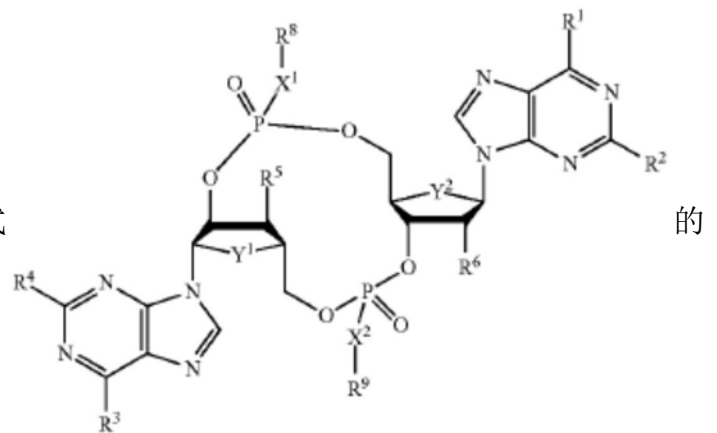
2019/0185509中所述,该专利通过引用并入本文。

[0271] STING激动剂可以包括具有式



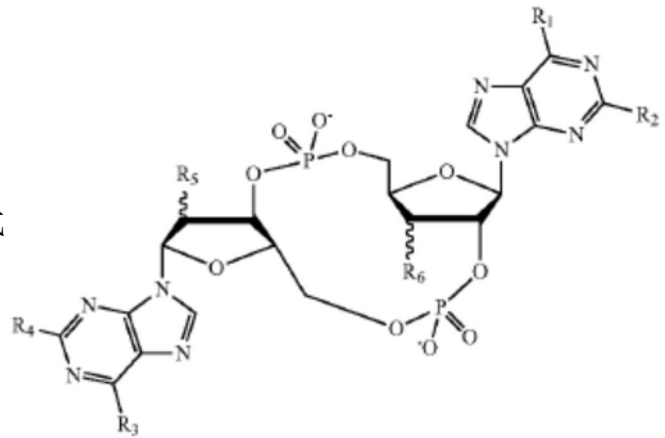
US 2019/0185510中所述,该专利通过引用并入本文。

[0272] STING激动剂可以包括具有式



化合物,如US 2017/0233430中所述,该专利通过引用并入本文。

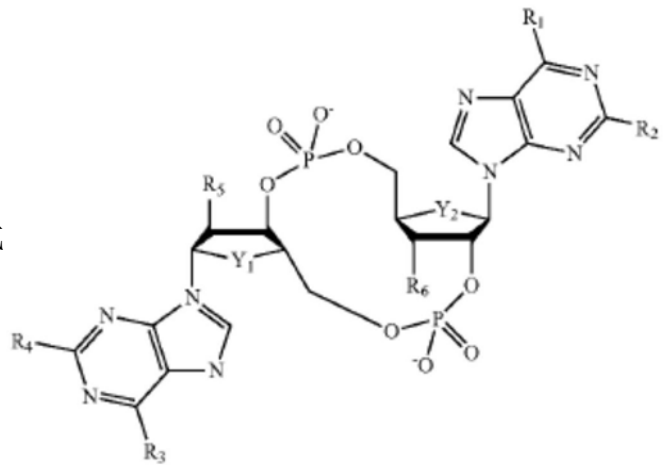
[0273] STING激动剂可以包括具有式



的

化合物,如US 2018/0002369中所述,该专利通过引用并入本文。

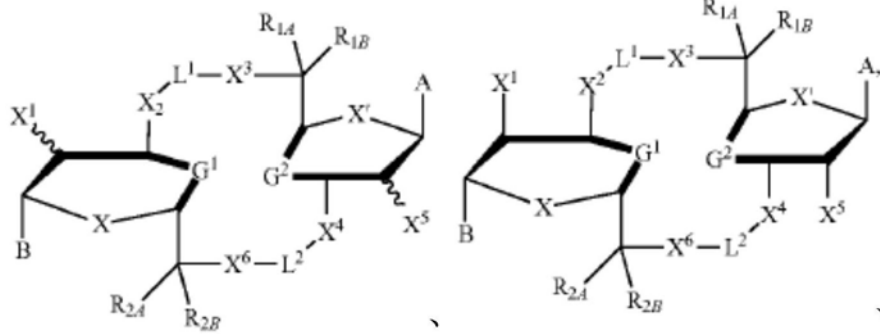
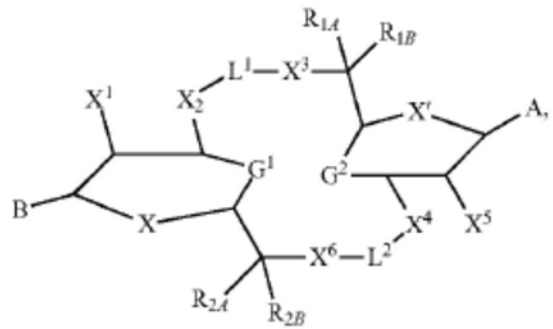
[0274] STING激动剂可以包括具有式



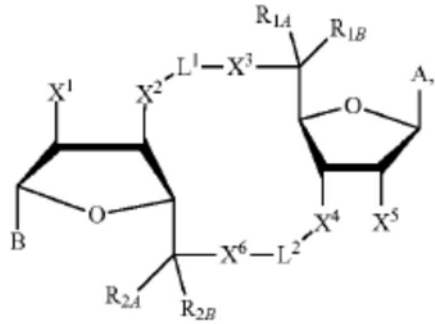
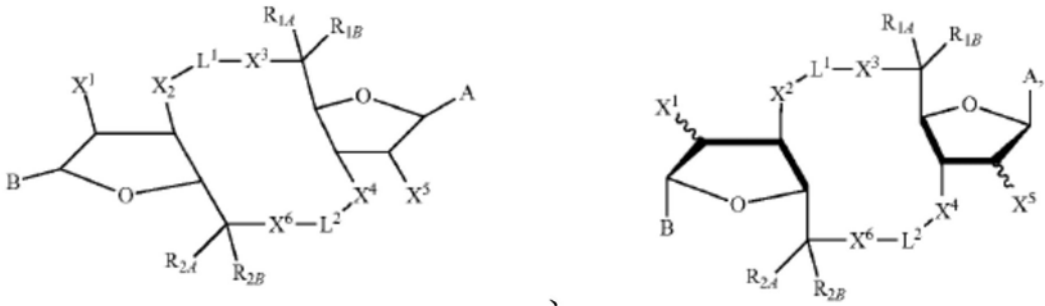
的

化合物,如US 2018/0186828中所述,该专利通过引用并入本文。

[0275] STING激动剂可以包括具有式



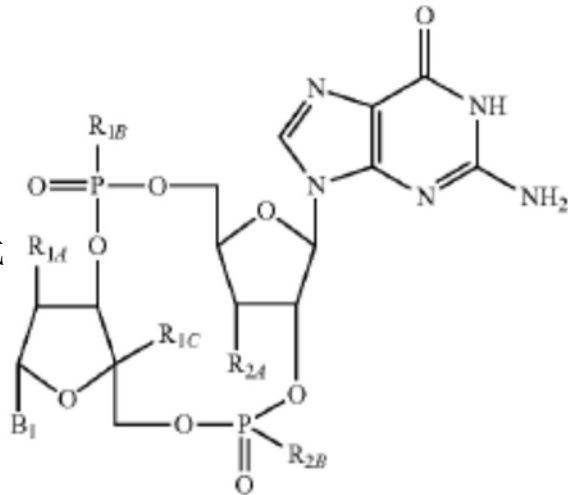
[0276]



的化合物,如US 2019/0016750中所述,该专利通过引用并

入本文。

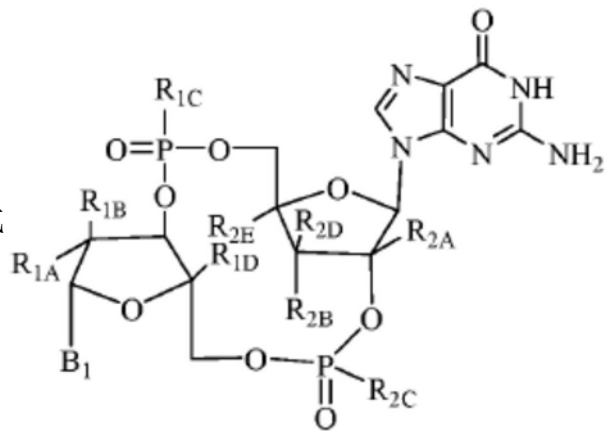
[0277] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,

如US 2018/0162899中所述,该专利通过引用并入本文。

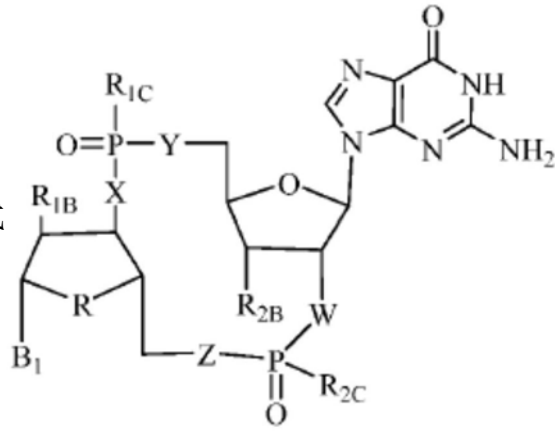
[0278] STING激动剂可以包括具有式



的化合

物,如WO 2018/138684中所述,该专利通过引用并入本文。

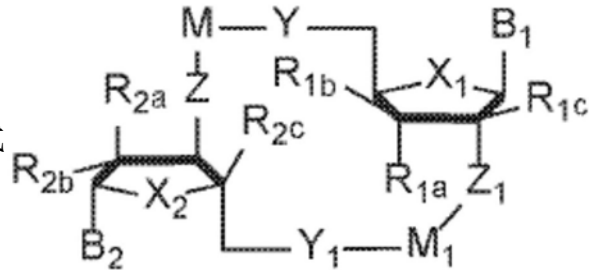
[0279] STING激动剂可以包括具有式



的化合物，

如WO 2018/138685中所述,该专利通过引用并入本文。

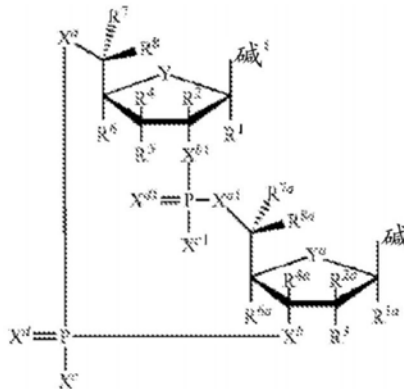
[0280] STING激动剂可以包括具有式



的化合

物,如WO 2019/118839中所述,该专利通过引用并入本文。

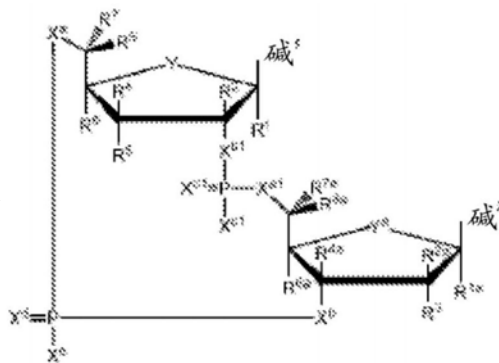
[0281] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如US

2017/0044206中所述,该专利通过引用并入本文。

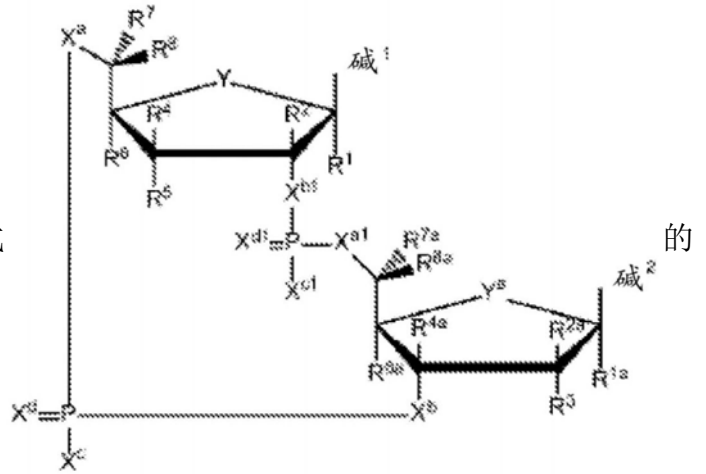
[0282] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如

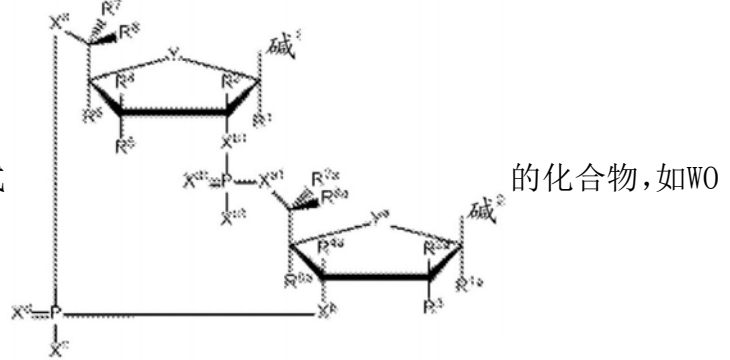
WO 2018/118665中所述,该专利通过引用并入本文。

[0283] STING激动剂可以包括具有式



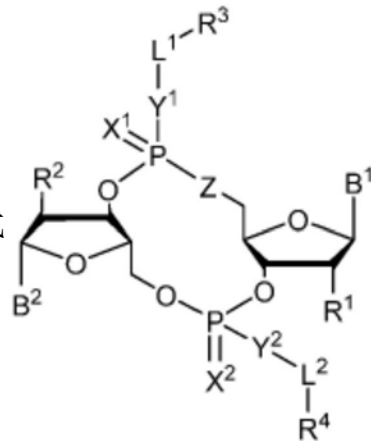
化合物,如W0 2018/208667中所述,该专利通过引用并入本文。

[0284] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2019/125974中所述,该专利通过引用并入本文。

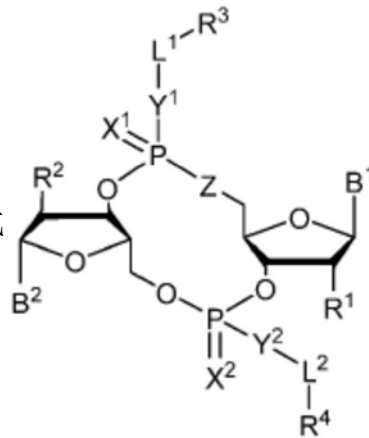
[0285] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2018/

009648中所述,该专利通过引用并入本文。

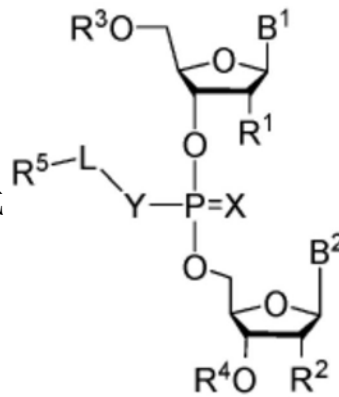
[0286] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2018/

009652中所述,该专利通过引用并入本文。

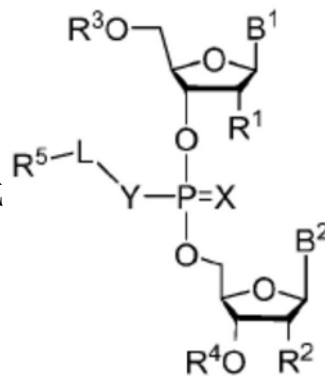
[0287] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2018/

013887中所述,该专利通过引用并入本文。

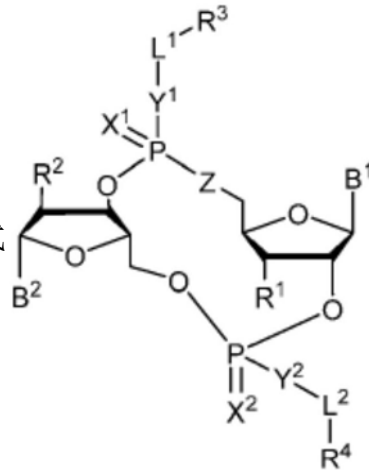
[0288] STING激动剂可以包括具有式



的化合物,如W0 2018/

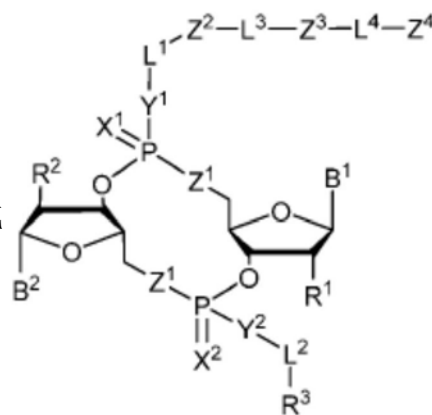
013908中所述,该专利通过引用并入本文。

[0289] STING激动剂可以包括具有式



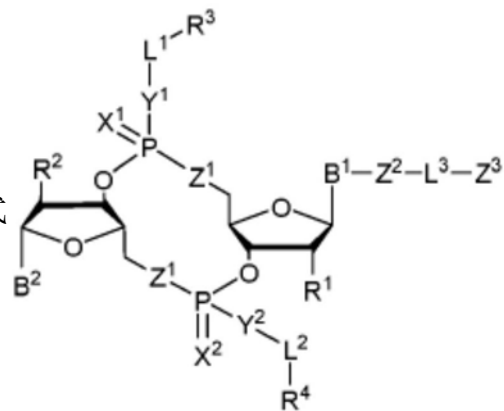
046511中所述,该专利通过引用并入本文。

[0290] STING激动剂可以包括具有式



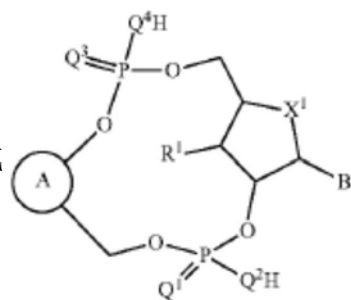
2019/051488中所述,该专利通过引用并入本文。

[0291] STING激动剂可以包括具有式



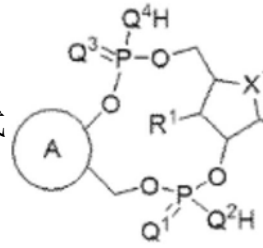
2019/051489中所述,该专利通过引用并入本文。

[0292] STING激动剂可以包括具有式



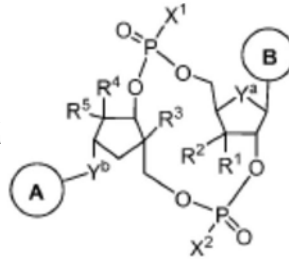
0192549中所述,该专利通过引用并入本文。

[0293] STING激动剂可以包括具有式



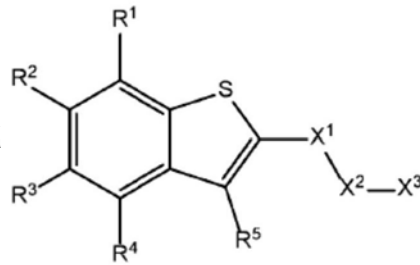
中所述,该专利通过引用并入本文。

[0294] STING激动剂可以包括具有式



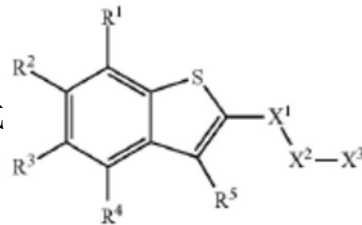
中所述,该专利通过引用并入本文。

[0295] STING激动剂可以包括具有式



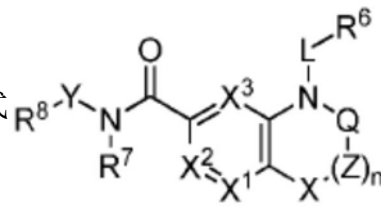
2019/027858中所述,该专利通过引用并入本文。

[0296] STING激动剂可以包括具有式



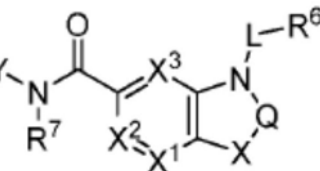
0093964中所述,该专利通过引用并入本文。

[0297] STING激动剂可以包括具有式

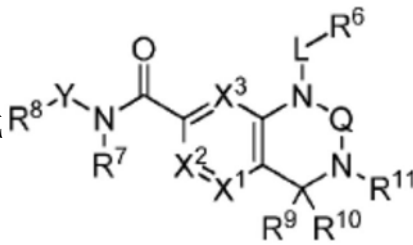


L、Q、Z、Y、n、和R⁶-R⁸是如WO 2018/234805中所述,该专利通过引用并入本文。

[0298] STING激动剂可以包括具有式

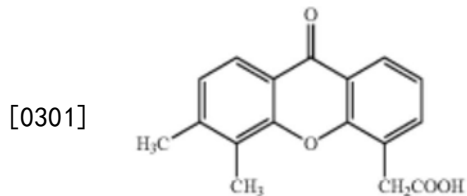


X³、L、Q、Y、和R⁶-R⁸是如WO 2018/234807中所述,该专利通过引用并入本文。

[0299] STING激动剂可以包括具有式  的化合物,其中X¹-X³、

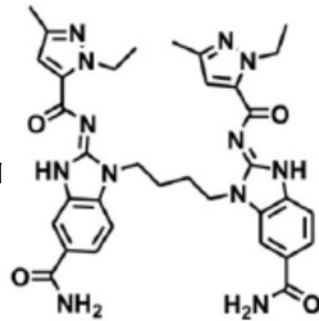
L、Q、Y、和R⁶-R¹¹式如WO 2018/234808中所述,该专利通过引用并入本文。

[0300] STING激动剂包括例如化合物DMXAA:

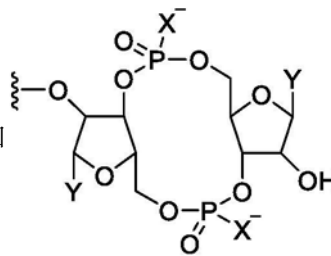


DMXAA。

[0302] STING激动剂包括二酰胺基苯并咪唑,例如



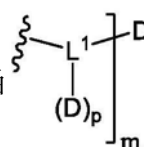
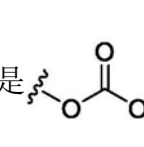
[0303] 优选地,D是环状二核苷酸,例如



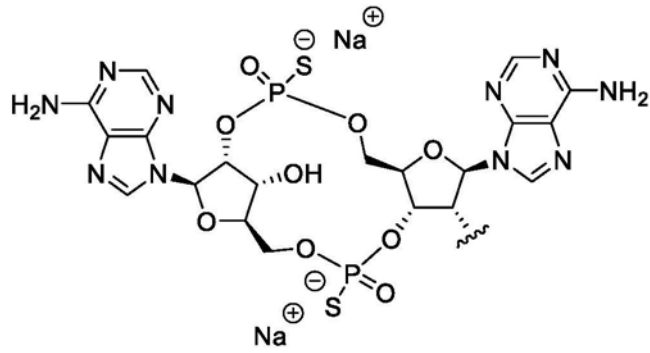
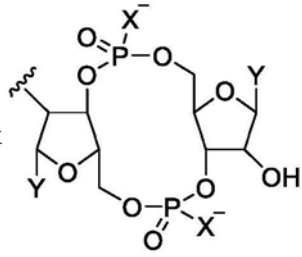
其中Y是核碱基并且X是

O或S,并且如下所说明。核碱基包括天然存在的嘌呤和嘧啶碱基,以及修饰的嘌呤和嘧啶碱基以及其他已被修饰的杂环碱基。这样的修饰包括甲基化嘌呤或嘧啶、酰化嘌呤或嘧啶等。核碱基修饰可以包括例如,脱氮嘌呤、N-1-甲基鸟苷、异鸟嘌呤、2-氨基嘌呤、1,3-二氮杂-2-氧吩噻嗪、1,3-二氮杂-2-氧代吩噻嗪、7-硝基-1,3-二氮杂-2-氧吩噻嗪、2,6-二氨基嘌呤、嘌呤、6-硫鸟嘌呤、次黄嘌呤、2-嘧啶酮、2-吡啶酮、4-巯基尿苷、咪唑-4-甲酰胺、N-取代的5-(羧基酰胺基)尿苷例如5-(N-苄基羧基酰胺基)-尿苷或5-氟-脱氧尿苷。

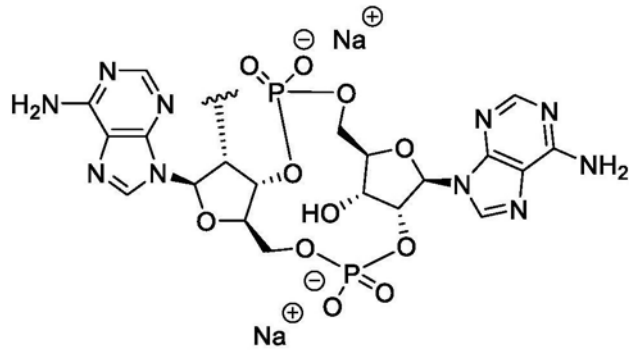
[0304] 根据有效负载部分的前述定义,“环状二核苷酸有效负载部分”是环状二核苷酸减

去其附接至接头的亲核基团(典型地O)。例如,当  是  时,环状二核苷酸

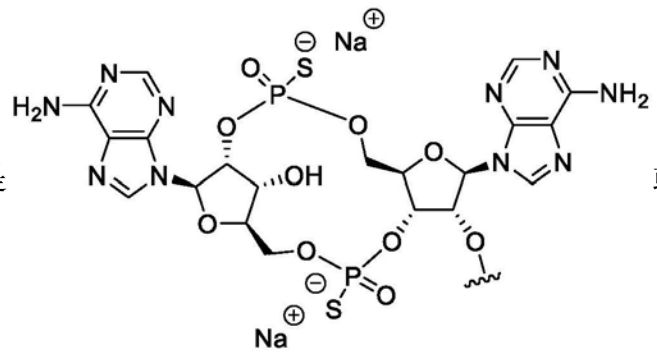
有效负载部分可以是



或

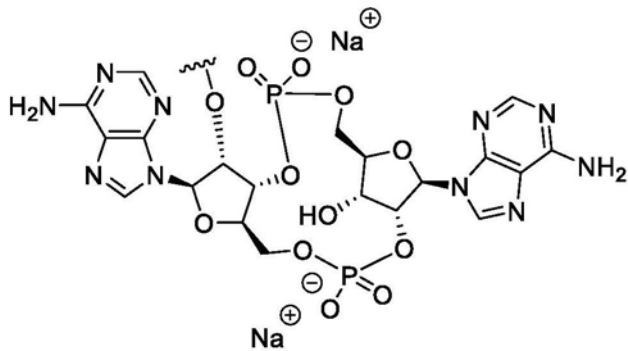


[0305] 在一些实施例中,有效负载D是

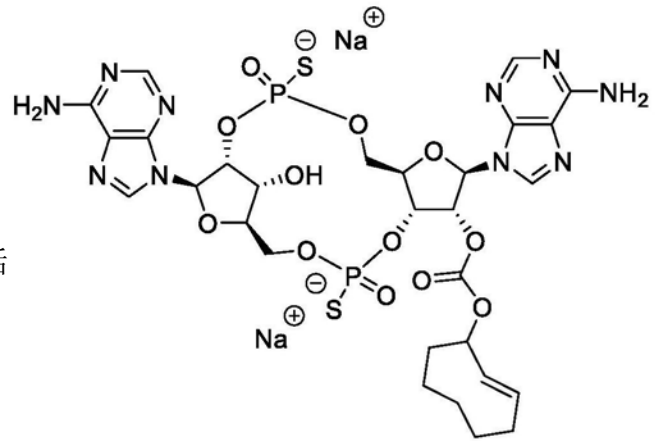


或

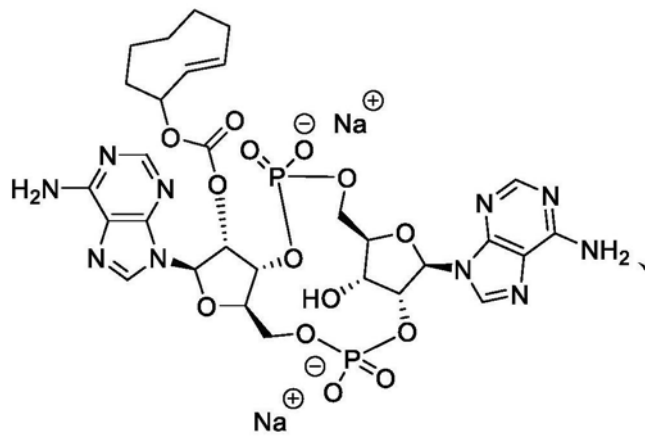
[0306]



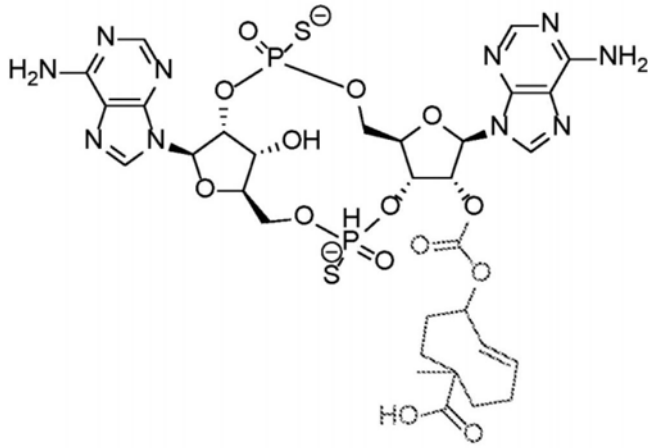
[0307] 具有式(I)/(I-A)的化合物包括



TCO-ADU-S100

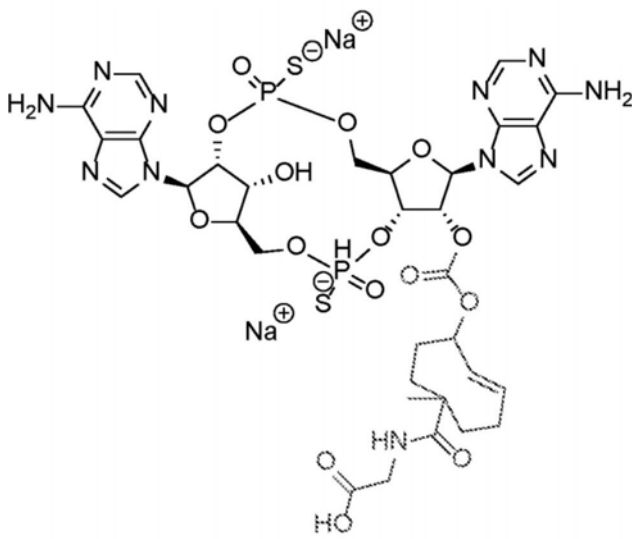


TCO-2'3'-cGAMP

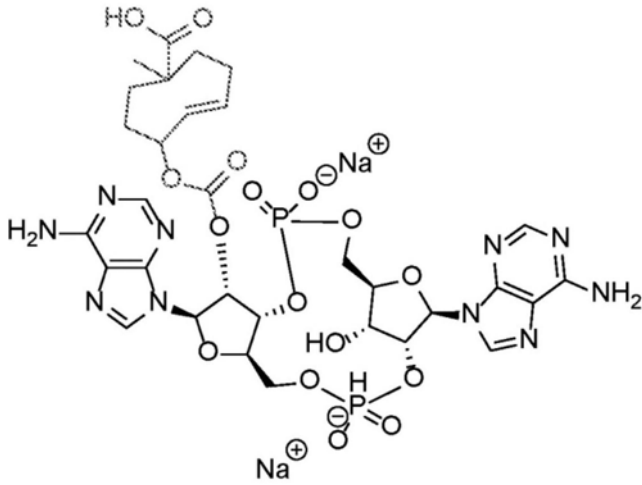


ADU-S100-TCO- 酸

[0308]



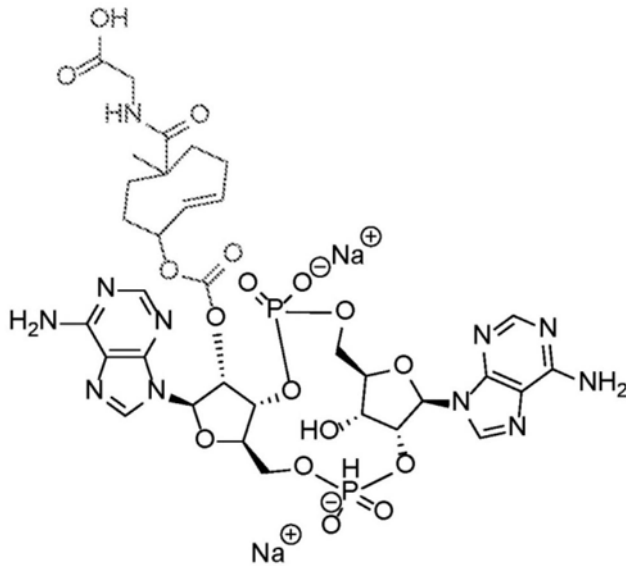
ADU-S100-TCO- 甘氨酸



2'3'-cGAMP-TCO-酸

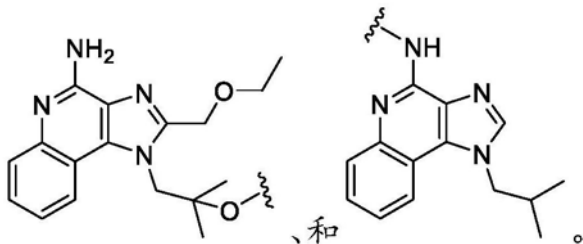
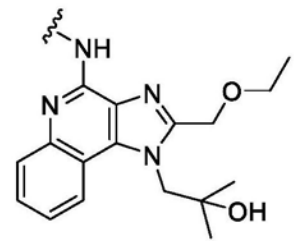
、或

[0309]



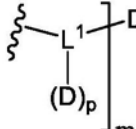
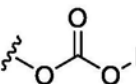
2'3'-cGAMP-TCO-甘氨酸

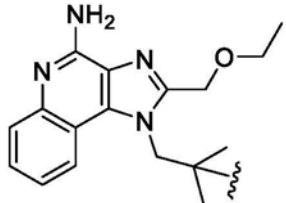
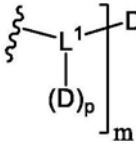
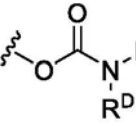
[0310] 优选地，D是咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺，例如，

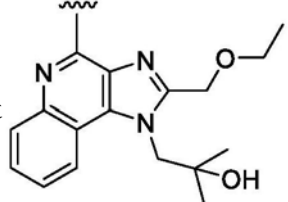
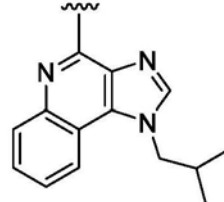


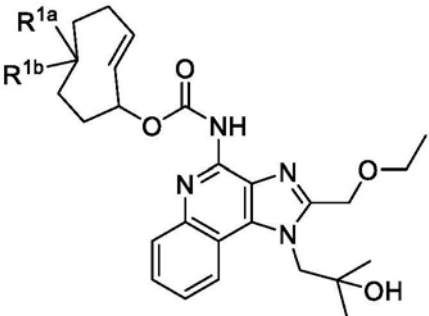
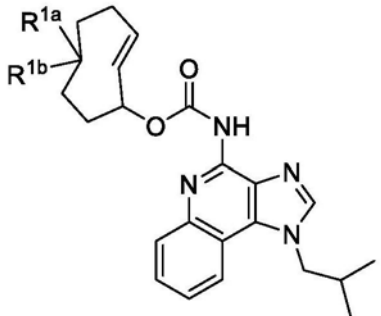
根据有效负载部分的前述定义，“咪唑并[4,5-c]

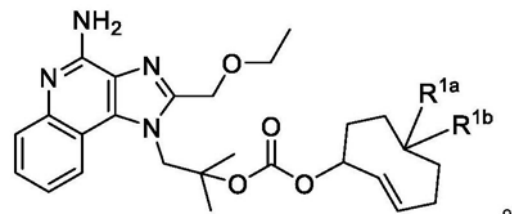
喹啉-4-胺有效负载部分”是咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺减去其附接至接头的亲核基团(典型

地O或N)。例如,当  是  时,咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺有效负载部分D'可

以是  例如,当  是  时,咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺

有效负载部分D'可以是  或  具有式(I)/(I-A)的化合

物包括  或 



[0311] 制备反式环辛烯修饰的有效负载的合成方法的详细描述于W0 2018/187740、W0 2014/205126、W0 2015/139025、W0 2017/044983,这些专利通过引用并入本文。

[0312] 这些化合物可以作为其中具有不对称或手性中心的立体异构体存在。这些立体异构体根据手性碳原子周围的取代基的构型是“R”或“S”。本文所用的术语“R”和“S”是如IUPAC 1974Recommendations for Section E, Fundamental Stereochemistry[用于部分E的推荐,基础立体化学], Pure Appl. Chem. [纯粹与应用化学], 1976, 45:13-30中所定义的构型。本披露考虑各种立体异构体及其混合物,并且这些具体地包括在本发明的范围内。立体异构体包括对映异构体和非对映异构体以及对映异构体或非对映异构体的混合物。这些化合物的单独立体异构体可由含有不对称或手性中心的可商购的起始材料合成制备,或通过制备外消旋混合物随后通过本领域普通技术人员熟知的拆分方法制备。这些拆分方法通过以下举例说明:(1)将对映异构体的混合物附接至手性助剂,通过重结晶或色谱法分离所得到的非对映异构体混合物并且从该助剂中任选释放光学纯产物,如Furniss, Hannaford, Smith, 和 Tatchell, “Vogel’s Textbook of Practical Organic Chemistry [沃格尔实用

有机化学教材”],第5版(1989),Longman Scientific&Technical[朗文科学技术出版社],艾塞克斯CM20 2JE,英格兰中所描述,或(2)在手性色谱柱上直接分离光学对映异构体的混合物,或(3)分步重结晶方法。

[0313] 应理解,这些化合物可以具有互变异构形式以及几何异构体,并且这些也构成本发明的一个方面。

[0314] 本披露也包括同位素标记的化合物,这些化合物与本文所叙述的那些化合物相同,但事实上,一个或多个原子被原子质量或质量数与通常见于自然界中的原子质量或质量数不同的原子替代。适合包含在本发明化合物中的同位素的实例是氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、以及氯,如但不限于对应地²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F、以及³⁶Cl。用较重的同位素如氘(即²H)取代可以获得源于更大的代谢稳定性的某些治疗优点(例如增加的体内半衰期或减少的剂量需求),并且因此在一些情况下可以是优选的。该化合物可以掺入有正电子发射同位素以用于医学成像和正电子发射断层摄影术(PET)研究以确定受体的分布。可掺入具有式(I)、(II-A)或(III-A)的化合物中的合适的正电子发射同位素为¹¹C、¹³N、¹⁵O和¹⁸F。本文披露的同位素标记的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过与所附实例中描述的那些方法类似的方法使用适当同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂来制备。

[0315] B. 治疗性支持体组合物

[0316] 治疗性支持体组合物包含支持体。支持体可以是生物相容性支持体组合物,即,与受试者的身体相容。在一些情况下,支持体对受试者是无毒的并且基本上不与受试者中的组织或生物化合物反应。例如,支持体可以是水凝胶等。支持体能够植入到受试者体内并支持结合剂(例如,含四嗪的基团)以及在结合剂缀合物后的有效负载。代表性的支持体包括但不限于聚合物、粘性或非粘性液体材料、凝胶、水凝胶、多糖水凝胶、交联聚合物基质、金属、陶瓷、塑料、骨移植物材料、藻酸盐、纤维素、壳聚糖、透明质酸、硫酸软骨素、肝素等。支持体还包括颗粒,如纳米颗粒、微颗粒等。

[0317] 水凝胶可以是多糖水凝胶、藻酸盐、纤维素、透明质酸、壳聚糖、甲壳质(chitosin)、壳多糖、透明质酸、硫酸软骨素、肝素等。其他适合的基于糖的生物材料包括在Polymer Advanced Technology[聚合物先进技术],2014,25,448-460中描述的那些。可以用作支持体的聚合物可以包括但不限于聚磷腈、聚酞、聚缩醛、聚(原酸酯)、聚磷酸酯、聚己内酯、聚氨酯、聚丙交酯、聚碳酸酯、聚酰胺和聚醚、以及其共混物/复合材料/共聚物。代表性聚醚包括但不限于聚(乙二醇)(PEG)、聚丙二醇(PPG)、三嵌段普朗尼克([PEG]_n-[PPG]_m-[PEG]_n)、PEG二丙烯酸酯(PEGDA)、以及PEG二甲基丙烯酸酯(PEGDMA)。支持体还可以包括蛋白质和其他聚(氨基酸),如胶原、明胶、弹性蛋白和弹性蛋白样多肽、白蛋白、纤维蛋白、聚(γ-谷氨酸)、聚(L-赖氨酸)、聚(L-谷氨酸)、聚(天冬氨酸)等。

[0318] 在一些实施例中,该支持体是水凝胶。在一些实施例中,该支持体是藻酸盐。在一些实施例中,该支持体是壳多糖。在一些实施例中,该支持体是透明质酸(例如,基本上无交联的非水凝胶透明质酸)。在一些实施例中,该支持体是甲壳质。

[0319] 在某些实施例中,该支持体是颗粒。本披露的颗粒可以具有2cm或更小、如1.5cm或更小、或者1cm或更小、或0.5cm或更小的直径。例如,这些颗粒可以是纳米颗粒或微颗粒。纳米颗粒包括具有纳米尺度(例如,1000nm或更小)的平均尺寸的颗粒。微颗粒是具有微米尺

度(例如,1000 μm 或更小)的平均尺寸的颗粒。“平均”意指算术平均值。在一些实施例中,这些纳米颗粒具有从1nm至1 μm ,如从10nm至1 μm 、或25nm至1 μm 、或50nm至1 μm 、或75nm至1 μm 、或100nm至1 μm 、或150nm至1 μm 、或200nm至1 μm 、或250nm至1 μm 、或300nm至1 μm 、或350nm至1 μm 、或400nm至1 μm 、或450nm至1 μm 、或500nm至1 μm 范围内的直径。在其他实施例中,这些微颗粒具有从1 μm 至1mm,如从10 μm 至1mm、或25 μm 至1mm、或50 μm 至1mm、或75 μm 至1mm、或100 μm 至1mm、或150 μm 至1mm、或200 μm 至1mm、或250 μm 至1mm、或300 μm 至1mm、或350 μm 至1mm、或400 μm 至1mm、或450 μm 至1mm、或500 μm 至1mm范围内的直径。在进一步的实施例中,可以组装直径大约10-100nm的小颗粒以形成更大的复合物,如约1-10 μm 的簇或组装体。本披露的颗粒可以是基本上球形的,以使得这些颗粒具有基本上圆形的截面。也可以使用其他颗粒形状,如但不限于椭圆体、立方体、圆柱体、圆锥体、针状物或其他不规则形状。

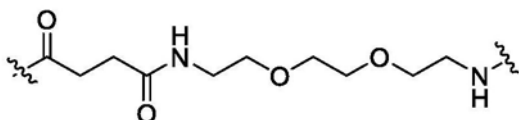
[0320] “颗粒”可以采取任何制造材料、分子、色氨酸、病毒、噬菌体等的形式。颗粒可以由以下材料构成,该材料如但不限于金属、陶瓷、塑料、玻璃、复合材料、聚合物、水凝胶等。例如,这些颗粒可以由惰性材料如藻酸盐或氧化铁制成。在一些实例中,这些颗粒可以是磁性的并且可以由顺磁、超顺磁或铁磁材料或响应于磁场的其他材料形成。此外,颗粒可以具有任何形状,例如球体、棒、非对称形状等。这些颗粒或复合物中的一组若干颗粒可以用具有特异性亲和力的受体进行官能化,以与临床上相关的底物结合或相互作用。受体可能是颗粒本身固有的。例如,颗粒本身可以是对某些底物具有固有亲和力的病毒或噬菌体。另外或可替代地,这些颗粒可以通过共价或以其他方式附接或缔合特异性地结合或以其他方式识别特定临床上相关底物的受体来进行官能化。官能化受体可以是对目标底物具有确定亲和力的抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或任何其他分子。可以用于“颗粒”和/或“载剂”的材料的实例包括聚乳酸、聚乙醇酸、PLGA聚合物、藻酸盐和藻酸盐衍生物、明胶、胶原、纤维蛋白、透明质酸、富含层粘连蛋白的凝胶、琼脂糖、天然和合成多糖、聚氨基酸、多肽、聚酯、聚酸酐、聚磷嗪、聚(乙烯醇)、聚(环氧烷)、聚(烯丙胺)(PAM)、聚(丙烯酸酯)、修饰的苯乙烯聚合物、普卢兰尼克多聚醇、泊洛沙姆、聚(糖醛酸)、聚(乙烯吡咯烷酮)、以及上述中的任一种的共聚物或接枝共聚物。这些实例不限制它们的浓度、它们与不同试剂的交联、它们的施用方法、它们的定制降解情况以及本领域技术人员已知的其他特性。

[0321] 可以用特异性地结合(或基本上特异性地结合)至靶标(例如靶受体或细胞表面靶标,如临床上相关的受体或细胞表面靶标(例如抗原))的靶向剂(例如,配体或抗体)将这些颗粒或复合物中的一组若干颗粒官能化。该靶向剂可以直接附接至颗粒本身。该靶向剂可以是对靶受体或细胞表面靶标具有特异性亲和力的抗体、肽、核酸、噬菌体、细菌、病毒或任何其他分子。在一些情况下,该受体或细胞表面靶标是PD-1、CTLA-4、HER2/neu、HER1/EGFR、VEGFR、BCR-ABL、SRC、JAK2、MAP2K、EML4-ALK、BRAF V600E、4-1BB、GITR、GSK3 β 或其他细胞受体或细胞表面靶标。可以帮助检测这些颗粒(例如,体内检测)的其他化合物或分子(如荧光团或自发荧光或发光标志物)也可以附接至这些颗粒。如本文所述,这些配体和/或可检测标记可以直接附接至颗粒或通过生物正交官能团附接至颗粒。

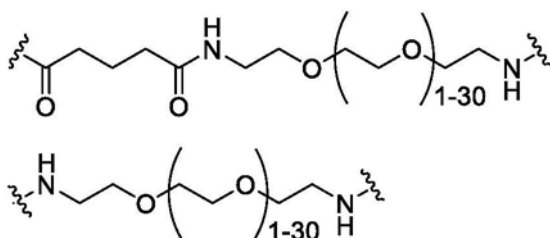
[0322] 在某些实施例中,该支持体是骨移植物材料,如骨移植物代用材料。骨移植物代用材料是与骨结构相似的材料。在一些情况下,骨移植物代用材料是可生物再吸收的,以使得骨移植物代用材料可以随时间推移在体内溶解或被吸收。骨移植物代用材料可以是骨传导性的,以使得它促进血管和新骨形成到骨移植物代用材料中。在一些情况下,骨移植物代用

材料是骨诱导性的,以使得通过从周围组织中主动募集间充质干细胞来促进新骨的形成。例如,生长因子如骨形态发生蛋白可以包括在骨移植物代用材料中。骨移植物代用材料包括但不限于羟基磷灰石、磷酸三钙、脱钙骨基质、牛胶原蛋白、硫酸钙、磷酸钙、松质骨碎片等、以及其组合。

[0323] 本披露的治疗性支持体组合物包括支持体和共价附接到支持体的第一结合剂。结合剂可以在支持体表面,如支持体的溶剂可及表面(例如,与周围溶剂接触的支持体表面)上附接至支持体。在一些情况下,结合剂直接附接至支持体。例如,结合剂可以例如通过共价键如酰胺、胺、酯、氨基甲酸酯、脲、硫醚、硫代氨基甲酸酯、硫代碳酸酯、硫脲等共价附接至支持体的表面。在一些情况下,结合剂通过酰胺键共价附接至支持体。在其他情况下,结合剂可以经由接头附接至支持体。任何适合的接头可以用于将结合剂连接至支持体。代表性接头可以具有从1至100个连接原子,并且可以包括乙烯-氧基基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、以及酮官能团。例如,接头可以具有从1至50个连接原子,或从5至50个连接原子,或从10至50个连接原子。代表性接头包括但不限于,以下所示的那些:

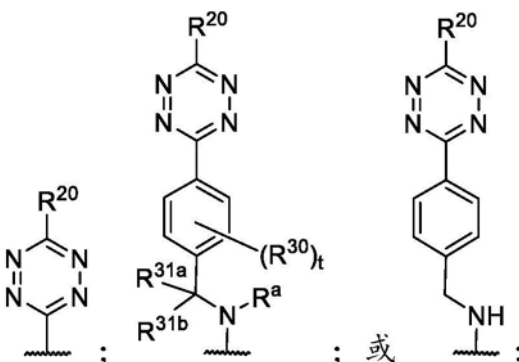


[0324]



[0325] 在某些实施例中,这些治疗性支持体组合物包括支持体和具有下式的含四嗪的基团:

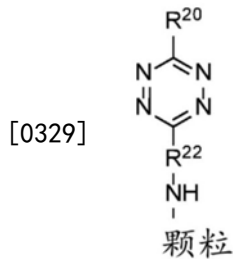
[0326]



[0327] 其中 R^{20} 选自由以下组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)OR'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR'R''$; R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;并且 R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基; R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂烷基、

芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基； R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -卤代烷基；并且 t 是0、1、2、3或4。

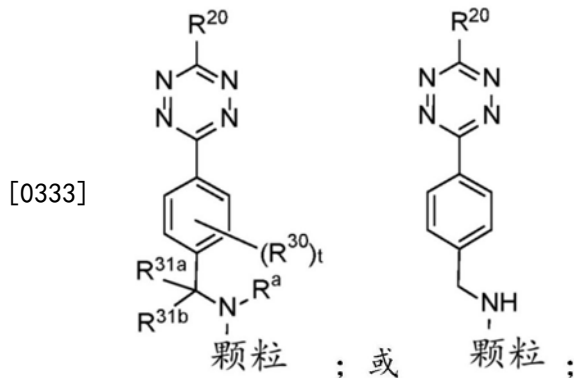
[0328] 在某些实施例中，这些治疗性支持体组合物具有式：



[0330] 其中

[0331] R^{20} 选自由以下组成的组：氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$ ； R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基； R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基；并且 R^{22} 是具有1至100个连接原子的接头，并且可以包括乙烯-氧基基团、胺、酯、酰胺、氨基甲酸酯、碳酸酯、以及酮官能团。例如，接头可以具有从1至50个连接原子，或从5至50个连接原子，或从10至50个连接原子。

[0332] 在某些实施例中，这些治疗性支持体组合物具有式：

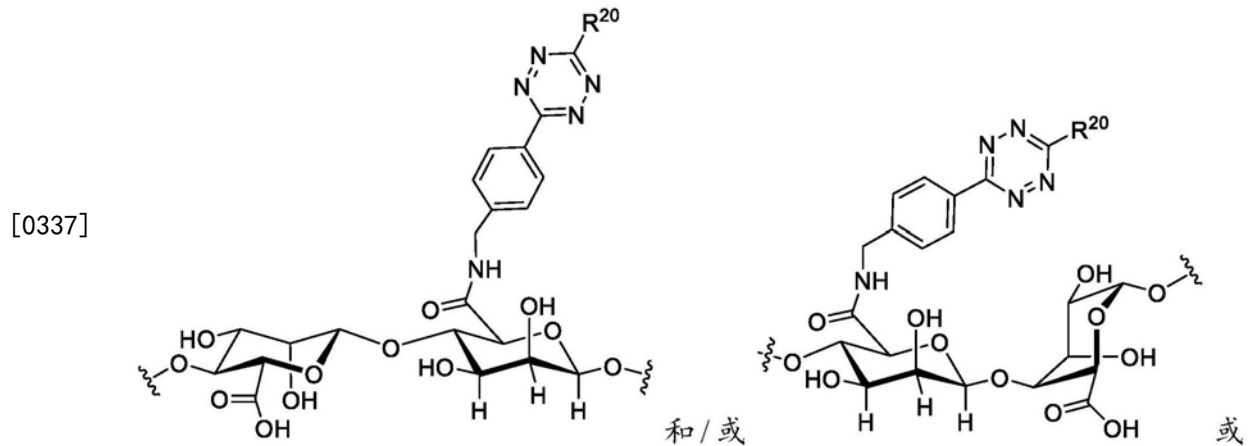


[0334] 其中

[0335] R^{20} 选自由以下组成的组：氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R''$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$ ； R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基； R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基； R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基；烯基、炔基、烷氧基；卤代烷氧基；杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基； R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -卤代烷基；

并且t是0、1、2、3或4。

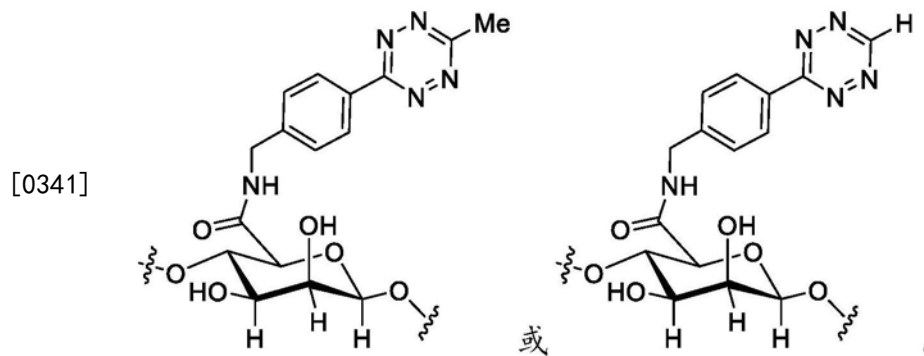
[0336] 在某些实施例中,这些治疗性支持体组合物包含经取代的具有下式的单元的藻酸盐:



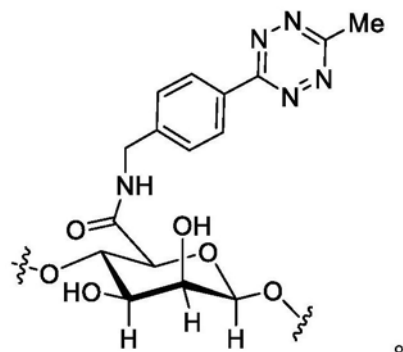
[0338] 其盐,

[0339] 其中 R^{20} 选自由以下组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR''$ 、 $C(=S)NR''$ 、 NR'' 、 $NR''C(=O)R''$ 、 $NR''C(=S)R''$ 、 $NR''C(=O)OR''$ 、 $NR''C(=S)OR''$ 、 $NR''C(=O)SR''$ 、 $NR''C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR''$ 、 $SC(=O)NR''$ 、 $OC(=S)R''R''$ 、 $SC(=S)R''R''$ 、 $NR''C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR''C(=S)NR''R''$; R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;并且 R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基。

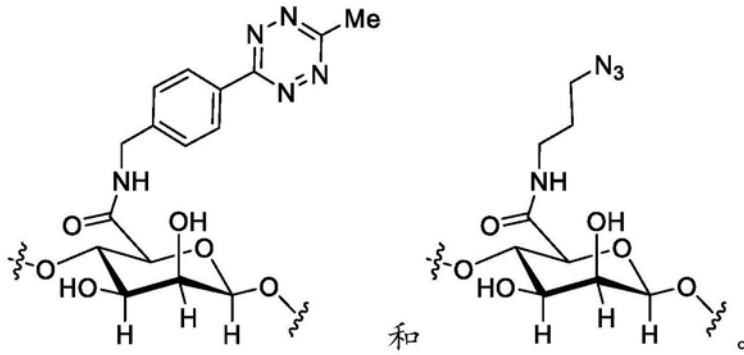
[0340] 在某些实施例中,这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元:



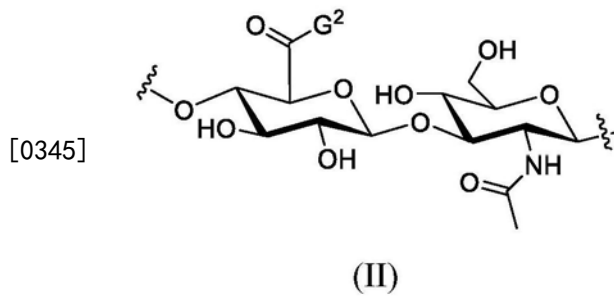
[0342] 在一些实施例中,这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元:



[0343] 在一些实施例中,这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元:



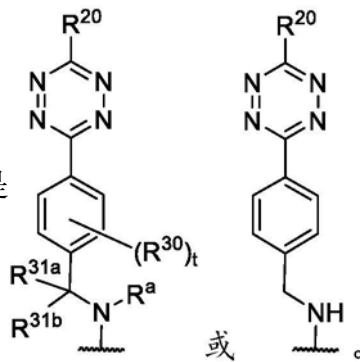
[0344] 在一些实施例中,这些治疗性支持体组合物包含经取代的具有式(II)的单元的透明质酸:



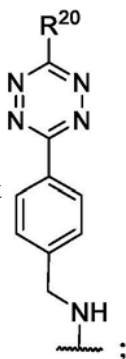
[0346] 其中 G^2 是

R^{20} 是1至100个连接原子的接头;并且 R^{20} 是如本文所定义的。

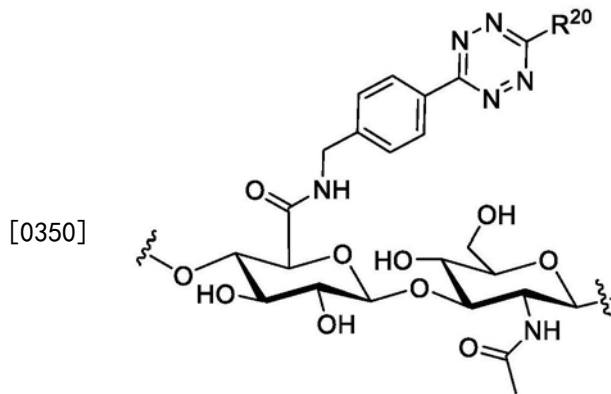
[0347] 在进一步的实施例中, G^2 是



[0348] 在仍进一步的实施例中, G^2 是



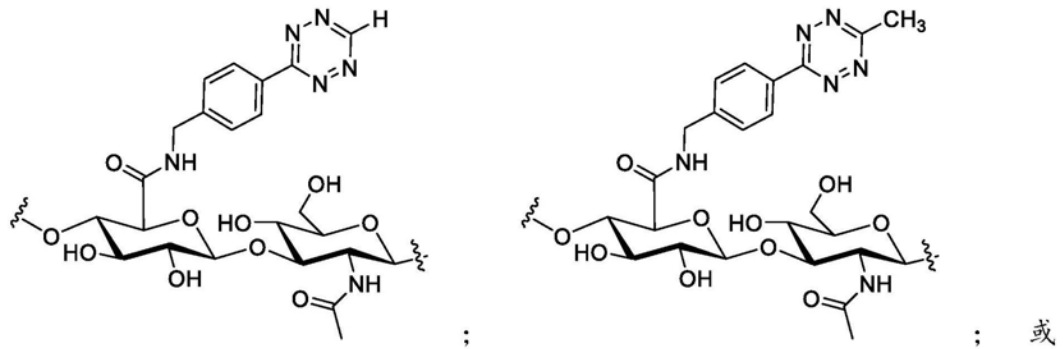
[0349] 具有式(II)的化合物包括具有式(III)的化合物:



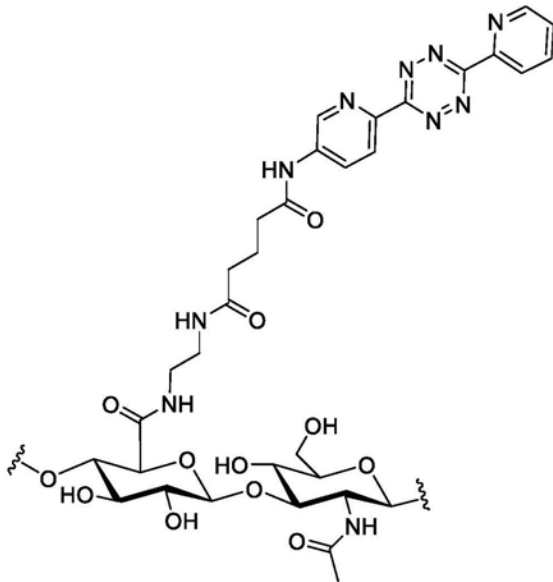
(III)

[0351] 其中 R^{20} 选自由以下组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR'R''$; R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;并且 R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基。在根据式(III)的进一步的实施例中, R^{20} 是氢或 C_{1-4} 烷基。

[0352] 在一些实施例中,这些治疗性支持体组合物包含具有下式的单元:



[0353]



[0354] 另外的治疗性支持体组合物在W0 2017/044983、W0/2015/139025 A1和W0/2014/205126 A1中举例说明,这些专利的每一个通过引用以其全文并入本文。

[0355] 透明质酸衍生物包括具有多个葡萄糖醛酸单元的透明质酸和与透明质酸的葡萄糖醛酸单元连接或直接键合的含四嗪的基团。透明质酸还可以具有多个N-乙酰葡萄糖胺单元。在某些实施例中,透明质酸的N-乙酰葡萄糖胺单元不连接或缀合至含四嗪的基团。

[0356] 含四嗪的基团可以通过葡萄糖醛酸单元的羧酸连接或直接键合。含四嗪的基团能以约0.1%至约80%掺入透明质酸,如通过连接或缀合至含四嗪的基团的羧酸的%所测量的,例如,以约1%至约75%、约5%至约75%、约10%至约50%、或约40%至约75%掺入透明质酸,如通过连接或缀合至含四嗪的基团的羧酸的%所测量的。

[0357] 3. 合成方法

[0358] 可以结合以下合成方案和方法更好地理解本披露的化合物,这些合成方案和方法说明了可以制备这些化合物的方式。

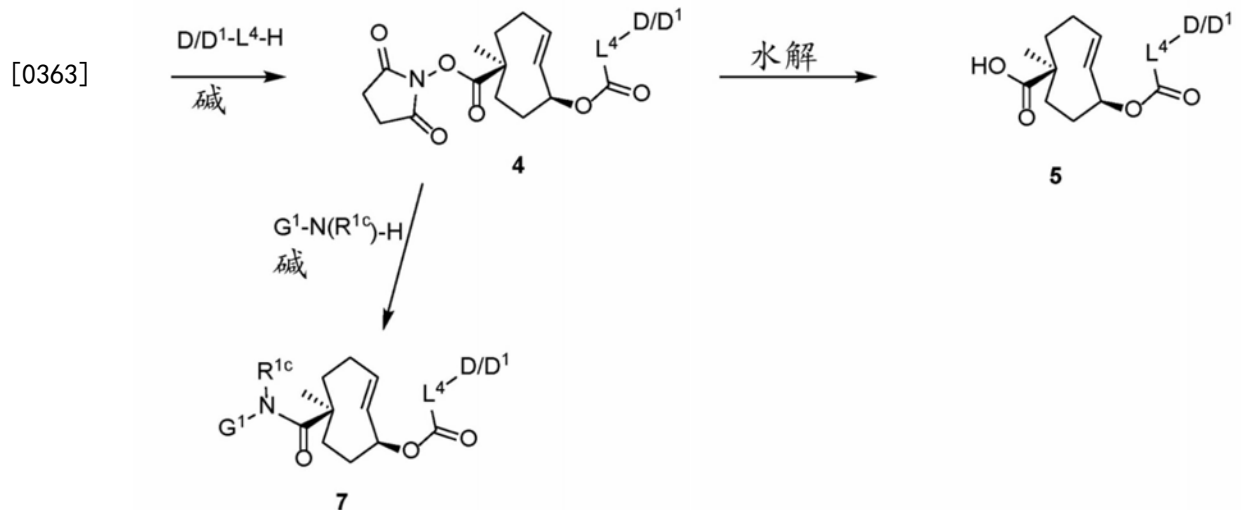
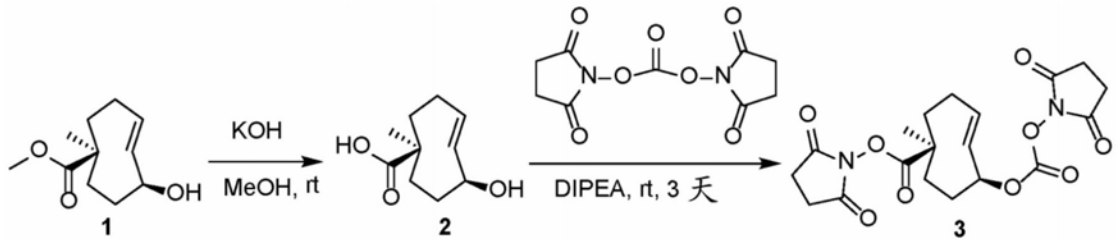
[0359] 一般来说,具有式(I-A)/(I-B)/(II-A)/(III-A)的化合物可以在接头附接至环辛烯部分之前或之后通过使具有伯胺、仲胺、或羟基基团的有效负载与适当地激活的接头反应来制备。应理解,接头上的反应性基团(例如,酯、碳酸酯、酰氯、羧酸)可以位于接头基团的任何选定位置上。相反地,接头可以具有亲核胺或羟基基团,该亲核胺或羟基基团可以与有效负载上的合适的基团(例如,醛、酮、酯、碳酸酯、羧酸或酰氯)反应。

[0360] 在某些实施例中,如下文所示,为亲核加成而激活的反式环辛烯可以在碱存在下

与适合的有效负载 (D/D^1) 或附接至接头 L^4-H 的有效负载反应以提供官能化的有效负载。有效负载或接头可以包括与激活的TCO反应的伯胺、仲胺或羟基基团。在某些实施例中, 离去基团 (LG) 是氯离去基团、对硝基酚离去基团、或N-羟基琥珀酰亚胺离去基团。用于该反应的示例性碱包括有机碱和无机碱, 例如像三乙胺、吡啶、氢氧化钠、以及碳酸氢钠。

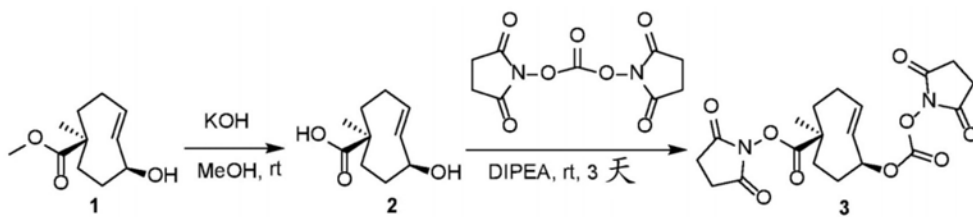
[0361] 如方案1所示, 具有激活的碳酸酯的反式环辛烯可以与 (D/D^1) - L^4 -H 偶联以提供中间体4, 该中间体可以进一步水解为酸5或在碱性条件下与胺 $G^1-N(R^{1c})H$ 偶联以提供7。适用于方案1的方法的 $G^1-N(R^{1c})H$ 包括例如 $HN(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $HN(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、 $HN(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基、和 $HN(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-4}$ 烷基。

[0362] 方案1

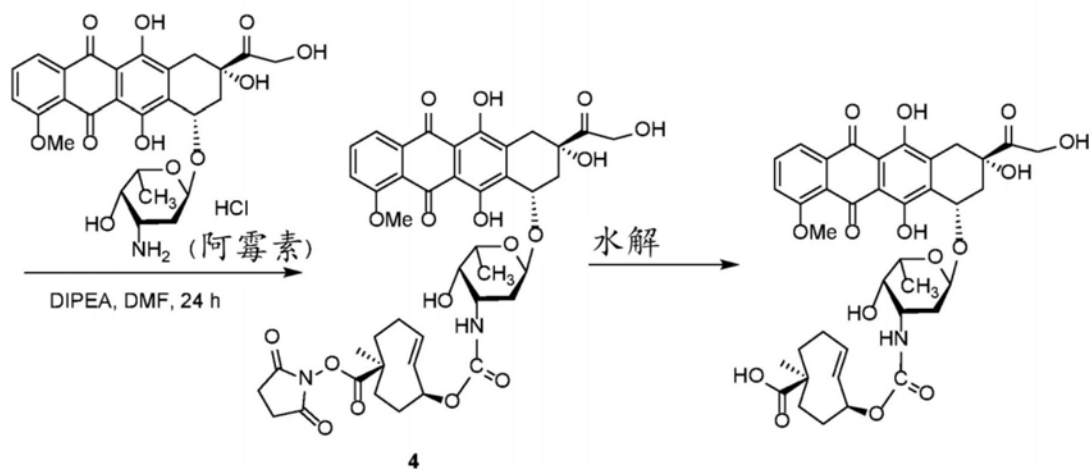


[0364] 如以下方案2所示, 具有激活的碳酸酯的反式环辛烯可以与具有胺的有效负载 (例如, 阿霉素, 缩写为doxo) 偶联。中间体4可以水解为酸以提供本发明的官能化的有效负载。

[0365] 方案2

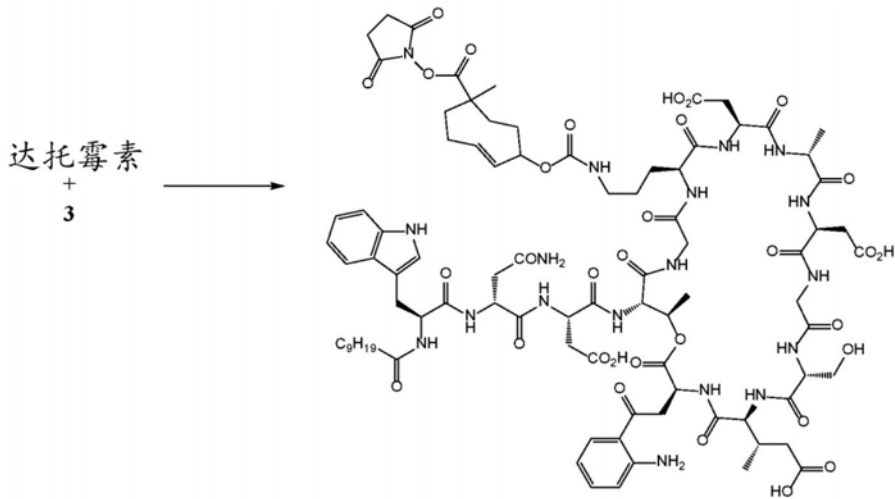


[0366]

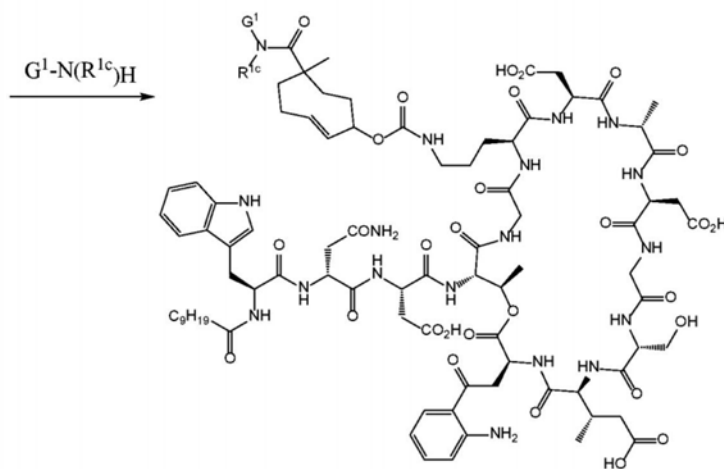


[0367] 方案3说明了前述化学反应的进一步应用,其中中间体碳酸酯可以与达托霉素的鸟氨酸侧链反应并且在碱性条件下进一步与含氨基基团 $G^1-N(R^{1c})H$ 偶联。

[0368] 方案3

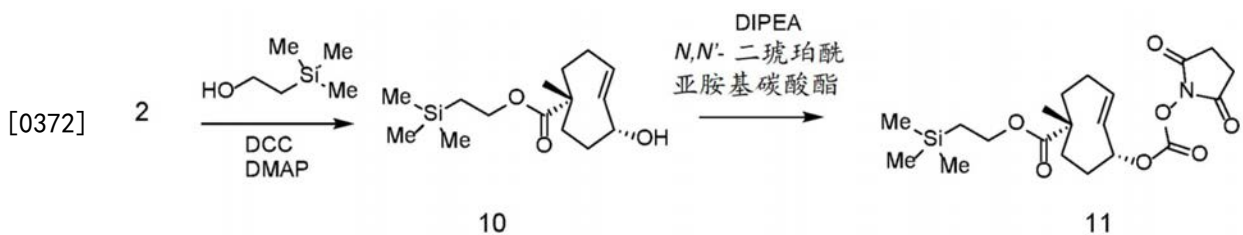


[0369]



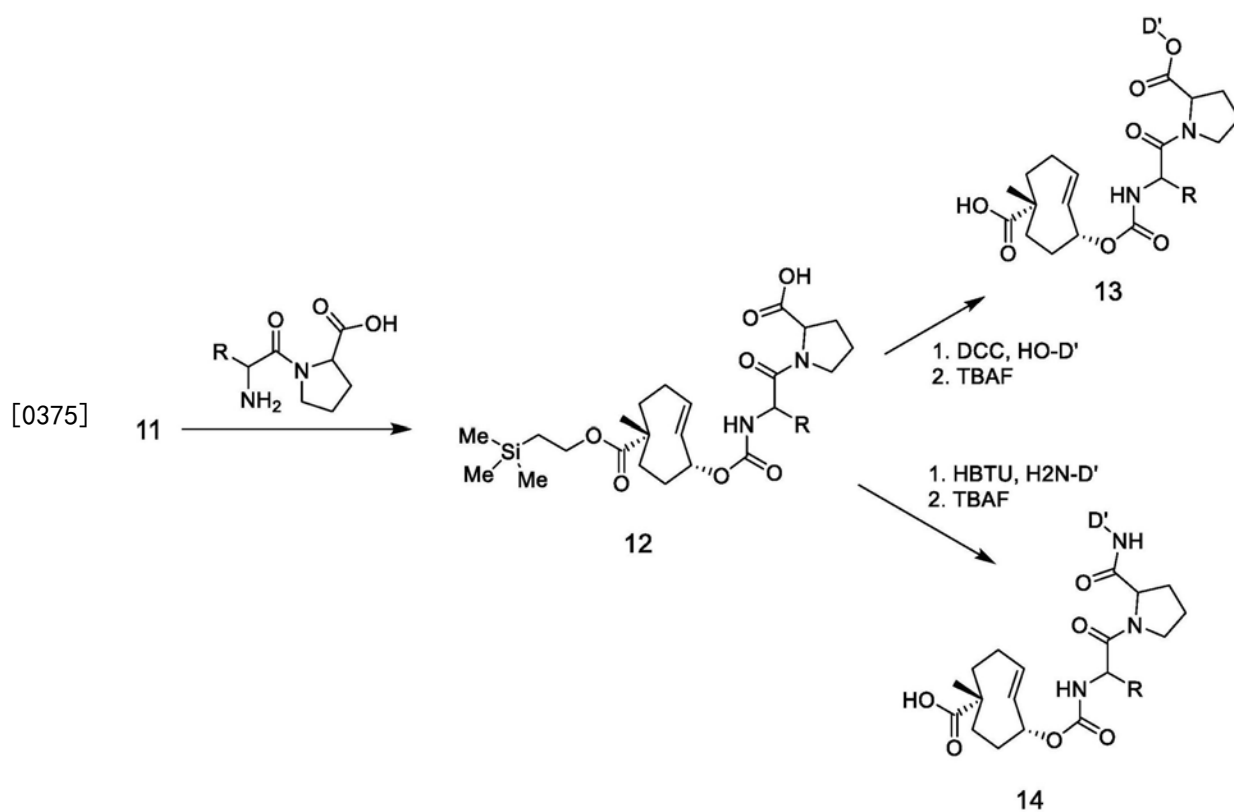
[0370] 方案4示出了将中间体10转化为中间体11的合成顺序。10或11可以用于使用在W0 2017/044983中所披露的通用合成方法来加工接头(受保护的接头或附接至有效负载的接头)。三甲基甲硅烷基乙基基团可以在合成顺序中的适当的点除去以提供羧酸。本领域的技术人员将能够调整合成路线和保护基团策略以得到本发明的化合物。

[0371] 方案4



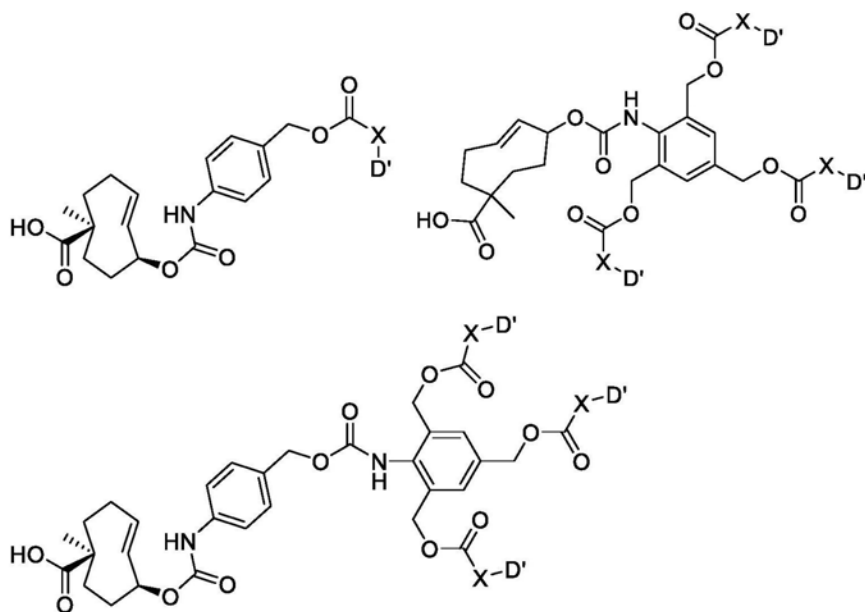
[0373] 例如,方案5说明了将11转化为羧酸中间体,该羧酸中间体可以进一步被转化为带有有效负载的产物13和14。

[0374] 方案5

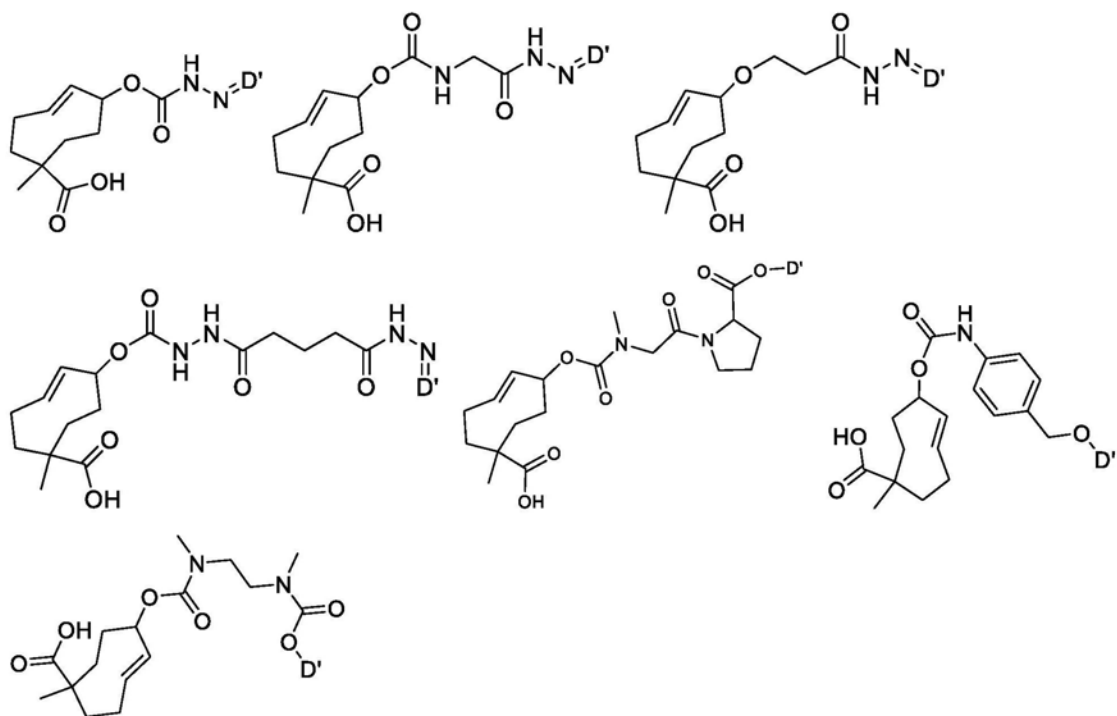


[0376] 可以使用11制备的其他羧酸包括方案6中示出的那些。方案5和6中的有效负载部分D' 是有效负载D或D¹的有效负载部分。

[0377] 方案6

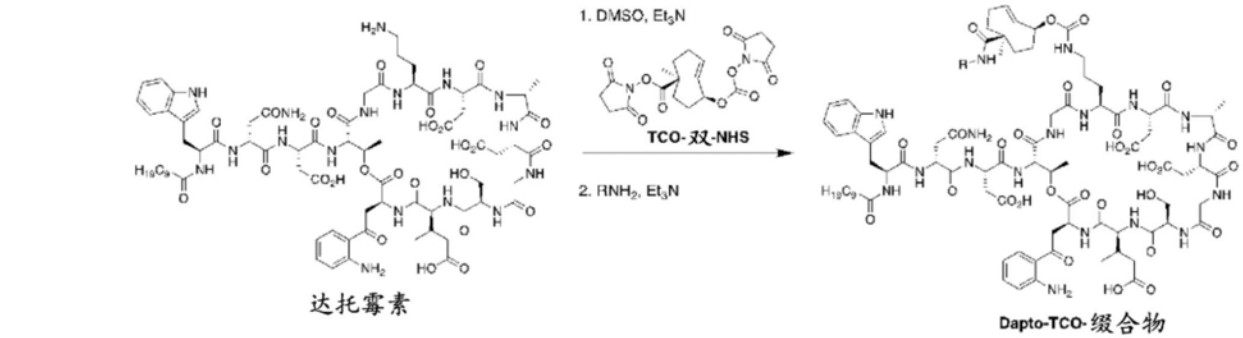
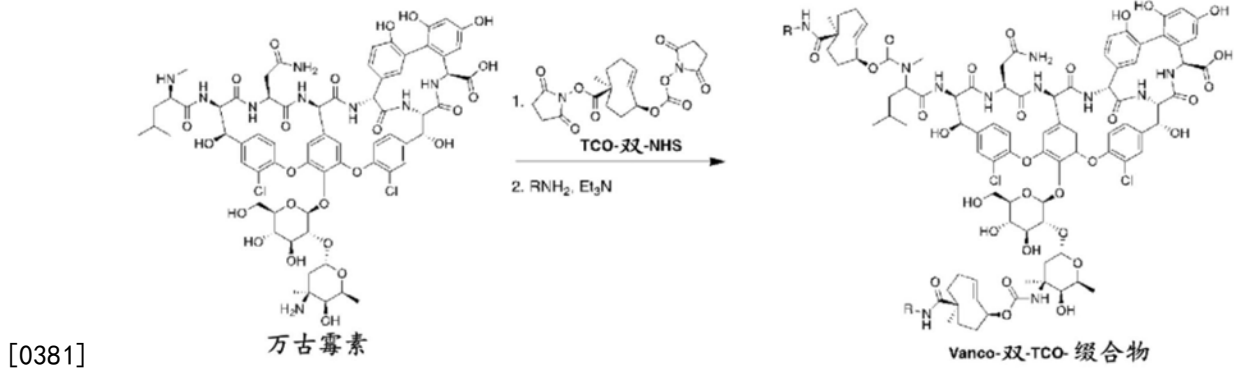


[0378]



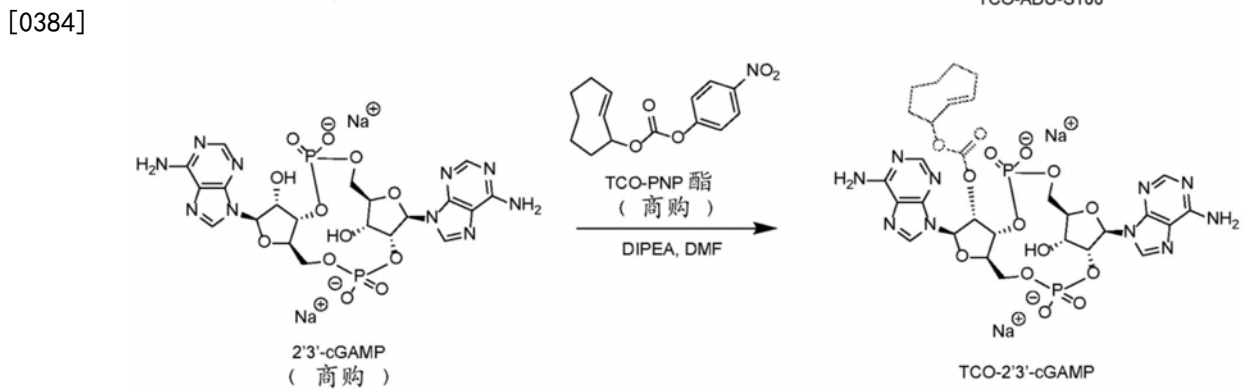
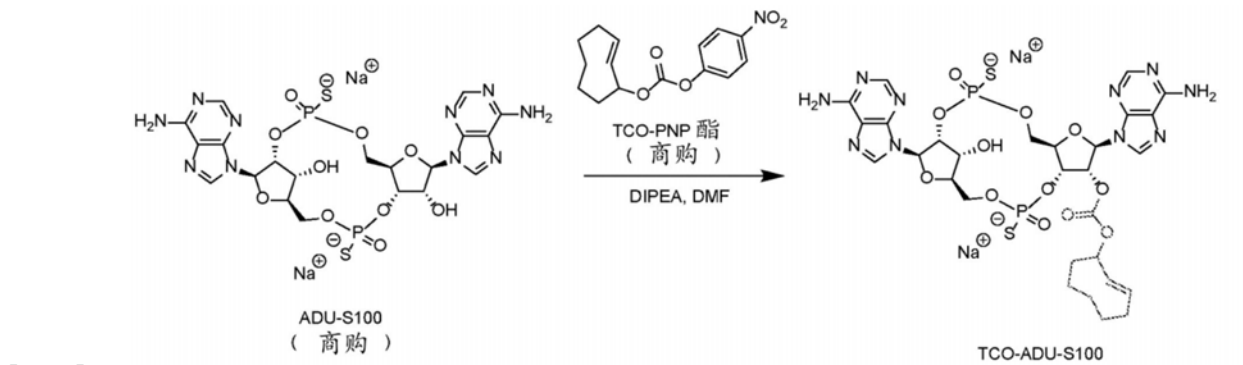
[0379] 方案7说明了制备在TC0上具有酰胺取代的TC0缀合物的通用方法。

[0380] 方案7



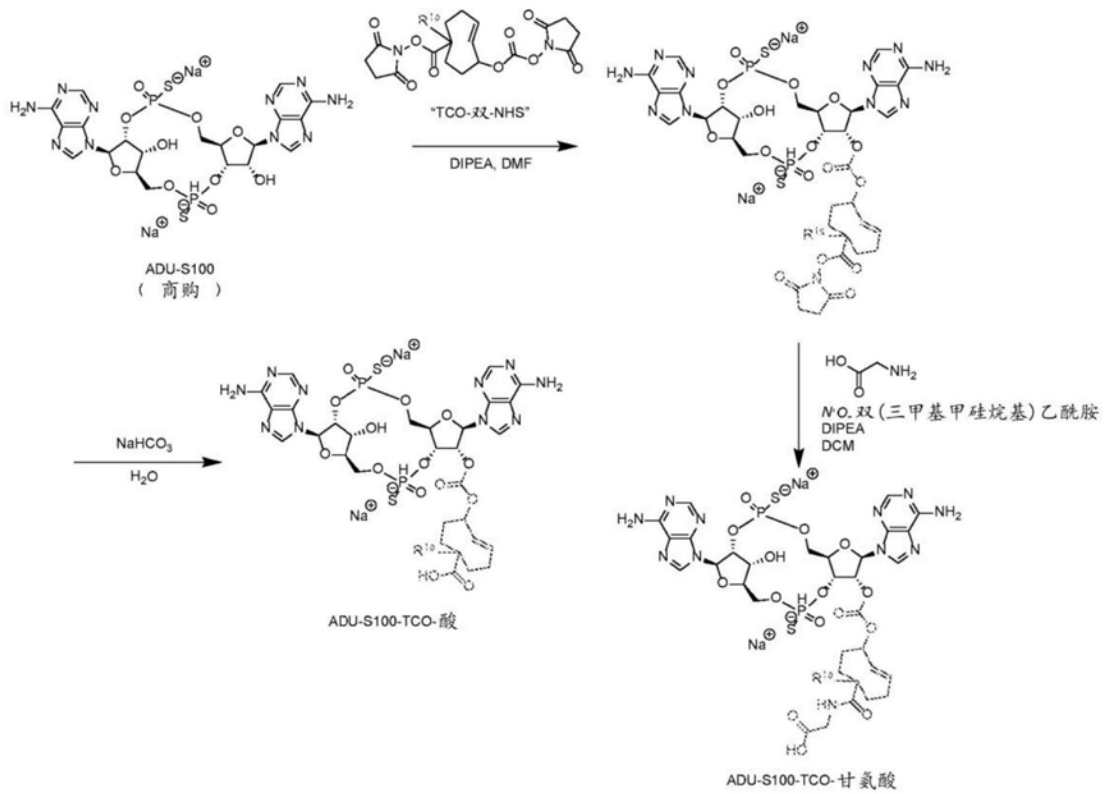
[0382] 方案8示出了制备代表性STING激动剂TCO缀合物的合成方法。

[0383] 方案8

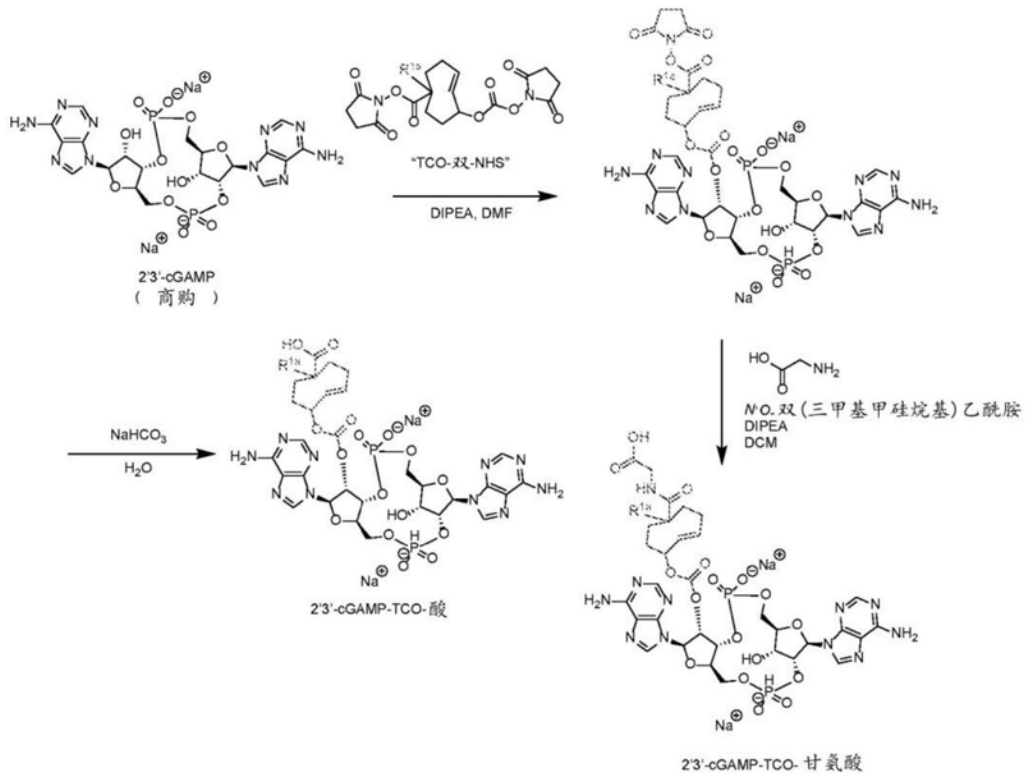


[0385] 方案9示出了制备代表性STING激动剂TCO缀合物的合成方法。

[0386] 方案9

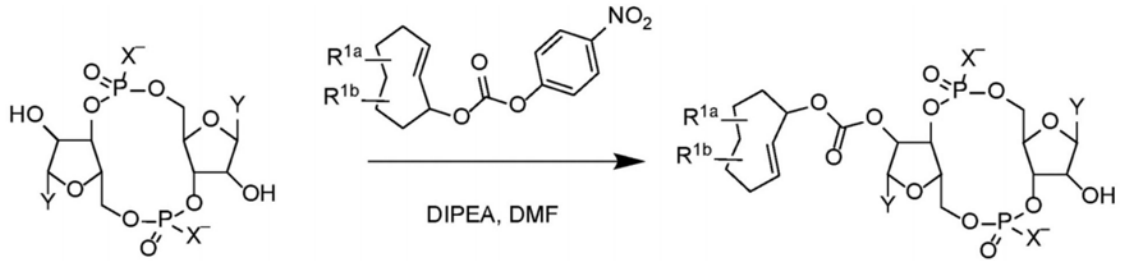


[0387]

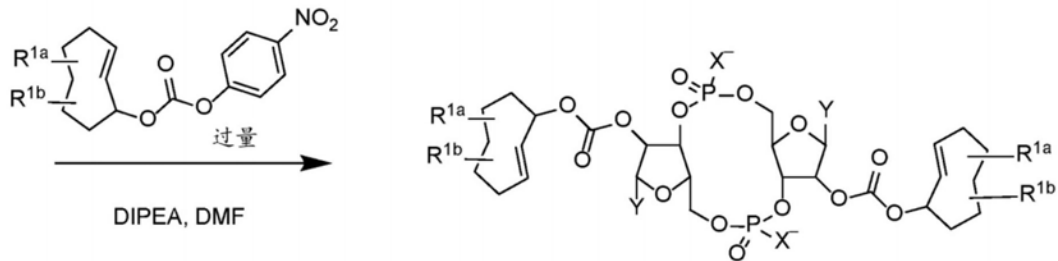


[0388] 方案10说明了一种将环状二核苷酸缀合至反式环辛烯(如在式(I)中所示)的通用方法。该说明的方法通过使环状二核苷酸分子与硝基苯基碳酸酯取代的反式环辛烯在碱的存在下反应以形成单取代或双取代的环状二核苷酸(取决于反式环辛烯试剂的量)来进行。

[0389] 方案10

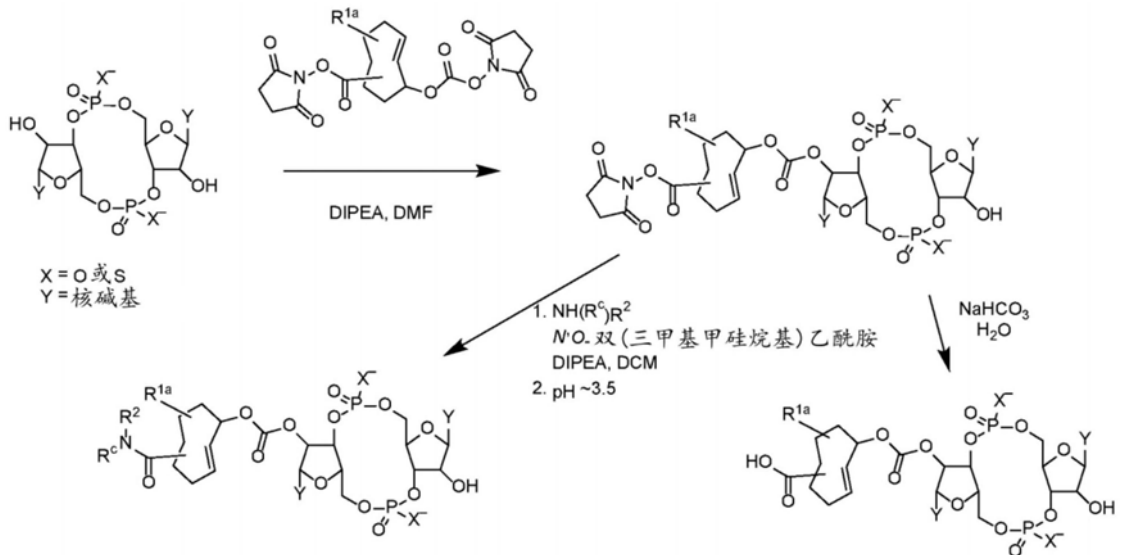


[0390] X = O 或 S
Y = 核碱基



[0391] 方案11说明了一种将环状二核苷酸缀合至反式环辛烯的通用方法,其中R²是-C₁₋₆亚烷基-CO₂H、-CHR^{1e}CO₂H、-C₁₋₆亚烷基-C(O)OC₁₋₄烷基、C(O)OC₁₋₄烷基、或-CHR^{1e}C(O)OC₁₋₄烷基,其对应于式(I)中的R^{1b},而R^{1b}是C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-CO₂H、C(O)OH、C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H、C(O)N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-C(O)OC₁₋₄烷基、C(O)OC₁₋₄烷基、或C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC₁₋₄烷基中之一。方案11中的过程与方案1-3、7和9中的那些类似地进行。方案11中说明的过程可以经改进,类似于方案10使用过量反式环辛烯试剂来提供双缀合的环状二核苷酸。

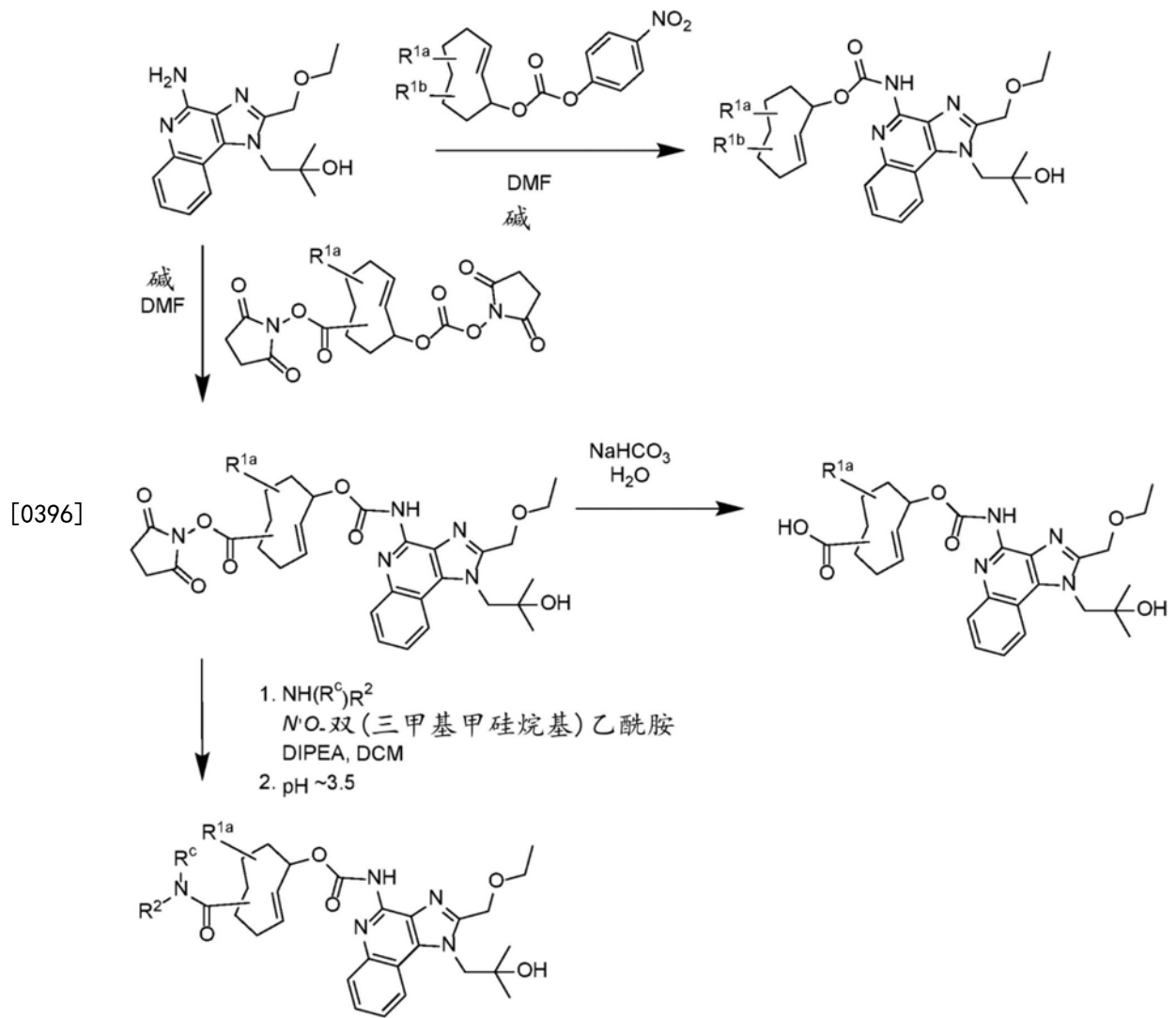
[0392] 方案11

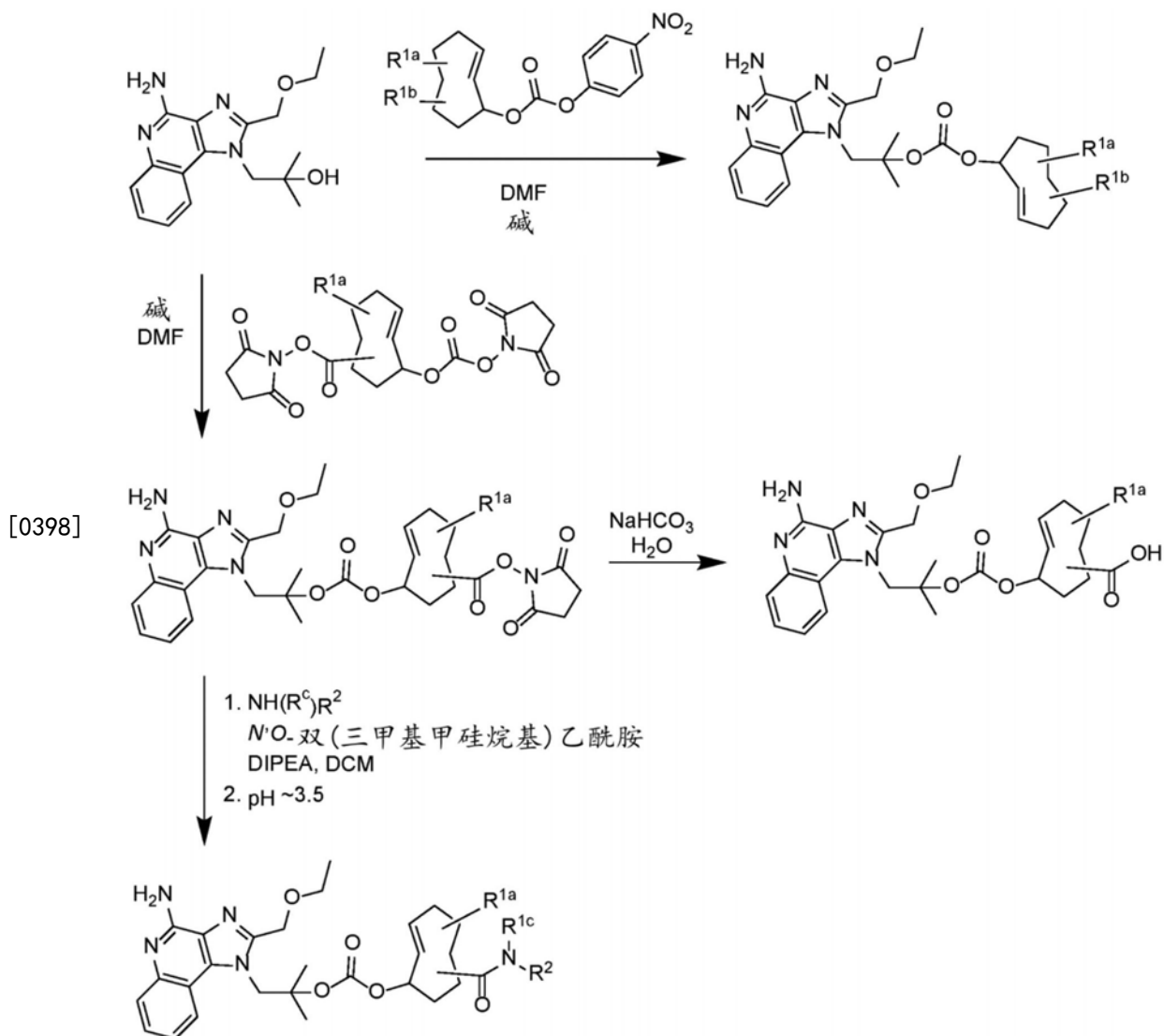


[0393] X = O 或 S
Y = 核碱基

[0394] 方案12和13说明了按照与方案10和11类似的程序,将咪唑并[4,5-c]喹啉-4-胺缀合至反式环辛烯(如式(I)中所示)的代表性合成方法。

[0395] 方案12





[0399] 所披露的化合物可以通过立体定向合成或通过拆分以外消旋形式或作为单独的对映异构体或非对映异构体来制备。例如，可以通过标准技术将这些化合物拆分成它们的组分对映异构体或非对映异构体，如通过与光学活性碱形成盐而形成立体异构体对，然后分步结晶并再生游离酸。还可以通过形成立体异构酯或酰胺来拆分这些化合物，随后色谱分离并除去手性助剂。可替代地，可以使用手性HPLC柱来拆分这些化合物。这些对映异构体也可以使用脂肪酶从相应酯的外消旋体的动力学拆分获得。

[0400] 本文所述的化合物可以呈盐，例如药学上可接受的盐的形式。术语“药学上可接受的盐”包括活性化合物的盐，这些活性化合物取决于本文所述的化合物上发现的特定取代基用相对无毒的酸或碱制备。这些化合物的中性形式可以通过使该盐与碱或酸接触并且以常规方式分离母体化合物而再生。化合物的母体形式在某些物理性质（如在极性溶剂中的溶解度）方面不同于各种盐形式，但在其他方面，这些盐出于本披露的目的等效于化合物的母体形式。药学上可接受的盐的实例在Berge等人，1977，“Pharmaceutically Acceptable Salts. [药学上可接受的盐]” J. Pharm. Sci. [药物科学杂志] 第66卷，第1至19页中进行了讨论。

[0401] 例如，如果化合物是阴离子或具有可以是阴离子的官能团（例如， $-\text{COOH}$ 可以是-

COO⁻), 则盐可用合适的阳离子形成。适合的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子, 如Na⁺和K⁺; 碱土金属阳离子, 如Ca²⁺和Mg²⁺; 以及其他阳离子。适合的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子(即NH₄⁺)和取代的铵离子(例如NH₃R₁⁺、NH₂R₂⁺、NHR₃⁺、NR₄⁺)。一些合适的取代的铵离子的实例是衍生自如下的那些: 乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺和氨丁三醇、以及氨基酸(如赖氨酸和精氨酸)。

[0402] 如果化合物是阳离子或具有可以是阳离子的官能团(例如, -NH₂可以是-NH₃⁺), 则盐可用适合的阴离子形成。合适的无机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下无机酸的那些: 盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸和亚磷酸。

[0403] 适合的有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下有机酸的那些: 2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、依地酸、乙二磺酸、乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基马来酸、羟基萘羧酸、羟乙基磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘液酸、油酸、草酸、棕榈酸、扑酸、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、对氨基苯磺酸、酒石酸、甲苯磺酸、以及戊酸。适合的聚合有机阴离子的实例包括但不限于衍生自以下聚合酸的那些: 鞣酸、羧甲基纤维素。

[0404] 除非另有规定, 否则提及特定化合物也包括其盐形式。

[0405] 可方便或可期望制备、纯化和/或处理呈化学上受保护的形式的活性化合物。术语“化学上受保护的形式”在本文中以常规化学意义使用, 且属于其中一个或多个反应性官能团受保护以免在特定条件(例如, pH、温度、辐射、溶剂等)下发生不希望的化学反应的化合物。在实践中, 采用熟知的化学方法来可逆地致使官能团不具有反应性, 否则该官能团在特定条件下将具有反应性。在化学上受保护的形式中, 一个或多个反应性官能团是受保护或保护基团(也称作被掩蔽或掩蔽基团或被阻断或阻断基团)的形式。通过保护反应性官能团, 可以在不影响受保护基团的情况下进行涉及其他未保护的反应性官能团的反应; 通常在后续步骤中可以在基本上不影响分子的其余部分的情况下除去保护基团。参见, 例如 Protective Groups in Organic Synthesis [有机合成中的保护基团] (T.Green和P.Wuts; 第3版; John Wiley and Sons [约翰威利父子出版公司], 1999)。除非另有规定, 否则提到特定化合物也包括其化学上受保护的形式。

[0406] 多种这样的“保护”、“阻断”或“掩蔽”方法广泛使用且在有机合成中是熟知的。例如, 可以衍生具有两个非等效反应性官能团(二者在特定条件下都具有反应性)的化合物以使这些官能团中的一个“受保护”, 因此在特定条件下不具有反应性; 这样保护之后, 可以将该化合物用作实际上仅有一个反应性官能团的反应物。在所希望的反应(涉及另一官能团)完成之后, 可以使受保护基团“去保护”以使其回到其最初官能度。

[0407] 可以将羟基基团保护为醚(-OR)或酯(-OC(O)R), 例如保护为: 叔丁基醚; 苄基醚、二苯甲基(二苯基甲基)醚或三苯甲基(三苯基甲基)醚; 三甲基甲硅烷基或叔丁基二甲基甲硅烷基醚; 或乙酰基酯(-OC(O)CH₃、-OAc)。

[0408] 可以将醛或酮基团分别保护为缩醛(RCH(OR)₂)或缩酮(R₂C(OR)₂), 其中通过与例如伯醇反应来使羰基基团(R₂C=O)转化为二醚(R₂C(OR)₂)。醛或酮基团容易通过在酸存在下使用大量的水进行水解而再生。

[0409] 例如,胺基团可以被保护为酰胺(-NRC(O)R)或聚氨酯(-NRC(O)OR),例如保护为:甲基酰胺(-NHC(O)CH₃);苄氧基酰胺(-NHC(O)OCH₂C₆H₅,-NH-Cbz);叔丁氧基酰胺(-NHC(O)OC(CH₃)₃,-NH-Boc);2-联苯基-2-丙氧基酰胺(-NHCO(O)C(CH₃)₂C₆H₄C₆H₅,-NH-Bpoc)、9-芴基甲氧基酰胺(-NH-Fmoc)、6-硝基藜芦氧基酰胺(-NH-Nvoc)、2-三甲基甲硅烷基乙氧基酰胺(-NH-Teoc)、2,2,2-三氯乙氧基酰胺(-NH-Troc)、烯丙氧基酰胺(-NH-Alloc)、2-(苄基磺酰基)乙氧基酰胺(-NH-Psec);或在合适情况下(例如环胺),保护为硝基氧基团(>N-O $\text{\textcircled{K}}$)。

[0410] 羧酸基团可以被保护为酯,例如保护为:烷基酯(例如甲基酯;叔丁基酯);卤代烷基酯(例如卤代烷基酯);三烷基甲硅烷基烷基酯;或芳基烷基酯(例如苄基酯;硝基苄基酯);或酰胺,例如甲基酰胺。

[0411] 例如,硫醇基团可以被保护为硫醚(-SR),例如保护为:苄基硫醚;乙酰胺基甲基醚(-S-CH₂NHC(O)CH₃)。

[0412] 本文所述的化合物也可以通过附加适当的官能团来进行修饰以增强选择性生物学性质。这样的修饰在本领域中是已知的并且包括增加生物渗透至给定生物系统(例如,血液、淋巴系统、中枢神经系统)、增加口服可用性、增加溶解性以便允许通过注射来施用、改变代谢和/或改变排泄速率的那些修饰。这些修饰的实例包括但不限于用聚乙二醇酯化、用新戊酸酯或脂肪酸取代基衍生化、转化成氨基甲酸酯、芳环的羟基化、以及芳环中的杂原子取代。

[0413] 在某些实施例中,这些产物可以进一步修饰,例如通过操纵取代基。这些操纵可以包括但不限于本领域技术人员通常已知的还原、氧化、有机金属交叉偶联、烷基化、酰化、以及水解反应。在一些情况下,可以改变进行前述反应方案的顺序以促进反应或避免不想要的反应产物。

[0414] 4. 配制品

[0415] 本发明的另一方面提供了一种药物组合物,该药物组合物包含a)具有式(II-A)的化合物或其药学上可接受的盐;b)一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐;和c)药学上可接受的载剂。

[0416] 本发明的另一方面提供了一种药物组合物,该药物组合物包含a)治疗性支持体组合物;b)一种或多种免疫调节剂、或其药学上可接受的盐;和c)药学上可接受的载剂。

[0417] 组合物(例如,支持体组合物、一种或多种免疫调节剂和/或官能化的有效负载)可以以任何适合的形式(例如呈药学上可接受的配制品的形式)提供,并且可以被配制用于任何适合的施用途,例如口服、局部或肠胃外施用。当组合物以液体注射剂的形式提供(例如在将它们静脉内或直接施用到组织中的那些实施例中)时,该组合物可以作为即用型剂型或作为可以包含药学上可接受的载剂和赋形剂的可复原的储存稳定的粉末或液体提供。

[0418] “药学上可接受的赋形剂”、“药学上可接受的稀释剂”、“药学上可接受的载剂”、或“药学上可接受的佐剂”意指在制备药物组合物中有用的赋形剂、稀释剂、载剂、和/或佐剂,其通常是安全的、无毒的并且在生物学上或其他方面都不是不希望的,并且包括兽医学用途和/或人类药物用途可接受的赋形剂、稀释剂、载剂和佐剂。如本文所用的“药学上可接受的赋形剂、稀释剂、载剂和/或佐剂”包括一种或多种此类赋形剂、稀释剂、载剂和佐剂。

[0419] 用于配制组合物的方法可以从容易获得的那些方法改编。例如,组合物可以按包括治疗有效量的组合物和药学上可接受的载剂(例如盐水)的药物配制品形式提供。药物配

制品可以任选地包括其他添加剂(例如缓冲剂、稳定剂、防腐剂等)。在一些实施例中,这些配制品适合施用至哺乳动物,如适合施用至人类的那些。

[0420] 本披露的组合物可以按多种口服、肠胃外和局部剂型来制备。口服制剂包括适用于受试者摄取的片剂、丸剂、粉末、糖锭剂、胶囊、液体、锭剂、扁囊剂、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等。本披露的组合物还可以通过注射,即静脉内、肌内、皮内、皮下、十二指肠内或腹膜内施用。在一些情况下,本文所述的这些组合物可以通过吸入,例如鼻内施用。在一些情况下,本披露的组合物可以经皮施用。在一些情况下,这些组合物可以通过眼内、阴道内和直肠内途径施用,包括栓剂、吹入剂、粉末和气雾剂配制品(例如类固醇吸入剂,参见Rohatagi, J.Clin.Pharmacol.[临床药理学杂志]35:1187-1193,1995;Tjwa,Ann.Allergy Asthma Immunol.[过敏、哮喘和免疫学年鉴]75:107-111,1995)。因此,本披露还提供包括如本文所述的组合物和药学上可接受的载剂或赋形剂的药物配制品。

[0421] 为了由本披露的组合物制备药物配制品,药学上可接受的载剂可以是固体或液体。固体形式制剂包括粉末、片剂、丸剂、胶囊、扁囊剂、栓剂、以及可分散颗粒。固体载剂可以是一种或多种物质,其还可以用作稀释剂、调味剂、结合剂、防腐剂、片剂崩解剂或包囊材料。有关配制和施用技术的细节见于例如Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿的药物科学],Maack Publishing Co[麦克出版有限公司],宾夕法尼亚州伊斯顿(雷明顿的("Remington's"))中。

[0422] 在一些实施例中,本发明的药物组合物是疫苗,其包含具有式(I-A)的化合物或其药学上可接受的盐、药学上可接受的载剂和任选地抗原。用于在本文提供的免疫原性组合物中使用的抗原能以有效量(例如,有效用于治疗或预防方法的量)提供。例如,本发明的免疫原性组合物可用于治疗或预防疾病或病症,例如感染和癌症。示例性抗原包括但不限于肿瘤抗原和感染性疾病抗原。用于在本文提供的免疫原性组合物中使用的抗原通常是对于宿主而言外源的大分子(例如,多肽、多糖、多核苷酸)。抗原可以是期望在受试者中引发或增强免疫反应性的任何靶表位、分子(包括生物分子)、分子复合物(包括含有生物分子的分子复合物)、亚细胞装配体、细胞或组织。通常,术语抗原可以指感兴趣的多肽抗原。但是,如本文所用的抗原也可以指编码感兴趣的多肽抗原的重组构建体(例如表达构建体)。在某些优选的实施例中,抗原可以是以下、可以衍生自以下、或可以与以下发生免疫交叉反应:感染性病原体,和/或与感染、癌症、自身免疫性疾病、过敏症、哮喘或其中刺激抗原特异性免疫应答将是希望的或有益的任何其他病症相关的表位、生物分子、细胞或组织。

[0423] 在某些实施例中,肿瘤抗原或癌症抗原与本文提供的免疫原性组合物联合使用。在某些实施例中,肿瘤抗原是含肽的肿瘤抗原,例如多肽肿瘤抗原或糖蛋白肿瘤抗原。在某些实施例中,肿瘤抗原是含糖的肿瘤抗原,例如糖脂肿瘤抗原或神经节苷脂肿瘤抗原。在某些实施例中,肿瘤抗原是表达含多肽的肿瘤抗原的含多核苷酸的肿瘤抗原,例如RNA运载体构建体或DNA运载体构建体,例如质粒DNA。在某些实施例中,肿瘤抗原是完整的、活的或死亡的或透化的癌细胞。适合与本文提供的免疫原性组合物联合使用的肿瘤抗原涵盖多种分子,例如(a)含多肽的肿瘤抗原,包括多肽(其长度范围为例如8-20个氨基酸,但是超出该范围的长度也是常见的)、脂多肽和糖蛋白,(b)含糖的肿瘤抗原,包括多糖、黏蛋白、神经节苷脂、糖脂和糖蛋白,以及(c)表达抗原多肽的多核苷酸。

[0424] 在某些实施例中,肿瘤抗原是例如(a)与癌细胞相关的全长分子,(b)其同源物和

修饰形式,包括具有缺失、添加和/或取代部分的分子,和(c)其片段。在某些实施例中,肿瘤抗原以重组形式提供。在某些实施例中,肿瘤抗原包括例如由CD8+淋巴细胞识别的I类限制性抗原或由CD4+淋巴细胞识别的II类限制性抗原。

[0425] 在某些实施例中,肿瘤抗原包括但不限于:(a)癌-睾丸抗原,例如NYESO-1、SSX2、SCP1以及RAGE、BAGE、GAGE和MAGE家族多肽,例如GAGE-1、GAGE-2、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6和MAGE-12(其可用于例如治疗黑素瘤、肺癌、头颈癌、NSCLC、乳腺癌、胃肠道癌和膀胱肿瘤),(b)突变抗原,例如p53(与各种实体瘤(例如结直肠癌、肺癌、头颈癌)相关)、p21/Ras(与例如黑素瘤、胰腺癌和结直肠癌相关)、CDK4(与例如黑素瘤相关)、MUM1(与例如黑素瘤相关)、胱天蛋白酶-8(与例如头颈癌相关)、CIA 0205(与例如膀胱癌相关)、HLA-A2-R1 701、 β 连环蛋白(与例如黑素瘤相关)、TCR(与例如T细胞非霍奇金淋巴瘤相关)、BCR-ab1(与例如慢性髓细胞性白血病相关)、磷酸丙糖异构酶、KIA0205、CDC-27和LDLR-FUT,(c)过表达抗原,例如半乳凝素4(与例如结直肠癌相关)、半乳凝素9(与例如霍奇金病相关)、蛋白酶3(与例如慢性髓细胞性白血病相关)、WT 1(与例如多种白血病相关)、碳酸酐酶(与例如肾癌相关)、醛缩酶A(与例如肺癌相关)、PRAME(与例如黑素瘤相关)、HER-2/neu(与例如乳腺癌、结肠癌、肺癌和卵巢癌相关)、甲胎蛋白(与例如肝癌相关)、KSA(与例如结直肠癌相关)、胃泌素(与例如胰腺癌和胃癌相关)、端粒酶催化蛋白、MUC-1(与例如乳腺癌和卵巢癌有关)、G-250(与例如肾细胞癌相关)、p53(与例如乳腺癌、结肠癌相关)和癌胚抗原(与例如乳腺癌、肺癌和胃肠道癌(如结直肠癌)相关),(d)共有抗原,例如黑素瘤黑素细胞分化抗原,如MART-1/Melan A、gp 100、MC1 R、黑素细胞刺激素受体、酪氨酸酶、酪氨酸酶相关蛋白-1/TRP1和酪氨酸酶相关蛋白-2/TRP2(与例如黑素瘤相关),(e)前列腺相关抗原,例如PAP、PSA、PSMA、PSHP1、PSM-P1、PSM-P2(与例如前列腺癌相关),(f)免疫球蛋白独特型(例如与骨髓瘤和B细胞淋巴瘤相关),以及(g)其他肿瘤抗原,例如含多肽和糖的抗原,包括(i)糖蛋白,例如唾液酸Tn和唾液酸Lex(与例如乳腺癌和结直肠癌相关)以及各种黏蛋白;糖蛋白与载体蛋白偶联(例如MUC-1与KLH偶联);(ii)脂多肽(例如,与脂质部分连接的MUC-1);(iii)多糖(例如,Globo H合成己糖),其与载体蛋白(例如,KLH)偶联;(iv)神经节苷脂,例如GM2、GM12、GD2、GD3(与例如脑癌、肺癌、黑素瘤相关),其也与载体蛋白(例如,KLH)偶联。

[0426] 在某些实施例中,肿瘤抗原包括但不限于p15、Hom/MeI-40、H-Ras、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR、爱泼斯坦-巴尔二氏病毒抗原、EBNA、人乳头瘤病毒(HPV)抗原(包括E6和E7)、乙型和丙型肝炎病毒抗原、人类嗜T淋巴细胞病毒抗原、TSP-180、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、TAG-72-4、CA19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-ras、p16、TAGE、PSCA、CT7、43-9F、5T4、791Tgp72、 β -HCG、BCA225、BTAA、CA 125、CA 15-3(CA 27.29\BCAA)、CA 195、CA 242、CA-50、CAM43、CD68\KP1、C0-029、FGF-5、Ga733(EpCAM)、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90(Mac-2结合蛋白\亲环蛋白C相关蛋白)、TAAL6、TAG72、TLP、TPS等。

[0427] 5. 治疗方法

[0428] 本披露的方面包括用于将有效负载递送至受试者中的目标位置的方法。在某些实施例中,该方法包括将有效负载选择性地递送至受试者中的目标位置。有效负载的选择性递送包括将有效负载递送至目标位置(例如,器官或组织或其部分),而不靶向受试者中不

需要施用有效负载的其他位置(例如,其他器官或组织或其部分)。有效负载的选择性递送可以通过使用本文所述的支持体组合物和官能化的有效负载来实现。

[0429] 在一些情况下,本披露的支持体组合物可以定位至受试者中所希望的目标位置。例如,本披露的方法可以包括向受试者施用如本文所述的支持体组合物。该支持体组合物可以在受试者中所希望的目标位置处施用至受试者。在一些情况下,支持体组合物可以在受试者中所希望的目标位置处植入受试者中。在一些实施例中,支持体组合物可以如本文所述附接至靶向剂,并且该方法可以包括向受试者施用(例如全身施用)支持体组合物。在这些实施例中,附接至靶向剂的支持体组合物可以通过靶向剂与其靶标的特异性结合(例如抗体-抗原相互作用等)定位于受试者中所希望的目标位置处,或者可以通过靶向剂与其靶标的特异性结合(例如抗体-抗原相互作用等)定位于所希望的靶标的表面(例如细胞表面)上。

[0430] 如本文所述,可以发生生物正交结合配偶体之间(例如,支持体组合物的四嗪结合剂与其官能化的有效负载的互补反式环辛烯结合剂之间)的选择性结合。由于将支持体组合物局部施用至如上所述的受试者中所希望的位置,因此支持体组合物的结合剂与其官能化的有效负载的互补结合剂之间的选择性结合将使有效负载定位至所希望的目标位置。因此,在某些实施例中,该方法包括向受试者施用官能化的有效负载,以使得该官能化有效负载结合至支持体组合物以形成支持体复合物。例如,可以向受试者全身性地施用官能化的有效负载。在向受试者施用官能化的有效负载后,可以发生支持体组合物的结合剂与官能化的有效负载的互补结合剂之间的接触,以使得该结合剂及其互补结合剂彼此结合以形成支持体复合物,从而将有效负载选择性地递送至受试者中的目标位置。在一些实施例中,官能化的有效负载的选择性递送使得目标位置处有效负载的浓度大于受试者的其他地方(例如,受试者的非靶向区域处)的有效负载的浓度。

[0431] 用于这种方法的适应症包括癌症(血液学癌症和实体癌二者)、感染、伤口愈合、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞(血栓,通过抗凝剂引起)、炎症(通过抗增生药物、皮质类固醇和衍生物和/或NSAIDS引起)、自身免疫性障碍、移植物、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染(通过植入物、糊剂、蜡、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)构造及其他的涂层引起)。在某些实施例中,该方法可以用于治疗和/或诊断软组织肉瘤:横纹肌肉瘤、纤维肉瘤、尤因肉瘤、以及软组织肉瘤的所有不同亚型以及骨肉瘤。这些组合物可以用于治疗和/或诊断色素沉着绒毛结节性滑膜炎。

[0432] 本披露的组合物可用于治疗和/或诊断受试者的病症或疾病,该病症或疾病适合于通过施用有效负载(例如,母体药物(即,在缀合至组合物之前的药物))进行治疗或诊断。所谓“治疗”是指实现至少与困扰受试者的病症相关的症状的改善,其中在广义上使用的改善是指与所治疗的病症有关的参数(例如症状)的量级的至少一定程度的减小。因此,治疗还包括以下情形,其中病理学病症或至少与其相关的症状被完全抑制,例如防止发生,或停止,例如终止,以使得受试者不再患有该病症或至少不再患有表征该病症的症状。治疗可以包括抑制,即阻止临床症状的发展或进一步发展,例如减轻或完全抑制活动性疾病。治疗可以包括缓解,即引起临床症状的消退。例如,在癌症的情况下,术语“治疗”包括以下中的任一项或全部:减少实体瘤的生长、抑制癌细胞的复制、降低总体肿瘤负荷、延长存活并改善与癌症相关的一种或多种症状。

[0433] 待治疗的受试者可以是需要治疗的受试者,其中待治疗的受试者是可以适合于使用母体药物治疗的受试者。因此,许多受试者可以适合于使用本文披露的组合物治疗。通常,这样的受试者是“哺乳动物”,其中人类是感兴趣的。其他受试者可以包括家养宠物(例如狗和猫)、家畜(例如,牛、猪、山羊、马等)、啮齿类动物(例如小鼠、豚鼠和大鼠,例如,如在动物疾病模型中)、以及非人灵长类动物(例如黑猩猩和猴)。

[0434] 官能化的有效负载、治疗支持体组合物和方法可以用于任何目标疾病的治疗、预防和/或诊断。用于这种方法的适应症包括癌症(血液学癌症和实体癌二者)、感染、伤口愈合、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞(血栓,通过抗凝剂引起)、炎症(通过抗增生药物、皮质类固醇和衍生物和/或NSAIDs引起)、自身免疫性障碍、移植物、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染(通过植入物、糊剂、蜡、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)构造及其他的涂层引起)。在某些实施例中,这些官能化的有效负载、治疗剂支持体组合物和方法可以用于治疗、预防和/或诊断软组织肉瘤:横纹肌肉瘤、纤维肉瘤、尤因肉瘤、以及软组织肉瘤的所有不同亚型以及骨肉瘤。这些组合物可以用于治疗和/或诊断色素沉着绒毛结节性滑膜炎。

[0435] 在某些实施例中,这些官能化的有效负载、治疗支持体组合物、另外的治疗剂、一种或多种免疫调节剂、和方法可以用于治疗、预防和/或诊断实体瘤,包括但不限于,黑素瘤(例如,不可切除的转移性黑素瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌)、前列腺癌(例如,转移性去势抗性前列腺癌)、卵巢癌(例如,上皮性卵巢癌,如转移性上皮性卵巢癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、成胶质细胞瘤(例如多形性成胶质细胞瘤)、以及肺癌(例如,非小细胞肺癌)、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌等。所披露的方法适合作为辅助/新辅助系统。例如,如本文所披露的颗粒可以在活组织检查期间中放置,一旦来自研究的结果返回,从业者就可以将适当的混合物递送至体内所希望的位置。这会使肿瘤的大小最小化,特别是在手术可切除的肿瘤的情况下。然后在手术结束时,外科医生可以在手术腔周围放置更多的颗粒并用另外剂量的治疗(例如通过所披露的方法进行的化学疗法)来治疗患者,以使可能在外科手术边缘被错过的任何癌细胞的风险最小化。

[0436] 在某些实施例中,所披露的方法提供在活组织检查时放置如本文所披露的颗粒的能力。当结果返回时,从业者可以将免疫调节剂(例如TLR激动剂、STING激动剂、趋化因子)(吸引癌细胞和/或免疫细胞的药剂)和具有较少副作用的增强免疫系统的佐剂以及与免疫治疗剂组合的化学治疗剂递送通过至活组织检查部位。这种组合方法将是对患者有益的。化学治疗剂会治疗实体瘤或特定位置,而免疫疗法的增强应答会有助于远处转移部位。例如,在某些实施例中,所披露的组合物和方法可以使用葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂或与葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂一起使用以增强一种或多种免疫调节剂例如伊匹单抗、纳武单抗、派姆单抗、阿维鲁单抗(也称为MSB0010718C;辉瑞)的功效。

[0437] 所披露的化合物和组合物可以在治疗方法中使用。本文所披露的治疗方法可用于治疗细菌感染。本文所披露的治疗方法可用于治疗或预防MRSA感染。本文所披露的治疗方法可用于治疗癌症。本文所披露的治疗方法可用于治疗色素沉着绒毛结节性滑膜炎。本文所披露的治疗方法可用于治疗与炎症相关的疾病或障碍。本文所披露的治疗方法可用于治疗关节炎。

[0438] a. 细菌感染

[0439] 所披露的方法可用于治疗或预防细菌感染。尽管细菌可能是无害的,并且在一些情况下可能是有益的,但细菌也可能导致感染。细菌感染可影响多个器官和身体系统,包括但不限于皮肤、粘膜、血液、肺、肾脏、泌尿道、眼睛、心脏、肠、脑膜、呼吸道、生殖器、胃、骨骼、结缔组织、和器官周围的组织。细菌感染可影响多于一个的器官或身体系统。细菌感染可能是全身性的。细菌感染可以是无症状的。细菌感染可能导致多种症状,包括但不限于发烧、炎症、伤口不愈合、伤口溃烂、皮疹、皮肤上的红色肿块、脓肿、淋巴结肿大、恶心、腹泻、头痛、耳痛、喉咙痛、疲劳、低血压、换气过度、脉搏微弱而快速、局部或全身疼痛以及肌肉痛。细菌感染可导致死亡。有副发病变或免疫系统受损的受试者可能更容易受到细菌感染。手术部位可能发生细菌感染。细菌感染可能与导管置入有关。

[0440] 细菌感染的诊断可包括但不限于症状诊断、微生物培养、显微镜检查、生化测试、基于PCR的诊断和宏基因组学测序。微生物检查可能包括样本采集、微生物培养、鉴定和抗生素易感性测试。诊断可包括细菌培养物的革兰氏染色。诊断可包括细菌培养物的凝固酶试验。诊断可包括细菌培养物的过氧化氢酶试验。诊断可包括血液检查。血液检查可包括但不限于全血细胞计数、C-反应蛋白的测量、降钙素原的测量和快速血浆反应素的测量。诊断可包括ELISA。诊断可包括PCR。可以进行检测PBP2a蛋白的快速乳胶凝集试验来鉴定MRSA。样本可以在琼脂板上生长。样本可以在营养肉汤中生长。生长条件可以包括改变的因素(例如,生长培养基的类型、营养物、选择性化合物、抗生素、温度、pH水平、氧水平)以确定生长的细菌类型。确定在琼脂板上或营养肉汤中生长的细菌可以确定导致受试者感染的细菌。含有抗生素化合物的圆盘可以放在琼脂板上。抗生素化合物可杀板上生长的细菌。该盘周围的死细菌区(抑制区)越大,可能表明抗生素更有效。

[0441] 可从需要治疗的受试者获得用于诊断细菌感染的样本。用于测试的样本可来自感染部位。可通过擦拭皮肤、喉咙或鼻子从受试者获得用于测试的样本。可通过收集来自伤口、脓肿或其他皮肤感染的脓液或液体从受试者获得用于测试的样本。可通过收集体液从受试者获得用于测试的样本。体液可以包括血液、痰、尿液和/或其他体液。可从受试者取得多个样本。可在假体或医疗设备的部位周围取得多个样本。

[0442] 细菌感染可以用本文所披露的化合物和组合物治疗。可用本文所披露的化合物和组合物治疗的细菌感染包括但不限于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、甲氧西林敏感性金黄色葡萄球菌(MSSA)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、沙门氏菌属(*Salmonella*)、奈瑟氏菌属(*Neisseria*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、布鲁氏菌属(*Brucella*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、单核细胞增多性李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)、弗朗西斯氏菌属(*Francisella*)、军团杆菌属(*Legionella*)、鼠疫杆菌(*Yersinia pestis*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cenocepacia*)、鸟分枝杆菌(*Mycobacterium avium*)、耐万古霉素肠球菌属(*Enterococci*) (VRE)和耐万古霉素金黄色葡萄球菌(VRSA)。待治疗的细菌感染可对一种或多种抗生素具有抗性。本文治疗的细菌感染可由革兰氏阳性细菌引起。本文治疗的细菌感染可由对万古霉素具有抗性的革兰氏阳性细菌菌株引起。本文治疗的细菌感染可由多抗药性的革兰氏阳性细菌引起。

[0443] i. MRSA感染

[0444] 所披露的方法可用于治疗MRSA。MRSA是已经对 β -内酰胺抗生素产生多重抗性的金黄色葡萄球菌的任何菌株,这些 β -内酰胺抗生素包括青霉素(甲氧西林、双氯西林、奈夫西林、苯唑西林等)和头孢菌素。MRSA从*mecA*基因向至少五个不同的金黄色葡萄球菌谱系的水平基因转移进化而来。MRSA感染可迅速引起严重的危及生命的内部感染,包括但不限于脓毒症、心内膜炎、MRSA肺炎骨感染和植入物感染。MRSA可导致皮肤感染。MRSA皮肤感染可导致疖或脓肿。MRSA可导致全身或内部感染。一些MRSA感染无法用目前可用的抗生素治疗,通常会导致严重的、使人衰弱的感染或死亡。MRSA感染可能发生在住院的受试者中,这被称为医疗保健相关的MRSA(HA-MRSA)。MRSA感染可通过皮肤与皮肤接触传播,这被称为社区相关的MRSA(CA-MRSA)。家畜动物中的MRSA病例增加。CC398是MRSA的一种变体,已出现在动物中,并在集约化饲养的生产动物(例如猪、牛和家禽)中发现,它可以从这些动物中作为LA-MRSA(家畜相关MRSA)传播给人类。

[0445] 待用本文所披露的化合物和组合物治疗的MRSA菌株可包括但不限于CBD-635、ST250 MRSA-1、ST2470-MRSA-I、ST239-MRSA-III、ST5-MRSA-II、ST5-MRSA-IV、ST239-MRSA-III、EMRSA15、EMRSA16、MRSA252、ST5:USA100、EMRSA 1、ST8:USA300、ST1:USA400、ST8:USA500、ST59:USA1000、USA1100、USA600、USA800、USA300、ST30、ST93、ST80、ST59、CC22、CC8、CC425、和CC398. ii. 导管相关的血流感染

[0446] 所披露的方法可用于治疗与导管相关的血流感染。导管相关的血流感染(CRBSI)被定义为存在源自静脉导管的菌血症。CRBSI可经常发生,可能是致命的,并且可能是医院内菌血症的常见原因。血管内导管是现代实践不可或缺的一部分,可插入危重患者体内用于施用流体、血液制品、药物、营养液和用于血流动力学监测。相比任何其他类型的医疗设备,中央静脉内导管(CVC)可能带来更大的设备相关的感染风险,并且可能是发病率和死亡率的主要原因。它们可能是住院患者菌血症和败血症的来源。CRBSI可能与CVC相关。

[0447] 所披露的方法可用于递送分子有效负载至植入的生物材料(例如,经生物正交基团取代的聚合物或水凝胶)。即使尚未确定特定病原体或问题,在任何局部操纵期间也可以将材料植入身体的所希望的位置,例如手术植入物或留置设备插入(“局部注射”)。例如,适当修饰的聚合物或水凝胶(例如用四嗪修饰的透明质酸(HAT))可以用来使用用于以透明质酸涂覆塑料材料的已知程序涂覆导管材料或其他植入的医疗设备。可以在聚氨酯(PU)或聚氯乙烯(PVC)管的小部分上优化涂覆程序。PU或PVC管可以用在蒸馏水中的3-氨基丙基三乙氧基硅烷处理以掺入胺基团用以与透明质酸(HA)共价官能化。然后可以使用如文献中详述的碳二亚胺化学条件将HAT或未修饰的HA的基础层键合到表面。可以使用类似的碳二亚胺化学条件通过重复的手动浸涂程序放置另外的HAT或HA层,直到总共应用10个另外的层。最终涂覆的管可以通过以下来表征:扫描电子显微镜检查表面形态,共聚焦显微镜来确定涂层厚度和接触角测量来评估表面亲水性。

[0448] 在植入生物材料涂覆的设备后,在需要时随时将通过用反应配偶体修饰药物产生的无活性前药注射到血流中(“全身暴露”)。无活性的前药会扩散到全身,但是当它们靠近生物材料(无论是涂层还是凝胶的形式)时,它们都会迅速附着至其上(“捕获”),从而将前药集中在所希望的位置处。最后,活性药物从生物材料中自发地释放以发挥其功能(“释放”)。这为系统提供了对全身药物递送的时间控制,并有效地将全身药物转化为局部药物

(图8)。

[0449] 由于前药的全身活性受限,与破坏人体天然微生物组相关的问题(如耐药细菌或产生感染)将得到预防。可以给予超治疗性剂量,从而增加药物的治疗指数并降低在感染部位处细菌产生耐药性的可能性。在CVC或其他植入的设备的表面涂覆凝胶后,药物将能够在组织深处积累而全身药物以其正常剂量是不能达到这样的位置的。

[0450] 所披露的方法可导致由前药的“再装载”,确保局部释放和改善的功效。这将导致更好地利用抗微生物剂并减少耐药细菌的出现。如果细菌或真菌感染证明对第一前药有抗性,那么第二前药可被已经植入的凝胶或涂覆的设备“捕获并释放”。标准技术需要植入物的除去和置入以实现相似的结果。所披露的可生物降解涂层将不需要额外的侵入性手术来将其植入或除去。

[0451] b. 癌症

[0452] 所披露的方法可用于治疗或预防癌症。癌症是一组相关疾病,这些疾病可能包括持续的增殖信号传导、生长抑制因子的逃避、细胞死亡的抗性、无限复制的实现、血管生成的诱导以及侵袭和转移的激活。所披露的方法可以增强或引发受试者中针对癌症的免疫应答。该免疫应答可导致白细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞的一种或多种的增加。

[0453] 可以用所披露的方法治疗的癌症包括但不限于星形细胞瘤、肾上腺皮质癌、阑尾癌、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、脑干癌、脑干胶质瘤、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、结直肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、弥漫性内在脑桥胶质瘤、导管癌、子宫内膜癌、室管膜瘤、尤因肉瘤、食管癌、眼癌、纤维肉瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠癌、生殖细胞肿瘤、胶质瘤、肝细胞癌、组织细胞增生症、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、眼内黑素瘤、卡波西肉瘤、肾癌、喉癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、巨球蛋白血症、黑素瘤、间皮瘤、口腔癌、多发性骨髓瘤、鼻咽癌、神经母细胞瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、垂体癌、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤、皮肤癌、小细胞肺癌、小肠癌、软组织癌、软组织肉瘤、实体瘤、鳞状细胞癌、胃部癌、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、咽喉癌、胸腺瘤、甲状腺癌、滋养细胞肿瘤、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、外阴癌和威尔姆斯瘤(Wilms tumor)。

[0454] 在一些实施例中,可以用所披露的方法治疗的癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤、或胰腺癌。在一些实施例中,该癌症是实体瘤。在一些实施例中,该癌症是软组织癌。在一些实施例中,该癌症是纤维肉瘤。在一些实施例中,该癌症是弥漫性内在脑桥胶质瘤。

[0455] 不受特定理论的束缚,使用本发明的化合物和方法局部释放某些抗癌剂可产生或促成免疫原性细胞死亡(ICD)。例如,据报道,某些抗癌剂(如葱环类、环磷酸胺、奥沙利铂)可诱导ICD。Kroemer等人Annu.Rev.Immunol.[免疫学年鉴]2013(31),51-72。癌细胞的免疫原性凋亡可以通过激活树突状细胞(DC)和随后激活特定T细胞应答来诱导有效的抗肿瘤免疫应答。ICD的表征是分泌损伤相关分子模式(DAMP)。在ICD期间三种重要的DAMP暴露于细胞表面。钙网蛋白(CRT)是DAMP分子之一,通常在内质网(ER)的腔中,在诱导免疫原性细胞凋亡后易位到垂死细胞表面,在那里它的作用是作为专职吞噬细胞的“吃掉我”信号。其他重要的表面暴露的DAMP是热休克蛋白(HSP),即HSP70和HSP90,其在应激条件下也易位到质膜。在细胞表面,基于与CD91和CD40等大量抗原呈递细胞(APC)表面受体的相互作用,它们

具有免疫刺激作用,并且还促进源自肿瘤细胞的抗原在MHC I类分子上的交叉呈递,从而导致CD8+T细胞应答。其他重要的DAMP(作为ICD的表征)是分泌的两性蛋白(HMGB1)和ATP。HMGB1被认为是晚期凋亡标志物,并且它释放到细胞外空间似乎是肿瘤抗原的最佳释放和向树突状细胞呈递所必需的。它与几种模式识别受体(PRR,例如Toll样受体(TLR)2和4)结合,这些受体在APC上表达。最近发现的免疫原性细胞死亡期间中释放的DAMP是ATP,它在分泌时的作用是作为针对单核细胞的“找到我”信号并诱导它们吸引至细胞凋亡部位。Kroemer等人Curr.Op.Immunol.[免疫学当前观点]2008(20),504-511。

[0456] 因此,使用本发明的化合物和方法局部释放ICD诱导剂可以有利地与一种或多种免疫调节剂组合。

[0457] 在一方面,本发明提供了一种治疗癌症的方法,该方法包括a)向有需要的受试者施用治疗有效量的具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)在受试者的第一肿瘤处局部施用如本文所述的治疗性支持体组合物;其中该受试者患有第二肿瘤并且a)的施用和b)的施用抑制了该第二肿瘤的生长。

[0458] 另一方面提供了一种在受试者中增强或引发针对第二肿瘤的免疫应答的方法,该方法包括a)向受试者施用治疗有效量的具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)在受试者的第一肿瘤处局部施用如本文所述的治疗性支持体组合物;其中a)的施用和b)的施用增强或引发了针对该第二肿瘤的免疫应答。

[0459] 在另一个方面,本发明提供了一种在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移的方法,该方法包括a)向该受试者施用具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐;和b)向该受试者在第一肿瘤处局部施用治疗性支持体组合物;其中该具有式(II-A)或(III-A)的化合物和该治疗性支持体组合物是如本文所定义的。

[0460] 在另一个方面,本发明提供了一种药物组合,该药物组合包含a)具有式(II-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物组合用于在抑制受试者的第二肿瘤生长的方法中使用,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0461] 在另一个方面,本发明提供了一种药物组合,该药物组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物组合用于在一种在受试者中增强或引发针对第二肿瘤的免疫应答的方法中使用,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0462] 在另一个方面,本发明提供了一种药物组合,该药物组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物组合用于在一种在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移的方法中使用,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0463] 在另一个方面,本发明提供了一种组合在制造药物中的用途,该组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b)治疗性支持体组合物;该药物用于抑制第二肿瘤的生长,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局

部施用并且将该具有式 (II-A) 或 (III-A) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0464] 在另一个方面,本发明提供了一种组合在制造药物中的用途,该组合包含a) 具有式 (II-A) 或 (III-A) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b) 治疗性支持体组合物;该药物用于增强或引发针对第二肿瘤的免疫应答,其中该治疗性支持体组合物在受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式 (II-A) 或 (III-A) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0465] 在另一个方面,本发明提供了一种组合在制造药物中的用途,该组合包含a) 具有式 (II-A) 或 (III-A) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;和b) 治疗性支持体组合物;该药物用于在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移,其中该治疗性支持体组合物在该受试者的第一肿瘤处局部施用并且将该具有式 (II-A) 或 (III-A) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物施用于该受试者。

[0466] 在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移的方法可以进一步包括鉴定和/或选择处于肿瘤转移风险中的受试者的步骤。可以从肿瘤活检通过血清和/或组织生物标志物和/或通过成像技术以评估肿瘤的病理状态,来鉴定处于肿瘤转移风险中的受试者。

[0467] 在本文所披露的方法和用途中,在施用具有式 (II-A) 或 (III-A) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物和治疗性支持体组合物时,在受试者第二肿瘤可以存在或不存在。在本文所披露的方法和用途中,施用具有式 (II-A) 或 (III-A) 的化合物或其药学上可接受的盐或组合物和治疗性支持体组合物可以抑制第二肿瘤的形成或发展(即预防)。在一些实施例中,该治疗性支持体组合物不在该第二肿瘤处局部施用。治疗癌症或增强或引发免疫应答的方法和所披露的药物组合可以进一步与免疫调节剂的使用组合。可替代地,任选的免疫调节剂可以排除。

[0468] 不希望受特定理论的束缚,本文所披露的方法和用途可通过引发或增强针对原发性肿瘤(局部施用治疗性支持体组合物)和/或继发性肿瘤(没有局部施用治疗性支持体组合物)的免疫应答来抑制继发性肿瘤的转移或形成或生长。该免疫应答可以是先天性和获得性免疫细胞中的一种或多种的增加或减少。例如,该免疫应答可以是白细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、和抗体中的一种或多种的增加或减少。又如,该免疫应答可以是在第一肿瘤和/或第二肿瘤中CD3、CD4、CD8、和/或PD-1阳性肿瘤浸润淋巴细胞的增加。该免疫应答还可以是第一肿瘤和/或第二肿瘤中调节性T细胞的减少。

[0469] 不希望受特定理论的束缚,用阿霉素治疗鼠乳腺癌和纤维肉瘤导致产生IFN- γ 的CD8+T细胞增殖及其向肿瘤的募集。类似于如在放射治疗中所观察到的,某些类型的细胞毒性化合物(例如,葱环类、环磷酰胺和奥沙利铂)也会激活免疫原性细胞死亡途径,在这样的情况下钙网蛋白的细胞表面表达后随之而来的是ATP、HMGB1和HSP释放,从而导致肿瘤抗原向CD8+T细胞的DC介导的交叉呈递。确凿的体外证据表明,癌细胞暴露于5-氟尿嘧啶或阿霉素刺激HSP释放并促进DC吞噬细胞碎片,从而促进向CD8+T细胞的交叉呈递。类似地,当阿霉素治疗的癌细胞被注射到同基因小鼠中时,DC吞噬细胞碎片并产生肿瘤特异性CD8+T细胞抗肿瘤免疫应答(Medler TR, 等人Trends Cancer[癌症趋势].2015;1(1):66-75.)。

[0470] 未用治疗性支持体组合物治疗的转移或继发性肿瘤的抑制可能由治疗的肿瘤中的细胞死亡导致。细胞死亡可能导致应激分子和抗原释放到肿瘤微环境中。这些抗原可以

通过抗原呈递细胞呈递至细胞毒性T细胞,这可以引发对第二肿瘤位置处具有相似抗原的细胞的局部和全身免疫应答。该治疗可以将巨噬细胞、NK细胞和细胞毒性T细胞募集到继发性肿瘤,导致肿瘤浸润淋巴细胞的总体增加和后续的继发性肿瘤中的免疫抗肿瘤应答。

[0471] 该方法可用于抑制处于肿瘤转移风险中的受试者中实体恶性肿瘤的转移。处于肿瘤转移风险中的受试者包括患有多种肿瘤的IV期(转移性疾病)或II-III期(局部扩散)的受试者。处于肿瘤转移风险中的受试者还包括患有高级实体瘤的受试者、示出指示转移的组织 and/或血清生物标志物的受试者。分类为3级或“高级”的肿瘤的细胞组织分化较差,并且比1级和2级肿瘤扩散得更快。转移的生物标志物包括但不限于:CCR7、E-钙粘蛋白、CXCR4、VEGF、VEGFR、E-钙粘蛋白、EpCAM、VCAM、整联蛋白- α 10、N-钙粘蛋白、波形蛋白、和纤连蛋白。进一步的生物标志物包括AGR2、AGR3、 α -烯醇酶、CA125、CRP、SAA、IL6、IL8、CacyBP、CCR7、E-钙粘蛋白、CXCR4、CYFRA21-1、EGFR、EMP2、EphA2、半乳凝素-1、GDF15、H2K18ac、H3K4me2、H3K9me2、HE4、HER2-neu、HSP27、HSP60、IGFBP2、IGFBP3、IGFBP7、IL6、IL6sR、ILK、整联蛋白 $\alpha_v\beta_6$ 、LCN2、MSLN、Muc-1、PDX6、网蛋白、SAA、SPARC、TFF3、TGF- β 1、TGM2、TGM4、磷酸丙糖异构酶、USP9X、VCAM-1、VEGF-C、VEGF-D、VVEGFR-3,如Brinton等人,Cancer Genomics& Proteomics[癌症基因组学和蛋白质组学](2012)9:345-356所述,其通过引用并入本文。

[0472] 生物标志物可以是蛋白质生物标志物。蛋白质生物标志物可以通过与来自非转移性或非癌症对照的参考样本相比,蛋白质表达的增加或减少来指示肿瘤转移的风险。

[0473] 在一些实施例中,在处于转移风险中的受试者中,第一肿瘤细胞从第一肿瘤分离。在进一步的实施例中,第一肿瘤细胞存在于第一肿瘤周围的组织中,存在于肿瘤细胞-血小板聚集体中,存在于受试者的体循环中,和/或存在于受试者的第二组织位置处。

[0474] 在某些实施例,这些官能化的有效负载、治疗支持体组合物和方法可以用于治疗、预防和/或诊断实体瘤,包括但不限于,黑素瘤(例如,不可切除的转移性黑素瘤)、肾癌(例如,肾细胞癌)、前列腺癌(例如,转移性去势抗性前列腺癌)、卵巢癌(例如,上皮性卵巢癌,如转移性上皮性卵巢癌)、乳腺癌(例如,三阴性乳腺癌)、成胶质细胞瘤(例如多形性成胶质细胞瘤)、以及肺癌(例如,非小细胞肺癌)、软组织肉瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤、胰腺癌等。

[0475] 所披露的方法适合作为辅助/新辅助系统。例如,如本文所披露的治疗性支持体组合物可以在活组织检查期间放置,一旦来自研究的结果返回,从业者就可以施用适当的混合物(具有式(II-A)的化合物和一种或多种任选的另外的治疗剂)以递送治疗至体内所希望部位。活组织检查的结果可能说明递送到肿瘤部位的治疗量和类型。例如,可以递送趋化因子(吸引癌细胞和/或免疫细胞的药剂)和具有较少副作用的增强免疫系统的佐剂以及化学治疗剂并将它们与免疫治疗剂组合。

[0476] 所披露的化合物和组合物可以在手术切除之前施用。所披露的方法可以在手术切除之前最小化肿瘤的大小。这会使肿瘤的大小最小化,特别是在手术可切除的肿瘤的情况下。所披露的化合物和组合物可以在手术切除期间施用。所披露的化合物和组合物可在手术切除后施用。可以在手术切除结束时将治疗性支持体组合物放置在手术腔周围,然后可以用进一步的治疗(例如,前阿霉素)剂量来治疗受试者,以使在手术切缘可能遗漏任何癌细胞的风险最小化。

[0477] 所披露的方法可以包括官能化的有效负载在集中于一个位置处的多个全身剂量。所披露的方法可用于递送第二有效负载。如果肿瘤对第一有效负载具有抗性,则所披露的

方法可用于施用第二官能化的有效负载。第二有效负载可以是TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载。TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载可以与阿霉素组合施用。第二官能化的有效负载可以被用于第一前药的治疗性支持体组合物激活。

[0478] 本文所披露的官能化的有效负载可以用作佐剂。这种组合方法将是对患者有益的。化学治疗剂会治疗实体瘤或特定位置并可增强或引发免疫应答，而官能化的有效负载和/或单独药剂的免疫疗法的增强应答可能有助于远处转移部位。例如，在某些实施例中，所披露的组合物和方法可以使用葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂或与葱环类、紫杉烷类、吉西他滨和其他药剂一起使用以增强伊匹单抗、纳武单抗、派姆单抗、阿维鲁单抗（也称为MSB0010718C；辉瑞）的功效。

[0479] i. 弥漫性内在脑桥胶质瘤

[0480] 所披露的方法可用于治疗弥漫性内在脑桥胶质瘤。弥漫性内在脑桥胶质瘤(DIPG)是儿科脑干肿瘤，该肿瘤可能是高度恶性的并且可能难以治疗。DIPG没有已知的治愈性治疗方法，并且在过去的40年里存活几率仍然很低。DIPG患者的中位总生存期仅为11个月，两年存活率低于10%。DIPG占儿童脑干肿瘤的75%-80%，每年影响美国估计200-300名儿童。这种破坏性疾病的罕见性和之前实验模型系统的缺乏阻碍了研究，并且在过去的40年里，存活几率一直保持不变。DIPG的诊断可以从临床症状开始，并可以通过MRI确认。该疾病可能始于几个月的全身症状，包括行为改变和学习困难、复视、眼球运动异常或受限、不对称微笑、失去平衡和虚弱。可替代地，严重的神经恶化可能发生得更快，在诊断前症状存在不足一个月。临床检查可显示多发性颅神经病变、长束迹象（例如反射亢进和阵挛）以及共济失调的三联征。脑干脑桥部分的扩张可能导致阻塞性脑积水和颅内压升高。²

[0481] 对于维持生命功能（例如呼吸和心跳）至关重要的核心位于脑桥中，如果不进行治疗，DIPG可能会损害呼吸和心跳。

[0482] 所披露的方法可用于将分子有效负载（例如，HDAC抑制剂，例如帕比司他）递送至DIPG的部位。所披露的方法可以包括全身性地递送仅在肿瘤部位处被激活的药物。所披露的方法可用作新辅助或辅助疗法。生物材料可以在活组织检查期间放置。活组织检查的结果可能说明递送到肿瘤部位的治疗量和类型。所披露的化合物和组合物可以在手术切除之前施用。所披露的方法可以在手术切除之前最小化肿瘤的大小。所披露的化合物和组合物可以在手术切除期间施用。所披露的化合物和组合物可在手术切除后施用。可以在手术切除结束时将生物材料放置在手术腔周围，然后可以用进一步的治疗（例如，前阿霉素）剂量来治疗受试者。所披露的可生物降解凝胶可以在活组织检查或手术时植入。所披露的方法可不需要额外的侵入性手术来递送另外剂量的所披露的化合物和组合物。

[0483] 所披露的方法可以包括官能化的有效负载在集中于一个位置处的多个全身剂量。所披露的方法可用于递送第二有效负载。如果肿瘤对第一有效负载具有抗性，则所披露的方法可用于施用第二官能化的有效负载。第二有效负载可以是TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载。TCO标记的吉西他滨或多西他赛有效负载可以与阿霉素组合施用。第二官能化的有效负载可以被用于第一前药的治疗性支持体组合物激活。

[0484] c. 与炎症相关的疾病或障碍

[0485] 所披露的方法可用于治疗或预防与炎症相关的疾病或障碍。可以用所披露的方法治疗和/或预防的疾病和/或障碍包括但不限于哮喘、关节炎、类风湿性关节炎、骨关节炎、

自身免疫性疾病、自体炎性疾病、乳糜泻、慢性前列腺炎、憩室炎、肾小球肾炎、耳炎、坏死性小肠结肠炎、炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、结肠炎、白塞病、血管炎、移植排斥、和自身免疫性甲状腺疾病。

[0486] i. 色素沉着绒毛结节性滑膜炎

[0487] 所披露的方法可用于治疗色素沉着绒毛结节性滑膜炎。色素沉着绒毛结节性滑膜炎(PVNS)也称为腱鞘巨细胞瘤(TGCT),是一种慢性、进行性的瘤形成过程,其导致关节、滑囊或腱鞘的滑膜内衬以侵袭性方式增厚和过度生长并具有极低的转移风险。在美国,这种病症大约影响1.8人/百万人/年,或影响大约600人,最常见于20至45岁的人群。PVNS可能是局灶性或弥漫性的。在弥漫性形式中,疾病过程可能会加速肌腱和关节磨损,并且使用传统治疗策略可能有40%-50%的局部复发率。PVNS的良性但侵袭性的行为使治疗具有挑战性,因为临床医生必须相对于疾病过程的自然史权衡治疗的发病率。局部递送和激活治疗剂的方法可能是弥漫性PVNS等病症的解决方法。这限制了药物的全身副作用。弥漫性色素沉着绒毛结节性滑膜炎(PVNS)(其在该疾病的关节外表现方面等同意义地被叫做腱鞘巨细胞瘤(TGCT)的名字)是一种主要是局部的、侵袭性的瘤形成过程,影响关节、滑囊或腱鞘的滑膜内衬,导致其增厚和过度生长,并诱导破坏性的炎症过程。

[0488] 在PVNS的局部和弥漫性类型二者中,大多数病例在染色体1p11-13(巨噬细胞集落刺激因子(CSF-1)的位点)中具有遗传重排。易位导致CSF-1过表达,吸引表达CSF-1受体(CSF1R)的炎性细胞并驱动PVNS的形成。CSF-1是一种分泌的细胞因子和造血生长因子,在单核细胞、巨噬细胞和相关细胞的增殖、分化和存活中发挥着主要的作用。

[0489] 在受PVNS影响的组织内,只有小群体的单核基质细胞(2%-16%)被证明过度表达CSF-1,并且这些赘生性细胞构成肿瘤内的次要组分。然而,大多数细胞是非赘生性细胞,具有高水平的受体(CSFR1)表达,并被赘生性细胞产生的CSF1募集和激活。因为CSFR1是组III受体酪氨酸激酶,有理论认为靶向CSF1R的酪氨酸激酶受体抑制剂(TKI)(例如伊马替尼、尼罗替尼、依玛妥珠单抗和PLX3397)可能会抑制PVNS进展并降低手术发病率并使患者生活质量得以保持。

[0490] 该疾病至少有两种形式,这些形式可能在组织学上是相同的。首先,局灶性PVNS/GCTTS可能出现在关节中或支撑关节的腱鞘周围。它可能表现为局部关节外过程,通常影响手或手腕(65%-89%)以及足和踝(5%-15%)的小关节,或表现为局部关节内疾病,通常影响膝、髌或踝。所披露的方法可用于治疗PVNS/GCTTS的第一种形式。第二种类型的PVNS是影响整个滑膜内衬的弥漫性形式。这种类型在大关节中最常见,通常是髌(4%-16%)和膝(66%-80%),但也可能发生在其他关节(踝、肩、肘、脊柱等)中。这种形式的疾病更具侵入性,更难以通过手术切除成功治疗。所披露的方法可用于治疗第二种形式的PVNS。

[0491] 患有症状性、侵袭性PVNS(尤其是弥漫性PVNS)的患者目前接受具有长期后果的治疗。对于最终良性的病症而言,当代的手术和辐射方法过于病态。最新研发的对CSF-1R途径有影响的全身性药物为这种令人沮丧的病症创造了一种令人兴奋的新方法。作为手术辅助的用途已证明了有前景的早期结果,但是,副作用仍然是一个限制因素。所披露的局部递送和激活治疗剂的方法将容易地有益于治疗PVNS,同时避免治疗本身的长期后遗症。所披露的方法可以消除患有PVNS的患者对手术的需要。所披露的方法可以消除PVNS的局灶性形式对手术的需要。所披露的方法可以减少PVNS的复发。所披露的方法可以减少PVNS的弥漫性

形式的局部复发。

[0492] ii. 关节炎

[0493] 所披露的治疗方法可用于治疗关节炎。关节炎是可意指影响关节的任何障碍的术语。症状可能包括关节疼痛和僵硬。其他症状可能包括累及的关节的发红、发热、肿胀和活动范围减小。在某些类型的关节炎中，其他器官也可能受到影响。发作可能是渐进的或突然的。可能有超过100种类型的关节炎。最常见的形式是骨关节炎和类风湿性关节炎。骨关节炎可能随着年龄的增长而发生，并可能影响手指、膝和髋。类风湿性关节炎是一种自身免疫性障碍，可影响手关节、足关节、皮肤、肺、心脏和血管、血液、肾脏、眼睛、肝脏、骨骼和神经系统。

[0494] 在一些实施例中，所披露的化合物和组合物可用于治疗感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎。

[0495] b. 施用方式

[0496] 治疗的方法可以包括施用所披露的化合物或组合物的任何数量的方式。施用方式可以包括片剂、丸剂、糖锭剂、硬和软凝胶胶囊、颗粒、球粒、皮肤贴剂、皮肤乳膏、皮肤凝胶、水性溶液、脂质溶液、油性溶液或其他溶液、乳液（例如水包油乳液）、脂质体、水性或油性悬浮液、糖浆、酞剂、固体乳液、固体分散体或可分散的粉末。为了制备用于口服施用的药物组合物，可以将本文所披露的化合物或组合物与佐剂和赋形剂（例如阿拉伯树胶、滑石粉、淀粉、糖类（例如甘露糖、甲基纤维素、乳糖）、明胶、表面活性剂、硬脂酸镁、水性或非水性溶剂、石蜡衍生物、交联剂、分散剂、乳化剂、润滑剂、保存剂、调味剂（例如醚油）、溶解度增强剂（例如苯甲酸苄酯或苄醇）或生物利用度增强剂（例如，**Gelucire®**）混合。在药物组合物中，本文所披露的化合物或组合物还可以分散在微粒（例如纳米微粒组合物）中。

[0497] 对于肠胃外施用，可以将本文所披露的化合物或组合物溶于或悬浮于生理学上可接受的稀释剂中，例如水、缓冲液、含或不含增溶剂的油、表面活性剂、分散剂或乳化剂。合适的油可以包括例如橄榄油、花生油、棉籽油、大豆油、蓖麻油和芝麻油。对于肠胃外施用，本文所披露的化合物或组合物可以处于水性、脂质、油性或其他种类的溶液或悬浮液的形式进行施用，或者甚至以脂质体或纳米悬浮液的形式施用。

[0498] 如本文所用，术语“肠胃外”是指施用的方式，该方式包括静脉内、肌肉内、腹膜内、胸骨内、皮下以及关节内注射和输注。

[0499] 本文所披露的化合物和组合物可以局部施用。可将本文所披露的局部组合物应用于有需要的受试者的皮肤。选择用于治疗的皮肤区域可以是细菌感染的部位。选择用于治疗的皮肤区域可以是感染部位周围的皮肤。选择用于治疗的皮肤区域可以是细菌感染的部位和感染部位周围的皮肤。皮肤感染可能是由MRSA导致的。可将本文所披露的局部组合物应用于有需要的受试者的粘膜。选择用于治疗的粘膜可以是细菌感染的部位。选择用于治疗的粘膜区域可以是细菌感染周围的粘膜。选择用于治疗的粘膜可以是细菌感染的部位和感染部位周围的粘膜。粘膜感染可能是由MRSA导致的。

[0500] 局部施用可以用含有本文所披露的化合物和组合物的贴剂进行。局部施用可以用含有本文所披露的化合物和组合物的可溶解贴剂进行。局部施用可以用含有本文所披露的化合物和组合物的乳膏进行。局部施用可以用含有本文所披露的化合物和组合物

的泡沫进行。局部施用可以是用含有本文所披露的化合物和组合物的洗剂进行。局部施用可以是用含有本文所披露的化合物和组合物的软膏进行。局部施用可以是用含有本文所披露的化合物和组合物的凝胶进行。局部施用可以比全身施用抗生素具有更少的副作用。

[0501] 在一些实施例中,可将包含治疗有效量的本文所披露的化合物和组合物的局部组合物应用于受试者的感染的皮肤和/或粘膜以减少或消除感染,并/或改善受伤皮肤和/或粘膜的愈合。在特定的实施例中,可将包含治疗有效量的本文所披露的化合物和组合物的局部组合物应用于被MRSA感染(包括由MRSA生物膜导致的感染)的皮肤和/或粘膜的区域。在这些实施例中,本文所披露的化合物和组合物可以单独施用或与一种或多种其他的活性剂组合施用以减少感染并/或促进皮肤和/或粘膜愈合。

[0502] 治疗性支持体组合物优选在肿瘤部位局部施用,例如通过注射或植入。鉴于受试者的状况和医学专家的判断,官能化的有效负载,例如具有式(I-A)、(I-B)、(II-A)或(III-A)的化合物,可以通过任何方便的途径施用。肠胃外施用是施用具有式(I-A)、(I-B)、(II-A)或(III-A)的化合物的一种合适的方式。

[0503] 施用于受试者的组合物的量可以基于对母体药物的剂量和/或给药方案的指导来初始确定。一般来说,这些组合物可以提供所结合药物的靶向递送和/或增强的血清半衰期,从而在给药方案中提供减少的剂量或减少的施用中的至少一种。因此,这些组合物可以相对于在与本披露的组合物缀合之前的母体药物在给药方案中提供减少的剂量和/或减少的施用。

[0504] 本披露的组合物可以通过任何适合的方式来递送,包括口服、肠胃外和局部方法。例如,经皮施用方法、通过局部途径,可以配制成涂药棒、溶液、悬浮液、乳液、凝胶、乳膏、软膏、糊剂、凝胶剂、涂剂、粉末、以及气雾剂。

[0505] 药物配制品可以按单位剂型提供。在这种形式中,药物配制品可以细分为含有适量的本披露的组合物单位剂型。单位剂型可以是包装的制剂,该包装含有离散量的制剂,如在小袋、小瓶或安瓿中的包装片剂、胶囊和粉末。此外,单位剂型可以是胶囊、片剂、糖锭剂、扁囊剂或锭剂,或它可以是适当数目的呈包装形式的任何这些单位剂型。

[0506] 本披露的组合物可以按任何适合的量存在,并且可以取决于各种因素,这些因素包括但不限于,受试者的体重和年龄、疾病状态等。本披露的组合物适合剂量范围包括从0.1mg至10,000mg、或1mg至1000mg、或10mg至750mg、或25mg至500mg、或50mg至250mg。例如,本披露的组合物适合剂量包括1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、500mg、550mg、600mg、650mg、700mg、750mg、800mg、850mg、900mg、950mg或1000mg。

[0507] 在一些实施例中,施用组合物的多个剂量。组合物的施用频率可以取决于各种因素中的任一种而变化,这些因素例如症状的严重程度、受试者的状况等。例如,在一些实施例中,每月一次、每月两次、每月三次、每隔一周(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一天(qod)、每天(qd)、每天两次(qid)或每天三次(tid)施用组合物。

[0508] 本披露的组合物可以按任何适合的频率、间隔和持续时间施用。例如,本披露的组合物可以一小时一次,或一小时两次、三次或更多次,每天一次或每天两次、三次或更多次,或每2天、3天、4天、5天、6天或7天一次施用,以便向受试者提供所希望的剂量水平。当本披

露的组合物每天施用超过一次时,代表性间隔包括5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、45分钟和60分钟、以及1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、10小时、12小时、16小时、20小时和24小时。本披露的组合物在持续一个小时、1至6个小时、1至12个小时、1至24个小时、6至12个小时、12至24个小时、一天、1至7天、一周、1至4周、一个月、1至12个月、一年或更长或甚至无限期地的时间里可以施用一次、两次或三次或更多次。

[0509] 本披露的组合物可以与另一种活性剂共同施用。共同施用包括彼此在0.5小时、1小时、2小时、4小时、6小时、8小时、10小时、12小时、16小时、20小时或24小时内施用本披露的组合物和活性剂。共同施用还包括同时或大致同时(例如,彼此在约1分钟、5分钟、10分钟、15分钟、20分钟或30分钟内)或以任何顺序依次施用本披露的组合物和活性剂。此外,本披露的组合物和活性剂可以各自每天一次,或每天两次、三次或更多次施用,以便提供每天的所希望的剂量水平。

[0510] 共同施用可以通过共同植入或共同注射来完成。

[0511] 在一些实施例中,共同施用可以通过共同配制来实现,例如制备包含本披露的组合物和活性剂两者的单一药物配制品。在其他实施例中,本披露的组合物和活性剂可以单独配制并共同施用至受试者。

[0512] 本披露的组合物和活性剂可以按任何适合的重量比存在,如从1:100至100:1(w/w)或1:50至50:1、或1:25至25:1、或1:10至10:1、或1:5至5:1(w/w)于配制品中。本披露的组合物和其他活性剂可以按任何适合的重量比存在,例如1:100(w/w)、1:75、1:50、1:25、1:10、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、10:1、25:1、50:1、75:1、或100:1(w/w)。本披露的组合物和活性剂的其他剂量和剂量比适用于本文所述的配制品和方法。

[0513] c. 组合疗法

[0514] 在一方面,本发明提供了一种治疗癌症或增强或引发免疫应答的方法,该方法包括向有需要的受试者施用:治疗有效量的具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;如本文所述的治疗性支持体组合物;和治疗有效量的一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐。

[0515] 本发明还提供了一种药物组合,该药物组合包含具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;如本文所述的治疗性支持体组合物;和一种或多种免疫调节剂,该药物组合用于在治疗或预防疾病或障碍中使用,该疾病或障碍例如癌症、感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎;或用于在增强或引发免疫应答中使用。本发明还提供了一种药物组合,该药物组合包含具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;如本文所述的治疗性支持体组合物;和一种或多种免疫调节剂,该药物组合用于在治疗或预防疾病或障碍的方法中使用,该疾病或障碍例如癌症、感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎;或用于在增强或引发免疫应答的方法中使用。

[0516] 本发明还提供了一种药物组合在制造药物中的用途,该药物组合包含a)具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;治疗性支持体组合物;和一种

或多种免疫调节剂,该药物用于治疗或预防病症或障碍,例如癌症、感染、组织损伤、狭窄、缺血、再血管化、心肌梗死、心律失常、血管阻塞、炎症、自身免疫性障碍、移植排斥、黄斑变性、类风湿性关节炎、骨关节炎、假体周围感染、和色素沉着绒毛结节性滑膜炎;或用于在增强或引发免疫应答中使用。

[0517] 在本文所述的方法和用途中,具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;治疗性支持体组合物;和一种或多种免疫调节剂的药物组合可以同时、单独或依次、和以任何顺序施用/使用,并且这些组分可以单独或作为固定组合施用。例如,根据本发明的疾病的进展延迟或治疗可以包括以联合治疗有效量或有效量,例如以对应于本文所述的量的日剂量,同时或依次以任何顺序施用游离或药学上可接受的盐形式的第一活性成分以及施用游离或药学上可接受的盐形式的第二活性成分。组合的各个活性成分可以在治疗过程期间的不同时间单独施用或以分开的或单一的剂型并行施用。因此,本发明应理解为涵盖同时或交替治疗的所有此类方案,并且术语“施用”应相应地解释。因此,如本文所用的药物组合限定了用于组合施用的在一个剂量单位形式中的固定组合或分开的剂量形式,其中组合施用可以独立地在相同时间或在不同时间进行。又如,治疗性支持体组合物和一种或多种免疫调节剂可以同时(例如通过共同注射或共同植入)、单独或依次施用/使用,然后施用具有式(II-A)或(III-A)的化合物。

[0518] 治疗癌症的方法和用途包括施用治疗性支持体组合物/使治疗性支持体组合物定位在肿瘤处处。在本文所披露的方法和用途中,施用具有式(II-A)或(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物;治疗性支持体组合物;和一种或多种免疫调节剂可以抑制肿瘤的生长。

[0519] 方法和用途中的任一个(包括如本文所披露的使用式(I)、(I-A)、(II-A)或(III-A)的组合疗法)可以进一步与另外的治疗剂(例如,抗癌剂、抗菌剂、免疫调节剂和疫苗)组合。

[0520] 另外的治疗剂可以是抗癌剂,其中该抗癌剂可以是作为式(I-B)或(II-A)中的抗癌有效负载药物的本文描述的任何抗癌剂。

[0521] 另外的治疗剂可以是包含佐剂和/或抗原的疫苗。

[0522] 另外的治疗剂可以是如本文针对式(I)/(I-A)所述的TLR或STING激动剂。其他的免疫调节剂包括细胞因子、趋化因子、趋化因子拮抗剂和免疫检查点抑制剂。

[0523] 细胞因子可以通过直接的抗增殖或促凋亡活性,或间接地通过刺激免疫细胞对肿瘤细胞的细胞毒活性,限制肿瘤细胞生长。可用作免疫调节剂的细胞因子包括但不限于IFN- α 、IFN- β 、和IFN- γ 、白介素(例如,IL-1至IL-29,特别是IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、和IL-21)、肿瘤坏死因子(例如,TNF- α 和TNF- β)、红细胞生成素(EPO)、MIP3a、ICAM、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF),如US 2008/0014222中所述。在本发明的实施例中,该细胞因子是IL-2、共价结合至免疫球蛋白的IL-2(例如,阿姆白介素-2-瑟妥珠单抗、R06874281)或PEG分子(例如NKTR-214)、IL-10、聚乙二醇化IL-10(例如,培伊洛白介素-10(pegilodecakin))、IL-12、IL-15、重组非糖基化IL-15、IL-15与IL-15R α 的结合结构域的融合蛋白(例如,RLI)、三融合蛋白(包含人IL-15、IL-15R α 的结合结构域和载脂蛋白A-I)、ALT-803(i1-15融合至IgG1 Fc结构域)、IL-21、GM-CSF、拉-他利莫近(talimogene laherparepvec)、IFN- α 、聚乙二醇化IFN- α 、

载脂蛋白A-I与IFN- α 的融合蛋白。

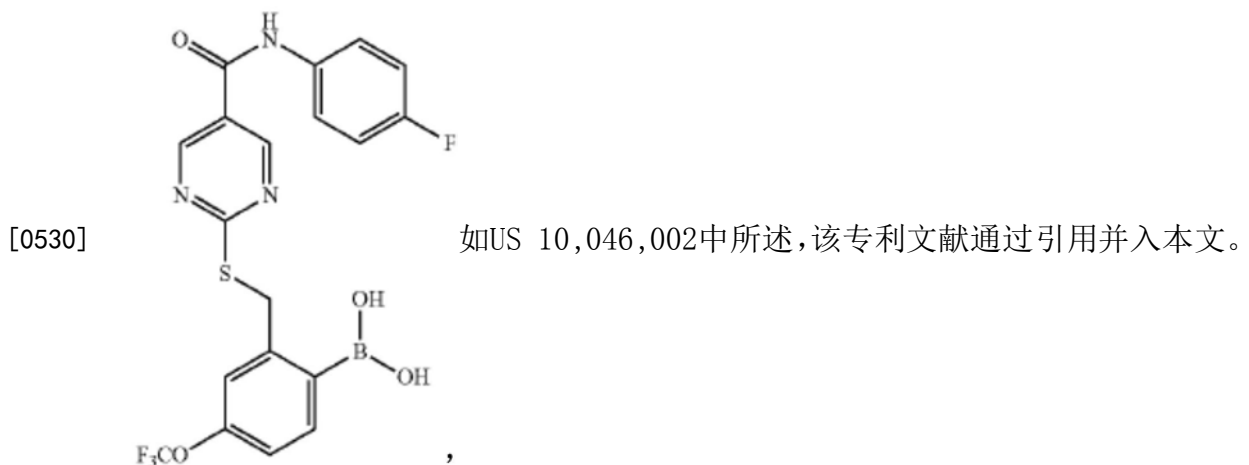
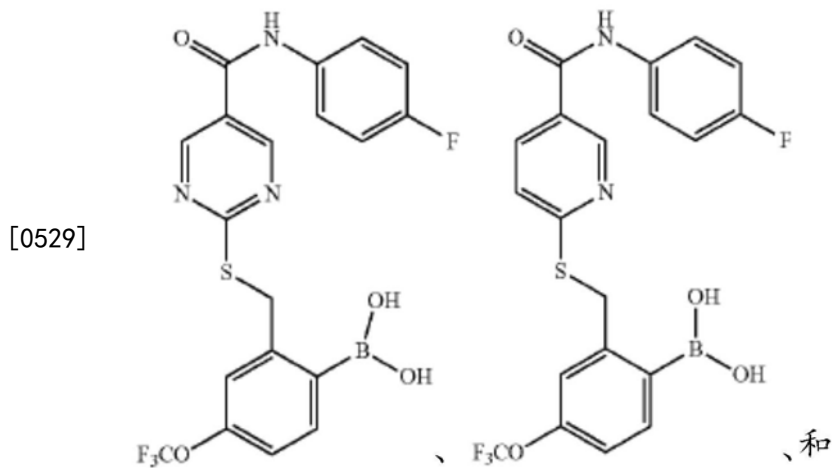
[0524] 某些细胞因子的抑制剂、它们的同源受体激动剂和/或拮抗剂也可用作癌症疗法。细胞因子是分泌的或膜结合的蛋白质,它们充当细胞间信号传导的介质以调节免疫系统的稳态。它们由先天性和获得性免疫应答于微生物、自身抗原和肿瘤抗原而产生。特别是在PD-1途径阻断的情况下,TNF- α 抑制剂(例如英夫利昔单抗、赛妥珠单抗)、TGF- β 抑制剂(例如,加尼舍替、非苏木单抗、M7824)和CSF-1抑制剂(例如,培西达替尼、卡比拉单抗(cabiralizumab))可以在本发明的方法中使用。

[0525] 使用细胞因子和细胞因子抑制剂的免疫疗法描述于Berraondo等人,British Journal of Cancer[英国癌症杂志](2019)120,6-15中,该文献通过引用并入本文。

[0526] 趋化因子和/或趋化因子受体抑制剂可用作免疫调节剂;它们是趋化蛋白,这些蛋白具有将巨噬细胞、T细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和其他细胞吸引到炎症、感染和/或肿瘤生长部位的潜力。这些蛋白通常具有低分子量(7-9kD)。趋化因子形成四个主要的结构亚类(C、CC、CXC和CX3C),这些亚类通过其一级氨基酸结构进行分类,其包含保守的半胱氨酸残基的各种组合。

[0527] 合适的免疫调节趋化因子是CCL27和CCL28、CC(CCL2、CCL3、CCL5)和CXC(CXCL1、CXCL2、CXCL5、CXCL6、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL12)。

[0528] ELRCXC趋化因子(包括IL-8、GRO α 、GRO β 、GRO γ 、NAP-2、和ENA-78)(Strieter,1995,J Biol Chem[生物化学杂志],270:27348-57)还涉及诱导肿瘤血管生成(新血管生长)。血管生成活性是由于ELRCXC-趋化因子结合并激活IL-8的CXCR2和可能地,CXCR1,这些受体在周围血管的血管内皮细胞(EC)表面上表达。许多不同类型的肿瘤已示出会产生ELRCXC趋化因子。趋化因子的产生与更具侵袭性的表型(Inoue,2000,Clin Cancer Res[临床癌症研究],6:2104-2119)和预后不良(Yoneda,1998,J Nat Cancer Inst[美国国家癌症研究所杂志],90:447-54)相关。趋化因子是有效的趋化性因子,并且尤其是ELRCXC趋化因子已示出可以诱导EC趋化性。因此,认为这些趋化因子诱导了内皮细胞向它们在肿瘤中的产生部位的趋化性。这可能是肿瘤诱导血管生成的关键步骤。CXCR2抑制剂或CXCR2和CXCR1双重抑制剂将抑制ELRCXC趋化因子的血管生成活性并因此阻断肿瘤的生长。IL-8抗体(Arenberg,1996,J Clin Invest[临床研究杂志],97:2792-802)、ENA-78(Arenberg,1998,J Clin Invest[临床研究杂志],102:465-72)和GRO α (Haghnegandar,2000,J Leukoc Biology[白细胞生物学杂志],67:53-62)已经显示了这种抗肿瘤活性。CXC趋化因子抑制剂包括



[0531] 适合与本发明的方法一起使用的免疫调节剂包括如下趋化因子或趋化因子受体拮抗剂,其对将抑制性免疫细胞募集到肿瘤微环境中进行抑制。例如但不排他地,本发明的方法可以使用减少骨髓抑制细胞和调节性T细胞浸润的CCR1、CCR2或CCR5拮抗剂。

[0532] 合适的CCR、CXCR和CCL抑制剂包括CCR1抑制剂(例如,CCX721、BL5923)、CCR2抑制剂(例如,CCX9588、PF-04136309、CCX872、RDC018、747、iCCR2)、CCL2抑制剂(例如,CNT0888)、CCR4抑制剂(例如,Affi 5、AF399/420/1802)、CCR5抑制剂(例如,马拉韦罗(Maraviroc))、CCR7抑制剂(例如,siRNA、MSM R707)、CXCR2抑制剂(例如,那伐利星(Navarixin)、SB225002、瑞帕利辛(Reparixin)、SB265610、AZD5069)、CXCR4抑制剂(例如,AMD3100、AMD3465、LY2510924、BKT140、BMS-936564、PF-06747143、PRX177561、POL5551、USL311、CTCE-9908),如Poeta等人,Frontiers in Immunology[免疫学前沿](2019),第379篇论文,doi:10.3389/fimmu.2019.00379;Yu et al.,Cancer Biol.Ther.[癌症生物学与治疗](2008)7:1037-43;以及Chi等人,Int.J Clin Exp Pathol.[国际临床和实验病理学杂志](2015)8:12533-40中所述。

[0533] 免疫检查点抑制剂包括但不限于PD-1抑制剂(例如,纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、信迪利单抗、AMP-224)、PD-L1抑制剂(例如,阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗(durvalumab)、BMS-936559)、CTLA4抑制剂(例如,伊匹单抗、曲美木单抗)、IDO抑制剂(例如,印朵目德(indoximod)、依多司他(epacadostat))、TIGIT抑制剂(例如,LAG-3,如抗LAG-3抗体,描述于US 2015/0259420中,其通过引用并入本文;TIM-3,如抗TIM-3抗体,描述于US 2015/0218274中,其通过引用并入本文)和BTLA途径拮抗剂。

[0534] 在一些实施例中,使用异型生物制剂、生物剂、天然或人工衍生的佐剂、基于细胞的疗法和/或检查点抑制剂(包括但不限于PD-1、PD-L1、CTLA-4、B7分子、TIGIT、Tim-3和/或Lag-3、吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)的抑制剂)来调节免疫应答。

[0535] 另外的治疗剂可以是免疫检查点抑制剂。免疫检查点抑制剂包括PD-1抑制剂(例如,纳武单抗、匹地利珠单抗、信迪利单抗)、PD-L1抑制剂(例如,阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗、BMS-936559)、CTLA4抑制剂(例如,伊匹单抗、曲美木单抗)或IDO抑制剂(例如,印朵目德、依多司他)。

[0536] 另外的治疗剂可以是具有式(I-B)的化合物或其药学上可接受的盐。

[0537] 对于治疗细菌感染,化合物和组合物可以与多种抗生素组合。这些抗生素包括但不限于万古霉素、利奈唑胺、替考拉宁、ceftazidime、克林霉素、莫匹罗星、甲氧苄啶-磺胺甲基异恶唑、四环素、达托霉素、磺胺类药物、头孢吡普、头孢罗膦、达巴万星、特拉万星、特地佐利、艾拉普林、奈诺沙星、平板霉素、和噁二唑类。

[0538] 化合物和组合物可以与抑制细菌生物膜形成的药剂组合。抑制细菌生物膜形成的药剂包括但不限于咪唑衍生物、吡啶衍生物、大黄素、黄酮类、生姜提取物、贯叶连翘、7-表克鲁西(epiclusianone)、异柠檬尼酸、单宁酸、白屈菜红碱、香芹酚、bgugaine、白藜芦醇、大蒜提取物、天然卤化呋喃酮、溴化亚烷基内酰胺类和基于AHL的抑制剂。

[0539] 化合物和组合物可以与赖氨酸缀合的脂肪族去甲精胺类似物组合。化合物和组合物可以与噬菌体疗法组合。在涉及医疗设备或假体的感染的情况下,化合物和组合物可以与医疗设备或假体的除去组合施用。可以将新的、无菌的医疗设备或假体植入受试者体内。

[0540] 化合物和组合物可以与药剂组合以改变抗菌剂的潜在副作用。可介导或治疗副作用的药剂包括但不限于益生菌、止泻剂、止吐剂和镇痛剂。

[0541] 受试者也可能正在接受多种针对副发病变的治疗。

[0542] 一种或多种另外的治疗剂可以与所披露的化合物和组合物同时或依次施用。依次施用包括在所披露的化合物和组合物之前或之后施用。可以在所披露的化合物和组合物之前施用另外的治疗剂。可以在所披露的化合物和组合物之后施用另外的治疗剂。可以与所披露的化合物和组合物同时施用另外的治疗剂。在一些实施例中,另外的一种或多种治疗剂可以与所披露的化合物在相同的组合物中施用。在其他实施例中,在施用另外的治疗剂和所披露的化合物或组合物之间可能存在时间间隔。在一些实施例中,施用另外的治疗剂连同所披露的化合物或组合物可以允许较低剂量的其他治疗剂和/或以较低频率的间隔施用。当与一种或多种其他活性成分组合使用时,本发明的化合物或组合物和其他活性成分能以比各自单独使用时更低的剂量使用。因此,本发明的药物组合物包括除了包含本披露的化合物外,还包含一种或多种其他活性成分的那些。

[0543] 5. 试剂盒

[0544] 本披露的方面包括具有如本文所述的组合物的试剂盒。

[0545] 试剂盒可以包括具有式(I-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物、以及治疗性支持体组合物。试剂盒可以包括具有式(I-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物、和具有式(I-B)、式(II-A)、或式(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物。

[0546] 试剂盒可以包括具有式(II-A)或式(III-A)的化合物或其药学上可接受的盐或组合物、和一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐或组合物、以及任选地治疗性支持

体组合物。试剂盒可以包括如本文所述治疗性支持体组合物和一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐或组合物。

[0547] 治疗性支持体组合物、一种或多种免疫调节剂、和具有式(I-A)、(I-B)、(II-A)和/或(III-A)的化合物可以在包装中的独立容器中。一种或多种治疗性支持体组合物可以提供于试剂盒中。

[0548] 本文所述的试剂盒可包括配置为包含组合物(例如,治疗性支持体组合物和/或一种或多种免疫调节剂)的包装。类似地,一种或多种具有式(I-A)、(I-B)、(II-A)、和/或(III-A)的化合物可以在试剂盒中提供。包装可以是密封包装,如无菌密封包装。“无菌”意指基本上不存在微生物(如真菌、细菌、病毒、孢子形式等)。在一些情况下,包装可以被配置成任选在气密和/或真空密闭下密封,例如不透水蒸气的包装。

[0549] 在某些实施例中,试剂盒包括可以用作如本文所述的可释放接头的释放剂的试剂。释放试剂可以是本文所述的释放剂中的任何一种,如但不限于化学释放剂(例如,酸、碱、氧化剂、还原剂等)、溶剂等。试剂盒中的释放试剂可以按任何便利的形式提供,如但不限于气体、溶液、固体、颗粒、粉末、悬浮液等。释放试剂可以包装在与试剂盒中的一种或多种组合物分开的容器中。

[0550] 除以上组分以外,这些主题试剂盒可以进一步包括用于实施这些主题方法的说明书。这些说明书可以按多种形式存在于这些主题试剂盒中,这些形式中的一种或多种可以存在于试剂盒中。这些说明书可以存在的一种形式是作为适合的介质或衬底(例如,一张或多张纸,信息打印在这些纸上)上的、在试剂盒的包装中、在包装插入物中等的打印信息。这些说明书的另一种形式将是上面已经记录或存储信息的计算机可读介质,例如CD、DVD、蓝光光碟(Blu-Ray)、计算机可读存储器(例如,闪存)等。这些说明书可以存在的又另一种形式是在远离的地方经由因特网来获取信息而使用的网址。任何方便的手段可以存在于这些试剂盒中。

[0551] 6. 实例

[0552] 本披露具有多个方面,这些方面通过以下非限制性实例说明。提出以下实例以便向本领域普通技术人员提供如何制备和使用本发明的完整披露和描述,并且不旨在限制诸位发明人看待其发明的范围,它们也不旨在表示以下实验是进行的全部或仅有的实验。虽然已尽力确保所用数字(例如量、温度等)的准确性,但仍应考虑一些实验误差和偏差。除非另外指明,否则份数是重量份,分子量是重均分子量,温度是摄氏度,并且压力是或接近大气压。“平均”意指算术平均值。可以使用标准缩写,例如,bp,碱基对;kb,千碱基;pL,皮升;s或sec,秒;min,分钟;h或hr,小时;aa,氨基酸;kb,千碱基;bp,碱基对;nt,核苷酸;i.m.,肌内的(肌内地);i.p.,腹膜内的(腹膜内地);s.c.,皮下的(皮下地)等。

[0553] 提供适用于合成所披露的化合物的通常已知的化学合成方案和条件的许多通用参考文献是可获得的(参见,例如Smith和March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* [马奇的高等有机化学:反应,机制和结构],第五版,Wiley-Interscience [威利出版公司],2001;或Vogel, *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis* [实用有机化学教科书,包括定性有机分析],第四版,纽约:Longman [朗文出版社],1978)。

[0554] 如本文所述的化合物可以通过本领域中已知的任何纯化方案来纯化,包括色谱

法,如HPLC、制备型薄层色谱法、快速柱色谱法、以及离子交换色谱法。可以使用任何适合的固定相,包括正相和反相以及离子型树脂。在某些实施例中,所披露的化合物经由硅胶和/或氧化铝色谱法进行纯化。参见,例如Introduction to Modern Liquid Chromatography [现代液相色谱法导论],第2版,L.R.Snyder和J.J.Kirkland编,John Wiley and Sons [约翰威利父子出版公司],1979;以及Thin Layer Chromatography [薄层色谱法],E.Stahl编, Springer-Verlag [施普林格出版公司],纽约,1969。

[0555] 在用于制备这些主题化合物的任何方法期间,保护所涉及的任何分子上的敏感性或反应性基团可能是必要的和/或令人希望的。这可以通过如在标准出版物中描述的常规保护基团来实现,这些标准出版物如J.F.W.McOmie,“Protective Groups in Organic Chemistry [有机化学中的保护基团]”,Plenum Press [普莱纽姆出版社],伦敦和纽约1973; T.W.Greene和P.G.M.Wuts,“Protective Groups in Organic Synthesis [有机合成中的保护基团]”,第三版,Wiley [威利出版社],纽约1999;“The Peptides [肽]”;第3卷(编辑E.Gross和J.Meienhofer),Academic Press [学术出版社],伦敦和纽约1981;“Methoden der organischen Chemie [有机化学方法]”,Houben-Weyl,第4版,卷15/1,Georg Thieme Verlag [乔治蒂姆出版社],斯图加特1974;H.-D.Jakubke和H.Jescheit,“Aminosäuren, Peptide, Proteine [氨基酸、肽、蛋白质]”,Verlag Chemie [化学出版社],魏因海姆迪尔菲尔德比奇和巴塞尔(Weinheim,Deerfield Beach,and Basel)1982;和/或Jochen Lehmann,“Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate [碳水化合物化学:单糖和衍生物]”,Georg Thieme Verlag [乔治蒂姆出版社],斯图加特(Stuttgart)1974。这些保护基团可以使用本领域已知的方法在方便的随后阶段除去。

[0556] 这些主题化合物可以经由多种不同的合成途径使用可商购的起始材料和/或通过常规合成方法制备的起始材料来合成。以下方案中描述了可以用于合成本文所披露的化合物的合成途径的各种实例。可以遵循制备具有式(I-B)的化合物的合成程序来制备具有式(I-A)的化合物。

[0557] 本文使用以下缩写:

[0558] ACN 乙腈

[0559] Boc 叔丁氧基羰基

[0560] Cy5 花青5

[0561] Cy5.5 花青5.5

[0562] dapto 达托霉素

[0563] DCC N,N'-二环己基碳二亚胺

[0564] DCM 二氯甲烷

[0565] dd 双重蒸馏的

[0566] DIBAL 氢化二异丁基铝

[0567] DIPEA 二异丙基乙胺

[0568] DMAP 4-二甲基氨基吡啶

[0569] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[0570] DMSO 二甲亚砜

[0571] doxo 阿霉素

- [0572] EDCI N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐
- [0573] Et 乙基
- [0574] EtOAc 乙酸乙酯
- [0575] FCC 快速柱色谱
- [0576] Fmoc 芴甲氧羰基
- [0577] h或hr 小时
- [0578] HA 透明质酸
- [0579] HAT 四嗪修饰的透明质酸
- [0580] HATU 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3氧化物六氟磷酸盐
- [0581] HBTU 六氟磷酸苯并三唑四甲基脒鎓
- [0582] HMT 四嗪修饰的水凝胶
- [0583] HOAt 1-羟基-7-氮杂苯并三唑
- [0584] HOBt 1-羟基苯并三唑
- [0585] HPLC 高效液相色谱
- [0586] iPrOH 异丙醇
- [0587] LCMS 液相色谱法-质谱法
- [0588] Me 甲基
- [0589] MeCN 乙腈
- [0590] MeOH 甲醇
- [0591] MES 2-(N-吗啉代)乙磺酸
- [0592] MeTz 甲基四嗪
- [0593] min 分钟
- [0594] MTD 最大耐受剂量
- [0595] NHS N-羟基琥珀酰亚胺
- [0596] NMP N-甲基哌嗪
- [0597] PBS 磷酸盐缓冲盐水
- [0598] Ph 苯基
- [0599] ppm 百万分率
- [0600] pyr 吡啶
- [0601] rt/RT 室温
- [0602] SEM 平均值标准误差
- [0603] 磺基-NHS N-羟基磺基琥珀酰亚胺
- [0604] TAG 四嗪修饰的激活型凝胶
- [0605] TBAF 四丁基氟化铵
- [0606] TBME 叔丁基甲基醚
- [0607] TCO 反式环辛烯
- [0608] TEA 三乙胺
- [0609] THF 四氢呋喃

[0610] TLC 薄层色谱法

[0611] TFA 三氟乙酸

[0612] TsCl 对甲苯磺酰氯或甲苯磺酰氯

[0613] UV LVG 超纯低粘度古罗糖醛酸

[0614] Vanco 万古霉素

[0615] 实例A1

[0616] 酸-TCO-阿霉素(轴向异构体)

[0617] *rel*-(1*R*,4*E*,6*R*,*pS*)-6-羟基-1-甲基环辛-4-烯-1-甲酸(轴向异构体2)

[0618] 将5.34g (95.2mmol) 氢氧化钾在16.7mL水中的溶液经5min的时间段添加至反式环辛烯酯1异构体混合物(Rossin等人,Bioconjugate Chem.[生物缀合物化学],2016,27,1697-1706) (1.64g,8.28mmol,在这一特定批次中,轴向/赤道异构体的比率接近1.2:1) 在37mL甲醇中的水冷却的溶液中。将该溶液在室温下搅拌18h。添加水(51mL) 并且将混合物用3x150mL TBME萃取。将合并的有机层用100mL水洗涤并且然后在真空中干燥以给出非水解赤道酯1b。将合并的水层用300mL TBME处理并且然后用15g柠檬酸处理。将层分离并且将水层用TBME(3x150mL) 萃取。将合并的有机层干燥并在25°C下旋转蒸发以得到呈无色油状物的873mg (57%) 的反式环辛烯酸的纯轴向异构体2。¹H-NMR(CDC13): δ =6.15-5.95(m,1H), 5.6(d,1H), 4.45(bs,1H), 2.4-1.7(m,7H), 1.6(dd,1H), 1.18(s,3H)。¹³C-NMR(CDC13): δ =185.4(C=O), 134.8(=CH), 130.7(=CH), 69.8(CH), 44.8, 38.2, 31.0, 29.8(CH₂), 18.1(CH₃)。

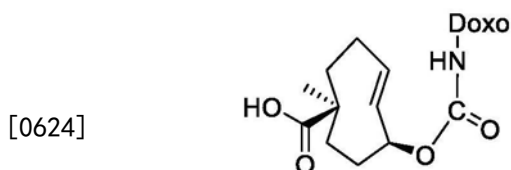
[0619] *rel*-(1*R*,4*E*,6*R*,*pS*)-2,5-二氧代吡咯烷-1-基-6-(((2,5-二氧代吡咯烷-1-基)羰基)氧基)-1-甲基环辛-4-烯-1-甲酸酯(轴向异构体3)。向化合物2(873mg, 4.74mmol) 在24.0mL MeCN中的溶液中添加DIPEA(4.59g,35.6mmol), 随后添加N,N'-二琥珀酰亚胺基碳酸酯(5.22g,20.4mmol)。将混合物在RT搅拌3天并且随后在真空中在25°C下蒸发。将残余物在40g二氧化硅上色谱分离,以二氯甲烷作为洗脱液,随后用含有增加量的TBME(0-20%)的二氯甲烷进行洗脱。将产物级分合并并且在真空中干燥。将所得残余物用TBME搅拌直到得到均相悬浮液。过滤和洗涤给出呈白色固体的761mg产物3(38%); ¹H-NMR(CDC13): δ =6.07(ddd, J=16.8,10.7,3.5Hz,1H), 5.62(dd, J=16.7,2.5Hz,1H), 5.25(s,1H), 2.83(2s,8H), 2.5-2.25(m,4H), 2.2-1.9(m,4H), 1.28(s,3H)。

[0620] NHS-TCO-阿霉素(轴向异构体4)。将阿霉素盐酸盐(53.7mg;0.093mmol) 和3(39.1mg;0.093mmol) 溶解在DMF(2.0mL) 中,并且添加DIPEA(60.1mg;0.465mmol)。将溶液在氩气氛围下在室温下搅拌22h。HPLC分析表明约60%的所希望的产物具有双峰。将粗产物分成两个部分。

[0621] • 一部分在室温下用吗啉(4.0mg,0.047mmol,5当量) 处理24h。起始材料仍然存在并且允许反应在室温下搅拌另外的20h。转化率是约71%。产物还示出双峰。将产物通过制备型HPLC纯化以得到相当纯的产物。通过LCMS,使用m/z 935.9(M+114-1) 确认产物。

[0622] • 另一部分使用1-甲基哌嗪(4.7mg,0.047mmol,5当量) 在室温下处理24h。起始材料仍然存在并且允许反应在室温下搅拌另外的20h。转化率是约64%。产物还示出双峰。将产物通过制备型HPLC纯化以得到相当纯的产物。通过LCMS,使用m/z 948.9(M+114-1) 确认产物。

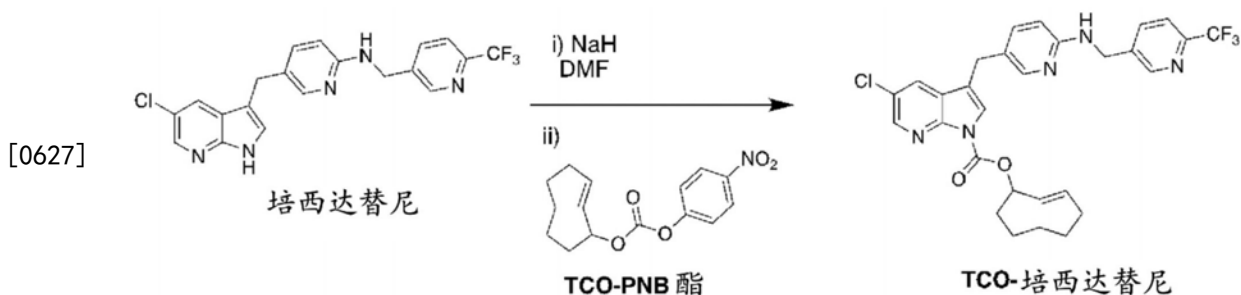
[0623] NHS-TCO-阿霉素(轴向异构体4).将阿霉素盐酸盐(1.05g;1.8mmol)和3(761mg;1.8mmol)溶解在DMF(18mL)中,并且添加DIPEA(1.16g;9.0mmol)。将溶液在氮气氛围下在室温下搅拌22h。HPLC分析表明反应进行良好并且产物具有单峰。剩余的粗产物在旋转蒸发仪上浓缩至干燥以除去DMF。将残余物通过FCC(iPrOH/DCM:0%-23%)纯化以得到呈红色固体的纯产物4(1.015g,66%)。¹H-NMR(CDC13): δ =13.97(s,1H),13.22(s,1H),8.03(d,J=7.9Hz,1H),7.78(t,J=8.0Hz,1H),7.38(d,J=8.6Hz,1H),5.85(m,1H),5.59(m,1H),5.51(s,1H),5.29(s,1H),5.16(d,J=8.4Hz,1H),5.12(s,1H),4.75(d,J=4.8Hz,2H),4.52(d,J=5.8Hz,1H),4.15(q,J=6.5Hz,1H),4.08(d,J=3.6Hz,3H),3.87(m,1H),3.69(m,1H),3.26(d,J=18.8Hz,1H),3.00(m,2H),2.81(s,4H),2.4-1.7(br.m,13H),1.62(s,2H),1.30(d,J=6.5Hz,3H),1.23(s,3H)ppm。



酸-TCO-阿霉素(轴向异构体)

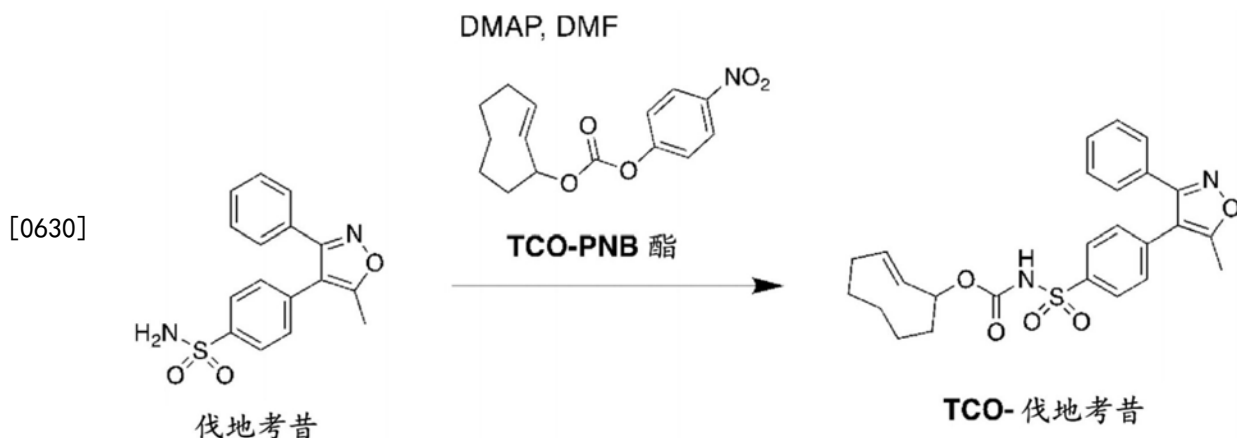
[0625] 在DMF(0.10mL)中的中间体4(约2.4mg)可以用饱和碳酸氢钠(0.10mL)在室温下处理。18h后,起始材料将近消耗完并且反应仍然复杂化。将粗产物通过制备型HPLC纯化以获得相当纯的产物。

[0626] 实例A2



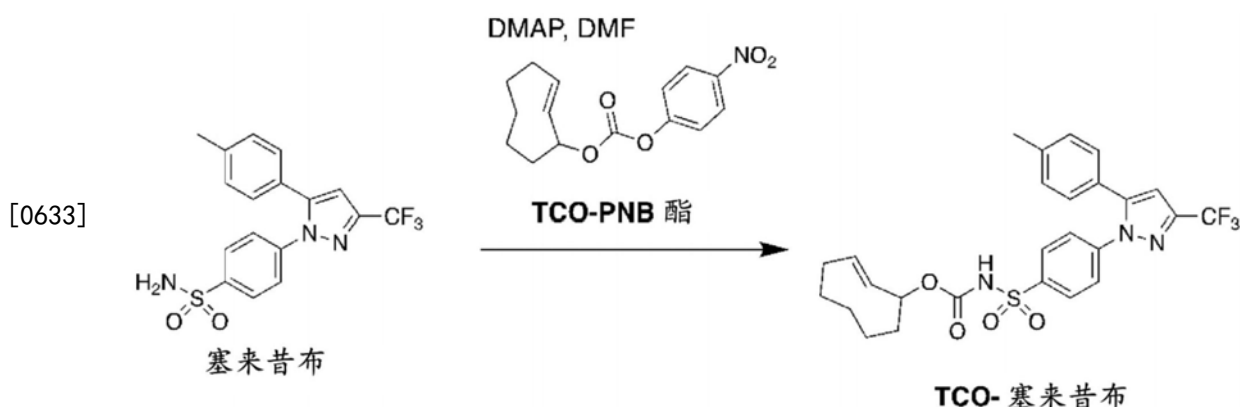
[0628] 制备TCO-培西达替尼的一般程序在0℃下向培西达替尼(PLX3397)(373mg,0.89mmol)在DMF(4.0mL)中的溶液中添加氢氧化钠(接近60%,39mg,接近0.96mmol);并且将反应混合物在氮气下搅拌1h,然后添加TCO-PNB酯(200mg,0.68mmol)。将所得混合物在rt搅拌过夜并且在真空中蒸发。将反应混合物用水(30mL)稀释并用乙酸乙酯(2×30mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,干燥(Na₂SO₄)并且在真空中蒸发。将残余物通过快速色谱法在硅胶上(用二氯甲烷洗脱,随后用MeOH-CH₂Cl₂(0-5%)洗脱)纯化以给出TCO-培西达替尼(145mg,37%)。LC-MS:571[M+H]⁺¹H NMR(300MHz,CDC1₃) δ 8.72(s,1H),8.41(s,1H),8.05(s,1H),7.85(d,J=6.9Hz,1H),7.66(s,1H),7.62(d,J=7.8Hz,1H),7.56(s,1H),7.29(d,J=2.4Hz,1H),6.37(d,J=8.4Hz,1H),6.15(m,1H),5.74(s,1H),5.60(d,J=6.0Hz,1H),4.88(t,J=6.0Hz,1H),4.67(d,J=6.0Hz,2H),3.87(s,1H),2.50(m,1H),2.30(m,1H),2.10-0.80(m,8H)。

[0629] 实例A3



[0631] 制备TCO-伐地考昔的一般程序.向伐地考昔(157mg,0.5mmol)在DMF(4mL)中的溶液中添加TCO-PNB酯(129mg,0.44mmol)、DMAP(106mg,0.88mmol)。将混合物在rt搅拌40h,并且用乙酸乙酯(100mL)稀释,用盐水(40mL)洗涤,经硫酸钠干燥并且在真空中蒸发。将产物通过快速色谱法在硅胶上(用DCM洗脱,随后用MeOH-DCM(5%)洗脱)纯化以给出呈白色固体的化合物TCO-伐地考昔(201mg,97%)。LC-MS:467[M+H]⁺。¹H NMR(300MHz,CDC1₃) δ8.03(d,J=8.7Hz,2H),7.65(m,1H),7.43-7.32(m,7H),5.73(m,1H),5.64(d,J=16.5Hz,1H),5.33(s,1H),2.50(s,3H),2.43(m,1H),2.09-0.77(m,9H)。

[0632] 实例A4

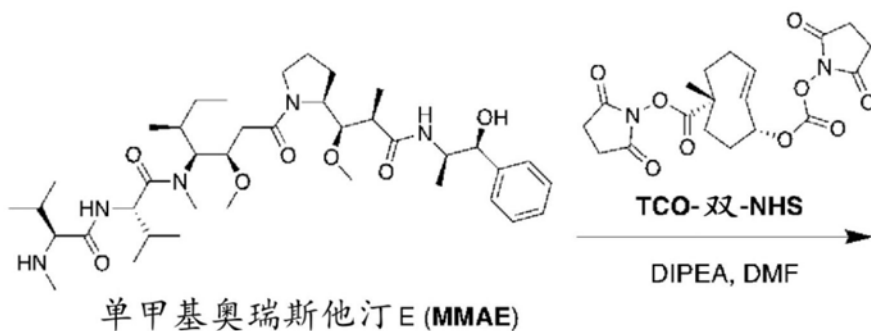


[0634] 制备TCO-塞来昔布的一般程序.向塞来昔布(141mg,0.37mmol)在DMF(4mL)中的溶液中添加TCO-PNB酯(100mg,0.34mmol)、DMAP(106mg,0.88mmol)。将混合物搅拌40h并且用乙酸乙酯(100mL)稀释并且用水(30mL)和盐水(30mL)洗涤,经硫酸钠干燥并且在真空中浓缩。将产物通过快速色谱法在硅胶上(用在DCM中的甲醇(5%)洗脱)纯化以得到产物TCO-塞来昔布(162mg,88%)。LC-MS:534[M+H]⁺

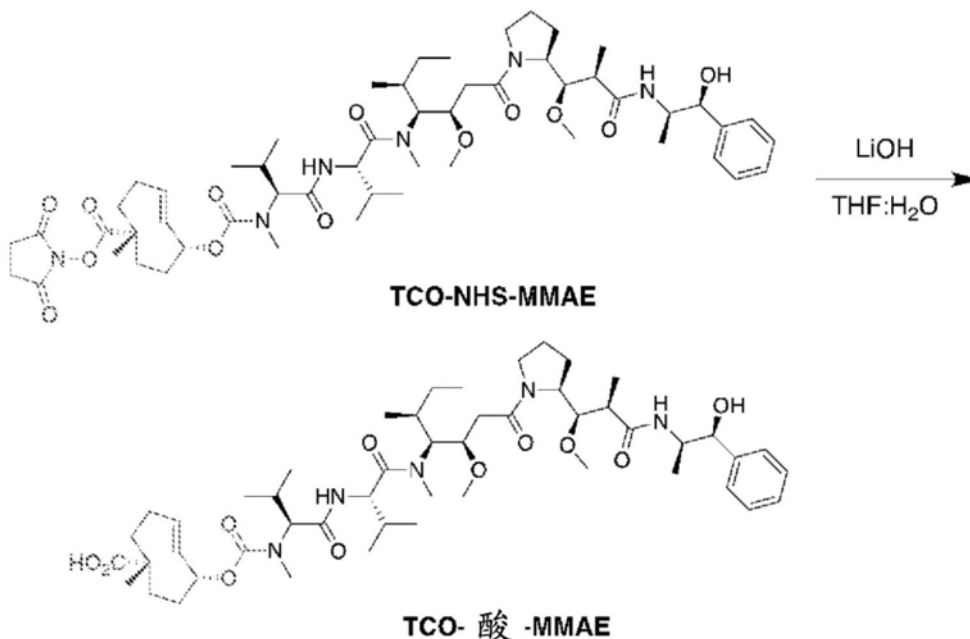
[0635] ¹H NMR(300MHz,CDC1₃) δ8.01(d,J=8.7Hz,2H),7.60(br,1H),7.50(d,J=8.7Hz,2H),7.18(d,J=8.1Hz,2H),7.14(d,J=8.1Hz,2H),6.74(s,1H),5.69(m,1H),5.45(d,J=12.0Hz,1H),5.30(s,1H),2.44(m,1H),2.38(s,3H),2.03-0.76(m,9H)。

[0636] 实例A5

[0637] TCO-单甲基奥瑞斯他汀E(TCO-MMAE)缀合物的合成



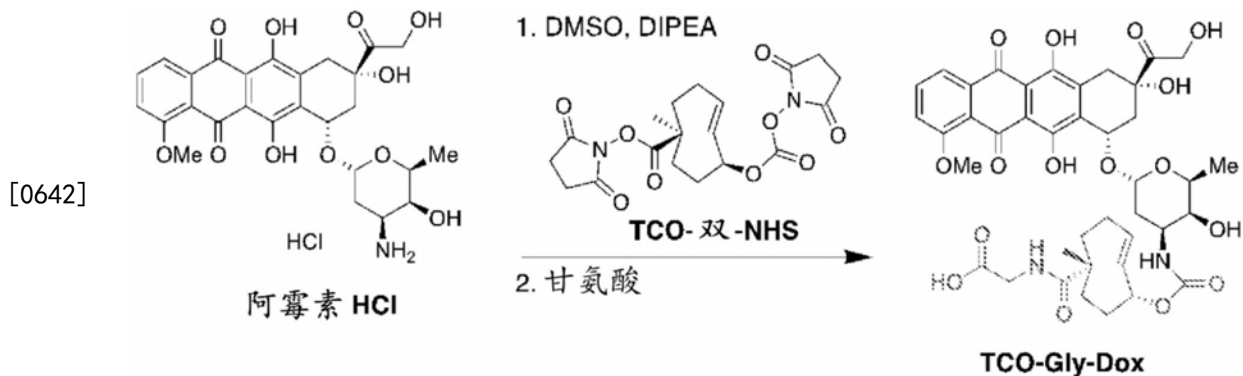
[0638]



[0639] TCO-MMAE缀合物的制备. 在rt, 向在DMF (2mL) 中的单甲基奥瑞斯他汀E (170mg, 0.24mmol) 中添加TCO-双-NHS (100mg, 0.24mmol) 和DIPEA (93mg, 0.72mmol)。将溶液在rt搅拌20h, 添加乙腈 (ACN, 8mL) 并且将混合物通过制备型HPLC (ACN/水, 0至100%, 甲酸0.1%) 纯化以给出TCO-NHS-MMAE (88mg, 36%)。在rt, 向在THF (2mL) 和H₂O (2mL) 中的TCO-NHS-MMAE (78mg, 0.076mmol) 中添加LiOH (9.2mg, 0.38mmol)。将溶液在rt搅拌20h。除去溶剂后, 添加HCl (水性, 0.5N) 至pH约为3。将混合物通过制备型HPLC (ACN/水, 0至100%, 甲酸0.1%) 纯化以给出TCO-酸-MMAE (54mg, 76%, 两种异构体)。LCMS: (ESI+) 928 [M+H]。

[0640] 实例A6

[0641] 反式环辛烯 (TCO) - 甘氨酸-阿霉素缀合物的合成



[0642]

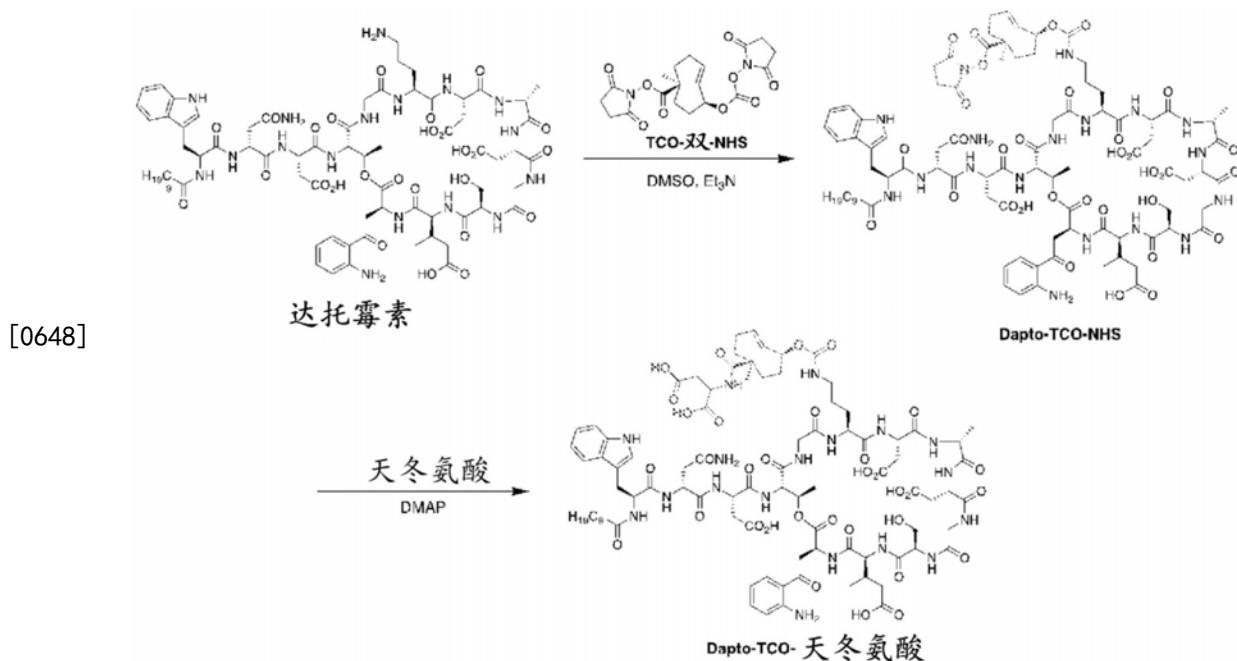
[0643] TCO-甘氨酸-阿霉素缀合物的制备.向阿霉素盐酸盐(100mg)在1mL DMSO中的溶液中添加TCO-双-NHS(75mg)。通过注入添加DIPEA(148 μ L)。将混合物搅拌过夜并且然后一次性添加甘氨酸(51mg)至反应中,并且将反应搅拌24h。将混合物用2mL H₂O稀释并且通过HPLC纯化以产生TCO-Gly-Dox。MS: (ESI+) 833[M+Na]。

[0644] 实例A7

[0645] 抗生素-TCO缀合物

[0646] 实例A7A

[0647] Dapto-TCO-氨基酸合成

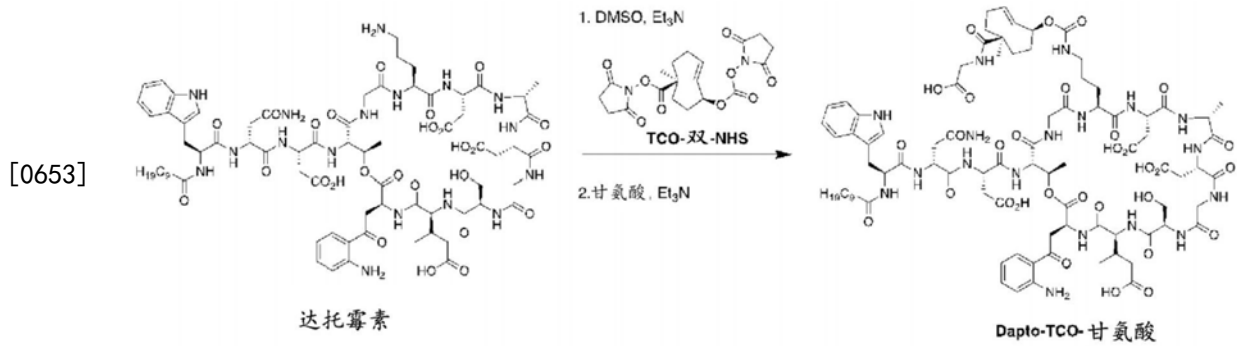


[0649] 实例方案:向DMSO中添加达托霉素(100mg,0.062mmol)、TCO-双-NHS(62.5mg,0.149mmol)和三乙胺(62.5 μ L,45.3mg,0.448mmol)并且在RT搅拌过夜以产生Dapto-TCO-NHS。LCMS:(ESI-)1926.8[M-H]。向Dapto-TCO-NHS(126.1mg,0.0654mmol)中添加天冬氨酸(104.5mg,0.785mmol)和4-二甲基氨基吡啶(150.9mg,1.235mmol)并且在37 $^{\circ}$ C下搅拌18h。通过HPLC纯化以得到Dapto-TCO-天冬氨酸。产量:100mg,0.0514mmol。LCMS:(ESI-)1944.8[M-H]。

[0650] 这种方法已用于生产甘氨酸和天冬氨酸修饰的TCO前药,并且通常也可用于掺入其他氨基酸货物。

[0651] 实例A7B

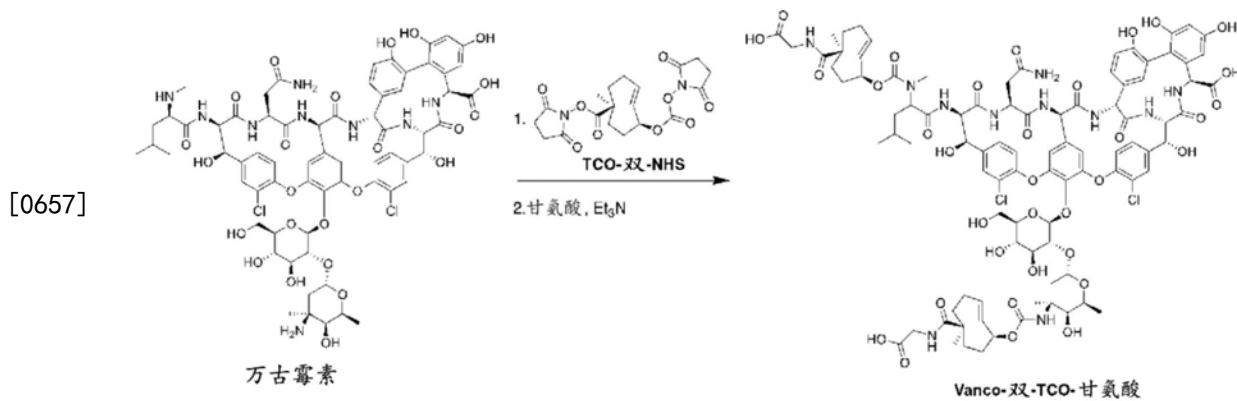
[0652] 达托霉素-TCO-甘氨酸缀合物



[0654] 达托霉素 (537mg, 0.33mmol)、TCO-双-NHS (350mg, 0.83mmol) 和三乙胺 (0.350mL, 2.51mmol) 在DMSO (11mL) 中。在RT搅拌过夜。然后加热至37℃。添加甘氨酸 (300mg, 4.00mmol) 和三乙胺 (1.8mL, 13mmol) 并搅拌18h。添加8mL水并通过HPLC纯化。产量: Dapto-TCO-甘氨酸-373mg, 0.20mmol, 59.6%。

[0655] 实例A7C

[0656] Vanco-双-TCO-甘氨酸缀合物



[0658] 可以使用类似于实例A7B的方案合成实例A7C。测试的高达64μg/ml (32μM) 的Vanco-双-TCO-甘氨酸示出对于细菌无活性, 如通过微量量热学所测量, 这说明在修饰后药物失活。

[0659] TCO氨基酸缀合物的通用HPLC纯化条件如下:

[0660] 柱:Higgins公司目录#PS-253C-C185, 250x30mm, 费兰斯 (Phalanx) 公司C18 5μm

[0661] 溶剂A: 水 (0.1% 甲酸)

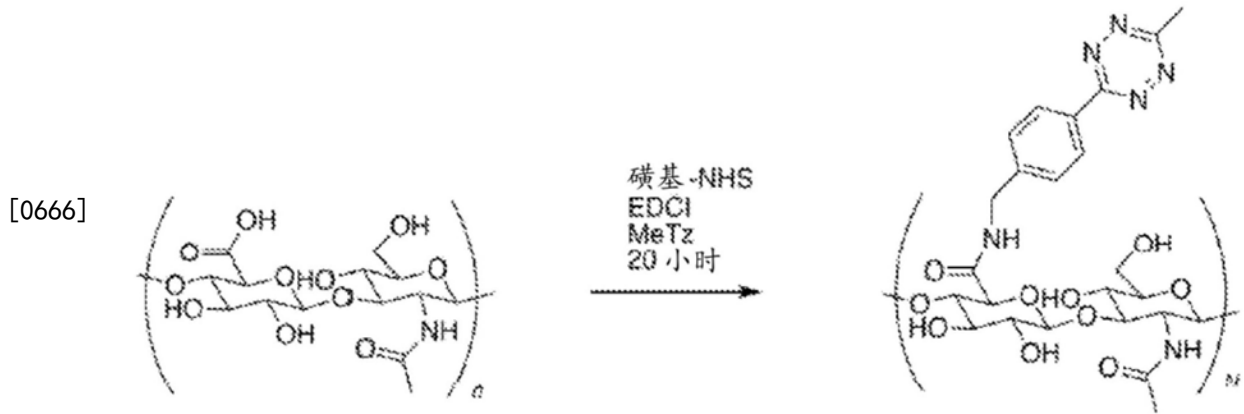
[0662] 溶剂B: 乙腈 (0.1% 甲酸)

[0663]

Min	%B
0.01	10
2.00	10
3.00	30
30.00	90
31.00	10
34.00	10

[0664] 实例A8

[0665] 四嗪修饰的透明质酸



[0667] 向5mL的MES缓冲液(0.1M MES, 0.3M NaCl, pH=6.5)中添加0.0500克的透明质酸钠(200kDa)并且搅拌直到溶解(4小时)。向这一溶液中添加N-羟基磺基琥珀酰亚胺(23.3mg, 0.107mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(42.0mg, 0.219mmol)和(4-(6-甲基-1,2,4,5-四嗪-3-基)苯基)甲胺盐酸盐(15.9mg, 0.066mmol)。将反应混合物在不存在光的情况下搅拌20小时,之后将其用羟胺(66.2mg, 0.953mmol)淬灭。将透明质酸产物在不存在光的情况下在5天内针对含有降低盐浓度(NaCl, 0.13M-0.0M)的去离子水进行纯化。将透明质酸产物过滤(0.22 μ m)并冻干5天。

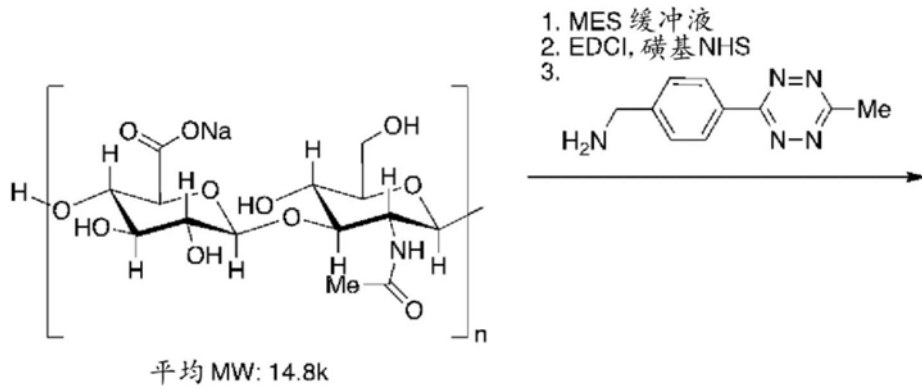
[0668] 向5mL的MES缓冲液(0.1M MES, 0.3M NaCl, pH=6.5)中添加0.0500克的透明质酸钠(100kDa)并且搅拌直到溶解(4小时)。向这一溶液中添加N-羟基磺基琥珀酰亚胺(40.6mg, 0.19mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(72.1mg, 0.38mmol)和(4-(6-甲基-1,2,4,5-四嗪-3-基)苯基)甲胺盐酸盐(28.4mg, 0.12mmol)。将反应混合物在不存在光的情况下搅拌20小时,之后将其用羟胺(117.1mg, 1.69mmol)淬灭。将透明质酸产物在不存在光的情况下在5天内针对含有降低盐浓度(NaCl, 0.13M-0.0M)的去离子水进行纯化。将透明质酸产物过滤(0.22 μ m)并冻干5天。

[0669] 向5mL的MES缓冲液(0.1M MES, 0.3M NaCl, pH=6.5)中添加0.0500克的透明质酸钠(60kDa)并且搅拌直到溶解(4小时)。向这一溶液中添加N-羟基磺基琥珀酰亚胺(58.2mg, 0.27mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(103.9mg, 0.54mmol)和(4-(6-甲基-1,2,4,5-四嗪-3-基)苯基)甲胺盐酸盐(40.4mg, 0.17mmol)。将反应混合物在不存在光的情况下搅拌20小时,之后将其用羟胺(165.7mg, 2.38mmol)淬灭。将透明质酸产物在不存在光的情况下在5天内针对含有降低盐浓度(NaCl, 0.13M-0.0M)的去离子水进行纯化。将透明质酸产物过滤(0.22 μ m)并冻干5天。

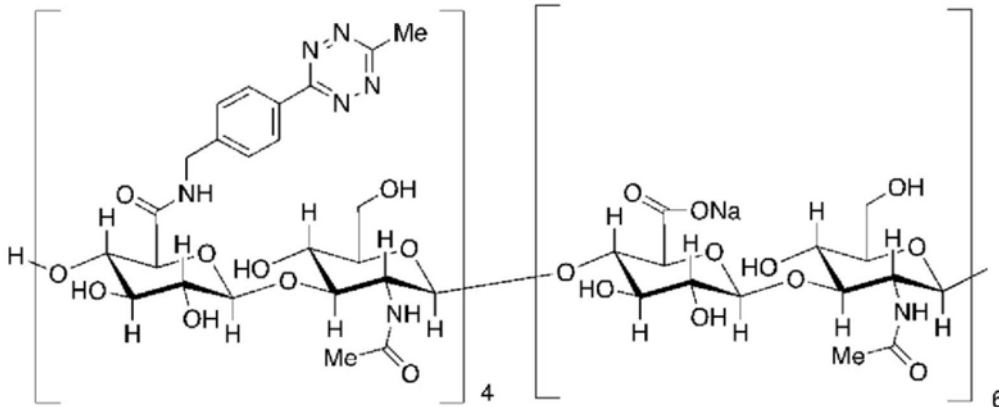
[0670] 向5mL的MES缓冲液(0.1M MES, 0.3M NaCl, pH=6.5)中添加0.0500克的透明质酸钠(5kDa)并且搅拌直到溶解(4小时)。向这一溶液中添加N-羟基磺基琥珀酰亚胺(145.9mg, 0.670mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(257.3mg, 1.34mmol)和(4-(6-甲基-1,2,4,5-四嗪-3-基)苯基)甲胺盐酸盐(100.3mg, 0.42mmol)。将反应混合物在光不存在下搅拌20小时,之后将其用羟胺(413.4mg, 5.95mmol)淬灭。将透明质酸产物在不存在光的情况下在5天内针对含有降低盐浓度(NaCl, 0.13M-0.0M)的去离子水进行纯化。将透明质酸产物过滤(0.22 μ m)并冻干5天。

[0671] 实例A9

[0672] 四嗪修饰的透明质酸



[0673]

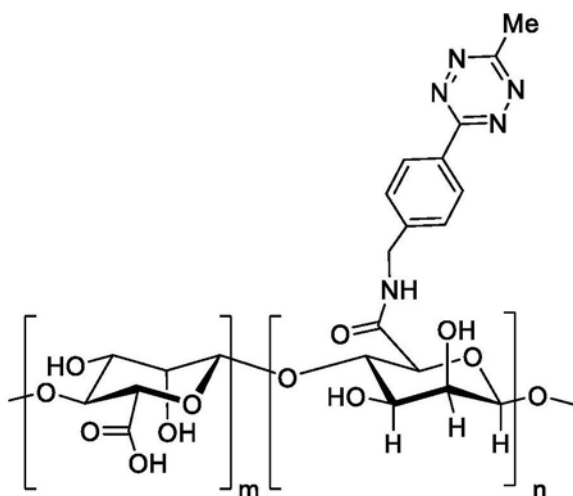


[0674] 向5mL的MES缓冲液(0.1M MES, 0.3M NaCl, pH=4.5)中添加0.5000克的透明质酸钠(14.8kDa)并且搅拌直到溶解。向这一溶液中添加N-羟基磺基琥珀酰亚胺(14.2mg, 0.0625mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(125.7mg, 0.625mmol)和(4-(6-甲基-1,2,4,5-四嗪-3-基)苯基)甲胺盐酸盐(151.2mg, 0.625mmol)。将反应混合物在不存在光的情况下搅拌4小时,之后将其稀释至1% (w/w) 并通过0.45 μ m过滤器过滤。然后将透明质酸产物通过切向流过滤(TFF)纯化,之后进行最后的无菌过滤(0.22 μ m)并冻干3天。通过元素分析,掺入透明质酸钠起始材料的四嗪是40%。

[0675] 实例A10

[0676] 四嗪修饰的藻酸盐凝胶

[0677]



[0678] 向5mL的MES缓冲液(0.1M MES, 0.3M NaCl, pH=6.5)中添加50mg的UP LVG藻酸盐

(75-200kDa) 并搅拌直到它溶解(4小时)。向这一溶液中添加N-羟基磺基琥珀酰亚胺(34.7mg, 0.16mmol)、N,N'-二环己基碳二亚胺(61.8mg, 0.32mmol)和(4-(6-甲基-1,2,4,5-四嗪-3-基)苯基)甲胺盐酸盐(24.1mg, 0.10mmol)。将反应混合物在不存在光的情况下搅拌20小时,之后将其用羟胺(99.3g, 1.44mmol)淬灭。将藻酸盐产物在不存在光的情况下在4天内针对含有降低盐浓度(NaCl, 0.13M-0.0M)的去离子水进行纯化。将藻酸盐过滤(0.22 μ m)并冻干5天。

[0679] 实例C1

[0680] 药物在C57BL/6小鼠MC-38皮下同基因模型中的抗肿瘤功效研究的体内测试

[0681] 1. 引言

[0682] 生物材料1/前药1治疗是前药1(阿霉素的反式环辛烯修饰的前药)和生物材料1(四嗪修饰的透明质酸生物材料)的组合疗法。前药1的活性减弱并且可以全身施用,其中自发转化和暴露为全身性阿霉素(Dox)的风险极小。前药1前药只有在与生物材料1(生物材料1将在局部部位处注射)反应后才会被激活。

[0683] 2. 研究目的

[0684] 本研究旨在评估在免疫活性C57BL/6小鼠的MC38结直肠癌模型中与常规Dox相比并与TLR激动剂(TLR α)组合,使用生物材料1/前药1治疗的体内治疗功效。

[0685] 3. 研究设计

[0686] 5只小鼠/组,共3组;10只小鼠/组,共7组;总计10个组。

[0687] 3.1治疗组和给药

[0688] 注意:当肿瘤达到100mm³左右的大小时,开始治疗。治疗的第一天如下被标记为“第1天”。

[0689] 表1. 研究设计

组号	动物数量	肿瘤模型 (MC38)	药物类型 (生物材料 1 后 1 h)	药物给药持续时间	前药 1 或 Dox 静脉内给药 (mg/kg/剂量)
1	5	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞)	盐水	5 个剂量, 每天一次, 5 天	-
2	10	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞)	前药 1	5 个剂量, 每天一次, 5 天	40
3	10	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞)	前药 1 + TLR 激动剂	5 个剂量, 每天一次, 5 天; TLR 激动剂	40
4	5	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞) 1 个未注射的肿瘤 (1×10^5 个细胞)	盐水	5 个剂量, 每天一次, 5 天	-
5	5	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞) 1 个未注射的肿瘤 (1×10^5 个细胞)	Dox	每 4 天 3 个剂量。	8.1
6	10	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞) 1 个未注射的肿瘤 (1×10^5 个细胞)	Dox + TLR 激动剂	每 4 天 3 个剂量。TLR 激动剂	8.1
7	10	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞) 1 个未注射的肿瘤 (1×10^5 个细胞)	前药 1 + TLR 激动剂	5 个剂量, 每天一次, 5 天; TLR 激动剂	40
8	10	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞) 1 个未注射的肿瘤 (1×10^5 个细胞)	前药 1	5 个剂量, 每天一次, 5 天	40
9	10	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞) 1 个未注射的肿瘤 (1×10^5 个细胞)	前药 1	5 个剂量, 每天一次, 5 天	40
10	10	1 个注射的肿瘤 (5×10^5 个细胞) 1 个未注射的肿瘤 (1×10^5 个细胞)	盐水	5 个剂量, 每天一次, 5 天	-

[0691] 对于组1-3 (单个肿瘤模型), 免疫活性雄性C57BL/6小鼠在右侧腹皮下接种 5×10^5 个MC38肿瘤细胞。

[0692] 对于组4-10 (双肿瘤模型), 免疫活性雄性C57BL/6小鼠在右腹皮下接种 5×10^5 个MC38肿瘤细胞 (大的经注射的肿瘤), 并在左腹皮下接种 1×10^5 个MC38肿瘤细胞 (小的未注射的肿瘤)。

[0693] 在注射之前, 将MC38细胞悬浮在与50%Matrigel混合的0.1mL DMEM培养基中用于肿瘤发展。当大肿瘤的平均肿瘤体积达到大约 100mm^3 时, 将动物根据体重和肿瘤体积随机分为10个治疗组, 每组5-10只小鼠。所有组均在大肿瘤 (以下称为经注射的肿瘤) 附近接受瘤周生物材料注射 ($100 \mu\text{L}$ /小鼠)。一小时后, 组1、4和10静脉内施用生理盐水对照 (QD x 5 天); 组2、8和9静脉内施用前药1前药 ($28.6 \text{mg/kg Dox Eq QD x 5 天}$; 累积剂量 143mg/kg Dox Eq), 组5静脉内施用Dox HCl对照 (MTD; $8.1 \text{mg/kg Q4D x 3 个剂量}$; 累积剂量 24.3mg/kg)。使用卡尺在两个维度上每周测量三次两个肿瘤的肿瘤体积, 并将体积以 mm^3 表示。将8个组用于评估肿瘤生长抑制, 而组9和10 (前药1, 盐水, $n=10$ /组) 用于使用流式细胞术测定免疫细胞浸润。组3、6和7 ($n=10$) 用于测试Dox+TLR9激动剂 (SL-01) 和前药1+TLR9激动剂。在最后一次前药1或Dox剂量后, 在原发肿瘤中, 将TLR9激动剂作为肿瘤内注射剂单独给予, 每只小鼠 $25 \mu\text{g}$ 。对于完全应答者小鼠, 每只小鼠使用 5×10^5 个细胞进行肿瘤再激发。对动物组9和10 (前药1, 盐水, $n=10$ /组) 进行流式细胞术分析, 以使用流式细胞术确定免疫细胞浸润。分别在第1周和第2周对第二和第四亚组进行肿瘤采集。在RBC裂解和Fc阻断之后, 使用流式细胞术分析肿瘤衍生细胞的细胞表面 (CD45、CD3、CD4、CD8、CD25、PD-1) 或细胞内 (FoxP3) 标志物。细胞还用活/死染色剂 (可固定活力染色剂) 进行标记, 以区分非活细胞和活细胞。CD45是一种细胞表面 (跨膜) 分子, 其在大多数造血来源 (即来自血液) 的细胞上是

存在的。它用于区分浸润细胞和MC38肿瘤的天然细胞,MC38肿瘤是一种结肠癌细胞系并缺乏CD45。CD3是泛T细胞标志物,而CD4和CD8分别存在于辅助性T细胞(T_H 细胞)和细胞毒性T淋巴细胞(CTL)子集上。FoxP3是在CD4+CD25+细胞上发现的细胞内标志物,并且通常被鉴定为最常见的 T_{reg} 类型。PD-1是一种免疫检查点蛋白和在细胞(通常是T细胞)上发现的程序性细胞死亡受体。当与其一种或多种同源配体结合时,PD-1可以触发抗原特异性(CD4+或CD8+) T细胞的凋亡。

[0694] 表2. 补充治疗说明

	补充治疗	组	途径	剂量/频率/治疗开始时间
[0695]	TLR9 激动剂 (ODN D-SL01)	3	肿瘤内	25 μ g/小鼠 (体积: 50 μ L); 一次; 在第 5 天前 药 1 给药完成后一小时; 在第 9 天 Dox 给药完成 后一小时

[0696] 3.2再治疗组和给药

[0697] 在接种后(dpi) 38天开始施用再治疗。

[0698] 组2-全部剩余小鼠(n=8)

[0699] 1. 一次100 μ L生物材料1瘤周注射(跨5个极)

[0700] 2. 1h后,将5个每日剂量的前药1以16.6mg/kg/天(低于之前)静脉内施用

[0701] 组3-全部剩余小鼠(n=10)

[0702] 将组3分成2个亚组。

[0703] 每个亚组含有n=5:n=3,肿瘤 $>100\text{mm}^3$,和n=2,肿瘤 $<100\text{mm}^3$ 。

[0704] 仅用共同施用(瘤周)的生物材料1+TLR α 和静脉内生理盐水治疗一个亚组。

[0705] 用共同施用(瘤周)的生物材料1+TLR α 和5个每日静脉内剂量的前药1治疗第二个亚组。

[0706] 生物材料1+TLR α 共同施用

[0707] 1. 将100 μ L生物材料1与25 μ g TLR α 混合(用于1只小鼠;TLR α 量比以前低)

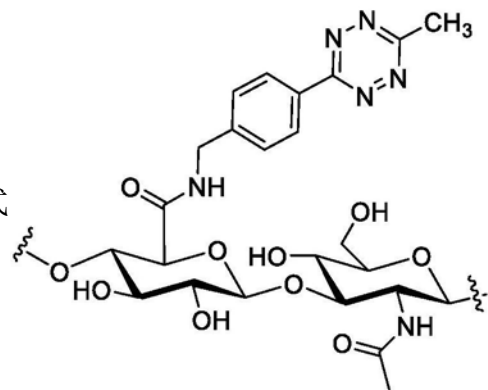
[0708] 2. 生物材料1混合TLR α 的一次瘤周注射

[0709] 3. 1h后,将5个每日剂量的前药1以16.6mg/kg/天静脉内施用

[0710] 4.2测试品

[0711] 4.2.1生物材料1

[0712] 具有约10-15kD MW和约30%修饰的如式



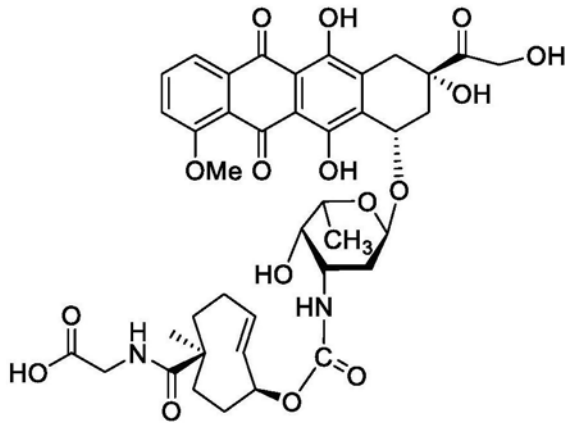
中进

行修饰的四嗪修饰的透明质酸钠

[0713] • 外观:填充在注射器中粉色液体

- [0714] • 储存: -20℃
 [0715] • 配制: 不需要
 [0716] 4.2.2前药1

[0717]



- [0718] • 外观: 干燥的红色粉末
 [0719] • 储存: -20℃
 [0720] • 配制: 将前药1粉末溶解在无菌磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中。用1M NaOH调节pH至pH 7.2。在无菌条件下通过0.2μm膜过滤。静脉内注射前每天制备新鲜配制品。
 [0721] 4.2.3 TLRα
 [0722] 来自英维克公司 (Invivogen) 的ODN D-SL01
 [0723] • 外观: 干燥的白色固体
 [0724] • 储存: -20℃
 [0725] • 配制: 将200μg TLRα溶解在400μL无内毒素水中。鞘内注射前每天制备新鲜配制品。
 [0726] 4.3 FACS抗体和试剂

[0727]

标志物	荧光染料	目录号	名称	供应商
活/死	APC-CY7	565388	可固定的活力染色剂 780 200 μg	BD
CD45	AF700	560510	抗 CD45 Alexa 700 30-F11 50 μg	BD
CD3	PE-CY7	552774	抗 CD3e PE-Cy7 145-2C11 100 μg	BD
CD4	FITC	557307	抗 CD4 FITC GK1.5 100 μg	BD
CD8	BV510	563068	抗 CD8a BV510 53-6.7 50 μg	BD
CD25	BV421	564370	抗 CD25 BV421 3C7 50 μg	BD
Foxp3	PE	12-4774-42	抗 FOXP3 (150D/E4) PE 100 测试	赛默飞世尔公司
PD-1	APC	562671	抗 CD279 APC J43 50 μg	BD

- [0728] • 小鼠Fc阻断剂 (#553141)、BD Horizon Brilliant染色缓冲液 (#563794) 和补偿珠 (#554825) 获得自BD公司。
 [0729] • Miltenyi肿瘤解离试剂盒 (美天旎生物技术有限公司 (Miltenyibiotec), #130-096-730)
 [0730] • RBC裂解缓冲液 (BD, #555899)
 [0731] • 70μm细胞过滤器 (美天旎生物技术有限公司, #130-098-462)

[0732] 5. 实验方法和程序:

[0733] 5.1 细胞培养

[0734] 将MC-38细胞在37℃和5%CO₂培养箱中用补充有10%热灭活胎牛血清(FBS)的DMEM培养。细胞每周传代2次。当大约70%汇合时,将细胞收获、计数、传代和接种。

[0735] 5.2 肿瘤接种和分组

[0736] 八十五只动物参加了功效研究。当肿瘤体积达到大约100mm³的平均体积时,根据动物的肿瘤大小,通过Excel使用区组随机化将动物如下随机化。这确保了所有组在基线处是相当的。将悬浮在与50%基质凝胶混合的100μL PBS中的5x10⁵个MC-38细胞皮下接种到右侧腹。对于组4至10,将悬浮在与50%基质凝胶混合的100μL PBS中的1x10⁵个MC-38细胞皮下接种到左侧腹。

[0737] 5.3 观察结果

[0738] 在例行监测时,检查动物是否存在肿瘤生长和/或治疗对正常行为的任何不利影响,例如对活动性、食物和水消耗(仅通过观察)和体重增加/减少(对于体重,在给药前阶段每周测量两次,在给药阶段每天测量一次)、眼睛/毛发失去光泽的影响和任何其他异常影响,包括肿瘤溃疡。如果任何动物的体重减轻达到10%,则通知赞助者。根据每个子集中的动物数量,记录意外死亡和观察到的临床体征。不允许动物发展到垂死状态。

[0739] 5.4 肿瘤测量和终点

[0740] 每周三次使用卡尺在两个维度上测量肿瘤体积并且使用如下公式以mm³表示体积: $V=0.5a \times b^2$,其中a和b分别为肿瘤的长径和短径。然后用肿瘤体积计算T-C和T/C值二者。计算T-C时,T为治疗组肿瘤达到预定大小所需的中位时间(以天为单位),并且C为对照组肿瘤达到相同大小所需的中位时间(以天为单位)。T/C值(以百分比表示)是抗肿瘤效果的指标;T和C分别是治疗组和对照组在给定的某天的平均体积。根据TV计算T-C值。计算T-C时,T为治疗组肿瘤达到预定大小所需的中位时间(以天为单位),并且C为对照组肿瘤达到相同大小所需的中位时间(以天为单位)。

[0741] 5.5 流式细胞术分析(FC/FACS)

[0742] 在同一研究中,2组(n=10)具有双MC38肿瘤的小鼠用于肿瘤免疫细胞分析并用生物材料1/前药1治疗或盐水进行治疗。每组进一步分为2个亚组,每个亚组5只小鼠。分别在第1周和第2周对第一和第二亚组进行肿瘤采集。在红血细胞(RBC)裂解和Fc阻断之后,使用流式细胞术分析肿瘤衍生细胞的细胞表面(CD45、CD3、CD4、CD8、CD25、PD-1)或细胞内(FoxP3)标志物。细胞还用活/死染色剂(可固定活力染色剂)进行标记,以区分非活细胞和活细胞。鉴定了每个目的群的细胞百分比(表6)。CD45是一种细胞表面(跨膜)分子,其在大多数造血来源(即来自血液)的细胞上是存在的。它用于区分浸润细胞和MC38肿瘤的天然细胞,MC38肿瘤是一种结肠癌细胞系并缺乏CD45。CD3是泛T细胞标志物,而CD4和CD8分别存在于辅助性T细胞和细胞毒性T淋巴细胞(CTL)子集上。FoxP3是在CD4+CD25+细胞上发现的细胞内标志物,并且通常被鉴定为最常见的调节性T细胞(T_{reg})类型。PD-1是一种免疫检查点蛋白和在细胞(通常是T细胞)上发现的程序性细胞死亡受体。当与其一种或多种同源配体结合时,PD-1可以触发抗原特异性(CD4+或CD8+) T细胞的凋亡。

[0743] 5.5.1 组织处理

[0744] 对于肿瘤样本,使用Miltenyi肿瘤解离试剂盒将肿瘤组织均质化。来自肿瘤样本

的单细胞悬浮液被RBC裂解,离心以沉淀细胞,用冷的PBS洗涤并将细胞沉淀重悬在染色缓冲液中并储存在冰上。然后细胞准备好用于FACS抗体染色。

[0745] 5.5.2 FACS抗体染色

[0746] 1.对于每个样本,将染色缓冲液中的细胞($\leq 10 \times 10^6$ 个细胞/管)添加到标有正确样本名称的Eppendorf管中。

[0747] • 第1小组:活-死/CD45/CD3/CD4/CD8/CD25/PD-1

[0748] • 第2小组:活-死/CD45/CD3/CD4/CD25/Foxp3

[0749] 2.对于每种组织类型(肿瘤),准备两个额外的管(见下文)并将染色缓冲液中的细胞($\leq 10 \times 10^6$ 个细胞/管)添加到这两个管中。

[0750] • 管:无颜色

[0751] • 管:仅活-死***

[0752] • 管:无颜色(固定/透化)

[0753] • 管:仅活-死(固定/透化)

[0754] • 注意:这两个管用作每种组织类型的门控。

[0755] • ***仅活-死的管也用于活-死补偿。8种荧光染料缀合的抗体的补偿使用来自BD公司的补偿珠并遵循供应商的手册分别制备。

[0756] 3.通过在染色缓冲液中以1/100稀释FcR阻断抗体,制备FcR阻断溶液(100 μ L/管x管数)

[0757] • 注意:由于FACS小组中使用了两种Brilliant Violet染料,因此每100 μ L FcR阻断溶液中添加了5 μ L的BD Horizon Brilliant染色缓冲液

[0758] 4.在100 μ L FcR阻断溶液中重新悬浮细胞沉淀,并在RT避光孵育3min

[0759] 5.对于第1小组,添加FACS抗体至所希望的浓度(对于每种抗体,2 μ g/ml)。在4 $^{\circ}$ C下避光孵育30min。对于第2小组,添加FACS抗体(除foxp3外)至所希望的浓度(对于每种抗体,2 μ g/ml),在4 $^{\circ}$ C下避光孵育30min,然后在4 $^{\circ}$ C下固定/透化细胞40-50min,并且添加foxp3抗体至所希望的浓度(2 μ g/ml)在4 $^{\circ}$ C下避光保持40min。

[0760] 6.添加1ml染色缓冲液,在4 $^{\circ}$ C以350g离心4min以洗涤并沉淀细胞

[0761] 7.用500 μ L染色缓冲液(未添加活-死)在“管:无颜色”中重悬细胞

[0762] 8.用具有1 μ g/ml活-死的500 μ L染色缓冲液在所有其他管中重悬细胞

[0763] 9.细胞准备好用于FACS分析并通过Attune Nxt流式细胞仪(赛默飞世尔公司)进行分析

[0764] 5.6统计分析

[0765] 进行双向ANOVA以比较体重和肿瘤体积。使用GraphPad Prism 5分析所有数据。对于我们的分析, $p < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

[0766] 5.7终点组织收集

[0767] 对于组9和10,分别在给药完成后第1周处死5只并在第2周处死5只小鼠。收集肿瘤用于FACS。

[0768] 6.结果与讨论

[0769] 6.1体重

[0770] 对于组1-8,荷瘤小鼠的体重变化结果示于图1A和图1B中。

[0771] 6.2肿瘤体积

[0772] 对于组1-8,所有治疗组在不同时间点处的经注射的肿瘤的体积示于图2A和图2B中。对于组1-8,用于分析的所有治疗组的经注射的肿瘤的体积示于图3A和图3B中。对于组4-8,所有治疗组在不同时间点处的未注射的肿瘤的体积示于图4中。对于组4-8,用于分析的所有治疗组的未注射的肿瘤的体积示于图5中。

[0773] 6.3肿瘤生长抑制功效

[0774] 与用常规Dox治疗示出的相比,用生物材料1/前药1治疗进行治疗导致抗肿瘤应答 ($p < 0.05$) 和总存活 ($p < 0.001$) 显著改善 (图6A-6B和图6D)。此外,生物材料1/前药1治疗组中的大多数未注射的肿瘤示出持续的抗肿瘤应答,而在常规Dox治疗组中,在所有未注射的肿瘤中都观察到了进行性生长 (图6C)。

[0775] 肿瘤生长抑制功效总结在表3、表4和表5中。

[0776] 表3. 单肿瘤小鼠的抗肿瘤活性 (经注射的肿瘤)

治疗	TV (mm ³) ^a	TV (mm ³) ^b	D21		显著 TV ^c
			T/C (%)	1-T/C (%)	
G1	94 ± 9.3	1036 ± 103.6	100	0	-
[0777] G2	94 ± 6.3	393 ± 100.5	38	62	***
G3	93 ± 5.9	289 ± 56.2	28	72	***

a. 在第7天时的肿瘤体积;
b. 在第21天时的肿瘤体积;
c. 所有组都与在第21天时的G1相比。

[0778] 表4. 双肿瘤小鼠中的抗肿瘤活性 (经注射的肿瘤)

治疗	TV (mm ³) ^a	TV (mm ³) ^b	D21		显著 TV ^c
			T/C (%)	1-T/C (%)	
[0779] G4	94 ± 10.0	1076 ± 170.2	100	0	-
G5	93 ± 8.5	810 ± 196.4	66	34	**

	G6	93 ± 5.8	621 ± 187.9	45	55	***
	G7	93 ± 5.7	238 ± 29.5	13	87	***
[0780]	G8	93 ± 5.6	322 ± 45.9	25	75	***
	a. 在第 7 天时的肿瘤体积；					
	b. 在第 21 天时的肿瘤体积；					
	c. 所有组都与在第 21 天时的 G4 相比。					

[0781] 表5. 双肿瘤小鼠中的抗肿瘤活性 (未注射的肿瘤)

治疗	TV (mm ³) ^a	TV (mm ³) ^b	T/C (%)	D24 1-T/C (%)	显著 TV ^c	
G4	61 ± 3.8	251 ± 90.0	100	0	-	
G5	67 ± 18.8	93 ± 19.2	34	66	***	
[0782]	G6	52 ± 4.8	82 ± 9.9	38	62	***
	G7	36 ± 3.6	44 ± 4.9	30	70	***
	G8	42 ± 3.8	53 ± 5.2	30	70	***
	a. 在第 12 天时的肿瘤体积；					
	b. 在第 24 天时的肿瘤体积；					
	c. 所有组都与在第 24 天时的 G4 相比。					

[0783] 免疫活性C57BL/6小鼠接种小鼠MC38肿瘤。在第0天植入所有肿瘤细胞。治疗在第7天开始于在“经注射的”肿瘤处局部注射生物材料,然后进行全身疗法。大(经注射的)肿瘤以 5×10^5 个细胞开始。小(未注射的)肿瘤以 1×10^5 个细胞开始。肿瘤生长曲线示出平均值±SEM;当标准误差小于用于表示治疗条件的符号时,出现没有误差条的数据点。在该组中有1只或多只小鼠死亡或当肿瘤体积达到 2000mm^3 时被处死后曲线停止。

[0784] 肿瘤生长曲线的统计显著性*、**是通过每天进行Welch校正的非配对t检验来确定的。生理盐水(组4)和Dox HCl(组5)治疗在任何一天都没有显著差异。生物材料1/前药1(组8)治疗与盐水、Dox HCl或盐水和Dox HCl治疗二者在用星号和括号表示的天数里有显著差异。

[0785] 存活的统计显著性***通过对数秩(曼特尔-考克斯(Mantel-Cox))检验来确定;生物材料1/前药1治疗与Dox HCl或盐水有显著差异,而Dox HCl和盐水彼此没有显著差异。

[0786] 免疫活性C57BL/6小鼠接种小鼠MC38肿瘤。在第0天植入所有肿瘤细胞。治疗在第7天开始于在“经注射的”肿瘤处局部注射生物材料,然后进行全身疗法。大(经注射的)肿瘤

以 5×10^5 个细胞开始。小(未注射的)肿瘤以 1×10^5 个细胞开始。单个未注射的肿瘤的肿瘤生长示出为每个肿瘤初始体积的百分比(从接种后第12天测量)。

[0787] 6.5流式细胞术分析

[0788] 在治疗后1周或2周收集肿瘤样本用于免疫分析。表6说明了用于检测的免疫细胞群和相应的标志物。图8和图9示出了2周时肿瘤样本中免疫细胞频率和表型的定量结果。

[0789] 在完成治疗后1周,在治疗组和生理盐水组之间没有观察到差异。在治疗完成后2周,对于经注射和未注射的肿瘤二者,在生物材料1/前药1治疗组和盐水组之间鉴定出T细胞谱的显著差异。对于经注射(“经注射的”) (图8)和未注射(“未注射的”) (图9)肿瘤,与在盐水治疗的小鼠中所示出的相比,在生物材料1/前药1治疗的小鼠中,CD45+CD3+细胞的总体%增加了。这表明在生物材料1/前药1治疗的小鼠中总肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)增加了。在这些细胞中,与盐水相比,用生物材料1/前药1治疗的经注射的肿瘤中CD8+和CD4+细胞的百分比显著更高(图8)。在未注射的肿瘤中,与盐水治疗组相比,生物材料1/前药1治疗组中仅CD4+细胞百分比显著更高(图9)。在未注射的肿瘤中(图9),在生物材料1/前药1治疗组中没有观察到CD4+CD25+FoxP3+细胞。

[0790] 综上所述,这些结果表明生物材料1/前药1治疗组的辅助性T细胞和CTL效应细胞的总体增加以及浸润到肿瘤中的 T_{reg} 效应细胞的减少。尽管相比于盐水组,未注射的肿瘤中CD8+细胞的细胞百分比(图9)似乎更高而且经注射的肿瘤中FoxP3+细胞的百分比(图8)更低,但可能需要每组更多的动物才能获得统计显著性。

[0791] 有趣的是,与盐水组中所示出的相比,在生物材料1/前药1治疗组的经注射的肿瘤(图8)中,PD-1+CD4+T细胞的百分比更高。虽然升高的PD-1表明T细胞衰竭,但这些细胞的真正功能意义需要进一步探索。在未注射的肿瘤中没有观察到这种差异(图9)。这一发现也为未来的研究中应用生物材料1/前药1与抗PD-1检查点阻断剂的组合疗法提供了坚实的基础。此外,在盐水或生物材料1/前药1治疗组中经注射或未注射的肿瘤中CD8+细胞中的PD-1表达没有差异。

[0792] 总而言之,这项研究的流式细胞术数据表明,生物材料1/前药1治疗能够激活免疫并增加经注射和未注射的肿瘤中TIL的总数。这些影响在2周时出现,但在治疗1周后不出现,这表明了与时间有关的应答。实体瘤通过增加 T_{reg} 细胞的浸润或接合检查点分子来抑制免疫应答。这项研究表明,生物材料1/前药1治疗可能会减少未注射的肿瘤中的 T_{reg} 细胞,并且在与抗PD-1抗体组合时可能具有潜在益处。

[0793] 表6. 免疫细胞群和相应的标志物

标志物	细胞群
%CD45+CD3+	总细胞中 T 淋巴细胞的%
%CD45+CD3+CD4+	总细胞中 CD4+T 淋巴细胞的%
%CD45+CD3+CD8+	总细胞中 CD8+T 淋巴细胞的%
[0794] 门控的 CD45+CD3+CD4+ 中 PD-1+细胞%	CD4+T 细胞群中耗竭细胞的%
门控的 CD45+CD3+CD8+ 中 PD-1+细胞%	CD8+T 细胞群中耗竭细胞的%
门控的 CD45+CD3+CD4+ 中的 CD25+Foxp3+%	CD4+T 细胞群中 T_{reg} 的%
%CD45+CD3+CD4+CD25+Foxp3+	总细胞中 T_{reg} 的%

[0795] T_{reg} = 调节性T细胞

[0796] 7. 再激发研究结果

[0797] 除了双肿瘤组外,本研究还研究了仅接种一个MC38肿瘤的小鼠中的肿瘤再植入。在第38天,在组G2(表1)(n=8)中的所有动物都用第二个周期的生物材料1/前药1进行治疗-100- μ L的肿瘤内生物材料1注射,然后是5个每日剂量(每天1次剂量)的前药1-这次以11.9mg/kg/剂量Dox Eq(59.3mg/kg/周期Dox Eq)施用。

[0798] 在第70天,对组G2中一只趋向于完全应答的小鼠(图10A)在其左侧腹用皮下接种的 5×10^5 个MC38肿瘤细胞进行再激发。同一天,对照组的5只首次接受试验的小鼠也接种了 5×10^5 个MC38肿瘤细胞。治疗和未治疗动物的肿瘤生长曲线示于图10B中。

[0799] 此外,也对来自组G3(表1)的小鼠(n=5)和来自双肿瘤组G6、G7和G8的小鼠(n=10)进行了再激发。所有首次接受试验的小鼠的肿瘤生长迅速,而生物材料1/前药1预治疗的小鼠的肿瘤生长受到抑制,这表明生物材料1/前药1治疗可能触发抗肿瘤记忆免疫应答。

[0800] 8. 总结和结论

[0801] 在本研究中,在皮下MC-38癌症模型中评估了前药1、前药1+TLR激动剂、Dox和Dox+TLR α 的治疗功效。

[0802] 与对照组G1相比,前药1、前药1+TLR激动剂的治疗产生了显著的抗肿瘤活性,分别地, $P < 0.001$, $P < 0.001$ 。与对照组G4相比,用前药1、前药1+TLR激动剂、Dox和Dox+TLR激动剂治疗经注射的肿瘤产生了显著的抗肿瘤活性,分别地, $P < 0.01$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$ 。与G4相比,用前药1、前药1+TLR激动剂、Dox和Dox+TLR激动剂治疗未注射的肿瘤产生了显著的抗肿瘤活性,分别地, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$ 。在携带MC-38肿瘤的小鼠中,所有治疗都具有良好的耐受性。

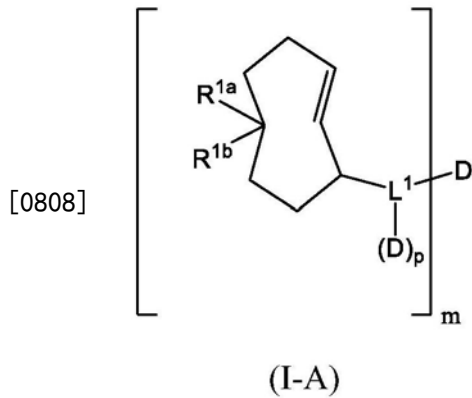
[0803] 总而言之,这项研究的流式细胞术数据表明,生物材料1/前药1治疗能够激活免疫并增加经注射和未注射的肿瘤中TIL的总数。这些影响在2周时出现,但在治疗1周后不出现,这表明了与时间有关的应答。实体瘤通过增加 T_{reg} 细胞的浸润或接合检查点分子来抑制免疫应答。这项研究表明,生物材料1/前药1治疗可能会减少未注射的肿瘤中的 T_{reg} 细胞,并且在与抗PD-1抗体组合时可能具有潜在益处。

[0804] 十六只小鼠用MC-38细胞再激发并且当在再植入研究结束时与媒介物组相比时,所有小鼠的肿瘤仍示出显著的变化。相比之下,在植入MC-38细胞的十只首次接受试验的小鼠中的全部十只中,肿瘤都正常生长。该数据表明治疗可能会诱导抗肿瘤免疫记忆应答。

[0805] 总之,当与常规的Dox治疗相比时,生物材料1/前药1治疗示出改善的肿瘤生长抑制和总存活。此外,在10%的治疗小鼠中表现出了完全缓解,然后在再激发后出现了持续的抗肿瘤应答。此外,生物材料1/前药1治疗诱导免疫激活并导致治疗开始后2周总TIL增加。总体而言,生物材料1/前药1治疗在经注射和未注射的肿瘤二者中均表现出持续的抗癌和免疫调节作用,这表明它可用于治疗局部肿瘤和转移性疾病。

[0806] 出于完整性的原因,本发明的各个方面将在以下编号的条款中阐述:

[0807] 条款A1. 一种具有式(I-A)的化合物,或其药学上可接受的盐



[0809] 其中

[0810] R^{1a} 在每次出现时独立地选自由氢、 C_{1-4} 烷基和 C_{1-4} 卤代烷基组成的组；

[0811] R^{1b} 在每次出现时独立地选自由氢、 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、 $C(O)OH$ 、 $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 和 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-4}$ 烷基组成的组；

[0812] R^{1c} 在每次出现时独立地是氢或 C_{1-4} 烷基；

[0813] R^{1e} 在每次出现时独立地是- C_{1-4} 亚烷基- CO_2H 、- C_{1-4} 亚烷基- $CONH_2$ 或- C_{1-4} 亚烷基-OH；

[0814] D在每次出现时独立地是有效负载，该有效负载选自由 toll 样受体 (TLR) 激动剂和干扰素基因刺激蛋白 (STING) 激动剂组成的组；

[0815] L^1 在每次出现时独立地是接头；

[0816] m在每次出现时独立地是1、2或3；并且

[0817] p在每次出现时独立地是0、1或2。

[0818] 条款A2. 如条款A1所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中

[0819] R^{1a} 是氢；并且

[0820] R^{1b} 是氢。

[0821] 条款A3. 如条款A1所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中

[0822] R^{1a} 是 C_{1-4} 烷基；并且

[0823] R^{1b} 选自由以下组成的组： $C(O)OH$ 、 $C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、和 $C(O)N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-4}$ 烷基。

[0824] 条款A4. 如条款A3所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中

[0825] R^{1b} 选自由以下组成的组： $C(O)OH$ 、 $C(O)N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、和 $C(O)N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 。

[0826] 条款A5. 如条款A3或A4所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中 R^{1e} 是- CH_2CO_2H 、- $CH_2CH_2CO_2H$ 、- CH_2CONH_2 、- $CH_2CH_2CONH_2$ 、- CH_2OH 、或- $CH(CH_3)OH$ 。

[0827] 条款A6. 如条款A3或A4所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中 R^{1e} 是- C_{1-4} 亚烷基- CO_2H 。

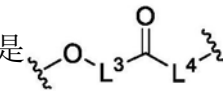
[0828] 条款A7. 如条款A3或A4所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中 R^{1e} 是- CH_2CO_2H 。

[0829] 条款A8. 如条款A3-A7中任一项所述的化合物，或其药学上可接受的盐，其中 R^{1a} 是

CH₃。

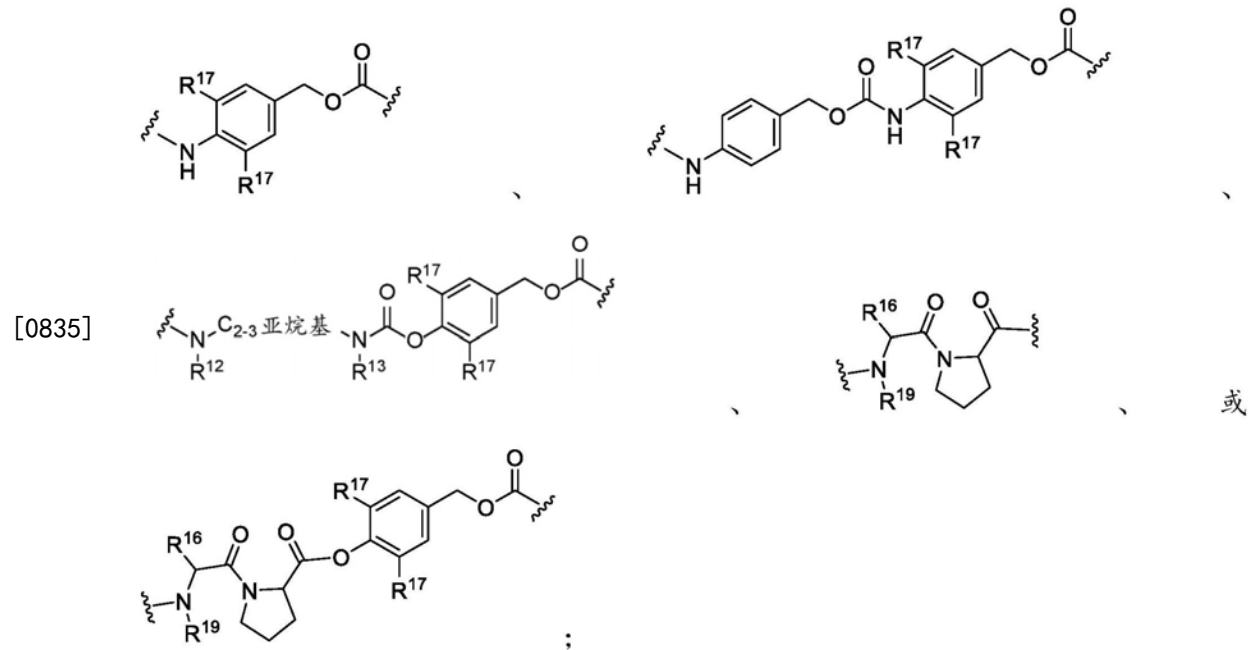
[0830] 条款A9. 如条款A3-A8中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中R^{1c}是氢。

[0831] 条款A10. 如条款A1-A9中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中:

[0832] L¹是  或 -O-;

[0833] L³是键或C₁₋₆亚烷基;

[0834] L⁴是键、-NHN:、-N(R¹⁰)-C₂₋₆亚烷基-N(R¹¹)-、-N(R¹²)-C₂₋₃亚烷基-N(R¹³)-C(O)-、-N(R¹⁰)-C₁₋₆亚烷基-C(O)-NHN:、-NHNHC(O)-C₁₋₆亚烷基-C(O)-NHN:、-CH(NHC(O)R¹⁴)-C₁₋₄亚烷基-S-S-C₁₋₄亚烷基-OC(O)-、-NHNHC(O)CH(NHC(O)R¹⁵)-CH₂C(O)-、-C₁₋₆亚烷基-CH(G^x)-OC(O)-、



[0836] R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、和R¹⁹各自独立地是氢或C₁₋₄烷基;

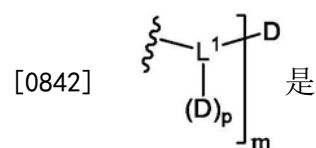
[0837] R¹⁶是氢、C₁₋₄烷基、-C₁₋₄亚烷基-OH、-C₁₋₄亚烷基-OC₁₋₄烷基、-C₁₋₄亚烷基-CO₂H、或-C₁₋₄亚烷基-CONH₂;

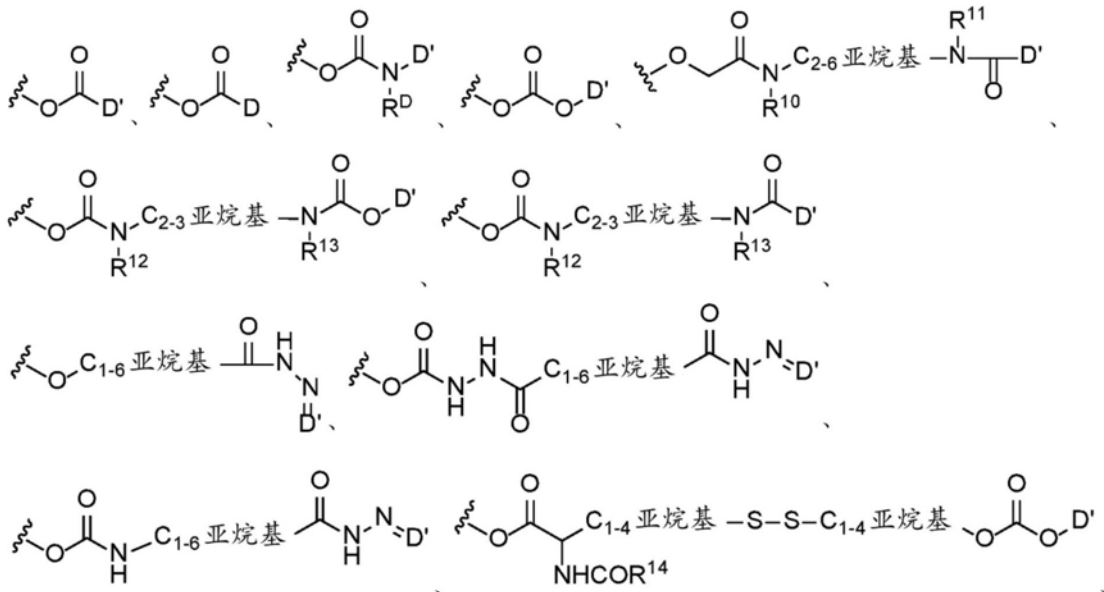
[0838] R¹⁷在每次出现时独立地是氢或-CH₂OC(O)-;并且

[0839] G^x是任选地被1-5个独立地选自下组的取代基取代的苯基,该组由卤素、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₄烷氧基、氰基、和硝基组成。

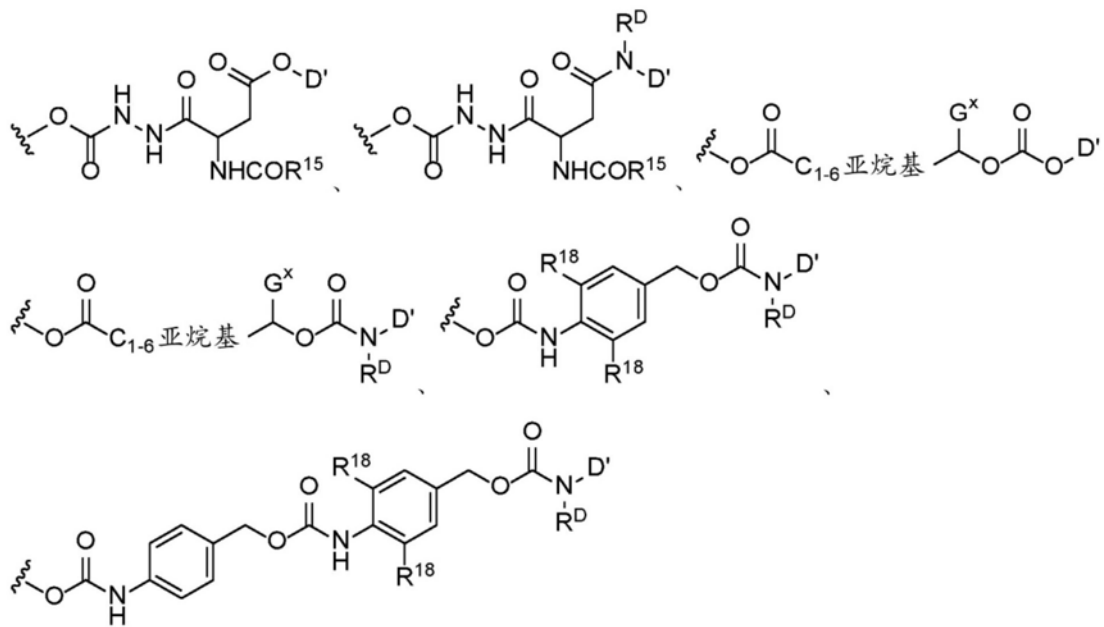
[0840] 条款A11. 如条款A1-A10中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中m是1。

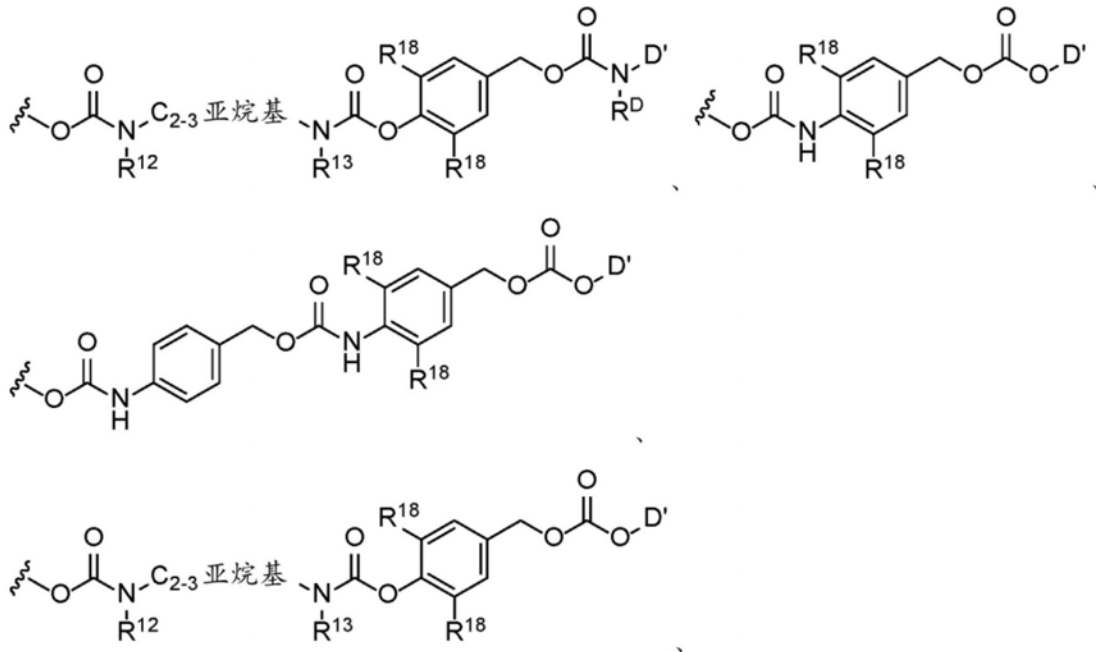
[0841] 条款A12. 如条款A11所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中:



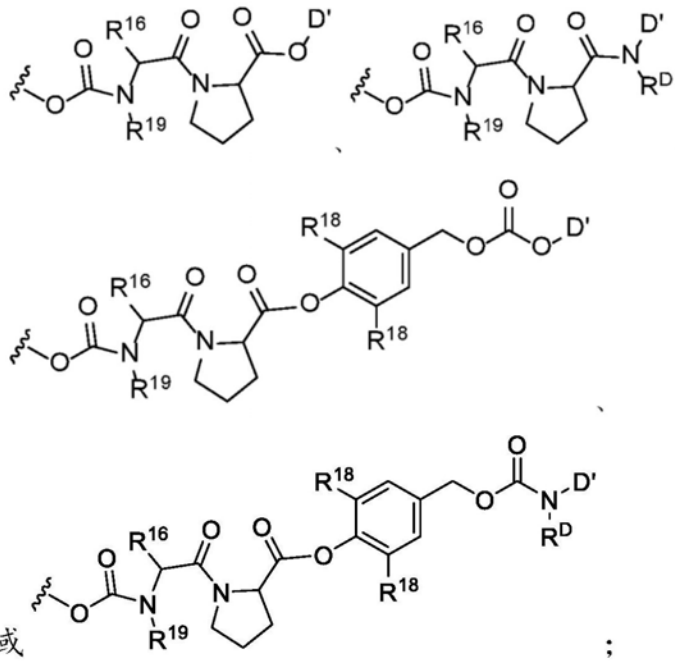


[0843]





[0844]

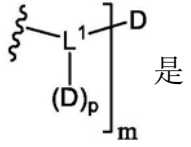


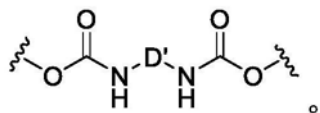
[0845] R¹⁸在每次出现时独立地是氢或-CH₂OC(O)NHD' ;
 [0846] R^D是有效负载的氮原子上的氢或C₁₋₄烷基;并且
 [0847] D' 是有效负载部分。

[0848] 条款A13.如条款A1-A12中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中p是0。

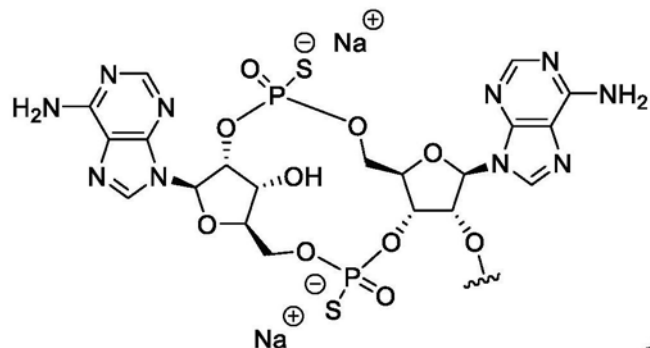
[0849] 条款A14.如条款A13所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中m是2或3。

[0850] 条款A15.如条款A14所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中



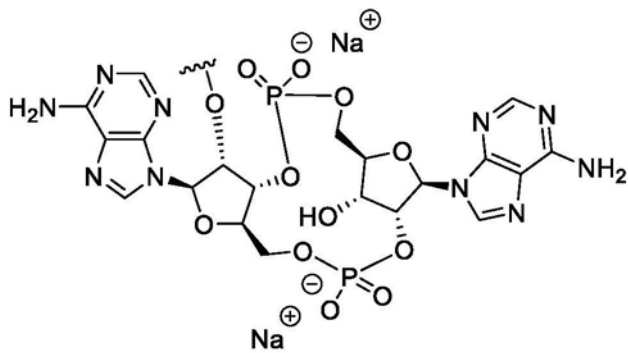


[0851] 条款A16. 如条款A1-A15中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐,其中该有效负载D选自由以下组成的组:

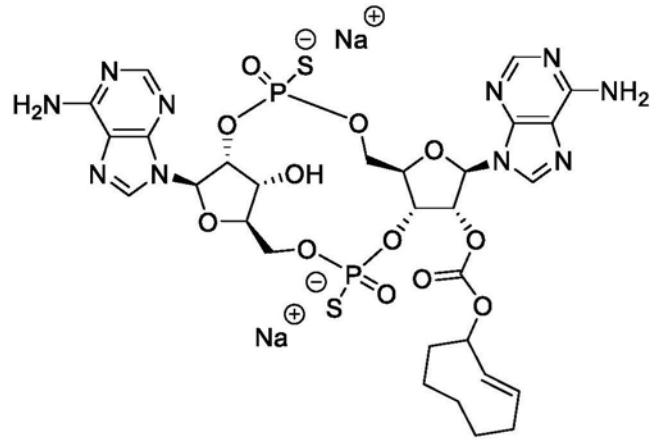


[0852]

或

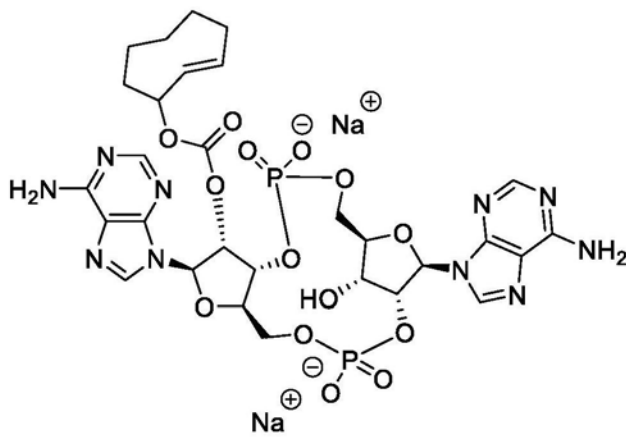


[0853] 条款A17. 如条款A1所述的化合物,或其药学上可接受的盐,该化合物选自由以下组成的组:

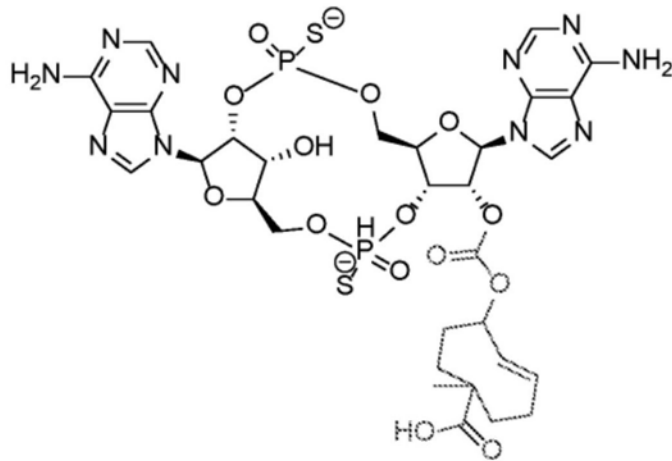


TCO-ADU-S100

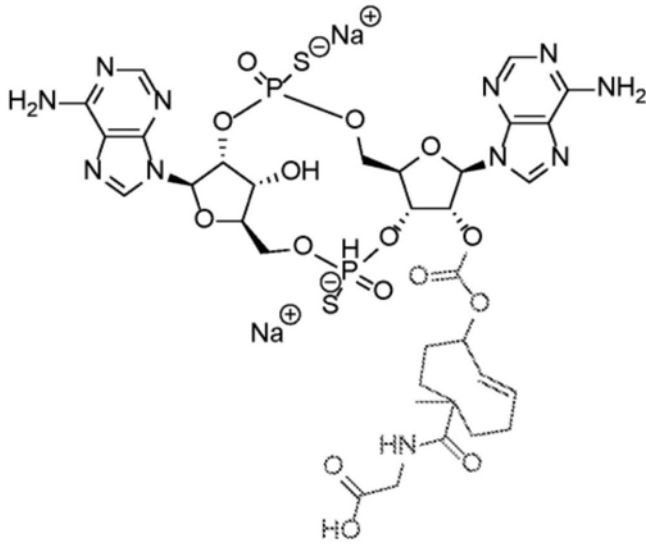
[0854]



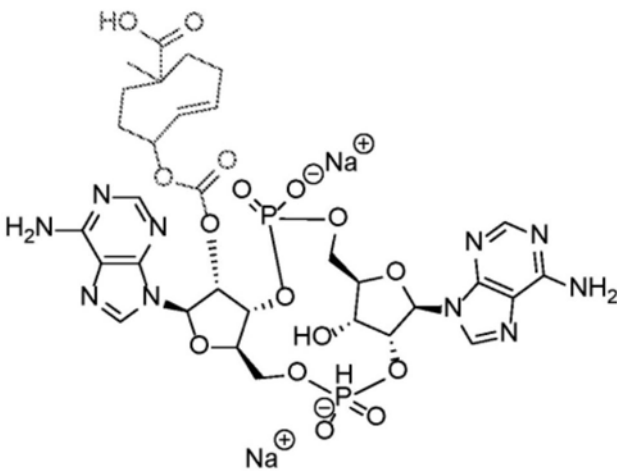
TCO-2'3'-cGAMP



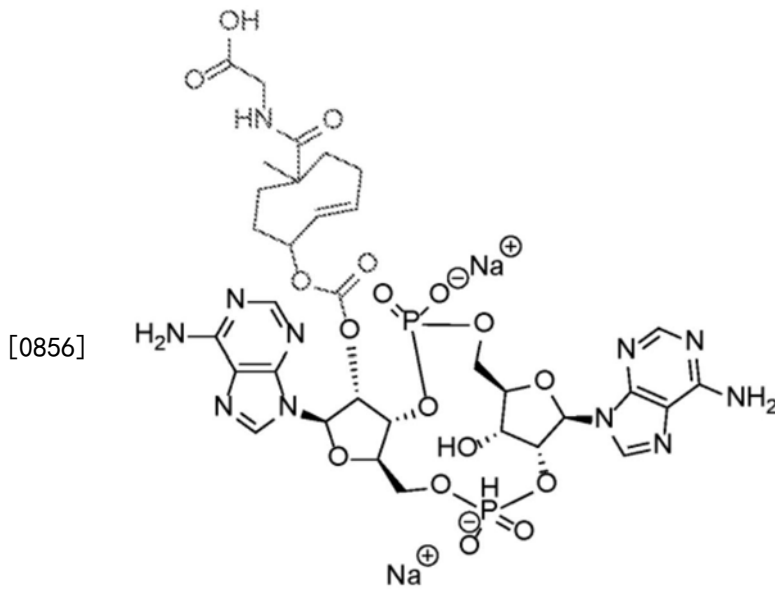
ADU-S100-TCO-酸



[0855] ADU-S100-TCO-甘氨酸、



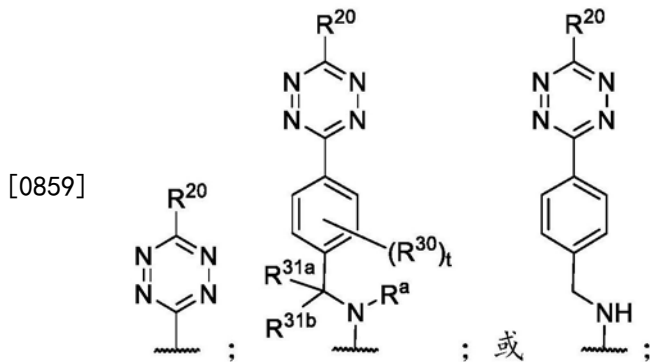
2'3'-cGAMP-TCO-酸、 或



2'3'-cGAMP-TCO-甘氨酸

[0857] 条款A18.一种药物组合物,其包含如条款A1-A17中任一项所述的化合物、或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载剂。

[0858] 条款A19.一种治疗或预防病症或障碍或增强或引发免疫应答的方法,该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的如条款A1-A17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、或如条款A18所述的药物组合物、以及治疗性支持体组合物,该治疗性支持体组合物包含生物相容性支持体和具有下式的含四嗪的基团



[0860] 其中

[0861] R^{20} 选自由以下组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR'R''$;

[0862] R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;

[0863] R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基;

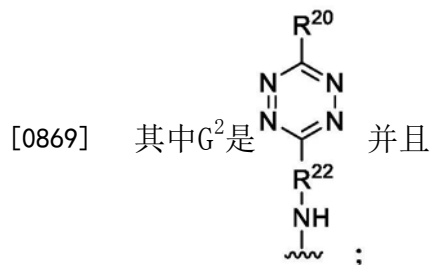
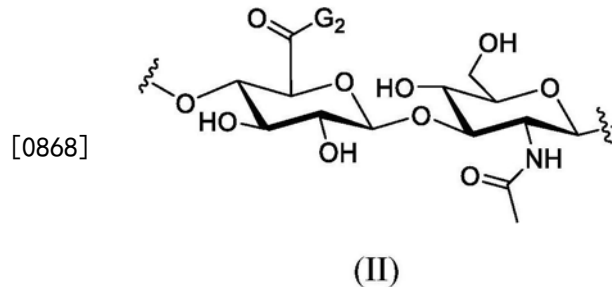
[0864] R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂

烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基；

[0865] R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1 - C_6 -烷基或 C_1 - C_6 -卤代烷基；并且t是0、1、2、3或4。

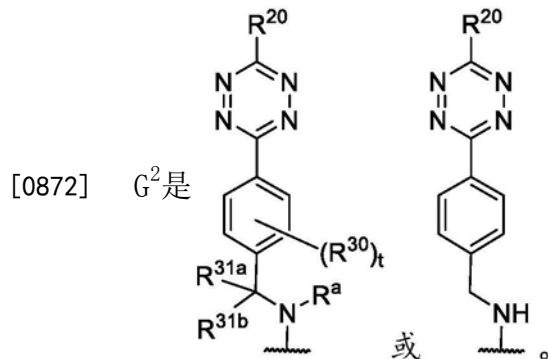
[0866] 条款A20.如条款A19所述的方法，其中该含四嗪的基团连接至或直接键合至透明质酸生物相容性支持体。

[0867] 条款A21.如条款A20所述的方法，其中该治疗性支持体组合物包含经取代的具有式(II)的透明质酸单元，

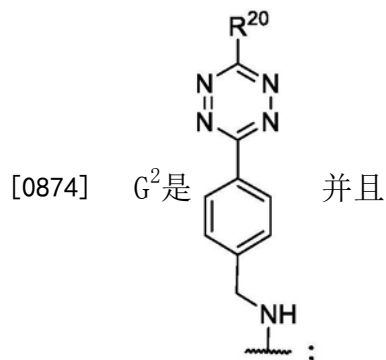


[0870] R^{22} 是1至100个连接原子的接头。

[0871] 条款A22.如条款A21所述的方法，其中：



[0873] 条款A23.如条款A21所述的方法，其中



[0875] R^{20} 是氢或 C_{1-4} 烷基。

[0876] 条款A24. 如条款A19-A23中任一项所述的方法, 其中该方法是治疗或预防癌症的方法。

[0877] 条款A25. 如条款A24所述的方法, 其中该癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤或胰腺癌。

[0878] 条款A26. 如条款A24或A25所述的方法, 其中该癌症是实体瘤。

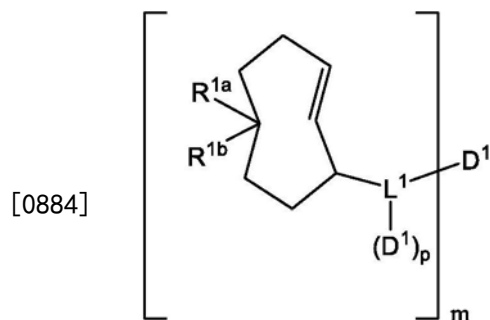
[0879] 条款A27. 如条款A24或A25所述的方法, 其中该癌症是软组织肉瘤。

[0880] 条款A28. 如条款A27所述的方法, 其中该软组织肉瘤是纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、或尤因肉瘤。

[0881] 条款A29. 如条款A19-A23中任一项所述的方法, 其中该方法是增强或引发免疫应答的方法。

[0882] 条款A30. 如条款A29所述的方法, 其中该免疫应答是白细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞的一种或多种的增加。

[0883] 条款A31. 如条款A19-A30中任一项所述的方法, 其进一步包括施用治疗有效量的另外的治疗剂, 该治疗剂选自由以下组成的组: 抗癌剂、免疫检查点抑制剂、或具有式 (I-B) 的化合物或其药学上可接受的盐,

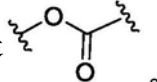


(I-B)

[0885] 其中

[0886] D^1 在每次出现时独立地是有效负载, 该有效负载选自抗癌药物有效负载、微生物免疫抑制药物有效负载、抗再狭窄药物有效负载、抗生素药物有效负载、抗真菌药物有效负载、抗病毒药物有效负载、抗炎药物/抗关节炎药物有效负载、皮质类固醇药物有效负载和免疫抑制剂药物有效负载; 并且

[0887] R^{1a} 、 R^{1b} 、 L^1 、 p 和 m 是如权利要求 1-11 中任一项所定义的。

[0888] 条款A32. 如条款A31所述的方法, 其中 p 是 0; m 是 1; 并且 $-L^1-$ 是 .

[0889] 条款A33. 如条款A31或A32所述的方法, 其中该抗癌药物是阿霉素。

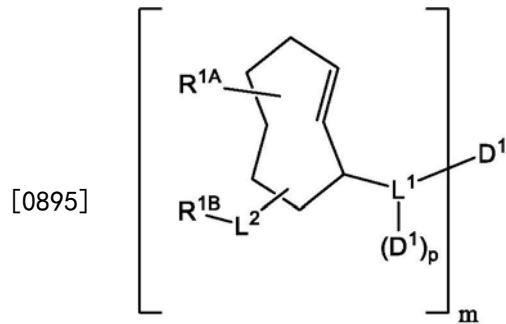
[0890] 条款A34. 一种试剂盒, 其包含如条款A1-A17中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐、或如条款A18所述的药物组合物、及其使用说明书。

[0891] 条款A35. 如条款A34所述的试剂盒, 其进一步包含如条款A19-A23中任一项所定义的治疗性支持体组合物。

[0892] 条款A36. 如条款A34或A35所述的试剂盒, 其进一步包含如条款A31-A33中任一项所定义的具有式 (I-B) 的化合物。

[0893] 条款B1. 一种治疗癌症或增强或引发免疫应答的方法, 该方法包括向有需要的受试者施用:

[0894] a) 治疗有效量的具有式 (II-A) 的化合物或其药学上可接受的盐,



(II-A)

[0896] 其中

[0897] R^{1A}在每次出现时独立地选自由C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基和C₁₋₄烷氧基组成的组;

[0898] R^{1B}在每次出现时独立地选自由以下组成的组: G¹、OH、-NR^{1c}-C₁₋₄亚烷基-G¹、-NR^{1c}-C₁₋₄亚烷基-N(R^{1d})₂、-N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H、-N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-CO₂H、-N(R^{1f})-C₂₋₄亚烷基-(N(C₁₋₄亚烷基-CO₂H)-C₂₋₄亚烷基)_n-N(C₁₋₄亚烷基-CO₂H)₂、-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC₁₋₆烷基、-N(R^{1c})-C₁₋₆亚烷基-C(O)OC₁₋₆烷基、和-N(R^{1f})-C₂₋₄亚烷基-(N(C₁₋₄亚烷基-C(O)OC₁₋₆烷基)-C₂₋₄亚烷基)_n-N(C₁₋₄亚烷基-C(O)OC₁₋₆烷基)₂;

[0899] R^{1c}和R^{1d}在每次出现时独立地是氢或C₁₋₄烷基;

[0900] R^{1e}在每次出现时独立地是-C₁₋₄亚烷基-CO₂H、-C₁₋₄亚烷基-CONH₂或-C₁₋₄亚烷基-OH;

[0901] R^{1f}在每次出现时独立地是氢、C₁₋₆烷基或C₁₋₄亚烷基-CO₂H;

[0902] D¹在每次出现时独立地是抗癌剂有效负载;

[0903] L¹在每次出现时独立地是接头;

[0904] L²在每次出现时独立地选自由-C(O)-和C₁₋₃亚烷基组成的组;

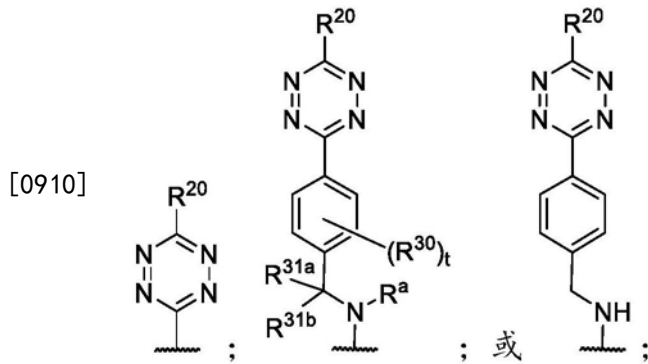
[0905] G¹在每次出现时独立地是任选地取代的杂环基;

[0906] m是1、2或3;

[0907] n在每次出现时独立地是0、1、2或3; 并且

[0908] p在每次出现时独立地是0、1或2;

[0909] b) 治疗性支持体组合物, 该治疗性支持体组合物包含支持体和具有下式的含四嗪的基团



[0911] 其中 R^{20} 选自由以下组成的组:氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR''R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR''R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR''R''$; R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基;并且 R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基; R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基;烯基、炔基、烷氧基;卤代烷氧基;杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基; R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -卤代烷基;并且 t 是0、1、2、3或4;

[0912] 其中该含四氮的基团连接至或直接键合至该支持体;并且

[0913] c) 治疗有效量的一种或多种免疫调节剂或其药学上可接受的盐。

[0914] 条款B2. 如条款B1所述的方法,其中该方法是增强或引发免疫应答的方法,其中a)、b)和c)的施用增强或引发针对受试者中的癌症的免疫应答。

[0915] 条款B3. 如条款B1或B2所述的方法,其中该免疫应答是一种或多种先天性和获得性免疫细胞和抗体的增加或减少,该一种或多种先天性和获得性免疫细胞包括但不限于白细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞。

[0916] 条款B4. 如条款B1所述的方法,其中该方法是治疗癌症的方法。

[0917] 条款B5. 如条款B1-B4中任一项所述的方法,其中该癌症是黑素瘤、肾癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、胶质瘤、肺癌、软组织癌、软组织肉瘤、骨肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌或胰腺癌。

[0918] 条款B6. 如条款B1-B5中任一项所述的方法,其中该癌症是实体瘤。

[0919] 条款B7. 如条款B1-B5中任一项所述的方法,其中该癌症是软组织肉瘤。

[0920] 条款B8. 如条款B7所述的方法,其中该软组织肉瘤是纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、或尤因肉瘤。

[0921] 条款B9. 如条款B1-B5中任一项所述的方法,其中该癌症是弥漫性内在脑桥胶质瘤。

[0922] 条款B10. 如条款B1-B9中任一项所述的方法,其进一步包括施用治疗有效量的免疫检查点抑制剂。

[0923] 条款B11. 如条款B1-B10中任一项所述的方法,其中该一种或多种免疫调节剂是toll样受体(TLR)激动剂。

[0924] 条款B12.如条款B11所述的方法,其中该to11样受体(TLR)激动剂是卡介苗(BCG)、脂多糖、肽聚糖、聚核糖肌苷酸-聚核糖胞苷酸(聚I:C)、咪喹莫特、科利毒素、聚腺苷酸-聚尿苷酸(聚A:U)、单磷酸脂质A、单链和双链RNA、或CpG寡脱氧核苷酸(ODN)。

[0925] 条款B13.如条款B1-B10中任一项所述的方法,其中该一种或多种免疫调节剂是干扰素基因刺激蛋白(STING)激动剂。

[0926] 条款B14.如条款B1-B10中任一项所述的方法,其中该一种或多种免疫调节剂是细胞因子、细胞因子抑制剂、细胞因子受体激动剂、或细胞因子受体拮抗剂。

[0927] 条款B15.如条款B1-B10中任一项所述的方法,其中该一种或多种免疫调节剂是趋化因子、趋化因子抑制剂、趋化因子受体激动剂、或趋化因子受体拮抗剂。

[0928] 条款B16.如条款B1-B15中任一项所述的方法,其中a)、b)和c)同时、单独或依次、和以任何顺序施用。

[0929] 条款B17.如条款B1-B16中任一项所述的方法,其中该一种或多种免疫调节剂与该治疗性支持体组合物同时施用。

[0930] 条款B18.如条款B16或B17所述的方法,其中该同时施用是通过共同注射、共同植入或共同配制。

[0931] 条款B19.如条款B1-B18中任一项所述的方法,其中

[0932] R^{1B} 选自自由 G^1 、OH、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- G^1 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 、和 $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$ 组成的组;

[0933] R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2CH_2CONH_2$ 、 $-CH_2OH$ 、或 $-CH(CH_3)OH$;并且

[0934] R^{1f} 是氢或 CH_2CO_2H 。

[0935] 条款B20.如条款B1-B18中任一项所述的方法,其中

[0936] R^{1A} 是 C_{1-4} 烷基;

[0937] R^{1B} 选自自由以下组成的组: G^1 、OH、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- G^1 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$ 、和 $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$;

[0938] R^{1e} 是 $-C_{1-4}$ 亚烷基- CO_2H ;

[0939] R^{1f} 是氢或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ;

[0940] G^1 是含有第一氮和任选地一个另外的选自氮、氧和硫的杂原子的4至8元单环的杂环基, G^1 附接在该第一氮处并且任选地被1-4个独立地选自自由 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤代、氰基、OH、 $-OC_{1-4}$ 烷基、和氧代组成的组的取代基取代;并且

[0941] n是0、1或2。

[0942] 条款B21.如条款B20所述的方法,其中

[0943] R^{1A} 是 CH_3 ;

[0944] R^{1e} 是 $-CH_2CO_2H$;

[0945] R^{1f} 是氢或 CH_2CO_2H ;并且

[0946] G^1 是哌嗪基、吗啉基、哌啶基、氮杂环庚烷基、或吡咯烷基, G^1 通过环氮原子附接并且任选地被1-4个独立地选自自由 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、卤代、氰基、OH、 $-OC_{1-4}$ 烷基、和氧代组成的组的取代基取代。

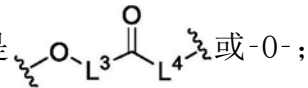
[0947] 条款B22.如条款B1-B21中任一项所述的方法,其中 L^2 是 $-C(O)-$ 。

[0948] 条款B23.如条款B22所述的方法,其中

[0949] R^{1B} 选自OH、N(H)CH₂CO₂H、-N(H)CHR^{1e}CO₂H、-N(H)-CH₂CH₂-(N(CH₂CO₂H)CH₂CH₂)_n-N(CH₂CO₂H)₂、和-N(CH₂CO₂H)-CH₂CH₂-N(CH₂CO₂H)₂组成的组；并且

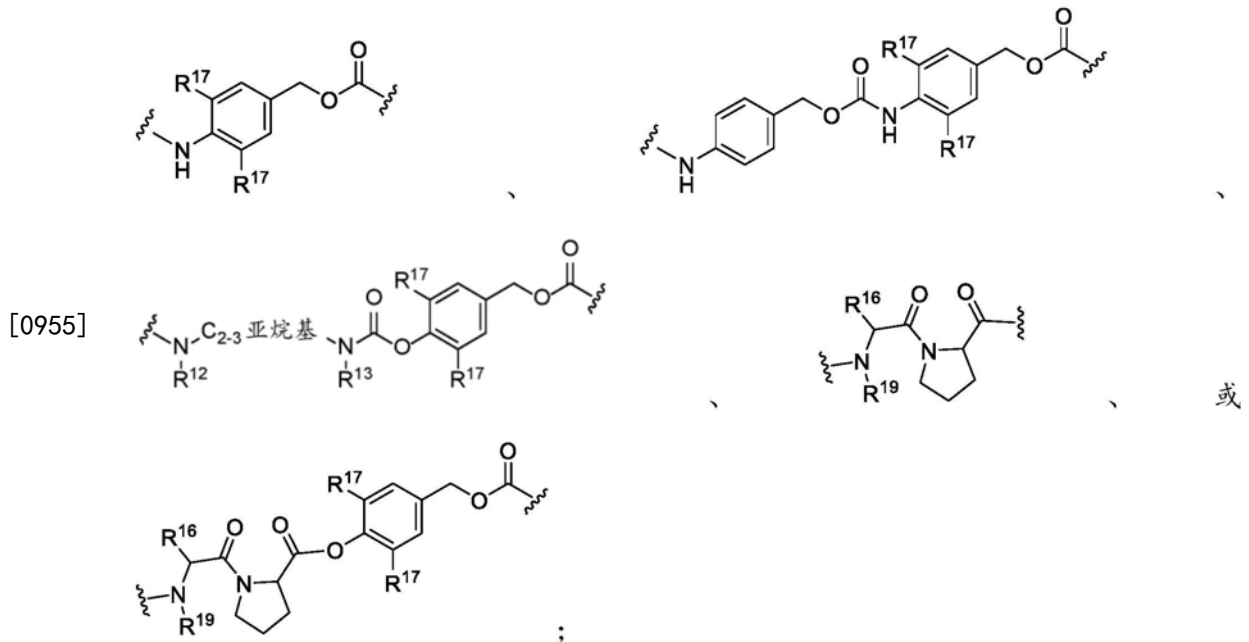
[0950] R^{1e} 是-CH₂CO₂H。

[0951] 条款B24. 如条款B1-B23中任一项所述的方法，其中：

[0952] L^1 是  或 -O-；

[0953] L^3 是键或C₁₋₆亚烷基；

[0954] L^4 是键、-NHN:、-N(R¹⁰)-C₂₋₆亚烷基-N(R¹¹)-、-N(R¹²)-C₂₋₃亚烷基-N(R¹³)C(O)-、-N(R¹⁰)-C₁₋₆亚烷基-C(O)NHN:、-NHNHC(O)C₁₋₆亚烷基-C(O)NHN:、-CH(NHC(O)R¹⁴)C₁₋₄亚烷基-S-S-C₁₋₄亚烷基-OC(O)-、-NHNHC(O)CH(NHC(O)R¹⁵)CH₂C(O)-、-C₁₋₆亚烷基-CH(G^x)OC(O)-、



[0956] R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、和 R^{19} 各自独立地是氢或C₁₋₄烷基；

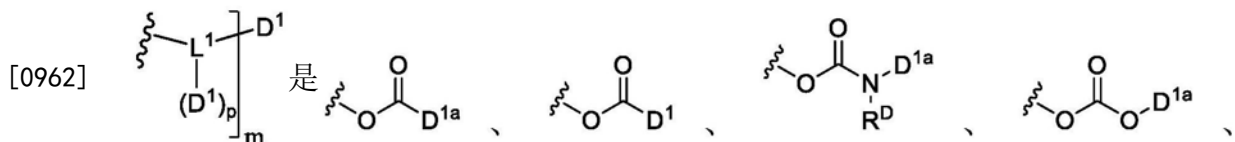
[0957] R^{16} 是氢、C₁₋₄烷基、-C₁₋₄亚烷基-OH、-C₁₋₄亚烷基-OC₁₋₄烷基、-C₁₋₄亚烷基-CO₂H、或-C₁₋₄亚烷基-CONH₂；

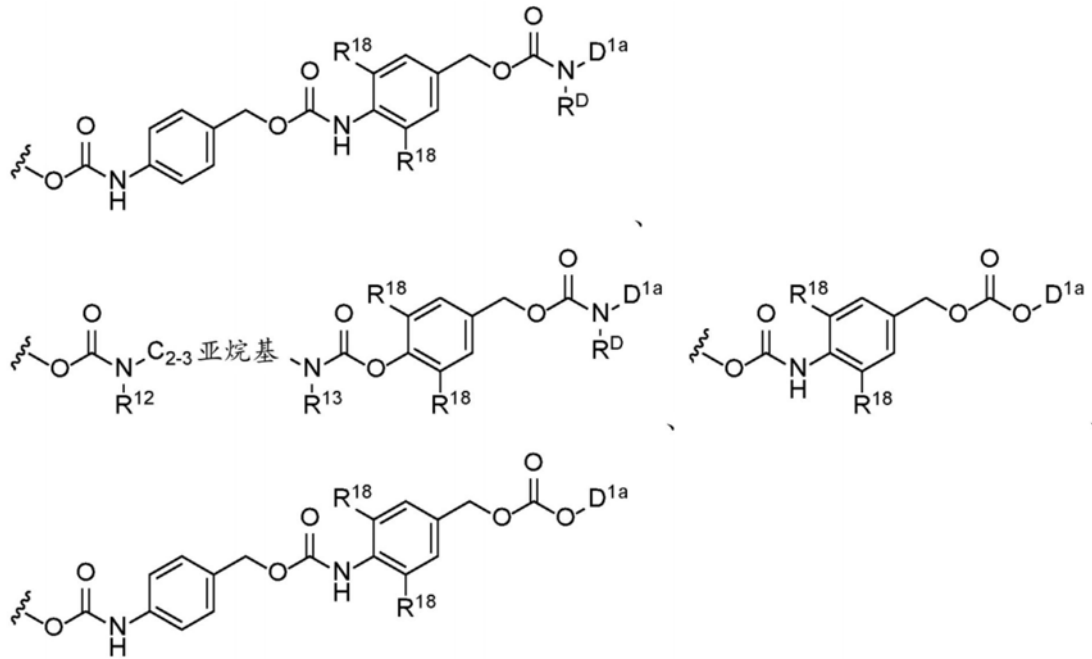
[0958] R^{17} 在每次出现时独立地是氢或-CH₂OC(O)-；并且

[0959] G^x 是任选地被1-5个独立地选自下组的取代基取代的苯基，该组由卤素、C₁₋₄烷基、C₁₋₄卤代烷基、C₁₋₄烷氧基、氰基、和硝基组成。

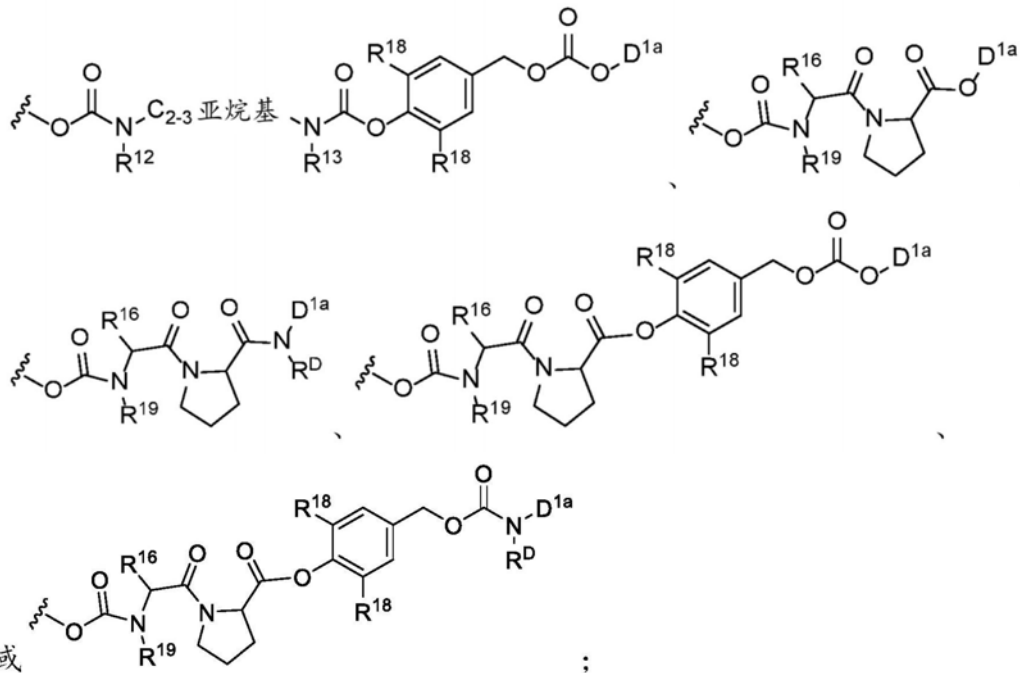
[0960] 条款B25. 如条款B1-B24中任一项所述的方法，其中m是1。

[0961] 条款B26. 如条款B25所述的方法，其中：





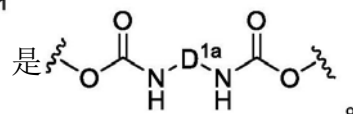
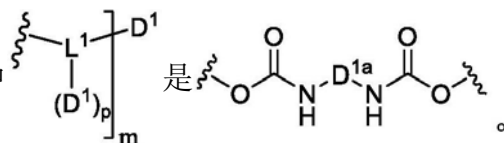
[0963]

[0964] R¹⁸在每次出现时独立地是氢或-CH₂OC(O)NHD^{1a};[0965] R^D是有效负载的氮原子上的氢或C₁₋₄烷基;并且[0966] D^{1a}是有效负载部分。

[0967] 条款B27. 如条款B1-B26中任一项所述的方法,其中p是0。

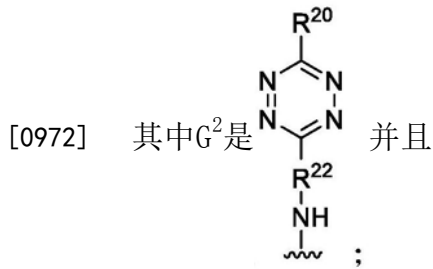
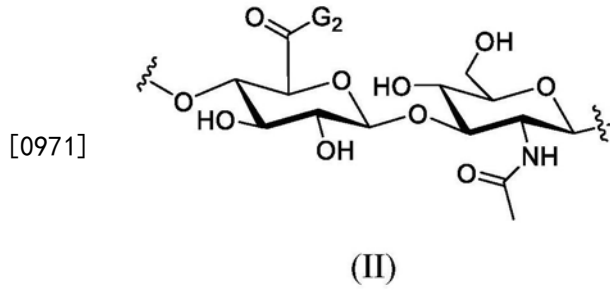
[0968] 条款B28. 如条款B27所述的方法,其中m是2或3。

[0969] 条款B29. 如条款B28所述的方法,其中



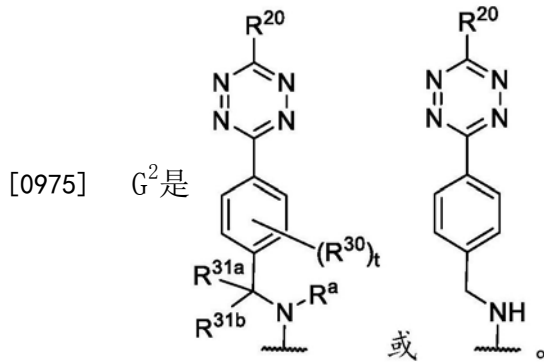
[0970] 条款B30. 如条款B1-B29中任一项所述的方法,其中该治疗性支持体组合物包含经

取代的具有式 (II) 的透明质酸单元，

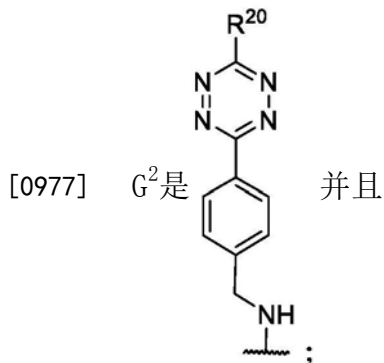


[0973] R^{22} 是 1 至 100 个连接原子的接头。

[0974] 条款 B31. 如条款 B30 所述的方法, 其中:



[0976] 条款 B32. 如条款 B31 所述的方法, 其中



[0978] R^{20} 是氢或 C_{1-4} 烷基。

[0979] 条款 B33. 一种试剂盒, 其包含

[0980] a) 如条款 B1 或 B19-B29 中任一项所述的具有式 (I-A) 的化合物、或其药学上可接受的盐或组合物;

[0981] b) 一种或多种免疫调节剂、或其药学上可接受的盐或组合物; 和

[0982] c) 使用说明书。

[0983] 条款 B34. 如条款 B33 所述的试剂盒, 其进一步包含如条款 B1 或 B30-B32 中任一项所

述的治疗性支持体组合物。

[0984] 条款B35. 一种试剂盒, 其包含

[0985] a) 如条款B1或B30-B32中任一项所述的治疗性支持体组合物;

[0986] b) 一种或多种免疫调节剂、或其药学上可接受的盐或组合物; 和

[0987] c) 使用说明书。

[0988] 条款B36. 一种药物组合物, 其包含

[0989] a) 如条款B1或B19-B29中任一项所述的具有式 (I-A) 的化合物、或其药学上可接受的盐;

[0990] b) 一种或多种免疫调节剂、或其药学上可接受的盐; 和

[0991] c) 药学上可接受的载剂。

[0992] 条款B37. 一种药物组合物, 其包含

[0993] a) 如条款B1或B30-B32中任一项所述的治疗性支持体组合物;

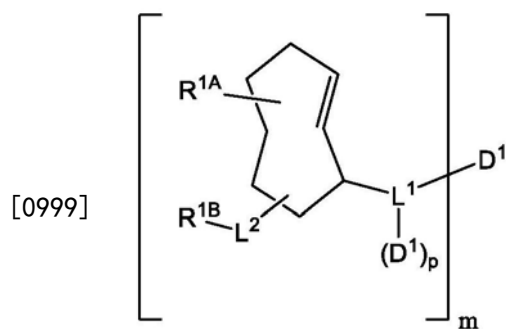
[0994] b) 一种或多种免疫调节剂、或其药学上可接受的盐; 和

[0995] c) 药学上可接受的载剂。

[0996] 条款B38. 如任一前述权利要求所述的方法、组合物或试剂盒, 其中该支持体是多糖水凝胶、藻酸盐、琼脂糖、纤维素、透明质酸、壳聚糖、壳多糖、硫酸软骨素、硫酸乙酰肝素、肝素、明胶、胶原、聚合物基质、金属、陶瓷、或塑料, 其中每一种均可任选地被修饰。

[0997] 条款C1. 一种治疗癌症的方法, 其包括:

[0998] a) 向有需要的受试者施用治疗有效量的具有式 (II-A) 的化合物、或其药学上可接受的盐,



(II-A)

[1000] 其中

[1001] R^{1A} 选自由 C_{1-4} 烷基、 C_{1-4} 卤代烷基、和 C_{1-4} 烷氧基组成的组;

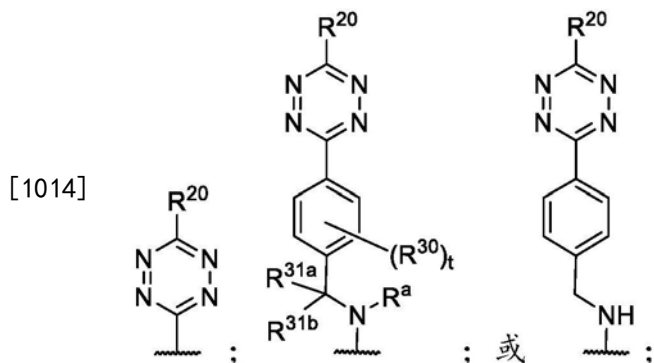
[1002] R^{1B} 选自由以下组成的组: G^1 、 OH 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- G^1 、 $-NR^{1c}-C_{1-4}$ 亚烷基- $N(R^{1d})_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$ 、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- CO_2H 、 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 亚烷基- $(N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)-C_{2-4}$ 亚烷基) $_n$ 、 $-N(C_{1-4}$ 亚烷基- $CO_2H)_2$ 、 $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)OC_{1-6}$ 烷基、 $-N(R^{1c})-C_{1-6}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基、和 $-N(R^{1f})-C_{2-4}$ 亚烷基- $(N(C_{1-4}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基)- C_{2-4} 亚烷基) $_n$ 、 $-N(C_{1-4}$ 亚烷基- $C(O)OC_{1-6}$ 烷基) $_2$;

[1003] R^{1c} 和 R^{1d} 在每次出现时独立地是氢或 C_{1-4} 烷基;

[1004] R^{1e} 是 $-C_{1-4}$ 亚烷基- CO_2H 、 $-C_{1-4}$ 亚烷基- $CONH_2$ 、或 $-C_{1-4}$ 亚烷基- OH ;

[1005] R^{1f} 是氢、 C_{1-6} 烷基、或 C_{1-4} 亚烷基- CO_2H ;

- [1006] D^1 在每次出现时独立地是有效负载；
 [1007] $-L^1-$ 是接头；
 [1008] $-L^2-$ 选自自由 $-C(O)-$ 和 C_{1-3} 亚烷基组成的组；
 [1009] G^1 是任选地取代的杂环基；
 [1010] m 是1、2或3；
 [1011] n 是0、1、2或3；并且
 [1012] p 是0、1或2；并且
 [1013] b) 在受试者的第一肿瘤处局部施用治疗性支持体组合物，该治疗性支持体组合物包含支持体和具有下式的含四嗪的基团



- [1015] 其中 R^{20} 选自自由以下组成的组：氢、卤素、氰基、硝基、烷基、烯基、炔基、杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基、环烯基、 CF_3 、 CF_2-R' 、 NO_2 、 OR' 、 SR' 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=S)R'$ 、 $OC(=O)R''$ 、 $SC(=O)R''$ 、 $OC(=S)R''$ 、 $SC(=S)R''$ 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R''$ 、 $S(=O)_2NR'R''$ 、 $C(=O)O-R'$ 、 $C(=O)S-R'$ 、 $C(=S)O-R'$ 、 $C(=S)S-R'$ 、 $C(=O)NR'R''$ 、 $C(=S)NR'R''$ 、 $NR'R''$ 、 $NR'C(=O)R''$ 、 $NR'C(=S)R''$ 、 $NR'C(=O)OR''$ 、 $NR'C(=S)OR''$ 、 $NR'C(=O)SR''$ 、 $NR'C(=S)SR''$ 、 $OC(=O)NR'R''$ 、 $SC(=O)NR'R''$ 、 $OC(=S)R'R''$ 、 $SC(=S)R'R''$ 、 $NR'C(=O)NR'R''$ 、以及 $NR'C(=S)NR'R''$ ； R' 和 R'' 在每次出现时独立地选自氢、芳基和烷基；并且 R'' 在每次出现时独立地选自芳基和烷基； R^{30} 是卤素、氰基、硝基、羟基、烷基、卤代烷基；烯基、炔基、烷氧基；卤代烷氧基；杂烷基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基或环烯基； R^a 、 R^{31a} 和 R^{31b} 各自独立地是氢、 C_1-C_6 -烷基或 C_1-C_6 -卤代烷基；并且 t 是0、1、2、3或4；

- [1016] 其中该含四嗪的基团连接至或直接键合至该支持体；
 [1017] 其中该受试者患有第二肿瘤并且a)的施用和b)的施用抑制了该第二肿瘤的生长。
 [1018] 条款C2. 一种在受试者中增强或引发针对第二肿瘤的免疫应答的方法，该方法包括
 [1019] a) 向该受试者施用具有式(I-A)的化合物或其药学上可接受的盐；并且
 [1020] b) 向该受试者在第一肿瘤处局部施用治疗性支持体组合物；
 [1021] 其中该具有式(I-A)的化合物和该治疗性支持体组合物是如在条款C1中所定义的；
 [1022] 其中a)的施用和b)的施用增强或引发了针对该第二肿瘤的免疫应答。
 [1023] 条款C3. 如条款C1或C2所述的方法，其中该治疗性支持体组合物不在该第二肿瘤处局部施用。
 [1024] 条款C4. 一种在处于肿瘤转移风险中的受试者中抑制肿瘤转移的方法，该方法包

括

- [1025] a) 向该受试者施用具有式 (I-A) 的化合物或其药学上可接受的盐; 并且
- [1026] b) 向该受试者在第一肿瘤处局部施用治疗性支持体组合物;
- [1027] 其中该具有式 (I-A) 的化合物和该治疗性支持体组合物是如在条款C1中所定义的。
- [1028] 条款C5. 如条款C4所述的方法, 其中a) 的施用和b) 的施用增强或引发抑制该转移的免疫应答。
- [1029] 条款C6. 如条款C5或C6所述的方法, 其中该抑制肿瘤转移包括抑制该受试者的第二肿瘤的发展。
- [1030] 条款C7. 如条款C4-C6中任一项所述的方法, 其进一步包括鉴定处于肿瘤转移风险中的受试者。
- [1031] 条款C8. 如条款C4-C7中任一项所述的方法, 其进一步包括选择处于肿瘤转移风险中的受试者。
- [1032] 条款C9. 如条款C4-C8中任一项所述的方法, 其中该处于转移风险中的受试者患有第一肿瘤, 该第一肿瘤表征为II-III期或更晚期的实体瘤、或高级别肿瘤。
- [1033] 条款C10. 如条款C4-C9中任一项所述的方法, 其中第一肿瘤细胞从该第一肿瘤分离。
- [1034] 条款C11. 如条款C10所述的方法, 其中该第一肿瘤细胞存在于该第一肿瘤周围的组织中, 存在于肿瘤细胞-血小板聚集体中, 存在于该受试者的体循环中, 和/或存在于该受试者的第二组织位置处。
- [1035] 条款C12. 如条款C1-C11中任一项所述的方法, 其中该受试者显示出肿瘤转移的生物标志物。
- [1036] 条款C13. 如条款C12所述的方法, 其中该生物标志物是CCR7、CXCR4、E-钙粘蛋白、EpCAM、VCAM1、整联蛋白- α 10、N-钙粘蛋白、波形蛋白、纤连蛋白中的一种或多种。
- [1037] 条款C14. 如条款C1-C13中任一项所述的方法, 其进一步包括施用治疗有效量的一种或多种免疫调节剂。
- [1038] 条款C15. 如条款C14所述的方法, 其中该一种或多种免疫调节剂是免疫检查点抑制剂、toll样受体 (TLR) 激动剂、干扰素基因刺激蛋白 (STING) 激动剂、细胞因子、细胞因子抑制剂、细胞因子受体激动剂、细胞因子受体拮抗剂、趋化因子、趋化因子抑制剂、趋化因子受体激动剂、或趋化因子受体拮抗剂中的一种或多种。
- [1039] 条款C16. 如条款C14或C15所述的方法, 其中该一种或多种免疫调节剂包含一种或多种选自以下组成的组的TLR激动剂: 卡介苗 (BCG)、脂多糖、肽聚糖、聚核糖肌苷酸-聚核糖胞苷酸 (聚I:C)、咪喹莫特、科利毒素、聚腺苷酸-聚尿苷酸 (聚A:U)、单磷酸脂质A、单链和双链RNA、或CpG寡脱氧核苷酸 (ODN)。
- [1040] 条款C17. 如条款C1-C16中任一项所述的方法, 其中施用a)、b) 和/或一种或多种免疫调节剂c) 是同时的、单独的或依次的、和以任何顺序的。
- [1041] 条款C18. 如条款C14-C17中任一项所述的方法, 该一种或多种免疫调节剂与该治疗性支持体组合物同时施用。
- [1042] 条款C19. 如条款C17或C18所述的方法, 其中该同时施用是通过共同注射、共同植

入或共同配制。

[1043] 条款C20. 如条款C2-C3或C5-C19中任一项所述的方法, 其中该免疫应答是先天性和获得性免疫细胞中的一种或多种的增加或减少。

[1044] 条款C21. 如条款C2-C3或C5-C19中任一项所述的方法, 其中该免疫应答是白细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、和抗体中的一种或多种的增加或减少。

[1045] 条款C22. 如条款C2-C3或C5-C19中任一项所述的方法, 其中该免疫应答是在该第一肿瘤和/或第二肿瘤中CD3、CD4、CD8、和/或PD-1阳性肿瘤浸润淋巴细胞的增加。

[1046] 条款C23. 如条款C2-C3或C5-C19中任一项所述的方法, 其中该免疫应答是该第一肿瘤和/或第二肿瘤中调节性T细胞的减少。

[1047] 条款C24. 如条款C1-C23中任一项所述的方法, 其中该支持体是多糖水凝胶、藻酸盐、琼脂糖、纤维素、透明质酸、壳聚糖、壳多糖、硫酸软骨素、硫酸乙酰肝素、肝素、明胶、胶原、聚合物基质、金属、陶瓷、或塑料, 其中每一种均可任选地被修饰。

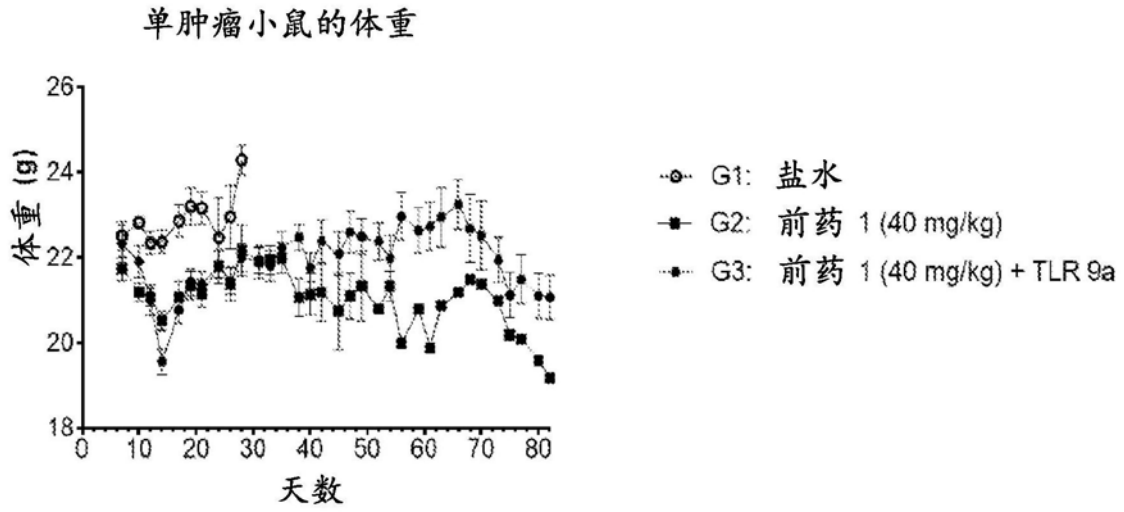


图1A

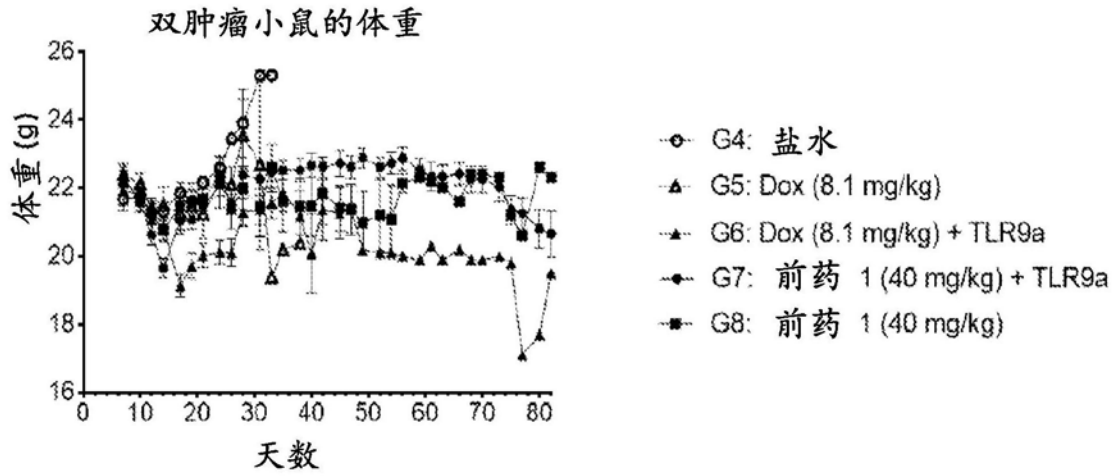


图1B

单肿瘤小鼠中的经注射的肿瘤的生长

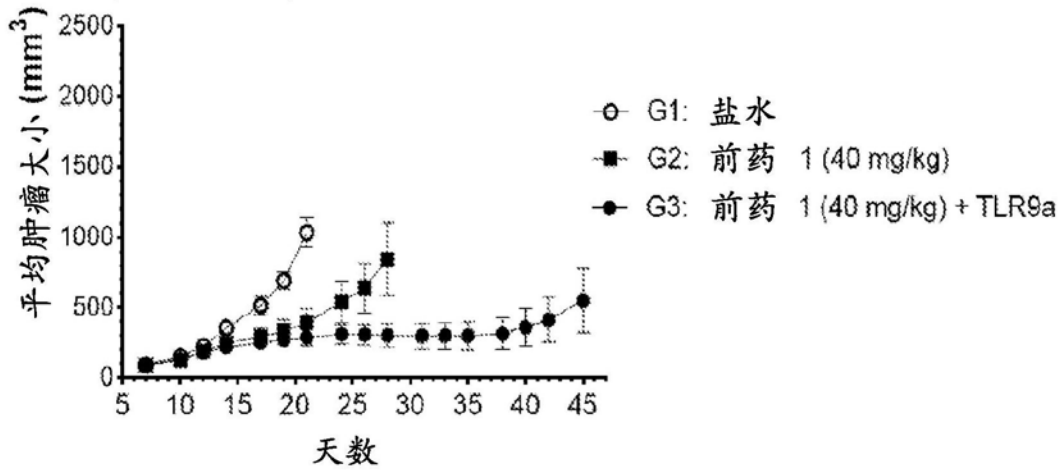


图2A

双肿瘤小鼠中的经注射的肿瘤的生长

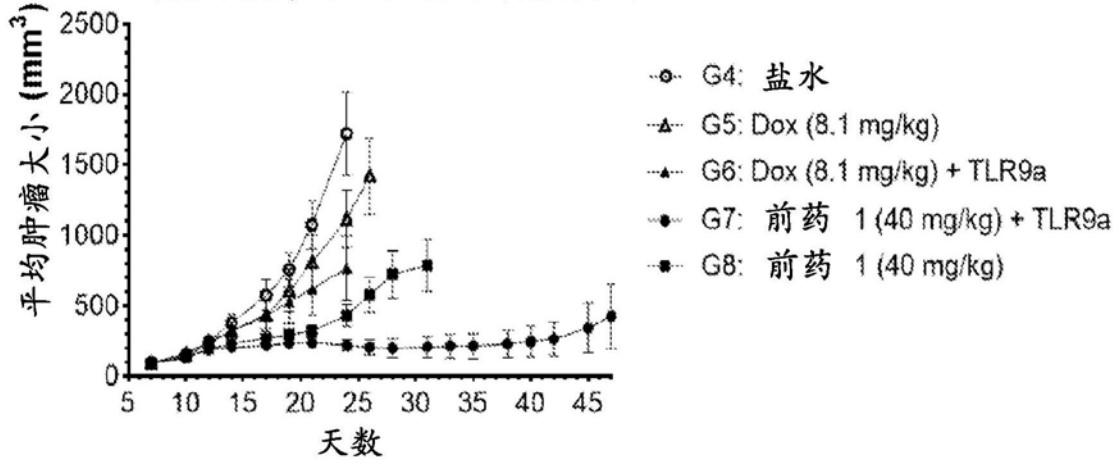


图2B

单肿瘤小鼠中的经注射的肿瘤的生长

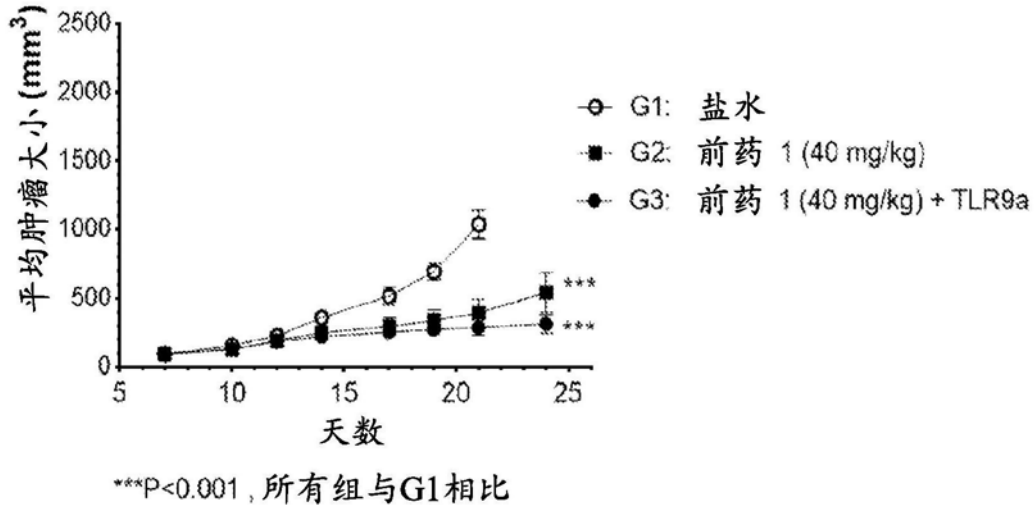


图3A

双肿瘤小鼠中的经注射的肿瘤的生长

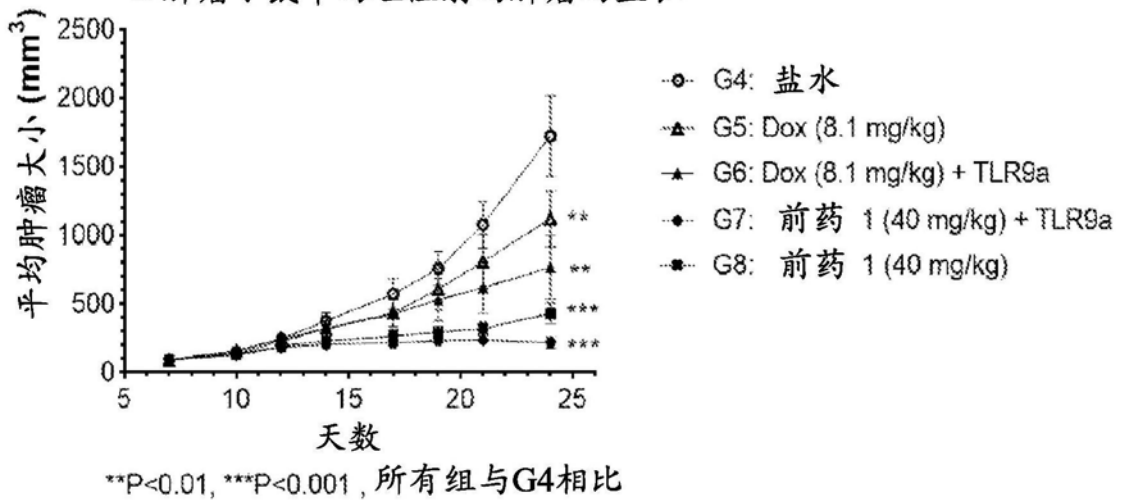


图3B

双肿瘤小鼠中的未注射的肿瘤的生长

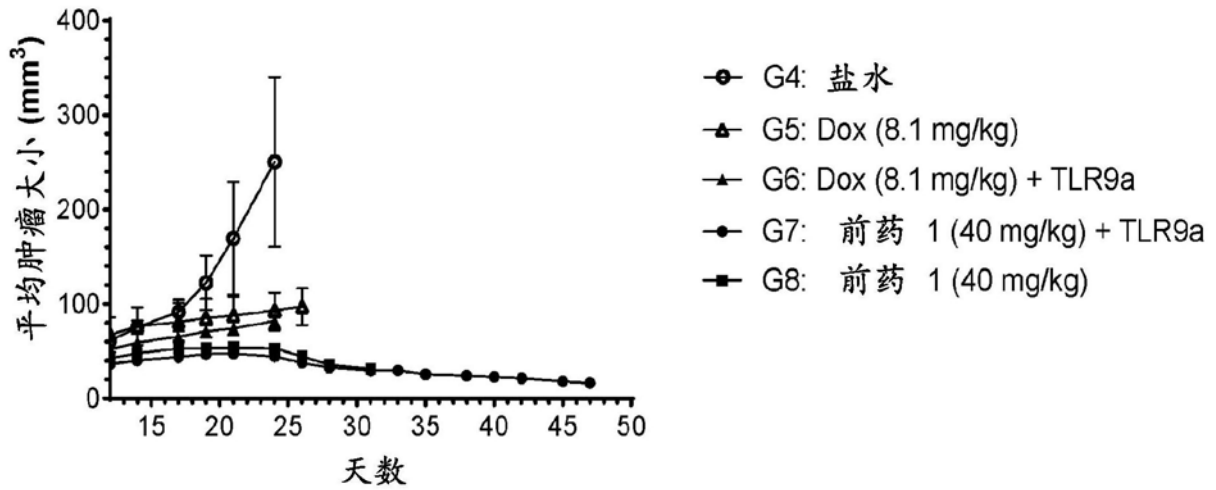


图4

双肿瘤小鼠中的未注射的肿瘤的生长

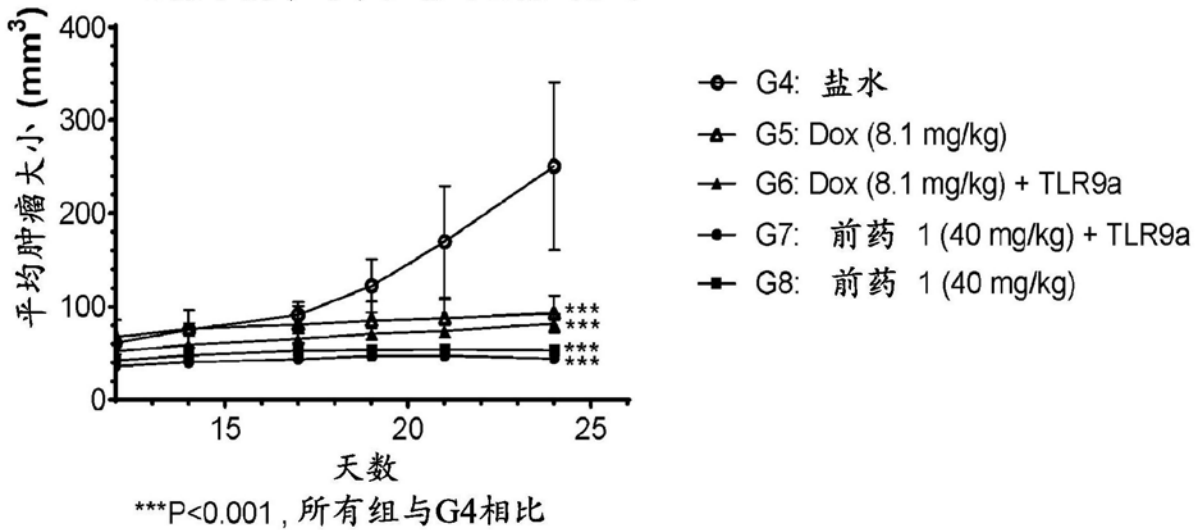


图5

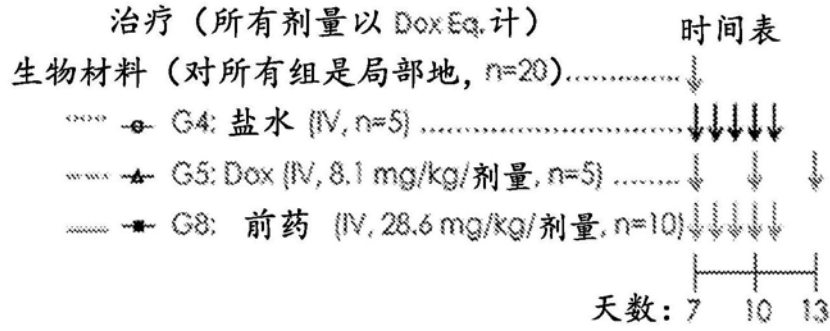


图6A

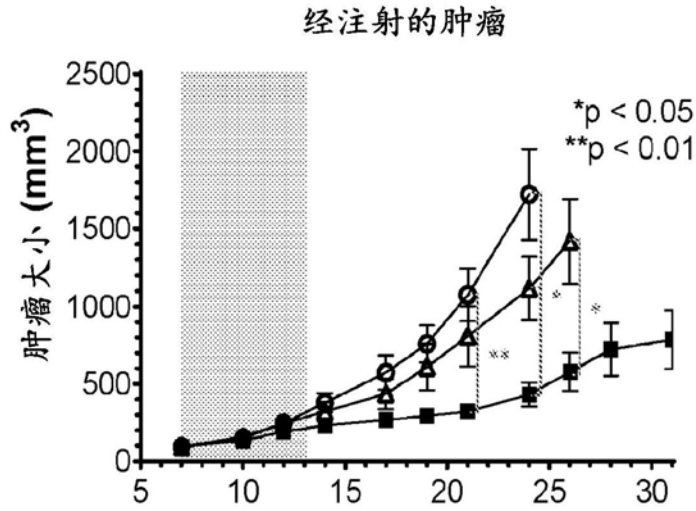


图6B

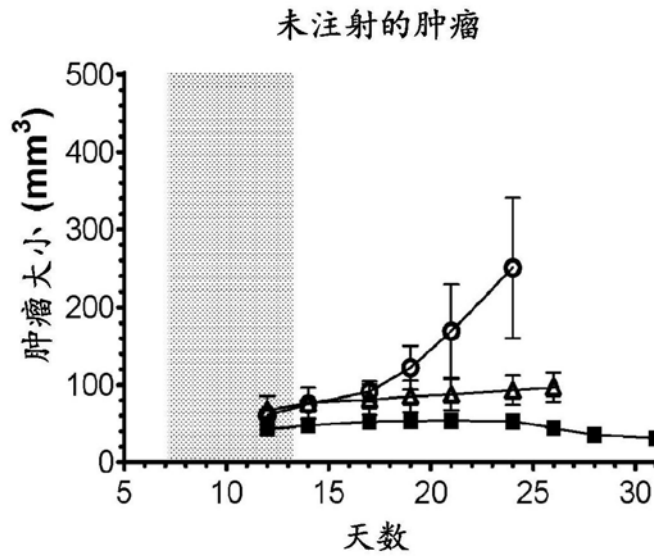


图6C

卡普兰梅耶 (Kaplan-Meier) 存活曲线

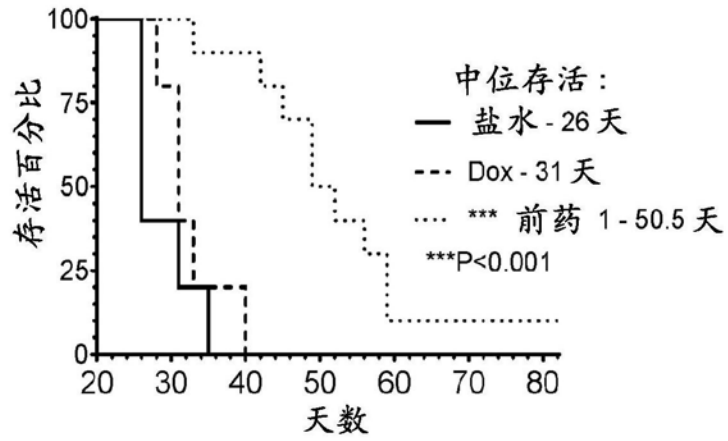


图6D

用前药1治疗的双肿瘤小鼠的未注射的肿瘤

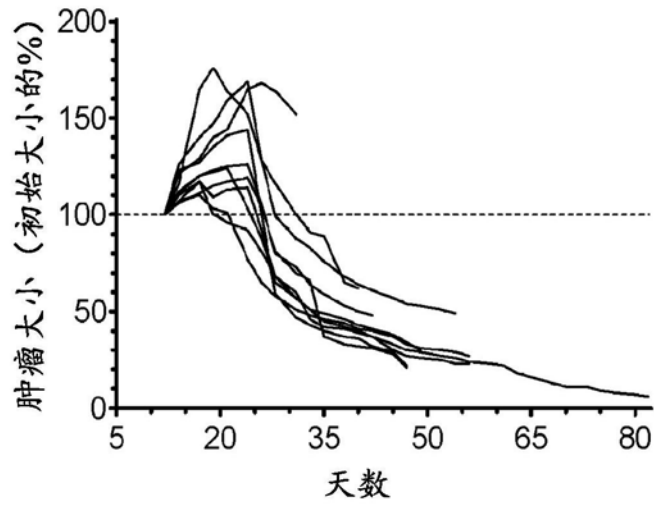


图7A

用阿霉素治疗的双肿瘤小鼠的未注射的肿瘤

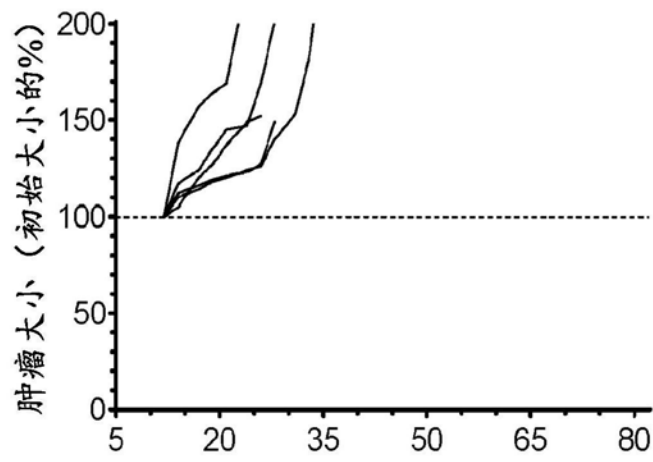


图7B

用盐水治疗的双肿瘤小鼠的未注射的肿瘤

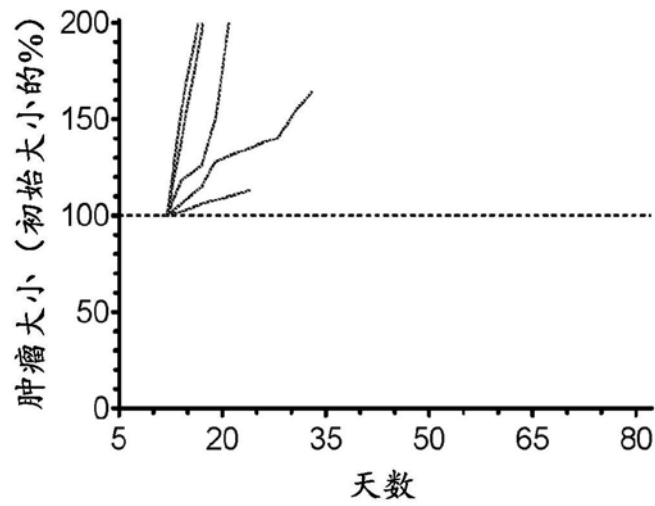


图7C

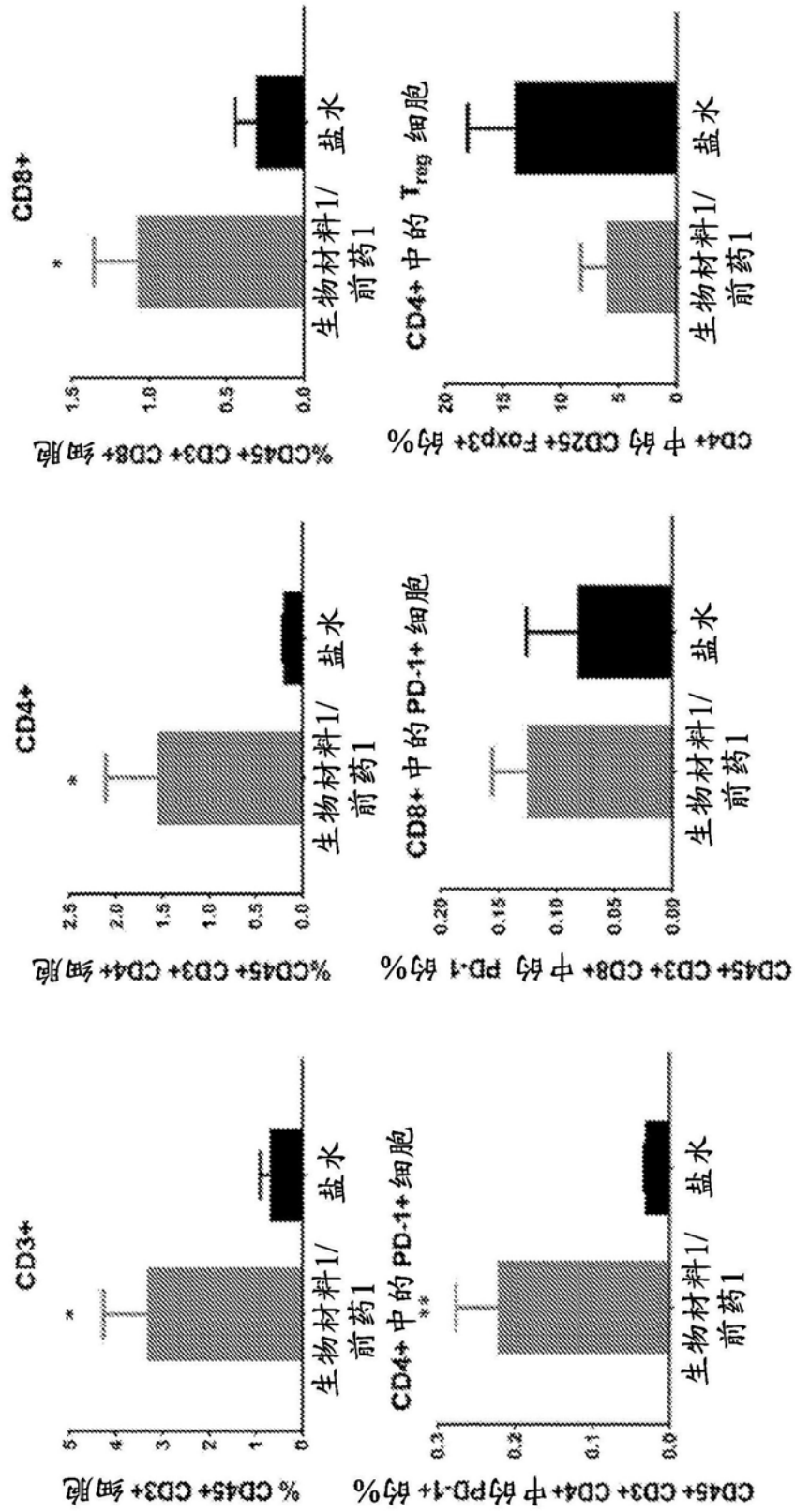


图8

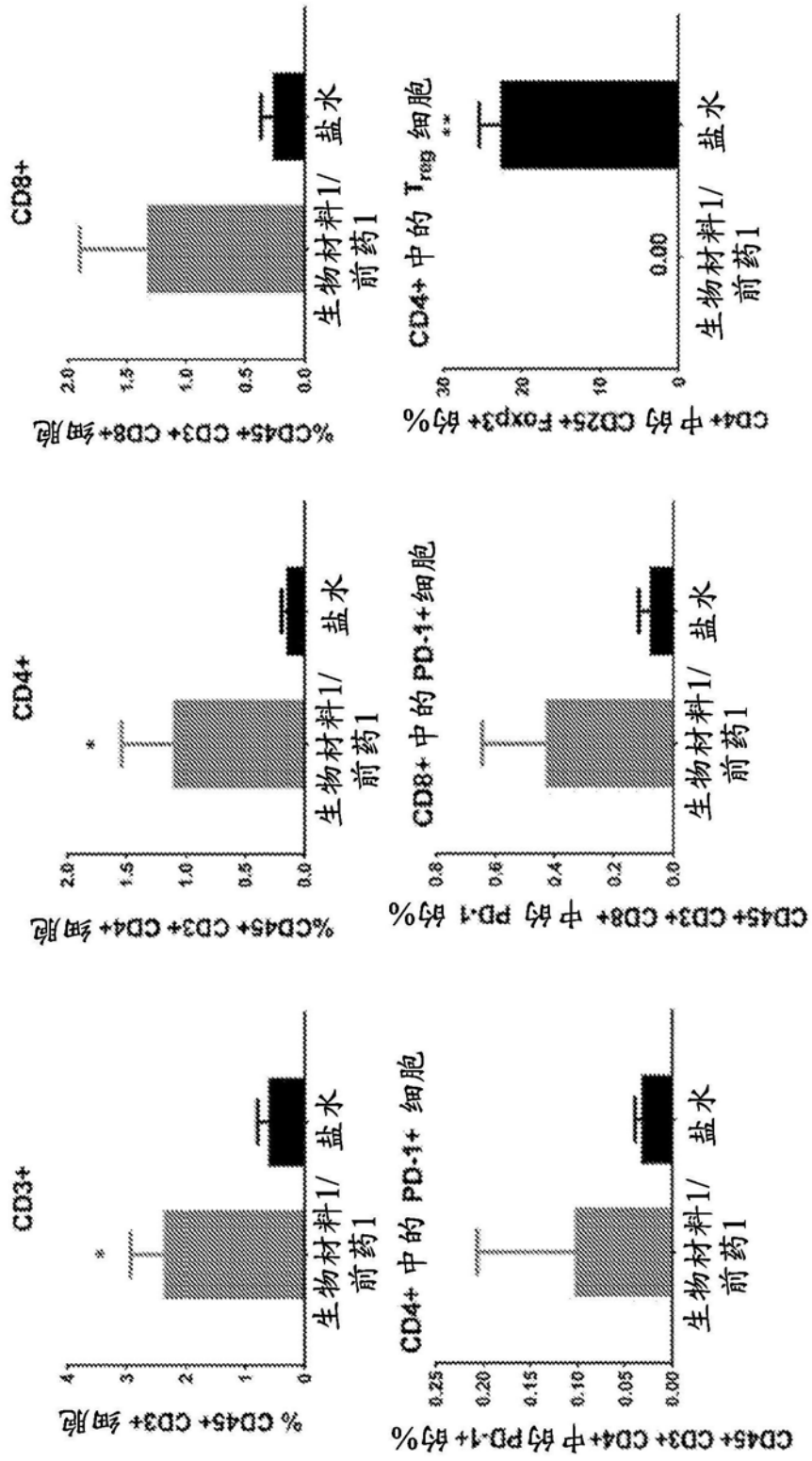
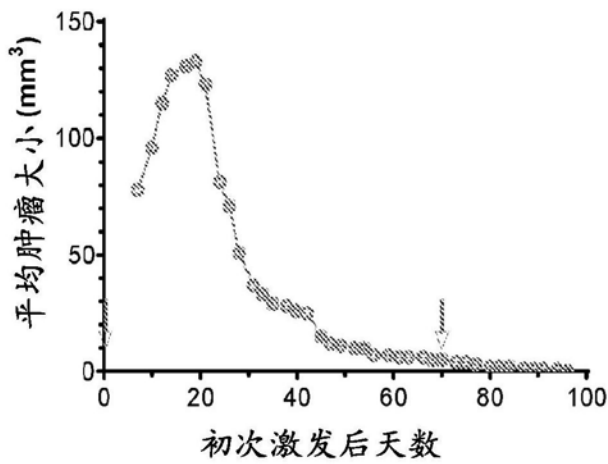


图6

初次激发中的完全应答



治疗:

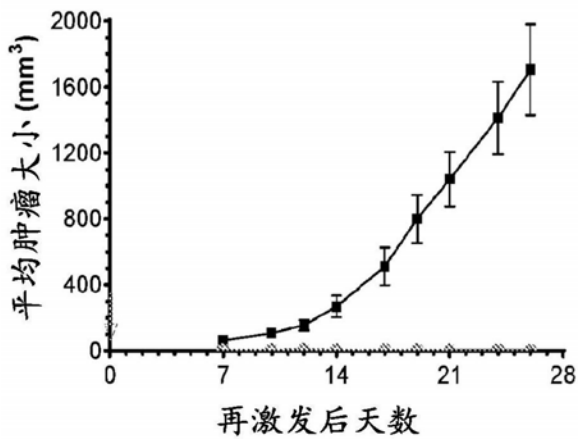
↓ 肿瘤接种

○ 用前药1/生物材料1*治疗的小鼠 (n=1)

* 在第1个周期中 143 mg/kg/周期 Dox Eq
在第2个周期中 59.3 mg/kg/周期 Dox Eq

图10A

在再激发中持续的抗肿瘤应答



治疗:

↓ 肿瘤接种

○ 先前用前药1/生物材料1*治疗的小鼠 (n=1)

■ 首次接受试验的小鼠 (n=5)

* 在第1个周期中 143 mg/kg/周期 Dox Eq
在第2个周期中 59.3 mg/kg/周期 Dox Eq

图10B

卡普兰梅耶 (Kaplan-Meier) 存活曲线

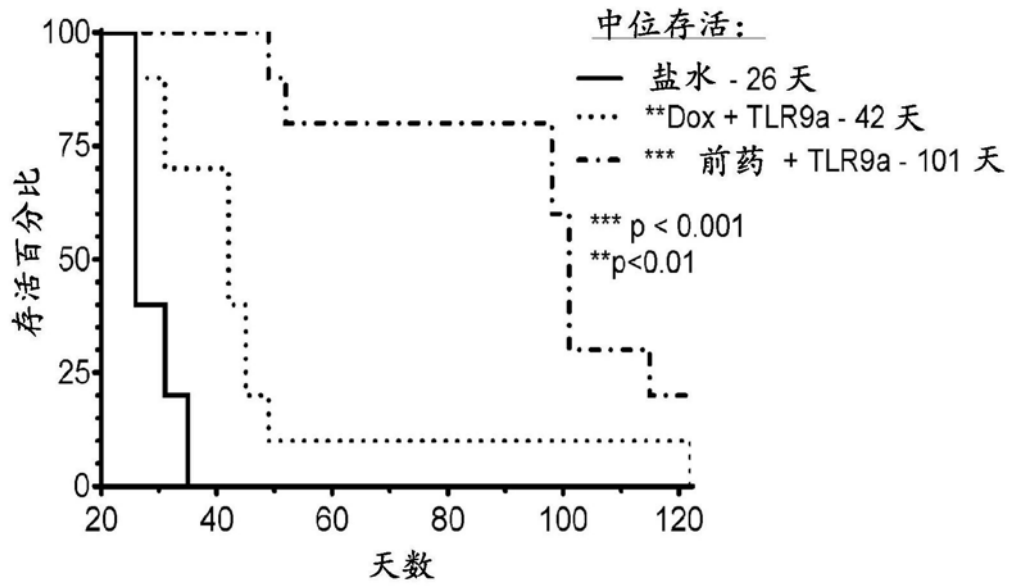


图11