



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118286450 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 05

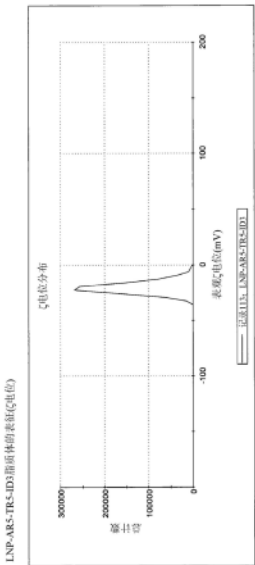
(21) 申请号	202410504623.6	A61K 31/47 (2006.01)
(22) 申请日	2020.11.12	A61K 47/69 (2017.01)
(30) 优先权数据		A61K 31/56 (2006.01)
	62/974,086 2019.11.12 US	A61K 45/06 (2006.01)
(62) 分案原申请数据		A61K 31/136 (2006.01)
	202080084835.3 2020.11.12	A61K 31/704 (2006.01)
		A61P 35/00 (2006.01)
(71) 申请人	纳米医疗有限公司	
地址	美国加利福尼亚州	
(72) 发明人	D·斯托弗 D·巴拉利	
	B·A·哈伊 T·萨法伊	
(74) 专利代理机构	北京律盟知识产权代理有限	
	责任公司 11287	
专利代理师	范海云	
(51) Int. Cl.		
	A61K 47/54 (2017.01)	
		权利要求书1页 说明书42页 附图28页

(54) 发明名称

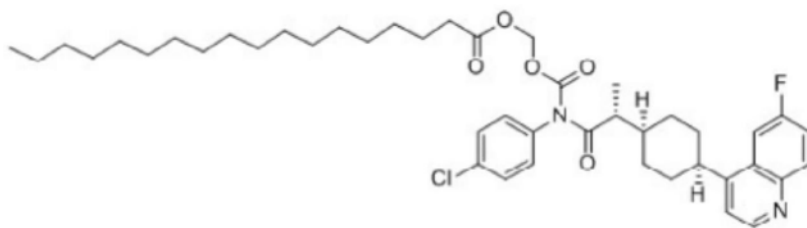
用于治疗癌症的含有IDO拮抗剂前药的调配的和/或共同调配的脂质体组合物及其方法

(57) 摘要

本申请涉及用于治疗癌症的含有IDO拮抗剂前药的调配的和/或共同调配的脂质体组合物及其方法。本文公开了包括IDO前药的调配的和/或共同调配的脂质体以及制备所述脂质体的方法。所述IDO前药组合物包括抑制IDO-1的药物部分、脂质部分和连接单元。所述IDO前药可被调配和/或共同调配成脂质体以提供一种通过利用靶向药物递送载体治疗癌症、免疫病症和其它疾病的方法。



1. 一种纳米载体在制备用于治疗患有或被诊断患有癌症的受试者的药物中的用途,其中所述纳米载体包括IDO前药组合物,其中所述IDO前药具有以下化学结构:



或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述纳米载体为脂质体(LNP)。
3. 根据权利要求1所述的用途,其中所述纳米载体为固体脂质纳米颗粒(SLNP)。
4. 根据权利要求2所述的用途,其中所述脂质体进一步包括 α -半乳糖基神经酰胺(α -GalCer)。
5. 根据权利要求2所述的用途,其中所述脂质体进一步包括替拉莫德。
6. 根据权利要求2所述的用途,其中所述脂质体进一步包括A2a受体抑制剂。
7. 根据权利要求6所述的用途,其中所述脂质体包括91nm的Zav大小,并且其中所述脂质体包括0.212的PDI。
8. 根据权利要求5所述的用途,其中所述脂质体包括96nm的Zav大小,并且其中所述脂质体包括0.117的PDI。
9. 根据权利要求4所述的用途,其中所述脂质体包括80nm的Zav大小,并且其中所述脂质体包括0.189的PDI。
10. 根据权利要求3所述的用途,其中所述固体脂质纳米颗粒进一步包括A2a受体抑制剂。
11. 根据权利要求3所述的用途,其中所述固体脂质纳米颗粒进一步包括替拉莫德。
12. 根据权利要求3所述的用途,其中所述固体脂质纳米颗粒进一步包括 α -半乳糖基神经酰胺(α -GalCer)。
13. 根据权利要求10所述的用途,其中所述固体脂质纳米颗粒包括106nm的Zav大小,并且其中所述固体脂质纳米颗粒包括0.171的PDI。
14. 根据权利要求2所述的用途,其中所述脂质体进一步包括多柔比星(DOX)。
15. 根据权利要求2所述的用途,其中所述脂质体进一步包括米托蒽醌(MTO)。
16. 根据权利要求3所述的用途,其中所述固体脂质纳米颗粒进一步包括多柔比星(DOX)。
17. 根据权利要求3所述的用途,其中所述固体脂质纳米颗粒进一步包括米托蒽醌(MTO)。
18. 根据权利要求1所述的用途,其中所述癌症为结肠癌。
19. 根据权利要求1所述的用途,其中所述癌症为结肠黑素瘤。
20. 根据权利要求1所述的用途,其中所述癌症为肝癌。

用于治疗癌症的含有IDO拮抗剂前药的调配的和/或共同调配的脂质体组合物及其方法

[0001] 本申请是申请日为2020年11月12日、申请号为“202080084835.3”且发明名称为“用于治疗癌症的含有IDO拮抗剂前药的调配的和/或共同调配的脂质体组合物及其方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求于2019年11月12日提交的美国临时专利申请第62/974,086号的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

[0004] 联邦赞助研究下的发明权利声明

[0005] 不适用。

技术领域

[0006] 本文所述的发明涉及在从前药释放活性抑制剂后抑制吲哚胺-吡咯2,3-双加氧酶(IDO)酶的前药组合物和包括此类前药的纳米制剂。具体地,本发明涉及在纳米载体(例如脂质体)内调配并用作人类癌症治疗的载体的前药组合物。本发明进一步涉及癌症和其它免疫病症和疾病的治疗。

背景技术

[0007] 癌症是全球仅次于冠心病的第二大死亡原因。每年有数百万人死于癌症,仅在美国,每年就有超过五十万人死于癌症,2017年诊断出1,688,780例新的癌症病例(美国癌症协会)。虽然心脏病导致的死亡人数已经大幅下降,但癌症导致的死亡人数总体上呈上升趋势。在下个世纪早期,除非医学发展改变了目前的趋势,否则癌症预计将成为死亡的主要原因。

[0008] 几种癌症似乎具有很高的死亡率。特别地,肺癌(占有所有癌症死亡人数的18.4%)、乳腺癌(占有所有癌症死亡人数的6.6%)、结肠直肠癌(占有所有癌症死亡人数的9.2%)、肝癌(占有所有癌症死亡人数的8.2%)和胃癌(占有所有癌症死亡人数的8.2%)是全世界所有年龄段男女癌症死亡的主要原因(GLOBOCAN 2018)。这些癌症和几乎所有其它癌症具有共同的致命特征,因为它们转移到远离原发性肿瘤的部位,并且除了极少数例外,转移性疾病是致命的。此外,即使对于那些最初在原发性癌症中幸存下来的癌症患者,普遍的经验已经表明他们的生活发生了巨大的变化。许多癌症患者由于意识到可能复发或治疗失败而感到强烈的焦虑。许多癌症患者在治疗后也会经历身体虚弱。此外,许多癌症患者会经历其疾病的复发。

[0009] 尽管癌症治疗在过去几十年中有所改善并且存活率有所增加,但是癌症的异质性仍然需要利用多种治疗方式的新治疗策略。这在治疗解剖学关键部位的实体瘤(例如,成胶质细胞瘤、头颈部鳞状细胞瘤和肺腺癌)中尤其如此,这些部位有时期限于标准放射疗法和/或化疗。然而,这些疗法的有害作用是化学和放射抗性,其除了降低患者生活质量的严重副作用之外,还会促进局部区域复发、远侧转移和第二原发性肿瘤。

[0010] 吲哚胺-吡咯2,3-双加氧酶(IDO或INDO)是一种含血红素的酶,其在人体中由IDO1基因编码.IDO是通过犬尿氨酸途径的色氨酸分解代谢的第一限速酶,因此引起色氨酸的消耗,这可以减缓微生物以及T细胞的生长。另外,IDO是一种免疫检查点分子,从某种意义上说,它是由一些可替代地激活的巨噬细胞和其它免疫调节细胞产生的免疫调节酶(也用作许多肿瘤和慢性感染病毒的免疫颠覆策略)。已知IDO抑制T和NK细胞、生成并激活Tregs和髓源性抑制细胞,并促进新血细胞生长以供给肿瘤(血管生成)。IDO允许肿瘤细胞通过耗尽肿瘤微环境中的左旋色氨酸和通过产生分解代谢产物犬尿氨酸而逃避免疫系统,这选择性地损害T细胞的生长和存活。多种人类癌症,如前列腺癌、结肠直肠癌、胰腺癌、宫颈癌、胃癌、卵巢癌、头癌、肺癌等,过度表达人IDO(hIDO)。IDO通过其限制T细胞功能和参与免疫耐受机制的能力而参与免疫调节。新出现的证据表明,IDO在肿瘤发展期间被激活,帮助恶性细胞逃脱免疫系统的根除。参见芒恩(MUNN)等人,《免疫学趋势(Trends in Immunology)》,37(3):第193至207页(2016年3月),以及彭德格拉斯特(PENDERGRAST)等人,《癌症免疫疗法(Cancer Immunol Immunother.)》,63(7):第721至735页(2014年7月)。

[0011] 另外,前药是施用后代谢(即,在体内转化)成药理学活性药物的药物或化合物。代替直接施用药物,使用相应的前药以改善药物的吸收、分布、代谢和/或排泄方式。例如,前药通常被设计为当药物本身从胃肠道吸收不良时提高生物利用度。前药可用于改善药物如何选择性地与不是其预期靶标的细胞或过程相互作用。这降低了药物的不良的或非预期的作用,特别是在如化疗的治疗中是重要的,其可能具有严重的非预期的和不良的副作用。因此,前药可视为含有以瞬时方式使用以改变或消除母体分子中的不良特性的特定无毒保护基团的药物。

[0012] 最后,纳米载体是用作另一种物质(如药物)的转运的纳米材料。存在许多不同类型的纳米载体。例如,纳米载体包含聚合物缀合物、聚合物纳米颗粒、基于脂质的载体和树枝状聚合物等。在纳米载体中使用的不同类型的纳米材料允许疏水性和亲水性药物被递送至全身。由于人体主要包含水,因此在人体中有效递送疏水性药物的能力是纳米载体的主要治疗益处。纳米载体在药物递送过程中显示出前景,因为它们可以将药物递送至位点特异性靶标,从而允许药物在某些器官或细胞中而不是在其它器官或细胞中递送。位点特异性是主要的治疗益处,因为它可以防止药物递送至错误的位置。另外,纳米载体显示出在化疗中使用的特殊前景,因为它们可以帮助降低化疗对身体周围的健康、快速生长的细胞的不利的、更广泛的毒性。由于化疗药物对人体细胞具有极强的毒性,因此重要的是将它们递送至肿瘤而不释放至身体的其它部分。

[0013] 根据上述内容,对于本领域技术人员显而易见的是,在癌症和其它免疫疾病的治疗中需要一种新的治疗模式。通过将新的前药与现代纳米载体形式结合使用,可以实现新的疾病治疗,其总体目标是在癌症治疗中,尤其是在实体瘤中的癌症治疗中,更有效的治疗、降低的副作用和更大的治疗效用。

[0014] 鉴于目前与癌症治疗相关的缺陷,本发明的一个目的是提供利用包封在纳米载体内的前药治疗癌症、免疫病症和其它疾病的新的和改进的方法。

发明内容

[0015] 本发明提供了IDO抑制剂前药("IDO前药")组合物,其包括IDO抑制剂、脂质和生物

可裂解连接基。在某些实施例中,将包括IDO前药的纳米载体调配成用作治疗如癌症等人类疾病(包含实体瘤癌症)以及其它免疫病症的递送形式。在某些实施例中,纳米载体包括能够掺入药物递送载体(即脂质体)中的脂质双层。在进一步优选的实施例中,脂质体包括胆固醇半琥珀酸酯(“CHEMS”)。在进一步优选的实施例中,本发明的脂质体包括硬脂酸。

[0016] 在另一实施例中,本发明包括将IDO抑制剂递送至肿瘤的方法,其包括(i)合成IDO前药;(ii)将本发明的IDO前药调配在本发明的纳米载体中;以及(iii)向患者施用该纳米载体。

[0017] 在另一实施例中,本发明包括将IDO抑制剂与一或多种另外的免疫调节剂递送至肿瘤的方法,其包括(i)合成IDO前药;(ii)将本发明的IDO前药与一或多种另外的本发明的免疫调节剂共同调配在纳米载体中;以及(iii)向患者施用该纳米载体。

[0018] 在另一实施例中,免疫调节剂包括免疫原性细胞死亡诱导化疗药物、PD-1激动剂、toll受体激动剂、STING激动剂、CTLA4抑制剂和/或其前药。

[0019] 在另一实施例中,本公开教导了合成IDO前药的方法。

[0020] 在另一实施例中,本公开教导了在纳米载体(包含但不限于脂质体)内调配IDO前药的方法。

[0021] 在另一实施例中,本公开教导了使用本公开的纳米载体治疗人类癌症、免疫病症和其它疾病的方法。

附图说明

[0022] 图1.包括胆固醇半琥珀酸酯(“CHEMS”)的受保护的ID3的一般化学合成。

[0023] 图2.ID3前药中间体的化学合成。

[0024] 图3.ID3前药中间体的化学合成。

[0025] 图4.具有羧酸官能度的IDO抑制剂前药合成方案。

[0026] 图5.具有醇官能度的IDO抑制剂前药合成方案。

[0027] 图6.具有仲胺、酰胺或苯胺官能度的IDO抑制剂前药合成方案。

[0028] 图7.包括硬脂酸的ID3前药的化学合成。

[0029] 图8.包括胆固醇半琥珀酸酯(“CHEMS”)的ID3前药的化学合成。

[0030] 图9.LNP-ID3脂质体的表征。

[0031] 图10.LNP-ID3脂质体的表征(ζ 电位)。

[0032] 图11.LNP-AR5-ID3脂质体的表征。

[0033] 图12.LNP-AR5-ID3脂质体的表征(ζ 电位)。

[0034] 图13.LNP-AR5-TR5-ID3脂质体的表征。

[0035] 图14.LNP-AR5-TR5-ID3脂质体的表征(ζ 电位)。

[0036] 图15.LNP-ID3-NK1脂质体的表征。

[0037] 图16.LNP-ID3-NK1脂质体的表征(ζ 电位)。

[0038] 图17.LNP-ID3-NK1-MT0脂质体的表征。

[0039] 图18.LNP-ID3-NK1-MT0脂质体的表征(ζ 电位)。

[0040] 图19.使用B16F10细胞对LNP-ID3与其它脂质体组合的体内肿瘤抑制。

[0041] 图20.使用B16F10细胞对LNP-ID3与LNP-AR5组合的体内肿瘤抑制。

- [0042] 图21.使用B16F10细胞对LNP-ID3-NK1的体内肿瘤抑制。
- [0043] 图22.使用CT26细胞对LNP-ID3和LNP-ID3-NK1的体内肿瘤抑制。
- [0044] 图23.使用CT26细胞对LNP-ID3的体内肿瘤抑制。
- [0045] 图24.使用MC-38细胞对LNP-ID3的体内肿瘤抑制。
- [0046] 图25.使用H22细胞对LNP-ID3与LNP-AR5组合的体内肿瘤抑制
- [0047] 图26.IDO-1活性的测量。
- [0048] 图27.SLNP-ID3-AR5-TR5的表征。
- [0049] 图28.SLNP-ID3-AR5-TR5的表征(ζ 电位)。

具体实施方式

[0050] 章节大纲

- [0051] I.) 定义
- [0052] II.) 前药
- [0053] III.) 化学化合物
- [0054] IV.) 脂质
- [0055] V.) 连接单元(“LU”)
- [0056] VI.) 纳米载体
- [0057] VII.) 脂质体
- [0058] VIII.) 药物制剂
- [0059] IX.) 联合治疗
- [0060] X.) 将包括前药的脂质体递送至细胞的方法
- [0061] XI.) 治疗癌症和其它免疫病症的方法
- [0062] XII.) 试剂盒/制品
- [0063] I.) 定义:

[0064] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术术语、符号和其它科学术语或术语旨在具有本发明所属领域的技术人员通常理解的含义,除非上下文另有明确指示。在一些情况下,为清楚起见和/或为便于参考,本文定义了具有通常理解的含义的术语,并且本文包括这样的定义不应解释为表示与本领域通常理解的显著差异。

[0065] 当本文使用商品名时,除非上下文另有说明,否则提及商品名还指商品名产品的产品制剂、仿制药和活性药物成分。

[0066] 如本文所用,术语“约”在指大小(即,直径)、重量、浓度或百分比的值或量时旨在涵盖在一个实例中 $\pm 20\%$ 或 $\pm 10\%$,在另一实例中 $\pm 5\%$,在另一实例中 $\pm 1\%$,以及在又一个实例中 $\pm 0.1\%$ 与指定量的变化,因为此类变化适于执行所公开的方法。

[0067] 如本文所用,术语“和/或”当在实体列表的上下文中使用时是指单独或组合存在的实体。因此,例如,短语“A、B、C和/或D”单独地包含A、B、C和D,但也包含A、B、C和D的任何和所有组合和子组合。

[0068] 本文通过端点列举的数值范围包含该范围内包含的所有数值和分数(例如,1至5包含但不限于1、1.5、2、2.75、3、3.90、4和5)。

[0069] 如本文所用,短语“基本上由……组成”将权利要求的范围限制为指定的材料或步

骤,加上不实质上影响所要求保护的主题的基本和新颖特征的那些。

[0070] 术语“晚期癌症”、“局部晚期癌症”、“晚期疾病”和“局部晚期疾病”意指已经扩散穿过相关组织包膜的癌症,并且意在包含美国泌尿外科协会(AUA)系统下的C期疾病、惠特莫尔-朱厄特系统(Whitmore-Jewett system)下的C1-C2期疾病,以及TNM(肿瘤、淋巴结、转移)系统下的T3-T4期和N+期疾病。通常,不建议对患有局部晚期疾病的患者进行手术,并且与患有临床局部(器官限制)癌症的患者相比,这些患者的预后明显较差。

[0071] 如本文所用,术语“烷基”可以指 C_1-C_{20} (包括端值)、线性(即,“直链”)、支链或环状、饱和或至少部分且在一些情况下不饱和(即,烯基和炔基)烃链,包含例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、叔丁基、戊基、己基、辛基、乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基、辛烯基、丁二烯基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、庚炔基和丙二烯基。“支链”是指其中如甲基、乙基或丙基等低级烷基附接到线性烷基链的烷基。“低级烷基”是指具有1至约8个碳原子(即, C_1-C_8 烷基),例如1、2、3、4、5、6、7或8个碳原子的烷基。“高级烷基”是指具有约10至约20个碳原子,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个碳原子的烷基。在某些实施例中,“烷基”特别是指 C_1-C_8 直链烷基。在其它实施例中,“烷基”特别是指 C_i-C_8 支链烷基。

[0072] 烷基可以任选被一或多个相同或不同的烷基取代基取代(“取代的烷基”)。术语“烷基取代基”包含但不限于烷基、取代的烷基、卤代、芳基氨基、酰基、羟基、芳氧基、烷氧基、烷硫基、芳硫基、芳烷氧基、芳烷硫基、羧基、烷氧基羰基、氧代和环烷基。在一些实施例中,可以任选地沿着烷基链插入一或多个氧、硫或取代或未取代的氮原子,其中氮取代基是氢、低级烷基(在本文中也称为“烷基氨基烷基”)或芳基。

[0073] 因此,如本文所用,术语“取代的烷基”包含如本文所定义的烷基,其中烷基的一或多个原子或官能团被另一原子或官能团替代,另一原子或官能团包含例如烷基、取代的烷基、卤素、芳基、取代的芳基、烷氧基、羟基、硝基、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、硫酸根和硫基。

[0074] 本文使用的术语“芳基”是指芳族取代基,其可以是单个芳环,或稠合在一起、共价连接或连接至共同基团(例如但不限于亚甲基或亚乙基部分)的多个芳环。共同连接基团也可以是羰基,如在二苯甲酮中,或氧,如在二苯醚中,或氮,如在二苯胺中。术语“芳基”具体涵盖杂环芳族化合物。芳环可以包括苯基、萘基、联苯基、二苯醚、二苯胺和二苯甲酮等。在具体的实施例中,术语“芳基”意指包括约5至约10个碳原子,例如5、6、7、8、9或10个碳原子的环状芳族,并且包含5-和6-元芳族和杂芳族环。芳基可以任选地被一或多个可以相同或不同的芳基取代基取代(“取代的芳基”),其中“芳基取代基”包含烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、芳烷基、羟基、烷氧基、芳氧基、芳烷氧基、羧基、酰基、卤代、硝基、烷氧基羰基、芳氧羰基、芳烷氧羰基、酰氨基、芳酰基氨基、氨基甲酰基、烷基氨基甲酰基、二烷基氨基甲酰基、芳硫基、烷硫基、亚烷基和 $-NR'R''$,其中 R' 和 R'' 可以各自独立地为氢、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基和芳烷基。芳基的具体实例包含但不限于环戊二烯基、苯基、呋喃、噻吩、吡咯、吡喃、吡啶、咪唑、苯并咪唑、异噻唑、异噁唑、吡唑、吡嗪、三嗪、嘧啶、喹啉、异喹啉、吲哚、呋唑等。

[0075] 本文所用的“杂芳基”是指在环结构的主链中含有一或多个非碳原子(例如,O、N、S、Se等)的芳基。含氮杂芳基部分包含但不限于吡啶、咪唑、苯并咪唑、吡唑、吡嗪、三嗪、嘧啶等。

[0076] 术语“抗癌药物”、“化疗药物”和“抗癌前药”是指已知或怀疑能够治疗癌症(即,杀死癌细胞,阻止癌细胞增殖或治疗与癌症相关的症状)的药物(即,化学化合物)或前药。在一些实施例中,本文所用的术语“化疗药物”是指用于治疗癌症和/或具有细胞毒性能力的非PS分子。更传统或常规的化疗药物可以通过作用机制或通过化学化合物类别来描述,并且可以包含但不限于烷化剂(例如,美法仑(melphalan))、蒽环类药物(例如,多柔比星(doxorubicin))、细胞骨架破坏剂(例如,紫杉醇(paclitaxel))、埃坡霉素(epothilones)、组蛋白脱乙酰酶抑制剂(例如,伏立诺他(vorinostat))、拓扑异构酶I或II的抑制剂(例如,伊立替康(irinotecan)或依托泊苷(etoposide))、激酶抑制剂(例如,硼替佐米(bortezomib))、核苷酸类似物或其前体(例如,甲氨蝶呤(methotrexate))、肽抗生素(例如,博来霉素(bleomycin))、铂类药剂(例如,顺铂(cisplatin)或奥沙利铂(oxaliplatin))、类视黄醇(例如,维A酸(tretinoin))和长春花生物碱(例如,长春碱(vinblastine))。

[0077] “芳烷基”是指-烷基-芳基,任选地其中烷基和/或芳基部分被取代。

[0078] “亚烷基”是指具有1至约20个碳原子,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个碳原子的直链或支链二价脂族烃基。亚烷基可以是直链、支链或环状的。亚烷基也可以是任选不饱和的和/或被一或多个“烷基取代基”取代。可以任选地沿着亚烷基插入一或多个氧、硫或取代或未取代的氮原子(在本文中也称为“烷基氨基烷基”),其中氮取代基是如前所述的烷基。示例性亚烷基包含亚甲基(-CH₂-);乙烯(-CH₂-CH₂-);丙烯(- (CH₂)₃-);环亚己基(-C₆H₁₀-);-CH=CH-CH=CH-;-CH=CH-CH₂-;- (CH₂)_q-N(R)-(CH₂)-,其中q各自为0至约20的整数,例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20,且R为氢或低级烷基;亚甲基二氧基(-O-CH₂-O-);和乙二氧基(-O-(CH₂)₂-O-)。亚烷基可以具有约2至约3个碳原子,并且可以进一步具有6至20个碳。

[0079] 术语“亚芳基”是指二价芳族基团,例如二价苯基或萘基。亚芳基可以任选地被一或多个芳基取代基取代和/或包含一或多个杂原子。

[0080] 术语“氨基”是指基团-N(R)₂,其中每个R独立地为H、烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、芳烷基或取代的芳烷基。术语“氨基烷基”和“烷基氨基”可以指基团-N(R)₂,其中每个R为H、烷基或取代的烷基,并且其中至少一个R为烷基或取代的烷基。“芳基胺”和“氨基芳基”是指基团-N(R)₂,其中每个R为H、芳基或取代的芳基,并且其中至少一个R为芳基或取代的芳基,例如苯胺(即,-NHC₆H₅)。

[0081] “生物反应性纳米材料”是指诱导或催化生物应答的工程化生物材料。在某些实施例中,纳米材料通过选自组成、大小、形状、纵横比、溶解、电子、氧化还原、表面显示、表面包衣、疏水、亲水、原子级薄纳米片或官能化表面基团组成的组的一或多种性质诱导应答,以催化各种纳米/生物界面处的生物应答。在某些实施例中,生物反应性纳米材料具有抑制细胞(例如,肿瘤细胞)中的IDO-1生物应答和/或以及通过递送“危险信号”和佐剂效应激活先天免疫系统的能力。

[0082] “散装药物”(又称原料药)意指未填充到最终容器中进行分配的原料药或药物产品。最终调配的散装药物通常是指在填充之前调配并储存或保存的药物产品。原料药可以在调配成药物产品之前作为“散装药物”或“浓缩散装药物”储存或保存。

[0083] 术语“羧酸酯”和“羧酸”可以分别指基团-C(=O)O-和-C(=O)OH。术语“羧基”也可

以指-C(=O)OH基团。

[0084] 本文所用的术语“缀合物”和“缀合的”可以指两种或更多种组分(例如,化学化合物、聚合物、生物分子、颗粒等)彼此的附接(例如,共价附接)。在一些实施例中,缀合物可以包括衍生自通过二价连接基部分共价连接的两种不同化学化合物的单价部分(例如,任选地取代的亚烷基或亚芳基)。在一些实施例中,连接基可以含有一或多个生物可降解键,使得当前药暴露于特定生理环境或酶(例如,酯酶)时,连接基中的一或多个键可断裂。

[0085] 术语“化合物”是指并且涵盖化学化合物(例如前药)本身以及,无论是否明确陈述,并且除非上下文清楚地指出以下将被排除:化合物的无定形和结晶形式,包含多晶型形式,其中这些形式可以是混合物的一部分或单独存在;化合物的游离酸和游离碱形式,其通常为本文提供的结构中所示的形式;化合物的异构体,其是指光学异构体和互变异构体,其中光学异构体包含对映异构体和非对映异构体、手性异构体和非手性异构体,并且光学异构体包含分离的光学异构体以及光学异构体的混合物,包含外消旋混合物和非外消旋混合物;其中异构体可以是分离的形式或与一或多种其它异构体的混合物;化合物的同位素,包含含氘和氚的化合物,并且包含含有放射性同位素的化合物,包含治疗和诊断有效的放射性同位素;化合物的多聚体形式,包含二聚体、三聚体等形式;化合物的盐,优选地药学上可接受的盐,包含酸加成盐和碱加成盐,包含具有有机抗衡离子和无机抗衡离子的盐,并且包含两性离子形式,其中如果化合物与两个或更多个抗衡离子缔合,则两个或更多个抗衡离子可以相同或不同;以及化合物的溶剂合物,包含半溶剂合物、单溶剂合物、二溶剂合物等,包含有机溶剂合物和无机溶剂合物,所述无机溶剂合物包含水合物;其中如果化合物与两个或更多个溶剂分子缔合,则两个或更多个溶剂分子可以相同或不同。在一些情况下,本文提及的本发明的化合物将包含明确提及上述形式中的一或多种,例如盐和/或溶剂合物;然而,该参考仅仅是为了强调,而不应当被解释为排除上述的其它形式。

[0086] “药物产品”意指含有活性药物成分(即含有IDO抑制剂前药的脂质体)的最终制剂,通常但不一定与非活性成分缔合。该术语还包含不含活性成分但旨在用作安慰剂的成品剂型。

[0087] 术语“二硫化物”可以指-S-S-基团。

[0088] 术语“空囊泡”意指未负载的脂质囊泡本身。

[0089] 本文所用的术语“酯”意指衍生自酸(有机或无机)的化学化合物,其中至少一个-OH羟基被-O-烷基(烷氧基)或O-芳基(芳氧基)基团替代。

[0090] 本文所用的术语“酯酶”是将酯分解成酸和醇的水解酶。

[0091] “赋形剂”意指在如疫苗等药物中用作活性成分的载体的非活性物质。赋形剂有时也用于填充具有非常有效的活性成分的制剂,以允许方便和精确的剂量。赋形剂的实例包含但不限于抗粘剂、粘合剂、包衣、崩解剂、填充剂、稀释剂、调味剂、着色剂、润滑剂和防腐剂。

[0092] 本文所用的术语“卤代”、“卤化物”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘基团。

[0093] 术语“羟基(hydroxyl)”和“羟基(hydroxy)”是指-OH基团。

[0094] 本文所用的术语“抑制(inhibit)”或“抑制(inhibition of)”意指减少可测量的量或完全预防。

[0095] 在本公开的上下文中使用的术语“个体”或“患者”可以互换使用。

[0096] 如本文所用,术语“配体”通常是指以某种方式与另一种物质相互作用(例如,结合)的物质,如分子或离子。参见马泰尔(Martell,A.E.)和汉考克(Hancock,R.P.),《水溶液中的金属络合物(Metal Complexes in Aqueous Solutions)》,Plenum出版公司:纽约(1996),其全部内容通过引用并入本文。

[0097] 本文所用的术语“脂质”是指不溶于极性溶剂的一类天然存在的(有机)化合物。在本公开的上下文中,脂质是指常规脂质、磷脂、胆固醇、用于附接PEG和配体的化学官能化脂质等。

[0098] 术语“脂质双层”或“LB”是指任何取向的两亲性脂质分子的双层,其中烃尾面向内以形成连续的非极性相。

[0099] 术语“脂质体”或“脂质囊泡”或“囊泡”可以互换使用,是指由脂质双层封装的水性隔室,如常规定义的(参见斯特莱尔(Stryer)(1981)《生物化学(Biochemistry)》,第2版,W.H.Freeman&Co.公司,第213页)。

[0100] 术语“哺乳动物”是指分类为哺乳动物的任何生物体,包含小鼠、大鼠、兔、狗、猫、牛、马和人。在本发明的一个实施例中,哺乳动物是小鼠。在本发明的另一实施例中,哺乳动物是人。

[0101] 术语“巯基”或“硫醇”是指-SH基团。

[0102] 术语“转移性癌症”和“转移性疾病”意指已经扩散到区域淋巴结或远侧部位的癌症,并且意指包含AUA系统下的D期疾病和TNM系统下的T×N×M+期。

[0103] 术语“纳米载体”、“纳米颗粒”和“纳米颗粒药物载体”可以互换使用,并且是指具有水性、固体或聚合物内核的纳米结构。在某些实施例中,纳米载体包括包裹(或包围或包封)多孔颗粒核心的脂质双层。在某些实施例中,纳米载体是脂质体、脂质纳米颗粒(“LNP”)或固体脂质纳米颗粒(“SLNP”)。

[0104] 术语“纳米级颗粒”、“纳米材料”、“纳米载体”和“纳米颗粒”是指具有至少一个尺寸(例如,长度、宽度、直径等)小于约1,000nm的区域的区域的结构。在一些实施例中,尺寸更小(例如,小于约500nm、小于约250nm、小于约200nm、小于约150nm、小于约125nm、小于约100nm、小于约80nm、小于约70nm、小于约60nm、小于约50nm、小于约40nm、小于约30nm或甚至小于约20nm)。在一些实施例中,尺寸在约20nm与约250nm之间(例如,约20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240或250nm)。

[0105] 术语“纳米囊泡”是指直径(或具有平均直径的囊泡群体)范围为约20nm,或约30nm,或约40nm,或约50nm至约500nm,或至约400nm,或至约300nm,或至约200nm,或至约150nm,或至约100nm,或至约80nm的“脂质囊泡”。在某些实施例中,纳米囊泡的直径范围为约40nm至约80nm,或约50nm至约70nm。

[0106] “药学上可接受的”是指与人或其它哺乳动物生理上相容的无毒、惰性和/或组合物。

[0107] “药物制剂”意指其中将不同化学物质组合成纯原料药以产生最终药物产品的方法。

[0108] 术语“磷酸酯”是指-P(=O)(OR)₂基团,其中每个R可以独立地为H、烷基、芳烷基、芳基或负电荷(即,其中有效地不存在与氧原子键合的R基团,导致氧原子上存在未共享的电子对)。因此,换言之,每个R可以存在或不存在,并且当存在时选自H、烷基、芳烷基或芳

基。

[0109] 术语“磷酸酯”是指-OP(=O)(OR')₂基团,其中R'是H或负电荷。

[0110] 术语“前药”意指施用后代谢成药理学活性药物的药物或化合物。出于本公开的目的,本发明的前药包括三(3)种组分:(i)药物部分;(ii)脂质部分;和(iii)连接单元(“LU”)。

[0111] 术语“ID0前药”意指其中药物部分包括ID0抑制剂的本发明的前药。

[0112] 术语“焦脂质(pyrolipid)”是指脂质与卟啉、卟啉衍生物或卟啉类似物的缀合物。在一些实施例中,焦脂质可以包括脂质缀合物,其中卟啉或其衍生物或类似物共价附接至脂质侧链。参见,例如美国专利申请公开第2014/0127763号。

[0113] 如本文所用,术语“特异性”、“特异性结合”和“特异性地结合”是指本发明的纳米载体与靶ID0-1的选择性结合。

[0114] 术语“支撑的脂质双层”意指封装多孔颗粒核心的脂质双层。本公开中提出的这一定义是因为脂质双层位于表面上并由多孔颗粒核心支撑。在某些实施例中,脂质双层的厚度范围为约6nm至约7nm,其包含3至4nm厚的疏水核心,加上水合的亲水首基层(各约0.9nm),加上两个各约0.3nm的部分水合区域。在各种实施例中,围绕脂质体的脂质双层包括有效地包封和密封ID0抑制剂的连续双层或基本上连续的双层。

[0115] 术语“硫代烷基”可以指基团-SR,其中R选自H、烷基、取代的烷基、芳烷基、取代的芳烷基、芳基和取代的芳基。类似地,术语“硫代芳烷基”和“硫代芳基”是指-SR基团,其中R分别是芳烷基和芳基。

[0116] 如本文所用,“治疗(to treat)”或“治疗性(therapeutic)”和语法上相关的术语是指疾病的任何后果的任何改善,例如延长存活期、降低发病率和/或减轻作为替代治疗形式的副产物的副作用;如本领域容易理解的,疾病的完全根除是优选的,但不是治疗行为的必要条件。

[0117] 术语“治疗有效量”是指在组织、系统、动物、个体或人中引起生物或医学应答的活性前药、纳米包封的前药或药剂的量。

[0118] 术语“无支撑的脂质双层”意指在脂质囊泡或脂质体中未包被的脂质双层。

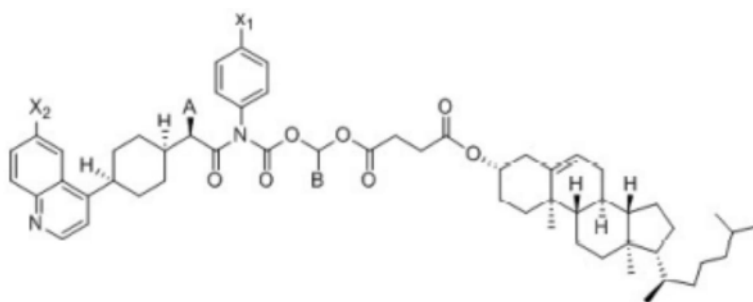
[0119] II.) 前药

[0120] 如本公开所示并且为了本发明的目的,通过经由本公开的LU(参见,标题为连接单元的章节)将本发明的药物部分(参见,标题为药物部分的章节)缀合至本发明的脂质部分(参见,标题为脂质的章节)来形成合适的前药。出于本公开的目的,ID0前药的形成可以利用几种策略。(参见,例如图4、图5和图6)。

[0121] 因此,在一些实施例中,前药是包括本公开>ID0抑制剂的药物—脂质部分。

[0122] 在一个实施例中,前药包括以下表示为式I的化学结构:

[0123]



式 I

[0124] 其中,在式I的示例性实施例中:

[0125] $X_1 = \text{Cl}, \text{F}, \text{CN}$;[0126] $X_2 = \text{H}, \text{F}$; 以及[0127] $A, B = \text{H}, \text{CH}_3$;

[0128] 因此,在一个实施例中,前药是包括式I的IDO抑制剂的药物—脂质部分。

[0129] 在一个实施例中,前药是包括图4所示的IDO抑制剂的药物—脂质部分。

[0130] 在一个实施例中,前药是包括图5所示的IDO抑制剂的药物—脂质部分。

[0131] 在一个实施例中,前药是包括图6所示的IDO抑制剂的药物—脂质部分。

[0132] 在另一实施例中,IDO前药是包括本公开的脂质的药物—脂质部分。

[0133] 在另一实施例中,IDO前药是药物—脂质部分,其中脂质是CHEMS。

[0134] 在另一实施例中,IDO前药是包括本公开的LU的药物—脂质部分。

[0135] 在另一实施例中,IDO前药是药物—脂质部分,其中LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0136] 在另一实施例中,前药是包括本发明的IDO抑制剂的药物—脂质部分,其中IDO抑制剂包括化学组合物ID3。

[0137] 在另一实施例中,前药是包括本发明的IDO抑制剂的药物—脂质部分,其中IDO抑制剂包括ID3并且进一步包括CHEMS。

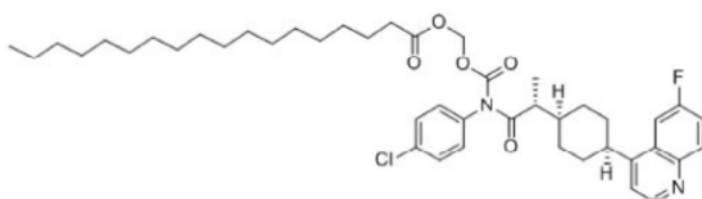
[0138] 在另一实施例中,前药是包括本发明的IDO抑制剂的药物—脂质部分,其中IDO抑制剂包括ID3并且进一步包括硬脂酸。

[0139] 在另一实施例中,前药是包括本发明的IDO抑制剂的药物—脂质部分,其中IDO抑制剂包括ID3并且进一步包括CHEMS,并且其中LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0140] 在另一实施例中,前药是包括本发明的IDO抑制剂的药物—脂质部分,其中IDO抑制剂包括ID3并且进一步包括硬脂酸,并且其中LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0141] 在另一实施例中,前药是包括本发明的IDO抑制剂的药物—脂质部分,其中IDO抑制剂包括ID3并且进一步包括具有以下结构的硬脂酸:

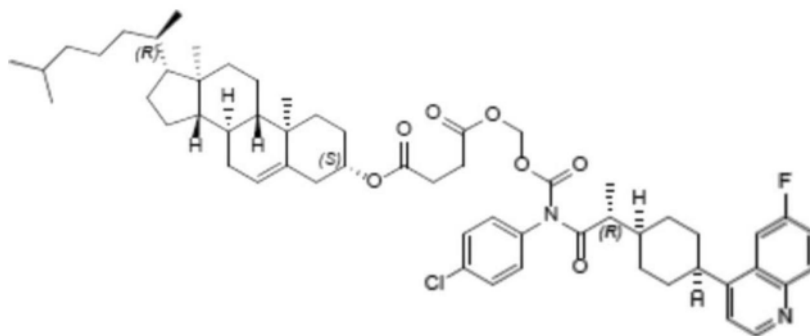
[0142]



[0143] 在另一实施例中,前药是包括本发明的IDO抑制剂的药物—脂质部分,其中IDO抑

制剂包括ID3并且进一步包括具有以下结构的胆固醇半琥珀酸酯：

[0144]



[0145] 在本公开的另外的实施例中,主题提供了包括脂质缀合的治疗剂母体药物的IDO抑制剂前药。在一些实施例中,前药包括:(a) 单价药物部分,(b) 单价脂质部分,和(c) 包括将在体内降解的连接单元(如二硫键)的二价连接基部分,其中单价药物部分和单价脂质部分通过连接基连接(例如,共价连接)。单价药物部分和单价脂质部分可以分别是化学化合物和脂质的单价衍生物。例如,单价衍生物可以是包括羟基、硫醇、氨基或羧酸基团的化学化合物或脂质的去质子化衍生物。

[0146] 在本公开的其它实施例中,主题提供了包括脂质缀合的治疗剂母体药物的IDO抑制剂前药。在一些实施例中,前药包括:(a) 二价药物部分,(b) 二价脂质部分,和(c) 包括将在体内降解的键的二价连接基部分,其中二价药物部分和二价脂质部分通过连接基连接(例如,共价连接)。二价药物部分和二价脂质部分可以分别是化学化合物和脂质的二价衍生物。例如,二价衍生物可以是包括羟基、巯基、氨基或羧酸基团的化学化合物或脂质的去质子化衍生物。

[0147] 本领域的普通技术人员将理解并能够对所公开的实施例进行变化和修改而不改变本文公开的本发明的功能和目的。这些变化和修改都在本公开的范围之内。

[0148] III.) 药物部分

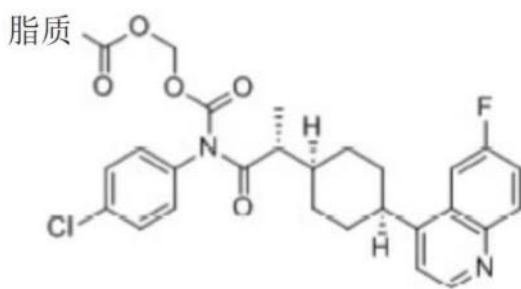
[0149] 本发明的另一方面提供了具有表示为ID3的下式的新型IDO前药化合物。

[0150] 本领域技术人员将理解,化合物可用作IDO抑制剂(例如抑制IDO-1)。作为简要背景,IDO-1通过其限制T细胞功能和参与免疫耐受机制的能力而参与免疫调节。参见,芒恩等人,《免疫学趋势》,34(3)第137至143页(2012)。新出现的证据表明,IDO在肿瘤发展期间被激活,帮助恶性细胞逃脱免疫系统的根除。在小鼠中,IDO在妊娠的免疫耐受中具有正常的免疫检查点功能,抑制母亲的免疫系统。参见,YU等人,《细胞生理学和生物化学(Cellular Physiology and Biochemistry)》,49(1):第134至143页(2018)。研究表明,IDO在一些肿瘤(如卵巢癌、结肠直肠癌和子宫内膜癌以及食道癌)中的过表达与更快的死亡相关,而在肾癌和肝癌中,其似乎与更好的预后相关。Id.

[0151] 基于前述内容,本公开描述了一类IDO抑制剂。

[0152] 在一个实施例中,本公开的药物部分包括具有以下化学结构(表示为ID3)的化合物:

[0153]

**ID3**

[0154] 本领域的普通技术人员将理解并能够对所公开的实施例进行变化和修改而不改变本文公开的本发明的功能和目的。这些变化和修改都在本公开的范围內。

[0155] IV.) 脂质

[0156] 一般而言,并且为了本公开的目的,术语“脂质”以其最广泛的含义使用并且包括脂质的几个子类,包含但不限于磷脂/脂肪酸。如本领域技术人员所理解的,磷脂代表一类脂质,其为所有细胞膜的主要组分。磷脂可以形成脂质双层,因为它们具有两亲特性。磷脂分子的结构通常由两个疏水性脂肪酸“尾部”和一个亲水性“头部”组成,亲水性“头部”由可用简单有机分子(如胆碱、乙醇胺或丝氨酸)修饰的磷酸基团组成。这两种组分通常通过甘油分子连接在一起。本发明的磷脂/脂肪酸的代表性列表列于表III中。

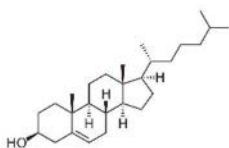
[0157] 作为简要背景,在最基本的水平上,脂质体的性质取决于其组成中各种脂质种类之间的微妙的物理化学相互作用。可以将单个脂质组合以形成无数超结构,包含双层,并且可以调节双层性质以调节药物释放和膜稳定性。在简化的双层模型中,酰基链长度指示双层厚度和相变温度(T_m),酰基链饱和度控制双层流动性,并且首基相互作用影响脂质间和脂质内的分子力。脂质体行为可以通过将合成脂质(如脂质前药)、融合脂质和可官能化脂质掺入双层中来调节。参见,科利(KOHLI)等人,《控制释放(Control Release)》,0:第274至287页(2014年9月28日)。

[0158] 在本公开的一个实施例中,IDO前药包括单价脂质部分。

[0159] 在一个实施例中,IDO前药包括二价脂质部分。

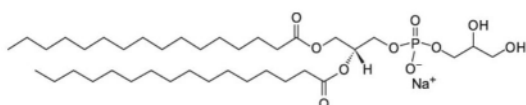
[0160] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的胆固醇:

[0161]



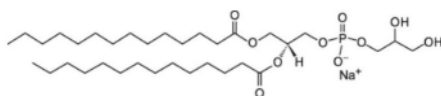
[0162] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的DPPG:

[0163]

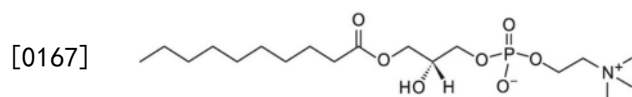


[0164] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的DMPG:

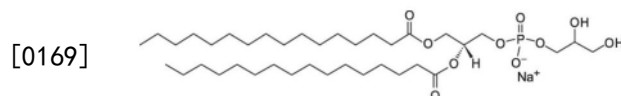
[0165]



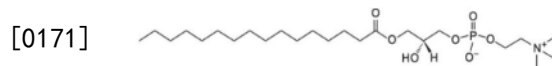
[0166] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的Lyso PC:



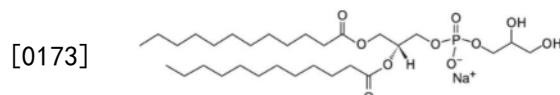
[0168] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的(Δ^9 -顺式)PG:



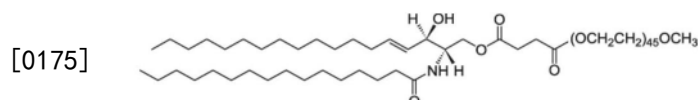
[0170] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的大豆Lyso PC:



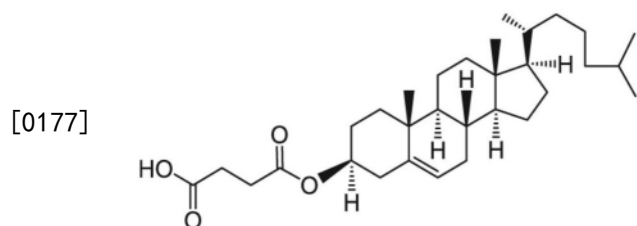
[0172] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的PG:



[0174] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的C16 PEG2000 Ceramide:



[0176] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的胆固醇半琥珀酸酯(“CHEMS”):



[0178] 在一个实施例中,脂质包括具有以下化学结构的硬脂酸:

硬脂酸



[0180] 作为参考,本文公开的脂质的化学式和缩写的完整列表列于表I中。

[0181] 在另一实施例中,脂质包括本文公开并在表III中列出的磷脂/脂肪酸。

[0182] 另外,本公开的IDO前药和/或脂质体可以包括一或多种辅助脂质,其在本文中也称为“辅助脂质组分”。辅助脂质组分优选地选自由磷脂和类固醇组成的组。磷脂优选地为磷酸的二酯和单酯。磷脂的优选成员是磷酸甘油酯和鞘脂。本文所用的甾族化合物是基于部分氢化的环戊二烯并[a]菲的天然存在的和合成的化合物。优选地,类固醇含有21至30个C原子。特别优选的类固醇是胆固醇。

[0183] 应注意,尽管不希望受任何理论束缚,但由于根据本发明的脂质组合物中所含的辅助脂质的特定摩尔百分比,辅助脂质可为不含PEG的辅助脂质或尤其含PEG的辅助脂质,可以实现出人意料的效果,尤其是如果任何此类辅助脂质的含量包含在本文指定的浓度范围内。

[0184] 在本发明的另一方面,优选地作为脂质复合物或脂质体存在的脂质组合物优选地

显示中性或整体阴离子电荷。阴离子脂质优选地为本文所述的任何中性或阴离子脂质。在优选的实施例中,脂质组合物包括本文所述的任何辅助脂质或辅助脂质组合以及任何IDO抑制剂。在另一实施例中,根据本发明的含有核酸的组合物形成脂质复合物。在优选的实施例中,本文所用的术语脂质复合物是指由中性或阴离子脂质、中性辅助脂质和本发明的IDO抑制剂组成的组合物。关于辅助脂质在本领域中的用途的参考文献,参见例如,美国专利申请公开2011/0178164;奥赫达(OJEDA)等人,《国际药剂学杂志(Int.J.of Pharmaceutics)》(2016年3月);达布科夫斯卡(DABKOWSKA)等人,《皇家学会界面杂志(J.R.Soc.Interface)》9,第548至561页(2012);和望月(MOCHIZUKI)等人,《生物化学与生物物理学报(Biochimica et.Biophysica Acta)》,1828,第412至418页(2013)。

[0185] 在优选的实施例中,本发明的辅助脂质包括表II中列出的辅助脂质。

[0186] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质为CHEMS且其中药物部分为ID3。

[0187] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质为CHEMS且其中药物部分为ID3,进一步包括LU且其中LU为氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0188] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质为CHEMS且其中药物部分为ID3,进一步包括LU且其中LU为氢甲基氨基甲酸酯连接基,进一步包括辅助脂质组分,其中辅助脂质组分包括表II的辅助脂质。

[0189] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质为CHEMS且其中药物部分为ID3且其中CHEMS是单价的。

[0190] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质为硬脂酸且其中药物部分为ID3。

[0191] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质是硬脂酸且其中药物部分为ID3且其中硬脂酸是单价的。

[0192] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质为硬脂酸且其中药物部分为ID3,进一步包括LU且其中LU为氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0193] 在一个实施例中,IDO前药包括本发明的脂质,其中脂质为硬脂酸且其中化学组合物为ID3,进一步包括LU且其中LU为氢甲基氨基甲酸酯连接基,进一步包括辅助脂质组分,其中辅助脂质组分包括表II的辅助脂质。

[0194] 本领域的普通技术人员将理解并能够对所公开的实施例进行变化和修改而不改变本文公开的本发明的功能和目的。这些变化和修改打算在本公开的范围之内。

[0195] V.) 连接单元(“LU”)

[0196] 在一些实施例中,本公开的标的提供了包括药物—脂质缀合物的前药,所述药物—脂质缀合物包含可生物降解键,如酯、硫酯和本领域已知的其它连接基。

[0197] 本文阐述了酯化学的示例性实施例:



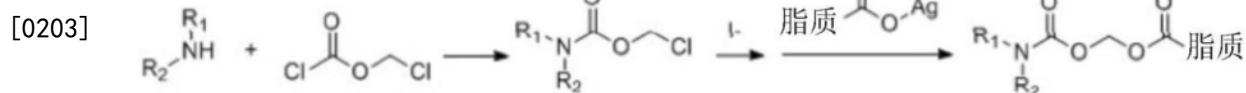
[0199] 在一些实施例中,前药是药物—脂质缀合物,其中药物—脂质缀合物被酯酶裂解。

[0200] 在一个实施例中,本发明的前药使用以下方案经由仲胺、酰胺或苯胺包括LU:



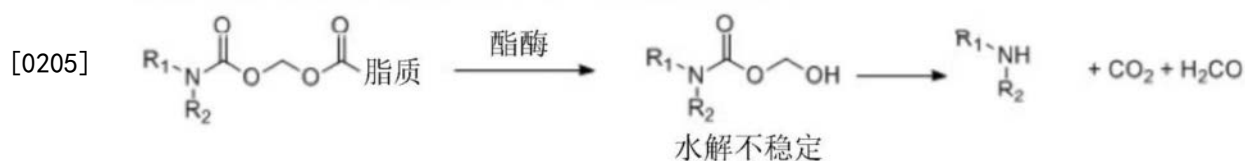
[0202] 示例性合成如下：

合成



[0204] 包括仲胺、酰胺或苯胺的前药结构的裂解在以下示例性合成下经由仲胺、酰胺或苯胺前药的酯酶水解获得：

仲胺/酰胺/苯胺前药的酯酶水解



[0206] 其中：

[0207] R_1 和 R_2 可以是通过C连接N的分子。

[0208] 在一个实施例中，ID3药物部分的仲酰胺氮经由氢甲基氨基甲酸酯连接基缀合至CHEMS。

[0209] 在一个实施例中，ID3药物部分的仲酰胺氮经由氢甲基氨基甲酸酯连接基缀合至硬脂酸。

[0210] 本领域的普通技术人员将理解并能够对所公开的实施例进行变化和修改而不改变本文公开的本发明的功能和目的。这些变化和修改都在本公开的范围內。

[0211] VI.) 纳米载体

[0212] 一般而言，并且出于本公开的目的，纳米载体在本发明的范围内。纳米载体是用作另一种物质（如药物）的转运模块的纳米材料。常用的纳米载体包含胶束、聚合物、碳基材料、脂质体和其它物质。由于体积小，纳米载体可以将药物递送至身体周围的其它难以接近的部位。纳米载体可以包含聚合物缀合物、聚合物纳米颗粒、基于脂质的载体、树枝状聚合物、碳纳米管和金纳米颗粒。基于脂质的载体包含脂质体和胶束。

[0213] 另外，纳米载体在药物递送过程中是有用的，因为它们可以将药物递送至位点特异性靶标，从而允许药物在某些器官或细胞中而不是在其它器官或细胞中递送。位点特异性带来了主要的治疗益处，因为它可以防止药物递送至错误的位置。另外，纳米载体显示出在化疗中使用的前景，因为它们可以帮助降低化疗对身体周围的健康、快速生长的细胞的不利的、更广泛的毒性。由于化疗药物对人体细胞具有极强的毒性，因此重要的是将它们递送至肿瘤而不释放至身体的其它部分。

[0214] 一般而言，纳米载体可以通过四（4）种方法递送药物，包含被动靶向、主动靶向、pH特异性和温度特异性。

[0215] 被动靶向是指纳米载体沿着肿瘤的血管系统行进、被捕获并在肿瘤中积聚的能

力。这种积聚是由增强的渗透性和滞留效应引起的。肿瘤的渗漏脉管系统是在肿瘤中形成的含有许多小孔的血管网络。这些孔允许纳米载体进入,但也含有允许纳米载体被捕获的许多弯曲。随着更多的纳米载体被捕获,药物在肿瘤部位积聚。这种积聚导致大剂量的药物被直接递送至肿瘤部位。

[0216] 主动靶向包括在纳米载体的表面上掺入靶向模块,如配体或抗体,这些靶向模块对身体周围的某些类型的细胞是特异性的。通常,纳米载体具有高的表面积与体积比,允许在其表面上结合多种配体。

[0217] 另外,某些纳米载体将仅释放它们在特定pH范围内含有的药物。pH特异性还允许纳米载体将药物直接递送至肿瘤部位。这是由于肿瘤通常比正常人体细胞酸性更强,pH约为6.8。正常组织具有约7.4的pH。因此,仅在某些pH范围释放药物的纳米载体因此可用于仅在酸性肿瘤环境中释放药物。由于酸性环境降解纳米载体的结构,高酸性环境导致药物释放。通常,这些纳米载体不会在中性或碱性环境中释放药物,有效地靶向肿瘤的酸性环境,同时保持正常体细胞不受影响。这种pH敏感性也可以在胶束体系中通过将共聚物链加入到已经确定以不依赖于pH的方式起作用的胶束中来诱导。参见,吴(WU)等人,《生物材料(Biomaterials)》,34(4):1213-1222(2012)。这些胶束-聚合物复合物也有助于防止癌细胞产生多药耐药性。低pH环境触发胶束聚合物的快速释放,导致大部分药物立刻释放,而不是像其它药物治疗那样逐渐释放。

[0218] 另外,一些纳米载体也显示出在某些温度下更有效地递送药物。由于肿瘤温度通常高于整个身体其余部位的温度,约40°C,因此该温度梯度有助于为肿瘤特异性位点递送提供保障。参见,雷扎伊(REZAEI)等人,《聚合物(Polymer)》,53(16):3485-3497(2012)。

[0219] 如本文所公开的,如脂质体等基于脂质的纳米载体在本发明的范围内。如脂质体等基于脂质的纳米颗粒(LBNP或LNP)、固体脂质纳米颗粒(SLN)和纳米结构脂质载体(NLC)可以转运疏水性和亲水性分子,表现出非常低的毒性或无毒性,并且通过延长的半衰期和药物的受控释放来增加药物作用的时间。脂质纳米颗粒可以包含化学修饰以避免被免疫系统检测(神经节苷脂或聚乙二醇(PEG))或提高药物的溶解度。另外,它们可以制备成对pH敏感的制剂,以便在酸性环境中促进药物释放,并且还可以与识别肿瘤细胞或其受体的小分子或抗体(如叶酸(FoA))缔合。纳米药物也可以与其它治疗策略联合使用,以改善患者的应答。参见,加西亚-皮内尔(GARCIA-PINEL)等人,《纳米材料(Nanomaterials)》9(639)(2019)。

[0220] 在各种实施例中,本文所述的硅质体药物载体包括用脂双层包被的多孔二氧化硅(或其它材料)纳米颗粒(例如,具有表面并限定适于在其中接收分子的多个孔的二氧化硅体)。纳米颗粒被称为二氧化硅纳米颗粒的事实不排除二氧化硅以外的材料也被掺入二氧化硅纳米颗粒内。在一些实施例中,二氧化硅纳米颗粒可以基本上是球形的,具有穿过表面提供通向孔的通路的多孔开口。然而,在各种实施例中,二氧化硅纳米颗粒可以具有除了基本上球形之外的形状。因此,例如,在某些实施例中,二氧化硅纳米颗粒可以基本上是卵形、棒状、基本上正多边形、不规则多边形等。

[0221] 通常,二氧化硅纳米颗粒包括二氧化硅主体,二氧化硅主体限定孔开口之间的外表面以及孔内的侧壁。孔可以延伸穿过二氧化硅主体到达另一孔开口,或者孔可以仅部分地延伸穿过二氧化硅主体,使得其具有由二氧化硅主体限定的底表面。

[0222] 在一些实施例中,二氧化硅体是中孔的。在其它实施例中,二氧化硅体是微孔的。如本文所用,“中孔”意指具有直径在约2nm与约50nm之间的孔,而“微孔”意指具有直径小于约2nm的孔。通常,孔可以具有任何大小,但在典型的实施例中足够大以在其中含有一或多种治疗化合物。在这样的实施例中,当用于治疗目的时,孔允许小分子,例如治疗性化合物(如抗癌化合物)粘附或结合至孔的内表面,并从二氧化硅体释放。在一些实施例中,孔基本上是圆柱形的。

[0223] 在某些实施例中,纳米颗粒包括孔径为约1nm至约10nm或约2nm至约8nm的孔。在某些实施例中,纳米颗粒包括孔径为约1nm至约6nm,或约2nm至约5nm的孔。其它实施例包含孔径小于2.5nm的颗粒。

[0224] 在其它实施例中,孔径在1.5至2.5nm之间。具有其它孔径的二氧化硅纳米颗粒可以例如通过在制备二氧化硅纳米颗粒期间使用不同的表面活性剂或溶胀剂来制备。在各种实施例中,纳米颗粒可以包含大至约1000nm(例如,平均或中值直径(或另一特征尺寸)的颗粒。然而,在各种实施例中,纳米颗粒通常小于500nm或小于约300nm,因为通常大于300nm的颗粒在进入活细胞或血管窗孔中可能不太有效。在某些实施例中,纳米颗粒的大小范围为约40nm,或约50nm,或约60nm至约100nm,或至约90nm,或至约80nm,或至约70nm。在某些实施例中,纳米颗粒的大小范围为约60nm至约70nm。一些实施例包含平均最大尺寸为约50nm至约1000nm的纳米颗粒。其它实施例包含平均最大尺寸在约50nm和约500nm之间的纳米颗粒。其它实施例包含平均最大尺寸在约50nm和约200nm之间的纳米颗粒。

[0225] 在一些实施例中,平均最大尺寸大于约20nm、大于约30nm、大于40nm或大于约50nm。其它实施例包含平均最大尺寸小于约500nm、小于约300nm、小于约200nm、小于约100nm或小于约75nm的纳米颗粒。如本文所用,纳米颗粒的大小是指初级颗粒的平均或中值大小,如通过透射电子显微镜(TEM)或本领域已知的类似可视化技术所测量。中孔二氧化硅纳米颗粒的其它实例包含但不限于MCM-41、MCM-48和SBA-15。参见,卡蒂娅尔(KATYARE)等人,《色谱学杂志(J.Chromatog.)》1122(1-2):13-20(2006)。

[0226] 制备多孔二氧化硅纳米颗粒的方法是本领域技术人员熟知的。在某些实施例中,通过使原硅酸四乙酯(TEOS)与由胶束棒制成的模板反应来合成中孔二氧化硅纳米颗粒。结果是填充有规则排列的孔的纳米大小球体或棒的集合。然后通过用调节至适当pH的溶剂洗涤来去除模板(参见,例如,特雷温(TREWYN)等人(2007)《化学工程杂志(Chem.Eng.J.)》137(1):23-29)。

[0227] 在某些实施例中,也可以使用简单的溶胶—凝胶方法合成中孔颗粒(参见,例如,南迪亚托(NANDIYANTO)等人(2009)《微孔和中孔材料(Microporous and Mesoporous Mat.)》120(3):447-453)。在某些实施例中,原硅酸四乙酯也可以与另外的聚合物单体一起用作模板。在某些实施例中,使用3-巯基丙基三甲氧基硅烷(MPTMS)代替TEOS。

[0228] 在某些实施例中,中孔二氧化硅纳米颗粒是通过孟(MENG)等人在(2015)《美国化学学会纳米(ACS Nemo),9(4):3540-3557中描述的溶胶/凝胶程序的改进合成的核。

[0229] 虽然本文所述的方法已针对多孔二氧化硅纳米颗粒(例如,中孔二氧化硅)进行了说明,但本领域技术人员将认识到,类似的方法可用于其它多孔纳米颗粒。可用于药物递送纳米颗粒的许多其它中孔材料是本领域技术人员已知的。例如,在某些实施例中,可以使用中孔碳纳米颗粒。

[0230] 中孔碳纳米颗粒是本领域技术人员熟知的(参见,例如,黄(HUANG)等人(2016)《碳(Carbon)》,101:135-142;朱(ZHU)等人(2014)《亚洲药物制剂科学(Asian J.Pharm.Sci.)》,9(2):82-91;等等)。

[0231] 类似地,在某些实施例中,可以使用中孔聚合物颗粒。通过蒸发诱导的自组装策略由三嵌段共聚物与可溶性低分子量酚醛树脂前体(甲阶酚醛树脂)的有机-有机组装合成高度有序的中孔聚合物和碳框架在孟(MENG)等人(2006)《材料化学(Chem.Mat.)》6(18):4447-4464中已进行了报道。

[0232] 本文所述的纳米颗粒是说明性的而非限制性的。使用本文提供的教导,本领域技术人员可以获得许多其它脂质双层包被的纳米颗粒。

[0233] 在一个实施例中,本发明教导了包括IDO前药的纳米载体。

[0234] 在一个实施例中,本发明教导了包括脂质体的纳米载体,其中脂质包括CHEMS。

[0235] 在一个实施例中,本发明教导了包括脂质体的纳米载体,其中脂质包括硬脂酸。

[0236] 在一个实施例中,本发明教导了包括脂质体的纳米载体,其中脂质包括CHEMS,并且其中脂质体进一步包括IDO前药。

[0237] 在一个实施例中,本发明教导了包括脂质体的纳米载体,其中脂质包括CHEMS,并且其中脂质体进一步包括ID3。

[0238] 在一个实施例中,本发明教导了包括脂质体的纳米载体,其中脂质包括硬脂酸,并且其中脂质体进一步包括IDO抑制剂。

[0239] 在一个实施例中,本发明教导了包括脂质体的纳米载体,其中脂质包括硬脂酸,并且其中脂质体进一步包括ID3。

[0240] 本公开的范围教导了使用本发明调配的前药的三(3)种可能的治疗形式。参见,PCT专利公开第W02018/213631号。

[0241] 第一种治疗方式涉及将IDO前药与另一种治疗剂(例如抑制IDO-1的另一种调配的前药、化疗剂(如ICD诱导化疗)等)组合到允许全身(或局部)生物分布和药物递送至肿瘤部位的单个脂质体中。双重递送方法实现了适应性免疫和先天免疫的协同增强,导致动物存活率的显著改善。在某些实施例中,纳米载体包括囊泡(即,封装流体的脂质双层)。

[0242] 第二种治疗方式涉及将抑制IDO-1的药剂与包括IDO-1抑制剂的脂质(例如,脂质体)联合局部递送至肿瘤或肿瘤周围区域。已经证明,IDO-1抑制剂与IDO前药联合的这种局部递送诱导了细胞毒性肿瘤杀伤和局部部位的肿瘤缩小。这些适应性免疫应答伴随着先天免疫系统的增强,如CRT表达所反映的,以及DC群体的激活,特别适合于生成细胞毒性T细胞应答。

[0243] 第三种治疗方式涉及利用死亡癌细胞(例如,KPC细胞)进行疫苗接种,其中离体诱导IDO-1的抑制。发现这种疫苗接种可生成系统免疫应答,其可干扰远处部位的肿瘤生长并允许过继转移至非免疫动物。本领域技术人员将理解并能够执行本文提供的治疗形式的方法。

[0244] VII.) 脂质体

[0245] 在一个方面,本公开的主题基于用于提供本公开的前药(参见,标题为“前药”的章节)的方法,前药适于掺入包括脂质包衣层的纳米载体中以提供相应前药的增强递送和用于提供包含前药的联合疗法。使用本发明的前药的优点包含有助于将受控制剂制成本公开

的LNP(例如脂质体)。这允许前药在全身循环期间保持无活性形式,这允许脂质体在被细胞吞噬后,例如在肿瘤内释放活性剂。

[0246] 在某些实施例中,将一或多种IDO前药(例如,式I中教导的任何一或多种IDO前药抑制剂,和/或ID3)(参见,标题为前药的章节)调配成在水溶液中形成囊泡(例如,脂质体)结构或可形成包括脂质体的脂质双层的组分的脂质部分。脂质体可以直接使用,作为组合制剂中的组分提供(例如,与本文公开的另一种药物部分或治疗形式组合)。

[0247] 在某些实施例中,与IDO前药调配的脂质体包括脂质、PHGP、维生素E、胆固醇和/或脂肪酸。

[0248] 在一个实施例中,脂质体包括胆固醇。

[0249] 在一个实施例中,脂质体包括DPPG。

[0250] 在一个实施例中,脂质体包括DMPG。

[0251] 在一个实施例中,脂质体包括Lyso PC。

[0252] 在一个实施例中,脂质体包括(Δ 9-Cis)PG。

[0253] 在一个实施例中,脂质体包括大豆Lyso PC。

[0254] 在一个实施例中,脂质体包括PG。

[0255] 在一个实施例中,脂质体包括PA-PEG3-甘露糖。

[0256] 在一个实施例中,脂质体包括C16 PEG2000神经酰胺。

[0257] 在一个实施例中,脂质体包括MPLA。

[0258] 在一个实施例中,脂质体包括CHEMS。

[0259] 在一个实施例中,脂质体包括硬脂酸。

[0260] 在一个实施例中,脂质体包括表III中列出的磷脂。

[0261] 在一个实施例中,脂质体包括ID3并且进一步包括CHEMS并且进一步包括LU,其中所述LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0262] 在一个实施例中,脂质体包括ID3并且进一步包括硬脂酸并且进一步包括LU,其中所述LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0263] 在一个实施方案中,脂质体包括ID3并且进一步包括CHEMS并且进一步包括LU,其中所述LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基并且进一步包括表II中列出的辅助脂质。

[0264] 在一个实施例中,脂质体包括ID3并且进一步包括硬脂酸并且进一步包括LU,其中所述LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基并且进一步包括表II中列出的辅助脂质。

[0265] 在一个实施例中,本公开的脂质体包括与一或多种另外的免疫调节剂共同调配的IDO前药,其中免疫调节剂包含但不限于免疫原性细胞死亡诱导化疗药物、tol1受体激动剂、sting激动剂、CTLA4抑制剂、PD-1抑制剂和/或其前药。

[0266] 在优选的实施例中,脂质体包括与ICD诱导化疗药物共同调配的IDO前药。

[0267] 在优选的实施例中,脂质体包括与选自以下列表的ICD诱导化疗药物共同调配的IDO前药:多柔比星(DOX)、米托蒽醌(mitoxantrone,MTO)、奥沙利铂(Oxaliplatin,OXA)、环磷酰胺(Cyclophosphamide,CP)、硼替佐米、卡非佐米或紫杉醇。

[0268] 在优选的实施例中,脂质体包括与Toll受体TLR激动剂/前药共同调配的IDO前药。

[0269] 在优选的实施例中,脂质体包括与选自以下列表的Toll受体(TLR)激动剂共同调配的IDO前药:瑞喹莫德(Resiquimod,R848)、加地喹莫德(Gardiquimod)、852A、DSR 6434、

替拉莫德(Telratolimod)、CU-T12-9、单磷酸脂质A(MPLA)、3D(6-酰基)-PHAD[®]、SMU127、Pam3CSK4或3D-PHAD[®]。

[0270] 在优选的实施例中,脂质体包括与PD-1抑制剂/前药共同调配的IDO前药。

[0271] 在优选的实施例中,脂质体包括与PD-1抑制剂/前药共同调配的IDO前药,其选自以下列表:AUNP12、CA-170或BMS-986189或其前药。

[0272] 在优选的实施例中,脂质体包括与多柔比星(DOX)共同调配的IDO前药。

[0273] 在优选的实施例中,脂质体包括与米托蒽醌(MTO)共同调配的IDO前药。

[0274] 在优选的实施例中,脂质体包括与多柔比星(DOX)和PD-1前药共同调配的IDO前药。

[0275] 在优选的实施例中,脂质体包括与米托蒽醌(MTO)和PD-1前药共同调配的IDO前药。

[0276] 在优选的实施例中,脂质体包括与多柔比星(DOX)和TLR激动剂/前药共同调配的IDO前药。

[0277] 在优选的实施例中,脂质体包括与米托蒽醌(MTO)和TLR激动剂/前药共同调配的IDO前药。

[0278] 在优选的实施例中,脂质体包括与多柔比星(DOX)和PD-1前药和TLR激动剂/前药共同调配的IDO前药。

[0279] 在优选的实施例中,脂质体包括与米托蒽醌(MTO)和PD-1前药和TLR激动剂/前药共同调配的IDO前药。

[0280] 在优选的实施例中,脂质体包括与TLR激动剂/前药共同调配的IDO前药。

[0281] 在优选的实施例中,脂质体包括与TLR激动剂/前药共同调配的IDO前药。

[0282] 在优选的实施例中,脂质体包括与TLR激动剂/前药和PD-1前药共同调配的IDO前药。

[0283] 在优选的实施例中,脂质体包括与TLR激动剂/前药和PD-1前药共同调配的IDO前药。

[0284] 在优选的实施例中,脂质体包括与多柔比星(DOX)共同调配的ID3。

[0285] 在优选的实施例中,脂质体包括与米托蒽醌(MTO)共同调配的ID3。

[0286] 在优选的实施例中,脂质体包括与多柔比星(DOX)和/或与IDO前药和/或TLR激动剂/前药共同调配的ID3。

[0287] 在优选的实施例中,脂质体包括与米托蒽醌(MTO)和/或与IDO前药和/或TLR激动剂/前药共同调配的ID3。

[0288] 在优选的实施例中,脂质体包括与AR5共同调配的ID3。

[0289] 在优选的实施例中,脂质体包括与AR5和TR5共同调配的ID3。

[0290] 在优选的实施例中,脂质体包括与NK1共同调配的ID3。

[0291] 在优选的实施例中,脂质体包括与NK1和MTO共同调配的ID3。

[0292] 在优选的实施例中,脂质体包括与TR3共同调配的ID3。

[0293] 在优选的实施例中,脂质体包括与TR5共同调配的ID3。

[0294] 在优选的实施例中,脂质体包括与TB4共同调配的ID3。

[0295] 在优选的实施例中,脂质体包括与PD3共同调配的ID3。

[0296] 在优选的实施例中,脂质体包括与AR5和TR3共同调配的ID3。

[0297] 在优选的实施例中,脂质体包括与AR5和TB4共同调配的ID3。

[0298] 在优选的实施例中,脂质体包括与AR5和PD3共同调配的ID3。

[0299] 在另一优选的实施例中,脂质体包括固体—脂质纳米颗粒 (SLNP),其包括脂质体,脂质体包括ID0前药。

[0300] 本领域技术人员将理解和了解,溶解度是技术人员在药物开发过程中面临的最常见问题之一。药物/抗癌剂经由脂质分子(即基于脂质的前药)的化学缀合提供了解决将药物调配在水性悬浮液中的问题的平台。用脂质缀合物(基于脂质的前药)递送药物的主要优点在于其改善药代动力学/半衰期和靶向递送的能力。

[0301] 通过合适地选择脂质分子,可以使用本领域已知的技术将基于脂质的前药整合/调配在脂质体制剂中,其具有比常规药物递送系统更多的优点。(科利 (KOHLI) 等人,《控释杂志 (J. Control Release) 》,0:第274至287页(2014年9月28日);和加西亚-皮内尔等人,《纳米材料》9:638(2019)。将脂质—前药与脂质体组合的优点是双重的:(i) 含有脂质—前药的脂质体不仅增加了药物/前药本身的溶解度,而且(ii) 还具有包封多种药物(亲水性和亲脂性药物)的能力(参见,标题为纳米载体的章节)。

[0302] 出于本公开的目的,脂质体制剂的主要优点如下:

[0303] i) 脂质体制剂的生物相容性/可生物降解性和无一般毒性;

[0304] ii) 大小和表面电荷的灵活性和操作取决于所需目的。出于本公开的目的,脂质体制剂可以具有40至150nm直径的大小范围和-40至+40mV范围内的表面电荷;以及

[0305] iii) 本发明的脂质体具有单个或多个脂质前药作为脂质体的组成脂质部分。另外,可以在这些脂质体中调配(在脂质双层中或在亲水性核中)多种药物(例如以不同的作用机制起作用的药物)并具有不同的溶解度曲线(亲水性或亲脂性)。

[0306] 如本领域普通技术人员将理解的,制备脂质体的所有方法涉及四(4)个基本阶段:

[0307] (i) 从有机溶剂中干燥脂质;

[0308] (ii) 将脂质分散在水溶液中;

[0309] (iii) 纯化所得脂质体;以及

[0310] (iv) 分析最终产物。

[0311] 参见,阿克巴扎德 (AKBARZADEH) 等人,《纳米研究快报 (Nanoscale Research Letters) 》,8:102(2013)。

[0312] 本发明的另一方面公开了脂质体包封技术 (LET),其是用于传递药物的递送技术。LET是生成称为脂质体的亚微观泡沫的方法,其包封许多材料。这些“脂质体”在其内含物周围形成屏障,其对在口腔和胃中的酶、碱性溶液、消化液、胆汁盐和人体内生成的肠道菌群以及自由基具有抵抗力。因此,保护脂质体的内容物免于氧化和降解。这种保护性磷脂屏蔽或屏障保持完好无损,直到脂质体的内容物被递送至将利用该内容物的确切靶腺、器官或系统(参见,标题为纳米载体的章节)。

[0313] 在一个实施例中,使用多种不同比率的ID0前药、脂质和/或脂质—前药合成本公开的脂质体。如本文所公开的,ID0前药可以包括如本文所公开的辅助脂质(参见,例如表II)。

[0314] 在一个实施例中,使用多种不同比率的ID0前药、脂质和/或脂质—前药合成本公

开的脂质体。如本文所公开的,IDO前药可以进一步包括DSPE-PEG。

[0315] 在优选的实施例中,本发明的脂质体包括具有以下比率的组合物:

[0316]	脂质体成分	量 (%w/w)
	脂质1 (脂质—前药)	5-60
	脂质2 (脂质—前药)	0-60
	辅助脂质	0-50
	DSPEG-PEG 2000	2-5

[0317] 在另一优选的实施例中,本发明的脂质体包括具有以下比例的组合物:

[0318]	脂质体成分	量 (%w/w)
	脂质1 (脂质—前药)	5-60
	辅助脂质	0-50
	DSPEG-PEG 2000	2-5

[0319] 在另一优选的实施例中,本发明的脂质体包括具有以下比例的组合物:

[0320]	脂质体成分	量 (%w/w)
	脂质1 (脂质—前药)	5-60
	辅助脂质	0-50
	DSPEG-PEG 2000	2-5

[0321] 其中脂质1包括ID3和CHEMS。

[0322] 在另一优选的实施例中,本发明的脂质体包括具有以下比例的组合物:

[0323]	脂质体成分	量 (%w/w)
	脂质1 (脂质—前药)	5-60
	辅助脂质	0-50
	DSPEG-PEG 2000	2-5

[0324] 其中脂质1包括ID3和硬脂酸。

[0325] 本领域的普通技术人员将理解并能够对所公开的实施例进行变化和修改而不改变本文公开的本发明的功能和目的。这些变化和修改都在本公开的范围。

[0326] VIII.) 药物制剂

[0327] 如本文所用,术语“药物”与“药品”同义。在某些实施例中,本公开的脂质体被制成包封剂型并给予患者用于治疗疾病。

[0328] 一般而言,药物制剂是其中将不同化学物质组合成纯原料药以产生最终药物产品的方法。制剂研究涉及开发一种稳定且患者可接受的药物制剂。对于口服药物,这通常涉及将药物掺入片剂或胶囊中。重要的是认识到,除了药物本身之外,剂型还含有多种其它物质,并且必须进行研究以确保药物与这些其它物质相容。

[0329] 赋形剂是用作药物产品(在这种情况下为包括IDO前药的脂质体)的活性成分的载体的非活性物质。另外,赋形剂可用于辅助制造药物产品的过程。然后将活性物质溶解或与赋形剂混合。赋形剂有时也用于填充具有非常有效的活性成分的制剂,以允许方便和精确的剂量。一旦活性成分被纯化,它不能以纯化的形式停留太长的时间。在许多情况下,它会变性,从溶液中析出或粘在容器的侧面上。

[0330] 为了稳定活性成分,添加赋形剂以确保活性成分在足够长的时间段内保持活性和稳定,使得产品的保质期与其它产品相比具有竞争力并且对最终用户安全。赋形剂的实例包含但不限于抗粘剂、粘合剂、包衣、崩解剂、填充剂、稀释剂、调味剂、着色剂、润滑剂和防腐剂。最终制剂包括活性成分和赋形剂,然后将其封装在药物剂型中。

[0331] 预制剂涉及药物的物理、化学和机械性质的表征,以便选择在制剂中应当使用什么其它成分。制剂研究然后考虑如稳定性、粒度、多晶型、pH和溶解度等因素,因为所有这些都影响生物利用度并因此影响药物的活性。药物必须通过确保每个剂量单位(例如每个小瓶)中存在的药物量一致的方法与非活性添加剂组合。剂量应具有均匀的外观。

[0332] 这些研究不太可能在临床试验开始时完成。这意味着最初开发了用于I期临床试验的简单制剂。这些通常由小瓶、含有少量药物和稀释剂的手填充胶囊组成。不需要证明这些制剂的长期稳定性,因为它们将在几天内使用(测试)。然而,长期稳定性在供应链管理中是至关重要的,因为最终制剂从包装到到达患者手中的时间可能长达数月或数年。必须考虑所谓的载药量(即活性药物与剂量总含量的比率)。低载药量可能引起均匀性问题。如果化合物具有低堆积密度,则高载药量可能引起流动问题或需要大胶囊。到III期临床试验完成时,药物的制剂应该已经发展到接近最终将在市场上使用的制剂。

[0333] 在该阶段必需了解稳定性,并且必须开发条件以确保药物在制剂中是稳定的。如果药物证明是不稳定的,则将使临床试验的结果无效,因为不可能知道实际施用的剂量是多少。进行稳定性研究以测试温度、湿度、氧化或光分解(紫外光或可见光)是否具有任何影响,并分析制剂以观察是否形成任何降解产物。检查在制剂和容器之间是否存在任何不希望的相互作用也很重要。如果使用塑料容器,则进行测试以观察是否有任何成分吸附在塑料上,以及是否有任何增塑剂、润滑剂、颜料或稳定剂从塑料浸出到制剂中。甚至需要测试用于容器标签的粘合剂,以确保它们不会通过塑料容器浸出到制剂中。调配药物的方式可以避免与口服施用相关的一些问题。药物通常以片剂或胶囊口服。药物(活性物质)本身需要以受控速率溶于水溶液中。如粒度和晶型等因素会显著影响溶解。快速溶解并不总是理想的。例如,缓慢的溶解速率可以延长作用的持续时间或避免初始的高血浆水平。

[0334] 在一些实施例中,纳米载体(例如,包括IDO前药的脂质体)和/或包括IDO前药并与免疫调节剂共同调配的脂质体单独施用或与根据施用途径和标准药学实践选择的生理学上可接受的载体(如生理盐水或磷酸盐缓冲剂)混合施用。例如,当用作注射剂时,纳米载体可以与药学上可接受的载体一起调配成无菌悬浮液、分散体或乳液。在某些实施例中,生理盐水可用作药学上可接受的载体。其它合适的载体包含例如水、缓冲水、0.4%盐水、0.3%甘氨酸、5%葡萄糖等,包含用于增强稳定性的糖蛋白,如白蛋白、脂蛋白、球蛋白等。在包括盐水或其它含盐载体的组合物中,载体优选地在纳米载体形成后添加。因此,在纳米载体形成并负载合适的药物后,可以将纳米载体稀释到如生理盐水等药学上可接受的载体中。类似地,可以将IDO前药脂质体引入促进纳米材料悬浮的载体中(例如,乳液、稀释液等)。

[0335] 药物组合物可以通过常规的公知灭菌技术灭菌。所得水溶液、悬浮液、分散体、乳液等可以包装使用或在无菌条件下过滤。在某些实施例中,药物递送纳米载体(例如,LB包被的纳米颗粒)被冻干,冻干的制剂在施用前与无菌水溶液组合。该组合物还可以含有接近生理条件所需的药学上可接受的辅助物质,如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂等,例如乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙等。

[0336] 另外,在某些实施例中,药物制剂可以包含脂质保护剂,其保护脂质在储存时免受自由基和脂质过氧化损害。亲脂性自由基淬灭剂,如 α -生育酚和水溶性铁特异性螯合剂,如铁氧胺,在本文中是合适的和预期的。纳米载体(例如,包括IDO前药的脂质体)在药物制剂中的浓度可以广泛地变化,例如,从按重量计小于约0.05%,通常至少约2%至5%至高达10%至50%,或至40%,或至30%,并且根据所选择的特定施用模式主要通过流体体积、粘度等来选择。例如,可以增加浓度以降低与治疗相关的流体负荷。这在患有动脉粥样硬化相关的充血性心力衰竭或严重高血压的患者中可能是特别期望的。替代地,可以将由刺激性脂质组成的纳米载体稀释至低浓度以减轻施用部位的炎症。纳米载体的施用量将取决于所使用的具体药物、所治疗的疾病状态和临床医师的判断,但通常在每千克体重约0.01至约50mg之间,优选地在每千克体重约0.1至约5mg之间。

[0337] 本领域技术人员将理解,确切的剂量将根据如特定的IDO前药和任何共同调配的免疫调节剂和所需的医疗效果等因素以及如年龄、性别、一般状况等患者因素而变化。本领域技术人员可以容易地考虑这些因素并使用它们来建立有效的治疗浓度,而无需借助于过度的实验。

[0338] 对于在本文所述疾病的治疗性、缓解性、延迟性或预防性治疗中施用于人类(或非人类哺乳动物),处方医师将最终确定用于给定人类(或非人类)受试者的药物的适当剂量,并且这可以预期根据个体的年龄、体重和应答以及患者疾病的性质和严重程度而变化。在某些实施例中,由纳米载体提供的药物的剂量可以大约等于游离药物所用的剂量。然而,如上所述,本文所述的纳米载体可能显著降低由此施用的药物的毒性并显著增加治疗窗。因此,在一些情况下,将使用超过游离药物处方剂量的剂量。

[0339] 本领域的普通技术人员将理解并能够对所公开的实施例进行变化和修改而不改变本文公开的本发明的功能和目的。这些变化和修改都在本公开的范围内。

[0340] IX.) 联合治疗

[0341] 如本领域技术人员将理解和了解的,癌细胞生长和存活会受多种信号传导途径影响。因此,将不同的酶/蛋白质/受体抑制剂组合以治疗这些病况是有用的,它们在调节其活性的靶标中表现出不同的偏好。靶向多于一种信号传导途径(或多于一种参与给定信号传导途径的生物分子)可以降低细胞群体中出现耐药性的可能性,和/或降低治疗的毒性。

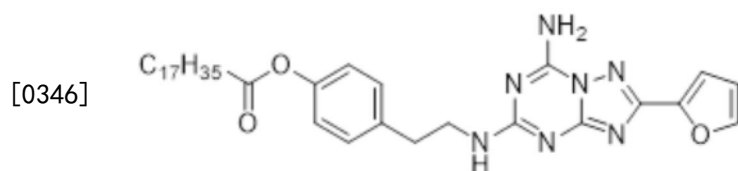
[0342] 因此,包括本公开的IDO前药的脂质体可以与一或多种其它酶/蛋白质/受体抑制剂或一或多种用于治疗如癌症或感染等疾病的疗法联合使用。可用联合疗法治疗的疾病和适应症的实例包含本公开中阐述的那些。癌症的实例包含但不限于实体瘤和液体瘤,如血癌。感染的实例包含病毒感染、细菌感染、真菌感染或寄生虫感染。

[0343] 例如,包括本公开的IDO前药的脂质体可以与一或多种以下激酶的抑制剂组合用于治疗癌症: Akt1、Akt2、Akt3、TGF- β R、PKA、PKG、PKC、CaM-激酶、磷酸化酶激酶、MEKK、ERK、MAPK、mTOR、EGFR、HER2、HER3、HER4、INS-R、IGF-1R、IR-R、PDGF α R、PDGF β R、PI3K(α 、 β 、 γ 、 δ)、CSF1R、KIT、FLK-II、KDR/FLK-1、FLK-4、Flt-1、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、c-Met、Ron、Sea、TRKA、TRKB、TRKC、TAM激酶(Axl、Mer、Tyro3)、FLT3、VEGFR/Flt2、Flt4、EphA1、EphA2、EphA3、EphB2、EphB4、Tie2、Src、Fyn、Lck、Fgr、Btk、Fak、SYK、FRK、JAK、ABL、ALK和B-Raf。

[0344] 在其它实施例中,包括本公开的IDO前药的脂质体可以与一或多种以下抑制剂组合用于治疗癌症或感染。可与本公开的化合物组合用于治疗癌症和感染的抑制剂的非限制

性实例包含FGFR抑制剂(FGFR1、FGFR2、FGFR3或FGFR4,例如,INCB54828、INCB62079和INCB63904)、JAK抑制剂(JAK1和/或JAK2,例如,鲁索替尼(ruxolitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)或INCB39110)、IDO抑制剂(例如,艾卡噪司他(epacadostat)、NLG919或BMS-986205)、LSD1抑制剂(例如,INCB59872和INCB60003)、TDO抑制剂、PI3K- δ 抑制剂(例如,INCB50797和INCB50465)、如PI3K- γ 选择性抑制剂等PI3K- γ 抑制剂、Pim抑制剂(例如,INCB53914)、CSF1R抑制剂、TAM受体酪氨酸激酶(Tyro-3、Axl和Mer)、腺苷受体拮抗剂(例如,A2a/A2b受体拮抗剂)、HPK1抑制剂、如HDAC8抑制剂等组蛋白脱乙酰酶抑制剂(HDAC)、血管生成抑制剂、白介素受体抑制剂、溴和额外末端家族成员抑制剂(例如,溴结构域抑制剂或BET抑制剂,如INCB54329和INCB57643)、如卢卡帕尼(rucaparib)、奥拉帕尼(olaparib)、尼拉帕尼(niraparib)、维利帕尼(veliparib)或他拉唑帕尼(talazoparib)等聚ADP核糖聚合酶(PARP)抑制剂、精氨酸酶抑制剂(INCB01158)、PD-1抑制剂、PD-1/L-1抑制剂、PD-1/L-2抑制剂,和腺苷受体拮抗剂或其组合。

[0345] 在一个实施例中,A2a受体抑制剂包括以下前药化合物(表示为“AR5”):



[0347] 在另一实施例中,包括IDO前药的脂质体进一步包括 α -半乳糖基神经酰胺(α -GalCer)(表示为“NK1”)。

[0348] 另外,包括本公开的IDO前药的脂质体可以进一步与其它治疗癌症的方法组合使用,例如通过化疗、放射疗法、肿瘤靶向疗法、辅助疗法、免疫疗法或手术。

[0349] 免疫疗法的实例包含细胞因子治疗(例如,干扰素、GM-CSF、G-CSF、IL-2)、CRS-207免疫疗法、癌症疫苗、单克隆抗体、过继性T细胞转移、Toll受体激动剂、STING激动剂、溶瘤病毒疗法和免疫调节小分子,包含沙利度胺(thalidomide)或JAK1/2抑制剂等。

[0350] 包括IDO前药的脂质体可以与如化疗药物等一或多种抗癌药物联合施用。化疗药物的实例包含以下任何一种:阿巴瑞克(abarelix)、阿地白介素(aldesleukin)、阿仑单抗(alemtuzumab)、阿利维A酸(alitretinoin)、别嘌呤醇(allopurinol)、六甲蜜胺(altretamine)、阿那曲唑(anastrozole)、三氧化二砷、天冬酰胺酶、阿扎胞苷(azacitidine)、贝伐单抗(bevacizumab)、贝沙罗汀(bexarotene)、巴瑞替尼(baricitinib)、博来霉素、bortezomib、硼替佐米、白消安(busulfan)静脉注射剂、白消安口服剂、卡普罗酮(calusterone)、卡培他滨(capecitabine)、卡铂(carboplatin)、卡莫司汀(carmustine)、西妥昔单抗(cetuximab)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、顺铂(cisplatin)、克拉屈滨(cladribine)、氯法拉滨(clofarabine)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、阿糖胞苷(cytarabine)、达卡巴嗪(dacarbazine)、更生霉素(dactinomycin)、达肝素钠(dalteparin sodium)、达沙替尼(dasatinib)、柔红霉素(daunorubicin)、地西他滨(decitabine)、地尼白介素(denileukin)、地尼白介素-毒素连接物、右雷佐生(dexrazoxane)、多西他赛(docetaxel)、多柔比星、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、依库丽单抗(eculizumab)、表柔比星(epirubicin)、埃罗替尼(erlotinib)、雌莫司汀(estramustine)、依托泊苷磷酸酯、依托泊苷(etoposide)、依

西美坦 (exemestane)、枸橼酸芬太尼 (fentanyl citrate)、非格司亭 (filgrastim)、氟尿苷 (floxuridine)、氟达拉滨 (fludarabine)、氟尿嘧啶 (fluorouracil)、氟维司群 (fulvestrant)、吉非替尼 (gefitinib)、吉西他滨 (gemcitabine)、吉妥单抗 (gemtuzumab ozogamicin)、醋酸性瑞林 (goserelin acetate)、醋酸组氨瑞林 (histrelin acetate)、替伊莫单抗 (ibritumomab tiuxetan)、伊达比星 (idarubicin)、异环磷酰胺、甲磺酸伊马替尼 (imatinib mesylate)、干扰素 α 2a、伊立替康 (irinotecan)、二甲苯磺酸拉帕替尼 (lapatinib ditosylate)、来那度胺、来曲唑 (letrozole)、亚叶酸、醋酸亮丙瑞林 (leuprolide acetate)、左旋咪唑 (levamisole)、洛莫司汀 (lomustine)、美氯乙胺 (meclorothamine)、醋酸甲地孕酮 (megestrol acetate)、美法仑 (melphalan)、巯嘌呤 (mercaptopurine)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、甲氧沙林 (methoxsalen)、丝裂霉素C (mitomycin C)、米托坦 (mitotane)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、苯丙酸诺龙 (nandrolone phenpropionate)、奈拉滨 (nelarabine)、诺非妥莫单抗 (nofetumomab)、奥拉帕尼 (olaparib)、奥沙利铂 (oxaliplatin)、紫杉醇、帕米膦酸钠 (pamidronate)、帕尼单抗 (panitumumab)、培门冬酶 (pegaspargase)、培非格司亭 (pegfilgrastim)、培美曲塞二钠 (pemetrexed disodium)、喷司他丁 (pentostatin)、哌泊溴烷 (pipobroman)、普卡霉素 (plicamycin)、丙卡巴肼 (procarbazine)、奎纳克林 (quinacrine)、拉布立酶 (rasburicase)、利妥昔单抗、鲁索替尼、卢卡帕尼 (rucaparib)、索拉非尼 (sorafenib)、链佐星 (streptozocin)、舒尼替尼 (sunitinib)、马来酸舒尼替尼、它莫昔芬 (tamoxifen)、替莫唑胺 (temozolomide)、替尼泊苷 (teniposide)、睾内酯 (testolactone)、沙利度胺、硫鸟嘌呤 (thioguanine)、噻替派 (thiotepa)、拓扑替康 (topotecan)、托瑞米芬 (toremifene)、托西莫单抗 (tositumomab)、曲妥珠单抗 (trastuzumab)、维A酸 (tretinoin)、尿嘧啶氮芥 (uracil mustard)、戊柔比星 (valrubicin)、长春碱、长春新碱 (vincristine)、长春瑞滨 (vinorelbine)、伏立诺他 (vorinostat)、尼拉帕尼 (niraparib)、维利帕尼 (veliparib)、他拉唑帕尼和唑来膦酸 (zoledronate)。

[0351] 其它抗癌剂包含抗体治疗剂,如曲妥珠单抗 (赫塞汀 (Herceptin))、针对共刺激分子的抗体,如CTLA-4的抗体 (例如,易普利姆玛 (ipilimumab))、4-1BB (例如,乌瑞芦单抗 (urelumab)、乌托鲁单抗 (utomilumab))、针对PD-1和PD-L1/L2的抗体,或针对细胞因子 (IL-10、TGF- β 等)的抗体。

[0352] 可以与本公开的化合物组合用于治疗癌症或如病毒、细菌、真菌和寄生虫感染等感染的PD-1和/或PD-L1/L2的抗体的实例包含但不限于纳武单抗 (nivolumab)、派姆单抗 (pembrolizumab)、MPDL3280A、MEDI-4736和SHR-1210。

[0353] 另外,包括本公开的IDO前药的脂质体可以与一或多种免疫检查点抑制剂组合用于治疗疾病,如癌症或感染。示例性免疫检查点抑制剂包含针对如CD27、CD28、CD40、CD122、CD96、CD73、CD47、OX40、GITR、CSF1R、JAK、PI3K δ 、PI3K γ 、TAM、精氨酸酶、CD137 (也称为4-1BB)、ICOS、A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、LAG3、TIM3、VISTA、PD-1、PD-L1和PD-L2等免疫检查点分子的抑制剂。

[0354] 在一些实施例中,免疫检查点分子是选自CD27、CD28、CD40、ICOS、OX40、GITR和CD137的刺激检查点分子。在进一步的实施例中,免疫检查点分子是选自A2AR、B7-H3、B7-H4、BTLA、CTLA-4、IDO、KIR、LAG3、PD-1、TIM3和VISTA的抑制性检查点分子。在进一步的实施

例中,包括本文提供的IDO前药的脂质体可以与一或多种选自KIR抑制剂、TIGIT抑制剂、LAIR1抑制剂、CD160抑制剂、2B4抑制剂和TGFR β 抑制剂的药剂组合使用。

[0355] X.) 将包括IDO前药的脂质体递送至表达IDO-1的细胞的方法

[0356] 如本领域已知的,使用前药和/或脂质体杀死肿瘤细胞的多种组合物和方法是本领域已知的。在癌症的情况下,典型方法需要向患有肿瘤的哺乳动物施用生物学有效量的本公开的IDO前药和/或包括IDO前药的本公开的脂质体。

[0357] 一个典型的实施例是将治疗剂递送至表达IDO-1的细胞的方法,其包括通过经由连接单元将本公开的药物部分与本公开的脂质缀合来形成IDO前药,以及将细胞暴露于IDO前药。

[0358] 在一个实施例中,IDO前药包括式I的药物部分和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的CHEMS。

[0359] 在一个实施例中,IDO前药包括式I的药物部分和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的硬脂酸。

[0360] 在一个实施例中,IDO前药包括ID3和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的CHEMS。

[0361] 在一个实施例中,IDO前药包括ID3和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的硬脂酸。

[0362] 另一个说明性实施例是治疗怀疑患有转移性癌症的个体的方法,其包括以下步骤:向所述个体肠胃外施用包括治疗有效量的IDO前药的药物组合物,该IDO前药通过经由连接单元将药物部分与本公开的脂质缀合而产生,以及将细胞暴露于IDO前药。

[0363] 在一个实施例中,IDO前药包括式I的药物部分和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的CHEMS。

[0364] 在一个实施例中,IDO前药包括式I的药物部分和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的硬脂酸。

[0365] 在一个实施例中,IDO前药包括ID3和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的CHEMS。

[0366] 在一个实施例中,PD1前药包括ID3和经由包括氢甲基氨基甲酸酯连接基的LU缀合的硬脂酸。

[0367] 本公开的IDO前药、脂质体和共同调配的脂质体抑制IDO-1蛋白质/蛋白质相互作用的活性,并且因此可用于治疗与IDO-1的活性相关的疾病和病症以及与犬尿氨酸途径相关的疾病和病症,包含其与如IDO-2和TD0等其它蛋白质的相互作用。在本公开的其它实施例中,IDO前药、脂质体或其药学上可接受的盐或立体异构体可用于治疗性施用以增强、刺激和/或增加癌症、慢性感染或脓毒症中的免疫力,包含增强对疫苗接种的应答。

[0368] 在进一步的实施例中,本公开提供了一种用于抑制IDO-1T细胞功能的方法。该方法包含向个体或患者施用IDO前药、脂质体和/或本文所述的任何式(例如ID3)的IDO前药、脂质体,或如权利要求中任一项所述和本文所述的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或其药学上可接受的盐或立体异构体。本公开的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药可以单独使用,与其它药剂或疗法组合使用或作为佐剂或新佐剂用于治疗疾病或病症,包含癌症和其它疾病。对于本文所述的用途和方法,可以使用本公开的任何IDO前

药、脂质体和纳米包封的IDO前药,包含其任何实施例。

[0369] 另外,本公开的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药抑制IDO-1犬尿氨酸途径和/或T细胞功能,导致IDO途径阻断。如本领域已知的,IDO在肿瘤发展期间被激活,帮助恶性细胞逃脱免疫系统的根除。参见,芒恩等人,《免疫学趋势》,37(3):193-207(2016)。

[0370] 在其它实施例中,本公开提供了使用IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药或其盐或立体异构体在体内治疗个体或患者,使得癌性肿瘤的生长被抑制。

[0371] IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或本文所述的任何式(例如ID3)的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或如权利要求中任一项所述和本文所述的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或其盐或立体异构体可用于抑制癌性肿瘤的生长。

[0372] 在替代方案中,本公开的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO前药,或本文所述的任何式(例如ID3)的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或如权利要求中任一项所述和本文所述的化合物,或其盐或立体异构体可以与如本公开所述的其它药剂或标准癌症治疗结合使用。

[0373] 在另一实施例中,本公开提供了一种用于体外抑制肿瘤细胞生长的方法。所述方法包含使肿瘤细胞在体外与本公开的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或本文所述的任何式(例如ID3)的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或如权利要求中任一项所述和本文所述的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或其盐或立体异构体接触。

[0374] 在另一实施例中,本公开提供了一种用于抑制患者中肿瘤细胞生长的方法。所述方法包含使肿瘤细胞与本公开的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或本文所述的任何式(例如ID3)的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或如权利要求中任一项所述和本文所述的IDO前药、脂质体和纳米包封的IDO抑制剂前药,或其盐或立体异构体接触。

[0375] XI.) 治疗癌症和其它免疫病症的方法

[0376] 本公开的另一实施例是一种用于治疗癌症的方法。所述方法包括向患者施用治疗有效量的包括本文的IDO前药(即ID3)、如权利要求中任一项所述和本文所述的化合物或其盐的脂质体。癌症的实例包含其生长可使用本公开的IDO抑制剂和本公开的IDO前药抑制的那些和通常对免疫疗法有应答的癌症。

[0377] 在一些实施例中,本公开提供了一种增强、刺激和/或增加患者的免疫应答的方法。所述方法包含向患者施用治疗有效量的IDO前药和/或包括其的脂质体(即ID3)、如权利要求中任一项所述和本文所述的化合物或组合物,或其盐。

[0378] 可使用本公开的包括IDO前药的脂质体、IDO前药和共同调配的脂质体治疗的癌症的非限制性实例包含但不限于骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛门区癌、胃癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌(carcinoma of the endometrium)、子宫内膜癌(endometrial cancer)、宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包含急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病)、儿童实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、

肾癌或尿道癌、肾盂癌、中枢神经系统 (CNS) 肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊髓轴肿瘤、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济氏肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症 (包含由石棉诱导的那些), 以及所述癌症的组合。本公开的化合物也可用于治疗转移性癌症, 尤其是表达IDO-1的转移性癌症。

[0379] 在一些实施例中, 可用本公开的脂质体或IDO前药治疗的癌症包含黑素瘤 (例如, 转移性恶性黑素瘤)、肾癌 (例如透明细胞癌)、前列腺癌 (例如激素难治性前列腺腺癌)、乳腺癌、结肠癌、肺癌 (例如非小细胞肺癌和小细胞肺癌)、鳞状细胞头颈癌、尿道上皮癌 (例如膀胱) 和具有高微卫星不稳定性 (MSI^高) 的癌症。另外, 本公开包含难治性或复发性恶性肿瘤, 其生长可使用本公开的脂质体或IDO前药或共同调配的脂质体来抑制。

[0380] 在另外的实施例中, 可使用本公开的调配的和/或共同调配的脂质体或IDO前药治疗的癌症包含但不限于实体瘤 (例如, 前列腺癌、结肠癌、食道癌、子宫内膜癌、卵巢癌、子宫癌、肾癌、肝癌、胰腺癌、胃癌、乳腺癌、肺癌、头颈癌、甲状腺癌、成胶质细胞瘤、肉瘤、膀胱癌等)、血液癌症 (例如, 淋巴瘤、如急性成淋巴细胞性白血病 (ALL)、急性骨髓性白血病 (AML)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、慢性骨髓性白血病 (CML) 等白血病、DLBCL、套细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤 (包含复发性或难治性NHL和复发性滤泡性)、霍奇金淋巴瘤或多发性骨髓瘤) 和所述癌症的组合。

[0381] 在其它实施例中, 可使用本公开的调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药治疗的癌症包含但不限于胆管癌、胆道癌、三阴性乳腺癌、横纹肌肉瘤、小细胞肺癌、平滑肌肉瘤、肝细胞癌、尤因氏肉瘤、脑癌、脑肿瘤、星形细胞瘤、成神经细胞瘤、神经纤维瘤、基底细胞癌、软骨肉瘤、上皮样肉瘤、眼癌、输卵管癌、胃肠癌、胃肠道间质瘤、毛细胞白血病、肠癌、胰岛细胞癌、口腔癌、口癌、咽喉癌、喉癌、唇癌、间皮瘤、颈癌、鼻腔癌、眼癌、眼黑素瘤、骨盆癌、直肠癌、肾细胞癌、唾液腺癌、窦癌、脊柱癌、舌癌、管状癌、尿道癌和输尿管癌。

[0382] 另外, 在一些实施例中, 本公开的调配的和/或共同调配的脂质体或IDO前药可用于治疗镰状细胞病和镰状细胞贫血。

[0383] 此外, 在一些实施例中, 可使用本公开的调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药治疗的疾病和适应症包含但不限于血液癌症、肉瘤、肺癌、胃肠癌、泌尿生殖道癌、肝癌、骨癌、神经系统癌症、妇科癌症和皮肤癌。

[0384] 示例性血液癌症包含淋巴瘤和白血病, 如急性成淋巴细胞性白血病 (ALL)、急性骨髓性白血病 (AML)、急性早幼粒细胞性白血病 (APL)、慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)、慢性骨髓性白血病 (CML)、弥漫性大B细胞淋巴瘤 (DLBCL)、套细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤 (包含复发性或难治性NHL和复发性滤泡性)、霍奇金淋巴瘤、骨髓增生性疾病 (例如, 原发性骨髓纤维化 (PMF)、真性红细胞增多症 (PV) 和特发性血小板增多症 (ET))、脊髓发育不良综合征 (MDS)、T细胞急性成淋巴细胞性淋巴瘤 (T-ALL) 和多发性骨髓瘤 (MM)。

[0385] 示例性肉瘤包含软骨肉瘤、尤因氏肉瘤、骨肉瘤、横纹肌肉瘤、血管肉瘤、纤维肉瘤、脂肪肉瘤、粘液瘤、横纹肌瘤、横纹肉瘤、纤维瘤、脂肪瘤、错构瘤和畸胎瘤。

[0386] 示例性肺癌包含非小细胞肺癌 (NSCLC)、小细胞肺癌、支气管癌 (鳞状细胞、未分化小细胞、未分化大细胞、腺癌)、肺泡 (细支气管) 癌、支气管腺瘤、软骨瘤性错构瘤和间皮瘤。

[0387] 示例性胃肠癌包含食道癌 (鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃癌 (癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胰腺癌 (导管腺癌、胰岛素瘤、胰高血糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、胰脂

瘤)、小肠癌(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波济氏肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠癌(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤)和结肠直肠癌。

[0388] 示例性泌尿生殖道癌症包含肾癌(腺癌、威尔姆氏瘤[肾母细胞瘤])、膀胱癌和尿道癌(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺癌(腺癌、肉瘤)和睾丸癌(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎性癌、畸形恶瘤、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样肿瘤、脂肪瘤)。

[0389] 示例性肝癌包含肝细胞瘤(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤和血管瘤。

[0390] 示例性骨癌包含例如成骨肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、软骨肉瘤、尤因氏肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨外生骨肉瘤)、良性软骨瘤、成软骨细胞瘤、软骨粘液纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤。

[0391] 示例性神经系统癌症包含颅骨(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄瘤、畸形性骨炎)、脑膜(脑膜瘤、脑膜肉瘤、神经胶质瘤病)、脑(星形细胞瘤、髓母细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、生殖细胞瘤(松果体瘤)、成胶质细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、少突神经胶质瘤、神经鞘瘤、成视网膜细胞瘤、先天性肿瘤)和脊髓(神经纤维瘤、脑膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤)的癌症,以及成神经细胞瘤和小脑发育不良性神经节细胞瘤。

[0392] 示例性妇科癌症包含子宫癌(子宫内膜癌)、子宫颈癌(宫颈癌、肿瘤前子宫颈发育不良)、卵巢癌(卵巢肿瘤(浆液性囊腺癌、粘液性囊腺癌、未分类的癌)、颗粒层—子宫细胞肿瘤、支持间质细胞肿瘤、无性细胞瘤,恶性畸胎瘤)、外阴癌(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑素瘤)、阴道癌(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄状肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤)和输卵管癌)。

[0393] 示例性皮肤癌包含黑素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波济氏肉瘤、胎块发育不良痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤和瘢痕瘤。在一些实施例中,可使用本公开的化合物治疗的疾病和适应症包含但不限于镰状细胞病(例如,镰状细胞贫血)、三阴性乳腺癌(TNBC)、骨髓增生异常综合征、睾丸癌、胆管癌、食道癌和尿道上皮癌。

[0394] 另外,用本公开的调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药阻断IDO-1和/或犬尿氨酸途径也可用于治疗感染,如病毒、细菌、真菌和寄生虫感染。

[0395] 本公开提供了一种用于治疗如病毒感染等感染的方法。该方法包含向患者施用治疗有效量的如权利要求中任一项所述和本文所述的调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药或本文所述的任何式(即ID3),及其盐。

[0396] 可通过本公开的方法治疗的引起感染的病毒的实例包含但不限于人类免疫缺陷病毒、人乳头瘤病毒、流感、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒或丁型肝炎病毒、腺病毒、痘病毒、单纯疱疹病毒、人类巨细胞病毒、严重急性呼吸综合征病毒、埃博拉病毒和麻疹病毒。在一些实施例中,可通过本公开的方法治疗的引起感染的病毒包含但不限于肝炎(甲型、乙型或丙型)、疱疹病毒(例如,VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II和CMV、爱泼斯坦巴尔病毒)、腺病毒、流感病毒、黄病毒、艾柯病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒、冠状病毒、呼吸道合胞体病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、痘苗病毒、HTLV病毒、登革病毒、乳头瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒和虫媒脑炎病毒。

[0397] 另外,本公开提供了一种用于治疗细菌感染的方法。该方法包含向患者施用治疗有效量的如权利要求中任一项所述和本文所述的调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药,或如本文所述的任何式(即ID3),或其盐。

[0398] 可通过本公开的方法治疗的引起感染的病原菌的实例包括但不限于衣原体、立克次氏体细菌、分枝杆菌、葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌、脑膜炎球菌和球菌、克雷伯氏菌、变形杆菌、沙雷氏菌、假单胞菌、军团菌、白喉、沙门氏菌、杆菌、霍乱、破伤风、肉毒杆菌中毒、炭疽、鼠疫、钩端螺旋体病和莱姆病细菌。

[0399] 另外,本公开提供了一种用于治疗真菌感染的方法。该方法包含向患者施用治疗有效量的如权利要求中任一项所述和本文所述的调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药,或如本文所述的任何式(即ID3),或其盐。

[0400] 可通过本公开的方法治疗的引起感染的病原性真菌的实例包含但不限于念珠菌(白色念珠菌、克柔氏念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌等)、新型隐球菌、曲霉菌(烟曲霉、尼日尔曲霉等)、毛霉菌属(毛霉菌、犁头霉属、根毛霉)、申克孢子丝菌、皮炎芽生菌、巴西副球孢子菌、粗球孢子菌和荚膜组织胞浆菌。

[0401] 另外,本公开提供了一种用于治疗寄生虫感染的方法。该方法包含向患者施用治疗有效量的如权利要求中任一项所述和本文所述的调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药,或如本文所述的任何式(即ID3),或其盐。

[0402] 可通过本公开的方法治疗的引起感染的病原性寄生虫的实例包含但不限于溶组织内阿米巴、结肠小袋纤毛虫、福氏耐格里阿米巴、棘阿米巴属、蓝氏贾第鞭毛虫、隐孢子虫、卡氏肺孢子虫、间日疟原虫、田鼠巴贝虫、布氏锥虫、克氏锥虫、杜氏利什曼原虫、弓形虫和巴西日圆线虫。

[0403] 在本公开范围内的另一组实施例中,调配和/或共同调配的脂质体或IDO前药或本文所述的任何式(即ID3)可用于预防或降低发展本公开中提及的任何疾病的风险;例如,在可能易患疾病、病况或病症但尚未经历或显示疾病的病理学或症状学的个体中预防或降低发展疾病、病况或病症的风险。

[0404] XII.) 试剂盒/制品

[0405] 对于用于本文所述的实验室、预后、预防、诊断和治疗应用,试剂盒在本发明的范围内。这种试剂盒可以包括载体、包装或容器,其被分隔以容纳一或多个容器,如小瓶、管等,每个容器包括在该方法中使用的单独元件之一,以及包括使用说明书(如本文所述的用途)的标签或插页。例如,容器可以包括调配的和/或共同调配的脂质体,其被或可以被可检测地标记和/或负载有本公开的IDO前药。试剂盒可以包括容器,其包括药物单元。试剂盒可以包含全部或部分调配的和/或共同调配的脂质体和/或IDO前药。

[0406] 本发明的试剂盒通常包括上述容器和与其相关的一或多个其它容器,这些容器包括从商业和使用者的角度来看所希望的材料,包含缓冲剂、稀释剂、过滤器、针头、注射器;载有内容物和/或使用说明书的载体、包装、容器、小瓶和/或管标签,以及具有使用说明书的包装插页。

[0407] 标签可以存在于容器上或容器中,以指示组合物用于特定疗法或非治疗应用,如预后、预防、诊断或实验室应用,并且还可以指示体内或体外使用的说明,如本文所述的那些。说明书和/或其它信息也可以包含在与试剂盒一起包含或在试剂盒上的插页或标签上。

标签可以在容器上或与容器相关联。当形成标签的字母、数字或其它字符被模制或蚀刻到容器本身中时,标签可以在容器上;当标签存在于也容纳容器的容器或载体内时,标签可以与容器相关联,例如作为包装插页。标签可以指示组合物用于诊断、治疗、预防或预测病况,如癌症或其它免疫病症。

[0408] 术语“试剂盒”和“制品”可以用作同义词。

[0409] 在本发明的另一实施例中,含有组合物(如调配的和/或共同调配的脂质体和/或ID0前药)的制品在本公开的范围。制品通常包括至少一个容器和至少一个标签。合适的容器包含例如瓶子、小瓶、注射器和试管。容器可以由各种材料形成,如玻璃、金属或塑料。容器可以容纳负载有ID0前药的调配的和/或共同调配的脂质体。

[0410] 替代地,容器可以容纳有效治疗、诊断、预测或预防病况的组合物,并且可以具有无菌入口(例如,容器可以是静脉内注射溶液袋或具有可被皮下注射针头刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的活性剂可以调配和/或共同调配负载有本文公开的ID0前药和/或ID0前药的脂质体。

[0411] 制品可以进一步包括第二容器,其包括药学上可接受的缓冲剂,如磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和/或葡萄糖溶液。它可以进一步包含从商业和用户的角度来看所希望的其它材料,包含其它缓冲剂、稀释剂、过滤器、搅拌器、针头、注射器和/或具有使用说明和/或说明书的包装插页。

[0412] 示例性实施例

[0413] 在所提供的实施例中:

[0414] 1) 一种ID0前药组合物,其包括:

[0415] (i) 药物部分;

[0416] (ii) 脂质部分;以及

[0417] (iii) 连接单元(“LU”),

[0418] 其中所述药物部分包括ID0拮抗剂,并且其中所述LU将所述药物部分与所述脂质部分缀合。

[0419] 2) 根据权利要求1所述的ID0前药,其进一步包括式I中所示的化学结构。

[0420] 3) 根据权利要求1所述的ID0前药,其中所述药物部分包括如ID3所示的化学结构。

[0421] 4) 根据权利要求1所述的ID0前药,其中所述LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0422] 5) 根据权利要求1所述的ID0前药,其中所述脂质部分包括表I中所示的脂质。

[0423] 6) 根据权利要求1所述的ID0前药,其中所述脂质部分包括表III中所示的脂质。

[0424] 7) 根据权利要求1所述的ID0前药,其中所述脂质部分包括CHEMS。

[0425] 8) 根据权利要求1所述的ID0前药,其中所述脂质部分包括硬脂酸。

[0426] 9) 一种ID0前药组合物,其包括:

[0427] (i) 药物部分,其中所述药物部分包括ID3;

[0428] (ii) 脂质部分,其中所述脂质部分包括CHEMS;以及

[0429] (iii) LU,其中所述LU包括氢甲基氨基甲酸酯连接基。

[0430] 10) 一种ID0前药组合物,其包括:

[0431] (i) 药物部分,其中所述药物部分包括ID3;

[0432] (ii) 脂质部分,其中所述脂质部分包括硬脂酸;以及

- [0433] (iii)LU,其中所述LU包括氢甲基氨基甲酸酯连接基。
- [0434] 11) 一种包括IDO前药的脂质体,其中所述脂质体在LU裂解后释放活性IDO抑制剂。
- [0435] 12) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述LU是氢甲基氨基甲酸酯连接基。
- [0436] 13) 根据权利要求11所述的脂质体,其进一步包括辅助脂质,其中所述辅助脂质如表II所示。
- [0437] 14) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括ID3。
- [0438] 15) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述脂质体进一步与免疫调节剂共同调配,其中所述免疫调节剂选自免疫原性细胞死亡诱导化疗药物、tol1受体激动剂、STING激动剂、CTLA-4抑制剂、PD-1/PD-L1抑制剂和/或其前药组成的组。
- [0439] 16) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述脂质体进一步与ICD诱导化疗药物共同调配,其中所述ICD诱导化疗药物选自DOX、MT0、OXA、CP、硼替佐米、卡非佐米或紫杉醇组成的组。
- [0440] 17) 根据权利要求11所述的脂质体,其进一步包括DOX。
- [0441] 18) 根据权利要求11所述的脂质体,其进一步包括MT0。
- [0442] 19) 根据权利要求11所述的脂质体,其进一步包括DOX。
- [0443] 20) 根据权利要求11所述的脂质体,其进一步包括MT0。
- [0444] 21) 一种包括根据权利要求11所述的脂质体的试剂盒。
- [0445] 22) 一种包括根据权利要求15所述的脂质体的试剂盒。
- [0446] 23) 一种包括根据权利要求16所述的脂质体的试剂盒。
- [0447] 24) 一种治疗患有或被诊断患有癌症的受试者的方法,其包括:
- [0448] (i) 向需要此类治疗的受试者施用有效量的脂质体,其中所述脂质体包括IDO前药;以及
- [0449] (ii) 其药学上可接受的盐。
- [0450] 25) 根据权利要求24所述的方法,其中所述IDO前药包括ID3。
- [0451] 26) 根据权利要求24所述的方法,其中所述脂质体包括进一步与ICD诱导化疗药物共同调配的ID3。
- [0452] 27) 根据权利要求24所述的方法,其中所述脂质体包括进一步与免疫调节剂共同调配的ID3。
- [0453] 28) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与AR5共同调配的ID3。
- [0454] 29) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与AR5和TR5共同调配的ID3。
- [0455] 30) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与NK1共同调配的ID3。
- [0456] 31) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与NK1和MT0共同调配的ID3。
- [0457] 32) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与TR3共同调配的ID3。
- [0458] 33) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与TR5共同调配的ID3。
- [0459] 34) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与TB4共同调配的ID3。
- [0460] 35) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与PD3共同调配的ID3。
- [0461] 36) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述IDO前药包括与AR5和TR3共同调配的

ID3。

[0462] 37) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述ID0前药包括与AR5和TB4共同调配的ID3。

[0463] 38) 根据权利要求11所述的脂质体,其中所述ID0前药包括与AR5和PD3共同调配的ID3。

[0464] 实例:

[0465] 通过以下几个实例进一步描述和说明本发明的各个方面,这些实例均不旨在限制本发明的范围。

[0466] 实例1:包括胆固醇半琥珀酸酯(“CHEMS”)的受保护的ID3前药的一般化学合成。

[0467] 使用以下方案合成包括CHEMS的受保护的ID3前药的化学合成。首先,喹啉(1)和硼酸盐(2)(巴林德(BARLIND, J.G.)等人,《药物化学杂志(J. Med. Chem.)》55:10610-10629(2012))与碳酸铯和PEPPSI-IPr催化剂在二噁烷/水中在100°C下偶联,得到中间体3。然后,中间体3在碳钨上氢化,得到中间体4。然后,中间体4在50°C下与氢氧化锂在乙醇水溶液中水解,得到中间体5。接下来,将中间体5与手性助剂(6)在THF中与三乙胺和新戊酰氯偶联,并分离非对映体,得到中间体7。然后,在-50°C下在THF中用甲基碘和NaHMDS将中间体7烷基化,得到中间体8。然后,在0°C下在THF水溶液中用LiOH和过氧化氢将手性助剂从中间体8裂解,得到中间体9。然后,在乙酸乙酯中用多磷酸酐和吡啶使中间体9与苯胺(10)偶联,得到中间体11。然后,在THF中用试剂(12)处理中间体11,随后用碘化钠处理,得到中间体13。最后,将中间体13用CHEMS(14)的银盐在THF中回流处理,得到最终的ID3前药。(图1)。

[0468] 实例2:ID3前药中间体的化学合成。

[0469] 以下列方式进行ID3前药的化学合成。在-70°C下向ID3药物部分(6.00g, 14.6mmol, 1.00当量)于THF(60mL)中的溶液中添加LiHMDS(1M, 29.2mL, 2.00当量),并将反应混合物在-70°C下搅拌0.5小时。然后在-78°C下将化合物1(3.24g, 25.1mmol, 2.23mL, 1.72当量)于THF(10mL)中的溶液添加到混合物中,并在-78°C再搅拌1小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=2:1)显示ID3药物部分($R_f=0.2$)被消耗,并形成一个新的斑点($R_f=0.6$)。将反应混合物倒入饱和 NH_4Cl 水溶液(150mL)中并用乙酸乙酯(100mL*2)萃取。合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并浓缩,得到粗化合物2(7.60g, 粗品),其为黄色油状物。所得化合物示于图2中。

[0470] 实例3:ID3前药中间体的替代化学合成。

[0471] 在另一实验中,以下列方式进行ID3前药的替代化学合成。在-70°C下向ID3药物部分(3.00g, 7.30mmol, 1.00当量)于THF(30.0mL)中的溶液中添加LiHMDS(1M, 14.6mL, 2.00当量)。然后将反应混合物在-70°C搅拌0.5小时。然后在-70°C将化合物3a(6.57g, 51.0mmol, 4.53mL, 6.98当量)于THF(15.0mL)中的溶液添加到混合物中并再搅拌1小时。 ^1H NMR显示ID3药物部分是正确的。LCMS显示药物部分被完全消耗,检测到所需的MS($\text{RT}=0.877$ 分钟)。将混合物倒入饱和 NH_4Cl 溶液(200mL)中并用乙酸乙酯(200mL*3)萃取。将合并的有机物用盐水(200mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并浓缩,得到粗产物。得到化合物3(4.00g, 粗品),其为黄色油状物。所得化合物示于图3中。

[0472] 实例4:包括硬脂酸的ID3前药的化学合成。

[0473] 在另一实验中,以下列方式合成包括硬脂酸的ID3前药。在25°C下向硬脂酸

(3.39g, 11.9mmol, 4.01mL, 0.80当量)于DMF (400mL)中的溶液中添加 Ag_2CO_3 (6.16g, 22.3mmol, 1.01mL, 1.50当量)。将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。然后向混合物中添加化合物2 (图2) (7.50g, 14.9mmol, 1.00当量)和NaI (3.35g, 22.3mmol, 1.50当量)。添加后,将反应混合物在80℃下再搅拌12小时。LCMS显示反应完成,检测到所需质量 ($\text{RT}=1.309$ 分钟)。将反应混合物冷却至25℃并通过硅藻土垫过滤并用DCM (300mL)洗涤。将滤液在50℃浓缩,得到粗产物。通过反相MPLC (TFA条件)纯化粗产物,然后减压浓缩,得到粗产物。将粗产物通过柱色谱法 (SiO_2 , 石油醚:乙酸乙酯=5:1至2:1, $R_f=0.5$)纯化,其通过TLC (石油醚:乙酸乙酯=2:1, $R_f=0.5$, PMA)检测,以得到 (2.36g, 3.09mmol, 20.7%产率, 98.3%纯度),其为黄色固体物,将其通过 ^1H NMR、 ^{19}F NMR、LCMS、HPLC和SFC确认。所得化合物示于图7中。

[0474] 实例5:包括胆固醇半琥珀酸酯 (“CHEMS”)的ID3前药的化学合成。

[0475] 在另一实验中,以下列方式合成包括胆固醇半琥珀酸酯 (“CHEMS”)的ID3前药。简言之,将胆固醇半琥珀酸酯 (5.80g, 11.9mmol, 1.50当量)和 Ag_2CO_3 (3.29g, 11.9mmol, 540 μL , 1.50当量)于DMF (15.0mL)中的混合物在25℃下搅拌0.5小时。在25℃下向混合物中添加在DMF (15.0mL)中的化合物3 (图3) (4.00g, 7.95mmol, 1.00当量)和NaI (1.43g, 9.54mmol, 1.20当量)。将混合物在80℃下搅拌16小时。LCMS显示化合物3被完全消耗,检测到所需的MS ($\text{RT}=1.286$ 分钟)。过滤混合物以收集滤液。浓缩滤液,得到粗产物。将粗产物通过柱色谱法 (硅胶, 乙酸乙酯/石油醚=1/10至1/4)进行纯化以得到主要斑点 (石油醚/乙酸乙酯=2/1, $R_f=0.4$)。获得粗化合物 (靶标2) (3.00g, 3.15mmol, 39.6%产率),其为浅黄色固体状。所得化合物示于图8中。

[0476] 实例6:LNP-ID3脂质体的合成和表征。

[0477] 在另一实验中,以下列方式合成包括ID3前药的脂质体 (表示为LNP-ID3)。简言之,在乙醇中以20mg/ml的浓度制备LNP-ID3的每种脂质组分的储备溶液。因此,以上述浓度制备乙醇储备溶液氢化大豆PC [(HSPC:L- α -磷脂酰胆碱, 氢化(大豆))]、胆固醇和DSPE-PEG (1, 2-二硬脂酰-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[氨基(聚乙二醇)-2000]。在乙腈中制备ID3前药 (20mg/ml)的储备溶液。将每种脂质组分 (HSPC、CHOL、DSPE-PEG和ID3前药)以51:27:17:5的摩尔比混合在一起以合成LNP-ID3。脂质体LNP-ID3的大小取决于多种参数,如脂质混合物的(i)流速、(ii)温度和(iii)浓度。在50℃下预热摩尔比为51:27:17:5的脂质混合物的优化比例。含有1mM PBS缓冲剂的水相也在50℃下预热,然后以3:1 (水相:有机相,脂质混合物)的流速通过微流体盒 (Precision NanoSystems, Inc.)。使用去除12KDa大小的透析膜 (西格玛奥德里奇公司 (Sigma Aldrich))对DI水去除溶剂至少24小时。透析用水在24小时内至少更换5次,以优化溶剂的去除。去除溶剂后,使用Amicon离心过滤装置 (大小10Kda, 3000g)浓缩LNP-ID3。

[0478] 使用Malvern Zetasizer (美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司 (Malvern Instrumentation Co., Westborough, MA, USA))测定LNP-ID3脂质体的表征。简言之,将两 (2)ml的LNP-ID3脂质体 (脂质体的浓度为0.5至1mg/ml)置于4侧透明塑料比色皿中并在25℃下直接分析。图9中所示的结果显示纳米颗粒的Zav大小为约80nm, PDI为约0.203。

[0479] 另外,使用Malvern zeta seizer仪器 (美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司)测定水性分散体中LNP-ID3脂质体的 ζ 电位。简言之,将约一 (1)ml的脂质体 (浓度约2mg/ml, 于20mM NaCl)置于可用于Zetasizer中的一次性毛细管 ζ 电位池中。在25℃下进

行测量。结果显示LNP-ID3的 ζ 电位测定为约-11.6mV(图10)。

[0480] 实例7:LNP-AR5-ID3脂质体的合成和表征。

[0481] 在另一实验中,以下列方式合成并表征包括ID3前药和A2a受体抑制剂前药(AR5)的脂质体(表示为LNP-AR5-ID3)。简言之,合成使用摩尔比为52:27:8:8:5的HSPC:CHOL:AR5:ID3:DSPE-PEG,其中AR5:ID3的摩尔比固定在1:1。将摩尔比为52:27:8:8:5的脂质混合物的优化比例在55至60°C下预热。脂质混合物的最终浓度为2.5mg/ml。含有1mM PBS缓冲剂的水相也在55至60°C下预热,然后以3:1(水相:有机相,脂质混合物)的流速通过微流体盒(Precision NanoSystems, Inc.)。使用去除12KDa大小的透析膜(西格玛奥德里奇公司)对DI水去除溶剂最少24小时。透析用水在24小时内至少更换5次,以优化溶剂的去除。去除溶剂后,使用Amicon离心过滤装置(截留大小10Kda, 3000g)浓缩LNP-AR5-ID3。

[0482] 使用Malvern Zetasizer(美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司)测定LNP-AR5-ID3脂质体的表征。简言之,将两(2)ml的LNP-AR5-ID3脂质体(脂质体的浓度为0.5至1mg/ml)置于4侧透明塑料比色皿中并在25°C下直接分析。图11中所示的结果显示纳米颗粒的Zav大小为约91nm, PDI为约0.212。

[0483] 另外,使用Malvern zeta seizer仪器(美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司)测定水性分散体中LNP-AR5-ID3脂质体的 ζ 电位。简言之,将约一(1)ml的脂质体(浓度约2mg/ml, 于20mM NaCl)置于可用于Zetasizer中的一次性毛细管 ζ 电位池中。在25°C下进行测量。结果显示LNP-AR5-ID3的 ζ 电位测定为约-14.1mV(图12)。

[0484] 实例8:LNP-AR5-TR5-ID3脂质体的合成和表征。

[0485] 在另一实验中,以下列方式合成并表征包括ID3前药、A2a受体抑制剂前药(AR5)和替拉莫德(TR5)的脂质体(表示为LNP-AR5-TR5-ID3)。简言之,HSPC、CHOL、DSPE-PEG、AR5前药的脂质储备溶液。单独在乙醇(20mg/ml)中制备TR5。此外,在乙腈(20mg/ml)中制备ID3前药储备溶液。合成使用摩尔比为51.6:27:7:2.4:7:5的HSPC:CHOL:AR5:TR5:ID3:DSPE-PEG。将摩尔比为51.6:27:7:2.4:7:5的脂质混合物的优化比例在55至60°C下预热。前药AR5在脂质混合物中的最终浓度为0.625mg/ml。含有1mM PBS缓冲剂的水相也在55至60°C下预热,然后以4.5:1(水相:有机相,脂质混合物)的流速通过微流体盒(Precision NanoSystems, Inc.)。使用去除12KDa大小的透析膜(西格玛奥德里奇公司)对DI水去除溶剂最少24小时。透析用水在24小时内至少更换5次,以优化溶剂的去除。去除溶剂后,使用Amicon离心过滤装置(截留大小10Kda, 3000g)浓缩LNP-AR5-TR5-ID3。

[0486] 使用Malvern Zetasizer(美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司)测定LNP-AR5-TR5-ID3脂质体的表征。简言之,将两(2)ml的LNP-AR5-TR5-ID3脂质体(脂质体的浓度为0.5至1mg/ml)置于4侧透明塑料比色皿中并在25°C下直接分析。图13中所示的结果显示纳米颗粒的Zav大小为约96nm, PDI为约0.117。

[0487] 另外,使用Malvern zeta seize仪器(美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司)测定水性分散体中LNP-AR5-TR5-ID3脂质体的 ζ 电位。简言之,将约一(1)ml的脂质体(浓度约2mg/ml, 于20mM NaCl)置于可用于Zetasizer中的一次性毛细管 ζ 电位池中。在25°C下进行测量。结果显示LNP-AR5-TR5-ID3的 ζ 电位测定为约-20.5mV(图14)。

[0488] 实例9:LNP-ID3-NK1脂质体的合成和表征。

[0489] 在另一实验中,以下列方式合成并表征包括ID3前药和 α -半乳糖基神经酰胺(α -

GalCer) (NK1) 的脂质体 (表示为LNP-ID3-NK1)。简言之,在乙腈中制备ID3前药 (20mg/ml) 的储备溶液,在DSMO中制备NK1 (10mg/ml) 的储备溶液。制备摩尔比为51:29:16:0.085:4的HSPC、CHOL、ID3、NK1和DSPE-PEG的脂质混合物,混合适当量的所有脂质储备溶液,然后进一步用乙醇稀释以获得10mg/ml的脂质浓度。使用微流化器将该脂质混合物在50℃下预热。类似地,含有1mM PBS缓冲剂的水相也在50℃下预热,然后以3:1 (水相:有机相,脂质混合物) 的流速通过微流体盒 (Precision NanoSystems, Inc.)。因此, ID3:NK1的摩尔比保持12:1的比率。使用去除12KDa大小的透析膜 (西格玛奥德里奇公司) 对DI水去除溶剂最少24小时。透析用水在24小时内至少更换5次,以优化溶剂的去除。去除溶剂后,使用Amicon离心过滤装置 (截留大小10KDa, 3000g) 浓缩LNP-ID3-NK1。

[0490] 使用Malvern Zetasizer (美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司) 测定LNP-ID3-NK1脂质体的表征。简言之,将两 (2) ml的LNP-ID3-NK1脂质体 (脂质体的浓度为0.5至1mg/ml) 置于4侧透明塑料比色皿中并在25℃下直接分析。图15中所示的结果显示纳米颗粒的Zav大小为约80nm, PDI为约0.189。

[0491] 另外,使用Malvern zeta seizer仪器 (美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司) 测定水性分散体中LNP-ID3-NK1脂质体的ζ电位。简言之,将约一 (1) ml的脂质体 (浓度约2mg/ml, 于20mM NaCl) 置于可用于Zetasizer中的一次性毛细管ζ电位池中。在25℃下进行测量。结果显示LNP-ID3-NK1的ζ电位测定为约-13.1mV (图16)。

[0492] 实例10: 负载米托蒽醌的LNP-ID3-NK1脂质体的合成和表征。

[0493] 在另一实验中,以下列方式合成并表征包括负载有米托蒽醌 (MT0) 的LNP-ID3-NK1的脂质体 (表示为LNP-ID3-NK1-MT0)。简言之,在DI水中制备MT0 (0.6mg/ml) 的储备溶液。将十 (10) ml的该储备溶液添加到20ml的含有300mM硫酸铵溶液的LNP-ID3-NK1制剂中,并在40℃下温育2小时。孵育2小时后,透析含有MT0的整个脂质体溶液 (12KDa透析膜, 8小时透析时间) 以去除游离MT0 (即未掺入脂质体中)。透析后,使用Amicon离心过滤装置 (截留大小10KDa, 2500g) 浓缩负载MT0的LNP-ID3-NK1 (LNP-ID3-NK1-MT0)。

[0494] 使用Malvern Zetasizer (美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司) 测定LNP-ID3-NK1-MT0脂质体的表征。简言之,将两 (2) ml的LNP-ID3-NK1-MT0脂质体 (脂质体的浓度为0.5至1mg/ml) 置于4侧透明塑料比色皿中并在25℃下直接分析。图17中所示的结果显示纳米颗粒的Zav大小为约90nm, PDI为约0.084。

[0495] 另外,使用Malvern zeta seizer仪器 (美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司) 测定水性分散体中LNP-ID3-NK1-MT0脂质体的ζ电位。简言之,将约一 (1) ml的脂质体 (浓度约2mg/ml, 于20mM NaCl) 置于可用于Zetasizer中的一次性毛细管ζ电位池中。在25℃下进行测量。结果显示LNP-ID3-NK1-MT0的ζ电位测定为约-11.6mV (图18)。

[0496] 实例11: LNP-ID3-NK1-MT0脂质体包封率和负载率的测定。

[0497] 在另一实验中, LNP-ID3-NK1-MT0脂质体包封率和负载率通过将脂质体崩解并用紫外—可见 (UV-vis) 光谱以下列方式测量MT0来测定。简言之,在通过透析分离出游离MT0后,用二甲亚砜使脂质体崩解。使用下式测定包封率:

[0498] 包封率 (%) = $[MT0]_f / [MT0]_t \times 100$

[0499] 其中 $[MT0]_f$ 是包封在LNP-ID3-NK1中的MT0的浓度并且 $[MT0]_t$ 是MT0的总浓度 (意指最初添加的MT0的总量: 负载+游离)。然后使用Nanodrop 2000C UV-vis分光光度计测定MT0

浓度。发现MT0在LNP-ID3-NK1-MT0中的包封率为约94%。另外,使用下式测定LNP-ID3-NK1-MT0中MT0的负载率:

$$[0500] \quad \text{负载率}(\%) = [\text{MT0}]_{\text{fw}} / [\text{LNP-ID3-NK1-MT0}]_{\text{fw}} \times 100$$

[0501] $[\text{MT0}]_{\text{fw}}$ 是包封在MT0中的MT0的总重量并且 $[\text{LNP-ID3-NK1-MT0}]_{\text{fw}}$ 是包封MT0的LNP-ID3-NK1 (LNP-ID3-NK1-MT0) 的总重量。发现MT0在LNP-ID3-NK1-MT0中的负载率为约4.1%w/w。

[0502] 实例12:使用B16F10细胞对LNP-ID3与其它脂质体组合的体内肿瘤抑制。

[0503] 使用以下方案进行LNP-ID3与本公开的多种不同脂质体的组合的评估。简言之,将鼠黑素瘤B16F10细胞(细胞 (0.2×10^6))皮下接种于C57BL/6小鼠的右后肋腹区域。用载体对照、3mg/kg的LNP-MT0(脂质体形式的米托蒽醌二盐酸盐)、3mg/kg的脂质体形式的LNP-ID3和LNP-TB4(TGF- β 抑制剂—硬脂酸)的组合、3mg/kg的LNP-ID3和LNP-TR6(脂质体形式的TLR1/2激动剂—CHEMS)的组合以及3mg/kg的LNP-MT0、LNP-ID3和LNP-TB4的组合通过静脉注射每周两次治疗动物。使用卡尺在两个维度上测量肿瘤体积3次,并且使用下式计算体积: $V = (L \times W \times W) \times 0.5$,其中V是肿瘤体积,L是肿瘤长度(最长肿瘤尺寸),W是肿瘤宽度(垂直于L的最长肿瘤尺寸)。基于第十六(16)天的肿瘤大小数据计算肿瘤生长抑制(TGI)。

[0504] 结果显示LNP-MT0作为单一药剂的治疗显示抗肿瘤活性,当与载体组相比时,计算的TGI为32.56% ($p < 0.05$)。另外,与载体组相比,LNP-TB4+LNP-MT0+LNP-ID3的联合治疗具有显著的抗肿瘤活性,TGI为32.86% (均 $p < 0.05$)。(图19)。

[0505] 实例13:使用B16F10细胞对LNP-ID3与LNP-AR5组合的体内肿瘤抑制。

[0506] 在另一实验中,使用以下方案进行LNP-ID3与LNP-AR5组合的评估。简言之,将鼠黑素瘤B16F10细胞(细胞 (0.2×10^6))皮下接种于C57BL/6小鼠的右后肋腹区域。用载体对照、3mg/kg的LNP-AR5以及3mg/kg的LNP-AR5和LNP-ID3的组合通过静脉注射每周两次治疗动物。使用卡尺在两个维度上测量肿瘤体积3次,并且使用下式计算体积: $V = (L \times W \times W) \times 0.5$,其中V是肿瘤体积,L是肿瘤长度(最长肿瘤尺寸),W是肿瘤宽度(垂直于L的最长肿瘤尺寸)。基于第十五(15)天的肿瘤大小数据计算肿瘤生长抑制(TGI)。

[0507] 结果显示,与载体组相比,LNP-AR5+LNP-ID3的联合治疗具有显著温和的抗肿瘤活性,TGI为35.89% (均 $p < 0.05$)。(图20)。

[0508] 实例14:使用B16F10细胞对LNP-ID3-NK1的体内肿瘤抑制。

[0509] 在另一实验中,使用以下方案进行LNP-ID3-NK1的评估。简言之,将鼠黑素瘤B16F10细胞(细胞 (0.2×10^6))皮下接种于C57BL/6小鼠的右后肋腹区域。用载体对照、2mg/kg的LNP-MT0(脂质体形式的米托蒽醌二盐酸盐)、3/0.25mg/kg的LNP-ID3-NK1(以1:12比率的脂质体形式)、3mg/kg的LNP-MT0和3/0.25mg/kg的LNP-ID3-NK1的组合,以及3/0.25mg/kg的LNP-ID3-NK1和5mg/kg的PD3(脂质体形式的PD-1受体抑制剂—胆固醇)的组合通过静脉注射每周两次治疗动物。使用卡尺在两个维度上测量肿瘤体积3次,并且使用下式计算体积: $V = (L \times W \times W) \times 0.5$,其中V是肿瘤体积,L是肿瘤长度(最长肿瘤尺寸),W是肿瘤宽度(垂直于L的最长肿瘤尺寸)。基于第十八(18)天的肿瘤大小数据计算肿瘤生长抑制(TGI)。

[0510] 结果显示,与载体组相比,用LNP-ID3-NK1、LNP-MT0+LNP-ID3-NK1和LNP-ID3-NK1+LNP-PD3的治疗引起显著的肿瘤生长抑制,计算的TGI分别在42.71%和54.31%之间 ($p < 0.05$)。(图21)。

[0511] 实例15:使用CT26细胞对LNP-ID3和LNP-ID3-NK1的体内肿瘤抑制。

[0512] 在另一实验中,使用以下方案进行LNP-ID3和LNP-ID3-NK1的评估。简言之,将鼠结肠癌CT26细胞(细胞 (0.1×10^6))皮下接种于Balb/C小鼠的右后肋腹区域。用载体对照、3mg/kg的LNP-DOX(脂质体形式的多柔比星)、3mg/kg的LNP-ID3、0.25mg/kg的LNP-NK1、3mg/kg的LNP-DOX和LNP-ID3的组合、3/0.25mg/kg的LNP-ID3-NK1(以1:12比率),以及3mg/kg的LNP-DOX和3/0.25mg/kg的LNP-ID3-NK1的组合通过静脉注射每周两次治疗动物。使用卡尺在两个维度上测量肿瘤体积3次,并且使用下式计算体积: $V = (L \times W \times W) \times 0.5$,其中V是肿瘤体积,L是肿瘤长度(最长肿瘤尺寸),W是肿瘤宽度(垂直于L的最长肿瘤尺寸)。当载体治疗组的平均肿瘤大小达到超过2500mm³时(肿瘤接种后第27天),终止研究。基于第二十七(27)天的肿瘤大小数据计算肿瘤生长抑制(TGI)。

[0513] 结果显示,与载体组相比,用LNP-DOX、LNP-DOX+LNP-ID3、LNP-DOX+LNP-ID3-NK1治疗引起显著的TGI($p < 0.01$)。TGI分别记录为91%、80%和89.2%。(图22)。

[0514] 实例16:使用CT26细胞对LNP-ID3的体内肿瘤抑制。

[0515] 在另一实验中,使用以下方案进行LNP-ID3的评估。将小鼠结肠癌CT26细胞(细胞 (0.1×10^6))皮下接种于Balb/C小鼠的右后肋腹区域。用载体对照、3mg/kg的LNP-DOX(脂质体形式的多柔比星)、3mg/kg的LNP-ID3、3mg/kg的LNP-DOX和LNP-ID3的组合、3mg/kg的LNP-ID3和0.25mg/kg的LNP-NK1的组合、3mg/kg的LNP-ID3和LNP-TR6的组合、3mg/kg的LNP-ID3和4mg/kg的LNP-TR5的组合,以及3mg/kg的LNP-ID3和2mg/kg的LNP-TR8(脂质体形式的3D-6-酰基-PHAD)通过静脉注射每周两次治疗动物。使用卡尺在两个维度上测量肿瘤体积3次,并且使用下式计算体积: $V = (L \times W \times W) \times 0.5$,其中V是肿瘤体积,L是肿瘤长度(最长肿瘤尺寸),W是肿瘤宽度(垂直于L的最长肿瘤尺寸)。

[0516] 结果显示,LNP-DOX单独或与LNP-ID3组合通过显著延长CT26荷瘤小鼠的存活提供治疗益处。(图23)。

[0517] 实例17:使用MC-38细胞对LNP-ID3的体内肿瘤抑制。

[0518] 在另一实验中,使用以下方案进行LNP-ID3的进一步评价。将小鼠结肠腺癌MC-38细胞(细胞 (1×10^6))皮下接种于C57BL/6小鼠的右后肋腹区域。用载体对照、组合、4mg/kg的LNP-DOX(脂质体形式的多柔比星)、10mg/kg的抗PD1抗体、4mg/kg的LNP-ID3和LNP-AR5的组合、4mg/kg的LNP-DOX+LNP-ID3+LNP-AR5的组合,以及第一次剂量为3.5mg/kg的LNP-ID3、3.5mg/kg的LNP-AR5和4mg/kg的LNP-TR5和其余剂量为2mg/kg的组合通过静脉注射每周两次治疗动物。动物仅接受两个剂量的LNP-DOX,然后用载体对照替代。使用卡尺在两个维度上测量肿瘤体积3次,并且使用下式计算体积: $V = (L \times W \times W) \times 0.5$,其中V是肿瘤体积,L是肿瘤长度(最长肿瘤尺寸),W是肿瘤宽度(垂直于L的最长肿瘤尺寸)。基于第十九(19)天的肿瘤大小数据计算肿瘤生长抑制(TGI)。

[0519] 结果显示,与载体组相比,用LNP-DOX、LNP-DOX+LNP-ID3+LNP-AR5和LNP-ID3+LNP-AR5治疗显示出显著的TGI($p < 0.05$)。TGI分别记录为74.39%、90.40%和73.77%。(图24)。

[0520] 实例18:使用H22细胞对LNP-ID3与LNP-AR5组合的体内肿瘤抑制。

[0521] 在另一实验中,使用以下方案进行LNP-ID3与LNP-AR5组合的评估。简言之,将鼠肝细胞癌H22细胞(细胞 (2×10^6))皮下接种于Balb/C小鼠的右后肋腹区域。用载体对照和4mg/kg的LNP-ID3和LNP-AR5的组合通过静脉注射每周两次治疗动物。使用卡尺在两个维度上测

量肿瘤体积3次,并且使用下式计算体积: $V=(L \times W \times W) \times 0.5$,其中V是肿瘤体积,L是肿瘤长度(最长肿瘤尺寸),W是肿瘤宽度(垂直于L的最长肿瘤尺寸)。基于第十四(14)天的肿瘤大小数据计算肿瘤生长抑制(TGI)。

[0522] 结果显示,与载体相比,LNP-ID3+LNP-AR5引起TGI。TGI记录为43.28%。(图25)。

[0523] 实例19:IDO-1活性的测量。

[0524] 使用犬尿氨酸水平,使用以下方案间接测量IDO-1活性。简言之,将hIDO1-HEK293重组细胞铺板过夜。第二天,将细胞不处理或用10uM的ID3、ID3-SA或LNP-ID3-SA处理24小时。通过使用IDO1细胞活性快速检测试剂盒TM(加州圣地亚哥的PBS生物科学公司(PBSBioscience, San Diego, CA))分析480nm处的吸收来间接测量犬尿氨酸水平,从而测量IDO-1活性。

[0525] 结果显示,未经处理的细胞显示高水平的IDO-1活性,并且用ID3、ID3-SA和LNP-ID3-SA处理抑制了IDO-1活性。这些结果证实了前药和脂质体形式中的ID3活性。(图26)。

[0526] 实例20:SLNP-AR5-TR5-ID3固体—脂质纳米颗粒的合成和表征。

[0527] 在另一实验中,使用Moliwol 488(聚乙烯醇)作为乳化剂,使用以下方案制备包括ID3-AR5-TR5的固体—脂质纳米颗粒(“SLNP”)(表示为SLNP-ID3-AR5-TR5。简言之,分别在乙醇(20mg/ml)中制备HSPC、CHOL、DSPE-PEG、TR5的脂质储备溶液。在乙腈(20mg/ml)中制备ID3前药储备溶液。将摩尔比为51.6:27:7:2.4:7:5的HSPC、CHOL、AR5、TR5、ID3和DSPE-PEG的脂质混合物混合在一起,然后用乙醇稀释以获得5mg/ml的脂质浓度。使用微流化器中的加热块附件在50℃下加热该脂质混合物。类似地,含有2%Moliwol 488溶液的水相也在50℃下预热,然后以4:1(水相:有机相,脂质混合物)的流速通过微流体盒(Precision NanoSystems, Inc.)。使用截留大小约12KDa(西格玛奥德里奇公司)的透析膜对DI水去除溶剂至少24小时。透析用水在24小时内至少更换5次,以最大化溶剂的去除。去除溶剂后,使SLNP通过0.2微米滤膜(乙酸纤维素)。使用Amicon离心过滤装置(截留大小10KDa, 3000g)浓缩SLNP-AR5-TR5-ID3。

[0528] 使用Malvern Zetasizer(美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司)测定SLNP-AR5-ID3-TR5固体—脂质纳米颗粒的表征。简言之,将两(2)ml的SLNP-AR5-ID3-TR5(浓度为1mg/ml)置于4侧透明塑料比色皿中并在25℃下直接分析。图27中所示的结果显示纳米颗粒的Zav大小为约106nm, PDI为约0.171。

[0529] 另外,使用Malvern zeta seizer仪器(美国马萨诸塞州韦斯特伯勒的马尔文仪器有限公司)测定水性分散体中SLNP-AR5-ID3-TR5固体—脂质纳米颗粒的ζ电位。简言之,将约一(1)ml的纳米制剂(浓度约3mg/ml,于DI水)置于可用于Zetasizer的一次性毛细管ζ电位池中。在25℃下进行测量。结果显示SLNP-AR5-ID3-TR5的ζ电位测定为约9.87mV(图28)。

[0530] 实例21:通过使用包括IDO前药的调配和/或共同调配的脂质体治疗人类癌症的人类临床试验。

[0531] 根据本发明使用含有IDO前药的调配和/或共同调配的脂质体,其特异性地在肿瘤细胞中积聚并且用于治疗某些肿瘤和其它免疫病症和/或其它疾病。关于这些适应症中的每一种,成功地进行了两种临床方法。

[0532] I.) 辅助疗法:在辅助疗法中,用含有IDO前药的调配和/或共同调配的脂质体与化疗药物或药物或生物药剂或其组合的联合治疗患者。在标准方案下通过添加含有IDO前药

的调配和/或共同调配的脂质体来治疗原发性癌症靶标。方案设计解决了通过以下实例评估的有效性,包括但不限于原发性或转移性损伤的肿瘤块的减少、增加的无进展存活、总存活率、患者健康的改善、疾病稳定,以及减少常规剂量的标准化疗和其它生物剂的能力。通过减少化学治疗药物或生物剂的剂量相关毒性,这些剂量减少允许额外和/或延长的治疗。

[0533] II.) 单一疗法:关于含有ID0前药的调配的和/或共同调配的脂质体在肿瘤的唯一疗法中的用途,将含有ID0前药的调配的和/或共同调配的脂质体在没有化疗药物或药物或生物制剂的情况下施用于患者。在一个实施例中,临床上在患有广泛转移性疾病的晚期癌症患者中进行单一疗法。方案设计解决了通过以下实例评估的有效性,包括但不限于原发性或转移性损伤的肿瘤块的减少、增加的无进展存活、总存活率、患者健康的改善、疾病稳定,以及减少常规剂量的标准化疗和其它生物剂的能力。

[0534] 剂量

[0535] 可以调整剂量方案以提供最佳的所需应答。例如,可以施用含有ID0前药的单一调配的和/或共同调配的脂质体,可以随时间施用几个分开的剂量,或者可以根据治疗情况的紧急程度按比例减少或增加剂量。本文所用的“剂量单位形式”是指适合作为用于待治疗的哺乳动物受试者的单位剂量的物理离散单位;每个单位含有经计算可产生所需治疗效果的预定量的活性化合物以及所需的药物载体。本发明的剂量单位形式的规格由以下规定且直接取决于以下:(a) 含有ID0前药的调配的和/或共同调配的脂质体的独特特征、(b) 组合化合物(如果有的话)的单独机制、(c) 要达到的特定治疗或预防作用,以及(d) 混配此类化合物用于治疗个体中的敏感性的领域中固有的限制。

[0536] 临床开发计划(CDP)

[0537] CDP遵循并开发了与辅助疗法或单一疗法结合使用含有ID0前药的调配和/或共同调配的脂质体的治疗。试验最初证明了安全性,之后证实了重复剂量的功效。试验是比较标准化疗和/或当前治疗标准加上含有ID0前药的调配和/或共同调配的脂质体的开放标签。应当理解,可用于患者入组的一个非限制性标准是通过本领域已知的标准检测方法测定的肿瘤中ID0-1的表达。

[0538] 据信,调配和/或共同调配的脂质体或本文公开的任何实施例可以具有令人满意的药理学特性和有前景的生物药学特性,如毒理学特性、代谢和药代动力学特性、溶解度和渗透性。应当理解,合适的生物药学性质的测定在本领域技术人员知识范围内,例如测定细胞中的细胞毒性或抑制某些靶标或通道以测定潜在的毒性。

[0539] 本发明的范围不限于本文公开的实施例,这些实施例旨在作为本发明的单独方面的单个说明,并且功能上等同的任何实施例在本发明的范围内。除了本文描述的那些之外,对本发明的模型、方法和生命周期方法的各种修改对于本领域技术人员从前面的描述和教导将变得显而易见,并且类似地旨在落入本发明的范围内。在不脱离本发明的真实范围和精神的情况下,可以实践此类修改或其它实施例。

[0540] 表I. 脂质的实例。

编号	缩写	名称/化学式
1	CHOL	胆固醇
2	DPPG•Na	1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸-(1'-外消旋甘油)(钠盐)
3	DMPG•Na	1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油基-3-磷酸-(1'-外消旋甘油)(钠盐)

[0542]

4	Lyso PC	1-癸酰基-2-羟基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱
5	($\Delta 9$ -顺式) PG	1,2-二油酰基-sn-甘油基-3-磷酸-(1'-外消旋甘油)(钠盐)
6	大豆 Lyso PC	L- α -溶血磷脂酰胆碱(大豆)
7	PG	1,2-二月桂酰基-sn-甘油基-3-磷酸-(1'-外消旋甘油)(钠盐)
8	PA-PEG3-甘露糖	1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸((乙基-1',2',3'-三唑)三甘醇甘露糖)(铵盐)
9	C16 PEG2000 神经酰胺	N-棕榈酰基-鞘氨醇-1-{琥珀酰基[甲氧基(聚乙二醇)2000]}
10	MPLA	单磷脂脂质 A

[0543] 表II. 辅助脂质的实例。

[0544]

编号	缩写	名称
1	DOTAP	1,2-二油酰基-3-三甲基铵-丙烷(氯化物盐)
2	DODMA	1,2-二油酰氧基-3-二甲基氨基丙烷
3	DLinDMA	1,2-二亚油酰氧基-3-二甲基氨基丙烷
4	DLin-KC2-DMA	2,2-二亚油酰基-4-二甲基氨基乙基-[1,3]-二氧戊环
5	$\Delta 9$ -顺式 PE (DOPE)	1,2-二油酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺
6	DOPC	1,2-二油酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱
7	CHOL	胆固醇
8	PEG-C-DMA	N-[(甲氧基聚(乙二醇)2000)氨甲酰基]-1,2-二肉豆蔻酰氧基丙基-3-胺
9	CHEMS	胆固醇半琥珀酸酯
10	DPPC	1,2-二棕榈酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱
11	DSPC	1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸胆碱
12	MO-CHOL	4-(2-氨基乙基)-吗啉代-胆固醇半琥珀酸酯

[0545] 表III. 磷脂/脂肪酸的实例。

[0546]

编号	名称
1	油酸
2	亚麻酸
3	花生四烯酸
4	二十二碳六烯酸(DHA)
5	棕榈酸
6	棕榈油酸
7	硬脂酸
8	二十碳五烯酸(EPA)
9	DSPE-PEG(2000)羧酸(1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[羧基(聚乙二醇)])
10	DOPE-PEG(2000)羧酸(1,2-二油酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-[羧基(聚乙二醇)-2000](钠盐))

受保护ID3的化学合成

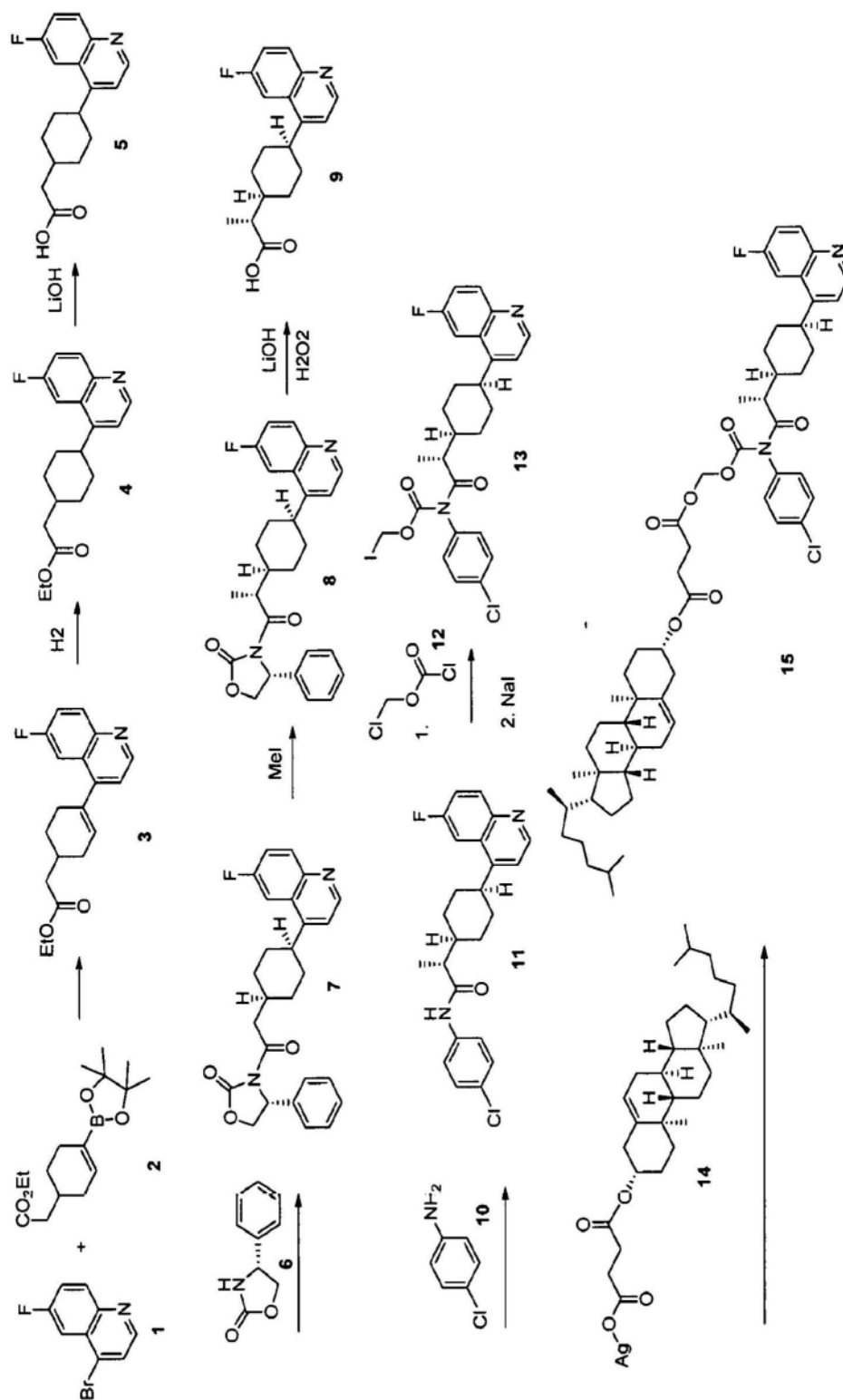


图1

ID3前药中间体的化学合成

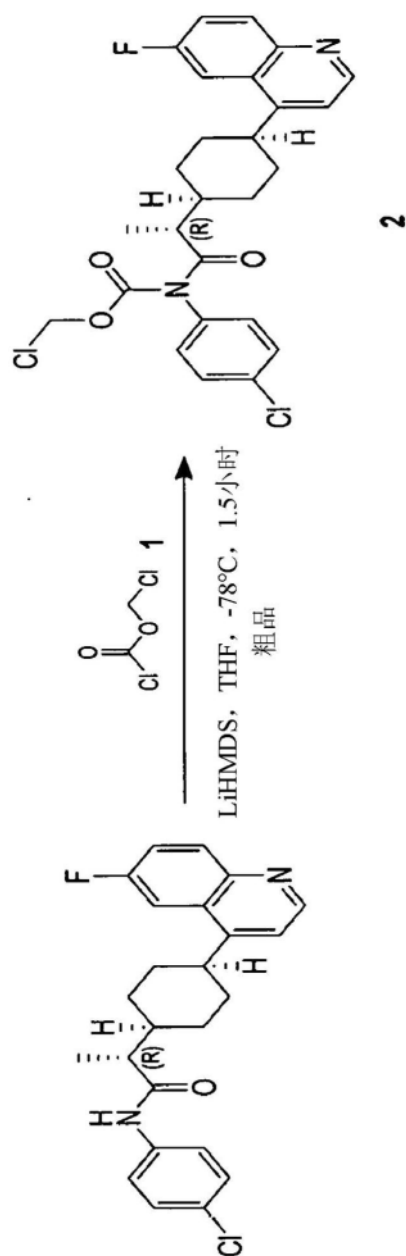


图2

ID3前药中间体的化学合成

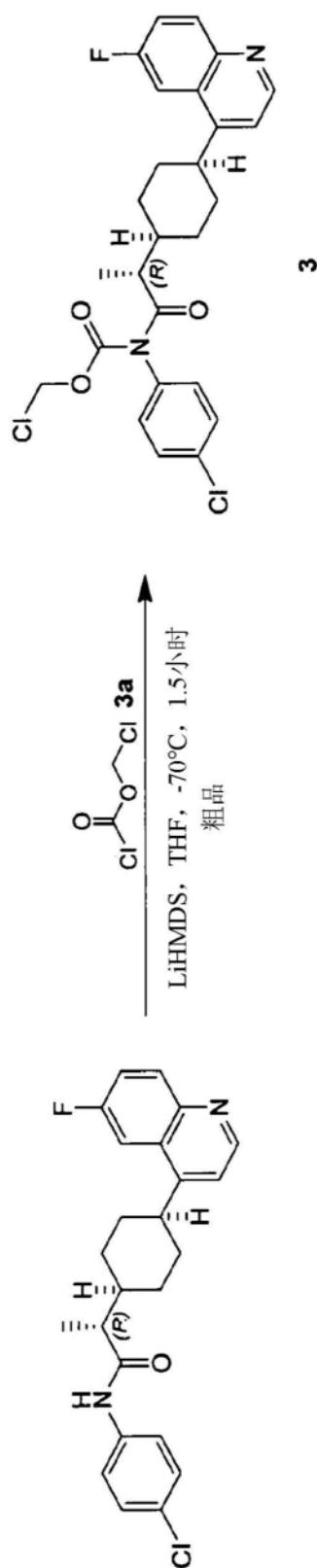


图3

具有羧酸官能度的IDO抑制剂前药合成方案

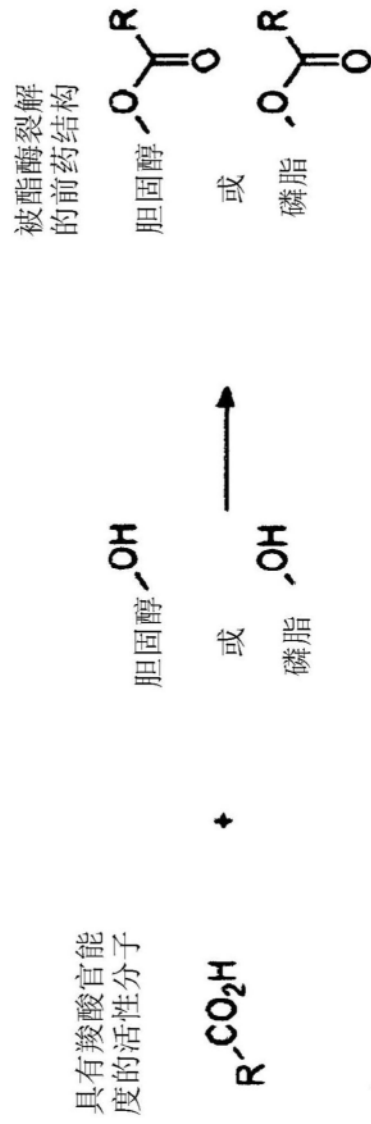


图4

具有醇官能度的IDO抑制剂前药合成方案

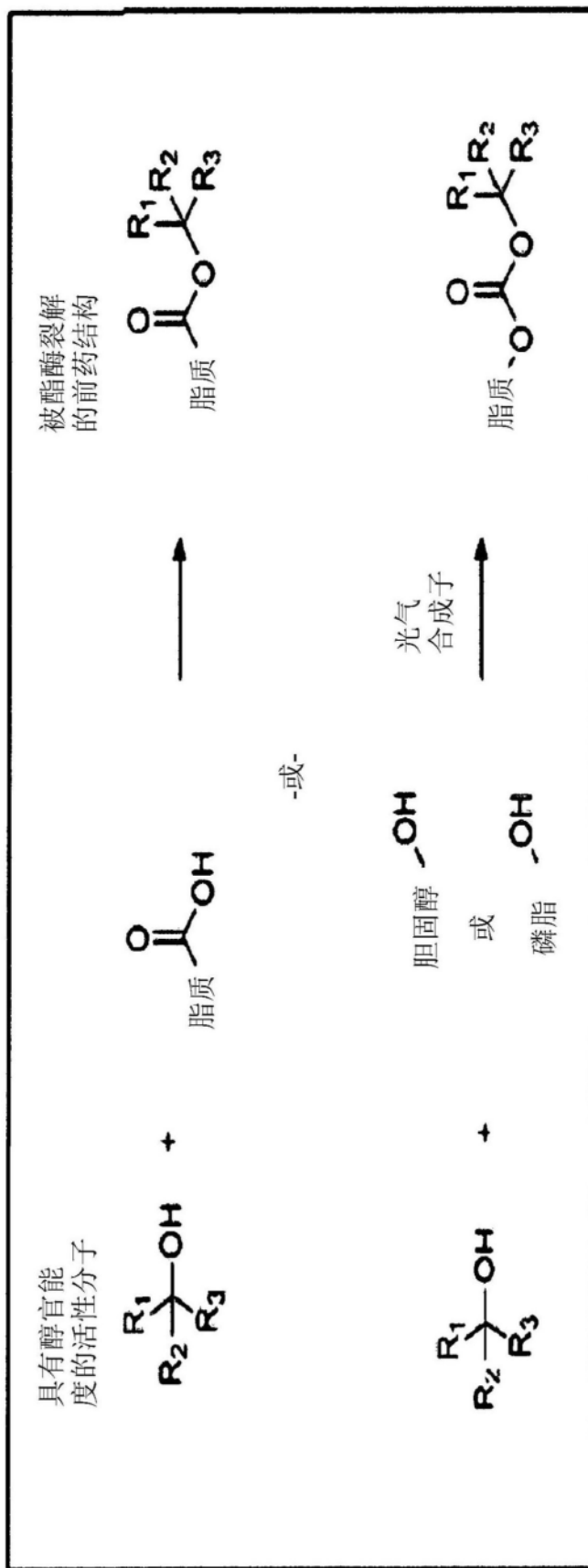


图5

具有仲胺、酰胺或苯胺官能度的IDO抑制剂前药合成方案

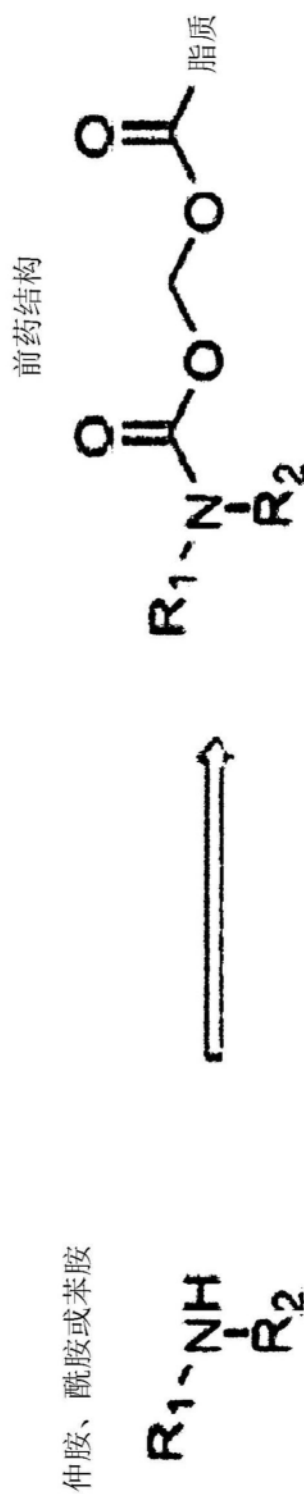


图6

包括硬脂酸的ID3前药的化学合成

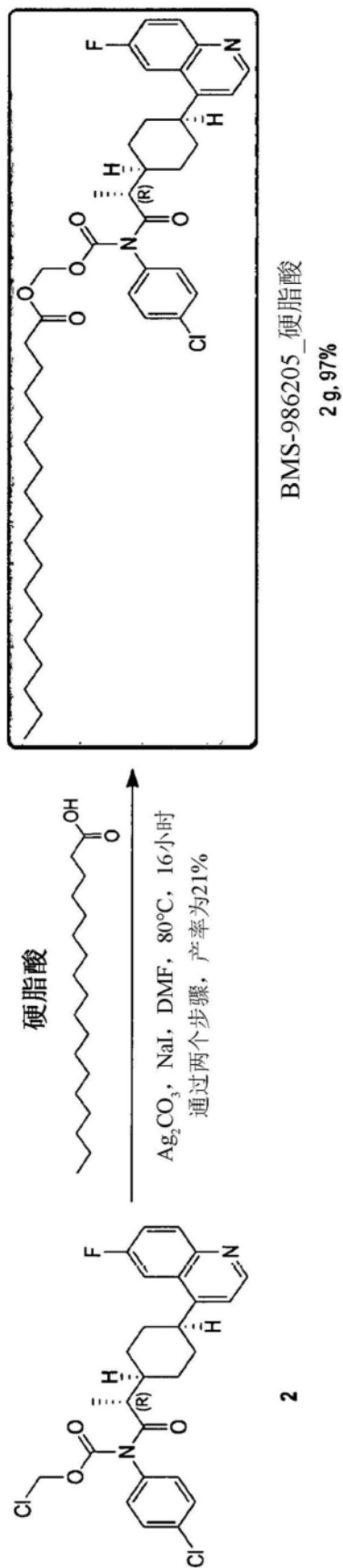
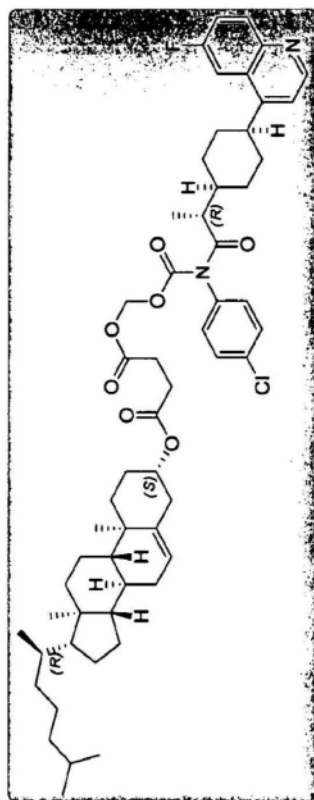
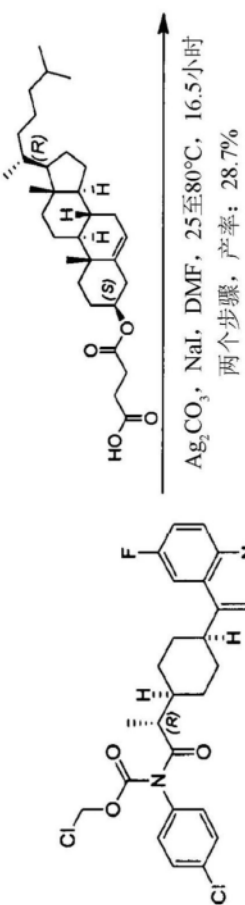


图7

包括胆固醇半琥珀酸酯(“CHEMS”)的ID3前药的化学合成

胆固醇半琥珀酸酯



靶标2

3

图8

LNP-ID3脂质体的表征

Z-平均值(直径nm): 80.46		大小(直径nm):		标准偏差(直径nm):	
Pdl: 0.203		峰1:	95.07	%强度:	43.31
截距: 0.972		峰2:	4655		818.4
结果质量: 良好		峰3:	0.000		0.000

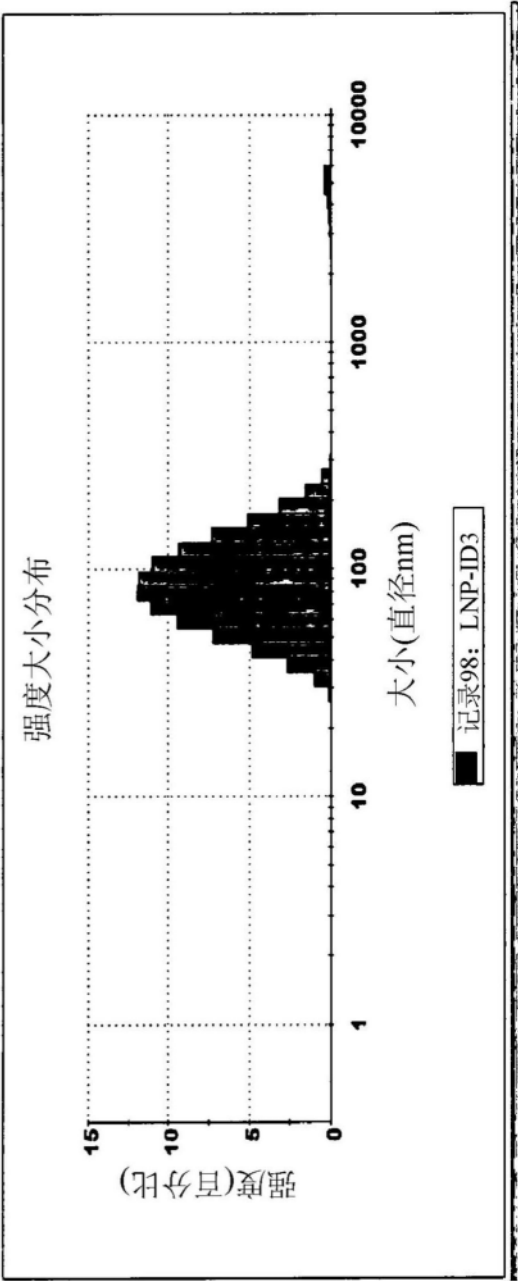


图9

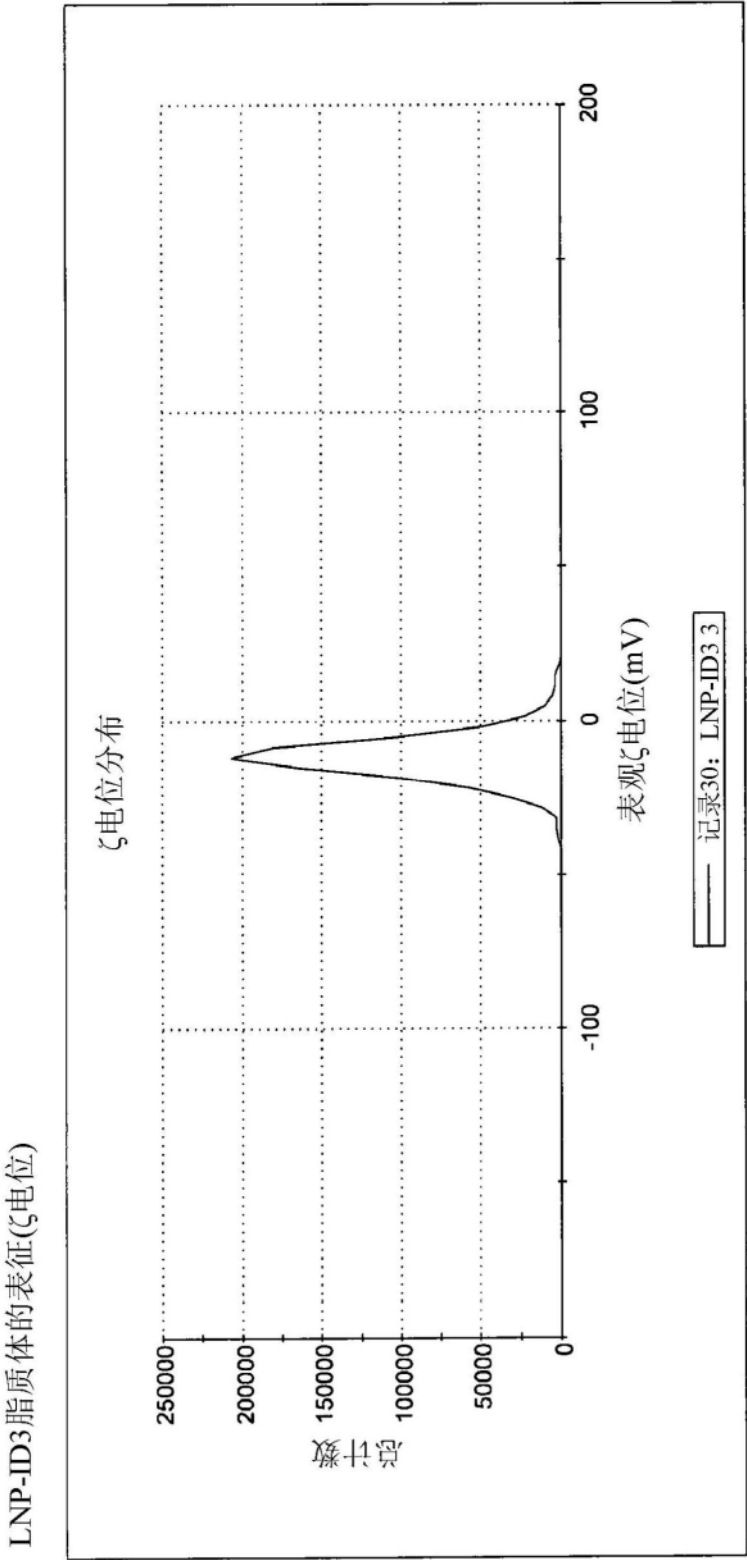


图10

LNP-AR5-ID3脂质体的表征

Z-平均值(直径nm): 91.92		大小(直径nm):	标准偏差(直径nm):
Pdl: 0.212		峰1: 120.1	64.38
截距: 0.969		峰2: 0.000	0.000
结果质量: 良好		峰3: 0.000	0.000
		%强度:	

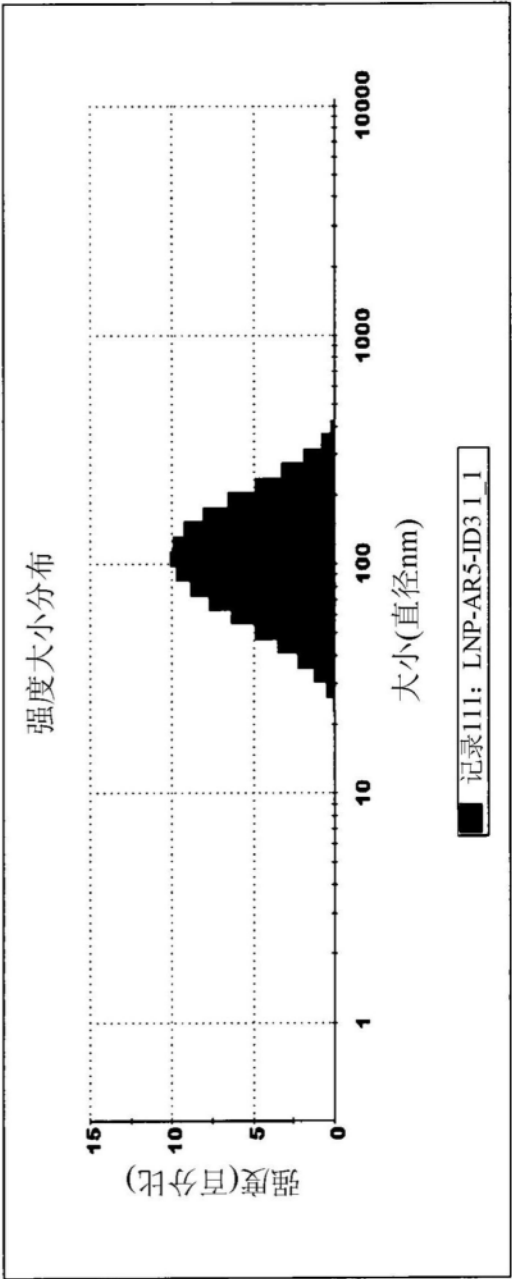


图11

LNP-AR5-ID3脂质体的表征(ζ 电位)

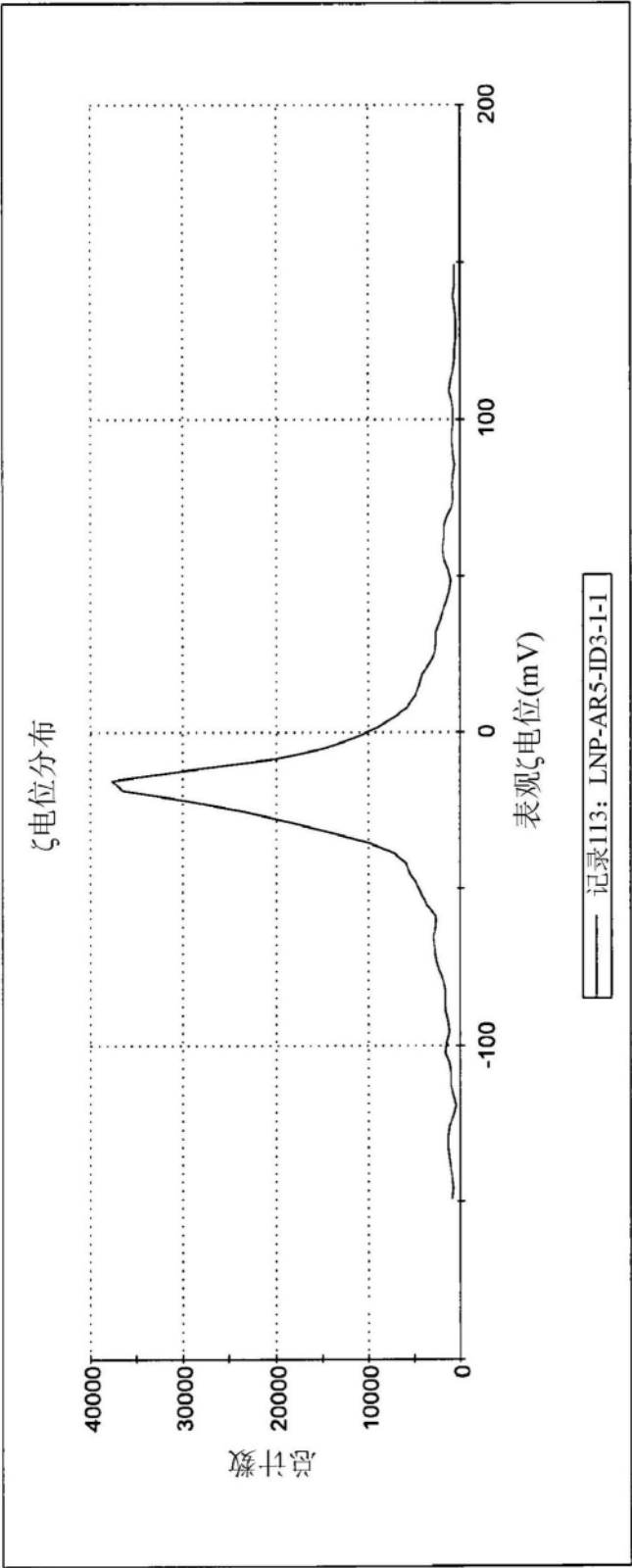


图12

LNP-AR5-TR5-ID3 脂质体的表征

Z-平均值(直径nm): 96.16		大小(直径nm):		标准偏差(直径nm):	
Pdl: 0.117		峰1: 110.1		%强度: 100.0	
截距: 0.968		峰2: 0.000		0.0	
结果质量: 良好		峰3: 0.000		0.0	
				0.000	

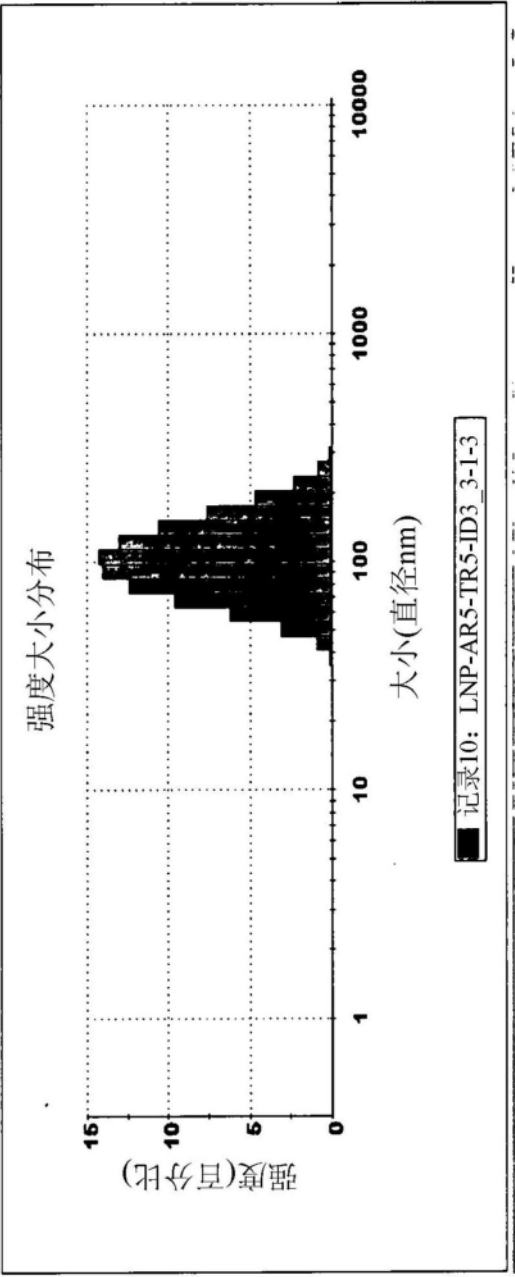


图13

LNP-AR5-TR5-ID3脂质的表征(ζ 电位)

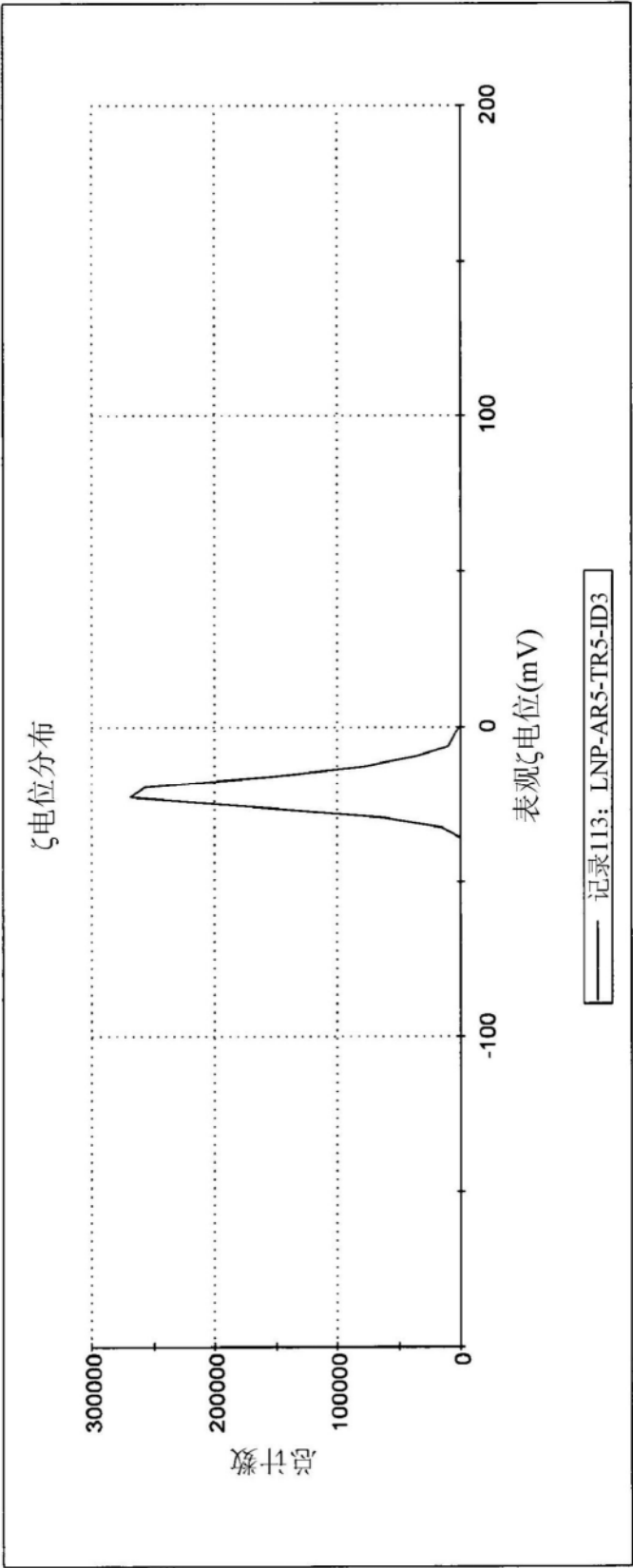


图14

LNP-ID3-NK1脂质体的表征

Z-平均值(直径nm): 78.80		大小(直径nm):		标准偏差(直径nm):	
Pdl: 0.189		峰1:	94.56	%强度:	100.0
截距: 0.969		峰2:	0.000		0.0
结果质量: 良好		峰3:	0.000		0.0

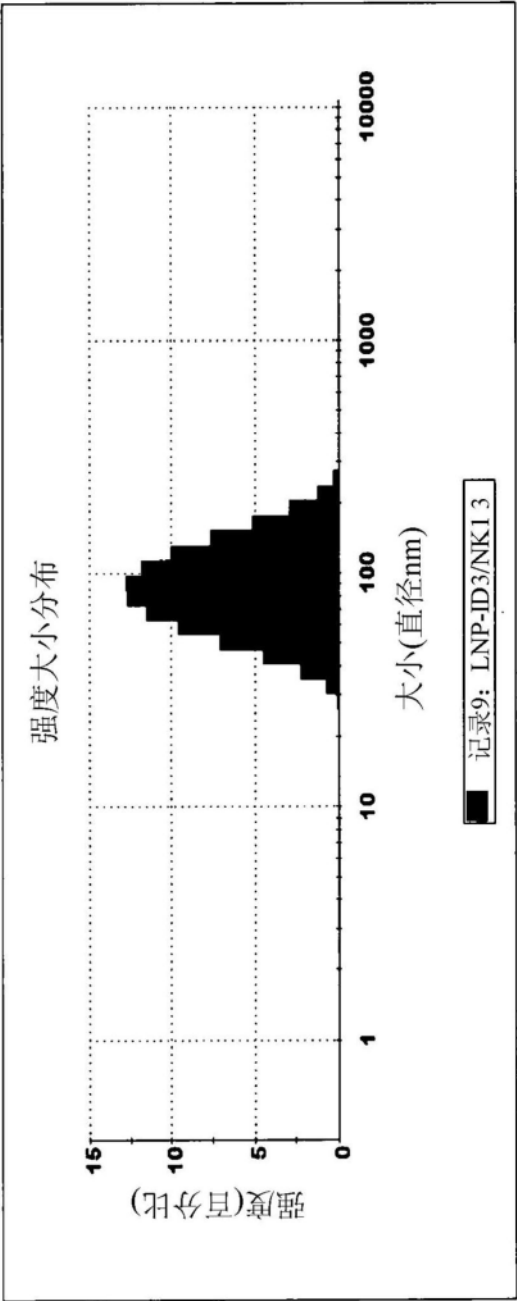


图15

LNP-ID3-NK1 脂质体的表征(ζ 电位)

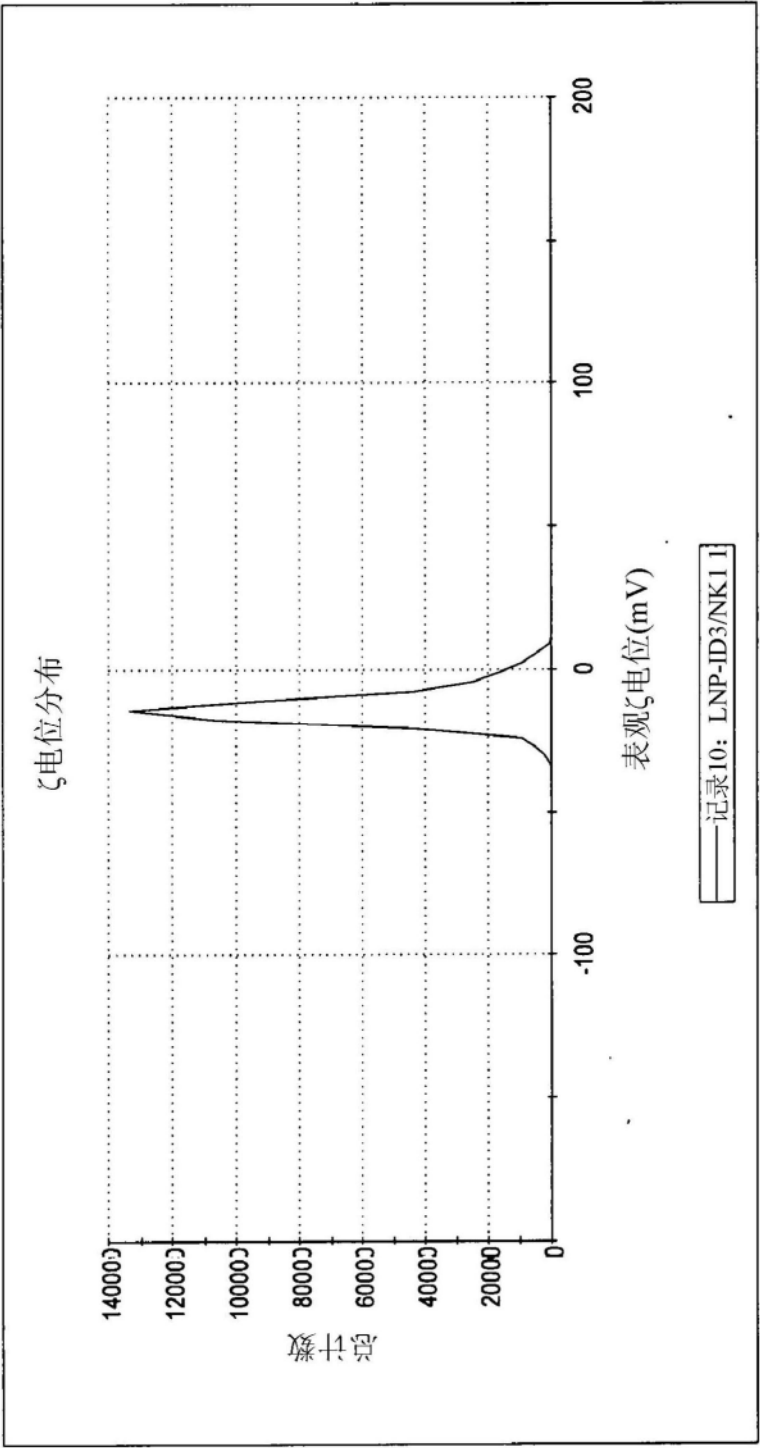


图16

LNP-ID3-NK1-MTO脂质体的表征

Z-平均值(直径nm): 89.29		大小(直径nm):		标准偏差(直径nm):	
Pdl: 0.084		峰1:	98.06	%强度:	100.0
截距: 0.923		峰2:	0.000		0.0
结果质量: 良好		峰3:	0.000		0.0

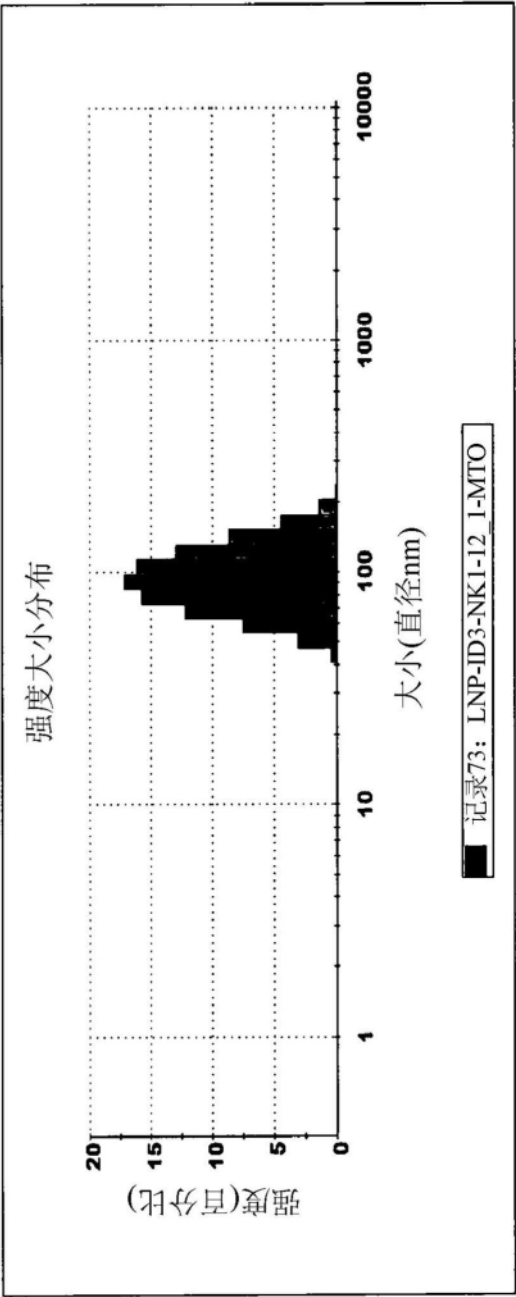


图17

LNP-ID3-NK1-MTO脂质的表征(ζ 电位)

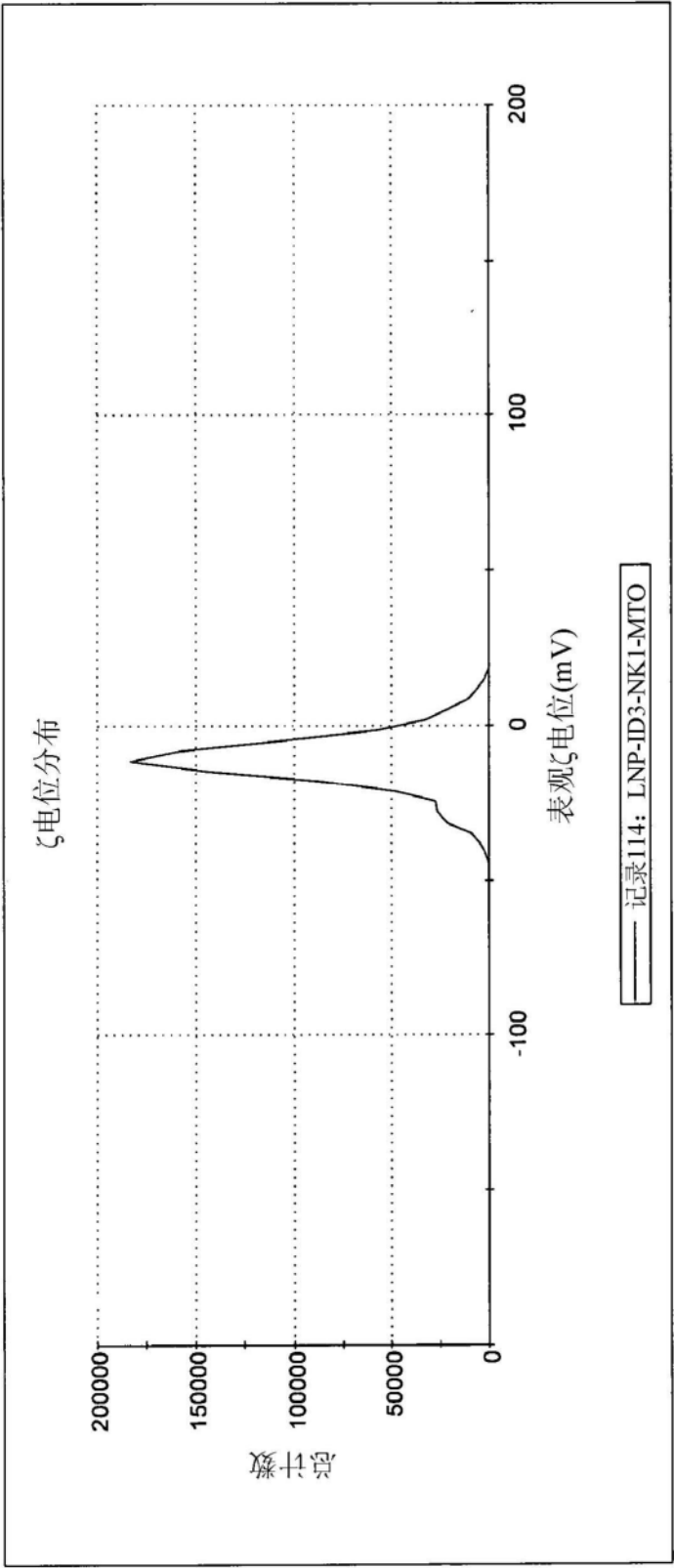


图18

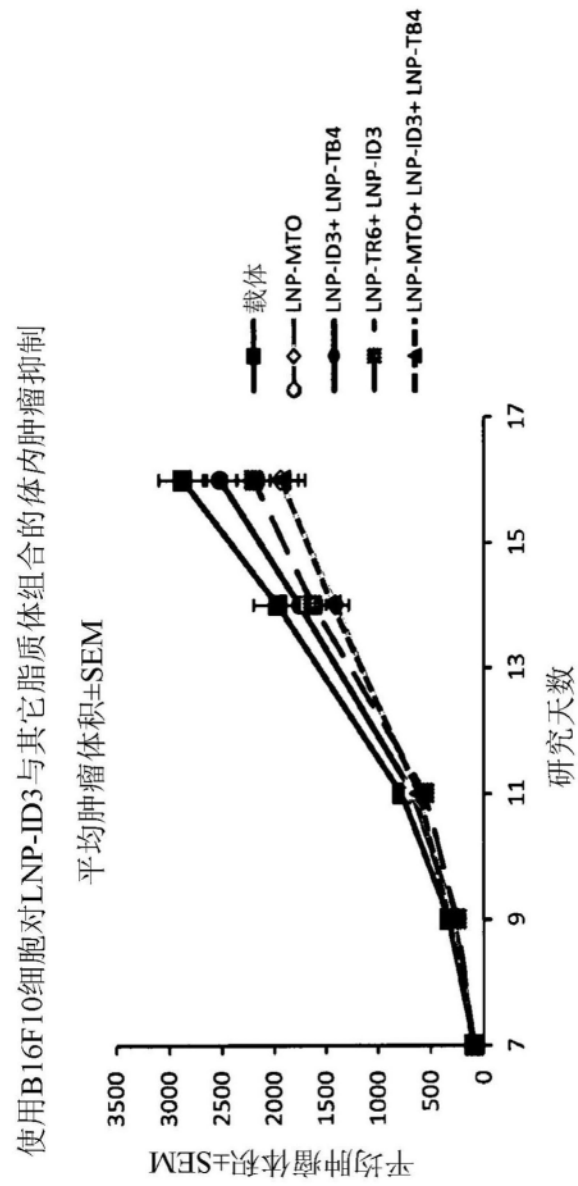


图19

使用B16F10细胞对LNP-ID3与LNP-AR5组合的体内肿瘤抑制

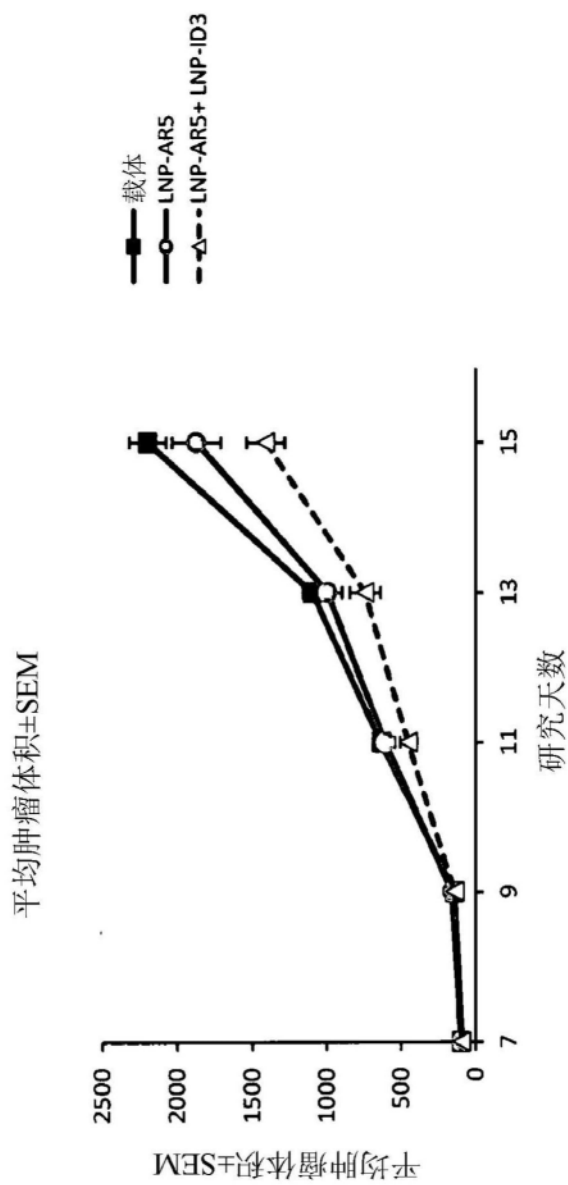


图20

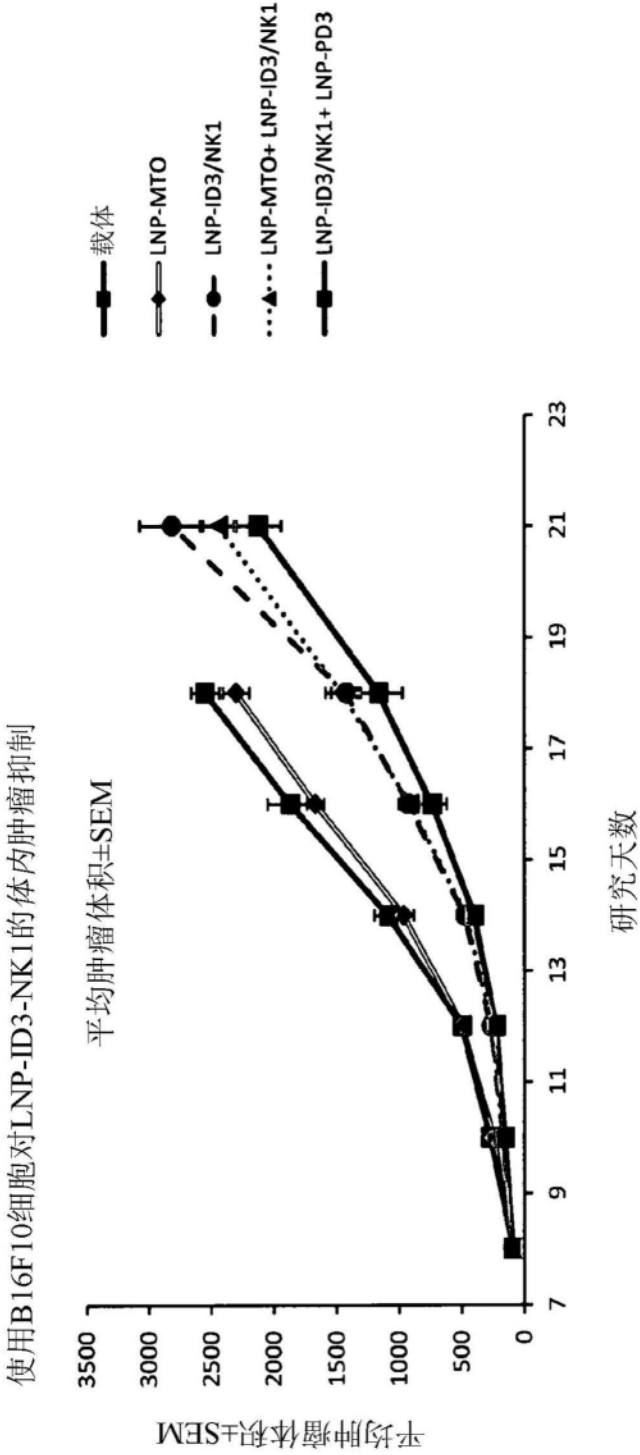


图21

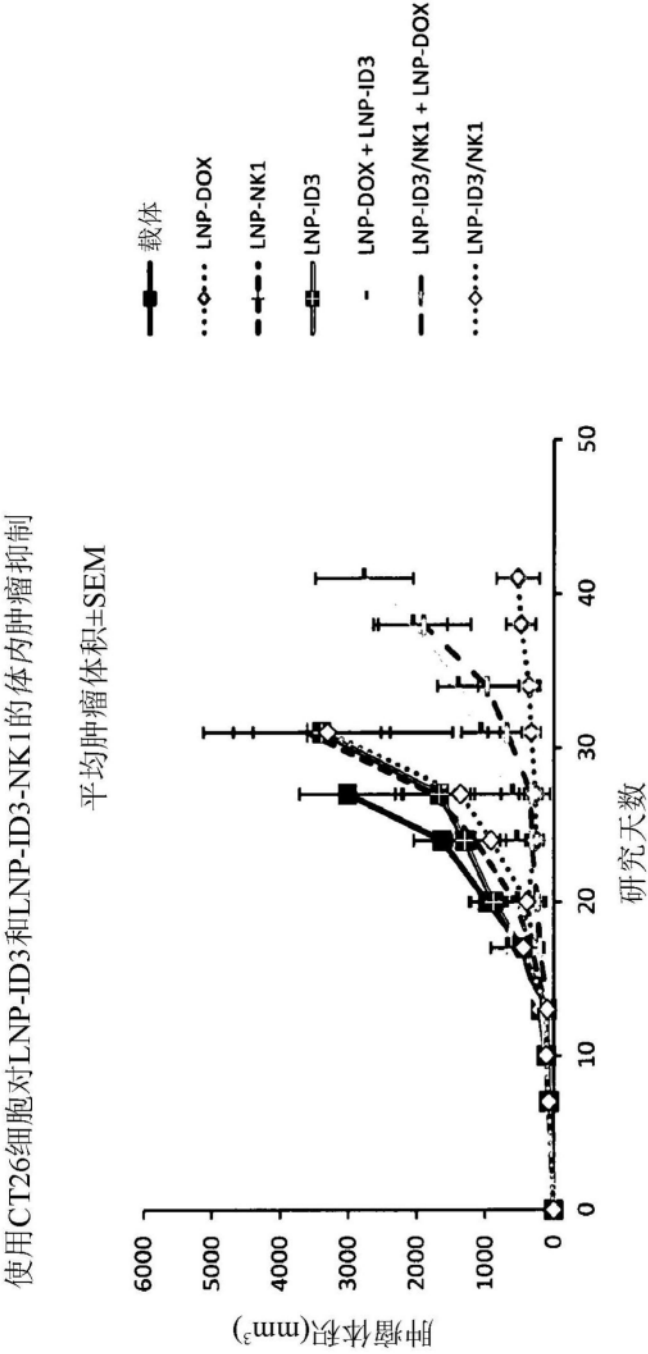


图22

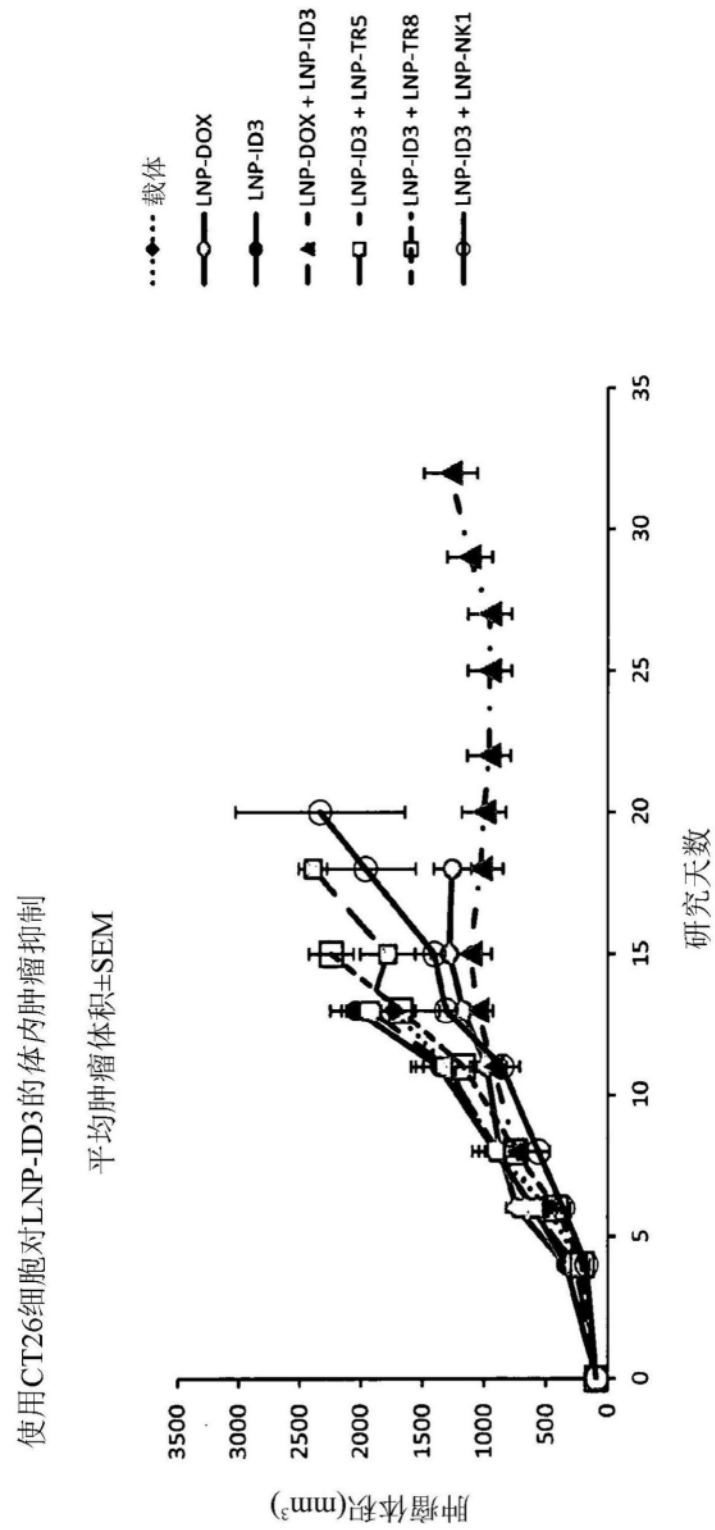


图23

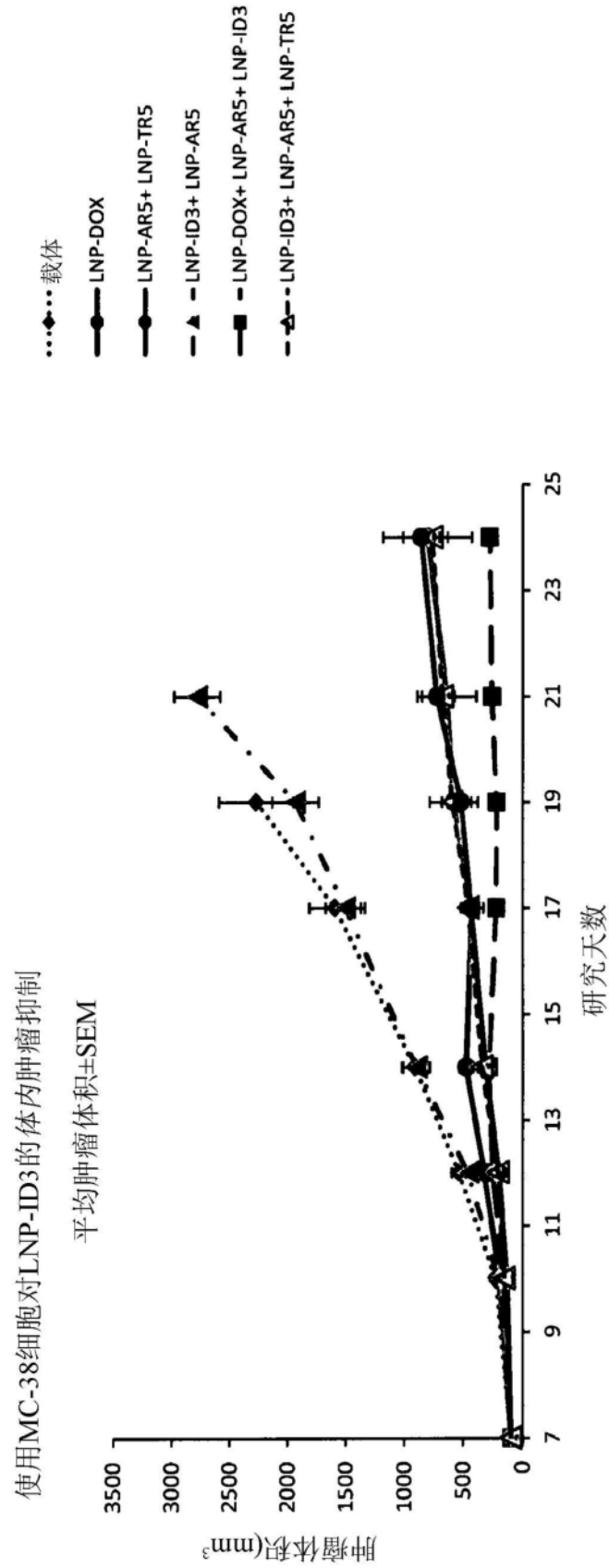


图24

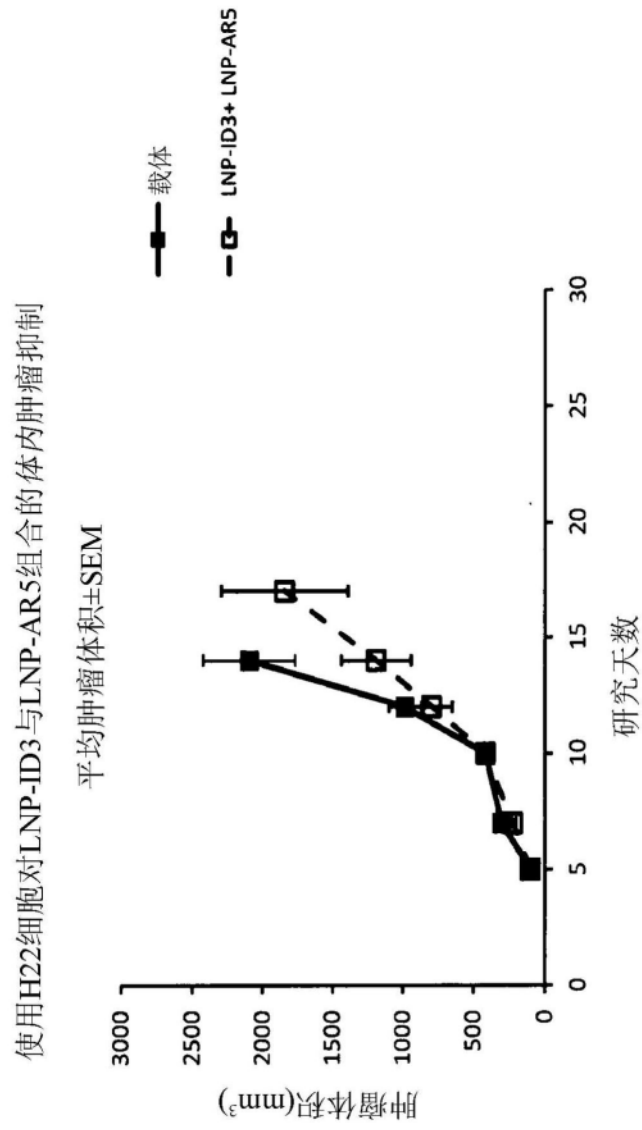


图25

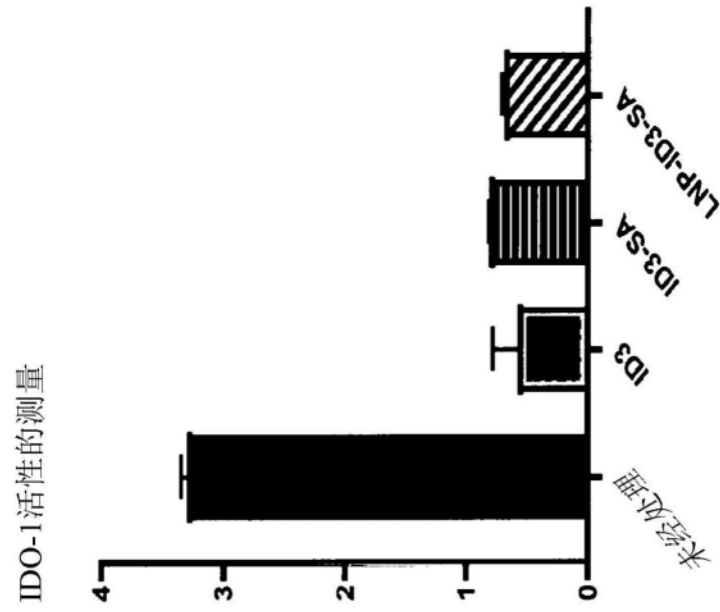


图26

SLNP-ID3-AR5-TR5的特征

Z-平均值(直径nm): 106.2		大小(直径nm):		标准偏差(直径nm):	
Pdl: 0.171		峰1:	129.7	%强度:	100.0
截距: 0.980		峰2:	0.000		0.0
结果质量: 良好		峰3:	0.000		0.0

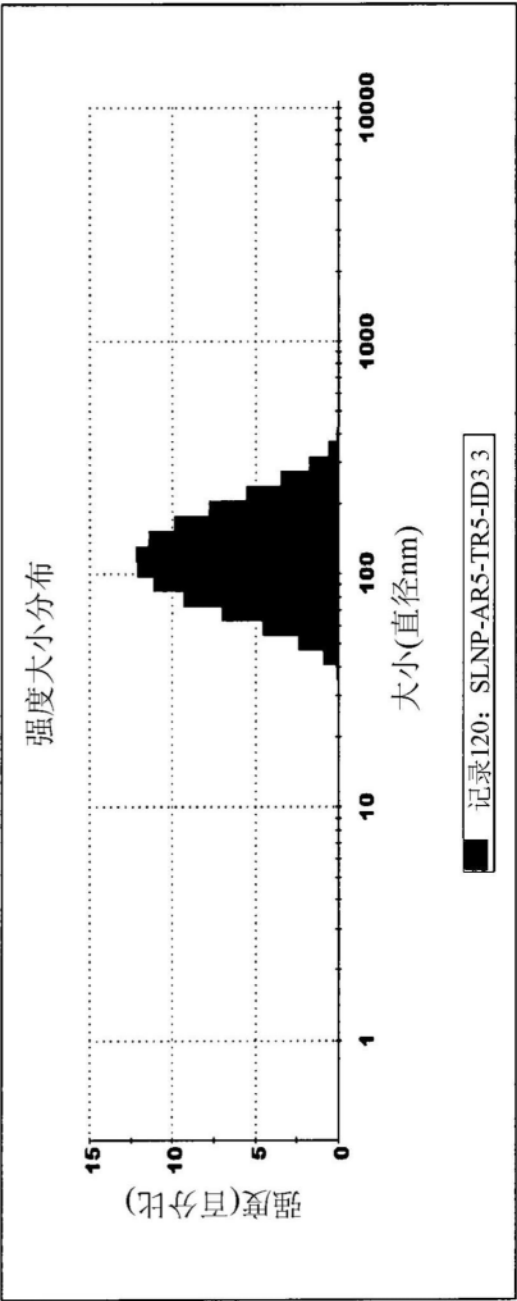


图27

SLNP-ID3-AR5-TR5的表征(ζ 电位)

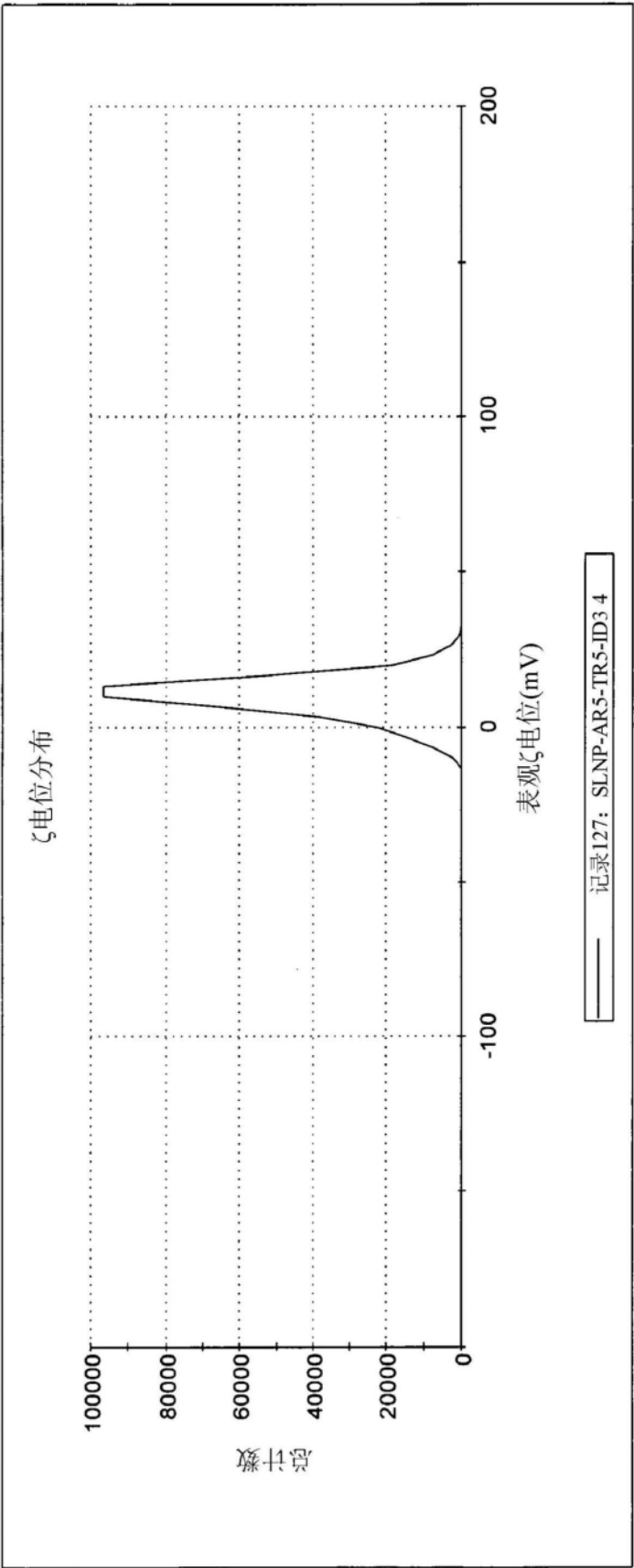


图28