(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114364378 A
(43)申请公布日 2022.04.15

(21)申请号 202080061095.1
(22)申请日 2020.09.04
(30)优先权数据
2019903262 2019.09.04 AU
2019904864 2019.12.20 AU
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.02.28
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/AU2020/050932 2020.09.04
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/042171 EN 2021.03.11
(71)申请人 阿克塞利阿肿瘤学私人有限公司
地址 澳大利亚,维多利亚州
(72)发明人 C·德迈松 C·史密斯 F·默丘里 T·巴尔德 M·贝特斯
(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
代理人 程伟
(51)Int.Cl.
A61K 31/23(2006.01)
A61K 47/60(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书22页 说明书108页 附图10页

(54)发明名称

癌症免疫疗法

(57)摘要

提供了用于治疗和/或预防癌症的方法、化合物、组合物和药盒。具体地,提供了用于治疗癌症的方法,这些方法包括施用TLR2激动剂,诸如二棕榈酰基-S-甘油基-半胱氨酸(Pam2Cys)和聚乙二醇(PEG)的缀合物,更具体地Pam2Cys-Ser-PEG化合物,以及免疫刺激剂,诸如抗PD-1、抗PDL-1、抗PL-1或抗CTLA-4免疫治疗剂。

CN 114364378 A

1.一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

2.一种治疗、预防或最大程度减少已接受或正在接受免疫刺激剂的受试者的癌症进展的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂，从而治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

3.一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括以下步骤：

-鉴定已接受或正在接受用于治疗癌症的免疫刺激剂的患有癌症的受试者，

-评估该受试者是否对该免疫刺激剂有反应，

-如果该受试者对该免疫刺激剂没有反应，则向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂，

由此治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

4.一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括以下步骤：

-鉴定患有癌症并且对包含免疫刺激剂的治疗没有反应的受试者，

-向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂，

由此治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

5.一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括以下步骤：

-鉴定患有癌症的受试者；以及

-向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，

由此治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

6.一种增加患有癌症的受试者的存活率的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而增加该患有癌症的受试者的存活率。

7.一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的肿瘤生长的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的肿瘤生长。

8.一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的转移的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的转移。

9.如权利要求8所述的方法，其中该方法最大程度减少、降低或预防向肺的转移。

10.一种最大程度减少、降低或预防受试者的癌症的方法，该方法包括：

-鉴定患有能够转移的肿瘤的受试者；以及

-向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，

由此最大程度减少、降低或预防该受试者的癌症。

11.TLR2激动剂和免疫刺激剂在制备用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的药物中的用途。

12.TLR2激动剂和免疫刺激剂用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的用途。

13.如权利要求1至12中任一项所述的方法或用途，其中该免疫刺激剂选自由以下组成的组：细胞免疫疗法、溶瘤病毒、癌症疫苗、T细胞接合剂、双特异性T细胞接合剂和检查点抑

制剂。

14.如权利要求13所述的方法或用途,其中该免疫刺激剂是检查点抑制剂。

15.如权利要求14所述的方法或用途,其中该检查点抑制剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4检查点抑制剂,优选以抗体的形式。

16.如权利要求15所述的方法或用途,其中该检查点抑制剂是PD-1抗体。

17.如权利要求1至16中任一项所述的方法或用途,其中该癌症选自由以下组成的组:乳腺癌、结肠直肠癌、腺癌、间皮瘤、膀胱癌、前列腺癌、生殖细胞癌、肝细胞瘤/胆管细胞癌、神经内分泌癌、垂体肿瘤、小圆细胞肿瘤、鳞状细胞癌、黑色素瘤、非典型纤维黄色瘤、精原细胞瘤、非精原细胞瘤、间质莱迪希细胞瘤、塞尔托立细胞瘤、皮肤肿瘤、肾肿瘤、睾丸肿瘤、脑肿瘤、卵巢肿瘤、胃肿瘤、口腔肿瘤、膀胱肿瘤、骨肿瘤、纤维肉瘤、宫颈肿瘤、食管肿瘤、喉肿瘤、肝肿瘤、肺肿瘤、阴道肿瘤或威尔姆氏肿瘤;在优选的实施例中,该癌症是黑色素瘤或结肠癌。

18.如权利要求17所述的方法或用途,其中该癌症是黑色素瘤、乳腺癌、纤维肉瘤或结肠癌。

19.如权利要求1至18中任一项所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂以进一步包含药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂的组合物形式施用。

20.如权利要求19所述的方法或用途,其中该组合物由TLR2激动剂、免疫刺激剂和药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂组成。

21.如权利要求1至20中任一项所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂包括脂质、肽聚糖、脂蛋白或脂多糖。

22.如权利要求1至21中任一项所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂包括Pam_2Cys-Ser-PEG。

23.如权利要求1至22中任一项所述的方法或用途,其中该检查点抑制剂是PD-1抗体,并且该TLR2激动剂包括Pam_2Cys-Ser-PEG。

24.如权利要求1至23中任一项所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂包括棕榈酰、肉豆蔻酰、硬脂酰、月桂酰、辛酰或癸酰。

25.如权利要求1至21中任一项所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂选自由以下组成的组:Pam2Cys、Pam3Cys、Ste2Cys、Lau2Cys和Oct2Cys。

26.如权利要求1至21中任一项所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂包括Pam2Cys。

27.如权利要求1至26中任一项所述的方法或用途,其中该化合物包含TLR2激动剂和增溶剂。

28.如权利要求27所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂与增溶剂连接。

29.如权利要求27或28所述的方法或用途,其中该增溶剂包含带正电荷或带负电荷的基团或者由带正电荷或带负电荷的基团组成。

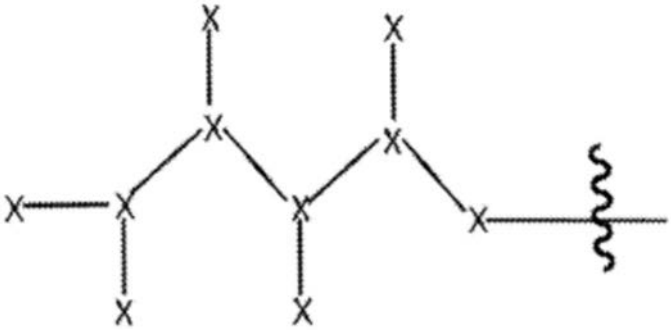
30.如权利要求29所述的方法或用途,其中该带电荷的基团是支链或直链肽。

31.如权利要求29所述的方法或用途,其中该带正电荷的基团包含至少一种带正电荷的氨基酸,优选精氨酸或赖氨酸残基。

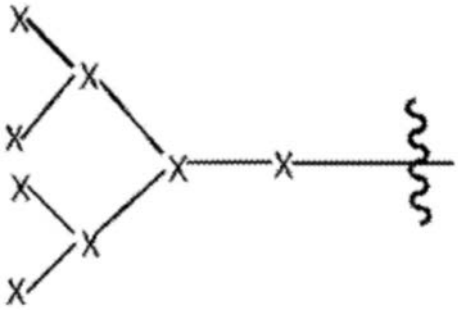
32.如权利要求29所述的方法或用途,其中该带负电荷的基团包含至少一种带负电荷的氨基酸,优选谷氨酸或天冬氨酸。

33.如权利要求30所述的方法或用途,其中该支链或直链肽是R4、H4、H8或E8。

34.如权利要求30所述的方法或用途,其中该支链肽包括



或



。

35.如权利要求27所述的方法或用途,其中该增溶剂包括聚乙二醇(PEG)或R4。

36.如权利要求27所述的方法或用途,其中该增溶剂包括聚乙二醇(PEG)和R4。

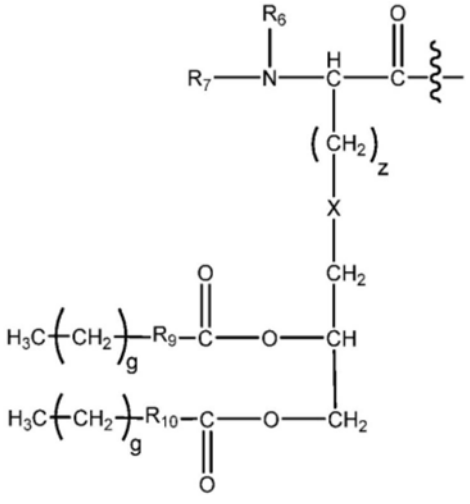
37.如权利要求35或36所述的方法或用途,其中该PEG是PEG_{11}或PEG_{12}。

38.如权利要求1至34中任一项所述的方法或用途,其中该TLR2激动剂是式(I)的化合物:

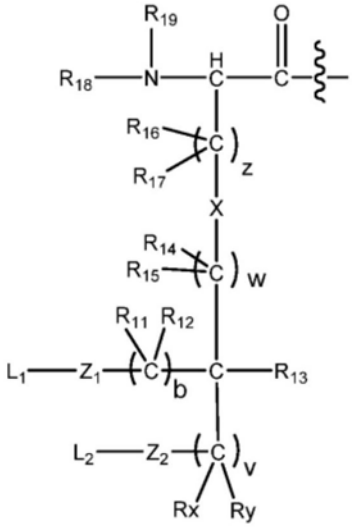
A-Y-B

(I)

其中A包含选自A1和A2的部分或由其组成:



A1



A2

其中

每个z独立地选自1或2；

每个X独立地选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-；

在部分A1中：

每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和-C(=O)CH_3；

R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；以及

在部分A2中：

b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5，诸如从2至5的整数，前提是：

b、v与w之和是至少3；并且

b与w之和是从0至7；

Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、S(=O)、-$S(=O)_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-和-NRC(=O)NR-；

R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A_2；

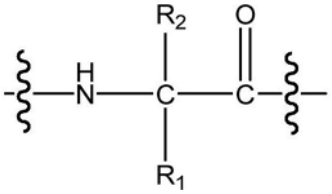
L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

A_2是氨基酸或肽；

其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；

Y是



其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH(CH_3)OH、-CH_2OP(OH)$_2$、-CH_2C(=O)NH_2、-CH_2CH_2C(=O)OH、和-CH_2CH_2C(=O)OR_8，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

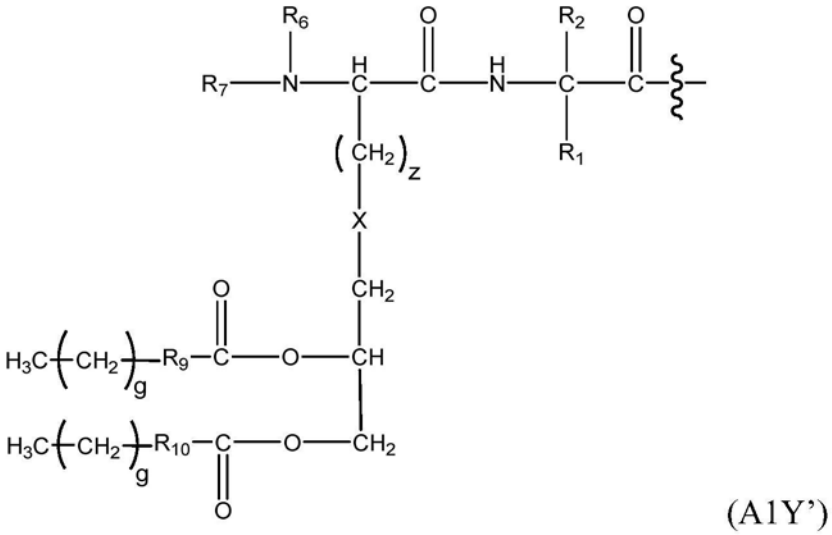
R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

并且

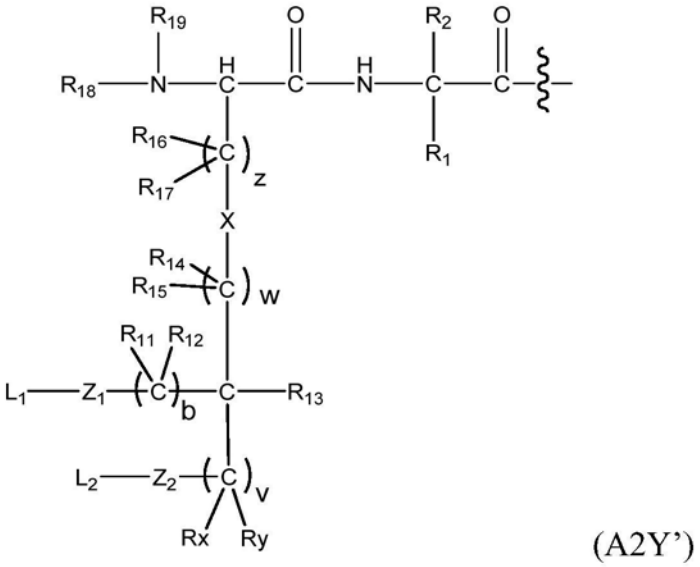
B包含聚乙二醇(PEG)或由聚乙二醇(PEG)组成，

或其药学上可接受的盐或前药。

39.如权利要求1至34中任一项所述的方法或用途，其中该化合物包含部分结构A1Y'或A2Y'或由其组成：



(A1Y')



(A2Y')

其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组:H、-CH_2OH、-CH_2CH^2OH、-$CH(CH_3)OH$、-$CH_2OPO(OH)_2$、-$CH_2C(=O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(=O)OH$、和-$CH_2CH_2C(=O)OR_8$,其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替;

R_6和R_7独立地选自由以下组成的组:H、直链或支链C_1-C_4烷基和-$C(=O)CH_3$;

R_8选自由以下组成的组:H和直链或支链C_1-C_6烷基;

R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组:-NH-、-O-或单键;

z是1或2;

X选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-;

b和w各自独立地是从0至7的整数,并且v是从0至5的整数,前提是:

b、v与w之和是至少3;并且

b与w之和是从0至7;

Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组:-O-、-NR-、-S-、-S(=O)-、-$S(=O)_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-;

在b、v、w和z的每种情况下,R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族

基；

R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A2；

L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

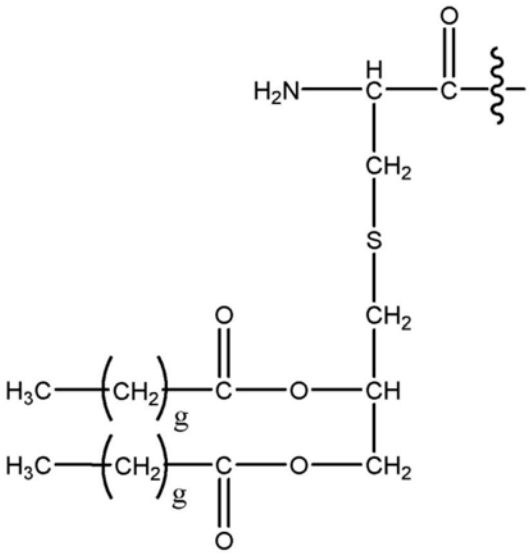
A_2是氨基酸或肽；

其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；并且

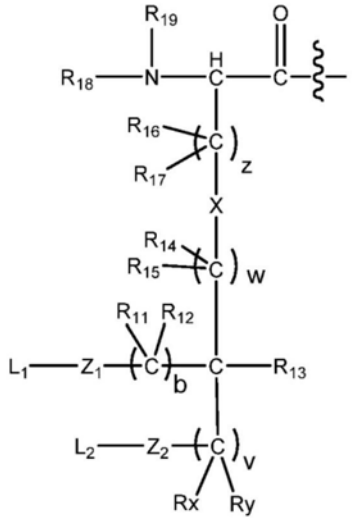
A1Y'或A2Y'与聚乙二醇(PEG)共价连接，

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

40.如权利要求1至34中任一项所述的方法或用途，其中该TLR2激动剂是包含部分A和PEG的化合物，该部分A选自A1'和A2，其中该部分A和PEG通过甘氨酸、丝氨酸、高丝氨酸、苏氨酸、磷酸丝氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺残基或谷氨酰胺残基的酯连接



A1'



A2

其中：

每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18

每个z独立地选自1或2；

每个X独立地选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-；

b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5，诸如从2至5的整数，前提是：

b、v与w之和是至少3；并且

b与w之和是从0至7；

Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、S(=O)、-$S(=O)_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-和-NRC(=O)NR-；

R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A_2；

L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

A_2是氨基酸或肽；

其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的

或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

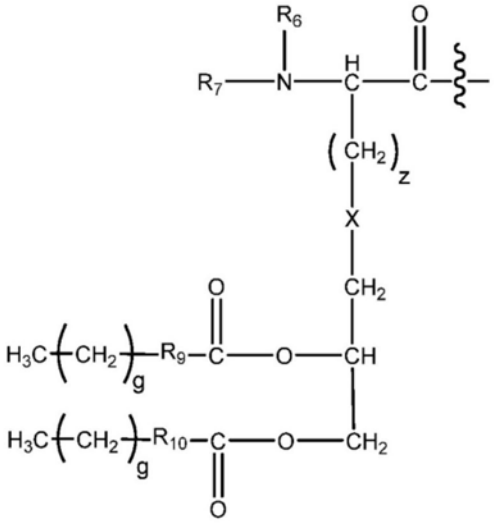
41.如权利要求1至34中任一项所述的方法或用途，其中该TLR2激动剂是式(VIII)的化合物：

$A\text{-}Y\text{-}NH\text{-}(CH_2)_p\text{-}O\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}[(CH_2)_m\text{-}CO\text{-}L\text{-}]_qR_3$

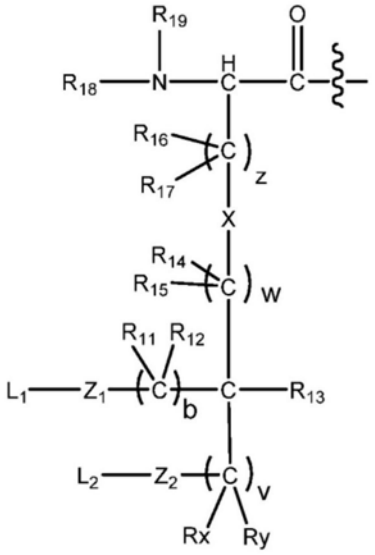
(VIII)

其中

A是选自A1和A2的部分



A1



A2

其中

每个z独立地选自1或2；

每个X独立地选自-S-、-S(=O)-和$-S(=O)_2-$；

在部分A1中：

每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和$-C(=O)CH_3$；

R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；以及

在部分A2中：

b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5，诸如从2至5的整数，前提是：

b、v与w之和是至少3；并且

b与w之和是从0至7；

Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、S(=O)、$-S(=O)_2-$、-C(=O)

O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-和-NRC(=O)NR-；

R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A_2；

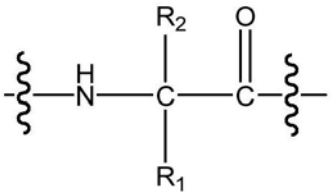
L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

A_2是氨基酸或肽；

其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；

Y是



其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH(CH_3)OH、-CH_2OP(OH)$_2$、-CH_2C(=O)NH_2、-CH_2CH_2C(=O)OH和-CH_2CH_2C(=O)OR_8，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和-C(=O)CH_3；

R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

n是3至100；

m是1、2、3或4；

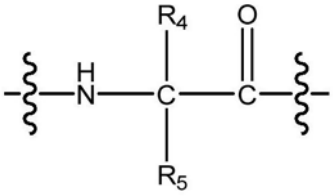
p是2、3或4；

q是零或1；

其中当q＝1时，R_3是-NH_2或-OH；

其中当q＝0时，R_3是H；

L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

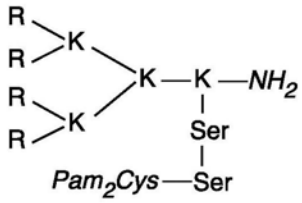
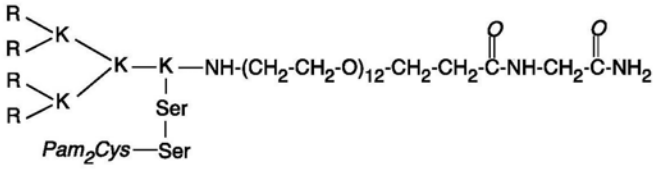
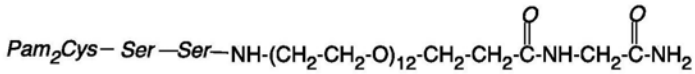


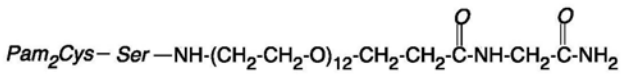
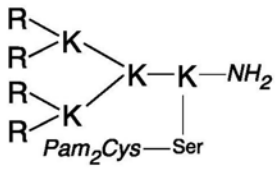
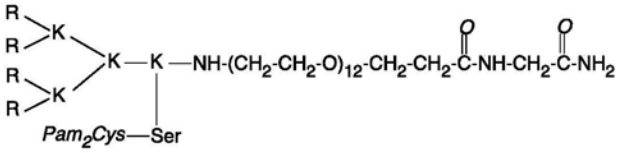
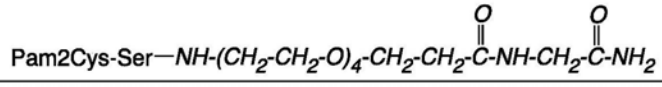
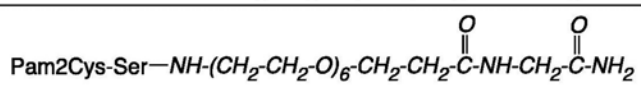
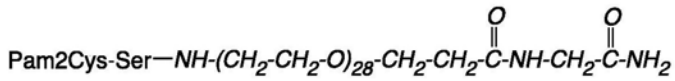
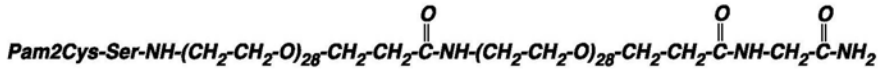
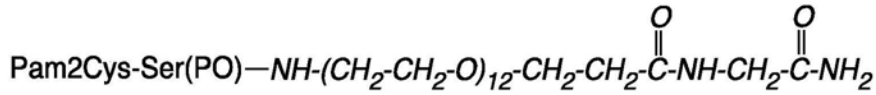
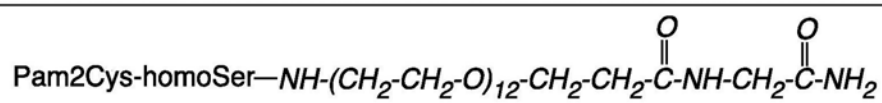
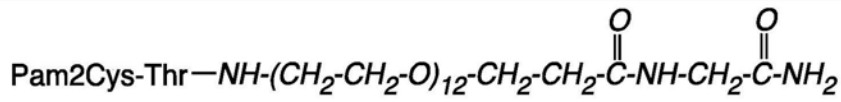
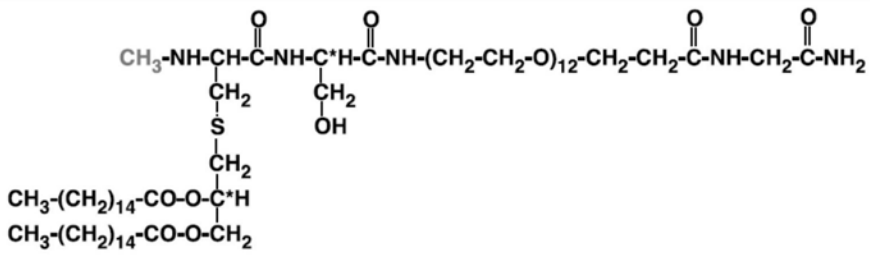
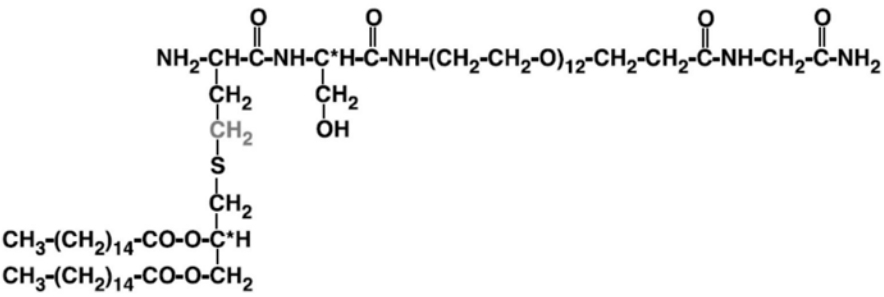
其中R_4是H；并且

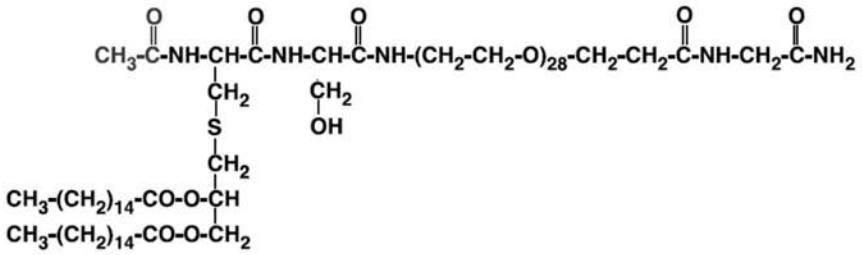
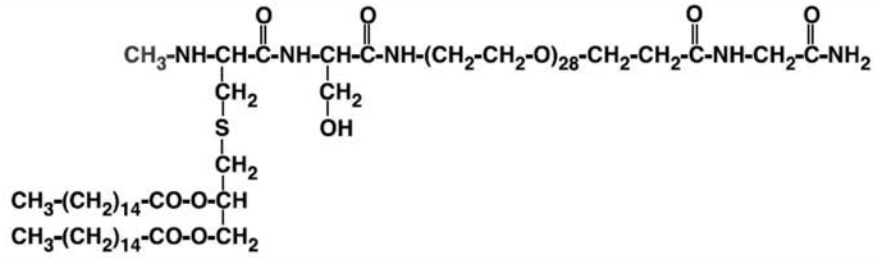
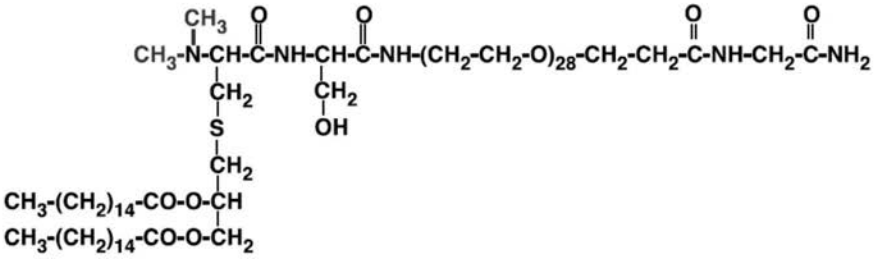
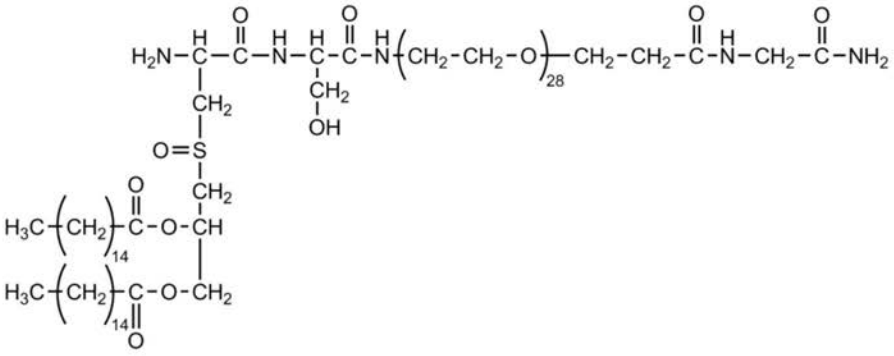
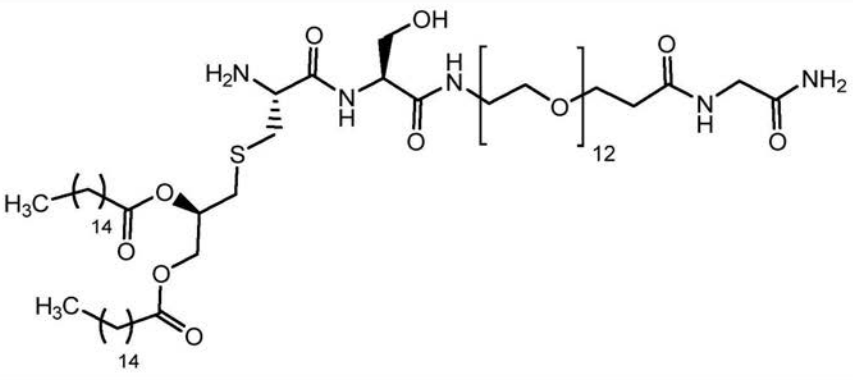
R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

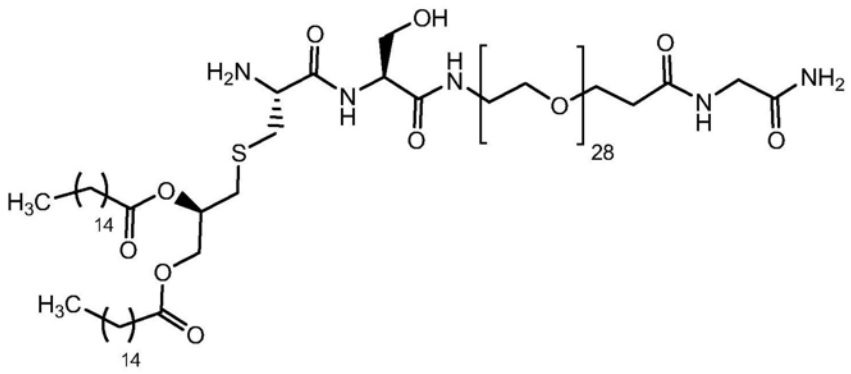
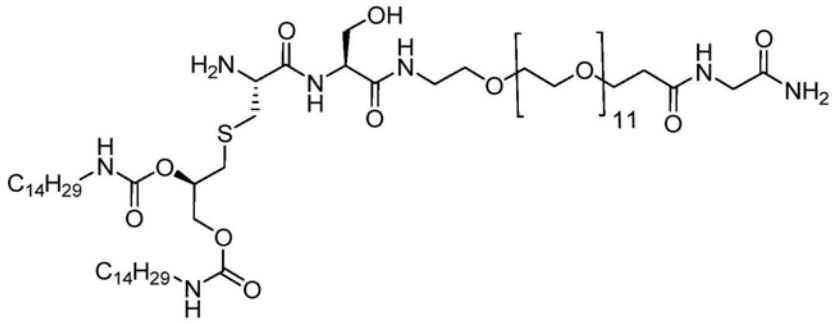
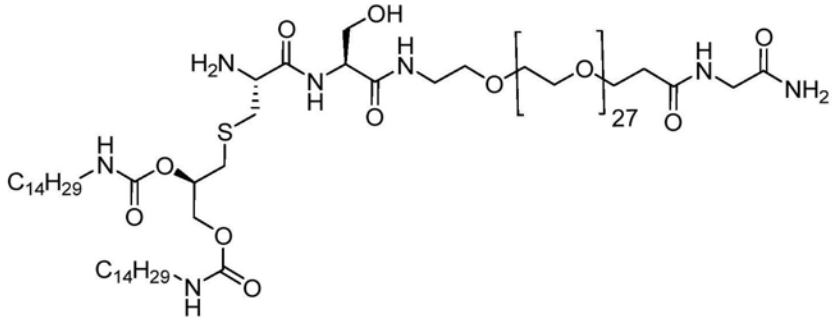
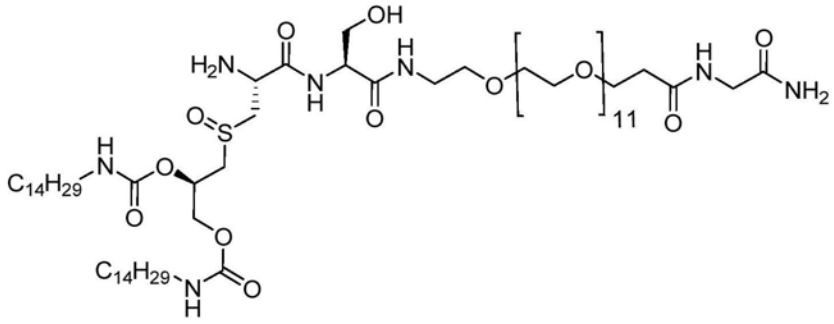
或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

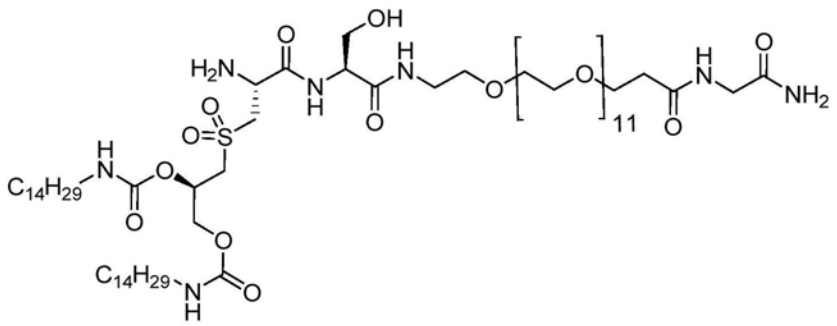
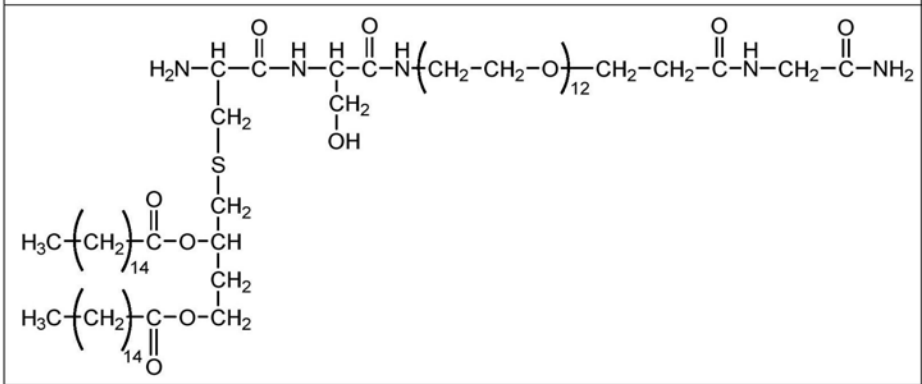
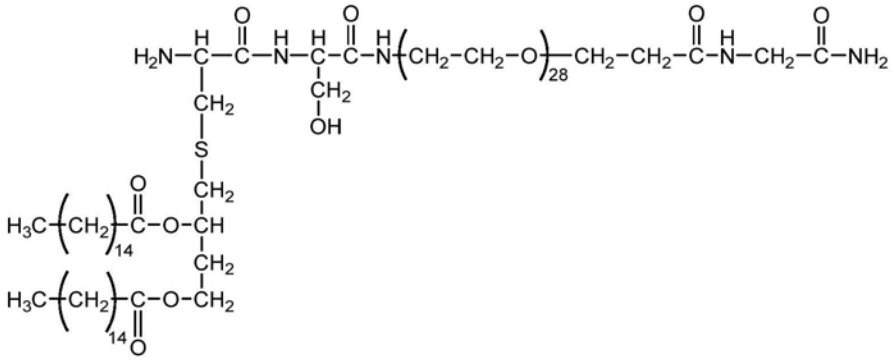
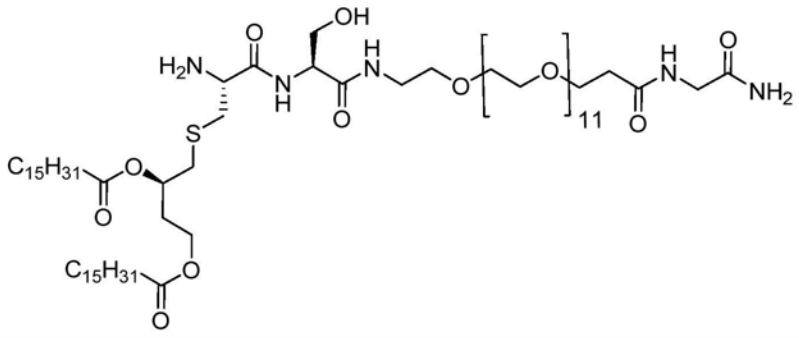
42.如权利要求1至34中任一项所述的方法或用途，其中该TLR2激动剂是选自下表的化合物：

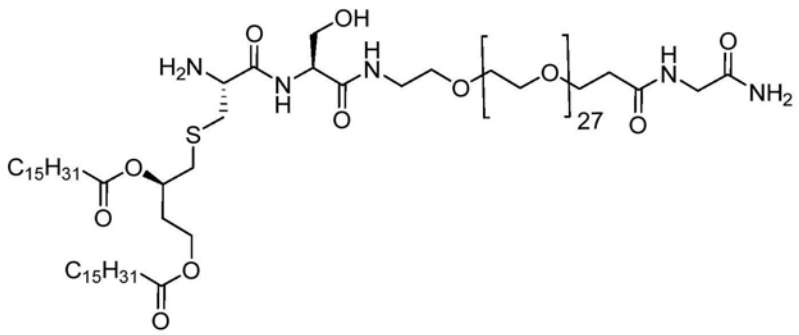
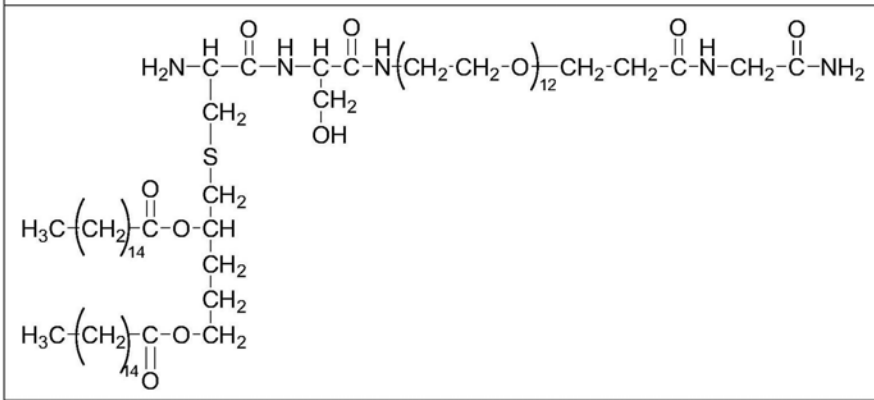
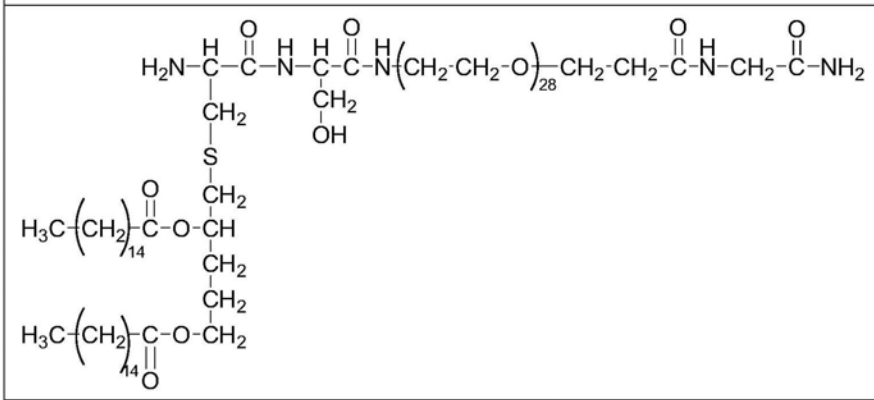
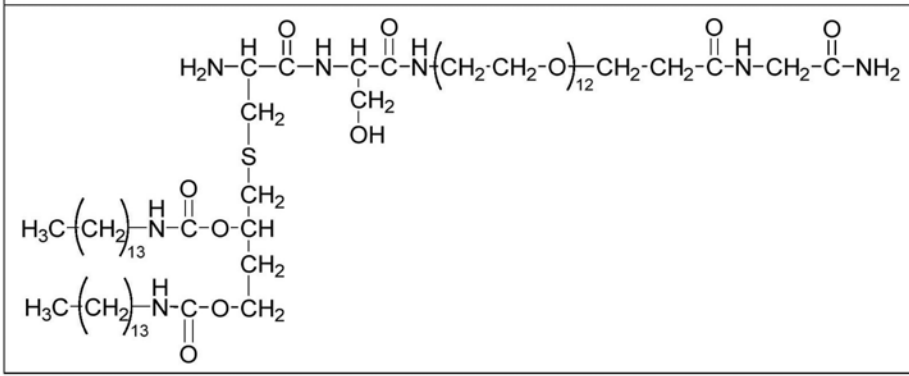
化合物结构	化合物名称
	001
	002
	003
Pam_2Cys—Ser—Ser —Lys— Lys—Lys—Lys	004
Pam_2Cys—Ser—Lys—Lys— Lys—Lys	005

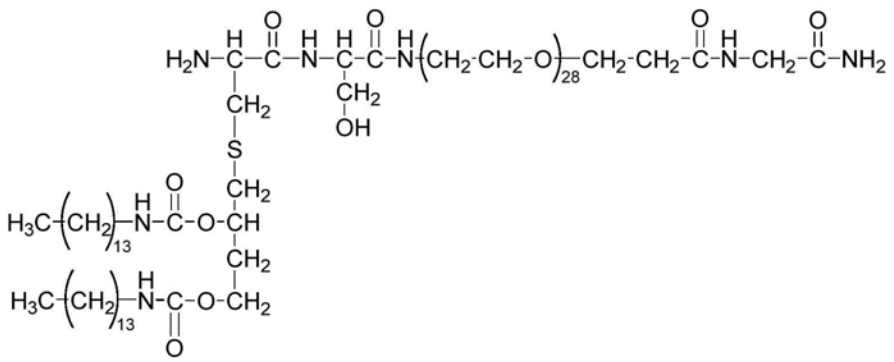
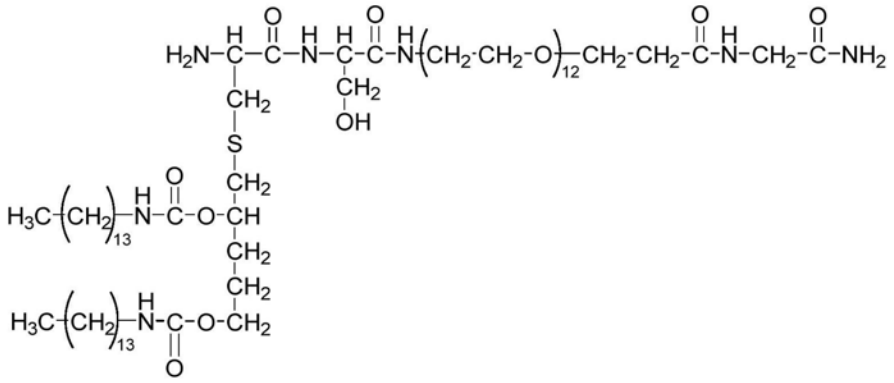
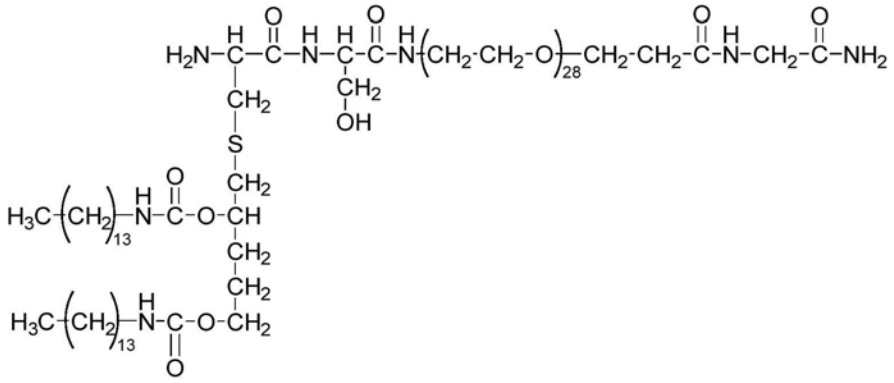
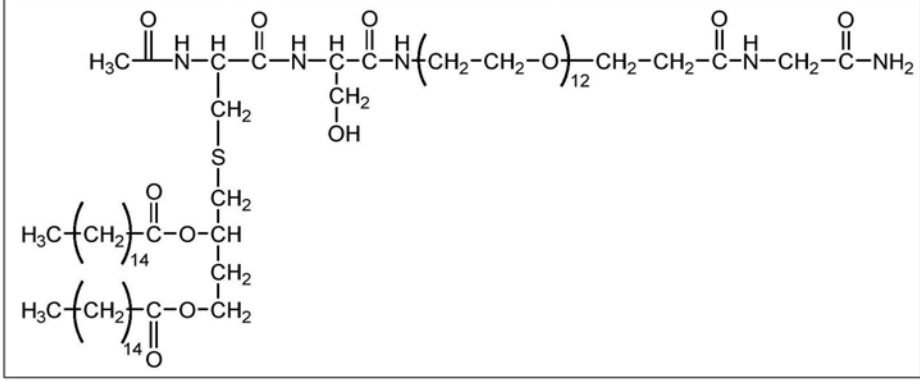
	A101/化合物 1
	007
	008
	009
	010
	A105
	A106
	A104
	A103
	A102
	A109
	A110

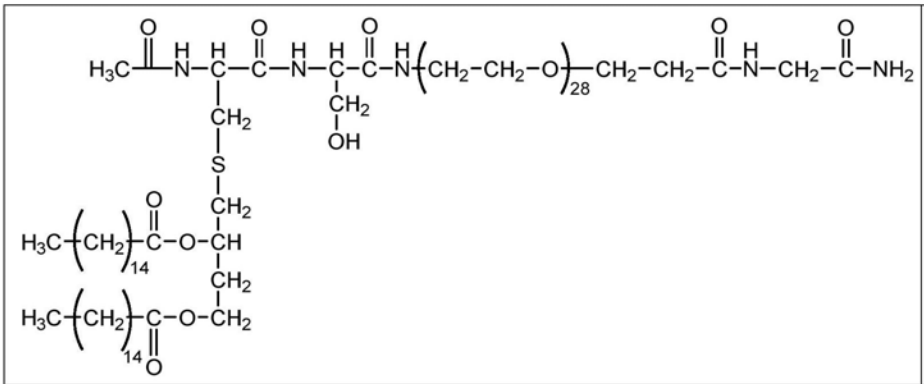
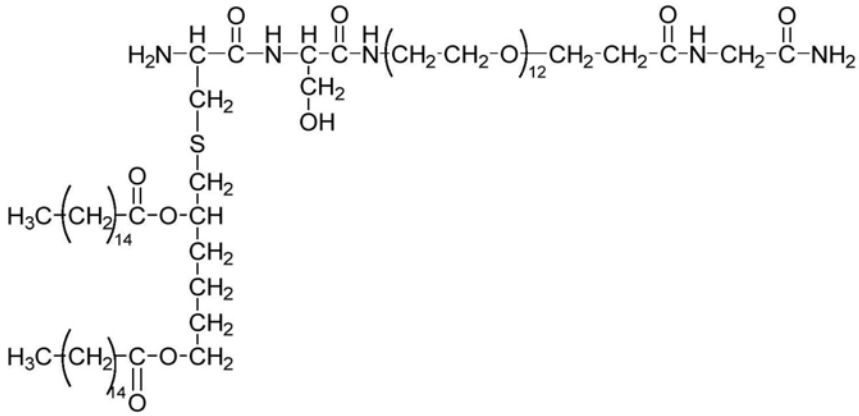
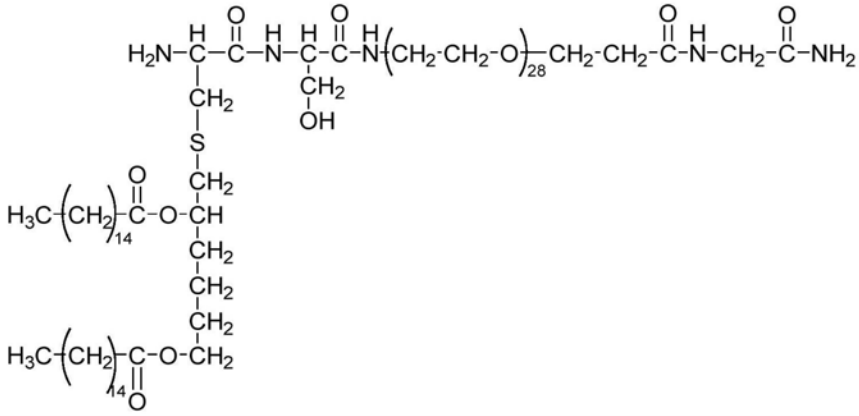
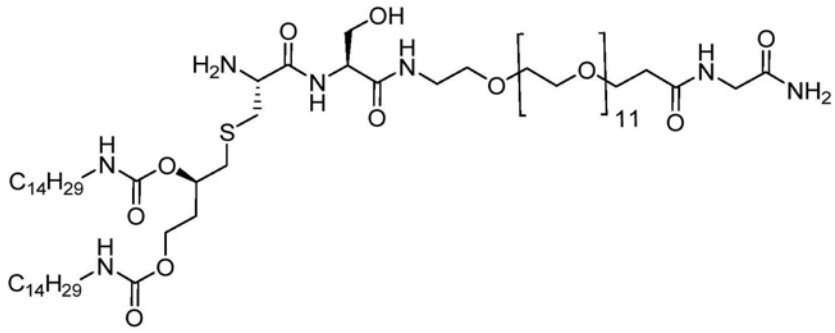
	A111
	A112
	A113
	A114
	A107

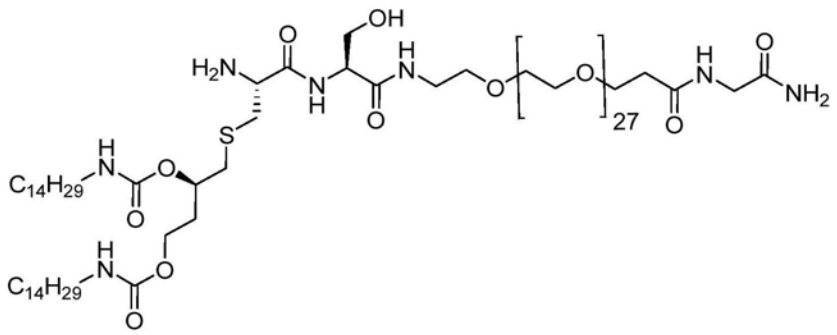
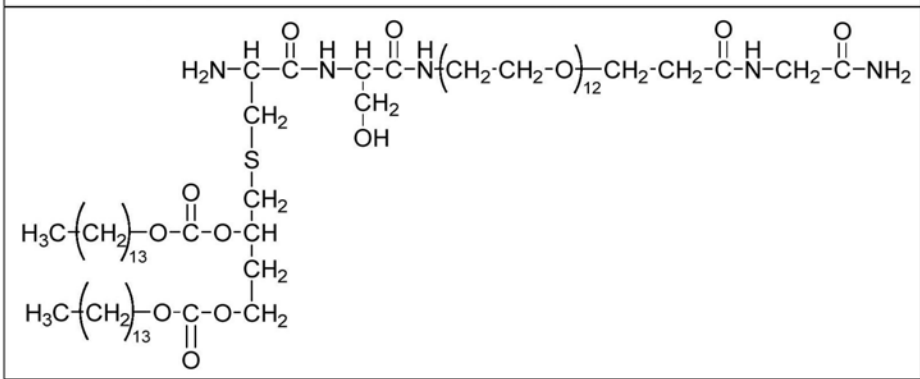
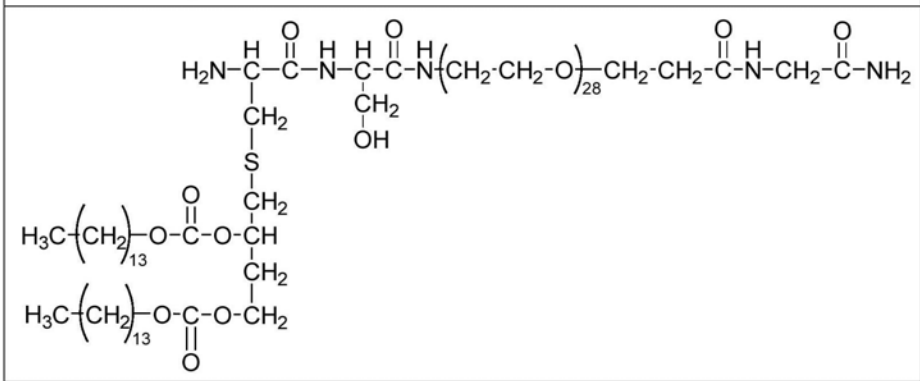
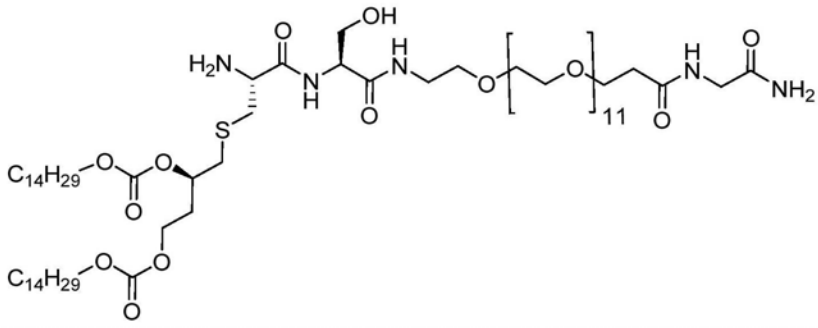
	A108
	A115
	A116
	A117

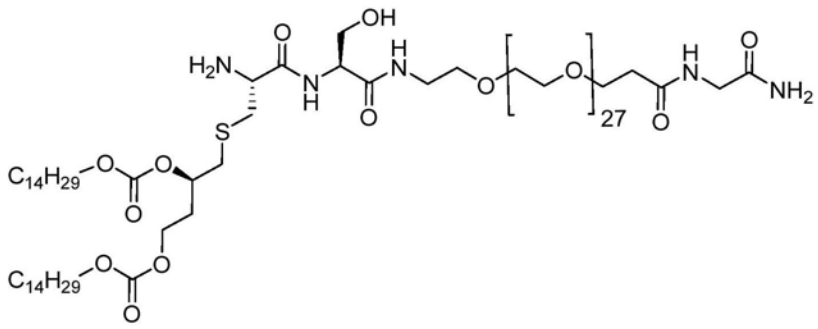
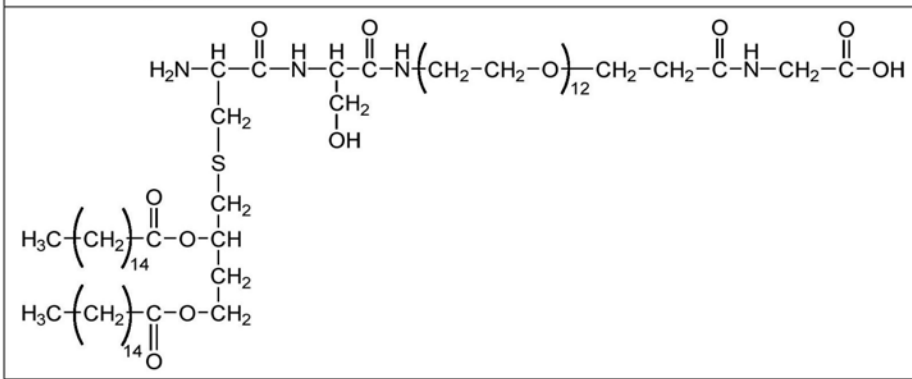
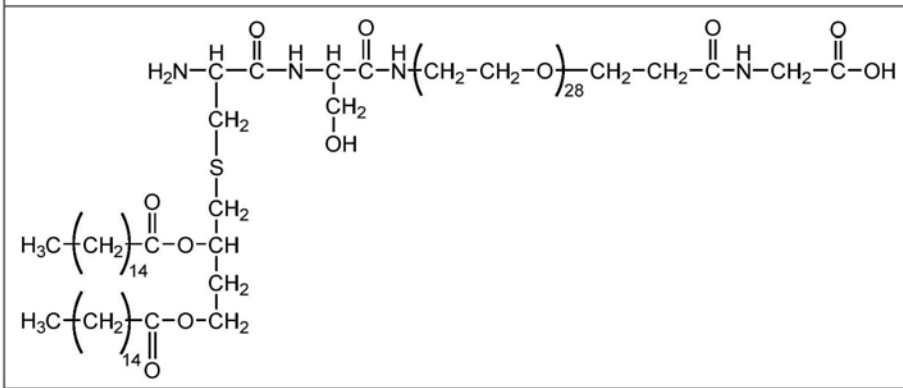
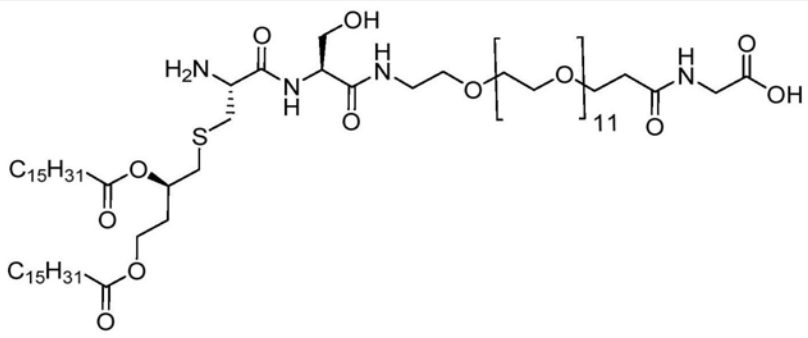
	A118
	A201
	A202
	A203

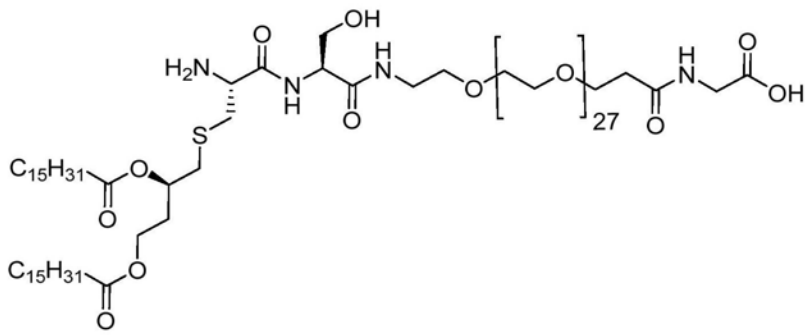
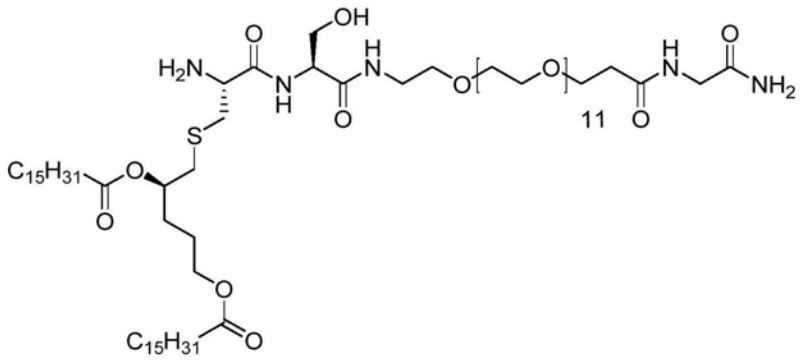
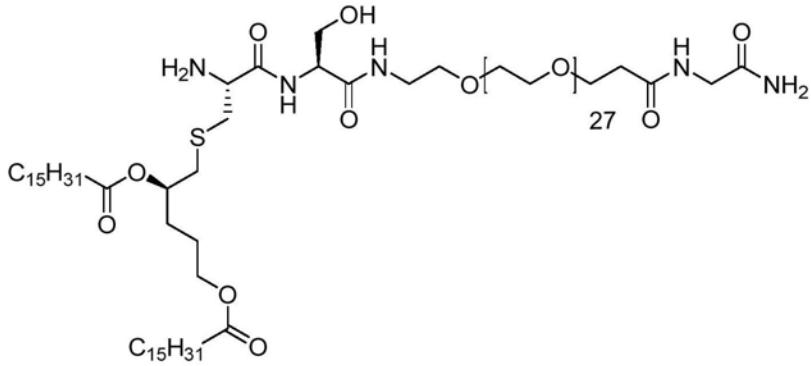
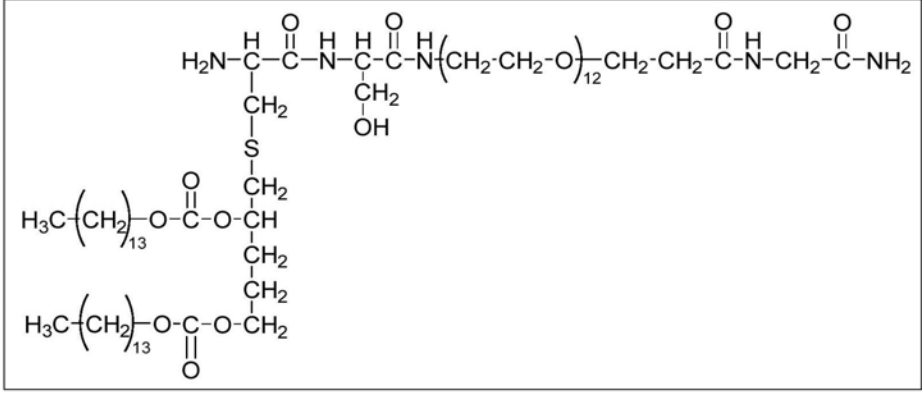
	A204
	A205
	A206
	A207

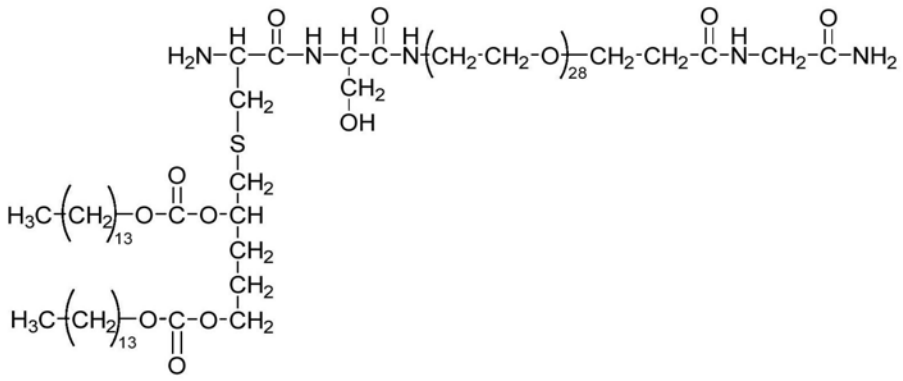
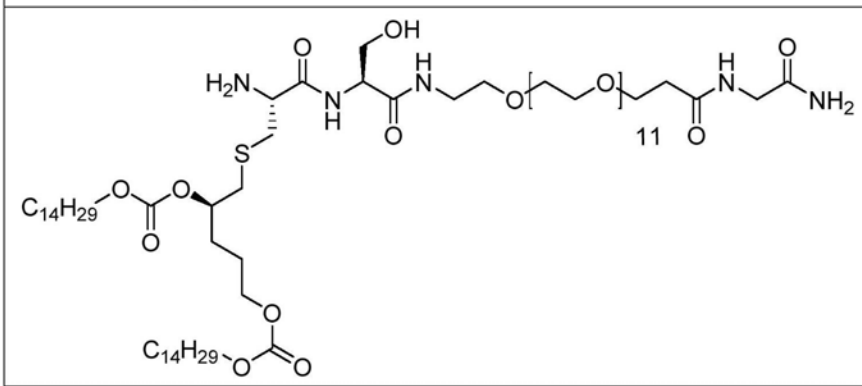
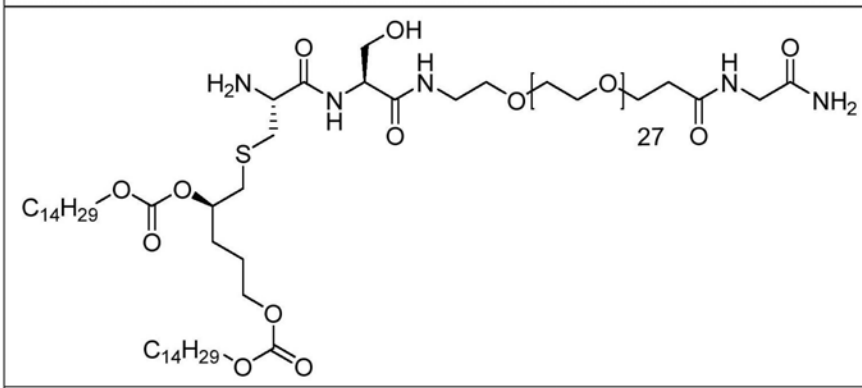
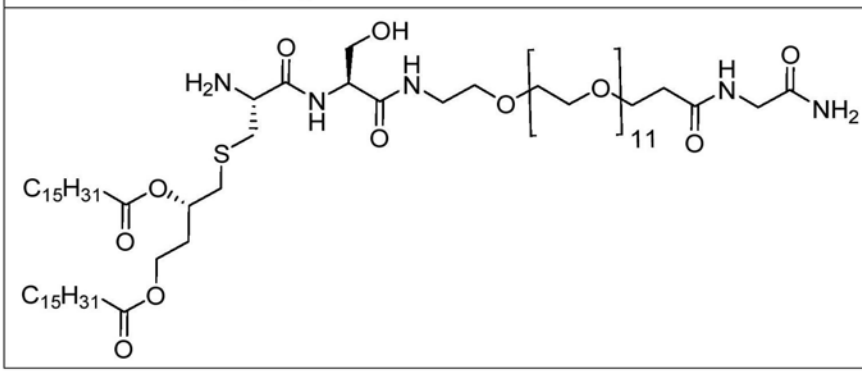
	A208
	A209
	A210
	A211

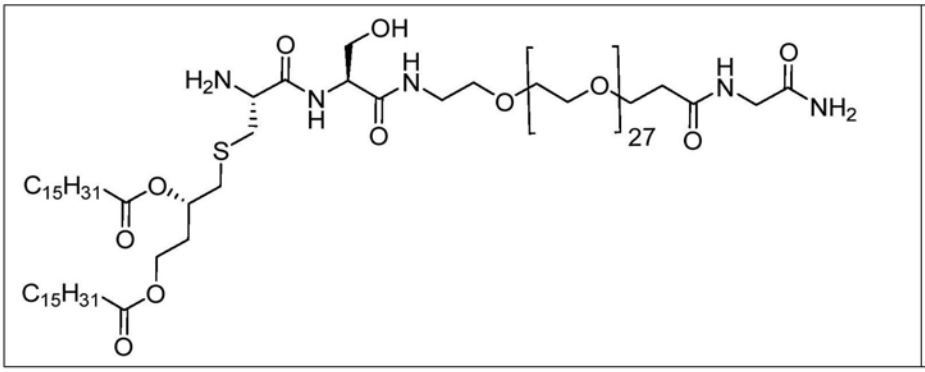
	A212
	A213
	A214
	A215

	A216
	A217
	A218
	A219

	A220
	A221
	A222
	A223

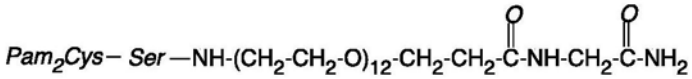
	A224
	A225
	A226
	A227

	A228
	A229
	A230
	A231



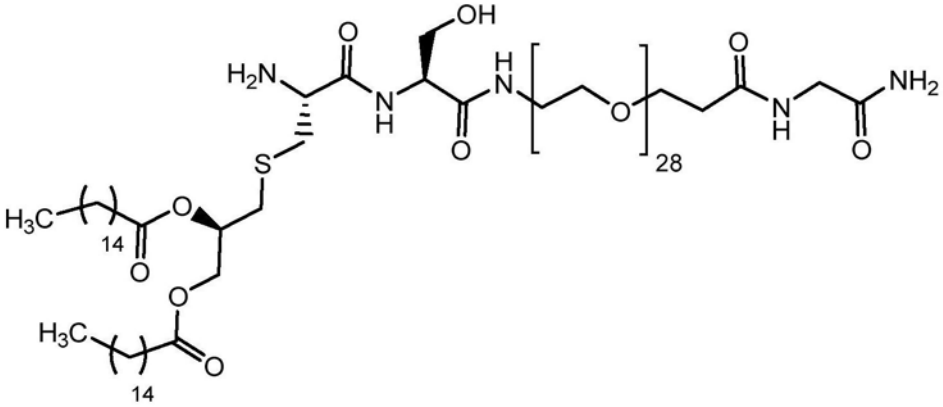
或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

44.如权利要求43所述的方法或用途，其中该TLR2激动剂由下式定义：



并且该免疫刺激剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4抗体。

45.如权利要求43所述的方法或用途，其中该TLR2激动剂由下式定义：



并且该免疫刺激剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4抗体。

46.如权利要求1至45中任一项所述的方法或用途，其中该TLR2激动剂不是Pam3Cys。

47.如权利要求1至46中任一项所述的方法或用途，其中该治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂每天施用一次。

48.如权利要求1至46中任一项所述的方法或用途，其中该治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂每周施用一次。

49.如权利要求1至48中任一项所述的方法或用途，其中该治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂适于静脉内施用于该受试者。

50.如权利要求1至48中任一项所述的方法或用途，其中该治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂适于施用于呼吸道，优选地通过吸入。

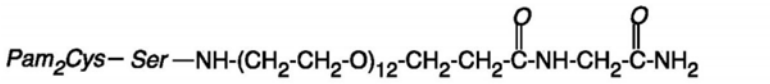
51.一种TLR2激动剂，其与免疫刺激剂组合用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展。

52.一种免疫刺激剂，其与TLR2激动剂组合用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展。

53.TLR2激动剂与免疫刺激剂组合在治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展中的用途。

54.一种包含治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂的药物组合物，该药物组合物用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展。

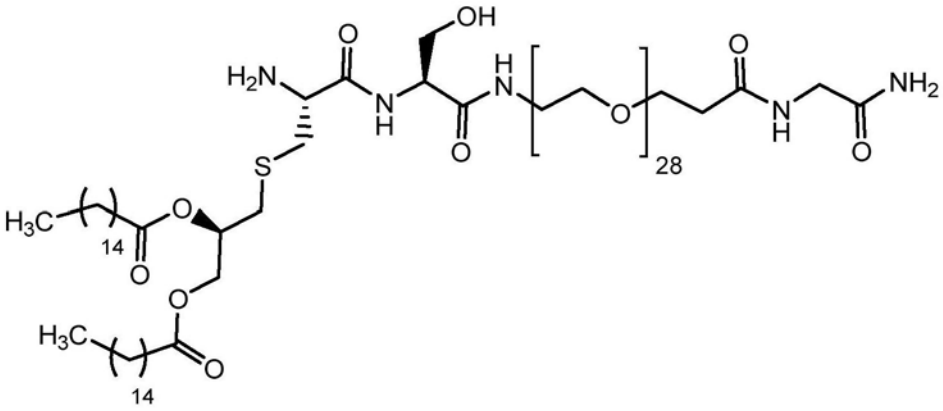
55.如权利要求51所述的TLR2激动剂、如权利要求52所述的免疫刺激剂、如权利要求53所述的用途或如权利要求54所述的组合物，其中该TLR2激动剂是由下式定义的Pam_2Cys-Ser-PEG：



(Pam_2Cys-Ser-PEG)

并且该免疫刺激剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4抗体。

56.如权利要求51所述的TLR2激动剂、如权利要求52所述的免疫刺激剂、如权利要求53所述的用途或如权利要求54所述的组合物，其中该TLR2激动剂由下式定义：



并且该免疫刺激剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4抗体。

57.如权利要求51至56中任一项所述的TLR2激动剂、免疫刺激剂、用途或药物组合物，其中该治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂适于施用于该受试者的呼吸道，优选地通过吸入。

58.如权利要求57所述的TLR2激动剂、免疫刺激剂、用途或药物组合物，其中该组合物被配制成喷鼻剂或滴鼻剂。

59.如权利要求1至58中任一项所述的方法、用途、TLR2激动剂、免疫刺激剂或药物组合物，其中该TLR2激动剂提高该免疫刺激剂在该受试者中的有效性。

60.如权利要求59所述的方法、用途、TLR2激动剂、免疫刺激剂或药物组合物，其中该TLR2激动剂提高该受试者的存活率、减少肿瘤生长和/或减少该肿瘤的转移。

61.一种包含如权利要求13至16或19至46中任一项所述的TLR2激动剂和/或检查点抑制剂的药盒，该药盒用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展。

癌症免疫疗法

[0001] 对在先申请的交叉引用

[0002] 本申请要求澳大利亚临时专利申请号AU 2019903262(2019年9月4日提交)和澳大利亚临时专利申请号AU 2019904864(2019年12月20日提交)的优先权。AU 2019903262和AU 2019904864中每一个的全部内容通过援引特此并入。

技术领域

[0003] 本发明涉及用于治疗和/或预防癌症的方法、化合物、组合物和药盒。在一个方面，本发明涉及免疫疗法用于治疗和/或预防癌症的用途。

背景技术

[0004] 免疫疗法已显示出治疗癌症的前景，因为它们能够减缓癌细胞的生长和扩散，并帮助免疫系统破坏现有的癌细胞。免疫疗法可以通过以下方式来帮助免疫系统：经由对抗原呈递细胞、T细胞或先天细胞的刺激来引发和加强免疫系统，因调节抑制途径而减少肿瘤环境中的免疫抑制，和/或增强适应性或先天免疫反应。

[0005] 免疫疗法的实例是检查点抑制剂。目前获得美国食品和药物管理局(FDA)批准的检查点抑制剂靶向细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)、程序性细胞死亡受体1(PD-1)或程序性细胞死亡配体1(PD-L1)。此类检查点抑制剂通过阻止癌细胞的免疫逃避而起作用。首个获批的药剂伊匹单抗(ipilimumab)于2011年获得FDA上市许可，用于治疗转移性黑色素瘤。自伊匹单抗以来，又有五种检查点抑制剂药物获批用于总共14种不同的适应症。

[0006] 2015年至2017年间，使用PD-1和PD-L1抑制剂的临床试验数量增加了近600％。尽管近年来施用检查点抑制剂的适应症数量大幅增加，但就患者反应百分比而言，这些药物的有益效果增加已经减慢。虽然对PD-1免疫疗法的临床反应与肿瘤PD-L1表达以及其他预测性生物标志物(诸如预先存在的CD8+ T细胞浸润和突变/新抗原负荷)正相关，但在其他临床试验中，已证明一些不表达PD-L1的肿瘤患者对PD-1途径阻断有反应。事实上，最近的分析表明，在美国，检查点抑制剂最多只能在不到13％的各种类型癌症患者中引起反应。

[0007] 因此，仍然需要用于治疗癌症的改进的免疫疗法。

[0008] 在本说明书中对任何现有技术的提及并不是承认或暗示此现有技术形成任何管辖权的公知常识的一部分，或者此现有技术可合理地预期被理解为被认为与本领域技术人员已知的其他现有技术是相关的和/或与之组合。

发明内容

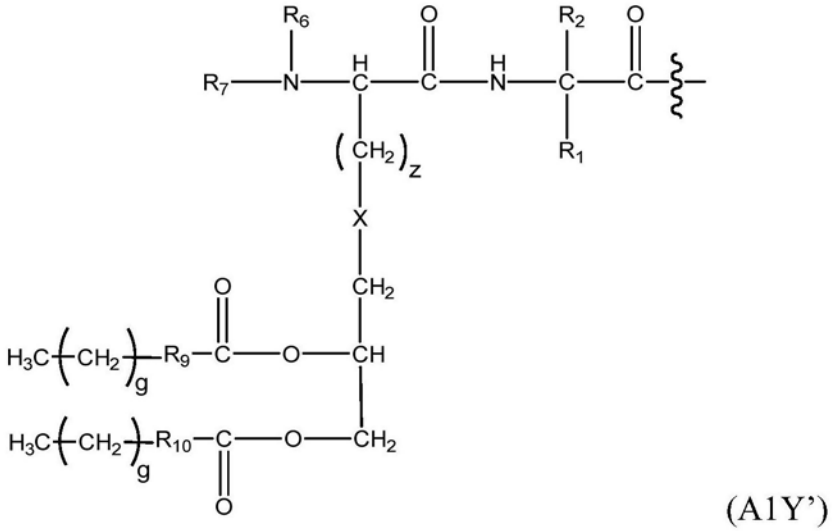
[0009] 本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0010] 在本发明的任何方面，TLR2激动剂可以是如本文所述的任一种。优选地，TLR2激动剂是如式(I)、(IA1)、(IA2)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(VIII)、(IX)、(X)、(XI)、

(XII)、(XIII)、(XIV)、(XV)、(XVI)、(XVII)、(XVIII)和(XIX)(在本文中统称为式(I)-(XIX))中的任一个所定义的化合物。

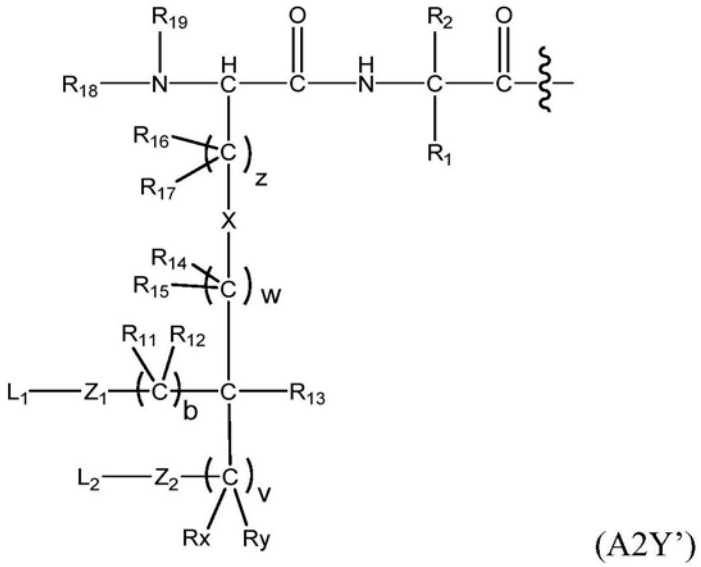
[0011] 在本发明的任何方面,TLR2激动剂可以是包含部分A和聚乙二醇(PEG)的化合物,该部分A选自如本文所定义的A1'和A2,其中部分A和PEG通过甘氨酸、丝氨酸、高丝氨酸、苏氨酸、磷酸丝氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺残基或谷氨酰胺残基的酯连接。

[0012] 在本发明的任何方面,化合物可包含部分结构A1Y'或A2Y'或由其组成:



(A1Y')

[0013]



(A2Y')

[0014] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组:H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$、-$CH_2OPO(OH)_2$、-$CH_2C(=O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(=O)OH$、和-$CH_2CH_2C(=O)OR_8$,其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替;

[0015] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组:H、直链或支链C_1-C_4烷基和-$C(=O)CH_3$;

[0016] R_8选自由以下组成的组:H和直链或支链C_1-C_6烷基;

[0017] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组:-NH-、-O-或单键;

[0018] z是1或2;

[0019] X选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-;

[0020] b和w各自独立地是从0至7的整数,并且v是从0至5的整数,前提是:

[0021] b、v与w之和是至少3;并且

[0022] b与w之和是从0至7;

[0023] Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组:-O-、-NR-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)$_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-;

[0024] 在b、v、w和z的每种情况下,R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基;

[0025] R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基;

[0026] R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A2;

[0027] L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基;

[0028] L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基;

[0029] A_2是氨基酸或肽;

[0030] 其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的;并且

[0031] A1Y'或A2Y'与聚乙二醇(PEG)共价连接,

[0032] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0033] 在一些实施例中,TLR2激动剂是选自化合物001-010、A101-A114和A201-A232中的任一种的化合物。

[0034] 如本文所用,提及"本发明的化合物"可以指以下中的任一种:

[0035] • 式(I)-(XIX)的化合物;

[0036] • 选自化合物001-010、A101-A114和A201-A232中的任一种的化合物;

[0037] • 包含部分A和聚乙二醇(PEG)的化合物,该部分A选自如本文所定义的A1'和A2,其中部分A和PEG通过甘氨酸、丝氨酸、高丝氨酸、苏氨酸、磷酸丝氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺残基或谷氨酰胺残基的酯连接;和/或

[0038] • 包含与PEG共价连接的式(A1Y')或(A2Y')的部分结构的化合物。

[0039] 在本发明的任何方面,免疫刺激剂可选自本文所述的任一种,包括但不限于由以下组成的组:

[0040] -细胞免疫疗法(细胞毒性细胞免疫疗法或过继细胞疗法);

[0041] -溶瘤病毒;

[0042] -癌症疫苗;

[0043] -T细胞接合剂;

[0044] -双特异性T细胞接合剂;以及

[0045] -检查点抑制剂。

[0046] 在一个优选的实施例中,根据本文所述的任何方法使用的免疫刺激剂是检查点抑制剂。

[0047] 在另一个方面,本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法,该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂,从而治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0048] 在另一个方面,本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少已接受或正在接受

免疫刺激剂的受试者的癌症进展的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂，从而治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0049] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少已接受或正在接受检查点抑制剂的受试者的癌症进展的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂，从而治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0050] 在本发明的任何方面，TLR2激动剂和免疫刺激剂可以同时施用。替代性地，它们可以依次施用。例如，免疫刺激剂可以在TLR2激动剂之前施用或者TLR2激动剂可以在免疫刺激剂之前施用。替代性地，用免疫刺激剂和/或TLR2激动剂治疗可以交错进行。在一个优选的实施例中，免疫刺激剂是检查点抑制剂。在本发明的这个方面，TLR2激动剂可以每周施用一次或两次，并且检查点抑制剂可以每三周施用一次。

[0051] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括以下步骤：

[0052] -鉴定已接受或正在接受用于治疗癌症的免疫刺激剂的患有癌症的受试者，

[0053] -评估该受试者是否对该免疫刺激剂有反应，

[0054] -如果该受试者对该免疫刺激剂没有反应，则向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂，

[0055] 由此治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0056] 在一个优选的实施例中，免疫刺激剂是检查点抑制剂，优选PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂或CTLA-4抑制剂。更优选地，检查点抑制剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4抗体。

[0057] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括以下步骤：

[0058] -鉴定患有癌症并且对包含免疫刺激剂的治疗没有反应的受试者，

[0059] -向该受试者施用治疗有效量的包含TLR2激动剂、由其组成或基本上由其组成的化合物，

[0060] 由此治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0061] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括以下步骤：

[0062] -鉴定患有癌症的受试者；以及

[0063] -向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，

[0064] 由此治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0065] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括以下步骤：

[0066] -鉴定患有癌症的受试者；以及

[0067] -向该受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂，

[0068] 由此治疗、预防或最大程度减少该受试者的癌症进展。

[0069] 在本发明的任何方面，TLR2激动剂可以组合物形式施用。此外，在本发明的任何方面，免疫刺激剂可以组合物形式施用。在一个优选的实施例中，检查点抑制剂可以组合物形式施用。典型地，该组合物进一步包含药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂。

[0070] 在本发明的任何实施例中，组合物可以被配制用于静脉内施用于受试者。换句话

说，该组合物适于静脉内施用。在本发明的另一个实施例中，组合物被配制用于施用于呼吸道，优选地通过吸入或鼻内。在另一个优选的实施例中，该组合物被配制成喷鼻剂或滴鼻剂。在另一个实施例中，TLR2激动剂被配制用于施用于呼吸道，优选地通过吸入，并且免疫刺激剂，优选本文所述的任何检查点抑制剂被配制用于腹膜内或静脉内施用。在该实施例中，免疫刺激剂和检查点抑制剂可以同时或在不同时间施用。

[0071] 在一个实施例中，TLR2激动剂以TLR2组合物的形式施用，该TLR2组合物可以不含作为其他TLR的激动剂的化合物。优选地，存在于TLR2组合物中的唯一TLR激动剂是TLR2同二聚体或异二聚体的激动剂。优选地，该组合物仅含有一种TLR2激动剂。

[0072] 在任何实施例中，该组合物包含TLR2激动剂和免疫刺激剂，优选检查点抑制剂，以及药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂、基本上由其组成或由其组成。

[0073] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种组合物，该组合物包含TLR2激动剂和免疫刺激剂，优选检查点抑制剂，以及药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂、基本上由其组成或由其组成。

[0074] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种增加患有癌症的受试者的存活率的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而增加该患有癌症的受试者的存活率。

[0075] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种增加患有癌症的受试者的存活率的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂，从而增加该患有癌症的受试者的存活率。

[0076] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的肿瘤生长的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的肿瘤生长。

[0077] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的肿瘤生长的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂，从而最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的肿瘤生长。

[0078] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的转移的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的转移。在一个优选的实施例中，该方法最大程度减少、降低或预防向肺的转移。

[0079] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的转移的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂，从而最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的转移。在一个优选的实施例中，该方法最大程度减少、降低或预防向肺的转移。

[0080] 在任何实施例中，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防受试者的癌症的方法，该方法包括：

[0081] -鉴定患有能够转移的肿瘤的受试者；以及

[0082] -向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，

[0083] 由此最大程度减少、降低或预防该受试者的癌症。

[0084] 在任何实施例中，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防受试者的

癌症的方法，该方法包括：

[0085] -鉴定患有能够转移的肿瘤的受试者；以及

[0086] -向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂，

[0087] 由此最大程度减少、降低或预防该受试者的癌症。

[0088] 在任何实施例中，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的转移的方法，该方法包括：

[0089] -鉴定患有能够转移的原发性肿瘤的受试者；

[0090] -从受试者身上切除原发性肿瘤；以及

[0091] -向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，

[0092] 由此最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的转移。

[0093] 在任何实施例中，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防患有癌症的受试者的转移的方法，该方法包括：

[0094] -鉴定患有能够转移的原发性肿瘤的受试者；

[0095] -从受试者身上切除原发性肿瘤；以及

[0096] -向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂，

[0097] 由此最大程度减少、降低或预防该患有癌症的受试者的转移。

[0098] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防受试者的远离原发性肿瘤部位的至少一个部位中的肿瘤生长的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和免疫刺激剂，从而最大程度减少、降低或预防、最大程度减少、降低或预防受试者的远离原发性肿瘤部位的至少一个部位中的肿瘤生长。

[0099] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种最大程度减少、降低或预防受试者的远离原发性肿瘤部位的至少一个部位中的肿瘤生长的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂，从而最大程度减少、降低或预防最大程度减少、降低或预防受试者的远离原发性肿瘤部位的至少一个部位中的肿瘤生长。

[0100] 在本发明的任何方面，本文所述的方法进一步包括鉴定患有癌症的受试者。在一个实施例中，癌症可以是癌前的或非转移性的。在另一个实施例中，癌症可以是恶性的或转移性的。

[0101] 在另一个方面，本发明进一步提供了包含TLR2激动剂和免疫刺激剂、由其组成或基本上由其组成的化合物在制备用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的药物中的用途。

[0102] 在另一个方面，本发明进一步提供了包含TLR2激动剂、由其组成或基本上由其组成的化合物在制备第一药物中的用途和包含免疫刺激剂、由其组成或基本上由其组成的化合物在制备第二药物中的用途，其中该第一药物和第二药物用于：

[0103] • 治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展，

[0104] • 最大程度减少、降低或预防受试者的肿瘤生长，

[0105] • 最大程度减少、降低或预防受试者的转移，或

[0106] • 增加受试者的存活率。

[0107] 替代性地，第一药物和第二药物用于如本文所述的本发明的任何其他方法或用途。

[0108] 在另一个方面，本发明进一步提供了TLR2激动剂和免疫刺激剂用于治疗、预防或预防受试者的癌症进展的用途。

[0109] 在另一个方面，本发明进一步提供了TLR2激动剂和免疫刺激剂，其用于治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展。替代性地，TLR2激动剂和检查点抑制剂用于如本文所述的本发明的任何其他方法或用途，包括治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展，最大程度减少、降低或预防受试者的肿瘤生长，最大程度减少、降低或预防受试者的转移，或增加受试者的存活率。

[0110] 在另一个方面，本发明进一步提供了TLR2激动剂在制备用于以下方面的药物中的用途：

[0111] • 治疗、预防或最大程度减少已接受或正在接受免疫刺激剂的受试者的癌症进展，

[0112] • 最大程度减少、降低或预防已接受或正在接受免疫刺激剂的受试者的肿瘤生长，

[0113] • 最大程度减少、降低或预防已接受或正在接受免疫刺激剂的受试者的转移，或

[0114] • 增加已接受或正在接受免疫刺激剂的受试者的存活率。

[0115] 在本发明的任何方面，本文所述的任何药物适于腹膜内、瘤内、局部、口服、静脉内施用于呼吸道，优选地通过吸入或鼻内、皮下或肌内。优选地，本文所述的任何药物适于静脉内或通过吸入施用。在这方面，药物可以配制成喷鼻剂或滴鼻剂。

[0116] 在另一个方面，本发明进一步提供了一种TLR2激动剂，其用于治疗、预防或最大程度减少已接受或正在接受免疫刺激剂的受试者的癌症进展。替代性地，该TLR2激动剂用于如本文所述的本发明的任何其他方法或用途。在本发明的一个方面，所使用的TLR2激动剂适于腹膜内、瘤内、局部、口服、优选地通过吸入或鼻内方式施用于呼吸道、静脉内、皮下或肌内。优选地，所使用的TLR2激动剂适于静脉内或通过吸入施用。在另一个方面，可以将所使用的TLR2激动剂配制成用于鼻内施用喷鼻剂或滴鼻剂。

[0117] 在另一个方面，本发明进一步提供了TLR2激动剂用于治疗、预防或最大程度减少已接受或正在接受免疫刺激剂的受试者的癌症进展的用途。替代性地，TLR2激动剂的用途是在如本文所述的本发明的任何其他方法或用途中。在本发明的一个方面，TLR2激动剂的用途适于腹膜内、瘤内、局部、口服、优选地通过吸入或鼻内方式施用于呼吸道、静脉内、皮下或肌内。优选地，TLR2激动剂的用途适于静脉内或通过吸入施用。在另一个方面，TLR2激动剂的用途可以配制成喷鼻剂或滴鼻剂。

[0118] 在本发明的任何实施例中，免疫刺激剂选自由以下组成的组：

[0119] -细胞免疫疗法(细胞毒性细胞免疫疗法或过继细胞疗法)；

[0120] -溶瘤病毒；

[0121] -癌症疫苗；

[0122] -T细胞接合剂；

[0123] -双特异性T细胞接合剂;以及

[0124] -检查点抑制剂。

[0125] 在本发明的任何方面，该方法不包括施用：

[0126] 抗原；

[0127] 肽抗原;或

[0128] T辅助抗原。

[0129] 在本发明的任何方面,TLR2激动剂不作为疫苗制剂的一部分施用,通常当经由皮下、吸入、鼻内、皮内或肌内途径施用时。

[0130] 在本发明的任何方面,TLR2激动剂不与抗原一起施用。在另一个方面,TLR2激动剂不与细胞穿透肽一起施用。

[0131] 在本发明的任何方面,该TLR2激动剂不是Pam3Cys。

[0132] 在本发明的任何实施例中,与单独的TLR2激动剂或单独的免疫刺激剂的作用相比,本文所述的任何TLR2激动剂和免疫刺激剂的作用可以是显著的。在一个方面,该作用可以是相加的或协同的。

[0133] 在另一个方面,当向受试者施用本文所述的任何TLR2激动剂和免疫刺激剂时,TLR2激动剂可以提高本文所述的任何免疫刺激剂的有效性。优选地,本文所述的任何免疫刺激剂的提高的有效性与对检查点抑制剂部分或完全抗性的肿瘤有关,例如PD-1抗性肿瘤。

[0134] 在一个实施例中,本文所述的任何TLR2激动剂和免疫刺激剂对受试者存活的作用可显著大于TLR2激动剂和免疫刺激剂单独施用时的作用。在另一个实施例中,本文所述的任何TLR2激动剂和免疫刺激剂对受试者的肿瘤生长或转移的作用可显著大于TLR2激动剂和免疫刺激剂单独施用时的作用。

[0135] 在本发明的任何方面,TLR2激动剂和/或免疫刺激剂施用一次。在另一个实施例中,向受试者施用TLR2激动剂和/或免疫刺激剂两次、三次、四次或更多次。

[0136] 在本发明的任何方面,TLR2激动剂和/或免疫刺激剂可以在同一组合物中或在分开的组合物中施用。在另一个方面,TLR2激动剂和/或免疫刺激剂因此可以一起或依次施用。替代性地,施用可以交错进行。TLR2激动剂和/或免疫刺激剂也可以按相同的频率或不同的频率施用。

[0137] 在本发明的任何方面,TLR2激动剂和免疫刺激剂可以通过本领域任何已知的施用途径施用,包括腹膜内、瘤内、局部、口服、经由吸入或鼻内方式施用于呼吸道、静脉内、皮下或肌内。优选地,TLR2激动剂和/或免疫刺激剂静脉内或通过吸入施用。

[0138] 在本发明的任何方面,所施用的TLR2激动剂的量可以在约250nmol/kg体重/剂量至0.005nmol/kg体重/剂量的范围内。优选地,该范围为约250nmol/kg体重/剂至0.05nmol/kg体重/剂。在一些实施例中,体重/剂范围为约250nmol/kg至0.1nmol/kg、约50nmol/kg至0.1nmol/kg、约5nmol/kg至0.1nmol/kg、约2.5nmol/kg至0.25nmol/kg、或约0.5nmol/kg至0.1nmol/kg体重/剂。在一些实施例中,该量为或约为250nmol、50nmol、5nmol、2.5nmol、0.5nmol、0.25nmol、0.1nmol或0.05nmol/kg体重/剂的化合物。

[0139] 在本发明的任何方面,所施用的TLR2激动剂的量可以在约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100μg/kg或更多的范围内。

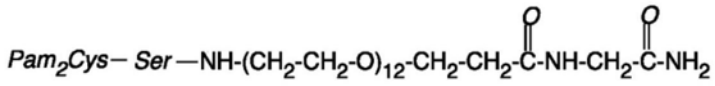
[0140] 在本发明的任何方面,所施用的免疫刺激剂的量,特别是检查点抑制剂的量可以在约0.01mg/kg至约20mg/kg、约0.1mg/kg至约10mg/kg、约0.1mg/kg至约5mg/kg、约1mg/kg至约5mg/kg、约2mg/kg至约5mg/g、约7.5mg/kg至约12.5mg/kg、或约0.1mg/kg至约30mg/kg

受试者体重的范围内。例如，剂量可以是约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg、约5mg/kg或约10mg/kg体重，或约0.3mg/kg、约1mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg或约5mg/kg体重。

[0141] 在本发明的任何方面，该癌症选自由以下组成的组：乳腺癌、结肠直肠癌、腺癌、间皮瘤、膀胱癌、前列腺癌、生殖细胞癌、肝细胞瘤/胆管细胞癌、神经内分泌癌、垂体肿瘤、小圆细胞肿瘤、鳞状细胞癌、黑色素瘤、非典型纤维黄色瘤、精原细胞瘤、非精原细胞瘤、间质莱迪希细胞瘤、塞尔托立细胞瘤、皮肤肿瘤、肾肿瘤、睾丸肿瘤、脑肿瘤、卵巢肿瘤、胃肿瘤、口腔肿瘤、膀胱肿瘤、骨肿瘤、宫颈肿瘤、食管肿瘤、喉肿瘤、肝肿瘤、肺肿瘤、纤维肉瘤、阴道肿瘤或威尔姆氏肿瘤。在一个优选的实施例中，该癌症是黑色素瘤、乳腺癌或结肠癌。

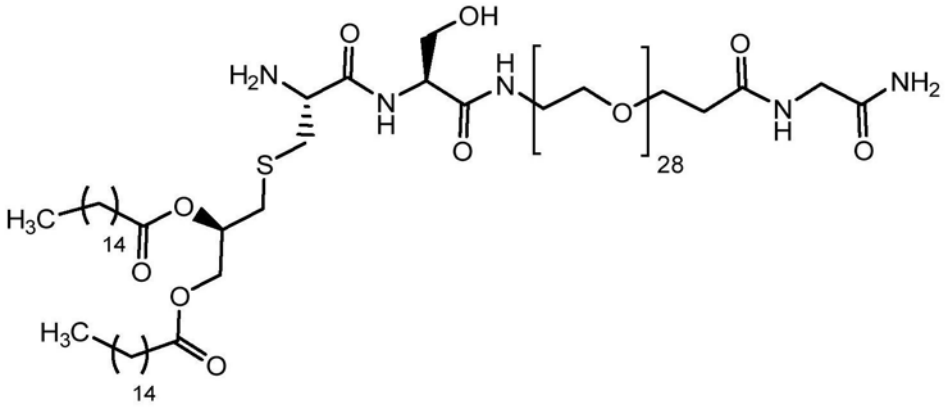
[0142] 在本发明的任何方面，检查点抑制剂可以是PD-1、PD-L1或CTLA-4检查点抑制剂。在一个方面，检查点抑制剂是抗体。优选地，检查点抑制剂是抗体形式的PD-1、PD-L1或CTLA-4的抑制剂。

[0143] 优选地，TLR2激动剂是本文描述的任一种，甚至更优选Pam_2Cys-Ser-PEG。如本文所用，Pam_2Cys-Ser-PEG可以是下式的化合物：

[0144] 

[0145] (Pam_2Cys-Ser-PEG)

[0146] 在另一个优选的方面，TLR2激动剂是下式的化合物：

[0147] 

[0148] 在本发明的任何实施例中，该方法不包括施用除TLR2同二聚体或异二聚体之外的TLR的激动剂。

[0149] 在本发明的一个方面，向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和治疗有效量的免疫刺激剂包括根据本文所述的那些方法施用Pam_2Cys-Ser-PEG和免疫刺激剂。优选地，免疫刺激剂是检查点抑制剂，该检查点抑制剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4的抑制剂。更优选地，检查点抑制剂是抗体的形式。

[0150] 在本发明的任何方面，向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和治疗有效量的检查点抑制剂包括根据本文所述的那些方法施用化合物A108和免疫刺激剂。优选地，免疫刺激剂是检查点抑制剂，该检查点抑制剂是PD-1、PD-L1或CTLA-4的抑制剂。更优选地，检查点抑制剂是抗体的形式。在这个或任何其他方面，TLR2激动剂和/或检查点抑制剂可以施用于呼吸道，优选地通过吸入。

[0151] 在本发明的任何方面，该TLR2激动剂包括脂质、肽聚糖、脂蛋白或脂多糖。优选地，

该TLR2激动剂包括棕榈酰、肉豆蔻酰、硬脂酰、月桂酰、辛酰或癸酰。该TLR2激动剂可以选自由以下组成的组:Pam2Cys、Pam3Cys、Ste2Cys、Lau2Cys和Oct2Cys。在优选的实施例中,TLR2激动剂包括Pam2Cys。

[0152] 在本发明的任何方面,该TLR2激动剂可以与其他化合物或官能团缀合。其他化合物或官能团是本文所述的那些中的任一种。基于帮助将该TLR2激动剂溶解在载剂、稀释剂、赋形剂或溶剂中来选择优选的化合物。

[0153] 根据溶剂的极性,该TLR2激动剂的溶解度可以通过增溶剂增加。因此,该化合物可包含TLR2激动剂和增溶剂。优选地,该TLR2激动剂与增溶剂连接。该TLR2激动剂可以是聚乙二醇化的。优选地,该增溶剂是如本文所述的任何分子。

[0154] 该增溶剂可包含带正电荷或带负电荷的基团、基本上由或由带正电荷或带负电荷的基团组成。优选地,带电荷的基团是支链或直链肽。优选地,带正电荷的基团包含至少一种带正电荷的氨基酸,诸如精氨酸或赖氨酸残基。优选地,带负电荷的基团包含至少一种带负电荷的氨基酸,诸如谷氨酸或天冬氨酸。带电荷的氨基酸可以在末端,优选N-末端。

[0155] 典型地,该增溶剂包括聚乙二醇(PEG)或R4。在本发明的任何方面,该增溶剂包括聚乙二醇(PEG)和R4。

[0156] 在本发明的任何方面,该化合物包括与PEG_{11}缀合的Pam2Cys。在本发明的任何方面,Pam2Cys和PEG_{11}分子被至少一个丝氨酸隔开。

[0157] 在本发明的任何方面,当与其他TLR2激动剂的作用相比时,TLR2激动剂具有改善的溶解度。在一个优选的实施例中,化合物A108的溶解度为PEG-Pam2Cys-R4的约10倍。

[0158] 在一个实施例中,化合物1在介于约0.2pg/ml和500pg/ml之间或更高的EC_{50}下对人TLR2具有刺激作用。在一个优选的实施例中,化合物1在0.5pg/ml、1.9pg/ml、7.8pg/ml、31.25pg/ml、125pg/ml和500pg/ml的EC_{50}下对人TLR2具有刺激作用。

[0159] 在另一个方面,化合物1仅在10ng/ml的EC_{50}下刺激TLR2。换句话说,化合物1在10ng/ml的EC_{50}下不刺激任何其他TLR2激动剂。

[0160] 在一个实施例中,Pam2CysSK4在介于约0.05pg/ml和64pg/ml之间或更高的EC_{50}下对人TLR2具有刺激作用。在另一个实施例中,Pam2CysSK4在0.5pg/ml、1.9pg/ml、7.8pg/ml、31.3pg/ml、125pg/ml和500pg/ml的EC_{50}下对人TLR2具有刺激作用。在另一个实施例中,Pam2CysSK4在0.0625pg/ml、0.25pg/ml、1.0pg/ml、4pg/ml、16pg/ml和64pg/ml的EC_{50}下对人TLR2具有刺激作用。

[0161] 在一个实施例中,化合物A108在介于约0.2pg/ml和500pg/ml之间或更高的EC_{50}下对人TLR2具有刺激作用。

[0162] 在本发明的任何方面,本文所述的任何TLR2激动剂不表现出细胞毒性。在一个方面,本文所述的任何TLR2激动剂不抑制人细胞色素p450酶。

[0163] 在另一个方面,本文所述的任何TLR2激动剂不显著增加I型干扰素(IFN-α)和II型干扰素(IFN-γ)。在另一个方面,本文所述的任何TLR2激动剂能够引发免疫反应,优选地通过增加单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)。

[0164] 在另一个方面,本文所述的任何TLR2激动剂具有介于约1和10小时之间、优选介于约3和6小时之间的半衰期。在一个优选的实施例中,TLR2激动剂是化合物A108。

[0165] 在一个方面,本文所述的任何TLR2激动剂可以通过激活TLR2同二聚体或TLR2/6异

二聚体来激活TLR2途径。在一个方面，化合物1在高于约1pg/ml、优选高于约2pg/ml的浓度下具有人TLR2同二聚体和TLR2/6异二聚体的刺激作用。在一个方面，化合物A108在高于约6pg/ml、优选高于约7pg/ml的浓度下具有人TLR2同二聚体的刺激作用。在一个方面，化合物A108在高于约0.3pg/ml、优选高于约0.4pg/ml的浓度下具有人TLR2/6异二聚体的刺激作用。在另一个方面，本文所述的任何TLR2激动剂不激活TLR2/1异二聚体。

[0166] 考虑用于本发明的任何方面的TLR2激动剂是如本文所述的任何化合物，包括式(I)-(XIX)的化合物。

[0167] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展的方法，该方法包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的化合物，诸如根据式(I)-(XIX)中的任一个的化合物和包含部分A的任何其他化合物和免疫刺激剂，从而治疗、预防或最大程度减少受试者的癌症进展。

[0168] 前述段落中所述的本发明的进一步方面和这些方面的进一步实施例将从以举例方式给出并参考附图的以下描述中变得清楚。

附图说明

[0169] 图1.化合物1/化合物A101提高了MC38模型中抗PD1免疫疗法的功效。A.实验设置：用指定剂量的化合物1与抗PD1阻断抗体一起对携带MC38的WT小鼠进行瘤内治疗。随时间推移测量并监测肿瘤生长。B.卡普兰-迈耶(Kaplan-Meier)存活曲线平均值±SEM.；对于对照n＝10，对于抗PD1、抗PD1+5μg化合物1和抗PD1+50μg化合物1n＝9，对于抗PD1+25μg化合物1n＝8，统计学；对数秩检验。

[0170] 图2.化合物1/化合物A101提高了B16F10模型中抗PD1免疫疗法的功效。A.实验设置：用指定剂量的化合物1与抗PD1阻断抗体或对照一起对携带B16F10的WT小鼠进行瘤内治疗。随时间推移测量并监测肿瘤生长。B.卡普兰-迈耶存活曲线(对于对照和抗PD1 n＝10，并且对于抗PD1+25μg化合物1n＝11，对于抗PD1+50μg化合物1n＝12；对数秩检验)。

[0171] 图3.全身递送化合物1/化合物A101提高了抗PD1免疫疗法的功效。A.实验设置：用指定剂量的化合物1或对照和腹膜内注射抗PD1或对照IgG对携带MC38的WT小鼠进行静脉内治疗。B.随时间推移测量并监测肿瘤生长，并响应于化合物1、抗PD-1、化合物1和抗PD-1或对照IgG进行评估。

[0172] 图4.组合免疫疗法减少了4T1.2乳腺癌细胞的转移性扩散。A.实验设置：对Balb/c小鼠注射4T1.2乳腺癌细胞。手术切除原发性肿瘤并如图所示对小鼠进行治疗。在肺表面对转移的数量进行计数。B.指定队列中4T1.2肺转移的数量(平均值±SEM.；对于对照和抗PD1 n＝8；对于抗PD1+10μg化合物1n＝9；统计学，使用Dunnettes检验进行多重比较的单向方差分析)。

[0173] 图5.化合物A108与检查点抑制剂的组合显著降低了体内EMT6.5肿瘤的生长速率。A.EMT6.5肿瘤的纵向监测(卡尺测量)表明含有化合物A108的治疗方案使得EMT6.5肿瘤生长和肿瘤大小的减少。媒介物与抗PD1单一疗法(200μg)，p＝n.s；媒介物与INNA-042(10μg)，p＝0.0001；媒介物与INNA-042+抗PD1，p<0.0001；抗PD1单一疗法(200μg)与INNA-042+抗PD1，p<0.0001。B.卡普兰-迈耶存活图表明用化合物A108和抗PD1的组合疗法的动物预后较好。对数秩检验。C.小提琴图详细说明了每组中的单个肿瘤大小(黑点)。

[0174] 图6.化合物A108与检查点抑制剂的组合在富含免疫细胞的MC38模型中具有抗肿瘤活性。用25ug化合物A108对携带MC38黑色素瘤的WT小鼠进行瘤内治疗。卡普兰-迈耶存活分析强调了响应于施用化合物A108和抗PD1免疫疗法的存活的显著改善。

[0175] 图7.化合物A108与检查点抑制剂的组合具有针对MC38结肠癌模型的大肿瘤的抗肿瘤活性。每两天用化合物A108进行瘤内施用,每四天用抗PD1(10mg/Kg(200μg剂量)进行腹膜内施用。随时间推移测量并监测肿瘤生长。数据示出了化合物A108、抗PD-1或组合在治疗期间的抗肿瘤作用。使用Tukey多重比较检验的双向方差分析。

[0176] 图8.化合物A108与抗PD-1、抗PDL1或抗CTL4的组合预防了WEHI164成纤维细胞瘤肿瘤模型中的肿瘤生长。单次2.5μg剂量的化合物A108,在接种后第7天经由腹膜内途径与A.3次剂量的抗PD1(200μg腹膜内)或B.抗CTLA4(100μg腹膜内-第7天)或C.抗PDL1组合。A.抗PD1与抗PD1+A108 p＝0.034;抗PD1+A108与PBS p＝0.0081;B.抗CTLA4+A108与抗CTLA4 p＝0.0237;抗CTLA4+A108与单独的A108 p＝0.0001;单独的抗CTLA4与PBS p＝0.0453;抗CTLA4+A108与PBS p＝0.0001,C.抗PDL1+A108与单独的A108 p＝0.0001;单独的抗PDL1与PBS p＝0.0414;抗PDL1+A108与PBS p＝0.0028。

[0177] 图9.人TLR2活性。来自实例5中描述的NK-κB荧光素酶测定的化合物A107、A108、A115、A116、A203、A204、A215和A216的人TLR2活性。

具体实施方式

[0178] 现在将详细地参照本发明的某些实施例。虽然本发明将结合实施例来进行描述,但是应当理解的是,不意图将本发明限于那些实施例。相反,本发明旨在涵盖可以包括在如权利要求所限定的本发明范围内的所有替代性方案、修改方案以及等同方案。

[0179] 本领域技术人员应认识到类似于或等同于本文所述的那些的可以在本发明的实践中使用的许多方法和材料。本发明绝不限于所述的方法和材料。应当理解的是,在本说明书中披露和限定的本发明可扩展至所提及的或者从文本部分和附图部分显而易见的单个特征的两个或更多个的所有替代性组合。所有这些不同组合构成本发明的多个替代性方面。

[0180] 本文提及的所有专利和公开物均通过援引以其全文并入。

[0181] 出于解释本说明书的目的,以单数形式使用的术语也包括复数并且反之亦然。

[0182] 在肿瘤的发展过程中,肿瘤细胞或多或少地被患者自身的免疫系统耐受,因为它们是患者自身的细胞(例如,它们是自身的)并且不能被患者的免疫系统有效地识别,从而使肿瘤细胞在没有适当的调节控制的情况下生长和分裂。因此,患者自身的免疫系统需要刺激来攻击癌细胞。癌症免疫疗法涉及利用癌症患者的免疫系统通过刺激患者的免疫系统来排斥癌症。反过来,激活的免疫系统攻击癌细胞,而不攻击患者的正常细胞。已证明对治疗癌症有用的所谓免疫疗法是使用检查点抑制剂。

[0183] 尽管此类检查点抑制剂癌症免疫疗法已在某些癌症中显示出疗效,但此类疗法在相当大比例的患者中无效,并且一些初始反应者最终会对这些疗法产生耐药性,出现疾病复发。患者对免疫疗法的反应能力取决于许多因素,包括个体基因组成、感染史、年龄、营养状况、HLA类型和某些药物的消耗。掩蔽肿瘤抗原使得无法通过免疫监视检测到肿瘤细胞也是一个特别的问题,因为癌症患者的免疫状态通常受损。

[0184] 例如，已证明单独的PD-1阻断对患有某些类型的癌症诸如黑色素瘤和大B细胞淋巴瘤的患者亚群无效。因此，需要用于治疗癌症的更可靠且更有效的免疫疗法方案。本发明人出乎意料地发现，当免疫刺激剂(例如检查点抑制剂)与TLR2激动剂一起施用时，观察到对免疫疗法的积极反应。这种作用已经在许多癌症模型包括结肠癌、乳腺癌、转移性乳腺癌、纤维肉瘤和黑色素瘤中进行了测试。重要的是，在一些方面，施用免疫刺激剂(例如检查点抑制剂)和TLR2激动剂能够显著改善受试者的癌症。

[0185] 具体地，当向受试者施用免疫刺激剂和TLR2激动剂的组合时，这导致肿瘤生长的显著抑制。即使在低剂量的给定TLR2激动剂下也可观察到这种作用。重要的是，当向受试者施用免疫刺激剂和TLR2激动剂的组合时，与单独施用免疫刺激剂的作用相比，这导致存活率增加。在一些情况下，本发明人发现，虽然单独施用免疫刺激剂不会增加受试者的存活率，但当在TLR2激动剂的存在下施用免疫刺激剂时，存活率显著增加。具体地，在黑色素瘤和乳腺癌模型中，当检查点抑制剂与TLR2激动剂一起施用时，观察到积极反应，尽管单独施用检查点抑制剂作用较差或无效。

[0186] 本发明人已经在许多不同病因和发病机制的癌症模型中显示出这种显著作用。

[0187] 具体地，如本文所述的TLR激动剂和免疫刺激剂的组合已经在许多癌症模型中进行了测试，包括：

[0188] • 具有三阴性乳腺癌特征的上皮性乳腺癌；

[0189] • 转移性PD1不敏感乳腺癌；

[0190] • 结肠癌；

[0191] • PD1不敏感黑色素瘤；以及

[0192] • 纤维肉瘤。

[0193] 因此，技术人员将理解本发明对本文所述的任何其他癌症的适用性。本文描述的发现意义重大，因为它们确立了当使用免疫刺激剂和TLR2激动剂的组合时，以前单独使用检查点抑制剂无法治疗的肿瘤现在是可治疗的。

[0194] 本发明人在本文中还描述了许多不同的TLR2激动剂与各种免疫刺激剂组合治疗癌症的效用，这些免疫刺激剂包括：

[0195] • 在结肠癌、黑色素瘤和转移性乳腺癌模型中的化合物1/化合物A101，当腹膜内、肿瘤内或全身施用时能够损害肿瘤生长、延长存活期和减少转移；以及

[0196] • 在结肠癌、乳腺癌、黑色素瘤、纤维肉瘤和转移性乳腺癌模型中的化合物A108，当腹膜内、肿瘤内或全身施用时显著降低肿瘤生长、提高存活率并减少转移。

[0197] 因此，技术人员将理解本发明对本文所述的任何其他TLR2激动剂的适用性。

[0198] 本发明人还证明了许多检查点抑制剂与上述TLR2激动剂组合治疗癌症的效用，这些检查点抑制剂包括：

[0199] • PD1；

[0200] • PD-L1；以及

[0201] • CTLA-4。

[0202] 因此，技术人员将理解本发明对本文所述或本领域已知的任何其他免疫刺激剂的适用性。

[0203] 因此，这项工作确定了一种新的免疫疗法，可以提高癌症患者(包括以前对免疫刺

激无反应的患者)的反应率。

[0204] 这种作用对发明人来说是令人惊讶的,因为TLR2激动剂在治疗癌症中的作用一直不清楚。特别地,已经报道了皮下或腹膜内施用合成TLR2/6激动剂(包括Pam2cysSK4和MALP2)没有抗肿瘤活性,并且相反会诱导IL-10和Treg(Yamazaki等人.PLOS ONE[公共科学图书馆:综合]2011 6(4):e18833)。同一组报道了静脉内施用Pam2cysSK4(一种TLR2/6激动剂)可促进髓细胞来源的抑制细胞(Maruyama等人Biochemical and Biophysical Research Communications[生物化学与生物物理研究通讯]2015 457:445e450)。重要的是,有人提出源自癌细胞的内源性TLR2/6激动剂可能增强转移(Kim等人Nature[自然]2009 457:102-106)。另一项研究还表明,TLR2刺激可能通过PI3K/Akt和NFκB信号传导途径促进结肠直肠癌细胞生长(Liu等人International Immunopharmacology[国际免疫药理学]2018 59:375-383)。

[0205] Toll样受体(TLR)

[0206] Toll样受体(TLR)是由在先天免疫和适应性免疫中均起重要作用的不同细胞类型表达的模式识别受体(PRR)。先天免疫系统的细胞通过产生促炎细胞因子和趋化因子来响应TLR激活,这些促炎细胞因子和趋化因子发送清除病原体和受损自身的信号。与特定配体接合后,TLR激活通过包括髓样分化初级反应基因88(MyD88)、含有Toll-白介素1受体(TIR)结构域的衔接子蛋白TIRAP和含有TIR结构域的衔接子诱导干扰素-βTRIF的几种衔接子分子引起转录因子诸如核因子κB(NF)-kB、激活蛋白-1(AP-1)和干扰素调节因子(IRF)的激活,从而调节细胞因子表达。

[0207] 存在许多属于该膜受体蛋白家族的TLR,包括TLR1、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8和TLR9。

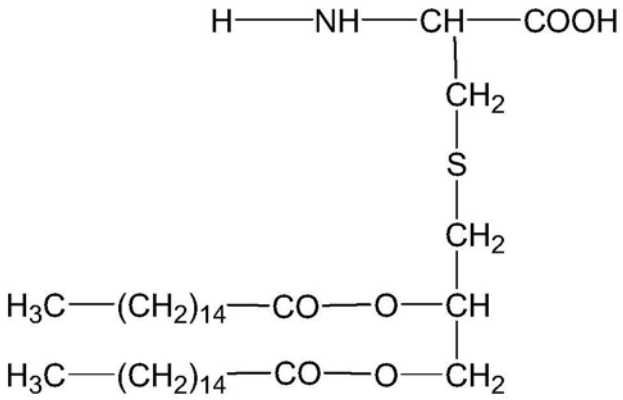
[0208] 如本文所用,术语“TLR2”旨在意指Toll样受体2蛋白。在人类中,TLR2由TLR2基因编码。TLR2在某些细胞的表面上表达,并在病原体识别和先天免疫激活中起基础性作用。

[0209] TLR2激动剂是结合Toll样受体2的药剂。TLR2激动剂可以作为同二聚体或异二聚体结合并激活TLR2。本领域已知的任何TLR2激动剂都考虑用于本发明。

[0210] 在本发明的任何实施例中,TLR2激动剂包括脂质、肽聚糖、脂蛋白或脂多糖。优选地,该TLR2激动剂包括棕榈酰、肉豆蔻酰、硬脂酰、月桂酰、辛酰或癸酰。该TLR2激动剂可以选自由以下组成的组:Pam2Cys、Pam3Cys、Ste2Cys、Lau2Cys和Oct2Cys。在优选的实施例中,TLR2激动剂包括Pam2Cys。

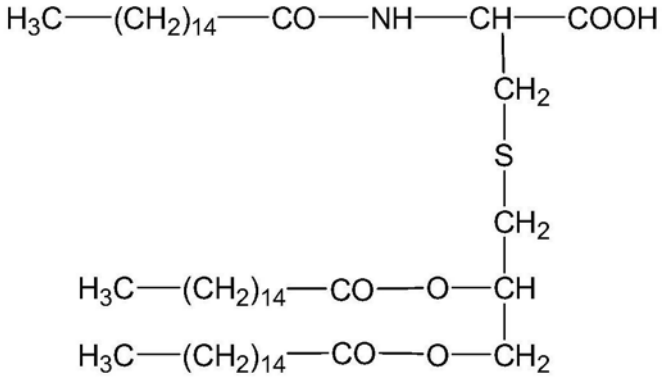
[0211] 根据本发明任何实施例的示例性脂肽是脂肽“Pam2Cys”。本领域技术人员应当理解,术语“脂肽”意指包含缀合的一个或多个脂质部分和一个或多个氨基酸序列的任何物质组合物。已合成了Pam2Cys(也称为二棕榈酰基-S-甘油基-半胱氨酸或S-[2,3双(棕榈酰氧基)丙基]半胱氨酸),并且其对应于MALP-2的脂质部分,MALP-2是从发酵支原体(Mycoplasma fermentans)中分离的巨噬细胞激活脂肽。Pam2Cys被认为是TLR2的配体。

[0212] Pam2Cys具有以下结构:

[0213] 

[0214] 如本文所用,对上述化学结构中表示的“S”的提及定义硫原子。

[0215] 另一种示例性脂肽是脂氨基酸N-棕榈酰基-S-[2,3-双(棕榈酰氧基)丙基]半胱氨酸,也称为Pam3Cys,或者Pam3Cys-OH是跨越革兰氏阴性细菌的内膜和外膜的博朗脂蛋白(Braun's lipoprotein)的N-末端部分的合成形式,Pam3Cys具有以下结构:

[0216] 

[0217] 美国专利号5,700,910描述了用作脂肽制备中的中间体的几种N-酰基-S-(2-羟烷基)半胱氨酸,这些脂肽用作合成佐剂、B淋巴细胞刺激剂、巨噬细胞刺激剂或合成疫苗。US 5,700,910还传授了此类化合物作为中间体在合成Pam3Cys-OH和在N-末端包含该脂氨基酸或其类似物的脂肽中的用途。

[0218] 可用于靶向细胞表面TLR的其他脂质部分包括棕榈酰、肉豆蔻酰、硬脂酰、月桂酰、辛酰或癸酰。

[0219] 除了Pam2Cys和Pam3Cys之外,本发明还设想了根据本发明使用Ste2Cys、Lau2Cys和Oct2Cys。本领域技术人员应当知道,Ste2Cys也称为S-[2,3-双(硬脂酰氧基)丙基]半胱氨酸或二硬脂酰基-S-甘油基-半胱氨酸;Lau2Cys也称为S-[2,3-双(月桂酰氧基)丙基]半胱氨酸或二月桂酰基-S-甘油基-半胱氨酸;并且Oct2Cys也称为S-[2,3-双(辛酰氧基)丙基]半胱氨酸或二辛酰基-S-甘油基-半胱氨酸。

[0220] 其他合适的TLR2激动剂包括但不限于合成的三酰化和二酰化脂肽、FSL-1(衍生自唾液支原体(Mycoplasma salivarium)1的合成脂蛋白)、Pam3Cys(三棕榈酰基-S-甘油基半胱氨酸)和S-[2,3-双(棕榈酰氧基)-(2RS)-丙基]-N-棕榈酰基-(R)-半胱氨酸,其中“Pam3”是“三棕榈酰基-S-甘油基”。Pam3Cys的衍生物也是合适的TLR2激动剂,其中衍生物包括但不限于:S-[2,3-双(棕榈酰氧基)-(2-R,S)-丙基]-N-棕榈酰基-(R)-Cys-(S)-Ser-(Lys)4-羟基三氢氯化物、Pam3Cys-Ser-Ser-Asn-Ala、Pam3Cys-Ser-(Lys)4、Pam3Cys-Ala-Gly、Pam3Cys-Ser-Gly、Pam3Cys-Ser、Pam3Cys-OMe、Pam3Cys-OH、PamCAG、棕榈酰基-Cys((RS)-

2,3-二(棕榈酰氧基)-丙基)-Ala-Gly-OH等。

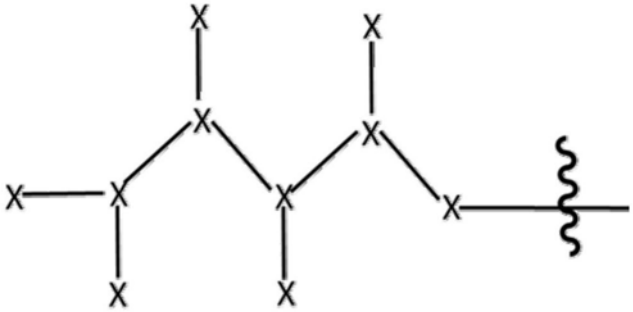
[0221] 合适的TLR2激动剂的其他非限制性实例是Pam2CSK4,Pam2CysSK4(二棕榈酰基-S-甘油基半胱氨酸-丝氨酸-(赖氨酸)4、或Pam2Cys-Ser-(Lys)4)是合成的二酰化脂肽。其他合成的TLR激动剂包括例如在以下文献中描述的那些:Kellner等人(1992)Biol.Chem.[生物化学杂志]373:1:51-5;Seifer等人(1990)Biochem.J[生物化学杂志]26:795-802;以及Lee等人(2003)J.Lipid Res.[脂质研究杂志]44:479-486。

[0222] TLR2激动剂可以与一种或多种化合物或官能团缀合。以下给出了具体化合物或官能团的实例。一种形式的化合物或官能团可用于增加TLR2激动剂的溶解度。如本领域技术人员所理解的,TLR2激动剂典型地是非极性的,因此,虽然可溶于非极性溶剂,但在极性溶剂和水性溶剂中仅有少量溶解。当期望在极性溶剂或水性溶剂中使用TLR2激动剂时,可将TLR2激动剂与增溶剂缀合。

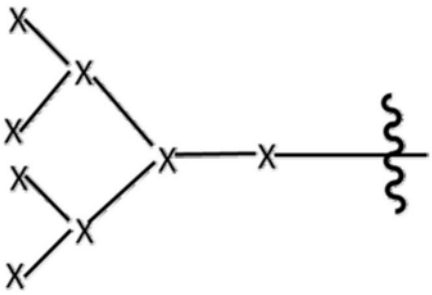
[0223] 增溶剂可包括一种或多于一种增溶剂,该增溶剂可与TLR2激动剂缀合以改善TLR2部分的溶解度。增溶剂通常是增加TLR2部分在极性溶剂或水性溶剂中的溶解度的极性部分。

[0224] 在本发明的任何方面,增溶剂可以是带正电荷的基团。本发明的带正电荷的基团包括但不限于穿膜肽、HIV Tat 48-60、HIV Rev 34-50、转运素(transportan)、寡聚精氨酸肽(直链和支链)、寡聚赖氨酸肽、红蝉素(pyrrrochoricin)、α-螺旋两亲模型肽、聚赖氨酸、鱼精蛋白、FL17、Magnafloc 1697,以及US 6,689,478和US 4,035,558中描述的聚阳离子化合物。

[0225] 在本发明的又一个实施例中,增溶剂包含直链或支链肽、基本上由或由直链或支链肽组成。典型地,直链或支链肽包含带正电荷或带负电荷的氨基酸。带正电荷的氨基酸可以是赖氨酸、精氨酸、组氨酸、鸟氨酸或其组合。支链或直链肽可以包含至少一个赖氨酸或精氨酸残基。优选地,带电荷的氨基酸在末端,例如N-末端。支链肽可具有以下结构之一。



[0226] 或



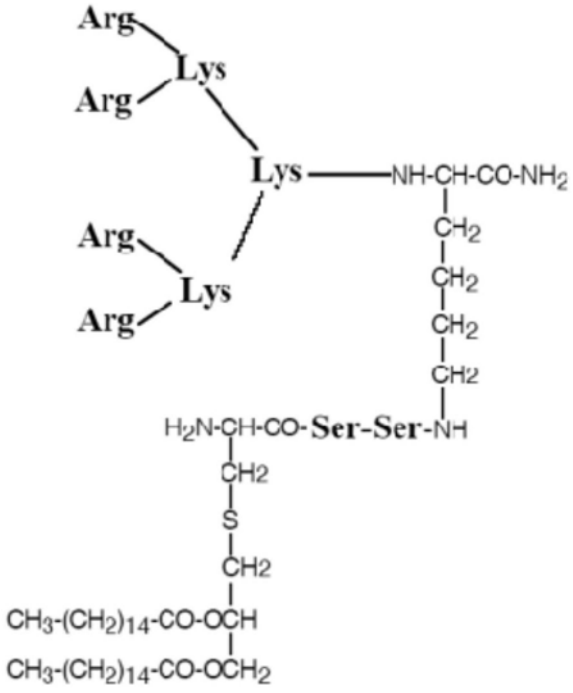
[0227] 在上述结构中,X可独立地是带电荷的残基(带正电荷或带负电荷的残基)。优选

地，带正电荷的氨基酸是赖氨酸、精氨酸、组氨酸或鸟氨酸。优选地，带负电荷的氨基酸是谷氨酸或天冬氨酸。

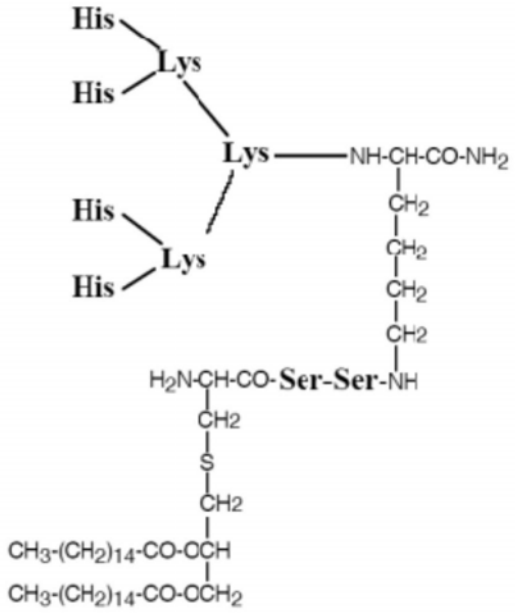
[0228] 如本文所用，“PEG”是指聚合物化合物聚乙二醇。除非另有定义，否则提及“PEG”包括任何长度的环氧乙烷聚合物。提及PEG还包括取代的PEG。

[0229] 可用作增溶剂的化合物或官能团可以是由“PEG”(或聚乙二醇)和极性多肽组成的组中的一种或多种，该极性多肽诸如为“R4”，一种超支化四精氨酸复合物；“H4”，一种超支化四组氨酸复合物；“H8”，一种含有组氨酸残基的直链肽；以及“E8”，一种含有谷氨酸残基的直链肽。还设想了其他直链和支链脂质增溶剂，包括含有谷氨酸残基的超支化肽(参见例如下文的“支链E8”)。在本发明的又一个实施例中，增溶剂包含PEG和由R4、H4、H8和E8(直链或支链的)组成的组中的一种或多种。R4、H4、H8和E8先前已在PCT/AU 2009/000469(WO/2010/115230)中有所描述，并且具有以下结构：

[0230]

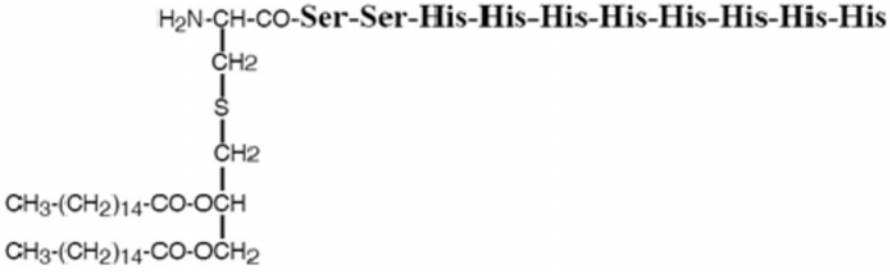


示例性 R4

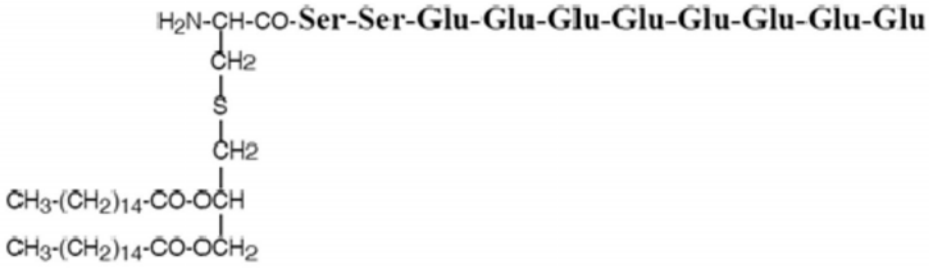


示例性 H4

[0231]

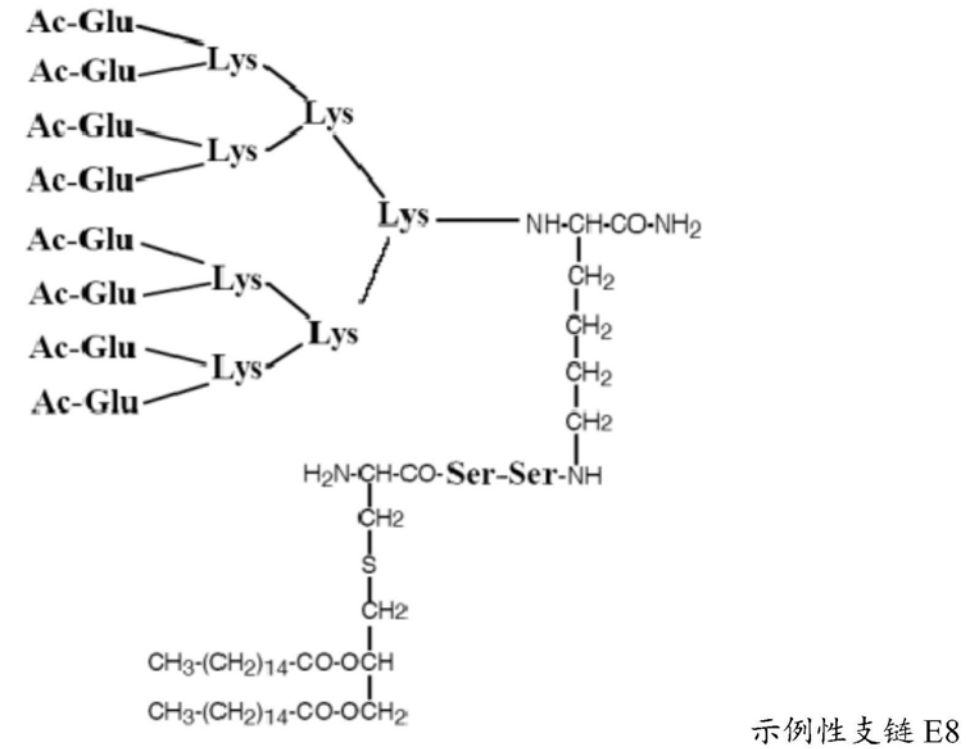


示例性 H8

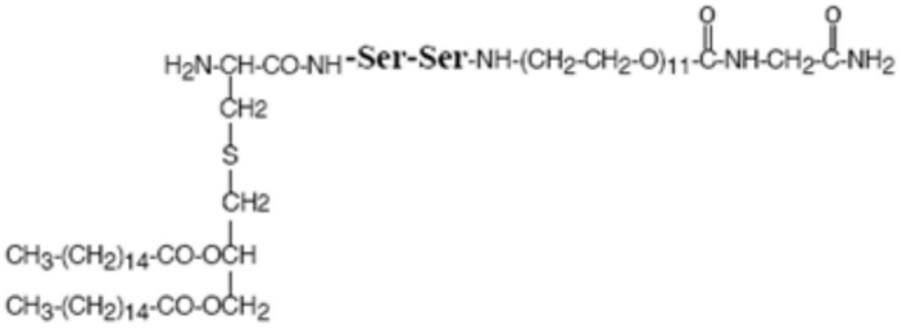


示例性 E8

[0232]

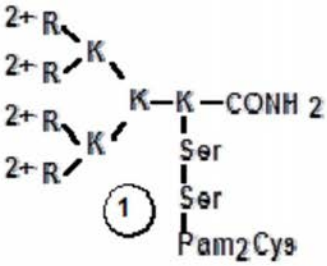


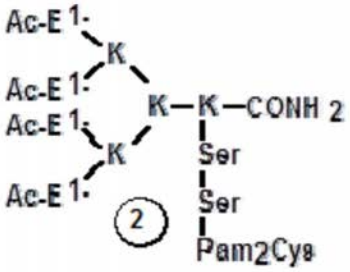
示例性支链 E8

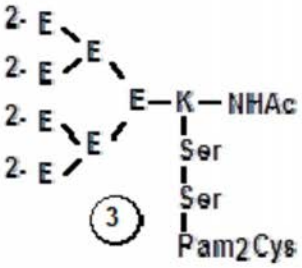


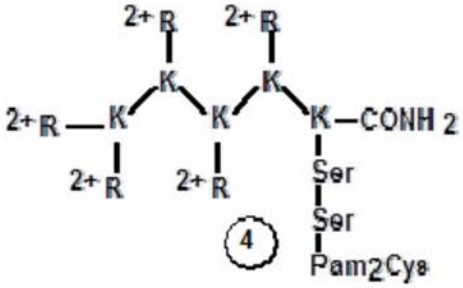
示例性 PEG

[0233] 以下是支链(结构1-5)和直链(结构6-8)免疫原性组合物的一些实例的示意图,这些免疫原性组合物在末端位置包含带正电荷(精氨酸,R;赖氨酸,K)或带负电荷(天冬氨酸,D;谷氨酸,E)的氨基酸,使得它们各自的静电荷显示在环境中。每种免疫原性组合物还含有二棕榈酰基-S-甘油基半胱氨酸(Pam2Cys),它是Toll样受体2的配体。还掺入了两个丝氨酸残基(Ser)。就构建体2而言,肽结构在N→C方向上组装,图中所示的所有其他结构在C→N方向上组装。根据电荷的大小,正静电电荷和负静电电荷示为2-、2+、1-、1+等。Ac=就位于N-末端的谷氨酸而言用于抑制α氨基的正电荷的乙酰基。

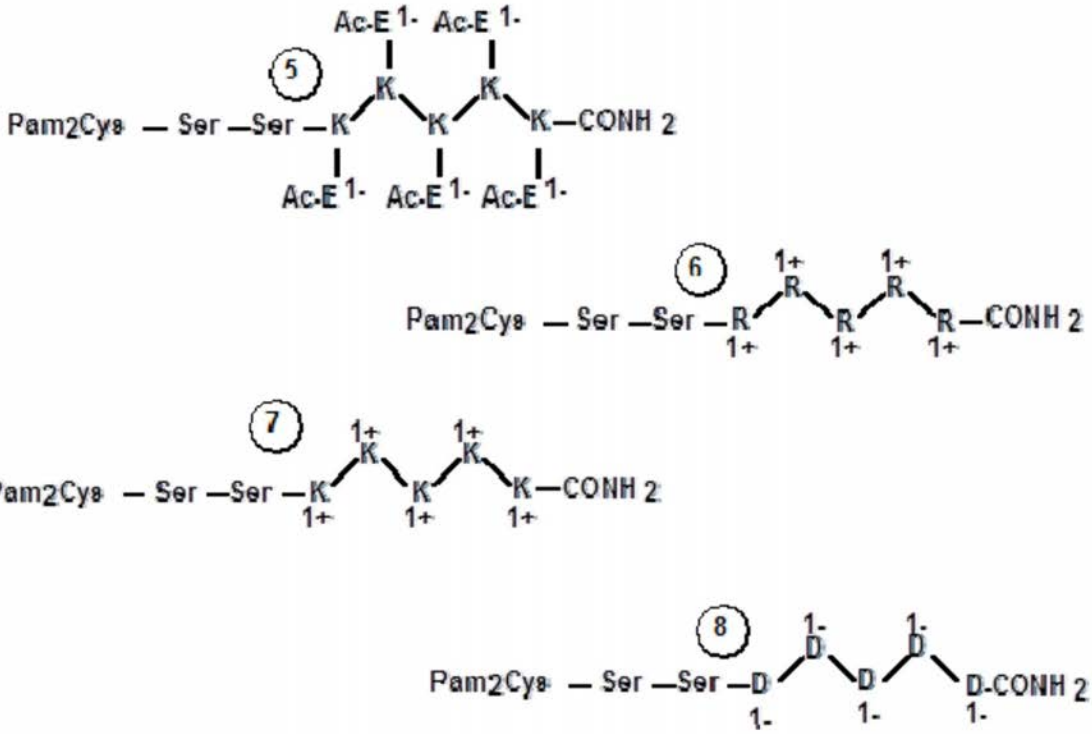








[0234]

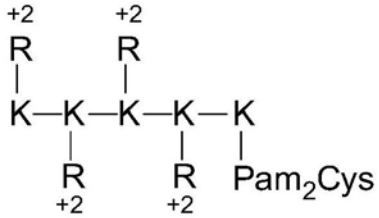


[0235] 本领域的技术人员应当理解,本发明不限于可用作增溶剂的特定示例性化合物或官能团,并且其他合适的化合物或官能团(包括可用作本领域已知的增溶剂的那些)也可以根据本发明使用,诸如碳水化合物。

[0236] 一种或多种化合物或官能团(诸如增溶剂)根据本发明可与脂质缀合的方式对于本领域技术人员来说是熟知的。例如,设想了经由Fmoc化学、通过二硫化物或硫醚桥或经由肟化学进行缀合。在本发明的特定实施例中,通过向Pam2Cys添加O-(N-Fmoc-2-氨基乙基)-O'-(2-羧乙基)-十一乙二醇(Fmoc-PEOn-OH,默克有限公司(Merck Ltd))制备可溶形式的

Pam2Cys。这导致形成聚乙二醇化形式的脂质Pam2Cys-PEG_{11}，它然后适合施用于受试者。

[0237] 在本发明的另一种形式中，TLR2部分包含缀合物，该缀合物包含与悬垂R4形式缀合的Pam2Cys。在优选的形式中，根据以下结构，悬垂-Pam2Cys与R4缀合：

[0238] 

[0239] 在根据本发明的任何实施例的优选形式中，TLR2部分包含缀合物，该缀合物包含与PEG缀合的Pam2Cys。在根据本发明的任何实施例的优选形式中，TLR2部分包含缀合物，该缀合物包含与PEG_{11}或PEG_{12}缀合的Pam2Cys。优选地，Pam2Cys与PEG_{11}或PEG_{12}分子被至少两个丝氨酸分开(PEG_{11}-SS-Pam2Cys或PEG_{12}-SS-Pam2Cys)。

[0240] 如本文所用，提及TLR2激动剂还包括其药学上可接受的盐、溶剂化物、多晶型物或前药。

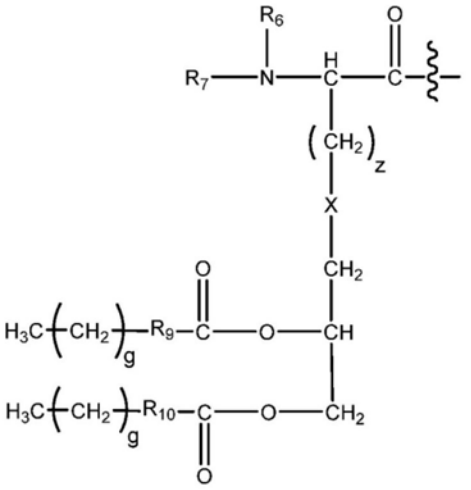
[0241] 包含可用于本发明的任何方面的TLR2激动剂的其他化合物如下所述。

[0242] 在任何方面，化合物可以是式(I)的化合物：

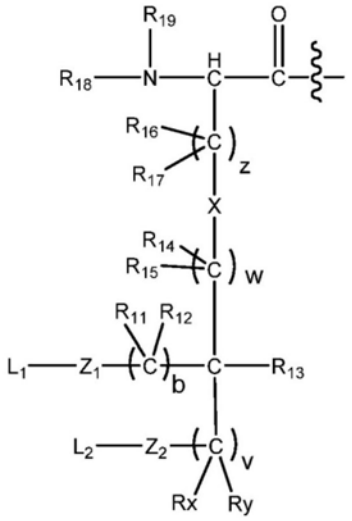
[0243] A-Y-B

[0244] (I)

[0245] 其中A包含选自A1和A2的部分或由其组成：

[0246] 

A1



A2

[0247] 其中

[0248] 每个z独立地选自1或2；

[0249] 每个X独立地选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-；

[0250] 在部分A1中：

[0251] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0252] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和-$C(=O)CH_3$；

[0253] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；以及

[0254] 在部分A2中：

[0255] b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5，诸如从2至5的整数，前提是：

[0256] b、v与w之和是至少3；并且

[0257] b与w之和是从0至7；

[0258] Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、S(=O)、-S(=O)$_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-和-NRC(=O)NR-；

[0259] R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0260] R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0261] R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A_2；

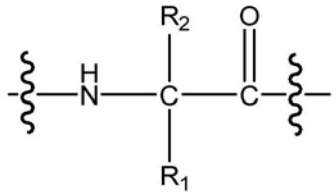
[0262] L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

[0263] L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

[0264] A_2是氨基酸或肽；

[0265] 其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；

[0266] Y是

[0267] 

[0268] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH(CH_3)OH、-CH_2OPO(OH)$_2$、-CH_2C(=O)NH_2、-CH_2CH_2C(=O)OH、和-CH_2CH_2C(=O)OR_8，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0269] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0270] 并且

[0271] B包含聚乙二醇(PEG)或由聚乙二醇(PEG)组成，

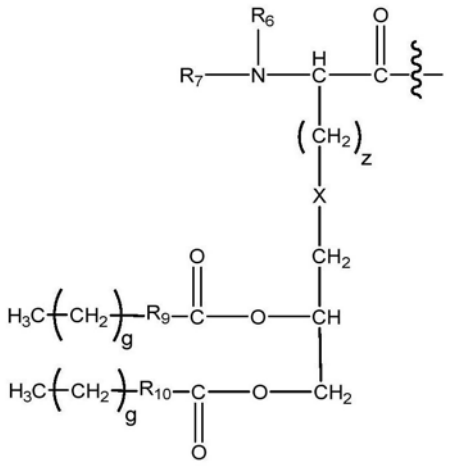
[0272] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0273] 在任何方面，化合物可以是式(IA1)的化合物：

[0274] A-Y-B

[0275] (IA1)

[0276] 其中A包含部分A1或由其组成：

[0277] 

A1

[0278] 其中每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

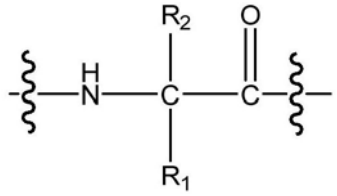
[0279] z是1或2；

[0280] X选自-S-、-S(=O)-和-S(=O)$_2$-；

[0281] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和-C(=O)CH_3；

[0282] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

[0283] Y是

[0284] 

[0285] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH(CH_3)OH、-CH_2OPO(OH)$_2$、-CH_2C(=O)NH_2、-CH_2CH_2C(=O)OH、和-CH_2CH_2C(=O)OR_8，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0286] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0287] 并且

[0288] B包含聚乙二醇(PEG)或由聚乙二醇(PEG)组成，

[0289] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0290] 在一些实施例中，g是12至16的整数。

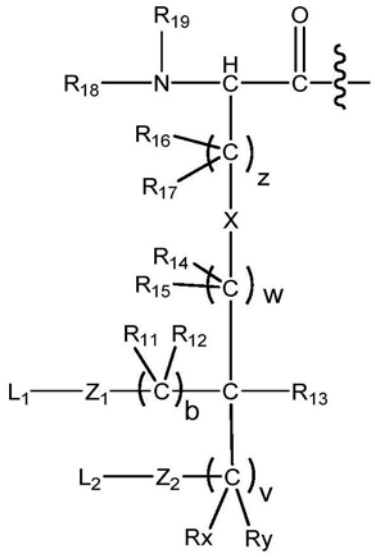
[0291] 在一些实施例中，g是14。

[0292] 在任何方面，化合物可以是式(IA2)的化合物：

[0293] A-Y-B

[0294] (IA2)

[0295] 其中A包含以下结构或由以下结构组成：

[0296] 

A2

[0297] 其中

[0298] b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5，诸如从2至5的整数，前提是：

[0299] b、v与w之和是至少3；并且

[0300] b与w之和是从0至7；

[0301] z是1或2；

[0302] X选自-S-、-S(=O)-和-S(=O)$_2$-；

[0303] Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、S(=O)、-S(=O)$_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-和-NRC(=O)NR-；

[0304] R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0305] R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0306] R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A_2；

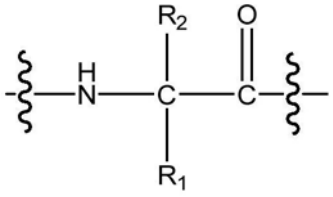
[0307] L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

[0308] L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

[0309] A_2是氨基酸或肽；

[0310] 其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；

[0311] Y是

[0312] 

[0313] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH(CH_3)OH、-CH_2OPO(OH)$_2$、-CH_2C(=O)NH_2、-CH_2CH_2C(=O)OH、和-CH_2CH_2C(=O)OR_8，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0314] R_8选自由以下组成的组:H和直链或支链C_1-C_6烷基;

[0315] 并且

[0316] B包含聚乙二醇(PEG)或由聚乙二醇(PEG)组成,

[0317] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0318] 在一些实施例中,v是选自2、3、4或5的整数。在一些实施例中,v是2或3。在一些实施例中,v是2。

[0319] 在一些实施例中,R_x、R_y、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}是H。

[0320] 在一些实施例中,R和R_{13}各自是H。

[0321] 在一些实施例中,Z_1和Z_2相同,并且选自由以下组成的组:-O-、-NR-、-S-、S(=O)、$S(=O)_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、OC(=O)O-、NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-。

[0322] 在一些实施例中,Z_1和Z_2独立地选自由以下组成的组:-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-。

[0323] 在一些实施例中,w是选自从1至7的整数。在一些实施例中,w是1。

[0324] 在一些实施例中,b是0。

[0325] 在一些实施例中,b和w之和是1至7。在这些实施例中,b可以是选自0-7的整数,并且w可以是选自1-7的整数,优选1。

[0326] 在一些实施例中,b是0,w是1,并且v是2。

[0327] 在一些实施例中,R_{18}是H。

[0328] 在一些实施例中,R_{19}选自由以下组成的组:H、C_1-C_6烷基、-C(=O)C_1-C_6烷基、或-C(=O)C_{11}-C_{19}烷基。

[0329] 在一些实施例中,R_{19}选自H、C_1-C_6烷基、-C(=O)C_1-C_6烷基,优选H、C_1-C_4烷基、-C(=O)C_1-C_4烷基。

[0330] 在一些实施例中,R_{19}选自H和-C(=O)CH_3。

[0331] 在一些实施例中,L_1和L_2独立地选自C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基。在一些实施例中,L_1和L_2独立地选自C_{10}-C_{18}脂肪族基或C_{10}-C_{18}杂脂肪族基。在一些实施例中,L_1和L_2独立地选自C_{14}-烷基和C_{15}-烷基。

[0332] 在一些实施例中,X是S。

[0333] 在一些实施例中,X是S(=O)。

[0334] 在一些实施例中,X是$S(=O)_2$。

[0335] 在一些实施例中,R_6和R_7各自是H。

[0336] 在一些实施例中,R_{18}和R_{19}各自是H。

[0337] 在一些实施例中,本发明提供了一种式(I)的化合物,其中:

[0338] v是2至5的整数;

[0339] b是0;

[0340] R_x、R_y、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}是H;

[0341] Z_1和Z_2独立地选自由以下组成的组:-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-;

[0342] w是1至7的整数；

[0343] R_{19}选自由以下组成的组：H、C_1-C_6烷基、-C(=O)C_1-C_6烷基、或-C(=O)C_{11}-C_{19}烷基；并且

[0344] L_1和L_2独立地选自C_{10}-C_{18}脂肪族基或C_{10}-C_{18}杂脂肪族基。

[0345] 在一些实施例中，本发明提供了一种化合物，其中

[0346] v是2；

[0347] b是0；

[0348] w是1；

[0349] v、b和w之和是3；

[0350] b和w之和是1；

[0351] z是1；

[0352] X是S

[0353] Z_1和Z_2独立地选自由以下组成的组：-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-和-NRC(=O)NR-；

[0354] R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}在b、v、w和z的每种情况下各自是H；

[0355] R和R_{13}各自是H；

[0356] R_{18}是H；

[0357] R_{19}选自由以下组成的组：H、C_1-C_6烷基、-C(=O)C_1-C_6烷基、或-C(=O)C_{11}-C_{19}烷基；并且

[0358] L_1和L_2独立地选自C_{10}-C_{18}脂肪族基或C_{10}-C_{18}杂脂肪族基。

[0359] 应当理解，本文所述的取代基的任何实施例，包括取代基R_1、R_2、R_4、R_5、R_6、R_7、R_9、R_{10}、z、X、g、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2、Z_1、Z_2、b、v、w、n、m、p、q、R_3、L、t、k和h，旨在应用于本文所述的任何化合物(包括式(I)-(XIX)的化合物)的取代基的任何情况。

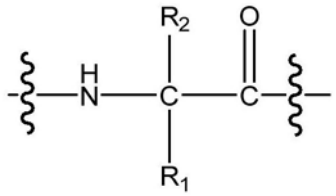
[0360] 在任何方面，化合物可以是式(II)的化合物：

[0361] A-Y'-B

[0362] (II)

[0363] 其中A包含如本文所定义的部分A1或A2或由其组成；

[0364] Y'是

[0365] 

[0366] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$和-$CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0367] 并且

[0368] B包含聚乙二醇(PEG)或由聚乙二醇(PEG)组成，

[0369] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0370] 在一些实施例中，化合物包含部分A1，其中：

[0371] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

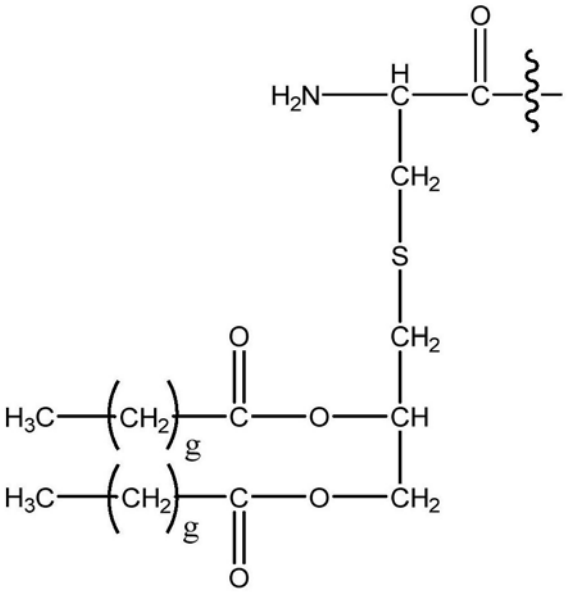
[0372] z是1；

[0373] X是S；

[0374] R_6和R_7是H；

[0375] R_9和R_{10}均是单键。

[0376] 在一些实施例中，部分A1由部分A1’定义

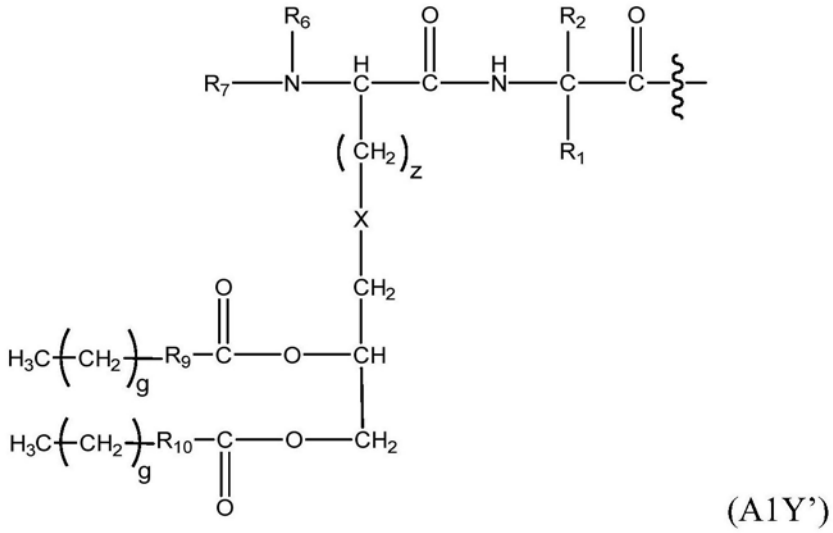
[0377] 

A1’

[0378] 其中每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18。

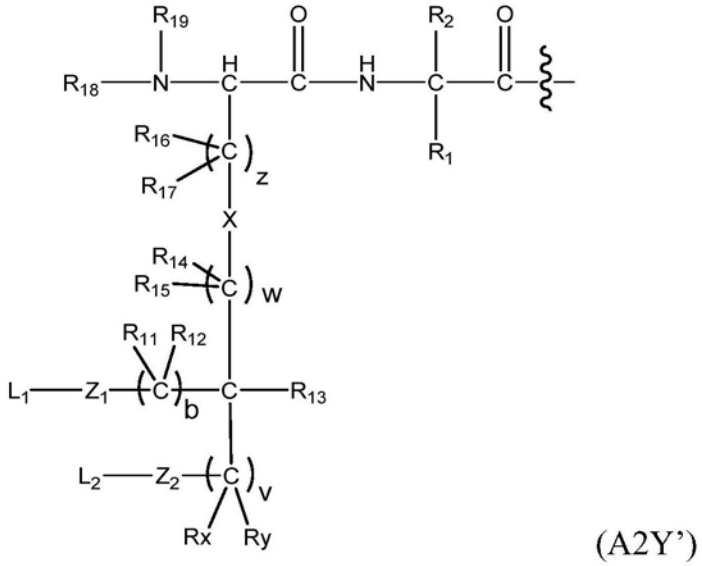
[0379] 在任何方面，本文所述的任何化合物可以是包含部分A和PEG的化合物，该部分A选自如本文所定义的A1’和A2，其中部分A和PEG通过甘氨酸、丝氨酸、高丝氨酸、苏氨酸、磷酸丝氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺残基或谷氨酰胺残基的酯连接。

[0380] 在任何方面，化合物可包含部分结构A1Y’或A2Y’或由其组成：



(A1Y')

[0381]



(A2Y')

[0382] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组:H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$、-$CH_2OPO(OH)_2$、-$CH_2C(=O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(=O)OH$、和-$CH_2CH_2C(=O)OR_8$,其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替;

[0383] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组:H、直链或支链C_1-C_4烷基和-$C(=O)CH_3$;

[0384] R_8选自由以下组成的组:H和直链或支链C_1-C_6烷基;

[0385] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组:-NH-、-O-或单键;

[0386] z是1或2;

[0387] X选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-;

[0388] b和w各自独立地是从0至7的整数,并且v是从0至5的整数,前提是:

[0389] b、v与w之和是至少3;并且

[0390] b与w之和是从0至7;

[0391] Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组:-O-、-NR-、-S-、-S(=O)-、-$S(=O)_2$-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-;

[0392] 在b、v、w和z的每种情况下,R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6

脂肪族基；

[0393] R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0394] R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A2；

[0395] L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

[0396] L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

[0397] A_2是氨基酸或肽；

[0398] 其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；并且

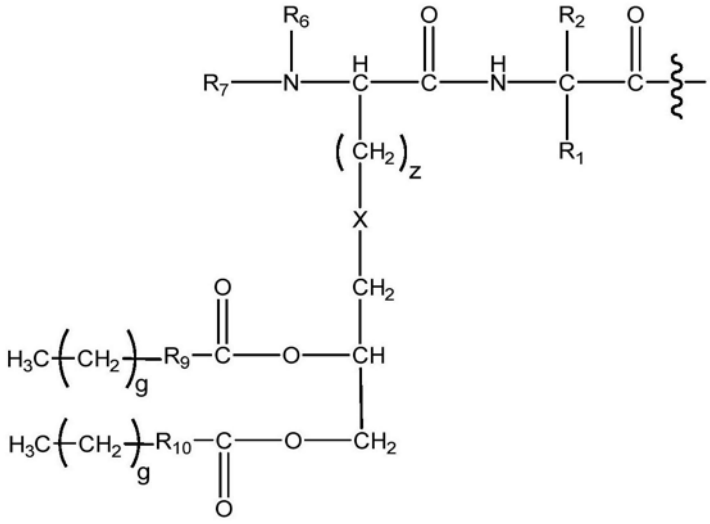
[0399] A1Y'或A2Y'与聚乙二醇(PEG)共价连接，

[0400] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0401] 在一些实施例中，部分A和PEG通过丝氨酸、高丝氨酸、苏氨酸或磷酸丝氨酸残基连接。

[0402] 在一些实施例中部分A和PEG通过由≈表示的键与甘氨酸、丝氨酸、高丝氨酸、苏氨酸、磷酸丝氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺残基或谷氨酰胺残基的酯共价连接。

[0403] 在任何方面，化合物可以是：

[0404] 

[0405] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$、-$CH_2OPO(OH)_2$、-$CH_2C(=O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(=O)OH$、和-$CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0406] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和-$C(=O)CH_3$；

[0407] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0408] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

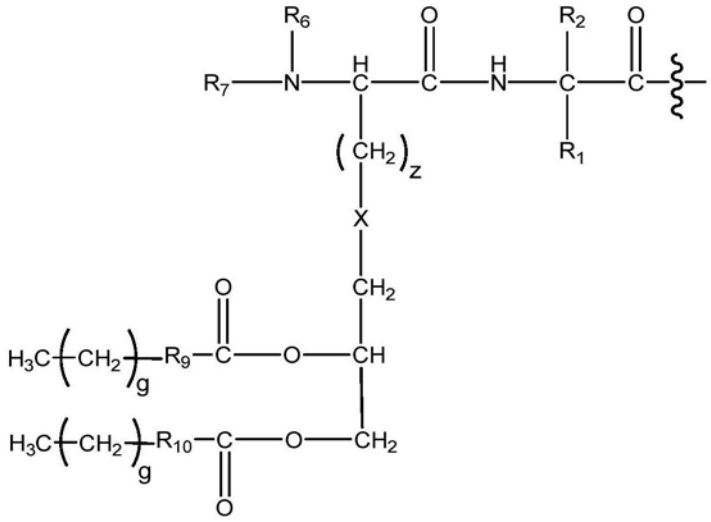
[0409] z是1或2；并且

[0410] X选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-；

[0411] 上述结构与聚乙二醇(PEG)共价连接，

[0412] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0413] 在一些实施例中，化合物可以是：

[0414] 

[0415] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组:H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$和-$CH_2OPO(OH)_2$,其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替,并且其中R_1和R_2并不都是H;

[0416] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组:H、直链或支链C_1-C_4烷基和-C(=O)CH_3;

[0417] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组:-NH-、-O-或单键;

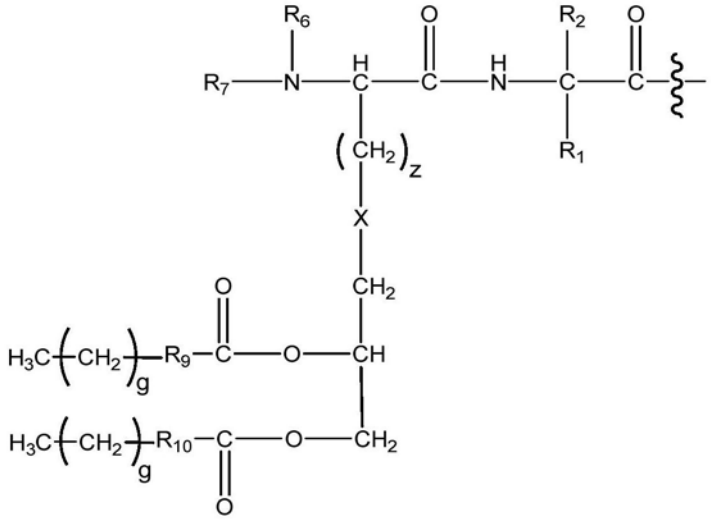
[0418] z是1或2;并且

[0419] X选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-;

[0420] 上述结构与聚乙二醇(PEG)共价连接,

[0421] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0422] 在一些实施例中,化合物可以是:

[0423] 

[0424] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组:H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$、-$CH_2OPO(OH)_2$、-$CH_2C(=O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(=O)OH$、和-$CH_2CH_2C(=O)OR_8$,其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替;

[0425] R_6和R_7是H;

[0426] R_8选自由以下组成的组:H和直链或支链C_1-C_6烷基;

[0427] R_9和R_{10}均是单键;

[0428] z是1;并且

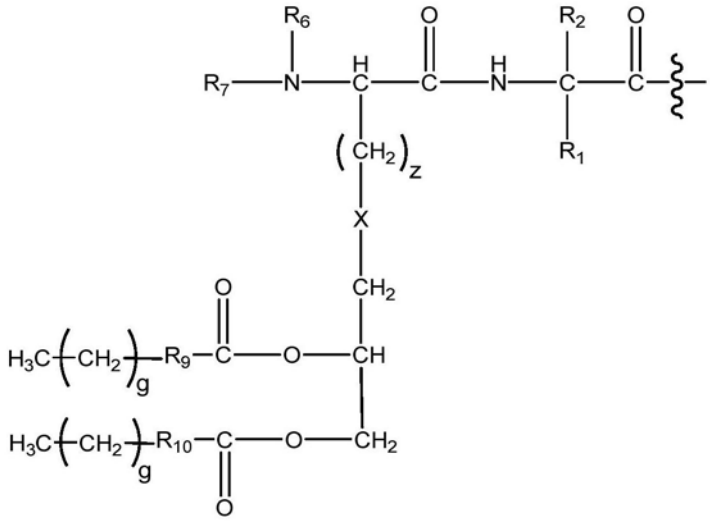
[0429] X是S；

[0430] 上述结构与聚乙二醇(PEG)共价连接，

[0431] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0432] 在一些实施例中，PEG通过由≈表示的键共价连接。

[0433] 在一些实施例中，化合物可以是：

[0434] 

[0435] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$和-$CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0436] R_6和R_7是H；

[0437] R_9和R_{10}均是单键；

[0438] z是1；并且

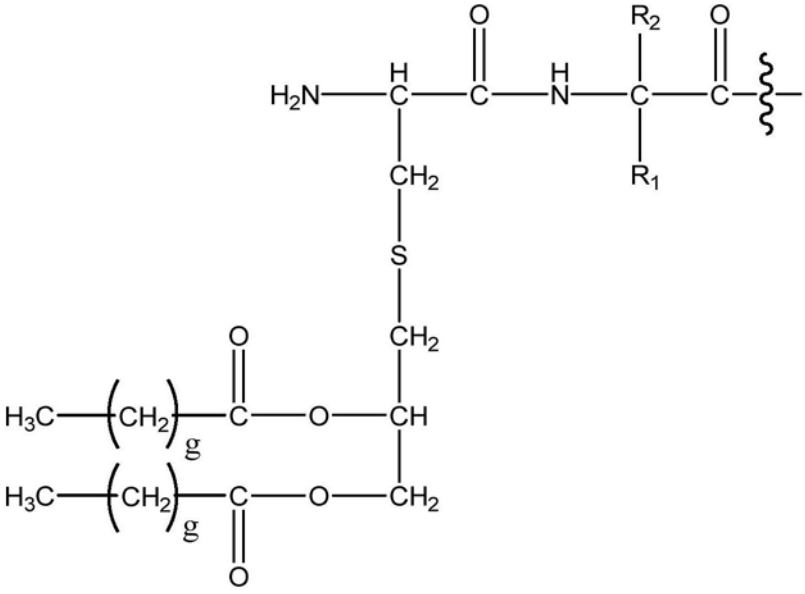
[0439] X是S；

[0440] 上述结构与聚乙二醇(PEG)共价连接，

[0441] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0442] 在一些实施例中，PEG通过由≈表示的键共价连接。

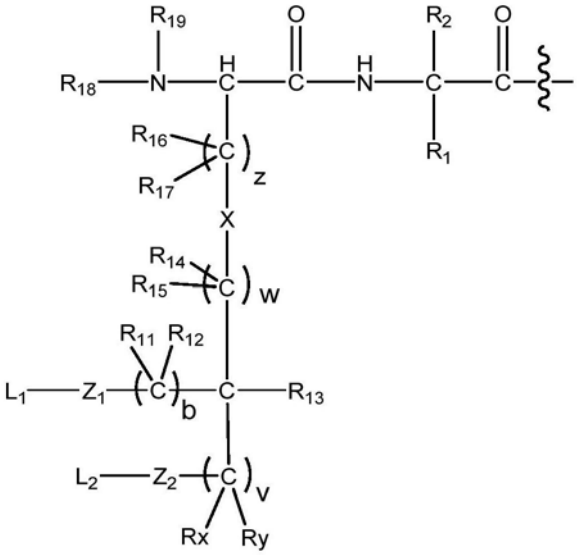
[0443] 在一些实施例中，化合物可以是：

[0444] 

[0445] 其盐、溶剂化物或前药，其中R_1、R_2和g如本文所定义。

[0446] 在一些实施例中，PEG通过由≷表示的键共价连接。

[0447] 在一些实施例中，化合物可以是：

[0448] 

[0449] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、$-CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$、和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0450] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0451] b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5的整数，前提是：

[0452] b、v与w之和是至少3；并且

[0453] b与w之和是从0至7；

[0454] z是1或2；

[0455] X选自-S-、-S(=O)-和$-S(=O)_2-$；

[0456] Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、-S(=O)-、$-S(=O)_2-$、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC

(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-；

[0457] 在b、v、w和z的每种情况下，R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0458] R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0459] R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A2；

[0460] L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

[0461] L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

[0462] A_2是氨基酸或肽；

[0463] 其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；

[0464] 上述结构与聚乙二醇(PEG)共价连接，

[0465] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0466] 在一些实施例中，PEG通过由 ≷ 表示的键共价连接。

[0467] 在任何方面，化合物可以是式(III)的化合物：

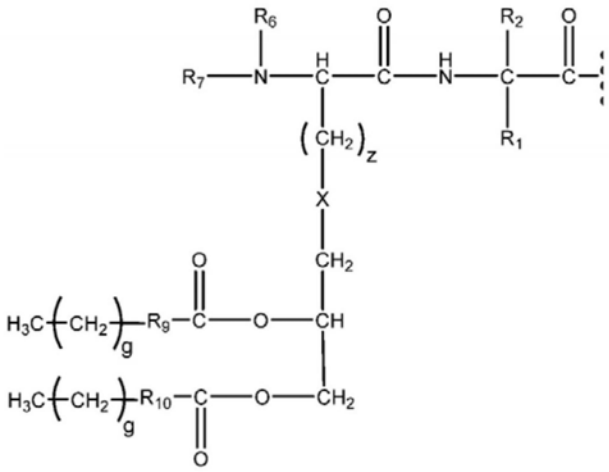
[0468] AY-B

[0469] (III)

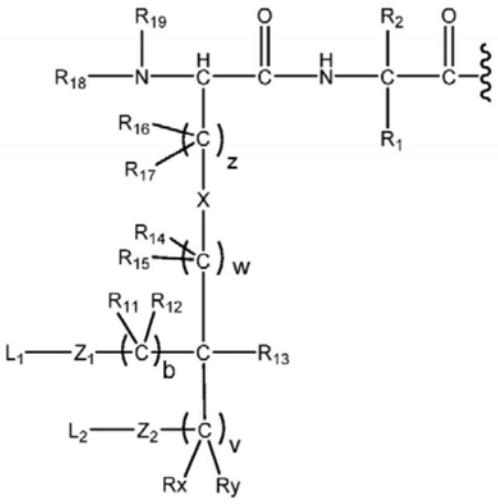
[0470] 其中

[0471] AY包含选自AY1和AY2的部分或由其组成

[0472]



AY1

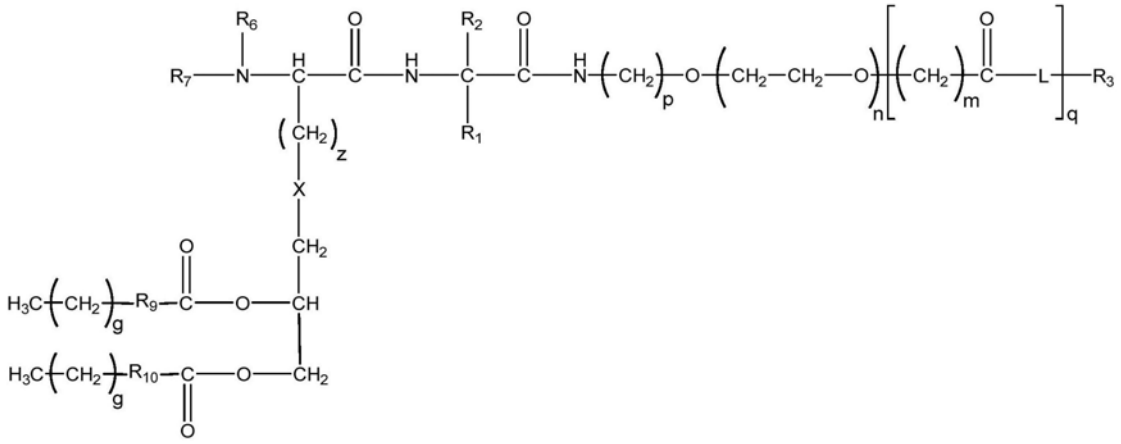


AY2

[0473] 其中R_1、R_2、R_6、R_7、R_9、R_{10}、z、X、g、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2、Z_1、Z_2、b、v和w中的每一个如对式(I)的化合物所定义；并且

[0474] B包含聚乙二醇(PEG)或由聚乙二醇(PEG)组成。

[0475] 在任何方面，化合物可以是式(IV)的化合物：

[0476] 

(IV)

[0477] 其中

[0478] n是3至100；

[0479] m是1、2、3或4；

[0480] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0481] p是2、3或4；

[0482] q是零或1；

[0483] R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、$-CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0484] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和$-C(=O)CH_3$；

[0485] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0486] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

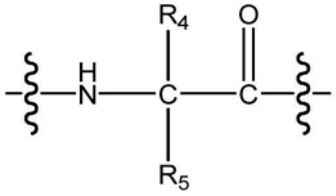
[0487] z是1或2；

[0488] X选自-S-、$-S(=O)-$和$-S(=O)_2-$；

[0489] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0490] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0491] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

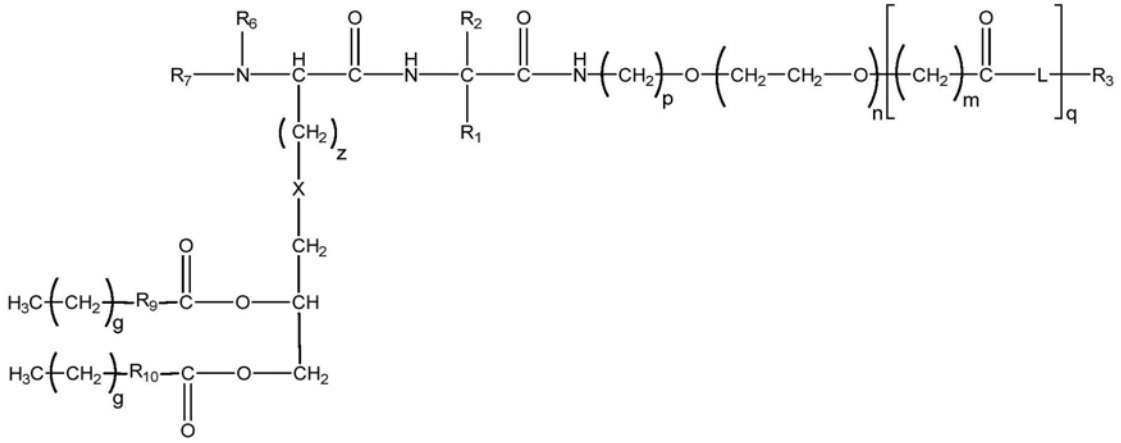
[0492] 

[0493] 其中R_4是H；并且

[0494] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢

[0495] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0496] 在任何方面，化合物可以是式(V)的化合物：

[0497] 

(V)

[0498] 其中

[0499] n是3至100；

[0500] m是1、2、3或4；

[0501] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0502] p是2、3或4；

[0503] q是零或1；

[0504] R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$和$-CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0505] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和$-C(=O)CH_3$；

[0506] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

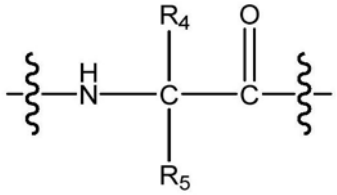
[0507] z是1或2；

[0508] X选自-S-、$-S(=O)-$和$-S(=O)_2-$；

[0509] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0510] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0511] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0512] 

[0513] 其中R_4是H；并且

[0514] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢

[0515] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0516] 在一些实施例中，化合物是式(IV)或(V)的化合物，其中

[0517] R_6和R_7是H；

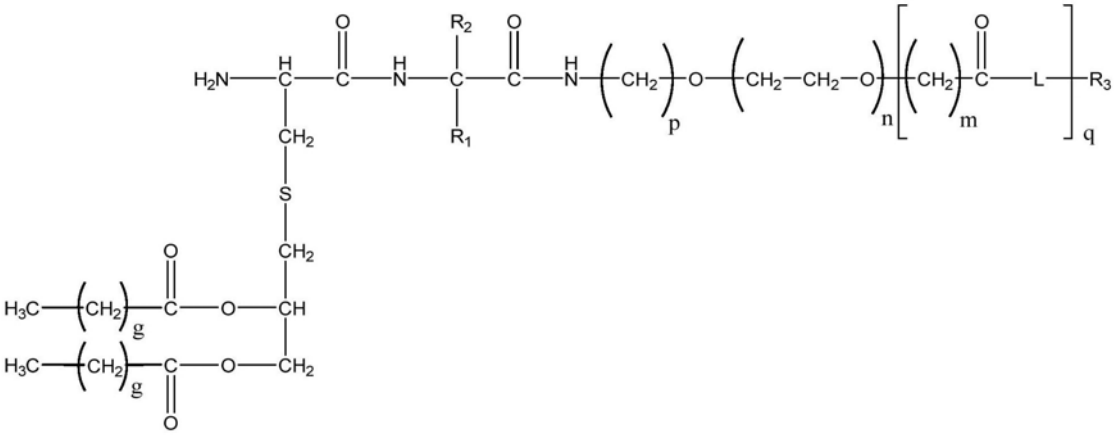
[0518] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0519] R_9和R_{10}均是单键；

[0520] z是1；并且

[0521] X是S。

[0522] 在一些实施例中，式(I)-(V)中任一个的化合物可以是式(VI)的化合物：

[0523] 

(VI)

[0524] 其中

[0525] n是3至100；

[0526] m是1、2、3或4；

[0527] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0528] p是2、3或4；

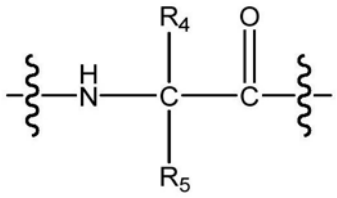
[0529] q是零或1；

[0530] R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$和$-CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0531] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0532] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0533] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

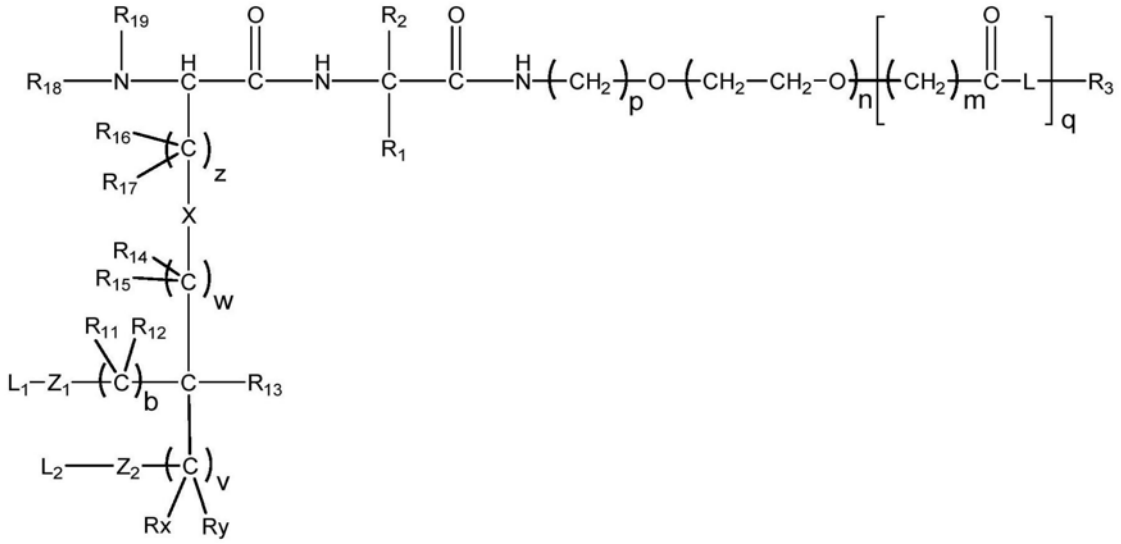
[0534] 

[0535] 其中R_4是H；并且

[0536] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢

[0537] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0538] 在任何方面，化合物可以是式(VII)的化合物：

[0539] 

(VII)

[0540] 其中

[0541] n是3至100；

[0542] m是1、2、3或4；

[0543] p是2、3或4；

[0544] q是零或1；

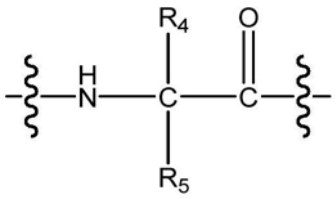
[0545] R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$、-$CH_2OPO(OH)_2$、-$CH_2C(=O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(=O)OH$和-$CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0546] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0547] 其中当q＝1时，R_3是-NH_2或-OH；

[0548] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0549] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0550] 

[0551] 其中R_4是H；并且

[0552] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢；

[0553] b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5的整数，前提是：

[0554] b、v与w之和是至少3；并且

[0555] b与w之和是从0至7；

[0556] z是1或2；

[0557] X选自-S-、-S(=O)-和-$S(=O)_2$-；

[0558] Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、-S(=O)-、-$S(=O)_2$-、-C

(=O)O-、-OC(=O)-、-C(=O)NR-、-NRC(=O)-、-C(=O)S-、-SC(=O)-、-OC(=O)O-、-NRC(=O)O-、-OC(=O)NR-、和-NRC(=O)NR-；

[0559] 在b、v、w和z的每种情况下，R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0560] R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0561] R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(=O)-、或A_2；

[0562] L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

[0563] L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

[0564] A_2是氨基酸或肽；

[0565] 其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；

[0566] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0567] 在任何方面，化合物可以是式(VIII)的化合物：

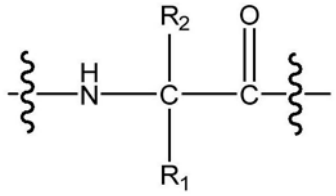
[0568] $A\text{-}Y\text{-}NH\text{-}(CH_2)_p\text{-}O\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}[(CH_2)_m\text{-}CO\text{-}L\text{-}]_qR_3$

[0569] (VIII)

[0570] 其中

[0571] A是选自如本文所定义的A1和A2的部分

[0572] Y是

[0573] 

[0574] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、$-CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0575] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和$-C(=O)CH_3$；

[0576] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0577] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

[0578] z是1或2；

[0579] X选自-S-、-S(=O)-和$-S(=O)_2-$；

[0580] n是3至100；

[0581] m是1、2、3或4；

[0582] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0583] p是2、3或4；

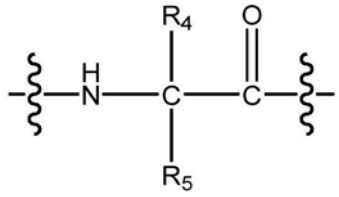
[0584] q是零或1；

[0585] 其中当q=1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0586] 其中当q=0时，R_3是H；

[0587] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基

酸，并且具有下式：

[0588] 

[0589] 其中R_4是H；并且

[0590] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0591] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0592] 在任何方面，化合物可以是式(IX)的化合物：

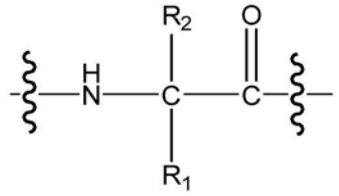
[0593] $A1\text{-}Y\text{-}NH\text{-}(CH_2)_p\text{-}O\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}[(CH_2)_m\text{-}CO\text{-}L\text{-}]_qR_3$

[0594] (IX)

[0595] 其中

[0596] A1由式(I)所定义的部分A1表示

[0597] Y是

[0598] 

[0599] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$和$-CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0600] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和$-C(=O)CH_3$；

[0601] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

[0602] z是1或2；

[0603] X选自-S-、$-S(=O)-$和$-S(=O)_2-$；

[0604] n是3至100；

[0605] m是1、2、3或4；

[0606] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

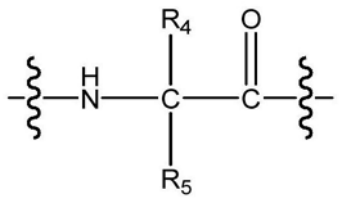
[0607] p是2、3或4；

[0608] q是零或1；

[0609] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0610] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0611] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0612] 

[0613] 其中R_4是H;并且

[0614] R_5是侧链,或该氨基酸的第二个氢,

[0615] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0616] 在一些实施例中,化合物是式(VIII)或(IX)的化合物,其中

[0617] R_6和R_7是H;

[0618] R_9和R_{10}均是单键;

[0619] z是1;

[0620] X是S。

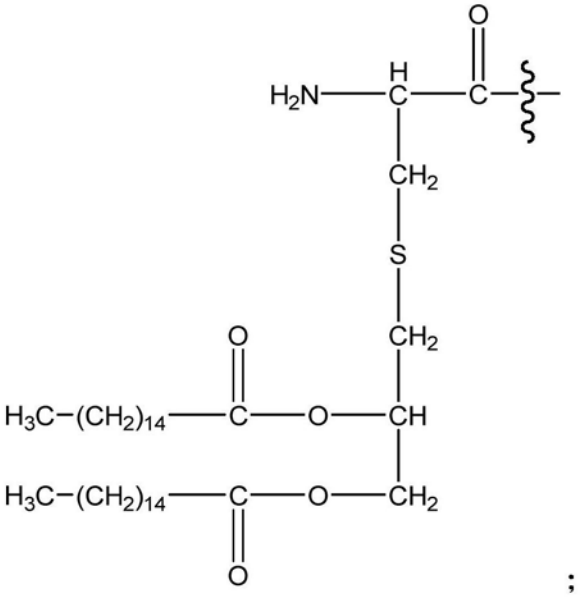
[0621] 在任何方面,化合物可以是式(X)的化合物:

[0622] $Pam2Cys\text{-}Y\text{-}NH\text{-}(CH_2)_p\text{-}O\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}[(CH_2)_m\text{-}CO\text{-}L\text{-}]_qR_3$

[0623] (X)

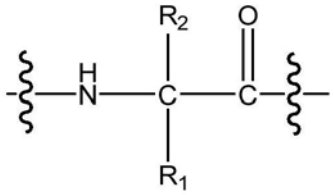
[0624] 其中

[0625] Pam2Cys具有以下结构:

[0626] 

;

[0627] Y是:

[0628] 

[0629] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组:H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、$-CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$、和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$,其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替;

[0630] R_8选自由以下组成的组:H和直链或支链C_1-C_6烷基;

[0631] n是3至100;

[0632] m是1、2、3或4;

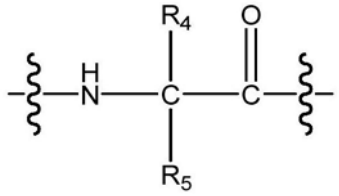
[0633] p是2、3或4;

[0634] q是零或1;

[0635] 其中当q＝1时，R_3是H、-NH_2或-OH；

[0636] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0637] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0638] 

[0639] 其中R_4是H；并且

[0640] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0641] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

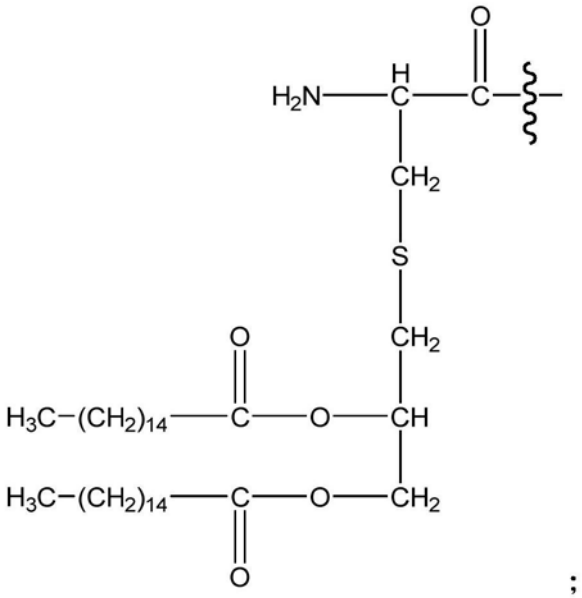
[0642] 在任何方面，化合物可以是式(XI)的化合物：

[0643] Pam2Cys-Y-NH-$(CH_2)_p$-O-$(CH_2$-CH_2-O$)_n$-[$(CH_2)_m$-CO-L-$]_qR_3$

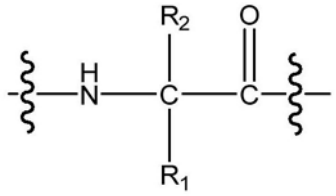
[0644] (XI)

[0645] 其中

[0646] Pam2Cys具有以下结构：

[0647] ；

[0648] Y是：

[0649] 

[0650] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH(CH_3)OH和-CH_2OPO$(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0651] n是3至100；

[0652] m是1、2、3或4；

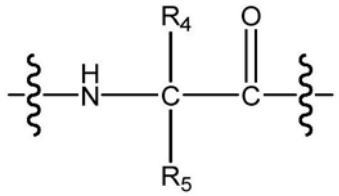
[0653] p是2、3或4；

[0654] q是零或1；

[0655] 其中当q＝1时，R_3是H、-NH_2或-OH；

[0656] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0657] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0658] 

[0659] 其中R_4是H；并且

[0660] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0661] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

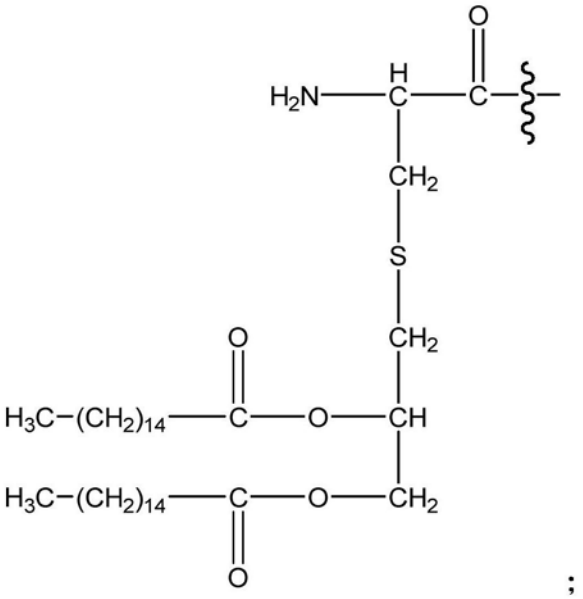
[0662] 在任何方面，化合物可以是式(XII)的化合物：

[0663] $Pam2Cys\text{-}Y\text{-}NH\text{-}(CH_2)_p\text{-}O\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}[(CH_2)_m\text{-}CO\text{-}L\text{-}]_qR_3$

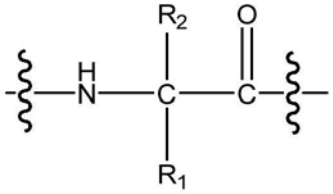
[0664] (XII)

[0665] 其中

[0666] Pam2Cys具有以下结构：

[0667] ；

[0668] Y是：

[0669] 

[0670] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$和-$CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0671] n是3至100；

[0672] m是1、2、3或4；

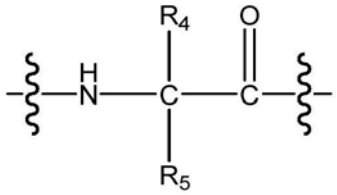
[0673] p是2、3或4；

[0674] q是零或1；

[0675] 其中当q＝1时，R_3是H、$-NH_2$或-OH；

[0676] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0677] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0678] 

[0679] 其中R_4是H；并且

[0680] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0681] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

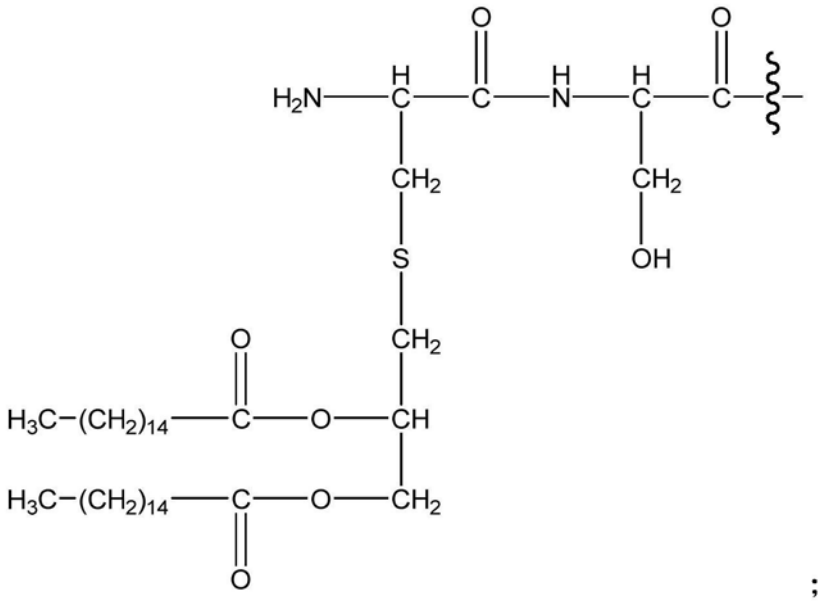
[0682] 在任何方面，化合物可以是式(XIII)的化合物：

[0683] $Pam2Cys\text{-}Ser\text{-}NH\text{-}(CH_2)_p\text{-}O\text{-}(CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_n\text{-}[(CH_2)_m\text{-}CO\text{-}L\text{-}]_qR_3$

[0684] (XIII)

[0685] 其中

[0686] Pam2Cys-Ser具有以下结构：

[0687] 
；

[0688] n是3至100；

[0689] m是1、2、3或4；

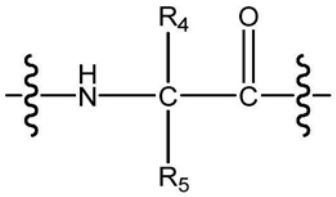
[0690] p是2、3或4；

[0691] q是零或1；

[0692] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0693] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0694] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0695] 

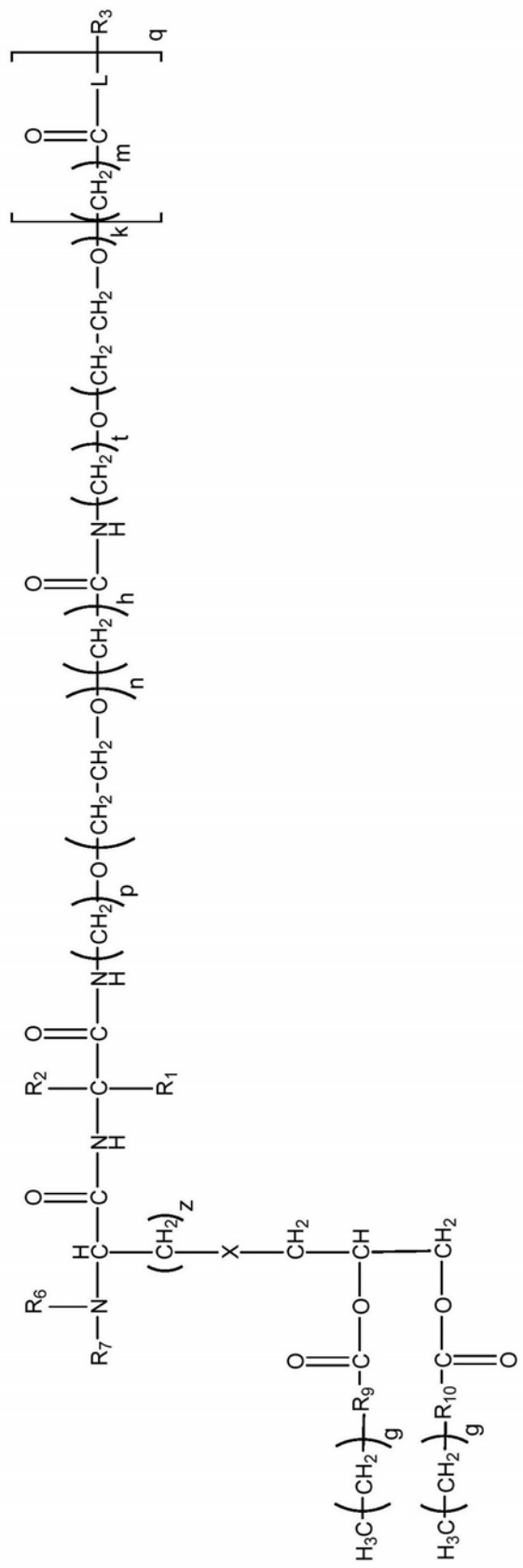
[0696] 其中R_4是H；并且

[0697] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0698] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0699] 在一个实施例中，该化合物具有式(XIV)：

[0700]



(XIV)

[0701] 其中

[0702] n是3至100；

[0703] k是3至100；

[0704] m是1、2、3或4；

[0705] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0706] p是2、3或4；

[0707] t是2、3或4；

[0708] h是1、2、3或4；

[0709] q是零或1；

[0710] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、$-CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$、和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0711] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和$-C(=O)CH_3$；

[0712] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0713] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

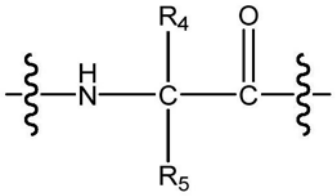
[0714] z是1或2；

[0715] X选自-S-、$-S(=O)-$和$-S(=O)_2-$；

[0716] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0717] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0718] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0719] 

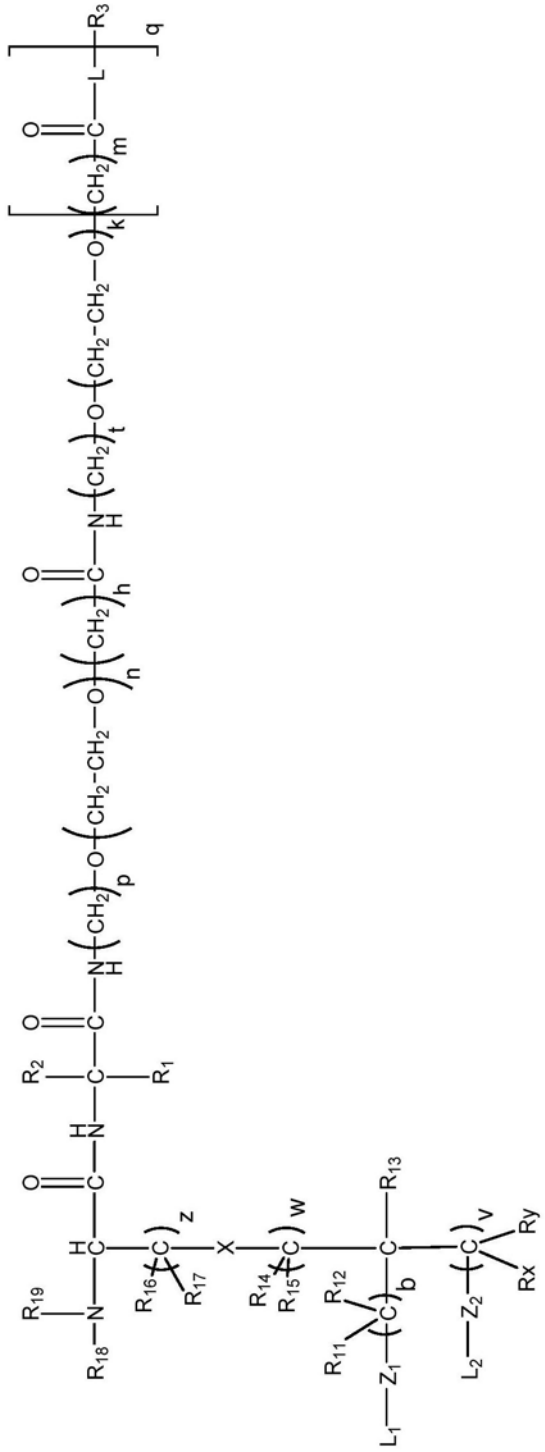
[0720] 其中R_4是H；并且

[0721] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0722] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0723] 在一个实施例中，该化合物具有式(XV)：

[0724]



(XV)

[0725] 其中

[0726] n是3至100；

[0727] k是3至100；

[0728] m是1、2、3或4；

[0729] p是2、3或4；

[0730] t是2、3或4；

[0731] h是1、2、3或4；

[0732] q是零或1；

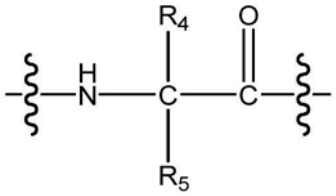
[0733] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、$-CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$、和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0734] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0735] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0736] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0737] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0738] 

[0739] 其中R_4是H；并且

[0740] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢；

[0741] b和w各自独立地是从0至7的整数，并且v是从0至5的整数，前提是：

[0742] b、v与w之和是至少3；并且

[0743] b与w之和是从0至7；

[0744] z是1或2；

[0745] X选自-S-、-S(＝O)-和$-S(=O)_2-$；

[0746] Z_1和Z_2各自独立地选自由以下组成的组：-O-、-NR-、-S-、-S(＝O)-、$-S(=O)_2-$、-C(＝O)O-、-OC(＝O)-、-C(＝O)NR-、-NRC(＝O)-、-C(＝O)S-、-SC(＝O)-、-OC(＝O)O-、-NRC(＝O)O-、-OC(＝O)NR-、和-NRC(＝O)NR-；

[0747] 在b、v、w和z的每种情况下，R_{11}、R_{12}、R_x、R_y、R_{14}、R_{15}、R_{16}和R_{17}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0748] R、R_{13}和R_{18}各自独立地是H或C_1-C_6脂肪族基；

[0749] R_{19}是H、C_1-C_6脂肪族基、氨基保护基团、L_3-C(＝O)-、或A2；

[0750] L_1和L_2各自独立地是C_5-C_{21}脂肪族基或C_4-C_{20}杂脂肪族基；

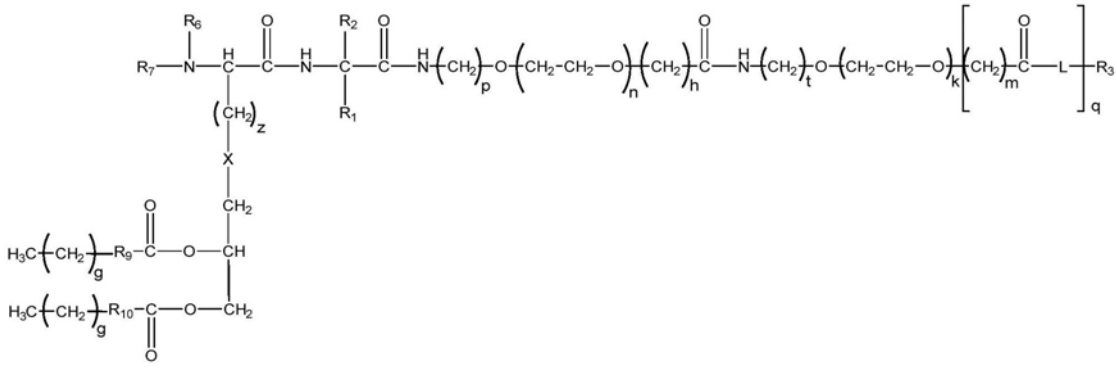
[0751] L_3是C_1-C_{21}脂肪族基或C_2-C_{20}杂脂肪族基；

[0752] A_2是氨基酸或肽；

[0753] 其中存在于R、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、R_x、R_y、L_1、L_2和L_3的任一个中的任何脂肪族基或杂脂肪族基是任选地取代的；

[0754] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0755] 在任何方面，化合物可以是式(XVI)的化合物：

[0756] 

(XVI)

[0757] 其中

[0758] n是3至100；

[0759] k是3至100；

[0760] m是1、2、3或4；

[0761] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0762] p是2、3或4；

[0763] t是2、3或4；

[0764] h是1、2、3或4；

[0765] q是零或1；

[0766] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$和$-CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0767] R_6和R_7独立地选自由以下组成的组：H、直链或支链C_1-C_4烷基和$-C(=O)CH_3$；

[0768] R_9和R_{10}独立地选自由以下组成的组：-NH-、-O-或单键；

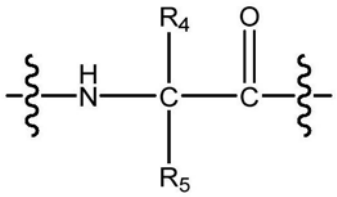
[0769] z是1或2；

[0770] X选自-S-、$-S(=O)-$和$-S(=O)_2-$；

[0771] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0772] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0773] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

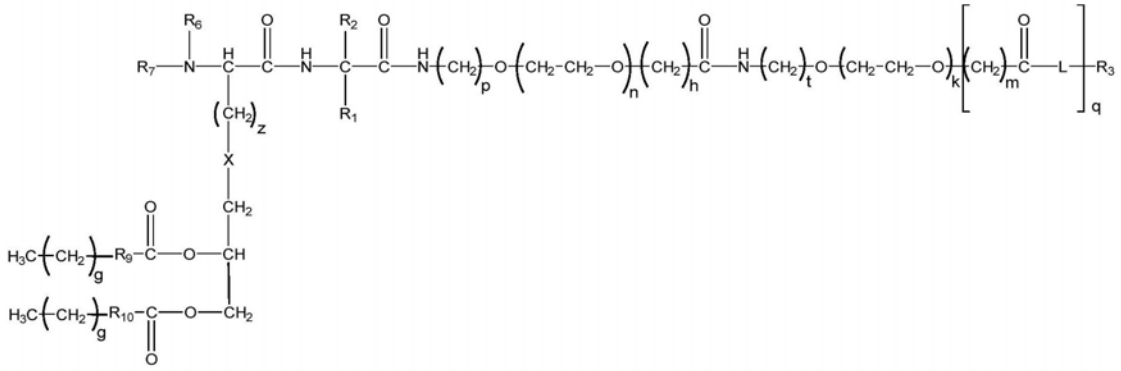
[0774] 

[0775] 其中R_4是H；并且

[0776] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0777] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0778] 在任何方面，化合物可以是式(XVII)的化合物：

[0779] 

(XVII)

[0780] 其中

[0781] n是3至100；

[0782] k是3至100；

[0783] m是1、2、3或4；

[0784] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0785] p是2、3或4；

[0786] t是2、3或4；

[0787] h是1、2、3或4；

[0788] q是零或1；

[0789] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、$-CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$、和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[0790] R_6和R_7是H；

[0791] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[0792] R_9和R_{10}均是单键；

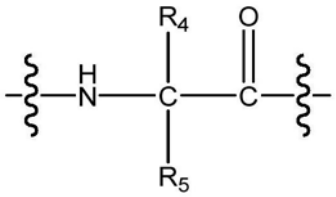
[0793] z是1；

[0794] X是S；

[0795] 其中当q＝1时，R_3是$-NH_2$或-OH；

[0796] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0797] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

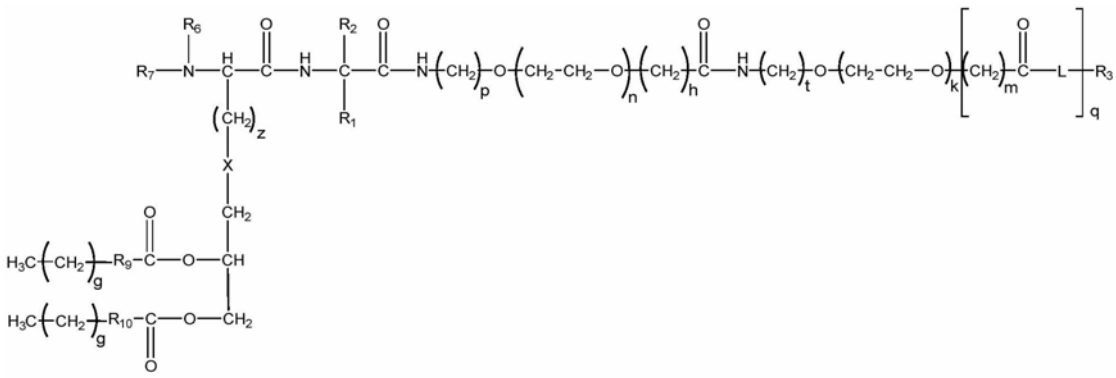
[0798] 

[0799] 其中R_4是H；并且

[0800] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0801] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0802] 在任何方面，化合物可以是式(XVIII)的化合物：

[0803] 

(XVIII)

[0804] 其中

[0805] n是3至100；

[0806] k是3至100；

[0807] m是1、2、3或4；

[0808] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0809] p是2、3或4；

[0810] t是2、3或4；

[0811] h是1、2、3或4；

[0812] q是零或1；

[0813] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$和-$CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0814] R_6和R_7是H；

[0815] R_9和R_{10}均是单键；

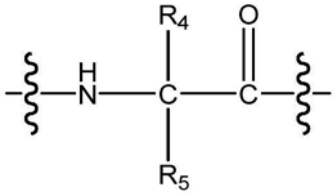
[0816] z是1；

[0817] X是S；

[0818] 其中当q＝1时，R_3是-NH_2或-OH；

[0819] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0820] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0821] 

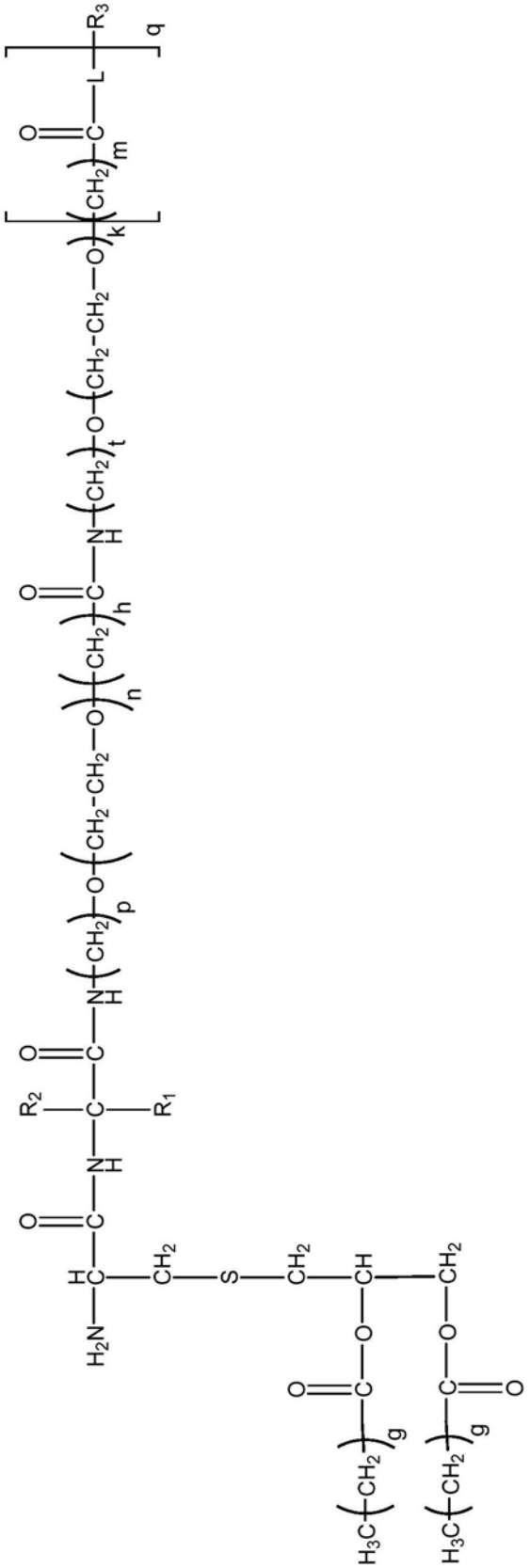
[0822] 其中R_4是H；并且

[0823] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0824] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0825] 在任何方面，化合物可以是式(XIX)的化合物：

[0826]



(XIX)

[0827] 其中

[0828] n是3至100；

[0829] k是3至100；

[0830] m是1、2、3或4；

[0831] 每个g独立地是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[0832] p是2、3或4；

[0833] t是2、3或4；

[0834] h是1、2、3或4；

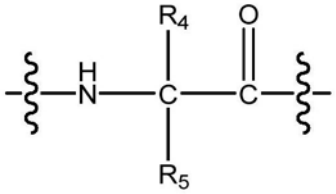
[0835] q是零或1；

[0836] R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$和-$CH_2OPO(OH)_2$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替，并且其中R_1和R_2并不都是H；

[0837] 其中当q＝1时，R_3是-NH_2或-OH；

[0838] 其中当q＝0时，R_3是H；

[0839] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0840] 

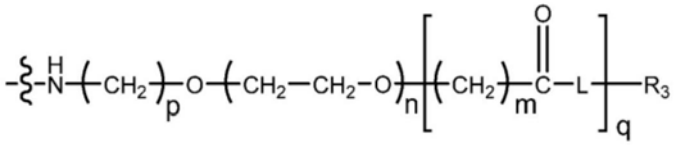
[0841] 其中R_4是H；并且

[0842] R_5是侧链，或该氨基酸的第二个氢，

[0843] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药。

[0844] 在一些实施例中，包含聚乙二醇(PEG)的本文所披露的任何化合物(包括式(I)-(XIX)中的任一个的化合物)可包含取代的PEG形式的PEG。

[0845] 在一些实施例中，取代的PEG由部分式B-I表示：

[0846] 

(B-I)

[0847] 其中

[0848] n是3至100；

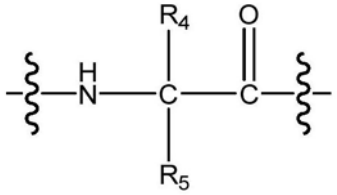
[0849] m是1、2、3或4；

[0850] p是2、3或4；

[0851] q是零或1；

[0852] R_3是H、-NH_2或-OH，其中当q是零时，R_3是H，并且当q是1时，R_3是-NH_2或-OH；

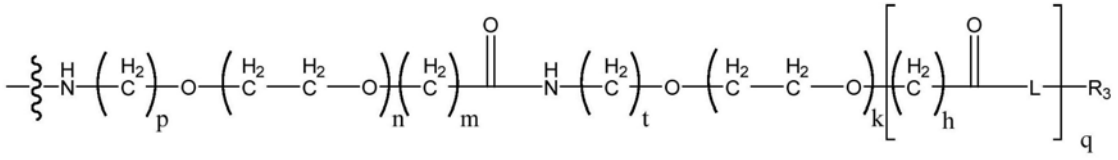
[0853] L是空或由1至10个单元组成，其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸，并且具有下式：

[0854] 

[0855] 其中R_4是H;并且

[0856] R_5是侧链,或该氨基酸的第二个氢。

[0857] 在一些实施例中,取代的PEG由部分式B-II表示:

[0858] 

B-II

[0859] 其中

[0860] p是2、3或4;

[0861] n是3至100;

[0862] m是1、2、3或4;

[0863] t是2、3或4;

[0864] k是3至100;

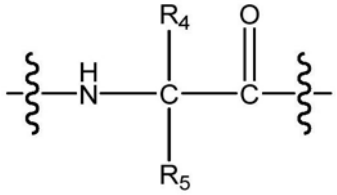
[0865] h是1、2、3或4;

[0866] q是零或1;

[0867] 其中当q是1时,R_3是-NH_2或-OH;

[0868] 其中当q是零时,R_3是H;

[0869] L是空或由1至10个单元组成,其中每个单元是天然α氨基酸或衍生自天然α氨基酸,并且具有下式:

[0870] 

[0871] 其中R_4是H;并且

[0872] R_5是侧链,或该氨基酸的第二个氢。

[0873] 在式B-I或B-II的取代的PEG的一些实施例中,q是1。

[0874] 在式B-I或B-II的取代的PEG的一些实施例中,n可以是从10至14、诸如11,或从24至30、诸如27。

[0875] 在式B-I或B-II的取代的PEG的一些实施例中,m是从1至3,诸如2。

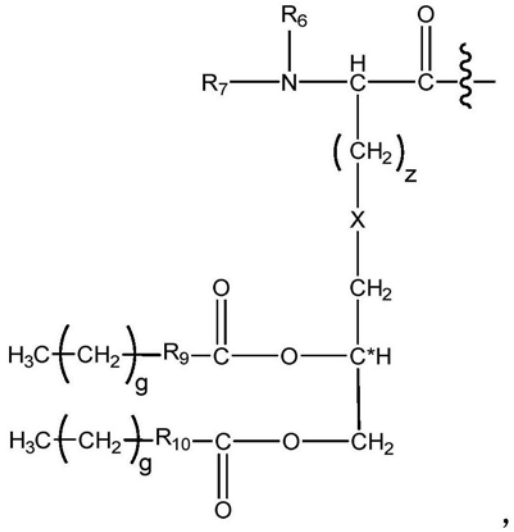
[0876] 在式B-I或B-II的取代的PEG的一些实施例中,当q是1时,R_3是-NH_2。

[0877] 在式B-I或B-II的取代的PEG的一些实施例中,L是天然的α氨基酸残基。

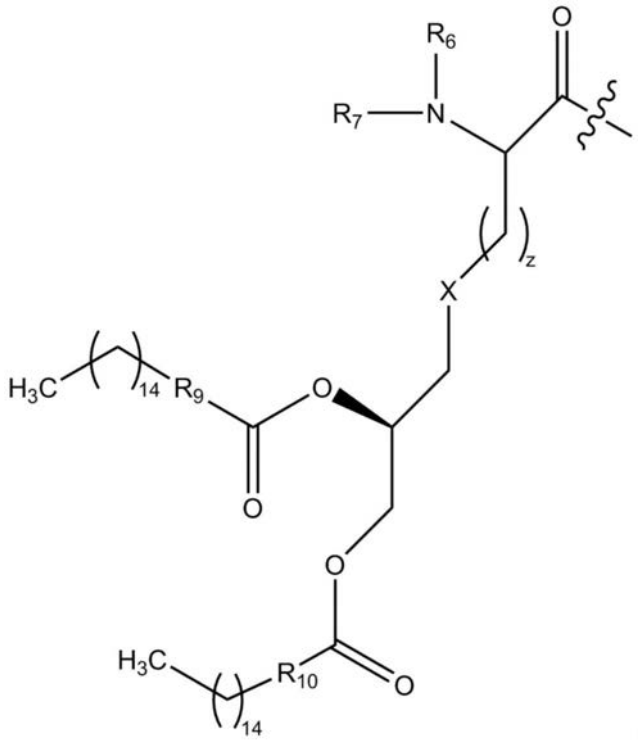
[0878] 本文所述的化合物可以以光学活性和外消旋形式存在并分离。如本领域的技术人员所理解的,本发明旨在涵盖具有本文所述的有用特性的本发明的化合物的任何外消旋、

光学活性或立体异构形式，或者其混合物。制备这些形式的方法(例如，通过重结晶拆分外消旋混合物、通过由光学活性起始物质合成、通过手性合成、或通过手性色谱分离)是本领域所熟知的。在一些实施例中，组合物可包含对映体或非对映体富集形式的化合物。例如，化合物可具有至少约1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或大于99％的对映体过量(ee)或非对映体过量(de)。在一些实施例中，化合物可在化合物的任何立构中心处富集至少约1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或大于99％。

[0879] 在任何方面，化合物可包含围绕以下手性中心的手性中心(示出于*处)：

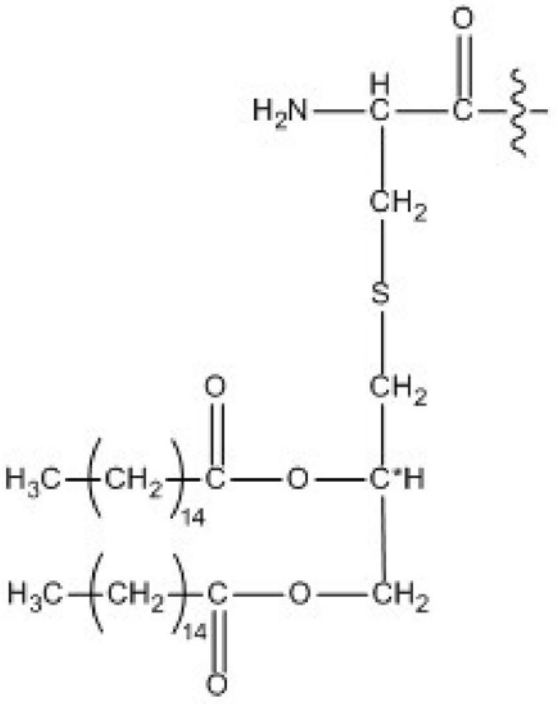
[0880] 

[0881] 其中该手性中心为R构型。这种形式的化合物也可称为如本文所述的本发明化合物的R-Pam2类似物非对映异构体。该化合物可以被描绘为：

[0882] 

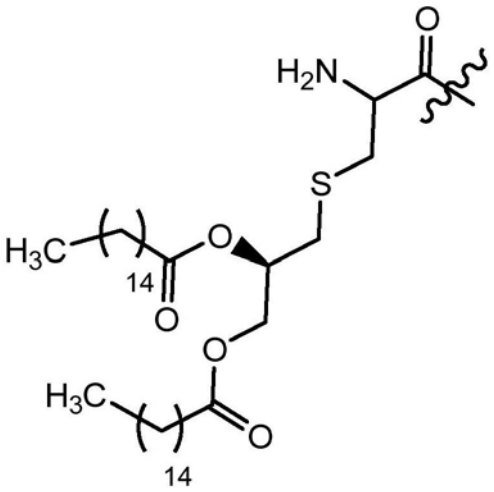
[0883] 在任何方面，化合物可在Pam2Cys的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分中包含手性中

心(示出于*处)：

[0884] 

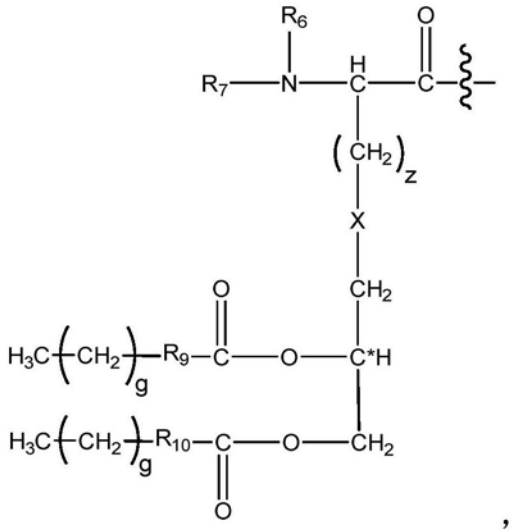
，

[0885] 其中该手性中心为R构型。这种形式的化合物也可称为如本文所述的本发明化合物的R-Pam2非对映异构体。该化合物可以被描绘为：

[0886] 

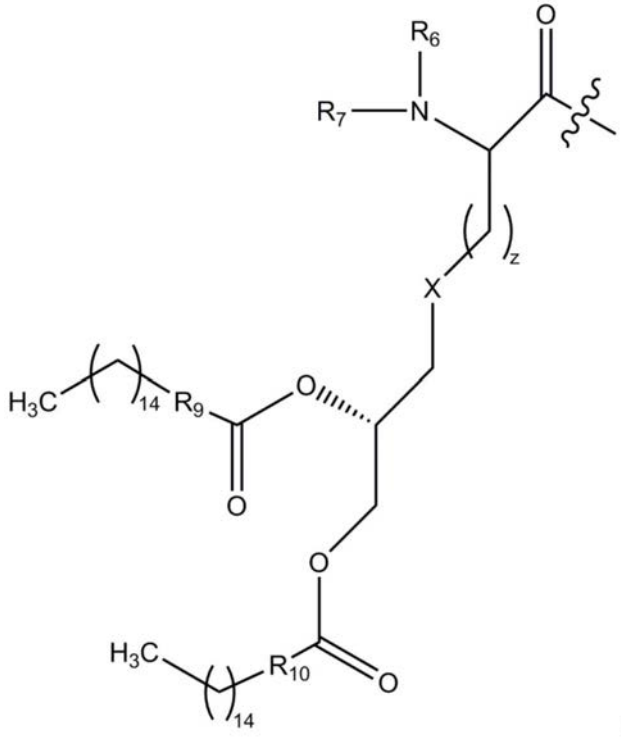
。

[0887] 在任何方面，化合物可包含围绕以下手性中心的手性中心(示出于*处)：

[0888] 

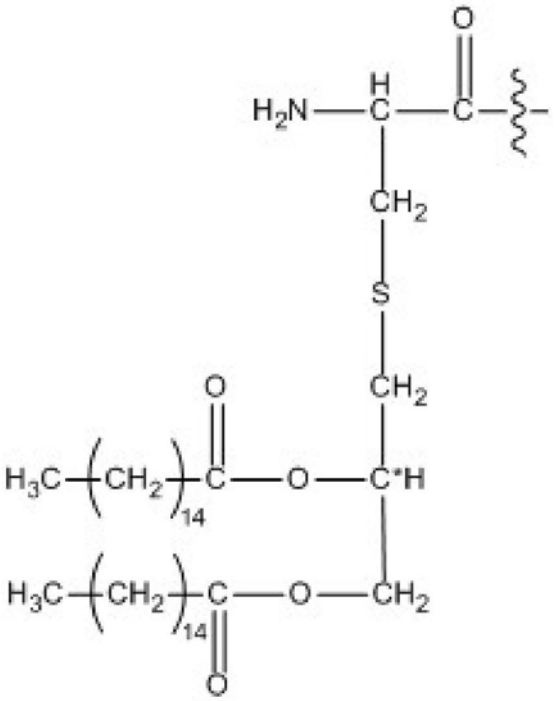
，

[0889] 其中该手性中心为S构型。这种形式的化合物也可称为如本文所述的本发明化合物的S-Pam2类似物非对映异构体。该化合物可以被描绘为：

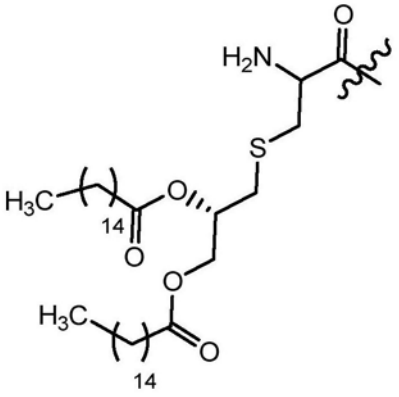
[0890] 

。

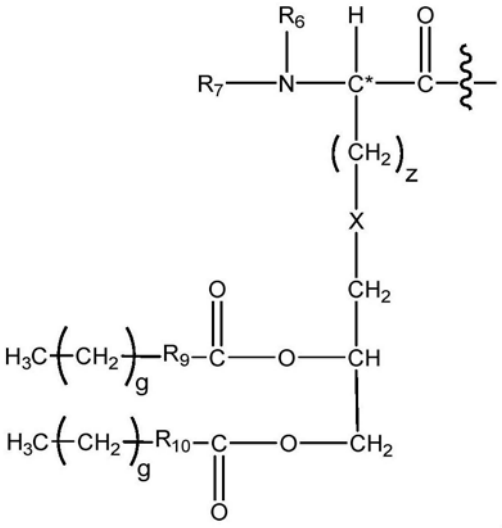
[0891] 在任何方面，化合物在Pam2Cys的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分中包含手性中心(示出于*处)：

[0892] 

[0893] 其中该手性中心为S构型。这种形式的化合物也可称为如本文所述的本发明化合物的S-Pam2非对映异构体。该化合物可以被描绘为：

[0894] 

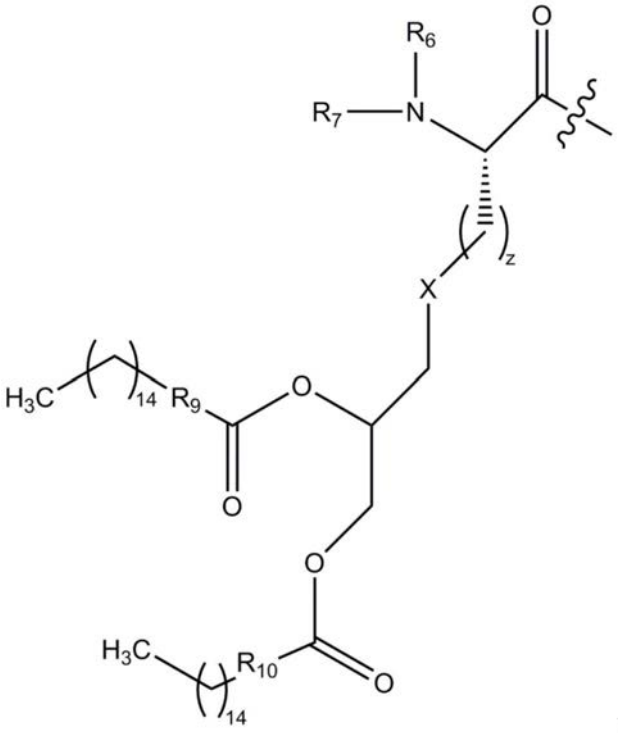
[0895] 在任何方面，化合物包含围绕以下手性中心的手性中心(示出于*处)：

[0896] 

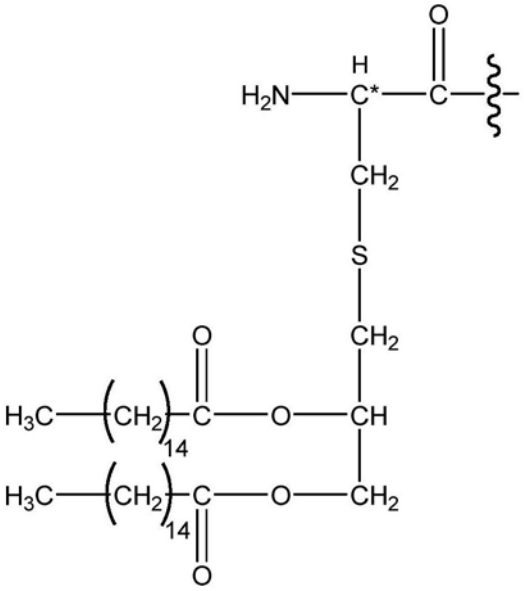
，

[0897] 其中该手性中心为L构型。这种形式的化合物也可以称为如本文所述的化合物的

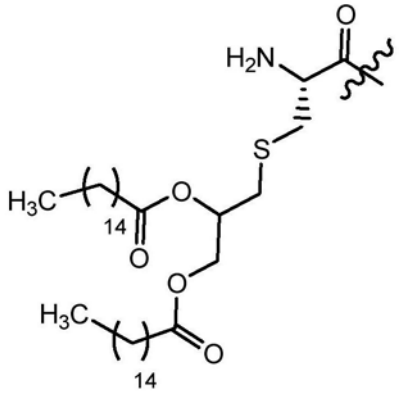
Pam2Cys的L-Cys类似物非对映异构体。该化合物可以被描绘为：

[0898] 

[0899] 在任何方面，化合物在Pam2Cys的半胱氨酸残基中包含手性中心(示出于*处)：

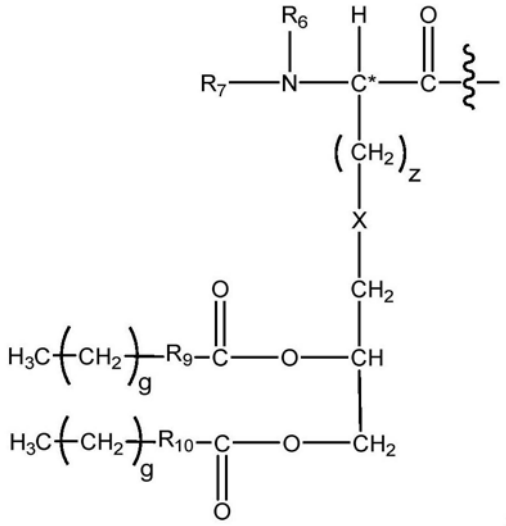
[0900] 

[0901] 其中该手性中心为L构型。这种形式的化合物也可以称为如本文所述的化合物的Pam2Cys的L-Cys非对映异构体。该化合物可以被描绘为：

[0902] 

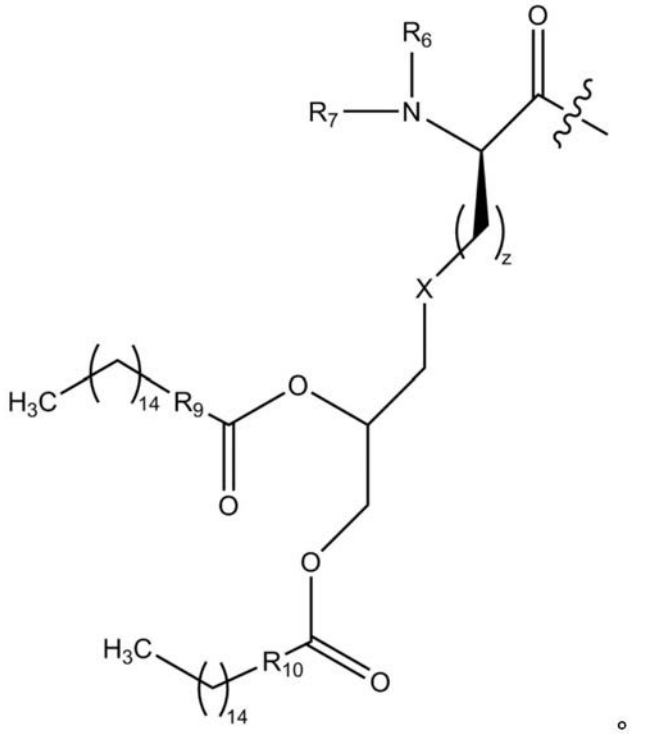
[0903] 这些化合物中的其他立构中心可以是外消旋的或者独立地富含R构型或S构型。

[0904] 在任何方面,化合物包含在部分A1中围绕以下手性中心的手性中心(示出于*处):

[0905] 

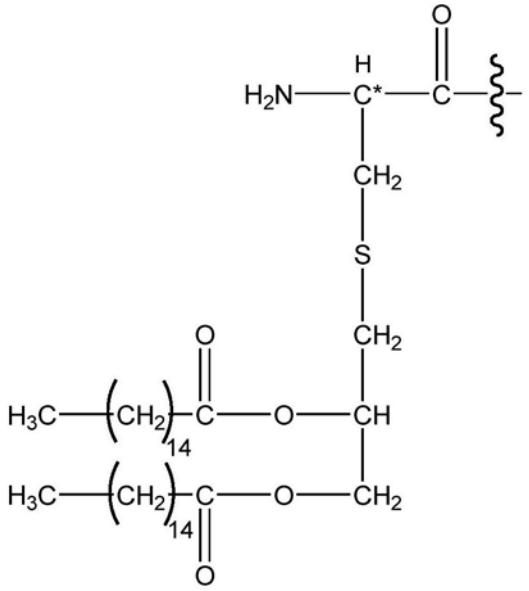
,

[0906] 其中该手性中心为D构型。这种形式的化合物也可以称为本文所述的化合物的Pam2Cys的D-Cys类似物非对映异构体。该化合物可以被描绘为:

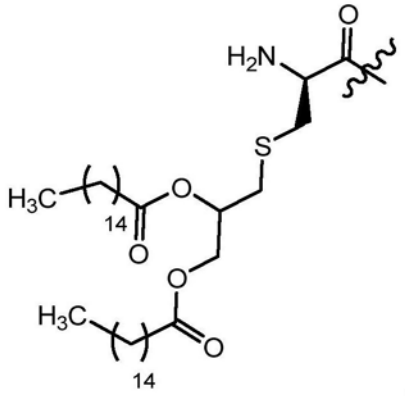
[0907] 

[0908] 这些化合物中的其他立构中心可以是外消旋的或者独立地富含R构型或S构型。

[0909] 在任何方面,化合物在Pam2Cys的半胱氨酸残基中包含手性中心(示出于*处):

[0910] 

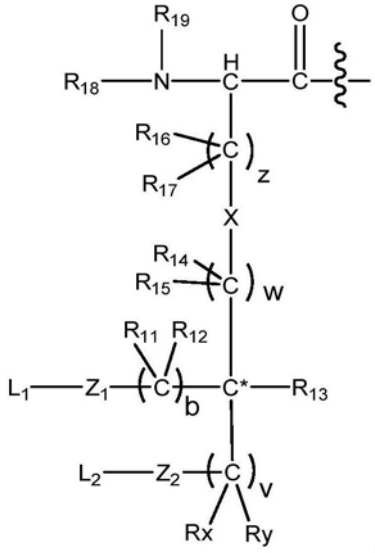
[0911] 其中该手性中心为D构型。这种形式的化合物也可以称为本文所述的化合物的Pam2Cys的D-Cys非对映异构体。该化合物可以被描绘为:

[0912] 

。

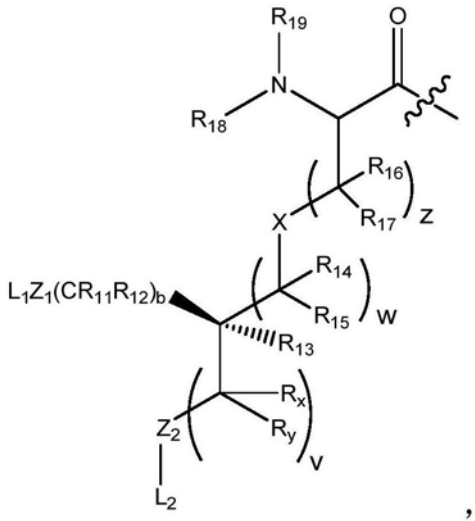
[0913] 这些化合物中的其他立构中心可以是外消旋的或者独立地富含R构型或S构型。

[0914] 在本发明的任何方面或实施例中，本发明的化合物可以以在以下部分A2中的碳原子处(示出于*处)的手性中心处富集的手性形式提供：

[0915] 

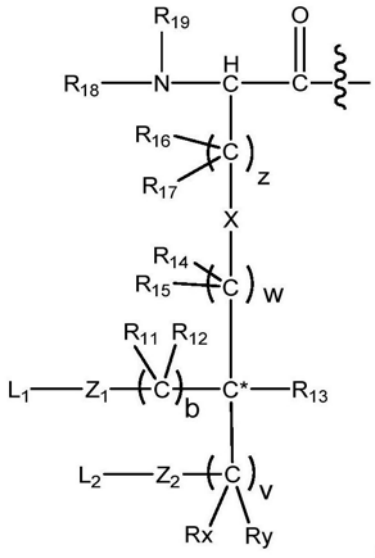
，

[0916] 其中该手性中心为R构型。在一些实施例中，该化合物的此立体异构体可以描绘成：

[0917] 

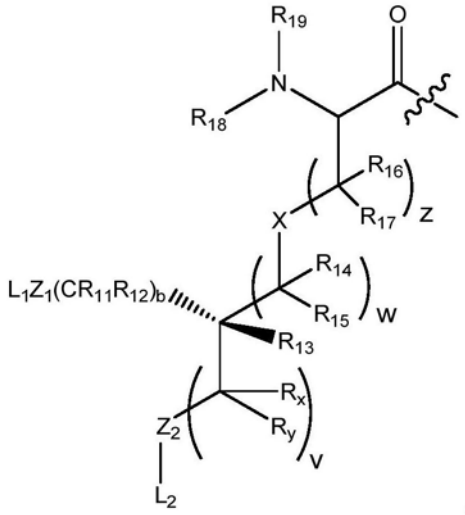
，其中L_1、L_2、Z_1、Z_2、R_x、R_y、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、b、v和z是如对于式(I)的化合物所定义的，并且w是1。这些化合物中的其他立构中心可以是外消旋的或者独立地富含R构型或S构型。

[0918] 在本发明的任何方面或实施例中，本发明的化合物可以以在以下部分A2中的碳原子处(示出于*处)的手性中心处富集的手性形式提供：

[0919] 

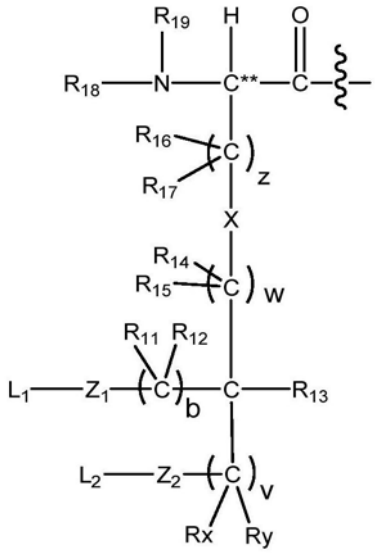
，

[0920] 其中该手性中心为S构型。在一些实施例中，该化合物的此立体异构体的部分A可以描绘成：

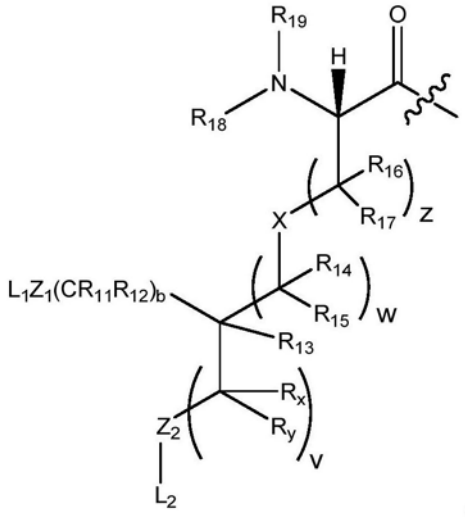
[0921] 

，其中L_1、L_2、Z_1、Z_2、R_x、R_y、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、b、v、w和z是如对于式(I)的化合物所定义的。这些化合物中的其他立构中心可以是外消旋的或者独立地富含R构型或S构型。

[0922] 在本发明的任何方面或实施例中，本发明的化合物可以以在以下部分A2中的碳原子处(示出于**处)的手性中心处富集的手性形式提供：

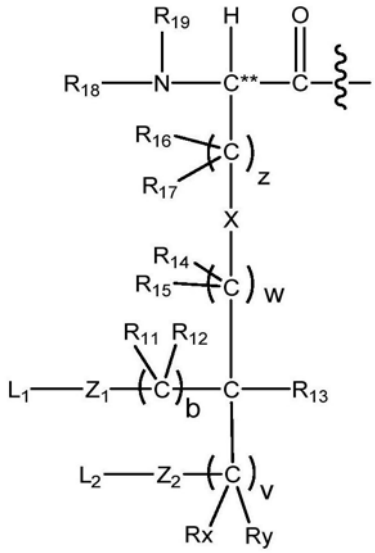
[0923] 

[0924] 其中该手性中心为L构型。这种形式的化合物也可以称为本发明的化合物的L-Cys类似物立体异构体。在一些实施例中，该化合物的此立体异构体可以描绘成：

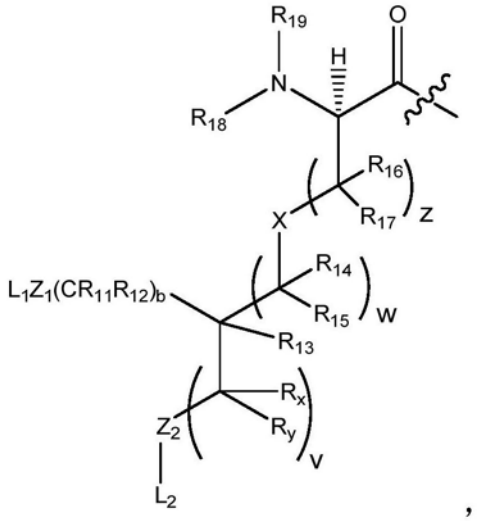
[0925] 

，其中L_1、L_2、Z_1、Z_2、R_x、R_y、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、b、v、w和z是如对于式(I)的化合物所定义的。这些化合物中的其他立构中心可以是外消旋的或者独立地富含R构型或S构型。

[0926] 在本发明的任何方面或实施例中，本发明的化合物可以以在以下部分A2中的碳原子处(示出于**处)的手性中心处富集的手性形式提供：

[0927] 

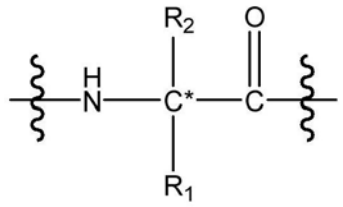
[0928] 其中该手性中心为D构型。这种形式的化合物也可以称为本发明的化合物的D-Cys类似物立体异构体。在一些实施例中，该化合物的此立体异构体的部分A可以描绘成：

[0929] 

，

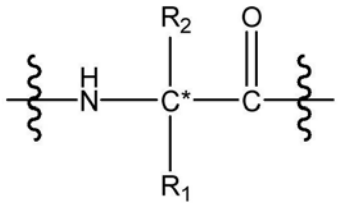
[0930] 其中L_1、L_2、Z_1、Z_2、R_x、R_y、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}、R_{19}、b、v和z是如对于式(I)的化合物所定义的，并且w是1。这些化合物中的其他立构中心可以是外消旋的或者独立地富含R构型或S构型。

[0931] 在任何方面，化合物在化合物的Y部分中包含手性中心(示出于*处)：

[0932] 

[0933] 其中该手性中心为L-构型。这种形式的化合物也可以称为本文所述的本发明化合物的L-Y非对映异构体。

[0934] 在任何方面，化合物在化合物的Y部分中包含手性中心(示出于*处)：

[0935] 

[0936] 其中该手性中心为D-构型。这种形式的化合物也可以是

[0937] 在任何方面，包含本发明化合物(包括式(I)-(XIX)中的任一个的化合物)或其药学上可接受的盐、溶剂化物或前药和药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂的组合物可用于本发明的方法或用途。

[0938] 在一些实施例中，如本文所述的化合物是围绕该化合物的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分的手性中心的R非对映异构体。

[0939] 在一些实施例中，如本文所述的化合物是围绕该化合物的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分的手性中心的S非对映异构体。

[0940] 在任何方面，如本文所述的组合物包含下述化合物：该化合物是围绕该化合物的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分的手性中心的R非对映异构体。

[0941] 在任何方面，组合物包含下述化合物：该化合物是围绕该化合物的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分的手性中心的S非对映异构体。

[0942] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕该化合物的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分的手性中心的R非对映异构体。

[0943] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕该化合物的2,3-双(棕榈酰氧基)丙基部分(例如部分A1)的手性中心的S非对映异构体。

[0944] 在任何方面，如本文所述的化合物是围绕Pam2Cys类似物部分化合物(例如部分Y)的半胱氨酸类似物残基的手性中心的L非对映异构体。

[0945] 在任何方面，如本文所述的化合物是围绕Pam2Cys部分化合物(例如部分Y)的半胱氨酸残基的手性中心的L非对映异构体。

[0946] 在任何方面，如本文所述的化合物是围绕Pam2Cys类似物部分化合物(例如部分Y)的半胱氨酸类似物残基的手性中心的D非对映异构体。

[0947] 在任何方面，如本文所述的化合物是围绕化合物的Pam2Cys部分(例如部分Y)的半胱氨酸残基的手性中心的D非对映异构体。

[0948] 在任何方面，如本文所述的组合物包含这样的化合物，该化合物是围绕化合物的Pam2Cys类似物部分(例如部分Y)的半胱氨酸类似物残基的手性中心的L非对映异构体。

[0949] 在任何方面，如本文所述的组合物包含这样的化合物，该化合物是围绕化合物的Pam2Cys部分(例如部分Y)的半胱氨酸残基的手性中心的L非对映异构体。

[0950] 在任何方面，如本文所述的组合物包含这样的化合物，该化合物是围绕化合物的Pam2Cys类似物部分(例如部分Y)的半胱氨酸类似物残基的手性中心的D非对映异构体。

[0951] 在任何方面，如本文所述的组合物包含这样的化合物，该化合物是围绕化合物的Pam2Cys部分(例如部分Y)的半胱氨酸残基的手性中心的D非对映异构体。

[0952] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕该化合物的Pam2Cys类似物部分的半胱氨酸类似物残基的手性中心的L非对映异构体。

[0953] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕该化合物的Pam2Cys部分的半胱氨酸残基的手性中心的L非对映异构体。

[0954] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕该化合物的Pam2Cys类似物部分的半胱氨酸类似物残基的手性中心的D非对映异构体。

[0955] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕该化合物的Pam2Cys部分的半胱氨酸残基的手性中心的D非对映异构体。

[0956] 在任何方面，如本文所述的本发明化合物是围绕Y部分的手性中心的L非对映异构体。

[0957] 在任何方面，如本文所述的化合物是围绕Y部分的手性中心的D非对映异构体。

[0958] 在任何方面，如本文所述的组合物包含下述化合物：该化合物是围绕Y部分的手性中心的L非对映异构体。

[0959] 在任何方面，如本文所述的组合物包含下述化合物：该化合物是围绕Y部分的手性中心的D非对映异构体。

[0960] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕Y部分的手性中心的L非对映异构体。

[0961] 在任何方面，该组合物中存在的该化合物的1％、5％、10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或超过99％是围绕Y部分的手性中心的D非对映异构体。

[0962] 本文所述的式(I)-(XIX)的化合物在溶液中可表现出显著的稳定性。这种溶液稳定性可通过将化合物的溶液在环境储存条件下(例如在25℃下)或在加速降解稳定性下(例如在40℃下)储存至少约14天来观察。

[0963] 在任何方面，本文所述的任何化合物可以药学上可接受的盐的形式施用。

[0964] 术语“药学上可接受的”可用于描述任何药学上可接受的盐、水合物或前药，或在向受试者施用时能够(直接或间接地)提供如本文所述的本发明化合物的任何其他化合物，或其药学上可接受的盐、前药或酯，或其活性代谢物或残留物。

[0965] 合适的药学上可接受的盐可包括但不限于药学上可接受的无机酸诸如盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、碳酸、硼酸、氨磺酸和氢溴酸的盐；或药学上可接受的有机酸诸如乙酸、丙酸、丁酸、酒石酸、马来酸、羟基马来酸、富马酸、苹果酸、柠檬酸、乳酸、粘酸、葡糖酸、苯甲酸、琥珀酸、草酸、苯乙酸、甲磺酸、甲苯磺酸、苯磺酸、水杨酸、磺胺酸、天冬氨酸、谷氨酸、依地酸、硬脂酸、软脂酸、油酸、月桂酸、泛酸、单宁酸、抗坏血酸和缬草酸的盐。

[0966] 碱盐可包括但不限于与药学上可接受的阳离子诸如钠、钾、锂、钙、镁、锌、铵、烷基铵(诸如由三乙胺形成的盐)、烷氧基铵(诸如与乙醇胺形成的那些)形成的那些，以及由乙

二胺、胆碱或氨基酸诸如精氨酸、赖氨酸或组氨酸形成的盐。关于药学上可接受的盐的类型及其形成的一般信息是本领域技术人员已知的，并且如一般文本诸如“Handbook of Pharmaceutical salts[药用盐手册]”P.H.Stahl、C.G.Wermuth，第1版，2002，Wiley-VCH中所述。

[0967] 在化合物是固体的情况下，本领域技术人员应当理解，本发明的化合物、药剂和盐可以以不同的晶体或多晶型形式存在，所有这些形式都在本发明和指定的化学式的范围内。

[0968] 术语“多晶型物”包括如本文所述的本发明的化合物的任何晶体形式，诸如无水形式、含水形式、溶剂化物形式和混合溶剂化物形式。

[0969] 在适用的情况下，本文所述的本发明化合物旨在涵盖溶剂化形式以及非溶剂化形式的化合物。因此，本文所述的本发明化合物包括具有所示结构的化物，包括水合形式或溶剂化形式以及非水合形式和非溶剂化形式。

[0970] 如本文所用，术语“溶剂化物”是指由溶质(在本发明中，本文所述的本发明化合物或其药学上可接受的盐、前药或酯)和溶剂形成的可变化学计量的复合物。用于本发明目的的此类溶剂不可以干扰溶质的生物活性。合适的溶剂的实例包括但不限于水、甲醇、乙醇和乙酸。优选地，所用的溶剂是药学上可接受的溶剂。合适的药学上可接受的溶剂的实例包括但不限于水、乙醇和乙酸。最优选的是，所用的溶剂是水。

[0971] 碱性含氮基团可用诸如以下试剂季铵化：低级烷基卤化物，诸如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物；二烷基硫酸酯如硫酸二甲酯和硫酸二乙酯；等等。

[0972] 如本文所述的化合物还包括同位素变型形式，诸如用氘代替氢。

[0973] “前药”是可能不完全满足本文所提供化合物的结构要求，但在向受试者或患者施用后在体内被修饰以产生如本文所述的本发明化合物的化合物。例如，前药可以是如本文提供的化合物的酰化衍生物。前药包括其中羟基、羧基、胺基或巯基与下述任何基团键合的化合物，当向哺乳动物受试者施用时，该基团裂解以分别形成游离的羟基、羧基、氨基或巯基。前药的实例包括但不限于本文提供的化合物中的醇和胺官能团的乙酸酯(盐)、甲酸酯(盐)、磷酸酯(盐)和苯甲酸酯(盐)衍生物。本文提供的化合物的前药可以以这样的方式来制备：对化合物中存在的官能团进行修饰，使得修饰物在体内裂解以产生母体化合物。

[0974] 前药包括其中氨基酸残基、或者两个或更多个(例如，两个、三个或四个)氨基酸残基的多肽链与式(I)-(XIX)的任何化合物的游离氨基、和酰胺基团共价连接的化合物。氨基酸残基包括通常由三个字母符号表示的20种天然存在的氨基酸，并且还包括4-羟脯氨酸、羟赖氨酸、锁链赖氨酸(demosine)、异锁链赖氨酸(isodemosine)、3-甲基组氨酸、正缬氨酸(norvlin)、β-丙氨酸、γ-氨基丁酸、瓜氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、鸟氨酸和蛋氨酸砜。前药还包括其中碳酸酯、氨基甲酸酯、酰胺和烷基酯与本文所述的化合物的上述取代基共价键合的化合物，包括式(I)-(XIX)的化合物或如本文所述的其他结构。

[0975] 在本文的公式中使用的普通化学术语具有其寻常意义。

[0976] 术语“脂肪族基”旨在包括饱和和不饱和的、非芳香族的、直链的、支链的、非环状的、以及环状的烃。本领域技术人员将理解，脂肪族基团包括例如烷基、烯基、炔基、环烷基和环烯基以及它们的杂种，如(环烷基)烷基、(环烯基)烷基和(环烷基)烯基。在不同实施例中，脂肪族基团包含从1至12、1至8、1至6、或1至4个碳原子。在一些实施例中，脂肪族基团包

含5至21、从9至21、或从11至21个碳原子，诸如从11、13、15、17或19个碳原子。在一些实施例中，脂肪族基团是饱和的。

[0977] 术语“杂脂肪族基”旨在包括其中一个或多个链和/或环碳原子独立地被杂原子，优选选自氧、氮和硫的杂原子代替的脂肪族基团。在一些实施例中，杂脂肪族基是饱和的。杂脂肪族基团的实例包括直链或支链的杂烷基、杂烯基和杂炔基。

[0978] 术语“烷基”旨在包括饱和的直链和支链烃基团。在一些实施例中，烷基具有从1至12、1至10、1至8、1至6、或从1至4个碳原子。在一些实施例中，烷基具有从5至21、从9至21、或从11至21个碳原子，诸如从11、13、15、17或19个碳原子。直链烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基和正辛基。支链烷基的实例包括但不限于异丙基、异丁基、仲丁基、叔丁基、新戊基、异戊基和2,2-二甲基丙基。

[0979] 术语“烯基”旨在包括直链和支链的具有至少一个在两个碳原子之间的双键的烷基。在一些实施例中，烯基具有从2至12、从2至10、从2至8、从2至6、或从2至4个碳原子。在一些实施例中，烯基具有从5至21、从9至21、或从11至21个碳原子，诸如从11、13、15、17或19个碳原子。在一些实施例中，烯基具有一个、两个或三个碳碳双键。烯基的实例包括但不限于乙烯基、烯丙基、-CH＝CH(CH$_3$)、-CH＝C(CH$_3$)$_2$、-C(CH$_3$)＝CH$_2$、和-C(CH$_3$)＝CH(CH$_3$)。

[0980] 术语“炔基”旨在包括直链和支链的具有至少一个在两个碳原子之间的三键的烷基。在一些实施例中，炔基具有从2至12、从2至10、从2至8、从2至6、或从2至4个碳原子。在一些实施例中，炔基具有一个、两个或三个碳碳三键。实例包括但不限于-C＝CH、-C＝CH$_3$、-CH$_2$C＝CH$_3$、和-C＝CH$_2$CH(CH$_2$CH$_3$)$_2$。

[0981] 术语“杂烷基”旨在包括其中一个或多个链碳原子被杂原子，优选地选自由以下组成的组的杂原子代替的烷基：氧、氮和硫。在一些实施例中，杂烷基是饱和的。杂烷基包括例如聚乙二醇基团和聚乙二醇醚基团等。

[0982] 术语“环烷基”旨在包括单环、双环、或三环烷基。在一些实施例中，环烷基的一个或多个环中具有从3至12、从3至10、从3至8、从3至6、或从3至5个碳原子。在一些实施例中，环烷基具有5或6个环碳原子。单环环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。在一些实施例中，环烷基具有从3至8、从3至7、从3至6、从4至6、从3至5、或从4至5个环碳原子。双环和三环环系包括桥联、螺环以及稠合的环烷基环系。双环和三环环烷基体系的实例包括但不限于双环[2.1.1]己烷基、双环[2.2.1]庚烷基、金刚烷基和十氢萘基。

[0983] 术语“环烯基”旨在包括具有至少一个在两个碳原子之间的双键的非芳香族环烷基。在一些实施例中，环烯基具有一个、两个或三个双键。在一些实施例中，环烯基的一个或多个环中具有从4至14、从5至14、从5至10、从5至8、或从5至6个碳原子。在一些实施例中，环烯基具有5,6,7或8个环碳原子。环烯基的实例包括环己烯基、环戊烯基、环己二烯基、丁二烯基、戊二烯基和己二烯基。

[0984] 术语“芳基”旨在包括不含任何环杂原子的环状芳香族烃基团。芳基包括单环、双环和三环环系。芳基的实例包括但不限于苯基、蒽基、庚搭烯基、联苯基、芴基、菲基、蒽基、茚基、茚满基、并环戊二烯基、以及萘基。在一些实施例中，芳基的一个或多个环中具有从6至14、从6至12、或从6至10个碳原子。在一些实施例中，芳基为苯基或萘基。芳基包括芳香族-脂肪族基稠合的环系。实例包括但不限于茚满基和四氢萘基。

[0985] 术语“杂环基”旨在包括含有3个或更多个环原子的非芳香族环系，其中这些环原子中的一个或多个是杂原子。在一些实施例中，杂原子是氮、氧或硫。在一些实施例中，杂环基含有一个、两个、三个或四个杂原子。在一些实施例中，杂环基包括具有从3至16、从3至14、从3至12、从3至10、从3至8、或从3至6个环原子的单环、双环和三环。杂环基包括部分不饱和的以及饱和的环系，例如咪唑啉基和咪唑烷基。杂环基包括含有杂原子的稠合和桥联的环系，例如奎宁环基。杂环基包括但不限于吖丙啶基、氮杂环丁烷基、氮杂环庚烷基、二氮杂环庚烷基、1,3-二噁烷基、1,3-二氧戊环基、异噁唑烷基、吗啉基、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡唑烷基、吡咯啉基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、噻二唑烷基以及三噻烷基。

[0986] 术语“杂芳基”旨在包括含有5个或更多个环原子的芳香族环系，其中这些环原子中的一个或多个是杂原子。在一些实施例中，杂原子是氮、氧或硫。在一些实施例中，杂芳基包括具有从5至16、从5至14、从5至12、从5至10、从5至8、或从5至6个环原子的单环、双环和三环环系。杂芳基包括但不限于吡咯基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、苯硫基、苯并苯硫基、呋喃基、苯并呋喃基、吲哚基、吖吲哚基(吡咯并吡啶基)、吲唑基、苯并咪唑基、吡唑并吡啶基、三唑并吡啶基、苯并三唑基、苯并噁唑基、苯并噻唑基、咪唑并吡啶基、异噁唑并吡啶基黄嘌呤基(isoxazolopyridinylxanthinyl)、鸟嘌呤基(guaninyl)、喹啉基、异喹啉基、四氢喹啉基、喹喔啉基以及喹唑啉基。杂芳基包括其中所有的环都是芳香族环的稠合环系，例如吲哚基，以及其中仅有一个环是芳香族环的稠合环系，例如2,3-二氢吲哚基。

[0987] 术语“卤素(halo/halogen)”旨在包括F、Cl、Br和I。

[0988] 术语“杂原子”旨在包括氧、氮、硫或磷。在一些实施例中，杂原子选自由以下组成的组:氧、氮和硫。

[0989] 如本文所用，术语“取代的”旨在意指所指示的基团中的一个或多个氢原子被一个或多个独立选择的合适的取代基代替，前提是不超过与一个或个多取代基附接的每个原子的正常价态，并且取代产生稳定的化合物。在一些实施例中，本文所述的化合物中任选的取代基包括但不限于卤素、CN、NO_2、OH、NH_2、NHR_{100}、$NR_{100}R_{200}$、C_{1-6}卤代烷基、C_{1-6}卤代烷氧基、C(O)NH_2、C(O)NHR_{100}、C(O)$NR_{100}R_{200}$、SO_2R_{100}、OR_{100}、SR_{100}、S(O)R_{100}、C(O)R_{100}、和C_{1-6}脂肪族基;其中R_{100}和R_{200}各自独立地是C_{1-6}脂肪族基，例如C_{1-6}烷基。

[0990] 在提到保护基团(PG)时，本领域的技术人员将容易理解何种类型的保护基团将是合适的。

[0991] 如文本所用，术语“胺保护基团”旨在意指能够容易地去除以提供胺基中的NH_2基团并且在合成程序期间保护胺基防止其发生不希望的反应的基团。此类保护基团描述于由T.W.Greene等人编写的Protective Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基团](约翰威立父子出版公司(John Wiley&Sons)，1999)以及Fernando Albericio(与Albert Isidro-Llobet和Mercedes Alvarez)的‘Amino Acid-Protecting Groups’[‘氨基酸保护基团’]，Chemical Reviews[化学评论]，2009(109)2455-2504中。实例包括但不限于酰基和酰氧基，例如乙酰基、氯乙酰基、三氯乙酰氯、邻硝基苯基乙酰基、邻硝基苯氧基-乙酰基、三氟乙酰基、乙酰乙酰基、4-氯丁酰氯、异丁酰基、吡啶甲酰基(picolinoyl)、氨基己酰基、苯甲酰基、甲氧基-羰基、9-芴基甲氧基羰基、2,2,2-三氟乙氧基羰基、2-三甲基甲硅烷基乙氧基-羰基、叔丁基氧羰基、苄基氧羰基、对硝基苄基氧羰基、2,4-二氯-苄基氧羰基

等。另外的实例包括Cbz(羧基苄基)、Nosyl((邻硝基苯基磺酰基或对硝基苯基磺酰基)、Bpoc(2-(4-联苯基)异丙氧基羰基)以及Dde(1-(4,4-二甲基-2,6-二氧亚己基)乙基)。在一些实施例中,用于本文所述目的的胺保护基团包括(但不限于)叔丁氧基羰基(t-Boc)和9H-芴-9-基甲氧基羰基(Fmoc)。

[0992] 如文本所用,术语"羧基保护基团"旨在意指能够容易地去除以提供羧基中的OH基团并且在合成程序期间保护羧基防止其发生不希望的反应的基团。此类保护基团描述于由T.W.Greene等人编写的Protective Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基团](约翰威立父子出版公司,1999)以及Fernando Albericio(与Albert Isidro-Llobet和Mercedes Alvarez)的'Amino Acid-Protecting Groups'['氨基酸保护基团'],Chemical Reviews[化学评论],2009(109)2455-2504中。实例包括但不限于烷基和甲硅烷基,例如甲基、乙基、叔丁基、甲氧基甲基、2,2,2-三氯乙基、苄基、二苯基甲基、三甲基甲硅烷基、以及叔丁基二甲基甲硅烷基等。

[0993] 如文本所用,术语"甲酰胺保护基团"旨在意指能够容易地去除以提供甲酰胺基团中的NH_2基并且在合成程序期间保护甲酰胺基团防止其发生不希望的反应的基团。此类保护基团描述于由T.W.Greene等人编写的Protective Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基团](约翰威立父子出版公司,1999)以及Fernando Albericio(与Albert Isidro-Llobet和Mercedes Alvarez)的'Amino Acid-Protecting Groups'['氨基酸保护基团'],Chemical Reviews[化学评论],2009(109)2455-2504中。实例包括但不限于9-夹氧杂蒽基(Xan)、三苯甲基(Trt)、甲基三苯基(Mtt)、环丙基二甲基原基(Cpd)、和二甲基环丙基甲基(Dmcp)。

[0994] 术语"酯"是指其中羟基的氢已被饱和的直链(即线性)或支链烃基代替的羧酸基团。烷基的具体实例为甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、正己基和2,2-二甲基丁基。烷基可以是C_1-C_6烷基。如本文所用,限定长度范围的极限的措辞,例如像"从1至5"意指从1至5的任何整数,即1、2、3、4和5。换句话讲,由明确提及的两个整数限定的任何范围旨在包括并披露限定所述极限的任何整数和所述范围中包含的任何整数。烷基可以是支链烷基。

[0995] 如本文所用,"Ser"是指氨基酸丝氨酸,并且"Cys"是指氨基酸半胱氨酸。

[0996] 如本文所用,"PEG"是指聚合物化合物聚乙二醇。除非另有定义,否则提及"PEG"包括任何长度的环氧乙烷聚合物。提及PEG还包括取代的PEG。在一些实施例中,取代的PEG可以通过如本文所述的式B-I或B-II定义。

[0997] 如本文所用,术语"和/或"意指"和"或"或者"、或两种情况都包括。

[0998] 名词前面的术语"一个或多个"考虑了单数和复数形式,或同时考虑了两种形式。

[0999] 对本文披露的数字范围(例如1至10)的提及旨在也包含提及该范围内的全部有理数(例如1、1.1、2、3、3.9、4、5、6、6.5、7、8、9和10),以及该范围内的任何有理数范围(例如2至8、1.5至5.5和3.1至4.7),并且因此,特此明确地披露本文中所明确披露的全部范围的全部子范围。这些仅仅是具体意图的实例,并且在所列举的最低值和最高值之间的数值的所有可能组合都应被认为在本申请中以类似方式明确地陈述。

[1000] 免疫系统刺激剂

[1001] 在本发明的一个方面,提供了一种用于治疗、预防或最大程度减少癌症进展的方

法,包括施用TLR2激动剂和免疫刺激剂。

[1002] 技术人员应当理解,如本文所用的术语“免疫刺激剂”、“免疫刺激性”或“刺激/诱导免疫反应”以及它们的语法等同词是指诱导、增加、增强或以其他方式提供关于免疫反应的有益效果。

[1003] “免疫刺激”或“免疫刺激性”或“刺激/诱导免疫反应”是指免疫系统细胞或组分对本文所述的任何治疗的直接或间接反应。此类反应可通过本领域中任何已知的方式测量,包括免疫系统细胞(B细胞、T细胞、树突细胞、APC、巨噬细胞、NK细胞、NKT细胞等)的激活、增殖或分化,血清中标志物、细胞因子、干扰素、IgM和IgG释放的上调或下调表达,以及各种器官中的混合细胞浸润。

[1004] 免疫刺激剂可包括特异性免疫刺激剂和非特异性免疫刺激剂。特异性免疫刺激剂在免疫反应中提供抗原特异性,诸如疫苗或任何抗原。非特异性免疫刺激剂以与抗原特异性无关的方式在没有抗原特异性的情况下增强其他抗原的免疫反应或刺激免疫系统的组分,诸如佐剂和非特异性免疫刺激剂。

[1005] 此类免疫刺激剂可以经由任何一种或多种不同的方式来帮助免疫系统,包括通过经由刺激抗原呈递细胞、T细胞或先天细胞来引发和加强免疫系统;通过调节抑制途径来减少肿瘤环境中的免疫抑制;和/或通过增强适应性或先天免疫反应。因此,免疫系统的刺激可以是先天免疫系统细胞或获得性免疫系统细胞的刺激。免疫刺激剂可抑制由癌细胞或抗原呈递细胞诱导的免疫抑制作用。

[1006] 如本文所用,免疫刺激剂可以是不直接刺激免疫系统但可使免疫细胞复极化或抑制免疫抑制的分子。替代性地,免疫刺激剂可直接刺激或激活免疫系统。

[1007] 先天免疫是指在癌症感染或发展后迅速发生的那些免疫反应。它们是在没有事先对病原体或恶性细胞致敏的情况下开始的,没有抗原特异性,并且由吞噬细胞诸如巨噬细胞、细胞毒性细胞诸如自然杀伤(NK)细胞和抗原呈递细胞诸如树突细胞(DC)直接介导,以及由这些细胞产生的细胞因子间接介导。适应性免疫或细胞免疫是指在初始感染或癌症发展后需要一段时间来发展的那些反应,并且涉及免疫细胞的教育,从而产生高度特异性、高度有效且长期存在的反应。这是由细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、辅助T淋巴细胞和产生抗体的B淋巴细胞介导的。按照这些思路,适应性免疫反应被分类为细胞反应(由CTL介导的那些)或体液反应(抗体介导的反应),其中辅助T淋巴细胞促进这两种反应。总之,快速的先天免疫反应起到控制疾病的早期传播并促进适应性免疫反应的发展的作用,而高度有效、特异性且长期存在的适应性反应用于清除疾病并预防复发。

[1008] 本发明考虑将免疫刺激剂与本文所述的任何TLR2激动剂组合用于治疗、预防或最大程度减少癌症进展。可根据本文所述的方法使用的合适的免疫刺激剂包括:

[1009] -细胞免疫疗法(细胞毒性细胞免疫疗法或过继细胞疗法);

[1010] -溶瘤病毒;

[1011] -癌症疫苗;

[1012] -T细胞接合剂;以及

[1013] -双特异性T细胞接合剂。

[1014] 合适的免疫刺激剂的具体实例包括Blincyto(博纳吐单抗(blinatumomab))、Oncotice(卡介苗[BCG][毒株Tice]疫苗)、BCG(BCG[毒株Rivm]疫苗)、ImmuCyst

(ImmuCyst)、Pacis(BCG[毒株Montréal]疫苗)、Provenge(sipuleucel-T)、DCVax-L(DCVax-L)、Oncorine(人腺病毒5型[重组体])和Imlygic(talimogene laherparepvec)。

[1015] 用于本发明方法的合适的免疫刺激剂还包括共刺激分子的激活剂或免疫检查点分子的抑制剂。因此,免疫刺激剂可以是免疫检查点抑制剂,共刺激分子激动剂或免疫激活剂。本文描述了可用于本发明的检查点抑制剂的实例。抑制分子的抑制可以通过在DNA、RNA或蛋白水平下的抑制来进行。在实施例中,抑制性核酸(例如,dsRNA、siRNA或shRNA)可用于抑制抑制性分子的表达。在其他实施例中,抑制信号的抑制剂是多肽,例如可溶性配体,或与抑制分子结合的抗体或其抗原结合片段。

[1016] 共刺激分子可以是选自OX40、CD2、CD27、CDS、ICAM-1、LFA-1、(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、SLAMF7、NKp80、CD160、B7-H3或CD83配体中的一种或多种的激动剂的以下共刺激分子中的任一种。这些共刺激分子中任一种的激动剂也被认为是免疫刺激剂。

[1017] 检查点抑制剂

[1018] “检查点抑制剂”使免疫反应的抑制性检查点途径中的蛋白失活。

[1019] 在癌症的情况下,检查点抑制剂通过阻断阻止免疫系统攻击癌细胞的蛋白来调节免疫系统。特别地,它们控制逃避检测的癌细胞和T细胞如何相互作用,使得T细胞可以识别肿瘤细胞并针对它们产生适当的免疫反应。可根据本文所述的方法使用的检查点抑制剂的非限制性实例包括靶向PD-1(程序性细胞死亡蛋白1)、CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4)和PD-L1(程序性死亡配体1)的抑制剂。技术人员应当理解,CTLA-4和PD-1在T细胞上发现,并且PD-L1在癌细胞上表达。其他非限制性实例包括PD-L2、TIM3、LAG3、CEACAM(例如CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD107)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGF-β。

[1020] 其他免疫检查点包括吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和CSF-R1。这些蛋白的抑制剂也被认为是用于本发明的免疫检查点抑制剂。

[1021] “程序性死亡-1(PD-1)”是指属于CD28家族的免疫抑制性受体。PD-1主要在体内在激活的T细胞上表达,并与两种配体PD-L1和PD-L2结合。如本文所用,术语“PD-1”包括人PD-1(hPD-1)、hPD-1的变体、同种型和物种同系物,以及具有至少一个与hPD-1共同表位的类似物。完整的hPD-1序列可以在GenBank登录号U64863下找到。

[1022] 在PD-1与程序性细胞死亡配体1(PD-L1)结合后,免疫反应被关闭以防止T细胞破坏或杀死细胞。在癌症的情况下,癌细胞可被PD-L1蛋白覆盖以将自身伪装为健康细胞,从而避免免疫反应。程序性死亡配体-1(PD-L1)是PD-1的两种细胞表面糖蛋白配体之一(另一种是PD-L2),其在与PD-1结合后下调T细胞激活和细胞因子分泌。如本文所用,术语“PD-L1”包括人PD-L1(HPD-L1)、hPD-L1的变体、同种型和物种同系物,以及具有至少一个与hPD-L1共同表位的类似物。完整的hPD-L1序列可以在GenBank登录号Q9NZQ7下找到。

[1023] 细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(CTLA-4)是指属于CD28家族的免疫抑制性受体。CTLA-4仅在体内T细胞上表达,并与两种配体CD80和CD86(也分别称为B7-1和B7-2)结合。如本文所用,术语“CTLA-4”包括人CTLA-4(hCTLA-4)、hCTLA-4的变体、同种型和物种同系物,以及具有至少一个与hCTLA-4共同表位的类似物。完整的hCTLA-4序列可以在GenBank登录号

AAB59385下找到。

[1024] 本文所述的任何检查点抑制剂可以抗体的形式施用。“抗体”(Ab)应包括但不限于特异性结合抗原并包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白免疫球蛋白或其抗原结合部分。每条H链包含重链可变区(本文缩写为VH)和重链恒定区。重链恒定区包含三个恒定结构域CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(本文缩写为VL)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个恒定结构域CL。VH和VL区可进一步细分为高变区,称为互补决定区(CDR),散布有更保守的区域,称为构架区(FR)。每个VH和VL包含三个CDR和四个FR,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FRI、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。Ab的恒定区可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,这些宿主组织或因子包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(Clq)。

[1025] 术语“抗体”包括例如单克隆Ab和多克隆Ab、嵌合Ab和人源化Ab、人或非人Ab、全合成Ab和单链Ab。非人Ab可通过重组方法人源化,以降低其在人中的免疫原性。在没有明确说明的情况下,除非上下文另有说明,否则术语“抗体”还包括任何上述免疫球蛋白的抗原结合片段或抗原结合部分,并且包括单价和二价片段或部分,以及单链Ab。

[1026] “分离的抗体”是指基本上不含具有不同抗原特异性的其他Ab的Ab(例如,特异性结合PD-1的分离的Ab基本上不含特异性结合PD-1以外的抗原的Ab)。然而,特异性结合PD-1的分离的Ab可能与其他抗原诸如来自不同物种的PD-1分子具有交叉反应性。此外,分离的Ab可基本上不含其他细胞物质和/或化学物质。术语“单克隆抗体”(mAb)是指非天然存在的具有单一分子组成的Ab分子制剂,即,其一级序列基本上相同并且对特定表位表现出单一结合特异性和亲和力的Ab分子。mAb是分离的Ab的实例。mAb可通过杂交瘤、重组体、转基因或本领域技术人员已知的其他技术产生。

[1027] “人”抗体(huMAb)是指具有可变区的Ab,其中构架区和CDR区均来源于人种系免疫球蛋白序列。此外,如果Ab含有恒定区,则恒定区也来源于人种系免疫球蛋白序列。本发明的人Ab可包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文所用,术语“人抗体”不旨在包括其中来源于另一哺乳动物物种诸如小鼠的种系的CDR序列已移植到人构架序列上的Ab。术语“人”Ab和“完全人Ab”同义使用。

[1028] “人源化抗体”是指其中非人Ab的CDR结构域之外的一些、大部分或全部氨基酸被来源于人免疫球蛋白的相应氨基酸代替的Ab。在Ab的人源化形式的一个实施例中,CDR结构域外的一些、大部分或全部氨基酸已被来自人免疫球蛋白的氨基酸代替,而一个或多个CDR区内的一些、大部分或全部氨基酸未改变。氨基酸的少量添加、缺失、插入、取代或修饰是允许的,只要它们不消除Ab结合特定抗原的能力。“人源化”Ab保留了与原始Ab相似的抗原特异性。

[1029] “嵌合抗体”是指其中可变区来源于一个物种而恒定区来源于另一个物种的Ab,诸如其中可变区来源于小鼠Ab而恒定区来源于人Ab的Ab。

[1030] “抗抗原”Ab是指特异性结合抗原的Ab。例如,抗PD-1Ab特异性结合PD-1,并且抗CTLA-4Ab特异性结合CTLA-4。

[1031] Ab的“抗原结合部分”(也称为“抗原结合片段”)是指保留特异性结合由整个Ab结

合的抗原的能力的Ab的一个或多个片段。

[1032] 免疫检查点和靶向那些检查点的抗体抑制剂的实例包括抗CTLA-4(例如,伊匹单抗、曲美木单抗(Tremelimumab)、KAHR-102)、抗TIM3(例如,F38-2E2、ENUM005)、抗LAG3(例如,BMS-986016、IMP701、IMP321、C9B7W)、抗KIR(例如,利瑞鲁单抗(Lirilumab)、IPH2101、IPH4102)、抗PD-1(例如,纳武利尤单抗(Nivolumab)、匹地利珠单抗(Pidilizumab)、帕博利珠单抗(Pembrolizumab)、BMS-936559、阿替利珠单抗(atezolizumab)、兰布罗利珠单抗(Lambrolizumab)、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042)、抗PD-L1(例如,KY-1003(EP20120194977)、MCLA-145、阿替利珠单抗、BMS-936559、MEDI-4736、MSB0010718C、AUR-012、STI-A1010、PCT/US2001/020964、MPDL3280A、AMP-224、达非洛利单抗聚乙二醇(CDP-7657)、MEDI-4920)、抗CD73(例如,AR-42(OSU-HDAC42、HDAC-42、AR42、AR 42、OSU-HDAC 42、OSU-HDAC-42、NSC D736012、HDAC-42、HDAC42、HDAC42、NSCD736012、NSC-D736012)、MEDI-9447)、抗B7-H3(例如,MGA271、DS-5573a、8H9)、抗CD47(例如,CC-90002、TTI-621、VLST-007)、抗BTLA、抗VISTA、抗A2aR、抗B7-1、抗B7-H4、抗CD52(诸如阿仑单抗(alemtuzumab))、抗IL-10、抗IL-35、抗TGF-β(诸如夫苏木单(Fresolumimab))、抗CSF1R(例如,FPA008)、抗NKG2A(例如,莫那利珠单抗(monalizumab))、抗MICA(例如,IPH43)和抗CD39。

[1033] 抗PD-1抗体和抗PD-L1抗体

[1034] 可根据本发明使用的合适的PD-1抑制剂的实例包括Keytruda(帕博利珠单抗)、Opdivo(纳武利尤单抗)、AGEN 2034、BGB-A317、BI-754091、CBT-501(杰诺单抗(genolimzumab))、MEDI0680、MGA012、PDR001、PF-06801591、REGN2810(SAR439684)和TSR-042或在美国专利号8,008,449中披露的那些。其他抗PD-1mAb已描述于例如美国专利号6,808,710,7,488,802、8,168,757和8,354,509和PCT公布号WO 2012/145493中。

[1035] 纳武利尤单抗(也称为“Opdivo®”;以前称为5C4、BMS-936558、MDX-1106或ONO4538)是一种完全人IgG4(S228P)PD-1免疫检查点抑制剂Ab,其选择性地阻止与PD-1配体(PD-L1和PD-L2)的相互作用,从而阻断抗肿瘤T细胞功能的下调(美国专利号8,008,449)。

[1036] 帕博利珠单抗(也称为“Keytruda®”、兰布罗利珠单抗和MK-3475)是一种针对人细胞表面受体PD-1(程序性死亡-1或程序性细胞死亡-1)的人源化单克隆IgG4抗体。帕博利珠单抗描述于例如美国专利号8,354,509和8,900,587中。帕博利珠单抗已被FDA批准用于治疗复发性或难治性黑色素瘤。

[1037] 其他合适的PD-1抑制剂包括Libtayo(西米普利单抗(cemiplimab))、Blincyto(博纳吐单抗)、多塔利单抗(Dostarlimab)、斯巴达珠单抗(Spartalizumab)、西利单抗(Cetrelimab)、匹地利珠单抗和BI-754091。

[1038] 适用于所披露的方法或组合物的抗PD-1Ab是以高特异性和亲和力结合PD-1、阻断PD-L1和/或PD-L2的结合并抑制PD-1信号传导途径的免疫抑制作用的Ab。在本文所披露的任何组合物或方法中,抗PD-1抗体包括与PD-1受体结合的抗原结合部分或片段,并在抑制配体结合和上调免疫系统方面表现出与完整Ab相似的功能特性。

[1039] 在某些实施例中,在这些方法中使用的抗PD-1抗体可以用另一种PD-1或抗PD-L1

拮抗剂代替。例如,由于抗PD-L1抗体阻止PD-1与PD-L1之间的相互作用,从而发挥与PD-1的信号传导途径相似的作用,因此抗PD-L1抗体可代替抗PD-1抗体在本文所披露的方法中的用途。在任何实施例中,合适的PD-L1抑制剂包括Imfinzi(度伐利尤单抗(durvalumab)或MEDI4736)、Tecentriq(阿替利珠单抗或MPDL3280A)、Bavencio(阿维鲁单抗(avelumab);MSB0010718C)、MS-936559(12A4或MDX-1105)和CX-072。

[1040] 抗CTLA-4抗体

[1041] 本发明的抗CTLA-4抗体与人CTLA-4结合,从而破坏CTLA-4与人B7受体的相互作用。应当理解,由于CTLA-4与B7的相互作用转导了导致携带CTLA-4受体的T细胞失活的信号,因此相互作用的破坏有效地诱导、增强或延长此类T细胞的激活,从而诱导、增强或延长免疫反应。

[1042] 可根据本发明使用的合适的CTLA-4抑制剂包括Yervoy(伊匹单抗)、曲美木单抗和AGEN 1884或美国专利号6,984,720和7,605,238中披露的那些。伊匹单抗是一种完全人IgG1单克隆Ab,其阻断CTLA-4与其B7配体的结合,从而刺激T细胞激活。曲美木单抗是一种人IgG2单克隆抗CTLA-4抗体。另一种是Blincyto(博纳吐单抗),它是一种双特异性CD19导向的CD3 T-细胞接合剂。

[1043] 施用和剂量

[1044] 在本发明的一个实施例中,向受试者施用治疗有效量的TLR2激动剂和检查点抑制剂。

[1045] 施用是指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统(包括本文所述的那些)中的任一种向受试者物理引入包含治疗剂的组合物。药物组合物可由如本文所述的本发明化合物配制用于任何合适的施用途径。通常,除了治疗剂(例如TLR2激动剂和/或免疫刺激剂)之外,药物组合物还包含药学上可接受的赋形剂、载剂和/或稀释剂。包含在药物组合物中的合适的组分的实例描述于Martindale-The Extra Pharmacopoeia[马丁代尔大药典](伦敦英国医药出版社(Pharmaceutical Press,London)1993)和Martin(编辑),Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿氏药物科学]中。

[1046] 用于实施所定义的方法的合适的施用途径包括口服、静脉内、肌内、局部、皮下、腹膜内、脊柱或其他肠胃外施用途径,例如通过注射或输注。如本文所用,短语"肠胃外施用"是指除了肠内和局部施用之外的施用模式,通常通过注射,并且包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注,以及体内电穿孔。施用也可以例如进行一次、进行多次和/或在一个或多个延长的时间段内进行。

[1047] 本文所述的任何组合物可以被配制用于施用于呼吸道,换言之,经由呼吸途径。在考虑向全部或部分呼吸道施用的情况下,技术人员应当理解这包括鼻内或经由吸入施用,特别是用于向肺施用。如本文所述的组合物可以被配制用于鼻内施用,包括干粉、喷雾剂、薄雾剂或气雾剂。

[1048] 适于例如作为喷鼻剂或作为滴鼻剂而施用的制剂(其中载剂是液体)包括活性成分的水性或油性溶液。替代性地,组合物可以是干粉并且可仅施用于如本文所定义的呼吸道。

[1049] 对适当载剂的选择取决于预期的特定施用类型。对于经由呼吸道(例如鼻粘膜表

面)施用,可将化合物配制成缓冲或非缓冲的溶液(例如水或等渗盐水),或以悬浮液形式,以滴剂或喷雾剂形式鼻内施用。优选地,此类溶液或悬浮液相对于鼻分泌物是等渗的并且具有大约相同的pH,例如约pH 4.0至约pH 7.4或pH 6.0至pH 7.0。缓冲液应当是生理上相容的,并且包括例如磷酸盐缓冲液。例如,代表性的鼻减充血剂被描述为缓冲至约6.2的pH(Remington's,Id.第1445页)。当然,普通技术人员可以容易地确定用于鼻和/或呼吸道施用的无害水性载剂的合适的盐水含量和pH。

[1050] 还可以包含其他成分,诸如本领域已知的防腐剂、着色剂、润滑或粘性矿物油或植物油、香料、天然或合成植物提取物诸如芳香油,以及湿润剂和粘度增强剂例如甘油,以便为制剂提供额外的粘度、保湿性和宜人的质地及气味。对于根据本发明的溶液或悬浮液的经鼻施用,本领域中可使用各种装置来产生滴剂、液滴和喷雾。例如,本文所述的TLR2激动剂和/或免疫刺激剂或组合物可通过简单的滴管(或移液管)施用到鼻通道中,该滴管包括玻璃、塑料或金属分配管,内容物通过由附接到一端的手动驱动的泵(例如柔性橡胶球)提供的空气压力从该玻璃、塑料或金属分配管中逐滴排出。

[1051] 眼睛的泪液分泌物从眼眶排出到鼻道中,因此,如果需要,合适的药学上可接受的眼用溶液可容易地由普通技术人员作为用于递送本文所述的化合物或组合物的载剂来提供,并且可以滴眼剂的形式施用到眼眶以提供眼部和鼻内施用。

[1052] 在一个实施例中,制备了包括含有用于以滴剂或喷雾形式递送的溶液或悬浮液的滴管或喷雾装置的预先测量的单位剂量分配器,其含有一个或多个剂量的待施用的药物。本发明还包括一种含有一个或多个单位脱水剂量的化合物以及任何所需的盐和/或缓冲剂、防腐剂、着色剂等的药盒,通过添加适量的水即可而制备成溶液或悬浮液。水可以是无菌的或非无菌的,但是通常优选无菌水。

[1053] 短语“治疗有效量”或“有效量”通常是指本发明的TLR2激动剂和/或检查点抑制剂、其药学上可接受的盐、多晶型物或前药的起到以下作用的量:(i)治疗特定疾病、病症或障碍,(ii)减轻、改善或消除特定疾病、病症或障碍的一种或多种症状,或(iii)延迟本文所述的特定疾病、病症或障碍的一种或多种症状的发作。有时会出现不期望的效果(例如副作用)以及所需的治疗效果;因此,执业医生在确定什么是适当的“有效量”时,将对潜在益处与潜在风险进行平衡。

[1054] 例如,对于治疗肿瘤,相对于未经治疗的受试者,治疗有效量的本文所述的化合物或组合物可将肿瘤生长抑制至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、或至少约90%或更多。替代性地,本文所述的治疗可引起肿瘤块完全消退。在本发明的其他实施例中,可以观察到肿瘤消退并持续至少约10天、至少约20天、至少约30天、至少约40天、至少约50天或至少约60天、至少约70天、至少约80天、至少约90天、至少约100天或更长的时间。

[1055] 药物的治疗有效量还可以包括“预防性”或“预防有效量”,其是向处于发展癌症风险的受试者(例如患有癌前病症的受试者)或遭受癌症复发的受试者施用的TLR2激动剂和/或检查点抑制剂的抑制癌症发展或复发的任何量。在某些实施例中,预防有效量完全预防癌症的发展或复发。“抑制”或“预防”癌症的发展或复发是指降低癌症发展或复发的可能性,或完全预防癌症的发展或复发。

[1056] 所需的治疗有效量的确切量将因受试者而异,具体取决于受试者的物种、年龄和

一般状况、施用方式等。因此，可能无法指定准确的治疗有效量。然而，本领域普通技术人员使用常规实验即可确定任何个体情况下的适当治疗有效量。在一个方面，向受试者施用的剂量是作为以下中的任一种的结果而减少与癌症相关的症状的任何治疗有效量：癌细胞数量减少；肿瘤大小减小；抑制(即，在一定程度上减慢并优选地停止)癌细胞浸润到周围器官中；抑制(即，在一定程度上减慢并优选地停止)肿瘤转移；在一定程度上抑制肿瘤生长；或在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。附加地或替代性地，治疗有效量可使得受试者的存活率增加。

[1057] 在一些实施例中，对于人受试者的TLR2激动剂的治疗有效量在约250nmol/kg体重/剂至0.005nmol/kg体重/剂的范围内。优选地，该范围为约250nmol/kg体重/剂至0.05nmol/kg体重/剂。在一些实施例中，体重/剂范围为约250nmol/kg至0.1nmol/kg、约50nmol/kg至0.1nmol/kg、约5nmol/kg至0.1nmol/kg、约2.5nmol/kg至0.25nmol/kg、或约0.5nmol/kg至0.1nmol/kg体重/剂。在一些实施例中，该量为或约为250nmol、50nmol、5nmol、2.5nmol、0.5nmol、0.25nmol、0.1nmol或0.05nmol/kg体重/剂的化合物。对剂量方案进行调整以适应紧急情况，并且可以调整以得到最佳治疗剂量。

[1058] 典型地，将治疗有效剂量配制成含有至少约0.1％直至约50％或更高的浓度(按重量计)，以及其中范围的所有组合和子组合。组合物可以被配制成含有一种或多种化合物或其药学上可接受的盐、多晶型物或前药，其浓度为从约0.1％至小于约50％(例如约49％、48％、47％、46％、45％、44％、43％、42％、41％或40％)，包括从大于约0.1％(例如，约0.2％、0.3％、0.4％或0.5％)至小于约40％(例如，约39％、38％、37％、36％、35％、34％、33％、32％、31％或30％)的浓度。示例性组合物可以包含从约0.5％至小于约30％(例如，约29％、28％、27％、26％、25％、25％、24％、23％、22％、21％或20％)，包括从大于约0.5％(例如，约0.6％、0.7％、0.8％、0.9％或1％)至小于约20％(例如，约19％、18％、17％、16％、15％、14％、13％、12％、11％或10％)的浓度。组合物可以包含大于约1％(例如，约2％)至小于约10％(例如约9％或8％)，包括大于约2％(例如，约3％或4％)至小于约8％(例如，约7％或6％)的浓度。活性剂可以例如以约5％的浓度存在。在所有情况下，可以调整量以补偿实际递送至经处理的细胞或组织的活性成分的量的差异。

[1059] 对于包括PD-1、PD-L1或CTLA-4抑制剂的检查点抑制剂的施用，剂量可以在约0.01mg/kg至约20mg/kg、约0.1mg/kg至约10mg/kg、约0.1mg/kg至约5mg/kg、约1mg/kg至约5mg/kg、约2mg/kg至约5mg/g、约7.5mg/kg至约12.5mg/kg、或约0.1mg/kg至约30mg/kg受试者体重的范围内。例如，剂量可以是约0.1mg/kg、约0.3mg/kg、约1mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg、约5mg/kg或约10mg/kg体重、或约0.3mg/kg、约1mg/kg、约2mg/kg、约3mg/kg或约5mg/kg体重。给药方案通常被设计为基于Ab的典型药代动力学性质实现导致持续受体占用(RO)的暴露。示例性治疗方案需要约每周一次、约每2周一次、约每3周一次、约每4周一次、约每月一次、约每3-6个月一次或更长的施用。在某些实施例中，约每2周一次向受试者施用检查点抑制剂。在其他实施例中，约每3周施用一次Ab。剂量和时间安排可以在治疗过程中改变。例如，抗PD-1疗法的给药方案可包括按以下频率施用Ab：(i)在约6周的周期中约每2周一次；(ii)约每4周一次，持续约六个剂量，然后约每三个月一次；(iii)约每3周一次；(iv)约3mg/kg至约10mg/kg进行一次，然后约1mg/kg每约2-3周一次。考虑到IgG4 Ab通常具有2-3周的半衰期，本发明的抗PD-1Ab的给药方案包括经由静脉内施用约0.3mg/kg-1约0mg/kg体重、

1mg/kg-5mg/kg体重或约1mg/kg-约3mg/kg体重，其中在至多约6周或约12周的周期中每约14-21天给予Ab，直到完全反应或确认进行性疾病。

[1060] 在一些实施例中，本文所披露的检查点抑制剂和/或TLR2激动剂治疗持续至少约1个月、至少约2个月、至少约3个月、至少约4个月、至少约5个月、至少约6个月、至少约7个月、至少约8个月、至少约9个月、至少约10个月、至少约11个月、至少约1年、至少约18个月、至少约24个月、至少约3年、至少约5年、或至少约10年。

[1061] 应当理解，针对任何具体患者的特定剂量水平将取决于多种因素，包括所用的特定化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、施用途径、排泄率、药物组合(即用于治疗患者的其他药物)以及正被治疗的具体障碍的严重性。

[1062] 术语“治疗”受试者包括向受试者应用或施用本发明化合物，目的是延迟、减缓、稳定、治愈、愈合、减轻、缓解、改变、纠正、减少恶化、减轻、改善或影响疾病或病症、疾病或病症的症状、或者疾病或病症的风险(或易感性)。术语“治疗”是指成功治疗或改善损伤、病变或病症的任何迹象，包括任何客观或主观参数，诸如消除；缓解；减缓加剧的速度；减轻疾病的严重性；稳定、减轻症状或使受试者更能忍受损伤、病变或病症；减慢退化或衰退的速度；使退化终点不那么令人虚弱；或改善受试者的身体或心理健康。

[1063] 如本文所用，最大程度减少或预防癌症的进展是指治疗受试者以预防或延迟肿瘤的复发或转移，或预防现有肿瘤的生长。最大程度减少或预防癌症的进展包括在癌症治疗后预防或延缓癌症的复发，或预防现有肿瘤的生长。正在被预防的复发包括例如在手术切除后在肿瘤床中的复发。替代性地，复发包括在身体的另一部分中的癌症的转移。本文所用的术语“预防复发(preventing recurrence)”和“预防再发(preventing relapse)”是可互换的。

[1064] 本发明还包括在个体中预防癌症的发展的方法。例如，需要预防癌症的个体可能被认为有患癌症的风险、但尚未具有可检测的癌症。有癌症发展风险的个体可以是具有癌症家族史的个体、和/或基因测试或其他测试表明有癌症发展的高风险或高可能性的个体。个体可能具有癌症干细胞，但尚未发现具有任何可检测的肿瘤。应当理解的是，预防癌症的发展的方法包括在受试者中延迟癌症的发作的方法。

[1065] 术语“受试者”和“患者”应理解为是可互换的。虽然本发明可用于人类中，但是本发明对于治疗性兽用目的也是有用的。本发明可用于家畜或农场动物，诸如牛、羊、马和家禽；宠物，诸如猫和狗；以及动物园的动物。

[1066] 癌症

[1067] 术语“癌症”应理解为包括良性、癌前、肿瘤前或非转移性肿瘤或转移性肿瘤。

[1068] 在一些实施例中，待治疗的癌症类型包括具有良性、癌前、肿瘤前或非转移性肿瘤的那些。良性肿瘤应理解为不是恶性肿瘤并且不会侵入附近的组织或扩散到身体的其他部分。类似地，非转移性癌症应理解为不会侵入附近的组织或扩散到身体的其他部位。“癌前”或“肿瘤前”通常是指通常先于或发展成癌症的病症或生长。“癌前”生长可具有以异常细胞周期调节、增殖或分化为特征的细胞，这可通过细胞周期标志物来确定。

[1069] 在一个实施例中，癌症是继发性癌症或转移瘤。继发性癌症可位于任何器官或组织中，特别是那些具有相对较高血液动力学压力的器官或组织，诸如肺、肝、肾、胰腺、肠和脑。继发性癌症可在腹水和/或淋巴结中检测到。

[1070] 肿瘤前、肿瘤性和转移性癌症是可应用本发明方法的具体实例。广泛的实例包括乳腺肿瘤、结肠直肠肿瘤、腺癌、间皮瘤、膀胱肿瘤、前列腺肿瘤、生殖细胞肿瘤、肝细胞瘤/胆管细胞癌、神经内分泌肿瘤、垂体肿瘤、小圆细胞肿瘤、鳞状细胞癌、黑色素瘤、非典型纤维黄色瘤、精原细胞瘤、非精原细胞瘤、间质莱迪希细胞瘤、塞尔托立细胞瘤(Sertoli cell tumor)、皮肤肿瘤、肾肿瘤、睾丸肿瘤、脑肿瘤、卵巢肿瘤、胃肿瘤、口腔肿瘤、膀胱肿瘤、骨肿瘤、宫颈肿瘤、食管肿瘤、喉肿瘤、肝肿瘤、肺肿瘤、阴道肿瘤和威尔姆氏肿瘤。

[1071] 具体癌症的实例包括但不限于腺癌、腺瘤、纤维腺瘤、腺淋巴瘤、腺瘤、AIDS相关癌症、听神经瘤、急性淋巴细胞性白血病、急性骨髓性白血病、囊性腺样癌、肾上腺皮质癌、特发性髓样化生、秃头症、肺泡软组织肉瘤、成釉质细胞瘤、血管角质瘤、嗜酸细胞增多性血管淋巴样增生、血管瘤硬化、血管瘤、胺前体摄取脱羧细胞瘤、肛门癌、血管肉瘤、再生障碍性贫血、星形细胞瘤、共济失调-毛细血管扩张、基底细胞癌(皮肤)、膀胱癌、骨癌、肠癌、脑干神经胶质瘤、脑和CNS肿瘤、乳腺癌、鳃原瘤、CNS肿瘤、类癌、宫颈癌、儿童脑肿瘤、儿童癌症、儿童白血病、儿童软组织肉瘤、软骨肉瘤、绒毛膜癌、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓性白血病、结肠直肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、癌(例如Walker癌、基底细胞癌、鳞状基底细胞癌、布-皮二氏瘤(Brown-Pearce)、导管癌、埃利希(Ehrlich)肿瘤、克雷布斯2癌(Krebs 2)、梅克尔(Merkel)细胞癌、粘液癌、非小细胞肺癌、燕麦细胞癌、乳头状癌、硬癌、细支气管癌、支气管癌、鳞状细胞癌和移行细胞癌)、癌肉瘤、宫颈非典型增生、叶状囊肉瘤、牙骨质瘤、脊索瘤、迷芽瘤、软骨肉瘤、成软骨细胞瘤、颅咽管瘤、胆管瘤、胆脂瘤、圆柱瘤、囊腺癌、囊腺瘤、隆突性皮肤纤维肉瘤、促纤维增生小细胞叶瘤、导管癌、无性细胞瘤、内分泌癌、子宫内膜癌、室管膜瘤、食道癌、尤因氏肉瘤、肝外胆管癌、眼癌、黑色素瘤、视网膜母细胞瘤、输卵管癌、范科尼贫血、纤维瘤、纤维肉瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠癌、胃肠类癌、泌尿生殖系统癌、生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞疾病、神经胶质瘤、妇科癌症、巨细胞肿瘤、神经节瘤、神经胶质瘤、血管瘤、粒膜细胞瘤、两性胚细胞瘤、血液学恶性肿瘤、毛细胞白血病、头颈癌、肝细胞癌、遗传性乳腺癌、组织细胞增多症、霍奇金病、人乳头瘤病毒、葡萄胎、高钙血症、下咽癌、错构瘤、血管内皮瘤、血管瘤、血管外皮细胞瘤、血管肉瘤、血管肉瘤、组织细胞疾病、恶性组织细胞增多症、组织细胞瘤、肝细胞瘤、汗腺瘤、软骨肉瘤、免疫增殖性小细胞瘤、opoma、眼内黑色素瘤、胰岛细胞癌、卡波西肉瘤、肾癌、朗格汉氏细胞组织细胞增多病、喉癌、平滑肌肉瘤、白血病、李弗劳明综合征、唇癌、脂肪肉瘤、肝癌、肺癌、淋巴水肿、淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、平滑肌肉瘤、白血病(例如B细胞、混合细胞、裸细胞、T细胞、慢性T细胞、HTLV-II相关、淋巴管肉瘤、急性淋巴细胞、慢性淋巴细胞、肥大细胞和骨髓细胞)、白血病性肉瘤、莱迪希细胞瘤、脂肪肉瘤、平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、淋巴管瘤、淋巴管细胞瘤、淋巴管瘤、淋巴管肌瘤、淋巴管肉瘤、男性乳腺癌、肾恶性横纹肌瘤、髓母细胞瘤、黑色素瘤、默克尔细胞癌、间皮瘤、转移性癌、口腔癌、多发性内分泌肿瘤、蕈样肉芽肿、骨髓增生异常综合征、骨髓瘤、骨髓增生性疾病、恶性类癌综合征、类癌心脏病、髓母细胞瘤、脑膜瘤、黑色素瘤、间充质瘤、中肾瘤、间皮瘤、成肌细胞瘤、肌瘤、肌肉瘤、粘液瘤、粘液肉瘤、鼻癌、鼻咽癌、肾母细胞瘤、神经母细胞瘤、神经纤维瘤病、奈梅亨断裂综合征、非黑色素瘤皮肤癌、非小细胞肺癌(nsclc)、神经鞘瘤、神经母细胞瘤、神经上皮瘤、神经纤维瘤病、神经纤维瘤、神经瘤、肿瘤(例如骨、乳腺、消化系统、结肠直肠、肝)、眼癌、食道癌、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤、造口术卵巢癌、胰腺癌、鼻旁癌、甲状旁腺癌、腮腺癌、阴茎癌、外周神经外胚层肿瘤、垂体癌、真性红

细胞增多症、前列腺癌、骨瘤、骨肉瘤、卵巢癌、乳头状瘤、副神经节瘤、副神经节瘤非嗜铬细胞瘤、松果体瘤、浆细胞瘤、原癌基因、罕见癌及相关疾病、肾细胞癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、罗斯蒙德-汤姆森综合征、网状内皮增生症、横纹肌瘤、唾液腺癌、肉瘤、神经鞘瘤、塞扎莱综合征、皮肤癌、小细胞肺癌(sclc)、小肠癌、软组织肉瘤、脊髓肿瘤、鳞状细胞癌(皮肤)、胃癌、滑膜肉瘤、肉瘤(例如尤文氏实验肉瘤、卡波氏肉瘤和肥大细胞肉瘤)、塞尔托立细胞瘤、滑膜瘤、睾丸癌、胸腺癌、甲状腺癌、移行细胞癌(膀胱)、移行细胞癌(肾-盆腔-/-输尿管)、滋养层细胞癌、畸胎瘤、卵泡膜细胞瘤、胸腺瘤、滋养层细胞瘤、尿道癌、泌尿系统癌、尿溶蛋白(uroplakin)、子宫肉瘤、子宫癌、阴道癌、外阴癌、华氏巨球蛋白血症和维尔姆斯瘤。

[1072] 癌症进展的存在、改善、治疗或最大程度减少可通过如本文所述或本领域已知的任何临床或生物化学相关方法来确定。对治疗的积极反应或癌症进展的最大程度减少可通过本领域已知的任何方法来确定,并且可以包括确定:

[1073] -癌细胞数量减少;

[1074] -肿瘤大小减小;

[1075] -抑制(即,在一定程度上减慢并优选地停止)癌细胞浸润到周围器官中;

[1076] -抑制(即,在一定程度上减慢并优选地停止)肿瘤转移;

[1077] -切除原发性肿瘤后降低或完全预防肿瘤转移;

[1078] -在一定程度上抑制肿瘤生长;

[1079] -在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状;和/或

[1080] -受试者存活率增加。

[1081] 以上任一项的确定可被认为是对本文所述的TLR激动剂和/或检查点抑制剂的积极反应。

[1082] 相比之下,癌症对包括本文所述的任何TLR激动剂和/或检查点抑制剂的治疗的负面反应或缺乏反应可通过本领域已知的任何方法来确定,并且可以包括确定:

[1083] -癌细胞数量没有变化或增加;

[1084] -肿瘤大小没有变化或增加;

[1085] -癌细胞浸润到周围器官中没有变化、持续或增加;

[1086] -肿瘤转移没有变化、持续或增加;

[1087] -尽管切除原发性肿瘤,但肿瘤转移没有变化或增加;

[1088] -肿瘤生长没有变化或增加;

[1089] -与癌症相关的一种或多种症状没有变化或增加;和/或

[1090] -受试者存活率没有变化或降低。

[1091] 在本发明的一个实施例中,受试者可能先前已经接受过治疗。在一个实施例中,先前的治疗是检查点抑制剂,其可以是PD-1、PD-L1或CTLA-4的抑制剂的形式。在一个优选的实施例中,检查点抑制剂是抗体的形式。

[1092] 已经接受过癌症治疗的受试者可能部分或完全缓解。换句话说,如上所述,已经接受过癌症治疗的受试者可以在肿瘤生长的可测量参数上减少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多,这可以在体格检查、放射学研究中发现或通过来自血液或尿液检查的生物标志物水平发现。替代性地,在受试者完全缓解的情况下,所有可检测的疾病

表现完全消失，使得该受试者不具有任何可检测的癌症体征。受试者可能具有基本上不可检测的癌症体征。“基本上不可检测的”癌症通常是指如下情况：治疗已经耗尽癌症的大小、体积或其他物理量度，使得作为治疗的结果，使用相关标准检测技术(例如体内成像)不能明显地检测到癌症。

[1093] 用TLR2激动剂和/或检查点抑制剂治疗的目的或结果可以是减少癌细胞的数量；减小原发性肿瘤大小；抑制(即，在一定程度上减慢并优选地停止)癌细胞浸润到周围器官中；抑制(即，在一定程度上减慢并优选地停止)肿瘤转移；在一定程度上抑制肿瘤生长；和/或在一定程度上缓解与障碍相关的一种或多种症状。治疗的功效可以通过评估存活持续时间、疾病进展时间、响应率(RR)、响应持续时间、和/或生活质量来测量。

[1094] 在一个实施例中，该方法对于延迟癌症进展特别有用。在一个实施例中，该方法对于延长受试者的存活(包括总体存活以及无进展存活)特别有用。应当理解，总存活是从癌症诊断或开始治疗之日起，即被诊断患有癌症的患者存活的时间长度。应当理解，无进展存活是在癌症治疗期间和之后患者患有该疾病但没有恶化的时间长度。

[1095] 存活分析可以使用本领域众所周知的技术(包括卡普兰-迈耶方法)进行。卡普兰-迈耶方法根据生存期数据估计生存函数。在医学研究中，它可用于测量治疗后一定时间内存活的患者比例。卡普兰-迈耶法的生存函数图是一系列递减的水平步长，在样本量足够大的情况下，该步长接近该群体的真实生存函数。连续的不同采样观测值(“喀哒声(click)”)之间的生存函数值假定为恒定。

[1096] 卡普兰-迈耶曲线的一个重要优点是该方法可以考虑“删失”的数据—在观察到最终结果之前的样本损失(例如，如果患者退出研究)。在该图上，小的竖直刻度标记指示损失，在此处患者数据已删失。当没有发生截断或删失时，卡普兰-迈耶曲线等价于经验分布。

[1097] 在一个实施例中，该方法对于提供对治疗的完全响应特别有用，由此响应于治疗，所有癌症体征都消失了。这并不总是意味着癌症已经治愈。在一个实施例中，该方法对于提供对治疗的部分响应特别有用，由此响应于治疗，一个或多个肿瘤或病变的大小或体内癌症的程度已经减小。

[1098] 药盒

[1099] 在另一个实施例中，提供了一种药盒或制品，该药盒或制品包含如本文所述的TLR2激动剂和/或检查点抑制剂、如上所述的药学上可接受的盐、稀释剂或赋形剂和/或药物组合物。此外，该药盒可包含用于如本文所述的本发明的任何方法或用途的说明。

[1100] 在其他实施例中，提供了一种用于上述治疗和/或预防应用的药盒，该药盒包含：

[1101] -容纳如本文所述的TLR2激动剂和/或检查点抑制剂形式的治疗组合物、或药学上可接受的盐、稀释剂或赋形剂或药物组合物的容器；

[1102] -带有使用说明的标签或包装说明书。

[1103] 在某些实施例中，药盒可含有用于治疗癌症的一种或多种其他活性要素或成分。

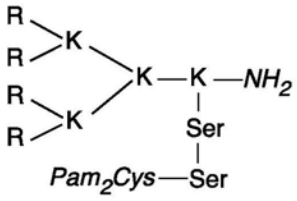
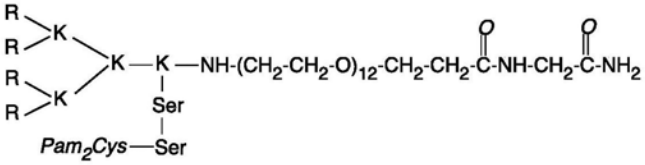
[1104] 药盒或“制品”可包含容器和在该容器上或与该容器相关的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、泡罩包装等。这些容器可由多种材料诸如玻璃或塑料形成。容器容纳有效治疗病症的治疗组合物，并且可具有无菌进入孔(例如，容器可以是静脉内溶液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。标签或包装说明书指示治疗组合物用于治疗所选的病症。在一个实施例中，标签或包装说明书包括使用说明，并且指示治

疗或预防组合物可用于治疗本文所述的癌症。

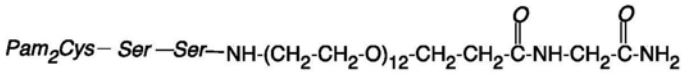
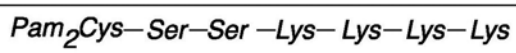
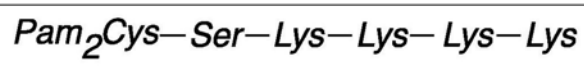
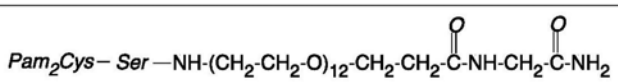
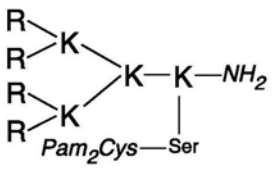
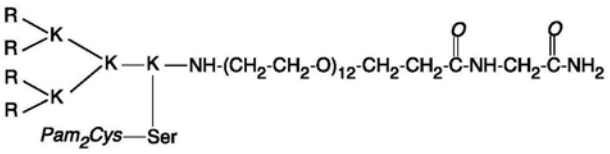
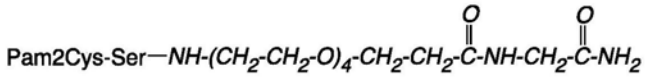
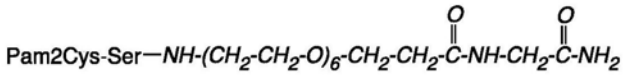
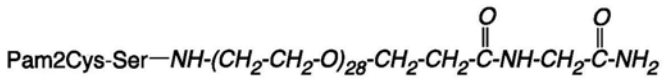
[1105] 药盒可包含(a)治疗或预防组合物;以及(b)第二容器,其中含有第二活性要素或成分。本发明该实施例中的药盒可进一步包含包装说明书,该包装说明书指示组合物和其他活性要素可用于治疗癌症或预防本文所述的癌症的进展。

[1106] 如本文所用,以下化合物描述于下表中,具体结构示出于本文别处并涵盖在本发明的任何方法或用途中。

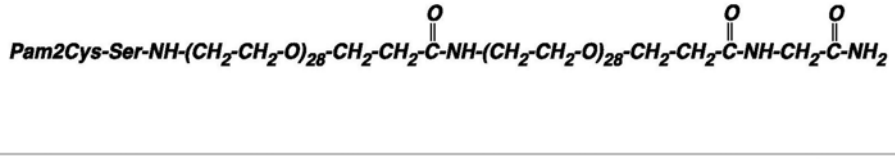
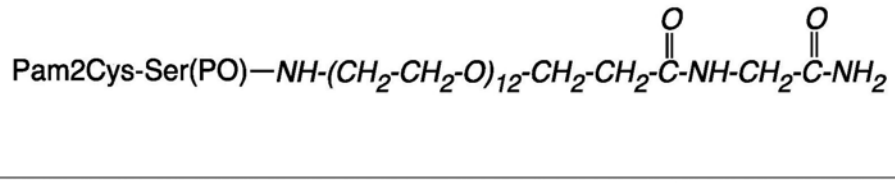
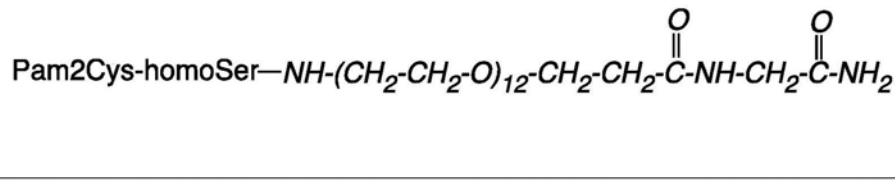
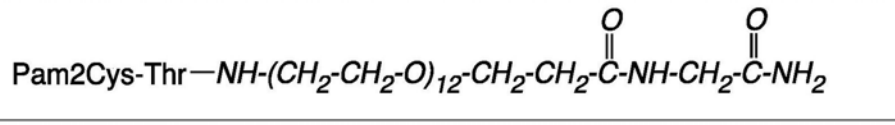
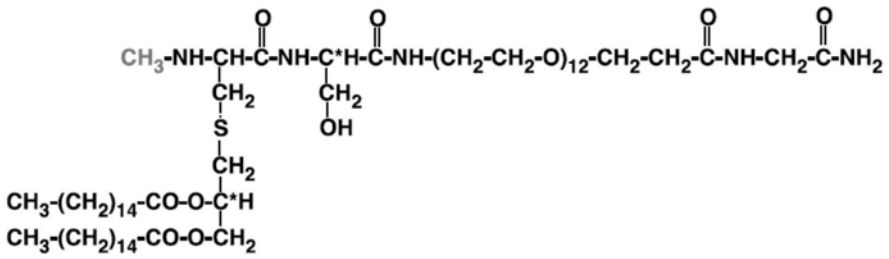
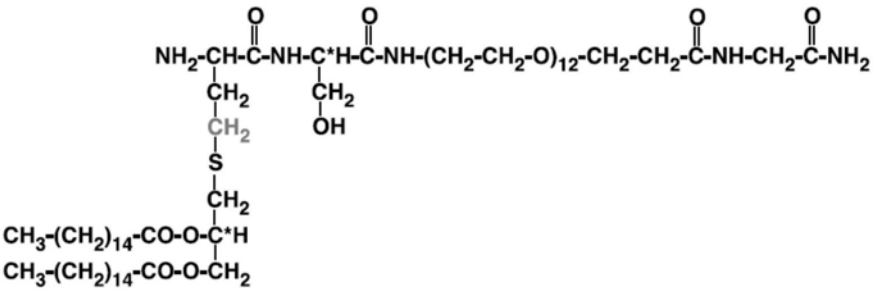
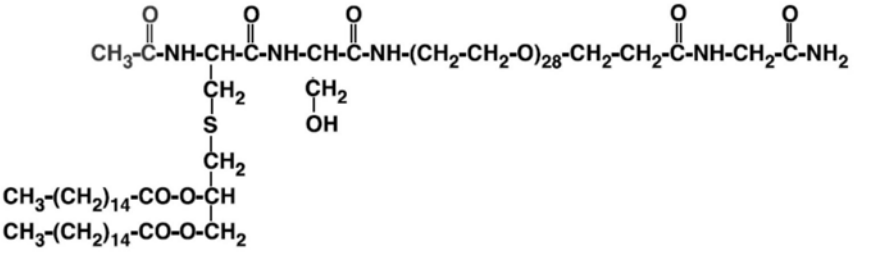
[1107]

化合物结构	化合物名称
	001
	002

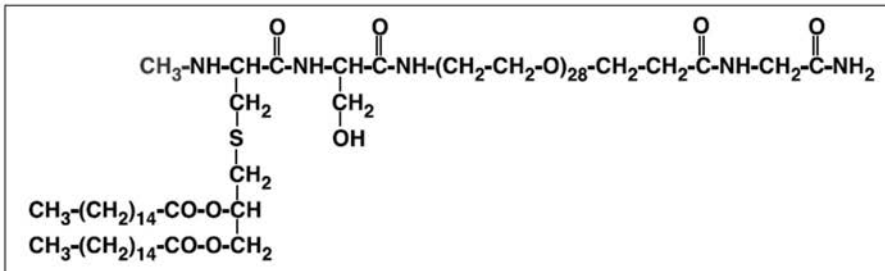
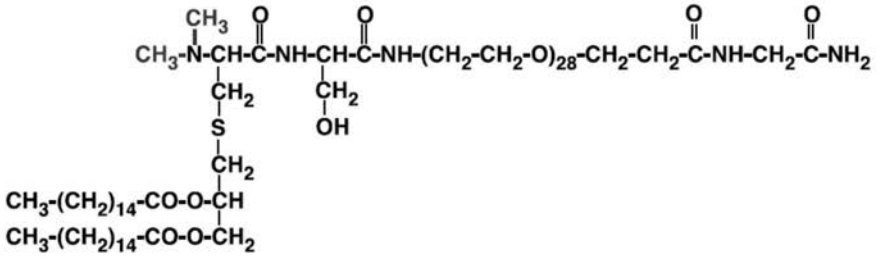
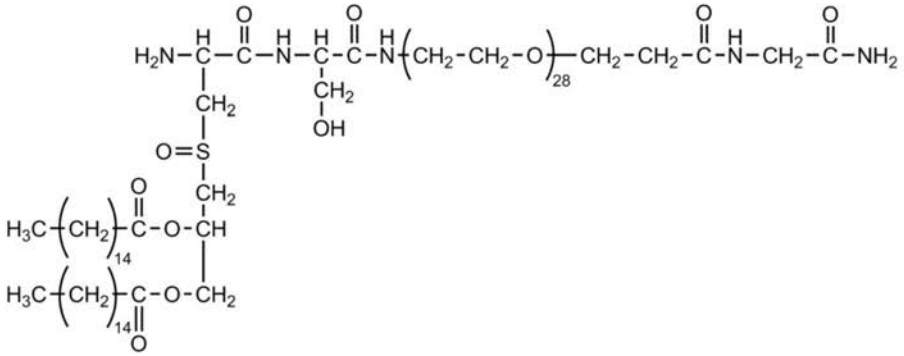
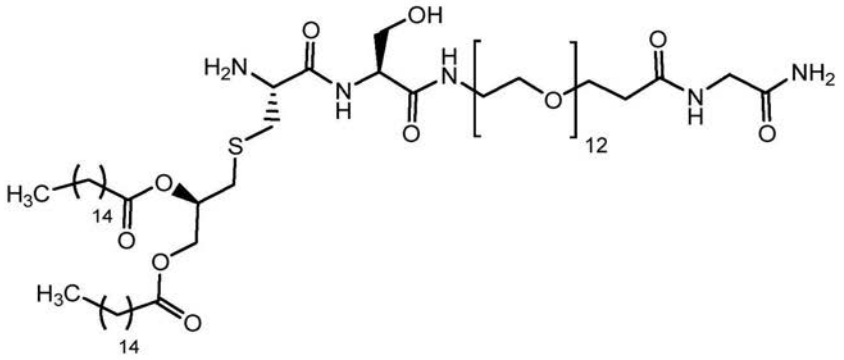
[1108]

	003
	004
	005
	A101/化合物 1
	007
	008
	009
	010
	A105

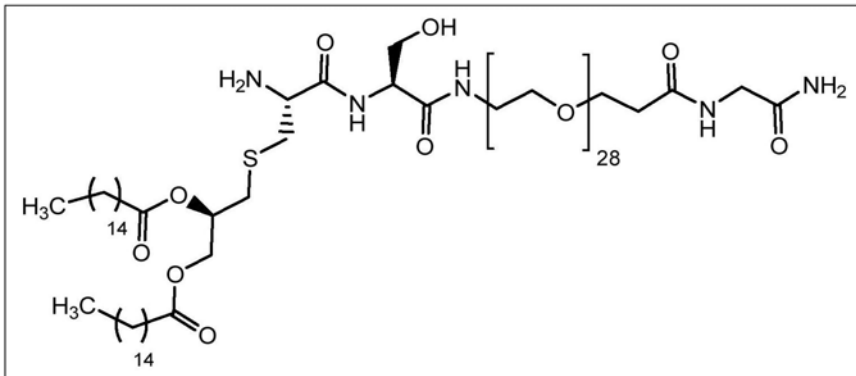
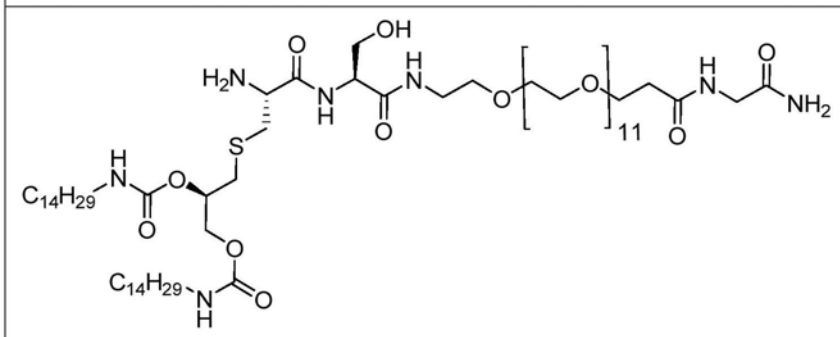
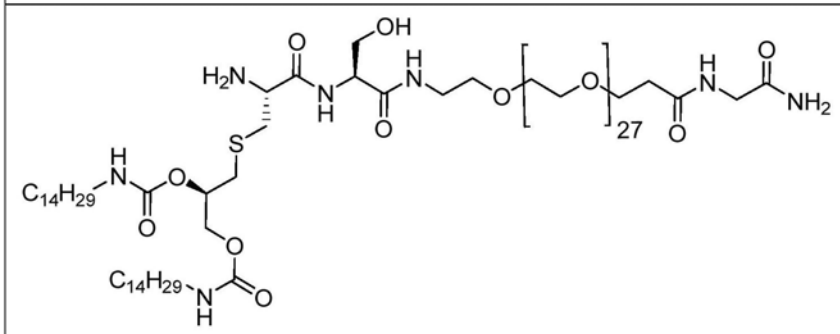
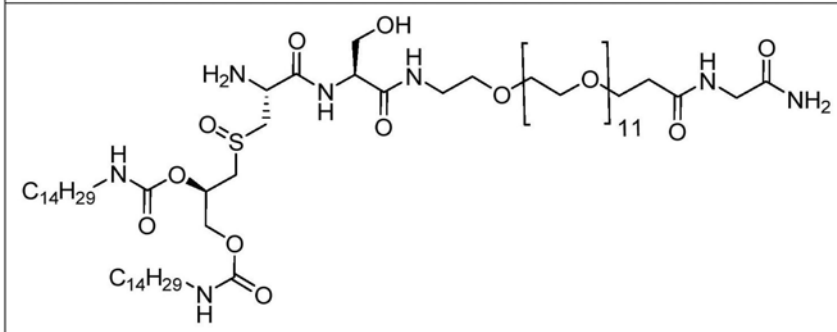
[1109]

	A106
	A104
	A103
	A102
	A109
	A110
	A111

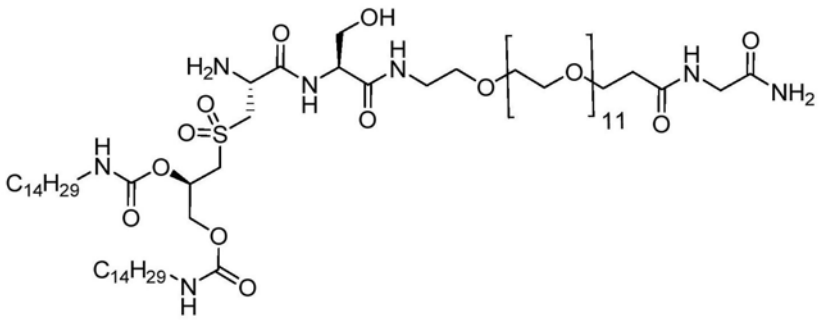
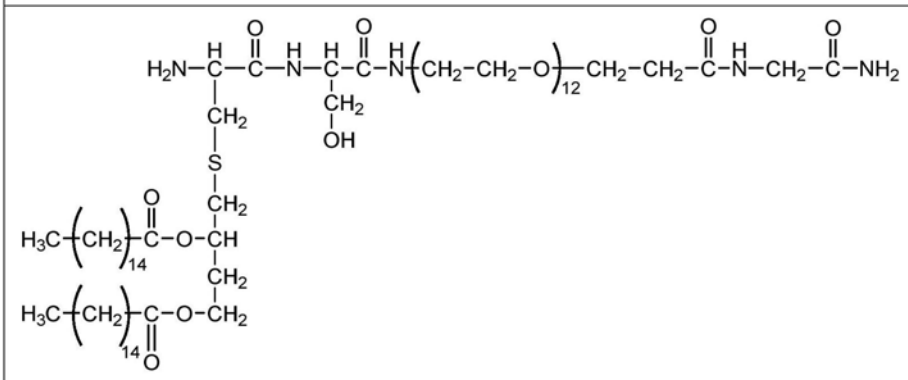
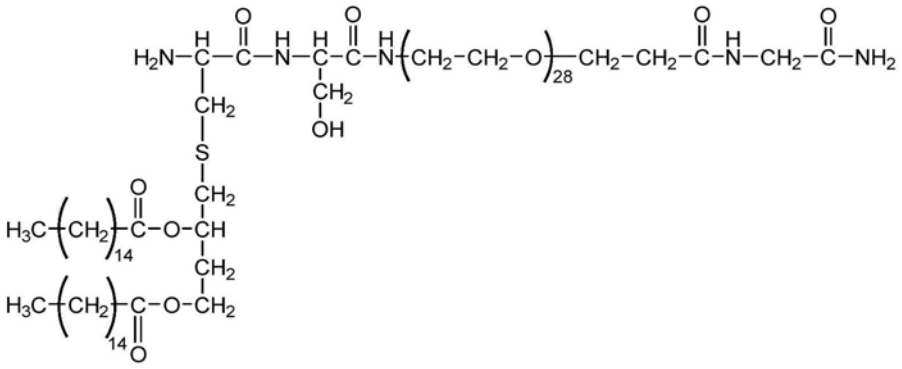
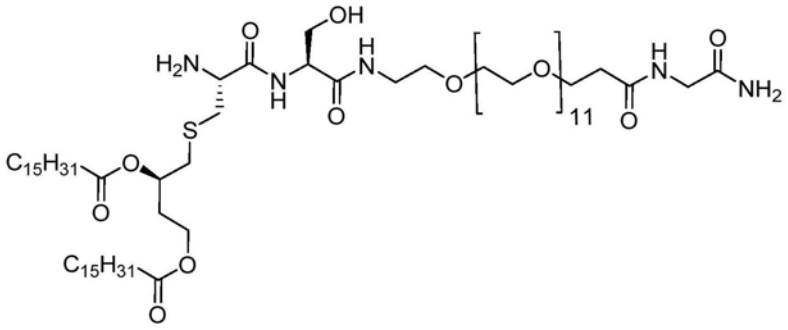
[1110]

	A112
	A113
	A114
	A107

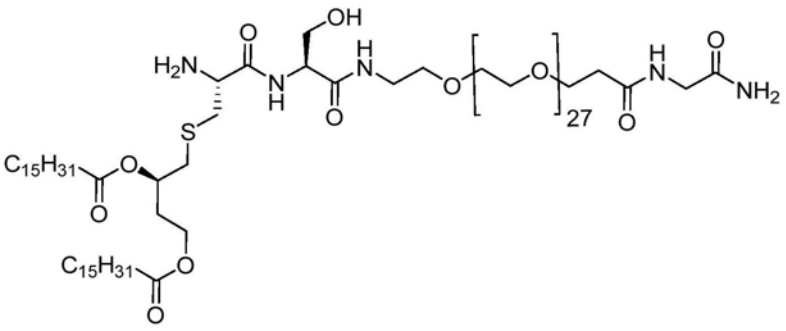
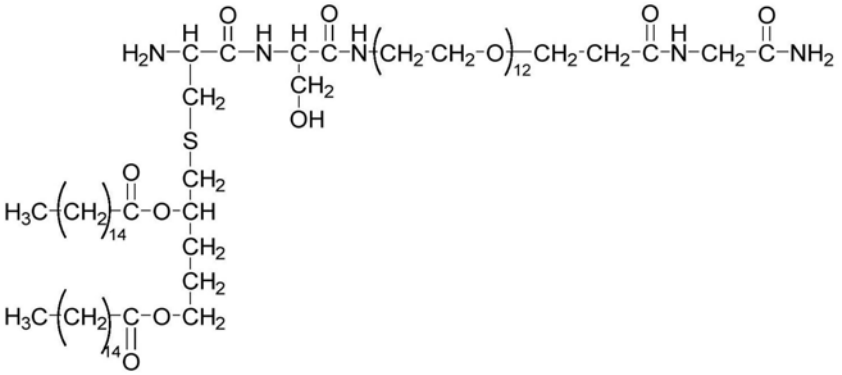
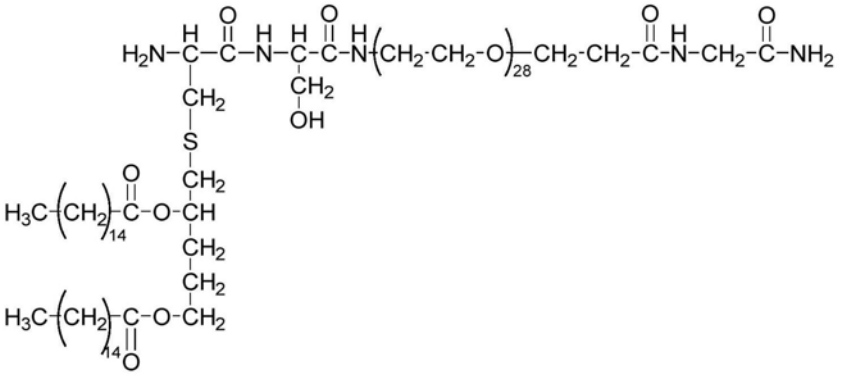
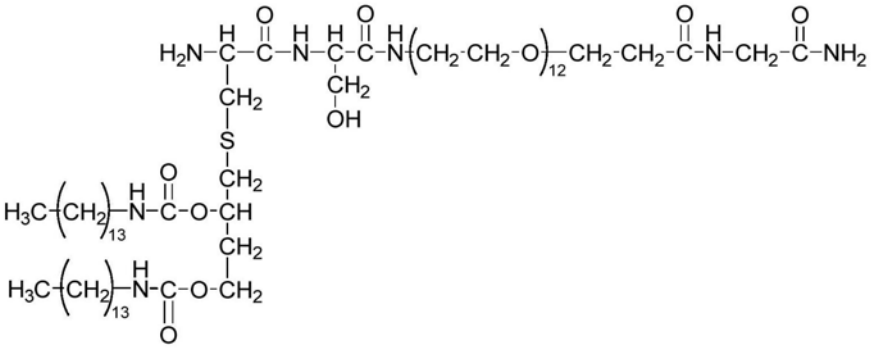
[1111]

	A108
	A115
	A116
	A117

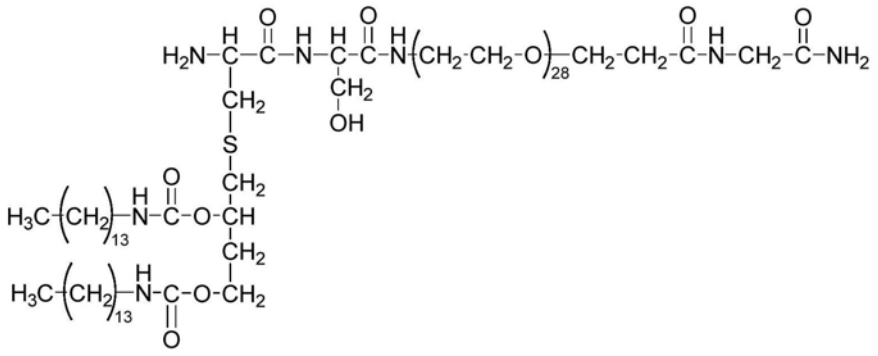
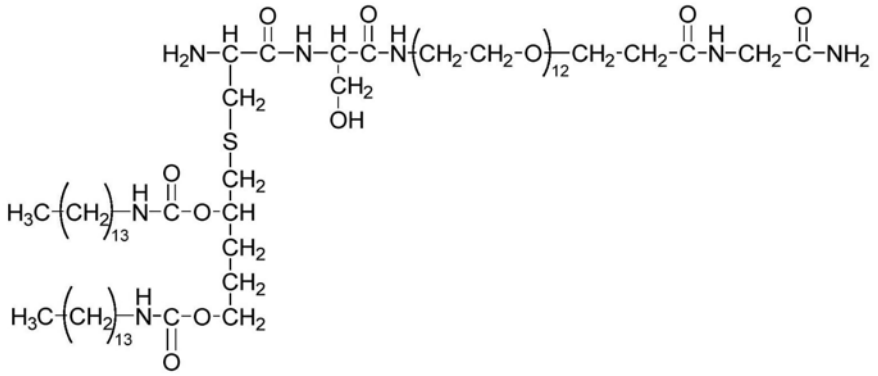
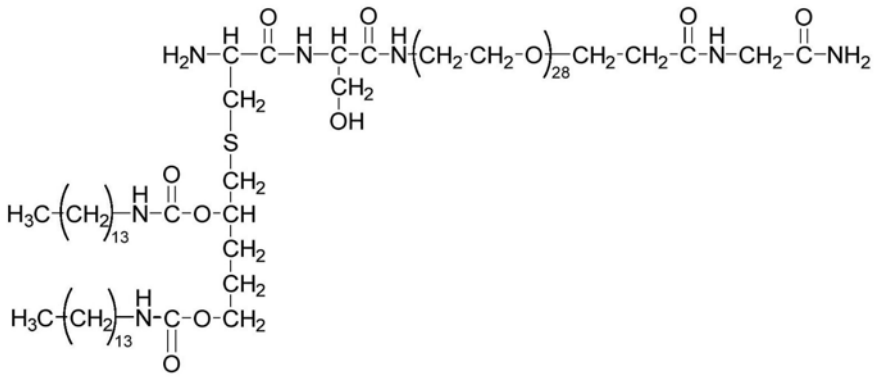
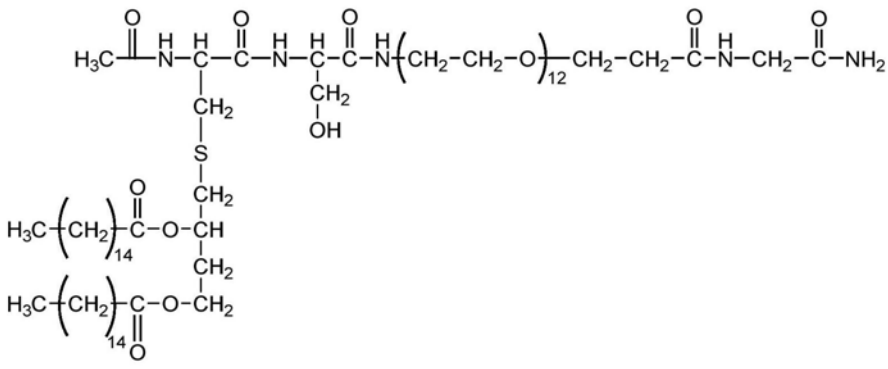
[1112]

	A118
	A201
	A202
	A203

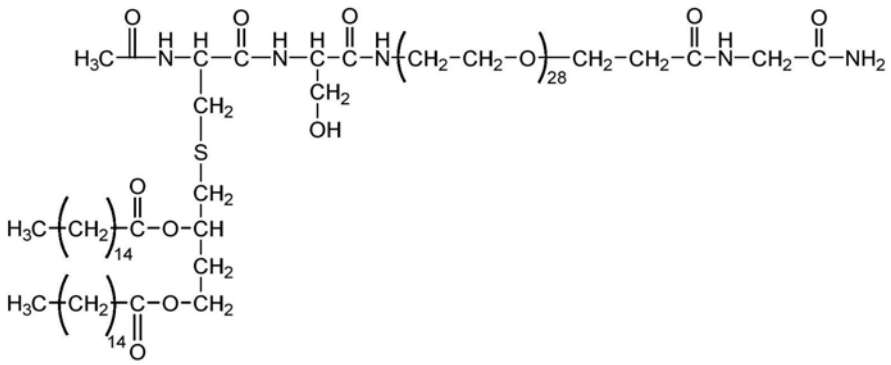
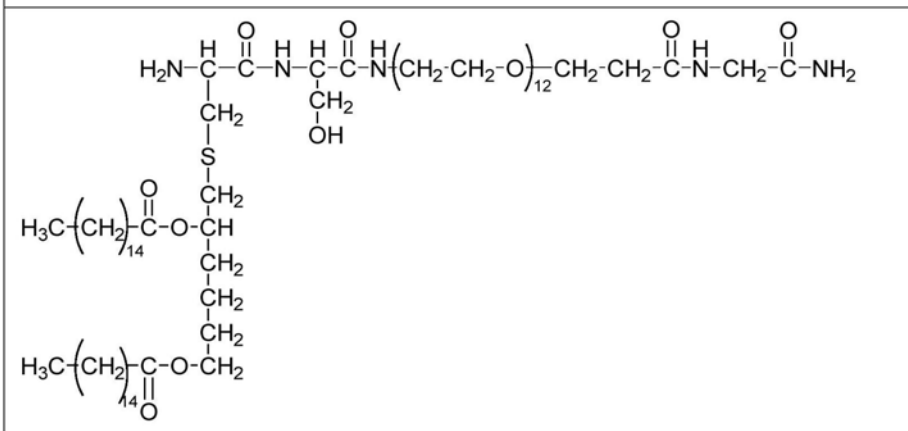
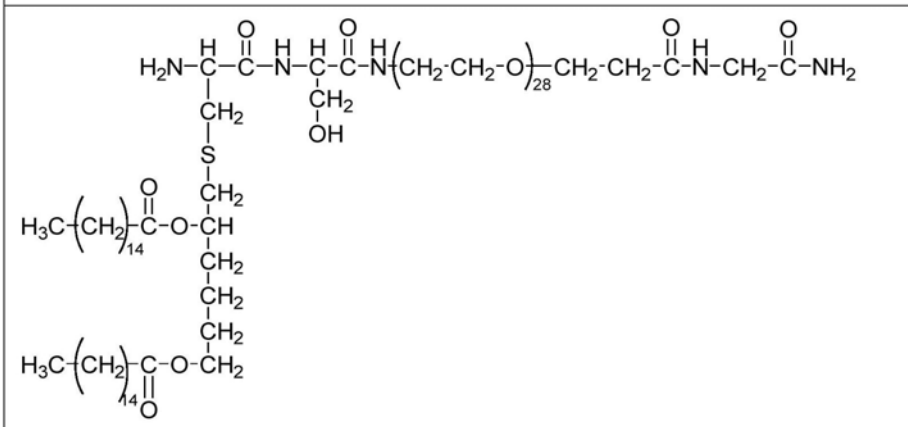
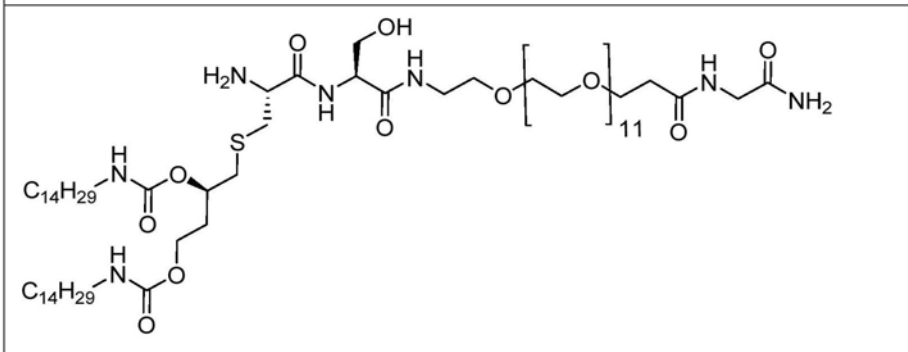
[1113]

	A204
	A205
	A206
	A207

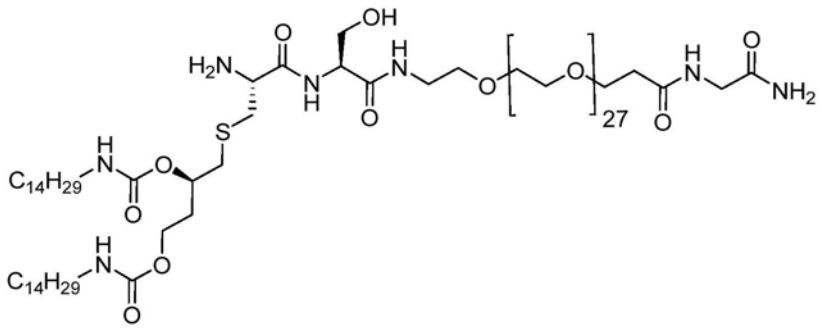
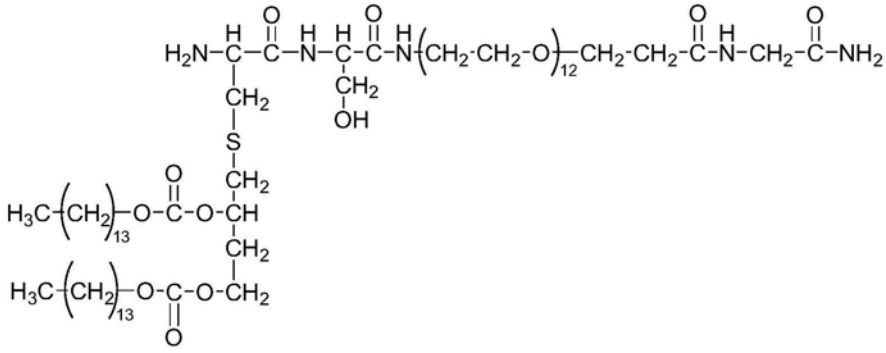
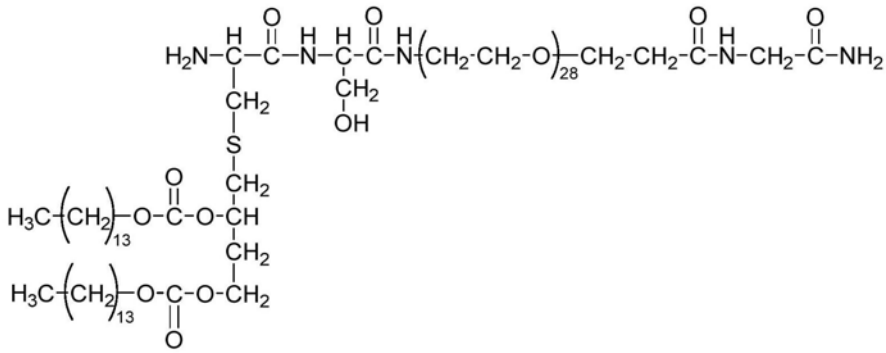
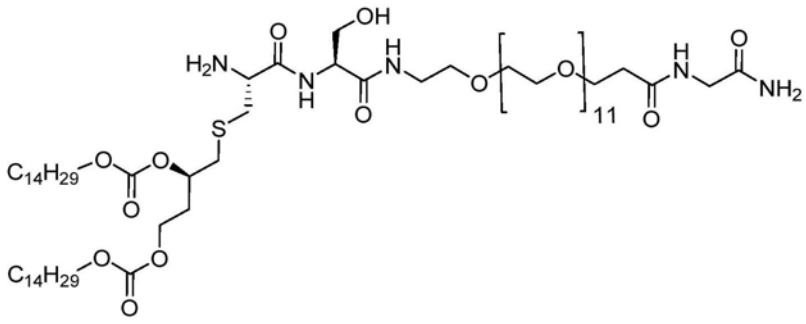
[1114]

	A208
	A209
	A210
	A211

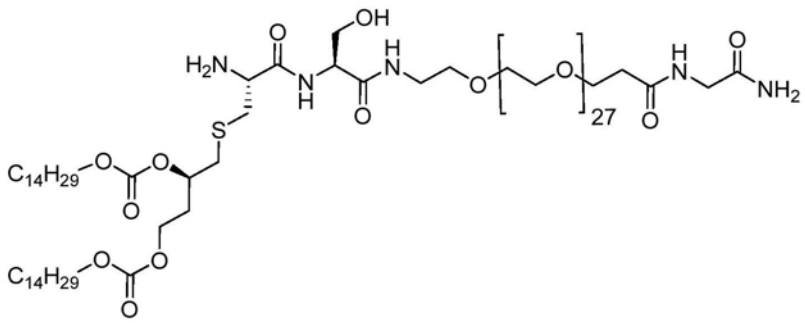
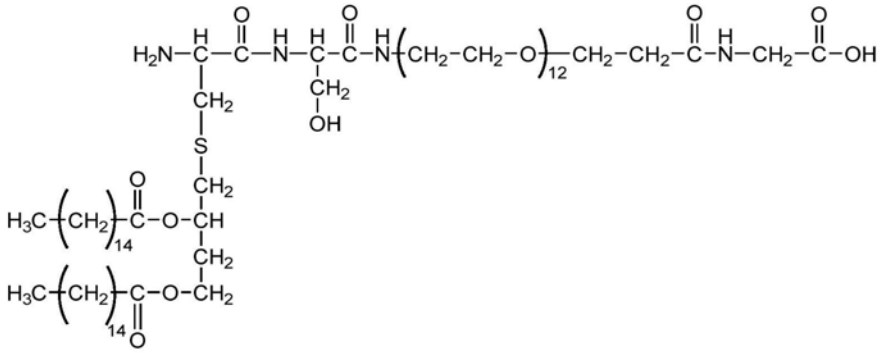
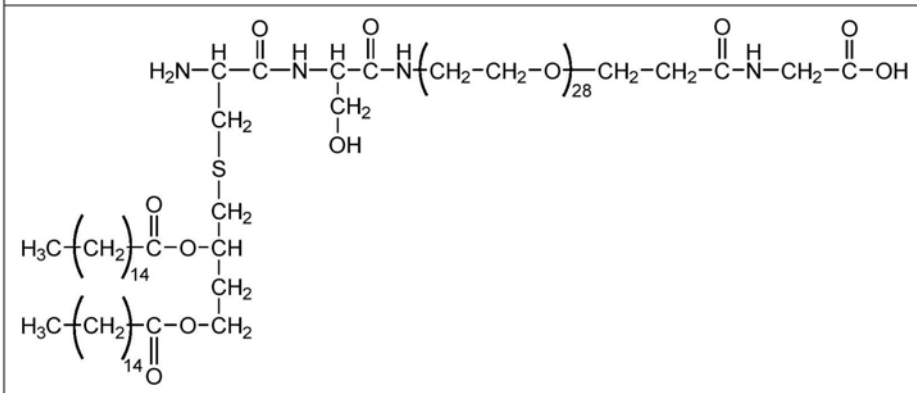
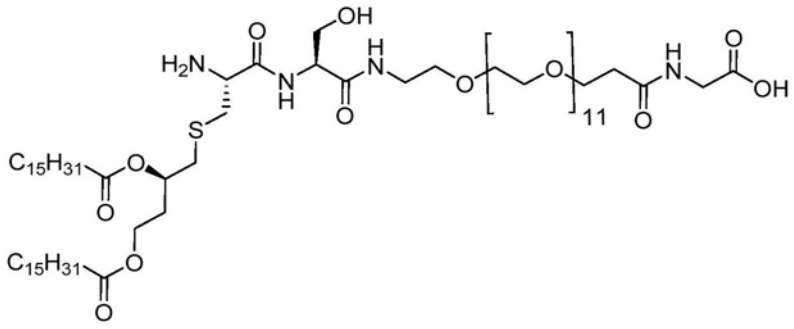
[1115]

	A212
	A213
	A214
	A215

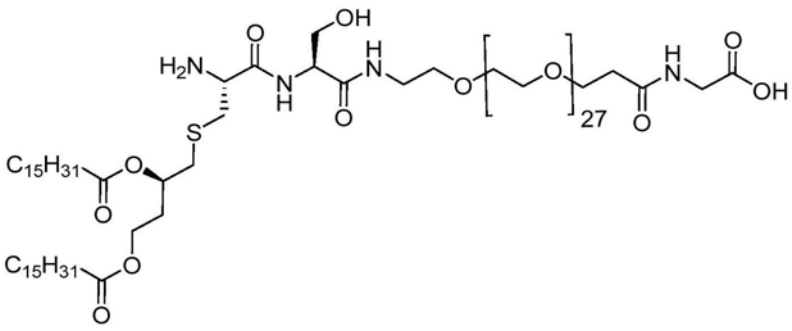
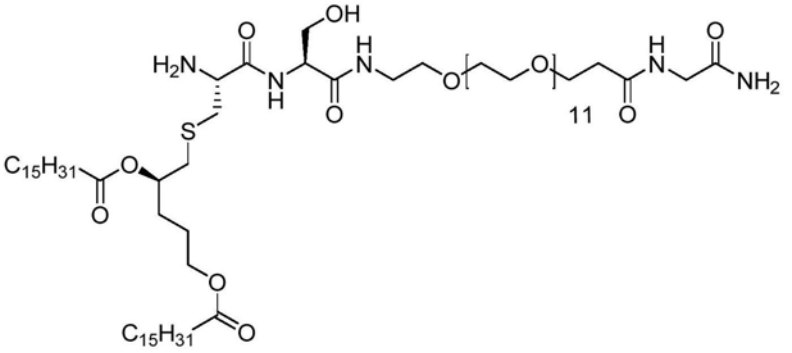
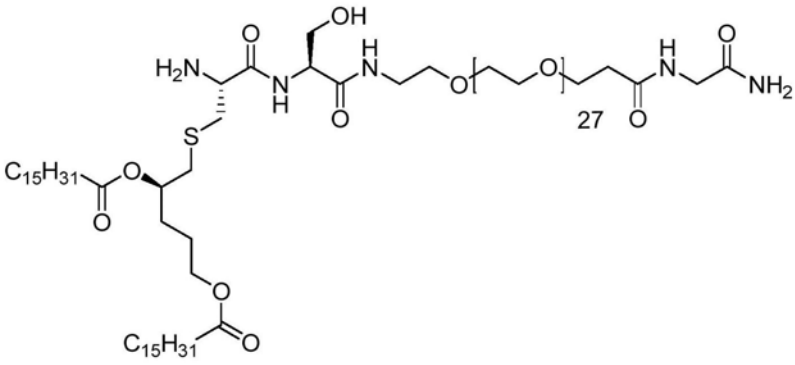
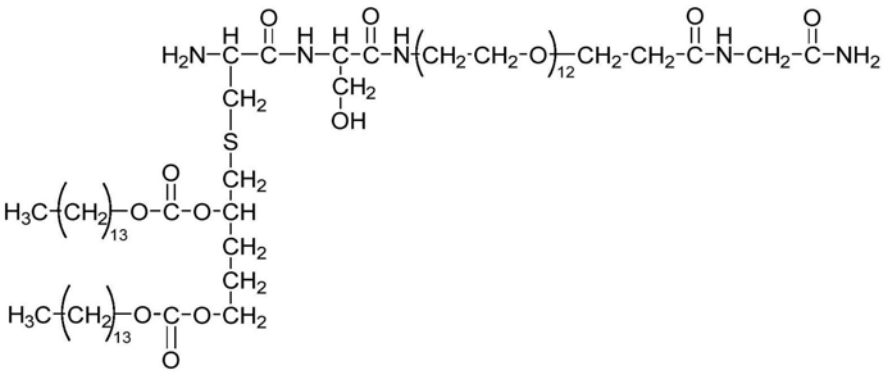
[1116]

	A216
	A217
	A218
	A219

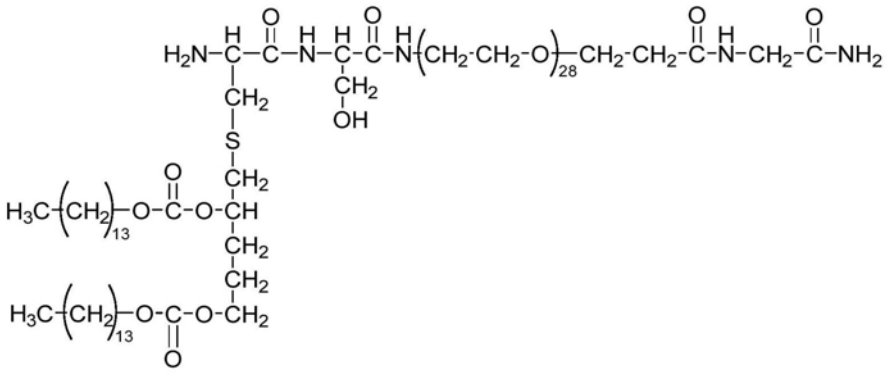
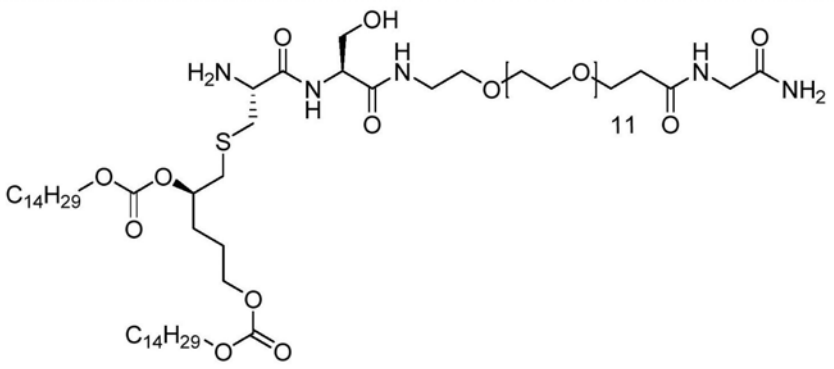
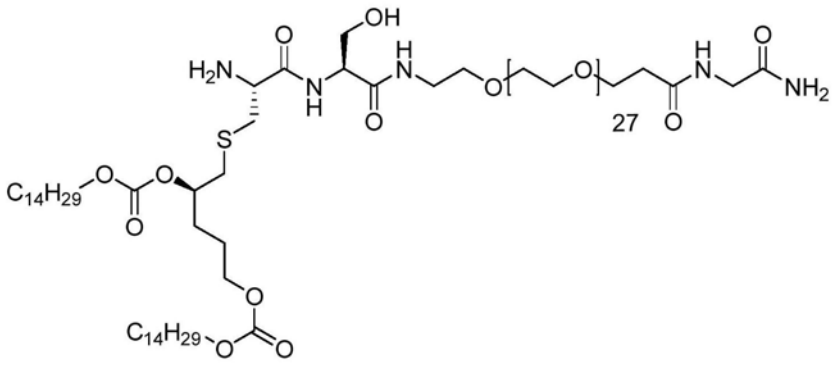
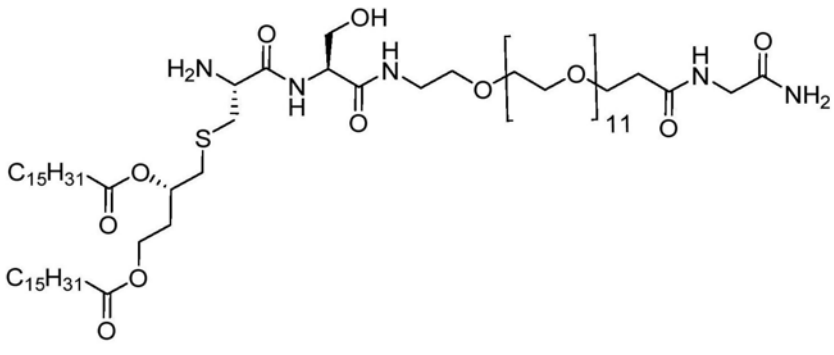
[1117]

	A220
	A221
	A222
	A223

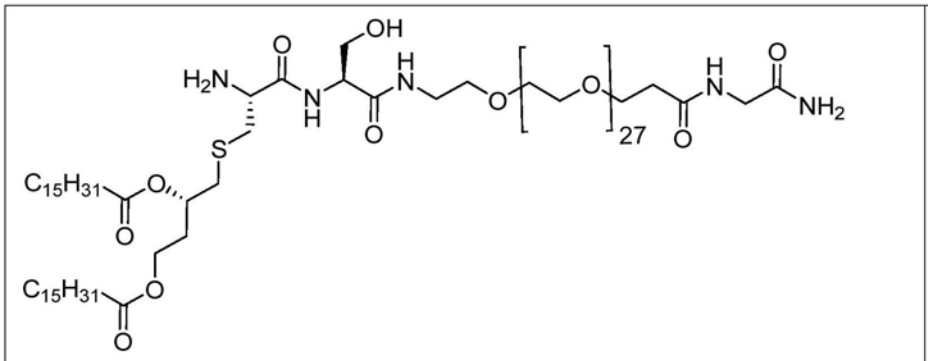
[1118]

	A224
	A225
	A226
	A227

[1119]

	A228
	A229
	A230
	A231

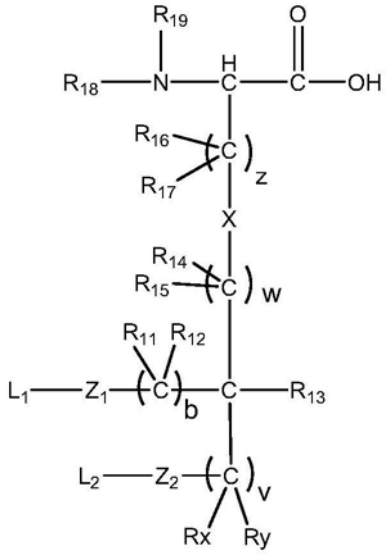
[1120]

	A232

[1121] 本发明的化合物可通过本领域已知的技术制备。例如，包括包含A1部分的式(I)-(XIX)中的任一个的本发明化合物可通过WO 2019/119067中描述的技术制备，其全部内容据此通过援引并入。

[1122] 包括包含A2部分的式(I)-(XIX)中的任一个的本发明化合物可以通过偶联以下两者来提供：式A2-I的化合物：

[1123]

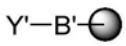


(A2-I)

[1124] 其中L_1、L_2、Z_1、Z_2、v、b、w、z、R_x、R_y、R_{11}、R_{12}、R_{13}、R_{14}、R_{15}、R_{16}、R_{17}、R_{18}和X具有如对于本文所定义的本发明的任意化合物所定义的含义，并且R_{19}是氨基保护基团

[1125] 与式(YB-I)的化合物：

[1126]

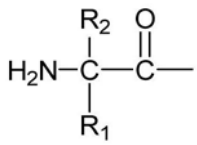


(YB-I)

[1127] 其中

[1128] Y'是

[1129]



[1130] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组：H、$-CH_2OH$、$-CH_2CH_2OH$、$-CH(CH_3)OH$、-

$CH_2OPO(OH)_2$、$-CH_2C(=O)NH_2$、$-CH_2CH_2C(=O)OH$、和$-CH_2CH_2C(=O)OR_8$，其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替；

[1131] R_8选自由以下组成的组：H和直链或支链C_1-C_6烷基；

[1132] B'是聚乙二醇(PEG)；并且

[1133] ●是固相载体树脂。

[1134] 在一些实施例中，B'包含式B-I的取代的PEG。在这些实施例中，可以采用以下序列的固相反应：

[1135] a)任选地使用Fmoc化学成分将1至10α氨基酸或衍生自天然α氨基酸(构成L)的化合物与固相树脂偶联

[1136] b)如果L存在，则将$PG-NH-(CH_2)_p-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH2)_m-COOH$与固相树脂或取代的树脂偶联，其中PG表示与Fmoc化学成分相容的氨基保护基团；

[1137] c)去除PG；

[1138] d)偶联$PG-NH-CR_{13}R_{14}-COOH$，其中PG'表示与Fmoc化学成分相容的氨基保护基团；

[1139] e)去除PG'；

[1140] f)偶联式(A-I)的酸；

[1141] g)任选地去除R_{19}并且任选地进行酰化和/或烷基化以引入R_{18}和/或R_{19}；以及

[1142] h)从该固相载体中去除该化合物

[1143] 在一些实施例中，B'包含根据式(B-II)的取代的PEG，并且可以采用以下序列的固相反应：

[1144] a)任选地使用Fmoc化学成分将1至10α氨基酸或衍生自天然α氨基酸(构成L)的化合物与的固相树脂偶联

[1145] b)如果L存在，则将$PG-NH-(CH_2)_t-O-(CH_2CH_2O)_k-(CH2)_h-COOH$与固相树脂或取代的树脂偶联，其中PG表示与Fmoc化学成分相容的氨基保护基团；

[1146] c)去除PG；

[1147] d)偶联$PG'-NH-(CH_2)_p-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH2)_m-COOH$，其中PG'表示与Fmoc化学成分相容的氨基保护基团；

[1148] e)去除PG'；

[1149] f)偶联$PG''-NH-CR_{13}R_{14}-COOH$，其中PG"表示与Fmoc化学成分相容的氨基保护基团；

[1150] g)去除PG"；

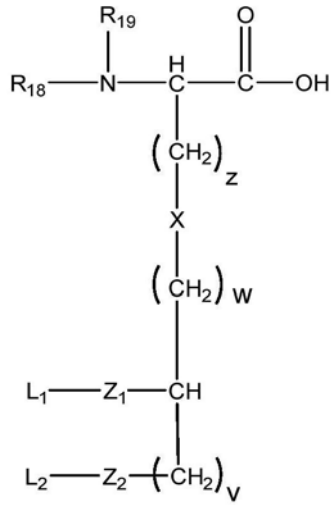
[1151] h)偶联式(A-I)的酸；

[1152] i)任选地去除R_{19}并且任选地进行酰化和/或烷基化以结合入R_{18}和/或R_{19}；以及

[1153] j)从该固相树脂中去除该化合物。

[1154] 应当理解，事件的确切顺序可以与概述的顺序不同，并且在必要和合成上有利的情况下添加额外的步骤，例如将半胱氨酸硫氧化成亚砜或砜。

[1155] 在一些实施例中，式A2-I化合物以式A2-II化合物的形式提供：

[1156] 

A2-II

[1157] 其中L_1、L_2、X、v、w和R_{18}如对于以上式A-I的化合物所定义，Z_1和Z_2独立地选自-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)O-和-OC(O)O-。

[1158] 式A2-II化合物可通过方案1中示出的合成来制备。

[1159] 方案1描述了式A2-II的化合物的实施例的合成，其中

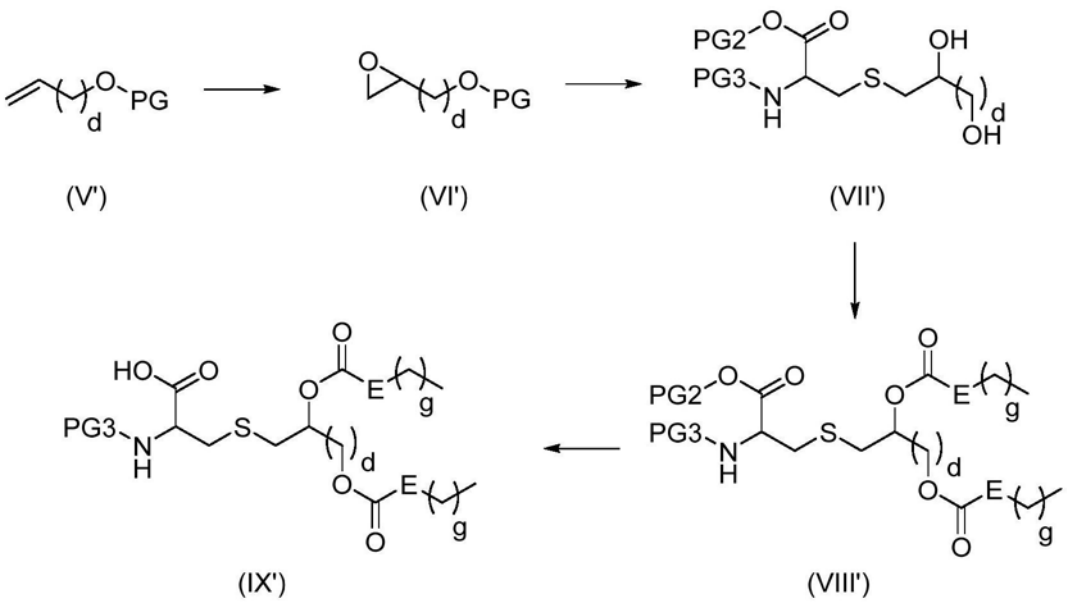
[1160] X是S，

[1161] L_1-Z_1是-OC(O)E-$(CH_2)_g$-CH_3，其中E是-O-或-NH-，并且g是10、11、12、13、14、15、16、17或18；

[1162] L_2-Z_2是-OC(O)E-$(CH_2)_g$-CH_3，其中E是-O-或-NH-，并且g是10、11、12、13、14、15、16、17或18；并且

[1163] R_{19}是PG3，其是氨基保护基团。

[1164] 方案1

[1165] 

(V') (VI') (VII') (IX') (VIII')

[1166] 式(V')的受保护的烯醇(其中PG是合适的保护基团(例如甲硅烷基如TBDMS))的反应形成式(VI')的环氧化物。应当理解，可以进行环氧化物的形成以得到外消旋产物或得到对映体富集的材料。如果产生对映异构体的外消旋或非外消旋(scalemic)混合物，则采用

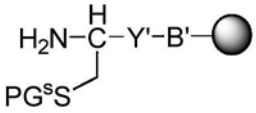
制备型手性色谱以分离对映异构体(如果需要的话)。

[1167] 在还原条件下,使式(VI')的环氧化物与适当受保护的胱氨酸类似物、例如N-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)-S-(((R)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-(叔丁氧基)-3-氧代丙基)硫)-D-半胱氨酸叔丁酯反应以得到式(VII')的醇,其中PG2是叔丁酯,并且PG3是Fmoc。应当理解的是,式(VII')的醇可以由不止一种立体异构体组成,并且在存在多种立体异构体的情况下,可以根据需要通过手性制备色谱法将它们分离。

[1168] 可以使用合适的试剂对式(VII')的醇进行酰化以得到式(VIII')的含羰基加和物。在需要酯的情况下,酰基氯可以在合适的碱和溶剂的存在下反应;在需要氨基甲酸酯的情况下,异氰酸酯可以在合适的碱和溶剂的存在下反应,并且在需要碳酸酯的情况下,氯甲酸酯可以在合适的碱和溶剂的存在下反应。然后可以使用合适的试剂对式(VIII')的含羰基加合物进行脱保护以暴露式(IX')的羧酸,例如在PG2是叔丁基的情况下,可以使用三氟乙酸优选地去除叔丁基。

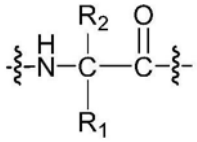
[1169] 然后可以将式(IX')的酸用作固相合成中的试剂以添加式Y和B的基团。

[1170] 包含A2部分的式(I)-(XIX)中的任一个(其中z是1,w是1,并且b是0)的本发明化合物可通过制备具有下式的树脂结合肽来提供:

[1171] 

[1172] 其中

[1173] Y'是

[1174] 

[1175] 其中R_1和R_2独立地选自由以下组成的组:H、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH(CH_3)OH$、-$CH_2OPO(OH)_2$、-$CH_2C(=O)NH_2$、-$CH_2CH_2C(=O)OH$、和-$CH_2CH_2C(=O)OR_8$,其中烷基氢中的任一个可以被卤素代替;

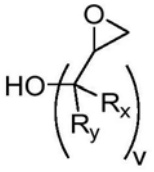
[1176] R_8选自由以下组成的组:H和直链或支链C_1-C_6烷基;

[1177] B'是聚乙二醇(PEG);

[1178] PG^S是H或硫保护基团,如叔丁基;并且

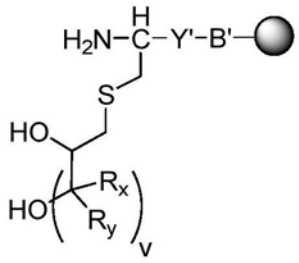
[1179] ●是固相载体树脂。

[1180] 在任选的硫脱保护之后,可以将该树脂结合肽与具有下式的1,2-环氧基-烷醇反应:

[1181] 

[1182] 其中R_x、R_y和v具有针对部分A2给出的含义,例如如式(I)中所定义的

[1183] 以提供式S-1的烷基化硫醇:

[1184] 

S-1

[1185] 其中Y'和B'具有以上给出的含义,并且v具有针对部分A2给出的含义,或其砜或亚砜。

[1186] 树脂结合化合物S-1的二醇部分可以进一步反应(例如通过与棕榈酸基团或月桂基氨基甲酸酯基团等的二醇官能化等)以提供本发明的化合物。

[1187] 实例

[1188] 以下实例1-6描述了本发明化合物的各种性质。这些实例中测试的化合物如WO2019/119067或合成实例5中所述而制备。

[1189] 实例1:组合疗法对肿瘤生长、存活和转移的作用

[1190] 阻断抑制性免疫细胞受体(也称为"免疫检查点")已经彻底改变了癌症治疗。尽管反应率令人难以置信,但大多数患者对免疫检查点阻断(ICB)没有反应或获得抗性。对其潜在机制知之甚少,并且存在开发新的或改进现有免疫疗法的未满足的需要。在此,我们着手研究将表示为化合物A101(在这些实例和图中也称为化合物1)的合成TLR2激动剂与抗PD1免疫疗法组合在多种癌症和癌症转移模型中的作用。

[1191] 材料和方法

[1192] 小鼠

[1193] C57BL/6或Balb/c野生型(WT)小鼠购自沃尔特和伊丽莎霍尔医学研究所(Walter and Eliza Hall Institute for Medical Research)或在室内饲养且维持在QIMR伯格霍夫医学研究所(QIMR Berghofer Medical Research Institute)。将大于8周龄的小鼠与适当的模型进行性别匹配。每组治疗的小鼠数量或每个实验的小鼠品系在图例中表示。在所有研究中,根据预先建立的标准,没有小鼠被排除在外,并且在治疗实验中在治疗之前立即应用随机化。实验按照QIMR伯格霍夫医学研究所动物伦理委员会的批准进行。

[1194] 细胞培养

[1195] 将小鼠B16F10(黑色素瘤)、MC38(结肠腺癌)和4T1.2(乳腺癌)细胞在补充有10%胎牛血清(博沃根公司(Bovogen))、1%谷氨酰胺(吉布科公司(Gibco))和1%青霉素/链霉素(吉布科公司)的杜尔贝科改良伊格尔培养基(DMEM)中生长。将B16F10和4T1.2细胞维持在37℃、5%CO_2下。将MC38细胞维持在37℃、10%CO_2下。所有细胞系的支原体常规检测均为阴性,但未常规进行细胞系鉴定。

[1196] 皮下肿瘤模型

[1197] 对于原发性肿瘤生长实验,将MC38(1×10^6个)或B16F10(1×10^5个)细胞以100μl的最终体积皮下注射到小鼠中(第0天)。如附图或图例所示开始对小鼠进行治疗。使用数字卡尺测量每个单独肿瘤的垂直直径。计算肿瘤大小并以平均值±SEM表示。当肿瘤达到150mm^2时,处死小鼠。

[1198] 4T1.2乳腺癌转移模型

[1199] 将5×10^4个4T1.2细胞以50μl的体积注射到第4个乳腺脂肪垫中(第0天)。在注射后第12天,在异氟烷麻醉下手术切除原发性肿瘤。在肿瘤细胞注射后的第15、18和21天,如附图图例所示对小鼠进行注射治疗。在肿瘤细胞注射后第26天处死所有小鼠以评估转移负荷。为此,对肉眼可见的肺转移进行计数。

[1200] 免疫检查点阻断实验

[1201] 当移植的肿瘤的直径达到3-5mm时,开始免疫治疗。PD-1的治疗性阻断通过腹膜内注射250μg大鼠抗小鼠PD-1IgG2a(clone RMP1-14;生物细胞公司(BioXcell))或对照大鼠IgG2a mAb(clone 2A3;生物细胞公司)的100μl PBS溶液进行。剂量的量和确切的治疗方案在附图和/或图例中进行了描述。

[1202] 瘤内注射化合物1/化合物A101

[1203] 当小鼠第一次注射抗PD1或对照IgG时,也用化合物1治疗小鼠。为此,将100μl化合物1的盐水溶液注射到肿瘤中。剂量和治疗方案在附图和/或图例中进行了描述。

[1204] 静脉内注射化合物1/化合物A101

[1205] 当小鼠第一次注射抗PD1或对照IgG时,也用化合物1治疗小鼠。为此,将10μg化合物1的200μl盐水溶液注射到侧尾静脉中。治疗方案在附图和/或图例中进行了描述。

[1206] 结果

[1207] 对C57BL/6WT小鼠皮下注射MC38细胞,并且一旦肿瘤可触及,就如图所示进行治疗(图1A)。将抗PD1免疫疗法与化合物1组合显著提高了携带MC38肿瘤的小鼠的存活率(图1B)。

[1208] 在下一个实验中,将免疫原性差且免疫疗法抗性差的B16F10黑色素瘤细胞系注射到C57BL/6WT小鼠中。同样,当肿瘤可触及时,将小鼠随机分成四组并如图所示进行治疗(图2A)。令人惊讶地,用化合物1和抗PD1治疗的携带B16F10的小鼠的存活率有所提高(图2B)。重要的是,抗PD1单一疗法不影响存活率。

[1209] 总之,表明了在高免疫原性和低免疫原性的癌症临床前模型中,当局部注射到肿瘤微环境中时,化合物1与抗PD1免疫疗法有效组合。

[1210] 虽然局部注射是可能的,但它在日常临床常规中存在挑战。此外,许多癌症实体无法进行瘤内注射。因此,探索了全身施用的化合物1与抗PD1免疫疗法组合的治疗功效。为此,对C57BL/6WT小鼠皮下注射MC38细胞。一旦肿瘤可触及,则对小鼠静脉内(i.v.)注射10μg化合物1或对照,并且腹膜内(i.p.)注射抗PD1或对照IgG(图3A)。与抗PD1单一疗法相比,化合物1与抗PD1的组合免疫疗法是优异的(图3B)。

[1211] 该数据表明化合物1在MC38和B16F10肿瘤模型中提高了抗PD1免疫疗法的功效。由于肿瘤细胞的转移性播散是癌症患者死亡的主要原因,因此接下来评估了组合免疫疗法在自发转移模型中的功效。为此,将Balb/c WT小鼠注射到具有高度侵袭性的4T1.2乳腺癌细胞系的第4个乳腺脂肪垫中。与典型的临床方法类似,手术切除受试者的原发性肿瘤,并用化合物1单独或与抗PD1免疫疗法组合治疗小鼠(图4A)。手术后14天处死所有小鼠并评估肺转移的数量。原发性4T1.2肿瘤以及播散性癌细胞对抗PD1免疫疗法具有高度抗性。全身施用10μg化合物1导致肺转移的数量减少。重要的是,组合免疫疗法显著降低了小鼠的转移负荷(图4B),而不影响体重减轻(数据未显示)。

[1212] 总之,我们在此表明,化合物1(一种高度特异性的TLR2激动剂)增强了抗PD1免疫疗法的功效,为使用此类组合疗法治疗不同病因和发病机制的癌症提供了基本原理。这些结果还证明了TLR2激动剂和检查点抑制剂组合疗法在以前对检查点抑制剂治疗有抗性的癌症中的效用。

[1213] 实例2.在EMT6.5模型中组合疗法对肿瘤生长和存活的作用。

[1214] 将100,000个EMT6.5细胞植入Balb/c小鼠(n=48)到第4腹股沟乳腺中,并通过卡尺测量监测已形成的肿瘤。当肿瘤为~100mm^{3}时,将小鼠随机分配到六个治疗组(n=8只/组)之一。为了测试另外的TLR2激动剂,将化合物A108静脉内施用于荷瘤小鼠,分三次剂量,间隔三天。在同一天通过腹膜内途径施用检查点抑制剂。含有化合物A108的治疗方案诱导了轻度但可逆的体重减轻(数据未显示)。数据显示,化合物A108与抗PDL-1组合增强了对肿瘤生长的作用(图5A、C)。化合物A108与抗PL-1的组合也显示出提高的存活率(图5B)。

[1215] 这些数据表明,全身性施用的化合物A108的重复给药在携带EMT6.5肿瘤的Balb/c小鼠中是良好耐受的,并且用化合物A108和抗PDL-1的重复给药可以在统计学上增强不同类型的检查点抑制剂的有效性。

[1216] 实例3.组合疗法对携带MC38的小鼠的肿瘤生长和存活的作用。

[1217] 还在MC-38模型中在检查点抑制剂的存在下测试了化合物A108。对C57BL/6WT小鼠(n=10-14)皮下注射高免疫原性MC38结肠癌细胞。一旦肿瘤可触及(~3-5mm直径),将小鼠随机分成四组,接受三次瘤内注射媒介物、抗PD1(200μg,i.p)、25μg化合物A108的100μl盐水溶液或化合物A108和抗PD-1的组合。该研究表明,组合疗法提高了小鼠的存活率(图6)。

[1218] 通过检查组合疗法对MC38小鼠模型中大肿瘤的作用,进一步探索了上述研究。这些研究旨在了解在两周内重复施用是否可以减缓肿瘤生长。小鼠经由腹膜内(10μg剂量)途径每2天重复给药,持续13天。当达到人道终点时或在最终剂量后一周(直至第25天)(以先到者为准)剔除小鼠。人道终点包括相对于治疗第一天的体重,体重减轻>20%(或连续3天体重减轻>15%),个体小鼠肿瘤体积>3000mm^{3}或一组的平均肿瘤体积>2000mm^3(该组中的所有小鼠均被剔除)。该研究表明,组合疗法可在治疗阶段期间经由腹膜内途径减缓肿瘤生长(图7)。

[1219] 这些数据表明,化合物A108和抗PD1免疫疗法的组合可以削弱肿瘤生长并延长携带MC38结肠癌的小鼠的存活。

[1220] 实例4.化合物A108在WEHI164模型中具有抗肿瘤活性。

[1221] 本研究旨在确定低剂量的化合物A108(2.5ug)与抗CTLA4、抗PDL1或抗PD-1的组合是否可以抑制肿瘤生长。从该实验获得的数据证明,当在化合物A108的存在下施用时,抗PDL1(图8A)、抗CTLA-4(图8B)和抗PD-1(图8C)具有更大的作用。

[1222] 这些数据表明,在WEHI-164肉瘤癌症模型中,化合物A108增加了对抗CTLA4、抗PDL1和抗PD-1检查点疗法的反应率。

[1223] 实例5.本发明的所选化合物的代表性合成、表征和TLR2活性:A107、A108、A115、A116、A117、A118、A203、A204、A215、A216、A220和A224

[1224] 化合物A107(x=11)和A108(x=27)的合成

[1225] Fmoc S-2,3-二(棕榈酰氧基丙基)-半胱氨酸(S-Fmoc-Dpc-OH)购自巴赫姆公司(Bachem Inc)。

[1226] S-Fmoc-Dpc-OH与树脂结合肽的偶联:将Fmoc-Dpc-OH(100mg,0.24mmol)用HOBt(36mg,0.24mmol)和N,N'-二异丙基碳二亚胺(DICI;37uL,0.24mmol)在DCM和DMF(1:1,v/v,3mL)中在0℃下激活5分钟。然后将混合物添加到含有Boc-Cys-Ser(tBu)CH_2CH_2O-$(PEG)_{11}$-$CH_2CH_2C(O)$Gly树脂或Boc-Cys-Ser(tBu)-CH_2CH_2O-$(PEG)_{27}$-$CH_2CH_2C(O)$Gly树脂(0.25mmol/g,0.25g=0.0625mmol)的容器中。振荡2小时后,在玻璃烧结漏斗(孔隙率3)上过滤除去溶液,用DCM和DMF(各3×30mL)洗涤树脂。使用三硝基苯磺酸(TNBSA)测试监测反应完成。如果需要,执行双偶联。

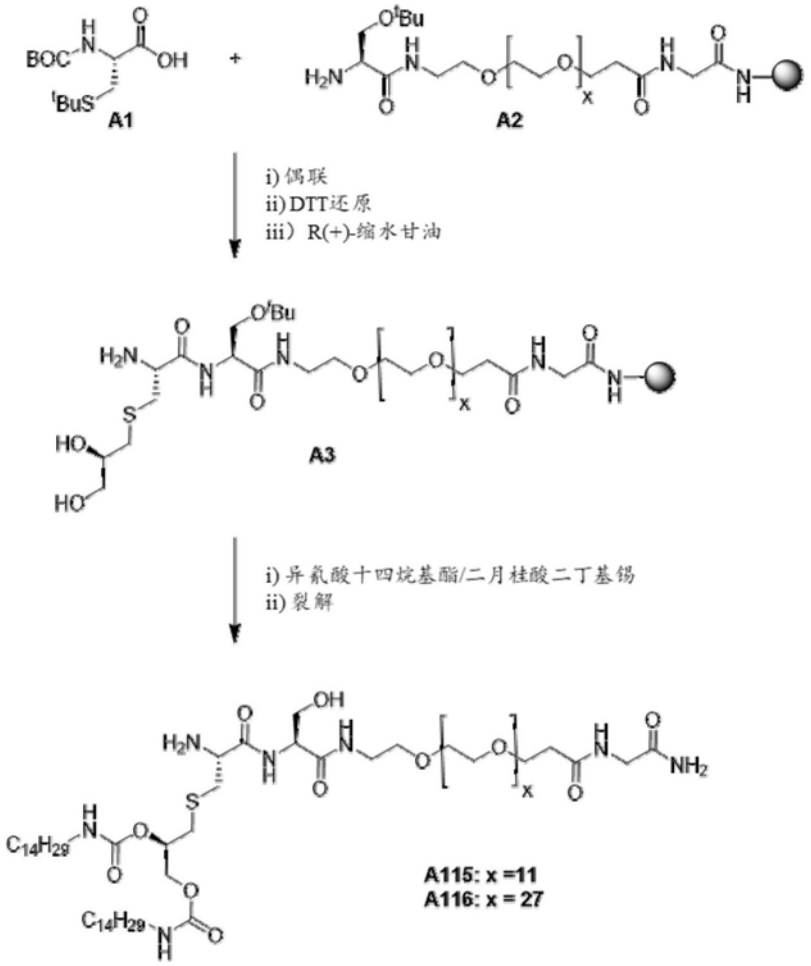
[1227] 从固相载体中裂解肽:试剂B(93%TFA、5%水和2%三异丙基硅烷)保持两小时。肽不会在冷醚中沉淀。必须除去大部分TFA,然后将残余物溶于50%乙腈中并立即纯化或冷冻干燥。

[1228] 化合物A115和A116的合成。

[1229] 化合物A115(x=11)和A116(x=27)的合成如方案2所述进行。(R)-缩水甘油通过烷基化偶联到连接到肽树脂的半胱氨酸残基的硫醇基团;向在250mg的在DMF中的饱和的Boc-Cys-Ser(tBu)CH_2CH_2O-$(PEG)_{11}$-$CH_2CH_2C(O)$Gly树脂或Boc-Cys-Ser(tBu)CH_2CH_2O-PEG_{27}--$CH_2CH_2C(O)$Gly树脂(0.25mmol/g,0.25g=0.0625mmol)中添加250μl的R-(+)-缩水甘油(MW=74.08,d=1.1,250μl=3.71mmol,相当于比肽树脂上的游离巯基过量60倍)和25μl的二异丙基乙胺(DIPEA,MW=129.2,d=0.74,25μl=0.14mmol)。将反应混合物在50℃水浴中保持2小时,然后用DMF彻底洗涤固相载体。向缩水甘油化后用甲苯洗涤后的250mg肽树脂中添加100μl的乙基甲基硫醚(W=76.16,d=0.842,100μl=1.10mmol),随后添加105μl的异氰酸十四烷基酯(MW=239,d=0.869,105μl=0.38mmol,即比固相载体上存在的每个羟基3倍过量),最后添加210μl的二月桂酸二丁基锡(MW=631.6,d=1.053,210μl=0.35mmol)。在室温下,用氮气吹扫反应混合物大约5min并混合(Intelli-混匀仪,RM-2,使用程序F26)过夜。将反应混合物转移到50ml的管中并添加氯仿至50ml。进行大约5min的超声处理后,反应过程中形成的白色沉淀溶解。用DMF和乙腈洗涤固相载体并且将从载体裂解后获得的最终产物通过HPLC纯化。

[1230] 方案2.化合物A115和A116的合成

[1231]



[1232] 化合物A117和A118的合成。

[1233] 化合物A117(X=S(=O))和A118(X=S(=O)$_2$)按照与如上对于化合物A115所述类似的合成路线制备,在氨基甲酸酯形成步骤中省略了乙基甲硫醚清除剂,并任选地省略了氮气鼓泡。省略了乙基甲硫醚清除剂得到化合物A115、A117和A118的混合物,将它们通过HPLC分离并纯化。

[1234] 替代性地,砜或亚砜衍生物(例如A117和A118)可以通过用氧化剂诸如间氯过氧苯甲酸(MCPBA)或叔丁基过氧化氢(t-BuOOH)在适当的条件下氧化相应的硫化物(例如A115)来制备。

[1235] 化合物A203和A204的合成。

[1236] 化合物A203和A204的合成在以下方案3中描述。

[1237] 将Fmoc-Gly作为第一氨基酸添加到固相载体中,随后在2ml的二甲基甲酰胺(DMF)中在二倍过量的六氟磷酸苯并三唑四甲基脲(HBTU)、羟基苯并三唑(HOBT)和4倍过量的二异丙基乙胺(DIPEA)的存在下偶联2倍摩尔过量的Fmoc-NHCH$_2$CH$_2$O-(PEG)$_{11}$-CH$_2$CH$_2$COOH或Fmoc-NHCH$_2$CH$_2$O-(PEG)$_{27}$-CH$_2$CH$_2$COOH持续2小时。然后偶联Fmoc-Ser(tBu)-OH以提供中间体A2,随后进行Boc-Cys(StBu)A1的偶联。在室温下,在DMF中,通过在0.5M的二硫苏糖醇中培育肽树脂(持续1小时)来去除半胱氨酸残基上的硫醇叔丁基。向在250mg的在DMF中的饱和的Boc-Cys-Ser(tBu)-NHCH$_2$CH$_2$O-(PEG)$_{11}$-CH$_2$CH$_2$C(O)Gly树脂或Boc-Cys-Ser(tBu)CH$_2$CH$_2$O-(PEG)$_{27}$-CH$_2$CH$_2$C(O)-Gly树脂(0.25mmol/g,0.25g=0.0625mmol)中添加250μl的R-(+)-1,

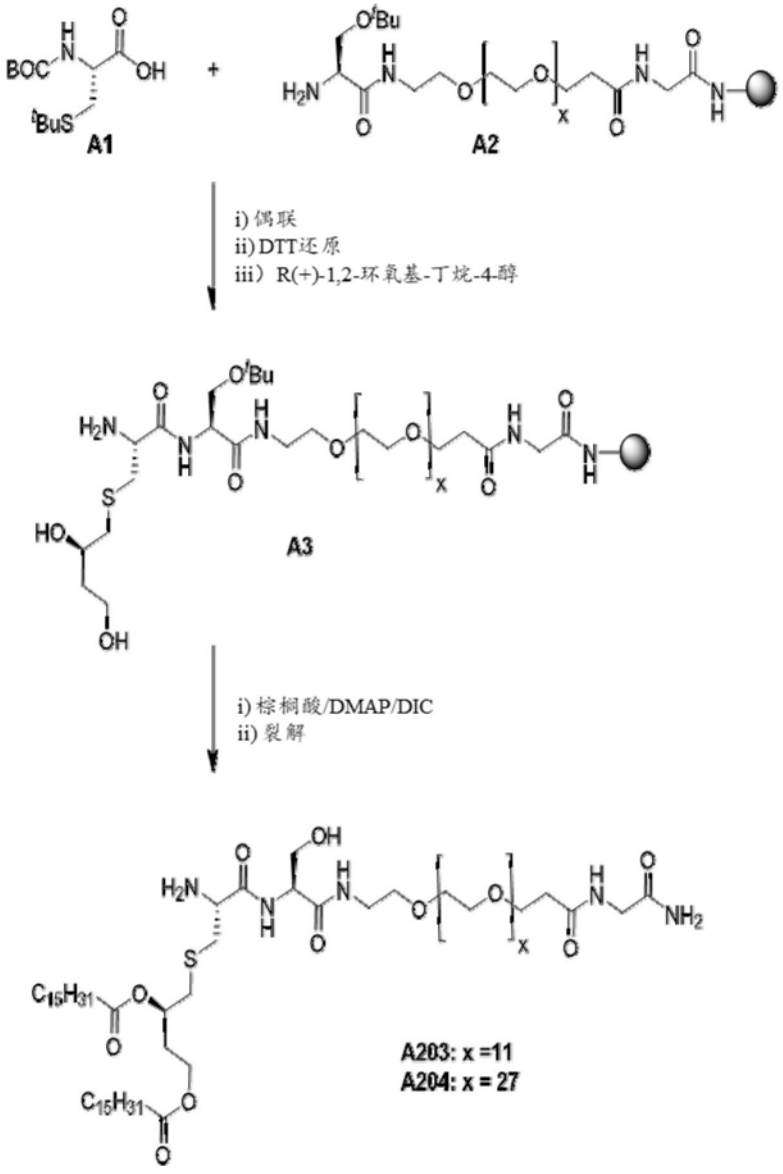
2-环氧基-丁烷-4-醇[(R)-2-(环氧乙烷-2-基)乙烷-1-醇](M_W＝88.11,d＝1.1,250μl＝3.125mmol相当于比存在于肽树脂上的游离巯基过量50倍)和25μl的二异丙基乙胺(DIPEA,M_W＝129.2,d＝0.74,25μl＝0.14mmol)。将反应混合物置于50℃的水浴中2小时,并且然后用DMF彻底洗涤以提供中间体A3。

[1238] 在室温下,将棕榈酸(320mg,1.25mmol)、DIPCDI(225uL,1.5mmol)和4-二甲基氨基吡啶(DMAP;15.25mg,0.125mmol)溶解于2mL的二氯甲烷(DCM)中,然后添加到树脂结合的BOC-Dhc-肽树脂A3(0.0625mmol,0.25g)中,并摇晃16h。在经受如下所述的裂解过程之前,通过过滤去除上清液,并用DCM和二甲基甲酰胺(DMF)彻底洗涤固相载体以除去尿素的任何残余物。

[1239] 将带有组装的脂肽的固相载体暴露于试剂B(93％TFA、5％水和2％三异丙基硅烷)2小时。为了分离产物,除去大部分的TFA并且然后将残余物溶解在50％乙腈中并立即使用如下所述的纯化方案进行纯化,或者是将材料冷冻干燥并且贮存用于之后的纯化。

[1240] 方案3.化合物A203(x＝11)和化合物A204(x＝27)的合成

[1241]



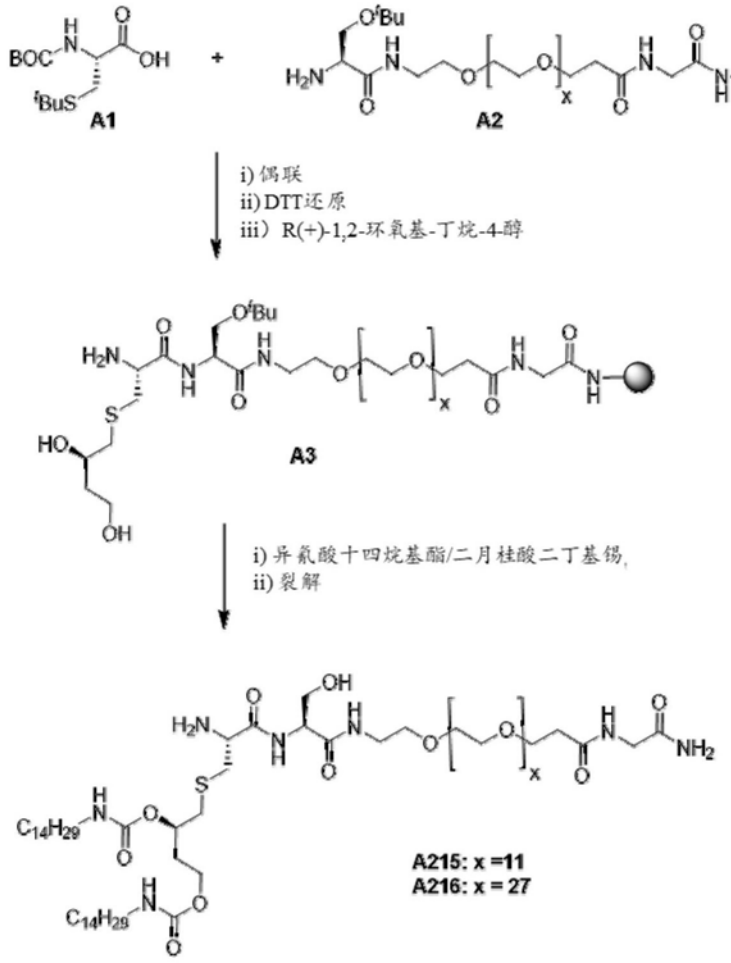
[1242] 化合物A215和化合物A216的合成。

[1243] 化合物A215和A216的合成如方案4中所述进行。如对于以上化合物3和4的描述制备中间体A3。

[1244] 然后,向缩水甘油化后用甲苯洗涤后的250mg肽树脂中添加100μl的乙基甲基硫醚(M_W=76.16,d=0.842,100μl=1.10mmol),随后添加105μl的异氰酸十四烷基酯(MW=239,d=0.869,105μl=0.38mmol,即比固相载体上存在的每个羟基3倍过量),最后添加210μl的二月桂酸二丁基锡(M_W=631.6,d=1.053,210μl=0.35mmol)。在室温下,用氮气吹扫反应混合物大约5min并混合(Intelli-混匀仪,RM-2,使用程序F26)过夜。将反应混合物转移到50ml的管中并添加氯仿至50ml。进行大约5min的超声处理后,反应过程中形成的白色沉淀溶解。用DMF和乙腈洗涤固相载体并且将从载体裂解(如上)后获得的最终产物通过HPLC纯化。

[1245] 方案4.化合物A215(x=11)和A216(x=27)的合成

[1246]



[1247] A220的合成。从Fmoc-RINK MBHA PS树脂开始,通过标准的Fmoc固相肽合成来合成化合物A220。每次偶联后使用在DMF中的20%哌啶实现Fmoc基团的去除。使用当量过量的氰基(肟基)乙酸乙酯(Oxyma Pure)和二异丙基碳二亚胺(DIC)作为偶联剂,在DMF中进行Fmoc-Gly-OH(2倍过量)、Fmoc-NH-PEG_{28}-CH_2CH_2COOH(1.4倍过量)、Fmoc-Ser(tBu)-OH(2倍过量)和N-(Boc)-S-((R)-2,3-二羟基丁基)-L-半胱氨酸(1.5倍过量)的偶联。在室温下,使用在无水DCM中的氯甲酸十四烷基酯(12当量,相比于树脂摩尔数)、DIEA(24当量,相比于树脂摩尔数)进行氯甲酸十四烷基酯的偶联,持续18小时。将这一偶联重复三次(再偶联)。在

室温下,使用在无水DCM/THF(85/15)中的氯甲酸十四烷基酯(12当量,相比于树脂摩尔数)、NMM(24当量,相比于树脂摩尔数)进行第一偶联,持续18小时。在室温下,使用在无水DCM/THF(85/15)中的氯甲酸十四烷基酯(6当量,相比于树脂摩尔数)、NMM(12当量,相比于树脂摩尔数)进行第二偶联,持续41小时。最后,在室温下,使用在无水DCM/THF/甲苯(85/15/5)中的氯甲酸十四烷基酯(6当量,相比于树脂摩尔数)、NMM(12当量,相比于树脂摩尔数)进行第三偶联,持续21.5小时。

[1248] 从树脂上裂解肽、去除N-端Boc基团、以及丝氨酸侧链脱保护通过将树脂暴露于93%三氟乙酸(TFA)、5%H_2O、3%三异丙基硅烷(TIPS)的溶液中1.5小时实现。裂解反应后,将混合物蒸发并将所得残留物重新溶解于30%乙腈/水中并冻干。

[1249] A224的合成。从初始取代为1.6meq/g的氯三苯甲基氯树脂开始,通过标准的Fmoc固相肽合成来合成化合物A224。首先使用0.5倍摩尔过量的Fmoc-Gly-OH和DIEA(1.5倍过量)将第一氨基酸Fmoc-Gly-OH负载到树脂上,随后用DMF/MeOH/DIEA(80/10/10)进行帽化,并进行Fmoc脱保护,以获得最终取代为0.67meq/g的干负载H-Gly-CT树脂。每次偶联后使用在DMF中的20%哌啶实现Fmoc基团的去除。在DMF中使用(7-氮杂苯并三唑-1-基氧基)三吡咯烷六氟磷酸鏻(PyAOp;1.4当量)、二异丙基乙胺(DIEA;3.2当量)进行Fmoc-NH-PEG_{28}-CH_2CH_2COOH(1.4当量)的偶联,而在DMF中使用相当过量的Oxyma Pure和DIC作为偶联剂进行Fmoc-Ser(tBu)-OH(2当量)和N-(Boc)-S-((R)-2,4-二羟基丁基)-L-半胱氨酸(1.5当量)的偶联。在室温下,使用在DCM/THF(85/15)(v/v)中的棕榈酸(20当量,相比于树脂摩尔数)、DIC(20当量)、DMAP(2当量)进行棕榈酸偶联,持续24小时。

[1250] 从树脂上裂解肽、去除N-端Boc基团、以及丝氨酸侧链脱保护通过将树脂暴露于93%TFA、5%H2O、3%TIPS的溶液中1.5小时实现。裂解反应后,将混合物蒸发并将所得残留物重新溶解于30%乙腈/水中并冻干。

[1251] 纯化与表征

[1252] 纯化与表征:从固相载体裂解后,将每种类似物根据如下所述的方案A或方案B通过反相HPLC进行纯化。

[1253] 方案A:使用安装在安捷伦HPLC 1260Infinity系统(美国加利福尼亚州圣克拉拉市的安捷伦科技有限公司(Agilent Technologies))中的安捷伦Zorbax 300SB-C3、5um柱(9.4mm×250mm;安捷伦科技有限公司(Agilent Technology),澳大利亚)进行反相HPLC,并使用缓冲液A(0.1%在水中的三氟乙酸)和缓冲液B(0.1%在乙腈中的三氟乙酸)形成色谱图。

[1254] 方案B:使用负载有氰基介质(Daisogel SP-120-CN-P)的Novasep轴向压缩柱(5cm直径)、以在[0.1%TFA/水]中的乙腈梯度进行反相色谱法。将中间体冻干之后,在Dowex离子交换树脂上进行离子交换,以获得作为乙酸盐的肽。

[1255] 使用内联HPLC-MS系统使用以下条件对目标材料进行鉴别和纯度测定:

[1256] 条件A:HPLC柱:具有以下梯度条件的安捷伦Zorbax 300-SB C3(150×0.5mm;5μm):0-5min,20%B:5-32min,20%B-100%B:32-40min,100%B-20%B。流速为20μl/min。LC-MS:与安捷伦1100系列LC/MSD离子阱质谱仪内联的安捷伦1100系列毛细管LC系统。用设置为阳离子模式的电喷射电离来操作质谱仪。使用来自安捷伦科技公司的数据分析软件去卷积带电离子系列以进行肽材料的鉴定,并且然后通过LC-MS表征材料。

[1257] 条件B:带有氰基柱的分析型反相HPLC(大曹精细化工公司(Daiso Fine Chem),SP-120-3-CN-P,150×4.6mm,3μm,120 Å)。还使用Finnigan LCQ Deca XPMax通过阳离子模式的ESI LC-MS对肽进行分析。

[1258] 发现按照方案A和条件A如上文所述制备和纯化的化合物A107、A108、A115、A116、A203、A204、A215和A216以及按照方案B和条件B如上文所述制备和纯化的化合物A220和A224的纯度均大于95%。

[1259] 肽定量

[1260] 化合物A107、A108、A115、A116、A203、A204、A215和A216的定量是通过在密封的玻璃小瓶中在含0.1%的苯酚的6N HCI的存在下样品在110℃下的真空水解进行的。然后使用Waters AccQTag试剂根据制造商的说明进行氨基酸的衍生化,随后使用AccQTag ultra柱(2.1mm×100mm;密理博沃特世公司(Waters Millipore))在Waters Acquity UPLC系统(密理博沃特世公司)上进行分析。其他化合物的定量可以通过相似的方案实现。

[1261] 化合物A215和A216的砜和亚砜类似物的合成

[1262] 可以通过类似于如上所述的合成路径获得化合物A215和A216的砜和亚砜衍生物,除了从氨基甲酸酯的形成步骤中省略乙基甲基硫醚清除剂,并任选地省略氮气清扫。此反应可以获得硫醇、砜和亚砜衍生物的混合物,可以对其进行分离并通过HPLC纯化。

[1263] 替代性地,可以通过相应的硫化物与氧化剂诸如间氯过氧苯甲酸(MCPBA)或叔丁基过氧化氢(t-BuOOH)在适当的条件下的氧化来制备砜或亚砜的衍生物。

[1264] 人TLR2的激活

[1265] 在体外测定中测试了这些化合物作为人和小鼠TLR-2激活剂的效力。该测定评定了HEKBlue-mTLR-2细胞系中的NF-kB激活。这些细胞已用小鼠TLR-2稳定转染,并且以足以允许全功能激活TLR-1/2和TLR-2/6的水平内源性表达TLR-1和TLR-6。

[1266] 通过评定HEKBlue-hTLR2细胞系中的NF-kB激活来测试Toll样受体2(TLR2)刺激。这些细胞已用人TLR2稳定转染,并且以足以允许全功能激活TLR1/2和TLR2/6的水平内源性表达TLR1和TLR6。测试了供试品作为潜在激动剂对人TLR2的活性。在七种浓度下评估供试品,并将其与对照配体进行比较。一式三份地进行这些步骤。

[1267] NF-kB报告基因测定方案:如先前所述(Jackson等人,2004;Lau等人,2006;Sandor等人,2003;Zeng等人,2010)进行此项测定。将HEK293T细胞以每孔4×10^4个细胞的密度培养在96孔板中并且24小时后在0.8μl Fugene 6(罗氏诊断公司(Roche Diagnostic))的存在下,用含或不含5ng TLR2-表达性质粒的100ng NF-kB萤光素酶报告基因[50ng的TK-海肾-荧光素酶表达性质粒(美国麦迪逊市的普洛麦格公司(Promega corporation)]转染。24h后将化合物以直方图中所指示的浓度添加到孔中。在刺激后5h,使用报告基因裂解缓冲液(美国麦迪逊市的普洛麦格公司)制备细胞裂解物。使用试剂盒(美国麦迪逊市的普洛麦格公司)和使用FLUOstar酶标仪(德国奥滕贝格的BMG莱伯泰科公司(BMG Labtech))测定细胞裂解物中的萤光素酶活性。NF-kB依赖性萤火虫萤光素酶活性用NF-kB非依赖性海肾萤光素酶活性进行标准化。相对刺激被计算为受刺激样品与未受刺激样品的比率。

[1268] 化合物A107、A108、A115、A116、A203、A204、A215和A216的该测定的结果示于图9中。这些数据显示,这些化合物对TLR2展现出显著的活性。

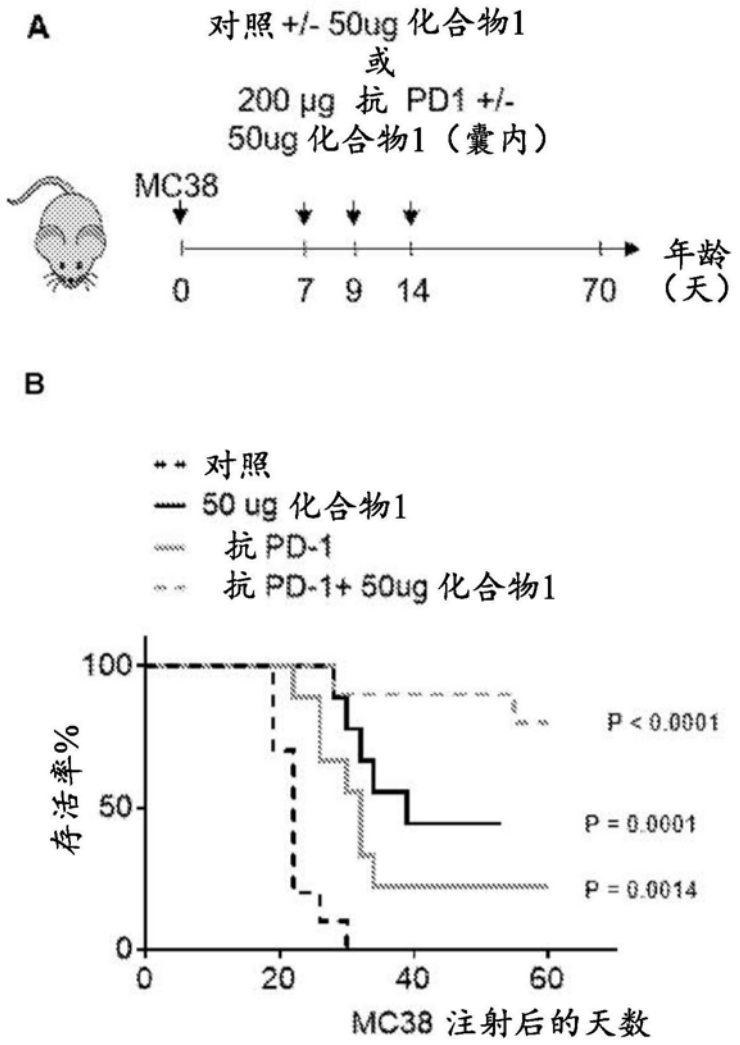

A
对照 +/- 50ug 化合物1
或
200 μg 抗 PD1 +/-
50ug 化合物1（囊内）
MC38
0
7
9
14
70
年龄
（天）
B
对照
50 ug 化合物1
抗 PD-1
抗 PD-1+ 50ug 化合物1
100
50
0
存活率%
0
20
40
60
MC38 注射后的天数
P < 0.0001
P = 0.0001
P = 0.0014

图1

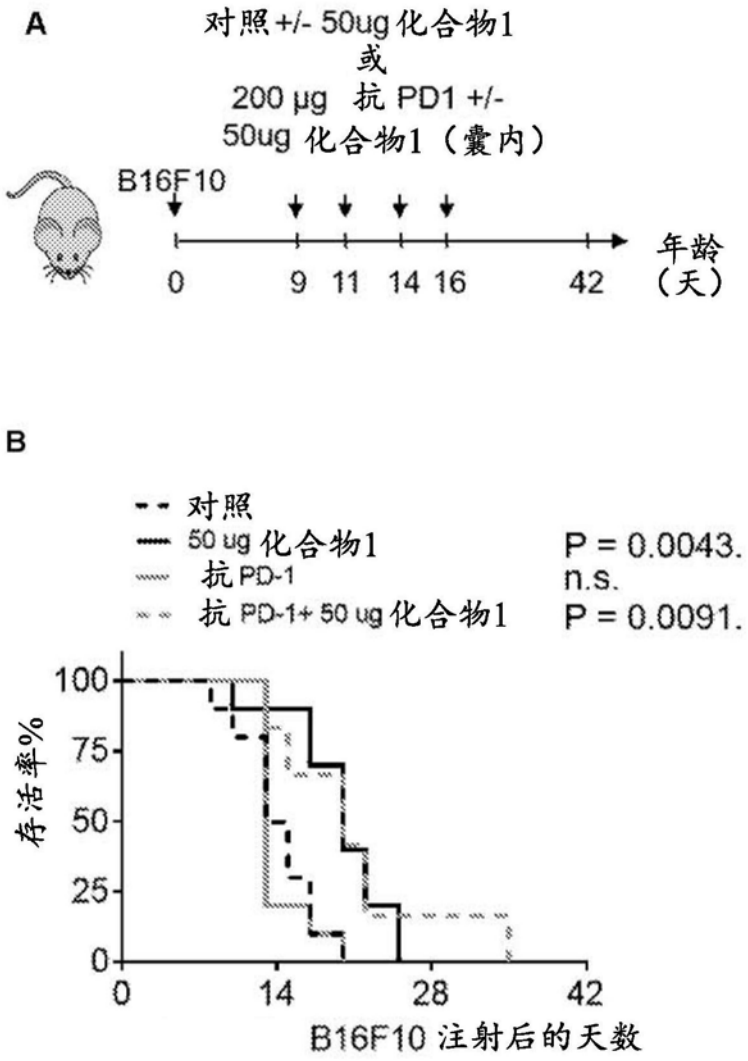

A
对照+/- 50ug 化合物1
或
200 μg 抗 PD1 +/-
50ug 化合物1（囊内）
B16F10
0
9
11
14
16
42
年龄
（天）
B
对照
50 ug 化合物1
抗 PD-1
抗 PD-1+ 50 ug 化合物1
P = 0.0043.
n.s.
P = 0.0091.
存活率%
100
75
50
25
0
0
14
28
42
B16F10 注射后的天数

图2

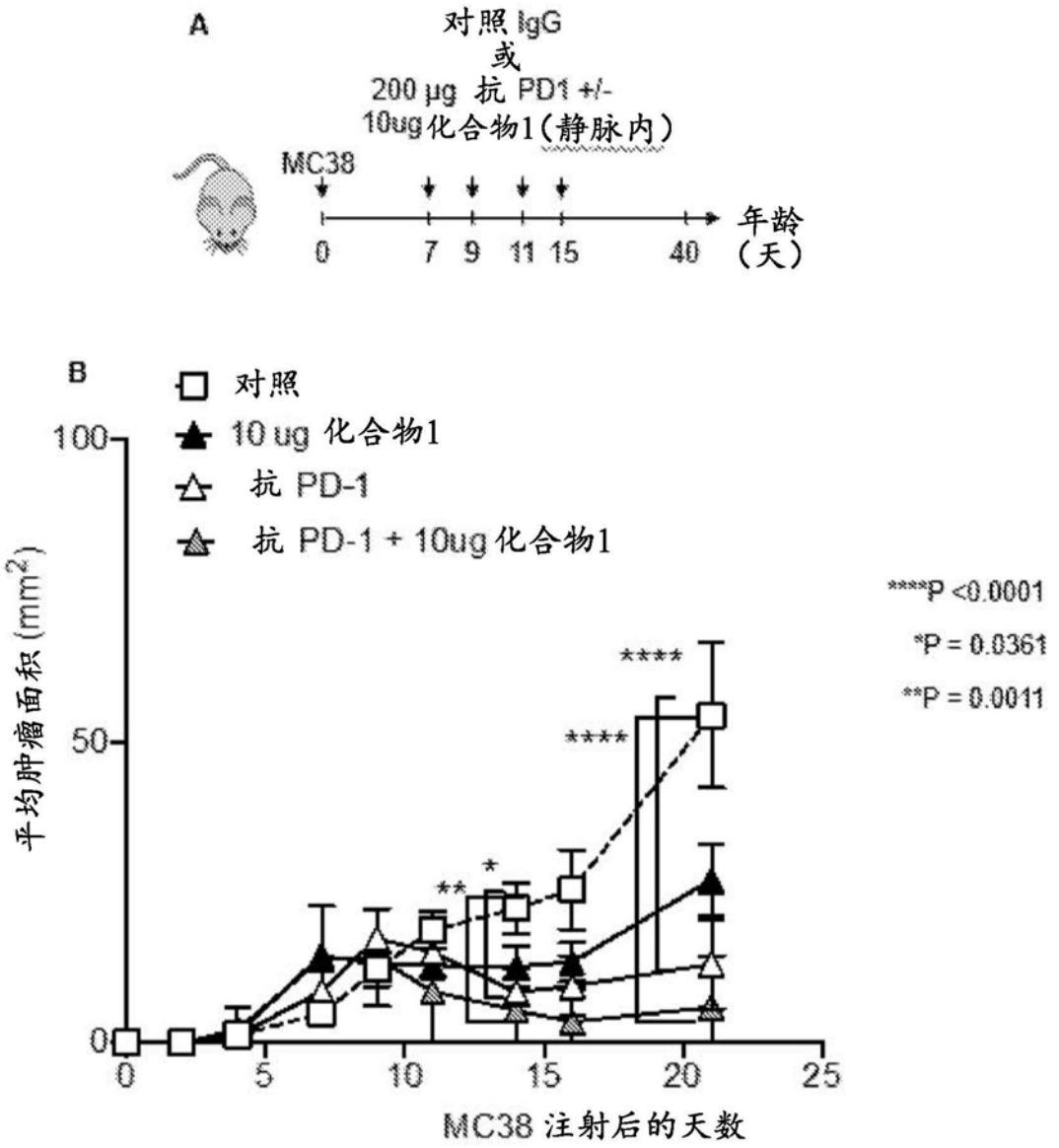

A
对照 IgG
或
200 μg 抗 PD1 +/-
10ug 化合物1(静脉内)
MC38
0
7
9
11
15
40
年龄
(天)
B
对照
10 ug 化合物1
抗 PD-1
抗 PD-1 + 10ug 化合物1
平均肿瘤面积 (mm²)
100
50
0
0
5
10
15
20
25
MC38 注射后的天数
****P <0.0001
*P = 0.0361
**P = 0.0011
****
****
**
*

图3

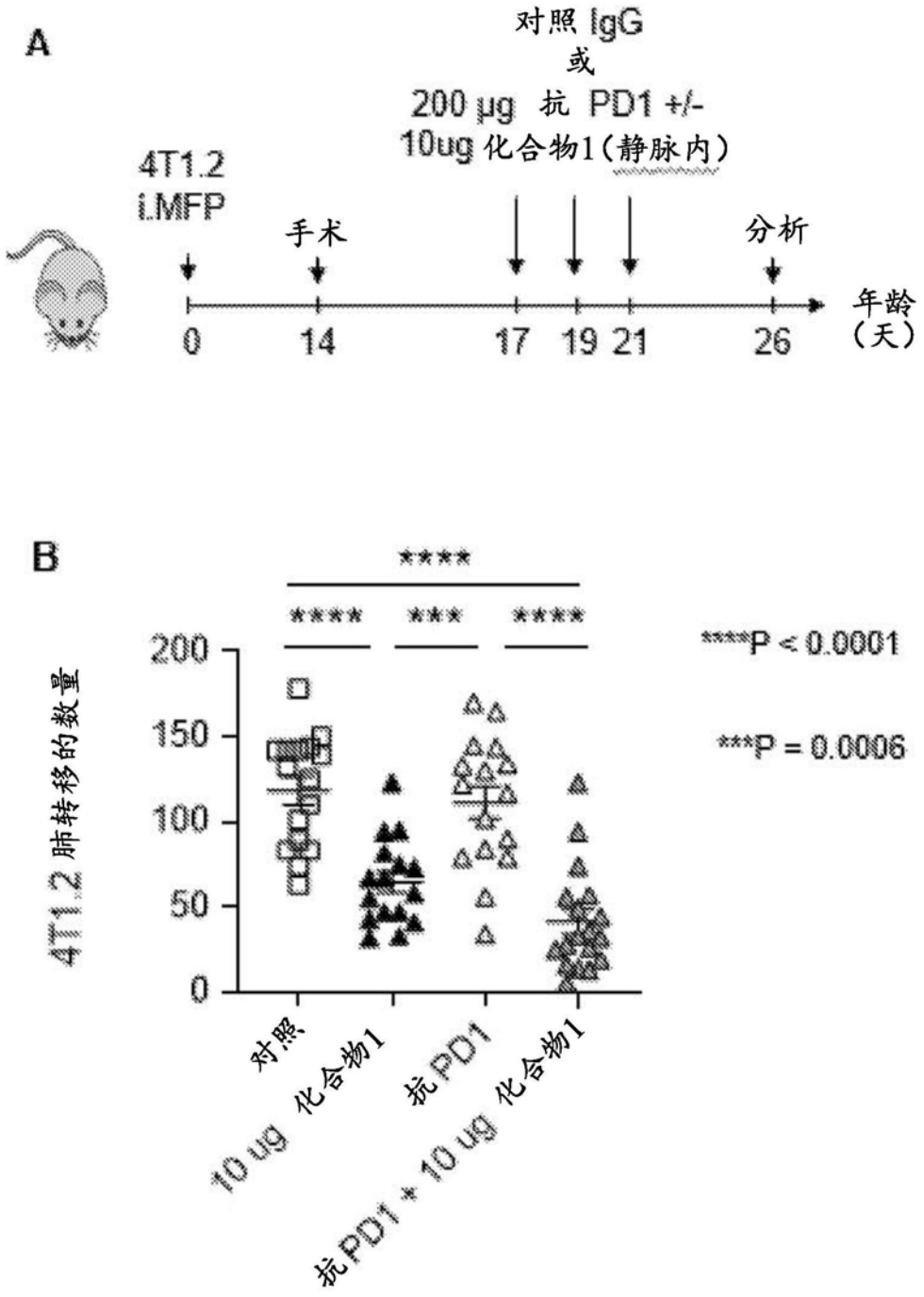

A
对照 IgG
或
200 μg 抗 PD1 +/-
10ug 化合物1(静脉内)
4T1.2
i.MFP
手术
分析
年龄
(天)
0
14
17
19
21
26
B
****
****
***
****
****P < 0.0001
***P = 0.0006
4T1.2 肺转移的数量
200
150
100
50
0
对照
10 ug 化合物1
抗PD1
抗PD1 + 10 ug 化合物1

图4

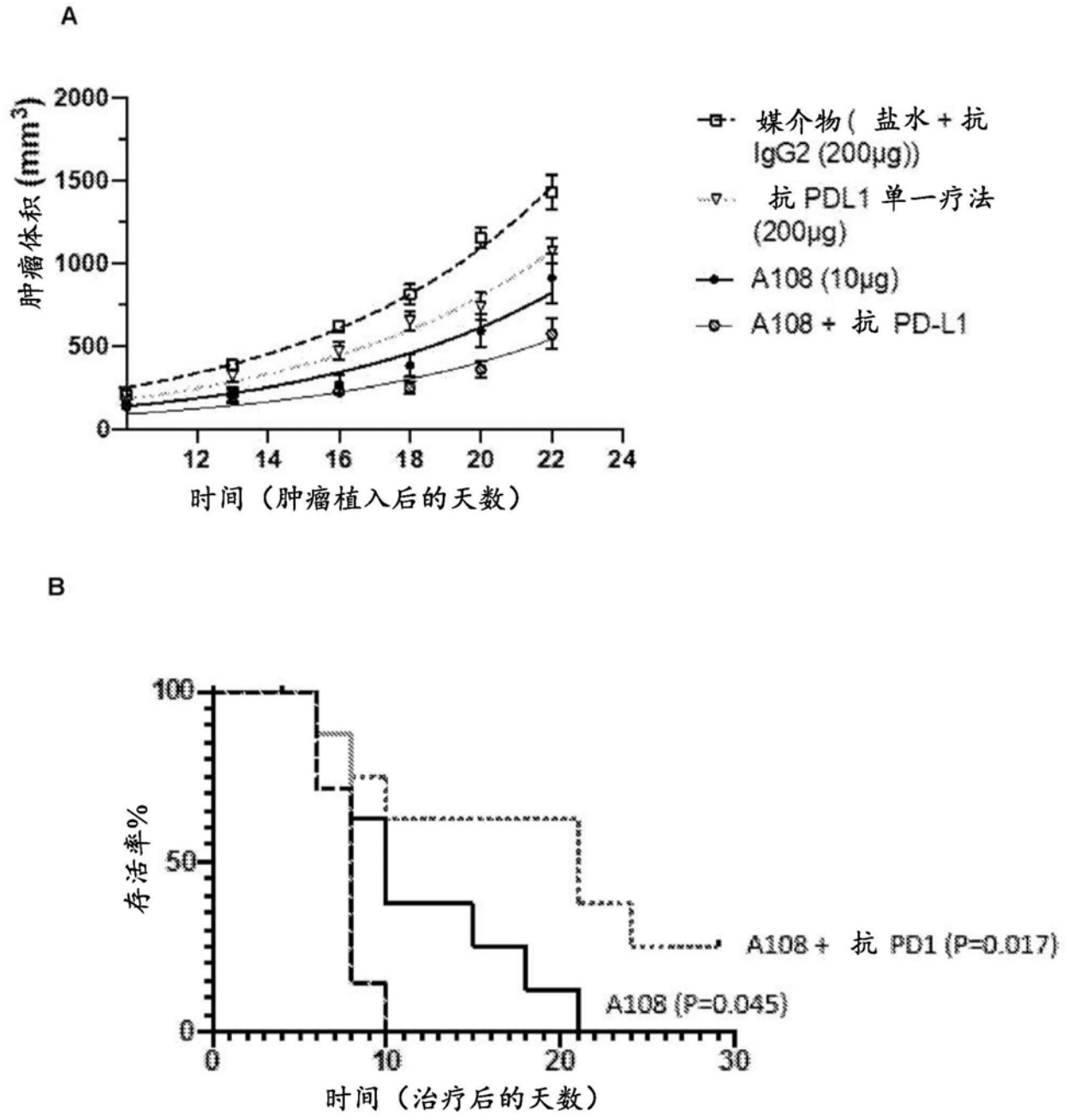
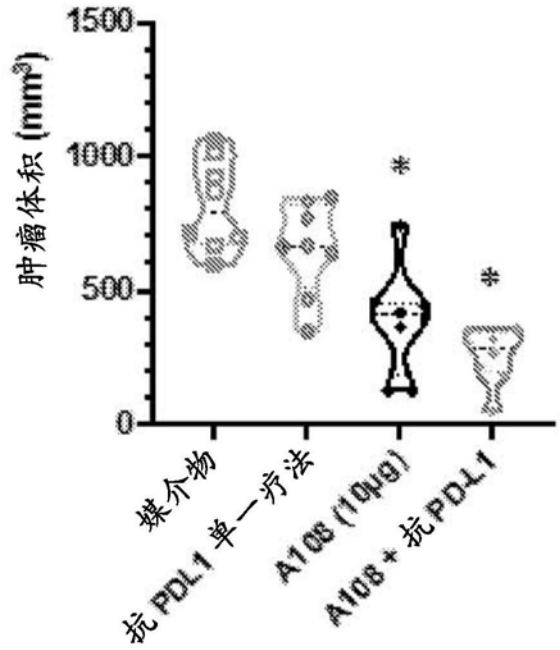

A
肿瘤体积 (mm^3)
2000
1500
1000
500
0
12
14
16
18
20
22
24
时间（肿瘤植入后的天数）
媒介物（ 盐水 + 抗 IgG2 (200μg))
抗 PDL1 单一疗法 (200μg)
A108 (10μg)
A108 + 抗 PD-L1
B
存活率%
100
50
0
0
10
20
30
时间（治疗后的天数）
A108 + 抗 PD1 (P=0.017)
A108 (P=0.045)

图5

C



* $p < 0.001$ 单向方差分析与媒介物

图5续

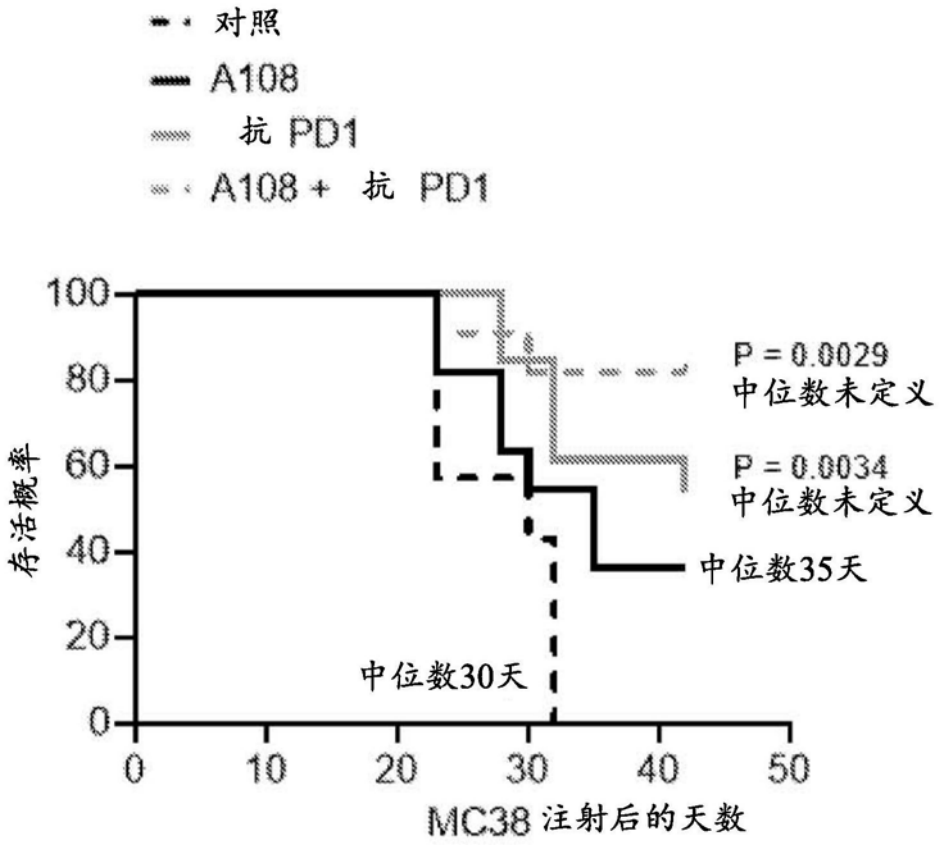

对照
A108
抗 PD1
A108 + 抗 PD1
存活概率
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
MC38 注射后的天数
P = 0.0029
中位数未定义
P = 0.0034
中位数未定义
中位数35天
中位数30天

图6

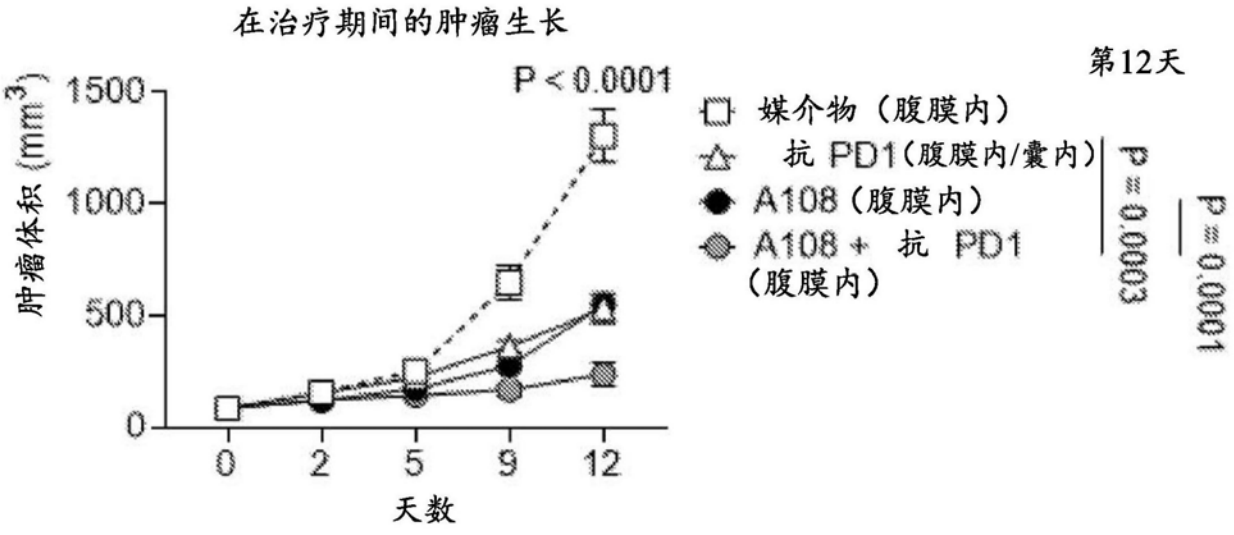
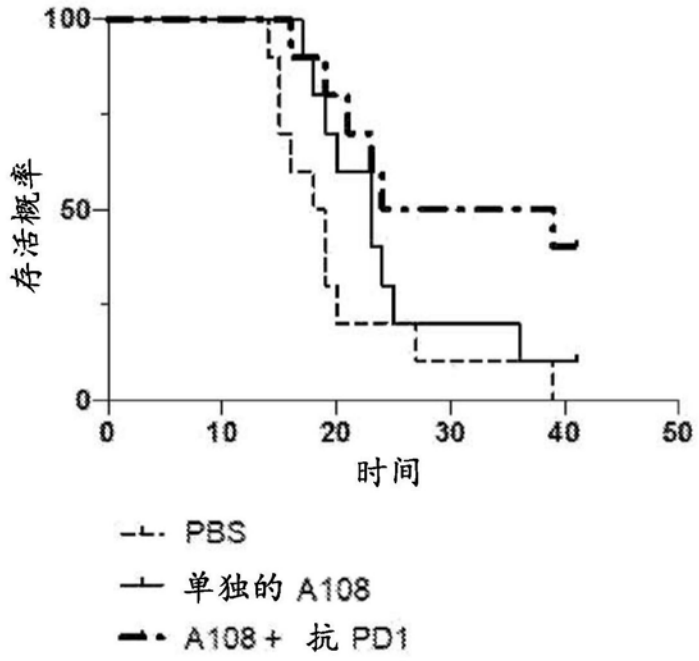

在治疗期间的肿瘤生长
肿瘤体积 (mm3)
1500
1000
500
0
0
2
5
9
12
天数
P < 0.0001
第12天
媒介物（腹膜内）
抗 PD1(腹膜内/囊内)
A108（腹膜内）
A108 + 抗 PD1
（腹膜内）
P = 0.0003
P = 0.0001

图7

A


100
50
0
存活概率
0
10
20
30
40
50
时间
PBS
单独的 A108
A108 + 抗 PD1

B

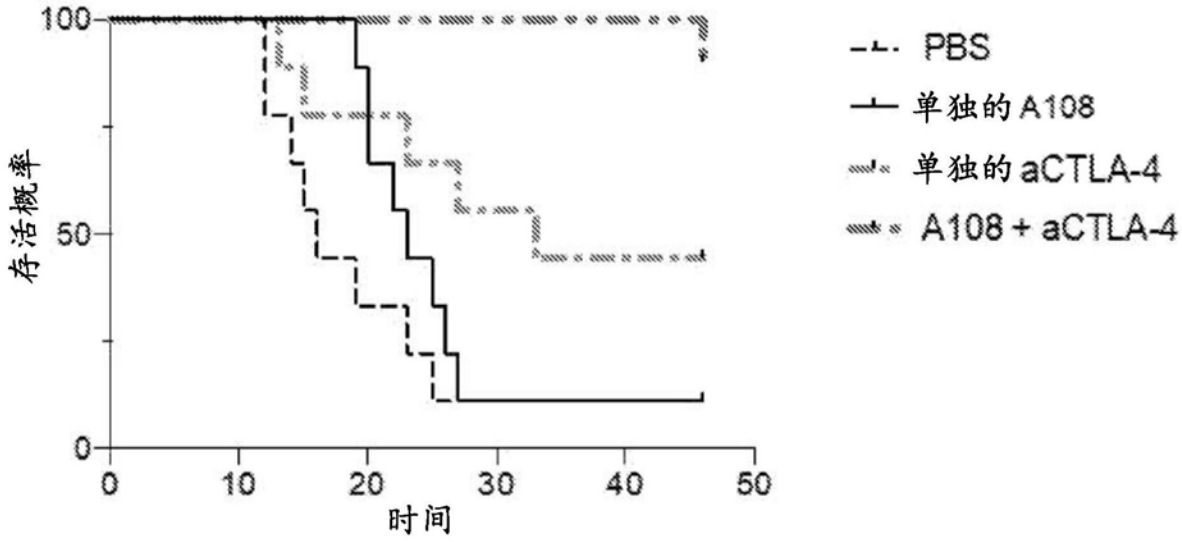

100
50
0
存活概率
0
10
20
30
40
50
时间
PBS
单独的A108
单独的aCTLA-4
A108 + aCTLA-4

图8

C

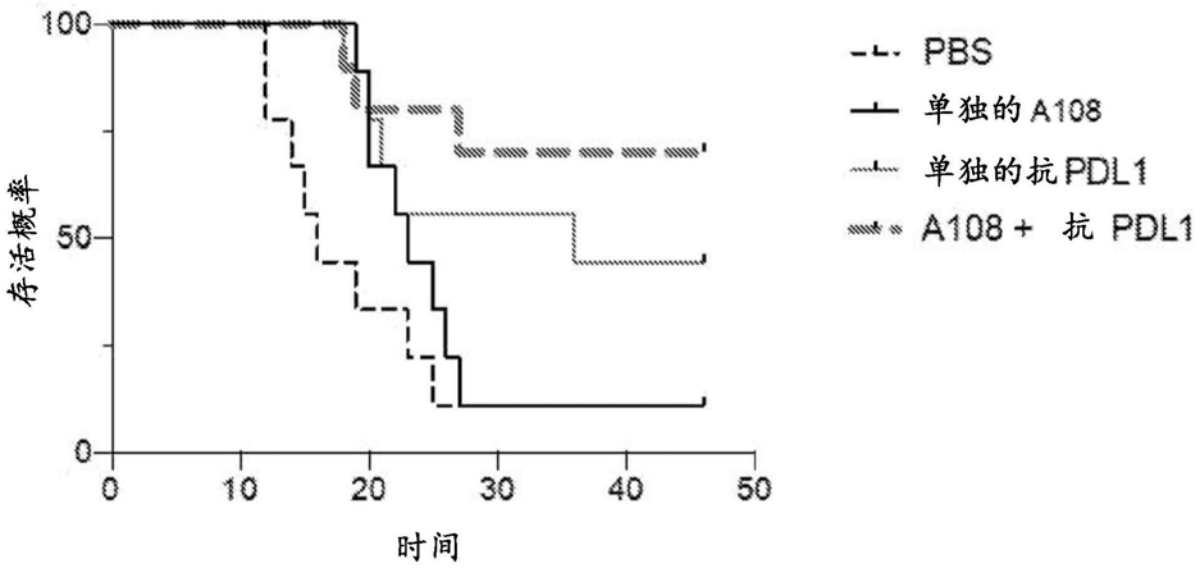

100
50
0
存活概率
0
10
20
30
40
50
时间
PBS
单独的A108
单独的抗PDL1
A108 + 抗 PDL1

图8续

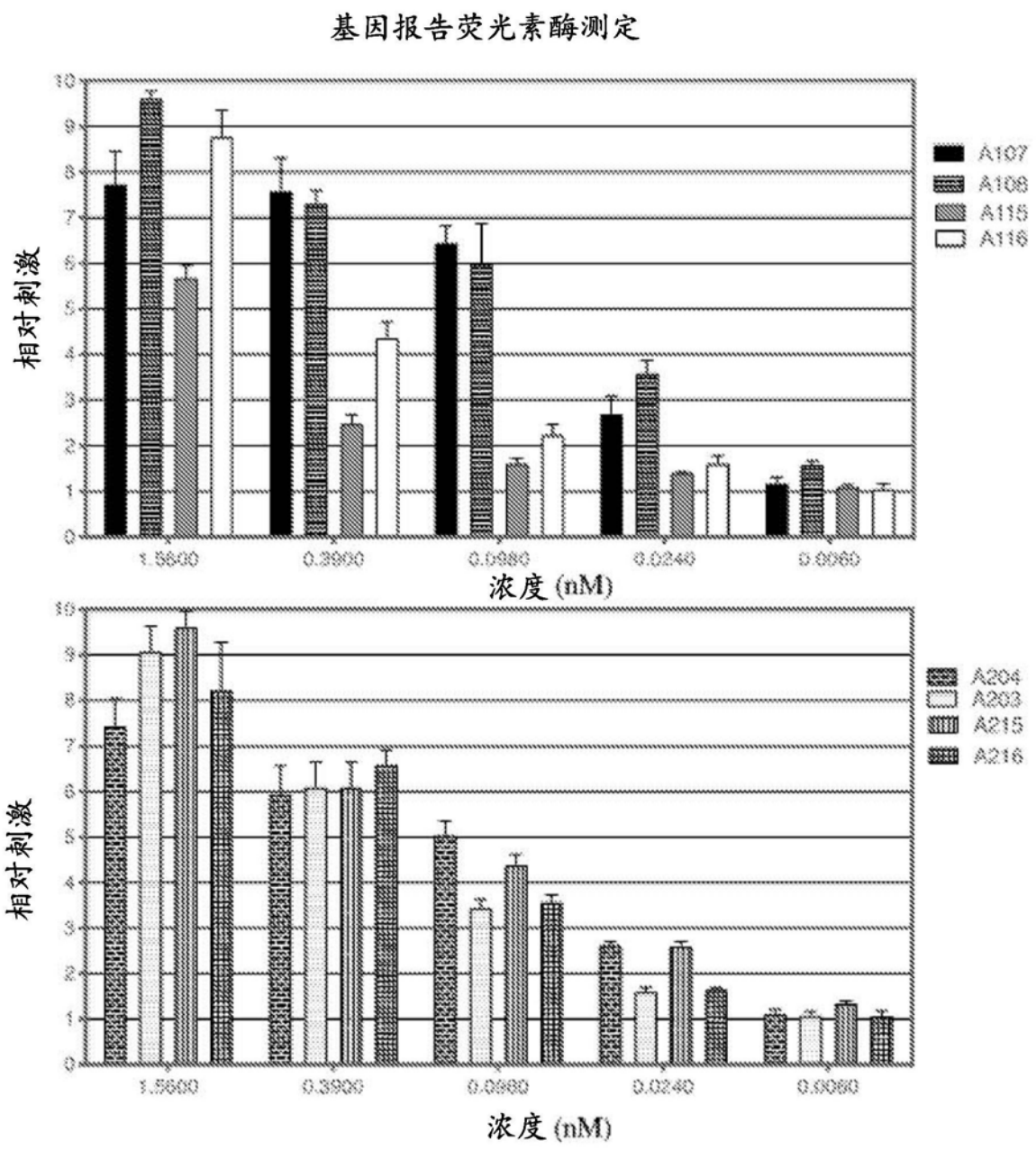

基因报告荧光素酶测定
相对刺激
浓度 (nM)
A107
A108
A115
A116
A204
A203
A215
A216

图9