

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年6月10日 (10.06.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/110121 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 31/435 (2006.01) C07D 211/86 (2006.01)
A61K 31/34 (2006.01) C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/16 (2006.01) C07D 307/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07D 309/04 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/133799

(22) 国际申请日: 2020年12月4日 (04.12.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201911234509.1 2019年12月5日 (05.12.2019) CN

(71) 申请人: 基石药业(苏州)有限公司(CSTONE PHARMACEUTICALS (SUZHOU) CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市苏州工业园区星湖街218号A1楼E168单元, Jiangsu 215123 (CN)。

(72) 发明人: 李振虎(LI, Zhenhu); 中国江苏省苏州市苏州工业园区星湖街218号A1楼E168单元, Jiangsu 215123 (CN)。 李富(LI, Fu); 中国江苏省苏州市苏州工业园区星湖街218号A1楼E168单元, Jiangsu 215123 (CN)。 任兆翔(REN, Zhaoxiang); 中国江苏省苏州市苏州工业园区星湖街218号A1楼E168单元, Jiangsu 215123 (CN)。

(74) 代理人: 北京市柳沈律师事务所(LIU, SHEN & ASSOCIATES); 中国北京市海淀区彩和坊路10号1号楼10层, Beijing 100080 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,

BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: HDAC6 SELECTIVE INHIBITOR AND COMBINATION THERAPY THEREOF

(54) 发明名称: HDAC6选择性抑制剂及其组合疗法

(57) Abstract: A treatment method for treating the condition of a subject who benefits from modulating the immune function, the method comprising administering to the subject a pharmaceutically effective amount of an HDAC6 selective inhibitor. The present invention also relates to a combination therapy, which comprises administering to the subject a pharmaceutically effective amount of an HDAC6 selective inhibitor and one or more therapeutic agents. Further provided is a therapeutic combination, which contains: (1) an HDAC6 selective inhibitor, and (2) one or more therapeutic agents; the therapeutic combination can be separately, simultaneously, or sequentially administered to individuals in need so as to treat or prevent conditions in subjects who benefit from modulating the immune function. The present invention also relates to a composition, a drug, a preparation, or a kit, which contains: (1) an HDAC6 selective inhibitor; and (2) one or more therapeutic agents.

(57) 摘要: 用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的治疗方法, 其包括向所述受试者施用药学有效量的HDAC6选择性抑制剂。还涉及一种组合疗法, 其包括向所述受试者施用药学有效量的HDAC6选择性抑制剂和一种或多种治疗剂。还提供了一种治疗组合, 其包含: (1)HDAC6选择性抑制剂, 和(2)一种或多种治疗剂; 其可用于分别、同时或顺序向有需要的个体施用以治疗或预防受益于调节免疫功能的受试者病症。还涉及一种组合物、药物或者制剂或者试剂盒, 其包含: (1)HDAC6选择性抑制剂; (2)一种或多种治疗剂。

WO 2021/110121 A1

HDAC6 选择性抑制剂及其组合法

技术领域

本发明涉及用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的治疗方法，其
5 包括向所述受试者施用药学有效量的 HDAC6 选择性抑制剂。本发明还涉及
一种组合法，其包括向所述受试者施用药学有效量的 HDAC6 选择性抑制
剂 and 一种或多种治疗剂。本发明还提供了一种治疗组合，其包含：(1) HDAC6
选择性抑制剂，和(2)一种或多种治疗剂；其可用于分别、同时或顺序向有需
要的个体施用以治疗或预防受益于调节免疫功能的受试者病症。本发明还涉
10 及一种组合物、药物或者制剂或者试剂盒，其包含：(1) HDAC6 选择性抑制
剂；(2)一种或多种治疗剂。

背景技术

多发性骨髓瘤(MM)是一种 B 细胞恶性肿瘤，其特征为与免疫球蛋白高
15 产量相关的骨髓(BM)浆细胞的增殖。尽管可以进行治疗，但 MM 被认为无
法治愈，所有骨髓瘤患者的 5 年总生存率仅为 42%。蛋白酶体抑制剂包括硼
替佐米(Bortezomib)、卡非佐米(Carfilzomib)、伊沙佐米(Ixazomib)和美瑞佐
米(Marizomib)，它们可阻断多泛素化错误折叠的蛋白质的降解，诱导 ER 应
激并触发 MM 细胞的凋亡，是多发性骨髓瘤治疗的治疗基础。但是，该疾病
20 可通过未明确定义的机制而变得耐药。在这些候选药物中，组蛋白去乙酰化
酶(HDACs)抑制剂已在临床上显示出有希望的功效。HDAC 抑制剂大致分为
两类，泛 HDAC (Pan-HDAC)抑制剂和 I 类 HDAC 抑制剂。泛 HDAC 抑制剂
同时抑制 I 类(HDAC 1、2、3 和 8)和 IIb 类(HDAC 6 和 10)酶，I 类 HDAC
抑制剂仅抑制 I 类酶。此后，已对 I 类 HDAC 抑制剂进行了测试并显示出功
25 效，但其仍具有血液学毒性和剂量限制的不良反应。几项研究报告称非选择
性 HDACi 的急性毒性主要是通过 I 类 HDAC 抑制引起的。因此，泛 HDAC
抑制剂或 I 类 HDAC 抑制剂的毒性问题仍然是临床成功使用的障碍。

HDAC6 作为分子伴侣，在调节聚集体功能中起作用，并影响包括 α -微
管蛋白(tubulin)在内的几种蛋白质的乙酰化状态，这对于微管稳定性和功能
30 的调节十分重要。据报道，在 B 细胞和 T 细胞淋巴瘤中 HDAC6 过表达，且
其通过选择性 HDAC6 抑制剂的抑制作用已在淋巴瘤和 MM 的临床前模型中

证明具有活性。免疫疗法是治疗过度受益于调节免疫功能的受试者病症的一种方法。在各种类型的癌症免疫疗法的开发中，科学家和临床医生遇到的主要障碍是打破对自身抗原(癌症)的耐受性，以便引发强有力的抗肿瘤反应，从而导致肿瘤消退。与传统的靶向肿瘤的小分子和大分子药物的开发不同，
5 癌症免疫疗法靶向免疫系统的细胞，这些细胞具有产生效应细胞记忆库的潜力，以诱导更持久的作用并使复发最小化。

程序性死亡 1(PD-1)受体和 PD-1 配体 1 和 2(分别为 PD-L1 和 PD-L2)在免疫调节中起着不可或缺的作用。在激活的 T 细胞上表达的 PD-1 被 PD-L1(也称为 B7-H 1)激活，并由基质细胞、肿瘤细胞或两者表达的 PD-L2
10 激活，从而引发 T 细胞死亡和局部免疫抑制为肿瘤的发展和生长提供免疫耐受的环境。相反，在非临床动物模型中抑制这种相互作用可以增强局部 T 细胞反应并介导抗肿瘤活性。

尽管在癌症的治疗方面有许多最新进展，但是仍然需要对遭受癌症影响的个体进行更有效和/或增强的治疗。本发明涉及用于治疗受益于调节免疫功
15 能的受试者病症的治疗方法；本发明还涉及一种组合疗法；本发明还提供了一种治疗组合，其可用于分别、同时或顺序向有需要的个体施用以治疗或预防受益于调节免疫功能的受试者病症；本发明还涉及一种组合物、药物或者制剂或者试剂盒。

20 发明概述

针对以上技术问题，我们发现，选择性 HDAC6 抑制剂有望预防在泛 HDAC 抑制剂中观察到的严重毒性，并为临床提供更广阔的治疗窗口。具体而言，我们发现选择性 HDAC6 抑制剂在治疗癌症方面，尤其是 HDAC 抑制
25 方面具有独特的特征：具有与蛋白酶体抑制剂协同作用和通过活化髓样细胞增加免疫检查点抗肿瘤功能的双重功能。我们还发现，选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂的组合协同增强了抗肿瘤功能，尤其是抗多发性骨髓瘤的功能。可用于本发明组合中的 HDAC6 抑制剂已在公开的 PCT 专利申请 WO2018/130155 中一般性地和具体地描述，该申请以引用方式并入本文。

本发明涉及一种用于受益于调节免疫功能的受试者病症的方法，其包括
30 向所述受试者施用药学有效量的 HDAC6 选择性抑制剂。

本发明还涉及一种用于受益于调节免疫功能的受试者病症的方法，其包

括向所述受试者施用药学有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂。

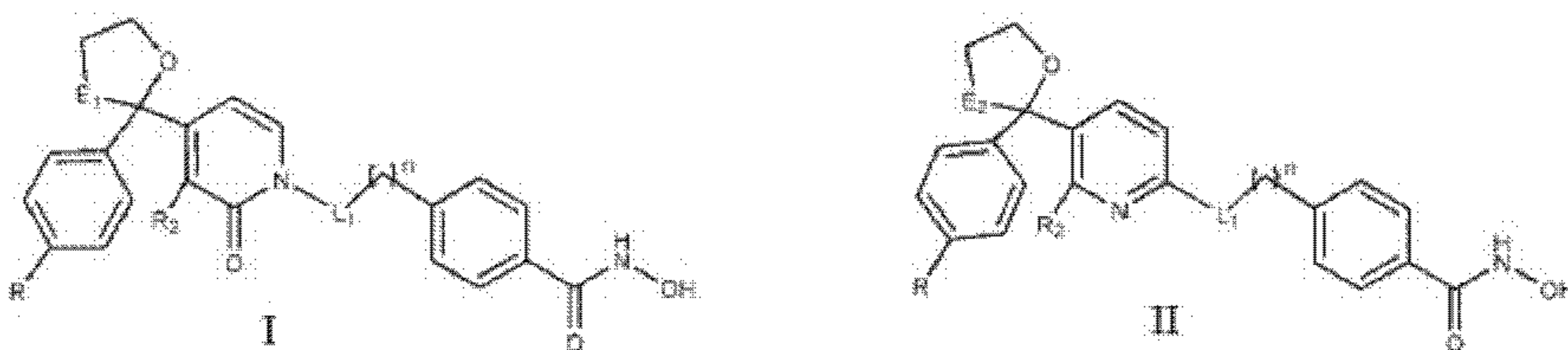
5 本发明还提供了一种治疗组合，其包含：(1)选择性 HDAC6 抑制剂，和 (2)一种或多种治疗剂；其可用于分别、同时或顺序向有需要的个体施用以治疗或预防受益于调节免疫功能的受试者病症。在一个实施方案中，本发明涉及一种包含选择性 HDAC6 抑制剂的组合物、药物或制剂，其与一种或多种治疗剂组合使用，用于治疗治疗受益于调节免疫功能的受试者病症。在一个实施方案中，本发明还涉及一种组合物、药物或者制剂，其包含：(1)选择性 HDAC6 抑制剂； (2)一种或多种治疗剂。

10 本发明还提供了一种试剂盒，其包括第一容器、第二容器和包装插页，其中第一容器包含至少一个剂量的药物，该药物包含选择性 HDAC6 抑制剂，第二容器包含至少一个剂量的药物，该药物包含第二种治疗剂。

15 本发明还涉及选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂的组合在制备用于治疗用于受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途。在一个实施方案中，本发明涉及选择性 HDAC6 抑制剂在制备用于治疗用于受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途，所述选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂组合。在另一个实施方案中，本发明涉及一种或多种治疗剂在制备用于治疗用于受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途，所述一种或多种治疗剂和选择性 HDAC6 抑制剂组合。

20 在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂与一种或多种治疗剂同时、分别或顺序向该受试者施用。

25 在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为式(I)和式(II)所示化合物，或其药学上可接受的盐或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物，



其中，

L1 选自：单键、-NH-、-C(=O)-NH-;

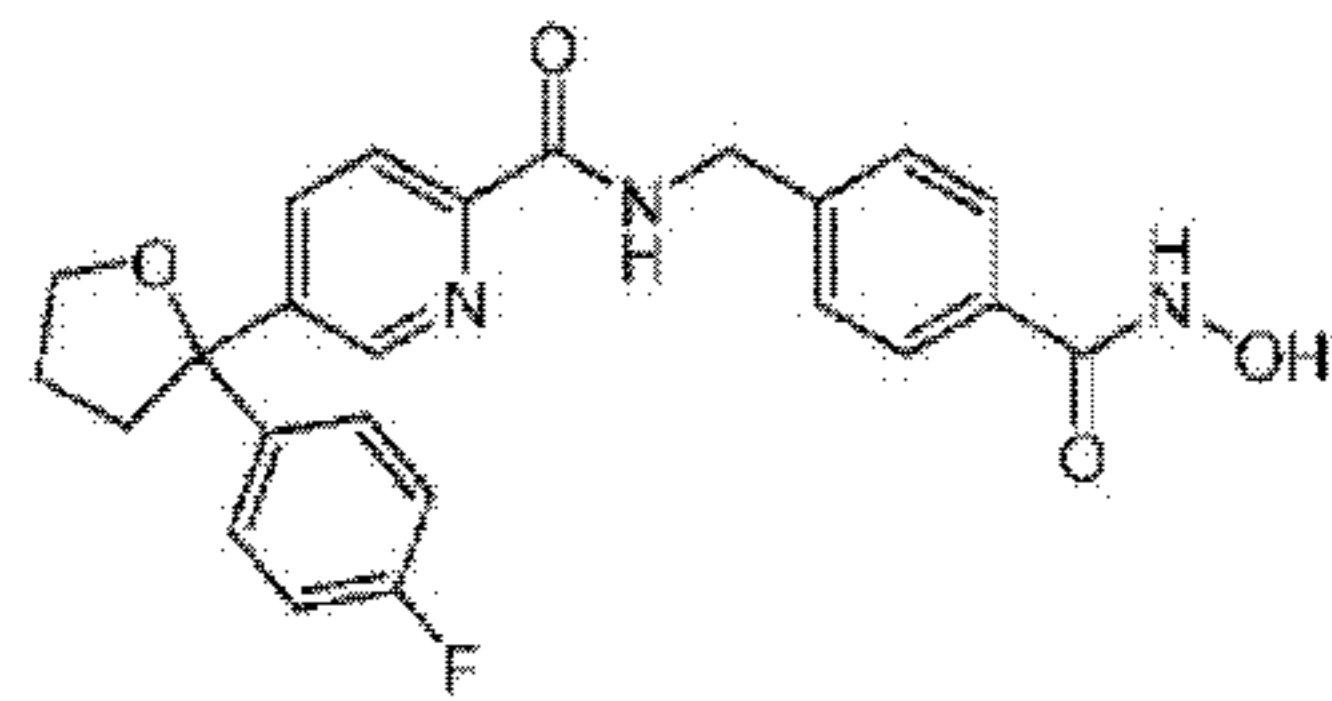
E₁、E₂ 选自 -O-、-CH₂-和-CH₂-CH₂-;

R₂ 选自：H、F、Cl、Br、I;

R 选自：F、Cl、Br、I;

5 n 选自：0 或 1。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为式 A 的化合物或其药学上可接受的盐或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物：



式 A。

10

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述一种或多种治疗剂为 PD-1 轴结合拮抗剂或者蛋白酶体抑制剂；

15 优选的，PD-1 轴结合拮抗剂选自 PD-1 结合拮抗剂，PD-L1 结合拮抗剂和 PD-L2 结合拮抗剂；更优选的，PD-1 轴结合拮抗剂是抗体或其抗原结合片段；尤其优选地，该抗体是抗 PD-1 抗体；最优选地，该抗体是单克隆抗体；

优选的，所述蛋白酶体抑制剂为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

20 在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段结合于 PD-1 的一个表位，所述表位包含：SEQ ID NO：24 上第 128、129、130、131 和 132 位点氨基酸和第 35、64、82、83 位中至少一个氨基酸；

25 优选的，所述抗体或其抗原结合片段结合于人 PD-1 和鼠 PD-1 的一个表位，其中，所述表位包括 SEQ ID NO：24 上第 128、129、130、131 和 132 位点氨基酸。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含一个氨基酸序列，所述氨基酸序列与选自由

SEQ ID NOs : 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性，其中所述抗体特异性结合 PD-1；优选的，所述抗体或其抗原结合片段包含一个氨基酸序列，所述氨基酸序列选自 SEQ ID NOs : 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列。

5 在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含：

a)重链可变区，其具有的氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 1 和 SEQ ID NO : 2 所组成的组

中的序列或与其具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性的序列；

10 以及

b)轻链可变区，其具有的氨基酸序列选自 SEQ ID NOs : 3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的

组中的序列或与其具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性的序列，其中所述抗体特异性结合 PD-1。

15 更优选的，所述抗体或其抗原结合片段包含：

a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及

b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 3 所示的序列。

在上述的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含互补决定区(CDR)，其具有的氨基酸序列选自 SEQ ID NOs : 10-23 所组成的组中的序列，其中所述抗体特异性结合 PD-1；

优选的，所述抗体包含：

a)重链可变区 CDR1，序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列，

b)重链可变区 CDR2，序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列，

25 c)重链可变区 CDR3，序列包含选自 SEQ ID NO : 13 所示的氨基酸序列，

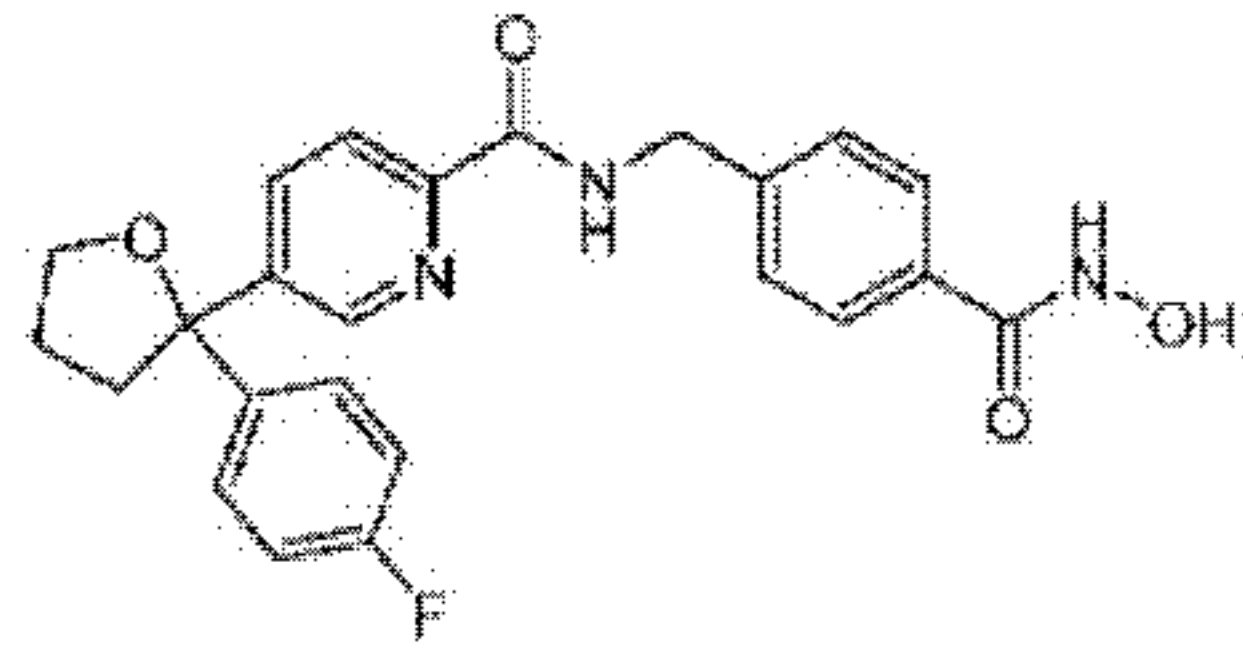
d)轻链可变区 CDR1，序列包含选自 SEQ ID NO : 14 所示的氨基酸序列，

e)轻链可变区 CDR2，序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列，

f)轻链可变区 CDR3，序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的一个实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为式 A 化合物或对映异构体、非对映异构

体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物：



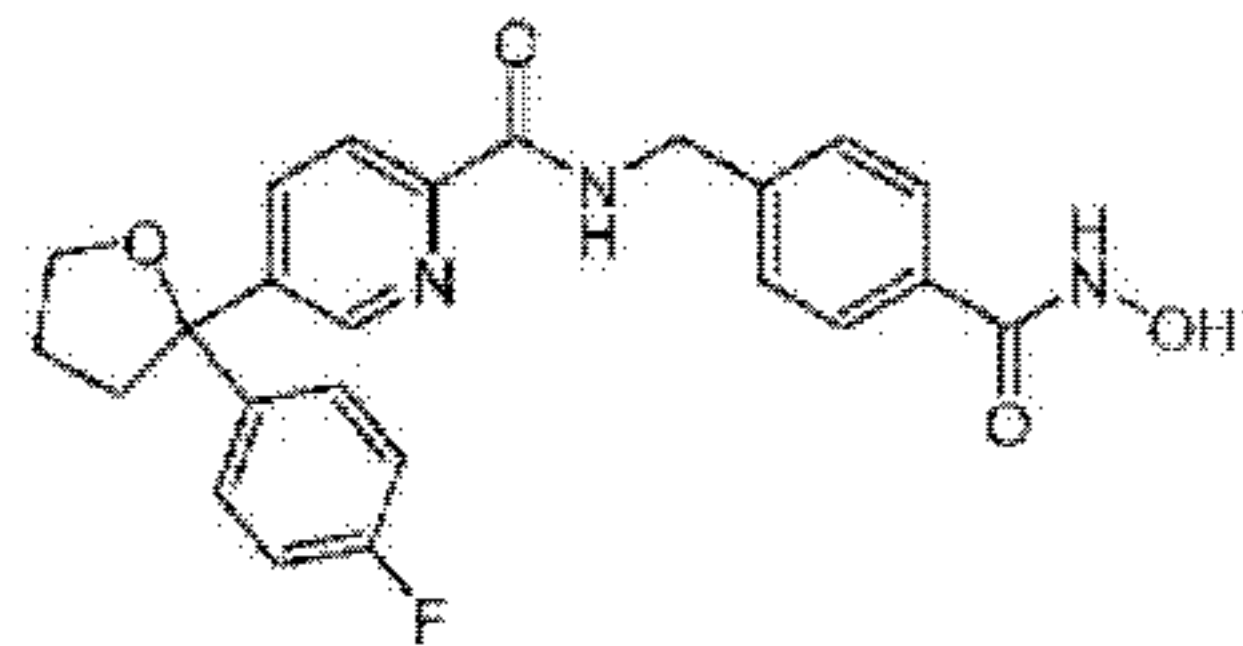
式 A；

所述一种或多种治疗剂为抗体或其抗原结合片段，其为抗体 2E5，包含：

- 5 a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：2 所示的序列；以及
b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：3 所示的序列，
其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在上述的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的一个实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为下式化合物或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物：

10



式 A

并且，所述一种或多种治疗剂为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

15

附图说明

图 1 为式 A 化合物和 ACY-1215 的化学结构。

图 2 显示式 A 化合物与伊沙佐米组合对 MM.1S 异种移植模型的肿瘤生长的影响。

20 图 3 为 MM.1S 肿瘤组织的 Ac- α -微管蛋白和 Ac-H3K9 蛋白表达水平。

图 4 显示式 A 化合物与抗体 2E5 组合对 CT26 同系模型的肿瘤生长的影响。

图 5 显示式 A 化合物的 PBMC 介导的 HCT116 细胞、MCF-7 细胞、NCI-H292 或 HuH-7 细胞杀伤效果。

图 6 显示用 PCA 分析进行 RNA 转录组分析, 结果表明 A 化合物与其他 HDAC 抑制剂不同的基因表达模式。

图 7 显示用 GO 富集分析进行 RNA 转录组分析, 结果表明式 A 化合物特异性调节不同适应症细胞系中的免疫细胞功能。

5 图 8 显示用 GO 富集分析进行 RNA 转录组分析, 结果表明式 A 化合物诱导的不同表达基因可以在 Daudi 和 HT-29 细胞的髓样细胞分化途径中富集。

图 9 显示式 A 化合物激活了髓样细胞并增加了 M1/M2 比率。

发明详述

10 定义

为使本发明可更容易理解, 在下文中具体地定义某些技术和科学术语。除非在本文件中其他地方具体地定义, 否则本文所使用的所有其他技术和科学术语均具有本领域普通技术人员通常所理解的含义。

15 术语“约”或“大概”应具有在指定值或范围的 10% 内, 优选在 5% 内的含义。

除非在本文中另外说明或与上下文明显矛盾, 否则如本文(包括随附的权利要求书)所用, 词语的单数形式诸如“一 (a/an)”和“该(the)”应理解为涵盖单数和复数形式。

20 “组合”“治疗组合”或“药物组合”以及相关术语是指同时或依次给药本发明的药物或治疗剂。例如, 本文所述的 HDAC6 可以与另一治疗剂例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段以分开的单位剂型同时或依次给药, 或与另一治疗剂一起呈单一单位剂型同时给药。

除非另外说明或通过原文明确指出, 否则关于可用于“本发明组合”中的药物或者治疗剂包含化合物的游离碱和化合物的所有药学上可接受的盐。

25 术语“药学有效量”或“临床有效量”或“治疗有效量”是指足以提供在病症的临床基线上观察得到的症候和症状方面具有可观察到的改进的量。

30 术语“药学上可接受的”在本文中定义为那些在合理医学判断范围内适合接触个体(例如哺乳动物或人)的组织而不会产生过量毒性、刺激过敏反应和其他并发症问题且具有与之相称的合理的效益/风险比的化合物、材料、组合物和/或剂型。

“施用”或“给药”在其应用于动物、人类、实验受试者、细胞、组织、

器官或生物流体时是指外源性药物、治疗剂、诊断剂或组合物与受试者、细胞、组织、器官或生物流体的接触。

本文中所使用的术语“共同施用”或“组合施用”定义为涵盖向单个患者施用所选治疗剂，且意指包括药物不一定通过相同途径施用或同时施用的
5 治疗方案。

本文中所使用的术语“治疗”包括缓解、减轻或降低个体的至少一种症状或影响疾病进展延迟的治疗。例如，治疗可以是消除病症的一或数个症状或完全根除病症(例如癌症)。在本发明的含义中，术语“治疗”也表示阻止、延迟发病(即出现疾病的临床表现前的时间)和/或降低疾病发展或恶化的风
10 险。术语“保护”在本文中指预防、延迟或治疗(或适当时全部)个体疾病的发展或持续或加剧。

给药的“受试者”包括但不限于：人(即，任何年龄组的男性或女性，例如，儿科受试者(例如，婴儿、儿童、青少年)或成人受试者(例如，年轻的成人、中年的成人或年长的成人))和/或非人的动物，例如，哺乳动物，例如，
15 灵长类(例如，食蟹猴、恒河猴)、牛、猪、马、绵羊、山羊、啮齿动物、猫和/或狗。在一些实施方案中，受试者是人。在一些实施方案中，受试者是非人动物。本文可互换使用术语“人”、“患者”和“受试者”。

术语“细胞增殖性病症”和“增殖性病症”指与一定程度的异常细胞增殖有关的病症。在一个实施方案中，细胞增殖性病症指癌症。在一个实施方案中，
20 细胞增殖性病症是肿瘤。

“肿瘤”在用于本文时指所有赘生性(neoplastic)细胞生长和增殖，无论是恶性的还是良性的，及所有癌前(pre-cancerous)和癌性细胞和组织。术语“癌症”、“癌性”、“细胞增殖性病症”、“增殖性病症”和“肿瘤”在本文中提及时并不互相排斥。

术语“癌症”和“癌性”指向或描述哺乳动物中特征通常为细胞生长不受调节的生理疾患。癌症的例子包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体例子包括但不限于鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌、
25 和肺的鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌和胃肠基质癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、尿道癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前
30

列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌、黑素瘤、浅表扩散性黑素瘤、恶性雀斑样痣黑素瘤、肢端黑素瘤、结节性黑素瘤、多发性骨髓瘤和 B 细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、小淋巴细胞性(SL)NHL、中级/滤泡性 NHL、中级弥漫性 NHL、高级成免疫细胞性 NHL、5 高级成淋巴细胞性 NHL、高级小无核裂细胞性 NHL、贮积病(bulky disease)NHL、套细胞淋巴瘤、AIDS 相关淋巴瘤、和瓦尔登斯特伦氏(Waldenstrom)巨球蛋白血症)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)、毛细胞性白血病、慢性成髓细胞性白血病、和移植后淋巴增殖性病征(PTLD), 以及与癩痣病(phakomatoses)、水肿(诸如与脑瘤有关的)和梅格斯氏(Meigs)综合征有关的异常血管增殖、脑瘤和脑癌, 以及头颈癌, 及相关转移。在某些实施方案中, 适合于通过本发明的抗体来治疗的癌症包括乳腺癌、结肠直肠癌、直肠癌、非小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、非何杰金氏淋巴瘤(NHL)、肾细胞癌、前列腺癌、肝癌、胰腺癌、软组织肉瘤、卡波西(Kaposi)氏肉瘤、类癌癌(carcinoid carcinoma)、头颈癌、卵巢癌、间皮瘤和多发性骨髓瘤。在一些实施方案中, 癌症选自: 小细胞肺癌、成胶质细胞瘤、成神经细胞瘤、黑素瘤、乳腺癌、胃癌、结肠直肠癌(CRC)和肝细胞癌。还有、在一些实施方案中、癌症选自: 非小细胞肺癌、结肠直肠癌、成胶质细胞瘤和乳腺癌, 包括那些癌症的转移性形式。

如本文中所使用, 术语“程序性死亡 1”、“程序性细胞死亡 1”、“蛋白 PD-1”、“PD-1”、“PD1”、“PDCD1”、“hPD-1”和“hPD-F”可互换使用, 20 并且包括变体、同种型、人 PD-1 的物种同源物和具有 PD-1 的至少一个共同表位的类似物。

“抗体”是能够经由至少一个位于免疫球蛋白分子的可变区中的抗原识别位点特异性结合至靶标诸如碳水化合物、多核苷酸、脂质、多肽的免疫球蛋白分子。如本文中所使用, 该术语不仅涵盖完整多克隆或单克隆抗体, 而且涵盖其片段(诸如 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、单链(scFv)和结构域抗体(包括例如鲨鱼和骆驼抗体)以及包含抗体的融合蛋白, 和包含抗原识别位点的免疫球蛋白分子的任何其他修饰的构型。抗体包括任何类别的抗体, 诸如 IgG、IgA 或 IgM (或其亚类), 且该抗体不必为任何特定类别。根据其重链的恒定 25 区的抗体氨基酸序列, 免疫球蛋白可被归为不同类别。存在五种主要类别的免疫球蛋白: IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM, 且这些中的几种可进一步分成

亚类(同种型), 例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2。对应于不同种类的免疫球蛋白的重链恒定区分别称为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。不同类别的免疫球蛋白的亚单位结构和三维构型是众所周知的。

如本文中所使用, 术语“抗体”包括完整抗体和任何抗原结合片段(即
5 “抗原结合部分”)或其单链。“抗体”是指包含至少两条重链(H)和两条轻链(L)并通过二硫键相互连接的, 或其抗原结合部分的蛋白质。每条重链由重链可变区(本文缩写为 VH)和重链恒定区组成。重链恒定区由三个结构域, CH1、CH2 和 CH3 组成。每条轻链由轻链可变区(本文缩写为 VL)和轻链恒定区的。
10 轻链恒定区由一个结构域 CL 组成。VH 和 VL 区可以进一步细分成高变区, 称为互补决定区(CDR), 与更保守的称为构架区(FR)的区域散布。每个 VH 和 VL 由三个 CDR 和四个 FR 组成, 从氨基末端到羧基末端以下面的顺序排列: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合结构域。

术语“抗体”, 在本申请中所用的是指免疫球蛋白或其片段或它们的衍
15 生物, 并且包括其包含的抗原结合位点的任何多肽, 而不管其是否是在体外或体内产生。该术语包括, 但不限于, 多克隆、单克隆、单特异性的、多特异性的、非特异性的、人源化、单链的、嵌合的、合成的、重组的、杂合的、突变的、嫁接的抗体。术语“抗体”还包括抗体片段例如 Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、dAb 和其它保留抗原结合功能的抗体片段, 即, 能够与 PD-1 的
20 特异性结合。通常情况下, 这样的片段将包括抗原结合片段。

如本文所使用的术语抗体的“抗原结合片段”或“抗原结合部分”是指保留与给定抗原特异性结合的能力的完整抗体的一个或多个片段。抗体的抗原结合功能可由完整抗体的片段执行。涵盖在术语抗体的“抗原结合片段”内的结合片段的实例包括 Fab; Fab'; F(ab')₂; 由 VH 结构域和 CH1 结构域组成的 Fd 片段; 由抗体的单臂的 VL 结构域和 VH 结构域组成的 Fv 片段; 单
25 结构域抗体(dAb)片段(Ward 等人, Nature 341:544-546, 1989)和分离的互补决定区(CDR)。术语“抗原结合片段”、“抗原结合结构域”和“结合片段”是指一种抗体分子, 其包含负责具体的抗体和抗原之间的结合的氨基酸。例如, 其中的抗原是大的, 抗原结合片段只结合抗原的一部分。即抗原分子中负责
30 与抗原结合片段特异性相互作用的部分被称为“表位”或“抗原决定簇”。

抗原结合片段通常包括抗体轻链可变区(VL)和抗体重链可变区(VH), 然

而，它不一定必须包括两者。例如，一个所谓的 Fd 抗体片段仅由 VH 结构域组成，但仍保留了完整抗体的一些抗原结合功能。

上述术语“表位”定义为抗原决定簇，其特异性结合/识别结合片段。结合片段可以特异性与针对靶结构独特的构象或连续表位进行结合/反应，例如人类 PD-1 和鼠 PD-1(小鼠或大鼠)。构象或不连续表位的特征在于多肽抗原在一级序列中是分离的两个或多个离散的氨基酸残基，但多肽折叠成天然蛋白/抗原时是一起聚集在分子的表面上的。表位的两个或多个离散的氨基酸残基存在于一个或多个多肽链的独立部分。当多肽链折叠成三维结构，这些残基聚集在分子表面以构成表位。与此相反，由两个或多个离散的氨基酸残基组成的连续或线性表位，其存在于多肽链的单个线性区段。

术语“结合 PD-1 的表位”是指抗体特异性结合 PD-1 的特定表位，其可通过直链氨基酸序列或 PD-1 的部分三维结构来定义结合。结合是指，对于 PD-1 的部分中的抗体的亲和力比其对其他相关多肽的亲和力显著更大。术语“基本上更大的亲和力”是指与其他相关多肽的亲和力相比，在对 PD-1 的部分的亲和性呈可测量的增加。优选地，对 PD-1 的特定部分的亲和力相比其他蛋白质至少是 1.5 倍、2 倍、5 倍、10 倍、100 倍、103 倍、104 倍、105 倍、106 倍或更大。优选地，结合亲和力是通过酶联免疫吸附测定(ELISA)，或通过荧光激活细胞分选(FACS)分析或表面等离子体共振(SPR)测定的。更优选地，结合特异性由荧光激活细胞分选(FACS)分析得到。

“同源性”是指当两个多肽序列最佳比对时在两个序列之间的序列相似性。当两个比较的序列的两者中的位置由相同氨基酸单体亚单位占据时，例如如果两个不同 Ab 的轻链 CDR 中的位置由丙氨酸占据时，则两个 Ab 在该位置处同源。同源性百分比是由两个序列共有的同源性位置的数目除以所比较的位置的总数目 X 100。例如，如果当序列最佳比对时，两个序列中的 10 个位置中的 8 个位置匹配或同源，则该两个序列是 80%同源的。通常，在两个序列被比对以产生最大同源性百分比时进行比较。例如，比较可通过 BLAST 算法进行，其中该算法的参数被选择以在各参考序列的完整长度上的各序列之间产生最大匹配。

术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐，由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱

与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机胺或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸

5 加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、碳酸氢根、磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸；还包括氨基

10 基酸(如精氨酸等)的盐，以及如葡萄糖醛酸等有机酸的盐(参见 Berge 等人, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science 66: 1-19 (1977))。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

优选地，以常规方式使盐与碱或酸接触，再分离母体化合物，由此再生

15 化合物的中性形式。化合物的母体形式与其各种盐的形式不同之处在于某些物理性质，例如在极性溶剂中的溶解度不同。

本文所用的“药学上可接受的盐”属于本发明化合物的衍生物，其中，通过与酸成盐或与碱成盐的方式修饰所述母体化合物。药学上可接受的盐的实例包括但不限于：碱(比如胺)的无机酸或有机酸盐、酸(比如羧酸)的碱金属

20 或有机盐等等。药学上可接受的盐包括常规的无毒性的盐或母体化合物的季铵盐，例如无毒的无机酸或有机酸所形成的盐。常规的无毒性的盐包括但不限于那些衍生自无机酸和有机酸的盐，所述的无机酸或有机酸选自 2-乙酰氧基苯甲酸、2-羟基乙磺酸、乙酸、抗坏血酸、苯磺酸、苯甲酸、碳酸氢根、碳酸、柠檬酸、依地酸、乙烷二磺酸、乙烷磺酸、富马酸、葡庚糖、葡萄糖、

25 谷氨酸、乙醇酸、氢溴酸、盐酸、氢碘酸盐、羧基、羧基、羧乙磺酸、乳酸、乳糖、十二烷基磺酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、硝酸、草酸、双羧基酸、泛酸、苯乙酸、磷酸、多聚半乳糖醛、丙酸、水杨酸、硬脂酸、亚乙酸、琥珀酸、氨基磺酸、对氨基苯磺酸、硫酸、单宁、酒石酸和对甲苯磺酸。

30 本发明的药学上可接受的盐可由含有酸根或碱基的母体化合物通过常规化学方法合成。一般情况下，这样的盐的制备方法是：在水或有机溶剂或

两者的混合物中，经由游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当的碱或酸反应来制备。一般地，优选醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈等非水介质。

除了盐的形式，本发明所提供的化合物还存在前药形式。本文所描述的化合物的前药容易地在生理条件下发生化学变化从而转化成本发明的化合物。此外，前体药物可以在体内环境中通过化学或生化方法被转换到本发明的化合物。

本发明的某些化合物可以以非溶剂化形式或者溶剂化形式存在，包括水合物形式。一般而言，溶剂化形式与非溶剂化的形式相当，都包含在本发明的范围之内。

本发明的某些化合物可以具有不对称碳原子(光学中心)或双键。外消旋体、非对映异构体、几何异构体和单个的异构体都包括在本发明的范围之内。

除非另有说明，术语“对映异构体”或者“旋光异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。

除非另有说明，术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。

除非另有说明，术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

除非另有说明，“(D)”或者“(+)”表示右旋，“(L)”或者“(-)”表示左旋，“(DL)”或者“(±)”表示外消旋。

本发明的化合物可以存在特定的。除非另有说明，术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指在室温下，不同官能团异构体处于动态平衡，并能很快的相互转化。若互变异构体是可能的(如在溶液中)，则可以达到互变异构体的化学平衡。例如，质子互变异构体(proton tautomer)(也称质子转移互变异构体 (prototropic tautomer))包括通过质子迁移来进行的互相转化，如酮-烯醇异构化和亚胺-烯胺异构化。价键异构体(valence tautomer)包括一些成键电子的重组来进行的相互转化。其中酮-烯醇互变异构化的具体实例是戊烷-2,4-二酮与 4-羟基戊-3-烯-2-酮两个互变异构体之间的互变。

除非另有说明，术语“富含一种异构体”、“异构体富集”、“富含一种对映体”或者“对映体富集”指其中一种异构体或对映体的含量小于 100%，并且，该异构体或对映体的含量大于等于 60%，或者大于等于 70%，或者大于等于

80%，或者大于等于 90%，或者大于等于 95%，或者大于等于 96%，或者大于等于 97%，或者大于等于 98%，或者大于等于 99%，或者大于等于 99.5%，或者大于等于 99.6%，或者大于等于 99.7%，或者大于等于 99.8%，或者大于等于 99.9%。

5 除非另有说明，术语“异构体过量”或“对映体过量”指两种异构体或两种对映体相对百分数之间的差值。例如，其中一种异构体或对映体的含量为 90%，另一种异构体或对映体的含量为 10%，则异构体或对映体过量(ee 值)为 80%。

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的
10 (R)-和(S)-异构体以及 D 和 L 异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团(如氨基)或酸性官能团(如羧基)时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的常规方
15 法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合(例如由胺生成氨基甲酸盐)。

本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚(³H)，碘-125(¹²⁵I)或 C-14(¹⁴C)。又例如，可用重氢取代氢形成氘代药物，氘与碳构成的键比普通氢与碳构成的键更坚固，相比于未氘化药物，氘代药物有降低毒
20 副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

25 “疾病”、“障碍”和“病症”在本文中可互换地使用。

除非另作说明，否则，本文使用的术语“治疗”包括受试者患有具体疾病、障碍或病症时所发生的作用，它降低疾病、障碍或病症的严重程度，或延迟或减缓疾病、障碍或病症的发展(“治疗性治疗”)，还包括受试者开始患有具体疾病、障碍或病症之前发生的作用(“预防性治疗”)。

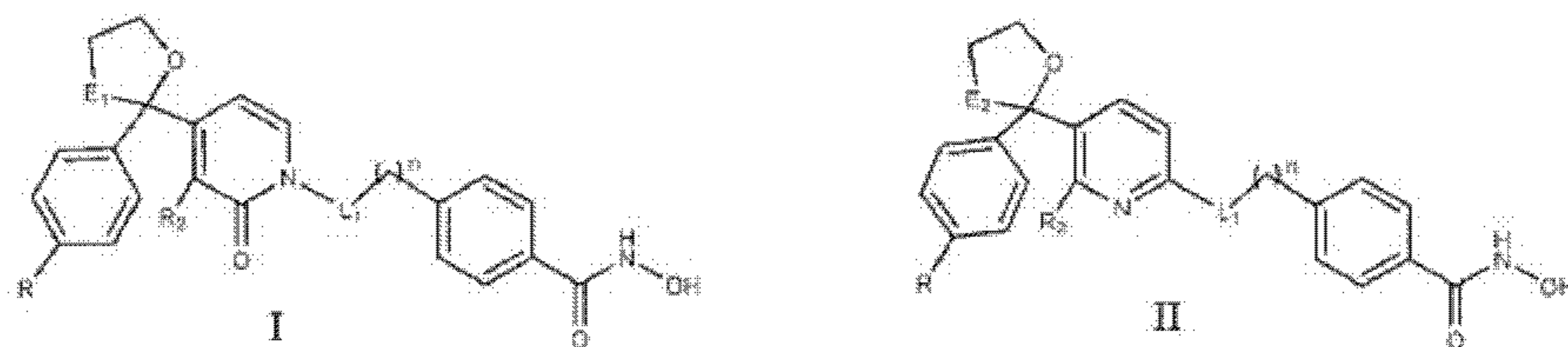
30

组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)抑制剂

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，本文所述的 HDAC 抑制剂可为任何 HDAC 抑制剂。因此，HDAC 抑制剂对于特定类型的组蛋白脱乙酰基酶可为选择性或非选择性的。优选地，HDAC 抑制剂是选择性 HDAC 抑制剂。更优选地，HDAC 抑制剂是 HDAC6 抑制剂。

5 可用于本发明组合中的 HDAC6 抑制剂已在公开的 PCT 专利申请 WO2018/130155 中一般性地和具体地描述，该申请以引用方式并入本文。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，本文所述的 HDAC6 抑制剂为式(I)和式(II)所示化合物，或其药学上可接受的盐或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、
10 前药或活性代谢物，



其中，

L1 选自：单键、-NH-、-C(=O)-NH-；

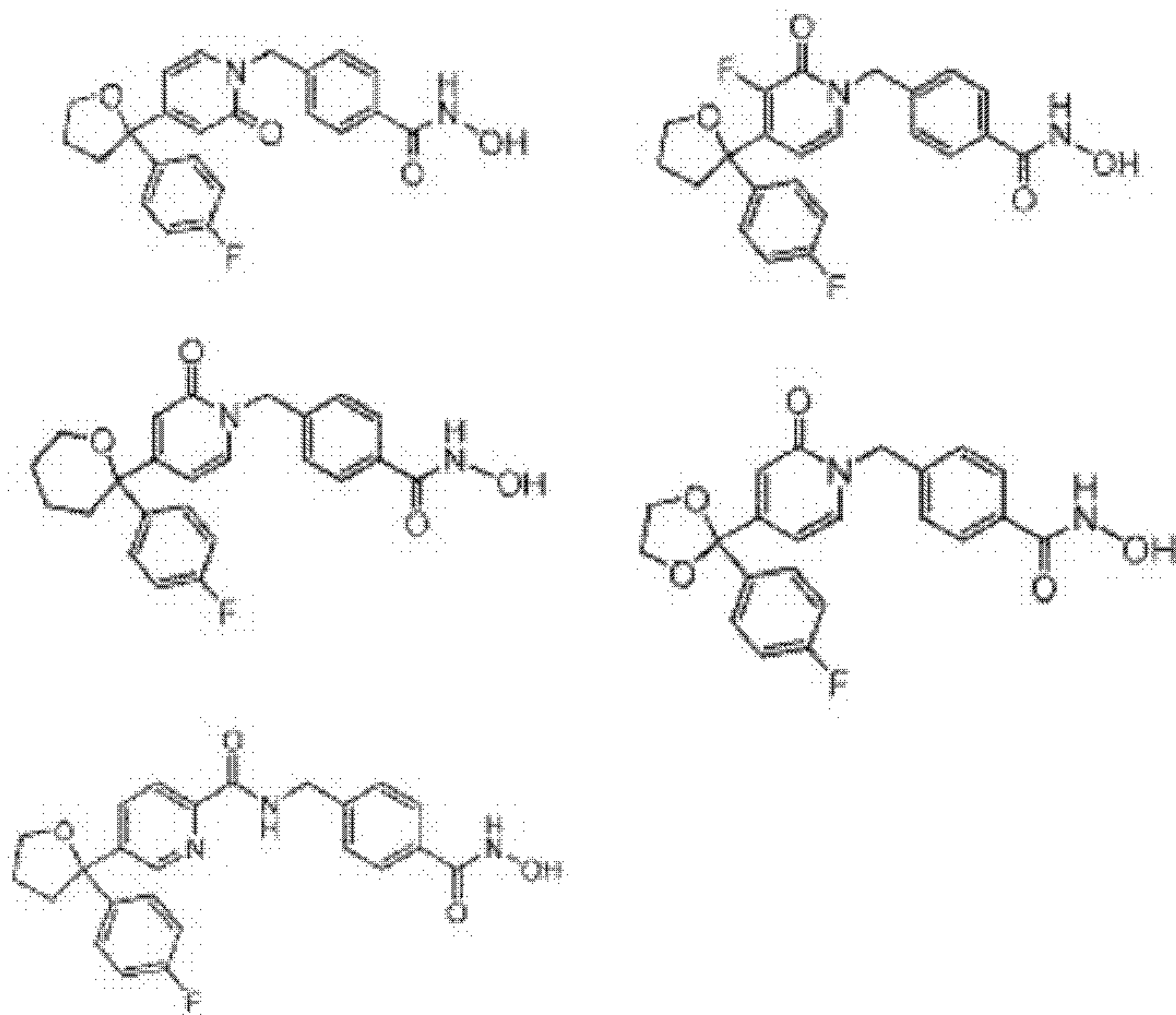
E₁、E₂ 选自 -O-、-CH₂-和 -CH₂-CH₂-；

15 R₂ 选自：H、F、Cl、Br、I；

R 选自：F、Cl、Br、I；

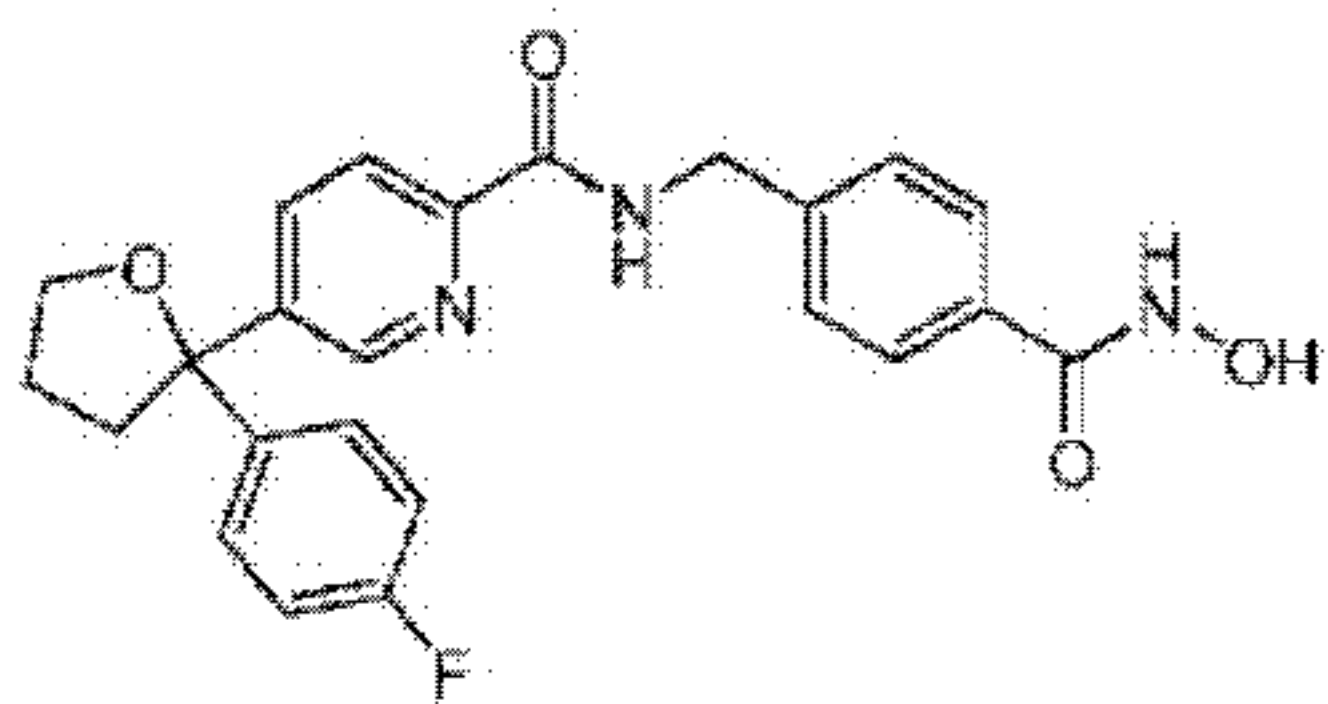
n 选自：0 或 1。

20 优选地，选择性 HDAC6 抑制剂为下列化合物或或其药学上可接受的盐或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物：



;

最优选地，所述选择性 HDAC6 抑制剂为如下式 A 化合物，或其药学上可接受的盐或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物：



5

式 A。

PD-1 轴结合拮抗剂

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，
10 本文所述的 PD-1 轴结合拮抗剂选自 PD-1 结合拮抗剂，PD-L1 结合拮抗剂和 PD-L2 结合拮抗剂；更优选的，PD-1 轴结合拮抗剂是抗体或其抗原结合片段；尤其优选地，该抗体是抗 PD-1 抗体；最优选地，该抗体是单克隆抗体。可用于本发明组合中的抗体或其抗原结合片段在 WO2018/53709、CN107840887 中一般性地和具体地描述，该申请以引用方式并入本文。

15 在一个实施方案中，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段，其结合于 PD-1 的一个表位，所述表位包含：SEQ ID NO : 24 上第 128、129、130、131 和

132 位点氨基酸和第 35、64、82、83 位中至少一个氨基酸。

在一个实施方案中，所述抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段，其结合于人 PD-1 和鼠 PD-1 的一个表位，其中，所述表位包括 SEQ ID NO : 24 上第 128、129、130、131 和 132 位点氨基酸。

5 在一个实施方案中，如上文所述的抗体或其抗原结合片段，其中鼠 PD-1 是小鼠或大鼠 PD-1。

在一些实施方案中，如上文所述的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体

a)结合于人 PD-1，KD 为 $2.15E-10M$ 以下；并且

10 b)结合于鼠 PD-1，KD 为 $1.67E-08M$ 以下。

在一些实施方案中，上述抗体或其抗原结合片段具有下列性质中的至少一种：

a)结合于人 PD-1，KD 为 $4.32E-10M$ 至 $2.15E-10M$ ，并且结合于小鼠 PD-1，KD 为 $5.39E-08M$ 至 $1.67E-08M$ ；

15 b)实质上不结合于人 CD28、CTLA-4；

c)增加 T 细胞的增殖；

d)增加干扰素- γ 的产生；或

e)增加白细胞介素-2 的分泌。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，
20 上述抗体或其抗原结合片段，其包含一个氨基酸序列，所述氨基酸序列与选自由 SEQ ID NOs : 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性，其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，
25 上述抗体或其抗原结合片段，其包含一个氨基酸序列，所述氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs : 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列，其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，上述抗体，或其抗原结合片段，包含：

a)重链可变区，其氨基酸序列与选自由 SEQ ID NO : 1 和 SEQ ID NO :
30 2 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性；以及

b)轻链可变区，其氨基酸序列与选自由 SEQ ID NOs : 3、4、5、6、7、

8 和 9 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性，其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，上述抗体或其抗原结合片段，包含：

5 a) 重链可变区，其氨基酸序列选自由 SEQ ID NO : 1 和 SEQ ID NO : 2 组成的组中的序列；以及

b) 轻链可变区，其氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs : 3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列，

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

10 在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

a) 重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 1 所示的序列；以及

b) 轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 3 所示的序列，

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

15 a) 重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及

b) 轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 3 所示的序列，

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体其包含：

a) 重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及

20 b) 轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 4 所示的序列，

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

a) 重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及 b) 轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 5 所示的序列，

25 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

a) 重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 1 所示的序列；以及

b) 轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 6 所示的序列，

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

30 或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 1 所示的序列；以及
 b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 5 所示的序列，
 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

5 a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及
 b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 6 所示的序列，
 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

10 a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及
 b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 7 所示的序列，
 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

15 a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 1 所示的序列；以及
 b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 8 所示的序列，
 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

或在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

20 a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及
 b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 9 所示的序列，
 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

具体序列详见表 1 和序列表信息：

表 1 抗体的重链、轻链具体序列

抗体		SEQ ID NO	氨基酸序列
1H6	重链	1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTYYISWVR QAPGQGLEYLEGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAILGYFDYWGQGTMTVTS S
	轻链	3	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLDSDGGTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTLGSQV PDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHWPYTFGQGTKLEIK
2E5	重链	2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTYYISWVR QAPGQGLEYLEGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGTMTVTS S
	轻链	3	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLDSDGGTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTLGSQV PDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHWPYTFGQGTKLEIK

2G4	重链	2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	4	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGSTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHWPYTFGQGTKLEIK
2C2	重链	2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	5	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGATYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHWPYTFGQGTKLEIK
A6W	重链	1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	6	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGNTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHWPYTFGQGTKLEIK
1G10	重链	1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	5	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGATYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHWPYTFGQGTKLEIK
2B1	重链	2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	6	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGNTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHWPYTFGQGTKLEIK
LII	重链	2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	7	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGNTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHAPYTFGQGTKLEIK
5C4	重链	1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	8	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGQTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHEPYTFGQGTKLEIK
8C10	重链	2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFTFTTYYISWVR QAPGQGLEYLGYINMGSGGTNYNEKFKGRVTTADKST STAYMELSSLRSEDTAVYYCAIIGYFDYWGQGMVTVS S
	轻链	9	DVVM TQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLLDS DGQTYLY WFQQRPGQSPRRLIYLVSTL GSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCMQLTHENYTFGQGTKLEIK

另一方面，在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，上述抗体或其抗原结合片段，包含互补决定区(CDR)，其氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs : 10-23 所组成的组中的序列，其中所述抗体特异性结合 PD-1。

另一方面，在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，上述抗体或其抗原结合片段，其包含：包含 CDR1，CDR2 和 CDR3 序列的重链可变区；以及包含 CDR1，CDR2 和 CDR3 序列的轻链可变区，

5 其中重链可变区 CDR3 序列包含选自由 SEQ ID NO : 12 和 SEQ ID NO : 13 所组成的组

中的氨基酸序列及其保守性修饰，
其中所述抗体特异性结合 PD-1。

上述抗体的轻链可变区 CDR3 序列优选包含选自由 SEQ ID NOs : 20、
10 21、22 和 23 所组

成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰。

上述抗体的重链可变区 CDR2 序列优选包含选自由 SEQ ID NO : 11 所组成的组中的

氨基酸序列及其保守性修饰。

15 上述抗体的轻链可变区 CDR2 序列优选包含选自由 SEQ ID NO : 19 所组成的组中的

氨基酸序列及其保守性修饰。

上述抗体的重链可变区 CDR1 序列优选包含选自由 SEQ ID NO : 10 所组成的组中的

20 氨基酸序列及其保守性修饰。

上述抗体的轻链可变区 CDR1 序列优选包含选自由 SEQ ID NOs : 14、
15、16、17 和 18

所组成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰。

在一些具体实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含：

25 包含 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的重链可变区；以及

包含 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的轻链可变区，其中

a)重链可变区 CDR1，序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列，

b)重链可变区 CDR2，序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列，

30 c)重链可变区 CDR3，序列包含选自由 SEQ ID NO : 12 和 SEQ ID NO : 13 所组成的组中所示的氨基酸序列，

d)轻链可变区 CDR1, 序列包含选自由 SEQ ID NO : 14-18 所组成的组中所示的氨基酸序列,

e)轻链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,

5 f)轻链可变区 CDR3, 序列包含选自由 SEQ ID NO : 20-23 所组成的组中所示的氨基酸序列,

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中, 所述抗体包含:

10 a)重链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
b)重链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
c)重链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 12 所示的氨基酸序列,
d)轻链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 14 所示的氨基酸序列,
e)轻链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,
f)轻链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 20 所示的氨基酸序列,
其中所述抗体特异性结合 PD-1。

15 在一些具体实施方案中, 所述抗体包含:

a)重链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
b)重链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
c)重链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 13 所示的氨基酸序列,
d)轻链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 14 所示的氨基酸序列,
20 e)轻链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,
f)轻链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列,
其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中, 所述抗体包含:

25 a)重链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
b)重链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
c)重链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 13 所示的氨基酸序列,
d)轻链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 15 所示的氨基酸序列,
e)轻链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,
f)轻链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列,
30 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

- a)重链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
 - b)重链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
 - c)重链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 13 所示的氨基酸序列,
 - 5 d)轻链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 16 所示的氨基酸序列,
 - e)轻链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,
 - f)轻链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列,
- 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

- 10 a)重链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
 - b)重链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
 - c)重链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 12 所示的氨基酸序列,
 - d)轻链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 17 所示的氨基酸序列,
 - e)轻链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,
 - 15 f)轻链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列,
- 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

- a)重链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
 - b)重链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
 - 20 c)重链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 12 所示的氨基酸序列,
 - d)轻链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 16 所示的氨基酸序列,
 - e)轻链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,
 - f)轻链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列,
- 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中，所述抗体包含：

- a)重链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
- b)重链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
- c)重链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 13 所示的氨基酸序列,
- d)轻链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 17 所示的氨基酸序列,
- 30 e)轻链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,

f)轻链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列,其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中,所述抗体包含:

a)重链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,

5 b)重链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,

c)重链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 13 所示的氨基酸序列,

d)轻链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 17 所示的氨基酸序列,

e)轻链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,

f)轻链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 22 所示的氨基酸序列,

10 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中,所述抗体包含:

a)重链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,

b)重链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,

c)重链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 12 所示的氨基酸序列,

15 d)轻链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 18 所示的氨基酸序列,

e)轻链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,

f)轻链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 23 所示的氨基酸序列,

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一些具体实施方案中,所述抗体包含:

20 a)重链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,

b)重链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,

c)重链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 12 所示的氨基酸序列,

d)轻链可变区 CDR1,序列包含选自 SEQ ID NO : 18 所示的氨基酸序列,

e)轻链可变区 CDR2,序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,

25 f)轻链可变区 CDR3,序列包含选自 SEQ ID NO : 20 所示的氨基酸序列,

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

具体 CDR 序列详见表 2 信息:

5

表 2 的重链、轻链具体序列

抗体		SEQ ID NO	CDR1	SEQ ID NO	CDR2	SEQ ID NO	CDR3
11b6	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	12	IGYFDY
	轻链	14	RSSQSLLDSDGGTYLY	19	LVSTLGS	20	MQLIHENYT
2E5	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	13	IGYFDY
	轻链	14	RSSQSLLDSDGGTYLY	19	LVSTLGS	21	MQLTHWPYT
2G4	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	13	IGYFDY
	轻链	15	RSSQSLLDSDGSTYLY	19	LVSTLGS	21	MQLTHWPYT
2C2	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	13	IGYFDY
	轻链	16	RSSQSLLDSDGATYLY	19	LVSTLGS	21	MQLTHWPYT
A6	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	12	IGYFDY
W	轻链	17	RSSQSLLDSDGNTYLY	19	LVSTLGS	21	MQLTHWPYT
1G1	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	12	IGYFDY
	轻链	16	RSSQSLLDSDGATYLY	19	LVSTLGS	21	MQLTHWPYT
2B1	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	15	IGYFDY
	轻链	17	RSSQSLLDSDGNTYLY	19	LVSTLGS	21	MQLTHWPYT
L11	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	15	IGYFDY
	轻链	17	RSSQSLLDSDGNTYLY	19	LVSTLGS	22	MQLTHAPYT
5C4	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	12	IGYFDY
	轻链	18	RSSQSLLDSDGQTYLY	19	LVSTLGS	23	MQLTHEPYT
8C1	重链	10	TYYSIS	11	YINMGSGGTNYNEKFRG	12	IGYFDY
	轻链	18	RSSQSLLDSDGQTYLY	19	LVSTLGS	20	MQLIHENYT

- 10 在一些实施方案中，所述抗体是嵌合抗体或人源化抗体或人抗体。
 在一些实施方案中，其中所述抗体显示下列性质中的至少一种：
- a) 结合人 PD-1 的 KD 为 $2.15E-10M$ 以下，并且结合小鼠 PD-1 的 KD 为 $1.67E-08M$ 以下；
 - b) 实质上不结合人 CD28、CTLA-4；
 - 15 c) 增加 T 细胞增殖；
 - d) 增加干扰素- γ 的产生；或

e)增加白细胞介素-2 的分泌。

蛋白酶体抑制剂

在上述方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒的实施方案中，
5 上述蛋白酶体抑制剂为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米，优选为伊沙佐米。

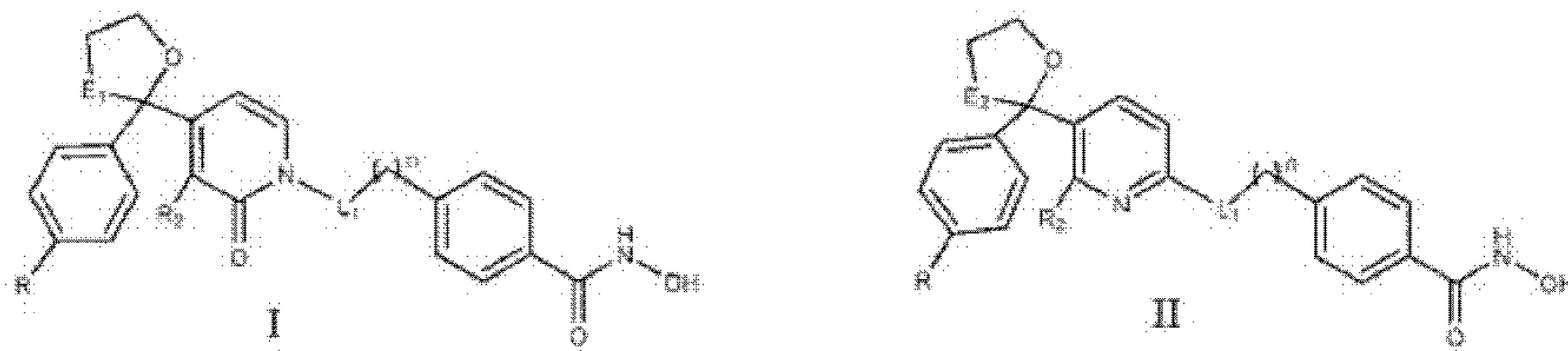
治疗方法或用途

本发明涉及用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的治疗方法，其
10 包括向所述受试者施用药学有效量的 HDAC6 选择性抑制剂。本发明还涉及一种组合疗法，其包括向所述受试者施用药学有效量的 HDAC6 选择性抑制剂和一种或多种治疗剂。本发明还提供了一种治疗组合，其包含：(1) HDAC6 选择性抑制剂，和(2)一种或多种治疗剂；其可用于分别、同时或顺序向有需要的个体施用以治疗或预防受益于调节免疫功能的受试者病症。

15 在一个方面，本发明涉及一种用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的方法，其包括向所述受试者施用药学有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂。本发明还涉及选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂的组合在制备用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途。在一个实施方案中，本发明涉及选择性 HDAC6 抑制剂在制备用于治疗
20 受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途，所述选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂组合。在另一个实施方案中，本发明涉及一种或多种治疗剂在制备用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途，所述一种或多种治疗剂和选择性 HDAC6 抑制剂组合。

在上述方法或用途的实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂与一种或
25 多种治疗剂同时、分别或顺序向该受试者施用。

在上述方法或用途的实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为式(I)和式(II)所示化合物，或其药学上可接受的盐或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物，



其中，

L1 选自：单键、-NH-、-C(=O)-NH-；

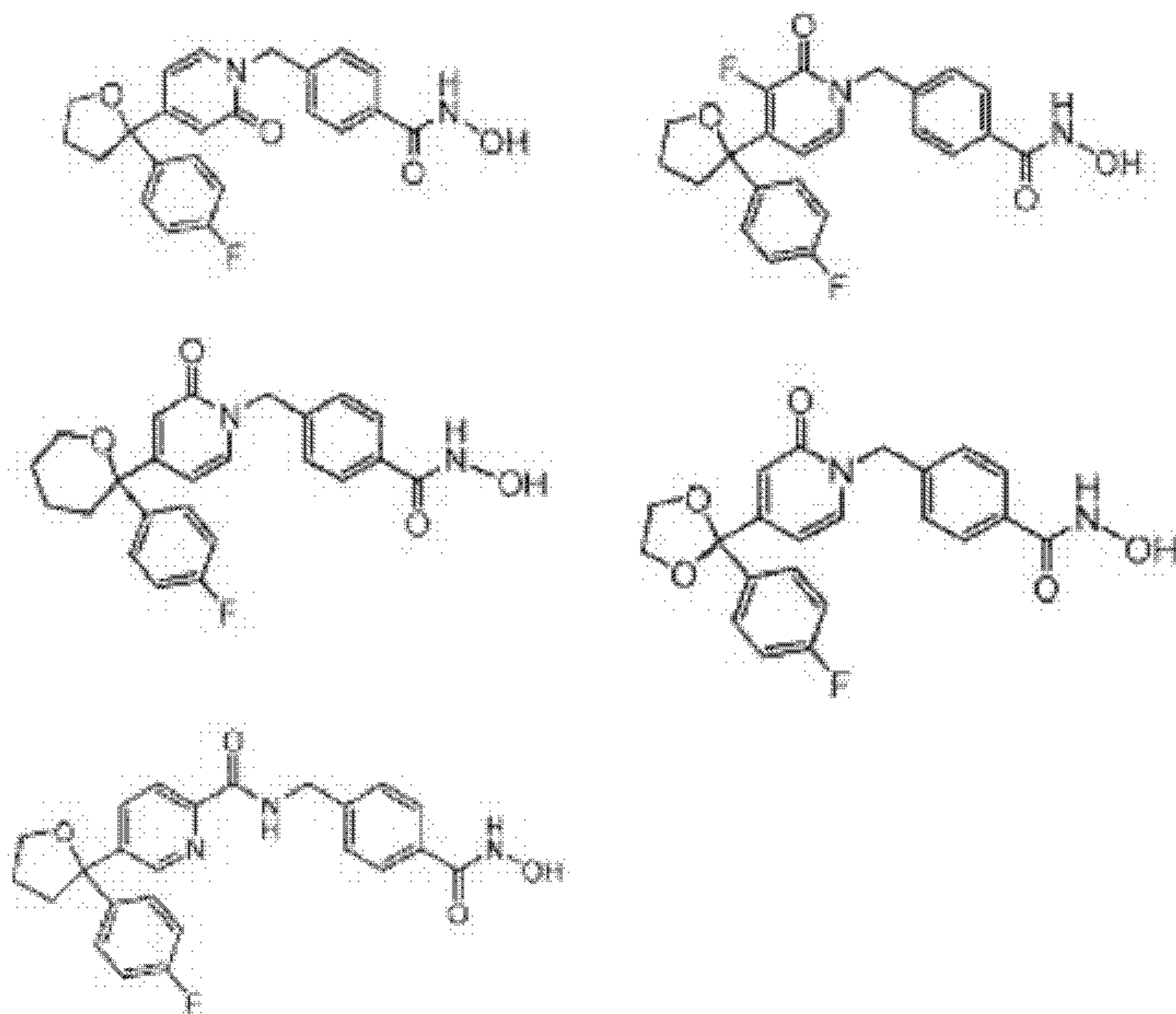
E₁、E₂ 选自 -O-、-CH₂-和-CH₂-CH₂-；

5 R2 选自：H、F、Cl、Br、I；

R 选自：F、Cl、Br、I；

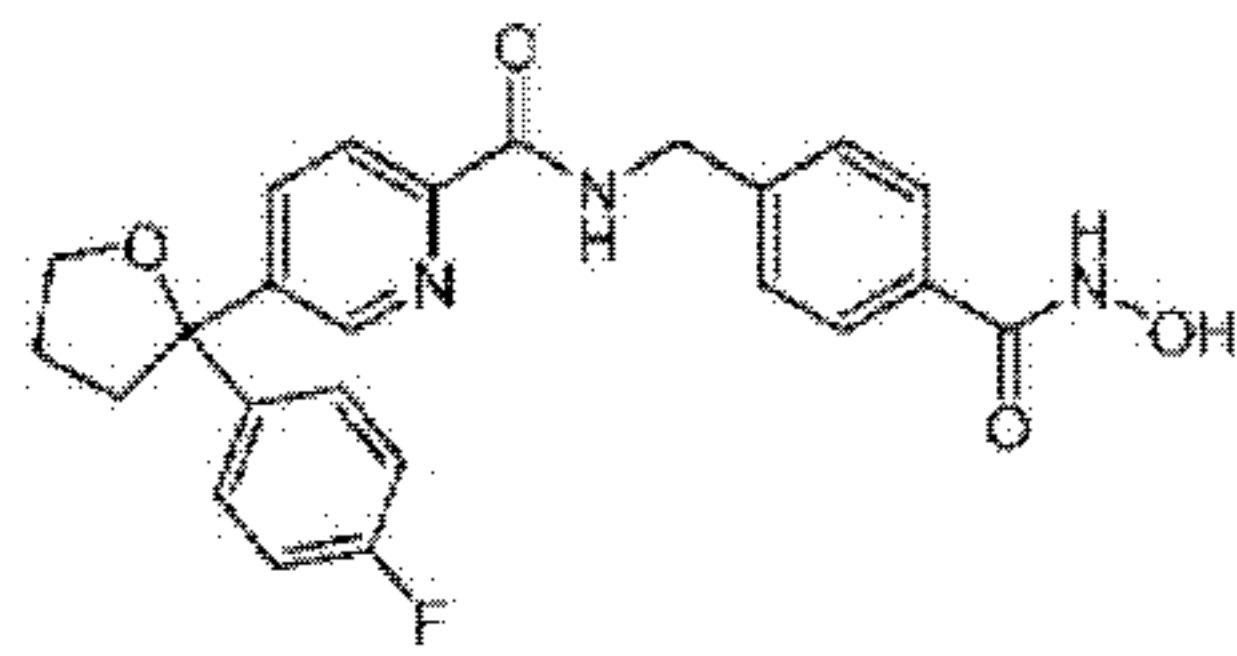
n 选自：0 或 1。

优选地，选择性 HDAC6 抑制剂为下列化合物或或其药学上可接受的盐
或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前
10 药或活性代谢物：



；

优选的，所述选择性 HDAC6 抑制剂为式 A 的化合物或其药学上可接受的
的盐或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、
15 前药或活性代谢物：



式 A。

在上述方法或用途的实施方案中，所述一种或多种治疗剂为(1)PD-1 轴结合拮抗剂或者(2)蛋白酶体抑制剂。

5 在一个实施方案中，所述蛋白酶体抑制剂为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

在一个实施方案中，上述 PD-1 轴结合拮抗剂选自 PD-1 结合拮抗剂；优选的，PD-1 轴结合拮抗剂是抗体或其抗原结合片段；尤其优选地，该抗体是抗 PD-1 抗体；最优选地，该抗体是单克隆抗体。

10 本文所述的任何 PD-1 轴结合拮抗剂均可用于本发明的方法或用途。

在一个实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段结合于 PD-1 的一个表位，所述表位包含：SEQ ID NO：24 上第 128、129、130、131 和 132 位点氨基酸和第 35、64、82、83 位中至少一个氨基酸；

15 优选的，所述抗体或其抗原结合片段结合于人 PD-1 和鼠 PD-1 的一个表位，其中，所述表位包括 SEQ ID NO：24 上第 128、129、130、131 和 132 位点氨基酸。

20 在一个实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含一个氨基酸序列，所述氨基酸序列与选自由 SEQ ID NOs：1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性，其中所述抗体特异性结合 PD-1；优选的，所述抗体或其抗原结合片段包含一个氨基酸序列，所述氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs：1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列。

在一个实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含：

25 a)重链可变区，其具有的氨基酸序列选自由 SEQ ID NO：1 和 SEQ ID NO：2 所组成的组中的序列或与其具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性的序列；以及

b)轻链可变区，其具有的氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs：3、4、5、6、

7、8 和 9 所组成的组中的序列或与其具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性的序列，

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

5 优选的，所述抗体或其抗原结合片段包含选自表 1 中所述的抗体的重链、轻链具体序列。

更优选的，所述抗体或其抗原结合片段包含：

a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：2 所示的序列；以及

b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：3 所示的序列。

10 在一个实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含互补决定区(CDR)，其具有的氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs：10-23 所组成的组中的序列，其中所述抗体特异性结合 PD-1；

优选的，所述抗体或其抗原结合片段包含互补决定区(CDR)，其包含选自表 2 的 CDR 序列；

更优选的，所述抗体包含：

15 a)重链可变区 CDR1，序列包含选自 SEQ ID NO：10 所示的氨基酸序列，

b)重链可变区 CDR2，序列包含选自 SEQ ID NO：11 所示的氨基酸序列，

c)重链可变区 CDR3，序列包含选自 SEQ ID NO：13 所示的氨基酸序列，

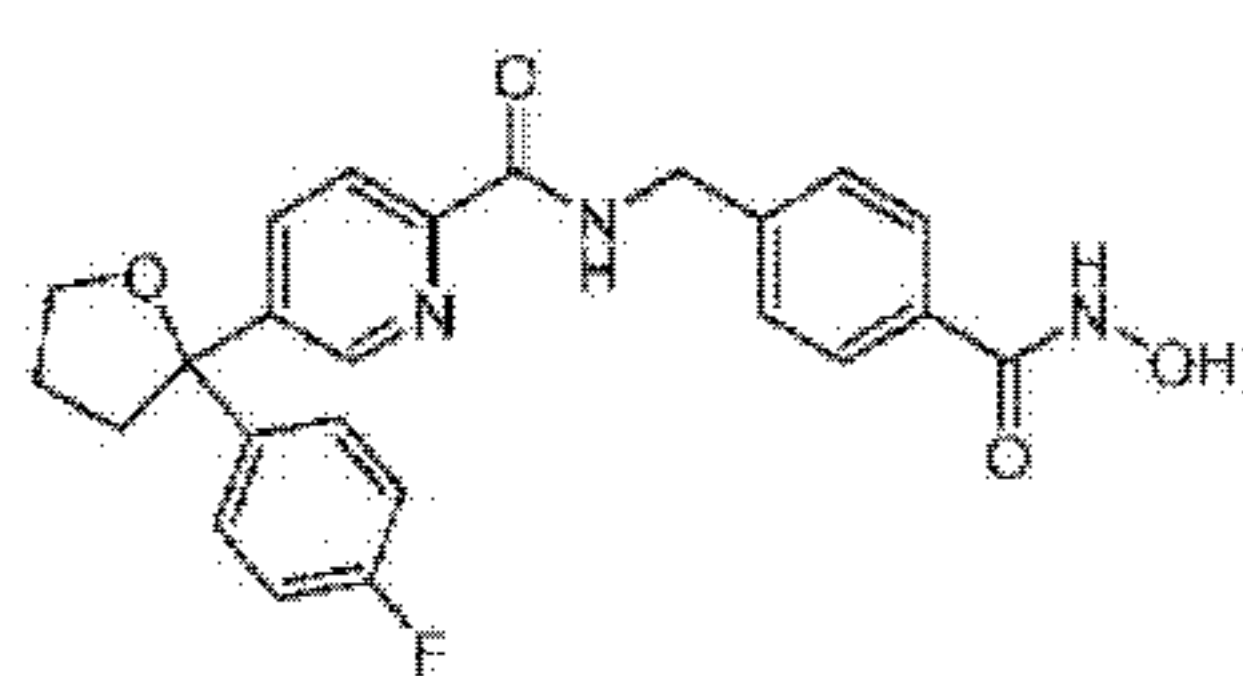
d)轻链可变区 CDR1，序列包含选自 SEQ ID NO：14 所示的氨基酸序列，

e)轻链可变区 CDR2，序列包含选自 SEQ ID NO：19 所示的氨基酸序列，

20 f)轻链可变区 CDR3，序列包含选自 SEQ ID NO：21 所示的氨基酸序列。

在一个实施方案中，所述一种或多种治疗剂为蛋白酶体抑制剂，优选为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

25 在一个实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为下式化合物 A 或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物：



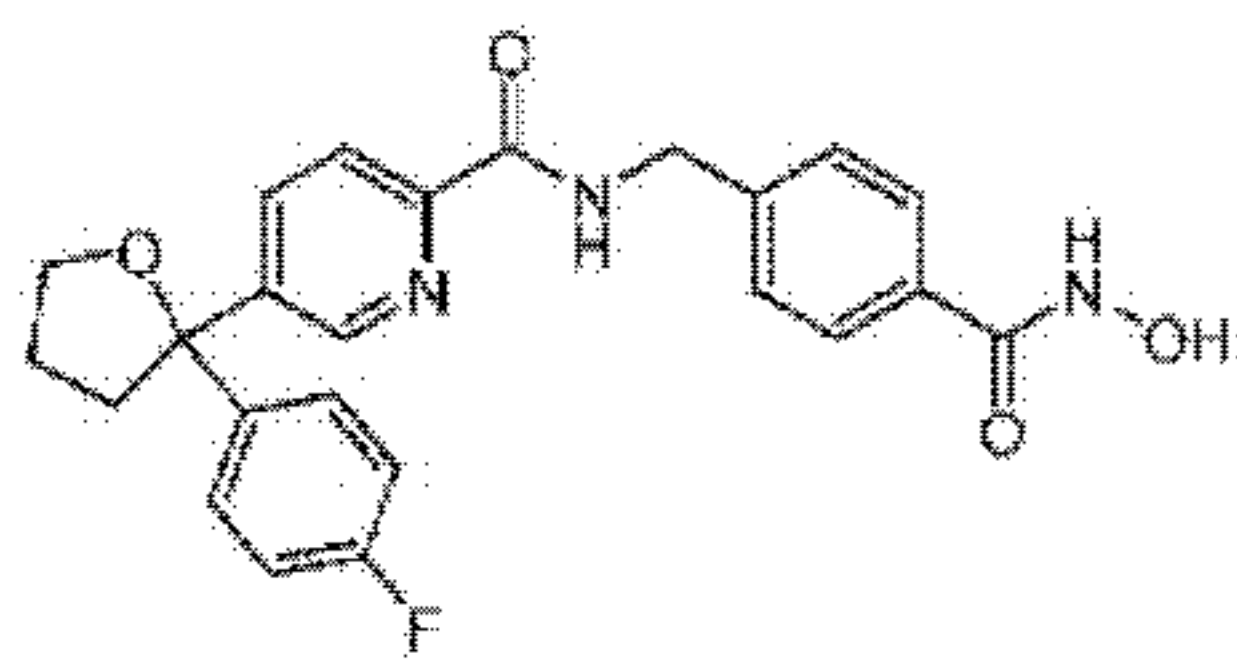
式 A

所述一种或多种治疗剂为抗体 2E5 或其抗原结合片段，包含：

- a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：2 所示的序列；以及
b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：3 所示的序列，

5 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

在一个实施方案中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为下式化合物 A 或对映异构体、非对映异构体、外消旋体、溶剂合物、水合物、多晶型、前药或活性代谢物：



式 A

10

并且，所述一种或多种治疗剂为蛋白酶体抑制剂，优选为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

适应症和受试者

15 本发明的方法或用途可用于治疗治疗或预防免疫病症或受益于调节免疫功能的受试者病症，例如癌症。本发明的方法或用途还用于抑制受试者中肿瘤细胞的生长。在一个实施方案中，上述肿瘤细胞选自多发性骨髓瘤(MM)、黑素瘤、肾癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头部或颈部癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌和直肠癌。

20 在上述的一些实施方案中，所述癌症为实体瘤或血液癌，如非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、结肠直肠癌、卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、间皮瘤、黑素瘤、头颈癌、甲状腺癌、肉瘤、前列腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、胸腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、真菌病真菌，默克尔细胞癌和其他血液系统恶性肿瘤，例如经典霍奇金淋巴瘤(CHL)、原发性纵隔大 B 细胞淋巴瘤、T-细胞/组织细胞丰富的 B 细胞淋巴瘤、EBV 阳性和阴性 PTLD、以及 EBV 相关的弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)、浆母细胞淋巴瘤、结外 NK/T 细胞淋巴瘤、鼻咽癌和 HHV8-相关的原发性渗出性

25

淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、中枢神经系统肿瘤(CNS)、例如原发性中枢神经系统淋巴瘤、脊髓轴肿瘤、脑干神经胶质瘤；优选的，所述癌症选自黑素瘤、肾癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌、肺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头部或颈部癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌和直肠癌。

5 本文描述的方法还可用于治疗需要增强免疫原性的病症，例如增加用于治疗癌症的肿瘤免疫原性。本文还提供了在患有癌症的受试者中增强免疫功能的方法，包括向该受试者施用有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段。

10 本文还提供了用于治疗或延缓受试者癌症发展的方法，包括向该个体施用有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段；或者施用有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

在上述实施方案中，在用选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段联合治疗之前，已经用选择性 HDAC6 抑制剂治疗了受试者。

15 在一些实施方案中，受试者患有对 HDAC6 抑制剂具有抗性的癌症(例如耐药性多发性骨髓瘤)。在一些实施方案中，对 HDAC6 抑制剂的抗性包括癌症或难治性癌症的复发。复发可能是指治疗后在原始部位或新部位再次出现癌症。在一些实施方案中，对 HDAC6 抑制剂抗性包括在用对 HDAC6 抑制剂治疗期间癌症的进展。在一些实施方案中，对 HDAC6 抑制剂的抗性包
20 括对治疗无反应的癌症。癌症可能在治疗开始时产生耐药性，或者在治疗期间变得耐药。在一些实施方案中，癌症处于早期或晚期。

可以在本领域已知的各种模型中测试本文所述的任何方法的功效(例如，包括给予有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段的组合的联合治疗)，例如临床或临床前临床模型。

25

剂量水平和剂量方案

可以施用有效量的上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂(例如化合物 A)和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段(例如抗体 2E5)；或者选择性 HDAC6 抑制剂(例如化合物 A)和蛋白酶体抑制剂(例如，硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米)以预防或治疗疾病。上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂、抗
30 PD-1 抗体或其抗原结合片段以及蛋白酶体抑制剂的适当剂量可以根据待治

疗的疾病类型，选择性 HDAC6 抑制剂、抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段以及蛋白酶体抑制剂的类型，疾病的严重程度和病程，治疗的严重程度、个体的临床症状，个体的临床病史和对治疗的反应来确定。在一些实施方案中，用上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段的
5 联合治疗、或者选择性 HDAC6 抑制剂和蛋白酶体抑制剂的联合治疗是协同的，因此相对于单独的选择性 HDAC6 抑制剂或抗 PD-1 抗体(或其抗原结合片段)或者蛋白酶体抑制剂的有效剂量而言，降低了组合中的有效剂量。

一般而言，本文提供给人的 PD-1 抗体或其抗原结合片段的治疗有效量为约 0.0001 mg/kg 至约 100 mg/kg(例如，约 0.01mg / kg、约 0.1 mg/kg、约
10 0.5 mg/kg、约 1 mg/kg)的患者体重，无论是一次还是多次给药。在一些实施方案中，所使用的抗体或其抗原结合片段是约 0.01mg / kg、约 0.1 mg/kg、约 0.3 mg/kg、约 0.4 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.6 mg/kg、约 0.7 mg/kg、约 0.8 mg/kg、约 0.9 mg/kg、约 1 mg/kg、约 2 mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg、25 mg/kg、约 30 mg/kg、约 35 mg/kg、约 40 mg/kg、
15 约 45 mg/kg、约 50 mg/kg、约 55 mg/kg、约 60 mg/kg、约 65 mg/kg、约 70 mg/kg、约 75 mg/kg、约 80 mg/kg、约 85 mg/kg、约 90 mg/kg、约 95 mg/kg 或约 100 mg/kg。在一些实施方案中，以约 50 mg/kg 或更少、10 mg/kg 或更少、5 mg/kg 或更少、1 mg/kg 或更少、0.5 mg/kg 或更少、或小于或等于 0.1 mg/kg 的剂量施用抗体或其抗原结合片段。

20 例如，PD-1 抗体或其抗原结合片段以约 1mg 至约 100mg 的单位剂量，优选以约 5mg、约 10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg 的单位剂量施用。

一般而言，上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂(例如化合物 A)的合适的剂量应为有效产生治疗作用的最低剂量的化合物的量。这样的有效剂量通常
25 将取决于上述因素。通常，本发明化合物对患者的剂量范围为每千克体重约 0.0001 至约 100mg，优选约 1mg/kg、约 2mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg。例如，剂量可以在约 10 至 2000mg 之间；或者，剂量可以是每天约 100 至 1000mg，或每天约 200 至约 600mg。如果需要，活性化合物的有效日剂量可以一，二，三，四或更多个亚剂量在一天中的适当
30 间隔分别以单位剂型的形式给药。优选的，单位剂量为约 10 至 1000mg、更优选约 100 至 1000mg，约 150 至约 600mg、约 200 至约 500mg、或约 300

至约 400mg、尤其优选约 10mg、约 50 mg、约 100 mg、约 150mg、约 200 mg、约 250 mg、约 300 mg、约 350 mg、约 400 mg、约 450 mg、约 500 mg。

一般而言，上文中所述的蛋白酶抑制剂(例如，硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米)的合适的剂量应为有效产生治疗作用的最低剂量的化合物的量。这样的有效剂量通常将取决于上述因素。通常，本发明化合物对患者的剂量范围为每千克体重约 0.0001 至约 100mg，优选约 0.01 mg/kg、约 0.1 mg/kg、约 0.3 mg/kg、约 0.4 mg/kg、约 0.5 mg/kg、约 0.6 mg/kg、约 0.7 mg/kg、约 0.8 mg/kg、约 0.9 mg/kg、约 1mg/kg、约 2mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg。例如，剂量可以在约 0.1 至 1000mg 之间。或者，剂量可以是约 1 至 500mg，约 5 至 200mg，约 10 至 50mg，或优选约 1mg、约 2mg、约 3mg、约 4mg、约 5mg、约 10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、或者 50mg。如果需要，活性化合物的有效日剂量可以一、二、三、四或更多个亚剂量在一天中的适当间隔分别以单位剂型的形式给药。优选的，单位剂量为约 1 至 500mg、约 5 至 200m、约 10 至 50mg，或优选约 1mg、约 2mg、约 3mg、约 4mg、约 5mg、约 10mg、约 15mg、约 20mg、约 25mg、约 30mg、约 35mg、约 40mg、约 45mg、或者约 50mg。

在一些实施方案中，施用剂量可以在治疗过程中改变。例如，在一些实施方案中，初始施用剂量可以高于随后的施用剂量。在一些实施方案中，取决于受试者的反应，给药剂量可以在治疗过程中变化。

上述选择性 HDAC6 抑制剂或者一种多种治疗剂可以多次间隔施用特定剂量，例如每天一次，每天两次或更多次；每周一次，每周两次或更多次；每月一次，两次或更多次；每周一次，每两周一次，每三周一次，每月一次或每两个月一次，或者更少。在一些实施方案中，施用的剂量可以随治疗过程而变化。例如，在某些实施方案中，施用的初始剂量可以高于随后的剂量。在某些实施方案中，根据治疗对象的反应，在治疗过程中调节给药剂量。可以调整剂量方案以达到最佳应答(例如治疗应答)。例如，可以在一段时间内施用单剂量或多次分剂量施用。

在一些实施方案中，本发明的联合疗法包括施用上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)。上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治

疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)可以以本领域已知的任何合适方式施用。例如,上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)可以依次给药(在不同时间)或同时给药(同时)。在一些实施方案中,选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)以单独的制剂形式存在;在一些实施方案中,选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)存在于同一组合物或者制剂中。

上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)可以通过相同的给药途径或不同的给药途径来给药。在一些实施方案中,PD-1 抗体或其抗原结合片段通过植入、通过吸入、鞘内、心室内或鼻内静脉内、肌内、皮下、局部、口服、经皮、腹膜内、眶内、口服给药,优选静脉内给药。在一些实施方案中,上文中所述的选择性 HDAC6 抑制剂通过植入、吸入、鞘内、心室内或鼻内静脉内、肌内、皮下、局部、口服、经皮、腹膜内、眶内、口服给药,优选口服给药。

在一些实施方案中,本发明的联合疗法中的每种治疗剂可以同时(即,在相同药物中),同时(即,在以任何顺序一个接一个地给药的单独药物中)或以任何顺序顺序给药。当组合疗法中的治疗剂为不同剂型(一种药物为片剂或胶囊剂,另一种药物为无菌液体)和/或按不同的给药方案(例如化疗药物)给药时,顺序给药特别有用。至少每天一次给药,以及不那么频繁地给药的生物治疗剂,例如每周一次,每两周一次或每三周一次。

在一另一方面,本发明的联合疗法中的治疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)与选择性 HDAC6 抑制剂提供协同组合,其组合范围比例介于 1:200 到 200:1 重量份数之间优选的,可为约 1:100、约 1:95、约 1:90、约 1:85、约 1:80、约 1:75、约 1:70、约 1:65、约 1:60、约 1:55、约 1:50、约 1:45、约 1:40、约 1:35、约 1:30、约 1:25、约 1:20、约 1:15、约 1:10、约 1:8、约 1:6、约 1:5、约 1:4、约 1:3、约 1:2 或约 1:1、约 2:1、约 3:1、约 4:1、约 5:1、约 6:1、约 10:1、约 20:1、约 30:1、约 40:1、约 50:1、约 60:1、约 70:1、约 80:1、约 90:1、约 100:1。

在一些实施方案中,所述方法可以进一步包括另外的疗法。附加疗法可

以是放射疗法、手术(例如、乳房切除术和乳房切除术)、化学疗法、基因疗法、DNA 疗法、病毒疗法、RNA 疗法、免疫疗法、骨髓移植、纳米疗法、单克隆抗体疗法或前述的组合。附加疗法可以采取辅助或新辅助疗法的形式。

5 在一些实施方案中，另外的疗法是小分子酶抑制剂或抗转移剂的施用。在一些实施方案中，另外的疗法是施用副作用限制剂(例如，旨在减轻治疗副作用的发生和/或严重性的试剂，例如抗恶心剂等)。在一些实施方案中，另外的疗法是放射疗法。在一些实施方案中，该另外的疗法是手术。在一些实施例中，附加疗法是放射疗法和手术的组合。在一些实施方案中，另外的疗法是伽马辐射。

10 本发明的联合疗法可以在手术之前或之后用于去除肿瘤，并且可以在放射疗法之前，之中或之后使用。在一些实施方案中，将本发明的联合疗法施用于先前未曾用生物治疗剂或化学治疗剂治疗过的患者。在其他实施方案中，将组合疗法施用于在用生物治疗剂或化学治疗剂(即经历过治疗)的先前治疗后未能实现持续应答的患者。

15

药物组合物、制剂或者试剂盒

本发明提供了一种组合物，其包含如上文所述的选择性 HDAC6 抑制剂(例如化合物 A)和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段(例如抗体 2E5)以及任选的药学上可接受的赋形剂或载体。本发明还提供了一种组合物，其包含如上文

20 所述的选择性 HDAC6 抑制剂(例如化合物 A)和蛋白酶体抑制剂(例如硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米)以及任选的药学上可接受的赋形剂或载体。

用于本文公开的药物组合物中的药学上可接受的赋形剂或载体可包括例如药学上可接受的液体、凝胶或固体载体、水性介质、非水性介质、抗微生物材料、渗透材料、缓冲剂、抗氧化剂、麻醉剂、悬浮/分散剂、螯合剂、

25 稀释剂、佐剂、剂或无毒辅助物质，本领域已知的其他组分或上述的各种组合。

合适的组分可以包括例如抗氧化剂、填充剂、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、润滑剂、增香剂、增稠剂、着色剂、乳化剂或稳定剂，例如糖和环糊精。合适的抗氧化剂可以包括例如甲硫氨酸、抗坏血酸、EDTA、硫代硫酸钠、铂、过氧化氢酶、柠檬酸、半胱氨酸、巯基甘油、巯基乙醇酸、脱水

30

山梨醇、丁基茴香醚、丁基化羟基甲苯和/或没食子酸丙酯。

此外，药学上可接受的赋形剂或载体可包括例如水性媒介物，例如氯化钠注射剂、林格氏注射剂、等渗右旋糖注射剂、无菌水注射剂或右旋糖和乳酸林格氏剂注射剂，非水媒介物例如固定油。植物来源、棉籽油、玉米油、
5 芝麻油或花生油、抑菌或抑菌浓度的抗菌剂、等渗剂(例如氯化钠或葡萄糖)、
缓冲剂(例如磷酸盐或柠檬酸盐缓冲剂)、抗氧化剂(例如硫酸氢钠)、局部麻醉剂作为盐酸普鲁卡因、悬浮剂和分散剂，例如羧甲基纤维素钠，羟丙基甲基纤维素或聚乙烯吡咯烷酮、乳化剂，例如聚山梨酯 80(TWEEN-80)，螯合剂或螯合剂，例如 EDTA(乙二胺四乙酸)或 EGTA(乙二醇四乙酸)、乙醇、聚
10 乙二醇、丙二醇、钠氢氧化物、盐酸、柠檬酸或乳酸。可用作载体的抗微生物剂可以在多剂量容器中添加至药物组合物中，该容器包括苯酚或甲酚、汞、
苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯和丙基对羟基苯甲酸酯、硫柳汞、苯扎氯铵和苄索氯铵。合适的赋形剂可包括例如水、盐水、右旋糖、甘油或乙醇。
合适的无毒辅助物质可以包括，例如，润湿剂或乳化剂、pH 缓冲剂、稳定
15 剂、溶解度增强剂、或诸如乙酸钠、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯或环糊精的试剂。

药物组合物可以是液体溶液、悬浮液、乳剂、丸剂、胶囊剂、片剂、缓释制剂或粉剂。口服制剂可以包括标准载体，例如药用级的甘露醇、乳糖、
淀粉、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。

20 在一些实施方案中，药物组合物被配制成可注射的组合物。可以以任何常规形式制备注射用药物组合物，例如液体溶剂、悬浮液、乳化剂或适合于生产液体溶剂，悬浮液或乳化剂的固体形式。

本发明还提供了一种药物，其包含如上文所述的选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段以及任选的药学上可接受的赋形剂或载体。
25 本发明还提供了一种药物，其包含如上文所述的选择性 HDAC6 抑制剂和蛋白酶体抑制剂(硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米)以及任选的药学上可接受的赋形剂或载体。

30 在一些实施方案中，包含上文所述的选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段的药物可以液体制剂形式提供或通过在使用前用无菌水用注射用水重构冻干粉末来制备。

本文所述的选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段(或

者上文所述的选择性 HDAC6 抑制剂和硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米)可以作为制品或试剂盒提供, 其包括第一容器和第二容器以及包装说明书。第一容器包含至少一个剂量的包含 PD-1 轴结合拮抗剂的药物, 第二容器包含至少一个剂量的包含非索非替尼的药物, 以及包装插页或标签, 5 其中包含用于治疗患者的说明书, 癌症使用药物。在一些实施方案中, 制品或试剂盒还包括包装插页, 该包装插页包含用于选择性 HDAC6 抑制剂和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段(或者上文所述的选择性 HDAC6 抑制剂和硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米)联用以治疗或延迟个体癌症的进展或增强患有癌症的个体的免疫功能的说明书。第一和第二容器可以由相同 10 或不同的形状(例如, 小瓶、注射器和瓶子)和/或材料(例如, 塑料或玻璃)组成。

制品或药盒还可包含可用于施用药物的其他材料, 例如稀释剂、过滤器、静脉输液袋和输液管、针头和注射器。在一些实施方案中, 制品还包括一种或多种其他试剂(例如, 化学治疗剂和抗肿瘤剂)。用于一种或多种试剂的合 15 适容器包括, 例如, 瓶、小瓶、袋子和注射器。

本文所述的任何选择性 HDAC6 抑制剂、抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂均可用于本发明的药物组合物, 药物和试剂盒中。例如, 在一些实施方案中, 选择性 HDAC6 抑制剂是化合物 A, 抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段是抗体 2E5, 其包含: a)重链可变区, 其氨基酸序列选自 20 SEQ ID NO : 2 所示的序列; 以及 b)轻链可变区, 其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 3 所示的序列。

在一些实施方案中, 在上述组合物、制剂或者试剂盒中, 选择性 HDAC6 抑制剂(例如化合物 A)和抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段(例如抗体 2E5)以及蛋白酶体抑制剂(硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米)具有本文中 25 所描述的剂量和组合比例。例如, PD-1 抗体或其抗原结合片段的剂量为约 1mg 至约 100mg 的单位剂量, 优选以约 5mg、约 10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg; 选择性 HDAC6 抑制剂(例如化合物 A)的剂量为约 10 至 1000mg, 更优选约 100 至 1000mg、约 150 至约 600mg、约 200 至约 500mg 或约 300 至约 400mg, 尤其优选约 10mg、约 50 mg、约 30 100 mg、约 150mg、约 200 mg、约 250 mg、约 300 mg、约 350 mg、约 400 mg、约 450 mg、约 500 mg; 或者蛋白酶体抑制剂(硼替佐米、卡非佐米、伊

沙佐米或者马瑞佐米)的剂量为约 1 至 500mg, 约 5 至 200mg, 约 10 至 50mg, 或优选约 1mg、约 2mg、约 3mg、约 4mg、约 5mg、约 10mg、约 15mg、约 20mg、约 25mg、约 30mg、约 35mg、约 40mg、约 45mg、或者约 50mg。

在一另一方面, 在上述组合物、制剂或者试剂盒中, 一种或多种治疗剂(例如抗 PD-1 抗体或其抗原结合片段或者蛋白酶体抑制剂)与 HDAC6 抑制剂提供协同组合, 其组合范围比例介于 1:200 到 200:1 重量份数之间, 优选的, 可为约 1:100、约 1:95、约 1:90、约 1:85、约 1:80、约 1:75、约 1:70、约 1:65、约 1:60、约 1:55、约 1:50、约 1:45、约 1:40、约 1:35、约 1:30、约 1:25、约 1:20、约 1:15、约 1:10、约 1:8、约 1:6、约 1:5、约 1:4、约 1:3、约 1:2 或约 1:1、约 2:1、约 3:1、约 4:1、约 5:1、约 6:1、约 10:1、约 20:1、约 30:1、约 40:1、约 50:1、约 60:1、约 70:1、约 80:1、约 90:1、约 100:1。

根据本文包含的教导, 本发明的这些和其他方面, 包括下面列出的示例性具体实施方案, 将是显而易见的。该说明书被认为足以使本领域技术人员能够实施本发明。根据前面的描述, 除了本文中示出和描述的之外, 本发明的各种修改对于本领域技术人员而言将变得显而易见, 并且落入所附权利要求的范围内。本文引用的所有出版物, 专利和专利申请出于所有目的通过引用整体并入本文。

具体实施方式

20

实施例

缩略语表

缩略语	定义
p.o.	灌胃给药
QD	每天一次
QW	每周一次
Rb	视网膜母细胞瘤
s.c.	皮下注射
i.v.	静脉给药
SEM	标准误差
SERD	选择性雌激素受体下调剂
TGI	肿瘤生长抑制

实施例 1

试剂和细胞系

式 A 化合物和 ACY-1215 由 Wuxi Biologics (中国, 上海) 制备。HT-29 和 NCI-H292 购自 ATCC。肿瘤细胞分别培养于 McCoy's 5A (Thermo Fisher Scientific, 16600082) 或 RPMI 1640 (Thermo Fisher Scientific, 110905098), 该培养基补充有 10% FBS (Thermo Fisher Scientific, 10099141) 和 1% 青霉素-链霉素 (Thermo Fisher Scientific, 15140122)。

HDAC 酶测定

溶于测定缓冲液 [50mM HEPES, pH 7.4, 100mM KCl, 0.001% Tween-20, 0.05% BSA, 以及 20 μ M 三(2-羧乙基)膦] 中溶解 ACY-1215 并随后稀释至最终浓度的 6 倍。在添加底物之前, 将 HDAC 酶在测定缓冲液中稀释至最终浓度的 1.5 倍, 并与 ACY-1215 预温育 10 分钟。每种酶使用的 FTS (HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC6) 或 MAZ-1675 (HDAC4、HDAC5、HDAC7、HDAC8 和 HDAC9) 的量等于米氏常数 (K_m), 其通过滴定曲线确定。用 0.3M 测序级胰蛋白酶 (Sigma-Aldrich) 将 FTS 或 MAZ-1675 在测定缓冲液中稀释至最终浓度的 6 倍。将底物/胰蛋白酶混合物添加到酶/化合物混合物中, 并将板摇动 60 秒, 然后放入 SpectraMax M5 微量滴定板读数器中。在肽底物中的赖氨酸侧链脱乙酰基化后, 在 30 分钟内监测酶促反应中 7-氨基-4-甲氧基香豆素的释放, 并计算反应的线性速率。由 Cerep 进行 HDAC11、sirtuin1 和 sirtuin2 测定。

体内抗肿瘤活性

研究与动物操作、护理和处理有关的所有程序均按照国际实验动物评估和认可委员会 (AAALAC) 的指导原则进行。在接种肿瘤之前, 收集处于指数生长期的 MM.1S (购自 ATCC) 和 CT26 (购自 ATCC) 并通过细胞计数器定量。每只小鼠在右后侧皮下接种补充有基质胶 (1: 1) 的 0.2 ml PBS 中的 MM.1S (5×10^6) 肿瘤细胞或 0.2 ml PBS 中的 CT26 (3×10^5) 肿瘤细胞, 用于肿瘤发展。当 MM.1S 模型中的平均肿瘤尺寸达到 150 mm^3 且 CT26 模型中的平均肿瘤尺寸达到 70 mm^3 时开始治疗。随机化日期被标记为第 1 天。使用卡尺在两个维度测量肿瘤体积, 每周 3 次 (MM.1S) 或两次 (CT26), 并使用以下

公式以 mm^3 表示体积: $V = (L \times W \times W)/2$, 其中 V 是肿瘤体积, L 是肿瘤长度 (最长的肿瘤维度)且 W 是肿瘤宽度 (垂直于 L 的最长的肿瘤维度)。每周两次测量肿瘤体积和体重。使用以下公式计算每组的肿瘤生长抑制(TGI):

$\text{TGI} (\%) = [1 - (T_i - T_0) / (V_i - V_0)] \times 100$; T_i 是给定日中治疗组的平均肿瘤体积,

5 T_0 是分组当天治疗组的平均肿瘤体积, V_i 是在与 T_i 同一天的媒介物对照组平均肿瘤体积, 且 V_0 是分组当天媒介物组的平均肿瘤体积。使用药物相互作用系数(CDI)分析药物组合的协同抑制作用。CDI 按以下公式计算:
10 $\text{CDI} = AB / (A \times B)$ 。AB 是 2 种药物联合治疗组与对照组的肿瘤体积的比值, 且 A 或 B 是单一药物组与对照组的肿瘤体积的比值。因此, $\text{CDI} < 1$ 表示协同作用, $\text{CDI} < 0.7$ 表示明显的协同作用, $\text{CDI} = 1$ 表示可加性, $\text{CDI} > 1$ 表示拮抗作用。

流式细胞仪

根据制造商的规程, 使用可固定活性染料 700(BD Biosciences, 564997)
15 进行活/死细胞鉴别。避光在 4°C 下进行细胞表面染色 30 分钟。使用的抗体包括 PE 小鼠抗人类 CD11c (BD Biosciences, 555392)、BB515 小鼠抗人类 CD86 (BD Biosciences, 564544)、PE 小鼠抗人类 CD274 (BD Biosciences, 557924)。所有流式细胞仪分析均使用 Cytoflex(Beckman Coulter)进行, 并使用 FlowJo 软件(BD Biosciences)进行分析。

20

蛋白质印迹法

经过指定的处理后, 从小鼠模型中收集肿瘤组织, 并在两次冰 PBS 洗涤后于 -80°C 的冷冻器中速冻。用含有蛋白酶抑制剂混合物 (Roche, 04693124001) 和磷酸酶抑制剂混合物 2(Sigma, P5726)的 RIPA 裂解缓冲液
25 (Sigma, R0278)裂解样品。用 Tissuelyser LT 全速研磨肿瘤 5 分钟, 并将组织裂解物在冰上放置 30 分钟。通过 Pierce™BCA 蛋白质分析试剂盒确定蛋白质浓度 (Thermo Scientific, 23225)。将样品在样品缓冲液中变性, 然后根据分子量在 4-12 % Bis-Tris 凝胶(Thermo Scientific, NP0336BOX)上分离等量的蛋白质, 并转移到聚偏二氟乙烯膜上。于室温, 在 TBST 的 5% 脱脂牛奶中
30 将膜封闭 1 小时, 并在 4°C 下用所示的一抗探测过夜: Ac- α -微管蛋白抗体 (Cell Signaling Technology, #5335); 抗乙酰基组蛋白 H3 (Lys9) 抗体(Millipore,

#07-352); GAPDH(Cell Signaling Technology, 5174)。用 TBST 将印迹洗涤三次约 15 分钟, 然后与以下二抗一起温育 1 小时: 山羊抗兔二抗(Thermo, 31462); 山羊抗小鼠二抗(Santa, F2816)。TBST 洗涤 3 次后, 将 West Femto 最高灵敏度试剂盒(Thermo Scientific, 34096)中的 HRP 底物添加到膜上, 并用
5 Tanon 5200multi 检测化学发光。

统计分析

细胞研究中获得的数据通过未配对的 Student t 检验进行评估。在 Levene 检验之后, 通过独立 T 检验分析了肿瘤重量或肿瘤体积数据。P < 0.05 表明
10 存在显著差异。

实施例 1-1

式 A 化合物在 HDAC 抑制方面具有独特的特征

为了评估式 A 化合物对 HDAC6 和其他 HDAC 家族成员的抑制能力和
15 选择性, 使用了无细胞 HDAC 酶测定。对比 ACY-1215 (Ricolinostat, 选择性 HDAC6 抑制剂), 示出了式 A 化合物的结构 (图 1)。体外研究表明式 A 化合物是具有不同 HDAC 抑制特征的 HDAC6 选择性抑制剂(表 3)。结果表明式 A 化合物抑制 HDAC6 活性($IC_{50} = 0.90$ nM)和 HDAC1 活性 ($IC_{50} = 73.64$ nM, HDAC1/HDAC6 选择性倍数=81.82) 的功效与 ACY-1215 至少相当 (HDAC6
20 $IC_{50} = 2.19$ nM, HDAC1 $IC_{50} = 63.99$ nM, HDAC1/HDAC6 选择性倍数= 29.21)。除了 HDAC6 和 HDAC1, 还检查了式 A 化合物对 HDAC 家族的抑制作用的选择性(Reaction Biology Corporation, PA, US)。结果显示式 A 化合物抑制 HDAC2 活性 ($IC_{50} = 2973$ nM)、HDAC3 活性 ($IC_{50} = 1990$ nM)、HDAC4 活性 ($IC_{50} = 919$ nM)、HDAC5 活性 ($IC_{50} = 442$ nM)、HDAC7 活性 ($IC_{50} = 254$
25 nM)、HDAC8 活性 ($IC_{50} = 137$ nM)、HDAC9 活性 ($IC_{50} = 773$ nM)、HDAC10 活性 ($IC_{50} = 2890$ nM)、HDAC11 活性 ($IC_{50} = 812$ nM) (表 3)。以上结果表明, 式 A 化合物是具有高度 HDAC6 / HDAC1 选择性的高选择性选择性 HDAC6 抑制剂。

表 3. 式 A 化合物对 HDAC 家族酶活性的抑制作用

无细胞分析	IC ₅₀ , nM	I类					II类					IV类	HDAC1/HDAC6 选择性指数
		HDAC1	HDAC2	HDAC3	HDAC5	HDAC6	HDAC4	HDAC5	HDAC6	HDAC7	HDAC9		
HDAC6	Resminostat (ACY-1215)	63.99	48	51	500	7000	5000	2.19	1400	>10,000	>10,000	>10,000	29.21
	化合物A	73.64	2973	1990	137	919	442	0.90	254	773	2890	812	81.82

ACY-1215 数据获取自文献 (Santo, L., et al., *Preclinical activity, pharmacodynamic, and pharmacokinetic properties of a selective HDAC6 inhibitor, ACY-1215, in combination with bortezomib in multiple myeloma*. Blood, 5 2012. **119**(11): p. 2579-89.)。

实施例 1-2

式 A 化合物药代动力学分析

对于式 A 化合物的药代动力学研究，通过高效液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 测定 CB-17 SCID 小鼠，SD 大鼠和小猎犬 (beagle dog) 血浆中的式 A 化合物。表 4 显示单次静脉内 (i.v.) 或口服 (p.o.) 剂量后大鼠和狗血浆中式 A 化合物的 PK 参数。在最低测试的 p.o. 剂量下的 PK 数据 (表 4)，分别在大鼠 (19.9%) 和狗 (75.0%) 中确定相对较低和较高的口服生物利用度。在 i.v. 给药后，式 A 化合物在大鼠 (2.81 L/kg) 和狗 (1.40 L/kg) 中显示出具有中等分布体积 (V_{ss}) 值的组织分布。大鼠中的清除率很高 (89.5 mL/min/kg) 而狗中的清除率中等 (16.8 mL/min/kg)。大鼠的表观终末半衰期 (T_{1/2}) 为 0.482 h，狗为 1.29 h (表 4)。总之，在式 A 化合物 PK 分析中没有发现异常数据。

表 4. 式 A 化合物药代动力学特征

	大鼠	狗
品种	SD	小猎犬
性别	雌性/雄性	雌性/雄性
盐/游离碱	游离碱	游离碱
剂量, i.v./p.o. (mg/kg)	3/30, 60, 150	1/1, 3, 10, 25 mg/片剂/狗
CL (mL/min/kg)	89.5	16.8
V _{ss} (L/kg)	2.81	1.40
C _{最大} (ng/mL), p.o.	541, 871, 3740	255, 1100, 2110, 457
AUC _{最后} **, i.v./p.o. (ng·h/mL)	561/1100, 2620, 8410	1040/780, 3450, 8230, 1360

T1/2, i.v./p.o. (h)	0.482/1.74, 2.36, 7.38	1.29/1.69, 4.03, 3.81, 1.93
BAV (%)	19.9, 23.5, 29.8	75.0, 111, 79.1, 43.6

p.o.和 i.v. 溶液的组成

大鼠: 30% (v/v) PEG400/70 % (v/v) (5%(v/v) Kolliphor EL 于水中))

狗: 30% (v/v) PEG400/70 % (v/v) (5%(v/v) Kolliphor EL 于水中)

5 ** AUC_{最后}: 对大鼠为 AUC_{0-48 小时}, i.v.且 AUC_{0-48 小时}, p.o., 且对狗为 AUC_{0-24 小时}

实施例 1-3

10 式 A 化合物和伊沙佐米的组合在人多发性骨髓瘤模型中协同增强对肿瘤细胞的增殖抑制

15 由于 HDAC6 选择性抑制剂的单独使用或与蛋白酶体抑制剂伊沙佐米的组合使用在多发性骨髓瘤患者中显示出良好的抗增殖潜力, 我们着手在雌性 CB-17 SCID 小鼠中使用 MM.1S 人骨髓瘤癌症异种移植模型评估式 A 化合物作为单一疗法或与伊沙佐米组合的体内疗效。数据显示式 A 化合物单一疗法可产生明显的肿瘤生长抑制作用, 且与各单一药物相比, 式 A 化合物与伊沙佐米的组合可协同提高疗效(图 2)。

20 如图 2 所示, 将 MM.1S 肿瘤细胞皮下植入雌性 CB-17 SCID 小鼠中。随机分组后, 每组 7 只小鼠, 小鼠在指定时间用伊沙佐米 (4 mg/kg)、式 A 化合物 (75 mg/kg) 单一疗法或伊沙佐米和式 A 化合物组合(4mg/kg+75 mg/kg) 处理。每周记录肿瘤体积(A)和体重(B)三次。对于肿瘤体积(A), 接种后第 41 天的肿瘤体积和 TGI 如下所示: 伊沙佐米 (4 mg/kg) 单一疗法的 TGI 为 68.65%; 式 A 化合物 (75 mg/kg) 单一疗法的 TGI 为 51.25%; 伊沙佐米和式 A 化合物 (4mg/kg+75 mg/kg) 组合疗法的 TGI 为 92.58%。所有数据代表平均值 ± SEM。统计分析通过独立的 t 检验进行, 该检验通过 Levene 检验进行
25 检验。 **与媒介物组相比 $P < 0.01$; ***与媒介物组相比 $P < 0.001$; ###与式 A 化合物-75mg/kg 组相比 $P < 0.001$ 。

MM.1S 肿瘤的 Ac- α -微管蛋白和 Ac-H3K9 蛋白表达水平也用蛋白质印迹法检测(图 3)。在式 A 化合物单药治疗组和组合治疗组中, 式 A 化合物的最终剂量后 1 小时和 4 小时, 观察到 α -微管蛋白乙酰化(HDAC6 的底物)显

著增加和 H3K9 乙酰化(HDAC1、2 和 3 的底物)小幅增加。这些数据表明式 A 化合物选择性影响 HDAC6 下游信号传导,并小幅调节 I 类 HDAC 下游信号传导。总体而言,肿瘤样本分析的结果表明,式 A 化合物是一种抗 MM 肿瘤生长的口服有效选择性 HDAC6 抑制剂,其抑制 α -微管蛋白和 H3K9 去乙酰化作用。

如图 3 所示,在进行图 2 的体内式 A 化合物抗肿瘤功效研究之后,在最后一次给药后的 1、4 或 24 小时内收集了指定治疗组的 MM.1S 骨髓瘤肿瘤组织。解剖 MM.1S 骨髓瘤肿瘤组织以进行免疫印迹测定,以检测 Ac- α -微管蛋白和 Ac-H3K9 表达水平。使用相应抗体进行蛋白质印迹分析。B 和 C 分别为 Ac- α -微管蛋白和 Ac-H3K9 的定量数据。数值表示为平均值 \pm SEM。B 和 C 的统计分析是通过单因素 ANOVA 分析,然后进行 Newman-Keuls 检验进行的。对 c 和 d 的统计分析是通过单因素 ANOVA 分析进行的,然后进行邓奈特检验(Dunnett's test)。与媒介物组相比: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

15

实施例 1-4

式 A 化合物改善抗 PD-1 免疫检查点阻断剂的抗肿瘤活性

为了探索式 A 化合物和 PD-1 阻断剂在实体瘤中的组合潜力,我们在 CT26 鼠结肠癌同系小鼠模型中评估式 A 化合物与抗体 2E5 组合的抗肿瘤效果,其中抗体 2E5 是人源化抗 PD-1 抗体(图 4)。

如图 4 所示,将 CT26 肿瘤细胞皮下植入雌性 Balb/c 小鼠中。随机分组后(每组 8 只小鼠),小鼠用抗体 2E5 (1 mg/kg, ip, BIW \times 5 次)、式 A 化合物 (30 或 75 mg/kg, po, BID \times 17 天) 单一疗法处理或用式 A 化合物与抗体 2E5 组合以单一疗法组成的剂量处理。每周记录两次肿瘤体积(A)和体重(B)。所有数据代表平均值 \pm SEM。统计分析通过独立的 t 检验进行,该检验通过 Levene 检验进行检验。*与媒介物组相比 $P < 0.05$; **与媒介物组相比 $P < 0.01$; ##与式 A 化合物-30mg/kg 组相比 $P < 0.01$ 。

结果表明,抗 PD-1 抗体(即,抗体 2E5)的单一疗法产生了 43.85% 的肿瘤生长抑制(TGI);在分别以 30 mg / kg 和 75 mg / kg 每天两次(BID)的剂量水平给药 17 天后,式 A 化合物的单一疗法抑制 9.85% 和 31.28% 的肿瘤生长。当式 A 化合物与抗 PD-1 单克隆抗体(即,抗体 2E5)组合使用时,以 30 mg/kg

和 75 mg/kg 每天两次给药, TGI 分别增至 69.87% 和 66.77%。用式 A 化合物(30mg / kg)与抗体 2E5 组合治疗的 8 只小鼠中有 3 只显示出完全消退。当式 A 化合物的剂量分别为 30 mg/kg 和 75 mg/kg 时, CDI 值分别为 0.623 和 0.883。综上所述, 式 A 化合物和抗 PD-1 免疫检查点阻断剂的组合协同改善 CT26 模型中的肿瘤生长抑制。

实施例 2

式 A 化合物的 PBMC 介导的 HCT116 细胞、MCF-7 细胞、NCI-H292 或 HuH-7 细胞杀伤效果

10 实验设计

细胞毒性 T 细胞在癌症免疫治疗中起着至关重要的作用。本研究的目的是在 HCT116 细胞模型中, 评价在式 A 化合物的 PBMC 介导的肿瘤细胞杀伤的效果(效应细胞和靶细胞比(E:T): PBMCs: HCT116=10:1)。

材料与方法

15 细胞和试剂:

- HCT116 细胞 (购自中国科学院细胞库)
- MCF-7 细胞 (购自 ATCC)
- NCI-H292 细胞 (购自 ATCC)
- HuH-7 细胞 (购自中国科学院细胞库)
- 20 • 无菌 PBS(Hyclone, CAT # SH30256.01)
- FBS(Gibco CAT # 100991-148)
- 胰蛋白酶 0.25 % EDTA(Gibco, CAT # 25200-072)
- CFSE(eBioscience, CAT # 65-0850-84)
- 测定培养基: RPMI1640 + 10 % FBS
- 25 • 纯化的 NA / LE 小鼠抗人 CD3(BD, Cat. No.: 555336)
- 纯化的 NA / LE 小鼠抗人类 CD28(BD, Cat. No.: 555725)
- Fixable Viability Stain 700 (BD, Cat. No.: 564997)。

测试物: 式 A 化合物, 储备液: 10mM。

30 PBMCs: 来自健康供体的冷冻 PBMC(代号为 TBD), 从供应商 Stemexpress 订购。

检测步骤

第 1 天：细胞接种

在 McCoy 的 5A+10% FBS+1% PS+3% NaHCO₃ 培养基中解离并收集 HCT116 细胞，重悬于适当体积的 PBS 中，并将细胞密度调整为 5-20×10⁶ 细胞/mL。在 PBS(预热至室温)中制备 2X CFSE 溶液(5 μM)，并向肿瘤细胞溶液中加入等体积的 5 μM 的 CFSE 染料溶液，立即混合均匀，然后在黑暗中于 37°C 孵育 5-10 分钟。通过添加 4-5 体积的冰冷测定介质(含有 ≥10% 的血清)停止标记，并在冰上孵育 5 分钟。然后用预热的测定培养基洗涤细胞两次，并计数活细胞。将细胞重悬于 5-6mL 测定培养基中并调节至所需细胞密度，在 24 孔板中接种 1×10⁵ 细胞/孔。

10 第 1 天：PBMC 复苏和活化

将冷冻管浸入 37°C 的水浴中并轻轻摇动来快速融化冷冻的 PBMC 细胞。然后将细胞转移到 10 mL 测定培养基(RPMI-1640 + 10% FBS)中，以 1500rpm 离心 10 分钟，吸出上清液。将细胞重悬于适当体积的含有 1 μg/mL CD3 和 1 μg/mL CD28 Ab 的测定培养基中，使细胞密度为 1.5×10⁶ 细胞/mL，并在 15 37°C 的培养箱中孵育 24h。

第 2 天：细胞杀伤试验

将活化的 PBMC 收集到 50 mL 试管中，以 1500rpm 离心 10 分钟，吸出上清液。用适当体积的测定培养基重悬，并用相同的培养基调节至合适的浓度，加入活化的 PBMC，使 E:T 比(效应细胞和靶细胞比)为 10:1。然后将 0.1 μM、20 0.5 μM、1 μM 或 2 μM 式 A 化合物加入共培养的 HCT116 和 PBMC，并在 37°C 的培养箱中培养 48 小时。

第 4 天：流式细胞仪分析

将细胞用胰蛋白酶解离后，在室温下用 L/D 染色 15 分钟后，在流式细胞仪上运行样品。然后使用 FlowJo 对数据进行分析，并记录 CFSE⁺肿瘤细胞的 L/D⁺ %。

MCF-7 细胞、NCI-H292 细胞和 HuH-7 细胞的检测步骤与上文所述针对 HCT116 细胞的检测步骤相同。

实验结果

30 根据图 5 可知，在 MCF-7、NCI-H292、HUH-7 或 HCT116 细胞中，式 A 化合物表现出明显增强的 PBMC 介导的肿瘤杀伤效力。

实施例 3

实施例 3-1

5 RNA 转录组分析显示了式 A 化合物与其他 HDAC 抑制剂不同的基因表达模式

在实施例 1 中, 我们发现式 A 化合物和抗 PD-1 抗体(即, 抗体 2E5)的组合在 CT26 小鼠模型中具有协同增强的抗肿瘤功效。为了探索式 A 化合物在特定适应症中促进 I/O 治疗(肿瘤免疫疗法)的机制, 用式 A 化合物或其他 HDAC 抑制剂检测了 5 种适应症细胞系, 包括 Daudi(淋巴瘤), MM.1S(多发
10 黑色素瘤), NCI-H292(肺癌), MCF-7(乳腺癌)和 HT-29(结肠癌), 所述其他 HDAC 抑制剂包括 Vorinostat(Pan-HDAC 抑制剂), Entinostat(I 类 HDAC 抑制剂)和 ACY-1215(选择性 HDAC6 抑制剂)(图 1)。

用 DMSO、式 A 化合物或其他 HDAC 抑制剂处理肿瘤细胞系, 包括 Vorinostat(Pan-HDAC 抑制剂)、Entinostat(I 类 HDAC 抑制剂)和 ACY-1215(选
15 择性 HDAC6 抑制剂)。提取 RNA 并进行 RNA 测序。然后进行了 PCA 分析。一个循环 3 个点代表一组重复 3 次。

实验结果

根据图 6 可知, 主成分分析(PCA)数据显示, 与其他 HDAC 抑制剂不同,
20 式 A 化合物诱导了独特的基因转录模式。由式 A 化合物诱导的转录模式与其他 HDAC 抑制剂显著不同, 这表明了式 A 化合物通过与其他 HDAC 抑制剂不同的途径起作用, 具有新功能和独特作用机理。

实施例 3-2

25 式 A 化合物特异性调节不同适应症细胞系中的免疫细胞功能

为了进一步分析那些特异变化的基因的功能, 我们基于式 A 化合物特异变化的基因在 5 个适应症细胞系中进行了基因本体(GO)分析(图 7)。

用 DMSO、式 A 化合物或 ACY-1215 处理肿瘤细胞系。提取 RNA 并进
30 行 RNA 测序。在式 A 化合物组中发生显著特异性变化的 DEG(不同的表达基因)用于 GO 分析。显示了十大富集途径。

实验结果

图 7 的实验结果表明, 式 A 化合物诱导的不同表达基因可以丰富 Daudi 细胞中 T 细胞增殖的正向调控。

5 基于式 A 化合物特异变化的基因, 我们进一步进行了髓样细胞相关的基因本体分析。图 8 的实验结果表明, 式 A 化合物诱导的不同表达基因可以在 Daudi 和 HT-29 细胞的髓样细胞分化途径中富集(图 8), 这表明与其他 HDAC 抑制剂不同, 式 A 化合物特异性调节髓样细胞的功能。因此, 发现由式 A 化合物诱导的转录模式与其他 HDAC 抑制剂显著不同, 这表明式 A
10 化合物的具有新功能和独特作用机理。

实施例 3-3

式 A 化合物独特地激活髓样细胞

式 A 化合物对髓样细胞和髓样白细胞分化途径的影响表明式 A 化合物
15 增加 DC 成熟并影响 M1/M2 平衡。为了评估对 DC 细胞的作用, 我们用式 A 化合物和 ACY-1215 处理了 HT-29 和 NCI-H292 细胞, 然后用源自髓样的未成熟 DC 培养它们。

具体而言, 将 HT-29 和 NCI-H292 细胞用指定浓度的式 A 化合物或 ACY-1215 预处理 24 小时, 然后与源自髓样的未成熟 DC 共培养 24 小时。
20 通过流式细胞术评估 CD11c⁺ DC 的 CD86 表达(图 9 中 A 和 B)。

另一方面, M1 和 M2 极化的巨噬细胞分别显示抗肿瘤和促肿瘤功能。为了探索式 A 化合物对 M1/M2 巨噬细胞平衡的影响, 分别在体外用式 A 化合物和 ACY-1215 处理了髓样来源的 M1 和 M2(图 9C)。具体而言, 用指定浓度的式 A 化合物或 ACY-1215 处理源自髓样的 M1 和 M2 6 天。通过用
25 Fixable Viability Stain 700 染色来监测细胞生存力。通过流式细胞术计数 M1 和 M2 细胞数, 并计算 M1/M2 比。数据表示为平均值 ± SEM。*** P < 0.001, ** P < 0.01 和 * P < 0.05, 用于各式 A 化合物剂量组与 DMSO 治疗组之间的比较。通过非配对 t 检验获得统计数据。

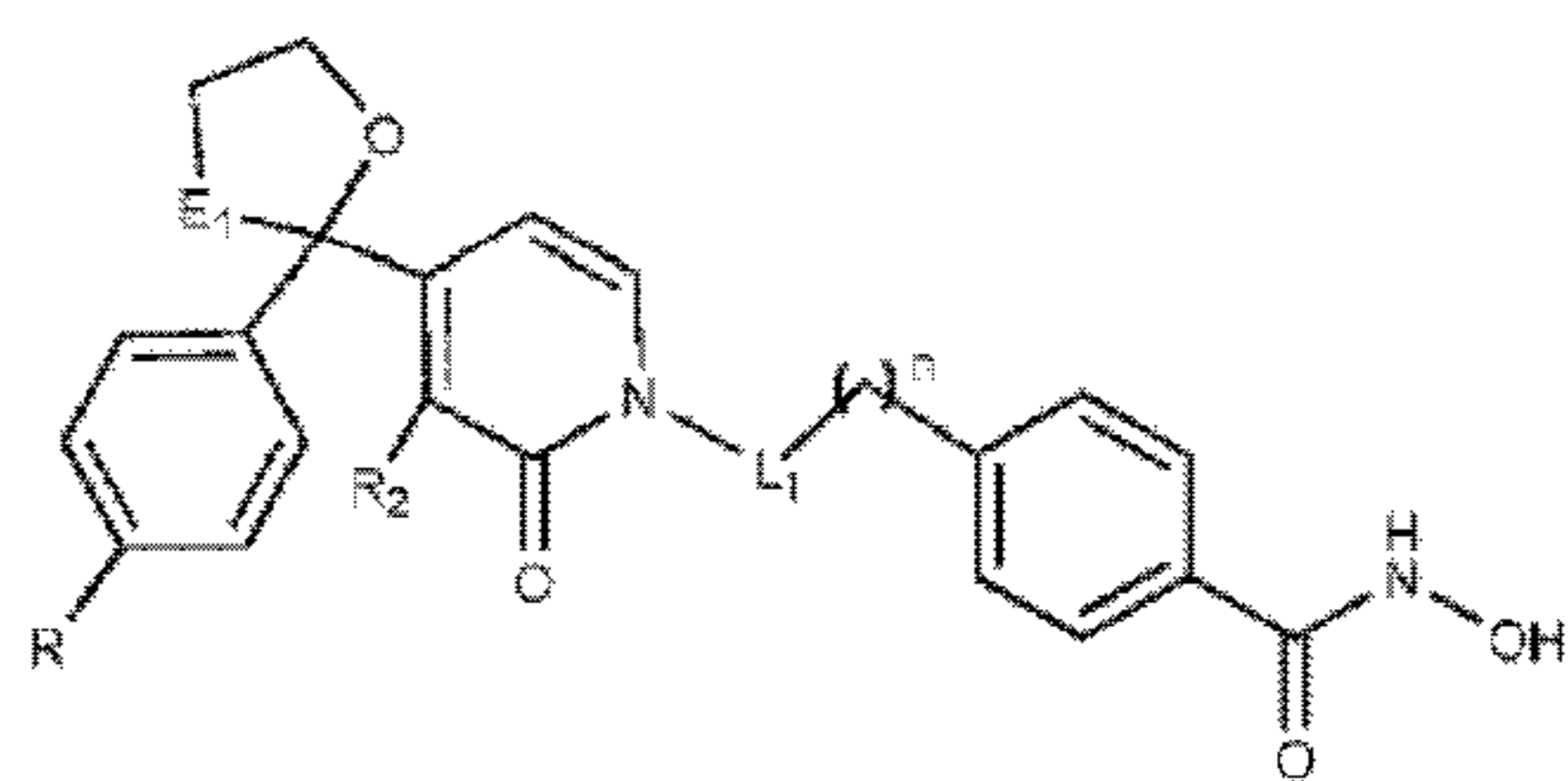
30 实验结果

结果表明, 与 ACY-1215 处理组相比, 式 A 化合物处理的肿瘤细胞可通

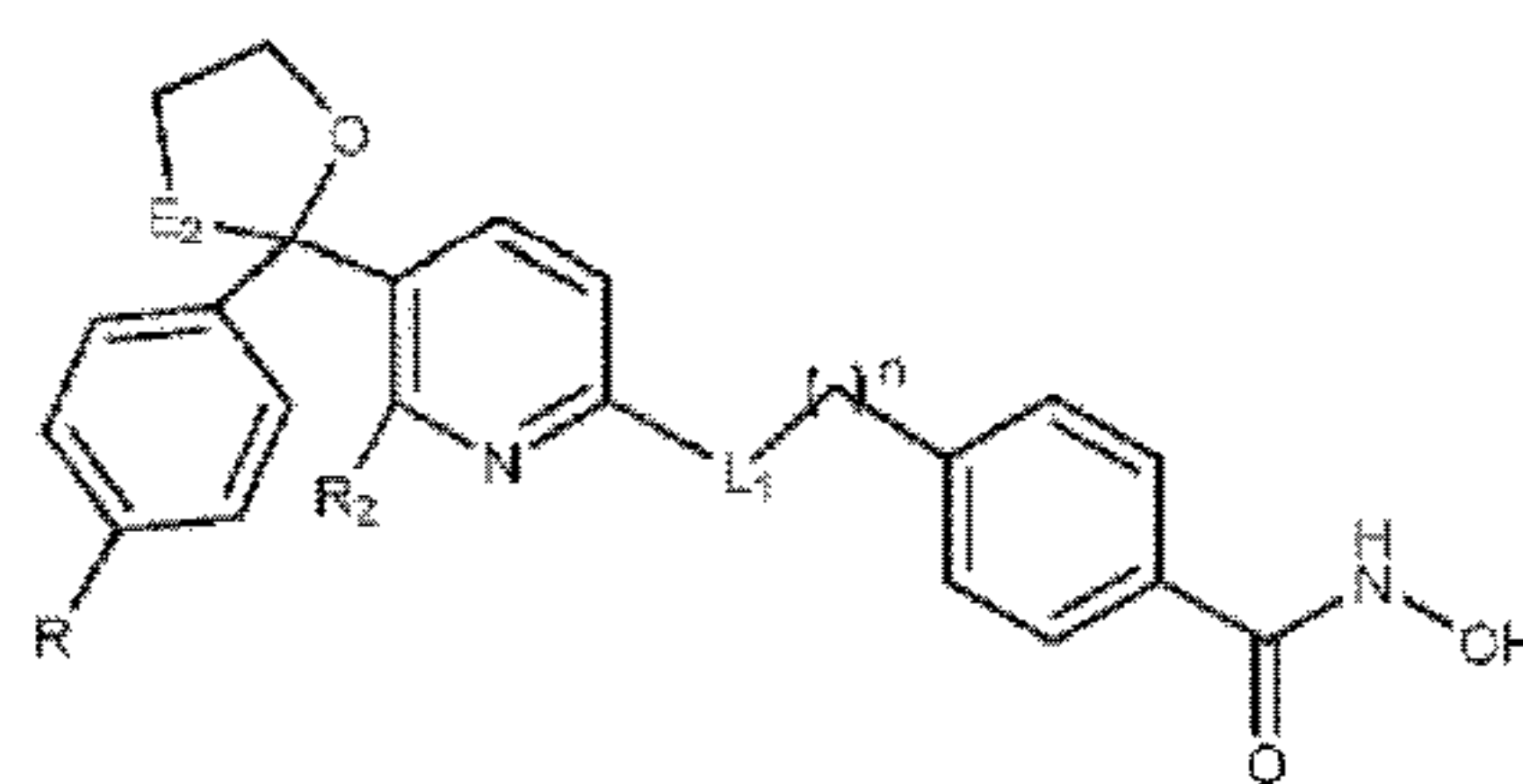
过诱导活化标记 CD86(图 9 的 A-B)和 MHCII(数据未显示)的更高表达来明显增强 CD11c⁺ DC 的成熟。另一方面,图 9C 的实验结果表明,当用式 A 化合物治疗时, M1/M2 比增加了,但是在 ACY-1215 治疗组中, M1/M2 比没有改变。因此,实验结果表明式 A 化合物,而非 ACY-1215,可激活 DC 成熟并改变巨噬细胞平衡,从而具有抗肿瘤功能。

权 利 要 求 书

1. 一种用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的方法，其包括向所述受试者施用药学有效量的选择性 HDAC6 抑制剂。
- 5 2. 一种用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的方法，其包括向所述受试者施用药学有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂。
3. 选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂的组合在制备用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途。
4. 选择性 HDAC6 抑制剂在制备用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途，所述选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂组合。
- 10 5. 一种或多种治疗剂在制备用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的药物中的用途，所述一种或多种治疗剂和选择性 HDAC6 抑制剂组合。
6. 选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂的组合，其用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症，包括向所述受试者施用药学有效量的选择性 HDAC6 抑制剂和一种或多种治疗剂。
- 15 7. 包含选择性 HDAC6 抑制剂药物组合物、药物、制剂或试剂盒，所述选择性 HDAC6 抑制剂与一种或多种治疗剂组合使用，用于治疗治疗受益于调节免疫功能的受试者病症。
- 20 8. 一种组合物，药物，制剂或试剂盒，其包含选择性 HDAC6 抑制剂，其与一种或多种治疗剂组合使用，用于治疗治疗受益于调节免疫功能的受试者病症。
9. 一种组合物，药物，制剂或试剂盒，其包含选择性 HDAC6 抑制剂、一种或多种治疗剂和一种或多种药学上可接受的载体。
- 25 10. 权利要求 1-9 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述选择性 HDAC6 抑制剂与一种或多种治疗剂同时、分别或顺序向该受试者施用。
11. 权利要求 1-10 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述选择性 HDAC6 抑制剂为式(I)和式(II)所示化合物，其药学上可接受的盐或其异构体，
- 30



I



II

其中，

L1 选自：单键、-NH-、-C(=O)-NH-；

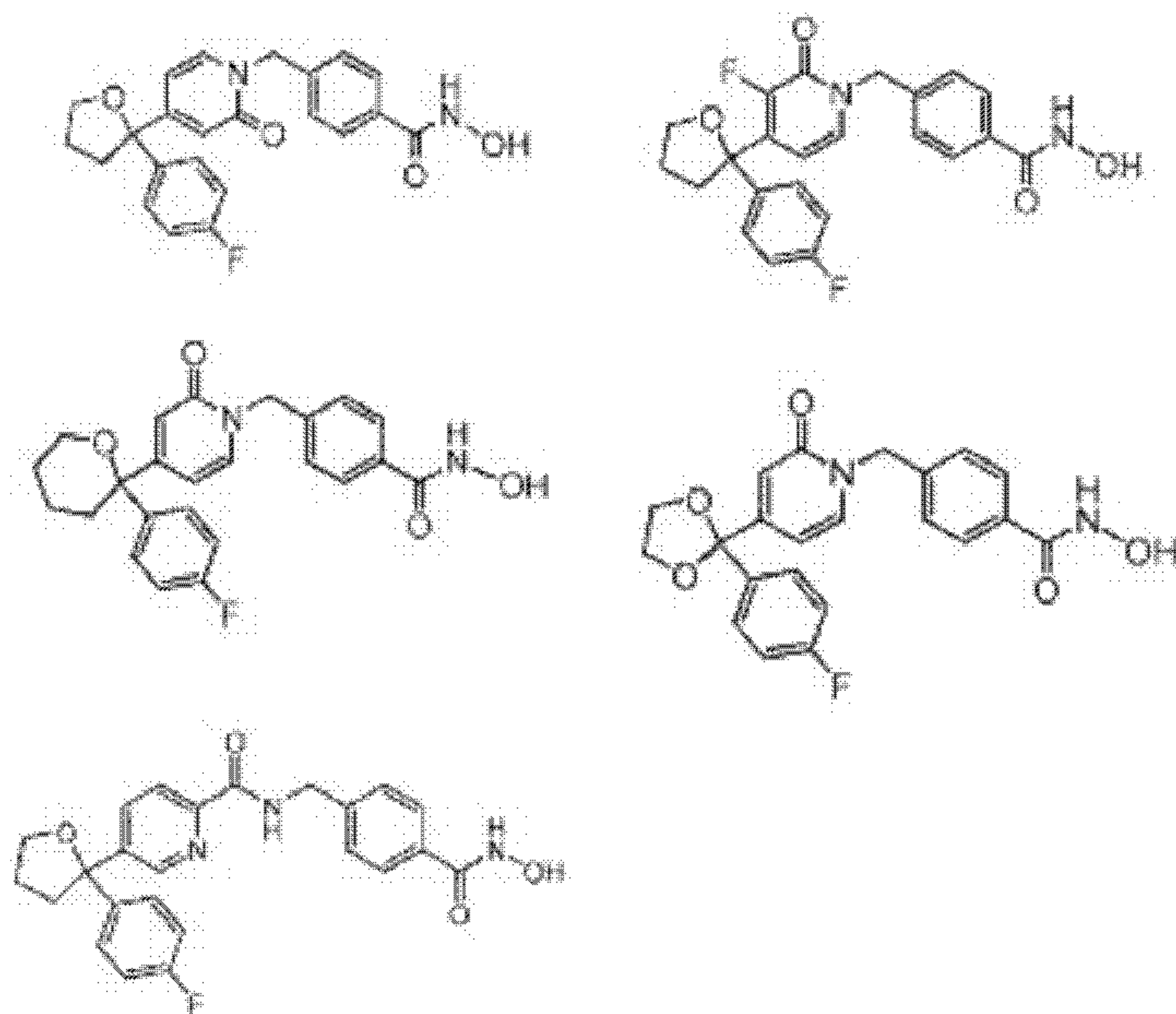
5 E₁、E₂ 各自独立地选自 -O-、-CH₂- 和 -CH₂-CH₂-；

R₂ 选自：H、F、Cl、Br、I；

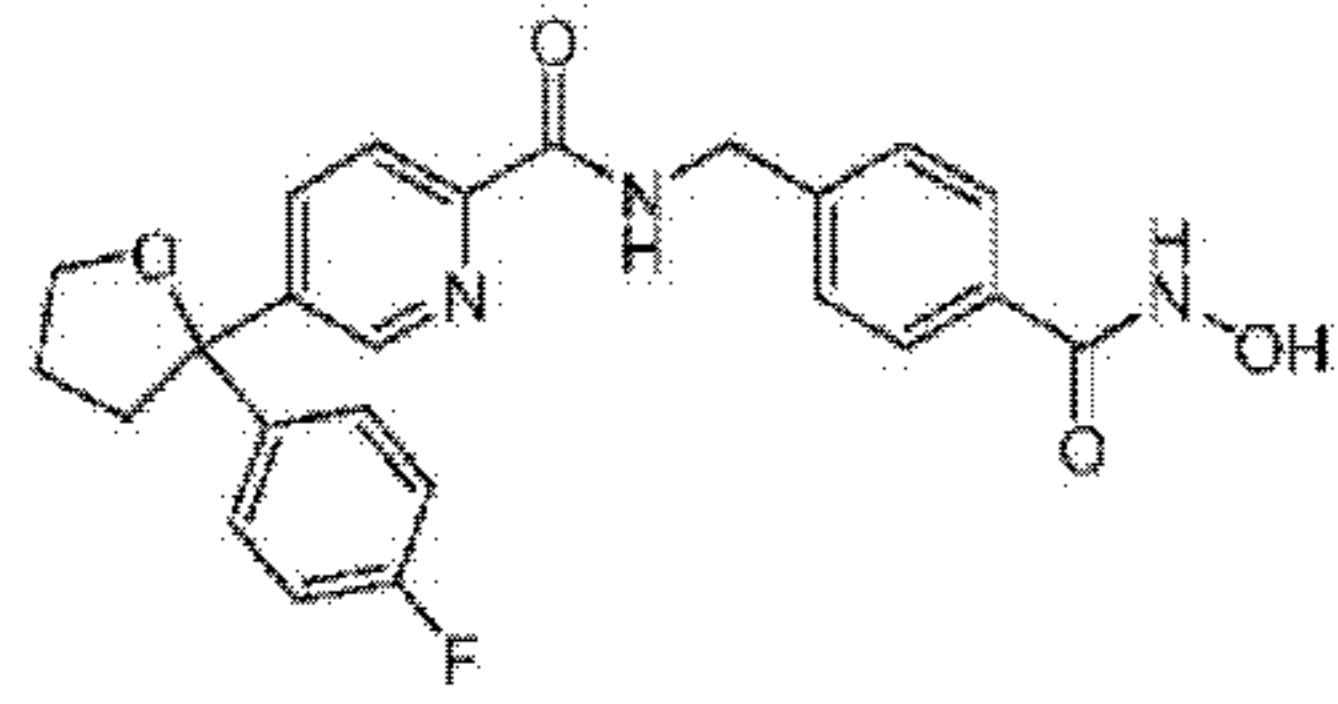
R 选自：F、Cl、Br、I；

n 选自：0 或 1。

12. 根据 1-10 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试
10 剂盒，其中所述选择性 HDAC6 抑制剂为：



13. 根据权利要求 1-10 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、
制剂或试剂盒，其中所述选择性 HDAC6 抑制剂为如下化合物 A：



14. 根据权利要求 1-13 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述一种或多种治疗剂为 PD-1 轴结合拮抗剂或者蛋白酶体抑制剂；

5 优选的，PD-1 轴结合拮抗剂选自 PD-1 结合拮抗剂，PD-L1 结合拮抗剂和 PD-L2 结合拮抗剂；更优选的，PD-1 轴结合拮抗剂是抗体或其抗原结合片段；尤其优选地，该抗体是抗 PD-1 抗体；最优选地，该抗体是单克隆抗体；

10 优选的，所述蛋白酶体抑制剂为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

15. 根据权利要求 1-14 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述抗体或其抗原结合片段结合于 PD-1 的一个表位，所述表位包含：SEQ ID NO：24 上第 128、129、130、131 和 132 位点氨基酸和第 35、64、82、83 位中至少一个氨基酸；

15 优选的，所述抗体或其抗原结合片段结合于人 PD-1 和鼠 PD-1 的一个表位，其中，所述表位包括 SEQ ID NO：24 上第 128、129、130、131 和 132 位点氨基酸；

其中鼠 PD-1 是小鼠或大鼠 PD-1。

20 16. 根据权利要求 1-15 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述抗体

a)结合于人 PD-1，KD 为 $2.15E-10M$ 以下；并且

b)结合于鼠 PD-1，KD 为 $1.67E-08M$ 以下。

17. 根据权利要求 1-16 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述抗体具有下列性质中的至少一种：

25 a)结合于人 PD-1，KD 为 $4.32E-10M$ 至 $2.15E-10M$ ，并且结合于小鼠 PD-1，KD 为 $5.39E-08M$ 至 $1.67E-08M$ ；

- b)实质上不结合于人 CD28、CTLA-4;
- c)增加 T 细胞的增殖;
- d)增加干扰素- γ 的产生; 或
- e)增加白细胞介素-2 的分泌。

5 18. 根据权利要求 1-17 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含一个氨基酸序列, 所述氨基酸序列与选自由 SEQ ID NOs : 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性, 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

10 19. 根据权利要求 1-18 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含一个氨基酸序列, 所述氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs : 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列, 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

15 20. 根据权利要求 1-19 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

a)重链可变区, 其具有的氨基酸序列与选自由 SEQ ID NO : 1 和 SEQ ID NO : 2 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性; 以及

20 b)轻链可变区, 其具有的氨基酸序列与选自由 SEQ ID NOs : 3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列具有至少 70%、80%、90% 或 95% 的同源性,

其中所述抗体特异性结合 PD-1。

21. 根据权利要求 1-20 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

25 a)重链可变区, 其具有的氨基酸序列选自由 SEQ ID NO : 1 和 SEQ ID NO : 2 组成的组中所述序列; 以及

b)轻链可变区, 其具有的氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs : 3、4、5、6、7、8 和 9 所组成的组中的序列, 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

30 22. 根据权利要求 1-21 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒, 其中所述抗体或其抗原结合片段包含:

- a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：2 所示的序列；以及
b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO：3 所示的序列，
其中所述抗体特异性结合 PD-1。

23. 根据权利要求 1-22 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试
5 剂盒，其中所述抗体或其抗原结合片段包含互补决定区(CDR)，其具有的氨基酸序列选自由 SEQ ID NOs：10-23 所组成的组中的序列，其中所述抗体特异性结合 PD-1。

24. 根据权利要求 1-23 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试
剂盒，其中所述抗体或其抗原结合片段包含：

- 10 包含 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的重链可变区；以及
包含 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的轻链可变区，

其中重链可变区 CDR3 序列包含选自由 SEQ ID NO：12 和 SEQ ID NO
：13 所组成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰，其中所述抗体特异性结合
PD-1。

15 25. 根据权利要求 1-24 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试
剂盒，其中所述抗体轻链可变区 CDR3 序列包含选自由 SEQ ID NOs：20、
21、22 和 23 所组成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰。

26. 根据权利要求 1-25 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试
20 剂盒，其中所述抗体重链可变区 CDR2 序列包含选自由 SEQ ID NO：11 所
组成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰。

27. 根据权利要求 1-26 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试
剂盒，其中所述抗体轻链可变区 CDR2 序列包含选自由 SEQ ID NO：19 所
组成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰。

28. 根据权利要求 1-27 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试
25 剂盒，其中所述抗体重链可变区 CDR1 序列包含选自由 SEQ ID NO：10 所
组成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰。

29. 根据权利要求 1-26 方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂
盒，其中所述抗体轻链可变区 CDR1 序列包含选自由 SEQ ID NOs：14、15、
16、17 和 18 所组成的组中的氨基酸序列及其保守性修饰。

30 30. 根据权利要求 1-29 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试

剂盒，其中所述抗体包含：

- 5 a)重链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 10 所示的氨基酸序列,
 b)重链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 11 所示的氨基酸序列,
 c)重链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 13 所示的氨基酸序列,
 d)轻链可变区 CDR1, 序列包含选自 SEQ ID NO : 14 所示的氨基酸序列,
 e)轻链可变区 CDR2, 序列包含选自 SEQ ID NO : 19 所示的氨基酸序列,
 f)轻链可变区 CDR3, 序列包含选自 SEQ ID NO : 21 所示的氨基酸序列,
 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

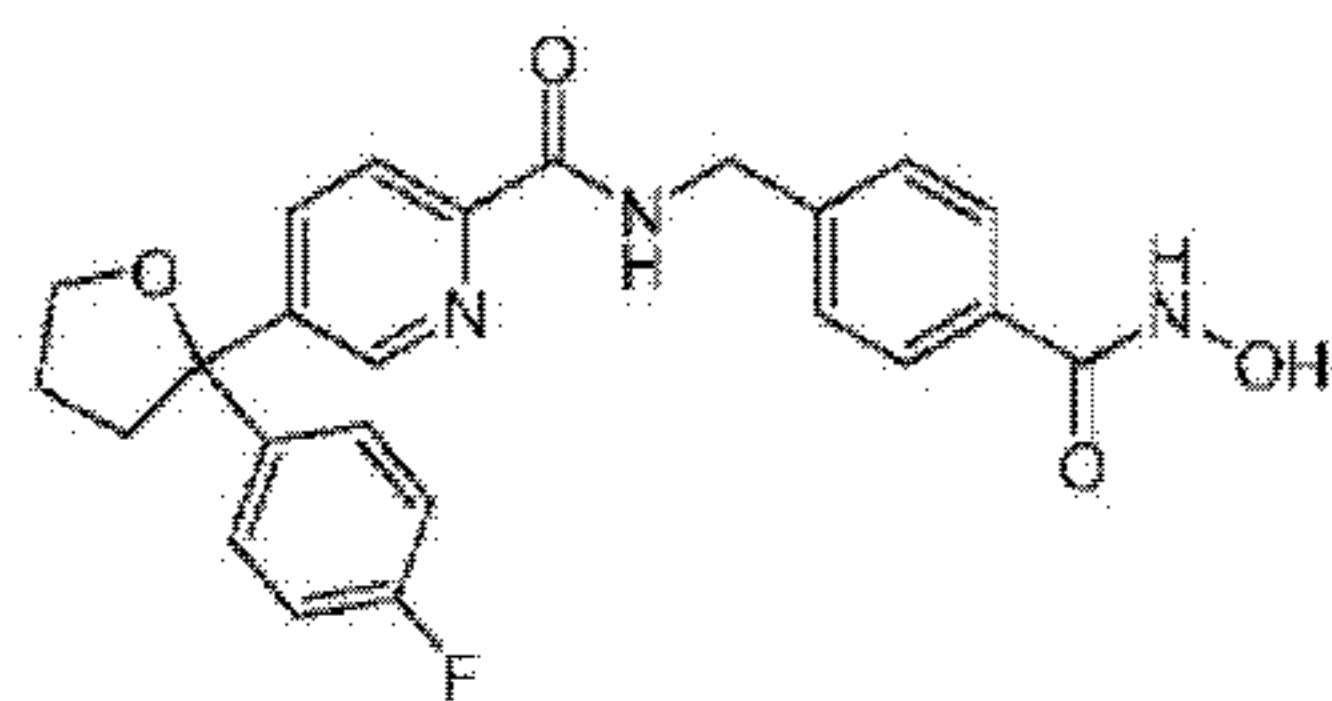
10 31. 根据权利要求 1-30 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述抗体是嵌合抗体或人源化抗体或人抗体或哺乳动物抗体。

15 32. 根据权利要求 1-31 的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述抗体或抗原结合其片段是骆驼化的单链结构域抗体、双抗体、scFv、scFv 二聚体、BsFv、dsFv、(dsFv)₂、dsFv-dsFv'、Fv 片段、Fab、Fab'、F(ab')₂、ds 双功能抗体(dsdiabody)、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

33. 根据权利要求 1-32 任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中所述抗体或抗原结合其片段还包含免疫球蛋白恒定区。

34. 根据权利要求 1-33 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中：

20 所述选择性 HDAC6 抑制剂为如下式 A 化合物：



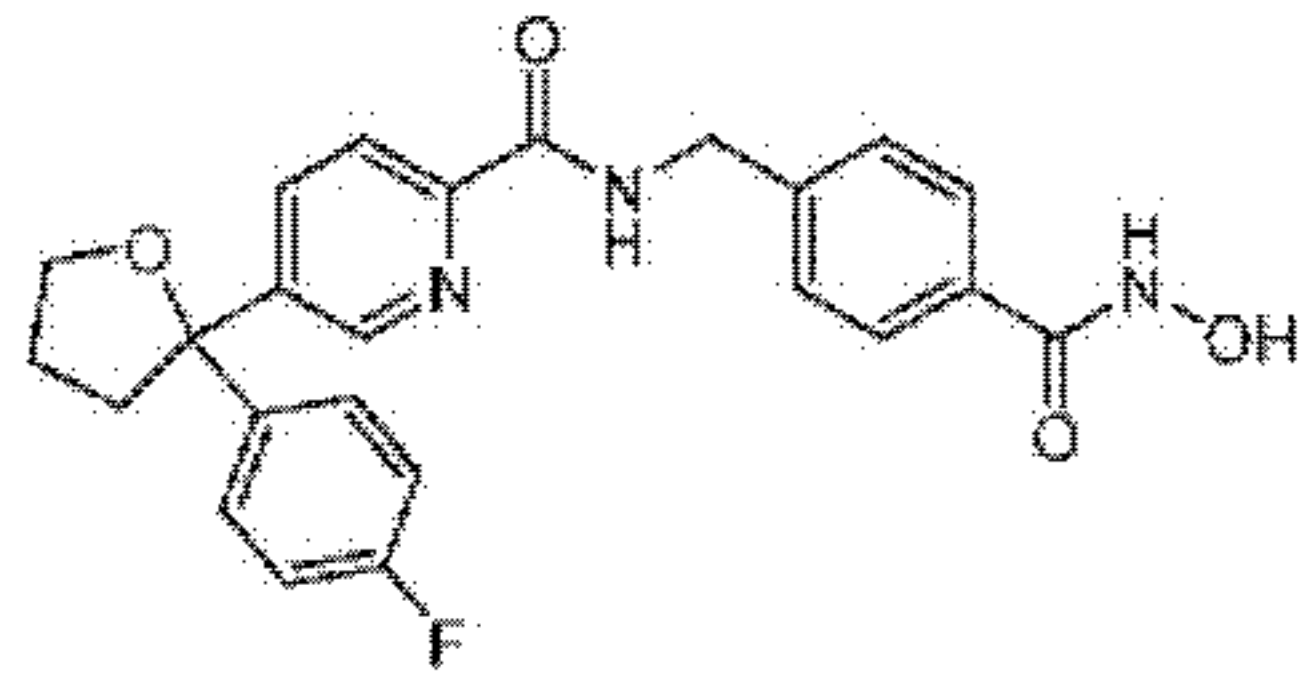
化合物 A；

所述一种或多种治疗剂为抗体或其抗原结合片段，其为抗体 2E5，包含：

- 25 a)重链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 2 所示的序列；以及
 b)轻链可变区，其氨基酸序列选自 SEQ ID NO : 3 所示的序列，
 其中所述抗体特异性结合 PD-1。

35. 根据权利要求 1-13 中任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、

制剂或试剂盒，其中，所述选择性 HDAC6 抑制剂为如下化合物 A：



化合物 A

所述一种或多种治疗剂为硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米或者马瑞佐米。

- 5 36. 根据权利要求 1-35 中任一项所述的任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，所述选择性 HDAC6 抑制剂以约 0.0001 至约 100mg/kg，优选约 1mg/kg、约 2mg/kg、约 5 mg/kg、约 10 mg/kg、约 15 mg/kg、约 20 mg/kg 给药；

10 优选的，所述选择性 HDAC6 抑制剂单位剂量为约 10 至 1000mg，更优选约 100 至 1000mg，约 200 至约 600mg，或约 300 至约 500mg，尤其优选约 10mg、约 50 mg、约 100 mg、约 150mg、约 200 mg、约 250 mg、约 300 mg、约 350 mg、约 400 mg、约 450 mg、约 500 mg。

15 37. 根据权利要求 36 所述的任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，所述 PD-1 轴结合拮抗剂以约 0.01 mg/kg 至约 100 mg/kg，例如，约 0.1 mg/kg-10 mg/kg、约 0.5 mg/kg-5 mg/kg、或约 1 mg/kg-约 2 mg/kg 给药；

优选的，所述 PD-1 轴结合拮抗剂的单位剂量为约 1mg 至约 100mg 的单位剂量，优选为约 5mg-50mg、约 10mg-40mg、15mg-30mg、或 20mg-25mg。

20 38. 根据权利要求 36 所述的任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，所述蛋白酶体抑制剂以约 0.0001 至约 100mg mg/kg，优选约 0.01 mg/kg-约 1mg/kg、约 0.1 mg/kg-约 0.5 mg/kg、约 1mg/kg-20 mg/kg、约 2mg/kg-约 15 mg/kg、约 5 mg/kg-约 10 mg/kg 的剂量给药；

优选的，所述蛋白酶体抑制剂的单位剂量为约 1 至 500mg，约 5 至 200mg，约 10 至 50mg，约 2mg 至约 30mg、约 10mg 至约 20mg。

25 39. 根据权利要求 1-38 中任一项所述的任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，所述选择性 HDAC6 抑制剂以约 100 至 1000mg 的单位剂量，优选约 200 至约 600mg，或约 300 至约 500mg 的单位

剂量配制成制剂，尤其是口服制剂；所述 PD-1 轴结合拮抗剂以约 0.01 mg/kg 至约 100 mg/kg 的单位剂量，优选以约 5mg-50mg 的单位剂量配制成制剂，尤其是注射剂；或者所述蛋白酶体抑制剂以约 1 至 500mg，优选约 5 至 50mg 的单位剂量配制成制剂，尤其是注射剂。

5 40. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的任一项的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，所述选择性 HDAC6 抑制剂以口服给药；所述 PD-1 轴结合拮抗剂通过静脉内输注给药；所述蛋白酶体抑制剂通过口服给药；

10 优选的，在治疗周期中，所述选择性 HDAC6 抑制剂每天给药 1 次、2 次或者更多次；所述 PD-1 轴结合拮抗剂每个月给药 1 次、每两周给药 1 次、每周给药 1 次、2 次或者更多次、每天给药 1 次、2 次或者更多次；所述蛋白酶体抑制剂每个月给药 1 次、每两周给药 1 次、每周给药 1 次、2 次或者更多次、每天给药 1 次、2 次或者更多次；

15 更优选的，所述 HDAC6 抑制剂每天给药 1 次；所述 PD-1 轴结合拮抗剂每两周给药 1 次；或者所述蛋白酶体抑制剂每两周给药 1 次。

41. 根据权利要求 1-39 中任一项所述的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，所述受试者已经接受了至少一轮先前的治疗。

20 42. 根据权利要求 1-38 中任一项所述的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，先前的治疗是手术切除，移植，局部治疗，全身治疗和/或最佳支持治疗。

25 43. 根据权利要求 1-38 中任一项所述的方法、用途、组合、组合物、药物、制剂或试剂盒，其中，其中所述受益于调节免疫功能的受试者的病症为癌症，具体地，所述癌症为实体瘤或血液癌，如非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、结肠直肠癌、卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、间皮瘤、黑素瘤、头颈癌、甲状腺癌、肉瘤、前列腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、胸腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、真菌病真菌、默克尔细胞瘤和其他血液系统恶性肿瘤，例如经典霍奇金淋巴瘤(CHL)、原发性纵隔大 B 细胞淋巴瘤、T -细胞/组织细胞丰富的 B 细胞淋巴瘤、EBV 阳性和-阴性 PTLID、以及 EBV 相关的弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)、浆母细胞淋巴瘤、结外
30 NK / T 细胞淋巴瘤、鼻咽癌和 HHV8-相关的原发性渗出性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、中枢神经系统肿瘤(CNS)，例如原发性中枢神经系统淋巴瘤、脊髓

轴肿瘤、脑干神经胶质瘤、多发性骨髓瘤；

优选的，所述癌症选自多发性骨髓瘤或乳腺癌。

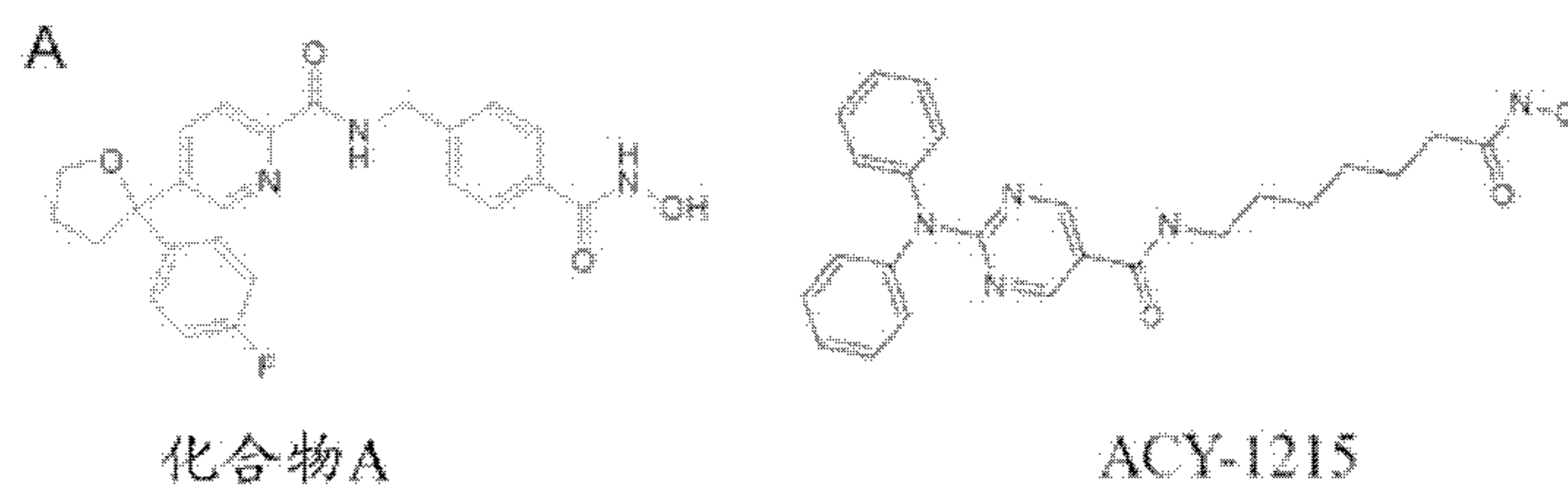


图 1

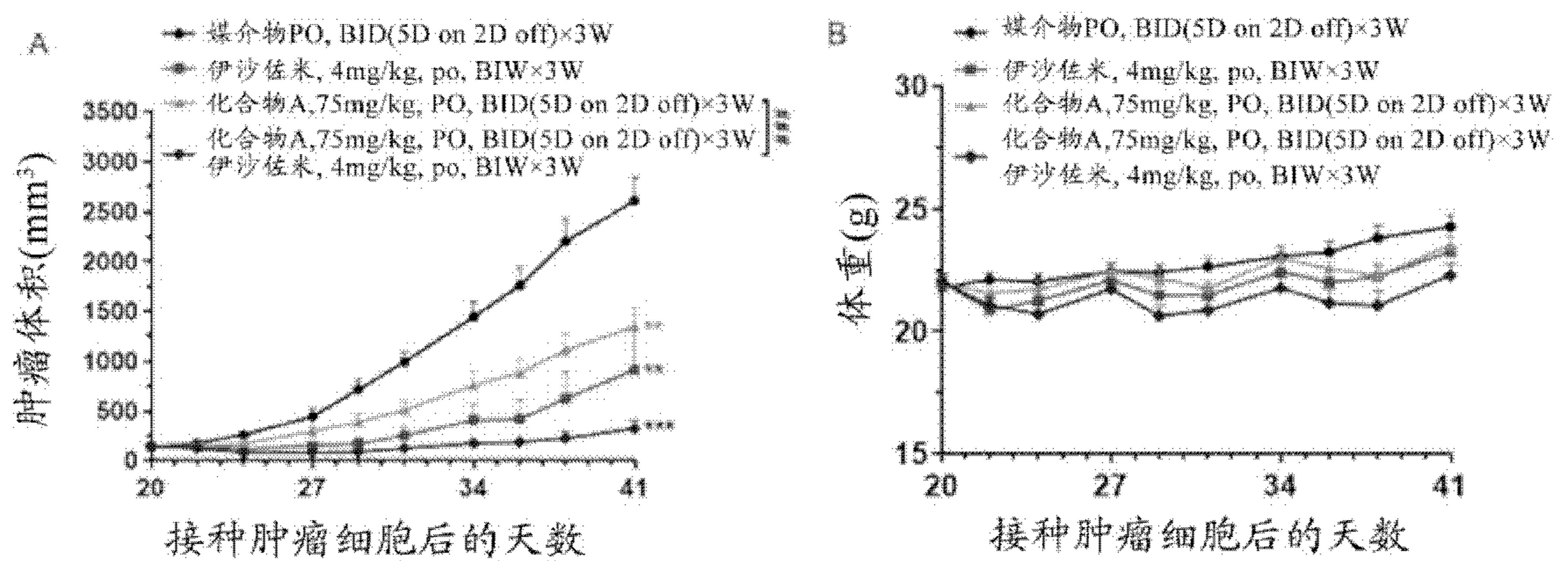


图 2

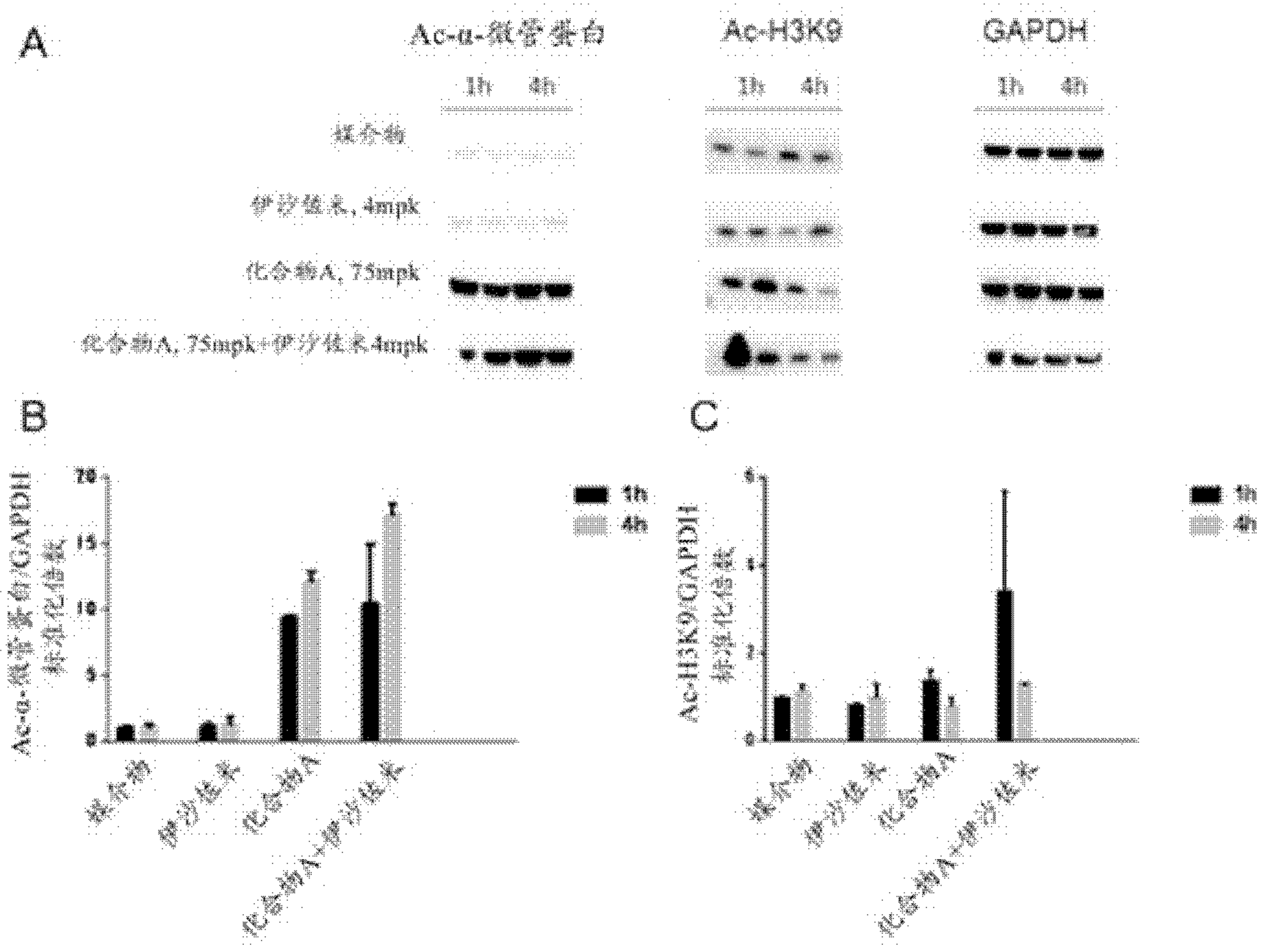


图 3

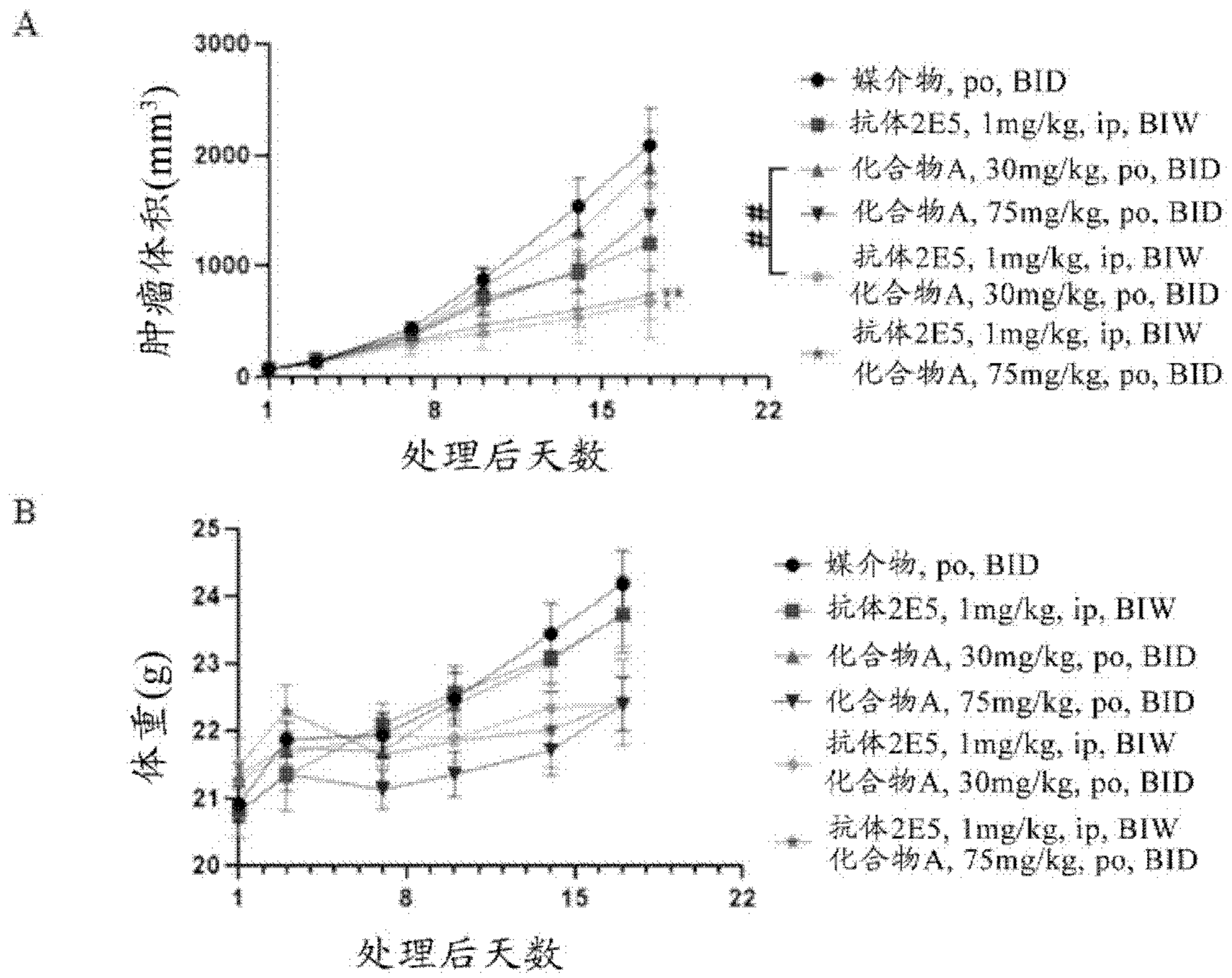


图 4

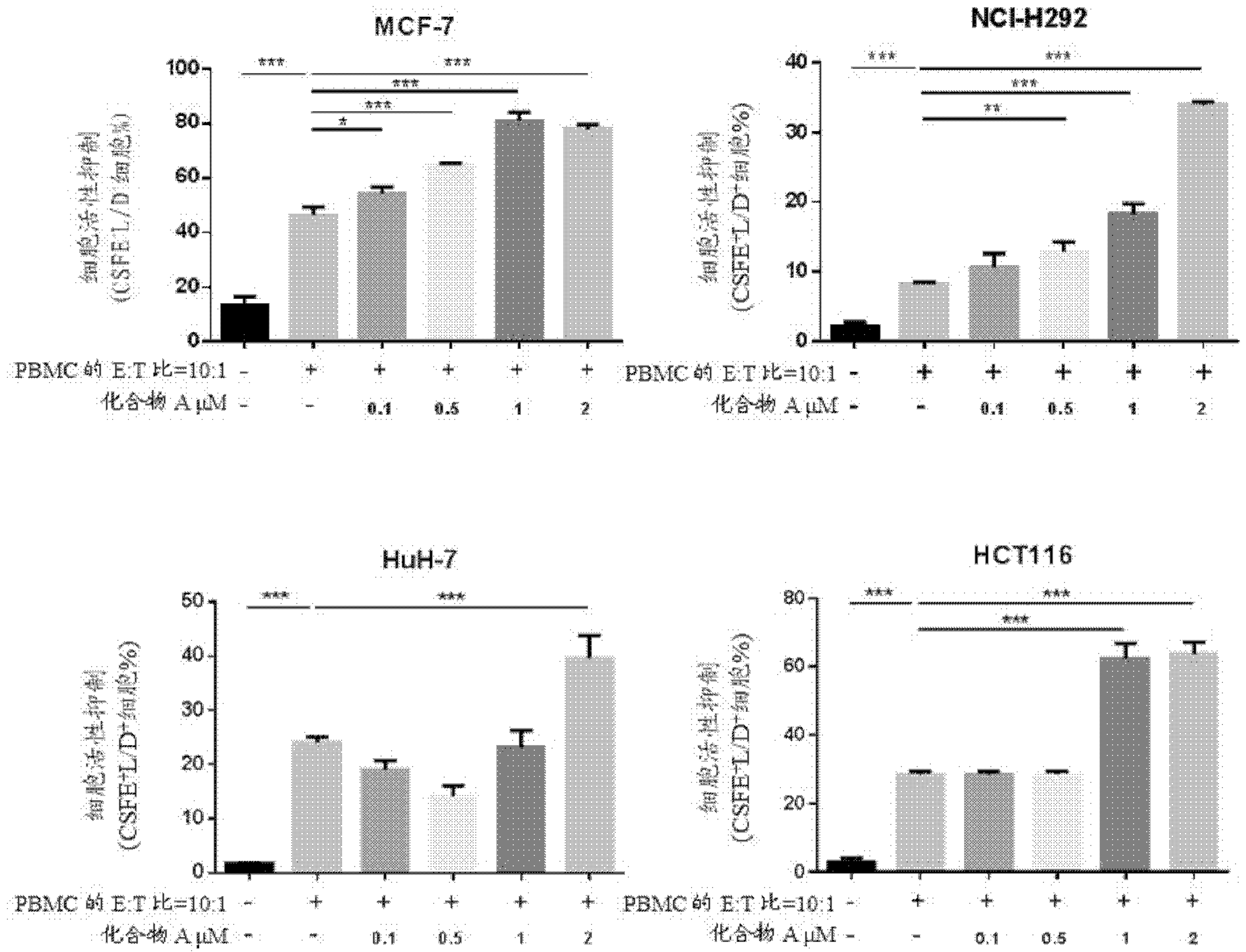


图 5

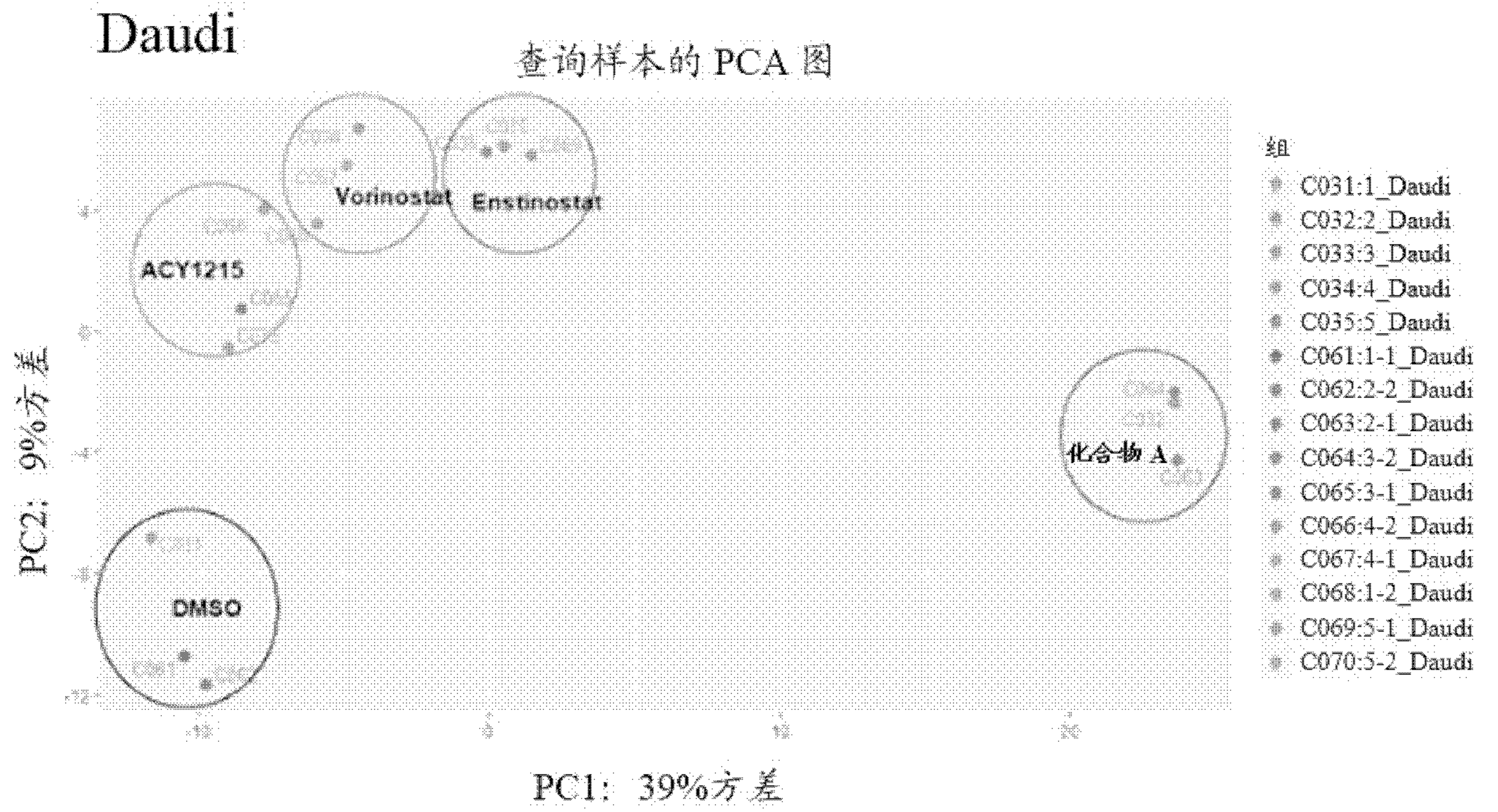


图 6-1

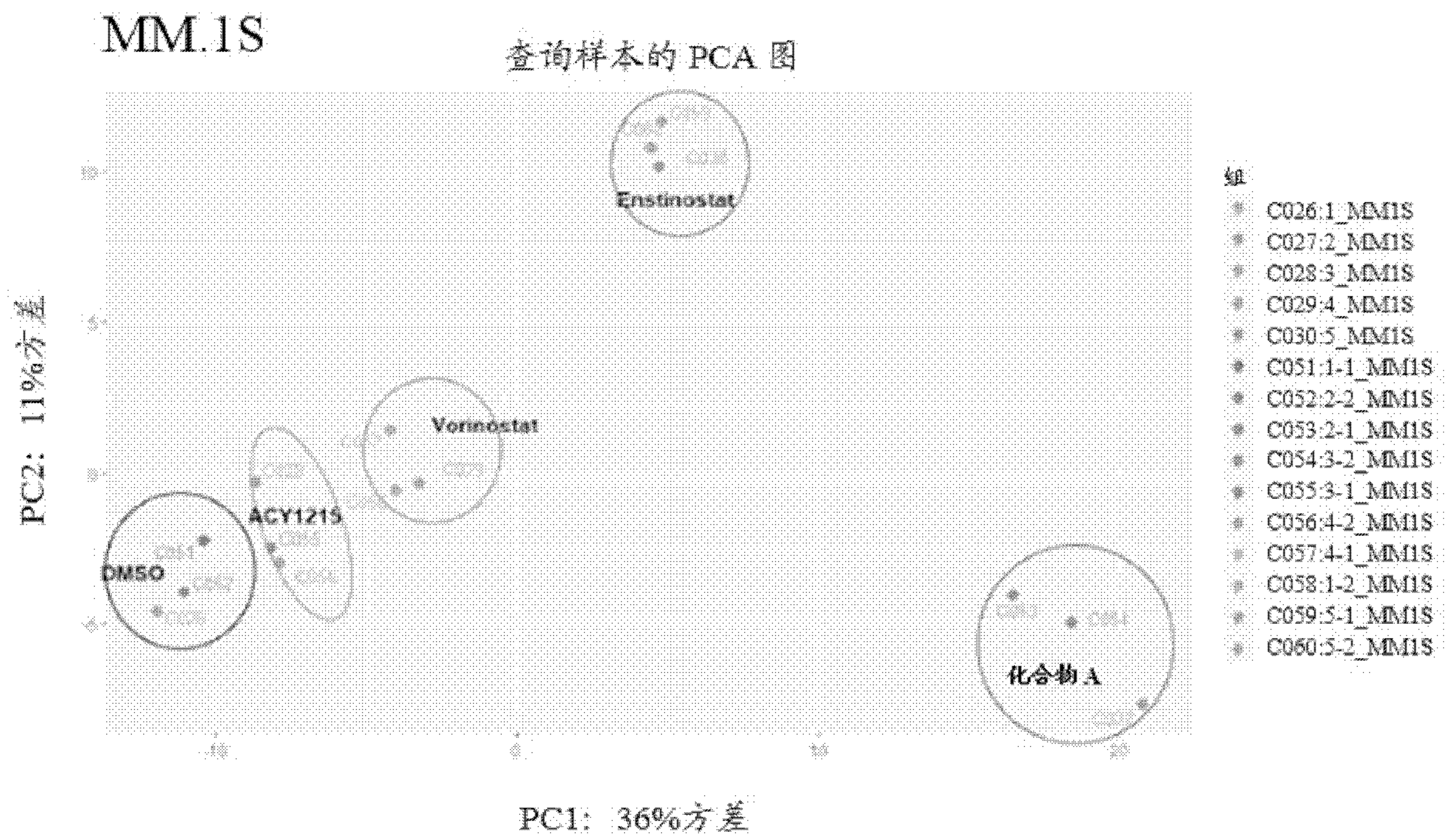


图 6-2

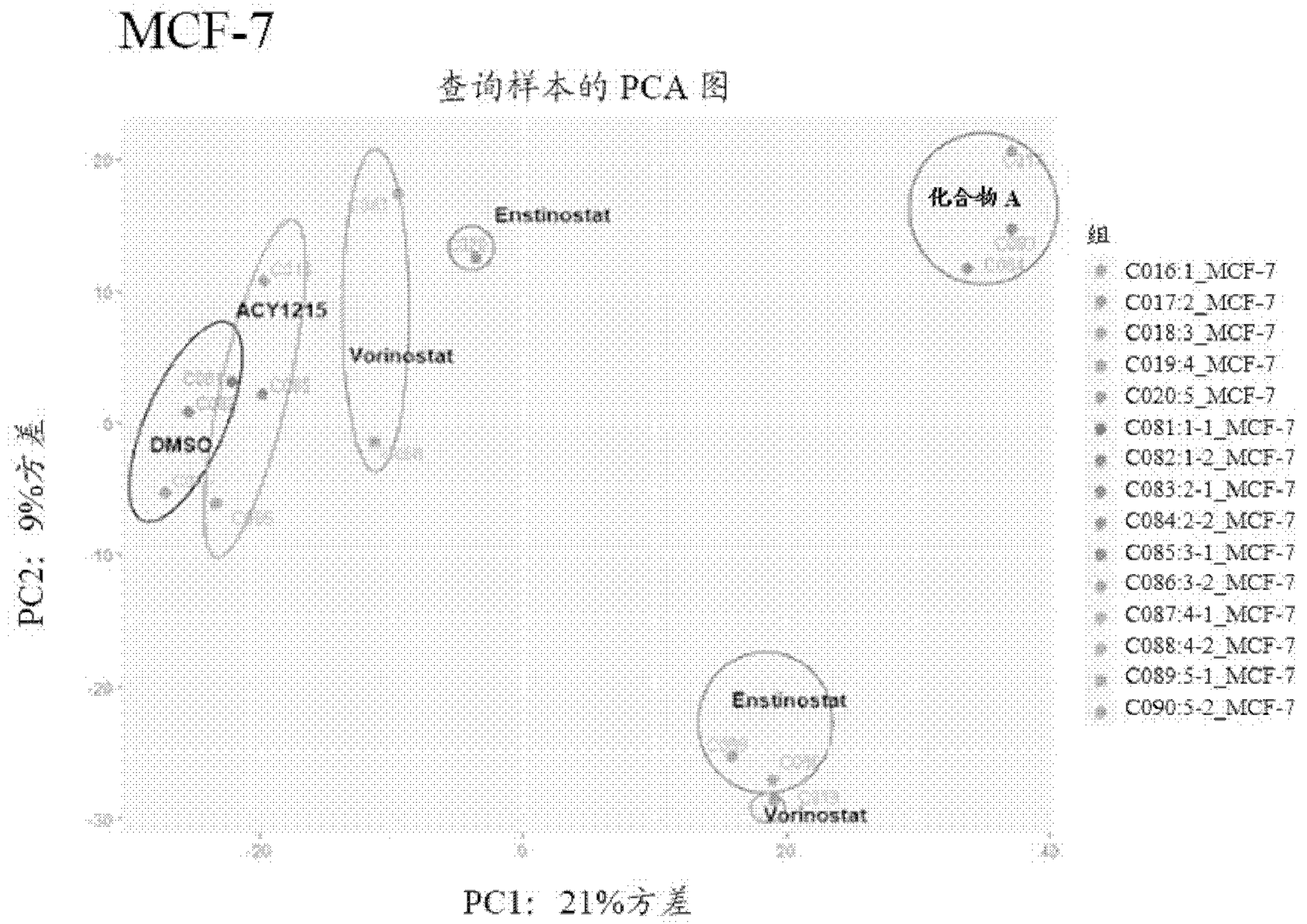


图 6-3

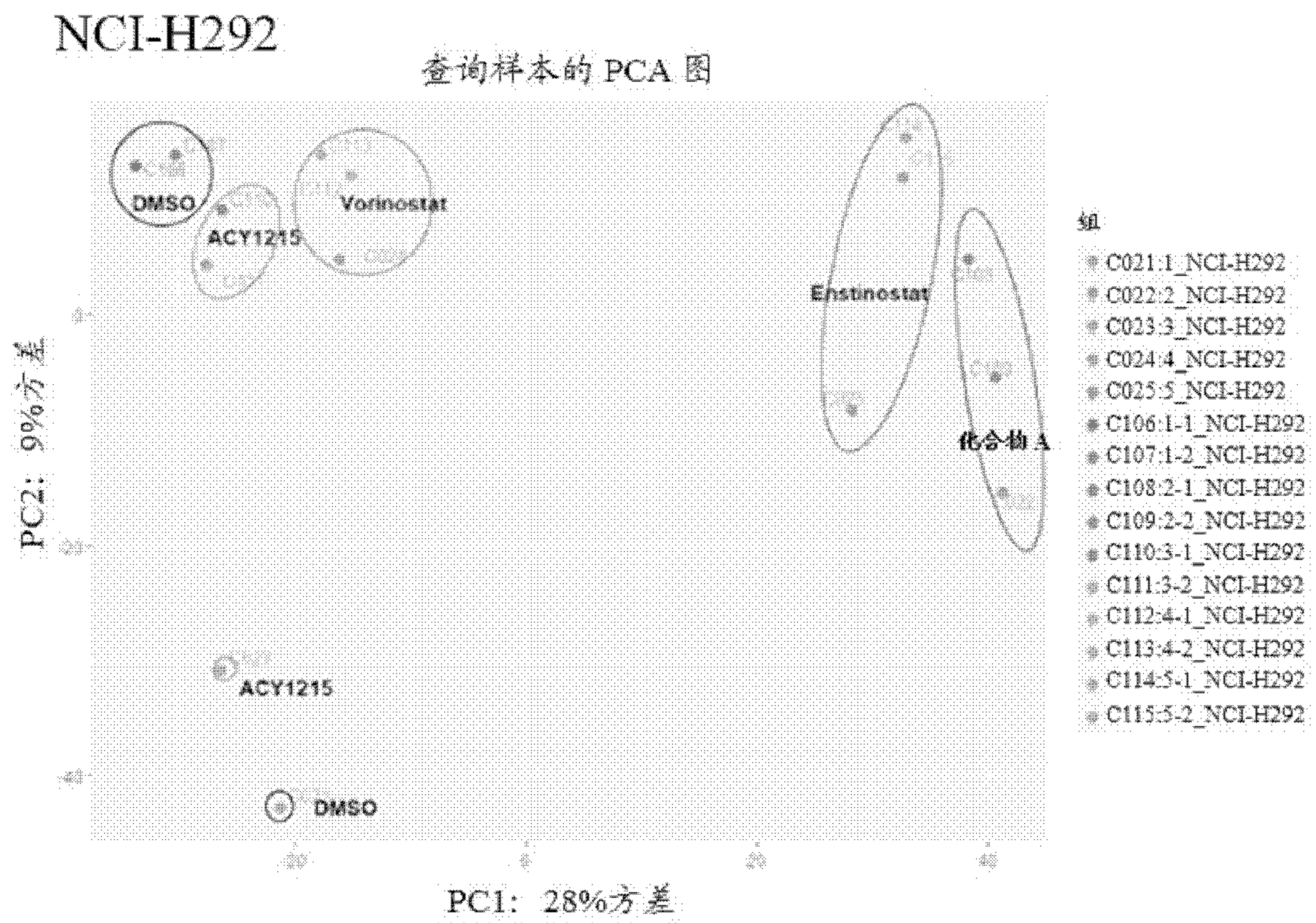


图 6-4

HT-29

查询样本的 PCA 图

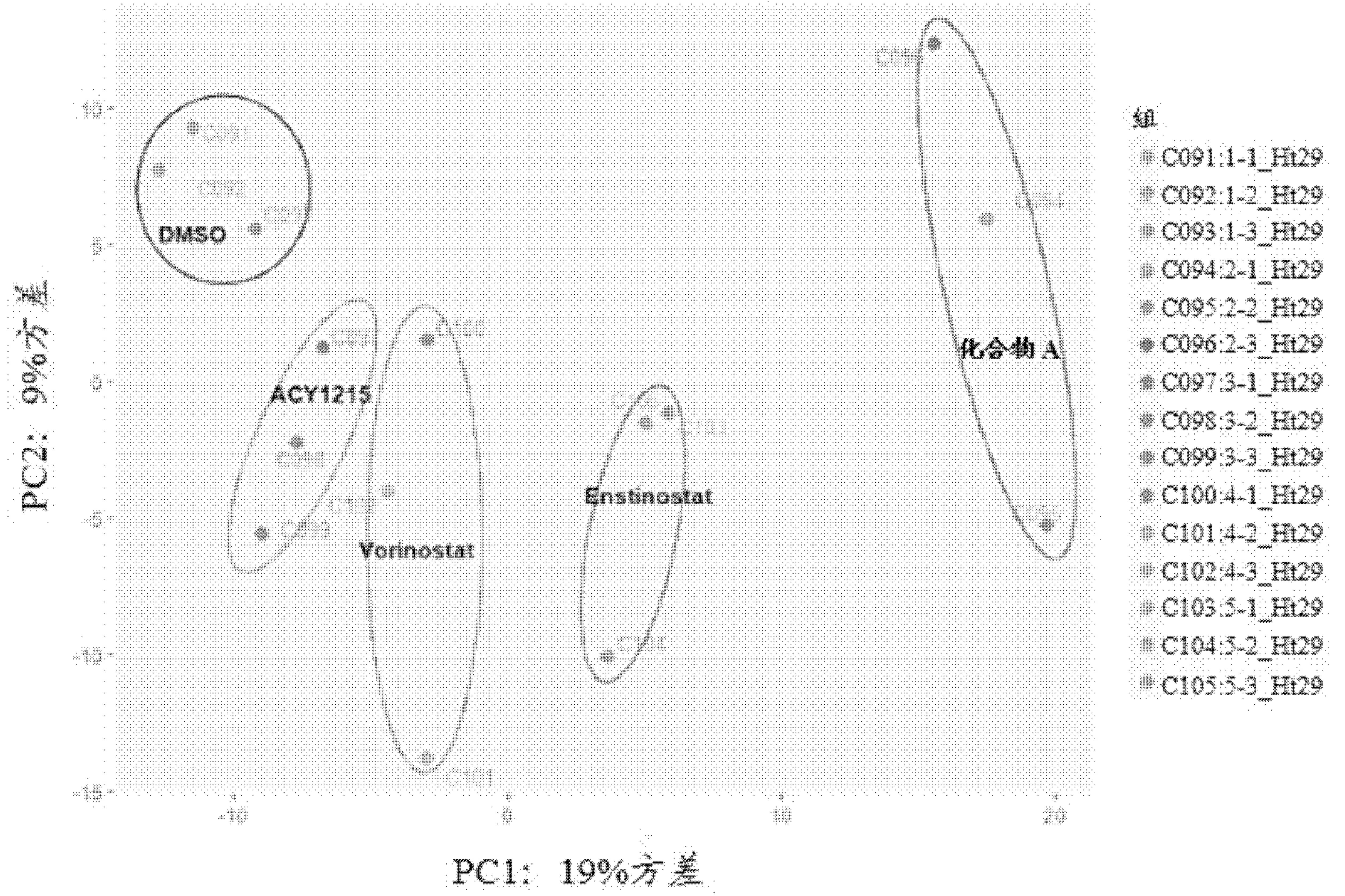


图 6-5

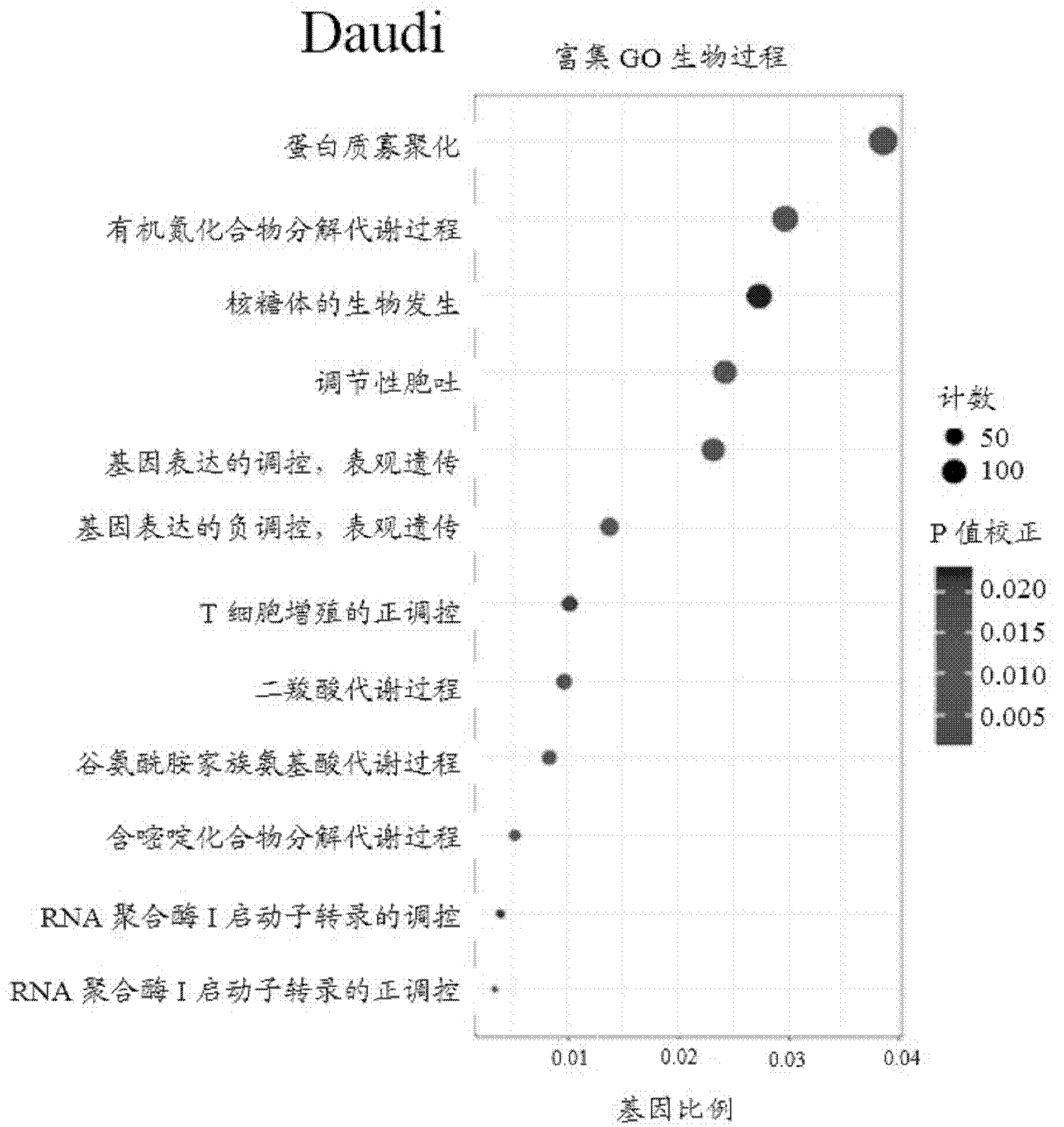


图 7-1

MM.1S

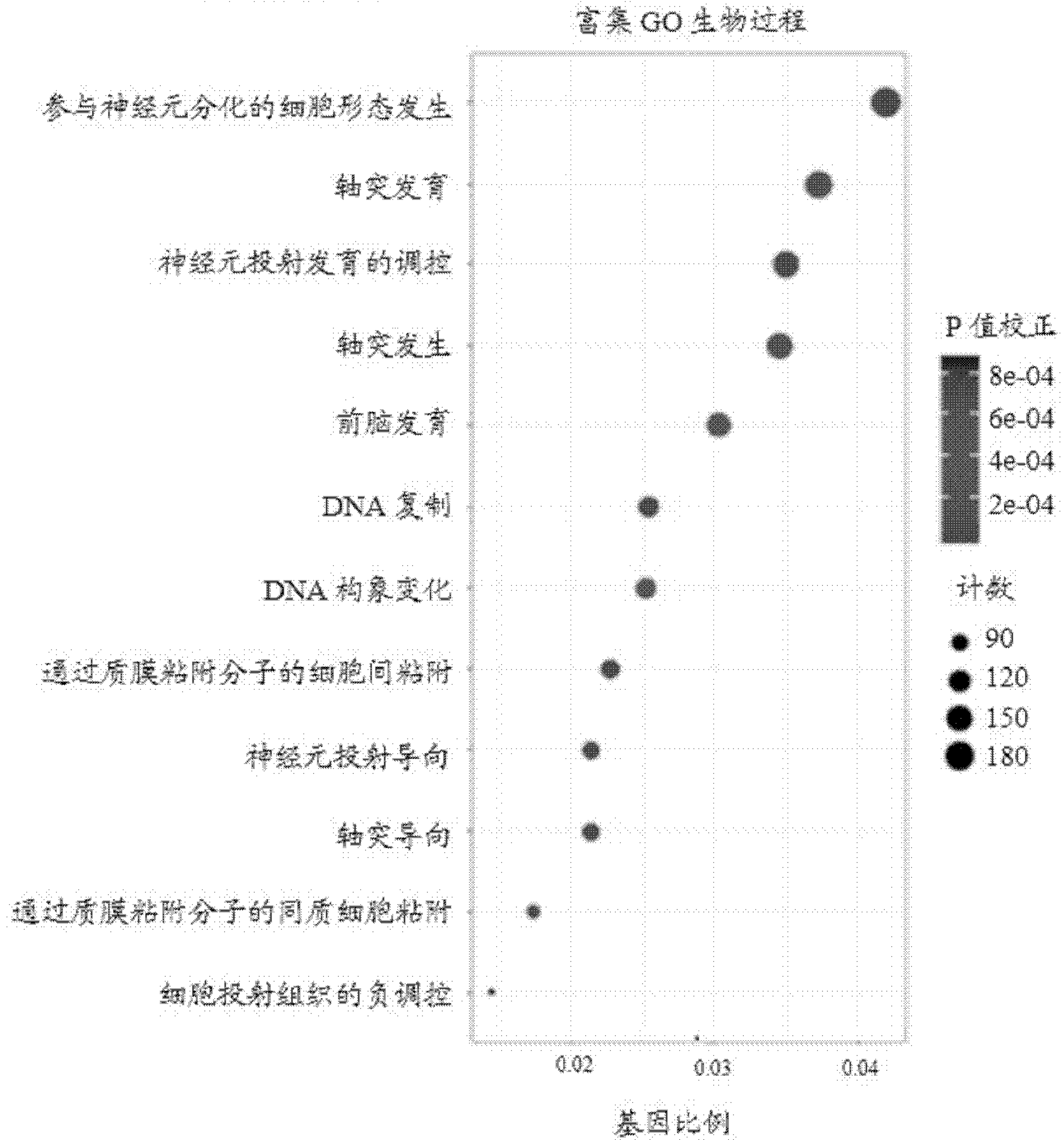


图 7-2

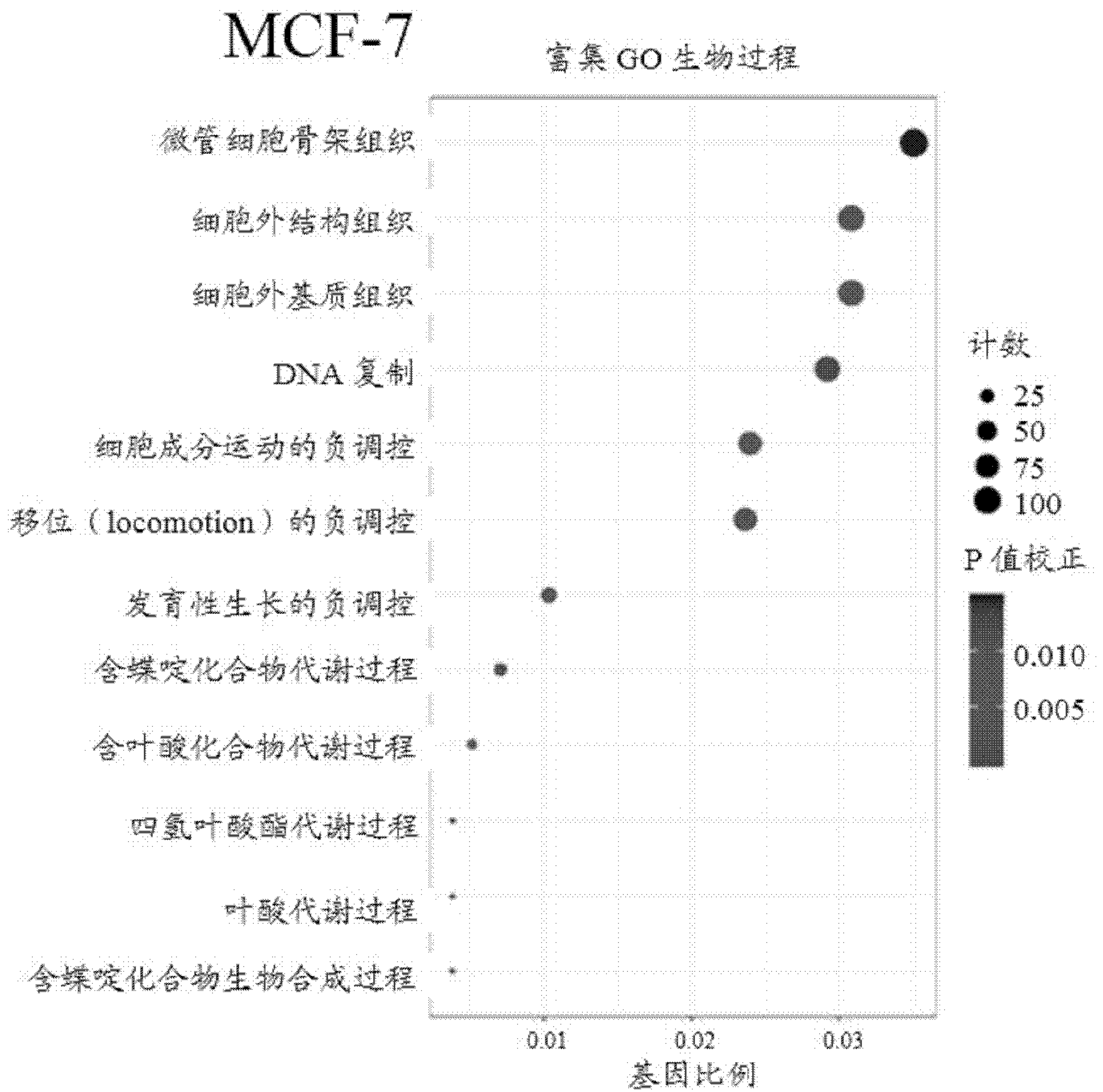


图 7-3

HT-29

富集 GO 生物过程

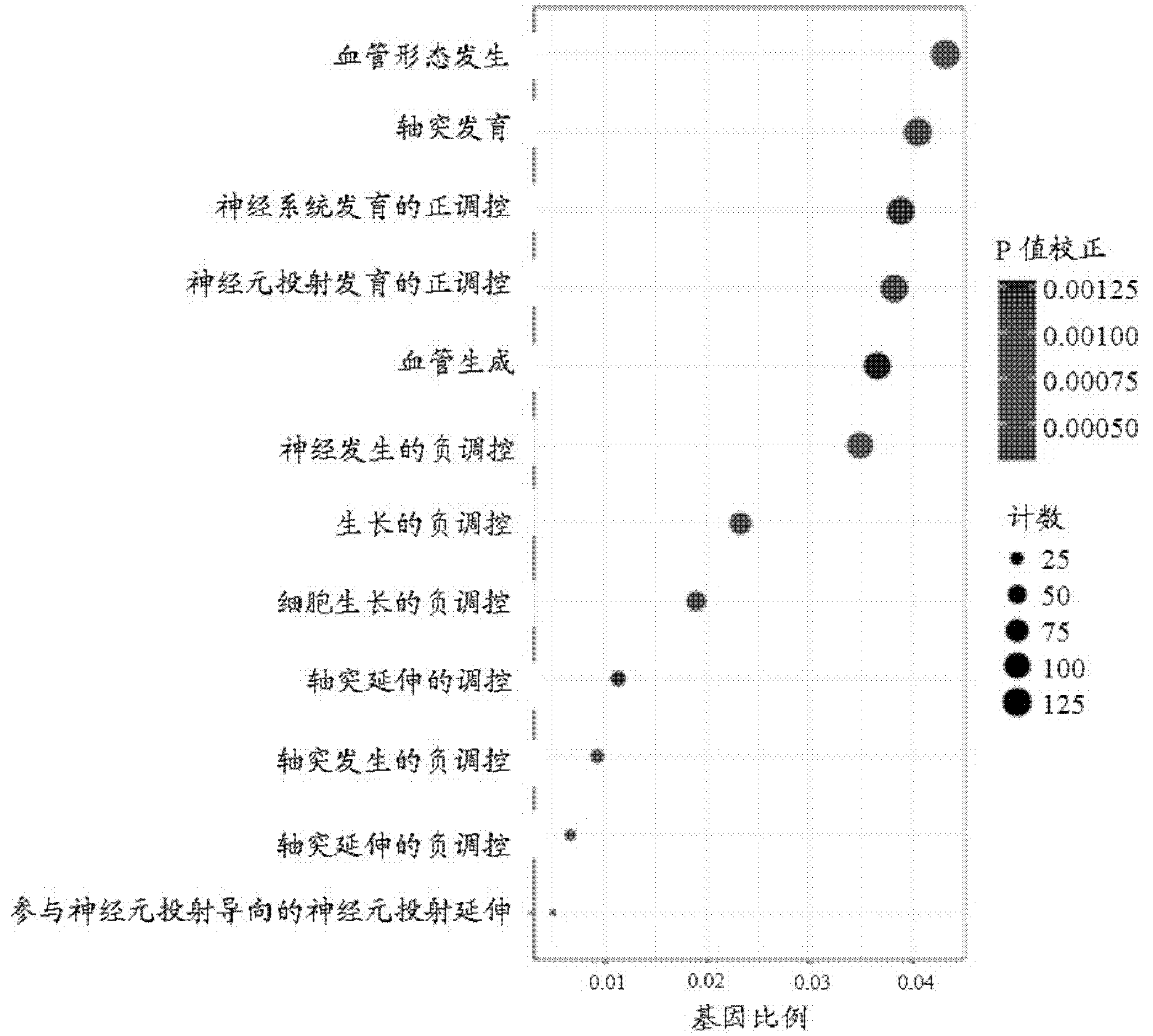


图 7-4

NCI-H292

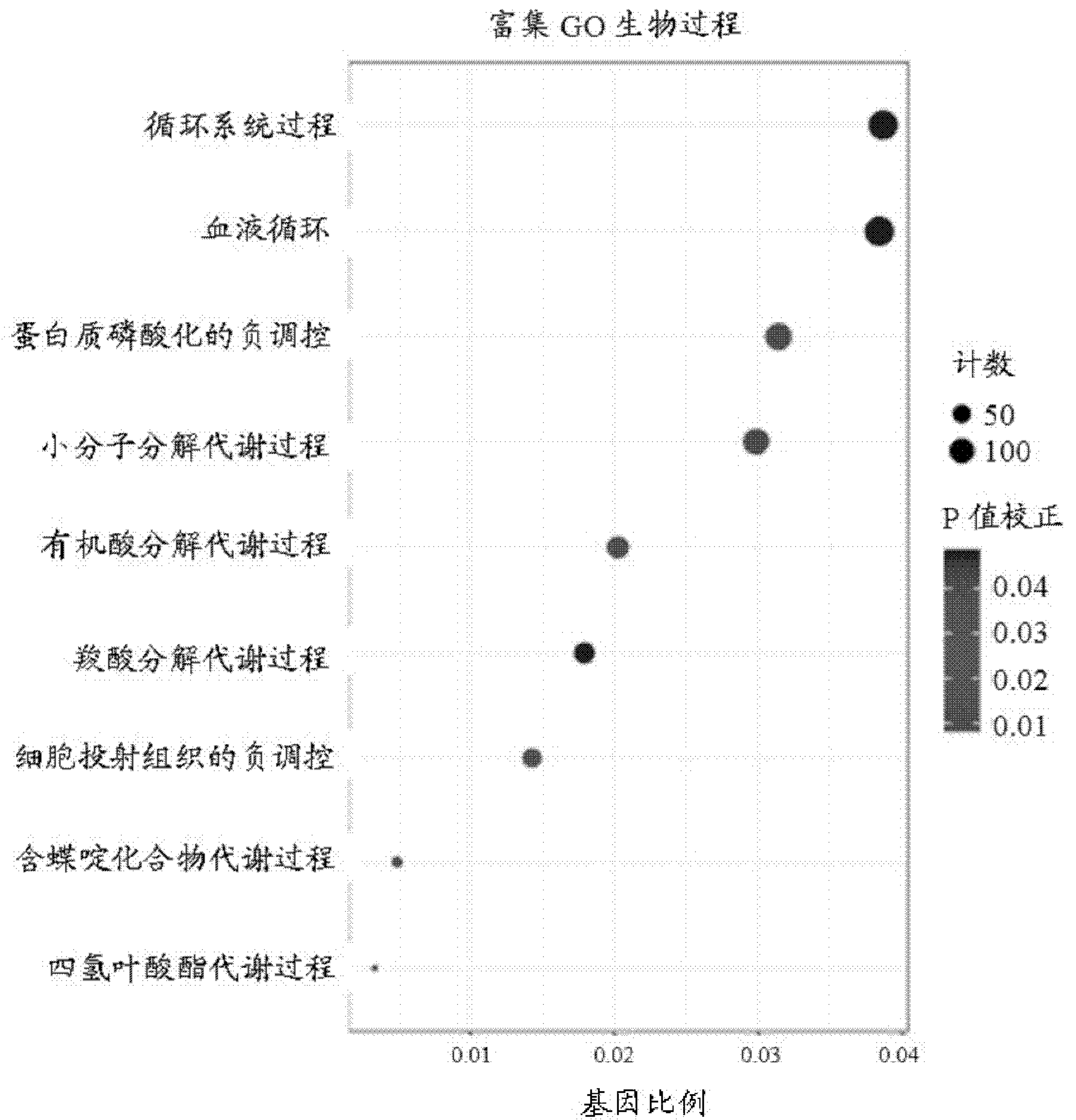


图 7-5

Daudi

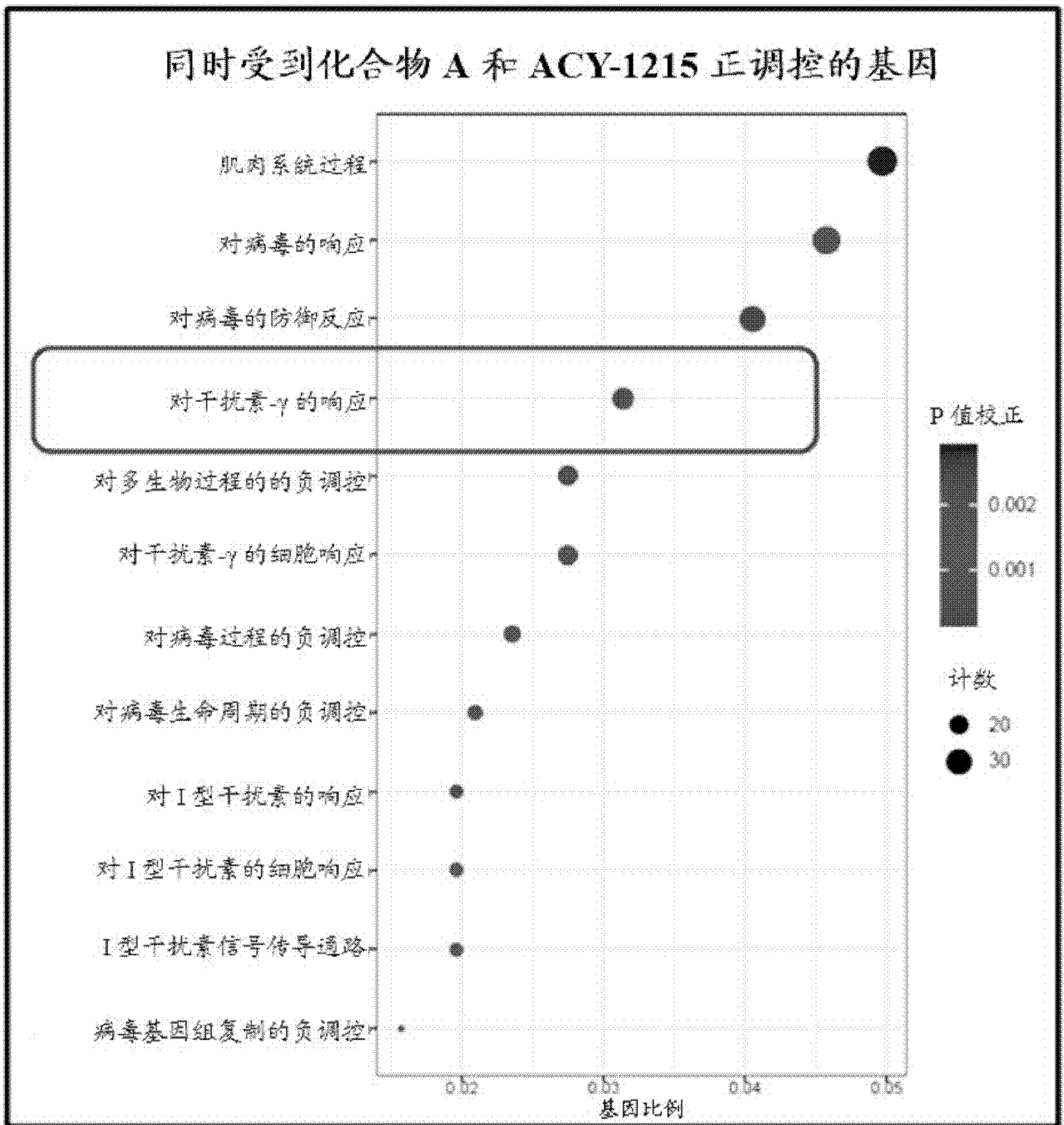


图 8-1

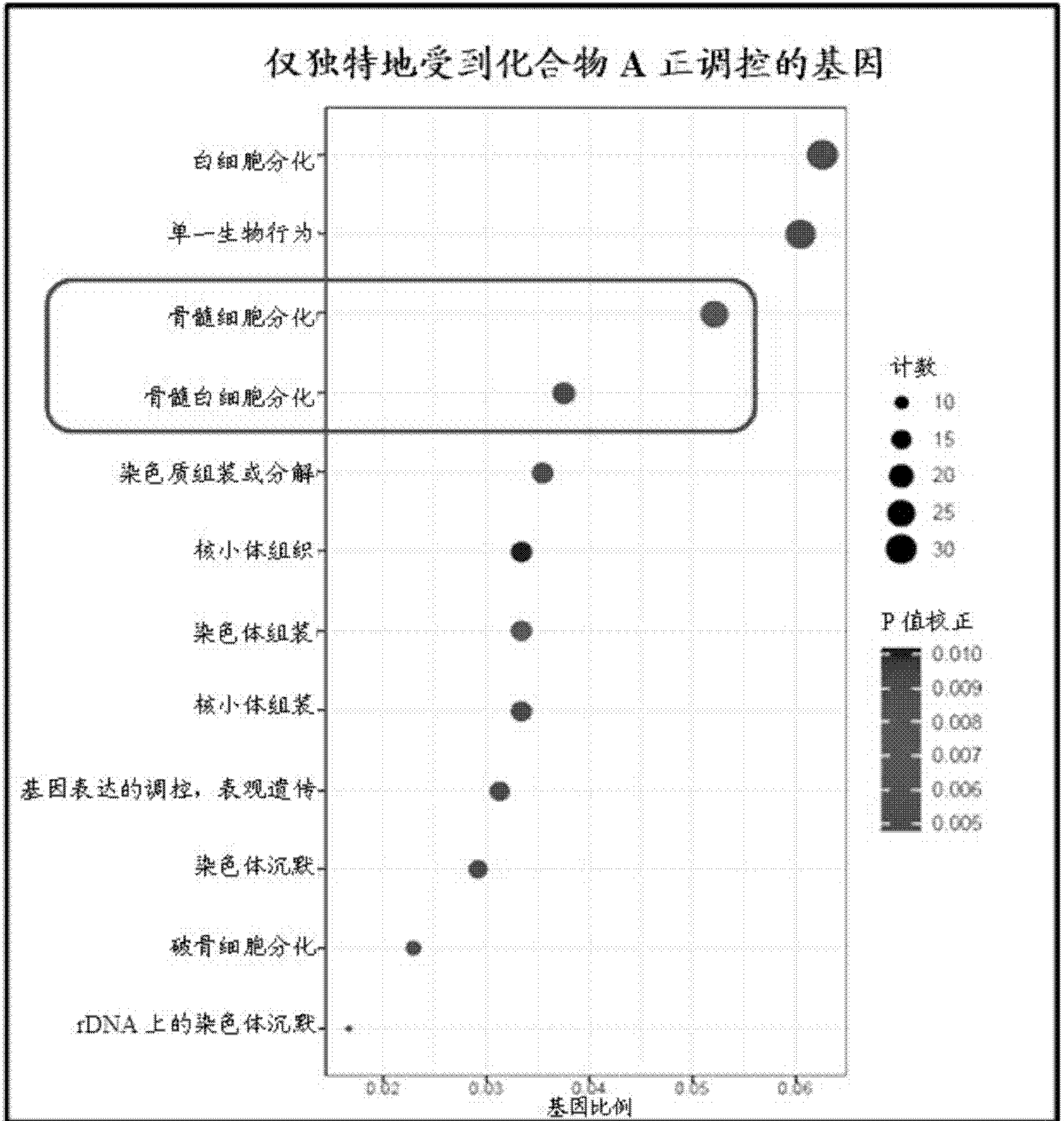


图 8-2

HT-29

ID	描述	基因比例	Bg 比例	p 值
GO:0030099	骨髓细胞分化	97/3850	331/16672	0.004888113
GO:0001773	髓样树突状细胞活化	4/3850	29/16672	0.928535
GO:0002281	参与免疫反应的巨噬细胞活化	3/3850	11/16672	0.4844

图 8-3

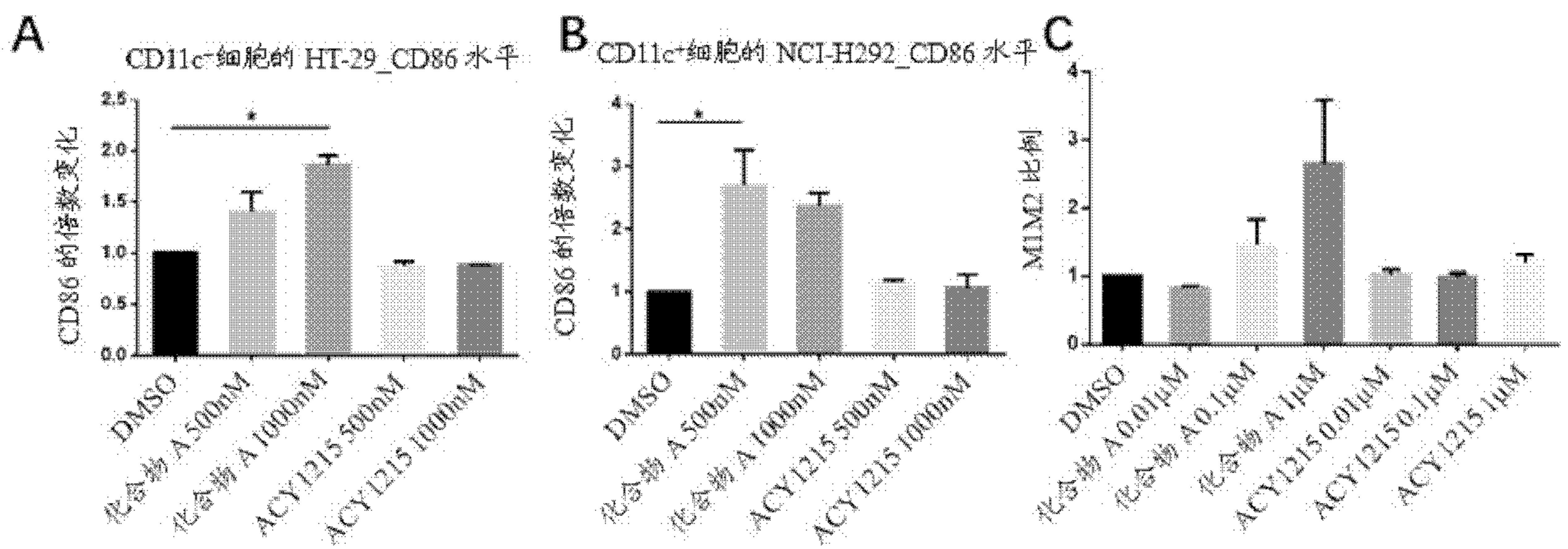


图 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/133799

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 31/435(2006.01)i; A61K 31/34(2006.01)i; A61K 31/16(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; C07D 211/86(2006.01)i; C07D 405/14(2006.01)i; C07D 307/04(2006.01)i; C07D 309/04(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K; A61P; C07D		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) DWPI, SIPOABS, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNTXT, CATXT, GBTXT, JPTXT, KRABS, CNABS, CNKI, STNext, ISI Web of Science: 组蛋白去乙酰化酶, 多发性骨髓瘤, 蛋白酶体抑制剂, 硼替佐米, 卡非佐米, 伊沙佐米, 马瑞佐米, 抗体, 基石药业, histone deacetylase, HDAC, multiple myeloma, bortezomib, carfilzomib, ixazomib, marizomib, PD, antibody, CSTONE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018130155 A1 (MEDSHINE DISCOVERY INC.) 19 July 2018 (2018-07-19) the abstract, claims 21-25, and description, page 14, paragraph 5	1-14, 35, 36, 41-43
X	CN 103429574 A (ACETYLON PHARMACEUTICALS, INC.) 04 December 2013 (2013-12-04) the abstract; claims 1-74	1-10, 36, 41-43
X	WO 2011106632 A1 (MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.) 01 September 2011 (2011-09-01) the abstract; claims 1-36	1, 36, 41-43
X	WO 2015100363 A1 (THE TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY IN THE CITY OF NEW YORK et al.) 02 July 2015 (2015-07-02) the abstract; claims 1-24	1-10, 36, 41-43
Y	WO 2018130155 A1 (MEDSHINE DISCOVERY INC.) 19 July 2018 (2018-07-19) the abstract; claims 21-25, description, page 14, paragraph 5	15-34, 37-40
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 February 2021		Date of mailing of the international search report 08 March 2021
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/133799

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RAY, A. et al. "Combination of a Novel HDAC6 Inhibitor ACY-241 and Anti-PD-L1 Antibody Enhances Anti-Tumor Immunity and Cytotoxicity in Multiple Myeloma." <i>Leukemia</i> , Vol. 32, 06 November 2017 (2017-11-06), pp. 843-846	15-34, 37-40
A	WO 2015007870 A1 (INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT (I.R.D.) et al.) 22 January 2015 (2015-01-22) the abstract; claims 1-14	1-43

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **1-2,10-43**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] Claims 1, 2 and 10-43 relate to a method for treating a disease of a subject benefiting from the regulation of immune function. Therefore, claims 1, 2 and 10-43 do not comply with PCT rule 39.1 (iv). The search on claims 1, 2 and 10-43 is made on the basis of the pharmaceutical use of the product.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/133799

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2018130155	A1	19 July 2018	AU	2018208160	A1	15 August 2019
				EP	3569592	A1	20 November 2019
				MX	2019008181	A	09 December 2019
				EP	3569592	A4	12 August 2020
				KR	20190103286	A	04 September 2019
				JP	2020505440	A	20 February 2020
				CN	110382463	A	25 October 2019
				US	2019375735	A1	12 December 2019
				CA	3049834	A1	19 July 2018
				SG	11201906361Y	A	27 August 2019
				BR	112019014152	A2	31 March 2020
				US	10745389	B2	18 August 2020
				IL	267968	D0	31 October 2019
				<hr/>			
CN	103429574	A	04 December 2013	WO	2012068109	A2	24 May 2012
				EA	201390711	A1	31 March 2014
				EP	3067346	A1	14 September 2016
				PL	2640709	T3	31 October 2016
				MX	2013005392	A	29 July 2013
				AU	2011329028	A1	30 May 2013
				EP	2640709	A2	25 September 2013
				US	2014142104	A1	22 May 2014
				EA	201691121	A1	31 October 2016
				US	8614223	B2	24 December 2013
				CL	2013001381	A1	11 April 2014
				AU	2016266069	A1	22 December 2016
				EP	2640709	A4	02 April 2014
				US	2017096403	A1	06 April 2017
				EA	025345	B1	30 December 2016
				IL	249594	D0	28 February 2017
				US	9409890	B2	09 August 2016
				SG	190211	A1	28 June 2013
				KR	20130115300	A	21 October 2013
				AU	2011329028	B2	22 December 2016
				JP	2013542994	A	28 November 2013
				HK	1189002	A1	23 May 2014
				CN	107011270	A	04 August 2017
				PH	12015500832	A1	19 October 2015
				IL	226326	D0	31 July 2013
				ES	2568260	T3	28 April 2016
				PT	2640709	T	13 July 2016
				EP	2640709	B1	06 April 2016
				US	2012121502	A1	17 May 2012
				NZ	610225	A	28 August 2015
				CA	2818125	A1	24 May 2012
				SG	10201509324Q	A	30 December 2015
				JP	2017019820	A	26 January 2017
				NZ	710405	A	28 April 2017
				CN	103429574	B	16 November 2016
				BR	112013011868	A2	23 August 2016
JP	6041808	B2	14 December 2016				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/133799

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				WO	2012068109	A3	02 August 2012
WO	2011106632	A1	01 September 2011	US	9382197	B2	05 July 2016
				US	2014275093	A1	18 September 2014
				US	2011212969	A1	01 September 2011
WO	2015100363	A1	02 July 2015	CA	2933907	A1	02 July 2015
				US	2016347732	A1	01 December 2016
				US	10626100	B2	21 April 2020
				US	9890136	B2	13 February 2018
				US	2018118709	A1	03 May 2018
WO	2015007870	A1	22 January 2015	EP	3022173	B1	20 February 2019
				US	10106493	B2	23 October 2018
				EP	2826769	A1	21 January 2015
				EP	3022173	A1	25 May 2016
				US	2019040004	A1	07 February 2019
				US	2016168084	A1	16 June 2016

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61K 31/435(2006.01)i; A61K 31/34(2006.01)i; A61K 31/16(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; C07D 211/86(2006.01)i; C07D 405/14(2006.01)i; C07D 307/04(2006.01)i; C07D 309/04(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61K; A61P; C07D</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>DWPI, SIPOABS, WOTXT, EPTXT, USTXT, CNTXT, CATXT, GBTXT, JPTXT, KRABS, CNABS, CNKI, STNext, ISI Web of Science:组蛋白去乙酰化酶, 多发性骨髓瘤, 蛋白酶体抑制剂, 硼替佐米, 卡非佐米, 伊沙佐米, 马瑞佐米, 抗体, 基石药业, histone deacetylase, HDAC, multiple myeloma, bortezomib, carfilzomib, ixazomib, marizomib, PD, antibody, CSTONE</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2018130155 A1 (南京明德新药研发股份有限公司) 2018年 7月 19日 (2018 - 07 - 19) 摘要, 权利要求21-25, 说明书第14页第5段</td> <td>1-14, 35-36, 41-43</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 103429574 A (阿塞蒂隆制药公司) 2013年 12月 4日 (2013 - 12 - 04) 摘要; 权利要求1-74</td> <td>1-10, 36, 41-43</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2011106632 A1 (MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.) 2011年 9月 1日 (2011 - 09 - 01) 摘要; 权利要求1-36</td> <td>1, 36, 41-43</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2015100363 A1 (UNIV. COLUMBIA 等.) 2015年 7月 2日 (2015 - 07 - 02) 摘要; 权利要求1-24</td> <td>1-10, 36, 41-43</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2018130155 A1 (南京明德新药研发股份有限公司) 2018年 7月 19日 (2018 - 07 - 19) 摘要, 权利要求21-25, 说明书第14页第5段</td> <td>15-34, 37-40</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	WO 2018130155 A1 (南京明德新药研发股份有限公司) 2018年 7月 19日 (2018 - 07 - 19) 摘要, 权利要求21-25, 说明书第14页第5段	1-14, 35-36, 41-43	X	CN 103429574 A (阿塞蒂隆制药公司) 2013年 12月 4日 (2013 - 12 - 04) 摘要; 权利要求1-74	1-10, 36, 41-43	X	WO 2011106632 A1 (MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.) 2011年 9月 1日 (2011 - 09 - 01) 摘要; 权利要求1-36	1, 36, 41-43	X	WO 2015100363 A1 (UNIV. COLUMBIA 等.) 2015年 7月 2日 (2015 - 07 - 02) 摘要; 权利要求1-24	1-10, 36, 41-43	Y	WO 2018130155 A1 (南京明德新药研发股份有限公司) 2018年 7月 19日 (2018 - 07 - 19) 摘要, 权利要求21-25, 说明书第14页第5段	15-34, 37-40
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	WO 2018130155 A1 (南京明德新药研发股份有限公司) 2018年 7月 19日 (2018 - 07 - 19) 摘要, 权利要求21-25, 说明书第14页第5段	1-14, 35-36, 41-43																		
X	CN 103429574 A (阿塞蒂隆制药公司) 2013年 12月 4日 (2013 - 12 - 04) 摘要; 权利要求1-74	1-10, 36, 41-43																		
X	WO 2011106632 A1 (MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.) 2011年 9月 1日 (2011 - 09 - 01) 摘要; 权利要求1-36	1, 36, 41-43																		
X	WO 2015100363 A1 (UNIV. COLUMBIA 等.) 2015年 7月 2日 (2015 - 07 - 02) 摘要; 权利要求1-24	1-10, 36, 41-43																		
Y	WO 2018130155 A1 (南京明德新药研发股份有限公司) 2018年 7月 19日 (2018 - 07 - 19) 摘要, 权利要求21-25, 说明书第14页第5段	15-34, 37-40																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																				
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2021年 2月 17日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2021年 3月 8日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>崔义文</p> <p>电话号码 (86-10)53961855</p>																		

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	RAY, A. 等. "Combination of a novel HDAC6 inhibitor ACY-241 and anti-PD-L1 antibody enhances anti-tumor immunity and cytotoxicity in multiple myeloma." Leukemia, 第32卷, 2017年 11月 6日 (2017 - 11 - 06), 第843 - 846页	15-34, 37-40
A	WO 2015007870 A1 (INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT等) 2015年 1月 22日 (2015 - 01 - 22) 摘要; 权利要求1-14	1-43

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 1-2, 10-43
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求1-2, 10-43涉及用于治疗受益于调节免疫功能的受试者病症的方法。因此权利要求1-2, 10-43不符合PCT细则39.1 (iv)的规定。对于权利要求1-2, 10-43的检索是基于所述产品的制药用途所作出的。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求， 并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/133799

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2018130155	A1	2018年 7月 19日	AU	2018208160	A1	2019年 8月 15日
				EP	3569592	A1	2019年 11月 20日
				MX	2019008181	A	2019年 12月 9日
				EP	3569592	A4	2020年 8月 12日
				KR	20190103286	A	2019年 9月 4日
				JP	2020505440	A	2020年 2月 20日
				CN	110382463	A	2019年 10月 25日
				US	2019375735	A1	2019年 12月 12日
				CA	3049834	A1	2018年 7月 19日
				SG	11201906361Y	A	2019年 8月 27日
				BR	112019014152	A2	2020年 3月 31日
				US	10745389	B2	2020年 8月 18日
				IL	267968	D0	2019年 10月 31日
CN	103429574	A	2013年 12月 4日	WO	2012068109	A2	2012年 5月 24日
				EA	201390711	A1	2014年 3月 31日
				EP	3067346	A1	2016年 9月 14日
				PL	2640709	T3	2016年 10月 31日
				MX	2013005392	A	2013年 7月 29日
				AU	2011329028	A1	2013年 5月 30日
				EP	2640709	A2	2013年 9月 25日
				US	2014142104	A1	2014年 5月 22日
				EA	201691121	A1	2016年 10月 31日
				US	8614223	B2	2013年 12月 24日
				CL	2013001381	A1	2014年 4月 11日
				AU	2016266069	A1	2016年 12月 22日
				EP	2640709	A4	2014年 4月 2日
				US	2017096403	A1	2017年 4月 6日
				EA	025345	B1	2016年 12月 30日
				IL	249594	D0	2017年 2月 28日
				US	9409890	B2	2016年 8月 9日
				SG	190211	A1	2013年 6月 28日
				KR	20130115300	A	2013年 10月 21日
				AU	2011329028	B2	2016年 12月 22日
				JP	2013542994	A	2013年 11月 28日
				HK	1189002	A1	2014年 5月 23日
				CN	107011270	A	2017年 8月 4日
				PH	12015500832	A1	2015年 10月 19日
				IL	226326	D0	2013年 7月 31日
				ES	2568260	T3	2016年 4月 28日
				PT	2640709	T	2016年 7月 13日
				EP	2640709	B1	2016年 4月 6日
				US	2012121502	A1	2012年 5月 17日
				NZ	610225	A	2015年 8月 28日
				CA	2818125	A1	2012年 5月 24日
				SG	10201509324Q	A	2015年 12月 30日
				JP	2017019820	A	2017年 1月 26日
				NZ	710405	A	2017年 4月 28日
				CN	103429574	B	2016年 11月 16日
				BR	112013011868	A2	2016年 8月 23日
				JP	6041808	B2	2016年 12月 14日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2020/133799

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		WO 2012068109 A3	2012年 8月 2日
W0 2011106632 A1	2011年 9月 1日	US 9382197 B2	2016年 7月 5日
		US 2014275093 A1	2014年 9月 18日
		US 2011212969 A1	2011年 9月 1日
W0 2015100363 A1	2015年 7月 2日	CA 2933907 A1	2015年 7月 2日
		US 2016347732 A1	2016年 12月 1日
		US 10626100 B2	2020年 4月 21日
		US 9890136 B2	2018年 2月 13日
		US 2018118709 A1	2018年 5月 3日
W0 2015007870 A1	2015年 1月 22日	EP 3022173 B1	2019年 2月 20日
		US 10106493 B2	2018年 10月 23日
		EP 2826769 A1	2015年 1月 21日
		EP 3022173 A1	2016年 5月 25日
		US 2019040004 A1	2019年 2月 7日
		US 2016168084 A1	2016年 6月 16日