



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 111727059 A

(43) 申请公布日 2020.09.29

(21) 申请号 201880070827.6

P.G.史密斯 P.费克斯

(22) 申请日 2018.10.30

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

(30) 优先权数据

62/579,666 2017.10.31 US

62/580,364 2017.11.01 US

代理人 易方方

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.04.29

(51) Int.Cl.

A61K 45/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/058277 2018.10.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/089641 EN 2019.05.09

(71) 申请人 卫材研究发展管理有限公司

地址 日本东京都

(72) 发明人 D.艾尔德 L.科森 P.朱

M.沃穆思 S.布奥纳米西

权利要求书8页 说明书13页 附图23页

(54) 发明名称

包含至少一种剪接体调控剂和至少一种选自BCL2抑制剂、BCL2/BCLxL抑制剂和BCLxL抑制剂的抑制剂的组合及其使用方法

(57) 摘要

本公开提供了药物组合,其包含至少一种剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂。还提供了治疗癌症的方法,其包括施用治疗有效量的至少一种剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂。

1. 药物组合物,其包含(i)治疗有效量的至少一种剪接体调控剂和(ii)治疗有效量的至少一种选自BCL2抑制剂、BCL2/BCLxL抑制剂和BCLxL抑制剂的抑制剂。

2. 权利要求1的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂选自普拉地内酯(pladienolide)衍生物。

3. 权利要求1或权利要求2的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107、H3B-8800及其药学上可接受的盐。

4. 权利要求1-3中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107及其药学上可接受的盐。

5. 权利要求1-3中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂选自H3B-8800及其药学上可接受的盐。

6. 权利要求1-5中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂是立体异构纯的。

7. 权利要求1-5中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约80%的一种立体异构体。

8. 权利要求1-5中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约90%的一种立体异构体。

9. 权利要求1-5中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约95%的一种立体异构体。

10. 权利要求1-5中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约97%的一种立体异构体。

11. 权利要求1-10中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂选自HA14-1、BH3I-1、抗霉素A、白屈菜红碱、棉酚(NSC19048)、apogossypol(NSC736630)、TW-37、4-(3-甲氧基-苯磺酰基)-7-硝基-苯并咪唑-3-氧化物(MNB)、TM12-06、奥巴妥拉(obatoclox)(GX15-070)、维奈妥拉(venetoclox)(ABT199)、那维妥拉(navitoclox)(ABT263)、A-1331852、ABT737,及其药学上可接受的盐。

12. 权利要求1-11中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂选自维奈妥拉(ABT199)、那维妥拉(ABT263)、A-1331852、ABT737及其药学上可接受的盐。

13. 权利要求1-12中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂选自维奈妥拉(ABT199)及其药学上可接受的盐。

14. 权利要求1-12中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂选自那维妥拉(ABT263)及其药学上可接受的盐。

15. 权利要求1-12中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂选自ABT737及其药学上可接受的盐。

16. 权利要求1-12中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂选自A-1331852及其药学上可接受的盐。

17. 权利要求1-16中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于静脉内、口服、皮下或肌内施用。

18. 权利要求1-17中任一项的药物组合物,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于口服施用。

19. 权利要求1-18中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂被配制用于静脉内、口服、皮下或肌内施用。

20. 权利要求1-19中任一项的药物组合物,其中所述至少一种抑制剂被配制用于口服施用。

21. 用于治疗癌症的组合,其包含(i)至少一种剪接体调控剂和(ii)至少一种选自BCL2抑制剂、BCL2/BCLxL抑制剂和BCLxL抑制剂的抑制剂,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂同时、分开或顺序施用。

22. 权利要求21使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂选自普拉地内酯衍生物。

23. 权利要求21或权利要求22使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107、H3B-8800及其药学上可接受的盐。

24. 权利要求21-23中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107及其药学上可接受的盐。

25. 权利要求21-23中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂选自H3B-8800及其药学上可接受的盐。

26. 权利要求21-25中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂是立体异构纯的。

27. 权利要求21-25中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约80%的一种立体异构体。

28. 权利要求21-25中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约90%的一种立体异构体。

29. 权利要求21-25中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约95%的一种立体异构体。

30. 权利要求21-25中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约97%的一种立体异构体。

31. 权利要求21-30中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂选自HA14-1、BH3I-1、抗霉素A、白屈菜红碱、棉酚(NSC19048)、apogossypol(NSC736630)、TW-37、4-(3-甲氧基-苯磺酰基)-7-硝基-苯并呋喃-3-氧化物(MNB)、TM12-06、奥巴妥拉(GX15-070)、维奈妥拉(ABT199)、那维妥拉(ABT263)、A-1331852、ABT737,及其药学上可接受的盐。

32. 权利要求21-31中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂选自维奈妥拉(ABT199)、那维妥拉(ABT263)、A-1331852、ABT737及其药学上可接受的盐。

33. 权利要求21-32中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂选自维奈妥拉(ABT199)及其药学上可接受的盐。

34. 权利要求21-32中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂选自那维妥拉(ABT263)及其药学上可接受的盐。

35. 权利要求21-32中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂选自ABT737及其药学上可接受的盐。

36. 权利要求21-32中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂选自A-1331852及其药学上可接受的盐。

37. 权利要求21-36中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于

静脉内、口服、皮下或肌内施用。

38. 权利要求21-37中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于口服施用。

39. 权利要求21-38中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂被配制用于静脉内、口服、皮下或肌内施用。

40. 权利要求21-39中任一项使用的组合,其中所述至少一种抑制剂被配制用于口服施用。

41. 权利要求21-40中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂同时施用。

42. 权利要求21-40中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂顺序施用。

43. 权利要求21-40中任一项使用的组合,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂分开施用。

44. 权利要求21-43中任一项使用的组合,其中所述癌症选自骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴母细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性髓系白血病、结肠癌、胰腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌、乳腺癌、葡萄膜黑色素瘤、胃癌、胆管癌和肺癌。

45. 权利要求44使用的组合,其中所述癌症是肺癌。

46. 权利要求45使用的组合,其中所述癌症选自非小细胞肺癌和小细胞肺癌。

47. 权利要求21-43中任一项使用的组合,其中所述癌症选自血液学癌症。

48. 权利要求47使用的组合,其中所述血液学癌症选自急性淋巴母细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨髓增生异常综合征和多发性骨髓瘤。

49. 权利要求21-43中任一项使用的组合,其中所述癌症选自实体瘤。

50. 权利要求49使用的组合,其中所述实体瘤选自乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠或结直肠癌、肺癌、胃癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胆管癌、胶质瘤和黑色素瘤。

51. 权利要求21-43中任一项使用的组合,其中所述癌症选自MCL1依赖性癌症。

52. 权利要求51使用的组合,其中所述MCL1依赖性癌症选自急性淋巴母细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、肺癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠或结直肠癌、胃癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胆管癌、胶质瘤和黑色素瘤。

53. 权利要求21-43中任一项使用的组合,其中所述癌症对于剪接体基因或蛋白质中的一个或多个突变是阳性的。

54. 权利要求53使用的组合,其中所述剪接体基因或蛋白质选自剪接因子3B亚基1(SF3B1)、U2小核RNA辅助因子1(U2AF1)、富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子2(SRSF2)、锌指(CCCH型)RNA结合基序和富含丝氨酸/精氨酸2(ZRSR2)、前mRNA加工剪接因子8(PRPF8)、U2小核RNA辅助因子2(U2AF2)、剪接因子1(SF1)、剪接因子3a亚基1(SF3A1)、PRP40前mRNA加工

因子40同源物B (PRPF40B)、RNA结合基序蛋白10 (RBM10)、聚(rC)结合蛋白1 (PCBP1)、曲颈前mRNA剪接因子1 (CRNKL1)、DEAH (Asp-Glu-Ala-His)盒解旋酶9 (DHX9)、肽基脯氨酰顺反异构酶样2 (PPIL2)、RNA结合基序蛋白22 (RBM22)、小核核糖核蛋白Sm D3 (SNRPD3)、可能的ATP依赖性RNA解旋酶DDX5 (DDX5)、前mRNA剪接因子ATP依赖性RNA解旋酶DHX15 (DHX15)和聚腺苷酸结合蛋白1 (PABPC1)。

55. 权利要求54使用的组合,其中所述剪接体基因或蛋白质是剪接因子3B亚基1 (SF3B1)。

56. 组合在制备用于治疗癌症的药物中的用途,所述组合包含(i)至少一种剪接体调控剂和(ii)至少一种选自BCL2抑制剂、BCL2/BCLxL抑制剂和BCLxL抑制剂的抑制剂,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂同时、分开或顺序施用。

57. 权利要求56的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂选自普拉地内酯衍生物。

58. 权利要求56或权利要求57的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107、H3B-8800及其药学上可接受的盐。

59. 权利要求56-58中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107及其药学上可接受的盐。

60. 权利要求56-58中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂选自H3B-8800及其药学上可接受的盐。

61. 权利要求56-58中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂是立体异构纯的。

62. 权利要求56-58中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约80%的一种立体异构体。

63. 权利要求56-58中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约90%的一种立体异构体。

64. 权利要求56-58中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约95%的一种立体异构体。

65. 权利要求56-58中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约97%的一种立体异构体。

66. 权利要求56-65中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂选自HA14-1、BH3I-1、抗霉素A、白屈菜红碱、棉酚 (NSC19048)、apogossypol (NSC736630)、TW-37、4-(3-甲氧基-苯磺酰基)-7-硝基-苯并咪唑-3-氧化物 (MNB)、TM12-06、奥巴妥拉 (GX15-070)、维奈妥拉 (ABT199)、那维妥拉 (ABT263)、A-1331852、ABT737,及其药学上可接受的盐。

67. 权利要求56-66中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂选自维奈妥拉 (ABT199)、那维妥拉 (ABT263)、A-1331852、ABT737及其药学上可接受的盐。

68. 权利要求56-67中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂选自维奈妥拉 (ABT199)及其药学上可接受的盐。

69. 权利要求56-67中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂选自那维妥拉 (ABT263)及其药学上可接受的盐。

70. 权利要求56-67中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂选自ABT737及其药学上可接受的盐。

71. 权利要求56-67中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂选自A-1331852及其药学上可接受的盐。

72. 权利要求56-71中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于静脉内、口服、皮下或肌内施用。

73. 权利要求56-72中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于口服施用。

74. 权利要求56-73中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂被配制用于静脉内、口服、皮下或肌内施用。

75. 权利要求56-74中任一项的用途,其中所述至少一种抑制剂被配制用于口服施用。

76. 权利要求56-75中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂同时施用。

77. 权利要求56-75中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂顺序施用。

78. 权利要求56-75中任一项的用途,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂分开施用。

79. 权利要求56-78中任一项的用途,其中所述癌症选自骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴母细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性髓系白血病、结肠癌、胰腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌、乳腺癌、葡萄膜黑色素瘤、胃癌、胆管癌和肺癌。

80. 权利要求79的用途,其中所述癌症是肺癌。

81. 权利要求80的用途,其中所述癌症选自非小细胞肺癌和小细胞肺癌。

82. 权利要求56-78中任一项的用途,其中所述癌症选自血液学癌症。

83. 权利要求82的用途,其中所述血液学癌症选自急性淋巴母细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨髓增生异常综合征和多发性骨髓瘤。

84. 权利要求56-78中任一项的用途,其中所述癌症选自实体瘤。

85. 权利要求84的用途,其中所述实体瘤选自乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠或结直肠癌、肺癌、胃癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胆管癌、胶质瘤和黑色素瘤。

86. 权利要求56-78中任一项的用途,其中所述癌症选自MCL1依赖性癌症。

87. 权利要求86的用途,其中所述MCL1依赖性癌症选自急性淋巴母细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、肺癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠或结直肠癌、胃癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胆管癌、胶质瘤和黑色素瘤。

88. 权利要求56-78中任一项的用途,其中所述癌症对于剪接体基因或蛋白质中的一个或多个突变是阳性的。

89. 权利要求88的用途,其中所述剪接体基因或蛋白质选自剪接因子3B亚基1(SF3B1)、U2小核RNA辅助因子1(U2AF1)、富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子2(SRSF2)、锌指(CCCH型)RNA

结合基序和富含丝氨酸/精氨酸2 (ZRSR2)、前mRNA加工剪接因子8 (PRPF8)、U2小核RNA辅助因子2 (U2AF2)、剪接因子1 (SF1)、剪接因子3a亚基1 (SF3A1)、PRP40前mRNA加工因子40同源物B (PRPF40B)、RNA结合基序蛋白10 (RBM10)、聚(rC)结合蛋白1 (PCBP1)、曲颈前mRNA剪接因子1 (CRNKL1)、DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 盒解旋酶9 (DHX9)、肽基脯氨酰顺反异构酶样2 (PPIL2)、RNA结合基序蛋白22 (RBM22)、小核核糖核蛋白Sm D3 (SNRPD3)、可能的ATP依赖性RNA解旋酶DDX5 (DDX5)、前mRNA剪接因子ATP依赖性RNA解旋酶DHX15 (DHX15)和聚腺苷酸结合蛋白1 (PABPC1)。

90. 权利要求89的用途,其中所述剪接体基因或蛋白质是剪接因子3B亚基1 (SF3B1)。

91. 治疗癌症的方法,其包括向有此需要的受试者施用 (i) 治疗有效量的至少一种剪接体调控剂和 (ii) 治疗有效量的至少一种选自BCL2抑制剂、BCL2/BCLxL抑制剂和BCLxL抑制剂的抑制剂,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂同时、分开或顺序施用。

92. 权利要求91的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂选自普拉地内酯衍生物。

93. 权利要求45或权利要求92的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107、H3B-8800及其药学上可接受的盐。

94. 权利要求91-93中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂选自E7107及其药学上可接受的盐。

95. 权利要求91-93中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂选自H3B-8800及其药学上可接受的盐。

96. 权利要求91-95中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂是立体异构纯的。

97. 权利要求91-95中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约80%的一种立体异构体。

98. 权利要求91-95中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约90%的一种立体异构体。

99. 权利要求91-95中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约95%的一种立体异构体。

100. 权利要求91-95中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂包含按重量计大于约97%的一种立体异构体。

101. 权利要求91-100中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂选自HA14-1、BH3I-1、抗霉素A、白屈菜红碱、棉酚 (NSC19048)、apogossypol (NSC736630)、TW-37、4-(3-甲氧基-苯磺酰基)-7-硝基-苯并咪唑-3-氧化物 (MNB)、TM12-06、奥巴妥拉 (GX15-070)、维奈妥拉 (ABT199)、那维妥拉 (ABT263)、A-1331852、ABT737,及其药学上可接受的盐。

102. 权利要求91-101中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂选自维奈妥拉 (ABT199)、那维妥拉 (ABT263)、A-1331852、ABT737及其药学上可接受的盐。

103. 权利要求91-102中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂是维奈妥拉 (ABT199)及其药学上可接受的盐。

104. 权利要求91-102中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂选自那维妥拉 (ABT263)及其药学上可接受的盐。

105. 权利要求91-102中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂选自ABT737及其药学上可接受的盐。

106. 权利要求91-102中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂选自A-1331852及其药学上可接受的盐。

107. 权利要求91-106中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于静脉内、口服、皮下或肌内施用。

108. 权利要求91-107中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂被配制用于口服施用。

109. 权利要求91-108中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂被配制用于静脉内、口服、皮下或肌内施用。

110. 权利要求91-109中任一项的方法,其中所述至少一种抑制剂被配制用于口服施用。

111. 权利要求91-110中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂顺序施用。

112. 权利要求91-110中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂分开施用。

113. 权利要求91-110中任一项的方法,其中所述至少一种剪接体调控剂与所述至少一种抑制剂同时施用。

114. 权利要求91-113中任一项的方法,其中所述癌症选自骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴母细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性髓系白血病、结肠癌、胰腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌、乳腺癌、葡萄膜黑色素瘤、胃癌、胆管癌和肺癌。

115. 权利要求91-114中任一项的方法,其中所述癌症是肺癌。

116. 权利要求91-115中任一项的方法,其中所述癌症选自非小细胞肺癌和小细胞肺癌。

117. 权利要求91-113中任一项的方法,其中所述癌症是血液学癌症。

118. 权利要求117的方法,其中所述血液学癌症选自霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴母细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病和急性髓系白血病。

119. 权利要求91-113中任一项的方法,其中所述癌症是实体瘤。

120. 权利要求119的方法,其中所述实体瘤选自结肠或结直肠癌、胰腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌、乳腺癌、黑色素瘤、胃癌、胆管癌、前列腺癌、宫颈癌、胶质瘤和肺癌。

121. 权利要求120的方法,其中所述黑色素瘤是葡萄膜黑色素瘤。

122. 权利要求91-113中任一项的方法,其中所述癌症是MCL1依赖性癌症。

123. 权利要求122的方法,其中所述MCL1依赖性癌症选自急性淋巴母细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性单核细胞性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、肺癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠或结直肠癌、胃癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵

巢癌、胆管癌、胶质瘤和黑色素瘤。

124. 权利要求91-113中任一项的方法,其中所述癌症对于剪接体基因或蛋白质中的一个或多个突变是阳性的。

125. 权利要求124的方法,其中所述剪接体基因或蛋白质选自剪接因子3B亚基1 (SF3B1)、U2小核RNA辅助因子1 (U2AF1)、富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子2 (SRSF2)、锌指 (CCCH型) RNA结合基序和富含丝氨酸/精氨酸2 (ZRSR2)、前mRNA加工剪接因子8 (PRPF8)、U2小核RNA辅助因子2 (U2AF2)、剪接因子1 (SF1)、剪接因子3a亚基1 (SF3A1)、PRP40前mRNA加工因子40同源物B (PRPF40B)、RNA结合基序蛋白10 (RBM10)、聚 (rC) 结合蛋白1 (PCBP1)、曲颈前mRNA剪接因子1 (CRNKL1)、DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 盒解旋酶9 (DHX9)、肽基脯氨酰顺反异构酶样2 (PPIL2)、RNA结合基序蛋白22 (RBM22)、小核核糖核蛋白Sm D3 (SNRPD3)、可能的ATP依赖性RNA解旋酶DDX5 (DDX5)、前mRNA剪接因子ATP依赖性RNA解旋酶DHX15 (DHX15) 和聚腺苷酸结合蛋白1 (PABPC1)。

126. 权利要求125的方法,其中所述剪接体基因或蛋白质是剪接因子3B亚基1 (SF3B1)。

包含至少一种剪接体调控剂和至少一种选自BCL2抑制剂、 BCL2/BCLxL抑制剂和BCLxL抑制剂的抑制剂的组合及其使用 方法

[0001] 本申请要求2017年10月31日提交的美国临时申请号62/579,666和2017年11月1日提交的美国临时申请号62/580,364的优先权,其每一篇在此通过引用以其整体并入。

[0002] BCL2家族基因编码含BH结构域的抗凋亡/促存活蛋白,其在调节凋亡中起特别重要的作用。至少有五种BCL2蛋白BCL2、BCL2L1、BCL2L2、BCL2A1和MCL1参与多种癌症类型的肿瘤细胞存活(参见,例如Delbridge ARD, et al., 2016, Nat. Rev. Cancer 16, 99-109; Czabotar PE, et al., 2014, Nat. Rev. Mol. Cell Bio. 15, 49-63)。已经开发了几种抑制BCL2家族蛋白的化合物,包括例如ABT199(维奈妥拉)、ABT263(那维妥拉)、A-1331852和ABT737。尽管BCL2抑制剂已显示出有望作为细胞毒性剂,但这些化合物无法抑制MCL1的抗凋亡作用。特别地,MCL1在许多癌症类型中均局部扩增(Zack TI, et al., 2013, Nature Genet. 45, 1134-1140)。据报道,高BCL2L1(BCLxL)表达赋予对MCL1阻遏的抗性,并且MCL1扩增/过表达是赋予对BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抗性的主要机制(参见,例如,Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4):547-562; Lin X, et al., 2007, Oncogene 26(27):3972-3979; Teh TC, et al., 2017, Leukemia. doi:10.1038/leu.2017.243)。需要有效的疗法来克服对BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抗性。

[0003] 越来越多的证据表明,组合疗法可以帮助克服单剂治疗癌症的不完全反应和治疗抗性。(Sellers WR., 2011, Cell 147(1):26-31.) 例如,FDA已批准MAPK途径抑制剂维罗非尼(vemurafenib)(RAF抑制剂)和考比替尼(cobimetinib)(MEK抑制剂)的组合用于治疗携带B-RAF突变的黑色素瘤患者。(Flaherty KT, et al., 2012, N Engl J Med 367:1694-1703.) 然而,有效的组合疗法的发展一直面临挑战,部分原因是缺乏可预测临床组合活性的有效临床前方法,特别是对于循证药物组合。通过依赖于来自基础研究的靶点和途径相关生物学发现,基于机制的药物组合策略已应用于临床前和临床环境。鉴于作用机制的复杂性,在鉴定细胞毒性剂的有效组合方面存在许多障碍。

[0004] 发明概述

[0005] 本公开基于以下观察:某些剪接体调控剂(例如,普拉地内酯化合物)和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的组合显示出改善的(例如,协同的)抗癌作用。靶向剪接体和其中的突变的普拉地内酯化合物特别有用。因此,本文提供了用于治疗癌症的组合疗法,包括施用治疗有效量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂(例如,E7107和/或H3B-8800)和治疗有效量的至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂。

[0006] 还提供了使用治疗有效量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂(例如E7107和/或H3B-8800)和治疗有效量的至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的组合来治疗癌症的方法、组合疗法、药物组合物和试剂盒。

[0007] 根据以下详细描述、附图和权利要求,本公开的其他特征将变得显而易见。

[0008] 附图的简要说明

[0009] 图1和图2显示MCL1过表达的和MCL1依赖性非小细胞肺癌(NSCLC)细胞系的鉴定。

图1描绘了MCL1L (全长MCL1) 和GAPDH (加样对照) 的蛋白质印迹分析。裂解物稀释液用作半定量标准品。图2描绘了shRNA敲低MCL1后细胞系的生长抑制。CNTRL: 对照shRNA; Dox: 强力霉素。

[0010] 图3-5显示E7107在NCIH1568细胞中诱导MCL1的剪接调控。图3是MCL基因剪接的示意图。图4描绘了MCL1 mRNA的定量RT-PCR检测: MCL1L: 含有外显子1、2和3的长形式; MCL1S: 含有外显子1和3的短形式; MCL1前mRNA: 具有内含子1保留的mRNA。图5描绘了用E7107处理6小时后的MCL1L (全长)、截短的MCL1、经切割的PARP和微管蛋白 (加样对照) 的蛋白质印迹分析。

[0011] 图6-9显示E7107诱导的细胞毒性是MCL1-和BCLxL依赖性的。图6描绘了在NCIH1568细胞中MCL1L的诱导型cDNA表达。蛋白质印迹分析显示MCL1L和GAPDH (加样对照) 的表达。CNTRL: 对照载体。图7描绘了空载体 (对照) 和MCL1L cDNA过表达对NCIH1568细胞系的生长抑制。图8描绘了在A549细胞中诱导型shRNA介导的BCLxL (由BCL2L1编码) 的敲低。蛋白质印迹分析显示BCLxL和GAPDH (加样对照) 的表达。图9描绘了Dox诱导的BCLxL敲低后A549细胞系的生长抑制。Dox: 强力霉素。

[0012] 图10显示在四个NSCLC细胞系中用E7107和ABT263治疗的协同作用。这项研究是在载体对照或BCLxL shRNA中进行的。

[0013] 图11显示在A549细胞系中用E7107和ABT199治疗的协同作用。这项研究是在载体对照或BCLxL shRNA中进行的。

[0014] 图12显示在两个多发性骨髓瘤细胞系: U266B1和RPMI8226中, 用H3B-8800和ABT263治疗的协同作用。

[0015] 图13显示在两个多发性骨髓瘤细胞系: JJN3和RPMI8226中, 用H3B-8800和ABT199治疗的协同作用。

[0016] 图14显示在两个多发性骨髓瘤细胞系: RPMI8226和MM1S中, 用H3B-8800和A-1331852治疗的协同作用。

[0017] 如本文所用, 除非另外指出, 否则以下定义将适用。

[0018] “异构体”是指具有相同数量和种类的原子, 并因此具有相同的分子量, 但原子排列或构型不同的化合物。“立体异构体”是指具有相同原子连接性但其原子在空间中的排列不同的化合物。“非对映异构体”或“非对映体”是指不是对映体的立体异构体。“对映体”是指彼此为不可重叠的镜像的立体异构体。“几何异构体”是指相对于双键或环或中心原子具有不同位置的基团的顺反异构体。

[0019] 本文教导的对映体可以包括基本上包含单个对映体的“对映体纯的”异构体, 例如, 处于一个或多个特定不对称中心的大于或等于90%、92%、95%、98%或99%或等于100%的单个对映体。“不对称中心”或“手性中心”是指包含四个不同取代基的四面体碳原子。

[0020] 如本文所用, “立体异构纯的”意指包含化合物的一种立体异构体并且基本上不含该化合物的其他立体异构体的化合物或其组合物。例如, 具有一个手性中心的化合物的立体异构纯组合物将基本上不含该化合物的相反对映体。具有两个手性中心的化合物的立体异构纯组合物将基本上不含该化合物的非对映体, 并且基本上不含相反的对映体。典型的立体异构纯化合物包含按重量计大于约80%的化合物的一种立体异构体和按重量计小于

约20%的化合物的其他立体异构体,更优选按重量计大于约90%的化合物的一种立体异构体和按重量计小于约10%的化合物的其他立体异构体,甚至更优选按重量计大于约95%的化合物的一种立体异构体和按重量计小于约5%的化合物的其他立体异构体,并且最优选按重量计大于约97%的化合物的一种立体异构体和按重量计小于约3%的化合物的其他立体异构体。参见例如美国专利号7,189,715。

[0021] 作为描述异构体的术语“R”和“S”是在不对称取代的碳原子上的立体化学构型的描述符。如本领域技术人员所熟知的,不对称取代的碳原子的命名为“R”或“S”是通过应用Cahn-Ingold-Prelog优先级规则来完成的,并且描述于International Union of Pure and Applied Chemistry(IUPAC) Rules for the Nomenclature of Organic Chemistry,Section E,Stereochemistry中。

[0022] “治疗”癌症是指逆转(例如,克服细胞的分化阻滞)、缓解(例如,缓解一种或多种症状,如贫血引起的疲劳、低血球计数等),和/或延迟本文所述的癌症的进展(例如,延迟状况如向AML的转化的进展)。

[0023] 如本文所用,“受试者”意指动物受试者,优选哺乳动物受试者,特别是人类。

[0024] 如本文所用的“药学上可接受的载体”是指不破坏与其配制的化合物的药理活性的无毒载体、佐剂或媒介物。可以用于本发明的组合物中的药学上可接受的载体、佐剂或媒介物包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(如人血清白蛋白)、缓冲物质(如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸、水、盐或电解质的部分甘油酯混合物如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素基物质、聚乙二醇、环糊精、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

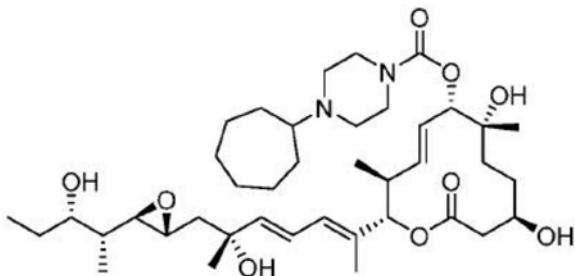
[0025] “药学上可接受的盐”是保留所期望的母体化合物的生物学活性并且不产生不期望的毒理作用的盐。此类盐的实例是:(a)与无机酸形成的酸加成盐,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、硝酸等;以及与有机酸形成的盐,例如乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸、马来酸、富马酸、葡萄糖酸、柠檬酸、苹果酸、抗坏血酸、苯甲酸、单宁酸、棕榈酸、藻酸、聚谷氨酸、茶磺酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、萘二磺酸、聚半乳糖醛酸等;(b)由元素阴离子如氯、溴和碘形成的盐。参见例如,Haynes et al.,“Commentary:Occurrence of Pharmaceutically Acceptable Anions and Cations in the Cambridge Structural Database,”J.Pharmaceutical Sciences,vol.94,no.10(2005)和Berge et al.,“Pharmaceutical Salts”,J.Pharmaceutical Sciences,vol.66,no.1,其通过引用并入本文。

[0026] 除非另有说明,否则本文所述的化合物可以包括本文所述的化合物与结构的对映体、非对映体和/或几何(或构象)形式的任一种的混合物;例如,每个不对称中心,(Z)和(E)双键异构体以及(Z)和(E)构象异构体的R和S构型。除非另有说明,本文所述的与互变异构形式共存的化合物在本发明的范围内。另外,除非另有说明,否则本文所述的结构还意图包括差异仅在于一个或多个同位素富集的原子的存在的化合物。例如,具有本结构的化合物,除了用氘或氚代替氢,或用¹³C或¹⁴C富集的碳代替碳之外,都在本发明的范围内。此类化合物可以用作例如生物学测定法中的分析工具或探针。

[0027] 已经开发了各种普拉地内酯化合物作为用于治疗癌症的剪接调控剂,包括在以下专利申请中公开的那些:WO 2002/060890;WO 2004/011459;WO2004/011661;WO 2004/

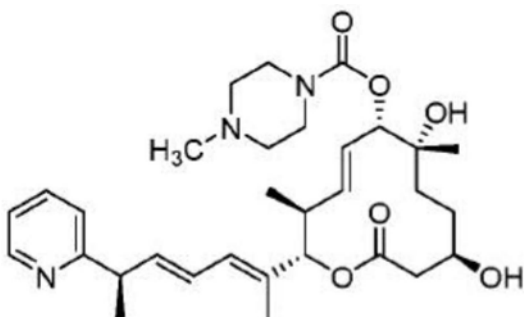
050890;WO 2005/052152;WO 2006/009276;WO2008/126918;和WO 2015/175594,其各自通过引用并入本文。例如,普拉地内酯化合物(8E,12E,14E)-7-((4-环庚基哌嗪-1-基)羰基)氧基-3,6,16,21-四羟基-6,10,12,16,20-五甲基-18,19-epoxytricoso-8,12,14-三烯-11-内酯,也称为E7107,是天然产物普拉地内酯D的半合成衍生物,且其I期研究结果已有报道:

[0028]



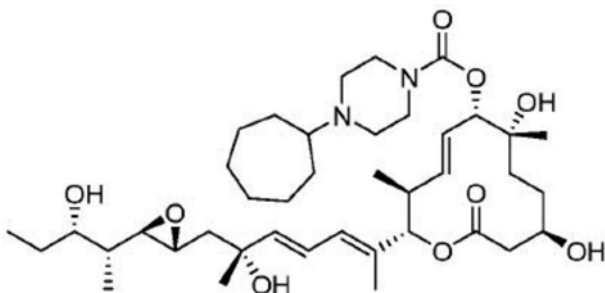
[0029] 作为另一个实例,普拉地内酯吡啶化合物(2S,3S,6S,7R,10R,E)-7,10-二羟基-3,7-二甲基-12-氧代-2-((R,2E,4E)-6-(吡啶-2-基)庚-2,4-二烯-2-基)oxacyclododec-4-en-6-基4-甲基哌嗪-1-羧酸酯(也称为“(2S,3S,4E,6S,7R,10R)-7,10-二羟基-3,7-二甲基-12-氧代-2-((2E,4E,6R)-6-(吡啶-2-基)庚-2,4-二烯-2-基)oxacyclododec-4-en-6-基4-甲基哌嗪-1-羧酸酯”),也称为H3B-8800,已获得用于治疗某些血液学癌症的孤儿药称号,并具有以下结构:

[0030]



[0031] 在一些实施方案中,用于组合疗法的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂选自式1的化合物(“E7107”):

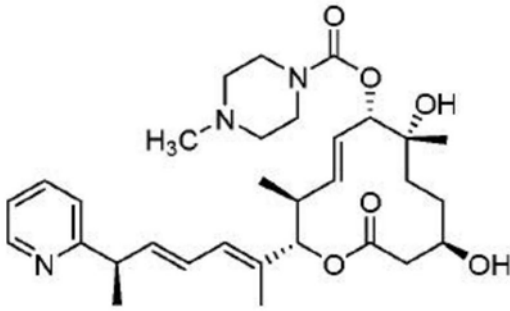
[0032]



[0033] 及其药学上可接受的盐。

[0034] 在一些实施方案中,用于组合疗法的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂选自式2的化合物(“H3B-8800”):

[0035]



[0036] 及其药学上可接受的盐。

[0037] 如本文所用,至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂包括但不限于HA14-1、BH3I-1、抗霉素A、白屈菜红碱、棉酚(NSC19048)、apogossypol(NSC736630)、TW-37、4-(3-甲氧基-苯磺酰基)-7-硝基-苯并咪唑-3-氧化物(MNB)、TM12-06、奥巴妥拉(obatoclastax)(GX15-070)、维奈妥拉(venetoclastax)(ABT199)、那维妥拉(navitoclastax)(ABT263)、A-1331852、ABT737,及其药学上可接受的盐。

[0038] 在一些实施方案中,至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂选自维奈妥拉(ABT199)、那维妥拉(ABT263)、A-1331852、ABT737及其药学上可接受的盐。

[0039] 本文公开的方法可以用于治疗各种类型的癌症,包括血液恶性肿瘤和实体瘤。

[0040] 血液恶性肿瘤可以包括血液癌(例如白血病)或淋巴癌(例如淋巴瘤)或其他相关癌症。白血病可以包括急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、急性单核细胞性白血病(AMoL)等。淋巴瘤可以包括霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。其他血液恶性肿瘤可以包括骨髓增生异常综合征(MDS)和多发性骨髓瘤(MM)。

[0041] 实体瘤可以包括癌,如腺癌,例如乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠癌或结直肠癌,肺癌(包括非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC)),胃癌,宫颈癌,子宫内膜癌,卵巢癌,胆管癌,胶质瘤,黑色素瘤等。

[0042] 本文公开的方法还可以用于治疗可以对靶向剪接体基因或蛋白质例如SF3B1的试剂有反应的癌症。此类癌症的实例包括但不限于骨髓增生异常综合征、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴母细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病、急性髓系白血病、结肠癌、胰腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌、乳腺癌、葡萄膜黑色素瘤、胃癌、胆管癌或肺癌(包括非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC))。示例性剪接体基因或蛋白质包括但不限于剪接因子3B亚基1(SF3B1)、U2小核RNA辅助因子1(U2AF1)、富含丝氨酸/精氨酸的剪接因子2(SRSF2)、锌指(CCCH型)RNA结合基序和富含丝氨酸/精氨酸2(ZRSR2)、前mRNA加工剪接因子8(PRPF8)、U2小核RNA辅助因子2(U2AF2)、剪接因子1(SF1)、剪接因子3a亚基1(SF3A1)、PRP40前mRNA加工因子40同源物B(PRPF40B)、RNA结合基序蛋白10(RBM10)、聚(rC)结合蛋白1(PCBP1)、曲颈前mRNA剪接因子1(CRNKL1)、DEAH(Asp-Glu-Ala-His)盒解旋酶9(DHX9)、肽基脯氨酰顺反异构酶样2(PPIL2)、RNA结合基序蛋白22(RBM22)、小核核糖核蛋白Sm D3(SNRPD3)、可能的ATP依赖性RNA解旋酶DDX5(DDX5)、前mRNA剪接因子ATP依赖性RNA解旋酶DHX15(DHX15)和聚腺苷酸结合蛋白1(PABPC1)。

[0043] 本文公开的方法还可以用于治疗MCL1依赖性癌症。MCL1依赖性癌症的实例可以包括但不限于多发性骨髓瘤、白血病、淋巴瘤和实体瘤。MCL1依赖性白血病可以包括但不限于

急性淋巴母细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、慢性骨髓单核细胞性白血病和急性单核细胞性白血病。MCL1依赖性淋巴瘤可以包括但不限于霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。MCL1依赖性实体瘤可以包括但不限于肺癌(例如非小细胞肺癌和小细胞肺癌)、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、结肠或结直肠癌、胃癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、胆管癌、胶质瘤和黑色素瘤。

[0044] 已经表明, MCL1高表达的癌症对通过直接靶标抑制或基因水平扰动(例如转录或剪接抑制)的MCL1抑制敏感(Gao Y, Koide K., 2013, ACS Chem Biol. 8(5):895-900; Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4):547-562)。还已经表明, 高BCL-xL表达赋予对MCL1阻遏的抗性, 并且MCL1扩增/过表达是赋予对BCL2/xL抑制剂抗性的主要机制(参见, 例如, Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4):547-562; Lin X, et al., 2007, Oncogene 26(27):3972-3979; Teh TC, et al., 2017, Leukemia. doi:10.1038/leu.2017.243)。不希望受任何特定理论的束缚, 如本文所述, 普拉地内酯衍生物E7107和H3B-8800可以诱导有效力的MCL1基因的剪接调控, 从而导致功能性全长蛋白的表达降低。MCL1蛋白减少可以导致癌细胞系中强烈的细胞死亡。至少一种普拉地内酯衍生物(例如E7107和/或H3B-8800)与至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的组合可以诱导癌细胞的协同生长抑制。因此, 至少一种小分子剪接调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的组合可以用于治疗癌症, 如依赖于抗凋亡基因的癌症。

[0045] 本文还公开了药物组合物, 其包含至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂。在一些实施方案中, 药物组合物进一步包含至少一种药学上可接受的载体。可以根据预期的施用途径选择至少一种药学上可接受的载体。

[0046] 本文公开的药物组合物可以配制用于肠胃外、口服、吸入喷雾、局部、直肠、鼻、口腔、阴道或植入的储库施用等。如本文所用的术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。在具体的实施方案中, 组合疗法的化合物通过静脉内、口服、皮下施用或经由肌内施用。本公开的组合物的无菌可注射形式可以是水性或油性悬浮液。这些悬浮液可以根据本领域已知的技术使用合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂来配制。无菌可注射制剂也可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液, 例如在1,3-丁二醇中的溶液。可以采用的可接受的媒介物和溶剂是水、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外, 无菌的不挥发性油通常用作溶剂或悬浮介质。

[0047] 为此, 可以采用任何温和的不挥发性油, 包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸, 如油酸及其甘油酯衍生物可用于制备注射剂, 天然药学上可接受的油, 如橄榄油或蓖麻油, 特别是其聚氧乙烯化形式也可用于制备注射剂。这些油溶液或悬浮液也可以含有长链醇稀释剂或分散剂, 如羧甲基纤维素或类似的分散剂的, 其通常用于配制药学上可接受的剂型(包括乳液和悬浮液)。也可以将其他常用的表面活性剂, 如吐温、司盘和其他乳化剂或生物利用度增强剂, 其通常用于制造药学上可接受的固体、液体或其他剂型, 以用于配制的目的。

[0048] 对于口服施用, 可以以可接受的口服剂型提供至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和/或至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂, 包括但不限于胶囊、片剂、

水性悬浮液或溶液。在用于口服的片剂的情况下,载体可以选自例如乳糖和玉米淀粉。也可以添加润滑剂如硬脂酸镁。对于胶囊形式的口服施用,有用的稀释剂包括乳糖和干燥的玉米淀粉。当需要水性悬浮液用于口服时,将活性成分与乳化剂和/或悬浮剂混合。如果需要,也可以添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。

[0049] 在一些实施方案中,将本文公开的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂以单一剂型或通过分开或顺序施用每种活性剂施用于受试者。

[0050] 在一些实施方案中,将至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂配制为片剂、丸剂、胶囊或溶液。在一些实施方案中,将至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂配制成用于肠胃外施用的溶液。在一些实施方案中,将至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂配制在容纳在胶囊内的隔离区域或不同囊片中。在一些实施方案中,将至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂配制在片剂的分离层中。

[0051] 在一些实施方案中,药物组合物包含:治疗有效量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂,治疗有效量的至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂,以及至少一种药学可接受的载体。

[0052] 在一些实施方案中,药物组合物包含:治疗有效量的E7107,治疗有效量的至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂,以及至少一种药学上可接受的载体。

[0053] 在一些实施方案中,药物组合物包含:治疗有效量的H3B-8800,治疗有效量的至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂,以及至少一种药学上可接受的载体。

[0054] 在一些实施方案中,可以作为分开的组合物和任选地以不同形式例如作为分开的片剂或溶液施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂。进一步作为非限制性实例,可以分开地作为口服片剂施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂。

[0055] 在一些实施方案中,至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂将作为分开的组合物施用:

[0056] 药物组合物,其包含治疗有效量的至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂和至少一种药学上可接受的载体;和

[0057] 药物组合物,其包含治疗有效量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种药学上可接受的载体。

[0058] 在一些实施方案中,本文提供了试剂盒,其包含包括治疗有效量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂的第一药物组合物,包括治疗有效量的至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂第二药物组合物,以及该试剂盒在治疗癌症中的使用说明。

[0059] 在一些实施方案中,同时施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂被同时施用。在一些实施方案中,顺序施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂被同时施用。在一些实施方案中,间歇施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂被同时施用。可以调整至少一种普拉地内酯

剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的施用之间的时间长度以实现所期望的治疗效果。在一些实施方案中,施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的抑制剂的施用仅相隔几分钟。在一些实施方案中,施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的抑制剂的施用相隔数小时(例如,约2、4、6、10、12、24或36小时)。在一些实施方案中,在剩余治疗剂的施用之间施用超过一种剂量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的抑制剂之一可能是有利的。例如,一种治疗剂可以在另一种治疗剂的施用后1小时施用,然后在11小时再次施用。在一些实施方案中,每种普拉地内酯剪接体调控剂和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的的治疗作用应在至少一部分持续时间内重叠,使得组合疗法的总体治疗作用可以部分归因于组合疗法的组合或协同作用。

[0060] 可以以治疗有效(treatment effective)量或治疗有效(therapeutically effective)量向受试者施用本文公开的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的抑制剂。可以与至少一种药学上可接受的载体组合以产生单一剂型的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的每一种的量将根据经治疗的受试者和预期的施用途径而变化。

[0061] 在一些实施方案中,配制药组合物,以使将从0.01至100mg/kg体重/天剂量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的每一种施用于受试者。在一些实施方案中,将范围为从1至100mg/kg体重/天的剂量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的每一种施用于受试者。在一些实施方案中,将范围为从0.01至50mg/kg体重/天的剂量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的每一种施用于受试者。在一些实施方案中,提供了范围为从1mg至50mg、从0.1mg至25mg或从5mg至40mg的剂量的至少一种普拉地内酯剪接体调控剂和至少一种选自BCL2、BCL2/BCLxL和BCLxL抑制剂的抑制剂的每一种。

[0062] 在一些实施方案中,以1mg/kg至10mg/kg的剂量范围施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂。在一些实施方案中,以1mg/kg、1.25mg/kg、2mg/kg、2.5mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg或10mg/kg的剂量施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂。在一些实施方案中,以5mg/kg的剂量施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂。在一些实施方案中,以8mg/kg的剂量施用至少一种普拉地内酯剪接体调控剂。

[0063] 在一些实施方案中,以5mg/kg的剂量静脉内施用E7107连续五天。在一些实施方案中,以8mg/kg的剂量口服施用H3B-8800连续五天,然后休息九天。

[0064] 普通技术人员将理解,针对任何特定患者的特定剂量和治疗方案将取决于多种因素,包括所采用的特定化合物的活性、年龄、体重、总体健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄速率、药物组合、治疗医师的判断以及所治疗特定疾病的严重性。组合疗法中每种活性剂的量也将取决于组合物中的特定化合物/盐。

[0065] 阐述以下实施例以便可以更充分地理解本文所述的实施方案及其使用。应该理解的是,这些实施例仅出于说明目的,而不应以任何方式解释为限制性的。

实施例

[0066] A. 材料与方法

[0067] 1. 细胞系和细胞培养方案

[0068] 非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞系A549、NCI-H23、NCI-H1568、NCI-H1650、NCI-H1975和NCI-H2110从美国典型培养物保藏 (American Type Culture Collection) (ATCC) 获得并按照制造商的说明进行培养。根据制造商的说明,利用Tet System Approved FBS (Clontech) 而非标准血清来培养通过慢病毒转导生成的诱导型shRNA和cDNA系。LentiX-293T (Clontech) 用于生成shRNA和cDNA过表达病毒以进行感染,并根据制造商的说明进行培养。测试细胞系的支原体污染并进行验证以确认细胞身份。嘌呤霉素 (0.25-1.25 μ g/ml, Thermo Fisher Scientific) 用于选择表达shRNA的细胞;G418 (0.5-2mg/mL, Thermo Fisher Scientific) 用于选择表达诱导型cDNA的细胞。盐酸强力霉素 (Sigma) (Dox) 用于诱导shRNA和cDNA。

[0069] NKM1和K052细胞获得自日本研究生物资源细胞库 (Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank)。HNT34、MONOMAC6和MUTZ3细胞获得自Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen。将HNT34和NKM1细胞维持在具有10%胎牛血清的RPMI (ATCC) 中。将K052细胞维持在具有10%胎牛血清的Alpha-MEM (ATCC) 中。将MONOMAC6细胞维持在具有20%胎牛血清的RPMI (ATCC) 中。将MUTZ3细胞维持在具有20%胎牛血清和20%条件5637培养基的Alpha-MEM (ATCC) 中。将细胞系在37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂的加湿培养箱中培养。

[0070] 2. MCL1和BCLxL的蛋白质印迹分析方案

[0071] 将细胞系在RIPA缓冲液 (Boston BioProducts) 加蛋白酶抑制剂混合物 (Mini-complete, 无EDTA, Roche) 和磷酸酶抑制剂PhosSTOP (Roche) 中裂解。将裂解液在具有4X LDS样品缓冲液 (Nupage, Thermo Fisher Scientific) 和10X还原试剂 (Nupage, Thermo Fisher Scientific) 的RIPA缓冲液中稀释,并煮沸5分钟。在4-12%Bis-Tris SDS Page凝胶 (Novex, Thermo Fisher Scientific) 中,每孔加样二十五微克的蛋白质。使用iBlot系统 (Thermo Fisher Scientific) 将凝胶转移到硝酸纤维素膜上。将膜在封闭缓冲液 (1x Tris-缓冲盐水+0.1%Tween-20 (Boston Bioproducts) +5%脱脂奶粉 (Bio-Rad)) 中封闭1小时,然后切割。在封闭缓冲液中分别用针对以下蛋白质的抗体探测每个部分:MCL1 (Cell Signaling Technologies 5453) (D35A5) 1:500稀释的兔单克隆,BCL-xL (Cell Signaling Technologies 2764) (54H6) 1:500稀释的兔单克隆,经切割的Parp (Cell Signaling Technologies 5625) (D64P10) 1:500稀释的兔单克隆,和100ng/mL的GAPDH (Sigma G8795) 小鼠单克隆。将印迹与一抗稀释液一起在4 $^{\circ}$ C下摇动温育过夜。然后用Odyssey Licor或HRP二抗对蛋白质印迹进行印迹。然后使用洗涤缓冲液 (1x Tris-缓冲盐水+0.1%Tween-20) 将印迹洗涤四次。将使用Licor成像的印迹与在封闭缓冲液中1:10,000稀释的Licor IR标记的二抗,IRDye®800CW山羊抗兔IgG (Odyssey 925-32211) 和IRDye®680LT山羊抗小鼠IgG (Odyssey 925-68020) 在室温下摇动1小时进行探测。然后将印迹用洗涤缓冲液洗涤三次。根据制造商的说明,将使用HRP成像的印迹与在封闭缓冲液中1:5000稀释的抗小鼠IgG, HRP连接的抗体 (Cell Signaling Technologies 7076) 和抗兔IgG, HRP连接的抗体 (Cell Signaling Technologies 7074) 在室温下摇动1小时进行探测。然后将印迹用洗涤缓冲液

洗涤三次。根据制造商的说明,使用SuperSignal West Femto最大灵敏度底物(Thermo Fisher Scientific)进行HRP检测,并用ImageQuant™ LAS 4000生物分子成像仪(GE Healthcare Life Sciences)成像。

[0072] 3.MCL1的实时定量PCR方案

[0073] 根据制造商的说明,使用TaqMan基因表达细胞至CT试剂盒(Thermo Fisher Scientific)从在96孔板中用化合物处理的细胞分离RNA裂解物,并进行逆转录。使用TaqMan基因表达预混液(Thermo Fisher Scientific)和与18S rRNA VIC-PL(Thermo Fisher Scientific assay ID Hs99999901_s1) duplex的MCL1转录探针(Integrated DNA Technologies FAM-ZEN/IBFQ)进行定量PCR,并使用 $\Delta\Delta Ct$ 方法进行定量。

[0074] MCL1L探针组

[0075] 引物ATATGCCAAACCAGCTCCTAC

[0076] 引物AAGGACAAAACGGGACTGG

[0077] 探针AGAACTCCACAAACCCATCCCAGC

[0078] MCL1S探针组

[0079] 引物AAAGCCAATGGGCAGGT

[0080] 引物CCACCTTCTAGGTCCTCTACAT

[0081] 探针TCCACAAACCCATCTTGAAGGCC

[0082] MCL1前mRNA内含子1-外显子2探针组

[0083] 引物GACAAAGGAGGCCGTGAGGA

[0084] 引物GTTTGTACGCCGTCGCTGAAA

[0085] 探针TCAGGCATGCTTCGGAAACTGGA

[0086] 4. 诱导型shRNA和cDNA方案

[0087] 将BCL-xL shRNA 1(GCTCACTCTTCAGTCGGAAAT)(Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4):547-562)克隆到Tet诱导型慢病毒pLKO-iKD-H1 puro载体的AgeI和EcoRI中(Wiederschain D, et al., 2009, Cell Cycle 8(3):498-504)。将MCL1 shRNA 48(GCATCGAACCATTAGCAGAAA)(Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4):547-56)克隆到Tet诱导型慢病毒pLKO-iKD-U6 puro载体的AgeI和EcoRI中。将MCL1-L pENTR-D-TOPO网关克隆(LR克隆酶, Thermo Fisher Scientific)到pINDUCER20(Meerbrey KL, et al., 2011, Proc Natl Acad Sci U S A. 108(9):3665-3670)。在LentiX-293T细胞中制备了慢病毒。使用TransIT试剂(Mirus)用2.4 μ g的靶标pLKO-shRNA或pINDUCER20质粒,加2.4 μ g的p Δ 8.91(包装)和0.6 μ g VSVG(包膜)转染10cm Biocoat Collagen II培养皿(Corning)中的2.5M细胞。pINDUCER20+MCL1-L、pINDUCER20载体、pLKO-iKD-U6 puro+MCL1 shRNA 48和pLKO-iKD-U6 puro载体病毒用于感染A549、NCI-H23、NCI-H1568、NCI-H1650、NCI-H1975和NCI-H2110。pLKO-iKD-H1 puro+BCL-xL shRNA 1和pLKO-iKD-H1 puro病毒用于感染A549、NCI-H23、NCI-H1568和NCI-H2110。使用聚凝胺(Millipore)感染用或不用离心感染(spin infection)的细胞。感染后一至三天,将细胞在遗传霉素(pINDUCER20)或嘌呤霉素(pLKO shRNA)中培养。在存在或不存在Dox(300ng/ml)的情况下培养所选择的细胞。诱导后三至五天收获细胞的蛋白质和RNA。如MCL1实时PCR部分所述分离RNA。如上述MCL1和BCL-xL蛋白质印迹规程部分中所述制备蛋白质提取物。

[0088] 5. 细胞活力和MCL1挽救方案

[0089] 对于诱导型shRNA实验,将细胞在有或没有300ng/mL Dox的96孔中培养72小时,然后根据制造商的说明使用CellTiter-Glo发光细胞活力测定法(Promega)进行裂解,并使用Perkin-Elmer Envision进行分析。对于每个细胞系,Dox处理过的孔相对于未处理进行了标准化。

[0090] 对于化合物剂量反应实验,将细胞以每孔50 μ l中1,000个细胞铺板于96或384孔板中。通过声转移将化合物从90%DMSO中的11点系列稀释系列添加到培养基中的细胞。最终DMSO浓度为0.1%。将板盖上盖子,并允许细胞在37°C和5%CO₂下生长。在t=0时,用CellTiter-Glo裂解未处理的细胞,并在Envision读板器上测量。在t=72(化合物添加后72小时),用CellTiter-Glo裂解用化合物处理的细胞,并在Envision上进行分析。将来自每个处理样品的发光值相对于各个DMSO对照的平均值进行标准化。

[0091] 对于MCL1挽救实验,将细胞系与300ng/mL dox培养72小时,然后传代培养并接种到具有300ng/mL dox的96或384孔板中。

[0092] 6. 组合研究

[0093] 对剪接调控剂(例如E7107或H3B-8800)和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂(例如ABT263、ABT199或A-1331852)进行化合物系列稀释,并如细胞活力和MCL1挽救方案中所讨论的对细胞进行处理。对于BCL-xL敲低,按照细胞活力和MCL1挽救方案,用300ng/mL dox处理细胞,然后接种384孔板。最终DMSO浓度为0.2%。按照细胞活力和MCL1挽救方案进行CellTiter-Glo。使用Chalice Bioinformatics软件(Horizon Discovery,Cambridge,UK)分析数据。为了评估剪接调控剂(例如E7107或H3B-8800)和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂(例如ABT263、ABT199或A-1331852)的化合物协同,使用了Horizon Discovery的Loewe可加性模型,以及通过从剂量反应矩阵中减去Loewe模型(基于化合物自交叉的纯加和)计算Loewe过量。

[0094] 7. 动物研究

[0095] 为了鉴定用于功效研究的组合臂的耐受剂量,将处于良好耐受的剂量水平(例如对于E7107,1.25、2.5和5mg/kg)的剪接体调控剂(例如,E7107或H3B-8800)静脉内连续5天每天一次(QDx5)或处于耐受剂量(100、50和25mg/kg)的BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂口服每天一次(QD)单独地或组合地施用于小鼠。给药后,监测动物直到出现健康问题(例如,麻痹或体重过多减轻)。在荷瘤动物的功效研究中使用每种化合物的最大耐受组合剂量和各自的单剂量。

[0096] 在A549和NCIH1568的皮下模型中体内评估E7107和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的组合的抗肿瘤活性。将细胞(H1568 5x10⁶个和A549 10x10⁶个细胞)皮下植入裸鼠的侧腹。基于先前研究确定的剂量,向动物施用剪接体调控剂和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂。

[0097] B. 结果

[0098] 1. 鉴定MCL1过表达的和MCL1依赖性NSCLC细胞系

[0099] 为了鉴定细胞系模型以评估普拉地内酯剪接体调控剂和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的组合活性,基于先前的报道(Wei G, et al., 2012, Cancer Cell 21(4):547-562)选择了具有或不具有MCL1扩增的六种非小细胞肺癌(NSCLC)细胞系。对这些细胞系中

的MCL1蛋白表达进行了蛋白质印迹分析。如图1中所示,与未扩增的细胞系NCIH1650、NCIH1975和A549相比,MCL1基因扩增的NCIH1568、NCIH23和NCIH2110表达更高水平的MCL1蛋白表达。接下来,使用特异性下调MCL1的诱导型shRNA在这些细胞系中测试了对MCL1的依赖性,证明了在MCL1扩增而非未扩增的细胞系中的选择性MCL1依赖性(图2)。MCL1过表达的和MCL1依赖性NSCLC细胞系模型被确定用于进一步的功能研究。

[0100] 2.E7107诱导MCL1的剪接调控

[0101] 研究了普拉地内酯衍生物E7107对MCL1基因的剪接调控。MCL1基因含有三个外显子和两个内含子,可以将其选择性剪接成两个主要转录物:编码功能性全长蛋白质的MCL1L和编码推定的功能丧失蛋白质的MCL1S(图3)。作为研究的一部分,由于E7107干扰了剪接机械,因此测量了MCL1的内含子保留。用E7107对NCIH1568细胞进行六小时处理诱导了MCL1L mRNA的强烈降低、MCL1S mRNA的瞬时表达以及具有内含子保留的MCL1前mRNA的连续诱导(图4)。

[0102] 在NCIH1568细胞中进一步测试了MCL1的蛋白质表达。与mRNA数据一致,E7107触发了全长MCL1蛋白的剂量依赖性下调,而截短的短形式蛋白产物以剂量依赖性方式增加。MCL蛋白水平的改变与经切割的PARP蛋白(其是凋亡的指示物)的诱导有关,表明E7107对MCL1的剪接调控可能导致NCIH1568细胞的细胞死亡(图5)。

[0103] 3.E7107诱导的细胞死亡是MCL1和BCLxL依赖性的

[0104] 为证实E7107诱导的MCL1的下调是细胞死亡的原因,MCL1L cDNA在NCIH1568细胞中过表达,如蛋白质印迹分析所示(图6)。MCL1L的cDNA过表达挽救了MCL1依赖性细胞系中E7107诱导的细胞死亡(图7)。进一步探讨了BCLxL(由BCL2L1编码)在经E7107处理的MCL1非依赖性A549细胞中的作用。尽管E7107仅如预期那样诱导抑制细胞生长的抑制,但在E7107处理后,可诱导的BCLxL敲低(图8)导致明显的细胞死亡(图9)。总之,这些数据支持了,对MCL1和BCLxL两者的抑制导致协同活性,从而导致MCL1依赖性和非依赖性癌细胞两者中的细胞毒性。

[0105] 4.E7107与BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的组合显示协同作用

[0106] 由于E7107可以调控MCL1,并且其他BCL2蛋白可以抵抗由MCL1抑制诱导的细胞毒性,因此E7107与BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的组合可以通过广泛靶向所有抗凋亡BCL2蛋白而提供增强的细胞死亡。

[0107] 在8X8剂量矩阵模式中对与E7107组合的BT2/BCLxL/BCLw泛抑制剂ABT263(那维妥拉)进行了测试(图10)。实际上,在包括MCL1依赖性NCIH23(协同得分=50.8)、NCIH2110(协同得分=50.2)、NCIH1568(协同得分=35.2)和MCL1非依赖性的A549细胞(协同得分=85.4)的四种不同的表达空载体的细胞系模型中,两种抑制剂的组合显示出强的协同作用,且与Loewe可加性模型相比有很大的过量(图10,左图)。此外,BCLxL的shRNA消耗大大减弱了E7107和ABT263之间的这种协同(图10,右图),证实了基因shRNA操纵和药理抑制剂(ABT263)冲击在同一节点BCLxL上以达到协同作用。具体而言,在NCIH23(7.42)、NCIH2110(7.03)、NCIH1568(12.7)和A549(28.3)中,协同得分大大降低。

[0108] 还对与E7107组合的ABT199(维奈妥拉)进行了测试。ABT199是更具BCL2选择性的抑制剂,其对BCLxL具有活性。在MCL1非依赖性的A549细胞中E7107和ABT199的组合显示出协同活性(得分=32.6),而敲低BCLxL则大大降低了协同作用(得分=16.4)(图11)。

[0109] 5.H3B-8800与BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的组合显示协同作用

[0110] 还评估了另一种靶向SF3b的剪接调控剂H3B-8800与BCL2/BCLxL抑制剂的潜在协同活性,所述BCL2/BCLxL抑制剂可以通过广泛靶向所有抗凋亡BCL2蛋白来提供增强的细胞死亡。

[0111] 在12X12剂量矩阵模式中对与H3B-8800组合的BCL2/BCLxL/BCLw泛抑制剂ABT263(那维妥拉)进行了测试。在包括U266B1(协同得分=41.3)和RPMI8226(协同得分=40.1)的两种不同的多发性骨髓瘤细胞系模型中,两种抑制剂的组合显示出强的协同作用,且与Loewe可加性模型相比有很大的过量(图12)。

[0112] 还对与H3B-8800组合的ABT199(维奈妥拉)进行了测试。ABT199是更具BCL2选择性的抑制剂,其对BCLxL具有活性。在两种测试的多发性骨髓瘤细胞系模型JN3(协同作用评分得分=26.1)和RPMI8226(协同得分=19)中H3B-8800和ABT199的组合也显示出协同活性(图13)。

[0113] 另外,还对与H3B-8800组合的A-1331852进行了测试。A-1331852是更具BCLxL选择性的抑制剂。在两种测试的多发性骨髓瘤细胞系模型RPMI8226(协同得分=68.3)和MM1S(协同得分=56.8)中H3B-8800和A-1331852的组合显示出显著的协同活性(图14)。

[0114] 综上所述,这些数据表明,普拉地内酯衍生的剪接调控剂(例如E7107或H3B-8800)与BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂(例如ABT263、ABT199或A-1331852)的组合在多种癌细胞中诱导协同细胞毒性。因此,该数据支持在治疗癌症时使用普拉地内酯剪接调控剂和BCL2、BCL2/BCLxL或BCLxL抑制剂的组合。

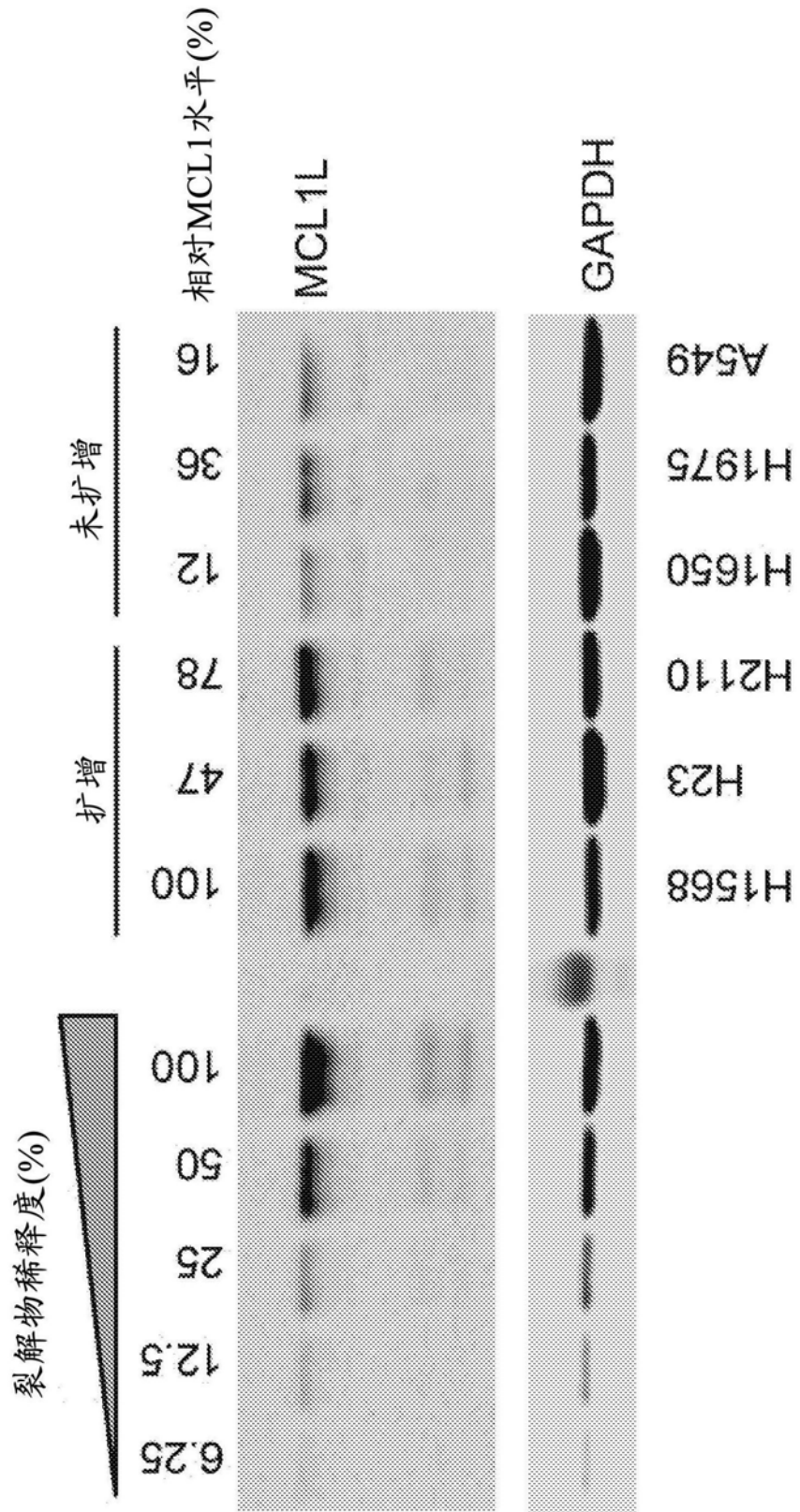


图1

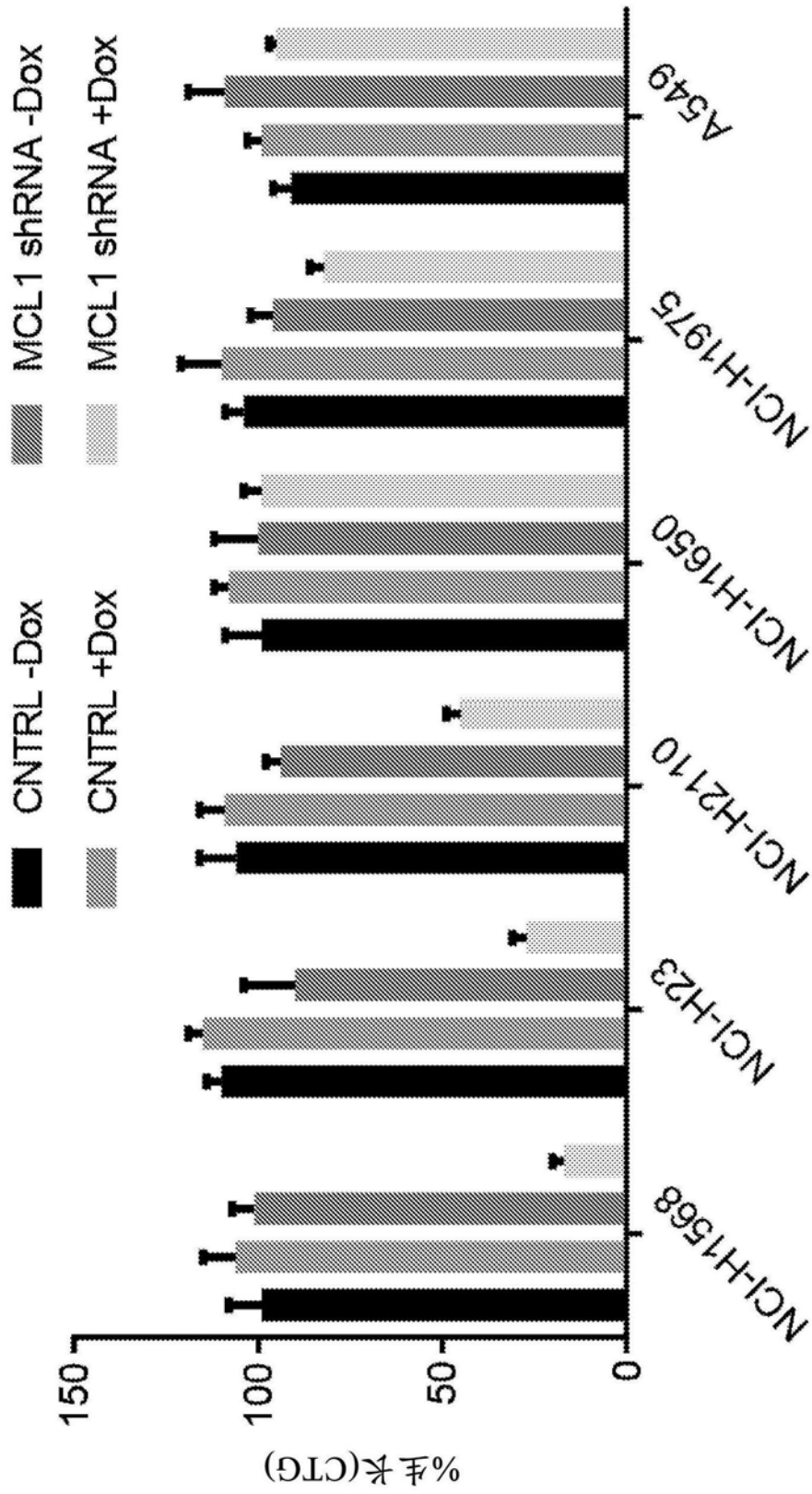


图2

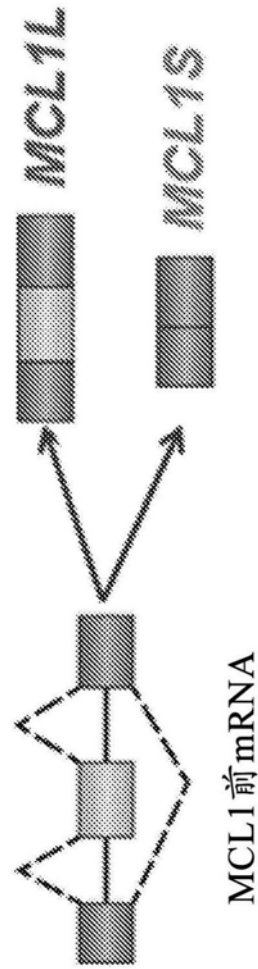


图3

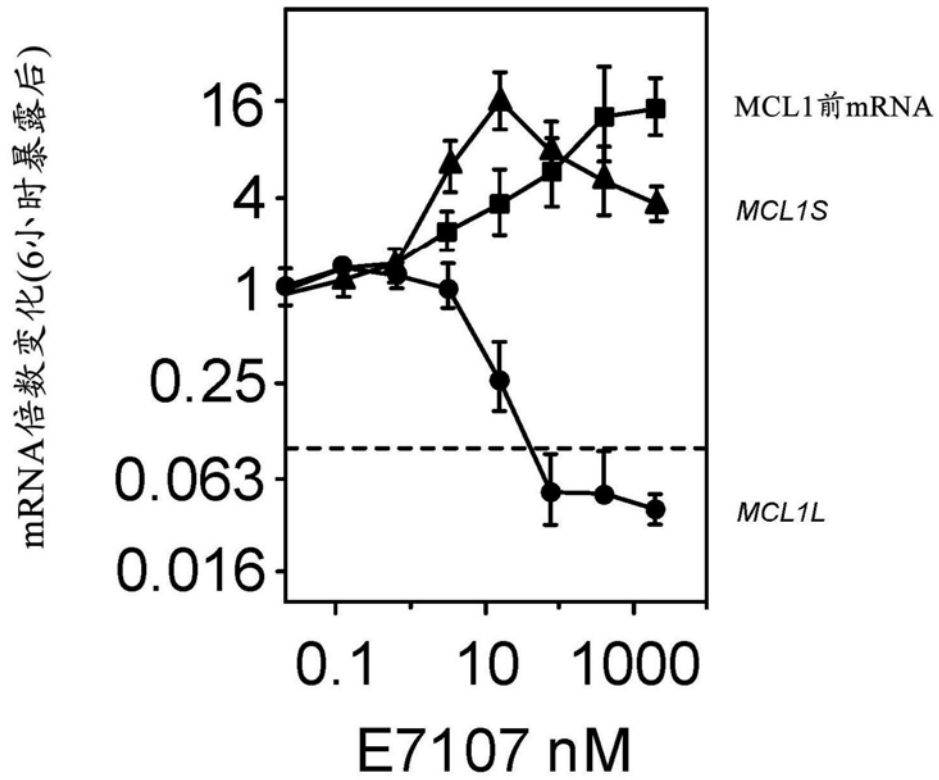


图4

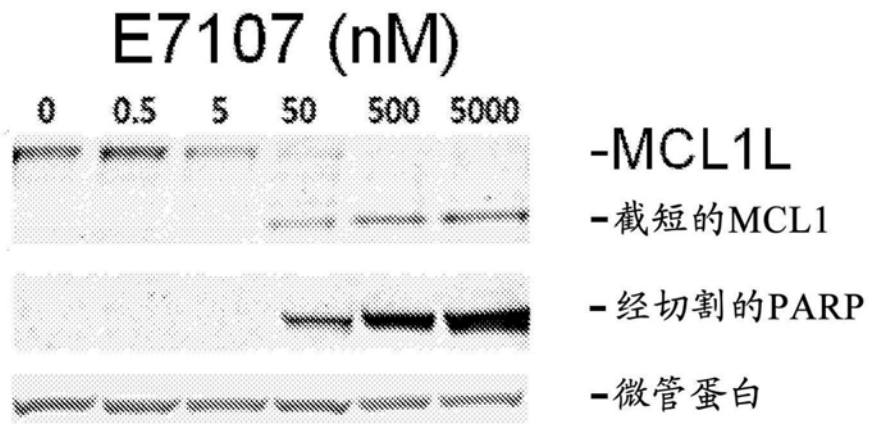


图5

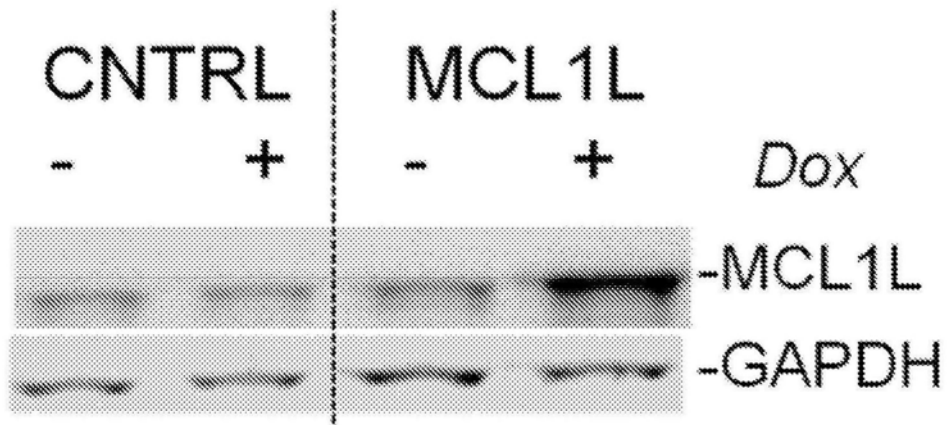


图6

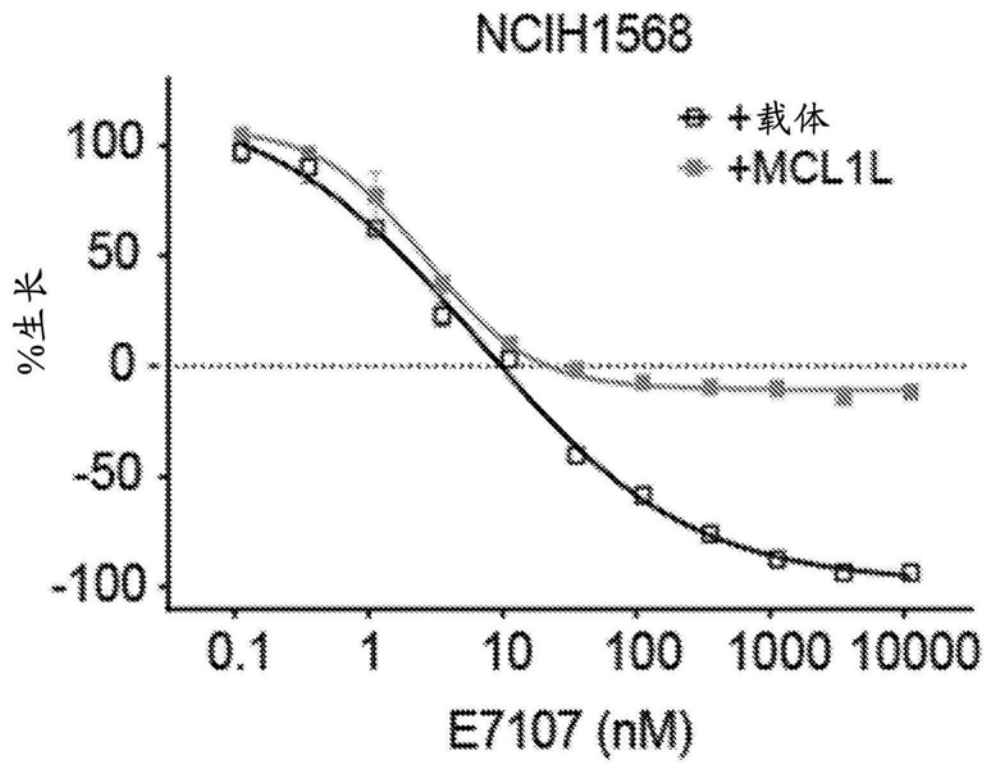


图7

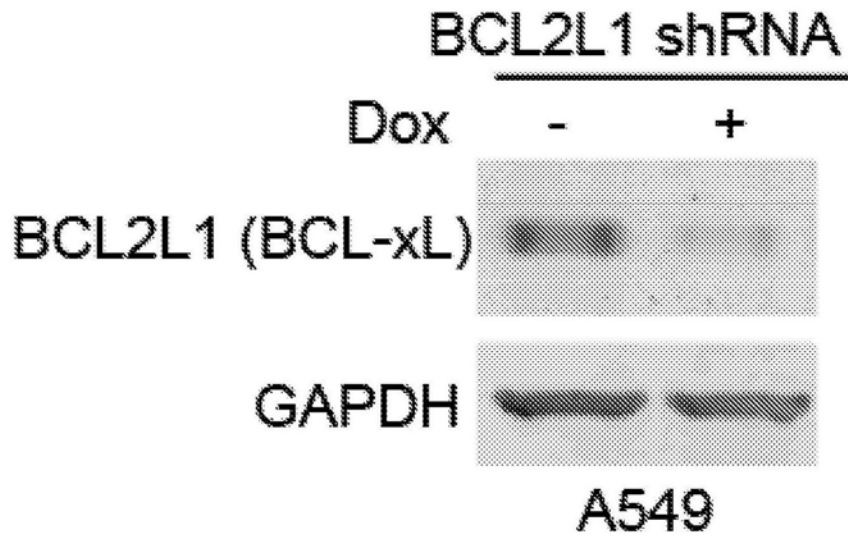


图8

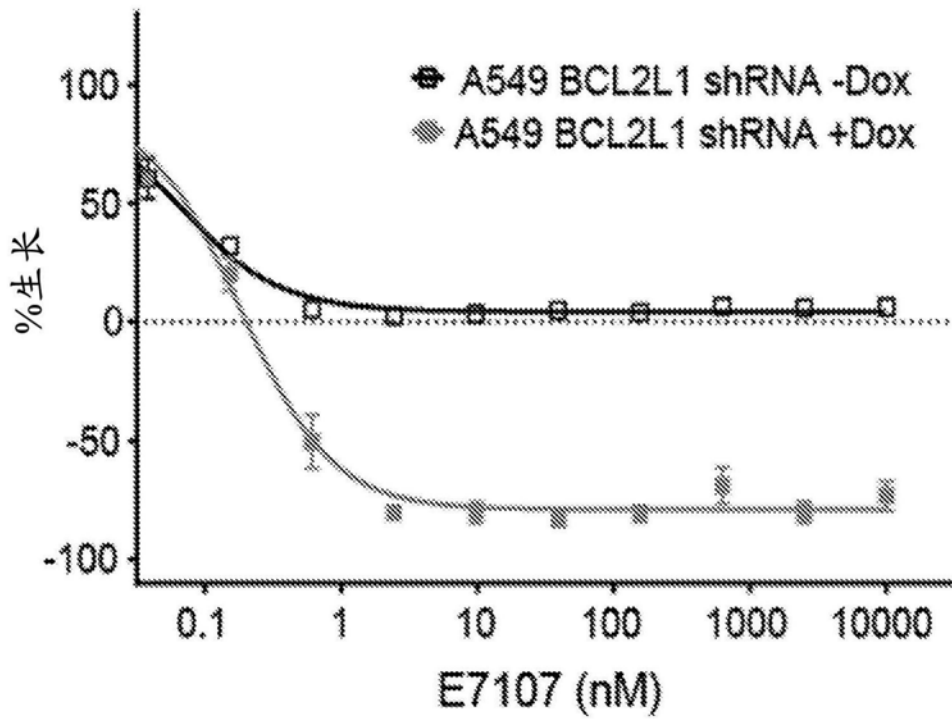


图9

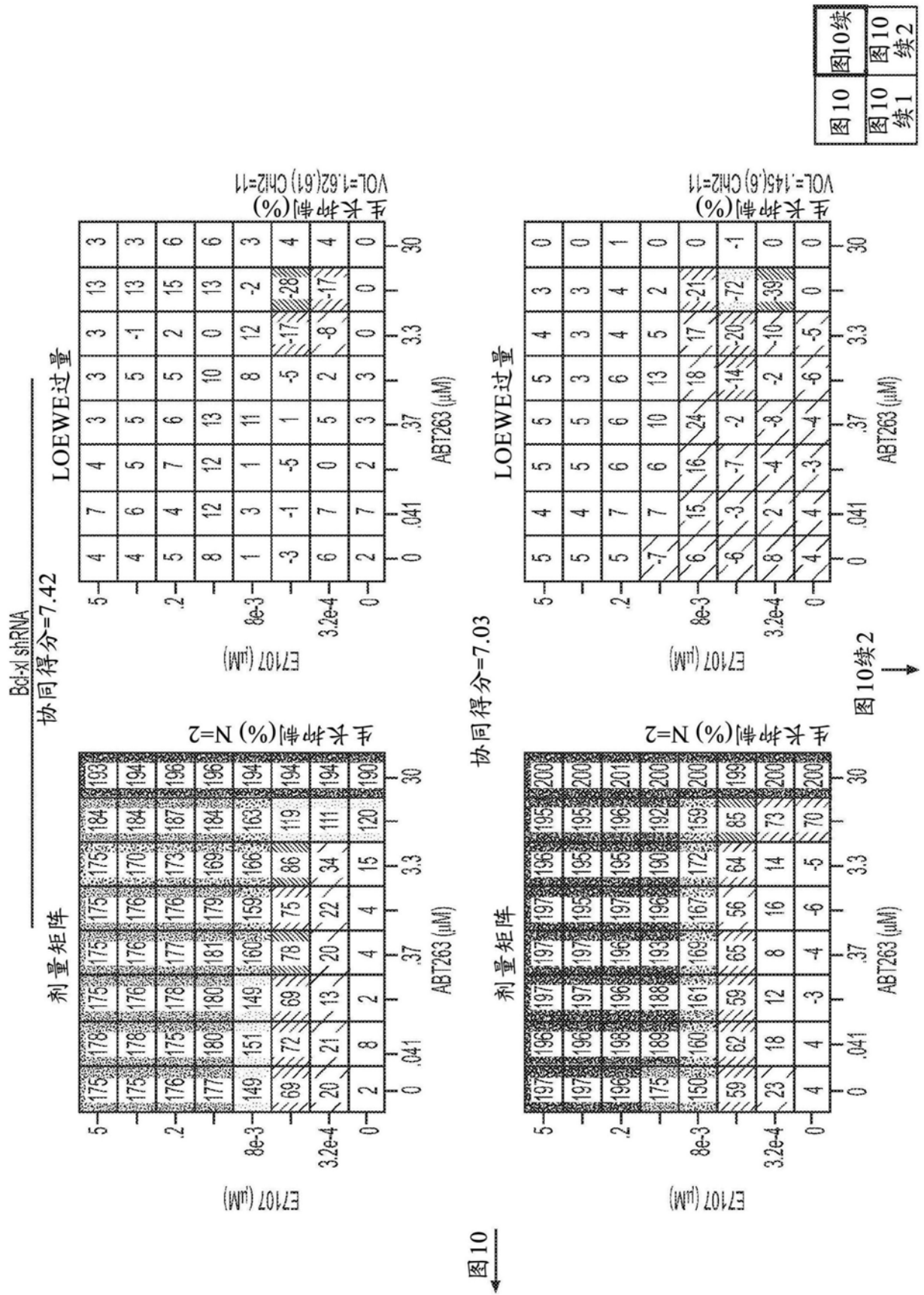


图10	图10续
图10续1	图10续2

图10续

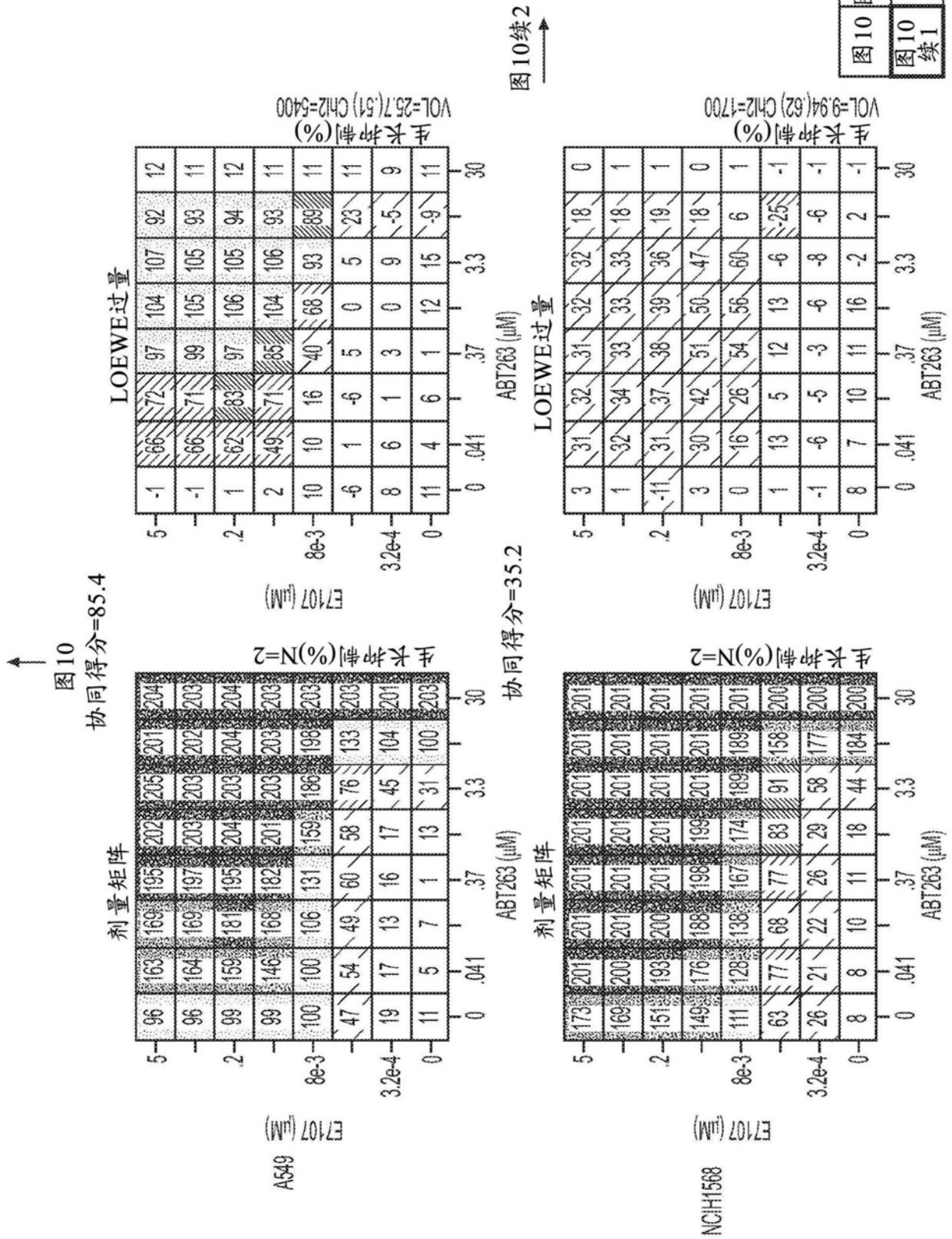


图10续1

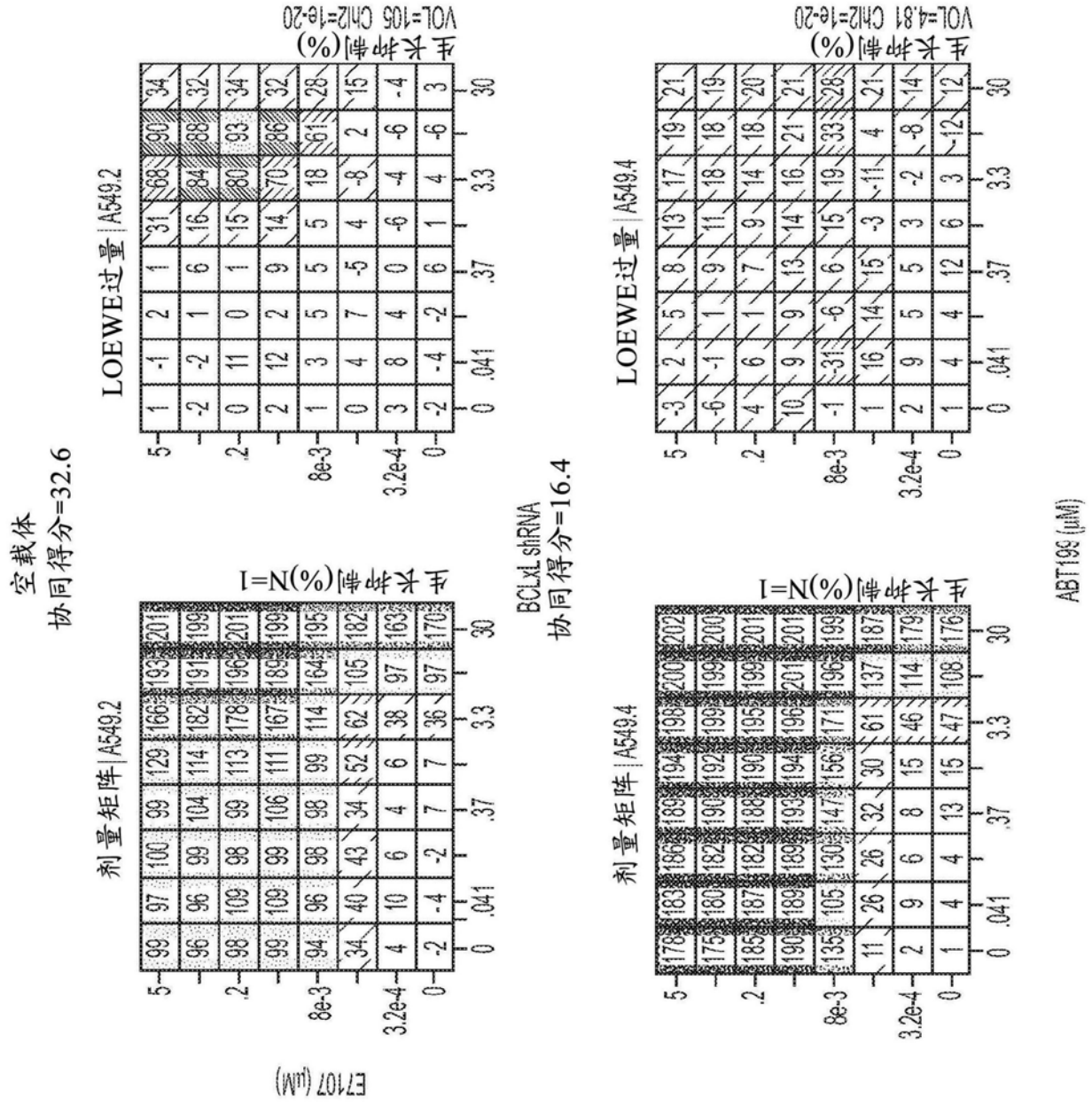


图11

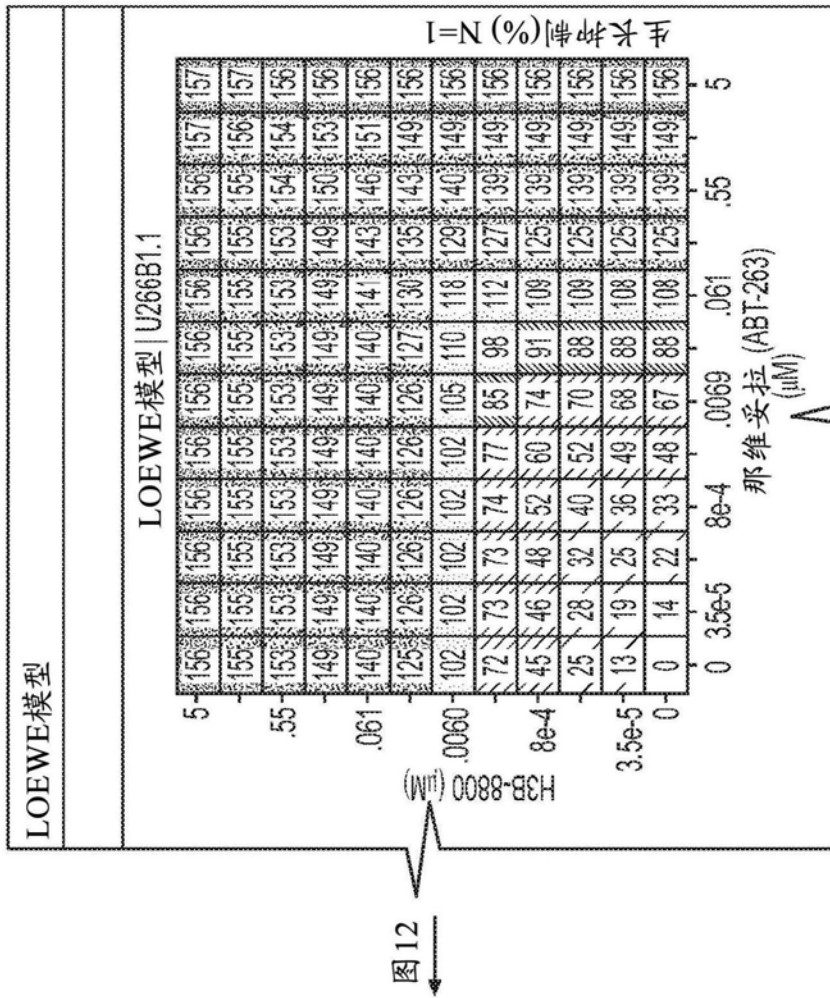


图12续
图12续1
图12续2

图12续

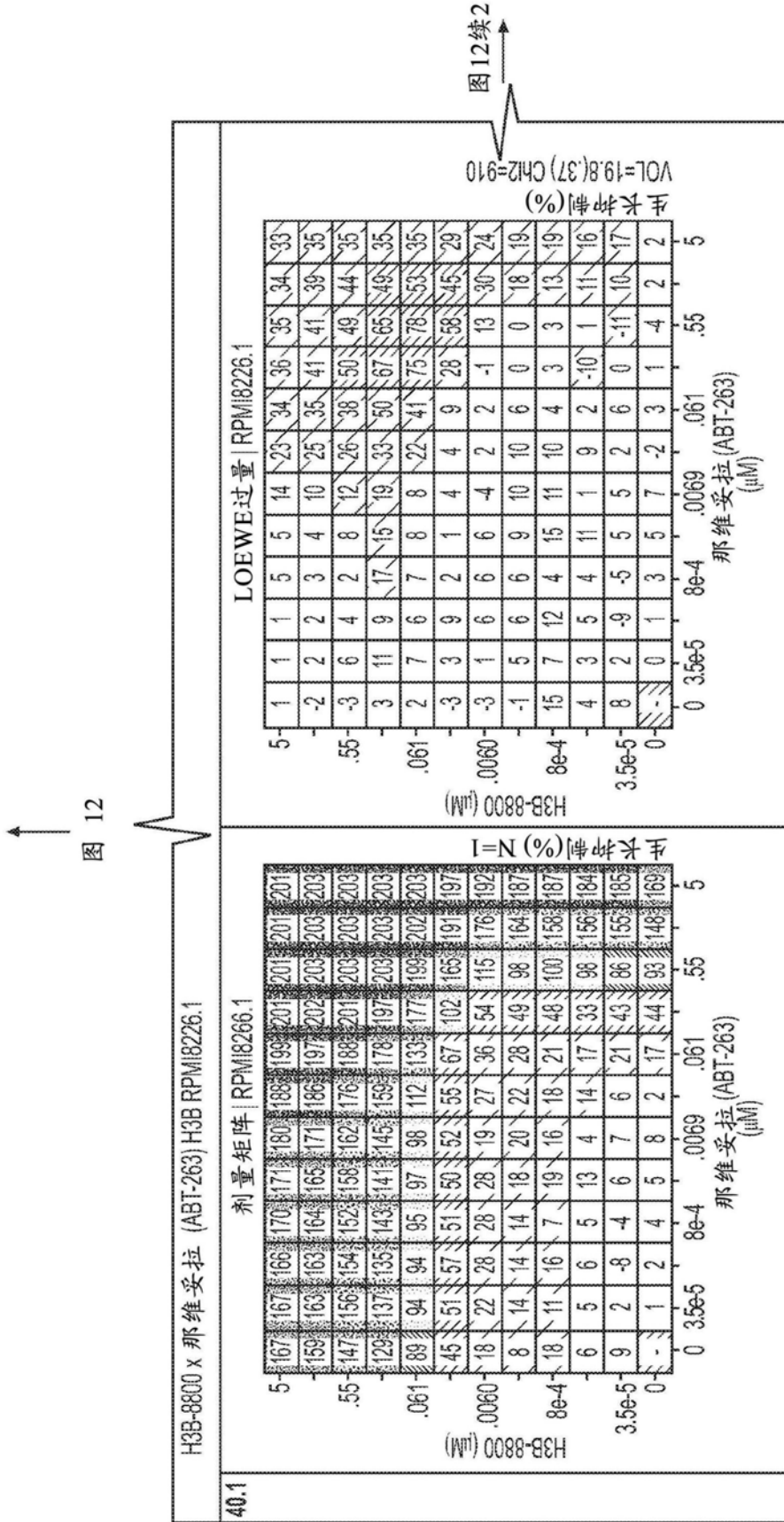


图12	图12续
图12续1	图12续2

图12续1

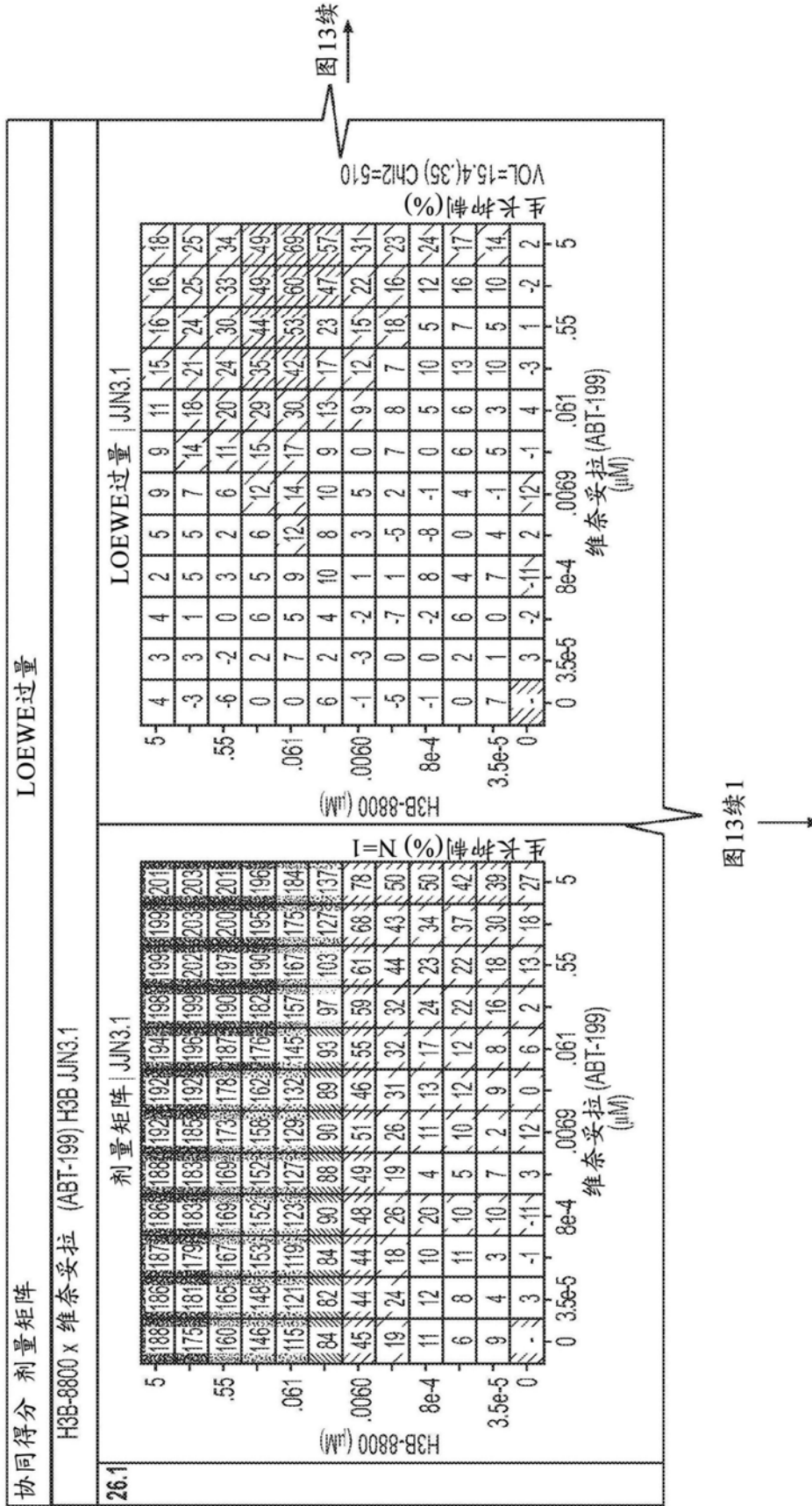


图13	图13续
图13续1	图13续2

图13

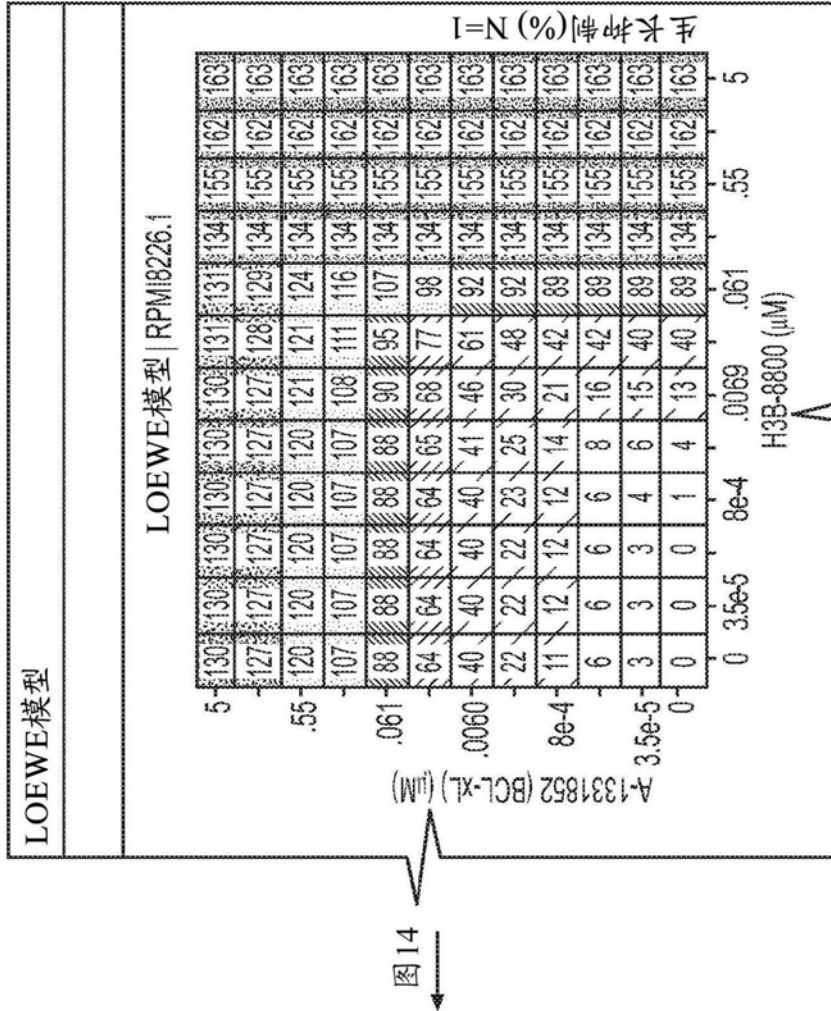


图14

图14续

图14	图14续
图14续1	图14续2

图14续2

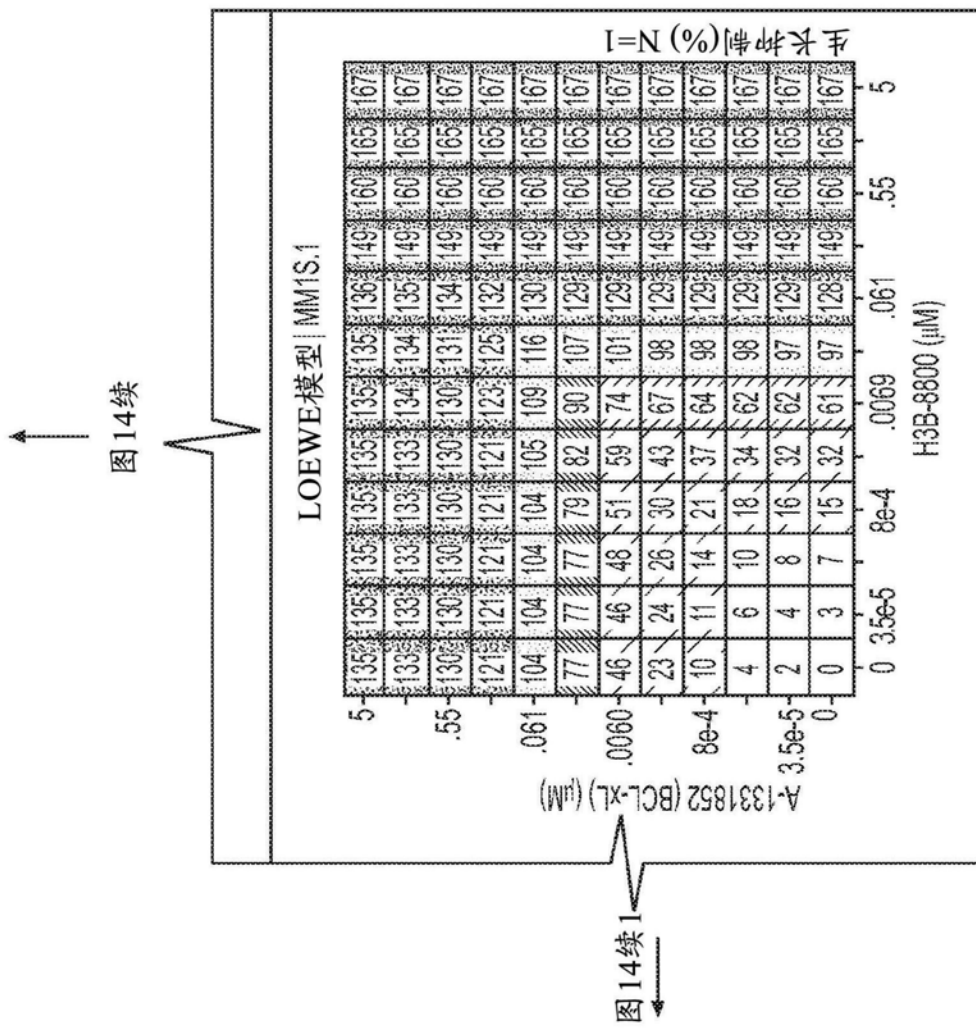


图 14 续 2

图 14	图 14 续
图 14 续 1	图 14 续 2