



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118354773 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 16

(21) 申请号 202280080833.6	A61K 31/05 (2006.01)
(22) 申请日 2022.12.07	A61K 31/167 (2006.01)
(30) 优先权数据	A61K 31/352 (2006.01)
20216252 2021.12.07 FI	A61K 31/404 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日	A61K 31/4045 (2006.01)
2024.06.05	A61K 31/426 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据	A61K 31/428 (2006.01)
PCT/FI2022/050813 2022.12.07	A61K 31/436 (2006.01)
(87) PCT国际申请的公布数据	A61K 31/4545 (2006.01)
W02023/105119 EN 2023.06.15	A61K 31/4725 (2006.01)
(71) 申请人 萨达治疗公司	A61K 31/4745 (2006.01)
地址 芬兰赫尔辛基	A61K 31/50 (2006.01)
(72) 发明人 H·西赫托 K·托伊瓦宁	A61K 31/501 (2006.01)
T·博林	A61K 31/506 (2006.01)
(74) 专利代理机构 北京市中伦律师事务所	A61K 31/5377 (2006.01)
11410	A61K 31/5395 (2006.01)
专利代理师 钟锦舜 王奕勋	A61K 31/585 (2006.01)
(51) Int.Cl.	A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)	A61K 31/737 (2006.01)
	A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书3页 说明书15页 附图8页

(54) 发明名称

用于治疗癌症的协同组合物

(57) 摘要

本发明涉及一种组合物,其包含磷酸二酯酶3A调节剂化合物与选自由以下组成的组中的抑制剂化合物的协同组合:Bcl-2家族蛋白抑制剂、mTOR抑制剂、组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂、DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)抑制剂、整合素 α 2蛋白抑制剂、NEDD8激活酶(NAE)抑制剂和PAK4抑制剂,所述组合物用于治疗癌症。

1. 一种磷酸二酯酶3A调节剂化合物或其药学上可接受的盐,其与选自由以下组成的组中的抑制剂化合物协同组合:Bcl-2家族蛋白抑制剂、mTOR抑制剂、组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂、DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)抑制剂、整合素 α 2蛋白抑制剂、NEDD8激活酶(NAE)抑制剂、PAK4抑制剂及其药学上可接受的盐;所述协同组合用于治疗癌症。

2. 根据权利要求1所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物选自由以下组成的组:阿那格雷、3-羟基阿那格雷、乌檀费碱、BRD9500、DNMDP、(R)-DNMDP及其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求2所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述Bcl-2家族蛋白抑制剂选自由以下组成的组:A-1155463、ABT-263(那维妥拉)、A-1331852、AT-101、WEHI-539、藤黄酸、A-1210477、(S)-乙酸棉子酚、阿朴棉子酚、ABT-737及其药学上可接受的盐。

5. 根据权利要求2所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且所述Bcl-2家族蛋白抑制剂是A-1155463、ABT-263(那维妥拉)或其药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求1-3中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述mTOR抑制剂选自由以下组成的组:雷帕霉素、西罗莫司、依维莫司、地磷莫司、替西罗莫司、CC-115、Torin 1、Torin 2及其药学上可接受的盐。

7. 根据权利要求6所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且所述mTOR抑制剂是地磷莫司、替西罗莫司、西罗莫司、依维莫司或其药学上可接受的盐。

8. 根据权利要求1-3中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂选自由以下组成的组:伏立诺他、恩替司他、帕比司他、莫替诺司他、贝利司他、瑞考司他、罗米地辛、吉维诺司他、达诺司他、奎诺司他、普诺司他、瑞米诺司他、屈昔司他、阿贝司他、RGFP966、AR-42、PCI34051、曲古抑菌素A、SB939、CI994、CUDC-907、tubacin、西达本胺、RG2833、M344、MC1568、tubastatin A、scriptaid、丙戊酸、苯基丁酸钠、他喹莫德、kevetrin、HPOB、4SC-202、TMP269、CAY10603、BRD73954、BG45、LMK-235、nexturastat A、CG200745、CHR2845、CHR3996及其药学上可接受的盐。

9. 根据权利要求8所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且所述HDAC抑制剂是奎诺司他或其药学上可接受的盐。

10. 根据权利要求1-3中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)抑制剂选自以下组成的组:NU7441、NU7026、KU-0060648、LTURM34、CC-115、PIK-90、渥曼青霉素、LY3023414、M3814、SF2523、化合物401及其药学上可接受的盐。

11. 根据权利要求10所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且所述DNA-PK抑制剂是CC-115或其药学上可接受的盐。

12. 根据权利要求1-3中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述整合素 $\alpha 2$ 蛋白抑制剂是E7820或其药学上可接受的盐。

13. 根据权利要求12所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且所述整合素 $\alpha 2$ 蛋白抑制剂是E7820或其药学上可接受的盐。

14. 根据权利要求1-3中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述NAE抑制剂是培迪司他(MLN4924)或其药学上可接受的盐。

15. 根据权利要求14所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且所述NAE抑制剂是培迪司他(MLN4924)或其药学上可接受的盐。

16. 根据权利要求1-3中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述PAK4抑制剂选自由以下组成的组:KPT-9274、PF-03758309、IPA-3、FRAX1Q36、LCH-7749944、glaucambinone、KY-04031、KY-04045、Inka1、GL-1196、GNE-2861及其药学上可接受的盐。

17. 根据权利要求16所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且所述PAK4抑制剂是PF-03758309或其药学上可接受的盐。

18. 根据权利要求1-17中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中将第一剂量的所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物和第一剂量的所述抑制剂化合物同时施用于所述受试者。

19. 根据权利要求1-17中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中将第一剂量的所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物和第一剂量的所述抑制剂化合物依序施用,优选在24小时内。

20. 根据权利要求1-19中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物和所述抑制剂化合物被配制在单个药物组合物中或作为分开的药物组合物,其中所述药物组合物包含至少一种药学上可接受的缓冲液、载剂、防腐剂或佐剂。

21. 根据权利要求20所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述药物组合物被配制用于持续释放、延迟释放或定时释放,或者所述药物组合物是持续释放和立即释放制剂的共混物。

22. 根据权利要求1-21中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、BAY2666605或其药学上可接受的盐。

23. 根据权利要求22所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述药学上可接受的盐是盐酸阿那格雷。

24. 根据权利要求1-21中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是3-羟基阿那格雷或其药学上可接受的盐。

25. 根据权利要求1-21中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是DNMDP、BRD9500或其药学上可接受的盐。

26. 根据权利要求1-21中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物,其中所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是BAY2666605。

27. 根据权利要求1-26中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物, 其中所述治疗的癌症是选自由以下组成的组中的软组织肉瘤: 腺泡状软组织肉瘤、纤维肉瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、脂肉瘤、平滑肌肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、恶性外周神经鞘瘤、横纹肌肉瘤、粘液纤维肉瘤、未分化且未分类的肉瘤、尤文肉瘤和滑膜肉瘤。

28. 根据权利要求27所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物, 其中所述治疗的癌症是胃肠道间质瘤(GIST)或脂肉瘤。

29. 根据权利要求1-26中任一项所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物, 其中所述治疗的癌症是预先选择为对PDE3A调节剂有应答的癌症, 其中所述预先选择通过检测相对于参考的至少PDE3A和Schlafen 12(SLFN12)多肽生物标志物的表达来进行。

30. 根据权利要求29所述使用的磷酸二酯酶3A调节剂化合物, 其中选择为对PDE3A调节剂有应答的所述癌症是骨癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、子宫内膜癌、GIST、头颈癌、造血癌、肾癌、脂肉瘤、平滑肌肉瘤、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、软组织肉瘤、甲状腺癌或泌尿道癌。

用于治疗癌症的协同组合物

技术领域

[0001] 本公开的领域涉及癌症生物学。本公开还涉及用于治疗癌症的多药物组合。

背景技术

[0002] 在2020年,全世界诊断了近2000万例新癌症病例,并且1000万患者死于癌症。在2040年,估计全球癌症发生率增加至2840万例。尽管癌症疗法在过去的几十年中得到了改进,但许多癌症对目前的疗法没有应答或产生抗性。应对这种挑战的一种方法是开发靶向对于癌细胞的存活、增殖或播散至关重要的癌症驱动机制的个性化医学方法。例如,以HER2特异性抗体或抗体-药物缀合物靶向过表达的HER2受体显著改善了转移性乳腺癌的结局。类似地,小分子抑制剂,诸如靶向肺癌中的经突变的EGFR酪氨酸激酶受体或慢性髓系白血病中的ABR-ABL1融合基因的抑制剂,是有效的癌症疗法。

[0003] 磷酸二酯酶3 (PDE3) 蛋白是在癌症中有前景的新治疗靶标 (W02015055898, Pulkka 0等人2019)。PDE3是催化细胞中的第二信使cAMP和cGMP水解为AMP和GMP的酶。在健康组织中,PDE3A同种型通常在心肌细胞、血管平滑肌、血小板、卵母细胞和胎盘中表达。PDE3B表达通常在肝细胞、脂肪细胞和血管平滑肌中。PDE3酶抑制剂(诸如阿那格雷 (Anagrelide)、米力农 (Milrinone) 和西洛他唑 (Cilostazol)) 被用于治疗外周血管疾病中的特发性血小板增多症、心力衰竭和间歇性跛行。

[0004] PDE3A的表达经常在胃肠道间质瘤 (GIST) 和其他癌症类型中检测到。以靶标特异性化合物,如阿那格雷、乌檀费碱 (nauclefine)、17- β -雌二醇相关激素、(6S)-5-[4'-氟-2-(三氟甲基)联苯-4-基]-6-甲基-3,6-二氢-2H-1,3,4-噁二嗪-2-酮(也称为BAY2666605)和6-(4-(二乙氨基)-3-硝基苯基)-5-甲基-4,5-二氢哒嗪-3(2H)-酮(也称为DNMDP),治疗表达PDE3的癌细胞,在体内和体外杀伤肿瘤细胞并减少肿瘤细胞的生长和增殖 (W02015055898; Pulkka 0等人2019; Nazir M等人2017; de Waal L等人2016)。这些分子与PDE3A结合诱导PDE3A与Schlafen12 (SLFN12) 蛋白之间的相互作用,导致对细胞生长的抑制或细胞死亡。SLFN12与PDE3A的相互作用使SLFN12(其通常在细胞内快速周转) 稳定,并且导致SLFN12与核糖体的结合增加以及抗凋亡蛋白BCL2和MCL1的蛋白质翻译的阻断。此外,阿那格雷治疗后,其他细胞周期或凋亡调控基因(诸如TNF- α 、DR4、DR5、Bcl-2、Bcl-X1、Cyclin D1和p21) 的表达改变。此外,SLFN12与PDE3A的相互作用增加细胞中DNMDP应答所需的SLFN12的RNA酶活性。PDE3B在癌细胞中的表达补充了作为药物靶标的PDE3A (Pulkka 0等人2019; Wu X等人2020)。

[0005] 癌细胞中PDE3A的基因和蛋白质表达水平与PDE3A调节剂的抗癌功效呈正相关 (Wu X等人2020)。EP3411037公开了PDE3A调节剂在癌症治疗和癌症诊断中的用途。然而,低PDE3A表达会降低PDE3A特异性抗癌疗法的疗效,并且因此仍然需要新的策略。

[0006] 表达PDE3A的癌细胞系可以通过干扰素治疗而对阿那格雷敏感。IFN- α 和IFN- γ 诱导细胞中的SLFN12表达,并且因此它们在表达PDE3A的细胞中通过PDE3A-SLFN12复合物来实现阿那格雷诱导的细胞死亡。此外,阿那格雷治疗增加细胞中细胞死亡信号传导通路基

因TNF- α 以及死亡受体DR4和DR5的表达。以DR4和DR5配体TNF- α 和TRAIL治疗Be17404细胞显示与阿那格雷的协同作用(An R等人2019)。因此,组合疗法可能提供一条实现癌症疗法改进的途径。

发明内容

[0007] 本发明由独立权利要求的特征限定。从属权利要求中限定了一些具体的实施方案。

[0008] 如下所述,本发明公开了磷酸二酯酶3A调节剂和特定蛋白质抑制剂的协同组合,其用于治疗癌症。

[0009] 因此,本发明提供了一种磷酸二酯酶3A调节剂化合物或其药学上可接受的盐,其与选自以下组成的组中的抑制剂化合物协同组合:Bcl-2家族蛋白抑制剂、mTOR抑制剂、组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂、DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)抑制剂、整合素 α 2蛋白抑制剂、NEDD8激活酶(NAE)抑制剂、PAK4抑制剂及其药学上可接受的盐;用于治疗癌症。

附图说明

[0010] 图1显示细胞系的特征。A)通过蛋白质印迹分析细胞系中PDE3A、SLFN12和肌动蛋白的表达。B)细胞系中PDE3A的免疫组织化学染色确认了GIST882、SA4和GOT3中PDE3A的表达。C)在三种阿那格雷敏感性细胞系中限定了阿那格雷的IC₅₀值。

[0011] 图2.西洛他唑是PDE3特异性酶抑制剂,不显示与Bcl家族抑制剂A1155463的协同。

[0012] 图3.单独阿那格雷及其与Bcl家族抑制剂A1155463的组合在A)GIST882、B)SA4和C)GOT3细胞系中的功效。DMSO治疗的细胞测定表示治疗的阴性对照组。

[0013] 图4.单独阿那格雷及其与Bcl家族抑制剂那维妥拉(Navitoclax)的组合在A)GIST882、B)SA4和C)GOT3细胞系中的功效。DMSO治疗的细胞测定表示治疗的阴性对照组。

[0014] 图5.单独3-羟基阿那格雷及其与Bcl家族抑制剂A1155463的组合在A)GIST882、B)SA4和C)GOT3细胞系中的功效。DMSO治疗的细胞测定表示治疗的阴性对照组。

[0015] 图6.单独3-羟基阿那格雷及其与Bcl家族抑制剂那维妥拉的组合在A)GIST882、B)SA4和C)GOT3细胞系中的功效。DMSO治疗的细胞测定表示治疗的阴性对照组。

[0016] 图7.单独DNMDP及其与Bcl家族抑制剂A1155463的组合在A)GIST882、B)SA4和C)GOT3细胞系中的功效。DMSO治疗的细胞测定表示治疗的阴性对照组。

[0017] 图8.单独DNMDP及其与Bcl家族抑制剂那维妥拉的组合在A)GIST882、B)SA4和C)GOT3细胞系中的功效。DMSO治疗的细胞测定表示治疗的阴性对照组。

具体实施方式

[0018] 如本文所用,术语“受试者”、“个体”、“宿主”和“患者”在本文可互换地用于指代用本文教导的一种或多种示例性化合物治疗的动物,包括但不限于猿猴、人、鸟类、猫科动物、犬科动物、马科动物、啮齿动物、牛科动物、猪科动物、绵羊科动物、山羊、哺乳动物农场动物、哺乳动物运动动物和哺乳动物宠物。适合于各种实施方案的受试者可以是被怀疑患有疾病、已被诊断为患有疾病或处于发展疾病的风险中的任何动物,包括人,所述疾病可以通过施用如本文所述的一种或多种示例性化合物来改善、治疗或预防。

[0019] 如本文所用,术语“疗法”或“治疗”是指将本发明的化合物施用于受试者,例如哺乳动物或人类受试者,其目的不仅包括完全治愈,还包括预防、改善或缓解与病理状况有关的疾病或症状。可以通过监测患者的症状、血液中的生物标志物、损害或实体肿瘤的大小、转移的数量和/或患者的存活时长来评估治疗效果。

[0020] 如本文所用,术语向受试者“施用”或“给药”本文所述的治疗剂、组合物或化合物包括向受试者引入或递送组合物或化合物以发挥其预期功能的任何途径。施用可以通过任何合适的途径进行,包括口服、鼻内、胃肠外(静脉内、肌肉内、腹膜内或皮下)、经直肠或局部。施用包括自我施用和由另一个人施用。

[0021] “剂”意指任何小分子化合物、抗体、核酸或多肽或其片段。

[0022] “磷酸二酯酶3A”和“PDE3A”意指W02015055898中定义的蛋白质或其片段。

[0023] “Schlafen 12”和“SLFN12”意指EP3411037中定义的蛋白质或其片段。

[0024] 如本文所用,术语“调节剂”是指与多肽结合并改变多肽的生物功能或活性的任何剂。调节剂包括但不限于降低或消除多肽的生物功能或活性的剂。调节剂还包括但不限于增加或减少多肽与另一剂的结合的剂。例如,调节剂可以促进多肽与另一多肽的结合。

[0025] 本发明基于这样的发现,即磷酸二酯酶3A调节剂与某些蛋白质抑制剂对癌细胞具有协同效应。本公开提供了这些活性物质的新组合。

[0026] 因此,本发明提供了一种组合物,其包含磷酸二酯酶3A调节剂化合物与抑制剂化合物的协同组合,所述组合物在治疗癌症中使用。抑制剂选自由以下组成的组:Bcl-2家族蛋白抑制剂、雷帕霉素的哺乳动物靶标(mTOR)抑制剂、组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂、DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)抑制剂、整合素 α 2蛋白抑制剂、NEDD8激活酶(NAE)抑制剂和p21-激活的激酶4(PAK4)抑制剂。

[0027] 在一些实施方案中,所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物选自由以下组成的组阿那格雷(目录号:68475-42-3)、3-羟基阿那格雷(目录号:733043-41-9)、乌檀费碱(目录号:57103-51-2)、BRD9500(目录号:1630760-75-6)、DNMDP(目录号:328104-79-6)、(R)-DNMDP、BAY2666605(目录号:2275774-60-0)及其药学上可接受的盐。从EP3411037已知其他磷酸二酯酶3A调节剂,特别是EP3411037的化合物1-6。优选地,所述磷酸二酯酶3A调节化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐。不希望受理论的束缚,本发明的优选磷酸二酯酶3A调节剂诱导癌细胞中PDE3A-Schlafen 12相互作用的形成(Garvie GW等人2021;Lewis TA等人,2019)。

[0028] 在一些实施方案中,协同组合包含Bcl-2家族蛋白抑制剂。Bcl-2家族蛋白包括促进或抑制细胞凋亡以及通过控制线粒体外膜通透来控制细胞凋亡的蛋白质。优选地,所述Bcl-2家族蛋白选自由以下组成的组:A-1155463(目录号:1235034-55-5)、ABT-263(那维妥拉,目录号:923564-51-6)、A-1331852(目录号:1430844-80-6)、AT-101(目录号:90141-22-3)、WEHI-539(目录号:1431866-33-9)、藤黄酸(目录号:2752-65-0)、A-1210477(目录号:1668553-26-1)、(S)-乙酸棉子酚(目录号:1189561-66-7)、阿朴棉子酚(目录号:475-56-9)和ABT-737(目录号:852808-04-9)。因此,在一些协同组合中,所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、或BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且Bcl-2家族蛋白抑制剂是A-1155463、ABT-263(那维妥拉)或其药学上可接受的盐。

[0029] 在其他实施方案中,协同组合包含雷帕霉素的哺乳动物靶标(mTOR)抑制剂。mTOR

还称为雷帕霉素的机制靶标或FK506结合蛋白12-雷帕霉素相关蛋白1。mTOR起到丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的作用,其调控细胞生长、细胞增殖、细胞运动、细胞存活、蛋白质合成、自体吞噬和转录。优选地,mTOR抑制剂选自自由以下组成的组:雷帕霉素(目录号:53123-88-9)、西罗莫司、依维莫司(目录号:159351-69-6)、地磷莫司(目录号:572924-54-0)、替西罗莫司(目录号:162635-04-3)、CC-115(目录号:1228013-15-7)、Torin 1(目录号:1222998-36-8)和Torin 2(目录号:1223001-51-1)。因此,在一些协同组合中,所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且mTOR抑制剂是地磷莫司、替西罗莫司、西罗莫司、依维莫司或其药学上可接受的盐。

[0030] 在其他实施方案中,协同组合中包含组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂。HDAC是一类从组蛋白上的氨基酸 ϵ -N-乙酰基赖氨酸中去除乙酰基的酶。优选,HDAC抑制剂选自自由以下组成的组:伏立诺他(目录号:149647-78-9)、恩替司他(目录号:209783-80-2)、帕比司他(目录号:404950-80-7)、莫替诺司他(目录号:726169-73-9)、贝利司他(目录号:414864-00-9)、瑞考司他(ricolinostat)(目录号:1316214-52-4)、罗米地辛(目录号:128517-07-7)、吉维诺司他(目录号:497833-27-9)、达诺司他(目录号:404951-53-7)、奎诺司他(目录号:875320-29-9)、普诺司他(目录号:929016-96-6)、瑞米诺司他(resminostat)(目录号:864814-88-0)、屈昔司他(droxinostat)(目录号:99873-43-5)、阿贝司他(目录号:783355-60-2)、RGFP966(目录号:1396841-57-8)、AR-42(目录号:935881-37-1)、PCI34051(目录号:950762-95-5)、曲古抑菌素A(目录号:58880-19-6)、SB939(目录号:929016-96-6)、CI994(目录号:112522-64-2)、CUDC-907(目录号:1339928-25-4)、tubacin(目录号:537049-40-4)、西达本胺(目录号:743420-02-2)、RG2833(目录号:1215493-56-3)、M344(目录号:251456-60-7)、MC1568(目录号:852475-26-4)、tubastatin A(目录号:1252003-15-8)、scriptaid(目录号:287383-59-9)、丙戊酸(目录号:99-66-1)、苯基丁酸钠(目录号:1716-12-7)、他喹莫德(254964-60-8)、kevetrin(目录号:500863-50-3)、HPOB(目录号:1429651-50-2)、4SC-202(目录号:1186222-89-8)、TMP269(目录号:1314890-29-3)、CAY10603(目录号:1045792-66-2)、BRD73954(目录号:1440209-96-0)、BG45(目录号:926259-99-6)、LMK-235(目录号:1418033-25-6)、nexturastat A(目录号:1403783-31-2)、CG200745(目录号:936221-33-9)、CHR2845(目录号:914382-60-8)和CHR3996(目录号:1256448-47-1)。因此,在一些协同组合中,所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且HDAC抑制剂是奎诺司他或其药学上可接受的盐。

[0031] 在一些实施方案中,协同组合中包含DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)抑制剂。优选地,DNA-PK抑制剂选自以下组:NU7441(目录号:503468-95-9)、NU7026(目录号:154447-35-5)、KU-0060648(目录号:881375-00-4)、LTURM34(目录号:1879887-96-3)、CC-115(目录号:1228013-15-7)、PIK-90(目录号:677338-12-4)、渥曼青霉素(目录号:19545-26-7)、LY3023414(目录号:1386874-06-1)、M3814(目录号:1637542-33-6)、SF2523(目录号:1174428-47-7)和化合物401(目录号:168425-64-7)。因此,在一些协同组合中,所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐,并且DNA-PK抑制剂是CC-115或其药学上可接受的盐。

[0032] 一些协同组合包含整合素 α 2蛋白抑制剂。优选地,整合素 α 2蛋白抑制剂选自自由以

下组成的组但不限于此：E7820(目录号：289483-69-8)、BTT-3033(目录号：1259028-99-3)、BTT-3014、BTT-3016和伐利组单抗(Vatelizumab)(目录号1238217-55-4)。因此，在一些实施方案中，所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐，并且整合素 $\alpha 2$ 蛋白抑制剂是E7820或其药学上可接受的盐。

[0033] 其他协同组合包含NEDD8激活酶(NAE)抑制剂。优选地，所述NAE抑制剂是培迪司他(MLN4924，目录号：905579-51-3)。因此，在一些实施方案中，所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐，并且NAE抑制剂是培迪司他(MLN4924)或其药学上可接受的盐。

[0034] 在一些实施方案中，协同组合包含PAK4抑制剂。优选地，PAK4抑制剂选自由以下组成的组：KPT-9274(目录号：1643913-93-2)、PF-03758309(目录号：898044-15-0)、IPA-3(目录号：42521-82-4)、FRAX1Q36、LCH-7749944(目录号：796888-12-5)、glaucambinone、KY-04031(目录号：468056-29-3)、KY-04045(目录号：1223284-75-0)、Inka1(Genbank ID：389119)、GL-1196(目录号：591242-70-5)和GNE-2861(目录号：1394121-05-1)。因此，在一些协同组合中，所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷、3-羟基阿那格雷、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐，并且PAK4抑制剂是PF-03758309或其药学上可接受的盐。

[0035] 本发明还涉及向受试者施用所述协同组合。根据本发明的一些实施方案，将第一剂量的磷酸二酯酶3A调节剂化合物和第一剂量的抑制剂化合物同时施用于受试者。在其他实施方案中，将第一剂量的磷酸二酯酶3A调节剂化合物和第一剂量的抑制剂化合物依序施用，优选在24小时内。在一些实施方案中，磷酸二酯酶3A调节剂化合物和抑制剂化合物被配制在单个药物组合物中。在其他实施方案中，磷酸二酯酶3A调节剂和抑制剂化合物被配制成分开的药物组合物。

[0036] 所述组合物可以含有药学上可接受的缓冲液、载剂、防腐剂或佐剂。短语“药学上可接受的”在本文中是指当施用于患者时，生理上可耐受并且通常不产生过敏或类似反应的组合物。此类组合物可以通过以任何合适的剂型将具有所需纯度的活性剂与可选的生理学上可接受的载剂、防腐剂、赋形剂或稳定剂(Remington's Pharmaceutical Sciences, 第22版, Allen, Loyd V., Jr编, (2012))混合来制备以用于储存。所述药物组合物还可以被配制成持续释放、延迟释放或定时释放的剂型，或者所述药物组合物是持续释放和立即释放剂型的共混物。

[0037] 在一些实施方案中，所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是阿那格雷或其药学上可接受的盐。优选地，所述药学上可接受的盐是盐酸阿那格雷。在其他实施方案中，所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是3-羟基阿那格雷或其药学上可接受的盐。在另外的实施方案中，所述磷酸二酯酶3A调节剂化合物是DNMDP、BRD9500、BAY2666605或其药学上可接受的盐。

[0038] 本发明还涉及用于治疗受试者的癌症的方法。所述方法可以用于治疗任何癌症或肿瘤，包括恶性肿瘤和良性肿瘤两者，原发性肿瘤和转移瘤两者都可以是所述方法的靶标。在一些实施方案中，治疗的癌症选自由以下组成的组：软组织肉瘤诸如腺泡状软组织肉瘤、纤维肉瘤、粘液纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、胃肠道间质瘤(GIST)、脂肉瘤、平滑肌肉瘤、恶性外周神经鞘瘤、横纹肌肉瘤、未分化且未分类的肉瘤、尤文肉瘤和滑膜肉瘤。在一些

实施方案中,治疗的癌症选自以下组成的组:许旺氏细胞瘤、胶质母细胞瘤、成神经管细胞瘤和脑膜瘤。优选地,治疗的癌症是胃肠道间质瘤(GIST)或脂肪肉瘤。

[0039] 在其他实施方案中,治疗的癌症选自以下组成的组:脑癌、口腔癌、头颈癌(包括鼻咽区)癌、甲状腺癌、胃肠道癌(包括食道癌或胃癌)、胰腺癌、肝细胞癌或结直肠癌以及肺癌和支气管癌、和卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、皮肤间皮瘤、黑色素瘤、默克尔细胞癌、胆囊癌或多发性骨髓瘤。

[0040] 在其他实施方案中,可以预先选择对PDE3A调节剂有应答的治疗的癌症。可以通过检测相对于参考的至少PDE3A和Schlafen 12(SLFN12)多肽生物标志物的表达来进行预先选择。优选地,选择为对PDE3A调节剂有应答的所述癌症是骨癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、子宫内膜癌、GIST、头颈癌、造血癌、肾癌、脂肪肉瘤、平滑肌肉瘤、肝癌、肺癌、淋巴瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、软组织肉瘤、甲状腺癌或泌尿道癌。

[0041] 在另外的实施方案中,本公开还涉及一种治疗需要此类治疗的受试者的癌症的方法,其包括向受试者施用有效量的(a)磷酸二酯酶3A调节剂化合物或其药学上可接受的盐和(b)一种或多种选自以下组成的组中的抑制剂:Bcl-2家族蛋白抑制剂、mTOR抑制剂、组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂、DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)抑制剂、整合素 α 2蛋白抑制剂、NEDD8激活酶(NAE)抑制剂、PAK4抑制剂及其药学上可接受的盐。在一个优选的实施方案中,将第一剂量的(a)和第一剂量的(b)同时施用于受试者。在另一优选的实施方案中,将第一剂量的(a)和第一剂量的(b)在24小时、2-5天或一周内依序施用。

[0042] 本文使用的出版物和其他材料阐明了本发明的背景,特别是提供了关于其实施的另外细节,通过引用并入本文。在以下实验部分进一步描述本发明,它们并不意图限制本发明的范围。

[0043] 应当理解,所公开的本发明的实施方案不限于本文所公开的特定结构、过程步骤或材料,而是扩展到相关领域的普通技术人员所认识到的其等同形式。还应当理解,本文采用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,而不意图进行限制。

[0044] 整个说明书中对“一个实施方案”或“一种实施方案”的引用意指结合实施方案描述的特定特征、结构或特性被包括在本发明的至少一个实施方案中。因此,在整个说明书中不同地方出现的短语“在一个实施方案中”或“在一种实施方案中”不一定全部是指同一个实施方案。

[0045] 如本文所用,为了方便起见,可以在公共列表中呈现多个项目、结构元素、组成元素和/或材料。然而,这些列表应被理解为列表中的每个成员都被单独标识为单独且独特的成员。因此,在没有相反指示的情况下,不应仅基于成员出现于共同组中而将此类列表中的个别成员理解为同一列表中任何其他成员的实际等同形式。此外,本文可以参考本发明的各种实施方案和实例以及其各种组成部分的替代方案。应当理解,不应将此类实施方案、实例和替代方案解释为彼此的实际等同形式,而是应解释为本发明的单独且自主的表示。

[0046] 尽管前述实例在一种或多种特定应用中说明了本发明的原理,但是对于本领域的普通技术人员来说明显的是,可以在不运用创新能力的情况下,并且在不脱离本发明的原理和概念的情况下,对形式、使用和具体实施的细节进行多种修改。因此,除了下文所示的权利要求之外,不旨在对本发明进行限制。

[0047] 此文件中使用了动词“包含”和“包括”作为开放式限制,其既不排除也不要求存在

未记载的特征。除非另外明确说明,否则从属权利要求中所述的特征可以相互自由组合。此外,应当理解,在此文件通篇使用“一个”或“一种”(即单数形式)不排除复数。

[0048] 实验部分

[0049] 材料和方法

[0050] 除非另外说明,否则在本文中以实验方式测量或确定的性质均在室温下测量或确定。除非另外指出,否则室温为25℃。除非另外说明,否则在本文中以实验方式测量或确定的性质均在大气压力下测量或确定。

[0051] 细胞系。将PDE3A阳性(GIST882、SA4和GOT3)和PDE3A阴性细胞系(93TT449、94T778、LPS141、MLS17656-92、MLS402-91和SW872)在37℃、潮湿的5% CO₂气氛下,在具有5%、10%或20%胎牛血清(FBS, gibco)、100U/mL青霉素、100U/mL链霉素和0.03mg/mL L-谷氨酰胺(Pen Strep Glut, Gibco, 10378-016)的RPMI培养基1640(Gibco)中培养。

[0052] 高通量药物敏感性及抗性测试。在9种细胞系(GIST882、SA4、GOT3、93TT449、94T778、LPS141、MLS17656-92、MLS402-91和SW872)中研究了癌细胞系对528中化合物的敏感性和抗性。此外,在PDE3A低表达细胞系SA4和GOT3中连同盐酸阿那格雷(100nM)治疗一起,并且在所有PDE3A阳性细胞系GIST882、SA4和GOT3中连同BAY2666605(40nM)一起研究了相同化合物。将化合物溶解于100%二甲基亚砜或水中,并且在覆盖10000倍浓度范围的10倍稀释液中铺板在平坦的透明底384孔微板中,如之前详细描述(Pulkka OP等人2019)。72小时后,使用CellTiter-Glo细胞活力测定(Promega Inc.)和PHERAstar FS读板机(BMG Labtech)测量细胞活力。将数据标准化为阴性(仅0.01%二甲基亚砜)和阳性(100μmol/L苄索氯铵)对照。

[0053] 通过使用Marquardt-Levenberg算法和Breeze分析平台估计了四参数逻辑剂量-应答曲线。使用药物敏感性评分(DSS)测量对测试化合物的药物应答。如下鉴定在研究的细胞系中共同的药物协同搭配物:从单细胞系中阿那格雷-药物组合的DSS值中减去单一剂的DSS值。然后计算获得的DSS值(DSS组合-DSS阿那格雷-药物组合)的平均药物敏感性评分(aDSS)。认为aDSS值>3.0指示在细胞系中观察到药物协同作用。使用BAY2666605作为PDE3A调节剂重复分析。

[0054] 在GIST882、SA4和GOT3细胞系中更详细地研究了在分析中显示协同作用的十二种药物。如上所述,以阿那格雷和12种选定的药物进行药物组合测试,但是选定的药物使用覆盖七种不同浓度的药物浓度矩阵,每种组合有3个重复样品,并进行两次重复测定。使用R包SynergyFinder 2.0(Ianevski A等人2020)评估协同作用。所述工具使用四种主要参考模型实现协同作用评分:HSA、Loewe、Bliss和ZIP模型。药物组合效果的程度可以很容易地经由剂量矩阵和ZIP协同作用评分的协同作用景观图(synergy landscape map)来可视化。

[0055] 蛋白质印迹。分别通过使用多克隆兔抗PDE3A抗体(稀释度1:1000;HPA014492, Sigma-Aldrich)和多克隆兔抗SLFN12(稀释度1:500, ab234418, Abcam),使用蛋白质印迹检测细胞系中的PDE3A和Schlafen 12表达。用冷PBS洗涤细胞两次,之后在含有HALT™蛋白酶抑制剂混合物(Thermo, 78429)和HALT™磷酸酶抑制剂混合物(Thermo, 78420)的M-PER™哺乳动物蛋白质提取试剂(Thermo Scientific™, 78501)中在冰上进行裂解。使用凝胶电泳分离6至10μg蛋白质裂解物并将其印迹到PVDF膜上,然后用抗体染色。根据制造商的说明,通过SuperSignal West Pico PLUS化学发光底物(Thermo Fisher Scientific Inc.)检测免

疫染色。

[0056] 细胞活力测定。将细胞铺板在96孔白色/透明组织培养处理板(FALCON, 353377)上, 24小时后用药物进行培养基更换。按照制造商的说明, 以CellTiter-**Glo**®发光细胞活力测定(G7572, Promega)进行处理孵育之后72小时, 评估不同处理中细胞的活力。将试剂和细胞稳定至室温。添加100 μ l/孔试剂, 在室温下摇动2分钟, 并且在室温下孵育10min, 之后通过使用Hidex Sence微板读数器(Hidex oy)测量发光。使用生长培养基从结果中排除背景信号。

[0057] 免疫组织化学。使细胞生长至70%汇合度, 脱离, 计数(约800万个细胞/管), 用PBS(Corning, REF 21-040-CV)洗涤两次, 之后将细胞分到两个Eppendorf管中并离心(10000rpm/约9600g)以形成致密的细胞沉淀物。去除上清液, 并且将细胞沉淀物重新悬浮于60 μ l人血浆(+4 $^{\circ}$ C)中。然后, 将60 μ l 100NIH-U/ml凝血酶(Merck, REF 1.12374.0001)在+4 $^{\circ}$ C下添加到细胞悬浮液中, 使细胞凝结。接下来, 添加1ml 5%福尔马林, 以将凝块从Eppendorf管中脱离, 然后将凝块转移到更大的含有约6ml 5%福尔马林的管中。将细胞凝块在室温下用5%福尔马林固定2小时。固定后, 使细胞凝块经受递增的酒精/二甲苯系列以使样品脱水。然后将细胞凝块浸入石蜡过夜, 形成FFPE样组织学样品。

[0058] 将组织载玻片去石蜡, 之后进行免疫组织化学染色。将抗PDE3A抗体(稀释度1:100; HPA014492, Sigma-Aldrich)稀释于Draco抗体稀释剂(AD500, WellMed)中, 在室温下在载玻片上孵育1小时。使用1步检测系统、兔HRP(R500HRP, WellMed)和ImmPact DAB底物试剂盒(SK-4105, 载体)检测一抗结合。载玻片用Mayer苏木精进行复染。基于染色强度, 将细胞系样品的免疫染色分级为阴性、低、中等或强。

[0059] 结果

[0060] 在八种细胞系中研究了PDE3A、SLFN12和肌动蛋白的表达, 以确认这些蛋白质的存在(图1A)。在这八种细胞系中对528种化合物进行高通量药物筛选, 鉴定了两种细胞系, SA4(IC₅₀=73.5nM; DSS=15.4)和GOT3(IC₅₀=84.3nM; DSS=9.2), 它们对阿那格雷处理高度敏感(图1C)。免疫印迹结果验证了两种细胞系均表达PDE3A和SLFN12(图1B)。然而, SA4和GOT3细胞系中的PDE3A表达显著低于GIST882细胞系。这三种细胞系用于以下实验。

[0061] 接下来, 我们通过以阿那格雷或BAY2666605重复对所有化合物的高通量筛选, 研究了在阿那格雷敏感性细胞中哪些药物与阿那格雷和BAY2666605具有协同作用。在GOT3细胞系和SA4细胞系中发现44种化合物与阿那格雷具有协同作用(表1)。在GIST882、GOT3和SA4细胞系中发现38种化合物与BAY2666605具有协同作用(表2)。发现了以下协同化合物: Bcl家族抑制剂那维妥拉、A-1155463、A-1331852、WEHI-539、维奈妥拉(venetoclax); PAK4抑制剂PF-03758309; PI3K/AKT/mTOR通路抑制剂色雷利塞(serabelisib)、GDC-0084、CC-223、CC-115(还是DNA依赖性蛋白激酶抑制剂)、AZD8055、CUDC-907(还是HDAC家族抑制剂)、替西罗莫司、依维莫司、西罗莫司、地磷莫司、优普色替(uprosertib)、达托利司(dactolisib)、可泮利塞(copanlisib)、奥帕利司(omipalisib)、LY3023414(还是DNA依赖性蛋白激酶抑制剂)、NVP-BGT226; HDAC家族抑制剂奎诺司他、普诺司他、AR-42、帕比司他、贝利司他、吉维诺司他、罗米地辛、伏立诺他、瑞米诺司他、阿贝司他、罗西司他(rocilinostat)、tubastatin A; NAE抑制剂培迪司他; 整合素 α 2抑制剂E7820; MELK抑制剂OTS163; p53-MDM2通路抑制剂SAR405853、AMG-232、依达奴林(idasanutlin); PIM激酶抑制

剂PIM-447、ADZ1208;XP01/CRM1抑制剂eltanexor、塞利尼索(Selinexor);氨基肽酶抑制剂托舍多特(tosedostat);Aurora B抑制剂AZD1152;IGF1R抑制剂BMS-754807;FAK抑制剂VS-4718;ATM抑制剂AZD0156;CDK2抑制剂米尔西尼(milciclib);CHEK1抑制剂MK-8776;CENP-E抑制剂GSK923295;酪蛋白激酶抑制剂PF-670426;蛋白体抑制剂硼替佐米;DOTL1抑制剂匹诺司他(pinometostat);以及化合物米唑妥林、替莫唑胺(temozolomide)、蓓萨罗丁、ruboxitaurin和ONX-0914。

[0062] 表1. 在G0T3和SA4细胞系中与阿那格雷具有协同效应的化合物。DSS=药物敏感性评分。aDSS=药物敏感性评分的平均值。如果aDSS值高于3.0,则认为组合显示出协同作用。

药物	SA4 细胞系:	GOT3 细胞系:	平均值 DSS (aDSS)
	DSS(combo (阿那格雷))-DSS(药物)	DSS(combo (阿那格雷))-DSS(药物)	
A-1155463	22.2	7.5	14.85
E7820	18.2	7.5	12.85
PF-03758309	20.1	3.7	11.9
那维妥拉	17.4	2.6	10
A-1331852	14.9	3.6	9.25
奎诺司他	15.8	1.9	8.85
地磷莫司	13.2	4.4	8.8
培迪司他	13.8	2.7	8.25
普诺司他	14.8	-1.4	6.7
瑞米诺司他	13.5	-0.1	6.7
[0063] 西罗莫司	9.5	3.4	6.45
AR-42	12.9	-0.8	6.05
帕比司他	11.7	-0.5	5.6
依维莫司	8.1	3	5.55
贝利司他	10	1.1	5.55
OTS167	10.5	0.6	5.55
替西罗莫司	9.8	1.1	5.45
CUDC-907	10.8	0	5.4
PIM-447	7.9	2.5	5.2
CC-115	9.5	0.8	5.15
阿贝司他	10.9	-1.1	4.9
吉维诺司他	10	-0.7	4.65
AZD1152-HQPA	5.9	3.4	4.65
VS-4718	5.3	3.8	4.55

	WEHI-539	6.8	1.8	4.3
	SAR405838	7.8	0.1	3.95
	色雷利塞	5.8	1.9	3.85
	罗米地辛	6.3	1.4	3.85
	托舍多特	5.1	2.5	3.8
	依达奴林	8.5	-1	3.75
	米尔西尼	3.9	3.6	3.75
	AZD8055	5.9	1.5	3.7
	米喹妥林	5.1	2.3	3.7
[0064]	AZD1208	7.1	0.3	3.7
	PF-670462	7.1	0.2	3.65
	优普色替	5.4	1.8	3.6
	GSK923295	3.9	2.8	3.35
	鲁伯斯塔	4.8	1.8	3.3
	伏立诺他	7.2	-0.7	3.25
	MK-8776	4.8	1.6	3.2
	CC-223	5.6	0.8	3.2
	维奈妥拉	6.2	0	3.1
	AMG-232	6.2	0	3.1
	GDC-0084	3.9	2.3	3.1

[0065] 表2. 在GIST882、GOT3和SA4细胞系中与BAY2666605具有协同效应的化合物。DSS= 药物敏感性评分。aDSS= 药物敏感性评分的平均值。如果aDSS值高于3.0, 则认为组合显示出协同作用。

[0066]	GIST882 细胞	SA4 细胞系:	GOT3 细胞系:	平均值 DSS (aDSS)
	系: DSS(combo (BAY2666605))- DSS(药物)	DSS(combo (BAY2666605))- DSS(药物)	DSS(combo (BAY2666605))- DSS(药物)	
药物				

[0067]	那维妥拉	20.7	28.5	1.7	17.0
	托舍多特	21	14.6	6.7	14.1
	维奈妥拉	12.2	29	0.2	13.8
	奎诺司他	8.7	16.2	8	11.0
	A-1331852	15.1	12.6	2.8	10.2
	吉维诺司他	7.3	18.5	3	9.6
	A-1155463	23	-3.6	6.9	8.8
	硼替佐米	1.7	11.2	10.4	7.8
	培迪司他	9.3	7	6.2	7.5
	帕比司他	6.1	6.7	8.2	7.0
	WEHI-539	16.1	-1.1	5	6.7
	依维莫司	3	12.4	4.1	6.5
	伏立诺他	4.2	13.7	1.6	6.5
	普诺司他	5.7	12	1.5	6.4
	依达奴林	0	19.6	-0.5	6.4
	阿贝司他	4.2	12.3	2.1	6.2
	瑞米诺司他	3.1	11.7	3.1	6.0
	贝利司他	-0.3	15.8	0.8	5.4
	达托利司	3.1	4.6	8.2	5.3
	OTS167	1.9	10.5	3.2	5.2
	NVP-BGT226	6.2	8.1	0.1	4.8
	替西罗莫司	7.4	5.3	1.2	4.6
	ONX-0914	8.4	4.6	0.9	4.6
	匹诺司他	3.9	9.8	0	4.6
	可泮利塞	6.8	8.1	-1.4	4.5
	奥帕利司	7.4	6.5	-0.4	4.5
	西罗莫司	3.4	7.9	2	4.4
	Tubastatin A	-0.3	10.7	2.8	4.4

[0068]	LY3023414	2.4	9.3	1.5	4.4
	BMS-754807	0.7	7.5	4.4	4.2
	塞利尼索	7.9	5.4	-0.7	4.2
	替莫唑胺	5.4	5.2	1.9	4.2
	地磷莫司	0.3	13.7	-1.9	4.0
	蓓萨罗丁	6.3	6.4	-1.1	3.9
	PF-03758309	0.5	13.4	-3.6	3.4
	罗西司他	1.4	7.5	0.9	3.3
	Eltanexor	5.4	3.1	0.8	3.1
	AZD0156	7.5	3	-1.2	3.1

[0069] 通过使用覆盖七种不同的阿那格雷浓度的药物浓度矩阵和感兴趣的剂,在GOT3、SA4和GIST882细胞系中进一步研究了在分析中显示与阿那格雷和/或BAY2666605具有协同作用的十二种化合物。在所有三种细胞系中验证了所有研究药物的协同作用结果(表3)。

[0070] 表3.GIST882、SA4和GOT3细胞系中的平均ZIP协同作用评分。ZIP=零相互作用效力。

	化合物	GIST882	SA4	GOT3
[0071]	A1155463	15.5	11.1	12.7
	A1331852	9.6	11.1	11.6
	那维妥拉	11.7	8	2.4
	地磷莫司	3.9	6.2	1.8
	依维莫司	5	5.5	2.3
	西罗莫司	1.1	7.9	0.4
	替西罗莫司	2.8	3.6	0.4
	CC-115	3.1	4.1	1.6
	PF-03758309	11.5	16.8	8.5
	E7820	3	14.8	1.6
[0072]	奎诺司他	6.5	8.7	6.9
	培迪司他	4.6	7.8	12.7

[0073] 当通过药物浓度矩阵和SynergyFinder 2.0分析时,Bcl家族抑制剂那维妥拉、A-1155463和A-1331852显示,仅当它们与阿那格雷一起施用,在细胞系中有显著的功效。当

用那维妥拉或A-1155463并且用阿那格雷(图3和4)或用3-羟基-阿那格雷(图5和6)处理细胞时,细胞活力测定验证了所述结果。然而,使用PDE3A抑制剂西洛他唑未实现在PDE3A调节剂阿那格雷与A-1155463之间观察到的协同作用,指示需要形成PDE3A-SLFN12相互作用以诱导对细胞的PDE3A相关抗癌效果(图2)。

[0074] 最后,我们研究了观察到的协同作用是否特异于阿那格雷,或其他PDE3A调节剂是否具有相同的效果。A1155463和那维妥拉均在细胞系中显示与DNMDP的协同作用,指示发现的协同作用不特异于阿那格雷(图7-8)。基于这些结果,其他诱导PDE3A-Schlafen 12相互作用的形成的PDE3A特异性剂可以用于癌症组合疗法。

[0075] 结论

[0076] 我们发现了在PDE3A特异性剂与Bcl家族、PI3K/AKT/mTOR、DNA依赖性蛋白激酶、整合素 $\alpha 2$ 、HDAC家族、NEDD8激活酶和PAK4抑制剂之间的协同作用。上述PDE3A特异性剂和抑制剂的组合疗法提供了治疗PDE3A阳性癌症的新疗法。

[0077] 引用列表

[0078] 专利文献

[0079] EP3411037

[0080] W02015055898

[0081] 非专利文献

[0082] An R,Liu J,He J,Wang F,Zhang Q,Yu Q.PDE3A inhibitor anagrelide activates death signaling pathway genes and synergizes with cell death-inducing cytokines to selectively inhibit cancer cell growth.Am J Cancer Res 2019,9;1905-1921.

[0083] de Waal L,Lewis TA,Rees MG,Tsherniak A,Wu X,Choi PS,Gechijian L,Hartigan C,Faloon PW,Hickey MJ,Tolliday N,Carr SA,Clemons PA,Munoz B,Wagner BK,Shamji AF,Koehler AN,Schenone M,Burgin AB,Schreiber SL,Greulich H,Meyerson M.Identification of cancer-cytotoxic modulators of PDE3A by predictive chemogenomics.Nat Chem Biol 2016,12;102-8.

[0084] Garvie CW,Wu X,Papanastasiou M,Lee S,Fuller J,Schnitzler GR,Horner SW,Baker A,Zhang T,Mullahoo JP,Westlake L,Hoyt SH,Toetzel M,Ranaghan MJ,de Waal L,McGaunn J,Kaplan B,Piccioni F,Yang X,Lange M,Tersteegen A,Raymond D,Lewis TA,Carr SA,Cherniack AD,Lemke CT,Meyerson M,Greulich H.Structure of PDE3A-SLFN12 complex reveals requirements for activation of SLFN12 RNase.Nat Commun 2021,12;4375.

[0085] Ianevski A,Giri AK,Aittokallio T.SynergyFinder 2.0:visual analytics of multi-drug combination synergies.Nucleic Acids Res 2020,48(W1);W488-W493.

[0086] Lewis TA,de Waal L,Wu X,Youngsaye W,Wengner A,Kopitz C,Lange M,Gradl S,Ellermann M,Lienau P,Schreiber SL,Greulich H,and Meyerson M,Optimization of PDE3A Modulators for SLFN12-Dependent Cancer Cell Killing,ACS Med.Chem.Lett.2019,10,1537-1542.

[0087] Nazir M,Senkowski W,Nyberg F,Blom K,Edqvist PH,Jarvis M,Andersson C,

Gustafsson MG, Nygren P, Larsson R, **Fryknäs** M. Targeting tumor cells based on Phosphodiesterase 3A expression. *Exp Cell Res* 2017, 36; 308-315.

[0088] Pulkka OP, Gebreyohannes YK, Wozniak A, Mpindi JP, Tynninen O, Icaý K, Cervera A, Keskitalo S, **Murumägi** A, Kuleskiy E, Laaksonen M, Wennerberg K, Varjosalo M, Laakkonen P, Lehtonen R, Hautaniemi S, Kallioniemi O, **Schöffski** P, Sihto H, Joensuu H. Anagrelide for Gastrointestinal Stromal Tumor. *Clin Cancer Res* 2019, 25; 1676-1687.

[0089] Wu X, Schnitzler GR, Gao GF, Diamond B, Baker AR, Kaplan B, Williamson K, Westlake L, Lorrey S, Lewis TA, Garvie CW, Lange M, Hayat S, Seidel H, Doench J, Cherniack AD, Kopitz C, Meyerson M, Greulich H. Mechanistic insights into cancer cell killing through interaction of phosphodiesterase 3A and schlafen family member 12. *J Biol Chem* 2020, 295; 3431-3446.

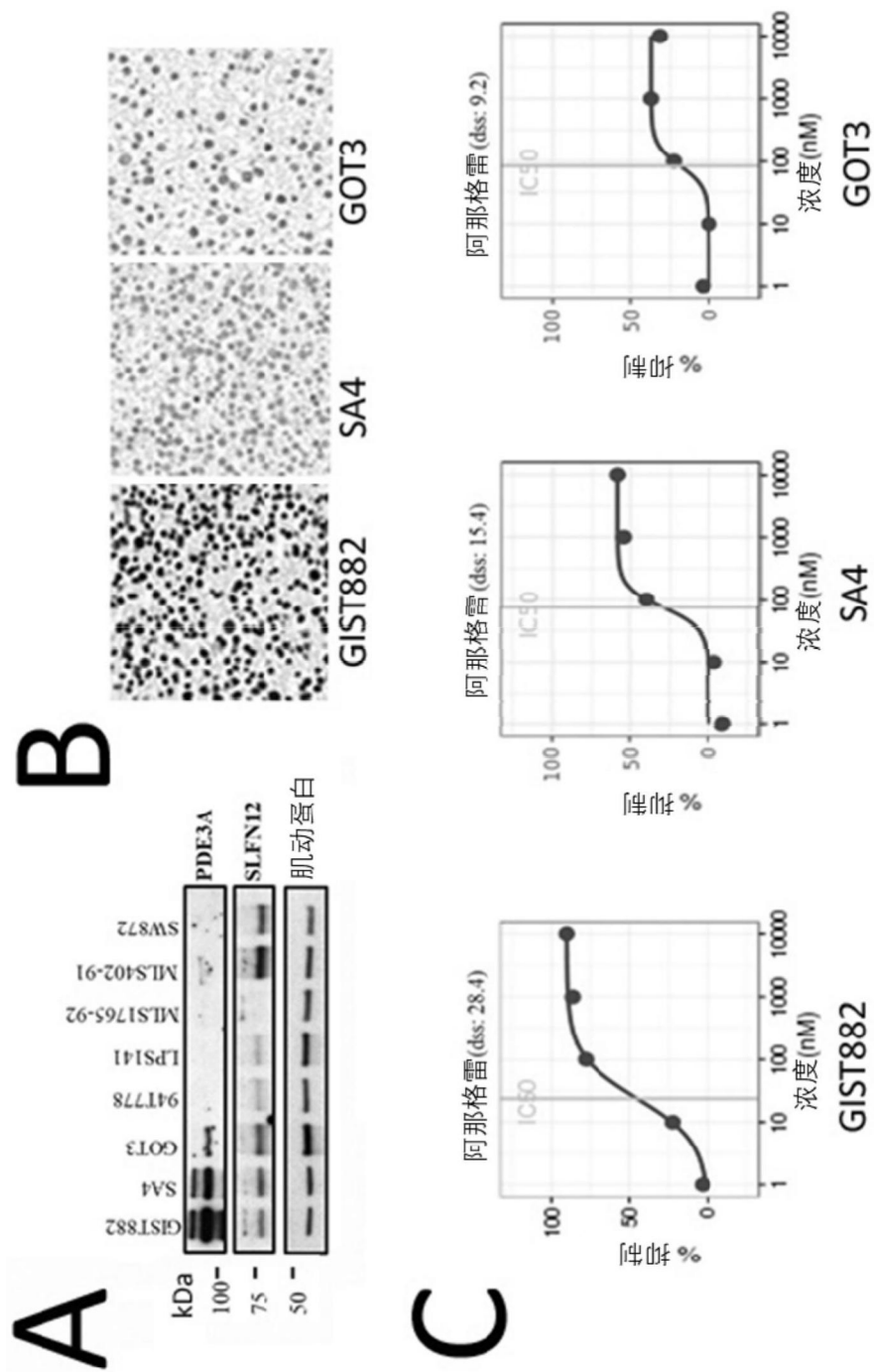


图1A-1C

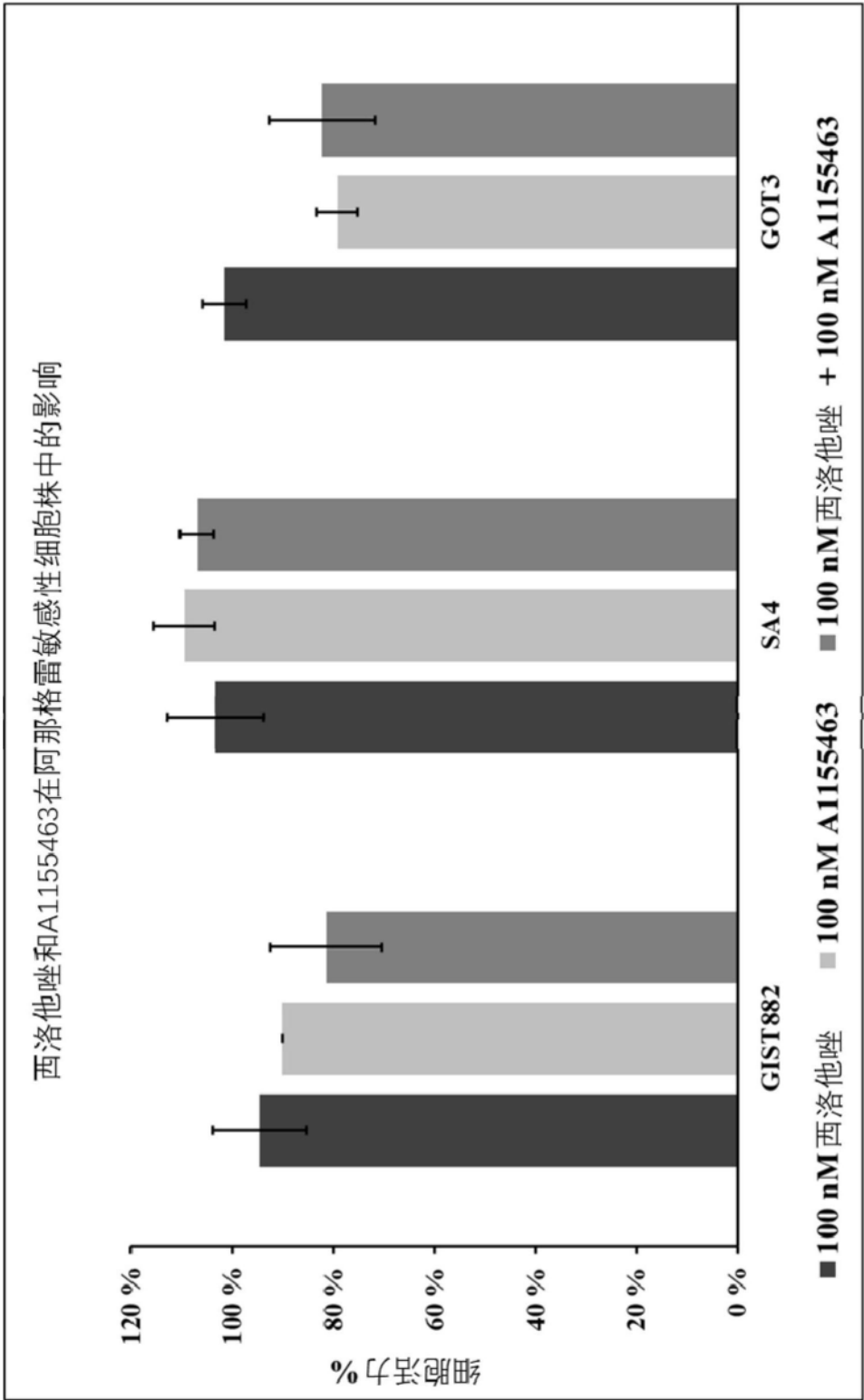


图2

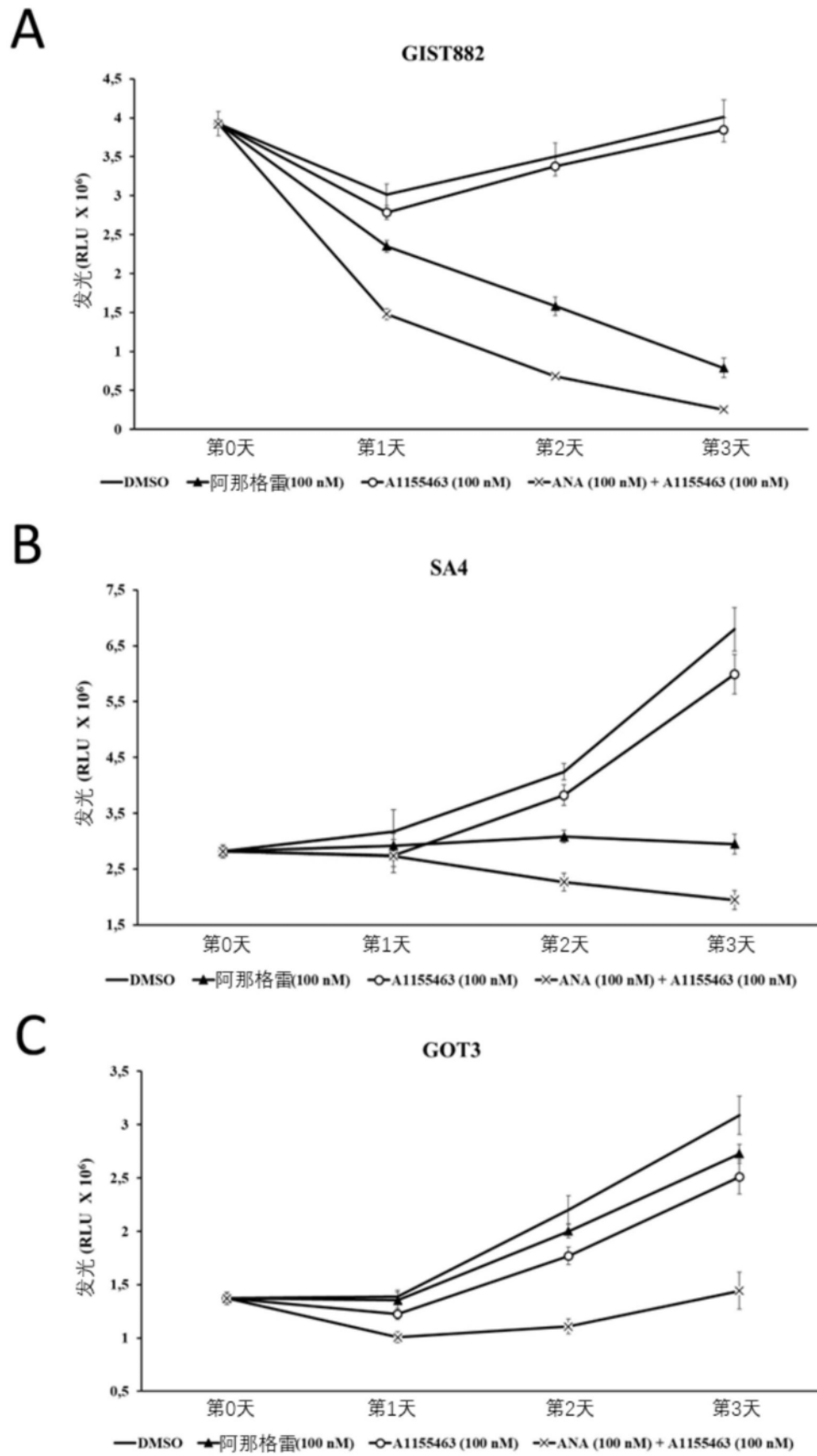


图3A-3C

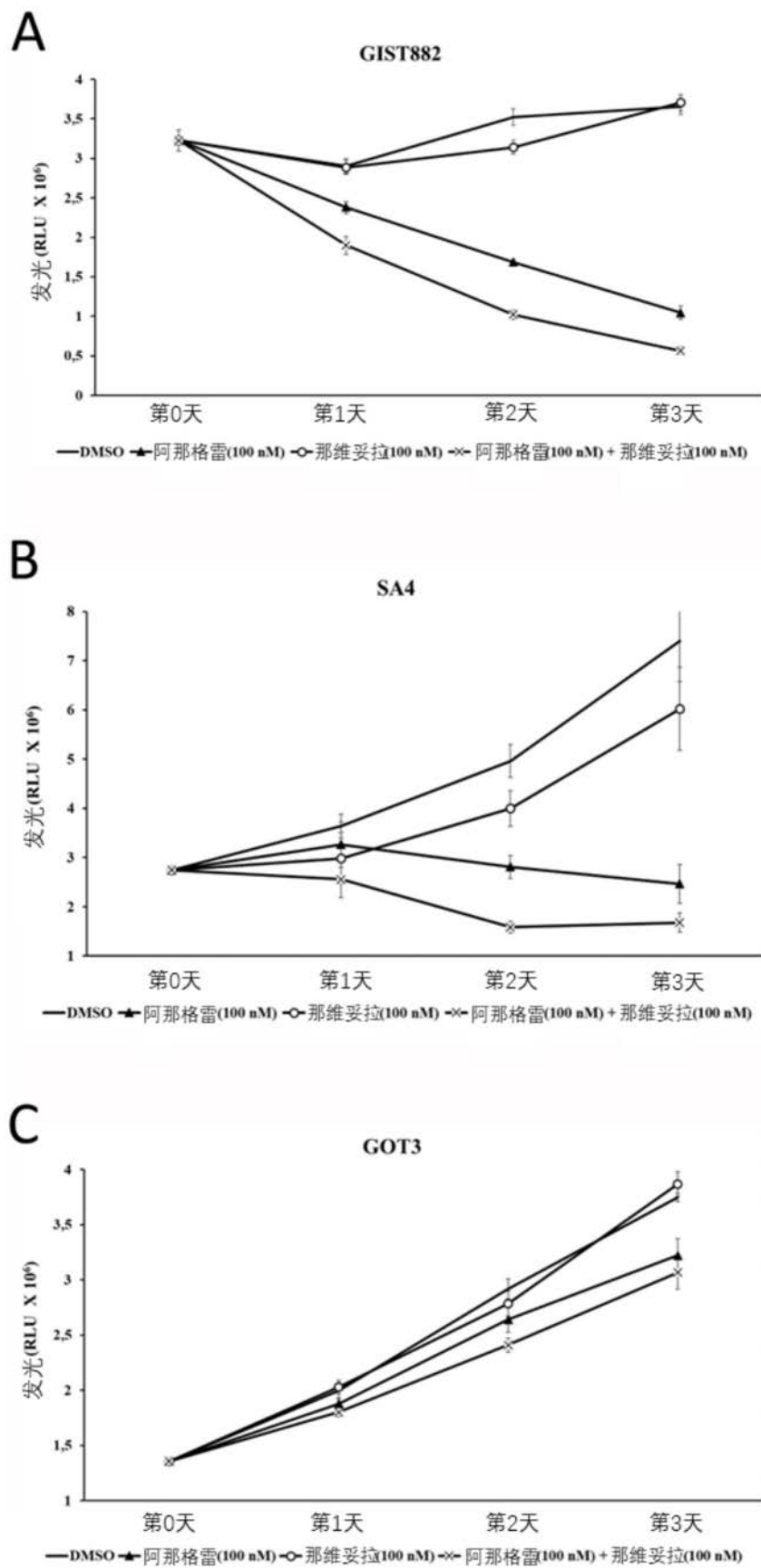


图4A-4C

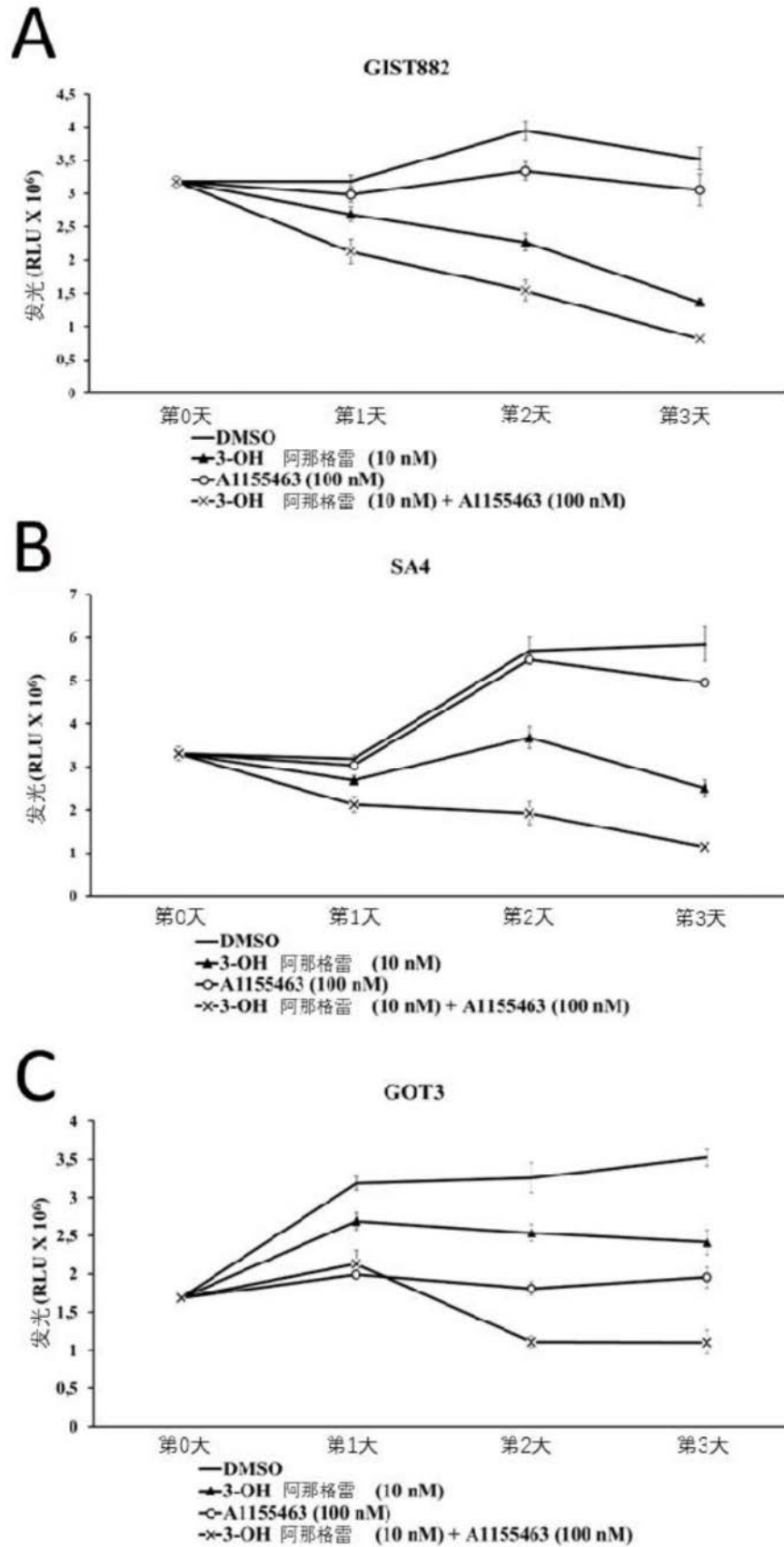


图5A-5C

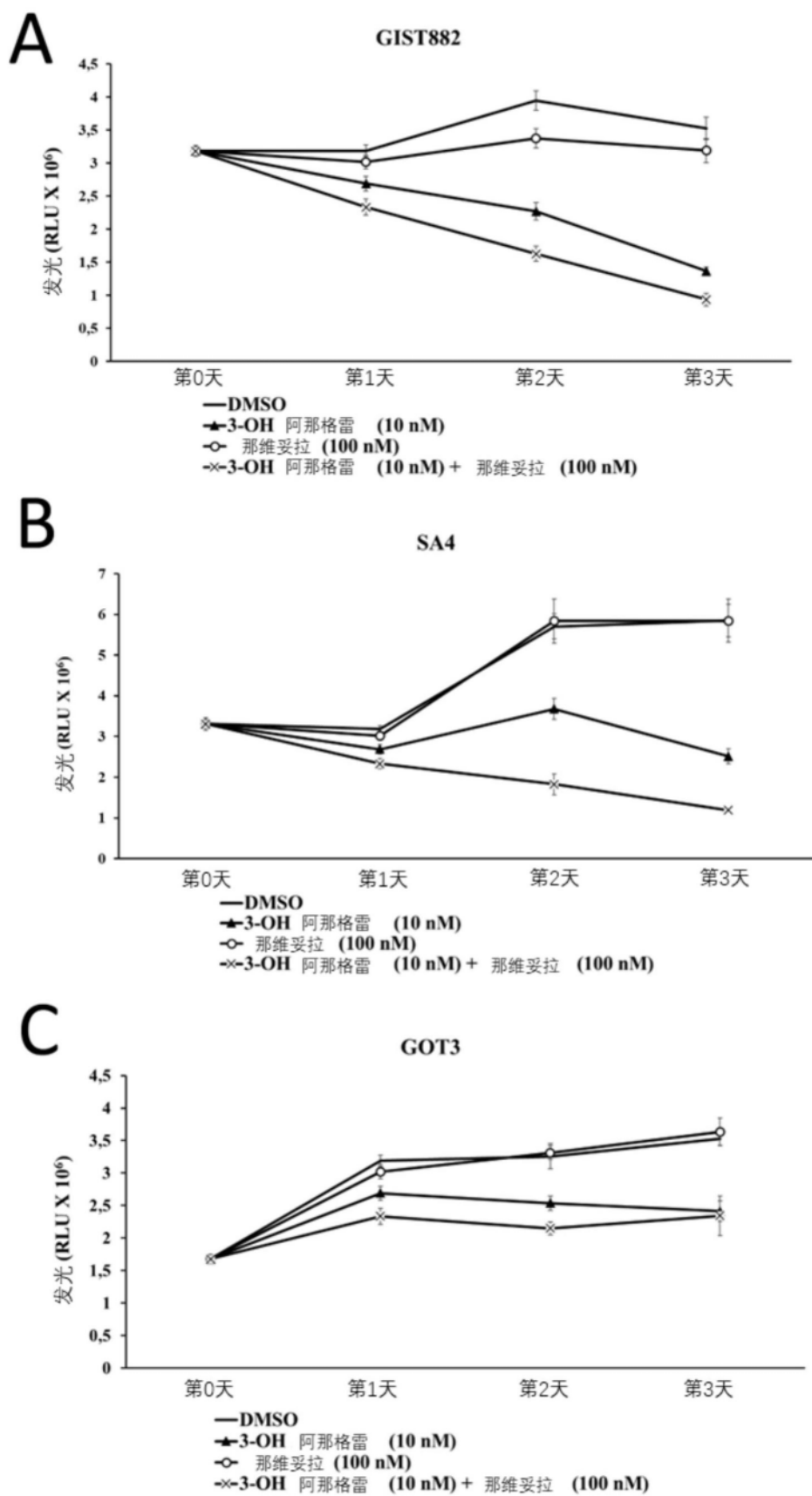


图6A-6C

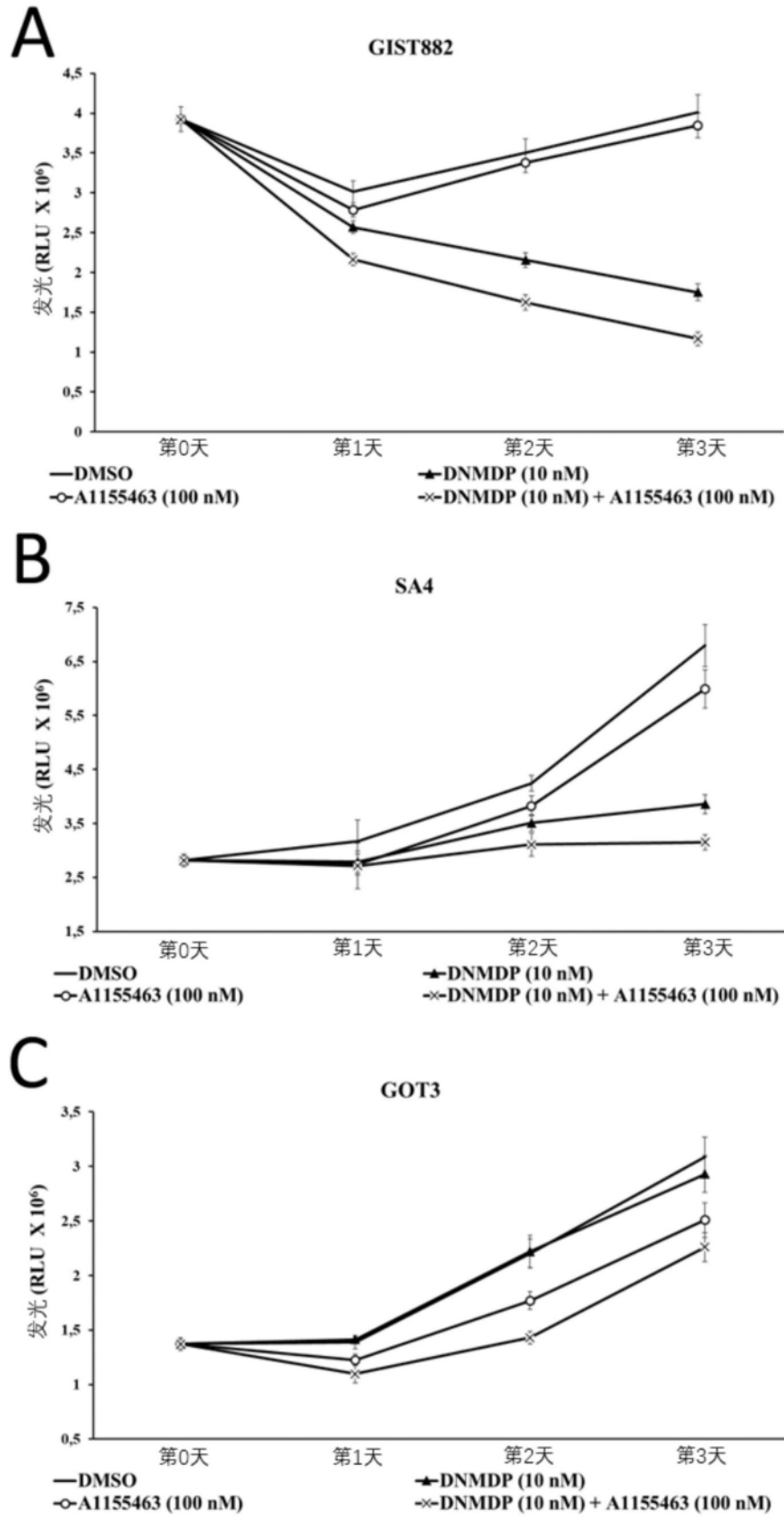


图7A-7C

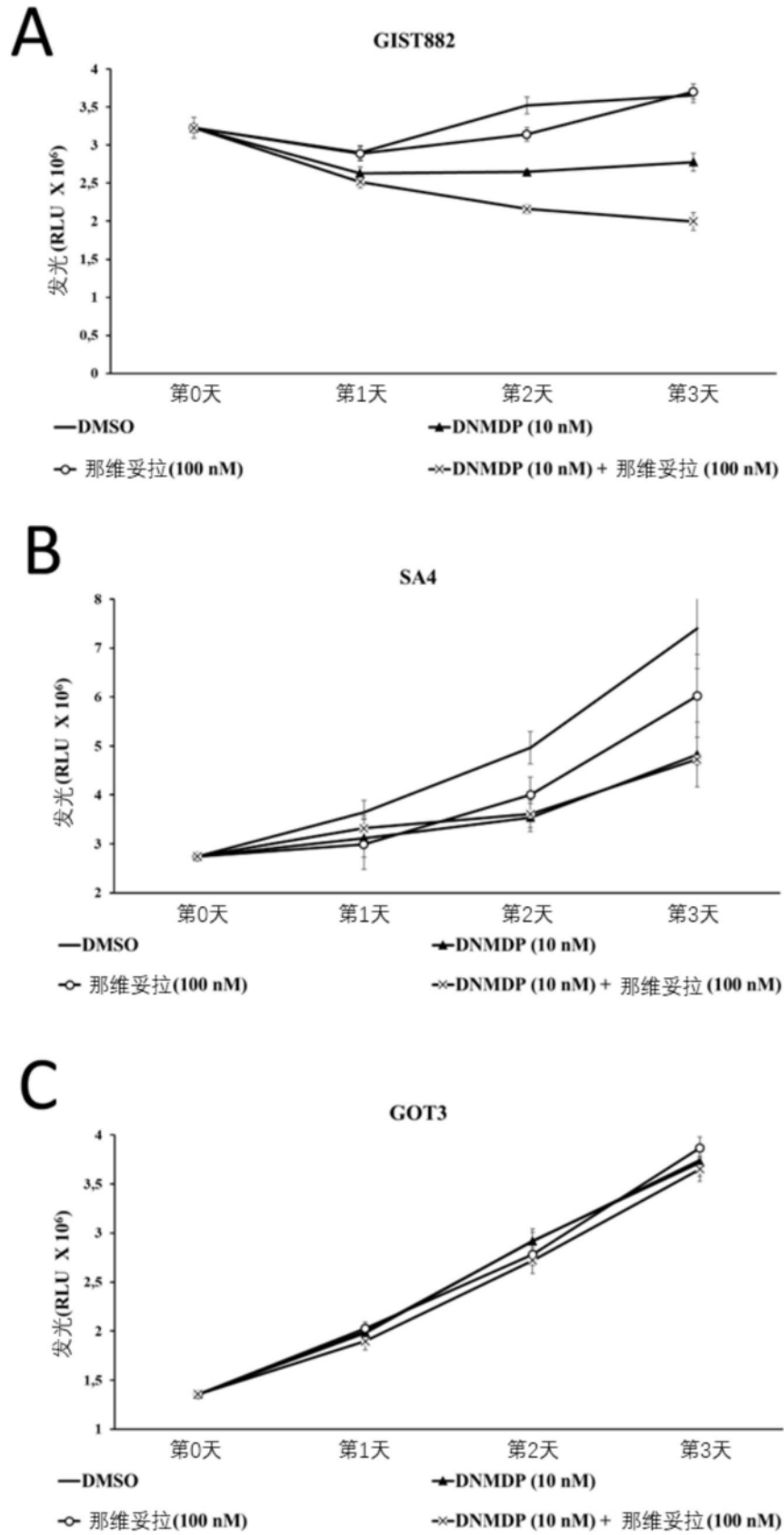


图8A-8C