



- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ  
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ  
(51)<sup>7</sup> A61K 31/4545; C07D 405/14; C07D 237/00; A61K 31/50; A61P 35/00 (13) B



1-0043619

- 
- (21) 1-2019-06539 (22) 17/05/2018  
(86) PCT/CN2018/087246 17/05/2018 (87) WO 2018/210296 22/11/2018  
(30) 201710350614.6 18/05/2017 CN  
(45) 25/02/2025 443 (43) 25/06/2020 387A  
(73) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)  
No.7 Kunlunshan Road, Economic and Technological Development Zone,  
Lianyungang, Jiangsu 222047, China  
(72) MA, Ke (CN); CAO, Guoqing (US); YANG, Changyong (CN); ZHANG, Lianshan (US).  
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)
- 

- (54) TỔ HỢP CHỨA CHẤT ỨC CHẾ EZH2 VÀ CHẤT ỨC CHẾ BTK VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA TỔ HỢP NÀY

(21) 1-2019-06539

(57) Sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK để điều trị khối u và dược phẩm chứa tổ hợp này.

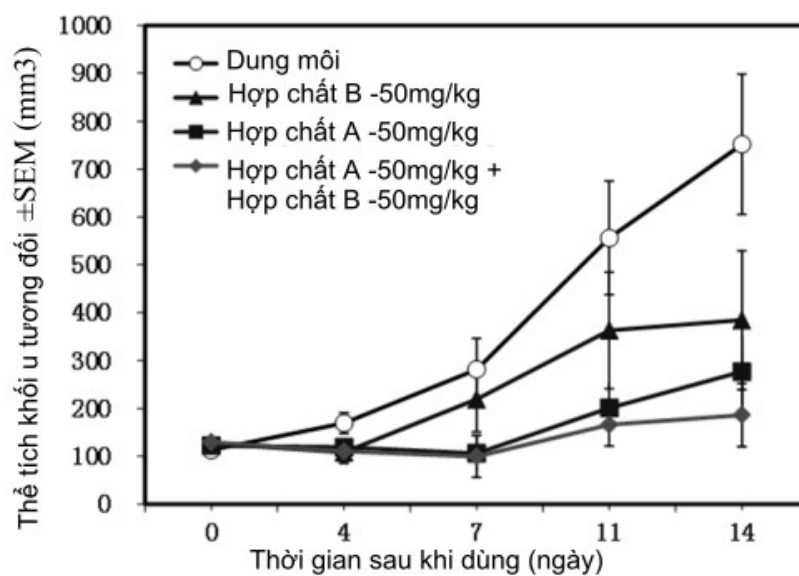


Fig. 5

**Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

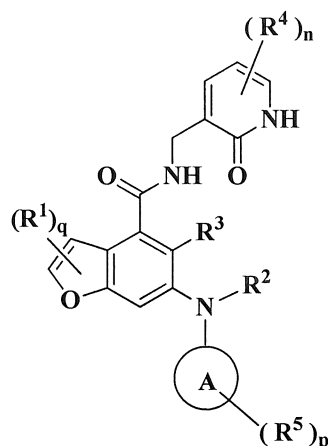
Sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK, tổ hợp này được bào chế làm được phẩm để điều trị khối u.

**Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

U lymphô là khối u ác tính dạng bạch huyết có nguồn gốc trong các hạch bạch huyết và/hoặc mô lymphô ngoại hạch. Theo sự có mặt của các tế bào Reed-Sternberg (tế bào R-S) trong bệnh lý học, u lymphô có thể được phân loại thành u lymphô Hodgkin (Hodgkin lymphoma-HL) và u lymphô không Hodgkin (non-Hodgkin lymphoma-NHL). Trong năm 2015, tỷ lệ mắc bệnh u lymphô ác tính ở Trung Quốc là 8,82/100.000, xếp thứ mười một về tỷ lệ mắc bệnh trong tổng số tất cả các loại khối u. Tỷ lệ mắc bệnh u lymphô ác tính ở nam giới là cao hơn so với nữ giới, tương ứng là 5,30/100.000 và 3,52/100.000. Trong năm 2015, tỷ lệ tử vong do u lymphô ác tính ở Trung Quốc là 5,21/100.000, xếp thứ 10 trong số các trường hợp chết vì khối u.

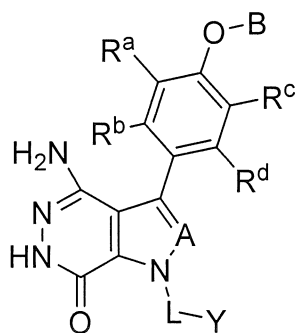
Ở châu Á, 90% người mắc u lymphô là người bệnh NHL có các tế bào lymphô, các tế bào mô hoặc tế bào dạng lưới với mức độ biệt hóa khác nhau trong bệnh lý học. Theo tiến trình tự nhiên của NHL, NHL có thể được phân loại thành ba kiểu lâm sàng chính, cụ thể u lymphô xâm lấn cao, xâm lấn và không đau. Theo nguồn gốc tế bào lymphô khác nhau, có thể được phân loại thành u lymphô tế bào B, tế bào T và tế bào giết tự nhiên (natural killer-NK). Chức năng chính của tế bào B là tiết các loại kháng thể khác nhau để bảo vệ cơ thể chống lại các sự xâm lấn bên ngoài khác nhau.

Histon metyltransferaza được mã hóa bởi gen EZH2 là thành phần xúc tác của phức hệ kiểm chế polycomb 2 (polycomb repressive complex 2-PRC2). Các mức EZH2 thường tăng cao bất thường trong các mô ung thư so với các mô bình thường, và EZH2 được biểu hiện cao nhất trong các khối u tiến triển hoặc tiên lượng bệnh xấu. Trong một số loại khối u, sự biểu hiện quá mức EZH2 xảy ra đồng thời với sự khuếch đại của gen EZH2. Một số nghiên cứu thí nghiệm về si/shARN cho thấy rằng việc giảm biểu hiện EZH2 trong các dòng tế bào khối u có thể ức chế sự tăng sinh, sự di trú và sự xâm lấn, hoặc sự tạo mạch tế bào khối u, và dẫn đến sự chết rụng tế bào (apoptosis). WO2017084494 (PCT/CN2016/104318, ngày nộp đơn 2/11/2016) bộc lộ chất ức chế EZH2 có cấu trúc sau:



(I)

Bruton tyrosin kinaza (BTK) là thành viên của họ phụ tyrosin kinaza, và thuộc họ Tec kinaza. Nó được biểu hiện chủ yếu trong các tế bào B, và được phân bố trong hệ bạch huyết, hệ tạo huyết và hệ huyết học. Thụ thể tế bào B (B cell receptor-BCR) đóng vai trò chủ chốt trong việc điều hòa sự tăng sinh và sự sống sót của các u lymphô khác nhau bao gồm các kiểu phụ của bệnh bạch cầu lymphô mạn tính (chronic lymphocytic leukemia-CLL) và u lymphô không phải Hodgkin (NHL), u lymphô tế bào vỏ (mantle cell lymphoc-MCL), và u lymphô tế bào B lớn lan tỏa (diffuse large B-cell lymphoc-DLBCL). Ngoài ra, hiệu quả của tế bào B trong sinh bệnh học của bệnh viêm khớp dạng thấp, luput ban đỏ toàn thân, bệnh xơ cứng rải rải, và các bệnh miễn dịch khác đã được chứng minh trong thực tế lâm sàng. Bruton tyrosin kinaza (BTK) là protein kinaza quan trọng trong con đường truyền tín hiệu BCR. Nó có thể điều hòa sự trưởng thành và sự biệt hóa các tế bào B bình thường, và cũng liên quan gần gũi đến các bệnh khác nhau về các rối loạn mô lymphô tế bào B. Do đó, chất ức chế phân tử nhỏ có đích là BTK có thể là có lợi để điều trị các bệnh ác tính tế bào B và các bệnh tự miễn. WO2016007185A1 (công bố ngày 14/1/2014) bộc lộ chất ức chế BTK có cấu trúc sau:



(II)

Tế bào B được đặt ở tâm phôi được gọi là tế bào B tâm phôi (tế bào B GC-germinal center). Tế bào B GC được phân chia rất nhanh và điều khiển việc

sản sinh kháng thể ái lực cao giúp chống lại sự nhiễm xâm lấn, và các tế bào B GC còn lại sẽ bị chết rụng. Do sự phân chia nhanh các tế bào B GC và sự sắp xếp lại VDJ đồng thời, sự sửa chữa ADN bị yếu đi. Do đó, tâm phôi là bộ máy hình thành u lymphô. Thật không may khi điều này diễn ra, nhiều gen khác cũng bị đột biến, mà cuối cùng dẫn đến sự hình thành u lymphô, như u lymphô tế bào B lớn lan tỏa giống tế bào B tâm phôi và u lymphô nang.

U lymphô tế bào B có nguồn gốc từ tâm phôi đã cho thấy là có sự hoạt hóa liên tục các sự đột biến BTK và EZH2 (Y641, Y646, A682, A692 và vị trí tương tự) hoặc biểu hiện quá mức. Sự kết hợp của chất ức chế BTK và chất ức chế EZH2 có thể ức chế đồng thời sự tăng sinh tế bào khối u gây ra bởi sự hoạt hóa bất thường (hoặc quá mức) sự đột biến BTK và EZH2 (hoặc biểu hiện quá mức), dẫn đến hiệu quả chống khối u hiệp đồng.

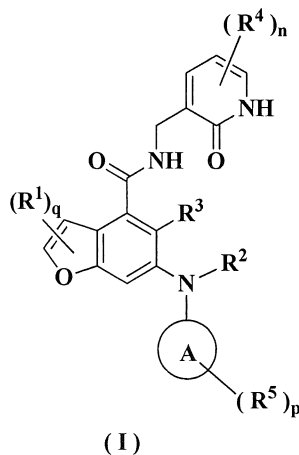
Các đơn sáng chế WO2014168975A1 (ngày công bố 16/10/2014), WO2014166820A1 (ngày công bố 16/10/2014) và WO2015146159A1 (ngày công bố 1/10/2015) bộc lộ các tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK để điều trị các bệnh tăng sinh tế bào B. Sáng chế mô tả việc sử dụng tổ hợp gồm chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK để bào chế dược phẩm để điều trị khối u, trong đó chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK có các cấu trúc mới và tổ hợp này cho hiệu quả hiệp đồng.

Vấn đề kỹ thuật được giải quyết bởi sáng chế là đề xuất tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK để bào chế dược phẩm để điều trị khối u, trong đó tổ hợp này cho hiệu quả hiệp đồng.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Mục đích của sáng chế là đề xuất tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK và dược phẩm chứa tổ hợp này để điều trị khối u.

Để đạt được mục đích trên đây, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK để bào chế chế dược phẩm để điều trị khối u, đặc trưng ở chỗ chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (I)



hoặc muối được dụng của nó hoặc chất đồng phân lập thể của nó,  
trong đó,

vòng A được chọn từ nhóm bao gồm heteroxyclyl và xycloalkyl;

mỗi  $R^1$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, alkyl, haloalkyl, alkoxy, haloalkoxy, amino, nitro, hydroxy, xyano, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$ ,  $-S(O)_mNR^7R^8$  và  $-(CH_2)_xR^a$ , trong đó alkyl, haloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl mỗi gốc độc lập là và tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm alkyl, haloalkyl, halogen, amino, nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

$R^a$  được chọn từ nhóm bao gồm halogen, xycloalkyl, heteroxyclyl và  $-NR^7R^8$ , trong đó xycloalkyl và heteroxyclyl này mỗi gốc này độc lập là và tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm alkyl, haloalkyl, halogen, amino, nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

$R^2$  là hydro hoặc alkyl, trong đó alkyl này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, xycloalkyl và heteroxyclyl;

$R^3$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, halogen, xyano, alkoxy và haloalkyl;

mỗi  $R^4$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, hydroxy, amino, alkoxy, haloalkoxy, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$ ,  $-S(O)_mNR^7R^8$  và  $-NR^7R^8$ ;

mỗi  $R^5$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, oxo, halogen, haloalkyl, hydroxy, amino, alkoxy, haloalkoxy, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$ ,  $-S(O)_mNR^7R^8$  và  $-NR^7R^8$ ;

$R^6$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, alkoxy, hydroxyalkyl, hydroxy, amino, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

$R^7$  và  $R^8$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, alkoxy, hydroxyalkyl, hydroxy, amino, alkoxycarbonyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl, trong đó alkyl, amino, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl mỗi gốc độc lập là và tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm alkyl, halogen, hydroxy, amino, alkoxycarbonyl, nitro, xyano, alkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

m là 0, 1 hoặc 2;

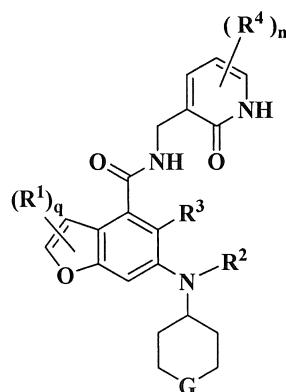
n là 0, 1, 2 hoặc 3;

p là 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5;

q là 0, 1 hoặc 2; và

x là 0, 1, 2 hoặc 3.

Tốt hơn là, chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IA)



(IA)

hoặc muối được dụng của nó hoặc chất đồng phân lập thể của nó,

trong đó,

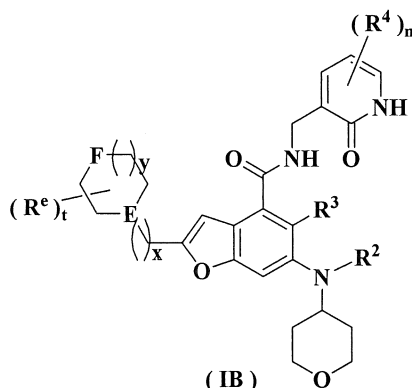
G được chọn từ nhóm bao gồm  $CR^bR^c$ ,  $C=O$ ,  $NR^d$ ,  $S(O)_m$  và oxy;

$R^b$  và  $R^c$  là mỗi gốc được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, alkoxy, halogen, amino, nitro, hydroxy, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$  và  $-NR^7R^8$ ;

$R^d$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, xycloalkyl, haloalkyl, hydroxyalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$  và  $-S(O)_mR^6$ ; và

$R^1$  đến  $R^4$ ,  $R^6$  đến  $R^8$ , n, m và q là như được xác định trong điểm 1.

Hơn nữa, ưu tiên chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IB)



(IB)

hoặc muối được dụng của nó,

trong đó,

E là CH hoặc nitơ;

F được chọn từ nhóm bao gồm  $CR^bR^c$ ,  $C=O$ ,  $NR^d$  và oxy;

$R^b$  và  $R^c$  mỗi gốc độc lập là được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, alkoxy, halogen, amino, nitro, hydroxy, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$  và  $-NR^7R^8$ ;

$R^d$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, xycloalkyl, haloalkyl, hydroxyalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$  và  $-S(O)_mR^6$ ;

mỗi  $R^e$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, halogen, amino, nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

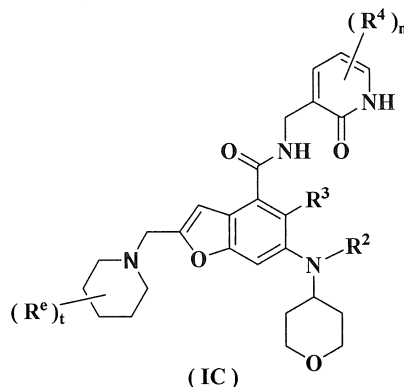
$t$  là 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5;

$x$  là 0, 1, 2 hoặc 3;

$y$  là 0, 1, 2 hoặc 3; và

$R^2$  đến  $R^4$ ,  $R^6$  đến  $R^8$ ,  $m$  và  $n$  là như được xác định trong điểm 1.

Tốt hơn nữa là, chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IC)



hoặc muối được dụng của nó,

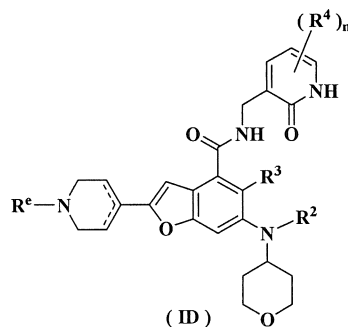
trong đó,

mỗi gốc  $R^e$  là giống nhau hoặc khác nhau và độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl và halogen;

$t$  là 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5; và

gốc từ  $R^2$  đến  $R^4$  và  $n$  là như được xác định trong điểm 1.

Tốt hơn nữa là, chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (ID)



hoặc muối được dụng của nó,

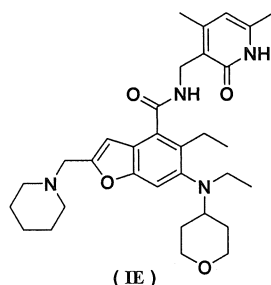
trong đó,

$R^e$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, halogen, amino,

nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl; và

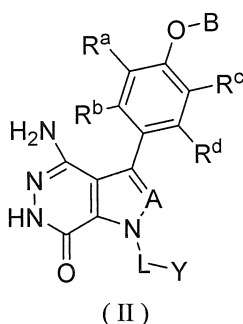
gốc từ  $R^2$  đến  $R^4$  và  $n$  là như được xác định trong điểm 1.

Ưu tiên hơn, chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IE)



hoặc muối được dụng của nó.

Theo các phương án trên đây, chất ức chế BTK là hợp chất có công thức (II)



hoặc muối được dụng của nó hoặc chất đồng phân lập thể của nó,

trong đó,

A được chọn từ nhóm bao gồm  $CR^1$  và N;

$CR^1$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen và alkyl được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkoxy và haloalkyl;

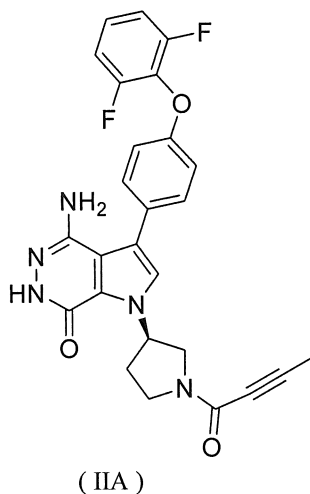
mỗi gốc  $R^a$ ,  $R^b$ ,  $R^c$  và  $R^d$  độc lập là được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, hydroxy, xyano, nitro, alkyl được thể tùy ý và alkoxy được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkoxy và haloalkyl;

B được chọn từ nhóm bao gồm hydro, xycloalkyl được thể tùy ý, heteroxyclyl được thể tùy ý, aryl được thể tùy ý và heteroaryl được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkoxy và haloalkyl;

L được chọn từ nhóm bao gồm liên kết và alkyl được thể tùy ý; và

Y được chọn từ nhóm bao gồm xycloalkyl được thể tùy ý, heteroxyclyl được thể tùy ý, aryl được thể tùy ý và heteroaryl được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkylcarbonyl, alkynylcarbonyl và haloalkyl.

Tốt hơn là, chất ức chế BTK là hợp chất có công thức (IIA)



hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án của sáng chế, muối được dụng này được chọn từ nhóm bao gồm phosphat, hydroclorua, metansulfonat, maleat, malat, *p*-toluensulfonat và besylat.

Theo phương án khác của sáng chế, chất ức chế BTK được chọn từ nhóm bao gồm Ibrutinib, Acalabrutinib, MSC-2364447, Spebrutinib, HM-71224, Plevitrexed, GS-4059, GDC-0853, SNS-062, CGP-53716, Idoxifen, BTG-511, Banoxantron, Glucarpidaza, kháng thể đa dòng kháng digoxin, Fab miễn dịch đa hóa trị Crotalidae (cừu, BTG) và Otelixizumab.

Theo các phương án trên đây, tổ hợp này tùy ý chứa thành phần thứ ba được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế HDAC, chất ức chế CDK4/6, chất ức chế ALK, chất ức chế JAK2, chất ức chế Bcl-2, chất ức chế Hsp90, glucocorticoit, vinca alkaloit, chất chống chuyển hóa, chất phá hủy ADN, Lenalidomit, Rituximab, PKC perturbagen, chất ức chế Lyn/Fyn, chất ức chế Syk, chất ức chế PI3K, chất ức chế PKC $\beta$ , chất ức chế IKK, 20s proteasom, IRF-4, kháng thể IRAK4, kháng thể CXCR4, kháng thể CXCR5, kháng thể GLS, kháng thể PLK, kháng thể CD20, chất ức chế Topo II, chất ức chế ADN metyltransferaza, chất ức chế Ras/MAPK và chất ức chế FGFR1; trong đó chất ức chế HDAC này tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Panobinostat Lactat, Belinostat, Chidamit, Romidepsin, Vorinostat, Bexanostat và Entinostat; chất ức chế CDK4/6 tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Palbociclib, Blinatumomab, Tiagabin Hydroclorua và Itolizumab; chất ức chế Bcl-2 này tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Venetoclax, natri Oblimersen, ABT-737 và HA14-1; chất ức chế Hsp90 tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Sebelipase alfa và Retaspimycin Hydroclorua; chất ức chế JAK2 tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Tofacitinib xitrat, Ruxolitinib Phosphat, Lestaurtinib, Momelotinib

Dihydroclorua, Peficitinib và Filgotinib; PKC perturbagen tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Teprenone, Truheal, HO/03/03, Sotrastaurin, Enzastaurin và GF109203X; chất ức chế ALK tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Alectinib hydroclorua, Ceritinib, Crizotinib, Bendamustin, Carmustin, Lumostin, clometin hydroclorua và NVP-TAE684; chất ức chế PI3K tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm GS-1101, IPI-145, BKM120, BEZ235, GDC-0941, AMG319, CAL-101 và A66; chất ức chế IKK tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Auranofin, BAY 86-9766 và RDEA-119.

Theo các phương án trên đây, tổ hợp này cho hiệu quả hiệp đồng.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị khối u, bao gồm dùng cho bệnh nhân chất ức chế EZH2 trên đây và chất ức chế BTK.

Theo sự mô tả của sáng chế, khối u là u lymphô, tốt hơn là u lymphô không phải Hodgkin, và ưu tiên hơn bệnh tăng sinh tế bào B; trong đó bệnh tăng sinh tế bào B này được chọn từ nhóm bao gồm u lymphô tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), bệnh bạch cầu lymphô mạn tính (chronic lymphocytic leukemia CLL), u lymphô tế bào lymphô nhỏ (small lymphocytic lymphoma-SLL), u lymphô CLL nguy cơ cao hoặc không-CLL/SLL, u lymphô nang (follicular lymphoma-FL), u lymphô tế bào vỏ (mantle cell lymphoma-MCL), khối u tế bào B tạm thời, bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô B tạm thời (hoặc u lymphô), khối u tế bào B trưởng thành (ngoại vi), u lymphô tương bào lymphô (hoặc u nguyên bào miễn dịch), u lymphô liên quan đến niêm mạc ngoại hạch, bệnh bạch cầu tế bào lông, u tương bào (hoặc u tủy tương bào), macroglobulin huyết Waldenstrom, đau tủy, u lymphô vùng rìa, u lymphô Burkitt (Burkitt's lymphoma-BL), u lymphô tế bào B mức cao không phải Burkitt hoặc u lymphô tế bào B vùng rìa ngoại hạch, bệnh bạch cầu (hoặc dạng tủy bào) tạo ra ở tủy xương mạn tính hoặc cấp tính, hội chứng rối loạn sinh tủy và bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp tính.

Sáng chế đề xuất tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 trên đây và chất ức chế BTK trên đây để sử dụng làm dược phẩm để điều trị khối u.

Theo tổ hợp theo sáng chế, tỷ lệ giữa chất ức chế EZH2 với chất ức chế BTK là nằm trong khoảng từ 0,001-1000, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,01-100, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,1-10, và ưu tiên hơn là 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:16, 1:17, 1:18, 1:19, 1:20, 1:21, 1:22, 1:23, 1:24, 1:25, 1:26, 2:1, 2:3, 2:5, 2:7, 2:9, 2:11, 2:13, 2:15, 2:17, 2:19, 2:21, 3:1, 3:2, 3:4, 3:5, 3:7, 3:8, 3:10, 3:11, 3:13, 3:14, 3:16, 3:17, 3:19, 3:20, 4:1, 4:3, 4:5, 4:7, 4:9, 4:11, 4:13, 4:15, 4:17, 4:19, 4:21, 5:1, 5:2, 5:3, 5:4, 5:6, 5:7, 5:8, 5:9, 5:11, 5:12, 5:13, 5:14, 5:16, 5:17, 5:18, 5:19, 5:21, 6:1, 6:5, 6:7, 6:11, 6:13, 6:17, 6:19, 7:1, 7:2, 7:3, 7:5, 7:6, 7:8, 7:9, 7:10, 7:11, 7:12, 7:13, 7:15, 7:16, 7:17, 7:18, 7:19, 7:20, 8:1, 8:3, 8:5, 8:7, 8:9, 8:11, 8:13, 8:15,

8:17, 8:19, 9:1, 9:2, 9:4, 9:5, 9:7, 9:8, 9:10, 9:11, 9:13, 9:14, 9:16, 9:17, 9:19, 9:20, 10:1, 10:3, 10:7, 10:9, 10:11, 10:13, 10:17, hoặc 10:19.

Tổ hợp theo sáng chế chứa chất ức chế EZH2 là nằm trong khoảng từ 0,1-5000 mg, và ưu tiên hơn là nằm trong khoảng từ 1-2000 mg.

Tổ hợp theo sáng chế chứa chất ức chế BTK là nằm trong khoảng từ 0,1-2000 mg, và ưu tiên hơn nằm trong khoảng từ 1-1000 mg.

Theo sáng chế, liều dùng chất ức chế EZH2 là nằm trong khoảng từ 0,1-5000 mg, và ưu tiên hơn là 10 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 400 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 8500 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1400 mg, 1500 mg, 1600 mg, 1700 mg, 1800 mg, 1900 mg, 2000 mg, 2100 mg, 2200 mg, 2300 mg, 2400 mg, 2500 mg, 2600 mg, 2700 mg, 2800 mg, 2900 mg, 3000 mg, 3500 mg, 4000 mg, 4500 mg, hoặc 5000 mg; liều dùng chất ức chế BTK là nằm trong khoảng từ 0,1-2000 mg, và tốt hơn là 10 mg, 20 mg, 30 mg, 50 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 150 mg, 160 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 500 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1200 mg, 1300 mg, 1400 mg, 1500 mg, 1600 mg, 1800 mg, 1900 mg, hoặc 2000 mg.

Phương thức dùng tổ hợp theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm: dùng đồng thời, cùng dùng sau khi tạo công thức tách biệt, và dùng lần lượt sau khi tạo công thức tách biệt.

Sáng chế mô tả tiếp việc sử dụng tổ hợp gồm chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK để điều chế dược phẩm để điều trị khối u, trong đó tần suất dùng khuyến cáo chất ức chế EZH2 là một lần một ngày hoặc hai lần một ngày, và tần suất dùng khuyến cáo chất ức chế BTK là một lần một ngày.

Đáng chú ý là, tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế có hiệu quả hiệp đồng.

Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK tùy ý chứa một hoặc nhiều chất mang, tá dược và/hoặc chất pha loãng được dùng. Dược phẩm có thể được bào chế thành dạng liều dùng bất kỳ trong số các dạng liều dùng được dùng. Ví dụ, dược phẩm chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK có thể được bào chế thành viên nén, viên nang, viên tròn, hạt, dung dịch, hỗn dịch, xi rô, thuốc tiêm (bao gồm dung dịch thuốc tiêm, bột vô trùng cho thuốc tiêm và dung dịch cô đặc cho thuốc tiêm), thuốc đạn, thuốc xông hoặc thuốc phun xịt.

Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế có thể cũng được dùng cho người bệnh hoặc đối tượng cần điều trị bằng phương thức dùng thích hợp bất kỳ, ví dụ, dùng theo đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, trực tràng, trong phổi hoặc dùng khu

trú. Để dùng theo đường miệng, dược phẩm có thể được bào chế thành dạng bào chế dùng theo đường miệng, ví dụ, dạng bào chế dùng theo đường miệng dạng rắn như viên nén, viên nang, viên tròn, hạt và dạng bào chế tương tự; hoặc chế phẩm dùng theo đường miệng dạng lỏng như dung dịch dùng theo đường miệng, hỗn dịch dùng theo đường miệng, xi rô và dạng bào chế tương tự. Khi được bào chế thành dạng bào chế dùng theo đường miệng, dược phẩm có thể chứa thêm chất độn thích hợp, tác nhân gắn kết, tác nhân làm rắn, tác nhân làm trơn và tác nhân tương tự.

Dược phẩm chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế có thể được dùng riêng rẽ, hoặc kết hợp với một hoặc nhiều dược chất. Theo đó, theo các phương án ưu tiên nhất định, dược phẩm chứa thêm một hoặc nhiều dược chất.

Các thành phần được kết hợp (ví dụ, chất ức chế EZH2, chất ức chế BTK và dược chất thứ hai) có thể được dùng đồng thời hoặc lần lượt. Ví dụ, dược chất thứ hai có thể được dùng trước, cùng lúc, hoặc sau khi dùng chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế. Hơn nữa, các thành phần được kết hợp có thể cũng cùng được dùng trong cùng một chế phẩm hoặc trong các chế phẩm khác nhau và tách biệt.

Theo sáng chế, thuật ngữ “dùng kết hợp” hoặc “cùng dùng” là phương thức dùng, bao gồm nhiều tính hướng khác nhau trong đó hai dược chất được dùng lần lượt hoặc đồng thời. Thuật ngữ “đồng thời” ở đây có nghĩa là chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK được dùng trong khi chu kỳ dùng giống nhau, ví dụ, hai dược chất được dùng trong vòng hai ngày hoặc một ngày. Thuật ngữ dùng “lần lượt hoặc liên tiếp” bao gồm các tình huống trong đó chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK được dùng theo các chu kỳ dùng khác nhau. Tất cả các phương thức dùng này đều thuộc vào loại dùng kết hợp theo sáng chế.

Thuật ngữ “khối lượng hữu hiệu” theo sáng chế bao gồm khối lượng thích hợp để làm thuyên giảm hoặc ngăn ngừa triệu chứng hoặc dấu hiệu của tình trạng bệnh. Thuật ngữ “khối lượng hữu hiệu” cũng đề cập đến khối lượng thích hợp để cho phép hoặc dễ dàng chẩn đoán bệnh. Khối lượng hữu hiệu cho người bệnh hoặc đối tượng thú y cụ thể có thể thay đổi phụ thuộc vào các yếu tố như tình trạng bệnh cần được điều trị, sức khỏe chung của người bệnh, đường và liều dùng, và độ nghiêm trọng của các tác dụng phụ. Khối lượng hữu hiệu có thể là liều dùng tối đa hoặc chế độ dùng mà tránh được đáng kể các tác dụng phụ hoặc tác dụng gây độc.

#### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig. 1 thể hiện hiệu quả ức chế của việc dùng tổ hợp chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế (tỷ lệ mol của hợp chất A và hợp chất B = 1:2) và

dùng một thành phần riêng rẽ (hợp chất B, hợp chất A) đối với sự tăng sinh các tế bào SU-DHL-4.

Fig. 2 thể hiện hiệu quả ức chế của việc dùng tổ hợp chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế (tỷ lệ mol của hợp chất A và hợp chất B = 1:4) và dùng một thành phần riêng rẽ (hợp chất B, hợp chất A) đối với sự tăng sinh các tế bào SU-DHL-6.

Fig. 3 thể hiện hiệu quả của việc dùng tổ hợp chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế (tổ hợp gồm hợp chất B và hợp chất A) và dùng một thành phần riêng rẽ (hợp chất B, hợp chất A) đối với khối u ghép dưới da trong chuột trụi lông được tiêm truyền tế bào u lymphô DOHH-2.

Fig. 4 thể hiện hiệu quả của việc dùng tổ hợp chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế (tổ hợp gồm hợp chất B và hợp chất A) và dùng một thành phần riêng rẽ (hợp chất B, hợp chất A) đối với trọng lượng của chuột trụi lông được tiêm truyền dưới da tế bào DOHH-2 u lymphô.

Fig. 5 thể hiện hiệu quả của việc dùng tổ hợp chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế (tổ hợp gồm hợp chất B và hợp chất A) và dùng một thành phần riêng rẽ (hợp chất B, hợp chất A) đối với khối u ghép dưới da trong chuột được tiêm truyền các tế bào SU-DHL-4 u lymphô tế bào B.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ của đơn sáng chế, trừ khi được chỉ định khác, các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng ở đây có nghĩa thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Tuy nhiên, để hiệu sáng chế này tốt hơn, các định nghĩa và giải thích của một số thuật ngữ liên quan được cung cấp. Ngoài ra, khi các định nghĩa và giải thích về các thuật ngữ được cung cấp trong đơn sáng chế này không thống nhất với nghĩa thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, các định nghĩa và các giải thích về các thuật ngữ được cung cấp trong đơn sáng chế này sẽ ưu tiên.

Thuật ngữ “halogen” hoặc “nguyên tử halogen” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nguyên tử flo, nguyên tử clo, nguyên tử brom hoặc nguyên tử iot.

Thuật ngữ “xyano” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nhóm -CN.

Thuật ngữ “hydroxy” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nhóm -OH.

Thuật ngữ “amino” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nhóm -NH.

Thuật ngữ “carboxy” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nhóm -COOH.

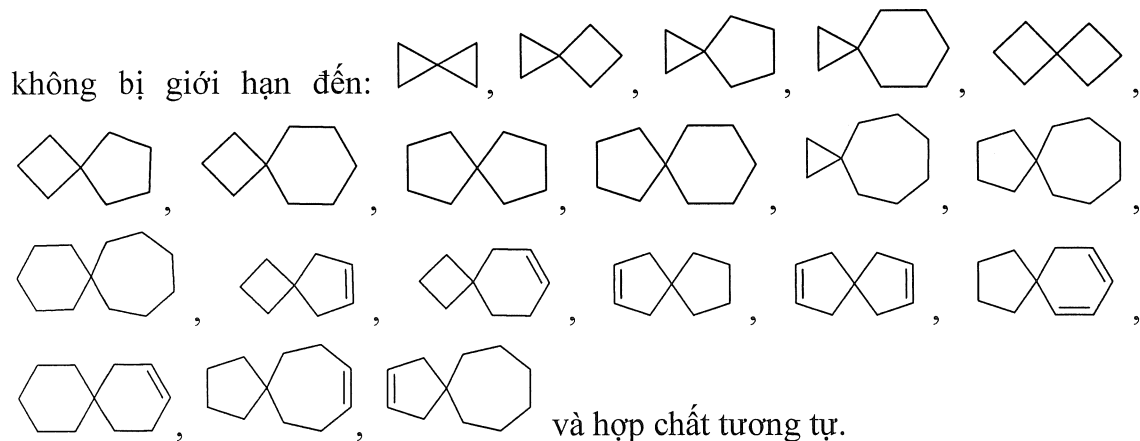
Thuật ngữ “carbonyl” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nhóm -CO-.

Thuật ngữ “nitro” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nhóm -NO<sub>2</sub>.

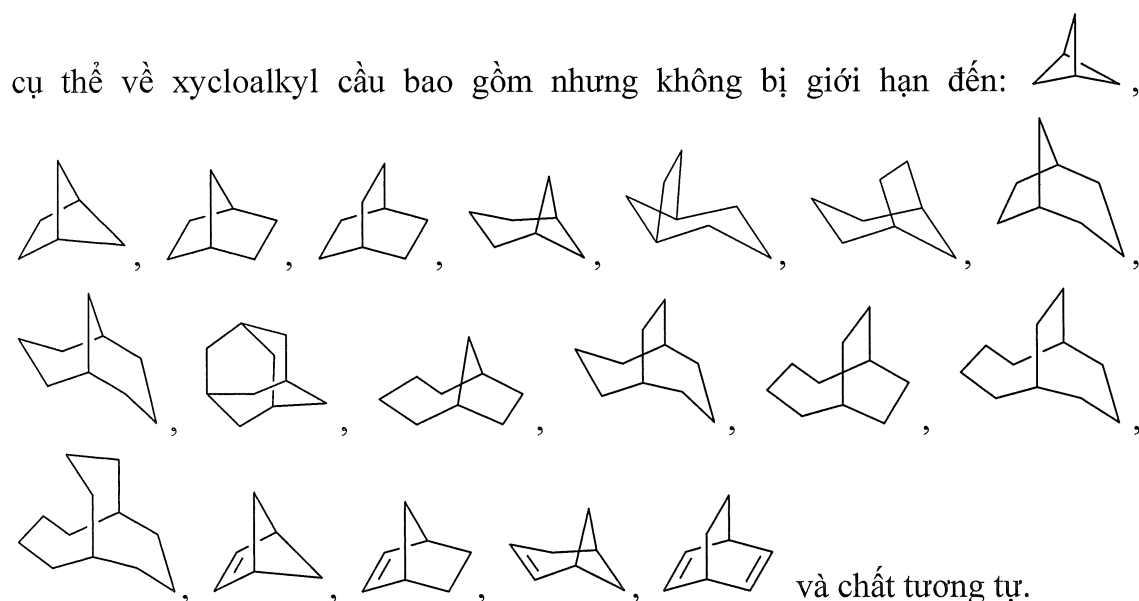
Thuật ngữ “alkyl” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến alkyl mạch thẳng



Thuật ngữ “spiro xycloalkyl” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến cấu trúc vòng có từ 5 đến 15 nguyên tử cacbon vòng, mà được tạo thành với hai hoặc nhiều cấu trúc vòng được gắn với nhau bằng một nguyên tử cacbon. Tùy ý, nguyên tử cacbon của cấu trúc vòng này có thể được oxy hóa. Spiro xycloalkyl bao gồm, ví dụ, “spiro xycloalkyl có từ 6 đến 11 cạnh”, “spiro xycloalkyl có từ 5 đến 10 cạnh”, “spiro cylyl có từ 7 đến 8 cạnh”, “spiro xycloalkyl có từ 9 đến 10 cạnh” và hợp chất tương tự. Các ví dụ cụ thể về spiro xycloalkyl bao gồm nhưng



Thuật ngữ “xycloalkyl cầu” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến cấu trúc vòng có từ 5 đến 15 nguyên tử cacbon vòng, mà được tạo thành với hai hoặc nhiều cấu trúc vòng được gắn với nhau bằng hai nguyên tử cacbon không liền kề. Tùy ý, nguyên tử cacbon của cấu trúc vòng này có thể được oxi hóa. Xycloalkyl cầu bao gồm, ví dụ, “xycloalkyl cầu có từ 6 đến 11 cạnh”, “xycloalkyl cầu có từ 7 đến 10 cạnh”, “xycloalkyl có từ 9 đến 10 cạnh” và hợp chất tương tự. Các ví dụ



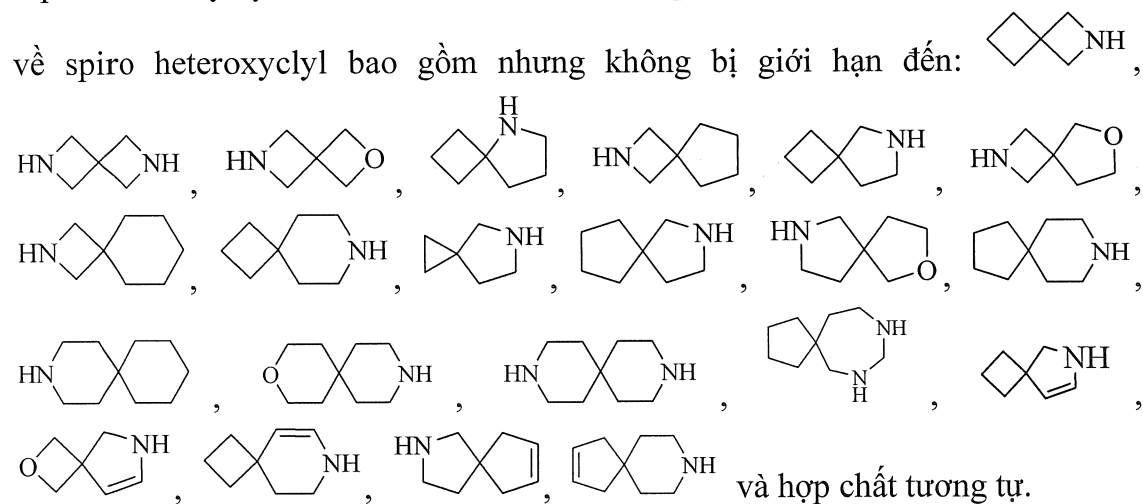
Thuật ngữ “heteroxyclyl” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến nhóm hydrocarbon đơn vòng hoặc đa vòng bão hòa hoặc không bão hòa một phần có từ 3 đến 14 cạnh, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử vòng là các nguyên tử khác

loại được chọn từ nhóm bao gồm N, O và S(O)<sub>m</sub> (trong đó m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2), nhưng không bao gồm -O-O-, -O-S- hoặc -S-S- trong vòng, với nguyên tử vòng còn lại là nguyên tử cacbon. Tốt hơn là, heteroxyclyl có từ 3 đến 12 nguyên tử vòng trong đó từ 1 đến 4 nguyên tử là các nguyên tử khác loại, ưu tiên hơn là từ 3 đến 8 nguyên tử vòng, và ưu tiên hơn từ 5 đến 6 nguyên tử vòng. Các ví dụ không giới hạn về heteroxyclyl đơn vòng bao gồm pyrrolidinyl, piperidinyl, piperazinyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, homopiperazinyl, pyranyl, tetrahydrofuranlyl và hợp chất tương tự. Heteroxyclyl đa vòng bao gồm heteroxyclyl có vòng spiro, vòng dung hợp hoặc vòng cầu.

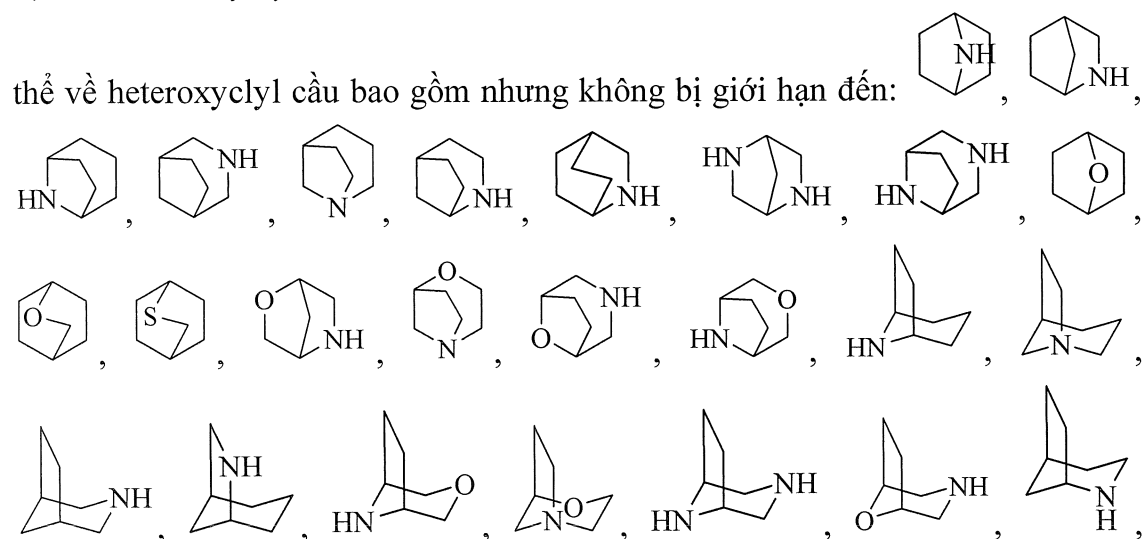
Thuật ngữ “heteroxyclyl dung hợp” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến cấu trúc vòng có 4 đến 15 nguyên tử vòng (trong đó ít nhất một nguyên tử vòng là nguyên tử khác loại, ví dụ, nguyên tử nitơ, nguyên tử oxy hoặc nguyên tử lưu huỳnh), mà được tạo thành với hai hoặc nhiều cấu trúc vòng được gắn với nhau bằng hai nguyên tử liên kề. Tùy ý, nguyên tử vòng (ví dụ, nguyên tử cacbon, nguyên tử nitơ hoặc nguyên tử lưu huỳnh) của cấu trúc vòng có thể được oxy hóa. Heteroxyclyl dung hợp bao gồm, ví dụ, “heteroxyclyl dung hợp có từ 4 đến 12 cạnh”, “heteroxyclyl dung hợp có từ 5 đến 9 cạnh”, “heteroxyclyl dung hợp có từ 6 đến 11 cạnh”, “heteroxyclyl dung hợp có từ 7 đến 9 cạnh”, “heteroxyclyl dung hợp có từ 9 đến 10 cạnh” và chất tương tự. Các ví dụ cụ thể về heteroxyclyl dung hợp bao gồm nhưng không bị giới hạn đến: pyrolidinocyclopropyl, cyclopentanoazacyclopropyl, pyrolidinocyclobutyl, pyrolidinopyrrolidinyl, pyrolidinopiperidyl, pyrolidinopiperazinyl, pyrolidinomorpholinyl, piperdinomorpholinyl, benzopyrrolidinyl, tetrahydroimidazo[4,5-*c*]pyridyl, 3,4-dihydroquinazolinyl, 1,2-dihydroquinoxalinyl, benzo[*d*][1,3]dioxacyclopentenyl, 1,3-dihydroisobenzofuryl, 2*H*-chromenyl, 2-oxo-2*H*-chromenyl, 4*H*-chromenyl, 4-oxo-4*H*-chromenyl, chromanyl, 4*H*-1,3-benzoxazinyl, 4,6-dihydro-1*H*-furo[3,4-*d*]imidazolyl, 3*a*,4,6,6*a*-tetrahydro-1*H*-furo[3,4-*d*]imidazolyl, 4,6-dihydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazolyl, 4,6-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*d*]imidazolyl, benzoimidazolidinyl, octahydro-benzo[*d*]imidazolyl, decahydroquinolyl, hexahydrothienoimidazolyl, hexahydrofuroimidazolyl, 4,5,6,7-tetrahydro-1*H*-benzo[*d*]imidazolyl, octahydrocyclopenteno[*c*]pyrrolyl, dihydroindolyl, dihydroisoindolyl, benzoxazolidinyl, benzothiazolidinyl, 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolyl, 1,2,3,4-tetrahydroquinolyl, 4*H*-1,3-benzooxazinyl và hợp chất tương tự.

Thuật ngữ “spiro heteroxyclyl” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến cấu trúc vòng có từ 5 đến 15 nguyên tử vòng (trong đó ít nhất một nguyên tử vòng là nguyên tử khác loại, ví dụ, nguyên tử nitơ, nguyên tử oxy hoặc nguyên tử lưu

huỳnh), mà được tạo thành với hai hoặc nhiều cấu trúc vòng được gắn với nhau bằng một nguyên tử vòng. Tùy ý là, nguyên tử vòng (ví dụ, nguyên tử cacbon, nguyên tử nitơ hoặc nguyên tử lưu huỳnh) của cấu trúc vòng có thể được oxy hóa. Spiro heteroxyclyl bao gồm, ví dụ, “spiro heteroxyclyl có từ 5 đến 11 cạnh”, “spiro heteroxyclyl có từ 6 đến 11 cạnh”, “spiro heteroxyclyl có từ 6 đến 9 cạnh”, “spiro heteroxyclyl có từ 9 đến 10 cạnh” và hợp chất tương tự. Các ví dụ cụ thể

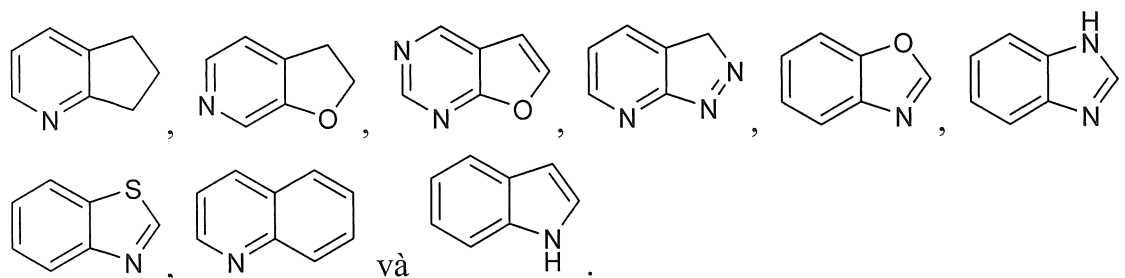


Thuật ngữ “heteroxyclyl cầu” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến cấu trúc vòng có 5 đến 15 nguyên tử vòng (trong đó ít nhất một nguyên tử vòng là nguyên tử khác loại, ví dụ, nguyên tử nitơ, nguyên tử oxy hoặc nguyên tử lưu huỳnh), mà được tạo thành với hai hoặc nhiều cấu trúc vòng được gắn với nhau bằng hai nguyên tử vòng không cạnh nhau. Tùy ý, nguyên tử vòng (ví dụ, nguyên tử cacbon, nguyên tử nitơ hoặc nguyên tử lưu huỳnh) của cấu trúc vòng có thể được oxy hóa. Heteroxyclyl cầu bao gồm, ví dụ, “heteroxyclyl cầu có từ 5 đến 10 cạnh”, “heteroxyclyl cầu có từ 6 đến 11 cạnh”, “heteroxyclyl cầu có từ 6 đến 9 cạnh”, “heteroxyclyl cầu có từ 7 đến 9 cạnh” và hợp chất tương tự. Các ví dụ cụ thể





vòng tất cả là cacbon có từ 5-15 cạnh hoặc nhóm vòng đa vòng dung hợp có hệ thống  $\pi$ -electron liên hợp, và có thêm từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm O, S và N. Heteroaryl tốt hơn là heteroaryl có từ 5 đến 8 cạnh, và ưu tiên hơn heteroaryl có từ 5 hoặc 6 cạnh. Các ví dụ cụ thể về heteroaryl bao gồm nhưng không bị giới hạn đến furyl, thienyl, pyrrolyl, thiazolyl, isothiazolyl, thiadiazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, oxadiazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, 1,2,3-triazolyl, 1,2,4-triazolyl, 1,2,3-oxadiazolyl, 1,2,4-oxadiazolyl, 1,2,5-oxadiazolyl, 1,3,4-oxadiazolyl, pyridyl, 2-pyridonyl, 4-pyridonyl, pyrimidyl, pyridazinyl, pyrazinyl, 1,2,3-triazinyl, 1,3,5-triazinyl, 1,2,4,5-tetrazinyl, azacycloheptatrienyl, 1,3-diazacycloheptatrienyl, azacyclooctatetraenyl và hợp chất tương tự. Vòng heteroaryl có thể được dung hợp với vòng aryl, heterocyclyl hoặc xycloalkyl, trong đó vòng này liên kết với cấu trúc chính là vòng heteroaryl. Các ví dụ của nó bao gồm:



Sự diễn tả “nguyên tử cacbon, nguyên tử nitơ hoặc nguyên tử lưu huỳnh được oxi hóa” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến sự tạo thành cấu trúc C=O, N=O, S=O hoặc SO<sub>2</sub>.

“Được thế” đề cập đến một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong một nhóm, tốt hơn là đến 5, ưu tiên hơn là từ 1 đến 3 nguyên tử hydro, độc lập là được thế bằng một số tương ứng các phần tử thế. Tất nhiên các phần tử thế này chỉ tồn tại trong vị trí hóa học có thể của chúng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể xác định được là liệu sự thế này là có thể hay không thể bằng kinh nghiệm hoặc lý thuyết không cần phải nỗ lực nhiều. Ví dụ, sự kết hợp của amino hoặc hydroxy có hydro tự do và nguyên tử cacbon có liên kết không no (như olefinic) có thể không ổn định.

Hiệu quả của sáng chế

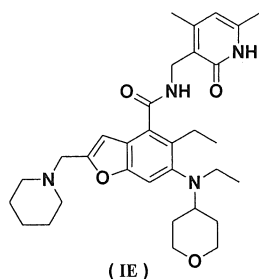
So với các giải pháp trước đây, giải pháp kỹ thuật theo sáng chế có các hữu ích sau:

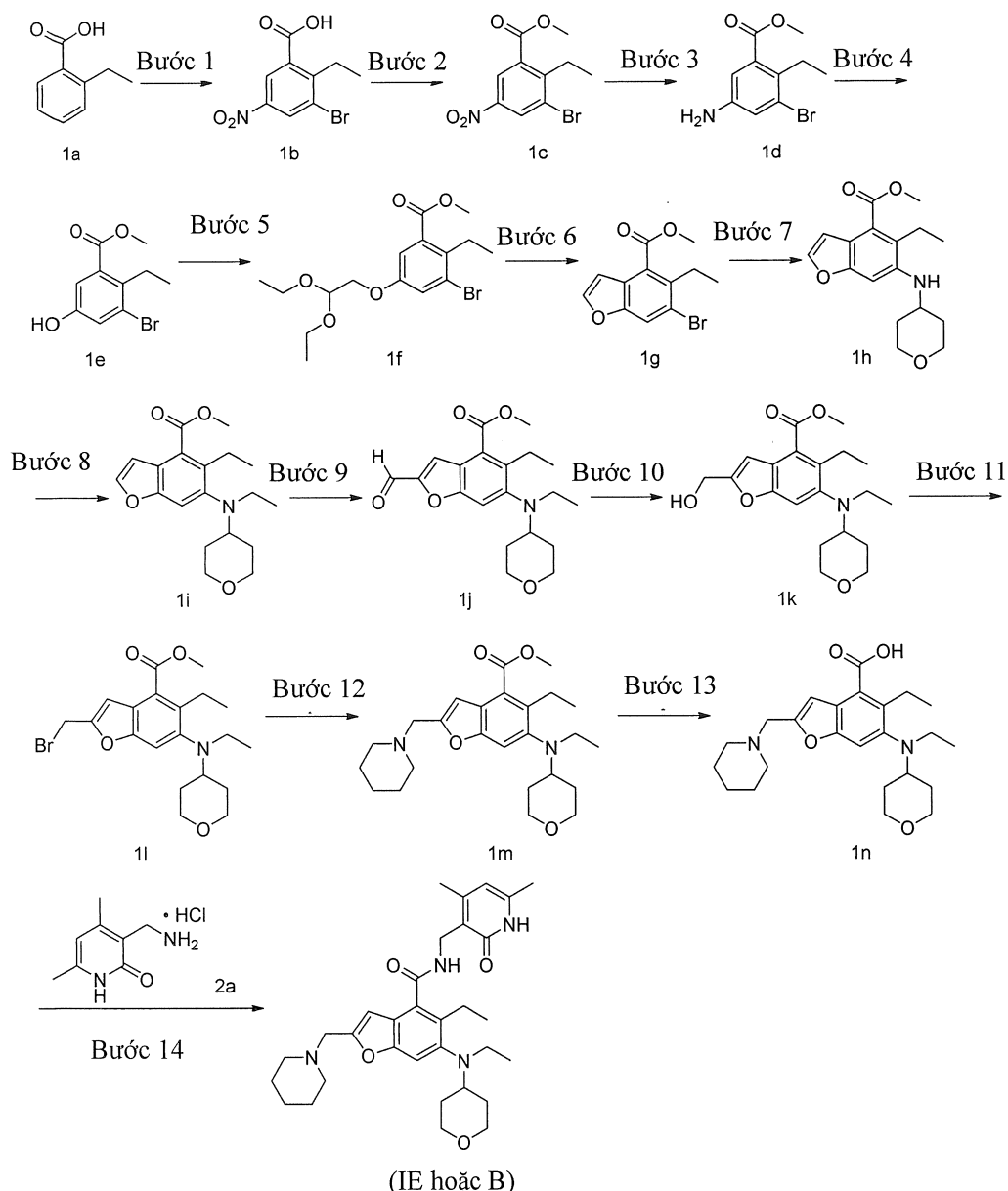
Việc dùng tổ hợp chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK theo sáng chế có hiệu quả ức chế đáng kể sự tăng sinh các tế bào SU-DHL-4 và SU-DHL-6, cũng như hiệu quả hiệp đồng; việc dùng kết hợp cũng có hiệu quả ức chế đáng kể đối với sự tăng sinh tế bào DOHH-2 u lymphô tế bào B, cũng như hiệu quả hiệp đồng đáng kể.

### Ví dụ thực hiện sáng chế

Các giải pháp thí nghiệm điển hình để sử dụng trong y tế chế phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh đái tháo đường được cung cấp dưới đây để chứng minh hoạt tính thích hợp và hiệu quả kỹ thuật có lợi của chế phẩm theo sáng chế. Tuy nhiên, nên được hiểu rằng giải pháp thí nghiệm sau chỉ là các ví dụ của sáng chế và không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, dựa trên kiến thức trong bản mô tả này, có thể tạo nên những thay đổi hoặc những cải biến thích hợp đối với các giải pháp kỹ thuật của sáng chế đều không tách rời khỏi phạm vi của sáng chế.

Ví dụ so sánh 1. Điều chế *N*-((4,6-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmethyl)benzofuran-4-carboxamid có công thức (IE) (hợp chất B)





### Bước 1

#### Axit 3-brom-2-etyl-5-nitrobenzoic

Cho axit 2-etylbenzoic **1a** (20,0 g, 133 mmol, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong “*Journal of the American Chemical Society*, 1991, 113(13), 4931-6”) vào 150 mL axit sulfuric, sau đó bổ sung natri nitrat (11,3 g, 133 mmol) theo các mẻ trong bể đá lạnh. Khuấy dung dịch phản ứng này trong 3 giờ, sau đó bổ sung *N*-bromsuxinimit (2,6 g, 14,5 mmol) theo từng mẻ. Khuấy hệ thống phản ứng này trong 1 giờ ở 60°C. Sau khi hoàn thành phản ứng này, rót dung dịch phản ứng này vào trong nước đá, khuấy kỹ và lọc. Rửa dịch lọc này bằng nước, và cô đặc dưới áp suất thấp thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề axit 3-brom-2-etyl-5-nitrobenzoic **1b** (35 g) là chất rắn màu trắng, mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

## Bước 2

## Metyl 3-brom-2-etyl-5-nitrobenzoat

Hòa tan axit 3-brom-2-etyl-5-nitrobenzoic thô **1b** (35 g, 128 mmol) trong 200 mL *N,N*-dimetylformamit, sau đó bổ sung iodometan (21,8 g, 153 mmol) và kali carbonat (35,3 g, 255 mmol). Khuấy hệ thống phản ứng này trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi hoàn thành phản ứng này, cô đặc dung dịch phản ứng này dưới áp suất thấp. Thêm vào dung dịch phản ứng này nước dư, và chiết bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng nước và dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề metyl 3-brom-2-etyl-5-nitrobenzoat **1c** (36 g) là dầu màu vàng, mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

## Bước 3

## Metyl 5-amino-3-brom-2-etylbenzoat

Bổ sung metyl 3-brom-2-etyl-5-nitrobenzoat thô **1c** (35,0 g, 121 mmol) vào 250 mL etanol và 150 mL nước. Gia nhiệt dung dịch phản ứng này đến 70°C, bổ sung amoni clorua (52,8 g, 969 mmol), sau đó bổ sung bột sắt (34 g, 606 mmol) theo mẻ. Khuấy hệ thống phản ứng này trong 2 giờ ở 70°C. Sau khi hoàn thành phản ứng này, lọc dung dịch phản ứng này qua xelit trong khi nóng. Rửa bánh lọc bằng etanol nóng, sau đó gom dịch lọc và cô đặc dưới áp suất thấp. Bổ sung etyl axetat và dung dịch natri bicarbonat bão hòa. Tách hai pha, và chiết pha chứa nước bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và etyl axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề metyl 5-amino-3-brom-2-etylbenzoat **1d** (22,0 g, hiệu suất 70%) là chất rắn màu vàng.

## Bước 4

## Metyl 3-brom-2-etyl-5-hydroxybenzoat

Hòa tan metyl 5-amino-3-brom-2-etylbenzoat **1d** (15,0 g, 58 mmol) trong 10 mL axetonitril, sau đó bổ sung 200 mL axit sulfuric 10%. Khuấy kỹ dung dịch phản ứng này và làm lạnh đến 3°C trong bể muối-đá, sau đó bổ sung nhỏ giọt 10 mL dung dịch điều chế trước natri nitrit (4,4 g, 64 mmol). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 4 giờ ở nhiệt độ trên, bổ sung nhỏ giọt 200 mL axit sulfuric 50%, sau đó khuấy trong 1 giờ ở 90°C. Sau khi hoàn thành phản ứng này, chiết dung dịch phản ứng này ba lần bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và etyl axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề metyl

3-brom-2-etyl-5-hydroxybenzoat **1e** (5,5 g, hiệu suất 37%) là chất rắn màu nâu.

#### Bước 5

##### Metyl 3-brom-5-(2,2-dietoxyetoxy)-2-etylbenzoat

Hòa tan metyl 3-brom-2-etyl-5-hydroxybenzoat **1e** (35 g, 135 mmol) trong 200 mL *N,N*-dimetylformamit, sau đó bổ sung 2-brom-1,1-dietoxyetan (40 g, 202 mmol) và kali carbonat (37 g, 269 mmol). Khuấy hệ thống phản ứng này ở 120°C trong 12 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng này, cô đặc dung dịch phản ứng này dưới áp suất thấp để loại bỏ *N,N*-dimetylformamit. Bổ sung nước vào dung dịch phản ứng này, và chiết ba lần bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và etyl axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề metyl 3-brom-5-(2,2-dietoxyetoxy)-2-etylbenzoat **1f** (40 g, hiệu suất 80%) là dầu màu vàng sáng.

#### Bước 6

##### Metyl 6-brom-5-etylbenzofuran-4-carboxylat

Bổ sung axit polyphosphoric (30 g) vào 400 mL toluen. Gia nhiệt dung dịch phản ứng này đến 100°C, và bổ sung 50 mL dung dịch điều chế trước metyl 3-brom-5-(2,2-dietoxyetoxy)-2-etylbenzoat **1f** (40 g, 107 mmol) trong toluen kèm khuấy. Khuấy dung dịch phản ứng này trong 16 giờ ở 100°C. Sau khi hoàn thành phản ứng này, gạn phần nổi. Bổ sung nước và etyl axetat vào phần còn lại. Tách hai pha, và chiết pha chứa nước bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa và dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và etyl axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề metyl 6-brom-5-etylbenzofuran-4-carboxylat **1g** (11,8 g, hiệu suất 39%) là chất rắn màu vàng.

#### Bước 7

##### Metyl 5-etyl-6-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat

Hòa tan metyl 6-brom-5-etylbenzofuran-4-carboxylat **1g** (11,0 g, 39 mmol), tetrahydro-2H-pyran-4-amin (5,89 g, 58 mmol), tris(dibenzylidenacetone)dipalladi (3,6 g, 3,9 mmol), (9 mmol) bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtalen (4,86 g, 7,8 mmol) và cesi carbonat (38 g, 117 mmol) trong 100 mL toluen. Khuấy dung dịch phản ứng này trong 12 giờ ở 100°C. Sau khi hoàn thành phản ứng này, lọc dung dịch phản ứng này qua xelit, và rửa bánh lọc này bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và etyl

axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề methyl 5-ethyl-6-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat **1h** (10,0 g, hiệu suất 85%) là chất rắn màu vàng.

#### Bước 8

Methyl 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat

Hòa tan methyl 5-ethyl-6-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat **1h** (10,0 g, 0,033 mmol) trong 150 mL 1,2-dicloetan, sau đó bổ sung axetaldehyt (7,2 g, 0,165 mmol) và axit axetic (9,9 g, 0,165 mmol). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 1 giờ, và bổ sung natri triaxetoxybohuydra (20,8 g, 0,1 mmol). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi hoàn thành phản ứng này, cô đặc dung dịch phản ứng này dưới áp suất thấp, trung hòa bằng dung dịch natri bicarbonat bão hòa, và chiết bằng ethyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và ethyl axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề methyl 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat **1i** (7,8 g, hiệu suất 71%) là chất rắn màu trắng.

MS *m/z* (LC-MS): 332,4 [M+1]

#### Bước 9

Methyl

5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-formylbenzofuran-4-carboxylat

Hòa tan methyl 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat **1i** (1,6 g, 4,8 mmol) trong 25 mL tetrahydrofuran. Làm lạnh dung dịch phản ứng này xuống -70°C, và bổ sung nhỏ giọt lithi diisopropylamit 2,0 *M* (3,6 mL, 7,3 mmol) dưới khí argon. Khuấy dung dịch phản ứng này trong 90 phút, và bổ sung *N,N*-dimetylformamit (536 mg, 7,3 mmol). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 2 giờ, sau đó làm ấm từ từ đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung vào dung dịch phản ứng này lượng dư amoni clorua, khuấy kỹ và chiết ba lần bằng ethyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và ethyl axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề methyl 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-formylbenzofuran-4-carboxylat **1j** (1,3 g, hiệu suất 75%) là dầu màu vàng.

MS *m/z* (ESI): 360,2 [M+1]

#### Bước 10

## Metyl

5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(hydroxymetyl)benzofuran-4-carboxylat

Hòa

tan

metyl

5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-formylbenzofuran-4-carboxylat **1j** (1,4 g, 3,9 mmol) trong 5 mL tetrahydrofuran và 10 mL metanol, sau đó bổ sung natri bohydrua (222 mg, 5,8 mmol). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi hoàn thành phản ứng này, cô đặc dung dịch phản ứng này dưới áp suất thấp, bổ sung nước và dung dịch natri bicarbonat bão hòa, và chiết ba lần bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với *n*-hexan và etyl axetat là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề metyl 5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(hydroxymetyl)benzofuran-4-carboxylat **1k** (1,4 g, hiệu suất 99%) là dầu màu vàng.

## Bước 11

## Metyl

2-(brommetyl)-5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat

Hòa tan metyl 5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(hydroxymetyl)benzofuran-4-carboxylat **1k** (1,0 g, 2,8 mmol) trong 30 mL tetrahydrofuran, sau đó bổ sung nhỏ giọt photpho tribromua (1,12 g, 4,2 mmol). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi hoàn thành phản ứng này, trung hòa dung dịch phản ứng này bằng dung dịch natri bicarbonat bão hòa, và chiết bằng etyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề metyl 2-(brommetyl)-5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat **11** (1,15 g) là dầu màu vàng, mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

## Bước 12

## Metyl

5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmetyl)benzofuran-4-carboxylat

Hòa tan metyl 2-(brommetyl)-5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)benzofuran-4-carboxylat thô **11** (1,15 g, 2,7 mmol) trong 15 mL axetonitril, sau đó bổ sung nhỏ giọt 10 mL dung dịch điều chế trước piperidin (362 mg, 4,3 mmol) trong axetonitril. Khuấy dung dịch phản ứng này trong 30

phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi hoàn thành phản ứng này, cô đặc dung dịch phản ứng này dưới áp suất thấp, và bổ sung ethyl axetat và dung dịch natri bicarbonat bão hòa. Tách hai pha, và chiết pha chứa nước bằng ethyl axetat. Gom các pha hữu cơ, rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với dichlorometan và metanol là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề methyl 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmethyl)benzofuran-4-carboxylat **1m** (1,2 g, hiệu suất 99%) là dầu màu vàng.

MS *m/z* (LC-MS): 429,2[M+1]

### Bước 13

#### Axit

5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmethyl)benzofuran-4-carboxylic

Hòa tan methyl 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmethyl) benzofuran-4-carboxylat **1m** (1,2 g, 2,7 mmol) trong 5 mL tetrahydrofuran và 20 mL metanol, sau đó bổ sung 5 mL dung dịch natri hydroxit 4*M*. Khuấy dung dịch phản ứng này trong 12 giờ ở 60°C. Sau khi hoàn thành phản ứng này, bổ sung axit hydrocloric đặc để điều chỉnh pH của dung dịch phản ứng này đến 4. Cô đặc phản ứng này dưới áp suất thấp, và hòa tan phần còn lại trong hỗn hợp dung môi diclorometan và metanol (thể tích:thể tích=5:1) và lọc. Rửa bánh lọc này bằng hỗn hợp dung môi diclorometan và metanol (thể tích:thể tích=5:1). Gom các dịch lọc, và cô đặc dưới áp suất thấp thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề axit 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmethyl)benzofuran-4-carboxylic **1n** (1,1 g) là chất rắn màu vàng, mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

MS *m/z* (LC-MS): 415,2[M+1]

### Bước 14

Điều chế hợp chất có công thức (IE) (được định nghĩa là hợp chất B)

Hòa tan axit 5-ethyl-6-(ethyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmethyl)benzofuran-4-carboxylic **1n** (1,0 g, 2,4 mmol) trong 30 mL *N,N*-dimethylformamit, sau đó bổ sung 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (696 mg, 3,6 mmol), 1-hydroxybenzotriazol (490 mg, 3,6 mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (1,56 g, 12,1 mmol). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 1 giờ, sau đó bổ sung 3-(aminomethyl)-4,6-dimethylpyridin-2(1*H*)-on hydroclorua **2a** (593 mg, 3,0 mmol, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong đơn sáng chế

“WO2014097041”). Khuấy dung dịch phản ứng này trong 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi hoàn thành phản ứng này, thêm vào dung dịch phản ứng này nước dư, và chiết bằng hỗn hợp dung môi diclorometan và metanol (thể tích:thể tích=8:1). Gom các pha hữu cơ, rửa bằng nước và dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô qua natri sulfat khan, và lọc. Cô đặc dịch lọc dưới áp suất thấp, và tinh chế phần dư thu được bằng sắc ký cột silicagel với dichlorometan và metanol là dịch rửa giải thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề *N*-((4,6-dimetyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-5-etyl-6-(etyl(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)-2-(piperidin-1-ylmetyl)benzofuran-4-carboxamit **2** (750 mg, hiệu suất 57%) là chất rắn màu trắng.

MS  $m/z$  (ESI): 549,7 [M+1]

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11,48(s, 1H), 8,15(t, 1H), 7,39(s, 1H), 6,46(s, 1H), 5,86(s, 1H), 4,32(d, 2H), 3,83(d, 2H), 3,54(s, 2H), 3,21(t, 2H), 3,01-3,07(m, 2H), 2,92-2,97(m, 1H), 2,77-2,82(m, 2H), 2,39(brs, 4H), 2,23(s, 3H), 2,11(s, 3H), 1,64-1,67(brd, 2H), 1,47-1,55(m, 6H), 1,36-1,37(brd, 2H), 1,02(t, 3H), 0,82(t, 3H).

Ví dụ 1. Hiệu quả của chế phẩm theo sáng chế theo sáng chế đối với sự tăng sinh tế bào DOHH-2 *in vitro*

Các hợp chất thử nghiệm: hợp chất có công thức (IE) (được định nghĩa là hợp chất B, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong WO2017084494 (đơn sáng chế PCT/CN2016/104318), xem ví dụ so sánh 1), và hợp chất có công thức (IIA) (được định nghĩa là hợp chất A, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong đơn sáng chế WO2016007185A1).

Dòng tế bào: tế bào DOHH-2 u lymphô tế bào B người (được mua từ DSMZ), được nuôi cấy *in vitro* trong môi trường RPMI 1640 chứa 10% huyết thanh thai bò (fetal bovine serum-FBS).

Bào chế dung dịch hợp chất thử nghiệm:

Các hợp chất thử nghiệm tất cả được bào chế với DMSO thành dung dịch gốc 10 mM, mà được bào chế thành nồng độ mong muốn bằng môi trường không có huyết thanh khi sử dụng.

Phương pháp thí nghiệm:

Số lượng các tế bào nhất định trong pha sinh trưởng theo hàm loga được nuôi cấy trong đĩa nuôi cấy 96 lỗ. Sau 24 giờ, các tế bào này được bổ sung các hợp chất thử nghiệm trong các nồng độ khác nhau (1-100000 nM), và ủ trong 72 giờ. Bổ sung vào mỗi lỗ dung dịch làm việc MTT. Sau 4 giờ, phân giải các tế bào này bằng dung dịch bộ ba, và đo giá trị OD ở bước sóng 570 nm bằng thiết bị đọc vi đĩa.

Phân tích dữ liệu:

Tốc độ sinh trưởng của tế bào được tính toán bằng công thức sau:

$$\text{Tốc độ ức chế} = (\text{Giá trị OD của lỗ đối chứng} - \text{Giá trị OD của lỗ được dùng dược chất}) / \text{Giá trị OD của lỗ đối chứng} \times 100\%;$$

Nồng độ hữu hiệu một nửa  $IC_{50}$  được tính toán sử dụng phương pháp hồi quy không tuyến tính theo tốc độ ức chế của mỗi nồng độ.

Trong dùng kết hợp, tỷ lệ nồng độ của hợp chất A so với hợp chất B là 1:10. Chỉ số kết hợp (combination index-CI) được tính toán bằng chương trình Calcu-Syn sử dụng phương pháp hiệu quả trung bình để đánh giá mối quan hệ giữa hai hợp chất này trong khi dùng kết hợp ( $CI < 1$  đề cập đến hiệu quả hiệp đồng,  $CI = 1$  đề cập đến hiệu quả bổ trợ,  $CI > 1$  đề cập đến hiệu quả đối kháng).

Các kết quả thí nghiệm:

Bảng 1. Hiệu quả của một hợp chất đối với sự tăng sinh tế bào DOHH-2

| Hợp chất   | $IC_{50}$ (nM) |
|------------|----------------|
| Hợp chất A | 324,6          |
| Hợp chất B | 5919,0         |

Bảng 2. Hiệu quả ức chế của việc dùng kết hợp đối với sự tăng sinh tế bào DOHH-2

| Hợp chất                | CI               |                  |                  |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                         | ED <sub>50</sub> | ED <sub>75</sub> | ED <sub>90</sub> |
| Hợp chất A + Hợp chất B | 0,09             | 0,09             | 0,09             |

Kết luận thí nghiệm:

Có thể được nhìn thấy từ dữ liệu trong bảng trên đây rằng việc dùng kết hợp hợp chất A và hợp chất B có hiệu quả ức chế hiệp đồng đối với sự tăng sinh tế bào DOHH-2 *in vitro*.

Ví dụ 2. Hiệu quả của chế phẩm theo sáng chế theo sáng chế đối với sự tăng sinh tế bào SU-DHL-4 và SU-DHL-6 *in vitro*

Các hợp chất thử nghiệm: hợp chất có công thức (IE) (được định nghĩa là hợp chất B, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong WO2017084494 (đơn sáng chế PCT/CN2016/104318), xem ví dụ so sánh 1), và hợp chất có công thức (IIA) (được định nghĩa là hợp chất A, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong đơn sáng chế WO2016007185A1).

Dòng tế bào: tế bào SU-DHL-4 và SU-DHL-6 u lymphô tế bào B người (được mua từ ATCC), được nuôi cấy *in vitro* trong môi trường RPMI 1640 chứa 10% huyết thanh thai bò (FBS).

Bào chế dung dịch hợp chất thử nghiệm:

Các hợp chất thử nghiệm tất cả được bào chế với DMSO thành dung dịch gốc 10 mM, mà được bào chế thành nồng độ mong muốn bằng môi trường không có huyết thanh khi sử dụng.

Phương pháp thí nghiệm:

Số lượng các tế bào nhất định trong pha sinh trưởng theo hàm loga được nuôi cấy trong đĩa nuôi cấy 96 lỗ. Sau 24 giờ, các tế bào này được bổ sung các hợp chất thử nghiệm trong các nồng độ khác nhau (1-40000 nM), và ủ trong 72 giờ. Bổ sung vào mỗi lỗ dung dịch làm việc MTT. Sau 4 giờ, phân giải các tế bào này bằng dung dịch bộ ba (10% SDS, 5% isobutanol, 0,012 mol/L HCl) ở 37°C qua đêm, và đo giá trị OD ở bước sóng 570 nm bằng thiết bị đọc vi đĩa.

Phân tích dữ liệu:

Tốc độ sinh trưởng của tế bào được tính toán bằng công thức sau:

Tốc độ ức chế = (Giá trị OD của lỗ đối chứng - Giá trị OD của lỗ được dùng được chất) / Giá trị OD của lỗ đối chứng  $\times 100\%$ ;

Nồng độ hữu hiệu một nửa  $IC_{50}$  được tính toán sử dụng phương pháp hồi quy không tuyến tính theo tốc độ ức chế của mỗi nồng độ.

Trong việc dùng kết hợp, tỷ lệ nồng độ của hợp chất A so với hợp chất B là 1:2 (cho SU-DHL-4) và 1:4 (cho SU-DHL-6). Chỉ số kết hợp (CI) được tính toán bằng chương trình Calcu-Syn sử dụng phương pháp hiệu quả trung bình để đánh giá mối quan hệ giữa hai hợp chất này trong khi dùng kết hợp (CI<1 đề cập đến hiệu quả hiệp đồng, CI=1 đề cập đến hiệu quả bổ trợ, CI>1 đề cập đến hiệu quả đối kháng).

Các kết quả thí nghiệm:

Bảng 3. Hiệu quả của một hợp chất đối với sự tăng sinh tế bào SU-DHL-4 và SU-DHL-6

| Dòng tế bào | $IC_{50}(nM)$ |            |
|-------------|---------------|------------|
|             | Hợp chất A    | Hợp chất B |
| SU-DHL-4    | 1059          | 2169       |
| SU-DHL-6    | 711           | 4660       |

Bảng 4. Hiệu quả ức chế của việc dùng kết hợp đối với sự tăng sinh tế bào SU-DHL-4 và SU-DHL-6

| Hợp chất A+ Hợp chất B | CI   |      |      |
|------------------------|------|------|------|
|                        | ED50 | ED75 | ED90 |
| SU-DHL-4               | 0,77 | 0,60 | 0,47 |
| SU-DHL-6               | 0,57 | 0,36 | 0,23 |

Kết luận thí nghiệm:

Có thể được nhìn thấy từ dữ liệu trong bảng trên đây rằng việc dùng kết hợp hợp chất A và hợp chất B có hiệu quả ức chế hiệp đồng đối với sự tăng sinh tế bào SU-DHL-4 và SU-DHL-6 *in vitro*.

Ví dụ 3: Hiệu quả của chế phẩm theo sáng chế đối với khối u ghép dưới da trong chuột trụi lông được tiêm truyền tế bào DOHH-2 u lymphô nang người

Các hợp chất thử nghiệm: hợp chất có công thức (IE) (được định nghĩa là hợp chất B, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong WO2017084494 (đơn sáng chế PCT/CN2016/104318), xem ví dụ so sánh 1), và hợp chất có công thức (IIA) (được định nghĩa là hợp chất A, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong đơn sáng chế WO2016007185A1).

Động vật thí nghiệm: chuột trụi lông BALB/cA-nude, 5-6 tuần tuổi, cái, được mua từ Shanghai Lingchang Biotechnology Co., Ltd., theo lixăng sử dụng động vật thí nghiệm No.: SCXK (Shanghai) 2013-0018 và chứng chỉ động vật No.: 2013001818958, điều kiện cho ăn: mức SPF.

Bào chế dung dịch hợp chất thử nghiệm:

Các hợp chất thử nghiệm tất cả được bào chế với dung dịch 0,2% Tween 80+0,5% CMC, và pha loãng đến nồng độ tương ứng.

Phương pháp thí nghiệm:

(1) Chuột trụi lông được tiêm truyền dưới da tế bào u lymphô DOHH-2. Khi khối u tăng trưởng đến 100-200 mm<sup>3</sup>, các con vật được chia nhóm ngẫu nhiên (D0). Liều dùng và chế độ dùng được thể hiện trong Bảng 5.

(2) Quan sát và ghi chép: thể tích khối u được đo từ 2 đến 3 lần mỗi tuần, chuột được cân trọng lượng, và dữ liệu được ghi lại.

(3) Phép đo khối u và điểm cuối

Điểm cuối phụ thuộc chủ yếu vào là liệu sự tăng trưởng của khối u này là có bị chậm lại hay là liệu con chuột này có được chữa trị. Thể tích khối u (theo mm<sup>3</sup>) được đo hai lần một tuần bằng thước cặp theo hai chiều.

Thể tích khối u (V) được tính toán là:

$V=0,5 \times a \times b^2$ , trong đó a và b tương ứng là chiều dài và chiều rộng;

$T/C (\%) = (T - T_0) / (C - C_0) \times 100$ , trong đó T và C thể hiện thể tích khối u khi kết thúc thí nghiệm này;  $T_0$  và  $C_0$  là thể tích khối u khi bắt đầu thí nghiệm này. Giá trị T/C (phần trăm) được chỉ định là hiệu quả kháng khối u.

(4) Phân tích dữ liệu: thống kê được tóm tắt, bao gồm giá trị trung bình và sai số chuẩn của giá trị trung bình (standard error of mean-SEM), phân tích thống kê về các sự khác biệt trong thể tích khối u giữa các nhóm, và phân tích dữ liệu thu được do sự tương tác thuốc mà được thực hiện ở thời điểm điều trị tối ưu sau lần dùng cuối cùng (Ngày 21 sau khi chia nhóm). Phân tích phương sai một chiều được thực hiện để so sánh thể tích khối u và trọng lượng khối u giữa các nhóm.

Khi thống kê F không có ý nghĩa thu được ( $p < 0,001$ , phương sai điều trị so với phương sai lỗi), so sánh giữa các nhóm được thực hiện sử dụng thử nghiệm Games-Howell. Tất cả dữ liệu được phân tích sử dụng SPSS17.0, và  $P < 0,05$  được xem là có ý nghĩa thống kê.

Các kết quả thí nghiệm:

Bảng 5. Hiệu quả của việc dùng kết hợp đối với sự tăng sinh tế bào DOHH-2

| Nhóm                                      | Ngày dùng | Đường dùng | Thể tích khối u trung bình (mm <sup>3</sup> ) D0 | SEM  | Thể tích khối u trung bình (mm <sup>3</sup> ) D21 | SEM    | %T/C D21 | % Tốc độ ức chế khối u D21 |   | Giá trị P D21 | Số các con vật trong mỗi nhóm khi kết thúc thí nghiệm này |
|-------------------------------------------|-----------|------------|--------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------|--------|----------|----------------------------|---|---------------|-----------------------------------------------------------|
| Dung môi                                  | D0-20     | PO, BID    | 106,4                                            | ±1,6 | 1347,2                                            | ±178,2 | -        | -                          |   | -             | 10                                                        |
| Hợp chất A 50 mg/kg                       | D0-20     | PO, BID    | 111,1                                            | ±2,3 | 742,0                                             | ±108,7 | 51       | 49                         | * | 0,027         | 6                                                         |
| Hợp chất B 50 mg/kg                       | D0-20     | PO, BID    | 107,7                                            | ±4,4 | 914,1                                             | ±153,2 | 65       | 35                         | * | 0,117         | 6                                                         |
| Hợp chất A 50 mg/kg + hợp chất B 50 mg/kg | D0-20     | PO, BID    | 105,8                                            | ±3,4 | 414,2                                             | ±86,4  | 25       | 75                         |   | 0,002         | 6                                                         |

D0: thời gian dùng thuốc đầu tiên; PO: (dùng theo đường miệng) dùng theo đường miệng; BID: hai lần một ngày; giá trị P đề cập đến sự so sánh với dung môi; \* $P < 0,05$ , so với hợp chất A 50 mg/kg + hợp chất B 50 mg/kg, bằng thử nghiệm t Student; số lượng ba con chuột khi bắt đầu thử nghiệm này, nhóm dung môi  $n=10$ , nhóm điều trị  $n=6$ .

Kết luận thí nghiệm:

Có thể được nhìn thấy dữ liệu trong bảng 5 rằng hợp chất A (50 mg/kg, PO, QD×21) ức chế sự tăng trưởng của khối u cấy ghép dưới da trong chuột trụi lông được tiêm truyền tế bào DOHH-2, và tốc độ ức chế tăng trưởng khối u là 49%

( $P < 0,05$ , so với dung môi). Hợp chất B (50 mg/kg, PO, QD×21) có hiệu quả ức chế nhất định đối với tế bào DOHH-2, và tốc độ ức chế tăng trưởng khối u là 35% ( $P > 0,05$ , so với dung môi). Khi hai hợp chất này được dùng kết hợp, tốc độ ức chế tăng trưởng khối u tăng đến 75%, và hiệu quả là lớn hơn đáng kể so với chỉ mình hợp chất A hoặc hợp chất B ( $P < 0,05$ , so với hợp chất riêng rẽ, xem Fig. 3). Fig. 4 cho thấy rằng tổ hợp gồm hợp chất A và hợp chất B không làm giảm đáng kể trọng lượng và các triệu chứng khác.

Tóm lại, hiệu quả kết hợp của chất ức chế BTK hợp chất A và chất ức chế EZH2 hợp chất B theo sáng chế là tốt hơn so với hiệu quả của một hợp chất, và tổ hợp này có hiệu quả hiệp đồng.

Ví dụ 4: Hiệu quả của chế phẩm theo sáng chế đối với khối u ghép dưới da trong chuột được tiêm truyền tế bào SU-DHL-4 u lymphô tế bào B người

Các hợp chất thử nghiệm: hợp chất có công thức (IE) (được định nghĩa là hợp chất B, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong WO2017084494 (đơn sáng chế PCT/CN2016/104318), xem ví dụ so sánh 1), và hợp chất có công thức (IIA) (được định nghĩa là hợp chất A, được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong đơn sáng chế WO2016007185A1).

Động vật thí nghiệm: chuột SCID.BG, 5-6 tuần tuổi, cái, được mua từ Shanghai Lingchang Biotechnology Co., Ltd., theo lixăng sử dụng động vật thí nghiệm No.: SCXK (Shanghai) 2013-0018 và chứng chỉ động vật No.: 2013001820833, điều kiện cho ăn: cấp độ SPF.

Bào chế dung dịch hợp chất thử nghiệm:

Các hợp chất thử nghiệm tất cả được bào chế với dung dịch 0,2% Tween 80+0,5% CMC, và pha loãng đến nồng độ tương ứng.

Phương pháp thí nghiệm:

(1) Chuột được tiêm truyền dưới da tế bào SU-DHL-4 (tế bào SU-DHL-4 u lymphô tế bào B được mua từ ATCC). Khi khối u tăng trưởng đến 100-150 mm<sup>3</sup>, phân nhóm các con vật này theo thể tích khối u (D0). Liều dùng và chế độ dùng được thể hiện trong Bảng 6.

(2) Quan sát và ghi chép: thể tích khối u được đo từ 2 đến 3 lần mỗi tuần, chuột được cân trọng lượng, và dữ liệu được ghi lại.

(3) Phép đo khối u và điểm cuối

Điểm cuối phụ thuộc chủ yếu vào là liệu sự tăng trưởng của khối u này là có bị chậm lại hay là liệu con chuột này có được chữa trị. Thể tích khối u (in mm<sup>3</sup>) được đo hai lần một tuần bằng thước cặp theo hai chiều.

Thể tích khối u (V) được tính toán là:

$V = 0,5 \times a \times b^2$ , trong đó a và b tương ứng là chiều dài và chiều rộng;

$T/C (\%) = (T - T_0) / (C - C_0) \times 100$ , trong đó T và C thể hiện thể tích khối u khi

kết thúc thí nghiệm này;  $T_0$  và  $C_0$  là thể tích khối u khi bắt đầu thí nghiệm này. Giá trị  $T/C$  (phần trăm) được chỉ định là hiệu quả kháng khối u.

Tốc độ ức chế tăng trưởng khối u (TGI)(%)=100-T/C(%);

Khi khối u thoái triển, tốc độ ức chế tăng trưởng khối u (TGI)(%)=100-(T-T<sub>0</sub>)/T<sub>0</sub>×100

Nếu thể tích khối u là nhỏ hơn thể tích ban đầu, *nghĩa là*  $T < T_0$  hoặc  $C < C_0$ , nó được xác định là thoái triển một phần (partial regression-PR); nếu khối u biến mất hoàn toàn, nó được xác định là thoái triển hoàn toàn (complete regression-CR).

(4) Phân tích dữ liệu: thống kê được tóm tắt, bao gồm giá trị trung bình và sai số chuẩn của giá trị trung bình (SEM), phân tích thống kê về các sự khác biệt trong thể tích khối u giữa các nhóm, và phân tích dữ liệu thu được do sự tương tác thuốc mà được thực hiện ở thời điểm điều trị tối ưu sau lần dùng cuối cùng (Ngày 14 sau khi phân nhóm. Phân tích phương sai một chiều được thực hiện để so sánh thể tích khối u và trọng lượng khối u giữa các nhóm. Khi thống kê F không có ý nghĩa thu được ( $p < 0,001$ , phương sai điều trị so với phương sai lỗi), phân tích thống kê Mann-Whitney một số dư được thực hiện để so sánh thể tích khối u của hai nhóm này, và  $P < 0,05$  được xem là có ý nghĩa thống kê.

Các kết quả thí nghiệm:

Bảng 6. Hiệu quả của việc dùng kết hợp đối với khối u ghép dưới da trong chuột được tiêm truyền tế bào SU-DHL-4 u lymphô tế bào B người

| Nhóm                                      | Dùng  | Đường dùng | Thể tích khối u trung bình (mm <sup>3</sup> ) D0 | SEM | Thể tích khối u trung bình (mm <sup>3</sup> ) D14 | SEM    | %T/C D14 | % tốc độ ức chế khối u D14 |    | Thoái triển một phần | Thoái triển hoàn toàn | Số các con vật trong mỗi nhóm khi kết thúc thí nghiệm này |
|-------------------------------------------|-------|------------|--------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------|--------|----------|----------------------------|----|----------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------|
| Dùng môi                                  | D0-13 | PO, BID    | 113,2                                            | 4,8 | 751,8                                             | ±146,7 | -        | -                          |    | 0                    | 0                     | 8                                                         |
| Hợp chất A 50 mg/kg                       | D0-13 | PO, BID    | 122,4                                            | 4,8 | 276,9                                             | ±73,5  | 24       | 76                         | *  | 1                    | 1                     | 8                                                         |
| Hợp chất B 50 mg/kg                       | D0-13 | PO, BID    | 126,6                                            | 5,3 | 384,7                                             | ±145,0 | 40       | 60                         | *  | 2                    | 1                     | 8                                                         |
| Hợp chất A 50 mg/kg + hợp chất B 50 mg/kg | D0-13 | PO, BID    | 129,7                                            | 3,8 | 186,2                                             | ±66,0  | 9        | 91                         | ** | 2                    | 1                     | 8                                                         |

D0: thời gian dùng thuốc đầu tiên; PO: dùng theo đường miệng; BID: hai lần một ngày; \*P<0,05, \*\*P<0,01, so sánh với dùng môi.

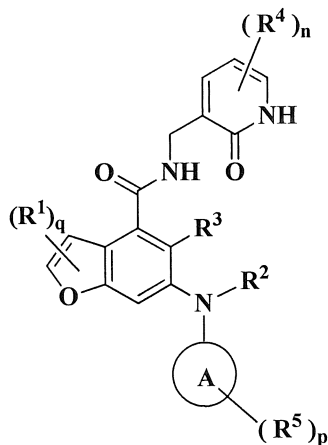
Kết luận thí nghiệm:

Có thể được nhìn thấy dữ liệu trong bảng 6 rằng hợp chất A (50 mg/kg, PO, QD×14) ức chế sự tăng trưởng của khối u cấy ghép dưới da trong chuột được tiêm truyền tế bào SU-DHL-4, và tốc độ ức chế tăng trưởng khối u là 76%; sự thoái triển một phần khối u 1/8 con chuột, và thoái triển hoàn toàn khối u trong 1/8 con chuột. Hợp chất B (50 mg/kg, PO, QD×14) có tốc độ ức chế tăng trưởng khối u là 60% kháng lại các tế bào SU-DHL-4; sự thoái triển một phần khối u 2/8 con chuột, và thoái triển hoàn toàn khối u trong 1/8 con chuột. Khi hợp chất A và hợp chất B được dùng kết hợp, tốc độ ức chế tăng trưởng khối u tăng đến 91%; sự thoái triển một phần khối u trong 2/8 con chuột, và thoái triển hoàn toàn khối u 1/8 con chuột; và hiệu quả là lớn hơn đáng kể so với chỉ mình hợp chất A hoặc hợp chất B (xem Fig. 5). Dùng kết hợp hai hợp chất ức chế đáng kể sự tăng trưởng của khối u cấy ghép dưới da trong chuột được tiêm truyền tế bào SU-DHL-4 u lymphô tế bào B người, và tạo ra sự thoái triển một phần hoặc hoàn toàn khối u này. Khi hai hợp chất này được dùng kết hợp, hiệu quả được cải thiện, và chuột mang khối u có trọng lượng cơ thể giảm, nhưng kháng lại các hợp chất này.

Tóm lại, hiệu quả kết hợp của chất ức chế BTK hợp chất A và chất ức chế EZH2 hợp chất B theo sáng chế là tốt hơn hiệu quả của một hợp chất, và sự kết hợp này có hiệu quả hiệp đồng.

### YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Tổ hợp chứa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK để bào chế được phẩm để điều trị khối u, đặc trưng ở chỗ chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (I)



(I)

hoặc muối được dụng của nó hoặc chất đồng phân lập thể của nó,

trong đó,

vòng A được chọn từ nhóm bao gồm heteroxyclyl và xycloalkyl;

mỗi  $R^1$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, alkyl, haloalkyl, alkoxy, haloalkoxy, amino, nitro, hydroxy, xyano, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$ ,  $-S(O)_mNR^7R^8$  và  $-(CH_2)_xR^a$ , trong đó alkyl, haloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl là độc lập nhau và tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm alkyl, haloalkyl, halogen, amino, nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

$R^a$  được chọn từ nhóm bao gồm halogen, xycloalkyl, heteroxyclyl và  $-NR^7R^8$ , trong đó xycloalkyl và heteroxyclyl là độc lập nhau và tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm alkyl, haloalkyl, halogen, amino, nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

$R^2$  là hydro hoặc alkyl, trong đó alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, xycloalkyl và heteroxyclyl;

$R^3$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, halogen, xyano, alkoxy và haloalkyl;

mỗi  $R^4$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, hydroxy, amino, alkoxy, haloalkoxy, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$ ,

$-S(O)_mNR^7R^8$  và  $-NR^7R^8$ ;

mỗi  $R^5$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, oxo, halogen, haloalkyl, hydroxy, amino, alkoxy, haloalkoxy, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$ ,  $-S(O)_mNR^7R^8$  và  $-NR^7R^8$ ;

$R^6$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, alkoxy, hydroxyalkyl, hydroxy, amino, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

$R^7$  và  $R^8$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, alkoxy, hydroxyalkyl, hydroxy, amino, alkoxy-carbonyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl, trong đó alkyl, amino, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl là độc lập nhau và tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm alkyl, halogen, hydroxy, amino, alkoxy-carbonyl, nitro, xyano, alkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

m là 0, 1 hoặc 2;

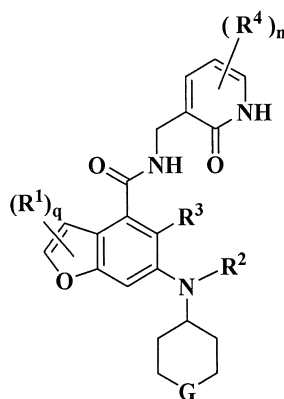
n là 0, 1, 2 hoặc 3;

p là 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5;

q là 0, 1 hoặc 2; và

x là 0, 1, 2 hoặc 3.

2. Tổ hợp theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IA)



(IA)

hoặc muối được dụng của nó hoặc chất đồng phân lập thể của nó, trong đó,

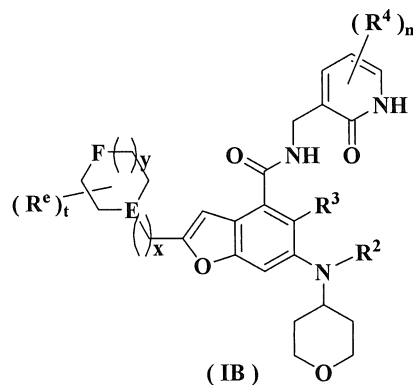
G được chọn từ nhóm bao gồm  $CR^bR^c$ ,  $C=O$ ,  $NR^d$ ,  $S(O)_m$  và oxy;

$R^b$  và  $R^c$  là độc lập nhau được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, alkoxy, halogen, amino, nitro, hydroxy, xyano, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-OR^6$ ,  $-C(O)R^6$ ,  $-C(O)OR^6$ ,  $-S(O)_mR^6$  và  $-NR^7R^8$ ;

$R^d$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, xycloalkyl, haloalkyl,

hydroxyalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^6$  và  $-\text{S}(\text{O})_m\text{R}^6$ ; và  $\text{R}^1$  đến  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^6$  đến  $\text{R}^8$ ,  $n$ ,  $m$  và  $q$  là như được xác định trong điểm 1.

3. Tổ hợp theo điểm 2, đặc trưng ở chỗ chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IB)



hoặc muối được dụng của nó,

trong đó,

E là CH hoặc nitơ;

F được chọn từ nhóm bao gồm  $\text{CR}^b\text{R}^c$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{NR}^d$  và oxy;

$\text{R}^b$  và  $\text{R}^c$  độc lập với nhau được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, alkoxy, halogen, amino, nitro, hydroxy, xyano, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-\text{OR}^6$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^6$ ,  $-\text{S}(\text{O})_m\text{R}^6$  và  $-\text{NR}^7\text{R}^8$ ;

$\text{R}^d$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, xycloalkyl, haloalkyl, hydroxyalkyl, heteroxyclyl, aryl, heteroaryl,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^6$  và  $-\text{S}(\text{O})_m\text{R}^6$ ;

mỗi  $\text{R}^e$  là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi gốc độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, halogen, amino, nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, aryl và heteroaryl;

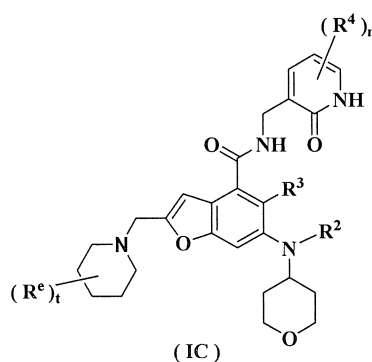
$t$  là 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5;

$x$  là 0, 1, 2 hoặc 3;

$y$  là 0, 1, 2 hoặc 3; và

$\text{R}^2$  đến  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^6$  đến  $\text{R}^8$ ,  $m$  và  $n$  là như được xác định trong điểm 1.

4. Tổ hợp theo điểm 3, đặc trưng ở chỗ chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IC)



hoặc muối được dụng của nó,

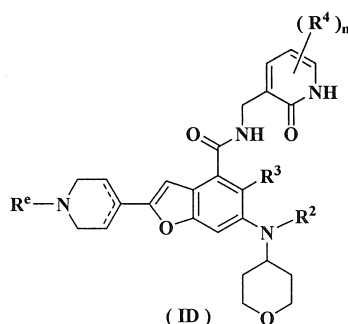
trong đó,

mỗi  $R^e$  là giống nhau hoặc khác nhau và độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl và halogen;

$t$  là 0, 1, 2, 3, 4 hoặc 5; và

$R^2$  đến  $R^4$  và  $n$  là như được xác định trong điểm 1.

5. Tổ hợp theo điểm 4, đặc trưng ở chỗ chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (ID)



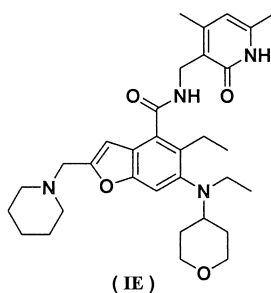
hoặc muối được dụng của nó,

trong đó,

$R^e$  được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl, haloalkyl, halogen, amino, nitro, xyano, hydroxy, alkoxy, haloalkoxy, hydroxyalkyl, xycloalkyl, heteroxycyl, aryl và heteroaryl; và

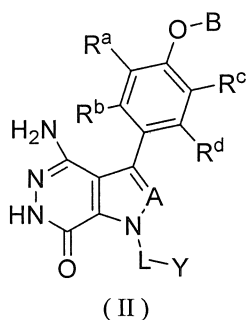
$R^2$  đến  $R^4$  và  $n$  là như được xác định trong điểm 1.

6. Tổ hợp theo điểm 5, đặc trưng ở chỗ chất ức chế EZH2 là hợp chất có công thức (IE)



hoặc muối được dụng của nó.

7. Tổ hợp theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, đặc trưng ở chỗ chất ức chế BTK là hợp chất có công thức (II)



hoặc muối được dụng của nó hoặc chất đồng phân lập thể của nó,  
trong đó,

A được chọn từ nhóm bao gồm CR<sup>1</sup> và N;

CR<sup>1</sup> được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen và alkyl được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkoxy và haloalkyl;

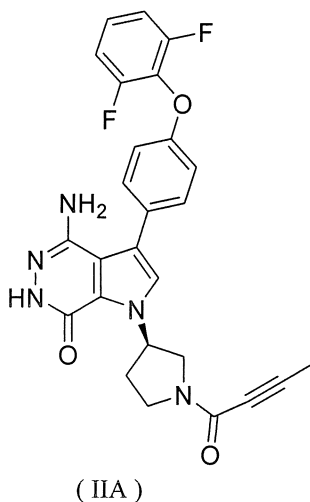
R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup>, R<sup>c</sup> và R<sup>d</sup> là độc lập nhau được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, hydroxy, xyano, nitro, alkyl được thể tùy ý và alkoxy được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkoxy và haloalkyl;

B được chọn từ nhóm bao gồm hydro, xycloalkyl được thể tùy ý, heteroxyclyl được thể tùy ý, aryl được thể tùy ý và heteroaryl được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkoxy và haloalkyl;

L được chọn từ nhóm bao gồm liên kết và alkyl được thể tùy ý; và

Y được chọn từ nhóm bao gồm xycloalkyl được thể tùy ý, heteroxyclyl được thể tùy ý, aryl được thể tùy ý và heteroaryl được thể tùy ý, trong đó phần tử thể này được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxy, xyano, nitro, carboxy, amino, alkyl, alkylcarbonyl, alkynylcarbonyl và haloalkyl.

8. Tổ hợp theo điểm 7, đặc trưng ở chỗ chất ức chế BTK là hợp chất có công thức (IIA)



hoặc muối được dụng của nó.

9. Tổ hợp theo điểm 5, đặc trưng ở chỗ muối được dụng này được chọn từ nhóm bao gồm phosphat, hydroclorua, metansulfonat, maleat, malat, *p*-toluensulfonat và besylat.

10. Tổ hợp theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ chất ức chế BTK được chọn từ nhóm bao gồm Ibrutinib, Acalabrutinib, MSC-2364447, Spebrutinib, HM-71224, Plevitrexed, GS-4059, GDC-0853, SNS-062, CGP-53716, Idoxifen, BTG-511, Banoxantron, Glucarpidaza, kháng thể đa dòng kháng digoxin, Fab miễn dịch đa hóa trị Crotalidae (ovine, BTG) và Otelixizumab.

11. Tổ hợp theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ tổ hợp này tùy ý chứa thành phần thứ ba được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế HDAC, chất ức chế CDK4/6, chất ức chế ALK, chất ức chế JAK2, chất ức chế Bcl-2, chất ức chế Hsp90, glucocorticoit, vinca alkaloit, chất chống chuyển hóa, chất phá hủy ADN, Lenalidomit, Rituximab, PKC perturbagen, chất ức chế Lyn/Fyn, chất ức chế Syk, chất ức chế PI3K, chất ức chế PKC $\beta$ , chất ức chế IKK, 20s proteasom, IRF-4, kháng thể IRAK4, kháng thể CXCR4, kháng thể CXCR5, kháng thể GLS, kháng thể PLK, kháng thể CD20, chất ức chế Topo II, chất ức chế ADN methyltransferaza, chất ức chế Ras/MAPK và chất ức chế FGFR1; trong đó chất ức chế HDAC này tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Panobinostat Lactat, Belinostat, Chidamit, Romidepsin, Vorinostat, Bexanostat và Entinostat; chất ức chế CDK4/6 tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Palbociclib, Blinatumomab, Tiagabin Hydroclorua và Itolizumab; chất ức chế Bcl-2 tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Venetoclax, Oblimersen natri, ABT-737 và HA14-1; chất ức chế Hsp90 tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Sebelipaza alfa và Retaspimycin Hydroclorua; chất ức chế JAK2 tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Tofacitinib xitrat, Ruxolitinib Phosphat, Lestaurtinib, Momelotinib Dihydroclorua, Peficitinib và Filgotinib; PKC perturbagen tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Teprenon, Truheal, HO/03/03, Sotrastaurin, Enzastaurin và GF109203X; chất ức chế ALK tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Alectinib hydroclorua, Ceritinib, Crizotinib, Bendamustin, Carmustin, Lumostin, clometin hydroclorua và NVP-TAE684; chất ức chế PI3K tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm GS-1101, IPI-145, BKM120, BEZ235, GDC-0941, AMG319, CAL-101 và A66; và chất ức chế IKK tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm Auranofin, BAY 86-9766 và RDEA-119.

12. Tổ hợp theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ tỷ lệ giữa chất ức chế EZH2 và chất ức chế BTK là 0,001-1000, tốt hơn là 0,01-100, và tốt hơn nữa là 0,1-10.

13. Tổ hợp theo điểm 12, đặc trưng ở chỗ liều dùng chất ức chế EZH2 là nằm trong khoảng từ 1-2000 mg, và tốt hơn là 10 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200

mg, 300 mg, 400 mg, 800 mg hoặc 1600 mg; và liều dùng chất ức chế BTK là nằm trong khoảng từ 1-1000 mg, và tốt hơn là 10 mg, 20 mg, 50 mg, 80 mg, 100 mg, 150 mg, 160 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 500 mg hoặc 650 mg.

14. Dược phẩm chứa tổ hợp theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, và một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

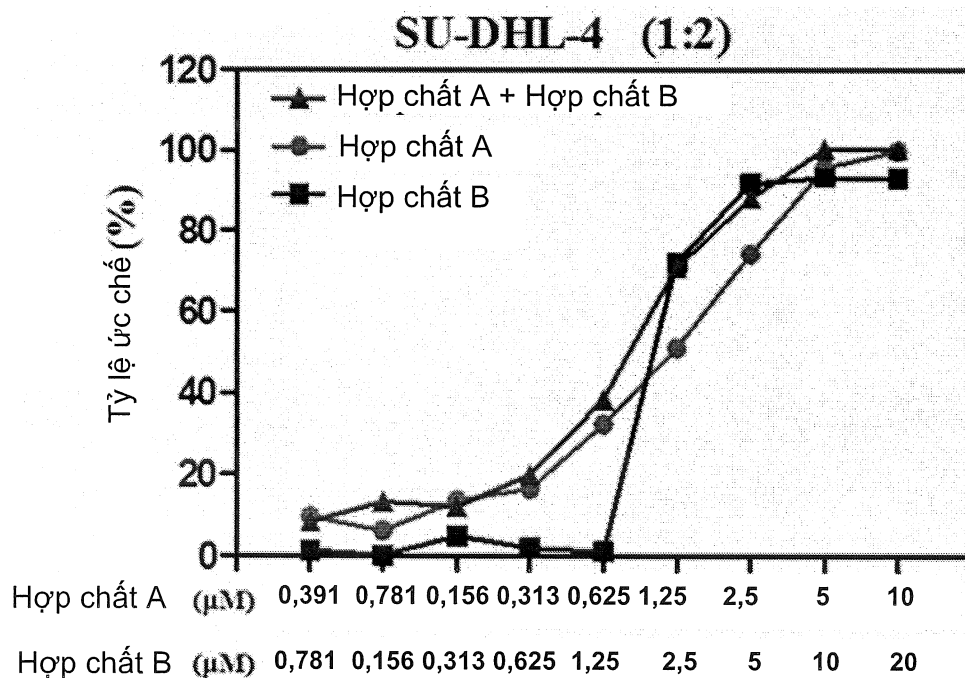


Fig. 1

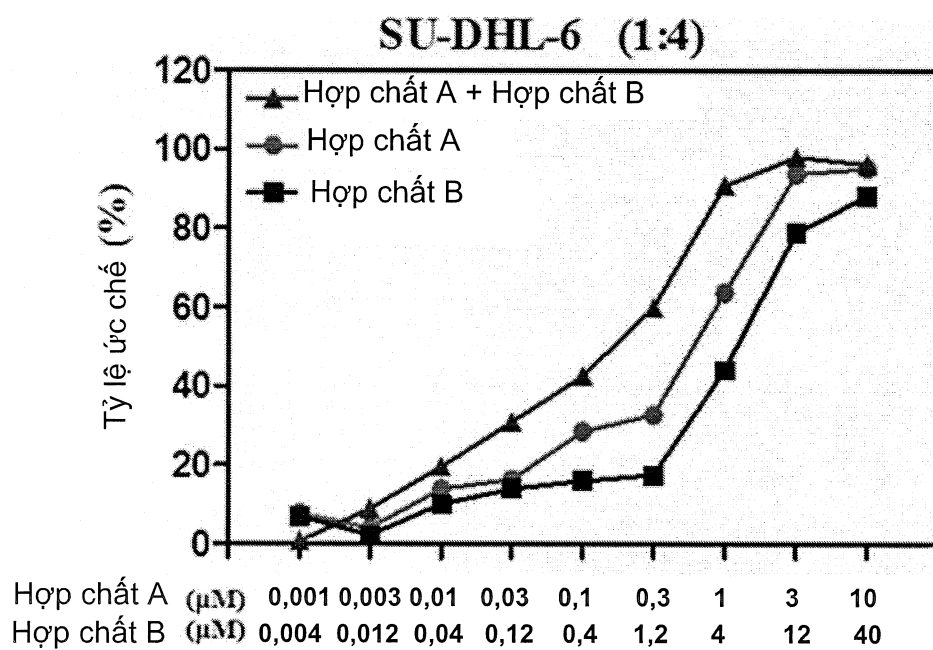


Fig. 2

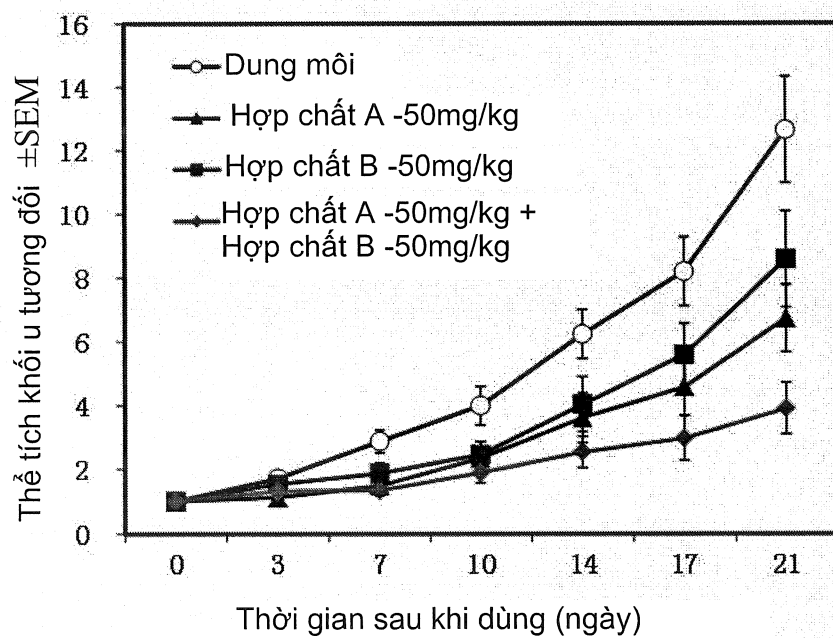


Fig. 3

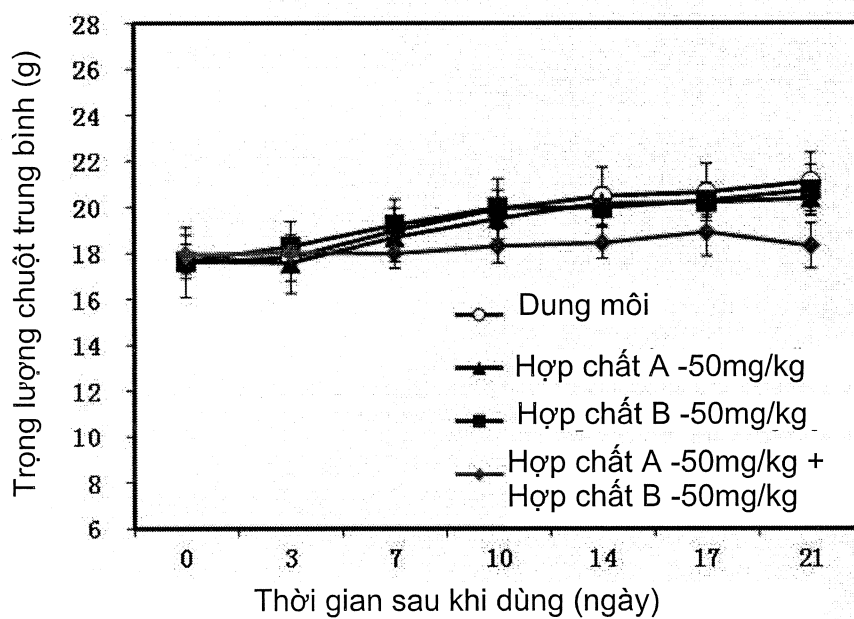


Fig. 4

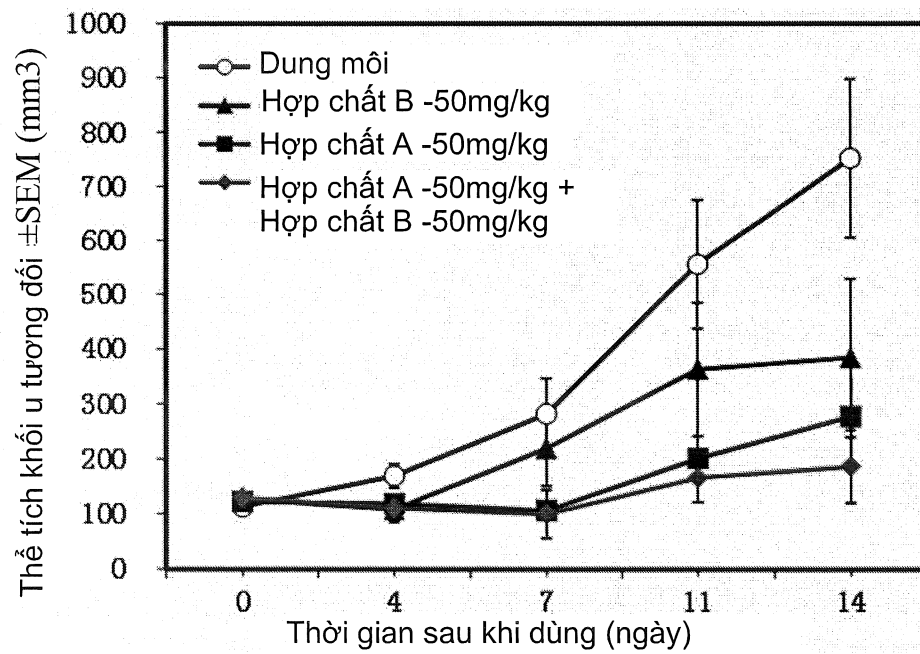


Fig. 5