



(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



1-0045257

(51)⁷ A61K 31/337; A61K 45/06; A61P 35/00; (13) B
A61K 31/519

-
- (21) 1-2019-03696 (22) 05/01/2018
(86) PCT/EP2018/050298 05/01/2018 (87) WO2018/127575 12/07/2018
(30) 62/443,082 06/01/2017 US; 17157779.4 24/02/2017 EP; 62/527,360 30/06/2017 US
(45) 25/04/2025 445 (43) 25/11/2019 380A
(71) 1. LES LABORATOIRES SERVIER (FR)
35 rue de Verdun, 92284 Suresnes, France
2. NOVARTIS AG (CH)
Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland
(72) PORTER, Dale (US); HALILOVIC, Ensar (US); CHANRION, Maïa (FR);
MARAGNO, Ana Leticia (FR); GENESTE, Olivier (FR); MERINO, Delphine (FR);
WHITTLE, James (AU); VAILLANT, François (FR); VISVADER, Jane (AU);
LINDEMAN, Geoffrey (AU); LESSENE, Guillaume (FR); MARANGONI,
Elisabetta (IT).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)
-

(54) TỔ HỢP CHỨA CHẤT ỨC CHẾ MCL-1 VÀ HỢP CHẤT TAXAN, DƯỢC PHẨM
VÀ THUỐC CHỨA TỔ HỢP NÀY

(21) 1-2019-03696

(57) Sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan, dược phẩm và thuốc chứa tổ hợp này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan. Tổ hợp này có thể sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, cụ thể là bệnh ung thư vú, phổi, buồng trứng, bàng quang và tuyến tiền liệt, cụ thể hơn là các bệnh ung thư vú và phổi. Sáng chế cũng đề cập đến các chế phẩm được thích hợp để dùng tổ hợp này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh ung thư được đặc trưng bởi việc tăng sinh tế bào không kiểm soát. Các tác nhân chống nguyên phân và các tác nhân chống thoi vô sắc được nghiên cứu để điều trị bệnh ung thư do ảnh hưởng quan trọng của chúng trong việc phân chia tế bào. Việc ức chế cơ chế nguyên phân dẫn đến dẫn đến một loạt các kết quả, chủ yếu dẫn đến ngừng chu kỳ tế bào và chết tế bào. Các tác nhân chống thoi vô sắc, như taxan hiện đang được sử dụng trong các cơ sở lâm sàng. Ví dụ, paclitaxel và docetaxel có phổ hoạt tính lâm sàng tương tự bao gồm các bệnh ung thư buồng trứng, phổi, vú, bàng quang, và tuyến tiền liệt. Taxan là chất chống nguyên phân mà gắn kết với tubulin và ức chế việc khử trùng hợp thoi vô sắc nhờ đó phá vỡ trạng thái cân bằng bình thường mà tham gia vào việc lắp ráp thoi vô sắc và phá vỡ cấu trúc và do đó làm hư hại chức năng của thoi vô sắc. Thoi vô sắc cần thiết cho sự phân chia tế bào và các tế bào được tiếp xúc với taxan có thể không phân chia. Việc ngừng chu kỳ tế bào sau khi điều trị bằng taxan cuối cùng có thể dẫn đến chết tế bào do quá trình nguyên phân không thành công. Mặc dù đã có những tiến bộ trong liệu pháp chống ung thư, vẫn cần có nhu cầu lâu dài đối với các liệu pháp hiệu quả hơn với độc tính hạn chế. Thực vậy, độc tính liên quan đến paclitaxel và docetaxel bao gồm bệnh giảm bạch cầu trung tính là độc tính giới hạn liều chính, cùng với bệnh thần kinh ngoại biên quan trọng. Trên thực tế, việc giảm liều là thường xuyên ở những bệnh nhân được điều trị nhiều trước đó để giảm nhẹ mức độ nghiêm trọng của những độc tính này. Trên hết, việc phát triển tính kháng với taxan cũng giới hạn việc sử dụng nó trên lâm sàng.

Quá trình gây chết theo chương trình là con đường gây chết tế bào được điều hòa ở mức cao nhất mà được bắt đầu bằng các tác nhân kích thích gây độc tế bào khác nhau, bao gồm sự căng thẳng gây ung thư và tác nhân hóa trị liệu. Nhận thấy rằng sự trốn tránh quá trình chết theo chương trình là dấu hiệu xác nhận ung thư và hiệu quả của nhiều tác nhân hóa

trị liệu tùy thuộc vào sự hoạt hóa con đường ty thể nội tại. Ba phân nhóm protein thuộc họ BCL-2 khác biệt kiểm soát con đường gây chết theo chương trình nội tại:

(i) các protein chỉ có BH3 tiền chết theo chương trình (thể tương đồng Bcl-2 3); (ii) thành phần tiền sống sót như bản thân BCL-2, BCL-xL, BCL-W, MCL-1 và BCL-2A1; và (iii) các protein tác động tiền chết theo chương trình BAX và BAK (Czabotar et al., *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2014, 15, 49-63). Sự biểu hiện quá mức của các thành viên kháng chết theo chương trình của họ BCL-2 quan sát được ở nhiều bệnh ung thư, (Adams and Cory, *Oncogene* 2007, 26, 1324-1337) và việc ức chế được lý của các protein kháng chết theo chương trình bằng các dược chất mô phỏng BH3 như ABT-199 (venetoclax), ABT-263 (navitoclax) và S63845 đã nổi lên như một chiến lược trị liệu để cảm ứng việc chết theo chương trình và gây thoái triển khối u trong bệnh ung thư (Zhang et al., *Drug Resist. Updat.* 2007, 10, 207-217; Kotschy et al., *Nature* 2016, 538, 477-482). Tuy nhiên, các cơ chế kháng chất mô phỏng BH3 đã được quan sát (Choudhary et al., *Cell Death and Disease* 2015, 6, e1593) việc sử dụng các liệu pháp điều trị kết hợp có thể cải thiện hiệu quả và trì hoãn hoặc thậm chí loại bỏ sự phát triển tính kháng.

Bệnh ung thư vú là bệnh không đồng nhất và có thể được phân lớp thành ít nhất năm phân nhóm chính dựa trên profin biểu hiện gen: Luminal A, Luminal B (estrogen dương tính, ER⁺), HER2-được khuếch đại, dạng đáy (phần lớn là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính hoặc TNBC) và giống như bình thường (Curtis et al., *Nature* 2012, 486, 346-352; Perou et al., *Nature* 2000, 406, 747-752). Các phân nhóm này thường dự đoán biểu hiện lâm sàng liên quan đến đáp ứng và kháng trị liệu, mô hình di căn và khả năng sống sót tổng thể. Nhiều cơ chế góp phần vào sự tiến triển của khối u và khả năng kháng điều trị ung thư, bao gồm cả việc lẫn tránh chết tế bào do việc mất điều chỉnh sự cân bằng giữa các thành viên kháng và tiền chết theo chương trình của họ BCL2, (Merino et al., *Oncogene* 2016, 35, 1877-1887; Beroukim et al., *Nature* 2010, 463, 899-905; Wertz et al., *Nature* 2011, 471, 110-114; Goodwin et al., *Cell Death Differ.* 2015). Trong phân nhóm bệnh ung thư vú bộ ba âm tính, bệnh còn lại sau khi tiền hỗ trợ trị liệu có liên quan đến nguy cơ cao tái phát di căn hơn so với bệnh nhân đạt được đáp ứng bệnh lý hoàn toàn (Liedtke et al., *J. Clin. Oncol.* 2008, 26(8), 1275-1281). Khoảng 70 % bệnh nhân TNBC không đạt được đáp ứng hoàn toàn sau khi tiền hỗ trợ hóa trị liệu (như paclitaxel hoặc docetaxel) và chịu một kết quả tồi tệ hơn đáng kể, với xác suất tái phát di căn cao hơn và tỷ lệ sống sót sau 3 năm chỉ là 60-70%.

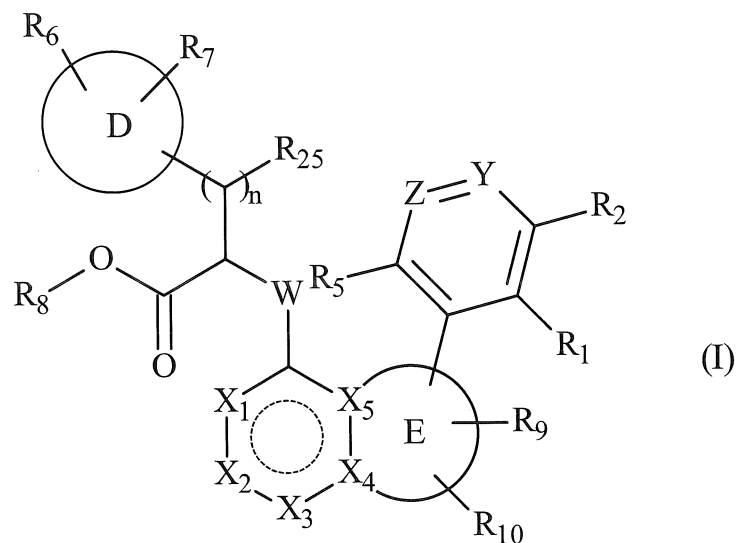
Bệnh ung thư phổi được phân loại thành bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (NSCLC), bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC), và carcinoid. Khoảng 80 % trong tổng số các trường hợp ung thư phổi tương ứng với NSCLC, mà có thể được phân loại tiếp thành caxinom tuyến ở phổi, caxinom vảy ở phổi, và caxinom tế bào lớn. Bệnh ung thư phổi là nguyên nhân phổ biến nhất gây tử vong liên quan đến ung thư ở nam giới và phổ biến thứ hai ở phụ nữ sau ung thư vú. Mặc dù liệu pháp điều trị ung thư phổi đã phát triển đáng kể với sự xuất hiện của liệu pháp hướng đích, nhưng vẫn rất cần phát triển các liệu pháp mới để cải thiện hiệu quả điều trị, giảm tác dụng phụ và tránh xuất hiện sự kháng thuốc, (Rothschild *Cancers* 2015, 7(2), 930-949).

Sáng chế đề cập đến tổ hợp mới của chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan. Kết quả cho thấy, với sự liên kết của các phân tử nhỏ có hiệu lực hướng đích MCL-1 với các tác nhân chống thoi vô sắc có tác dụng hiệp đồng cao trong các dòng tế bào ung thư vú và phổi (Fig. 1 đến 7; các bảng 1 và 4). Các tác giả sáng chế cũng chỉ ra rằng kết hợp phá vỡ chức năng thoi vô sắc và hướng đích MCL-1 *in vivo* là có lợi ở các liều được dung nạp trong các mô hình ung thư vú PDX (ghép khác loài thu được từ bệnh nhân) (Fig. 8 và 9) và ở các liều khác nhau ở chuột cái trụi lông mang mảnh ghép khác loài MDA-MB-231, mô hình bệnh ung thư vú bộ ba âm tính (Fig. 10 đến 14). Sự kết hợp tích cực cũng quan sát được ở các mô hình PDX khác nhau của TNBC bằng cách sử dụng các phác đồ dùng khác nhau (Fig. 15). Tác dụng hiệp đồng của việc hướng đích MCL-1 và phá vỡ chức năng của thoi vô sắc *in vitro* và *in vivo* ở các liều dung nạp đã được chứng tỏ qua tổ hợp của các chất ức chế phân tử nhỏ tiềm năng. Cuối cùng, việc phân tích khối u còn lại sau khi tiền hỗ trợ điều trị là cơ bản và lĩnh vực chưa được khám phá để nghiên cứu việc kháng hóa trị liệu và, vì thế, các tác giả sáng chế thực hiện các thử nghiệm trên các mô hình PDX kháng trị liệu hóa học thể hiện rằng tổ hợp của chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan là có hiệu quả (Ví dụ 9).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (I):



trong đó:

- ◆ D là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,
- ◆ E là vòng furyl, thienyl hoặc pyrrolyl,
- ◆ X₁, X₃, X₄ và X₅ độc lập với nhau là nguyên tử cacbon hoặc nguyên tử nitơ,
- ◆ X₂ là nhóm C-R₂₆ hoặc nguyên tử nitơ,
- ◆  có nghĩa là vòng thơm,
- ◆ Y là nguyên tử nitơ hoặc nhóm C-R₃,
- ◆ Z là nguyên tử nitơ hoặc nhóm C-R₄,
- ◆ R₁ là nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, -Cy₈, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-R₁₂, -C(O)-OR₁₁, -O-C(O)-R₁₁, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -NR₁₁-C(O)-OR₁₁', -alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁-C(O)-R₁₁', -SO₂-NR₁₁R₁₁', hoặc -SO₂-alkyl(C₁-C₆),
- ◆ R₂, R₃, R₄ và R₅ độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm

(C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-Cy₁, -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₁, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₁, -O-alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-R₁₂, -C(O)-OR₁₁, -O-C(O)-R₁₁, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -NR₁₁-C(O)-OR₁₁', -alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁-C(O)-R₁₁', -SO₂-R₁₁R₁₁', hoặc -SO₂-alkyl(C₁-C₆),

hoặc các phần tử thể của cặp (R₁, R₂), (R₂, R₃), (R₃, R₄), (R₄, R₅) cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng từ 1 đến 2 nhóm được chọn từ halogen, (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₃R₁₃', -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁ hoặc oxo,

- ♦ R₆ và R₇ độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-Cy₁, -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₁, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₁, -O-alkyl(C₁-C₆)-R₁₂, -C(O)-OR₁₁, -O-C(O)-R₁₁, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -NR₁₁-C(O)-OR₁₁', -alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁-C(O)-R₁₁', -SO₂-NR₁₁R₁₁', hoặc -SO₂-alkyl(C₁-C₆),

hoặc các phần tử thể của cặp (R₆, R₇), khi được gắn vào hai nguyên tử cacbon liền kề, cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm được chọn từ nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -NR₁₃R₁₃', -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁ hoặc oxo,

- ♦ W là nhóm -CH₂-, nhóm -NH- hoặc nguyên tử oxy,
- ♦ R₈ là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₈)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -

CHR_aR_b, nhóm aryl, nhóm heteroaryl, nhóm arylalkyl(C₁-C₆), hoặc nhóm heteroarylalkyl(C₁-C₆),

- ♦ R₉ là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -Cy₂, -alkyl(C₁-C₆)-Cy₂, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₂, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₂, -Cy₂-Cy₃, -alkynyl(C₂-C₆)-O-Cy₂, -Cy₂-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₃, nguyên tử halogen, nhóm xyano, -C(O)-R₁₄, hoặc -C(O)-NR₁₄R₁₄' ,

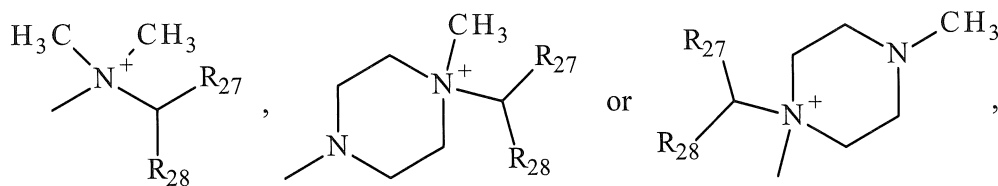
- ♦ R₁₀ là nguyên tử hydro, nhóm mạch thẳng hoặc mạch nhánh (C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm arylalkyl(C₁-C₆), nhóm xycloalkylalkyl(C₁-C₆), (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, hoặc -alkyl(C₁-C₆)-O-Cy₄,

hoặc các phần tử thể của cặp (R₉, R₁₀), khi được gắn vào hai nguyên tử cacbon liền kề, cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,

- ♦ R₁₁ và R₁₁' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, hoặc -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁,

hoặc các phần tử thể của cặp (R₁₁, R₁₁') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng nitơ này có thể được thế bằng từ 1 đến 2 nhóm là nguyên tử hydro, hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phần tử thể khả thi này, có thể được đoteri hóa,

- ♦ R₁₂ là -Cy₅, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-Cy₆-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₇, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₉, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-Cy₉, -NH-C(O)-NH-R₁₁, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁-alkyl(C₀-C₆)-Cy₉, -C(O)-NR₁₁R₁₁' , -NR₁₁R₁₁' , -OR₁₁, -NR₁₁-C(O)-R₁₁' , -O-alkyl(C₁-C₆)-OR₁₁, -SO₂-R₁₁, -C(O)-OR₁₁,



amoni

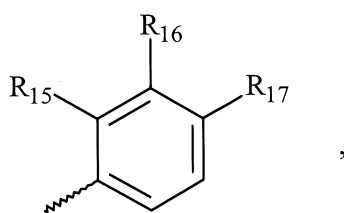
có thể được xác định là tồn tại ở dạng lưỡng tính hoặc có ion trái dấu anion hóa trị một,

- ♦ R_{13} , R_{13}' , R_{14} và R_{14}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế,
- ♦ R_a là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ♦ R_b là nhóm $-O-C(O)-O-R_c$, nhóm $-O-C(O)-NR_cR_c'$, hoặc nhóm $-O-P(O)(OR_c)_2$,
- ♦ R_c và R_c' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm (C_1-C_8) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm xycloalkyl, nhóm (C_1-C_6) alkoxy (C_1-C_6) alkyl, hoặc nhóm (C_1-C_6) alkoxycarbonyl (C_1-C_6) alkyl,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_c, R_c') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào vòng không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy và nitơ, cần hiểu rằng nitơ này có thể được thế bằng nhóm là nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

- ♦ Cy_1 , Cy_2 , Cy_3 , Cy_4 , Cy_5 , Cy_6 , Cy_7 , Cy_8 và Cy_{10} độc lập với nhau, là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,

- ♦ Cy_9 là



hoặc Cy_9 là nhóm heteroaryl mà được thế bằng nhóm được chọn từ $-O-P(O)(OR_{20})_2$; $-O-P(O)(O^-M^+)_2$; $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; hydroxy; hydroxy (C_1-C_6) alkyl; $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s$ -heteroxycloalkyl; hoặc $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$,

- ♦ R_{15} là nguyên tử hydro; nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; nhóm (C_1-C_6) alkoxy (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh; nhóm $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$; hoặc nhóm $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s$ -heteroxycloalkyl,
- ♦ R_{16} là nguyên tử hydro; nhóm hydroxy; nhóm hydroxy (C_1-C_6) alkyl ;

nhóm $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s-$ heteroxycloalkyl; nhóm $(CH_2)_r-U-V-O-P(O)(OR_{20})_2$; nhóm $-O-P(O)(O^+M^-)_2$; nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; nhóm $-(CH_2)_p-O-C(O)-NR_{22}R_{23}$; hoặc nhóm $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$,

- ♦ R_{17} là nguyên tử hydro; nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; nhóm $-O-P(O)(OR_{20})_2$; nhóm $-O-P(O)(O^+M^-)_2$; nhóm hydroxy; nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl; nhóm $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s-$ heteroxycloalkyl; nhóm $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$; hoặc axit aldonic,
- ♦ M^+ là cation hóa trị một được dùng,
- ♦ U là liên kết hoặc nguyên tử oxy,
- ♦ V là nhóm $-(CH_2)_{s-2}-$ hoặc nhóm $-C(O)-$,
- ♦ R_{18} là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkoxy(C₁-C₆)alkyl,
- ♦ R_{19} là nguyên tử hydro hoặc nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl,
- ♦ R_{20} là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ♦ R_{21} và R_{21}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, hoặc nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_{21} , R_{21}') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

- ♦ R_{22} là nhóm (C₁-C₆)alkoxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm $-(CH_2)_p-NR_{24}R_{24}'$, hoặc nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$,
- ♦ R_{23} là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkoxy(C₁-C₆)alkyl,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_{22} , R_{23}) cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 18 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 5 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro, nhóm mạch thẳng hoặc mạch nhánh (C₁-C₆)alkyl hoặc nhóm heteroxycloalkyl,

- ◆ R_{24} và R_{24}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
hoặc các phần tử thế của cặp (R_{24}, R_{24}') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ◆ R_{25} là nguyên tử hydro, nhóm hydroxy, hoặc nhóm hydroxy (C_1-C_6) alkyl,
- ◆ R_{26} là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, hoặc nhóm xyano,
- ◆ R_{27} là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ◆ R_{28} là nhóm $-O-P(O)(O^-)(O^-)$, nhóm $-O-P(O)(O^-)(OR_{30})$, nhóm $-O-P(O)(OR_{30})(OR_{30}')$, nhóm $-O-SO_2-O^-$, nhóm $-O-SO_2-OR_{30}$, $-Cy_{10}$, nhóm $-O-C(O)-R_{29}$, nhóm $-O-C(O)-OR_{29}$ hoặc nhóm $-O-C(O)-NR_{29}R_{29}'$;
- ◆ R_{29} và R_{29}' , độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm amino (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ◆ R_{30} và R_{30}' , độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm arylalkyl (C_1-C_6) ,
- ◆ n là số nguyên bằng 0 hoặc 1,
- ◆ p là số nguyên bằng 0, 1 hoặc 2,
- ◆ q là số nguyên bằng 1, 2, 3 hoặc 4,
- ◆ r và s độc lập là số nguyên 0 hoặc 1,

trong đó:

- "aryl" là nhóm phenyl, naphtyl, biphenyl, indanyl hoặc indenyl,
- "heteroaryl" là nhóm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ có từ 5 đến 10 cạnh trên vòng, có ít nhất một gốc thơm và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,
- "xycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa

từ 3 đến 10 cạnh trên vòng,

- “heteroxycloalkyl” là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 cạnh trên vòng, và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, chúng có thể gồm các hệ vòng ngưng tụ, nối cầu hoặc spiro,

các nhóm aryl, heteroaryl, xycloalkyl và heteroxycloalkyl được định nghĩa như vậy và các nhóm alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy này, được thế bằng từ 1 đến 4 nhóm được chọn từ (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C₁-C₆)alkyl-S- tùy ý được thế, hydroxy, oxo (hoặc *N*-oxit nếu thích hợp), nitro, xyano, -C(O)-OR', -O-C(O)-R', -C(O)-NR'R'', -NR'R'', -(C=NR')-OR'', (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, triflometoxy, hoặc halogen, cần hiểu rằng R' và R'' độc lập với nhau là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phần tử thế khả thi nêu trên, có thể được đoteri hóa,

hoặc các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang của nó hoặc chất đồng phân atrop, hoặc các muối cộng của chúng với axit hoặc bazơ được dùng,

và (b) hợp chất taxan,

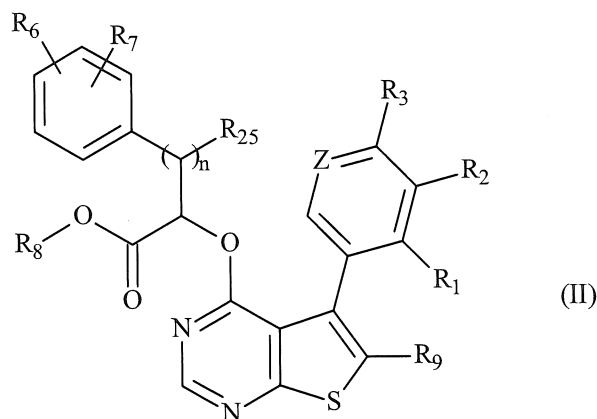
để dùng đồng thời, liên tiếp hoặc riêng rẽ.

Các hợp chất có công thức (I) này, quy trình tổng hợp chúng, sử dụng chúng trong điều trị bệnh ung thư và các chế phẩm được của chúng, được mô tả trong tài liệu WO 2015/097123, WO 2016/207216, WO 2016/207217, WO 2016/207225, WO 2016/207226 và WO 2017/125224, nội dung của chúng được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo các phương án nhất định, hợp chất taxan được chọn từ paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel, tesetaxel, Opaxio® (paclitaxel poliglumex), Abraxane® (nab-paclitaxel) larotaxel, taxoprexin, BMS-184476, hongdoushan A, hongdoushan B, và hongdoushan C, và các hợp chất khác.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (II), hợp chất cụ thể của chất ức chế MCL-1 có công thức (I):



trong đó:

- ♦ Z là nguyên tử nitơ hoặc nhóm C-R₄,
- ♦ R₁ là nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, xyano, -NR₁₁R₁₁', -Cy₈ hoặc nguyên tử halogen,
- ♦ R₂, R₃ và R₄ độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-Cy₁, -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₁, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₁, -O-alkyl(C₁-C₆)-R₁₂, -C(O)-OR₁₁, -O-C(O)-R₁₁, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -NR₁₁-C(O)-OR₁₁', -alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁-C(O)-R₁₁', -SO₂-NR₁₁R₁₁', hoặc
-SO₂-alkyl(C₁-C₆),

hoặc phần tử thế của một trong số các cặp (R₂, R₃), (R₃, R₄) cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm được chọn từ nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

$-NR_{13}R_{13}'$, $-alkyl(C_0-C_6)-Cy_1$ hoặc oxo,

- ♦ R_6 và R_7 độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm $(C_1-C_6)alkyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $(C_2-C_6)alkenyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $(C_2-C_6)alkynyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, $(C_1-C_6)polyhaloalkyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm $(C_1-C_6)alkoxy$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $-S-(C_1-C_6)alkyl$, nhóm xyano, nhóm nitro, $-alkyl(C_0-C_6)-NR_{11}R_{11}'$, $-O-Cy_1$, $-alkyl(C_0-C_6)-Cy_1$, $-alkenyl(C_2-C_6)-Cy_1$, $-alkynyl(C_2-C_6)-Cy_1$, $-O-alkyl(C_1-C_6)-R_{12}$, $-C(O)-OR_{11}$, $-O-C(O)-R_{11}$, $-C(O)-NR_{11}R_{11}'$, $-NR_{11}-C(O)-R_{11}'$, $-NR_{11}-C(O)-OR_{11}'$, $-alkyl(C_1-C_6)-NR_{11}-C(O)-R_{11}'$, $-SO_2-NR_{11}R_{11}'$, hoặc $-SO_2-alkyl(C_1-C_6)$,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_6, R_7) , khi được gắn vào hai nguyên tử cacbon liền kề, cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm được chọn từ nhóm $(C_1-C_6)alkyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, $-NR_{13}R_{13}'$, $-alkyl(C_0-C_6)-Cy_1$ hoặc oxo,

- ♦ R_8 là nguyên tử hydro, nhóm $(C_1-C_8)alkyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm aryl, nhóm heteroaryl, nhóm arylalkyl(C_1-C_6), hoặc nhóm heteroarylalkyl(C_1-C_6),
- ♦ R_9 là nhóm $(C_1-C_6)alkyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $(C_2-C_6)alkenyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $(C_2-C_6)alkynyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, $-Cy_2$, $-alkyl(C_1-C_6)-Cy_2$, $-alkenyl(C_2-C_6)-Cy_2$, $-alkynyl(C_2-C_6)-Cy_2$, $-Cy_2-Cy_3$, $-alkynyl(C_2-C_6)-O-Cy_2$, $-Cy_2-alkyl(C_0-C_6)-O-alkyl(C_0-C_6)-Cy_3$, nguyên tử halogen, nhóm xyano, $-C(O)-R_{14}$, hoặc $-C(O)-NR_{14}R_{14}'$,
- ♦ R_{11} và R_{11}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm $(C_1-C_6)alkyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, hoặc $-alkyl(C_0-C_6)-Cy_1$,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_{11}, R_{11}') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng nitơ này có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro, hoặc nhóm $(C_1-C_6)alkyl$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử

cacbon của các phần tử thể khả thi này, có thể được đơteri hóa,

- ♦ R_{12} là $-Cy_5$, $-Cy_5$ -alkyl(C_0 - C_6)- Cy_6 , $-Cy_5$ -alkyl(C_0 - C_6)-O-alkyl(C_0 - C_6)- Cy_6 , $-Cy_5$ -alkyl(C_0 - C_6)- NR_{11} -alkyl(C_0 - C_6)- Cy_6 , $-Cy_5$ - Cy_6 -O-alkyl(C_0 - C_6)- Cy_7 , $-C(O)$ - $NR_{11}R_{11}'$, $-NR_{11}R_{11}'$, $-OR_{11}$, $-NR_{11}$ - $C(O)$ - R_{11}' , $-O$ -alkyl(C_1 - C_6)- OR_{11} , $-SO_2$ - R_{11} , $-C(O)$ - OR_{11} , hoặc $-NH$ - $C(O)$ - NH - R_{11} ,
- ♦ R_{13} , R_{13}' , R_{14} và R_{14}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, hoặc nhóm (C_1 - C_6)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế,
- ♦ R_{25} là nguyên tử hydro, nhóm hydroxy, hoặc nhóm hydroxy(C_1 - C_6)alkyl,
- ♦ Cy_1 , Cy_2 , Cy_3 , Cy_5 , Cy_6 , Cy_7 và Cy_8 độc lập với nhau, là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,
- ♦ n là số nguyên bằng 0 hoặc 1,

trong đó:

- "aryl" là nhóm phenyl, naphtyl, biphenyl, indanyl hoặc indenyl,
- "heteroaryl" là nhóm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ có từ 5 đến 10 cạnh trên vòng, có ít nhất một gốc thơm và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,
- "xycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 cạnh trên vòng,
- "heteroxycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 cạnh trên vòng, và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, chúng có thể gồm các hệ vòng ngưng tụ, nối cầu hoặc spiro,

các nhóm aryl, heteroaryl, xycloalkyl và heteroxycloalkyl được định nghĩa như vậy và các nhóm alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy này, được thế bằng từ 1 đến 4 nhóm được chọn từ (C_1 - C_6)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C_2 - C_6)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C_2 - C_6)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C_1 - C_6)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C_1 - C_6)alkyl-S- tùy ý được thế, hydroxy, oxo (hoặc *N*-oxit nếu thích hợp), nitro, xyano, $-C(O)$ - OR' , $-O$ - $C(O)$ - R' , $-C(O)$ - $NR'R''$, $-NR'R''$, $-(C=NR')$ - OR'' , (C_1 - C_6)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, triflometoxy, hoặc halogen, cần hiểu rằng R' và R'' độc lập với nhau là nguyên tử hydro hoặc

nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phần tử thế khả thi nêu trên, có thể được đơteri hóa,

hoặc các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang của nó hoặc chất đồng phân atrop, hoặc các muối cộng của chúng với axit hoặc bazơ được dụng,

và (b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, liên tiếp hoặc riêng rẽ.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (I) như được nêu trong bản mô tả này, và

(b) hợp chất taxan được chọn từ paclitaxel hoặc docetaxel,

hoặc

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (II) như được nêu trong bản mô tả này, và

(b) hợp chất taxan được chọn từ paclitaxel hoặc docetaxel,

để dùng đồng thời, liên tiếp hoặc riêng rẽ.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến tổ hợp chứa:

(a) Hợp chất 1: axit (2*R*)-2-{[(5*S*_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, hoặc muối được dụng của nó, và

(b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, liên tiếp hoặc riêng rẽ.

Theo cách khác, sáng chế đề xuất tổ hợp chứa:

(a) Hợp chất 2: axit (2*R*)-2-{[(5*S*_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(5-flofuran-2-yl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[1-(2,2,2-trifloetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]metoxy}phenyl)propanoic, hoặc muối được dụng của nó, và

(b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, liên tiếp hoặc riêng rẽ.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến tổ hợp như được nêu trong bản mô tả này, để dùng trong điều trị ung thư.

Phần mô tả bộc lộ việc sử dụng tổ hợp như được nêu trong bản mô tả này, trong sản xuất thuốc để điều trị ung thư.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến thuốc chứa, riêng rẽ hoặc đồng thời,

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (I) như được nêu trong bản mô tả này, và

(b) hợp chất taxan,

hoặc

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (II) như được nêu trong bản mô tả này, và

(b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, lần lượt hoặc riêng rẽ, và trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được cung cấp với lượng hữu hiệu để điều trị ung thư.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị ung thư, bao gồm việc dùng đồng thời lượng hữu hiệu trị liệu của:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (I) như được nêu trong bản mô tả này, và

(b) hợp chất taxan,

hoặc

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (II) như được nêu trong bản mô tả này, và

(b) hợp chất taxan,

cho đối tượng cần điều trị.

Theo một phương án khác, chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic (Hợp chất 1).

Theo một phương án khác, chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(5-flofuran-2-yl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[1-(2,2,2-trifloetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]metoxy}phenyl)propanoic (Hợp chất 2).

Theo một phương án khác, hợp chất taxan là paclitaxel.

Theo một phương án khác, hợp chất taxan là docetaxel.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 minh họa ma trận ức chế, ức chế quá mức Loewe và ức chế tăng trưởng đối với các tổ hợp paclitaxel với hợp chất 1 trong dòng tế bào ung thư vú MDA-MB-453 đại diện.

Fig. 2 minh họa ma trận ức chế, ức chế quá mức Loewe và ức chế tăng trưởng đối với các tổ hợp paclitaxel với hợp chất 1 trong dòng tế bào ung thư vú MDA-MB-468 đại diện.

Fig. 3 minh họa ma trận ức chế, ức chế quá mức Loewe và ức chế tăng trưởng đối với các tổ hợp paclitaxel với hợp chất 1 trong dòng tế bào ung thư phổi H522 đại diện.

Fig. 4 minh họa sự ức chế tăng trưởng tế bào được lấy ví dụ và ma trận kết hợp có tác dụng hiệp đồng đối với việc ức chế sự tăng trưởng của tế bào (trái) và ức chế quá mức Loewe (phải) được tạo ra bởi Hợp chất 2 kết hợp với paclitaxel trong dòng tế bào ung thư vú MDA-MB-453 ở hai thử nghiệm độc lập. Các giá trị trong khoảng ma trận hữu hiệu từ 0 (không ức chế) đến 100 (ức chế toàn phần). Các giá trị trong ma trận tác dụng hiệp đồng thể hiện mức độ ức chế sự tăng trưởng cao hơn tác dụng cộng dồn lý thuyết được tính trên cơ sở tác dụng đơn lẻ của Hợp chất 2 và paclitaxel ở các nồng độ được thử nghiệm.

Fig. 5 minh họa sự ức chế tăng trưởng tế bào được lấy ví dụ và ma trận kết hợp có tác dụng hiệp đồng đối với việc ức chế sự tăng trưởng của tế bào (trái) và ức chế quá mức Loewe (phải) được tạo ra bởi Hợp chất 2 kết hợp với paclitaxel trong dòng tế bào ung thư phổi H522 ở hai thử nghiệm độc lập. Các giá trị trong khoảng ma trận hữu hiệu từ 0 (không ức chế) đến 100 (ức chế toàn phần). Các giá trị trong ma trận tác dụng hiệp đồng thể hiện mức độ ức chế sự tăng trưởng cao hơn tác dụng cộng dồn lý thuyết được tính trên cơ sở tác dụng đơn lẻ của Hợp chất 2 và Paclitaxel ở các nồng độ được thử nghiệm.

Fig. 6 minh họa tác dụng hiệp đồng của Hợp chất 2 với docetaxel. Các tế bào SK-BR-3 được xử lý bằng docetaxel (2 nM), hoặc được để nguyên không xử lý với sự có mặt của Hợp chất 2 (30 nM), có hoặc không có QVD (10 μ M) trong 72 giờ trước khi phân tích khả năng sống bằng cách nhuộm propidi iodua (PI). Các kết quả được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ % các tế bào không được xử lý và là 3-5 thử nghiệm độc lập.

Fig. 7 minh họa tác dụng hiệp đồng của Hợp chất 2 với docetaxel. Các tế bào SK-BR-3 được xử lý bằng cách tăng nồng độ Hợp chất 2 và docetaxel trong 72 giờ, sau đó tiến hành phân tích khả năng sống bằng cách sử dụng Cell Titer Glo sau đó là phân tích điểm số BLISS. Giá trị hiệp đồng BLISS > 0,0 trên trục tung.

Fig. 8 minh họa hiệu quả của Hợp chất 2 với docetaxel trong việc cải thiện sự sống của động vật trên mô hình TNBC PDX. Đường cong sống sót Kaplan-Meier của chuột mang 110T (n = 10-12 chuột mỗi nhánh), 838T (n = 12 chuột mỗi nhánh), hoặc PDX OD-BRE-0589 (8 chuột mỗi nhánh) chỉ được xử lý bằng chất dẫn thuốc (đường màu đen), docetaxel (10 mg/kg trong màng bụng vào ngày 0 và 21) cộng thêm chất dẫn thuốc đối với Hợp chất 2 (đường màu xám đậm), Hợp chất 2 (25 mg/kg trong tĩnh mạch một lần mỗi tuần trong 6 tuần) cộng với chất dẫn thuốc đối với docetaxel (đường màu xám nhạt), hoặc docetaxel và Hợp chất 2 được kết hợp (đường chấm chấm). Bảng bên phải: đường cong thể tích khối u riêng rẽ. Mô hình PDX 838T được xác định vào ngày 120 do bệnh liên quan đến tuổi, độc lập với trị liệu. Trị số p log rank (Mantel-Cox) là thể hiện liệu pháp điều trị kết hợp so với docetaxel riêng rẽ.

Fig. 9 minh họa việc duy trì thể trọng bình thường trong quá trình trị liệu. Chuột bất hoạt thụ thể NOD SCID IL2 gamma được điều trị bằng docetaxel (15 mg/kg, một lần trong màng bụng) và Hợp chất 2 ở 25 hoặc 50 mg/kg (3 chuột mỗi nhóm, tiêm trong tĩnh mạch, một lần một tuần trong 3 tuần). Thể trọng của chúng được theo dõi ba lần mỗi tuần trong 3 tuần. Liệu pháp điều trị bằng hợp chất 2 như một tác nhân đơn lẻ hoặc được kết hợp với docetaxel được dung nạp tốt.

Fig. 10 minh họa hiệu quả của paclitaxel và hợp chất 1 (được đặt tên là Hợp chất A trong Fig.) đơn độc hoặc kết hợp ở chuột cái trụi lông mang khối u ghép khác loài MDA-MB-231, mô hình TNBC. Các khối u được tạo ra ở chuột cái trụi lông bằng cách tiêm dưới da tế bào TNBC MDA-MB-231 của người (1×10^7 tế bào/200 μ L HBSS/Matrigel 1:1 thể tích/thể tích). Động vật có các khối u với kích thước thích hợp được phân chia ngẫu nhiên vào các nhóm (n = 7-8) với thể tích khối u trung bình là khoảng 400 mm³. Thể tích khối u được ước lượng bằng cách sử dụng hai đường kính lớn nhất theo ($L \times W^2 \times \pi/6$) và thể trọng được cân 2-3 lần mỗi tuần. Số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SEM hoặc là thể tích khối u riêng rẽ. * p < 0,05, được so sánh với nhóm chất dẫn thuốc (ANOVA một phía với kiểm định post hoc của Dunnett).

Fig. 11 minh họa khả năng dung nạp paclitaxel và hợp chất 1 (được đặt tên là Hợp chất A trong Fig.) đơn độc hoặc kết hợp ở chuột cái trụi lông mang khối u ghép khác loài MDA-MB-231, mô hình TNBC. Các khối u được tạo ra ở chuột cái trụi lông bằng cách tiêm dưới da tế bào TNBC MDA-MB-231 của người (1×10^7 tế bào/200 μ L HBSS/Matrigel 1:1 thể tích/thể tích). Động vật có các khối u với kích thước thích hợp được phân chia ngẫu nhiên

vào các nhóm ($n = 7-8$) với thể tích khối u trung bình là khoảng 400 mm^3 . Thể tích khối u được ước lượng bằng cách sử dụng hai đường kính lớn nhất theo ($L \times W^2 \times \pi/6$) và thể trọng được cân 2-3 lần mỗi tuần.

Fig. 12 minh họa hiệu quả của paclitaxel và hợp chất 1 (được đặt tên là Hợp chất A trong Fig.) đơn độc hoặc kết hợp ở các phác đồ liều dùng khác nhau trên chuột cái trụi lông mang khối u ghép khác loài MDA-MB-231, mô hình TNBC. Các khối u được tạo ra ở chuột cái trụi lông bằng cách tiêm dưới da tế bào TNBC MDA-MB-231 của người (1×10^7 tế bào/200 μL HBSS/Matrigel 1:1 thể tích/thể tích). Động vật có các khối u với kích thước thích hợp được phân chia ngẫu nhiên vào các nhóm ($n = 7-8$) với thể tích khối u trung bình là khoảng 400 mm^3 . Thể tích khối u được ước lượng bằng cách sử dụng hai đường kính lớn nhất theo ($L \times W^2 \times \pi/6$) và thể trọng được cân 2-3 lần mỗi tuần. Số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SEM hoặc là thể tích khối u riêng rẽ. * $p < 0,05$, được so sánh với nhóm chất dẫn thuốc (ANOVA một phía với kiểm định post hoc của Dunnett).

Fig. 13 minh họa khả năng dung nạp paclitaxel và hợp chất 1 (được đặt tên là Hợp chất A trong Fig.) đơn độc hoặc kết hợp ở các phác đồ liều dùng khác nhau trên chuột cái trụi lông mang khối u ghép khác loài MDA-MB-231, mô hình TNBC. Các khối u được tạo ra ở chuột cái trụi lông bằng cách tiêm dưới da tế bào TNBC MDA-MB-231 của người (1×10^7 tế bào/200 μL HBSS/Matrigel 1:1 thể tích/thể tích). Động vật có các khối u với kích thước thích hợp được phân chia ngẫu nhiên vào các nhóm ($n = 7-8$) với thể tích khối u trung bình là khoảng 400 mm^3 . Thể tích khối u được ước lượng bằng cách sử dụng hai đường kính lớn nhất theo ($L \times W^2 \times \pi/6$) và thể trọng được cân 2-3 lần mỗi tuần.

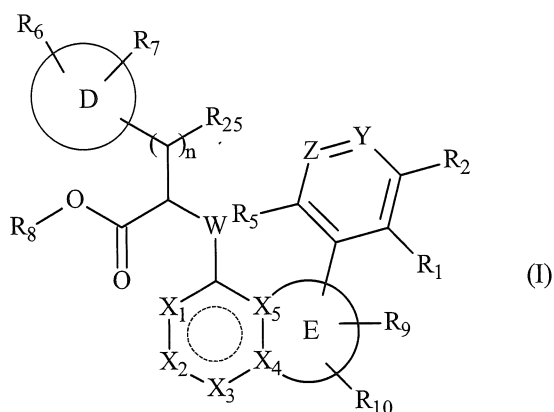
Fig. 14 minh họa tác dụng hiệp đồng của Hợp chất 1 với docetaxel.

Fig. 15 minh họa hoạt tính kháng u của docetaxel và hợp chất 1 được dùng IV đơn độc hoặc kết hợp ở chuột cái SCID mang mô hình TNBC thu được từ bệnh nhân. Docetaxel được dùng trước sau 30 phút hoặc 72 giờ sau với hợp chất 1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Do đó, sáng chế đề cập đến phương án E1, tổ hợp chứa:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (I):



trong đó:

- ◆ D là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,
- ◆ E là vòng furyl, thienyl hoặc pyrrolyl,
- ◆ X₁, X₃, X₄ và X₅ độc lập với nhau là nguyên tử cacbon hoặc nguyên tử nitơ,
- ◆ X₂ là nhóm C-R₂₆ hoặc nguyên tử nitơ,
- ◆  có nghĩa là vòng thiom
- ◆ Y là nguyên tử nitơ hoặc nhóm C-R₃,
- ◆ Z là nguyên tử nitơ hoặc nhóm C-R₄,
- ◆ R₁ là nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, -Cy₈, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-R₁₂, -C(O)-OR₁₁, -O-C(O)-R₁₁, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -NR₁₁-C(O)-OR₁₁', -alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁-C(O)-R₁₁', -SO₂-NR₁₁R₁₁', hoặc -SO₂-alkyl(C₁-C₆),
- ◆ R₂, R₃, R₄ và R₅ độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, nhóm

nitro, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-Cy₁, -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₁, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₁, -O-alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-R₁₂, -C(O)-OR₁₁, -O-C(O)-R₁₁, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -NR₁₁-C(O)-OR₁₁', -alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁-C(O)-R₁₁', -SO₂-R₁₁R₁₁', hoặc -SO₂-alkyl(C₁-C₆),

hoặc các phần tử thể của cặp (R₁, R₂), (R₂, R₃), (R₃, R₄), (R₄, R₅) cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng từ 1 đến 2 nhóm được chọn từ halogen, (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₃R₁₃', -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁ hoặc oxo,

- ♦ R₆ và R₇ độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, -alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁R₁₁', -O-Cy₁, -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₁, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₁, -O-alkyl(C₁-C₆)-R₁₂, -C(O)-OR₁₁, -O-C(O)-R₁₁, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -NR₁₁-C(O)-OR₁₁', -alkyl(C₁-C₆)-NR₁₁-C(O)-R₁₁', -SO₂-NR₁₁R₁₁', hoặc -SO₂-alkyl(C₁-C₆),

hoặc các phần tử thể của cặp (R₆, R₇), khi được gắn vào hai nguyên tử cacbon liền kề, cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm được chọn từ nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -NR₁₃R₁₃', -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁ hoặc oxo,

- ♦ W là nhóm -CH₂-, nhóm -NH- hoặc nguyên tử oxy,
- ♦ R₈ là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₈)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -CHR_aR_b, nhóm aryl, nhóm heteroaryl, nhómarylalkyl(C₁-C₆), hoặc nhóm heteroarylalkyl(C₁-C₆),
- ♦ R₉ là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-

C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -Cy₂, -alkyl(C₁-C₆)-Cy₂, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₂, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₂, -Cy₂-Cy₃, -alkynyl(C₂-C₆)-O-Cy₂, -Cy₂-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₃, nguyên tử halogen, nhóm xyano, -C(O)-R₁₄, hoặc -C(O)-NR₁₄R₁₄' ,

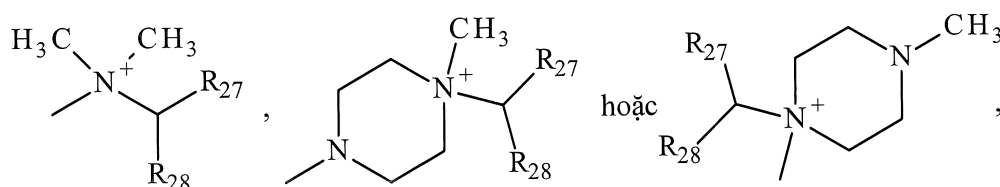
- ♦ R₁₀ là nguyên tử hydro, nhóm mạch thẳng hoặc mạch nhánh (C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm arylalkyl(C₁-C₆), nhóm xycloalkylalkyl(C₁-C₆), (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, hoặc -alkyl(C₁-C₆)-O-Cy₄,

hoặc các phần tử thể của cặp (R₉, R₁₀), khi được gắn vào hai nguyên tử cacbon liên kề, cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,

- ♦ R₁₁ và R₁₁' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, hoặc -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁,

hoặc các phần tử thể của cặp (R₁₁, R₁₁') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng nitơ này có thể được thế bằng từ 1 đến 2 nhóm là nguyên tử hydro, hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phần tử thể khả thi này, có thể được đơteri hóa,

- ♦ R₁₂ là -Cy₅, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-Cy₆-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₇, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₉, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-Cy₉, -NH-C(O)-NH-R₁₁, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁-alkyl(C₀-C₆)-Cy₉, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁R₁₁', -OR₁₁, -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-OR₁₁, -SO₂-R₁₁, -C(O)-OR₁₁,

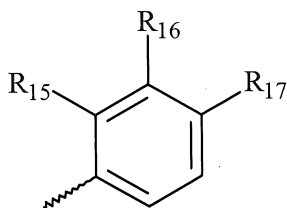


amoni

có thể được xác định là tồn tại ở dạng lưỡng tính hoặc có ion trái dấu anion hóa trị một,

- ♦ R_{13} , R_{13}' , R_{14} và R_{14}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế,
- ♦ R_a là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ♦ R_b là nhóm $-O-C(O)-O-R_c$, nhóm $-O-C(O)-NR_cR_c'$, hoặc nhóm $-O-P(O)(OR_c)_2$,
- ♦ R_c và R_c' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm (C_1-C_8) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm xycloalkyl, nhóm (C_1-C_6) alkoxy (C_1-C_6) alkyl, hoặc nhóm (C_1-C_6) alkoxycarbonyl (C_1-C_6) alkyl,
hoặc các phần tử thế của cặp (R_c, R_c') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào vòng không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy và nitơ, cần hiểu rằng nitơ này có thể được thế bằng nhóm là nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ♦ $Cy_1, Cy_2, Cy_3, Cy_4, Cy_5, Cy_6, Cy_7, Cy_8$ và Cy_{10} độc lập với nhau, là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,

- ♦ Cy_9 là



- hoặc Cy_9 là nhóm heteroaryl mà được thế bằng nhóm được chọn từ $-O-P(O)(OR_{20})_2$; $-O-P(O)(O^+M^-)_2$; $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; hydroxy; hydroxy (C_1-C_6) alkyl; $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s$ -heteroxycloalkyl; hoặc $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$,
- ♦ R_{15} là nguyên tử hydro; nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; nhóm (C_1-C_6) alkoxy (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh; nhóm $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$; hoặc nhóm $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s$ -heteroxycloalkyl,
- ♦ R_{16} là nguyên tử hydro; nhóm hydroxy; nhóm hydroxy (C_1-C_6) alkyl ; nhóm $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s$ - heteroxycloalkyl; nhóm $(CH_2)_r-U-V-O-P(O)(OR_{20})_2$; nhóm $-O-P(O)(O^+M^-)_2$; nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; nhóm $-(CH_2)_p-O-C(O)-NR_{22}R_{23}$; hoặc nhóm $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$,
- ♦ R_{17} là nguyên tử hydro; nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$; nhóm $-O-P(O)(OR_{20})_2$; nhóm $-O-P(O)(O^+M^-)_2$; nhóm hydroxy; nhóm hydroxy (C_1-C_6) alkyl;

nhóm $-(CH_2)_r-U-(CH_2)_s$ -heteroxycloalkyl; nhóm $-U-(CH_2)_q-NR_{21}R_{21}'$; hoặc axit aldonic,

- ◆ M^+ là cation hóa trị một được dùng,
- ◆ U là liên kết hoặc nguyên tử oxy,
- ◆ V là nhóm $-(CH_2)_{s-2}$ - hoặc nhóm $-C(O)-$,
- ◆ R_{18} là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkoxy (C_1-C_6) alkyl,
- ◆ R_{19} là nguyên tử hydro hoặc nhóm hydroxy (C_1-C_6) alkyl,
- ◆ R_{20} là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ◆ R_{21} và R_{21}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, hoặc nhóm hydroxy (C_1-C_6) alkyl,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_{21}, R_{21}') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

- ◆ R_{22} là nhóm (C_1-C_6) alkoxy (C_1-C_6) alkyl, nhóm $-(CH_2)_p-NR_{24}R_{24}'$, hoặc nhóm $-(CH_2)_p-O-(CHR_{18}-CHR_{19}-O)_q-R_{20}$,
- ◆ R_{23} là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkoxy (C_1-C_6) alkyl,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_{22}, R_{23}) cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 18 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 5 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro, nhóm mạch thẳng hoặc mạch nhánh (C_1-C_6) alkyl hoặc nhóm heteroxycloalkyl,

- ◆ R_{24} và R_{24}' độc lập với nhau là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

hoặc các phần tử thế của cặp (R_{24}, R_{24}') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và

nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

- ◆ R₂₅ là nguyên tử hydro, nhóm hydroxy, hoặc nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl,
- ◆ R₂₆ là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, hoặc nhóm xyano,
- ◆ R₂₇ là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ◆ R₂₈ là nhóm -O-P(O)(O⁻)(O⁻), nhóm -O-P(O)(O⁻)(OR₃₀), nhóm -O-P(O)(OR₃₀)(OR₃₀'), nhóm -O-SO₂-O⁻, nhóm -O-SO₂-OR₃₀, -Cy₁₀, nhóm -O-C(O)-R₂₉, nhóm -O-C(O)-OR₂₉ hoặc nhóm -O-C(O)-NR₂₉R₂₉';
- ◆ R₂₉ và R₂₉', độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm amino(C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,
- ◆ R₃₀ và R₃₀', độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm arylalkyl(C₁-C₆),
- ◆ n là số nguyên bằng 0 hoặc 1,
- ◆ p là số nguyên bằng 0, 1 hoặc 2,
- ◆ q là số nguyên bằng 1, 2, 3 hoặc 4,
- ◆ r và s độc lập là số nguyên 0 hoặc 1,

trong đó:

- "aryl" là nhóm phenyl, naphtyl, biphenyl, indanyl hoặc indenyl,
- "heteroaryl" là nhóm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ có từ 5 đến 10 cạnh trên vòng, có ít nhất một gốc thơm và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,
- "xycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 cạnh trên vòng,
- "heteroxycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 cạnh trên vòng, và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, chúng có thể gồm các hệ vòng ngưng tụ, nối cầu hoặc spiro,

các nhóm aryl, heteroaryl, xycloalkyl và heteroxycloalkyl được định nghĩa như vậy và các

nhóm alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy này, được thế bằng từ 1 đến 4 nhóm được chọn từ (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C₁-C₆)alkyl-S- tùy ý được thế, hydroxy, oxo (hoặc *N*-oxit nếu thích hợp), nitro, xyano, -C(O)-OR', -O-C(O)-R', -C(O)-NR'R'', -NR'R'', -(C=NR')-OR'', (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, triflometoxy, hoặc halogen, cần hiểu rằng R' và R'' độc lập với nhau là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phần tử thế khả thi nêu trên, có thể được đơteri hóa,

hoặc các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang của nó hoặc chất đồng phân atrop, hoặc các muối cộng của chúng với axit hoặc bazơ được dùng,

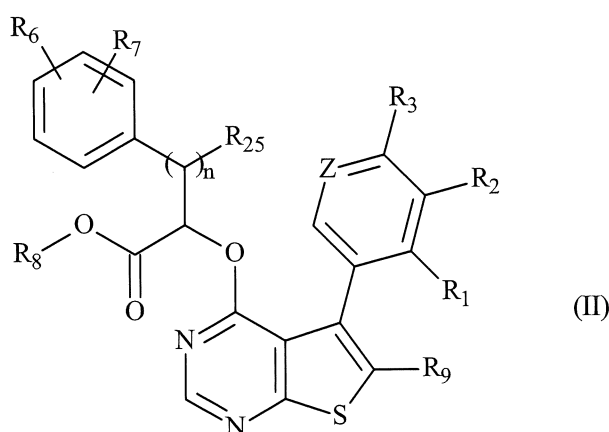
và (b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, liên tiếp hoặc riêng rẽ.

Các phương án được liệt kê khác (E) theo sáng chế được mô tả ở đây. Nhận thấy rằng các dấu hiệu nêu cụ thể trong mỗi phương án có thể được kết hợp với các dấu hiệu cụ thể khác để tạo ra các phương án khác theo sáng chế.

E2. Tổ hợp theo E1, chứa:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (II), hợp chất cụ thể của chất ức chế MCL-1 có công thức (I):



trong đó:

- ◆ Z là nguyên tử nitơ hoặc nhóm C-R₄,

- ♦ R_1 là nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C_2-C_6) alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C_2-C_6) alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C_1-C_6) alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $-S-(C_1-C_6)$ alkyl, (C_1-C_6) polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, xyano, $-NR_{11}R_{11}'$, $-Cy_8$ hoặc nguyên tử halogen,
- ♦ R_2, R_3 và R_4 độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C_2-C_6) alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C_2-C_6) alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C_1-C_6) polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm (C_1-C_6) alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $-S-(C_1-C_6)$ alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, $-alkyl(C_0-C_6)-NR_{11}R_{11}'$, $-O-Cy_1$, $-alkyl(C_0-C_6)-Cy_1$, $-alkenyl(C_2-C_6)-Cy_1$, $-alkynyl(C_2-C_6)-Cy_1$, $-O-alkyl(C_1-C_6)-R_{12}$, $-C(O)-OR_{11}$, $-O-C(O)-R_{11}$, $-C(O)-NR_{11}R_{11}'$, $-NR_{11}-C(O)-R_{11}'$, $-NR_{11}-C(O)-OR_{11}'$, $-alkyl(C_1-C_6)-NR_{11}-C(O)-R_{11}'$, $-SO_2-NR_{11}R_{11}'$, hoặc $-SO_2-alkyl(C_1-C_6)$,

hoặc phần tử thể của một trong số các cặp (R_2, R_3) , (R_3, R_4) cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm được chọn từ nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, $-NR_{13}R_{13}'$, $-alkyl(C_0-C_6)-Cy_1$ hoặc oxo,

- ♦ R_6 và R_7 độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C_2-C_6) alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C_2-C_6) alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C_1-C_6) polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm (C_1-C_6) alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm $-S-(C_1-C_6)$ alkyl, nhóm xyano, nhóm nitro, $-alkyl(C_0-C_6)-NR_{11}R_{11}'$, $-O-Cy_1$, $-alkyl(C_0-C_6)-Cy_1$, $-alkenyl(C_2-C_6)-Cy_1$, $-alkynyl(C_2-C_6)-Cy_1$, $-O-alkyl(C_1-C_6)-R_{12}$, $-C(O)-OR_{11}$, $-O-C(O)-R_{11}$, $-C(O)-NR_{11}R_{11}'$, $-NR_{11}-C(O)-R_{11}'$, $-NR_{11}-C(O)-OR_{11}'$, $-alkyl(C_1-C_6)-NR_{11}-C(O)-R_{11}'$, $-SO_2-NR_{11}R_{11}'$, hoặc $-SO_2-alkyl(C_1-C_6)$,

hoặc các phần tử thể của cặp (R_6, R_7) , khi được gắn vào hai nguyên tử cacbon liền kề, cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được

chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng vòng tạo thành có thể được thế bằng nhóm được chọn từ nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -NR₁₃R₁₃', -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁ hoặc oxo,

- ♦ R₈ là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₈)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm aryl, nhóm heteroaryl, nhóm arylalkyl(C₁-C₆), hoặc nhóm heteroarylalkyl(C₁-C₆),
- ♦ R₉ là nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, -Cy₂, -alkyl(C₁-C₆)-Cy₂, -alkenyl(C₂-C₆)-Cy₂, -alkynyl(C₂-C₆)-Cy₂, -Cy₂-Cy₃, -alkynyl(C₂-C₆)-O-Cy₂, -Cy₂-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₃, nguyên tử halogen, nhóm xyano, -C(O)-R₁₄, hoặc -C(O)-NR₁₄R₁₄',

- ♦ R₁₁ và R₁₁' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, hoặc -alkyl(C₀-C₆)-Cy₁,

hoặc các phần tử thế của cặp (R₁₁, R₁₁') cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng thơm hoặc không thơm có từ 5 đến 7 thành phần vòng, mà có thể chứa ngoài nguyên tử nitơ từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, cần hiểu rằng nitơ này có thể được thế bằng nhóm là nguyên tử hydro, hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phần tử thế khả thi này, có thể được đoteri hóa,

- ♦ R₁₂ là -Cy₅, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-alkyl(C₀-C₆)-NR₁₁-alkyl(C₀-C₆)-Cy₆, -Cy₅-Cy₆-O-alkyl(C₀-C₆)-Cy₇, -C(O)-NR₁₁R₁₁', -NR₁₁R₁₁', -OR₁₁, -NR₁₁-C(O)-R₁₁', -O-alkyl(C₁-C₆)-OR₁₁, -SO₂-R₁₁, -C(O)-OR₁₁, hoặc -NH-C(O)-NH-R₁₁,

- ♦ R₁₃, R₁₃', R₁₄ và R₁₄' độc lập với nhau là nguyên tử hydro, hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế,

- ♦ R₂₅ là nguyên tử hydro, nhóm hydroxy, hoặc nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl,

- ♦ Cy₁, Cy₂, Cy₃, Cy₅, Cy₆, Cy₇ và Cy₈ độc lập với nhau, là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,

- ♦ n là số nguyên bằng 0 hoặc 1,

trong đó:

- "aryl" là nhóm phenyl, naphthyl, biphenyl, indanyl hoặc indenyl,
- "heteroaryl" là nhóm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ có từ 5 đến 10 cạnh trên vòng, có ít nhất một gốc thơm và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,
- "xycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 cạnh trên vòng,
- "heteroxycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 cạnh trên vòng, và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, chúng có thể gồm các hệ vòng ngưng tụ, nối cầu hoặc spiro,

các nhóm aryl, heteroaryl, xycloalkyl và heteroxycloalkyl được định nghĩa như vậy và các nhóm alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy này, được thế bằng từ 1 đến 4 nhóm được chọn từ (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, (C₁-C₆)alkyl-S- tùy ý được thế, hydroxy, oxo (hoặc *N*-oxit nếu thích hợp), nitro, xyano, -C(O)-OR', -O-C(O)-R', -C(O)-NR'R'', -NR'R'', -(C=NR')-OR'', (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, triflometoxy, hoặc halogen, cần hiểu rằng R' và R'' độc lập với nhau là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế, và cần hiểu rằng một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phân tử thế khả thi nêu trên, có thể được đơteri hóa,

hoặc các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang của nó hoặc chất đồng phân atrop, hoặc các muối cộng của chúng với axit hoặc bazơ được dùng,

và (b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, liên tiếp hoặc riêng rẽ.

E3. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó hợp chất taxan là paclitaxel hoặc docetaxel.

E4. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(5-flofuran-2-yl) thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[1-(2,2,2-trifloetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]metoxy}phenyl)propanoic.

E5. Tổ hợp theo E1 hoặc E2, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl) thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic.

E6. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó hợp chất taxan là paclitaxel.

E7. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó hợp chất taxan là docetaxel.

E8. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl) thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic và hợp chất taxan là paclitaxel.

E9. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(5-flofuran-2-yl) thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[1-(2,2,2-trifloetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]metoxy}phenyl)propanoic và hợp chất taxan là paclitaxel.

E10. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl) thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic và hợp chất taxan là docetaxel.

E11. Tổ hợp theo phương án E1 hoặc E2, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(5-flofuran-2-yl) thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[1-(2,2,2-trifloetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]metoxy}phenyl)propanoic và hợp chất taxan là docetaxel.

E12. Tổ hợp theo phương án E5, trong đó liều lượng của axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic trong điều trị kết hợp là nằm trong khoảng từ 25 mg đến 1500 mg.

E13. Tổ hợp theo phương án E5 hoặc E12, trong đó axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic được dùng trong phương pháp điều trị kết hợp một lần một tuần.

- E14. Tổ hợp theo phương án bất kỳ trong số E1 đến E13, trong đó chất ức chế MCL-1 được dùng qua đường miệng và hợp chất taxan được dùng trong tĩnh mạch.
- E15. Tổ hợp theo phương án bất kỳ trong số E1 đến E13, trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được dùng trong tĩnh mạch.
- E16. Tổ hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án E1 đến E15, để dùng trong điều trị ung thư.
- E17. Tổ hợp để sử dụng theo phương án E16, trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được cung cấp với lượng có tác dụng điều trị cùng nhau để điều trị ung thư.
- E18. Tổ hợp để sử dụng theo phương án E16, trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được cung cấp với lượng có tác dụng hiệp đồng để điều trị ung thư.
- E19. Tổ hợp để sử dụng theo phương án E16, trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được cung cấp với lượng hữu hiệu hiệp đồng mà có thể làm giảm liều yêu cầu đối với mỗi hợp chất để điều trị ung thư, đồng thời tạo ra được tác dụng điều trị ung thư hữu hiệu, và cuối cùng giảm được các tác dụng phụ.
- E20. Tổ hợp để sử dụng theo phương án E16 đến E19, trong đó ung thư là bệnh ung thư vú.
- E21. Tổ hợp để sử dụng theo phương án E20, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính, cụ thể là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính kháng hóa trị, cụ thể hơn, bệnh ung thư vú bộ ba âm tính kháng liệu pháp taxan.
- E22. Tổ hợp để sử dụng theo phương án E16 đến E19, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư phổi, cụ thể là bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ hoặc bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ.
- E23. Tổ hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án E1 đến E15, còn bao gồm một hoặc nhiều tá dược.
- E24. Dược phẩm chứa tổ hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E15, kết hợp với một hoặc nhiều tá dược được dùng.
- E25. Dược phẩm theo phương án E24, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.
- E26. Dược phẩm để sử dụng theo phương án E25, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư vú.
- E27. Dược phẩm để sử dụng theo phương án E26, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính, cụ thể là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính kháng hóa trị, cụ thể hơn, bệnh ung thư vú bộ ba âm tính kháng liệu pháp taxan.

E28. Dược phẩm để sử dụng theo phương án E25, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư phổi, cụ thể là bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ hoặc bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ.

E29. Sử dụng tổ hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án E1 đến E15, trong sản xuất thuốc để điều trị ung thư.

E30. Sử dụng theo phương án E29, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư vú.

E31. Sử dụng theo phương án E30, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính, cụ thể là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính kháng hóa trị, cụ thể hơn, bệnh ung thư vú bộ ba âm tính kháng liệu pháp taxan.

E32. Sử dụng theo phương án E29, trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư phổi, cụ thể là bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ hoặc bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ.

E33. Thuốc chứa, riêng rẽ hoặc đồng thời,

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (I) như được xác định trong phương án E1, và

(b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, lần lượt hoặc riêng rẽ, và trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được cung cấp với lượng hữu hiệu để điều trị ung thư.

E34. Thuốc chứa, riêng rẽ hoặc đồng thời,

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (II) như được xác định trong phương án E2, và

(b) hợp chất taxan,

để dùng đồng thời, lần lượt hoặc riêng rẽ, và trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được cung cấp với lượng hữu hiệu để điều trị ung thư.

E35. Phương pháp điều trị ung thư, bao gồm việc dùng đồng thời lượng hữu hiệu trị liệu của:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (I) như được xác định trong phương án E1, và

(b) hợp chất taxan,

cho đối tượng cần điều trị.

E36. Phương pháp điều trị ung thư, bao gồm việc dùng đồng thời lượng hữu hiệu trị liệu của:

(a) chất ức chế MCL-1 có công thức (II) như được xác định trong phương án E2, và

(b) hợp chất taxan,

cho đối tượng cần điều trị.

E37. Phương pháp làm nhạy cho bệnh nhân mà (i) kháng ít nhất một phương pháp điều trị hóa trị liệu, hoặc (ii) tái phát sau khi điều trị bằng hóa trị liệu, hoặc cả hai (i) và (ii), trong đó phương pháp này bao gồm việc dùng đồng thời lượng hữu hiệu trị liệu của chất ức chế MCL-1 có công thức (I) như được xác định trong phương án E1 kết hợp với hợp chất taxan như được nêu trong bản mô tả này, cho bệnh nhân này.

E38. Phương pháp làm nhạy cho bệnh nhân mà (i) kháng ít nhất một phương pháp điều trị hóa trị liệu, hoặc (ii) tái phát sau khi điều trị bằng hóa trị liệu, hoặc cả hai (i) và (ii), trong đó phương pháp này bao gồm việc dùng đồng thời lượng hữu hiệu trị liệu của chất ức chế MCL-1 có công thức (II) như được xác định trong phương án E2 kết hợp với hợp chất taxan như được nêu trong bản mô tả này, cho bệnh nhân này.

“Tổ hợp” dùng để chỉ việc tổ hợp liều cố định ở dạng một đơn vị liều (ví dụ, viên nang, viên nén, hoặc gói nhỏ), tổ hợp liều không cố định, hoặc kit gồm nhiều phần để dùng kết hợp trong đó hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều thành phần kết hợp (ví dụ, thuốc khác như được giải thích dưới đây, cũng được gọi là “tác nhân trị liệu” hoặc “đồng tác nhân”) có thể được dùng độc lập đồng thời hoặc riêng rẽ trong các khoảng thời gian, đặc biệt là trong đó các khoảng thời gian này cho phép thành phần kết hợp này có tác dụng cộng hợp, ví dụ, tác dụng hiệp đồng.

Thuật ngữ “dùng đồng thời” hoặc “dùng kết hợp” hoặc thuật ngữ tương tự như được sử dụng ở đây có nghĩa là bao hàm việc dùng thành phần kết hợp được chọn cho một đối tượng có nhu cầu dùng (ví dụ, bệnh nhân), và được dự định để bao gồm các chế độ điều trị trong đó các tác nhân không nhất thiết được dùng theo cùng một đường dùng hoặc ở cùng thời điểm.

Thuật ngữ “tổ hợp liều cố định” có nghĩa là các thành phần hoạt tính, ví dụ, hợp chất có công thức (I) và một hoặc nhiều thành phần kết hợp, đều được dùng cho bệnh nhân đồng thời ở dạng đơn lẻ hoặc dạng đơn liều.

Thuật ngữ “tổ hợp liều không cố định” có nghĩa là các thành phần hoạt tính, ví dụ, hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều thành phần kết hợp, đều được dùng cho bệnh nhân ở dạng riêng rẽ đồng thời hoặc lần lượt, và không giới hạn thời gian cụ thể, trong đó việc dùng này tạo ra nồng độ hữu hiệu điều trị của hai hợp chất trong cơ thể của bệnh nhân. Hợp chất sau cũng được dùng để trị liệu phối hợp, ví dụ, dùng ba hoặc nhiều thành phần hoạt tính.

“Ung thư” có nghĩa là loại bệnh trong đó nhóm các tế bào biểu hiện sự phát triển không kiểm soát được. Các loại ung thư bao gồm khối u rắn bao gồm caxinom, sarcom, hoặc u nguyên bào. Cụ thể là ‘bệnh ung thư’ chỉ bệnh ung thư vú và ung thư phổi.

Thuật ngữ “có tác dụng điều trị cùng nhau” có nghĩa là các tác nhân trị liệu có thể được đưa ra riêng rẽ (theo cách được bố trí theo thứ tự thời gian, đặc biệt là theo trình tự cụ thể) trong các khoảng thời gian này mà chúng ưu tiên, ở động vật máu nóng, đặc biệt là người, được điều trị, vẫn có sự tương tác (tốt hơn là hiệp đồng) (tác dụng điều trị đồng thời). Cho dù đây là trường hợp có thể, không kể những cái khác, được xác định theo nồng độ trong máu, chỉ ra rằng cả hai hợp chất này xuất hiện trong máu của người cần được điều trị ít nhất trong các khoảng thời gian nhất định hay không.

“Hiệu quả hiệp đồng” hoặc “tính hiệp đồng” có nghĩa là tác dụng điều trị quan sát được sau khi dùng hai hoặc nhiều tác nhân lớn hơn tổng tác dụng điều trị quan sát được sau khi dùng mỗi tác nhân đơn lẻ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ ‘đề điều trị’, ‘điều trị’ hoặc ‘việc điều trị’ bệnh hoặc rối loạn bất kỳ, theo một phương án, đề cập đến sự cải thiện bệnh hoặc rối loạn (*tức là*, làm chậm hoặc làm ngừng hoặc làm giảm sự phát triển của bệnh hoặc ít nhất một trong các triệu chứng lâm sàng của nó). Theo phương án khác, ‘đề điều trị’, ‘điều trị’ hoặc ‘việc điều trị’ để chỉ sự thuyên giảm hoặc cải thiện ít nhất một thông số thể chất bao gồm cả các thông số mà không thể nhận thấy được bởi bệnh nhân. Theo phương án khác nữa, ‘đề điều trị’, ‘điều trị’ hoặc ‘việc điều trị’ để chỉ sự điều biến bệnh hoặc rối loạn, về thể chất (ví dụ, làm ổn định triệu chứng nhận thấy được), về sinh lý, (ví dụ, làm ổn định thông số thể chất), hoặc cả hai.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, đối tượng “có nhu cầu” điều trị nếu đối tượng này có thể có lợi về mặt sinh học, dược học hoặc chất lượng cuộc sống đối với việc điều trị này.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp làm nhạy cho người (i) kháng ít nhất một phương pháp điều trị hóa trị liệu, hoặc (ii) tái phát sau khi điều trị bằng hóa trị liệu, hoặc cả hai (i) và (ii), trong đó phương pháp này bao gồm việc dùng chất ức chế MCL-1 có công thức (I) hoặc công thức (II) kết hợp với hợp chất taxan, như được nêu trong bản mô tả này, cho bệnh nhân. Bệnh nhân được làm nhạy là bệnh nhân đáp ứng với việc điều trị bao gồm cả việc dùng chất ức chế MCL-1 có công thức (I) hoặc công thức (II) kết hợp với hợp

chất taxan, như được nêu trong bản mô tả này, hoặc không phát triển tính kháng với việc điều trị này.

‘Thuốc’ có nghĩa là dược phẩm, hoặc tổ hợp gồm một vài dược phẩm, chứa một hoặc nhiều thành phần hoạt tính với sự có mặt của một hoặc nhiều tá dược.

Trong các dược phẩm theo sáng chế, tỷ lệ của các thành phần hoạt tính theo khối lượng (khối lượng của các thành phần hoạt tính tính theo tổng khối lượng của dược phẩm) nằm trong khoảng từ 5 đến 50%.

Trong số các dược phẩm theo sáng chế, đặc biệt được sử dụng nhiều hơn là các dược phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng, ngoài đường ruột và đặc biệt là tĩnh mạch, trên hoặc qua da, mũi, trực tràng, lưỡi, mắt hoặc đường hô hấp, đặc biệt hơn là viên nén, viên trứng, viên nén dùng dưới lưỡi, viên nang cứng, kẹo glossette, viên nang, viên thuốc hình thoi, chế phẩm dùng để tiêm, dạng khí dung, thuốc nhỏ mắt hoặc mũi, thuốc đạn, kem bôi, thuốc mỡ, gel dùng trên da v.v..

Các dược phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều tá dược hoặc chất mang dược dụng được chọn từ chất pha loãng, chất làm trơn, chất kết dính, tác nhân gây rã, chất làm ổn định, chất bảo quản, chất hấp thụ, chất tạo màu, chất làm ngọt, chất tạo hương vị, v.v.

Ví dụ không giới hạn về các thành phần có thể được đề cập là:

- ♦ *chất pha loãng*: lactoza, dextroza, sucroza, manitol, sorbitol, xenluloza, glyxerol,
- ♦ *chất làm trơn*: silic oxit, bột talc, axit stearic và các muối magie và canxi của nó, polyetylen glycol,
- ♦ *chất kết dính*: magie nhôm silicat, tinh bột, gelatin, tragacan, metylxenluloza, natri carboxymetylxenluloza và polyvinylpyrrolidon,
- ♦ *chất gây rã*: aga, axit alginic và muối natri của nó, các hỗn hợp sủi bọt.

Các hợp chất của tổ hợp có thể được dùng đồng thời hoặc lần lượt. Tốt hơn nếu đường dùng là tiêm hoặc truyền trong tĩnh mạch, và các dược phẩm tương ứng có thể cho phép giải phóng tức thời hoặc giải phóng chậm các thành phần hoạt tính. Ngoài ra, các hợp chất của tổ hợp có thể được dùng ở dạng hai dược phẩm riêng rẽ, mỗi dược phẩm chứa một trong số các thành phần hoạt tính, hoặc ở dạng dược phẩm đơn nhất, trong đó các thành phần hoạt tính được trộn lẫn.

Liều lượng hữu dụng thay đổi theo giới tính, tuổi tác và khối lượng của bệnh nhân, đường dùng, bản chất của bệnh ung thư chỉ định điều trị, hoặc các việc điều trị kết hợp và nằm trong khoảng từ 25 mg đến 1500 mg chất ức chế MCL-1 mỗi tuần, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 50 mg đến 1400 mg mỗi tuần. Liều lượng của hợp chất taxan sẽ bằng với liều mà khi được sử dụng chỉ mình nó

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dữ liệu dược lý

Ví dụ 1: Hiệu quả *in vitro* đối với việc tăng sinh của việc kết hợp chất ức chế MCL-1 (hợp chất 1) với paclitaxel ở các dòng tế bào ung thư vú và phổi

Tác dụng đối với việc tăng sinh của việc kết hợp chất ức chế MCL-1 (hợp chất 1) với paclitaxel được đánh giá trong nhóm gồm 19 dòng tế bào ung thư vú (BT-20, BT-474, BT-549, Cal-148, HCC1143, HCC1395, HCC1500, HCC1937, HCC1954, HCC38, HCC70, Hs 578T, MCF7, MDA-MB-157, MDA-MB-231, MDA-MB-436, MDA-MB-453, MDA-MB-468 and SK-BR-3) và 3 dòng tế bào ung thư phổi (H522, H23 và A549).

Vật liệu và phương pháp

Các hợp chất được pha loãng trong 100 % DMSO (Sigma, Catalog #D2438-50ML) ở nồng độ gốc là 10 mM và được lưu trữ ở -20°C cho đến khi sử dụng. Các hợp chất được xếp vào các đĩa 96 giếng sâu 2 ml (Greiner bio-one, số catalog 780271) được pha loãng theo chuỗi 3 lần. Hợp chất 1 được sử dụng trong khoảng nồng độ từ 0,0 - 10,0 μ M. Paclitaxel được sử dụng trong khoảng nồng độ từ 0,0 – 1,0 μ M đối với tế bào ung thư vú và khoảng nồng độ từ 0,0 – 2,0 μ M đối với tế bào ung thư phổi.

Tất cả các dòng tế bào được mua từ bộ sưu tập chủng giống kiểu Mỹ (American Type Culture Collection) và được nuôi cấy theo khuyến nghị của nhà cung cấp. Tất cả các dòng được bổ sung FBS 10 % (GIBCO, số Catalog 10099-141). Tất cả các dòng tế bào được xác định là không bị nhiễm mycoplasma bởi thử nghiệm phát hiện PCR được thực hiện ở Idexx Radil (Columbia, MO, USA) và được xác nhận bằng phân tích SNP. Các tế bào được rửa đông từ dung dịch gốc đông lạnh, được nhân lên qua ≥ 1 đời cấy chuyển và được tăng trưởng ở 37 °C trong CO₂ 5%. Tế bào được nhân lên trong bình T-75 và được đánh giá khả năng sống bằng cách sử dụng thiết bị đếm Beckman-Coulter ViCell trước khi cấy trên đĩa. Để tách và

nhân lên các dòng tế bào, các tế bào được lấy ra khỏi bình bằng cách sử dụng 0,25 % Trypsin-EDTA (Corning Costar, Catalog #25-053-CL).

Mức độ tăng sinh của tế bào được đo trong thử nghiệm CellTiter-Glo™ (CTG) 72 giờ và tất cả kết quả được thể hiện là kết quả của ít nhất ba lần đo lặp lại. Tế bào được phân tán trong đĩa 96 giếng được xử lý nuôi cấy mô (Costar, số catalog 3904) với thể tích cuối cùng là 80 μ L môi trường và mật độ là 3000 tế bào mỗi giếng. 16 đến 24 giờ sau khi cấy trên đĩa, 20 μ L mỗi chuỗi pha loãng hợp chất được chuyển vào các đĩa chứa tế bào, thu được các khoảng nồng độ hợp chất như đã nêu trên và nồng độ DMSO cuối cùng là 0,16 %. Ngoài ra, đĩa vào ngày 0 được thử nghiệm tại thời điểm này bằng cách sử dụng thử nghiệm khả năng phát quang của tế bào CellTiter-Glo®, như được mô tả dưới đây. Sau 72 giờ xử lý hợp chất tác dụng của các hợp chất lên sự tăng sinh của tế bào được xác định bằng thử nghiệm khả năng sống sót của tế bào phát quang CellTiter-Glo™ (Promega, Catalog #G7573). Đây là một phương pháp đồng nhất để xác định số lượng tế bào sống trong nuôi cấy dựa trên việc định lượng ATP hiện tại, báo hiệu sự hiện diện của các tế bào hoạt động trao đổi chất. Phương pháp được mô tả chi tiết trong Technical Bulletin, TB288 Promega. Nói ngắn gọn, 100 μ L thuốc thử CTG được bổ sung vào các đĩa và được ủ trong 20-30 phút trên máy lắc quỹ đạo. Sau đó các đĩa được đọc bằng máy đọc đĩa X4 Perkin Elmer Victor™.

Tỷ lệ ức chế tăng trưởng, ức chế quá mức và ức chế tăng trưởng được tính bằng cách sử dụng phần mềm Combo Module bằng cách sử dụng mẫu hiệp đồng Loewe (như được mô tả trong Lehar et al., *Nature Biotechnology* 2009, 27(7), 659-66), mà xác định hiệu quả lên sự tăng trưởng ở trên điều gì sẽ xảy ra nếu hai loại dược chất hoạt động theo cách cộng liều. Các số dương thể hiện các vùng hiệp đồng tăng. Tỷ lệ % ức chế tăng trưởng so với DMSO được thể hiện trong bảng được đặt tên là “*Ức chế*”. Lượng ức chế vượt quá lượng dự kiến trong bảng được đặt tên là “*Ức chế quá mức Loewe*”. Lượng ức chế được chuẩn hóa với ngày 0 được thể hiện trong bảng được đặt tên là “*Ức chế tăng trưởng*”. Các nồng độ của hợp chất 1 được thể hiện dọc theo hàng dưới cùng từ trái sang phải và tăng nồng độ paclitaxel dọc theo hầu hết các cột bên trái từ dưới lên trên. Tất cả các điểm còn lại trong lưới hiển thị kết quả từ sự kết hợp của hai chất ức chế tương ứng với các nồng độ của tác nhân đơn được biểu thị trên hai trục. Giá trị IC_{50} tuyệt đối được xác định bằng cách tìm nồng độ hợp chất khi đường cong tính toán cắt mốc hoạt tính 50 %. Giá trị IC_{50} tuyệt đối và điểm hiệp đồng được tính trong phần mềm Combo module như được mô tả trong tài liệu của Lehar et al. 2009.

Điểm số hiệp đồng

$SS \sim 0 \rightarrow$ Cộng hợp liều lượng

$SS > 2 \rightarrow$ Hiệp đồng

$SS > 1 \rightarrow$ Hiệp đồng yếu

Bảng 1. Các giá trị IC_{50} tuyệt đối đơn chất đối với từng hợp chất và điểm số hiệp đồng đối với tổ hợp của hợp chất 1 và paclitaxel được chỉ ra. Sự tương tác được cho là có tác dụng hiệp đồng khi số điểm $\geq 2,0$ khi được quan sát.

Dòng tế bào	Dòng	Hợp chất 1	Paclitaxel	Tổ hợp
		IC_{50} tuyệt đối (nM)	IC_{50} tuyệt đối (nM)	Điểm số hiệp đồng (SS)
BT-20	Vú	653	5,97	7,93
BT-474	Vú	1262,5	1,7	4,7
BT-549	Vú	>10000	8,82	9,01
Cal-148	Vú	1330	4,25	13,8
HCC1143	Vú	>10000	9,43	2,58
HCC1395	Vú	9915	8,03	1,52
HCC1500	Vú	257,5	>1000	6,38
HCC1937	Vú	137	11,6	9,4
HCC1954	Vú	158,5	6,5	3,69
HCC38	Vú	3385	4,33	5,19
HCC70	Vú	704	8,39	11,9
Hs 578T	Vú	519,5	0,363	8,49
MCF7	Vú	1292,5	10,4	3,82
MDA-MB-157	Vú	>10000	>1000	0,389
MDA-MB-231	Vú	>10000	17,5	4,86
MDA-MB-436	Vú	>10000	14,7	1,41
MDA-MB-453	Vú	>10000	4,2	23,9
MDA-MB-468	Vú	9917,5	3,07	11,3
SK-BR-3	Vú	301	2,66	4,52
NCI-H522	Phổi	713	0,48	14,9
NCI-H23	Phổi	160	0,22	6,97
A549	Phổi	>10000	0,163	4,82

Kết quả

Hợp chất 1 là đơn chất ức chế sự tăng trưởng của 7/19 dòng tế bào ung thư vú và 2/3 các dòng tế bào ung thư phổi, với giá trị IC_{50} dưới 1000 nM (bảng 1).

Paclitaxel là đơn chất ức chế sự tăng trưởng của 17/19 dòng tế bào ung thư vú và 3/3 dòng tế bào ung thư phổi, với giá trị IC_{50} dưới 1000 nM.

Trong chế phẩm kết hợp, việc điều trị bằng hợp chất 1 và paclitaxel tạo ra sự ức chế tăng trưởng hiệp đồng (tức là Điểm số hiệp đồng trên 2 (Lehar et al, 2009)) ở 16/19 dòng tế bào ung thư vú và 3/3 dòng tế bào ung thư phổi (bảng 1). Trong 11 các dòng tế bào, tác dụng hiệp đồng là rõ rệt, với điểm số hiệp đồng trên 6. Quan trọng là, tác dụng hiệp đồng không phụ thuộc vào tác dụng chống tăng sinh của đơn chất, và tác dụng hiệp đồng xuất hiện ở khoảng nồng độ đơn lẻ rộng. (Fig 1, 2 và 3), chứng minh tính linh hoạt *in vivo* có lợi đối với các mức và phác đồ liều.

Ví dụ 2: Hiệu quả *in vitro* đối với sự tăng sinh khi kết hợp chất ức chế MCL-1 (hợp chất 2) với paclitaxel ở các dòng tế bào ung thư vú và phổi

Tác dụng đối với sự tăng sinh khi kết hợp chất ức chế MCL-1 (Hợp chất 2) với paclitaxel được đánh giá trong bảng gồm 2 dòng tế bào ung thư vú (MDA-MB-453 và MDA-MB-468) và một dòng tế bào ung thư phổi (H522).

Vật liệu và phương pháp

Các dòng tế bào được lấy từ nguồn và được duy trì trong môi trường cơ bản có bổ sung huyết thanh thai bò như được thể hiện trên bảng 2. Ngoài ra, tất cả các môi trường chứa penixilin (100 IU/ml), streptomycin (100 µg/ml) và L-glutamin (2 mM).

Các dòng tế bào được nuôi cấy ở 37 °C trong môi trường ẩm chứa CO₂ 5 % và được nhân lên trong các bình cầu T-150. Trong tất cả các trường hợp, các tế bào này được rửa đồng từ các dung dịch gốc đông lạnh, được nhân lên qua ≥1 đời cấy chuyển bằng cách sử dụng dung dịch pha loãng thích hợp, được đếm và được đánh giá về khả năng sống sót bằng cách sử dụng máy đếm tế bào CASY trước khi cấy trên đĩa 150 µl/giếng với các mật độ được thể hiện trên bảng 2 vào các đĩa có 96 giếng. Tất cả các dòng tế bào này được xác định là không bị nhiễm mycoplasma nội bộ.

Dung dịch gốc chứa các hợp chất được điều chế ở nồng độ 5 mM trong DMSO và được bảo quản ở -20 °C.

Để phân tích hoạt tính của các hợp chất khi ở dạng đơn chất và trong chế phẩm kết hợp, các tế bào được cấy và được xử lý bằng bảy hoặc tám dịch pha loãng gấp 3,16 lần theo dãy của mỗi hợp chất được phân tán, riêng biệt hoặc ở tất cả các hoán vị kiểu bàn cờ, trực tiếp trên các đĩa thử nghiệm tế bào như được thể hiện trên Fig. 5 và 6. Tác dụng của các tác nhân đơn lẻ cũng như dạng kết hợp bàn cờ của chúng đối với khả năng sống sót tế bào được đánh

giá sau 3 ngày ủ ở 37°C/CO₂ 5 % bằng cách định lượng mức ATP tế bào sử dụng CellTiterGlo ở 75 µL thuốc thử/giếng. Ít nhất hai thử nghiệm độc lập được tiến hành, mỗi thử nghiệm được tiến hành hai lần giống nhau. Mức phát quang được định lượng trên máy đọc đĩa nhiều mục đích.

Các giá trị IC₅₀ của tác nhân đơn lẻ được tính toán bằng cách sử dụng việc khớp đường cong bốn thông số chuẩn. Sự tương tác hiệp đồng tiềm năng giữa các tổ hợp của hợp chất được đánh giá bằng cách sử dụng ma trận ức chế quá mức 2D theo mô hình cộng hợp Loewe và được báo cáo ở dạng điểm số hiệp đồng (Lehar et al, Nat Biotechnol. 2009). Tất cả các tính toán được tiến hành bằng cách sử dụng phần mềm sinh tin Clallice™ Bioinformatics có sẵn trên trang web Horizon.

Thời gian nhân đôi được thể hiện trên bảng 2 là giá trị trung bình của thời gian nhân đôi thu được trong các đời cấy chuyển khác nhau (trong các bình cầu T-150) được tiến hành từ quá trình rã đông các tế bào thành dạng cấy của chúng trong các đĩa 96 giếng.

Điểm số hiệp đồng

SS ~ 0 → Cộng hợp

SS >1 → Hiệp đồng yếu

SS >2 → Hiệp đồng

Bảng 2. Tính đồng nhất và điều kiện thử nghiệm đối với các dòng tế bào được sử dụng trong các thử nghiệm kết hợp.

Dòng tế bào	Dòng	Trung bình	%FBS	Nguồn	Thời gian nhân đôi (giờ)	Số lượng tế bào được cấy/giếng
MDA-MB-453	Vú	L-15	10	ATCC	41,4	15000
MDA-MB-468	Vú	L-15	20	ATCC	34,3	30000
H522	Phổi	RPMI	10	ATCC	67,2	30000

Bảng 3. Giá trị IC₅₀ của tác nhân đơn lẻ đối với Hợp chất 2 và paclitaxel được thể hiện. Các hợp chất được ủ với các tế bào trong 3 ngày.

Dòng tế bào	Hợp chất 2		Paclitaxel	
	Nồng độ bắt đầu [µM]	IC ₅₀ [µM]	Nồng độ bắt đầu [µM]	IC ₅₀ [µM]
MDA-MB-453	2,00	> 2	1,0	> 1
MDA-MB-468	2,00	> 2	1,0	0,0009
H522	2,00	0,140	0,01	0,0002

Bảng 4. Điểm số hiệp đồng đối với tổ hợp của hợp chất 2 và paclitaxel được thể hiện. Sự tương tác được cho là có tác dụng hiệp đồng khi số điểm $\geq 2,0$ khi được quan sát. Nồng độ ban đầu của các hợp chất, giá trị trung bình của quá trình ức tối đa và độ lệch chuẩn (sd) của điểm số hiệp đồng được thể hiện. Các hợp chất được ủ với các tế bào trong 3 ngày.

Dòng tế bào	Hợp chất 2		Paclitaxel		Chế phẩm kết hợp	
	Nồng độ bắt đầu [μM]	Giá trị trung bình của mức ức chế tối đa [%]	Nồng độ bắt đầu [μM]	Giá trị trung bình của mức ức chế tối đa [%]	Giá trị trung bình của điểm số hiệp đồng (SS)	Sai số của điểm số hiệp đồng (sd)
MDA-MB-453	2,0	21,0	1,00	37,0	16,9	0,5
MDA-MB-468	2,0	24,0	1,00	75,0	6,5	0,2
H522	2,0	92,0	0,01	61,0	3,7	0,6

Kết quả

Hợp chất 2 ở dạng tác nhân đơn lẻ ức chế sự tăng trưởng của 1/3 các dòng tế bào được thử nghiệm, với giá trị IC_{50} là 140 nM đối với dòng tế bào H522 (bảng 3).

Paclitaxel là đơn chất ức chế sự tăng trưởng của 2/3 dòng được thử nghiệm, với giá trị IC_{50} dưới 1 nM.

Khi kết hợp, việc điều trị hợp chất 2 và paclitaxel gây sự ức chế tăng trưởng theo cách hiệp đồng (tức là Điểm số hiệp đồng lớn hơn 2 (Lehar et al. 2009)) ở ba dòng tế bào được thử nghiệm (bảng 4). Trong 2 dòng tế bào, tác dụng hiệp đồng là rõ rệt, với các điểm số hiệp đồng là 6,5 và 16,9. Quan trọng là, tác dụng hiệp đồng không phụ thuộc vào tác dụng chống tăng sinh của đơn chất, và tác dụng hiệp đồng xuất hiện trong khoảng rộng các nồng độ của đơn chất (Fig. 4 và 5), mà từ đó chứng minh tính linh hoạt *in vivo* đối với các mức và phác đồ liều.

Ví dụ 3: Tác dụng hiệp đồng giữa chất ức chế MCL-1 và docetaxel *in vitro*

Các tác giả sáng chế đã nghiên cứu xem liệu chất ức chế MCL-1 (Hợp chất 2) có tạo ra hoạt tính hiệp đồng với các chất hiện được sử dụng trong điều trị TNBC hay không. Hợp chất 2 được kết hợp với docetaxel trong tế bào SK-BR-3.

Vật liệu và phương pháp

Dòng tế bào: Các dòng tế bào ung thư vú SK-BR-3 được duy trì trong RPMI-1640 cộng GlutaMAX-1 (Gibco) được bổ sung huyết thanh thai bò (FCS) 10 % và insulin 10 $\mu\text{g/ml}$. Đối với các thử nghiệm khả năng sống, tế bào được cấy lên đĩa ở 2×10^5 tế bào/ml trong đĩa

96 giếng, trong môi trường RPMI-1640 (Gibco) được bổ sung FCS 10 % và insulin 10 µg/ml, và được xử lý với các nồng độ gia tăng của Hợp chất 2.

Khả năng sống của tế bào: Khả năng sống của tế bào được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm phát quang Cell Titer Glo (Promega) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chất ức chế caspaza phổ rộng QVD-OPh hydrat (Sigma-Aldrich) được sử dụng ở 10 µM. Việc loại bỏ propidi iodua (5 µg/ml) được phân tích bằng cách đếm dòng tế bào. Thử nghiệm tế bào *in vitro* hướng đến tác dụng hiệp đồng giữa các dược chất khác nhau, tác dụng kết hợp được xác định bằng cách sử dụng phương pháp độc lập Bliss (Prichard et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1991, 35, 1060-5).

Kết quả

Docetaxel và các chất ức chế MCL-1 đã thể hiện tác dụng hiệp đồng rõ rệt ở các nồng độ rất thấp của cả hai thành phần. Cụ thể là, docetaxel và Hợp chất 2 đã thể hiện tác dụng hiệp đồng rõ rệt ở các nồng độ rất thấp của docetaxel (2 nM) và Hợp chất 2 (31 nM) (Fig. 6 và 7). Việc ức chế caspaza bằng các chất ức chế pan-caspaza QVD-OPH phong bế hữu hiệu sự chết tế bào, khẳng định rằng việc chết tế bào được kích khởi thông qua quá trình chết theo chương trình (Fig. 6).

Ví dụ 4: Việc ức chế MCL-1 làm nhảy các khối u PDX đối với việc điều trị bằng taxan *in vivo*

Do các thử nghiệm *in vitro* đã tiết lộ rằng các dòng tế bào ung thư vú được làm nhạy với Hợp chất 2 trong liệu pháp điều trị kết hợp, các tác giả sáng chế tiếp theo đã xác định hiệu quả trị liệu *in vivo* của chúng trong ba mô hình PDX, thể hiện ba TNBC (110T, 838T và PDX OD-BRE-0589).

Vật liệu và phương pháp

Các mô ung thư vú của người thu được từ các bệnh nhân đồng ý thông qua Ngân hàng mô bệnh viện Hoàng gia Melbourne, Trung tâm Ung thư Victoria Biobank và Georges-Francois Leclerc với sự chấp thuận của hội đồng đánh giá cơ quan có liên quan. Phê chuẩn của hội đồng đạo đức con người đạt được từ Ủy ban đạo đức nghiên cứu con người của Viện Walter và Eliza (WEHI) và từ Ủy ban đạo đức nghiên cứu con người của Trung tâm Georges-Francois Leclerc. Chuột bị bất hoạt thụ thể NOD SCID IL2 gamma hoặc chuột SCID được

lai giống và duy trì theo hướng dẫn của cơ quan. Tất cả các thí nghiệm trên động vật đã được phê duyệt bởi Ủy ban đạo đức động vật WEHI và Viện nghiên cứu Servier (IdRS).

Hợp chất 2 (25 mg/kg) hoặc chất dẫn thuốc của nó được tiêm trong tĩnh mạch hàng tuần trong sáu tuần. Hợp chất 2 được hòa tan trong (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin 20 % và axit clohydric 25 mM. Docetaxel (10 mg/kg trong màng bụng) hoặc chất dẫn thuốc của nó được chuẩn bị như đã được mô tả trước đó (Oakes et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2012, 109, 2766-71) và được tiêm trong màng bụng hàng tuần một ngày trước hợp chất 2. Chuột được theo dõi sự phát triển khối u ba lần mỗi tuần và kích thước khối u được đo bằng thước cặp điện tử. Thể tích khối u được ước tính bằng cách đo đường kính khối u tối thiểu và tối đa bằng công thức: (đường kính tối thiểu)²(đường kính tối đa)/2. Khi khối u phát sinh, chuột được chọn ngẫu nhiên vào các nhánh điều trị. Việc điều trị được bắt đầu khi thể tích khối u đạt 80-120 mm³. Việc phân chia ngẫu nhiên và đo khối u được quản lý bằng phần mềm Study Director (v 3.0, studylog). Chuột bị chết ở lần đo thứ nhất do thể tích khối u vượt quá 600 mm³ hoặc giảm sức khỏe không phải do sự tiến triển của bệnh hoặc độc tính của dược chất (chuột được kiểm duyệt).

Kết quả

Hợp chất 2 đơn độc không đủ để ức chế sự tăng trưởng của khối u. Tuy nhiên, đã quan sát thấy hoạt tính vượt trội của tổ hợp với docetaxel so với docetaxel được dùng ở dạng tác nhân riêng rẽ, dẫn đến cải thiện đáng kể khả năng sống của động vật ở ba mô hình PDX (Fig. 8).

Kết quả này chỉ ra rằng chất ức chế MCL-1 được kết hợp với hợp chất taxan có khả năng tăng cường đáng kể đáp ứng của khối u và kết quả lâm sàng.

Ví dụ 5: Chất ức chế MCL-1 được kết hợp với docetaxel được dung nạp tốt *in vivo*

Chuột bất hoạt thụ thể NOD SCID IL2 gamma được điều trị bằng docetaxel (15 mg/kg, một lần trong màng bụng) và Hợp chất 2 ở 25 hoặc 50 mg/kg (3 chuột mỗi nhóm, tiêm trong tĩnh mạch, một lần một tuần trong 3 tuần). Thể trọng của chúng được theo dõi ba lần mỗi tuần trong 3 tuần.

Hợp chất 2 được kết hợp với docetaxel được tính dung nạp tốt và không làm giảm thể trọng đáng kể (Fig. 9).

Ví dụ 6: Hiệu quả hợp chất 1 kết hợp với paclitaxel trong mô hình ghép khác loài khối u vú MDA-MB-231 ở chuột trụi lông

Phương pháp

Nghiên cứu này đánh giá hoạt tính kháng u và khả năng dung nạp của hợp chất 1 kết hợp với paclitaxel trong mô hình bệnh ung thư vú bộ ba âm tính (TNBC), MDA-MB-231, ở chuột cái trụi lông NTac:NIH-Wln (Taconic).

Hợp chất 1 (bazo) và paclitaxel (Sandoz) được sử dụng trong các nghiên cứu này. Paclitaxel được pha loãng theo hướng dẫn của nhà sản xuất bằng dung dịch glucoza 5 % (khối lượng/thể tích) tiệt trùng thành 1,5 mg/ml để dùng 7,5 mg/kg trong thể tích liều 5 ml/kg [nồng độ etanol và Cremophor EL cuối cùng tương ứng là 10 và 15 %, trong dung dịch glucoza 5 % (khối lượng/thể tích)]. Hợp chất 1 được bào chế trong chế phẩm liposom (Novartis) ở 5 mg/ml để dùng liều 50 mg/kg trong thể tích liều 10 ml/kg.

MDA-MB-231, dòng tế bào ung thư vú bộ ba âm tính, thu được từ ngân hàng tế bào ATCC. Các tế bào được nuôi cấy ở 37 °C trong môi trường CO₂ 5 % trong không khí trong môi trường giàu glucoza DMEM (BioConcept Ltd. Amimed) được bổ sung 10 % FCS (BioConcept Ltd. Amimed, # 2-01F36-I) và 4 mM L-glutamin (BioConcept Ltd. Amimed, #5-10K00-H). Để tạo ra mẫu ghép khác loài MDA-MB-231 các tế bào được thu gom và được tạo huyền phù lại trong HBSS (Gibco, #14175) và được trộn với Matrigel (BD Bioscience, #354234) (1:1 thể tích/thể tích) trước khi tiêm dưới da 200 µL chứa 1 x 10⁷ tế bào trong sườn phải của động vật được gây mê bằng isofluran. 20 giờ trước khi chủng tế bào, tất cả các động vật được chiếu 5Gy trong 2 phút sử dụng thiết bị chiếu xạ γ .

Sự tăng trưởng của khối u được kiểm tra thường xuyên sau khi chủng tế bào và động vật được chia ngẫu nhiên và các nhóm điều trị (n = 7-8) với thể tích khối u trung bình là khoảng 400 mm³. Các nhóm được điều trị bằng:

- 1) chất dẫn thuốc được sử dụng để bào chế paclitaxel, trong tĩnh mạch cộng với chất dẫn thuốc liposom trong tĩnh mạch; hoặc
- 2) 7,5 mg/kg trong tĩnh mạch bolus paclitaxel cộng với chất dẫn thuốc liposom trong tĩnh mạch; hoặc
- 3) chất dẫn thuốc được sử dụng để bào chế paclitaxel trong tĩnh mạch cộng với hợp chất 1 ở 50 mg/kg trong tĩnh mạch; hoặc

4) 7,5 mg/kg paclitaxel trong tĩnh mạch cộng với 50 mg/kg hợp chất 1 trong tĩnh mạch.

Chất dẫn thuốc của paclitaxel hoặc paclitaxel được dùng một lần một tuần (QW) dưới dạng liều bolus chậm qua tĩnh mạch đuôi 0,5 giờ hoặc 16 giờ trước khi chất dẫn thuốc của hợp chất 1 hoặc chính hợp chất 1 trong dạng bào chế liposom và chúng được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch trong 15 phút qua tĩnh mạch đuôi. Để dùng bolus và truyền 15 phút động vật được gây mê trong khoảng 5 và 25 phút, tương ứng bằng isofluran/O₂.

Thể tích khối u được đo bằng thước cặp 2-3 lần mỗi tuần. Kích thước khối u, tính theo mm³, được tính toán từ: $(L \times W^2 \times \pi/6)$, trong đó W = chiều rộng và L = chiều dài của khối u. Các động vật cũng được cân 2-3 lần một tuần và được kiểm tra thường xuyên các dấu hiệu hiển nhiên của các tác dụng phụ bất kỳ.

Dữ liệu về sự thay đổi khối u và thể trọng được phân tích về mặt thống kê bằng cách sử dụng GraphPad Prism 7.00 (phần mềm GraphPad). Nếu các thay đổi về dữ liệu được phân bố bình thường, thì dữ liệu này được phân tích bằng cách sử dụng ANOVA một chiều cùng với kiểm định post hoc Dunnett để so sánh nhóm điều trị với nhóm đối chứng. Kiểm định post hoc Tukey được sử dụng để so sánh trong nhóm. Theo cách khác, kiểm định xếp hạng Kruskal-Wallis kiểm định post hoc Dunn được sử dụng. Khi dùng, các kết quả được thể hiện là giá trị trung bình $\pm$ SEM.

Để đánh giá hiệu quả, giá trị %T/C được tính toán ở giai đoạn kết thúc thử nghiệm theo:

$$(\Delta \text{thể tích khối u}^{\text{điều trị}} / \Delta \text{thể tích khối u}^{\text{đối chứng}}) * 100$$

Mức thoái triển khối u được tính toán theo:

$$-(\Delta \text{thể tích khối u}^{\text{được điều trị}} / \text{thể tích khối u}^{\text{được điều trị ở thời điểm bắt đầu}}) * 100$$

trong đó Δ thể tích khối u thể hiện thể tích khối u trung bình vào ngày đánh giá trừ đi thể tích khối u trung bình ở thời điểm bắt đầu thử nghiệm.

Kết quả: Tính hiệu quả và tính dung nạp

Hợp chất 1 50 mg/kg được dùng liều trong 0,5 giờ hoặc 16 giờ sau chất dẫn thuốc của paclitaxel [etanol : Cremophor EL : glucoza 5 % (khối lượng/thể tích) (10 : 15 : 75 %)] được dung nạp tốt.

Hợp chất 1 (50 mg/kg QW) trong dạng bào chế liposom thể hiện là không có hiệu quả trên mô hình ghép khác loài MDA-MB-231 sau khi truyền tĩnh mạch QWx7 (Fig. 10 và 12).

Paclitaxel 7,5 mg/kg làm trễ sự tăng trưởng khối u ($T/C \% = 34 \%$) và khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) với nhóm được điều trị chất dẫn thuốc (Fig. 10 và 12).

Tổ hợp của 7,5 mg/kg paclitaxel trong tĩnh mạch cộng với 50 mg/kg hợp chất 1 trong tĩnh mạch được dùng 0,5 giờ hoặc 16 giờ một phần gây thoái triển tương ứng 82 và 59 % vào ngày 28 sau khi bắt đầu điều trị ở động vật còn sống (3/8 cả hai nhóm) (Fig. 10). Vào ngày 46 từ khi bắt đầu điều trị, mức thoái triển khối u tương ứng là 92 và 81 %, ở các động vật còn sống tương ứng là 2/8 và 3/8. Thể tích khối u ở động vật từ cả hai nhóm kết hợp này là khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) so với động vật được điều trị bằng paclitaxel hoặc hợp chất 1 đơn độc vào ngày 28 và 46 (Fig. 10).

Tổ hợp của 7,5 mg/kg paclitaxel trong tĩnh mạch cộng với 25 mg/kg hợp chất 1 trong tĩnh mạch được dùng 16 giờ một phần làm ngừng phát triển khối u (thoái triển 15 % vào ngày 28 và giá trị $T/C \%$ là 2 % vào ngày 49 sau khi bắt đầu điều trị) ở động vật còn sống (7/7) (Fig. 12). Phác đồ liều dùng được dung nạp tốt dựa trên sự thay đổi thể trọng và dấu hiệu lâm sàng.

Tổ hợp của 3,75 mg/kg paclitaxel trong tĩnh mạch cộng với 50 mg/kg hợp chất 1 trong tĩnh mạch được dùng 16 giờ một phần làm ngừng phát triển khối u đến ngày 35 (thoái triển 3 % vào ngày 28 và giá trị $T/C \%$ là 20 % vào ngày 49 sau khi bắt đầu điều trị) ở động vật còn sống (7/7) (Fig. 12). Phác đồ liều dùng được dung nạp tốt dựa trên sự thay đổi thể trọng và dấu hiệu lâm sàng. (Fig. 11 và 13). Các dữ liệu này chỉ ra rằng tổ hợp của paclitaxel và hợp chất 1 có tác dụng tích cực rõ rệt lên hoạt tính kháng u so với từng chất đơn độc.

Ví dụ 7: Việc ức chế MCL-1 làm các khối u PDX nhạy đối với việc điều trị bằng taxan *in vivo*

Các tác giả sáng chế xác định hiệu quả điều trị bệnh *in vivo* của hợp chất 1 trong liệu pháp điều trị kết hợp, trong mô hình TNBC 110T PDX.

Vật liệu và phương pháp

Các mô ung thư vú của người thu được từ các bệnh nhân đồng ý thông qua Ngân hàng mô bệnh viện Hoàng gia Melbourne, Trung tâm Ung thư Victoria Biobank và Georges-Francois Leclerc với sự chấp thuận của hội đồng đánh giá cơ quan có liên quan. Phê chuẩn

của hội đồng đạo đức con người đạt được từ Ủy ban đạo đức nghiên cứu con người của Viện Walter và Eliza (WEHI) và từ Ủy ban đạo đức nghiên cứu con người của Trung tâm Georges-Francois Leclerc. Chuột bị bất hoạt thụ thể NOD SCID IL2 gamma hoặc chuột SCID được lai giống và duy trì theo hướng dẫn của cơ quan. Tất cả các thí nghiệm trên động vật đã được phê duyệt bởi Ủy ban đạo đức động vật WEHI và Viện nghiên cứu Servier (IdRS).

Một nhóm gồm 40 chuột cái NSG được đưa vào cơ thể thể huyền phù tế bào đơn đã được rửa đông của khối u vú của người đời cấy chuyển sớm (TNBC PDX110). Vắt tất, 100.000 tế bào được tái tạo huyền phù trong 10 μ l chất đệm cấy ghép (50 % huyết thanh thai bò, 10 % dung dịch trypan xanh 0,04 % và 40 % PBS) và Matrigel được khử yếu tố tăng trưởng [BD] ở tỷ lệ 3:1, và được tiêm vào trong các miếng mỡ của động vật có vú đã được làm sạch của chuột nhắt cái NOD-SCID-IL2R γ ^{-/-} 3 hoặc 4 tuần tuổi. Chuột được theo dõi sự phát triển khối u ba lần mỗi tuần và kích thước khối u được đo bằng thước cặp điện tử. Thể tích khối u được ước tính bằng cách đo đường kính khối u tối thiểu và tối đa bằng công thức: (đường kính tối thiểu)²(đường kính tối đa)/2. Khi khối u đạt đến thể tích 60-110 mm³, chuột nhắt được phân chia ngẫu nhiên vào các nhánh điều trị và việc điều trị được bắt đầu. Docetaxel hoặc chất dẫn thuốc của nó được chuẩn bị bằng cách hòa tan dung dịch gốc (20 mg/ml) với PBS và được tiêm trong màng bụng mỗi 21 ngày đối với hai chu trình điều trị. Khoảng thời gian điều trị được chỉ ra bằng các cột. Hợp chất 1 được hòa tan trong (2-Hydroxypropyl)- β -cyclodextrin 20 % và axit clohydric 25 mM. Hợp chất 1 (15 mg/kg) hoặc chất dẫn thuốc của nó được tiêm trong tĩnh mạch hai lần mỗi tuần trong sáu tuần. Chuột nhắt bị chết ở lần đo thứ nhất khi thể tích khối u vượt quá 600 mm³, hoặc nếu sức khỏe của họ xấu đi vì những lý do khác hơn là tiến triển bệnh hoặc độc tính của dược chất (sự được kiểm duyệt). n = 9-10 chuột cho mỗi nhóm điều trị.

Kết quả

Hợp chất 1 đơn độc không đủ để ức chế sự tăng trưởng của khối u. Tuy nhiên, đã quan sát thấy hoạt tính vượt trội của tổ hợp với docetaxel so với docetaxel được dùng ở dạng tác nhân riêng rẽ, dẫn đến cải thiện đáng kể khả năng sống của động vật ở mô hình PDX (Fig. 14).

Kết quả này chỉ ra rằng chất ức chế MCL-1 được kết hợp với hợp chất taxan có khả năng tăng cường đáng kể đáp ứng của khối u và kết quả lâm sàng.

Ví dụ 8: Hoạt tính kháng u của docetaxel và hợp chất 1 ở chuột SCID mang mô hình TNBC từ bệnh nhân

Nghiên cứu này được đánh giá hoạt tính kháng u của hợp chất 1 kết hợp với docetaxel trong mô hình TNBC PDX OD-BRE-00589, ở chuột cái SCID.

Phương pháp

Docetaxel được bào chế trong 5 % etanol, 5 % PS80 và 90 % Glucoza ở nồng độ 0,67 mg/ml để dùng 10 mg/kg. Hợp chất 1 được bào chế thành dạng bào chế liposom (Novartis) ở 7,5 mg/ml để dùng 70 mg/kg.

OD-BRE-00589 là bệnh ung thư vú bộ ba âm tính PDX, thu được từ tập đoàn IMODI. Các bệnh nhân tự nguyện từ Ủy ban đạo đức nghiên cứu con người của Trung tâm Georges-Francois Leclerc. Nó được ghép vào chuột SCID dưới dạng các mảnh có thể tích 27 mm³.

Sự tăng trưởng của khối u được kiểm tra thường xuyên sau khi ghép mảnh ghép và động vật được phân chia ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị (n = 8) 11 ngày sau khi ghép với thể tích khối u trung bình là khoảng 200 mm³. Nhóm đối chứng không được điều trị và các nhóm còn lại được điều trị bằng:

- 1) 70 mg/kg hợp chất 1 trong tĩnh mạch, hoặc
- 2) 10 mg/kg docetaxel trong tĩnh mạch, hoặc
- 3) 10 mg/kg docetaxel trong tĩnh mạch sau 30 phút sau là 70 mg/kg hợp chất 1, hoặc
- 4) 10 mg/kg docetaxel trong tĩnh mạch sau 72 giờ sau đó là 70 mg/kg hợp chất 1.

Việc dùng được thực hiện một lần trong tĩnh mạch đuôi.

Thể tích khối u được đo bằng thước cặp 2-3 lần mỗi tuần. Thể tích khối u được tính bằng cách sử dụng công thức: $\text{dài} \times \text{rộng}^2 / 2$. Các động vật cũng được cân 2 -3 lần một tuần và được kiểm tra thường xuyên các dấu hiệu hiện nhiên của các tác dụng phụ bất kỳ.

Kết quả

Hợp chất 1 đơn độc không đủ để ức chế sự tăng trưởng của khối u. Tuy nhiên, đã quan sát thấy hoạt tính vượt trội của tổ hợp với docetaxel so với docetaxel được dùng ở dạng tác nhân riêng rẽ, dẫn đến cải thiện đáng kể khả năng kháng u ở mô hình PDX (Fig. 15).

Kết quả này chỉ ra rằng chất ức chế MCL-1 được kết hợp với hợp chất taxan có khả năng tăng cường đáng kể đáp ứng của khối u và kết quả lâm sàng.

Ví dụ 9: Nghiên cứu hiệu quả của hợp chất 1 so với paclitaxel trong mô hình PDX kháng docetaxel

Phương pháp

Các mô hình PDX kháng docetaxel được xác nhận *in vivo* được thử nghiệm. Mỗi nhóm điều trị gồm 5 chuột cái trụi lông Swiss, từ 6 đến 8 tuần tuổi. Việc điều trị được bắt đầu khi mảnh ghép dị loài đạt được thể tích khối u trung bình là $\sim 120\text{-}150\text{ mm}^3$. Sau đó các nhóm chuột được gây tác động ngẫu nhiên bởi các việc điều trị khác nhau. Số lượng động vật được ghép phụ thuộc vào độ đồng nhất của mức tăng trưởng khối u.

Được bào chế ở dạng bào chế liposom, hợp chất 1 được dùng trong tĩnh mạch với lượng 70 mg/kg một lần một tuần. Việc bào chế được chuẩn bị tùy ứng. Paclitaxel được pha loãng trong NaCl 0,9 % được cung cấp trong tĩnh mạch ở 25 mg/kg. Paclitaxel được cung cấp QW 16 giờ trước khi dùng hợp chất 1. Phác đồ dùng của các phép điều trị khác nhau được xác định như sau:

Nhóm	Liều dùng (mg/kg)	Phác đồ
Đối chứng (chất dẫn thuốc)	-	-
Hợp chất 1	70	IV, Q7D, 4 tuần: D1-D8-D15-D22
Paclitaxel	25	IP, Q7D, 4 tuần: D1-D8-D15-D22
Hợp chất 1 + paclitaxel	Hợp chất 1: 70 Paclitaxel: 25	Q7D, 4 tuần Paclitaxel, IP: D1-D8-D15-D22 Hợp chất 1, IV: D1-D8-D15-D22

Thể tích khối u được cân hai lần một tuần và thể trọng của từng chuột được cân một lần một tuần. Việc điều trị được thực hiện cho đến khi thể tích khối u trung bình của nhóm đáp ứng nhất bắt đầu tăng trưởng lại. Chuột được theo dõi sau khi ngừng điều trị để so sánh thời gian tái phát giữa các nhóm. Bằng cách sử dụng phần mềm Statview, thể tích khối u và/hoặc thể tích khối u tương đối (RTV, tỷ lệ của thể tích tại thời điểm t được chia cho thể tích ban đầu ở ngày 1 và được nhân với 100), sự ức chế tăng trưởng tối ưu (tỷ lệ của RTV (x 100) trong nhóm điều trị chia cho RTV trong nhóm đối chứng), trì hoãn tăng trưởng (thời

gian theo ngày cần để nhân lên 4 lần thể tích khối u khối u là 200 mm^3 trong nhóm điều trị và nhóm đối chứng) và sự thay đổi thể trọng được so sánh.

Nếu việc tái phát được quan sát thấy sau khi điều trị bằng paclitaxel, khối u được thử thách lại với tổ hợp của hợp chất 1 + paclitaxel. Nghiên cứu được thực hiện bằng cách bao gồm 10 chuột trong nhóm được điều trị bằng paclitaxel và sau đó điều trị cho chuột tái phát khối u bằng paclitaxel đơn độc (5 động vật) hoặc kết hợp (5 động vật), hoặc bằng cách sử dụng chuột không được ngẫu nhiên hóa từ nghiên cứu tính toán hiệu quả. Nếu đáp ứng ban đầu với paclitaxel quan sát được, các động vật bổ sung còn lại sau khi ngẫu nhiên hóa được bao gồm trong thử nghiệm này.

Kết quả

Hợp chất 1 đơn độc không đủ để ức chế sự tăng trưởng của khối u. Tuy nhiên, đã quan sát thấy hoạt tính vượt trội khi kết hợp với paclitaxel so với paclitaxel được dùng dưới dạng tác đơn đơn lẻ, dẫn đến hoạt tính kháng u được cải thiện đáng kể trong mô hình PDX kháng hợp chất taxan.

Kết quả này chỉ ra rằng chất ức chế MCL-1 được kết hợp với hợp chất taxan có khả năng tăng cường đáng kể đáp ứng của khối u và kết quả lâm sàng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Tổ hợp chứa:

(a) chất ức chế MCL-1, trong đó hợp chất này là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(5-flofuran-2-yl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[1-(2,2,2-trifloetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]metoxy}phenyl)propanoic hoặc axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic,

hoặc muối cộng của chúng với axit hoặc bazơ được dụng,

và (b) hợp chất taxan mà là paclitaxel hoặc docetaxel,

để sử dụng đồng thời, tuần tự hoặc riêng rẽ.

2. Tổ hợp theo điểm 1, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(5-flofuran-2-yl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[1-(2,2,2-trifloetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]metoxy}phenyl)propanoic.

3. Tổ hợp theo điểm 1, trong đó chất ức chế MCL-1 là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic.

4. Tổ hợp theo điểm 3, trong đó liều lượng của chất ức chế MCL-1 trong phương pháp điều trị kết hợp là từ 25 mg đến 1500 mg.

5. Tổ hợp theo điểm 1, trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được sử dụng trong tĩnh mạch.

6. Tổ hợp theo điểm 1, trong đó chất ức chế MCL-1 được sử dụng qua đường miệng và hợp chất taxan được sử dụng qua tĩnh mạch.

7. Tổ hợp theo điểm 1, trong đó tổ hợp này còn bao gồm một hoặc nhiều tá dược.

8. Dược phẩm chứa tổ hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, kết hợp với một hoặc nhiều tá dược được dụng.

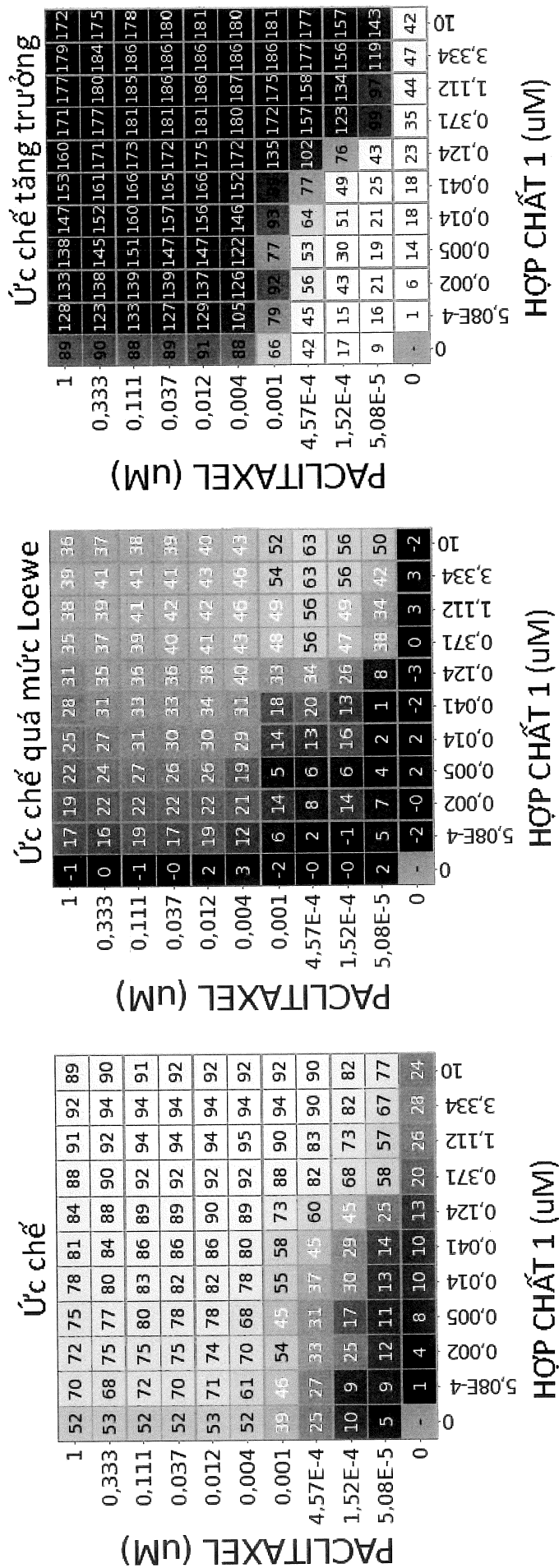
9. Thuốc chứa, riêng rẽ hoặc đồng thời,

(a) chất ức chế MCL-1 như được xác định trong điểm 1, và

(b) hợp chất taxan như được xác định trong điểm 1,

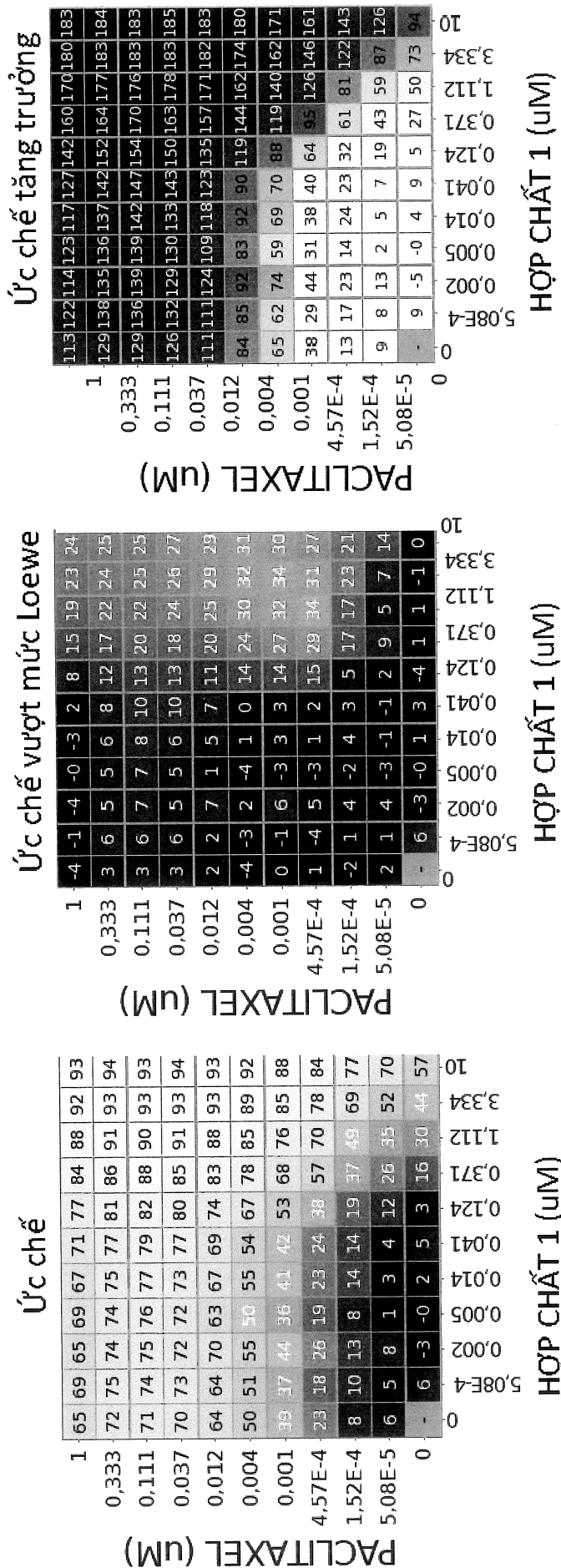
để sử dụng đồng thời, tuần tự hoặc riêng rẽ, và trong đó chất ức chế MCL-1 và hợp chất taxan được cung cấp với lượng hữu hiệu để điều trị bệnh ung thư.

Fig. 1



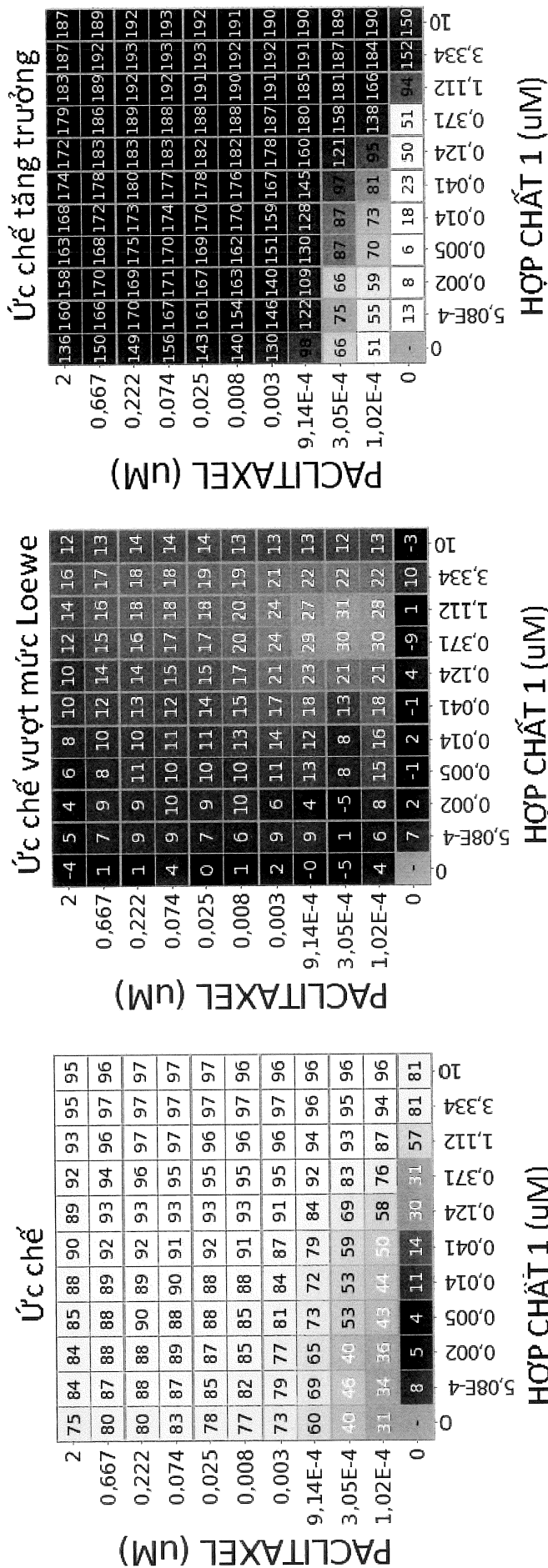
Điểm số hiệp đồng: 23,9

Fig. 2

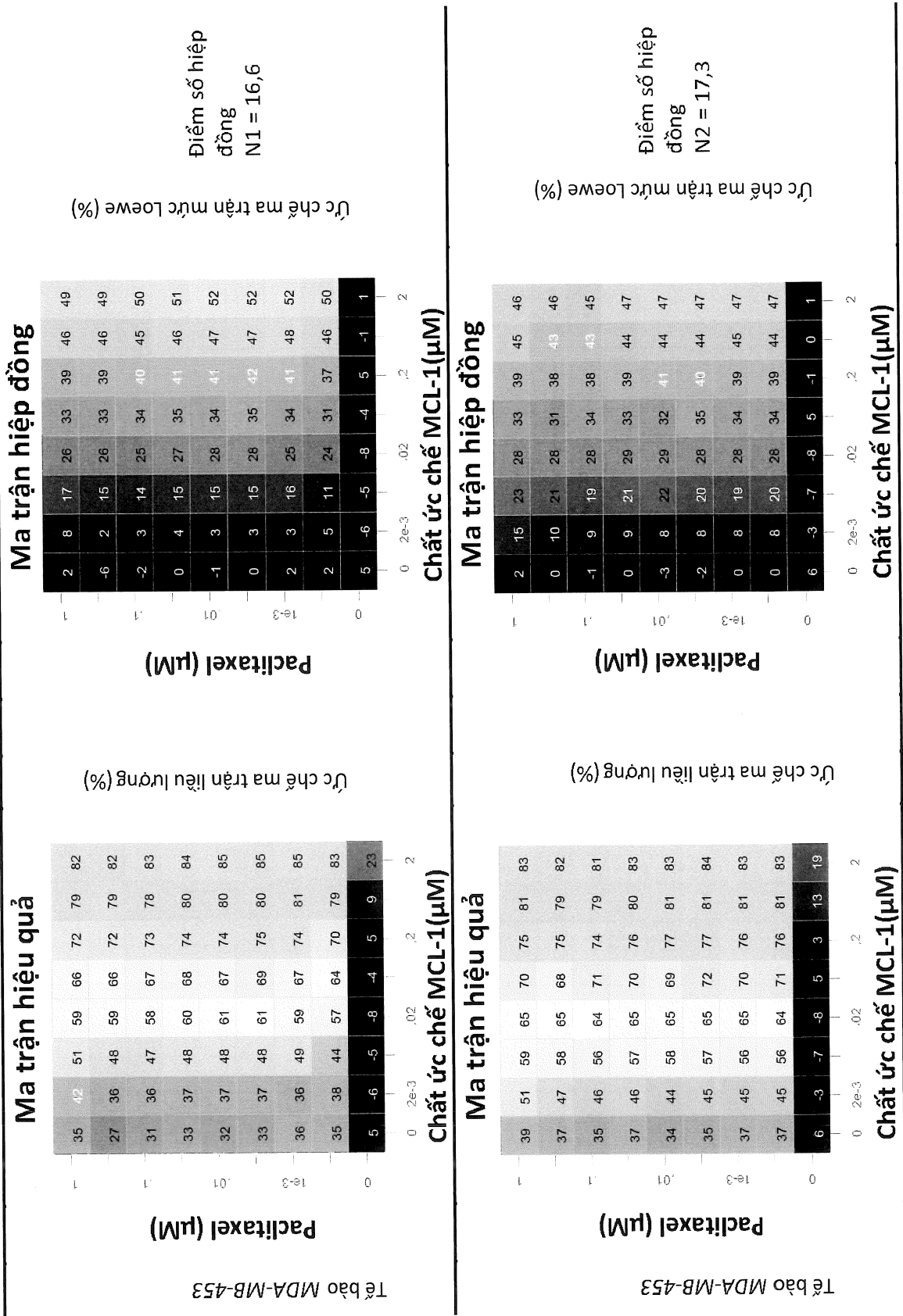


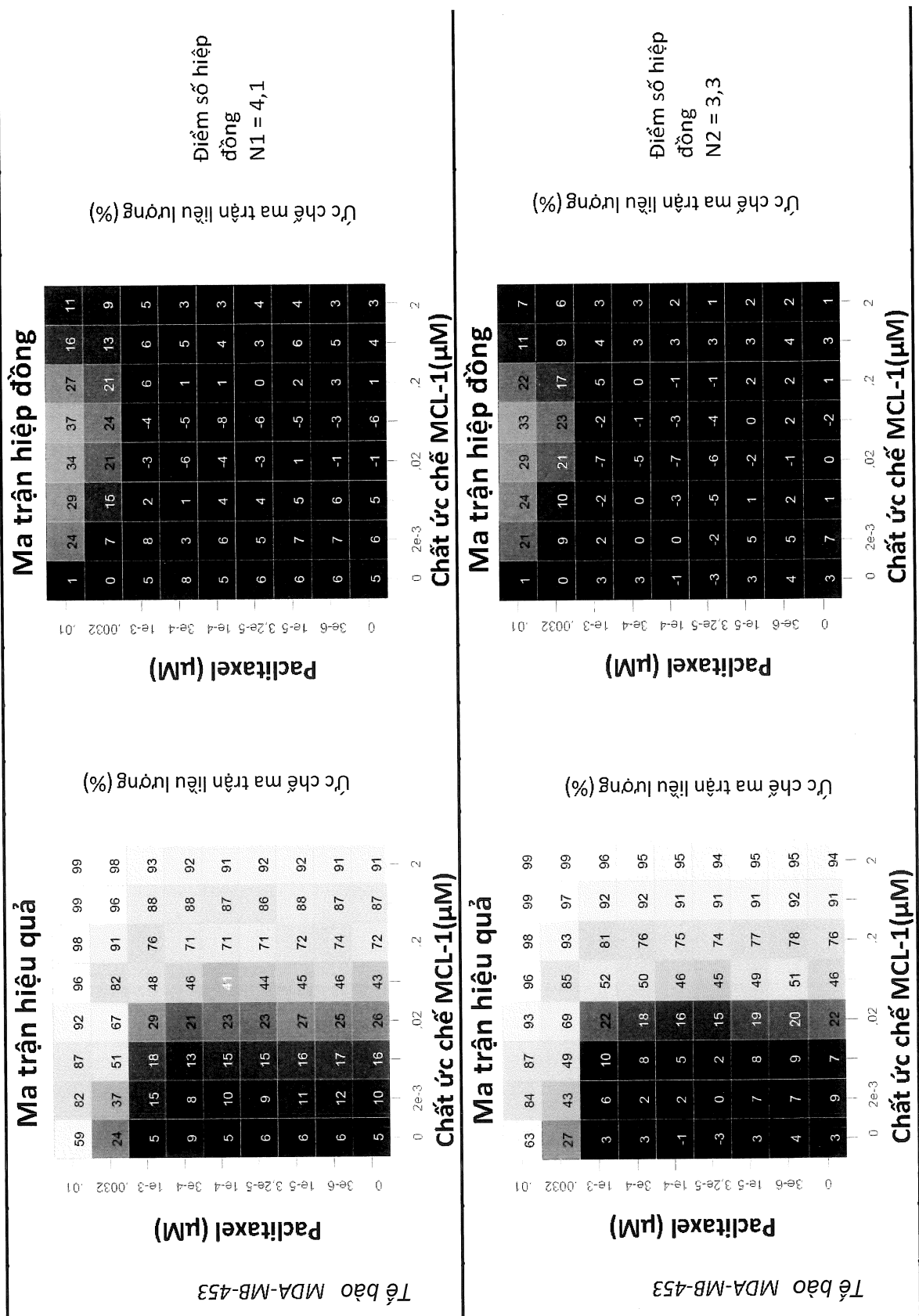
Điểm số hiệp đồng: 11,3

Fig. 3

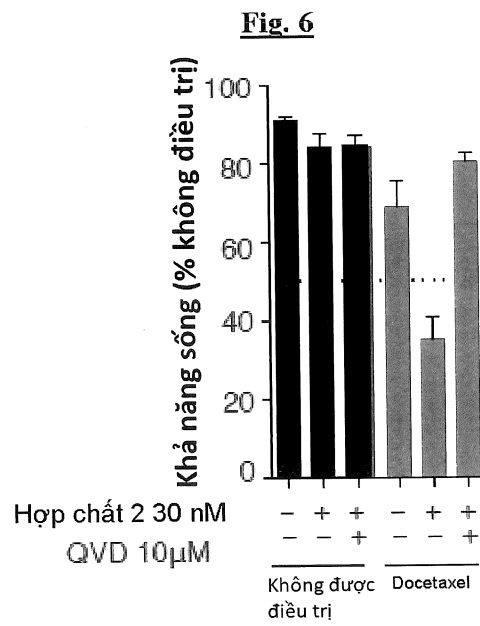


Điểm số hiệp đồng: 14,9





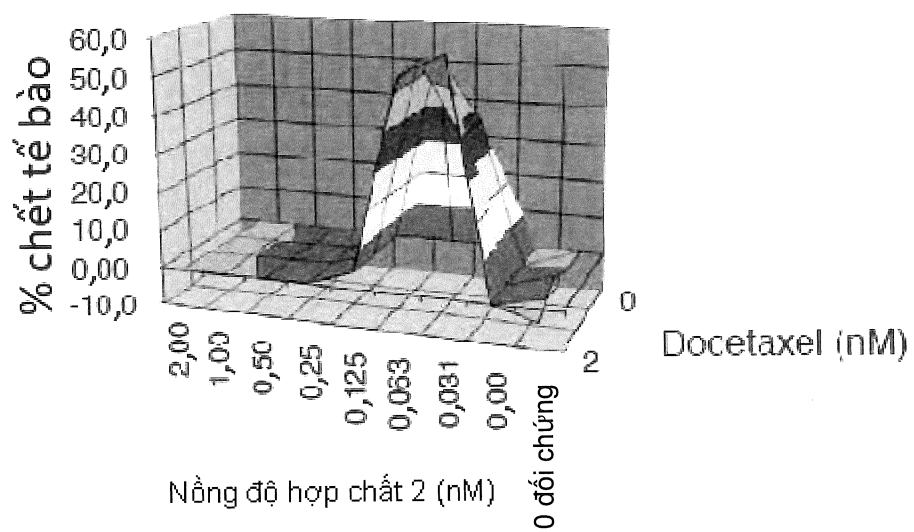
- 6/15 -



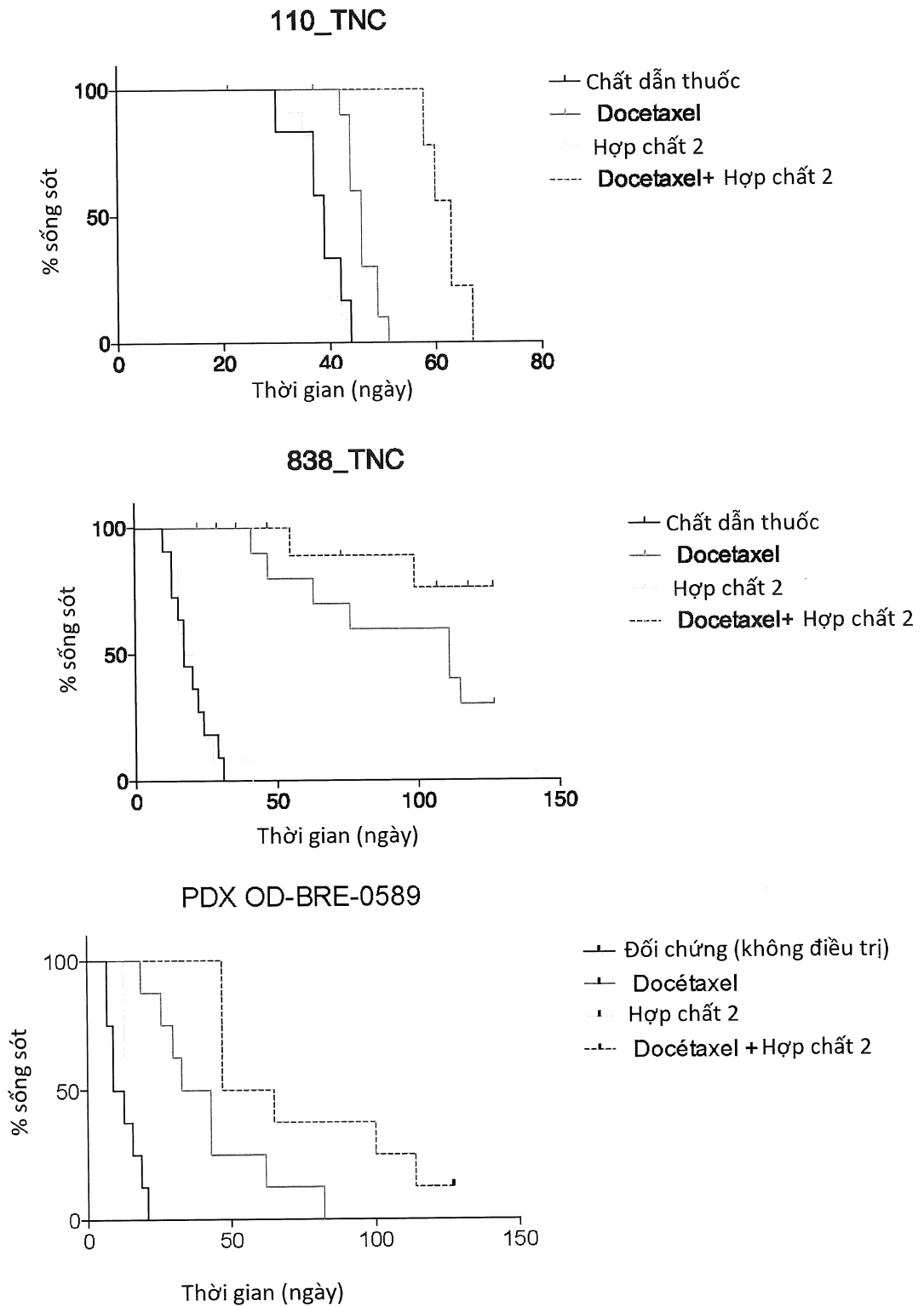
- 7/15 -

Fig. 7

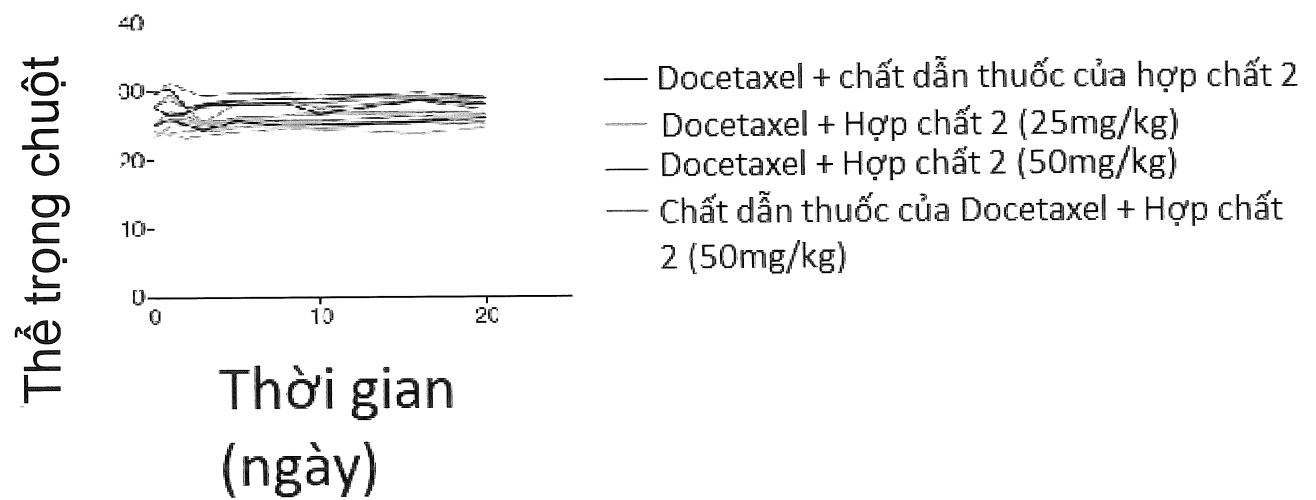
SK-BR-3



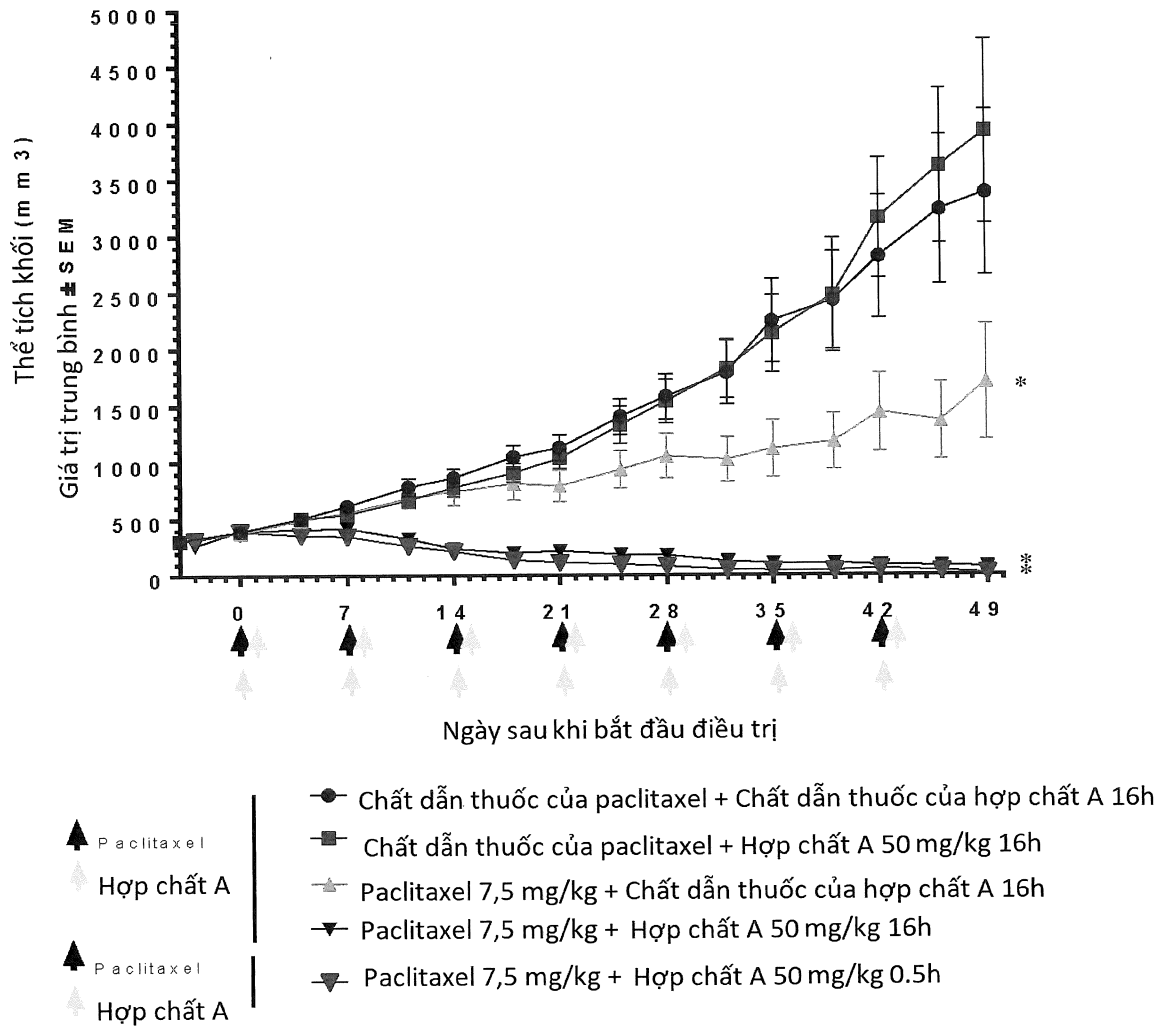
- 8/15 -

Fig. 8

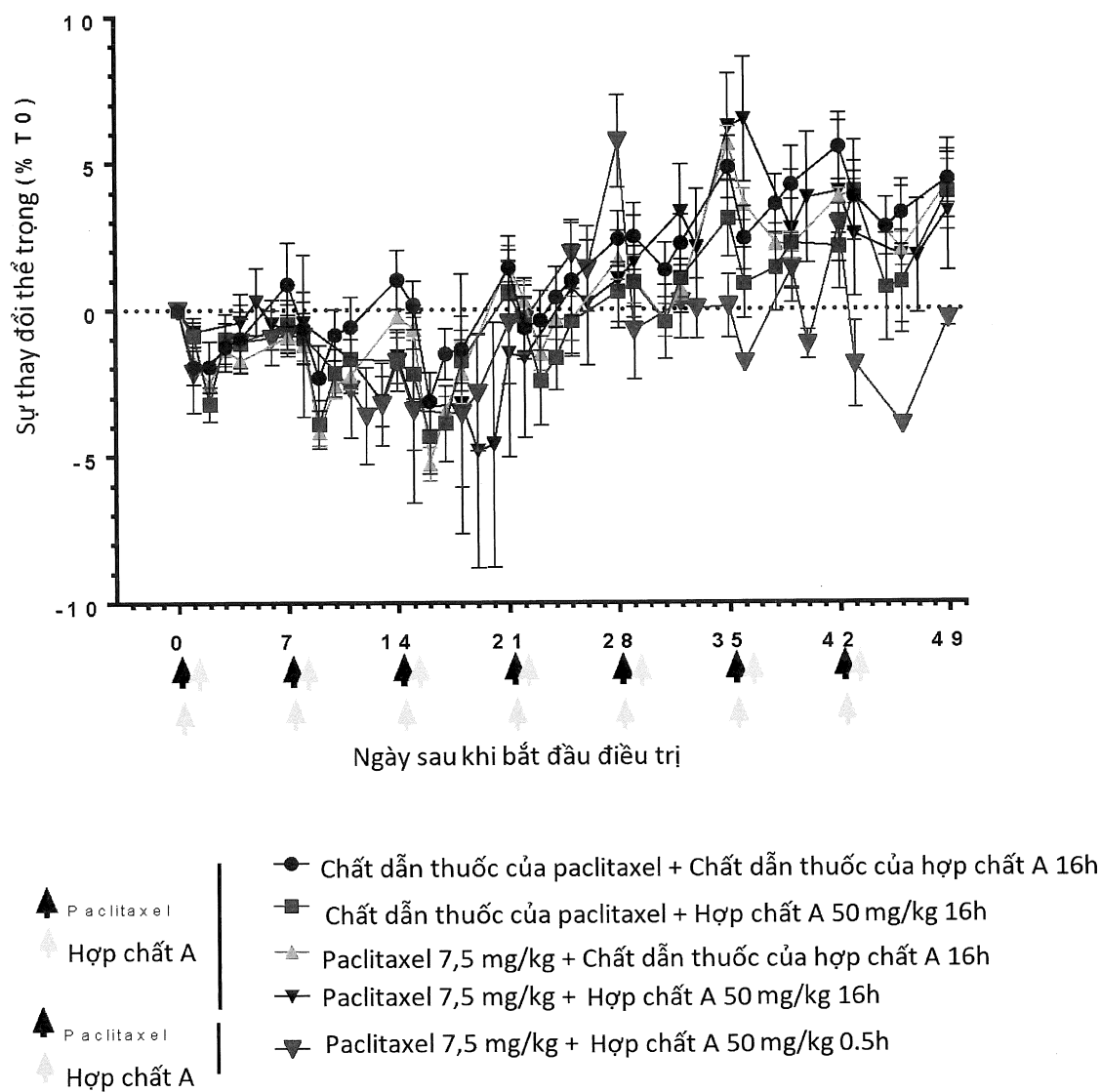
- 9/15 -

Fig. 9

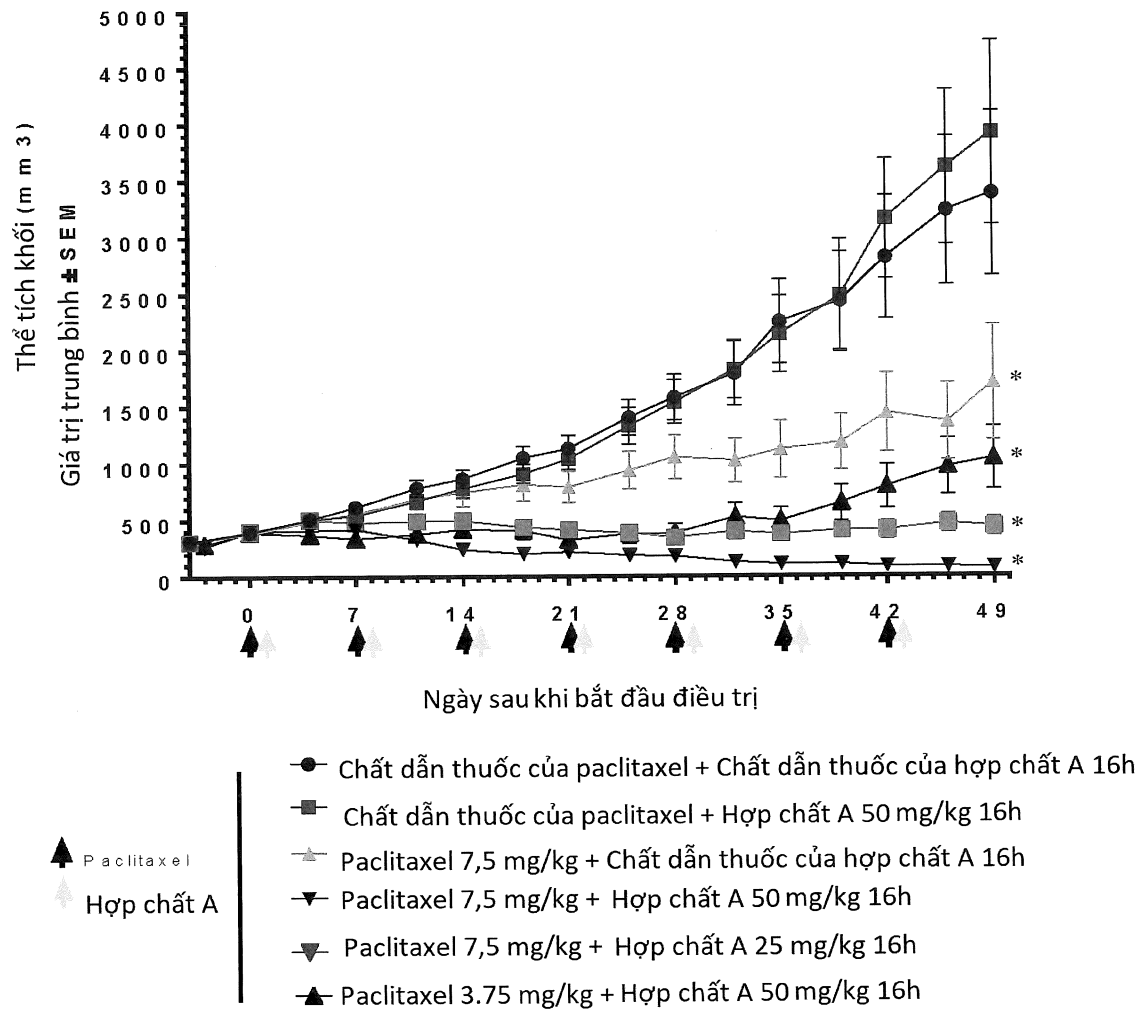
- 10/15 -

Fig. 10

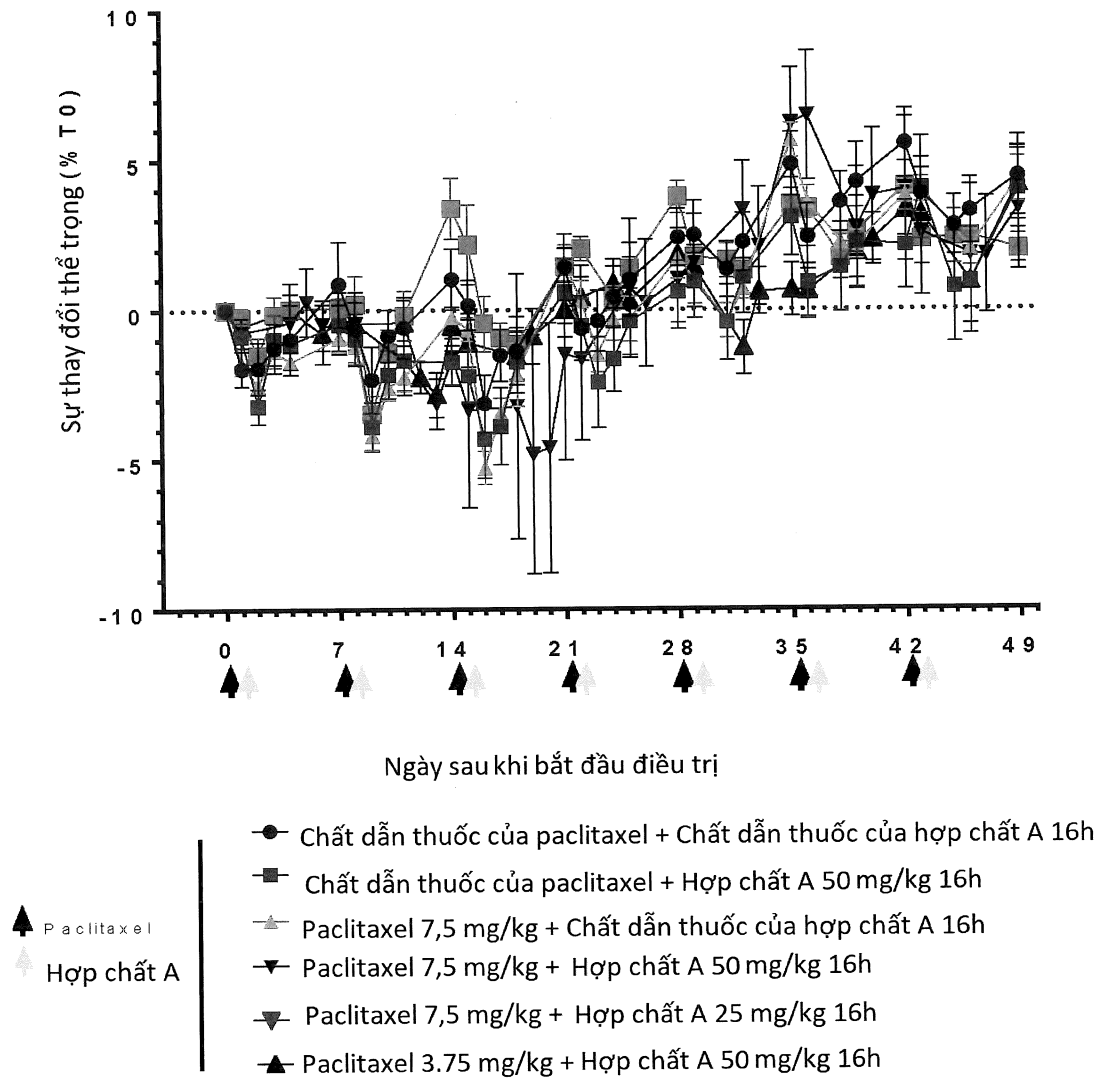
- 11/15 -

Fig. 11

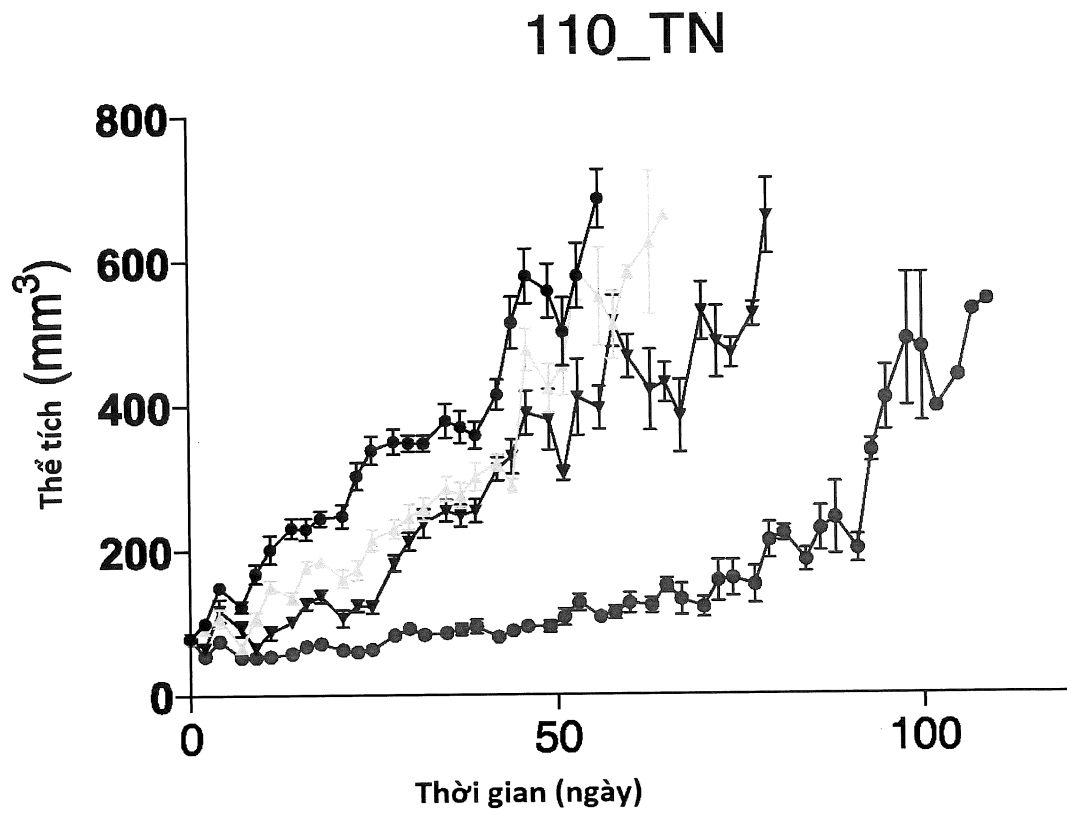
- 12/15 -

Fig. 12

- 13/15 -

Fig. 13

- 14/15 -

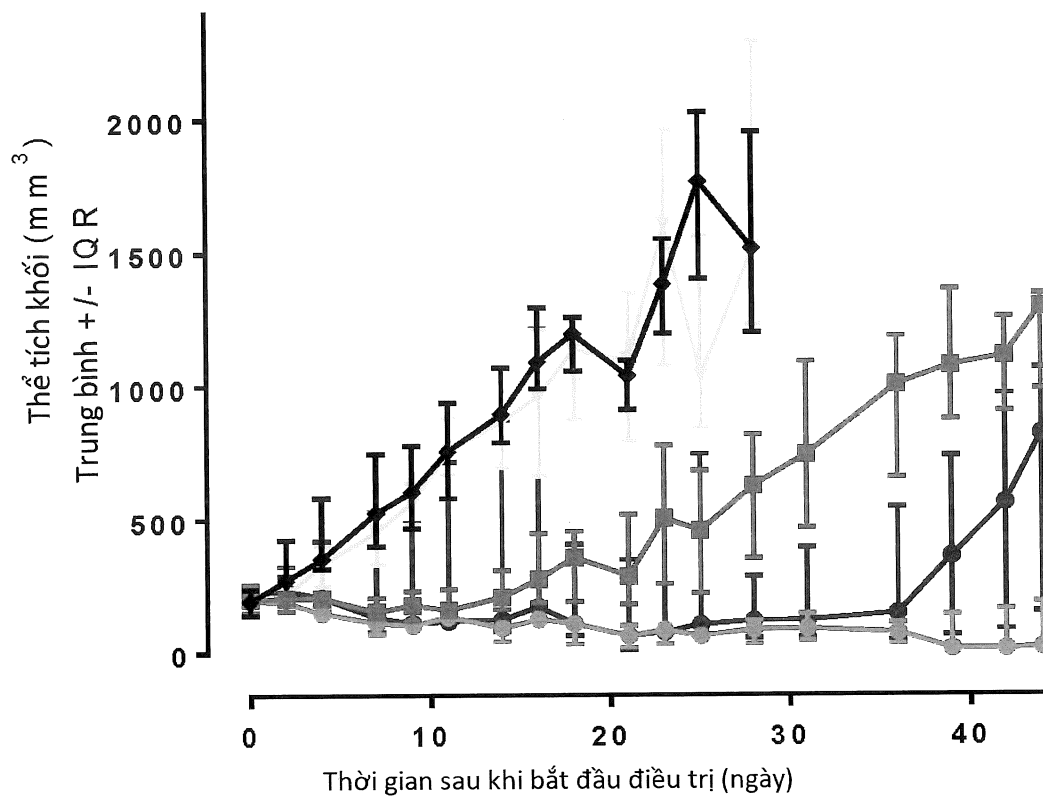
Fig. 14

- Chất dẫn thuốc
- △— Hợp chất 1
- ▽— Docetaxel
- Docetaxel/Hợp chất 1

- 15/15 -

Fig. 15

OD-BRE-00589



- Docetaxel / Hợp chất 1 (72 giờ giữa 2 lần điều trị)
- Docetaxel / Hợp chất 1 (30 phút giữa 2 lần điều trị)
- ▼ Hợp chất 1 70MK IV QD
- Docetaxel 10MK IV QD
- ◆ Không điều trị