



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I758623 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 21 日

(21)申請案號：108126939

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 07 月 30 日

(51)Int. Cl. : A61K31/496 (2006.01)

A61K31/437 (2006.01)

A61K31/519 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/07/31 中國大陸

201810867251.8

(71)申請人：大陸商蘇州亞盛藥業有限公司(中國大陸) (CN)

中國大陸

(72)發明人：楊 大俊 (US)；翟 一帆 (US)；方 東 (US)；王光鳳 (CN)；翟國勤 (CN)

(74)代理人：蔡清福；蔡駁理

(56)參考文獻：

WO 2016024230A1

WO 2018/027097A1

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：10 共 105 頁

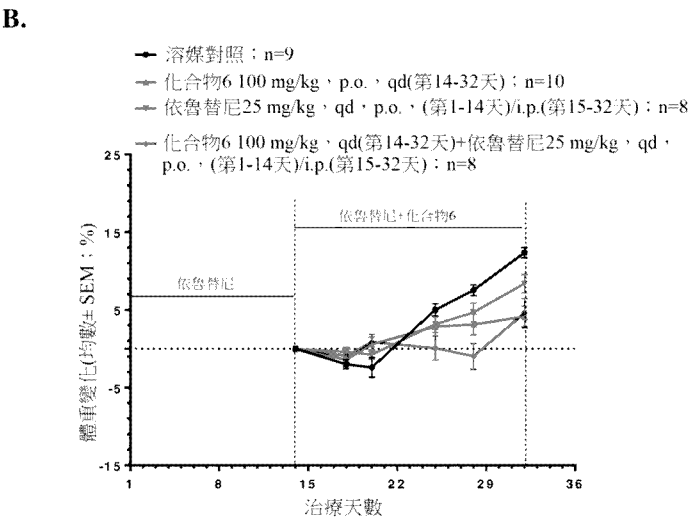
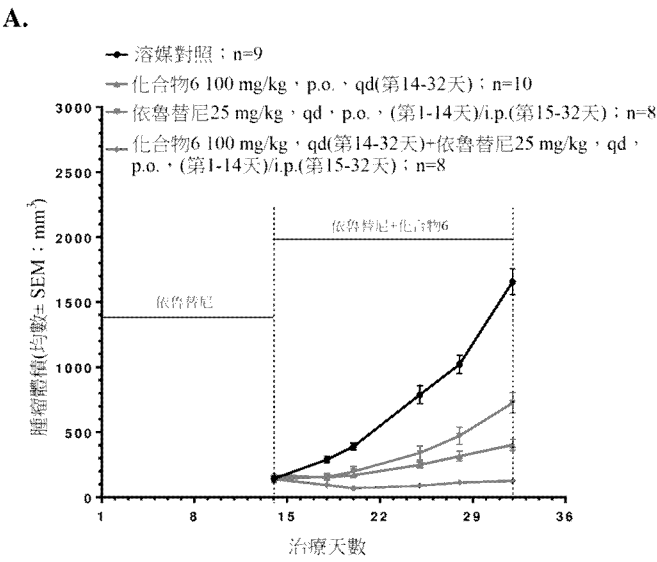
(54)名稱

B c 1 - 2 抑制劑與 B T K 抑制劑的組合產品在預防和/或治療疾病中的用途

(57)摘要

本發明涉及一種包含 Bcl-2 抑制劑(或 Bcl-2/Bcl-xL 抑制劑)和 BTK 抑制劑的組合產品，該組合產品提供了在預防和/或治療疾病(例如，癌症、自身免疫性疾病和炎症疾病)的用途。

指定代表圖：



第3圖

I758623

【發明摘要】

【中文發明名稱】 Bcl-2抑制劑與BTK抑制劑的組合產品在預防和/或治療疾病中的用途

【中文】

本發明涉及一種包含Bcl-2抑制劑（或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑）和BTK抑制劑的組合產品，該組合產品提供了在預防和/或治療疾病（例如，癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病）的用途。

【指定代表圖】 第3圖

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 Bcl-2抑制劑與BTK抑制劑的組合產品在預防和/或治療疾病中的用途

【技術領域】

【0001】本發明屬於醫藥技術領域，具體涉及一種含有Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的組合產品及其在預防和/或治療疾病（例如，癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病）中的用途。

【先前技術】

【0002】細胞凋亡（程式性細胞死亡）是機體清除異常或不需要的細胞的自然途徑，若其受到影響則可能導致各種疾病如癌症的發生。

【0003】抗細胞凋亡的Bcl-2蛋白與許多疾病相關。Bcl-2家族蛋白是線粒體介導細胞凋亡途徑中的關鍵調控因數。逃避細胞凋亡是人類癌症的特徵之一，並且是臨床上耐藥的常見原因。

【0004】布魯頓氨酸激酶（Bruton's tyrosine kinase, BTK）屬於Tec家族的成員。它由獨特的N-端結構域即PH (pleckstrin homology) 結構域、TH (Tec homology) 同源區、SH3 (Src homology 3) 結構域、SH2 (Src homology 2) 結構域和催化結構域，也稱 SH 1/TK (Src homology1/Tyrosine kinase) 結構域或者激酶結構域組成(Akinleye et al: Ibrutinib and novel BTK inhibitors in clinical development, Journal of Hematology & Oncology 2013, 6:59)。在B淋巴細胞正常發育過程中，BTK基因不同蛋白區域的正確表達在B細胞的功能及多種轉導途徑中具有關鍵性作用。

【0005】BTK功能下游有多種受體，包括生長因數、B細胞抗原、趨化因數和先天免疫受體，從而啟動一個多元化範圍內的細胞過程，如細胞增殖、存活、分化、運動、血管生成、細胞因數生產、抗原表達等。因此BTK在許多造血細胞信號傳輸途徑中起重要作用，同時在B細胞啟動、發育、存活和信號傳導中也至關重要（Kurosaki, Molecular mechanisms in B cell antigen receptor signaling. Curr OP Imm, 1997, 9(3):309-18）。

【0006】BTK在自身免疫性疾病中的作用的證據已經由BTK-缺失型小鼠和BTK-充足型小鼠模型試驗提供(Kil LP, et al: Bruton's tyrosine kinase mediated signaling enhances leukemogenesis in a mouse model for chronic lymphocytic leukemia. Am J Blood Res 2013, 3(1):71-83.)。在慢性淋巴細胞白血病（CLL）小鼠模型中，BTK-缺失型小鼠完全廢止慢性淋巴細胞白血病，BTK過度表達會加速白血病發病，增加死亡率。

【0007】隨著分子生物學的研究進展，分子靶向治療已成為醫藥研究（特別是腫瘤研究）的熱點，大部分腫瘤的生物學行為並非由單一信號傳導通路所支配，而是多個信號傳導通路共同起作用。因此，先前技術中存在針對不同靶蛋白和/或不同信號轉導通路的聯合用藥的方案和產品存在需求，該聯合用藥的方案和產品能夠減少單藥劑量、降低單藥毒副作用和/或以協同作用的方式起作用，實現預防和/或治療疾病的目的。

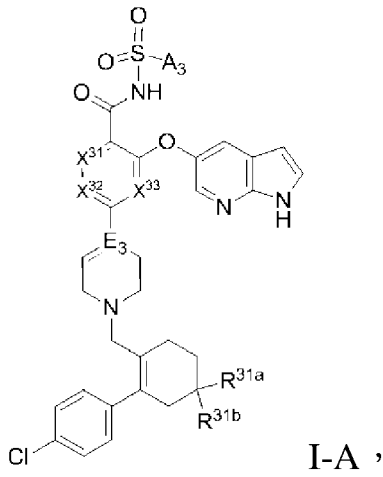
【發明內容】

【0008】為了滿足先前技術中的需求，本發明提供了一種含有Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的組合產品及其在治療和/或預防疾病（例如，癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病）中的用途。

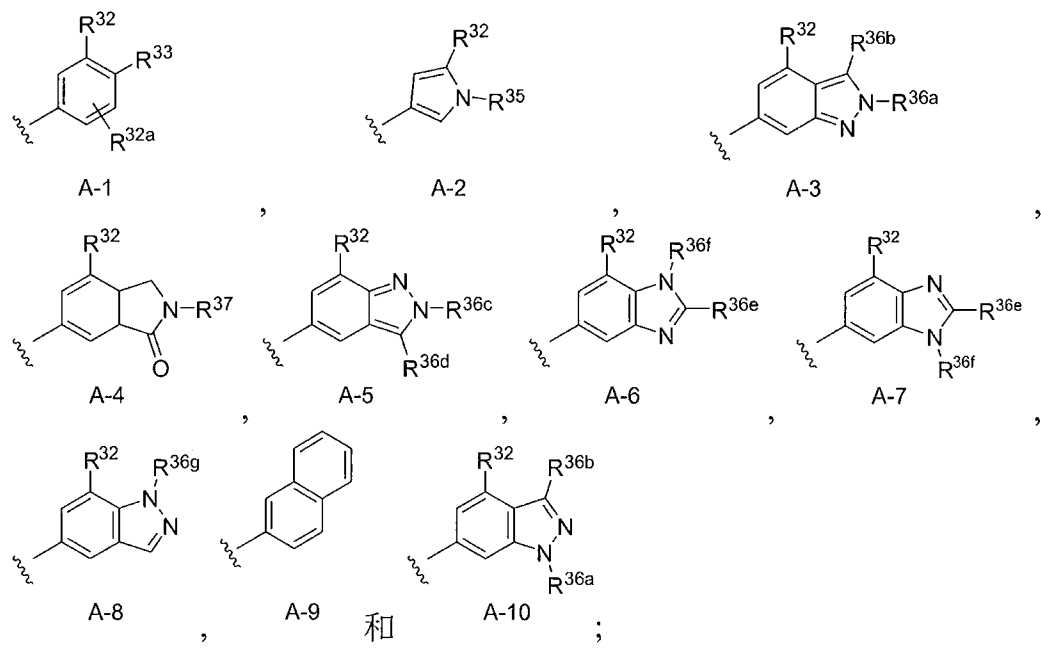
【0009】具體地，在本發明的第一方面涉及一種組合產品，該組合產品包含Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑。

【0010】具體地，在本發明的另一方面涉及一種在所需的受試者中治療疾病（例如癌症、自身免疫性疾病和炎症疾病）的方法，包括對該受試者給予治療有效量的Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑，其中該受試者對BTK抑制劑不回應或者耐藥。在某些實施方式中，該受試者對依魯替尼不回應或者耐藥。

【0011】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A的化合物或其藥學上可接受的鹽：



其中：
A₃是



E₃是C原子以及 == 是一個雙鍵；
或者E₃是-C(H)-以及 == 是一個單鍵；
或者E₃是N原子以及 == 是單鍵；
X³¹、X³²和X³³獨立地是-CR³⁸=和-N=；
R^{31a}和R^{31b}與其連接的C原子一起形成3-，4-，或5-元任意取代的脂肪環；
R^{31a}和R^{31b}與其連接的C原子一起形成4-或5-元任意取代的雜環；
R³²是-NO₂、-SO₂CH₃、-SO₂CF₃；
R^{32a}是H 或X；
R³³是H、-CN、-C≡CH、-N(R^{34a})(R^{34b})；
R^{34a}是任意取代的C1-6烷基、任意取代的C3-6環烷基、雜環、雜烷基、環烷基烷基和雜環烷基；
R^{34b}是H和C1-4烷基；
R³⁵是任意取代的C1-6烷基、雜環、環烷基烷基和雜環烷基；

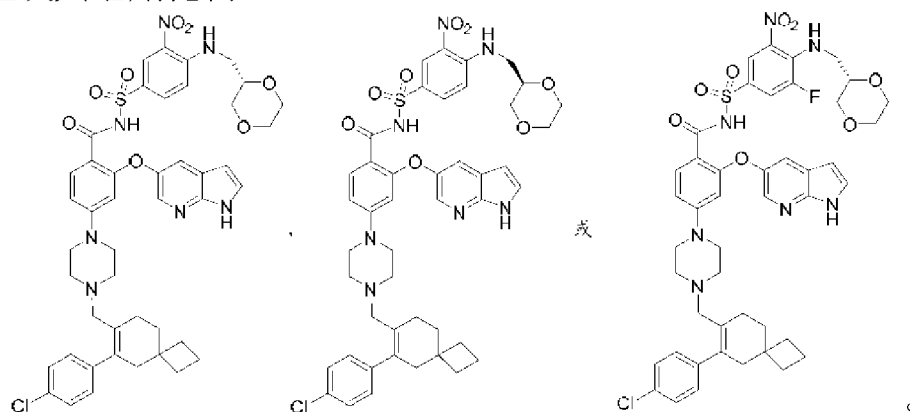
R^{36a} 、 R^{36c} 、 R^{36e} 、 R^{36f} 和 R^{36g} 獨立地是H、任意取代的C1-6烷基、任意取代的C3-6環烷基、任意取代的芳基、任意取代的雜環芳基、雜環、雜烷基、環烷基烷基和雜環烷基；

R^{36b} 和 R^{36d} 獨立地是H、C1-4烷基和鹵素；

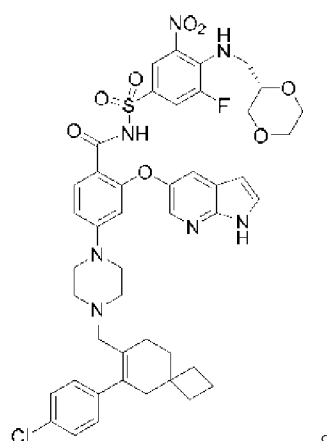
R^{37} 是任意取代的C1-6烷基、雜環、雜烷基、環烷基烷基和雜環烷基；

R^{38} 是H和鹵素。

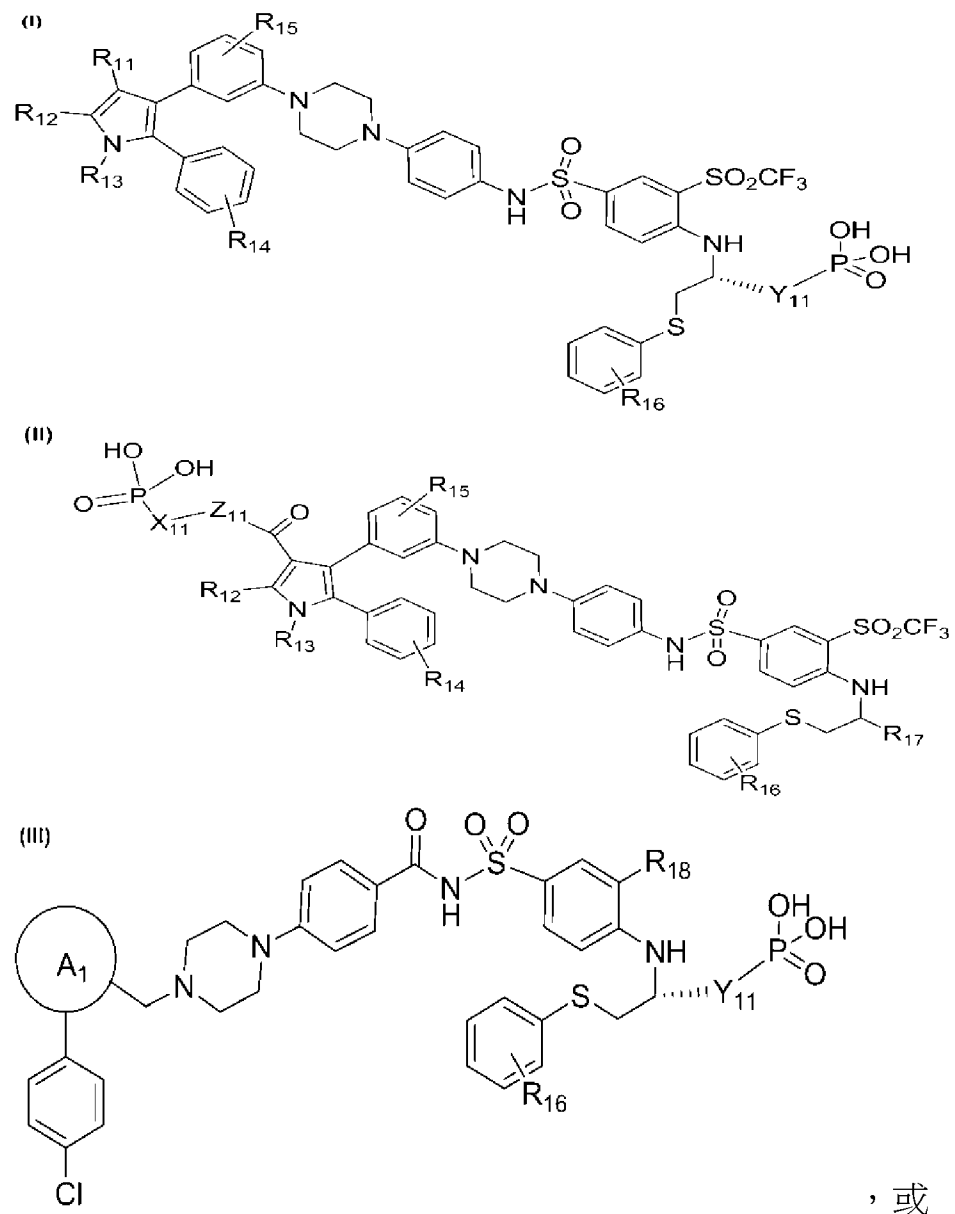
【0012】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑選自下述化合物或其藥學上可接受的鹽或其溶劑化物：



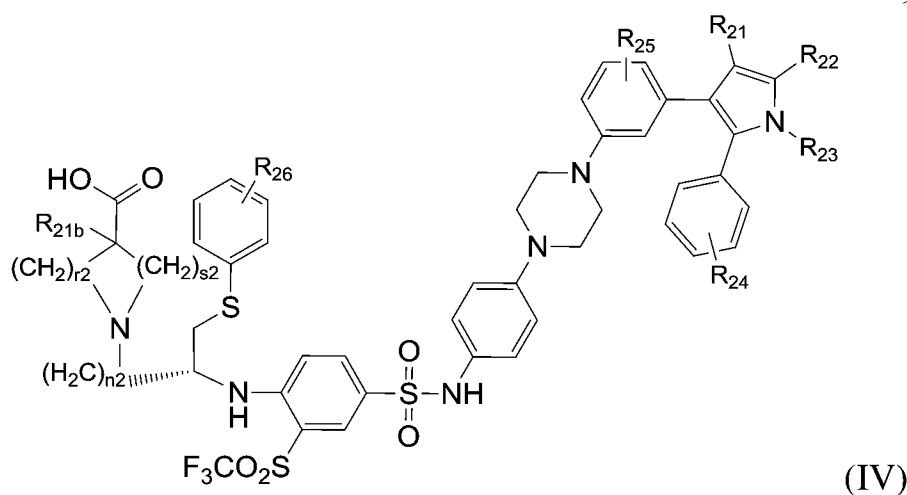
【0013】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是下述化合物或其藥學上可接受的鹽或其溶劑化物：

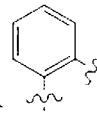
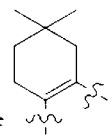


【0014】在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是具有通式(I)、(II)、(III)或(IV)的化合物或其藥學上可接受的鹽或其溶劑化物：



，或



其中A₁環是  或  ；

取代或未取代的 X_{11} 選自亞烷基、亞烯基、環亞烷基、環亞烯基和雜環亞烷基；

Y_{11} 選自 $(CH_2)_n-N(R_{11}^a)_2$ 和 $(CH_2)_{n1}-N \begin{matrix} (CH_2)_{r1} \\ (CH_2)_{s1} \end{matrix} \begin{matrix} R_{11b} \\ Q_{11} \end{matrix}$ ；

Q_{11} 選自O、 $O(CH_2)_{1-3}$ 、 NR_{11}^c 、 $NR_{11}^c(C_{1-3}\text{亞烷基})$ 、 $OC(=O)(C_{1-3}\text{亞烷基})$ 、 $C(=O)O$ 、 $C(=O)O(C_{1-3}\text{亞烷基})$ 、 $NHC(=O)(C_{1-3}\text{亞烷基})$ 、 $C(=O)NH$ 和 $C(=O)NH(C_{1-3}\text{亞烷基})$ ；

Z_{11} 是O或 NR_{11}^c ；

R_{11} 和 R_{12} 獨立地選自H、CN、 NO_2 、鹵素、烷基、環烷基、烯基、環烯基、炔基、芳基、雜芳基、雜環烷基、 OR_1' 、 SR_1' 、 $NR_1'R_1''$ 、 COR_1' 、 CO_2R_1' 、 $OCOR_1'$ 、 $CONR_1'R_1''$ 、 $CONR_1'SO_2R_1''$ 、 $NR_1'COR_1''$ 、 $NR_1'CONR_1''R_1'''$ 、 $NR_1'C=SNR_1''R_1'''$ 、 $NR_1'SO_2R_1''$ 、 SO_2R_1' 和 $SO_2NR_1'R_1''$ ；

R_{13} 選自H、烷基、環烷基、烯基、環烯基、炔基、芳基、雜芳基、雜環烷基、 OR_1' 、 $NR_1'R_1''$ 、 $OCOR_1'$ 、 CO_2R_1' 、 COR_1' 、 $CONR_1'R_1''$ 、 $CONR_1'SO_2R_1''$ 、 $C_{1-3}\text{亞烷基}CH(OH)CH_2OH$ 、 SO_2R_1' 和 $SO_2NR_1'R_1''$ ；

R_1' 、 R_1'' 和 R_1''' 獨立地是H、烷基、環烷基、烯基、環烯基、炔基、芳基、雜芳基、 $C_{1-3}\text{亞烷基}$ 雜環烷基或雜環烷基；

R_1' 和 R_1'' 或 R_1'' 和 R_1''' 可與它們所連接的原子一起形成3-7元環；

R_{14} 是氫、鹵素、 C_{1-3} 烷基、 CF_3 或CN；

R_{15} 是氫、鹵素、 C_{1-3} 烷基、取代的 C_{1-3} 烷基、羥基烷基、烷氧基或取代的烷氧基；

R_{16} 選自H、CN、 NO_2 、鹵素、烷基、環烷基、烯基、環烯基、炔基、芳基、雜芳基、雜環烷基、 OR_1' 、 SR_1' 、 $NR_1'R_1''$ 、 CO_2R_1' 、 $OCOR_1'$ 、 $CONR_1'R_1''$ 、

$\text{CONR}_1'\text{SO}_2\text{R}_1''$ 、 $\text{NR}_1'\text{COR}_1''$ 、 $\text{NR}_1'\text{CONR}_1''\text{R}_1'''$ 、 $\text{NR}_1'\text{C}=\text{SNR}_1''\text{R}_1'''$ 、 $\text{NR}_1'\text{SO}_2\text{R}_1''$ 、 $\text{SO}_2\text{R}_1'$ 和 $\text{SO}_2\text{NR}_1'\text{R}_1''$ ；

取代或未取代的 R_{17} 選自氫、烷基、烯基、 $(\text{CH}_2)_{0-3}$ -環烷基、 $(\text{CH}_2)_{0-3}$ -環烯基、 $(\text{CH}_2)_{0-3}$ -雜環烷基、 $(\text{CH}_2)_{0-3}$ 芳基和 $(\text{CH}_2)_{0-3}$ 雜芳基；

R_{18} 選自氫、鹵素、 NO_2 、 CN 、 CF_3SO_2 和 CF_3 ；

R_{11}^a 選自氫、烷基、雜烷基、烯基、羥基烷基、烷氧基、取代的烷氧基、環烷基、環烯基和雜環烷基；

R_{11}^b 是氫或烷基；

R_{11}^c 選自氫、烷基、取代的烷基、羥基烷基、烷氧基和取代的烷氧基；和

n_1 、 r_1 和 s_1 獨立地是1、2、3、4、5或6；

R_{21} 是 $\text{SO}_2\text{R}_2'$ ；

R_{22} 是烷基，較佳 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基；

R_{23} 是烷基，較佳 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基；

R_{24} 是鹵素，較佳氟、氯；

R_{25} 是鹵素，較佳氟、氯；

R_{26} 選自H、鹵素和烷基，較佳氟、氯、 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基；

R_{21b} 是H或烷基，較佳 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基；

n_2 、 r_2 和 s_2 獨立地是1、2、3、4、5或6，更佳 r_2 和 s_2 均是2且 n_2 是3、4或5，更佳 n_2 、 r_2 和 s_2 均是2；和

R_2' 是烷基，較佳 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基。

【0015】在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑選自表2的化合物。在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑選自化合物72和化合物88。

【0016】在一些實施方式中，該BTK抑制劑選自：依魯替尼（Ibrutinib）、ICP-022、Acalabrutinib (ACP-196)、BGB3111、ONO/GS-4059、Spebrutinib

(CC-292或AVL-292)、CNX-774、Olmudinib (HM61713, BI1482694)、M7583、HM71224、PCI-32765外消旋體(PCI-32765 Racemate)、GDC-0853、ONO-4059、贊魯替尼(Zanubrutinib)、RN486、PCI-32765、CGI-1746、QL47、LFM-A13、(±)-贊魯替尼((±)-Zanubrutinib)、SNS-062、BMS-935177、Btk抑制劑2、Evobrutinib、依魯替尼-生物素(Ibrutinib-biotin)、BMX-IN-1、GDC-0834和CB1763。

【0017】在一些實施方式中，該組合產品呈藥物組合物的形式。

【0018】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式，或其中該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式。

【0019】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用，或其中該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用。

【0020】在一些實施方式中，該組合產品還包含藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑。

【0021】在一些實施方式中，該組合產品呈片劑、膠囊劑、顆粒劑、糖漿劑、粉劑、錠劑、藥囊、扁囊劑、酏劑、混懸劑、乳劑、溶液、糖漿劑、氣霧劑、軟膏劑、乳膏劑和注射劑的形式。

【0022】在本發明的第二方面涉及Bcl-2抑制劑，或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑在製備用於預防和/或治療疾病的藥物中的用途，該疾病選自癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。

【0023】在本發明的第三方面涉及一種用於預防和/或治療疾病組合產品，該組合產品包含Bcl-2抑制劑，或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑，且該疾病選自癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。

【0024】在本發明的第四方面涉及一種預防和/或治療疾病的方法，包括對此需要的受試者施用預防和/或治療有效量的 Bcl-2 抑制劑，或 Bcl-2/Bcl-xL 抑制劑和 BTK 抑制劑，其中該疾病選自癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。

【0025】在一些實施方式中，該癌症是惡性血液病。

【0026】較佳地，該惡性血液病選自急性髓細胞性白血病（AML）、急性淋巴細胞白血病（ALL）、瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）、濾泡性淋巴瘤（FL）、慢性淋巴細胞性白血病（CLL）/小淋巴細胞性淋巴瘤（SLL）、邊緣區淋巴瘤（MZL）、慢性骨髓性白血病（CML）、套細胞淋巴瘤（MCL）、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症（WM）、多發性骨髓瘤（MM）、小細胞肺癌（SCLC）。更佳地，該惡性血液病是瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）和濾泡性淋巴瘤（FL）。

【0027】在一些實施方式中，所述的預防和/或治療疾病的方法，其中將該 Bcl-2 抑制劑、Bcl-2/Bcl-xL 抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物以約 0.0025-1500mg/日的量給藥。

【0028】在一些實施方式中，所述的預防和/或治療疾病的方法，其中將該 BTK 抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物以約 0.0025-1000mg/日的量給藥。

【圖式簡單說明】

【0029】

第1圖顯示在WST實驗中依魯替尼單藥以及依魯替尼和化合物6聯合用藥對下述惡性腫瘤細胞中的增殖的抑制作用：OCI-LY8（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））、SU-DHL-4（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））、OCI-LY1

（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））、DOHH2（濾泡性淋巴瘤（FL））、RPMI-8226（多發性骨髓瘤（MM））、KMS-11（多發性骨髓瘤（MM））、Z-138（套細胞淋巴瘤（MCL））。

第2圖顯示在人OCI-LY1（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））小鼠異種移植瘤模型中化合物6 單藥或與依魯替尼聯合用藥的抗腫瘤作用 (A) 和體重變化(B)。

第3圖顯示在人DOHH2（濾泡性淋巴瘤FL）小鼠異種移植瘤模型中化合物6 單藥或與依魯替尼聯合用藥的抗腫瘤作用 (A)和體重變化(B)。

第4圖顯示在人DOHH2（濾泡性淋巴瘤FL）小鼠異種移植瘤模型中化合物6 單藥或與依魯替尼聯合用藥的抗腫瘤作用 (A)和體重變化(B)。

第5圖顯示在人OCI-LY1（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））小鼠異種移植瘤模型中化合物6 單藥或與依魯替尼聯合用藥的抗腫瘤作用 (A) 和體重變化(B)。

第6圖顯示了藉由化合物6與依魯替尼的聯合用藥體外處理FL（濾泡性淋巴瘤，FL）和DLBCL（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））細胞對其增殖的協同抑制作用。第6圖A和第6圖B分別代表來自人FL DOHH-2和DLBCL OCI-LY1的細胞存活率測定。

第7圖顯示藉由化合物6與依魯替尼的聯合用藥體外處理 FL（濾泡性淋巴瘤，FL）和DLBCL（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））細胞對其凋亡的協同誘導作用。第7圖A顯示用10nM（DOHH-2）或15nM（OCI-LY1）化合物6，100nM（DOHH-2）或150nM（OCI-LY1）依魯替尼或它們的組合處理的DOHH-2和OCI-LY1細胞系中藉由膜聯蛋白V和碘化丙啶（PI）共染色的凋亡細胞的流式細胞術分析。第7圖B顯示了根據第7圖A的膜聯蛋白V陽

性、PI陽性或雙陽性DOHH-2的百分比。第7圖C顯示了根據第7圖A的膜聯蛋白V陽性、PI陽性或雙陽性OCI-LY1的百分比。

第8圖顯示依魯替尼對DOHH2細胞以及DOHH2^{R-ibrutinib}細胞的生長的抑制作用。DOHH2^{R-ibrutinib}細胞表現出對依魯替尼的耐藥性。

第9圖顯示化合物6和ABT-199對DOHH2細胞以及DOHH2^{R-ibrutinib}細胞的生長的抑制作用。

第10圖顯示化合物88對DOHH2細胞以及DOHH2^{R-ibrutinib}細胞的生長的抑制作用。

【實施方式】

定義

【0030】在本文中使用的術語“BTK抑制劑”是指抑制BTK酶活性的物質、或降解BTK酶的物質、或降低BTK酶水準的基因工具。

【0031】在本文中使用的術語“耐藥”在本申請中是指對治療劑（例如BTK抑制劑，依魯替尼）產生抗性或者不回應。例如，即使接受治療劑的治療，腫瘤細胞的數量仍然增加。

【0032】在本文中使用的術語“藥學上可接受的鹽”是指游離酸或游離鹼的鹽，通常藉由將游離鹼與合適的有機或無機酸反應或者藉由將酸與合適的有機或無機鹼反應而進行製備。該術語可以用於本發明中的任何化合物。代表性的鹽包括：乙酸鹽、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、碳酸氫鹽、硫酸氫鹽、酒石酸氫鹽、硼酸鹽、溴化物、依地酸鈣鹽、樟腦磺酸鹽、碳酸鹽、氯化物、克拉維酸鹽、檸檬酸鹽、二鹽酸鹽、依地酸鹽、乙二磺酸鹽、丙酸酯月桂硫酸鹽(estolate)、乙磺酸鹽(esylate)、富馬酸鹽、葡庚糖酸鹽、葡萄糖酸鹽、谷氨酸鹽、甘苯砷酸鹽(glycol lylarsanilate)、己基間苯二酚酸鹽

(hexylresorcinate)、哈胺鹽(hydrabamine)、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、羥萘酸鹽、碘化物、羥乙基磺酸鹽、乳酸鹽、乳糖酸鹽、月桂酸鹽、蘋果酸鹽、馬來酸鹽、扁桃酸鹽、甲磺酸鹽、甲溴酸鹽、甲硝酸鹽、甲硫酸鹽、馬來酸單鉀鹽、黏酸鹽(Mucate)、萘磺酸鹽、硝酸鹽、N-甲葡萄糖胺鹽、草酸鹽、巴莫酸鹽(雙羥萘酸鹽)、棕櫚酸鹽、泛酸鹽、磷酸鹽/二磷酸鹽、聚半乳糖醛酸鹽、鉀鹽、水楊酸鹽、鈉鹽、硬脂酸鹽、次乙酸鹽、琥珀酸鹽、丹寧酸鹽、酒石酸鹽、茶氯酸鹽、對甲苯磺酸鹽、三乙基碘鹽(triethiodide)、三甲胺鹽和戊酸鹽。當酸性取代基存在時，例如-COOH，可以形成銨鹽、嗎啉鹽、鈉鹽、鉀鹽、鋇鹽、鈣鹽等以供劑型使用。當鹼性基團存在時(例如在檸檬苦素類化合物或1，1-二甲基雙胍中)，例如氨基或鹼性雜芳基如吡啶基，可形成酸性鹽，如鹽酸鹽、氫溴酸鹽、磷酸鹽、硫酸鹽、三氟乙酸鹽、三氯乙酸鹽、乙酸鹽、草酸鹽、馬來酸鹽、丙酮酸鹽、丙二酸鹽、琥珀酸鹽、檸檬酸鹽、酒石酸鹽、富馬酸鹽、扁桃酸鹽、苯甲酸鹽、肉桂酸鹽、甲磺酸鹽、乙磺酸鹽、苦味酸鹽等。

【0033】在本文使用的術語“預防”是指當用於疾病或病症(例如癌症)時，與未施用化合物或藥物(例如，本申請要求保護的組合產品)的受試者相比，該化合物或藥物能降低受試者體內的醫學病症症狀的頻率或推遲其發病。

【0034】在本文中使用的術語“治療”是指減輕、緩解或改善疾病或病症的症狀，改善潛在的代謝引起的的症狀，抑制疾病或症狀，例如阻止疾病或病症的發展、緩解疾病或病症、引起疾病或病症的消退、緩解疾病或病症引起的病況、或阻止疾病或病症的症狀。

【0035】在本文中使用的術語“癌症”是指由異常的不受控制的細胞生長引起的新生物或腫瘤。非限制性的例子包括那些在發明詳述中所描述的示例性癌症。術語“癌症”包括同時涉及惡化前癌細胞和惡性癌細胞的疾病。

【0036】在本文中使用的術語“溶劑化物”是本發明所涉及的化合物與溶劑分子的組合、物理結合、和/或溶劑合，例如二溶劑化物、單溶劑化物、半溶劑化物。本發明涉及的化合物可以以與例如水、甲醇、乙醇等藥學上可接受溶劑形成溶劑化形式，其不顯著影響化合物的藥理學活性或毒性且這樣可以作為藥理學等價物起作用。

【0037】在本文中使用的術語“受試者”是指包括人類（例如，患者）和動物（例如，小鼠、大鼠、犬、貓、兔、雞或猴等）。當受試者是人類患者時（通常體重按60kg來計算）時，除非另有說明，本發明所述的劑量可採用與實驗動物的轉換因數（例如，人用劑量=小鼠劑量/12.3）進行換算得到（請參考Kin Tam, “Estimating the “First in human” dose-a revisit with particular emphasis on oncology drugs, ADMET & DMPK 1(4)(2013)63-75）。本領域的普通技術人員能夠根據一般常識，根據受試者的具體體重、疾病的種類和嚴重程度以及其它因素對該劑量進行合理調整，這些調整的技術方案均落入本發明要求保護的技術方案的範圍之內。

【0038】在本文中使用的術語“有效量”或“預防和/或治療有效量”是指施用的藥物或化合物的足夠量（例如，劑量），其將在一定程度上減輕被治療的疾病或病症的一種或多種症狀。結果可以是縮小和/或減輕病症或疾病原因或任意其它期望的生物系統的改變。例如，用於治療用途的“有效量”是提供以使疾病或病症的臨床症狀顯著減輕、而不產生過度的毒副作用的化合物或藥物（例如，本申請要求保護的組合產品）的量。

【0039】在本文中使用的術語“劑量”是指每千克（kg）受試者體重的活性物質的重量（例如，毫克（mg））。

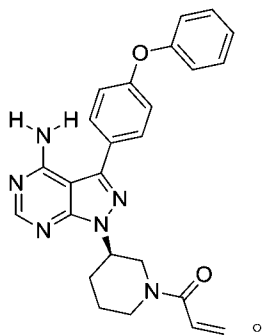
【0040】在本文中使用的術語“IC₅₀”是指在測量這樣的效應的試驗中獲得最大效應的50%抑制，例如BCL-2或BTK的抑制的特定測試化合物或藥物的量、濃度或劑量。

【0041】在本文中使用的術語“室溫”是指25°C±1°C。同時，若沒有具體指明實驗溫度，均為室溫。

【0042】在本文中使用的術語“約”是指該術語所修飾的數值的±10%，更佳為±5%，最佳為±2%，因此本領域的普通技術人員能夠清楚地根據所修飾的數值確定術語“約”的範圍。

【0043】在本文中使用的術語“脂肪環”、“雜環”、“雜環烷基”、“雜烷基”、“環烷基烷基”和“鹵素”等具有本領域通常的含義，且本領域的普通技術人員藉由一般知識或參考先前技術（例如，WO2018/027097，藉由全文引入本發明作為參考）能夠知曉其含義。

【0044】在本文中使用的術語“依魯替尼”是具有下述結構的化合物：

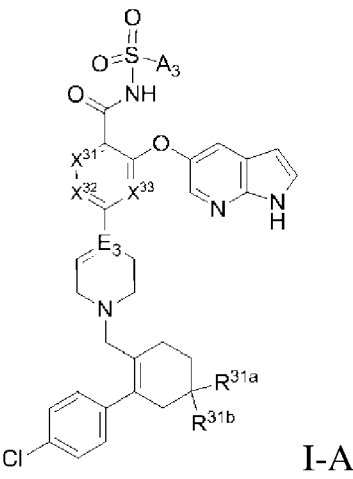


【0045】在本發明的第一方面涉及一種組合產品，該組合產品包含Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑，或由它們組成。在本發明的第一方面涉及一種組合產品，該組合產品包含Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑，或由它們組成。

【0046】在本發明的另一方面涉及一種在所需的受試者中治療疾病（例如癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病）的方法，包括對該受試者給予治療有

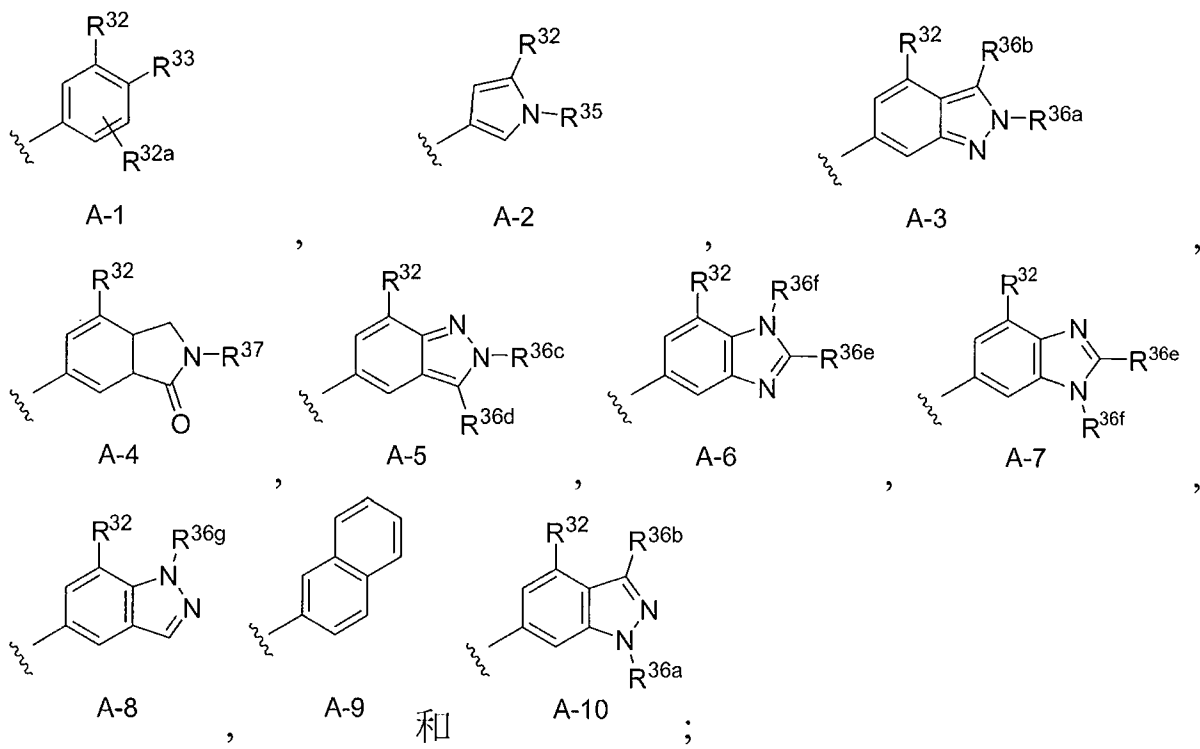
效量的Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑，其中該受試者對BTK抑制劑不回應或者耐藥。在某些實施方式中，該受試者對依魯替尼不回應或者耐藥。

【0047】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A的化合物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物：



其中：

A₃是



E₃是C原子以及 == 是一個雙鍵；

或者E₃是-C(H)-以及 == 是一個單鍵；

或者 E_3 是N原子以及 $\equiv$ 是單鍵；

X^{31} 、 X^{32} 和 X^{33} 獨立地是 $-\text{CR}^{38}=\text{}$ 和 $-\text{N}=\text{}$ ；

R^{31a} 和 R^{31b} 與其連接的C原子一起形成3-，4-，或5-元任意取代的脂肪環；

R^{31a} 和 R^{31b} 與其連接的C原子一起形成4-或5-元任意取代的雜環；

R^{32} 是 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{SO}_2\text{CF}_3$ ；

R^{32a} 是H或X；

R^{33} 是H、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{34a})(\text{R}^{34b})$ ；

R^{34a} 是任意取代的C1-6烷基、任意取代的C3-6環烷基、雜環、雜烷基、環烷基和雜環烷基；

R^{34b} 是H和C1-4烷基；

R^{35} 是任意取代的C1-6烷基、雜環、環烷基和雜環烷基；

R^{36a} 、 R^{36c} 、 R^{36e} 、 R^{36f} 和 R^{36g} 獨立地是H、任意取代的C1-6烷基、任意取代的C3-6環烷基、任意取代的芳基、任意取代的雜環芳基、雜環、雜烷基、環烷基和雜環烷基；

R^{36b} 和 R^{36d} 獨立地是H、C1-4烷基和鹵素；

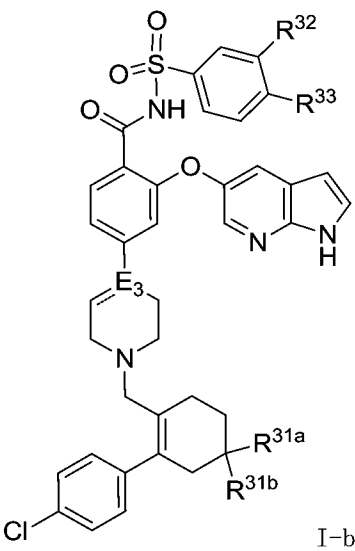
R^{37} 是任意取代的C1-6烷基、雜環、雜烷基、環烷基和雜環烷基；

R^{38} 是H和鹵素。

【0048】在上述式I-A的化合物中，變數 R^{32a} 的定義中的“X”指鹵素。進一步地，上述鹵素是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)。

【0049】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有該式I-A的化合物，其中：
 A_3 是A-1、A-2、A-3、A-4、A-5、A-6、A-7、A-8和A-9； R^{34a} 是任意取代的C1-6烷基，雜環，雜烷基，環烷基和雜環烷基； R^{36a} 、 R^{36c} 、 R^{36e} 、 R^{36f} 和 R^{36g} 獨立地是H、任意取代的C1-6烷基，雜環，雜烷基，環烷基和雜環烷基。

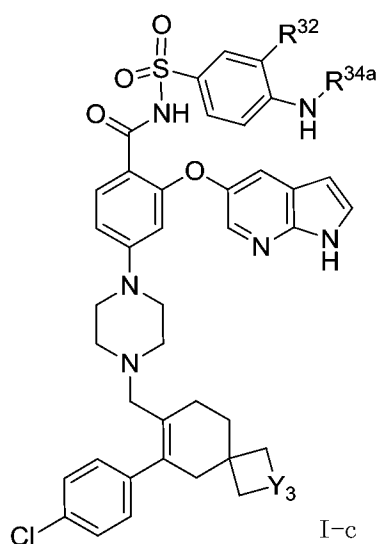
【0050】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-b的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中：

- E_3 是C原子以及 $\equiv$ 是一個雙鍵；或者 E_3 是-C(H)-以及 $\equiv$ 是一個單鍵；或者 E_3 是N原子以及 $\equiv$ 是單鍵；
- R^{31a} 和 R^{31b} 與其連接的C原子一起形成3-、4-，或5-元任意取代的脂肪環；
- R^{31a} 和 R^{31b} 與其連接的C原子一起形成4-或5-元任意取代的雜環；
- R^{32} 是-NO₂、-SO₂CH₃、-SO₂CF₃；
- R^{33} 是H、-CN、-C≡CH、-N(R^{34a})(R^{34b})；
- R^{34a} 是任意取代的C1-6烷基、雜環、環烷基烷基和雜環烷基；
- R^{34b} 是H和C1-4烷基。

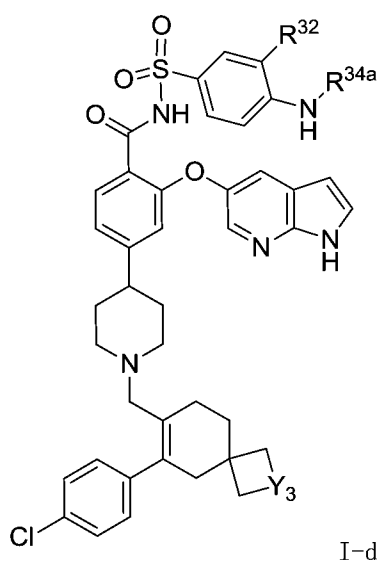
【0051】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-c的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中：

Y₃ 是-CH₂-和-O-、R³²與R^{34a} 如式I-b定義。

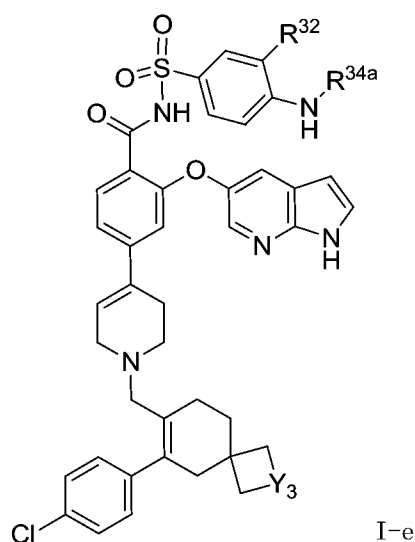
【0052】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-d的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中：

Y₃ 是-CH₂-和-O-、R³²與R^{34a} 如式I-b定義。

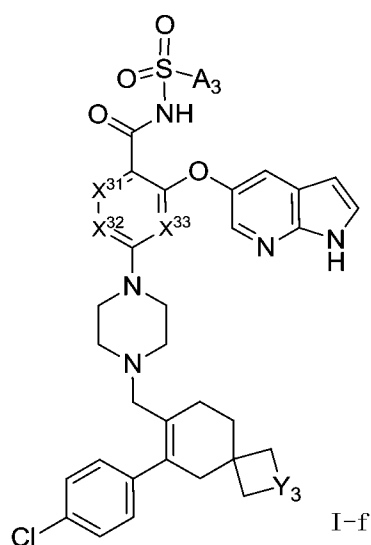
【0053】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-e的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中：

Y₃ 是-CH₂-以及-O-、R³²與R^{34a} 如式I-b定義。

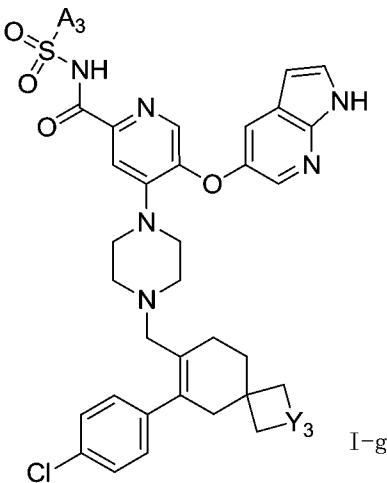
【0054】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-f的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中：

Y₃ 是-CH₂-和-O-、A₃、X³¹、X³²和X³³如式I-A定義。

【0055】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中：

Y₃ 是-CH₂-和-O-、A₃如式I-A定義。

【0056】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-1。

【0057】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-2。

【0058】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-3。

【0059】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-4。

【0060】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-5。

【0061】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-6。

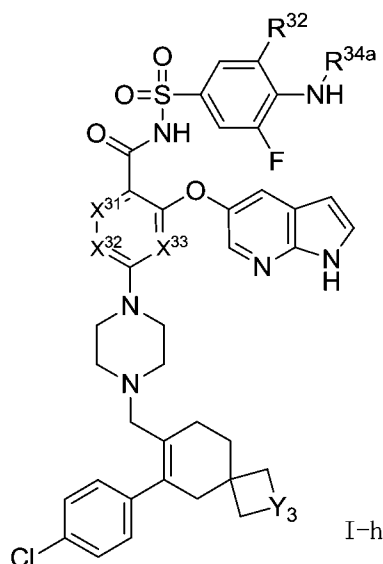
【0062】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-7。

【0063】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-8。

【0064】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-9。

【0065】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-g的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中A₃是A-10。

【0066】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中：

Y₃ 是-CH₂-和-O-、X³¹、X³²、X³³、R³²和R^{34a}，如式I-A定義。

【0067】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 X^{31} 、 X^{32} 和 X^{33} 都是-CH=。

【0068】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中X³¹是-CF=、X³²和X³³都是-CH=。

【0069】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 X^{31} 和 X^{33} 都是-CH=， X^{32} 是-CF=。

【0070】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 X^{31} 和 X^{32} 都是-CH=， X^{33} 是-CF=。

【0071】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 X^{31} 是-N=， X^{32} 和 X^{33} 都是-CH=。

【0072】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 X^{31} 和 X^{33} 都是-CH=， X^{32} 是-N=。

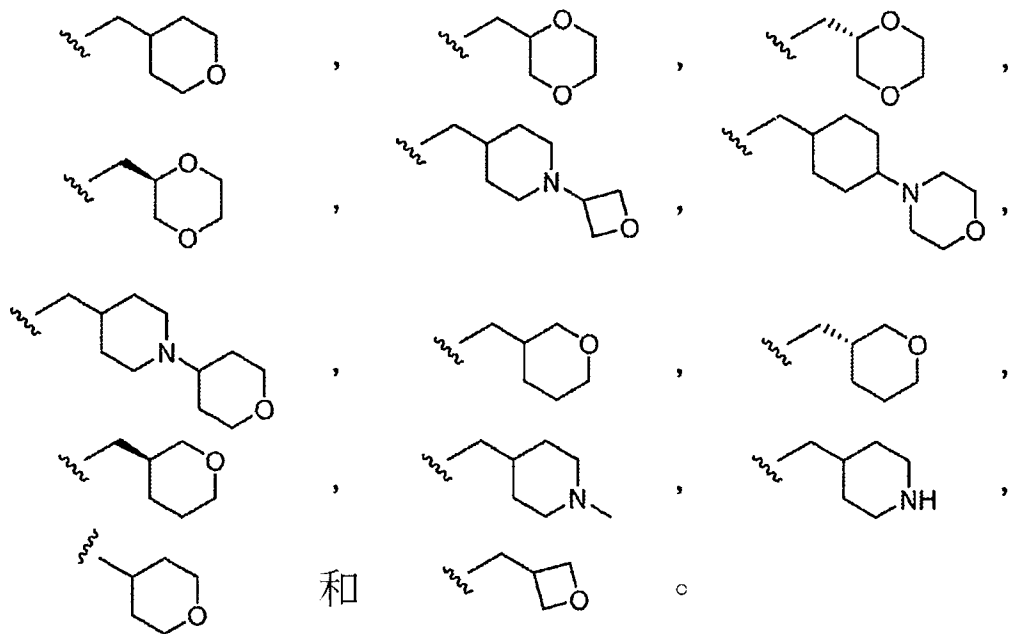
【0073】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A、I-f、或I-h的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 X^{31} 和 X^{32} 都是-CH=， X^{33} 是-N=。

【0074】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-c到I-h中的任何一個化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 Y_3 是-O-。

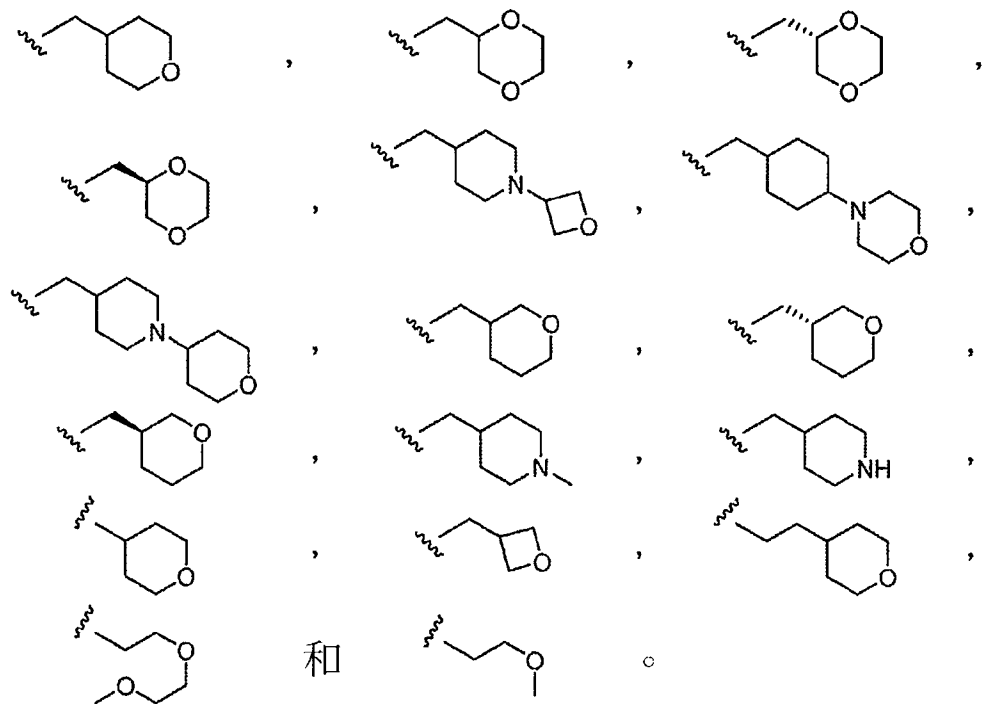
【0075】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-c到I-h中的任何一個化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 Y_3 是-CH₂-。

【0076】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A 或I-h中的任何一個化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 R^{32} 是-NO₂。

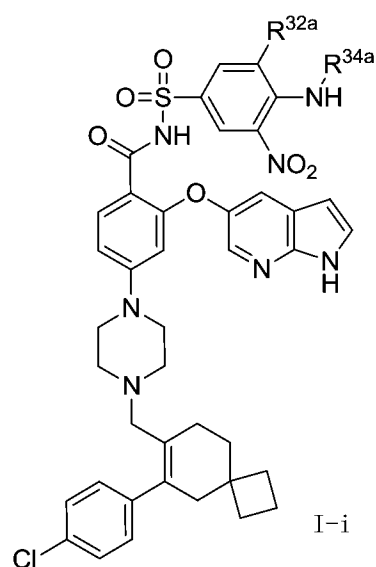
【0077】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-g中的任何一個化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 R^{34a} 是：



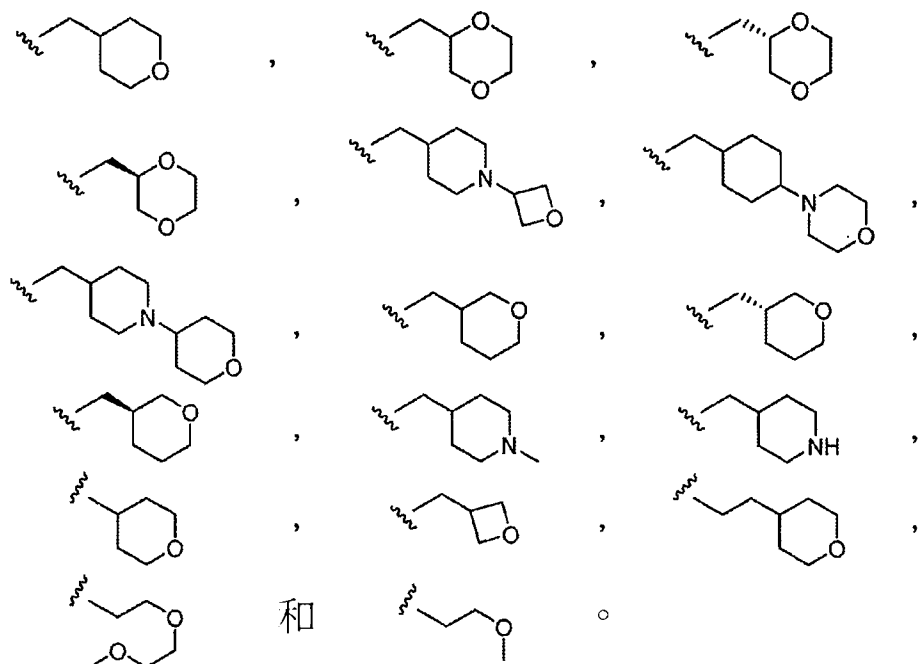
【0078】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-A 或I-f到I-h中的任何一個化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中R^{34a}、R³⁵、R^{36a}和R³⁷獨立地是：



【0079】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-i的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中R^{32a}是H或F，R^{34a}如式I-A定義。



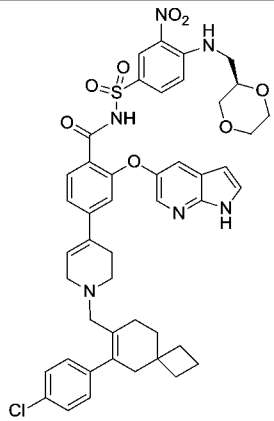
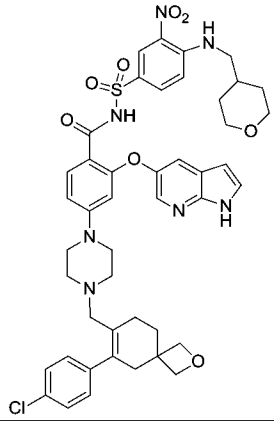
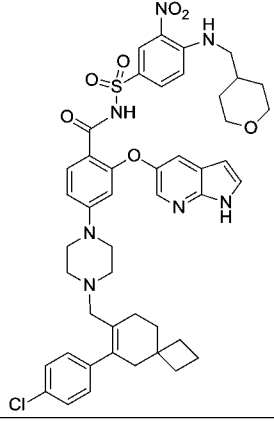
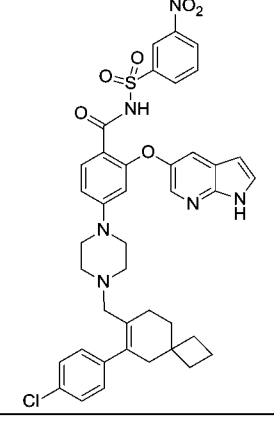
【0080】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是具有式I-i的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中R^{34a}是：

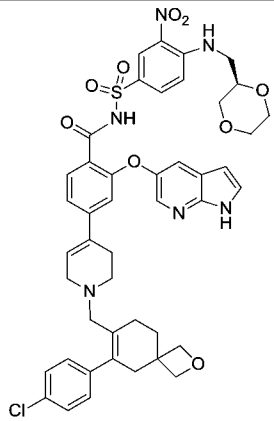
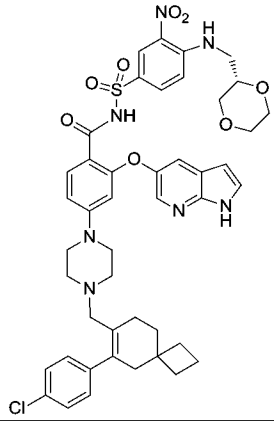
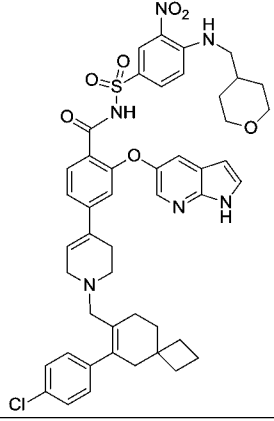
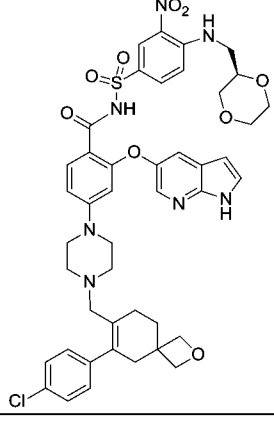


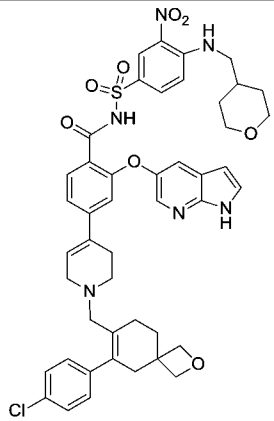
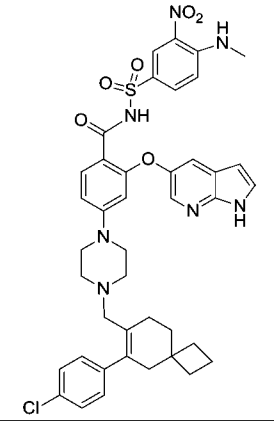
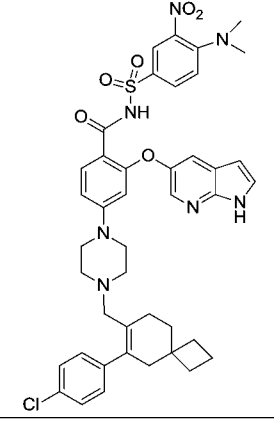
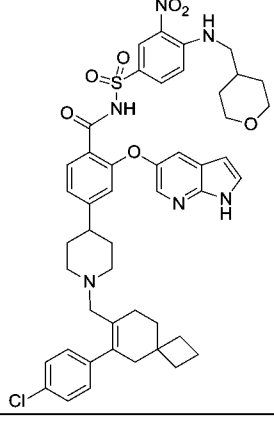
【0081】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是下表中的一個或多個化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

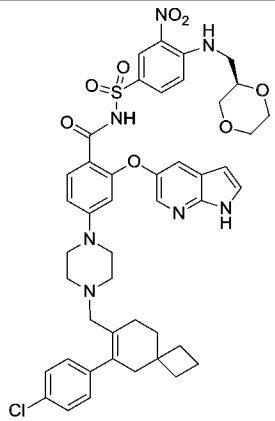
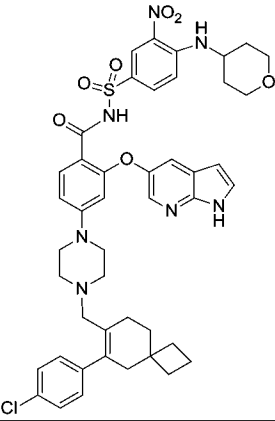
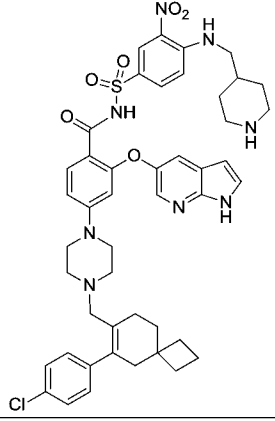
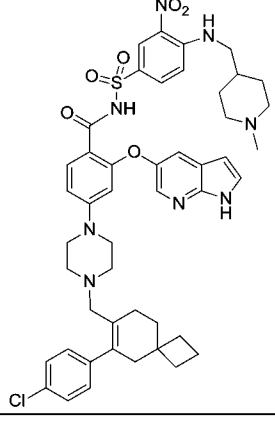
表1

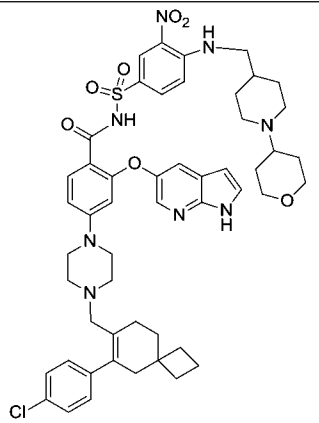
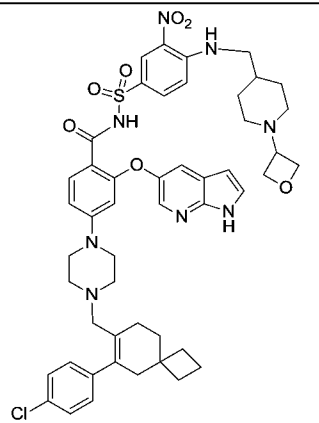
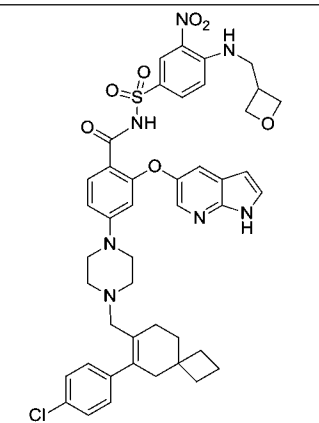
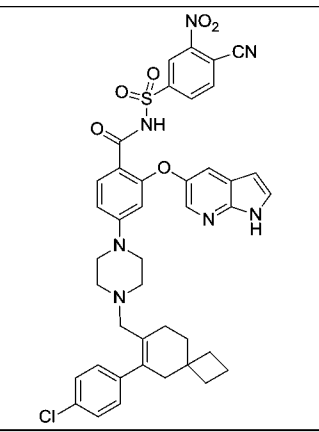
編號	結構	名稱
----	----	----

1		(R)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(1-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)-1,2,3,6-四氫吡啶-4-基)苯甲醯胺
2		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-(((6-(4-氯苯基)-2-氧雜螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺
3		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-(((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺
4		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-(((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((3-硝基苯基)磺醯)苯甲醯胺

5		(R)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺酰)-2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(1-(((6-(4-氯苯基)-2-氧雜螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)-1,2,3,6-四氫吡啶-4-基)苯甲醯胺
6		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺酰)-2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-(((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)苯甲醯胺
7		2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(1-(((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)-1,2,3,6-四氫吡啶-4-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺酰)苯甲醯胺
8		(R)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺酰)-2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-(((6-(4-氯苯基)-2-氧雜螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)苯甲醯胺

9		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(1-((6-(4-氯苯基)-2-氧雜螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)-1,2,3,6-四氫吡啶-4-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺
10		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((4-(甲基氨基)-3-硝基苯基)磺醯)苯甲醯胺
11		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((4-(二甲氨基)-3-硝基苯基)磺醯)苯甲醯胺
12		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(1-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱啶-4-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺

13		(R)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺酰)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗟-1-基)苯甲酰胺
14		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗟-1-基)-N-((3-硝基-4-((四氢-2H-吡喃-4-基)氨基)苯基)磺酰)苯甲酰胺
15		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗟-1-基)-N-((3-硝基-4-((呱啶-4-基)甲基)氨基)苯基)磺酰)苯甲酰胺
16		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗟-1-基)-N-((4-(((1-甲基呱啶-4-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺酰)苯甲酰胺

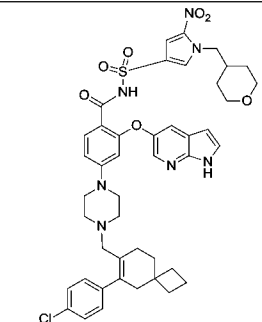
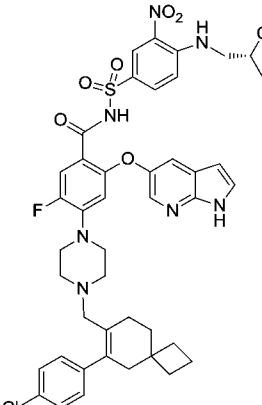
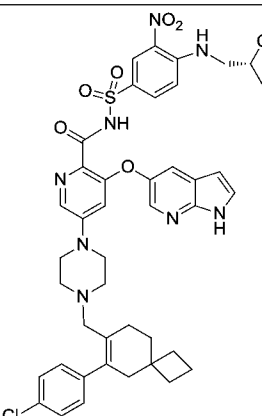
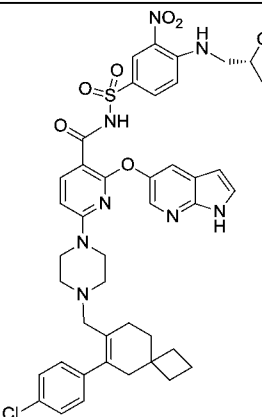
17		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-(((1-(四氫-2H-吡喃-4-基)吡啶-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺
18		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-(((1-(噁丁環-3-基)吡啶-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺
19		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-((噁丁環-3-基甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺
20		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((4-氰基-3-硝基苯基)磺醯)苯甲醯胺

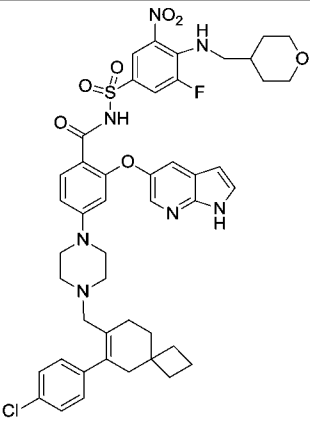
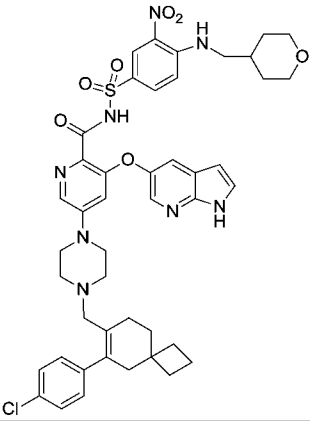
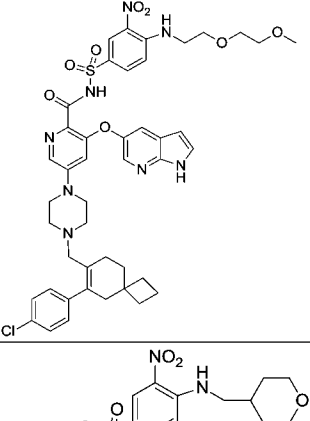
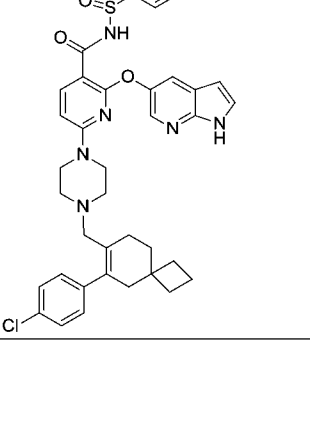
[illegible]

【0082】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是表1-A中的一個或多個化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

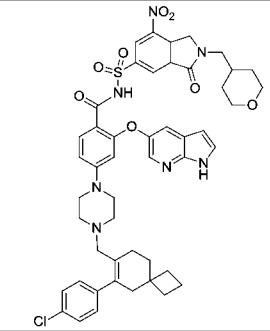
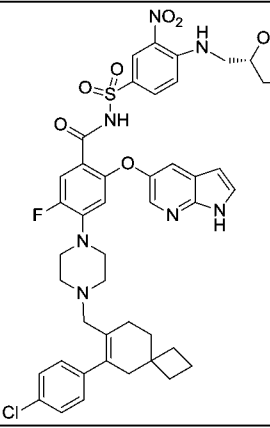
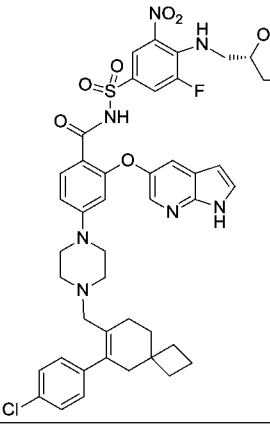
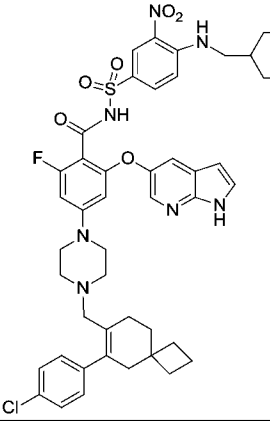
表1-A

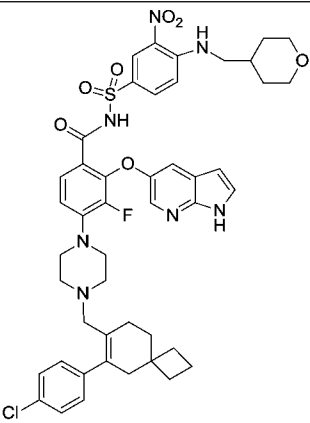
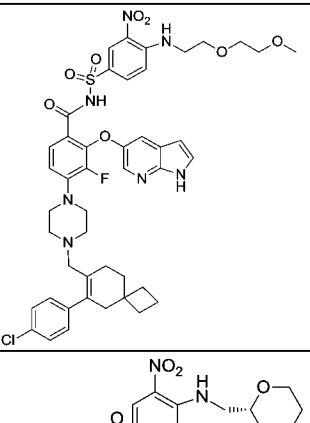
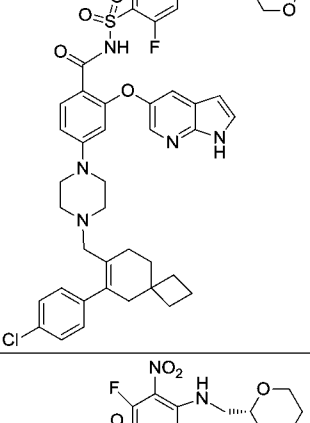
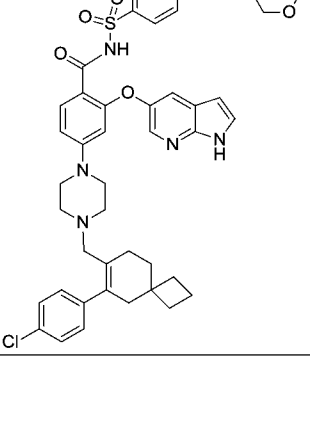
編號	結構	名稱
22		2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)咪嗪-1-基)-N-((3-氟-2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-4-硝基-2H-呋唑-6-基)磺醯)苯甲醯胺
23		2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)咪嗪-1-基)-N-((7-硝基-3-氧代-2-(四氫-2H-吡喃-4-基)-2,3,3a,7a-四氫-1H-異呋啉-5-基)磺醯)苯甲醯胺
24		2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)咪嗪-1-基)-N-((5-硝基-1-(2-(四氫-2H-吡喃-4-基)乙基)-1H-吡咯-3-基)磺醯)苯甲醯胺

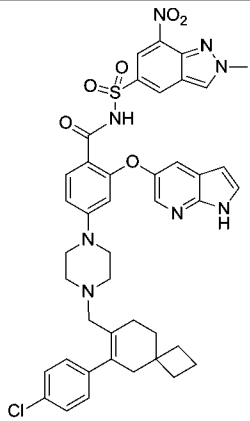
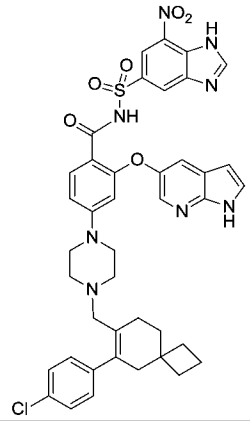
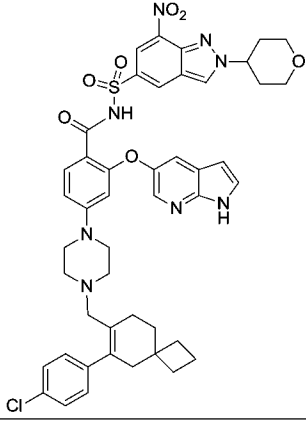
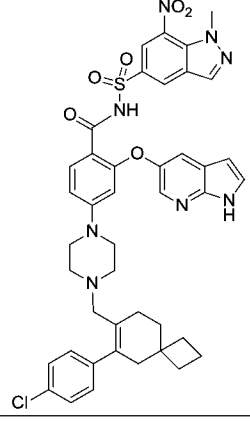
25		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((5-硝基-1-((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)-1H-吡咯-3-基)磺醯)苯甲醯胺
26		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-5-氟苯甲醯胺
27		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-3-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-5-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)吡啶醯胺
28		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-6-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)尼克醯胺

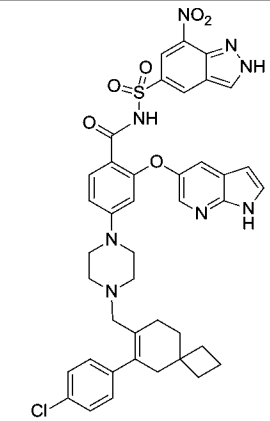
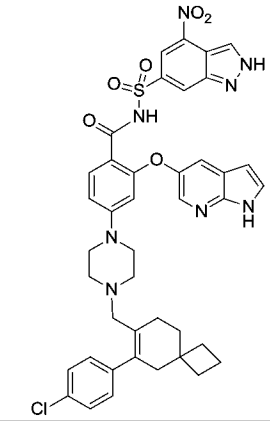
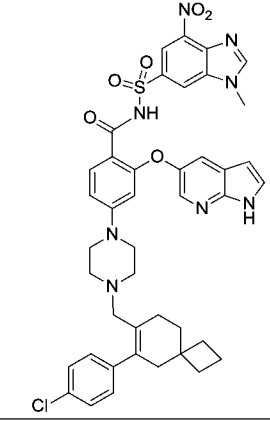
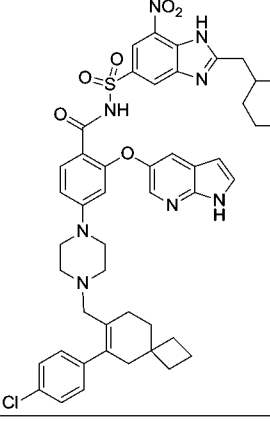
29		2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((3-氟-5-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺
30		3-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-5-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)吡啶醯胺
31		3-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-5-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)吡啶醯胺
32		2-(((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-6-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)尼克醯胺

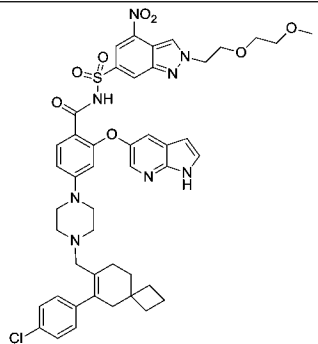
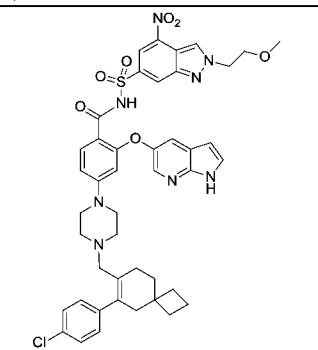
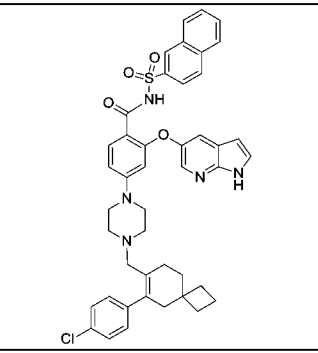
33		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-6-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)尼克醯胺
34		3-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-5-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((4-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)吡啶醯胺
35		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((1-(2-甲氧基乙基)-5-硝基-1H-吡咯-3-基)磺醯)苯甲醯胺
36		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-3-氟苯甲醯胺
37		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-5-氟-N-((4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)苯甲醯胺

38		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((7-硝基-3-氧代-2-((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)-2,3,3a,7a-四氫-1H-異吲哚-5-基)磺醯)苯甲醯胺
39		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-5-氟苯甲醯胺
40		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-氟-5-硝基苯基)磺醯)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)苯甲醯胺
41		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-6-氟-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺

42		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-3-氟-N-((3-硝基-4-(((四氢-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺酰)苯甲酰胺
43		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-3-氟-N-((4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)氨基)-3-硝基苯基)磺酰)苯甲酰胺
44		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-2-氟-5-硝基苯基)磺酰)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)苯甲酰胺
45		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-2-氟-3-硝基苯基)磺酰)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)苯甲酰胺

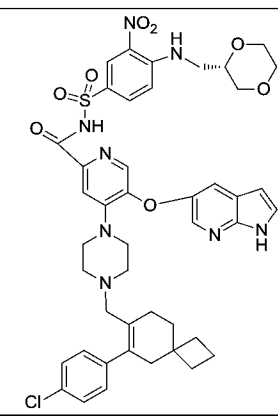
46		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)哌嗪-1-基)-N-((2-甲基-7-硝基-2H-呋唑-5-基)磺醯)苯甲醯胺
47		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)哌嗪-1-基)-N-((7-硝基-1H-苯並[d]咪唑-5-基)磺醯)苯甲醯胺
48		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)哌嗪-1-基)-N-((7-硝基-2-(四氫-2H-吡喃-4-基)-2H-呋唑-5-基)磺醯)苯甲醯胺
49		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)哌嗪-1-基)-N-((1-甲基-7-硝基-1H-呋唑-5-基)磺醯)苯甲醯胺

50		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((7-硝基-2H-咪唑-5-基)磺醯)苯甲醯胺
51		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((4-硝基-2H-咪唑-6-基)磺醯)苯甲醯胺
52		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((1-甲基-4-硝基-1H-苯並[d]咪唑-6-基)磺醯)苯甲醯胺
53		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((7-硝基-2-((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)-1H-苯並[d]咪唑-5-基)磺醯)苯甲醯胺

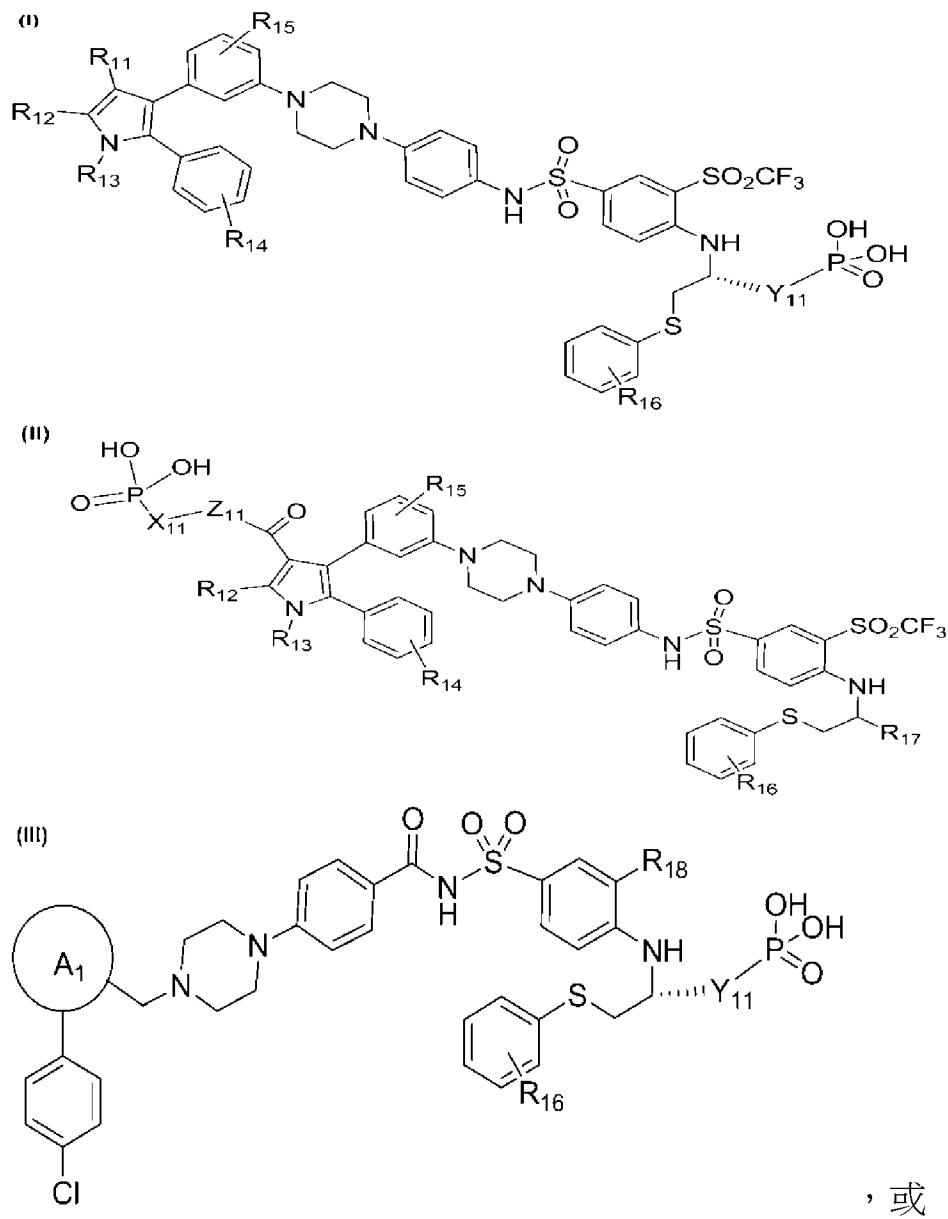
54		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((2-(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)-4-硝基-2H-吡啶-6-基)磺醯)苯甲醯胺
55		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-((2-(2-甲氧基乙基)-4-硝基-2H-吡啶-6-基)磺醯)苯甲醯胺
56		2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)-N-(萘-2-基磺醯)苯甲醯胺

【0083】 在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是表1-B中的化合物，或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

表1-B

編號	結構	名稱
57		(S)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-5-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呱嗪-1-基)吡啶醯胺

【0084】 在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是具有通式（I）、（II）、（III）或（IV）的化合物或其藥學上可接受的鹽或其溶劑化物：



R_1' 、 R_1'' 和 R_1''' 獨立地是H、烷基、環烷基、烯基、環烯基、炔基、芳基、雜芳基、 C_{1-3} 亞烷基雜環烷基或雜環烷基；

R_1' 和 R_1'' 或 R_1'' 和 R_1''' 可與它們所連接的原子一起形成3-7元環；

R_{14} 是氫、鹵素、 C_{1-3} 烷基、 CF_3 或CN；

R_{15} 是氫、鹵素、 C_{1-3} 烷基、取代的 C_{1-3} 烷基、羥基烷基、烷氧基或取代的烷氧基；

R_{16} 選自H、CN、 NO_2 、鹵素、烷基、環烷基、烯基、環烯基、炔基、芳基、雜芳基、雜環烷基、 OR_1' 、 SR_1' 、 $NR_1'R_1''$ 、 CO_2R_1' 、 $OCOR_1'$ 、 $CONR_1'R_1''$ 、 $CONR_1'SO_2R_1''$ 、 $NR_1'COR_1''$ 、 $NR_1'CONR_1''R_1'''$ 、 $NR_1'C=SNR_1''R_1'''$ 、 $NR_1'SO_2R_1''$ 、 SO_2R_1' 和 $SO_2NR_1'R_1''$ ；

取代或未取代的 R_{17} 選自氫、烷基、烯基、 $(CH_2)_{0-3}$ -環烷基、 $(CH_2)_{0-3}$ -環烯基、 $(CH_2)_{0-3}$ -雜環烷基、 $(CH_2)_{0-3}$ 芳基和 $(CH_2)_{0-3}$ 雜芳基；

R_{18} 選自氫、鹵素、 NO_2 、CN、 CF_3SO_2 和 CF_3 ；

R_{11}^a 選自氫、烷基、雜烷基、烯基、羥基烷基、烷氧基、取代的烷氧基、環烷基、環烯基和雜環烷基；

R_{11}^b 是氫或烷基；

R_{11}^c 選自氫、烷基、取代的烷基、羥基烷基、烷氧基和取代的烷氧基；和

n_1 、 r_1 和 s_1 獨立地是1、2、3、4、5或6；

R_{21} 是 SO_2R_2' ；

R_{22} 是烷基，較佳 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基；

R_{23} 是烷基，較佳 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基；

R_{24} 是鹵素，較佳氟、氯；

R_{25} 是鹵素，較佳氟、氯；

R_{26} 選自H、鹵素和烷基，較佳氟、氯、 C_{1-4} 烷基，更佳甲基、丙基或異丙基；

R_{21b} 是H或烷基,較佳 C_{1-4} 烷基, 更佳甲基、丙基或異丙基;

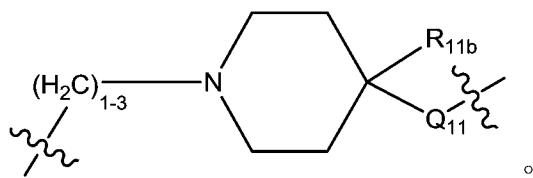
n_2 , r_2 和 s_2 獨立地是1、2、3、4、5或6, 更佳 r_2 和 s_2 均是2且 n_2 是3、4或5, 更佳 n_2 、 r_2 和 s_2 均是2; 和

R_2' 是烷基, 較佳 C_{1-4} 烷基, 更佳甲基、丙基或異丙基。

【0085】上述通式(I)、(II)或(III)中, 在一些實施方式中, R_{11} 和 R_{12} 或 R_{12} 和 R_{13} 可一起形成環。在其它實施方式中, R_1' 和 R_1'' 或 R_1'' 和 R_1''' 可與它們所連接的原子一起形成3-7元環。

【0086】在一些較佳的實施方式中, X_{11} 是亞烷基, 和在較佳的實施方式中, 是 C_{1-3} 亞烷基。

【0087】在一些實施方式中, Y_{11} 是



【0088】在較佳的實施方式中, n_1 是2。在其它較佳的實施方式中, R_{11b} 是氫或 C_{1-3} 烷基。

【0089】在其它較佳的實施方式中, Q_{11} 是O、 $O(CH_2)_{1-3}$ 、 $C(=O)O(CH_2)_{1-3}$ 、 $OC(=O)(CH_2)_{1-3}$ 或 $C(=O)O(C_3H_7)_{1-3}$ 。在一些實施方式中, Q_{11} 是O、 OCH_2 、 $C(=O)OCH_2$ 、 $C(=O)O(CH_2)_2$ 、 $C(=O)O(CH_2)_3$ 、 $OC(=O)CH_2$ 或 $C(=O)O(CH(CH_3)CH_2)$ 。

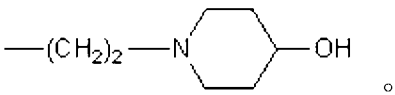
【0090】在一些實施方式中, Z_{11} 是O、NH或 $N(C_{1-3}$ 烷基)。在較佳的實施方式中, Z_{11} 是O、NH或 NCH_3 。

【0091】在一些實施方式中, R_{11} 是 SO_2R_1' 、 $SO_2NR_1'R_1''$ 、 $NR_1'SOR_1''$ 、H或烷基。在一些較佳的實施方式中, R_{11} 是 $SO_2(C_{1-3}$ 烷基)、 $SO_2N(C_{1-3}$ 烷基) $_2$ 、 $NHSO_2(C_{1-3}$ 烷基)、H或 C_{1-3} 烷基。 R_{11} 的一個較佳的實施方式是 SO_2CH_3 。

【0092】 在一些實施方式中， R_{12} 和 R_{13} 獨立地是H、 C_{1-3} 烷基或環烷基。 R_{12} 也可以是鹵素。在一些較佳的實施方式中， R_{12} 和 R_{13} 獨立地是甲基、乙基、正丙基、異丙基、環戊基或環己基。 R_{12} 也可以是Cl或F。

【0093】 在一些實施方式中， R_{14} 是H或鹵素，較佳是H、Cl或F。在其它實施方式中， R_{15} 是H、鹵素或 C_{1-3} 烷基，較佳是H、甲基、乙基、正丙基、異丙基、F或Cl。在其它實施方式中， R_{16} 是H、鹵素、烷基或環烷基。在一些較佳的實施方式中， R_{16} 是H、F、Cl、 C_{1-3} 烷基、環戊基或環己基。

【0094】 在一些實施方式中， R_{17} 是 $(CH_2)_{0-3}$ -環烷基或 $(CH_2)_{0-3}$ -雜環烷基。在較佳的實施方式， R_{17} 是 $(CH_2)_{0-3}$ -環烷基，任選被-OH取代。在一個實施方式中， R_{17} 是



【0095】 在一些實施方式中， R_{18} 是 CF_3SO_2 或 CF_3 。在各種實施方式中， R_{11a} 、 R_{11b} 和 R_{11c} 獨立地是H或 C_{1-3} 烷基。

【0096】 在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑選自下表2中的化合物或其藥學上可接受的鹽或其溶劑化物。

表2

化合物編號	結構
-------	----

58	
59	
60	

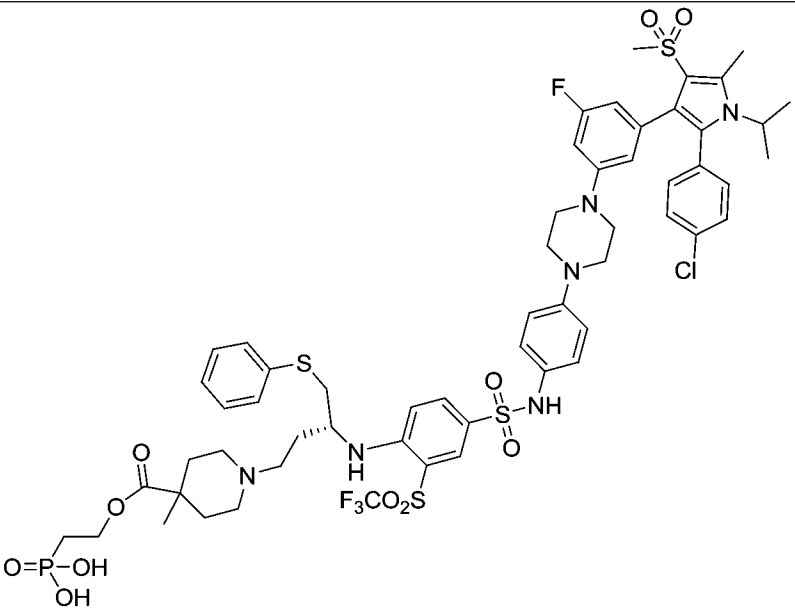
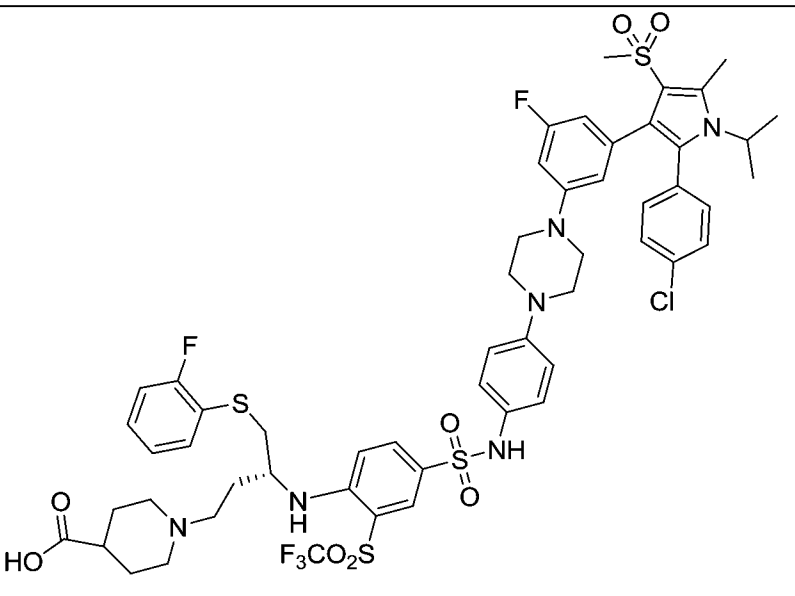
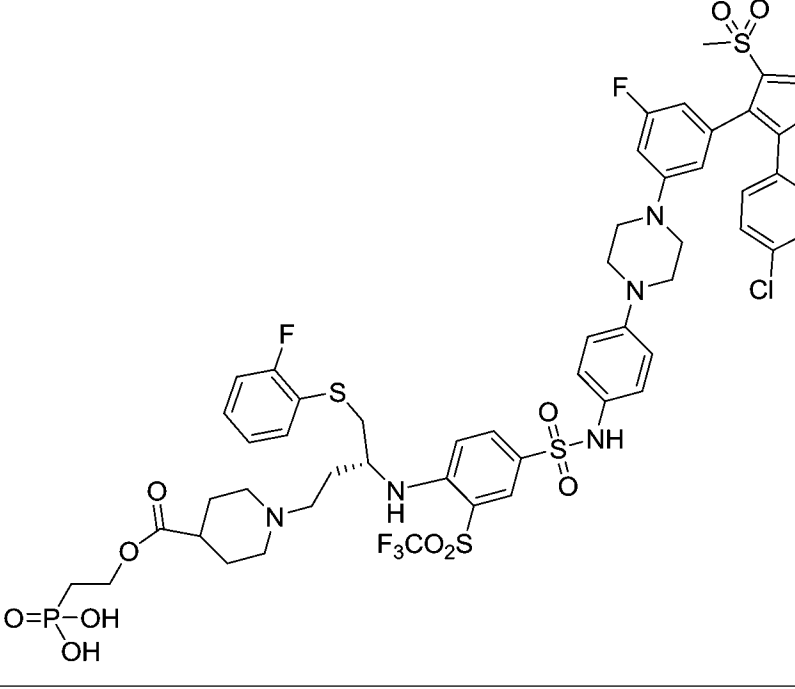
[illegible]

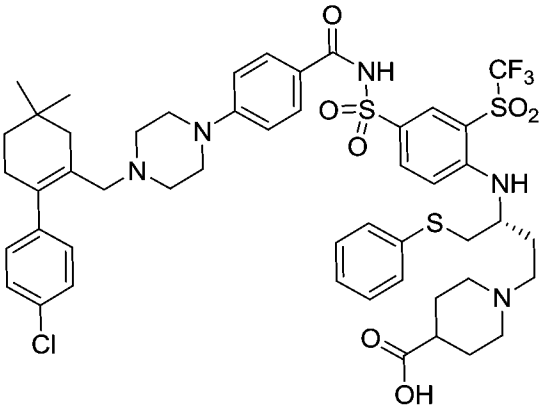
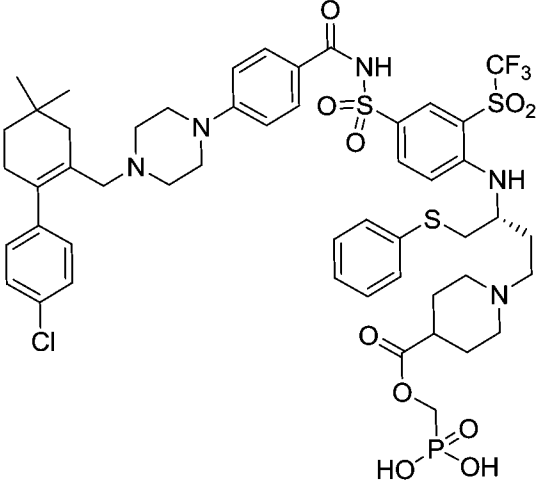
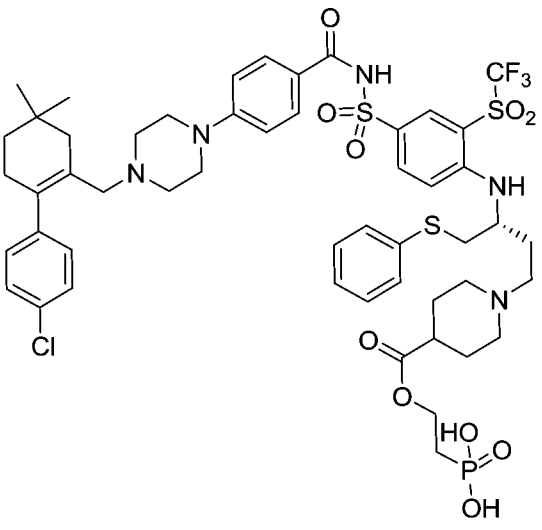
64	 <chem>CC1=C(C(=C(C=C1)C2=CC=CC=C2C3=C(C(=C(C=C3)C4=CC=CC=C4)C(=O)OC(=O)C5=CC=CC=C5C(=O)O)C6=CC=CC=C6)C7=CC=CC=C7C8=CC=CC=C8C9=CC=CC=C9C10=CC=CC=C10C11=CC=CC=C11C12=CC=CC=C12C13=CC=CC=C13C14=CC=CC=C14C15=CC=CC=C15C16=CC=CC=C16C17=CC=CC=C17C18=CC=CC=C18C19=CC=CC=C19C20=CC=CC=C20C21=CC=CC=C21C22=CC=CC=C22C23=CC=CC=C23C24=CC=CC=C24C25=CC=CC=C25C26=CC=CC=C26C27=CC=CC=C27C28=CC=CC=C28C29=CC=CC=C29C30=CC=CC=C30C31=CC=CC=C31C32=CC=CC=C32C33=CC=CC=C33C34=CC=CC=C34C35=CC=CC=C35C36=CC=CC=C36C37=CC=CC=C37C38=CC=CC=C38C39=CC=CC=C39C40=CC=CC=C40C41=CC=CC=C41C42=CC=CC=C42C43=CC=CC=C43C44=CC=CC=C44C45=CC=CC=C45C46=CC=CC=C46C47=CC=CC=C47C48=CC=CC=C48C49=CC=CC=C49C50=CC=CC=C50C51=CC=CC=C51C52=CC=CC=C52C53=CC=CC=C53C54=CC=CC=C54C55=CC=CC=C55C56=CC=CC=C56C57=CC=CC=C57C58=CC=CC=C58C59=CC=CC=C59C60=CC=CC=C60C61=CC=CC=C61C62=CC=CC=C62C63=CC=CC=C63C64=CC=CC=C64C65=CC=CC=C65C66=CC=CC=C66C67=CC=CC=C67C68=CC=CC=C68C69=CC=CC=C69C70=CC=CC=C70C71=CC=CC=C71C72=CC=CC=C72C73=CC=CC=C73C74=CC=CC=C74C75=CC=CC=C75C76=CC=CC=C76C77=CC=CC=C77C78=CC=CC=C78C79=CC=CC=C79C80=CC=CC=C80C81=CC=CC=C81C82=CC=CC=C82C83=CC=CC=C83C84=CC=CC=C84C85=CC=CC=C85C86=CC=CC=C86C87=CC=CC=C87C88=CC=CC=C88C89=CC=CC=C89C90=CC=CC=C90C91=CC=CC=C91C92=CC=CC=C92C93=CC=CC=C93C94=CC=CC=C94C95=CC=CC=C95C96=CC=CC=C96C97=CC=CC=C97C98=CC=CC=C98C99=CC=CC=C99C100=CC=CC=C100C101=CC=CC=C101C102=CC=CC=C102C103=CC=CC=C103C104=CC=CC=C104C105=CC=CC=C105C106=CC=CC=C106C107=CC=CC=C107C108=CC=CC=C108C109=CC=CC=C109C110=CC=CC=C110C111=CC=CC=C111C112=CC=CC=C112C113=CC=CC=C113C114=CC=CC=C114C115=CC=CC=C115C116=CC=CC=C116C117=CC=CC=C117C118=CC=CC=C118C119=CC=CC=C119C120=CC=CC=C120C121=CC=CC=C121C122=CC=CC=C122C123=CC=CC=C123C124=CC=CC=C124C125=CC=CC=C125C126=CC=CC=C126C127=CC=CC=C127C128=CC=CC=C128C129=CC=CC=C129C130=CC=CC=C130C131=CC=CC=C131C132=CC=CC=C132C133=CC=CC=C133C134=CC=CC=C134C135=CC=CC=C135C136=CC=CC=C136C137=CC=CC=C137C138=CC=CC=C138C139=CC=CC=C139C140=CC=CC=C140C141=CC=CC=C141C142=CC=CC=C142C143=CC=CC=C143C144=CC=CC=C144C145=CC=CC=C145C146=CC=CC=C146C147=CC=CC=C147C148=CC=CC=C148C149=CC=CC=C149C150=CC=CC=C150C151=CC=CC=C151C152=CC=CC=C152C153=CC=CC=C153C154=CC=CC=C154C155=CC=CC=C155C156=CC=CC=C156C157=CC=CC=C157C158=CC=CC=C158C159=CC=CC=C159C160=CC=CC=C160C161=CC=CC=C161C162=CC=CC=C162C163=CC=CC=C163C164=CC=CC=C164C165=CC=CC=C165C166=CC=CC=C166C167=CC=CC=C167C168=CC=CC=C168C169=CC=CC=C169C170=CC=CC=C170C171=CC=CC=C171C172=CC=CC=C172C173=CC=CC=C173C174=CC=CC=C174C175=CC=CC=C175C176=CC=CC=C176C177=CC=CC=C177C178=CC=CC=C178C179=CC=CC=C179C180=CC=CC=C180C181=CC=CC=C181C182=CC=CC=C182C183=CC=CC=C183C184=CC=CC=C184C185=CC=CC=C185C186=CC=CC=C186C187=CC=CC=C187C188=CC=CC=C188C189=CC=CC=C189C190=CC=CC=C190C191=CC=CC=C191C192=CC=CC=C192C193=CC=CC=C193C194=CC=CC=C194C195=CC=CC=C195C196=CC=CC=C196C197=CC=CC=C197C198=CC=CC=C198C199=CC=CC=C199C200=CC=CC=C200C201=CC=CC=C201C202=CC=CC=C202C203=CC=CC=C203C204=CC=CC=C204C205=CC=CC=C205C206=CC=CC=C206C207=CC=CC=C207C208=CC=CC=C208C209=CC=CC=C209C210=CC=CC=C210C211=CC=CC=C211C212=CC=CC=C212C213=CC=CC=C213C214=CC=CC=C214C215=CC=CC=C215C216=CC=CC=C216C217=CC=CC=C217C218=CC=CC=C218C219=CC=CC=C219C220=CC=CC=C220C221=CC=CC=C221C222=CC=CC=C222C223=CC=CC=C223C224=CC=CC=C224C225=CC=CC=C225C226=CC=CC=C226C227=CC=CC=C227C228=CC=CC=C228C229=CC=CC=C229C230=CC=CC=C230C231=CC=CC=C231C232=CC=CC=C232C233=CC=CC=C233C234=CC=CC=C234C235=CC=CC=C235C236=CC=CC=C236C237=CC=CC=C237C238=CC=CC=C238C239=CC=CC=C239C240=CC=CC=C240C241=CC=CC=C241C242=CC=CC=C242C243=CC=CC=C243C244=CC=CC=C244C245=CC=CC=C245C246=CC=CC=C246C247=CC=CC=C247C248=CC=CC=C248C249=CC=CC=C249C250=CC=CC=C250C251=CC=CC=C251C252=CC=CC=C252C253=CC=CC=C253C254=CC=CC=C254C255=CC=CC=C255C256=CC=CC=C256C257=CC=CC=C257C258=CC=CC=C258C259=CC=CC=C259C260=CC=CC=C260C261=CC=CC=C261C262=CC=CC=C262C263=CC=CC=C263C264=CC=CC=C264C265=CC=CC=C265C266=CC=CC=C266C267=CC=CC=C267C268=CC=CC=C268C269=CC=CC=C269C270=CC=CC=C270C271=CC=CC=C271C272=CC=CC=C272C273=CC=CC=C273C274=CC=CC=C274C275=CC=CC=C275C276=CC=CC=C276C277=CC=CC=C277C278=CC=CC=C278C279=CC=CC=C279C280=CC=CC=C280C281=CC=CC=C281C282=CC=CC=C282C283=CC=CC=C283C284=CC=CC=C284C285=CC=CC=C285C286=CC=CC=C286C287=CC=CC=C287C288=CC=CC=C288C289=CC=CC=C289C290=CC=CC=C290C291=CC=CC=C291C292=CC=CC=C292C293=CC=CC=C293C294=CC=CC=C294C295=CC=CC=C295C296=CC=CC=C296C297=CC=CC=C297C298=CC=CC=C298C299=CC=CC=C299C300=CC=CC=C300C301=CC=CC=C301C302=CC=CC=C302C303=CC=CC=C303C304=CC=CC=C304C305=CC=CC=C305C306=CC=CC=C306C307=CC=CC=C307C308=CC=CC=C308C309=CC=CC=C309C310=CC=CC=C310C311=CC=CC=C311C312=CC=CC=C312C313=CC=CC=C313C314=CC=CC=C314C315=CC=CC=C315C316=CC=CC=C316C317=CC=CC=C317C318=CC=CC=C318C319=CC=CC=C319C320=CC=CC=C320C321=CC=CC=C321C322=CC=CC=C322C323=CC=CC=C323C324=CC=CC=C324C325=CC=CC=C325C326=CC=CC=C326C327=CC=CC=C327C328=CC=CC=C328C329=CC=CC=C329C330=CC=CC=C330C331=CC=CC=C331C332=CC=CC=C332C333=CC=CC=C333C334=CC=CC=C334C335=CC=CC=C335C336=CC=CC=C336C337=CC=CC=C337C338=CC=CC=C338C339=CC=CC=C339C340=CC=CC=C34</chem>
----	---

第 48 頁，共 93 頁(發明說明書)

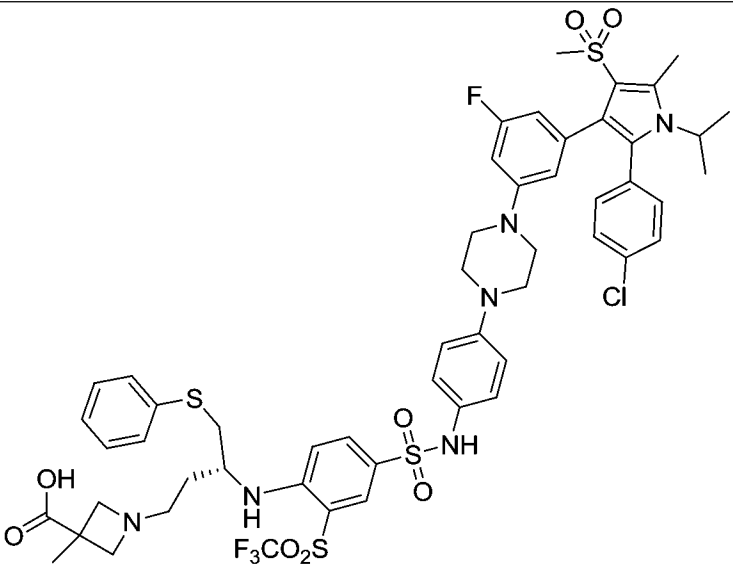
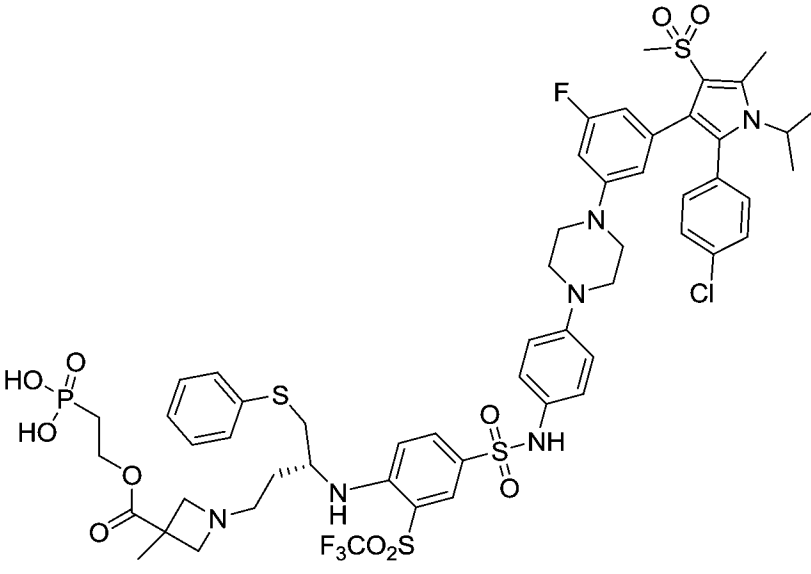
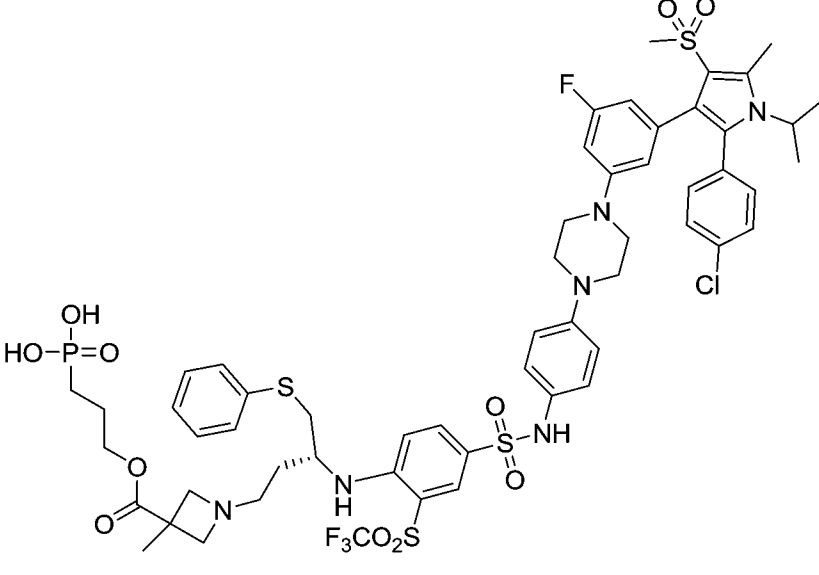
70	
71	
72	

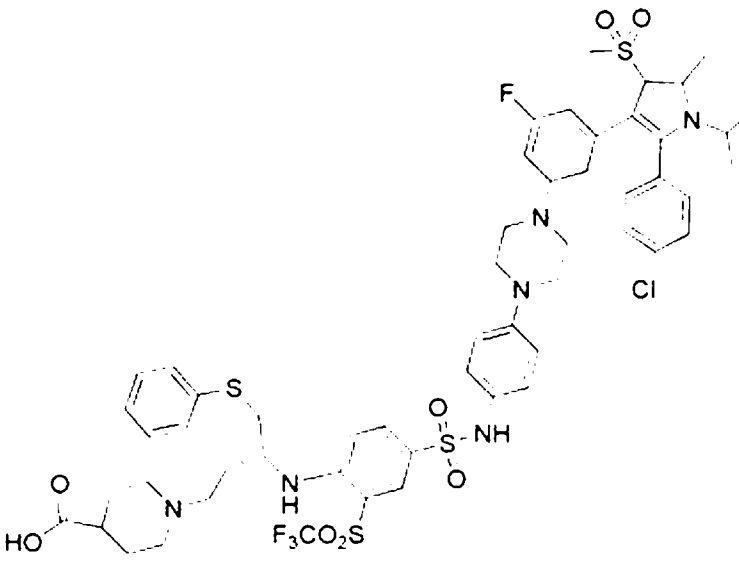
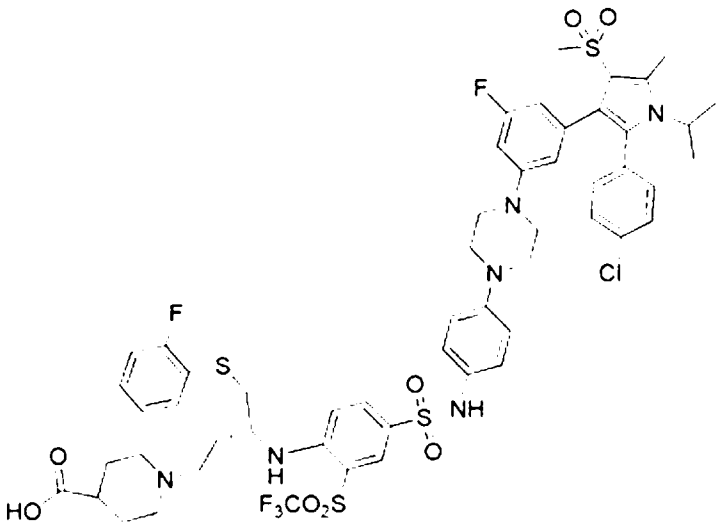
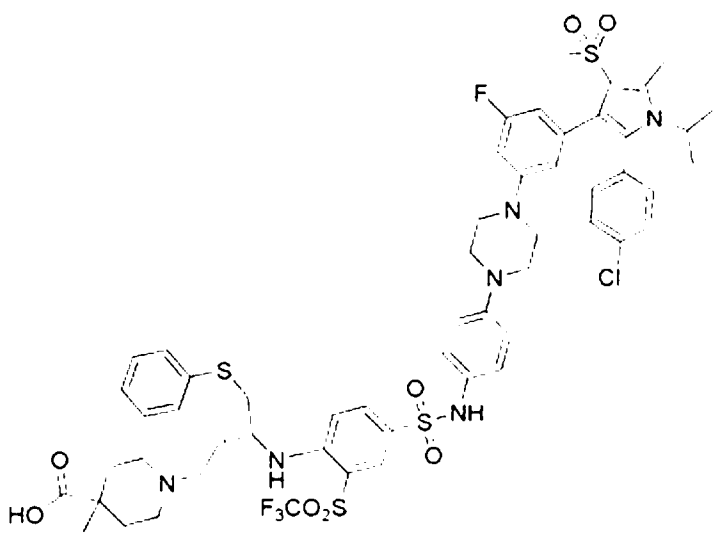
73	
74	
75	

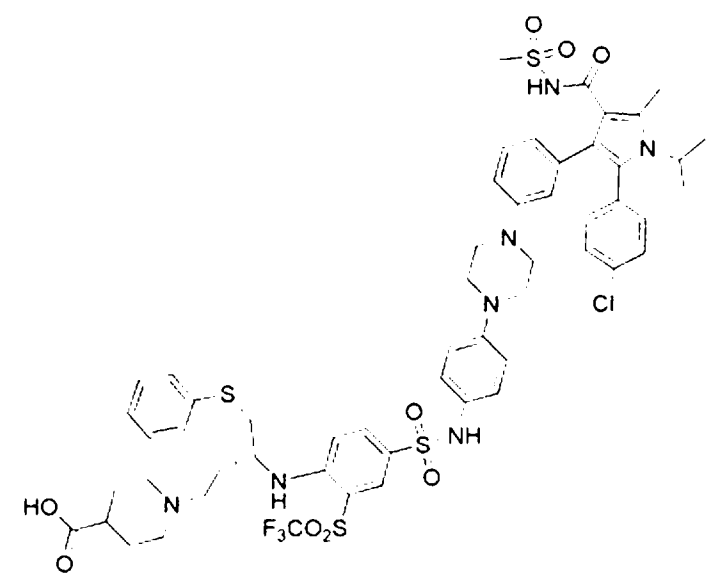
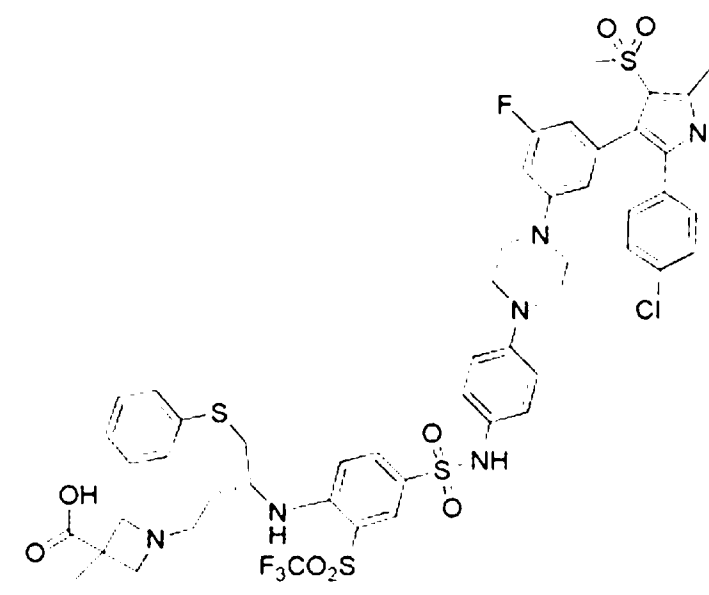
76	
77	
78	

79	
80	
81	

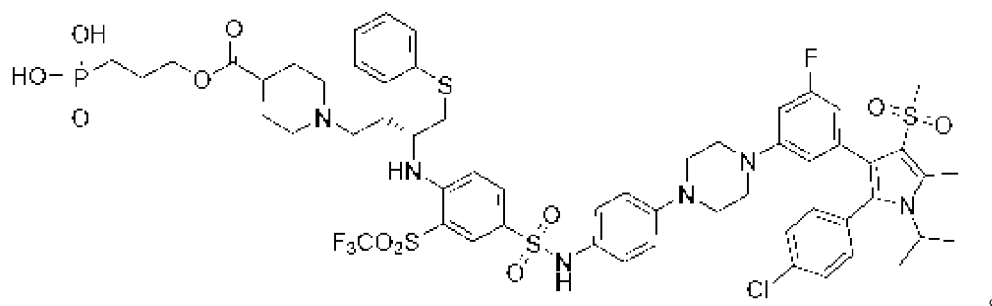
82	
83	

85	
86	
87	

88	
89	
90	

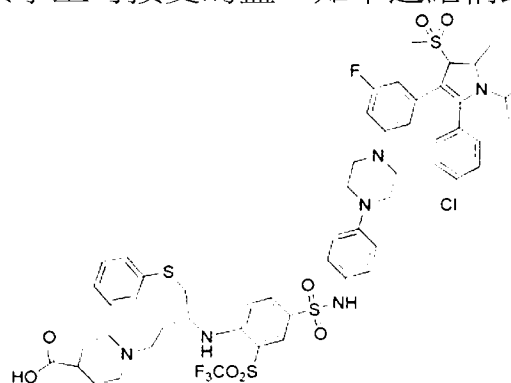
91	
92	

【 0097 】 在 一 些 實 施 方 式 中 ， 該 Bcl-2/Bcl-xL 抑 制 劑 為 (R)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4- 氯 苯 基)-1- 異 丙 基 -5- 甲 基 -4-(甲 基 磺 酰 基)-1H-吡 咯 -3-基)-5- 氟 苯 基) 呋 嗪 -1-基) 苯 基) 氨 磺 酰 基)-2-(三 氟 甲 基 磺 酰 基) 苯 基 氨 基)-4-(苯 基 硫 代) 丁 基) 吡 啶 -4-羧 基 氧 基) 乙 基 膦 酸 (即 上 述 表 中 的 化 合 物 72 ， 有 時 簡 稱 為 “ 化 合 物 72 ”) 或 其 藥 學 上 可 接 受 的 鹽 ， 如 下 述 結 構 式 表 示 ：



【0098】化合物 72 以高親和力與 Bcl-2，Bcl-xL，Bcl-w 蛋白選擇性結合，其 IC₅₀ 分別為 1.6 nM、4.4 nM、9.3 nM。化合物 72 能與 Mcl-1 微弱結合。化合物 72 藉由化學結構修飾在血液迴圈中有效地降低了第一代 BCL-2 抑制劑的血小板毒性缺陷，但是又能夠在組織裡獲得特異酶的啟動來有效地殺死腫瘤細胞。其血小板毒性減少了 10-30 倍，但是活性是第一代 BCL-2 抑制劑的 10 倍左右。化合物 88 是化合物 72 的活性代謝產物。化合物 72 是第二代新靶點 BCL-2 蛋白抑制劑。

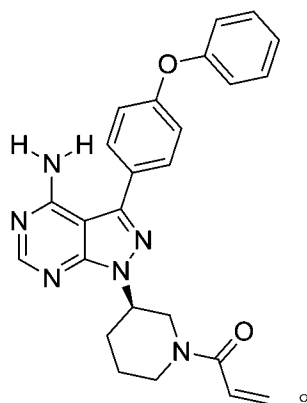
【0099】本發明的 Bcl-2/Bcl-xL 抑制劑還可以較佳為 (R)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-氯苯基)-1-異丙基-5-甲基-4-(甲基磺醯基)-1H-吡咯-3-基)-5-氟苯基)哌嗪-1-基)苯基)-氨磺醯基)-2-(三氟甲基磺醯基)苯氨基)-4-(苯基硫基)丁基)哌啶-4-甲酸（即上述表中的化合物 88，有時簡稱為“化合物 88”）或其藥學上可接受的鹽，如下述結構式表示：



【0100】可以根據 WO2014/113413A1 中描述的方法來合成本發明藥物組合物中的上述 Bcl-2/Bcl-xL 抑制劑。

【0101】上述通式(I)、(II)或(III)的化合物已經在WO2014/113413A1中披露，該專利文獻說明書的全部內容以引用的方式併入本文。上述通式(IV)在PCT/CN2019/070508中披露，該專利文獻說明書的全部內容以引用的方式併入本文。

【0102】在一些實施方式中，該BTK抑制劑選自：依魯替尼(Ibrutinib)、ICP-022、Acalabrutinib(ACP-196)、BGB3111、ONO/GS-4059、Spebrutinib(CC-292或AVL-292)、CNX-774、Olmudinib(HM61713，BI1482694)、M7583、HM71224、PCI-32765外消旋體(PCI-32765 Racemate)、GDC-0853、ONO-4059、贊魯替尼(Zanubrutinib)、RN486、PCI-32765、CGI-1746、QL47、LFM-A13、(±)-贊魯替尼((±)-Zanubrutinib)、SNS-062、BMS-935177、Btk抑制劑2、Evobrutinib、依魯替尼-生物素(Ibrutinib-biotin)、BMX-IN-1、GDC-0834和CB1763。較佳地，該BTK抑制劑選自：依魯替尼、Acalabrutinib(ACP-196)和BGB3111。更佳地，該BTK抑制劑是依魯替尼，其具有下述結構：



【0103】在一些實施方式中，該組合產品呈藥物組合物的形式。

【0104】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式，或該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式。

【0105】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用，或其中該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用。

【0106】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑先後施用的時間間隔可為約1分鐘、約5分鐘、約10分鐘、約15分鐘、約30分鐘、約45分鐘、約1小時、約2小時、約4小時、約6小時、約12小時、約24小時、約48小時、約72小時、約96小時、約1週、約2週、約3週、約4週、約5週、約6週、約8週、或約12週。

【0107】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，各自呈單獨的劑量單元形式）的含有該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的本發明的組合產品，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0108】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，劑量單元形式）的含有該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的本發明的組合產品，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0109】在一些實施方式中，該組合產品可以藉由下述方式施用：口服、口腔、吸入噴霧、舌下、直腸、透皮、陰道黏膜、透黏膜、局部給藥，鼻或腸道給藥；注射給藥，如肌肉注射、皮下注射、髓內注射，以及鞘內、腦部直接給藥、原位給藥、皮下、腹腔內、靜脈注射、關節內滑膜、胸骨內、肝內、病灶內，顱內、腹腔、鼻腔、或眼內注射或其他藥物遞送方式。在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物以約0.0025-1500mg/日的量給藥。較佳地，該Bcl-2抑制劑的每日給藥量是1mg、5mg、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、460mg、

第 59 頁，共 93 頁(發明說明書)

470mg、480mg、487mg、490mg、500mg、550mg、600mg、650mg、700mg、750mg、800mg、850mg、900mg、950mg、1000mg，以及該各量之間的範圍，例如，1mg-1000mg、30mg-900mg、30mg-800mg、30mg-900mg、30mg-800mg、30mg-700mg、30mg-600mg、30mg-500mg、30mg-490mg、30mg-487mg等，且該BTK抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物以約0.0025-1000mg/日的量給藥。

【0110】在某些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑可以以約0.005-約500 mg/日、較佳約0.05-約250 mg/日、更佳約0.5-約100 mg/日的量給藥。在某些實施方案中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑以約10 mg/週至約1000 mg/週、約10 mg/週至約900 mg/週、約10 mg/週至約800 mg/週、約10 mg/週至約700 mg/週、約10 mg/週至約640 mg/週、約10 mg/週至約600 mg/週、約10 mg/週至約500 mg/週、約10 mg/週至約400 mg/週、約10 mg/週至約300 mg/週、約10 mg/週至約200 mg/週、或約20mg/週至約100 mg/週的量，例如約10、15、20、25、30、35、40、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000 mg/週的量給藥，且該BTK抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物以約0.0025-1000mg/日的量給藥。在某些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑以每劑量約0.005、0.05、0.5、5、10、20、30、40、50、100、150、200、250、300、350、400、450 或500 毫克的量給藥。在某些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑以每週一次、每週兩次、每週三次、每週四次、每週五次、每週六次、每週七次的頻率給藥。

【0111】較佳地，該BTK抑制劑的每日給藥量是10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、73mg、80mg、90mg、97.6mg、100mg、122mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、460mg、470mg、480mg、

487mg、490mg、500mg、550mg、600mg、650mg、700mg、750mg、800mg、850mg、900mg、950mg、1000mg，以及該各量之間的範圍，例如，10mg-1000mg、20mg-950mg、30mg-900mg、50mg-650mg、60mg-600mg、70mg-450mg、73mg-400mg、73mg-550mg、73mg-522mg、97.6mg-600mg、97.6mg-600mg、97.6mg-700mg、97.6mg-800mg、97.6mg-950mg、122mg-500mg、122mg-600mg、122mg-700mg、122mg-800mg、97.6mg-900mg、73mg-1000mg等。

【0112】在一些實施方式中，該組合產品還包含藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑。

【0113】在一些實施方式中，該組合產品呈片劑、膠囊劑、顆粒劑、糖漿劑、粉劑、錠劑、藥囊、扁囊劑、酏劑、混懸劑、乳劑、溶液、糖漿劑、氣霧劑、軟膏劑、乳膏劑和注射劑的形式。

【0114】在本發明的第二方面涉及Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑在製備用於預防和/或治療疾病的藥物中的用途，該疾病選自癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。在一些實施方式中，該疾病對BTK抑制劑不回應或者耐藥。在某些實施方式中，該疾病對依魯替尼不回應或者耐藥。

【0115】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是如在本發明的第一方面中所具體描述的那些化合物（例如，化合物I-A、化合物I-b、化合物I-c、化合物I-d、化合物I-e、化合物I-f、化合物I-g、化合物I-h、化合物I-i）或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

【0116】在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是如在本發明的第一方面中所具體描述的那些化合物（例如，化合物I、II、III或IV）或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是化合物72或化合物88。

【0117】在一些實施方式中，該BTK抑制劑選自：依魯替尼（Ibrutinib）、ICP-022、Acalabrutinib (ACP-196)、BGB3111、ONO/GS-4059、Spebrutinib（CC-292或AVL-292）、CNX-774、Olmotinib (HM61713，BI1482694)、M7583、HM71224、PCI-32765外消旋體（PCI-32765 Racemate）、GDC-0853、ONO-4059、贊魯替尼（Zanubrutinib）、RN486、PCI-32765、CGI-1746、QL47、LFM-A13、(±)-贊魯替尼((±)-Zanubrutinib)、SNS-062、BMS-935177、Btk抑制劑2、Evobrutinib、依魯替尼-生物素（Ibrutinib-biotin）、BMX-IN-1、GDC-0834和CB1763。較佳地，該BTK抑制劑選自：依魯替尼、Acalabrutinib (ACP-196)和BGB3111。更佳地，該BTK抑制劑是依魯替尼。

【0118】在一些實施方式中，該藥物呈藥物組合物的形式。

【0119】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式，或者該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式。

【0120】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用，或者該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用。

【0121】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑先後施用的時間間隔可為約1分鐘、約5分鐘、約10分鐘、約15分鐘、約30分鐘、約45分鐘、約1小時、約2小時、約4小時、約6小時、約12小時、約24小時、約48小時、約72小時、約96小時、約1週、約2週、約3週、約4週、約5週、約6週、約8週、或約12週。

【0122】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，各自呈單獨的劑量單元形式）的含有該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的本發明的藥物，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0123】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，劑量單元形式）的含有該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的本發明的藥物，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0124】在一些實施方式中，該藥物可以藉由下述方式施用：口服、口腔、吸入噴霧、舌下、直腸、透皮、陰道黏膜、透黏膜、局部給藥，鼻或腸道給藥；注射給藥，如肌肉注射、皮下注射、髓內注射，以及鞘內、腦部直接給藥、原位給藥、皮下、腹腔內、靜脈注射、關節內滑膜、胸骨內、肝內、病灶內，顱內、腹腔、鼻腔、或眼內注射或其他藥物遞送方式。

【0125】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物以及該BTK抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物的每日給藥量如在上述發明詳述中的本發明第一方面所述。

【0126】在一些實施方式中，該疾病是癌症。在一些實施方式中，該癌症對BTK抑制劑不回應或者耐藥。在某些實施方式中，該癌症對依魯替尼不回應或者耐藥。

【0127】進一步地，在本發明中所述的癌症包括但不限於選自下述的癌症：腎上腺癌、淋巴上皮瘤、腺樣細胞癌、淋巴瘤、聽神經瘤、急性淋巴細胞白血病、肢端黑色素瘤、急性髓系白血病、肢端汗腺瘤、慢性淋巴細胞白血病、急性嗜酸粒細胞白血病、肝癌、急性紅細胞白血病、小細胞肺癌、急性淋巴細胞白血病、非小細胞肺癌、急性巨核細胞白血病、MALT淋巴瘤、急性單核細胞白血病、惡性纖維組織細胞瘤、急性早幼粒細胞白血病、惡性外週神經鞘瘤、腺癌、惡性海馬腫瘤、腺樣囊性癌、套細胞淋巴瘤、腺瘤、邊緣區B細胞淋巴瘤、腺瘤樣牙源性腫瘤、肥大細胞白血病、腺鱗癌、縱隔生殖細胞腫瘤、脂肪組織腫瘤、乳腺髓樣癌、腎上腺皮質癌、甲狀腺

髓樣癌、成人T細胞白血病/淋巴瘤、成神經管細胞瘤、侵襲性NK細胞白血病、黑色素瘤、愛滋病相關淋巴瘤、腦膜瘤、肺泡橫紋肌肉瘤、默克爾細胞癌、肺泡軟組織肉瘤、間皮瘤、成釉細胞瘤、轉移性尿路上皮癌、間變性大細胞淋巴瘤、混合苗勒氏腫瘤、甲狀腺未分化癌、黏液性腫瘤、血管免疫母細胞性T細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、血管平滑肌脂肪瘤、肌肉組織腫瘤、血管肉瘤、蕈樣真菌病、星形細胞瘤、黏液樣脂肪肉瘤、非典型畸形性橫紋肌樣瘤、黏液瘤、B細胞慢性淋巴細胞白血病、黏液肉瘤、B細胞幼淋巴細胞白血病、鼻咽癌、B細胞淋巴瘤、神經鞘瘤、基底細胞癌、神經母細胞瘤、膽道癌、神經纖維瘤、膀胱癌、神經瘤、胚細胞瘤、結節性黑色素瘤、骨癌、眼癌、布倫納瘤、少突細胞瘤、褐色腫瘤、少突神經膠質瘤、伯基特氏淋巴瘤、嗜酸細胞瘤乳腺癌、鞘膜腦膜瘤、腦癌、視神經腫瘤癌、口腔癌原位癌、骨肉瘤、癌肉瘤、卵巢癌、軟骨腫瘤、肺上溝瘤、水泥瘤、乳頭狀甲狀腺癌、骨髓瘤、副神經節瘤、軟骨瘤、松果體母細胞瘤、脊索瘤、松果細胞瘤、絨毛膜癌、垂體瘤、脈絡叢乳頭狀瘤、垂體腺瘤、腎透明細胞肉瘤、垂體瘤、顱咽管瘤、漿細胞瘤、皮膚T細胞淋巴瘤、多胚胎瘤、宮頸癌、前驅體T淋巴母細胞淋巴瘤、結直腸癌、原發性中樞神經系統淋巴瘤、德戈斯病、原發性積液淋巴瘤、增生性小圓細胞瘤、原發性腹膜癌、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、前列腺癌、胚胎發育不良的神經上皮腫瘤、胰腺癌、無性細胞瘤、咽癌、胚胎癌、腹膜假黏液瘤、內分泌腺腫瘤、腎細胞癌、內胚竇瘤、腎髓樣癌、腸病相關的T細胞淋巴瘤、視網膜母細胞瘤、食道癌、橫紋肌瘤、胎中胎、橫紋肌肉瘤、纖維瘤、Richter's 徵轉化、纖維肉瘤、直腸癌、濾泡性淋巴瘤、肉瘤、濾泡性甲狀腺癌、神經鞘瘤病、神經節細胞瘤、精原細胞瘤、胃腸癌、支持細胞瘤、生殖細胞腫瘤、性索-性腺間質瘤、妊娠絨毛膜癌、印戒細胞癌、巨細胞成纖維細胞瘤、皮膚癌、

骨巨細胞瘤、小藍圓細胞瘤、膠質瘤、小細胞癌、多形性膠質母細胞瘤、軟組織肉瘤、膠質瘤、生長抑素瘤、膠質瘤病、煤煙疣、胰高血糖素瘤、脊柱腫瘤、性腺母細胞瘤、脾邊緣區淋巴瘤、顆粒細胞瘤、鱗狀細胞癌、雌激素瘤、滑膜肉瘤、膽囊癌、Sezary疾病、胃癌、小腸癌、毛細胞白血病、鱗狀細胞癌、血管母細胞瘤、胃癌、頭頸癌、T細胞淋巴瘤、血管外皮細胞瘤、睪丸癌、血液系統惡性腫瘤、肉瘤肝母細胞瘤、甲狀腺癌、肝脾T細胞淋巴瘤、移行細胞癌、霍奇金淋巴瘤、喉癌、非霍奇金淋巴瘤、膽尿管癌、浸潤性小葉癌、泌尿生殖系統癌、腸癌、尿路上皮癌、腎癌、葡萄膜黑色素瘤、喉癌、子宮癌、惡性雀斑樣痣、疣狀癌、致死性中線癌、視覺通路膠質瘤、白血病、外陰癌、睪丸間質細胞瘤、陰道癌、脂肪肉瘤、瓦爾登斯特倫的巨球蛋白血症（Waldenstrom macroglobulinemia，WM）、肺癌、腺淋巴瘤、淋巴管瘤、腎母細胞瘤和淋巴管肉瘤。

【0128】較佳地，該癌症選自：急性單核細胞白血病、急性髓性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴細胞白血病混合譜系白血病、NUT中線癌、多發性骨髓瘤、小細胞肺癌、神經母細胞瘤、伯基特淋巴瘤、宮頸癌、食管癌、卵巢癌、結直腸癌症、前列腺癌和乳腺癌。

【0129】較佳地，該癌症是惡性血液病。

【0130】更佳地，該惡性血液病選自：急性髓細胞性白血病（AML）、急性淋巴細胞白血病（ALL）、瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）、濾泡性淋巴瘤（FL）、慢性淋巴細胞性白血病（CLL）/小淋巴細胞性淋巴瘤（SLL）、邊緣區淋巴瘤（MZL）、慢性骨髓性白血病（CML）、套細胞淋巴瘤（MCL）、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症（WM）、多發性骨髓瘤（MM）。更佳地，該惡性血液病選自瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）和濾泡性淋巴瘤（FL）。

【0131】較佳地，該癌症是B細胞增生性疾病。更佳地，該B細胞增生性疾病選自：瀰漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、慢性淋巴細胞淋巴瘤、慢性淋巴細胞性白血病、B細胞前淋巴細胞性白血病、淋巴漿細胞淋巴瘤/瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenström macroglobulinemia)、脾邊緣區淋巴瘤、漿細胞性骨髓瘤、漿細胞瘤、結外邊緣區B細胞淋巴瘤、淋巴結邊緣區B細胞淋巴瘤、外套細胞淋巴瘤、縱隔(胸腺)大B細胞淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkittlymphoma)/白血病和淋巴瘤樣肉芽腫病。

【0132】在一些實施方式中，該疾病是自身免疫疾病。在一些實施方式中，該自身免疫疾病對BTK抑制劑不回應或者耐藥。在某些實施方式中，該自身免疫疾病對依魯替尼不回應或者耐藥。

【0133】進一步地，在本發明中所述的自身免疫疾病包括但不限於選自下述的自身免疫疾病：炎性腸病、關節炎、狼瘡、類風濕性關節炎、銀屑病性關節炎、骨關節炎、斯蒂爾病(Still's disease)、青少年關節炎、糖尿病、重症肌無力症、橋本甲狀腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、奧德甲狀腺炎(Ord's thyroiditis)、格雷夫斯病(Graves' disease)、類風濕性關節炎綜合徵(Sjögren's syndrome)、多發性硬化症、傳染性神經元炎(Guillain-Barré syndrome)、急性播散性腦脊髓炎、阿狄森病(Addison's disease)、視性眼陣攣-肌陣攣綜合徵、強直性脊椎炎、抗磷脂抗體綜合徵、再生障礙性貧血、自身免疫性肝炎、乳糜瀉(coeliac disease)、古德帕斯徹綜合徵(Goodpasture's syndrome)、特發性血小板減少性紫癜、視神經炎、硬皮病、原發性膽汁性肝硬化、萊特爾綜合徵(Reiter's syndrome)、高安動脈炎(Takayasu's arteritis)、顱動脈炎、溫型自身免疫性溶血性貧血、韋格納肉芽腫病(Wegener's granulomatosis)、銀屑病、全身脫毛、貝赫切特

病、慢性疲勞、家族性自主神經功能異常、子宮內膜異位、間質性膀胱炎、神經肌強直和外陰痛。

【0134】在一些實施方式中，該疾病是炎性疾病。在一些實施方式中，該炎性疾病對BTK抑制劑不回應或者耐藥。在某些實施方式中，該炎性疾病對依魯替尼不回應或者耐藥。

【0135】進一步地，在本發明中所述的炎性疾病包括但不限於選自下述的炎性疾病：哮喘、闌尾炎、臉炎、細支氣管炎、支氣管炎、黏液囊炎、宮頸炎、膽管炎、膽囊炎、結腸炎、結膜炎、膀胱炎、淚腺炎、皮炎、皮肌炎、腦炎、心內膜炎、子宮內膜炎、腸炎、小腸結腸炎、上髌炎、附睪炎、筋膜炎、纖維織炎、胃炎、胃腸炎、肝炎、化膿性汗腺炎、喉炎、乳腺炎、腦膜炎、脊髓炎、心肌炎、肌炎、腎炎、卵巢炎、睪丸炎、骨炎、耳炎、胰腺炎、腮腺炎、心包炎、腹膜炎、咽炎、胸膜炎、靜脈炎、侷限性肺炎(pneumonitis)、肺炎(pneumonia)、直腸炎、前列腺炎、腎盂腎炎、鼻炎、輸卵管炎、鼻竇炎、口腔炎、滑膜炎、腱炎、扁桃腺炎、葡萄膜炎、陰道炎、血管炎或外陰炎。

【0136】在本發明的第三方面涉及一種用於預防和/或治療疾病的組合產品，該組合產品包含Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑，該疾病選自癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。進一步地，該癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病包括但不限於如在上述發明詳述中本發明的第二方面所述的那些癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。進一步地，該疾病對BTK抑制劑（例如依魯替尼）不回應或者耐藥。

【0137】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是如在本發明的第一方面中所具體描述的那些化合物（例如，化合物I-A、化合物I-b、化合物I-c、化合物

I-d、化合物I-e、化合物I-f、化合物I-g、化合物I-h、化合物I-i) 或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

【0138】在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是如在本發明的第一方面中所具體描述的那些化合物（例如，化合物I、II、III或IV）或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是化合物72或化合物88。

【0139】在一些實施方式中，該BTK抑制劑選自：依魯替尼（Ibrutinib）、ICP-022、Acalabrutinib (ACP-196)、BGB3111、ONO/GS-4059、Spebrutinib（CC-292或AVL-292）、CNX-774、Olmudinib (HM61713，BI1482694)、M7583、HM71224、PCI-32765外消旋體（PCI-32765 Racemate）、GDC-0853、ONO-4059、贊魯替尼（Zanubrutinib）、RN486、PCI-32765、CGI-1746、QL47、LFM-A13、(±)-贊魯替尼((±)-Zanubrutinib)、SNS-062、BMS-935177、Btk抑制劑2、Evobrutinib、依魯替尼-生物素（Ibrutinib-biotin）、BMX-IN-1、GDC-0834和CB1763。較佳地，該BTK抑制劑選自：依魯替尼、Acalabrutinib (ACP-196)和BGB3111。更佳地，該BTK抑制劑是依魯替尼。

【0140】在一些實施方式中，該組合產品呈藥物組合物的形式。

【0141】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式，或者該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式。

【0142】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用，或者該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用。

【0143】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑先後施用的時間間隔可為約1分鐘、約5分鐘、約10分鐘、約15分鐘、約30分鐘、約45分鐘、約1小時、約2小時、約4小時、約6小時、約12小時、

約24小時、約48小時、約72小時、約96小時、約1週、約2週、約3週、約4週、約5週、約6週、約8週、或約12週。

【0144】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，各自呈單獨的劑量單元形式）的含有該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的本發明的組合產品，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0145】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，劑量單元形式）的含有該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑的本發明的組合產品，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0146】在一些實施方式中，該組合產品可以藉由下述方式施用：口服、口腔、吸入噴霧、舌下、直腸、透皮、陰道黏膜、透黏膜、局部給藥，鼻或腸道給藥；注射給藥，如肌肉注射、皮下注射、髓內注射，以及鞘內、腦部直接給藥、原位給藥、皮下、腹腔內、靜脈注射、關節內滑膜、胸骨內、肝內、病灶內，顱內、腹腔、鼻腔、或眼內注射或其他藥物遞送方式。

【0147】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物以及該BTK抑制劑或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物的每日給藥量如在上述發明詳述中的本發明第一方面所述。

【0148】在本發明的第四方面涉及一種預防和/或治療疾病的方法，包括對有此需要的受試者施用預防和/或治療有效量的Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑，該疾病選自癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。進一步地，該癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病包括但不限於如在上述發明詳述中本發明的第二方面所述的那些癌症、自身免疫性疾病和炎性疾病。進一步地，該疾病對BTK抑制劑（例如依魯替尼）不回應或者耐藥。

【0149】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑是如在本發明的第一方面中所具體描述的那些化合物（例如，化合物I-A、化合物I-b、化合物I-c、化合物I-d、化合物I-e、化合物I-f、化合物I-g、化合物I-h、化合物I-i）或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。

【0150】在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是如在本發明的第一方面中所具體描述的那些化合物（例如，化合物I、II、III或IV）或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。在一些實施方式中，該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑是化合物72或化合物88。

【0151】在一些實施方式中，該BTK抑制劑選自：依魯替尼（Ibrutinib）、ICP-022、Acalabrutinib (ACP-196)、BGB3111、ONO/GS-4059、Spebrutinib（CC-292或AVL-292）、CNX-774、Olmudinib (HM61713，BI1482694)、M7583、HM71224、PCI-32765外消旋體（PCI-32765 Racemate）、GDC-0853、ONO-4059、贊魯替尼（Zanubrutinib）、RN486、PCI-32765、CGI-1746、QL47、LFM-A13、(±)-贊魯替尼((±)-Zanubrutinib)、SNS-062、BMS-935177、Btk抑制劑2、Evobrutinib、依魯替尼-生物素（Ibrutinib-biotin）、BMX-IN-1、GDC-0834和CB1763。較佳地，該BTK抑制劑選自：依魯替尼、Acalabrutinib (ACP-196)和BGB3111。更佳地，該BTK抑制劑是依魯替尼。

【0152】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑呈藥物組合物的形式，或該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑呈藥物組合物的形式。

【0153】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式，或該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式。

【0154】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用，或其中該Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用。

【0155】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑先後施用的時間間隔可為約1分鐘、約5分鐘、約10分鐘、約15分鐘、約30分鐘、約45分鐘、約1小時、約2小時、約4小時、約6小時、約12小時、約24小時、約48小時、約72小時、約96小時、約1週、約2週、約3週、約4週、約5週、約6週、約8週、或約12週。

【0156】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，各自呈單獨的劑量單元形式）的該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0157】在一些實施方式中，可以根據需要，將該呈藥物組合物的形式（較佳地，劑量單元形式）的該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑，每天施用包括但不限於：1次、2次、3次、4次、5次或6次。

【0158】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑或Bcl-2/Bcl-xL抑制劑和BTK抑制劑可以藉由下述方式施用：口服、口腔、吸入噴霧、舌下、直腸、透皮、陰道黏膜、透黏膜、局部給藥，鼻或腸道給藥；注射給藥，如肌肉注射、皮下注射、髓內注射，以及鞘內、腦部直接給藥、原位給藥、皮下、腹腔內、靜脈注射、關節內滑膜、胸骨內、肝內、病灶內，顱內、腹腔、鼻腔、或眼內注射或其他藥物遞送方式。

【0159】在一些實施方式中，該Bcl-2抑制劑每天的施用量是0.017mg/kg、0.083mg/kg、0.17mg/kg、0.33mg/kg、0.5mg/kg、0.67mg/kg、0.83mg/kg、1mg/kg、1.16mg/kg、1.33mg/kg、1.5mg/kg、1.67mg/kg、2.5mg/kg、3.33mg/kg、4.17mg/kg、5mg/kg、5.83mg/kg、6.67mg/kg、7.5mg/kg、7.67mg/kg、7.83mg/kg、8mg/kg、8.12mg/kg、8.16mg/kg、8.33mg/kg、9.17mg/kg、10mg/kg、10.83mg/kg、11.66mg/kg、12.5mg/kg、13.33mg/kg、14.17mg/kg、15mg/kg、15.83mg/kg、16.67mg，以及該各施用量之間的範圍，例如，

第 71 頁，共 93 頁(發明說明書)

0.017mg-16.67mg/kg 、 0.083mg-16.67mg/kg 、 0.17mg-16.67mg/kg 、 0.33mg-16.67mg/kg 、 0.5mg-15mg/kg 、 0.5mg-13.33mg/kg 、 0.5mg-11.67mg/kg 、 0.5mg-10mg/kg 、 0.5mg-8.33mg/kg 、 0.5mg-8.16mg/kg 、 0.5mg-8.12mg/kg 等，且該 BTK 抑制劑每天的施用量是 0.17mg/kg 、 0.33mg/kg 、 0.5mg/kg 、 0.67mg/kg 、 0.83mg/kg 、 1mg/kg 、 1.17mg/kg 、 1.22mg/kg 、 1.33mg/kg 、 1.5mg/kg 、 1.62mg/kg 、 1.67mg/kg 、 2.03mg/kg 、 2.5mg/kg 、 3.33mg/kg 、 4.17mg/kg 、 5mg/kg 、 5.83mg/kg 、 6.67mg/kg 、 7.5mg/kg 、 7.67mg/kg 、 7.83mg/kg 、 8mg/kg 、 8.17mg/kg 、 8.33mg/kg ，以及該各量之間的範圍，例如，0.17mg-8.33mg/kg 、 0.33mg-7.5mg/kg 、 0.5mg-6.67mg/kg 、 0.83mg-5.83mg/kg 、 1mg-5mg/kg 、 1.16mg-4.17mg/kg 、 1.22mg-3.33mg/kg 、 1.22mg-2.5mg/kg 、 1.22mg-2.03mg/kg 、 1.62mg-8.33mg/kg 、 1.62mg-8mg/kg 、 1.62mg-7.5mg/kg 、 1.62mg-5mg/kg 、 1.62mg-2.5mg/kg 、 1.22mg-1.62mg/kg 等。在某些實施方案中，該 Bcl-2/Bcl-xL 抑制劑以約 10 mg/週至約 1000 mg/週、約 10 mg/週至約 900 mg/週、約 10 mg/週至約 800 mg/週、約 10 mg/週至約 700 mg/週、約 10 mg/週至約 640 mg/週、約 10 mg/週至約 600 mg/週、約 10 mg/週至約 500 mg/週、約 10 mg/週至約 400 mg/週、約 10 mg/週至約 300 mg/週、約 10 mg/週至約 200 mg/週、或約 20mg/週至約 100 mg/週的量，例如約 10、15、20、25、30、35、40、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000 mg/週的量給藥。

【0160】 最後，WO 2018/027097 以其整體並為了所有目的藉由引用併入本文。

具體實施方式

【0161】下面藉由具體的實施例、對照例進一步說明本發明，但是，應當理解為，這些實施例、對照例僅僅是用於更詳細具體地說明之用，而不應理解為用於以任何形式限制本發明。

實施例1. 本發明所使用的一般實驗方法

(1) WST實驗

【0162】藉由基於水溶性四唑鹽（WST）的CCK-8（Cell Counting Kit-8, 細胞計數試劑盒-8）實驗檢測抗增殖作用（購自上海李記醫藥科技有限公司）（請參考Ishiyama M, Tominaga H, Shiga M et al., A combined assay of cell viability and in vitro cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. Biol. Pharm. Bull 19 (11) 1518-1520 (1996), Vol. 19, No. 11和 Tominaga H, Ishiyama M, Ohseto F et al., A water-soluble tetrazolium salt useful for colorimetric cell viability assay. Anal. Commun., 1999, 36, 47-50）。細胞接種於96孔板中，並以不同濃度受試物處理72小時。藉由使用9個不同濃度BTK抑制劑（例如，依魯替尼，其中在 10^{-2} 至 10^2 中間按3被梯度選取9個濃度）與3個不同濃度的化合物6（具體請參見第1圖）作用72小時，測試化合物6與該藥物的聯合作用。每個測試劑量做3複孔。

【0163】通常，選擇受試物9個系列劑量，100 μ l/孔加到96孔板。對於聯合實驗，2個受試物的終體積為100 μ l/孔。每個測試劑量做3複孔。在同一培養板上選3-6孔加入100 μ l稀釋液作為對照組，另設3-6孔作為空白對照。除空白對照孔外，每孔加入100 μ l細胞懸液（含有合適細胞數，以確保需要檢測時細胞對照組的細胞剛好鋪滿孔底面）到相同96孔板。培養板於37℃，CO₂培養箱中培養72小時。培養結束時，對於貼壁細胞，除去待測孔內舊液，加入100 μ l/孔CCK-8檢測液（含10% CCK-8，5% FBS的相應培養基）。

對於懸浮細胞，直接加入20 μl/孔CCK-8原液。培養板繼續37℃，CO2培養箱中孵育2-4小時。

【0164】酶標儀（SpectraMax Plus 384，Molecular Devices，LLC.，US）A450nm檢測OD值。使用3複孔平均OD值，藉由下列公式計算細胞存活率百分比：

$$\frac{(\text{O.D. 測試孔} - \text{O.D. 空白對照孔})}{(\text{O.D. 細胞對照孔} - \text{O.D. 空白對照孔})} \times 100。$$

【0165】使用Graphpad Prism 6.0軟體的非線性回歸資料分析方法計算IC₅₀。

【0166】對於聯合用藥的實驗，藉由單藥對照的3複孔平均OD值歸一化處理後計算細胞存活率。藉由進行聯合曲線與單藥曲線的IC₅₀比較，結合觀察聯合用藥組曲線是否左移來確定2個化合物的協同作用。

（2）體內藥效學實驗評估方法

【0167】藉由細胞接種法建立人腫瘤免疫缺陷小鼠皮下異種移植瘤模型：收集對數生長期的腫瘤細胞，計數後重懸於1×PBS，調整細胞懸液濃度至2.5-5×10⁷/mL。用1 mL注射器（4號針頭）在免疫缺陷小鼠右側背部皮下接種腫瘤細胞，5-10×10⁶/0.2 mL/鼠。所有動物實驗操作嚴格遵守吉瑪基因股份有限公司和蘇州亞盛藥業有限公司實驗動物使用和管理規範。相關參數的計算參考中國CFDA《細胞毒類抗腫瘤藥物非臨床研究技術指導原則》。實驗用動物來源如下表所示：

表 2實驗用動物來源

腫瘤模型	實驗編號	接種 動物 數	品種	動物來源 (許可證號)
------	------	---------------	----	----------------

OCI-LY1	APS-EF-82-2017-OCI-LY1	30	NOD SCID	北京維通利華實驗動物技術有限公司 SCXK（京）2016-0006
DOHH2	SZ-EF-11-2017-DOHH2	100	CB17/SCID	北京維通利華實驗動物技術有限公司 SCXK（京）2016-0006
DOHH2	SZ-EF-01-2018-DOHH2	95	CB17/SCID	北京維通利華實驗動物技術有限公司 SCXK（京）2016-0006
OCI-LY1	APS-EF-82-2017-OCI-LY1	80	NOD SCID	北京維通利華實驗動物技術有限公司 SCXK（京）2016-0006

【0168】實驗期間每週測定兩次動物體重和腫瘤大小。定期觀察腫瘤生長情況，待腫瘤生長至平均體積100-200mm³時根據腫瘤大小和小鼠體重隨機分組給藥。每天觀察動物的狀態以及有無死亡等情況發生。常規監測包括了腫瘤生長及給藥對動物正常行為的影響，具體內容有實驗動物的活動性、攝食和飲水情況、體重增加或降低情況、眼睛、被毛及其它異常情況。實驗過程中觀察到的死亡和臨床症狀均記錄在原始資料中。整個給藥、小鼠體重及腫瘤體積的測量操作均在超淨工作臺中進行。根據實驗方案要求，末次給藥結束後，收集血漿和腫瘤組織，稱重並拍照記錄。血漿和腫瘤樣本-80℃凍存備用。

【0169】腫瘤體積（Tumor volume，TV）的計算公式為： $TV=ab^2/2$ 。其中a、b分別代表腫瘤測量長和寬。相對腫瘤體積（relative tumor volume，RTV）計算公式為： $RTV=V_t/V_1$ 。其中V₁為分組給藥時的腫瘤體積，V_t為給藥後某天測量時的腫瘤體積。抗腫瘤活性的評價指標為相對腫瘤增殖率T/C（%），計算公式分別為：相對腫瘤增殖率 $T/C（\%）=（T_{RTV}/C_{RTV}）\times 100\%$ ，T_{RTV}為治療組RTV，C_{RTV}為溶媒對照組RTV；腫瘤緩解率（%）為治療後荷

瘤小鼠出現SD（疾病穩定）、PR（腫瘤部分消退）及CR（腫瘤完全消退）的數目除以本組小鼠總數×100%。

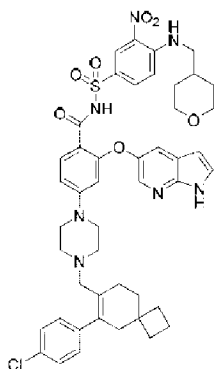
【0170】動物體重變化（Change of body weight，%）=（測量體重-分組時體重）/分組時體重×100%。

【0171】療效評價標準：根據中國CFDA《細胞毒類抗腫瘤藥物非臨床研究技術指導原則》（2006年11月），T/C（%）值≤40%並經統計學分析 $p < 0.05$ 為有效。若小鼠的體重下降超過20%或藥物相關的死亡數超過20%，則認為該藥物劑量具有嚴重毒性。

【0172】協同性分析採用以下公式：協同因數 = $((A/C) \times (B/C)) / (AB/C)$ ；A=A藥單藥組的RTV值；B=B藥單藥組的RTV值；C=溶媒對照組的RTV值，AB=AB聯合用藥組的RTV值（Clarke R. Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models[J]. Breast Cancer Research & Treatment, 1997, 46(2-3):255-278）。若協同因數>1，則具有協同作用；若協同因數=1，則具有相加作用；若協同因數<1，則具有拮抗作用。

實施例2. Bcl-2抑制劑的示例性化合物（化合物3、6和13）的製備

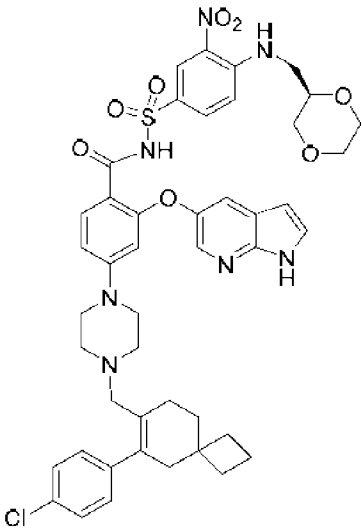
（1）2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)吡嗪-1-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺的合成（化合物3）



【0173】 2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呋喃-1-基)苯甲酸(1.75g, 3mmol), 3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯磺醯胺(1.43g, 4.5)在室溫下使 EDCI(1.15g, 6mmol)和 4-(N, N-二甲基氨基)吡啶(550mg, 4.5mmol)和二氯甲烷(40ml)反應過夜, 然後加入水。用二氯甲烷萃取水層。將合併的有機層用鹽水洗滌, 濃縮並藉由矽膠柱純化, 得到 2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呋喃-1-基)-N-((3-硝基-4-(((四氫-2H-吡喃-4-基)甲基)氨基)苯基)磺醯)苯甲醯胺(1.7g, 64.4%), 為黃色固體。

【0174】 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ 8.70 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 9.2, 2.3$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.97 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.77 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 6.44 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 4.02 – 3.94 (m, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.49 – 3.38 (m, 2H), 3.41 – 3.25 (m, 7H), 2.42 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.00 – 1.67 (m, 4H), 1.45 – 1.38 (m, 2H)。

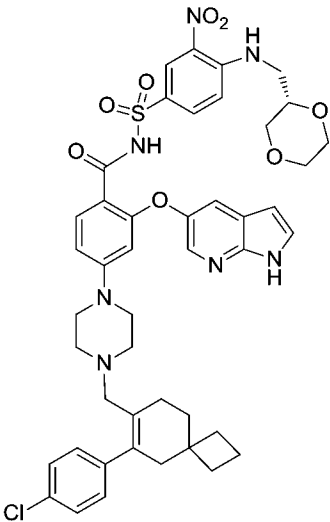
(2)(R)-N-((4-(((1,4-二噁烷-2-基)甲基)氨基)-3-硝基苯基)磺醯)-2-((1H-吡咯並[2,3-b]吡啶-5-基)氧基)-4-(4-((6-(4-氯苯基)螺[3.5]壬-6-烯-7-基)甲基)呋喃-1-基)苯甲醯胺的合成 (化合物13)



【0175】 採用類似於合成化合物 3 所述的方法製備標題化合物。

【0176】 ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*₄) δ 8.66 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.84 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 7.45 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.94 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H), 6.40 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.36 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 3.87 (dd, *J* = 11.8, 4.2 Hz, 3H), 3.83 – 3.70 (m, 3H), 3.67 (s, 2H), 3.62 (dd, *J* = 11.7, 2.9 Hz, 1H), 3.51 – 3.41 (m, 2H), 3.40 – 3.35 (m, 1H), 3.29 (dq, *J* = 3.2, 1.6 Hz, 1H), 2.41 (s, 2H), 2.26 (s, 2H), 2.00 – 1.77 (m, 6H).

【 0177 】 同樣地，類似於合成化合物 13 所述的方法製備



(化合物6)，具體參考WO2018/027097。

實施例3. 依魯替尼單藥以及依魯替尼和化合物6聯合用藥對不同惡性腫瘤細胞的影響

【0178】（1）實驗方法如實施例1第（1）部分所述。在WST實驗中測定依魯替尼單藥以及依魯替尼和化合物6聯合用藥在下述惡性腫瘤細胞中的細胞存活率（%）：OCI-LY8（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））、SU-DHL-4（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））、OCI-LY1（瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL））、DOHH2（濾泡性淋巴瘤（FL））、RPMI-8226（多發性骨髓瘤（MM））、KMS-11（多發性骨髓瘤（MM））、Z-138（套細胞淋巴瘤（MCL））。

（2）實驗結果

【0179】如第1圖所示，在多種血液學惡性腫瘤細胞中，化合物6與BTK抑制劑依魯替尼聯合用藥，對腫瘤細胞的增殖抑制作用增強。

【0180】具體地，在OCI-LY8（DLBCL）中，依魯替尼單藥的抑制增殖的IC₅₀為21.78，而依魯替尼與化合物6（0.1μM、0.3μM、0.6μM）的抑制增殖的IC₅₀分別為10.88、6.06和3.00；在SU-DHL-4（DLBCL）中，依魯替尼單藥的抑制增殖的IC₅₀為2.343，而依魯替尼與化合物6（0.4μM、1.2μM、3.6μM）的抑制增殖的IC₅₀分別為0.14、0.084和0.066；在OCI-LY1（DLBCL）中，依魯替尼單藥的抑制增殖的IC₅₀為0.132，而依魯替尼與化合物6（0.01μM、0.02μM、0.03μM）的抑制增殖的IC₅₀分別為0.019、0.007和0.002；在DOHH2（FL）中，依魯替尼單藥的抑制增殖的IC₅₀為0.021，而依魯替尼與化合物6（0.001μM、0.005μM、0.02μM）的抑制增殖的IC₅₀分別為 5.967×10^{-4} 、 2.162×10^{-4} 和 4.957×10^{-4} ；在RPMI-8226（MM）中，依魯替尼單藥的抑制增殖的IC₅₀為18.69，而依魯替尼與化合物6（3μM、6μM、9μM）的抑制增殖的IC₅₀分別為4.397、3.217和3.63；在KMS-11（MM）中，依魯

替尼單藥的抑制增殖的IC₅₀為14.85，而依魯替尼與化合物6（1μM、2.5μM、5μM）的抑制增殖的IC₅₀分別為9.062、7.203和7.227；在Z-138（MCL）中，依魯替尼單藥的抑制增殖的IC₅₀為10.6，而依魯替尼與化合物6（4μM、6μM、10μM）的抑制增殖的IC₅₀分別為3.371、3.531和1.663。

（3）小結

【0181】 由此可見，體外實驗中，當化合物6與靶向治療藥物（即BTK抑制劑）聯合使用時，化合物6在血液學惡性腫瘤的體外抗增殖活性得到進一步增強，且藉由聯合給藥曲線與單藥曲線的IC₅₀進行比較，觀察到聯合用藥組曲線左移，聯合用藥組的IC₅₀值比各自單藥的IC₅₀值均小。因此，依魯替尼與化合物6聯用具有協同作用。

實施例4. 依魯替尼單藥以及依魯替尼和化合物6聯合用藥對人源OCI-LY1細胞系 DLBCL小鼠異種移植瘤模型的影響

【0182】（1）實驗方法如實施例1第（2）部分所述。本實驗在來源於人OCI-LY1細胞系的DLBCL異種移植模型（請參見Donnou S, Galand C, Touitou V et al., Murine Models of B-Cell Lymphomas: Promising Tools for Designing Cancer Therapies. Advances in Hematology, Volume 2012, Article ID 701704, 13 pages 和 Benet Pera, Tiffany Tang, Rossella Marullo et al., Combinatorial epigenetic therapy in diffuse large B cell lymphoma pre-clinical models and patients. Clin Epigenetics. 2016； 8: 79）中評價了化合物6和依魯替尼的聯合治療作用。簡言之，當平均腫瘤體積達到約90mm³時，開始分組給藥。依魯替尼給藥劑量為15 mg/kg，i.v.，qd，從分組當天開始給藥，持續3週。化合物6按100 mg/kg，p.o.，qd，從分組後第8天開始給藥，持續3週。另外設置了依魯替尼與化合物6的聯合用藥組（依魯替尼15 mg/kg，i.v.，qd+化合物6 100 mg/kg，p.o.，qd）。

第 80 頁，共 93 頁(發明說明書)

(2) 實驗結果

【0183】由於此模型腫瘤生長緩慢，初期藥物效果不明顯，在分組後第 13 天，停止給藥，進入觀察期。

【0184】在分組後第43天，化合物6組表現良好的瘤生長抑制作用，T/C% 值為4%（P<0.001；包括1/5CR和1/5PR，緩解率為20%）（第2圖A和表3）。依魯替尼在此模型效果有限，T/C%為58%（P>0.05）。而聯合用藥則顯著加強藥效，T/C%為0%（P<0.001 比較溶媒對照；包括4/5CR和1/5PR，緩解率為100%），雖然其RTV值與化合物6單藥組比較沒有統計學差異（P>0.05），但與依魯替尼單藥組比較具有統計學差異（P<0.05）。同時聯合用藥組出現4/5CR，提示聯合用藥優於單獨用藥。隨著時間的延長，聯合用藥組與化合物6單藥的差異變得越來越明顯。第50天時，聯合用藥組的效果比兩個單藥組的都好（P<0.05 比較化合物6單藥組；P<0.01 比較依魯替尼單藥組）。第68天聯合用藥組的RTV值仍比化合物6單藥組小（P<0.05），同時仍有2/5CR和2/5PR。各給藥組未見顯著的體重下降（第2圖B）。

表3. 化合物6 單藥或與依魯替尼聯合用藥在人OCI-LY1（DLBCL）小鼠異

種移植瘤模型中的抗腫瘤作用

治療	給藥後第 43 天 RTV (均值± 標準誤)	給藥後第 43 天 T/C (%)	給藥後第 43 天 TGI (%)	給藥後第 43 天 協同因數	給藥後第 50 天 RTV (均值± 標準誤)	給藥後第 43 天腫瘤狀態 (緩解率% ^a)	給藥後第 50 天腫瘤狀態 (緩解率% ^a)	給藥後第 68 天腫瘤狀態 (緩解率% ^a)
溶媒對照	27.25±3.88	1.	2.	3.	4.	5. 0/5 CR, 0/5 PR (0%)	6.	7.
化合物 6 100 mg/kg	1.03±0.33***	4	96		2.64±0.55	8. 1/5 CR, 1/5 PR (100%)	9. 0/5 CR, 1/5 PR (10%)	10. 0/5 CR, 0/5 PR (0%)

11. 依魯替尼 15mg/kg	15.9±7.63	58	42		32.1±11.37	12. 0/5 CR, 0/5 PR (0%)	13. 0/5 CR, 0/5 PR (0%)	14.
15. 化合物 6 100mg/kg+ 依魯替尼 15mg/kg	0.07±0.07 ^{***#}	0	100	8.59	0.28±0.28 ^{##+}	16. 4/5 CR, 1/5 PR (100%)	17. 4/5 CR, 0/5 PR (80%)	18. 2/5 CR, 2/5 PR (80%)
[*] P<0.05、 ^{**} P<0.01、 ^{***} P<0.001, 與溶媒對照比較; [#] P<0.05、 ^{##} P<0.01, 與依魯替尼單藥組比較; ⁺ P<0.05, 與化合物 6 單藥組比較; ^a 緩解率包括 CR、PR 和 SD。協同因數>1, 協同作用; 協同因數=1, 相加作用; 協同因數<1, 拮抗作用。腫瘤抑制率 (tumor growth inhibition, TGI) =100-T/C%。								

(3) 小結

【0185】化合物6與依魯替尼聯合用藥無明顯副作用，可顯著增加單藥在 OCI-LY1細胞的DLBCL模型中的抗腫瘤效果，且具有顯著的協同作用（協同因數為8.59遠大於1）。因此，化合物6與依魯替尼聯合用藥可能在臨床為瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）患者帶來獲益。

實施例5 依魯替尼單藥以及依魯替尼和化合物6聯合用藥對在人源DOHH2細胞系FL小鼠異種移植瘤模型的影響

【0186】（1）實驗方法如實施例1第（2）部分所述。在體外細胞實驗中，DOHH2是對化合物6處理相對敏感的人濾泡性淋巴瘤（FL，屬於NHL）細胞系。因此，本實驗建立了DOHH2細胞來源的FL小鼠異種移植瘤模型（請參考Donnou S, Galand C, Touitou V et al., Murine Models of B-Cell Lymphomas: Promising Tools for Designing Cancer Therapies. Advances in Hematology, Volume 2012, Article ID 701704, 13 pages和Ackler S, Mitten MJ, Chen J et al., Navitoclax (ABT-263) and bendamustine ±rituximab induce enhanced killing of non- Hodgkin’s lymphoma tumours in vivo. British Journal of Pharmacology (2012) 167 881-891.），評估化合物6與BTK抑制劑依魯替尼聯合用藥的抗腫瘤作用。

(2) 實驗結果

【0187】如第3圖A和表4所示，在治療32天後，依魯替尼（25 mg/kg）治療組的T/C值為48%。化合物6（100 mg/kg）單藥和與依魯替尼聯合用藥的T/C值分別為19%（P<0.01，與溶媒對照組比較）和8%（P<0.001，與溶媒對照組比較；P<0.001，與化合物6單藥組比較；P<0.01，與依魯替尼單藥組比較）。

表 4. 化合物6單藥或與依魯替尼聯合用藥在人DOHH2（FL）小鼠異種移植

瘤模型中的抗腫瘤作用

治療	給藥後第 32 天 RTV(均值 ± 標準誤)	給藥後第 32 天 T/C (%)	給藥後第 32 天 TGI (%)	給藥後第 32 天協同因數
溶媒對照	12.7 ± 1.5	-		
化合物 6 100 mg/kg	19. 2.4 ± 0.2 ^{**}	19	81	
依魯替尼 25 mg/kg	20. 6.1 ± 0.8 [*]	48	52	
化合物 6 100 mg/kg + 25 mg/kg 依魯替尼	21. 1.0 ± 0.2 ^{***++##}	8	92	1.21

^{*}P<0.05、^{**}P<0.01、^{***}P<0.001，與溶媒對照組比較；⁺⁺P<0.001，與化合物 6 單藥組比較；^{##}P<0.01，與依魯替尼單藥組比較；^{\$\$\$}P<0.001，與 ABT-199 單藥組比較。協同因數>1, 協同作用；協同因數=1，相加作用；協同因數<1, 拮抗作用。腫瘤抑制率（TGI）=100-T/C%。

（3）小結

【0188】化合物6與依魯替尼聯合用藥無明顯副作用（第3圖B），可顯著增加單藥在人DOHH2（FL）小鼠異種移植瘤模型中的抗腫瘤效果，且具有顯著的協同作用（協同因數為1.21大於1）。因此，化合物6與依魯替尼聯合用藥可能在臨床為濾泡性淋巴瘤（FL）患者帶來獲益。

實施例6 依魯替尼單藥以及依魯替尼和化合物6聯合用藥對在人源DOHH2細胞系FL小鼠異種移植瘤模型的影響

【0189】（1）實驗方法如實施例1第（2）部分所述。本實驗建立了DOHH2細胞來源的FL小鼠異種移植瘤模型（同實施5），評估化合物6與BTK抑制劑依魯替尼聯合用藥的抗腫瘤作用。

（2）實驗結果

【0190】如第4圖A和表5所示，在治療35天後，依魯替尼（20 mg/kg）治療組的T/C值為67.7%（與溶媒對照組比較無明顯差異）。化合物6（50 mg/kg）單藥和與依魯替尼聯合用藥的T/C值分別為44.40%（P <0.001，與溶媒對照組比較）和21.8%（P <0.001，與溶媒對照組比較；P<0.01，與化合物6單藥組比較； P<0.05，與依魯替尼單藥組比較）

表 5. 化合物6單藥或與依魯替尼聯合用藥在人DOHH2（FL）小鼠異種移植

瘤模型中的抗腫瘤作用

治療	給藥後第 35 天 RTV(均值 ± 標準誤)	給藥後第 35 天 T/C(%)	給藥後第 35 天協同因數
溶媒對照	16.8 ± 0.7	-	-
化合物 6 50 mg/kg	22. 7.5 ± 0.7***	44.40	-
依魯替尼 20 mg/kg	23. 11.4 ± 1.5	67.70	-
化合物 6 50 mg/kg + 依魯替 尼 20 mg/kg	24. 3.7 ± 0.4***##\$	21.80	1.3
***P<0.001 與溶媒組進行比較, ##p<0.01 與化合物 6 組進行比較; \$p<0.05 與依魯替尼組進行比較；協同因數>1, 協同作用；協同因數=1，相加作用；協同因數<1, 拮抗作用			

（3）小結

【0191】化合物6與依魯替尼聯合用藥無明顯副作用（4B），可顯著增加單藥在人DOHH2（FL）小鼠異種移植瘤模型中的抗腫瘤效果，且具有顯著的協同作用（協同因數為1.3大於1）。因此，化合物6與依魯替尼聯合用藥可能在臨床為濾泡性淋巴瘤（FL）患者帶來獲益。

實施例7. 依魯替尼單藥以及依魯替尼和化合物6聯合用藥對人源OCI-LY1細胞系 DLBCL小鼠異種移植瘤模型的影響

【0192】（1）實驗方法如實施例1第（2）部分所述。本實驗在來源於人OCI-LY1細胞系的DLBCL異種移植模型（同實施4）中評價了化合物6和依魯替尼的聯合治療作用。

（2）實驗結果

【0193】如第5圖A和表6所示，在分組後第36天，聯合用藥組相對於依魯替尼單藥組在RTV值方面具有顯著性差異。

表6. 化合物6 單藥或與依魯替尼聯合用藥在人OCI-LY1（DLBCL）小鼠異種移植瘤模型中的抗腫瘤作用

治療	給藥後第 36 天 RTV(均值 ± 標準誤)	給藥後第 36 天 T/C	給藥後第 36 天協同因數	給藥後第 43 天 RTV
溶媒對照	25.4±5.2			
化合物 6 50 mg/kg	25. 2.2±0.4	0.090		7.1±0.4
依魯替尼 20 mg/kg	26. 20.5±2.1	0.810		
依魯替尼 20 mg/kg + 化合物 6 50 mg/kg	27. 1.4±0.7 ^{%%}	0.060	1.26	4.1±1.8

%% p<0.01，與依魯替尼 20mg/kg 比較

（3）小結

【0194】化合物6與依魯替尼聯合用藥無明顯副作用（第5圖B），可顯著增加單藥在OCI-LY1細胞的DLBCL模型中的抗腫瘤效果，且具有顯著的協同作用（協同因數為1.26大於1）。因此，化合物6與依魯替尼聯合用藥可能在臨床為瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）患者帶來獲益。

實施例8. 依魯替尼或化合物6單獨給藥以及依魯替尼和化合物6的聯合用藥對DLBCL和濾泡性淋巴瘤細胞中細胞生長的影響

（1）材料和方法

試劑

【0195】依魯替尼購自Selleck（中國，Cat. S2680）或Aikonchem（中國南京，Cat. 2645743）。對於體內研究，依魯替尼（Selleck）在10% PEG400（Sigma，St.Louis，MO，Cat. 91893-1L-F），5% Cremophor EL（Sigma，Cat.C5135-500G）和85% PBS（GENOME，中國杭州，Cat. GNM14190）中配製；而依魯替尼（Aikonchem）在5% DMSO（Sigma，Cat. D8418）和95%（20% β -CD）中配製（Seebio，Shanghai，China，Cat.ACJ0024A）。對於體外研究，將依魯替尼溶解於DMSO中至10mM儲備溶液，並在無血清培養基中稀釋至指定濃度。化合物6(R16JA450041-A5s)由Ascentage Pharma（中國蘇州）合成。ABT-199購自Aikonchem（中國南京，Cat. 2427965）。將化合物6和ABT-199在10%乙醇（Sinopharma，中國上海，Cat. 10009257），30% 聚乙二醇400和60% Phosal 50 PG（Lipoid GmbH，德國，Cat. 368315-31700201006）中配製用於體內研究。將體外使用的化合物6溶於DMSO至10mM儲備溶液，並用無血清培養基稀釋至指定濃度。本研究使用的抗體購自Cell Signaling Technology（CST，中國）：AKT（Cat. 4685S），p-AKT（Ser473）（Cat. 4060S），BAX（Cat. 5023），Bcl-2（Cat. 4233），BIM（Cat. 2819S），BTK（Cat. 8547S），p-BTK（Tyr223）（Cat. 5082S），caspase-2（Cat. 9665S），MCL-1（Cat. 94296S），PARP-1（Cat. 9532）， β -ACTIN（Cat. 3700S）。

細胞系

【0196】人B細胞淋巴瘤細胞系DOHH-2由Shaomeng Wang博士（密西根大學，Ann Arbor，MI）提供。人擴散的大B細胞淋巴瘤細胞系OCI-LY1獲自Dajun Yang博士（中山大學中山大學癌症中心）。藉由STR（短串聯重複）分析測試和鑒定所有細胞系。DOHH-2細胞在補充有10%胎牛血清（GIBCO，澳大利亞，Cat. 10099-141）和1%青黴素/鏈黴素（GENOME，

第 86 頁，共 93 頁(發明說明書)

中國杭州，Cat. GNM15140）的RPMI 1640培養基（GIBCO，中國，Cat. C11875500BT）中培養。OCI-LY1細胞在含有20%胎牛血清和1%青黴素/鏈黴素的IMDM（GIBCO，China，Cat. 12200036）培養基中培養。在37°C在含有5%CO₂和95%空氣的加濕培養箱中培養細胞並保持。

細胞存活率測定

【0197】根據製造商的說明，使用CellTiter-Glo®發光細胞存活率測定法（Promega，中國）測定細胞存活率。簡言之，將5000個細胞接種在96孔板中，並用單藥或聯合用藥處理72小時。在藥物處理後，將CellTiter-Glo試劑加入96孔板（30μ L/孔）中，並與細胞一起溫育15分鐘。藉由酶標儀（BioTek，Synergy H1MF，USA）測定相對光單位（RLU）。細胞存活率計算為細胞存活率=（平均RLU樣品 - 平均RLU空白）/（RLU細胞對照 - RLU空白）×100。使用GraphPad Prism計算IC₅₀值。IC₅₀表示為平均值±標準差（SD）。藉由CalcuSyn軟體（BIOSOFT，UK）計算組合指數（CI）值。通常，協同作用得分> 1，CI <0.9表示協同組合作用。CI <0.1標記為5+，表示非常強的協同組合作用，CI在0.1和0.3之間標記為4+，表示強協同組合作用，CI在0.3和0.7之間標記為3+，表示中等協同組合作用。

（2）實驗結果

【0198】記錄高水準的BCL2表達與B淋巴細胞腫瘤的不良預後相關。實際上，BCL2在依魯替尼耐藥性細胞系中上調，並且這些細胞對Bcl-2抑制劑ABT-199及其與BTK抑制劑依魯替尼的組合敏感（Kuo等人，2017）。化合物6是新型的、口服生物可利用的BH3-模擬物，其選擇性抑制BCL-2，但不選擇性抑制BCL-xL或MCL-1。化合物6作為單藥的抗增殖活性即使不比ABT-199在各種血液惡性腫瘤細胞系（包括來自DLBCL和FL的細胞系）中更好（資料未顯示）也是相當的。在這裡，我們評估了化合物6和依魯替尼

的聯合用藥治療是否可以進一步增強在這些血液惡性腫瘤細胞系中的抗增殖活性。

【0199】在實驗中，在用指定濃度的化合物6、依魯替尼或兩種藥物的聯合用藥處理後72小時，藉由CellTiter-Glo®細胞存活率測定評估FL（第6圖A）和DLBCL（第6圖B）細胞的增殖作用。顯示了細胞存活率的劑量 - 效應曲線（第6圖A左側和第6圖B左側）和藥物劑量矩陣（第6圖A右側和第6圖B右側）。藉由CalcuSyn（BIOSOFT）計算在指定濃度下用化合物6和依魯替尼的聯合用藥治療的CI值。CI < 0.9表示兩種試劑的協同效應。藥物劑量矩陣表示相對於溶媒對照組，被處理的細胞的生長抑制百分比。

【0200】具體地，來自人FL DOHH-2（第6圖A）和DLBCL OCI-LY1（第6圖B）細胞的細胞存活率測定顯示，與單藥相比，化合物6與依魯替尼聯合用藥的劑量效應曲線向左移動，表明協同作用。如所示地，針對不同劑量的聯合用藥，計算化合物6和依魯替尼的組合指數（CI）（第6圖A左側和第6圖B左側）。在DOHH2細胞系中，從低濃度的化合物6（0.41nM）和依魯替尼（1.4nM）開始記錄協同作用和CI。在OCI-LY1細胞系中，在較高濃度的化合物6（33nM）和依魯替尼（1111nM）之後表現出協同作用和CI。獲得DOHH2和OCI-LY1中每種聯合用藥濃度的生長抑制百分比，並且作為藥物劑量矩陣的圖顯示在第6圖A右側和第6圖B右側。第6圖顯示依魯替尼與化合物6協同抑制DLBCL和濾泡性淋巴瘤細胞中的細胞生長。

實施例9. 依魯替尼或化合物6單獨給藥以及依魯替尼和化合物6的聯合用藥對FL和DLBCL細胞系凋亡的影響

（1）材料和方法

【0201】試劑和細胞系如實施例8的第（1）部分中所述。

流式細胞術分析細胞凋亡

【0202】根據製造商的說明，用膜聯蛋白V /碘化丙啶（PI）染色（BD Biosciences，Cat. 556547）評估細胞凋亡。簡言之，將細胞以 2×10^5 個細胞/孔的密度接種在24孔板中，並用化合物6和/或依魯替尼（Selleck）處理以誘導細胞凋亡。24小時後，收集細胞，用PBS（pH7.4）洗滌兩次，並用膜聯蛋白V和碘化丙啶（PI）染色15分鐘。使用流式細胞儀Attune NxT（Life technologies）分析染色樣品。

（2）實驗結果

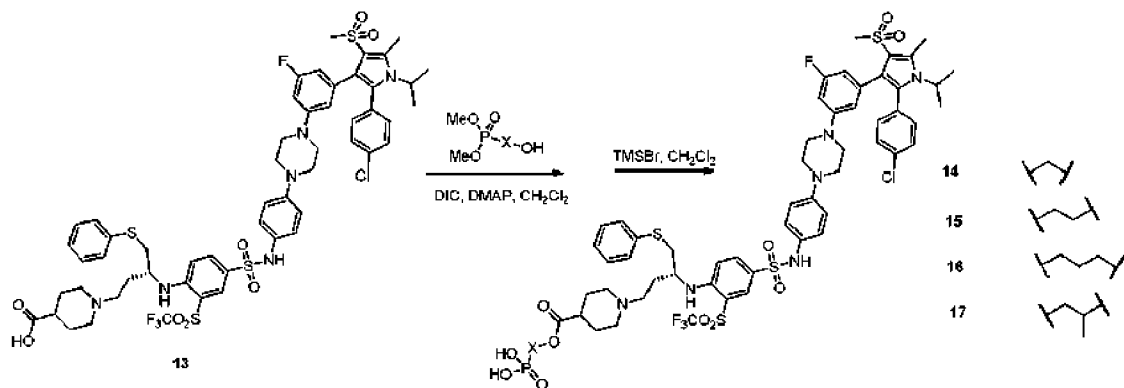
【0203】儘管依魯替尼目前處於治療CLL患者的常規臨床實踐中，但依魯替尼誘導的細胞凋亡已被證明是有限的（Cinar等，2013; Deng等，2017）。我們假設藉由使用靶向不同的存活途徑的BTK和BCL的抑制劑可以增強細胞凋亡率並有助於協同抗增殖作用。

【0204】在實驗中，藉由膜聯蛋白V /碘化丙啶（PI）的共染色，然後進行流式細胞術分析，評估化合物6和依魯替尼的聯合給藥處理對DOHH2和OCI-LY1細胞的凋亡的誘導能力（第7圖A）。當用依魯替尼單獨處理細胞時，觀察到有限的細胞凋亡活性，這與先前報導的研究一致（Deng等人，2017）。化合物6處理的細胞顯示出略微增強的細胞凋亡活性。值得注意的是，化合物6和依魯替尼的聯合給藥處理導致細胞凋亡增加，具有統計學顯著性的差異（ $p < 0.001$ ）（第7圖B）。藉由在用10nM（DOHH-2）或15nM（OCI-LY1）化合物6，100nM（DOHH-2）或150nM（OCI-LY1）依魯替尼或它們的組合處理24小時的OCI-LY1和DOHH-2細胞系中膜聯蛋白V和碘化丙啶（PI）共染色對凋亡細胞進行流式細胞術分析。進行三次獨立實驗，顯示代表性結果（7A）。膜聯蛋白V陽性、PI陽性或雙陽性DOHH-2（7B）和OCI-LY1（7C）細胞的百分比繪製為橫條圖，並且表示為平均值

±SEM (n = 3) (** p < 0.01 , *** p < 0.001) 。第7圖顯示藉由體外化合物6和依魯替尼的聯合用藥處理協同誘導FL和DLBCL細胞的凋亡。

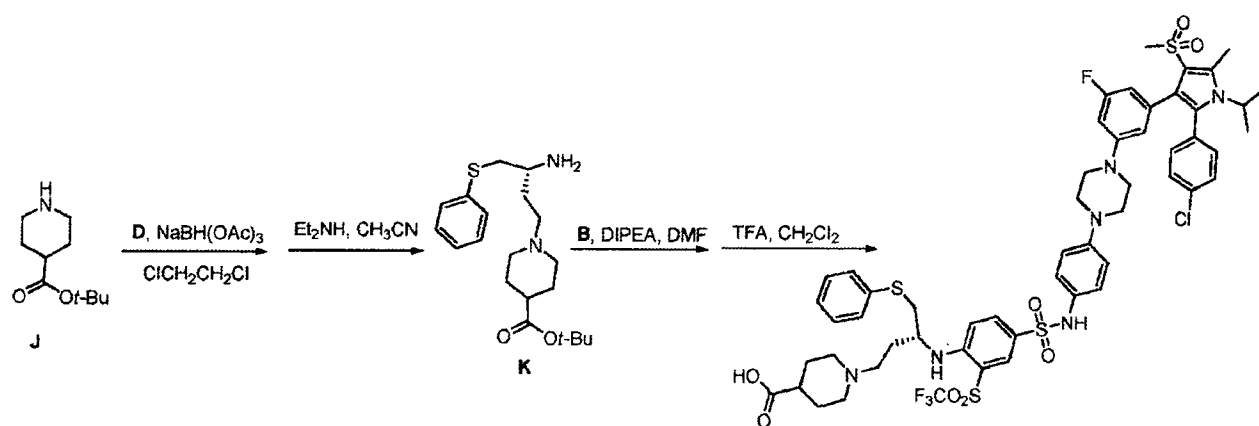
實施例10. Bcl-2/Bcl-xL抑制劑的合成

【0205】化合物72：(R)-2-(1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-氯苯基)-1-異丙基-5-甲基-4-(甲基磺醯基)-1H-吡咯-3-基)-5-氟苯基)咪嗪-1-基)苯基)氮磺醯基)-2-(三氟甲基磺醯基)苯基氨基)-4-(苯基硫代)丁基)咪啉-4-羧基氧基)乙基膦酸。化合物72合成的方法可參照WO2014/113413A1說明書的記載，由如下途徑製備。



【0206】¹H NMR(300 MHz, CD3OD):δ7.93 (d,J=1.9 Hz,1H), 7.72(dd,J=9.2, 1.8Hz,1H),7.30-7.12(m,12H),6.83-6.42(m,5H),4.46-4.33(m,3H),3.96(s,1H),3.5 4-2.93(m,16H),2.82(s,3H),2.72(s,3H),2.71-2.55 (m, 1H), 2.24-1.65 (m, 8H), 1.41 (d, J = 7.1 Hz, 6H) 。 MS (ESI): m/z 1268.58 (M+H)⁺ 。

【0207】化合物88：(R)-1-(3-(4-(N-(4-(4-(3-(2-(4-氯苯基)-1-異丙基-5-甲基-4-(甲基磺醯基)-1H-吡咯-3-基)-5-氟苯基)咪嗪-1-基)苯基)-氮磺醯基)-2-(三氟甲基磺醯基)苯基氨基)-4-(苯基硫基)丁基)咪啉-4-甲酸。化合物88的合成的方法可參照WO2014/113413A1說明書的記載，由如下途徑製備。



【0208】 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.84 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.65 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.32 – 7.14 (m, 7H), 7.11 – 6.81 (m, 6H), 6.63 – 6.47 (m, 2H), 6.43 – 6.30 (m, 1H), 4.33 (p, J = 7.1 Hz, 1H), 4.07 (s, 1H), 3.32-3.22 (m, 4H), 3.19 – 3.03 (m, 9H), 2.89 (s, 4H), 2.67 (s, 4H), 2.31-1.55 (m, 8H), 1.35 (d, J = 7.0 Hz, 6H)。

實施例11. 依魯替尼耐藥的DOHH2R細胞系的建立

【0209】 DOHH2是人濾泡性淋巴瘤 (FL, 屬於NHL) 細胞系, 由Shaomeng Wang博士 (密西根大學, Ann Arbor, MI) 提供。將DOHH2細胞培養在含 10% 小牛血清, 1% 抗生素 和 5 ug/ml verapamil (鈣離子通路阻斷劑) 的 RPMI1640 培養劑中, 並且加入依魯替尼, 濃度逐漸升高, 由0.5 uM 到10 uM, 暴露約三個月之久, 由此得到對依魯替尼耐藥的DOHH2R細胞系, 也稱為DOHH2^{R-ibrutinib}。在DOHH2^{R-ibrutinib} 穩定之後, 繼續在含10 uM依魯替尼的培養劑中傳代, 以維持其耐藥性; 只在與化合物6 或88 藥敏實驗時, 不加依魯替尼。

細胞存活率測定

【0210】 根據製造商的說明, 使用CellTiter-Glo®發光細胞存活率測定法 (Promega, 中國) 測定細胞存活率。簡言之, 將5000個DOHH2^{R-ibrutinib}細胞接種在96孔板中, 並用測試藥物處理24或72小時。在藥物處理後, 將

CellTiter-Glo試劑加入96孔板（30 μ L/孔）中，並與細胞一起溫育15分鐘。藉由酶標儀（BioTek，Synergy H1MF，USA）測定相對光單位（RLU）。細胞存活率計算為細胞存活率=（平均RLU樣品 - 平均RLU空白）/（RLU細胞對照-RLU空白） $\times$ 100。使用GraphPad Prism計算IC₅₀值。IC₅₀表示為平均值 $\pm$ 標準差（SD）。

【0211】對依魯替尼進行細胞存活實驗測試，結果顯示，依魯替尼對DOHH2細胞的IC₅₀值為0.07352 μ M，但對DOHH2^{R-ibrutinib}細胞系的IC₅₀值是12.19 μ M，提高了160倍（第8圖），表明DOHH2^{R-ibrutinib}細胞對依魯替尼產生耐藥性。

【0212】在DOHH2細胞以及對依魯替尼耐藥的DOHH2^{R-ibrutinib}細胞中分別測試了BCL-2抑制劑對細胞存活的影響。比較了兩種BCL-2抑制劑：化合物6和ABT-199。結果表明（第9圖），雖然化合物6和ABT-199都能有效地抑制DOHH2細胞的生長，並且表現出相似的IC₅₀值：化合物6為0.0484 μ M和ABT-199為0.0511 μ M，但是化合物6對DOHH2^{R-ibrutinib}細胞系的生長抑制明顯好於ABT-199，表明化合物6能夠更好地對抗DOHH2^{R-ibrutinib}細胞系對依魯替尼的耐藥性。化合物6對DOHH2^{R-ibrutinib}細胞系的IC₅₀值為0.648 μ M，而ABT-199對DOHH2^{R-ibrutinib}細胞系的IC₅₀值為1.189 μ M，明顯低於化合物6的效果。

【0213】進一步在DOHH2細胞以及對依魯替尼耐藥的DOHH2^{R-ibrutinib}細胞中分別測試了BCL-2/BCL-xL抑制劑化合物88對細胞存活的影響。結果表明，化合物88高效地抑制依魯替尼耐藥的DOHH2^{R-ibrutinib}細胞生長，其IC₅₀值為0.017 μ M並且在24小時內導致了細胞死亡。

【符號說明】

【0214】

DOHH2...濾泡性淋巴瘤（FL）

KMS-11...多發性骨髓瘤（MM）

OCI-LY1、OCI-LY8...瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）

RPMI-8226...多發性骨髓瘤（MM）

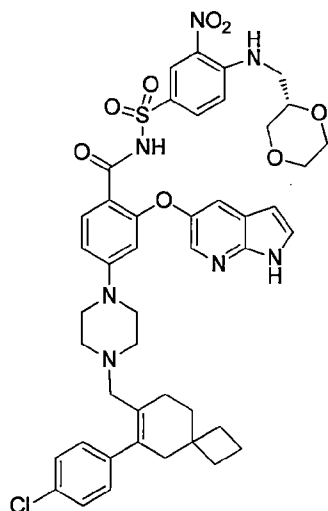
SU-DHL-4...瀰漫性大B細胞淋巴瘤（DLBCL）

Z-138...套細胞淋巴瘤（MCL）

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種組合產品在製備用於治療疾病的藥物中的用途，包括對有此需要的受試者施用該藥物，其中該疾病是癌症，該癌症選自多發性骨髓瘤（MM）和濾泡性淋巴瘤（FL），該組合產品包含Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑，

其中該 Bcl-2 抑制劑是下述結構的化合物或其藥學上可接受的鹽，



且，該 BTK 抑制劑是依魯替尼 (Ibrutinib)。

【第2項】如申請專利範圍第1項所述的用途，其中該組合產品呈藥物組合物的形式。

【第3項】如申請專利範圍第1項所述的用途，其中該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑各自呈單獨的製劑形式。

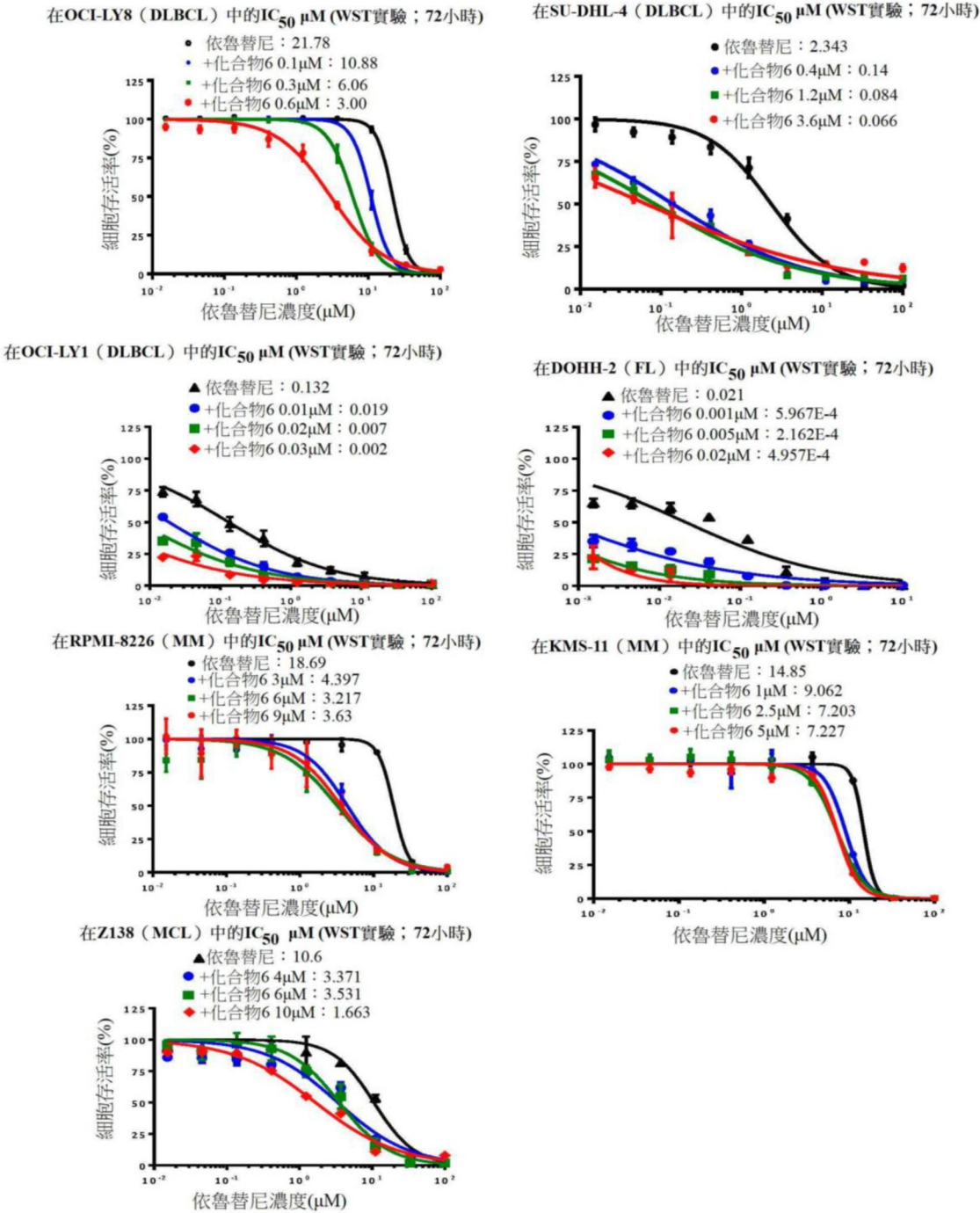
【第4項】如申請專利範圍第1項所述的用途，其中該Bcl-2抑制劑和BTK抑制劑同時或先後施用。

【第5項】如申請專利範圍第1項所述的用途，該組合產品還包含藥學上可接受的載體、稀釋劑或賦形劑。

【第6項】如申請專利範圍第1項所述的用途，其中該組合產品呈片劑、膠囊劑、顆粒劑、糖漿劑、粉劑、錠劑、藥囊、扁囊劑、酏劑、混懸劑、乳劑、溶液、糖漿劑、氣霧劑、軟膏劑、乳膏劑和注射劑的形式。

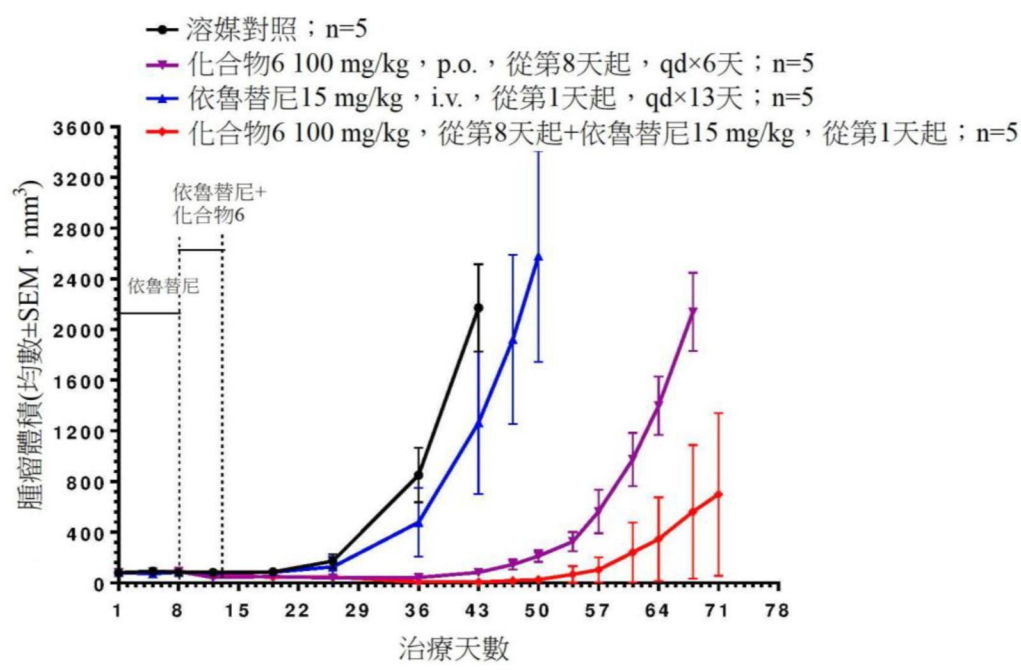
【第7項】如申請專利範圍第1項所述的用途，其中該受試者對BTK抑制劑不回應或者耐藥。

【發明圖式】

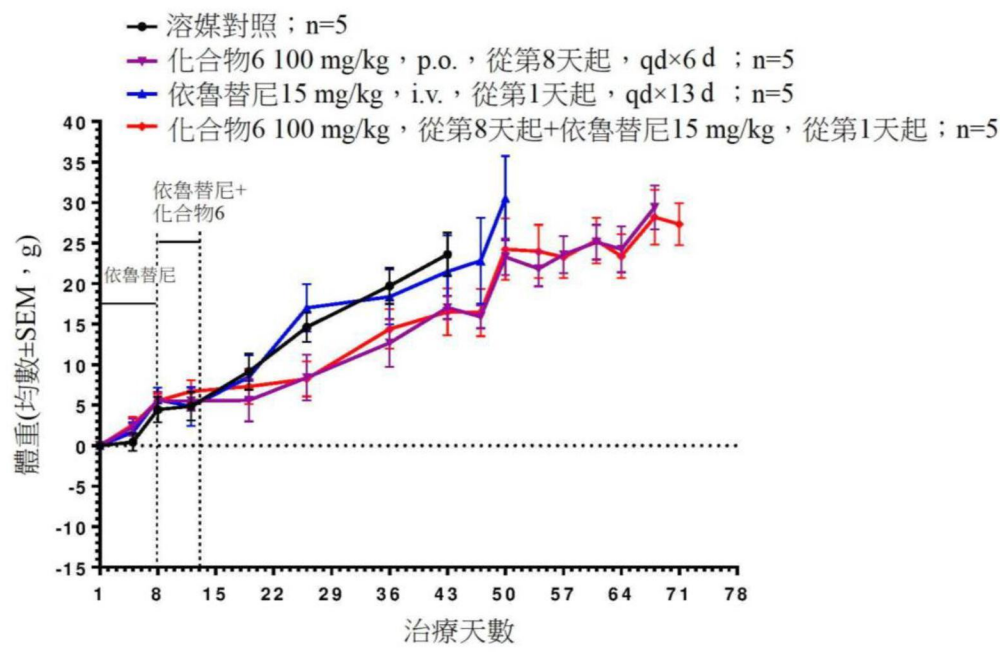


第1圖

A.

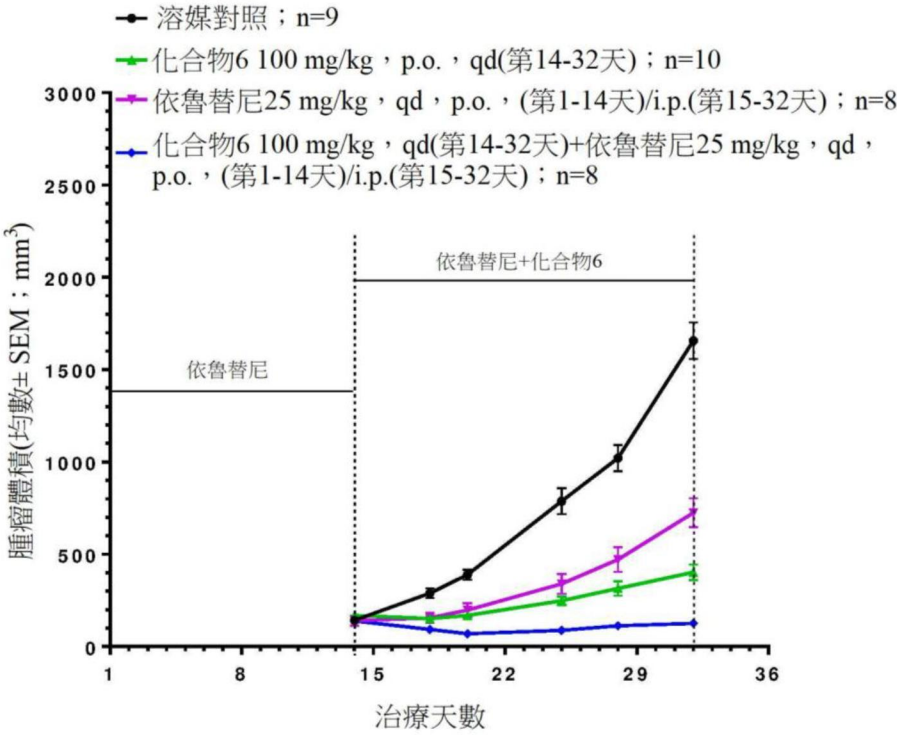


B.

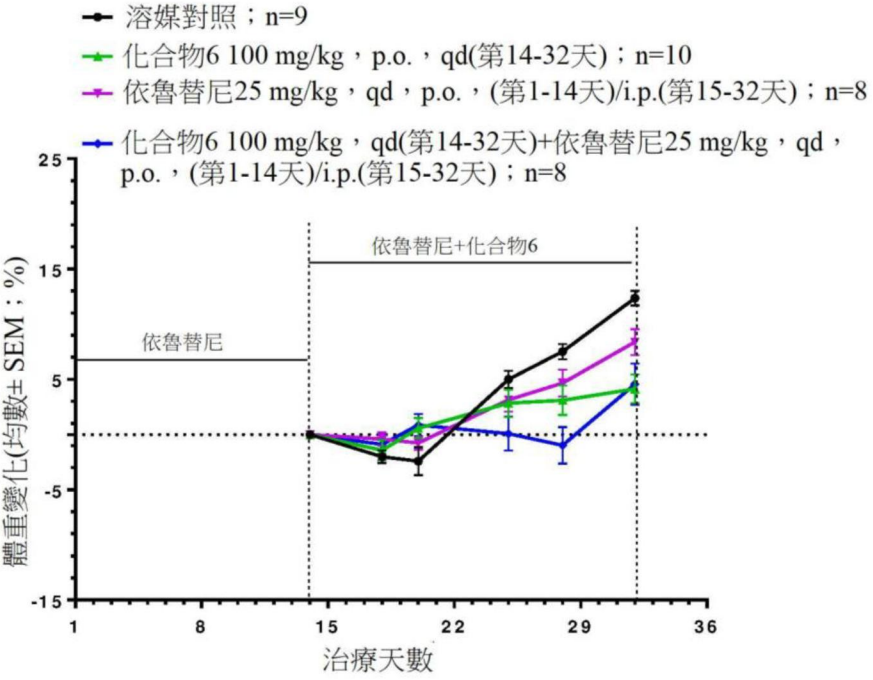


第2圖

A.

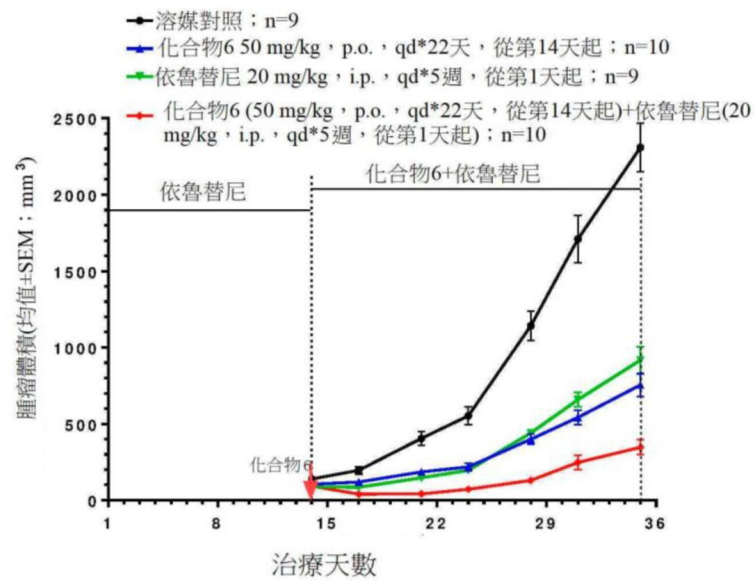


B.

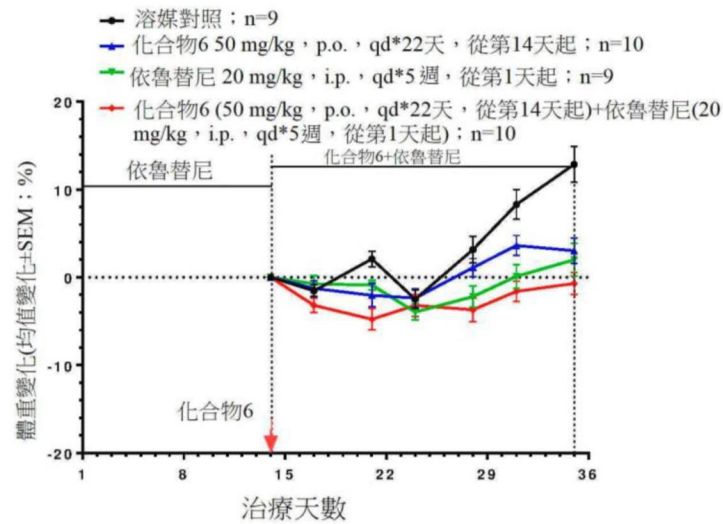


第3圖

A.

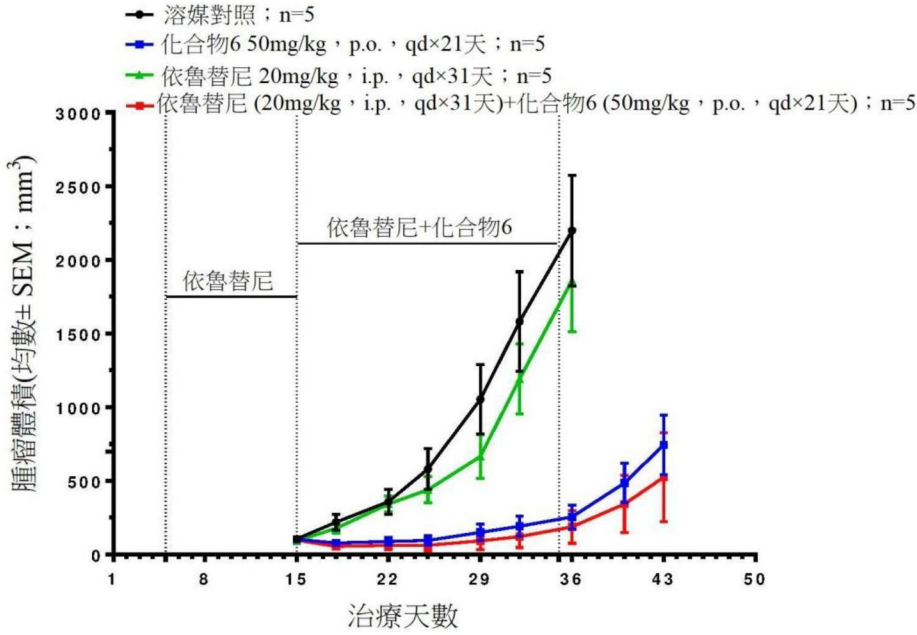


B.

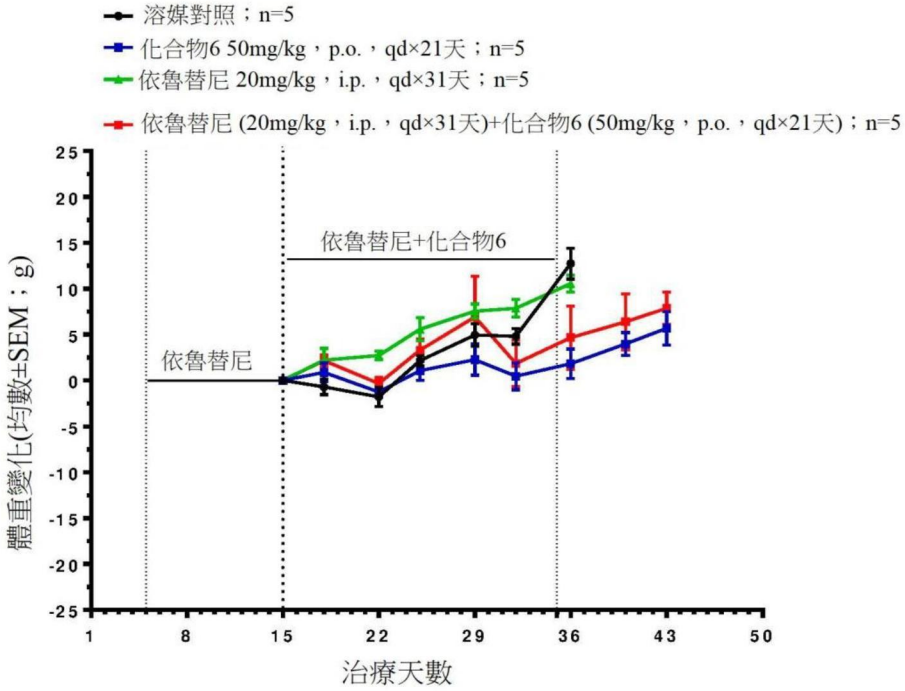


第4圖

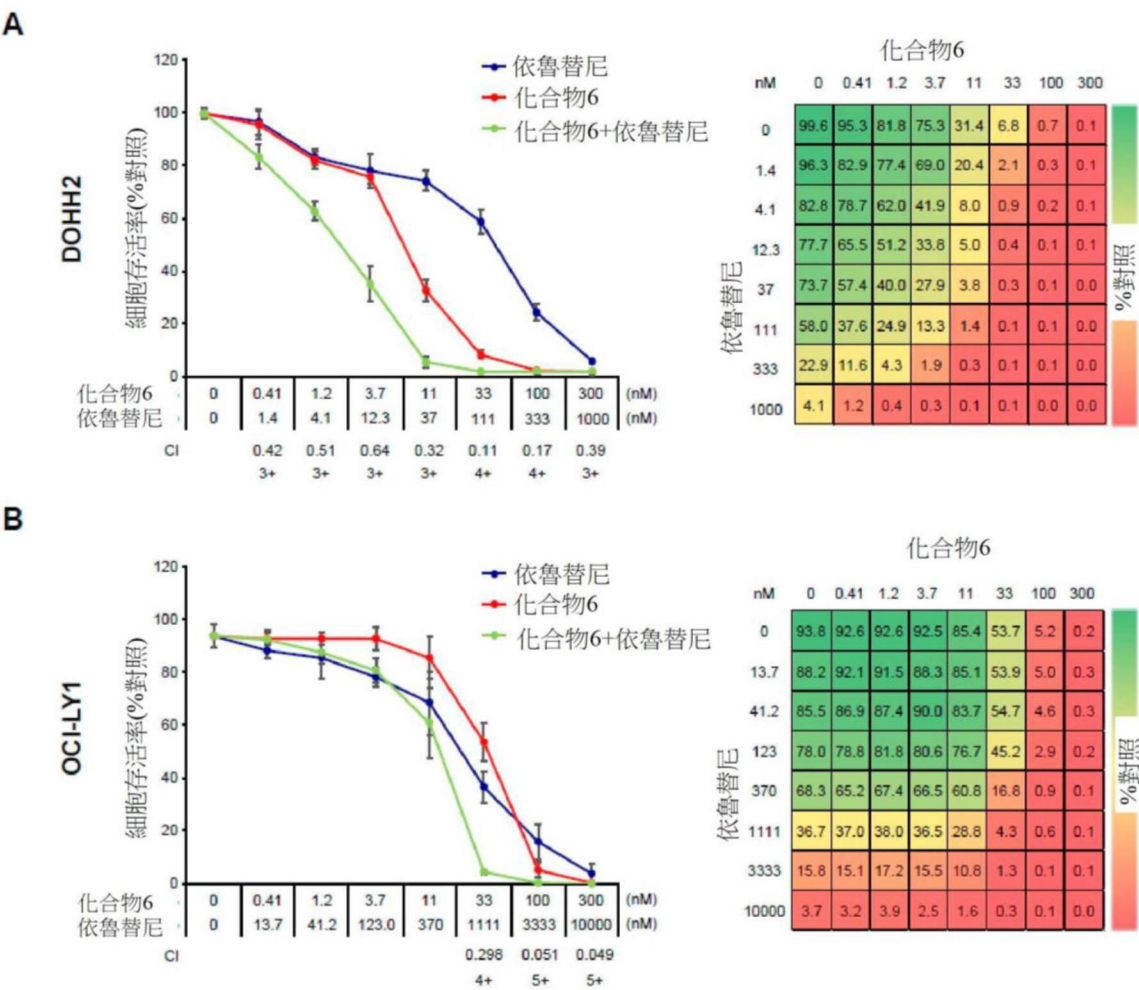
A.



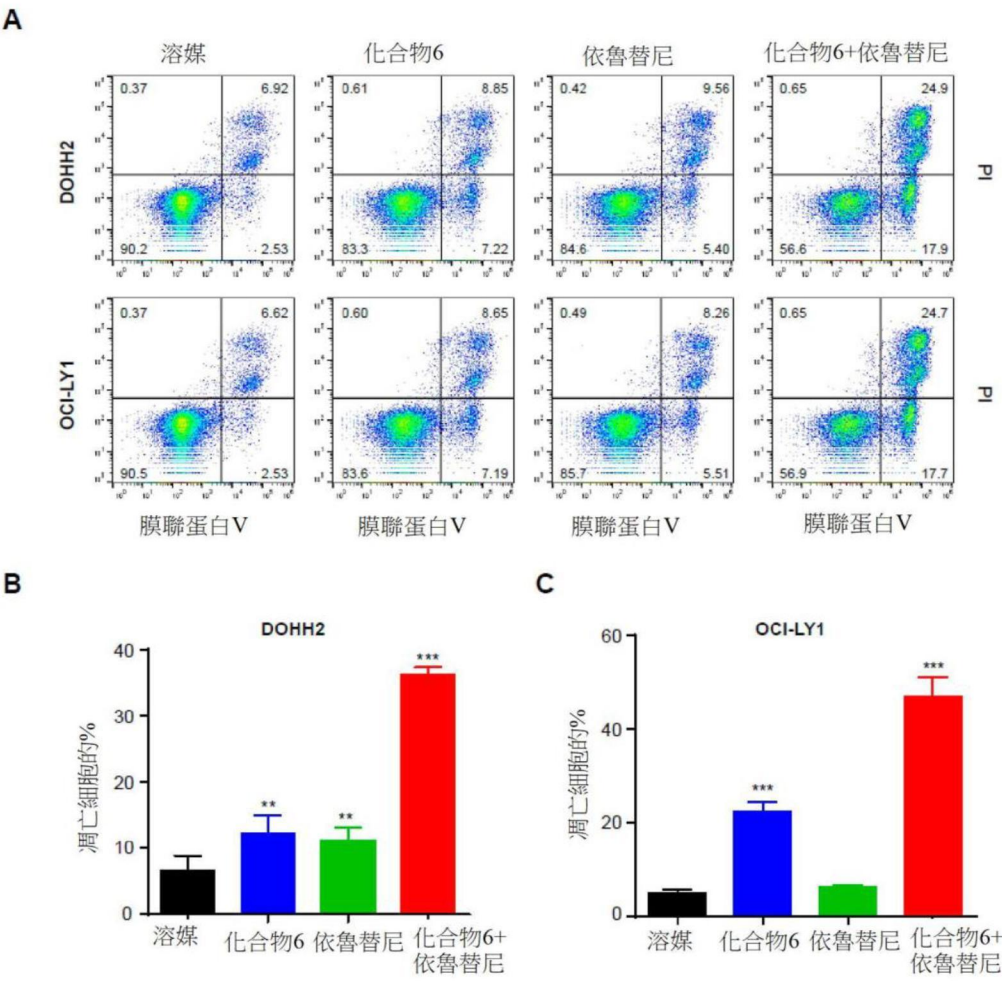
B.



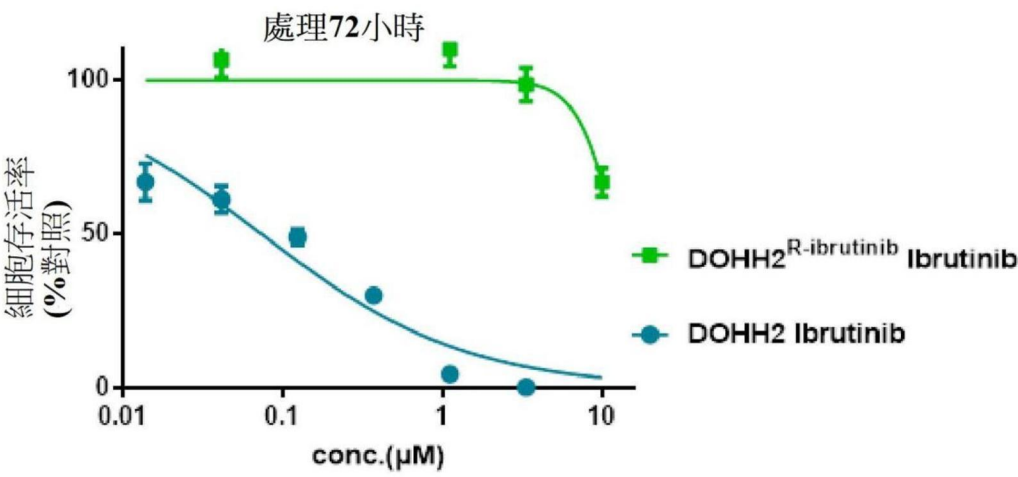
第5圖



第6圖

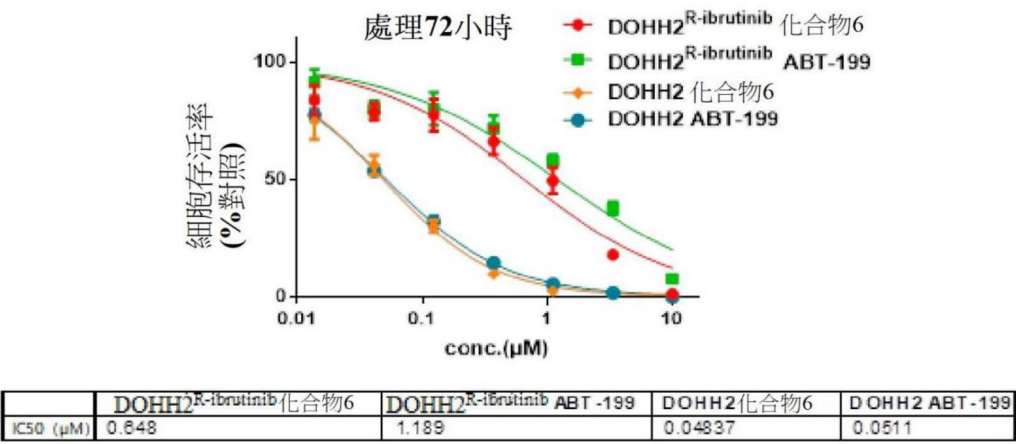


第7圖

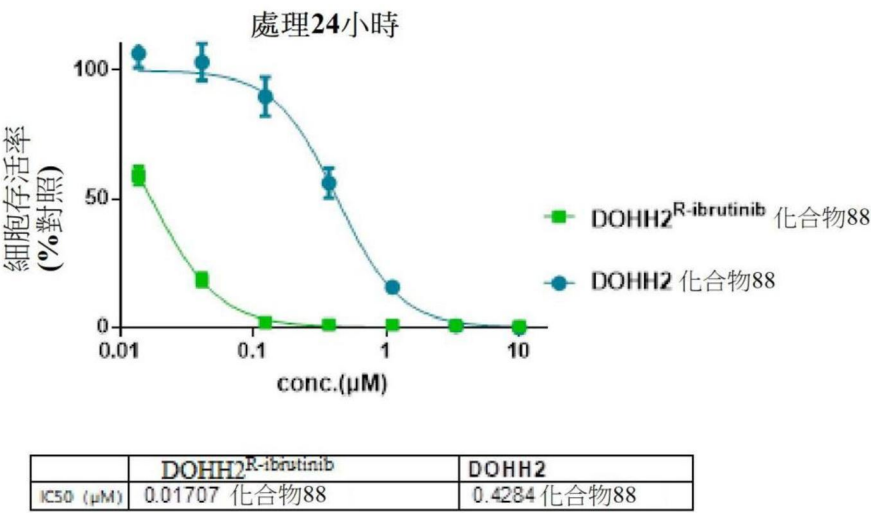


	DOHH2 ^R -ibrutinib	ibrutinib	DOHH2 ibrutinib
IC50 (μ M)	12.19		0.07352

第8圖



第9圖



第10圖