

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044990**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.19

(21) Номер заявки
202090082

(22) Дата подачи заявки
2018.06.21

(51) Int. Cl. *A61K 31/519* (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИЯ ИНГИБИТОРА MCL-1 И СТАНДАРТНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ, ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ И СОДЕРЖАЩИЕ ЕЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

(31) **62/523,389; 17189550.1**

(32) **2017.06.22; 2017.09.06**

(33) **US; EP**

(43) **2020.05.22**

(86) **PCT/EP2018/066551**

(87) **WO 2018/234433 2018.12.27**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЛЕ ЛАБОРАТУАР СЕРВЬЕ (FR);
НОВАРТИС АГ (CH)**

(72) Изобретатель:
**Вэй Эндрю, Муджаллед Дония,
Помилио Джованна (AU), Женест
Оливье, Мараньо Ана-Летисия (FR)**

(74) Представитель:
**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(56) LETAI ANTHONY: "S63845, an MCL-1 Selective BH3 Mimetic: Another Arrow in Our Quiver", CANCER CELL, CELL PRESS, US, vol. 30, no. 6, 12 December 2016 (2016-12-12), pages 834-835, XP029845244, ISSN: 1535-6108, DOI: 10.1016/J.CCELL.2016.11.016 page 834, column 3, last paragraph – page 835, column 1, paragraph first
MICHELLE A. LEVY ET AL.: "Therapeutic inhibition of BCL-2 and related family members", EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, vol. 26, no. 3, 9 February 2017 (2017-02-09), pages 293-301, XP055448127, UK ISSN: 1354-3784, DOI: 10.1080/13543784.2017.1290078 paragraphs [03.6], [03.8]; table 3

(57) Фармацевтическая комбинация, которая содержит: (а) ингибитор Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту, или их энантиомеры, диастереоизомеры, атропоизомеры или их соли присоединения с фармацевтически приемлемой кислотой или основанием, и (б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина, в синергетически эффективных количествах, для одновременного, последовательного или раздельного введения, а также её применение.

044990 B1

044990 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к комбинация ингибитора Mcl-1 со вторым противораковым агентом, где второй противораковый агент выбран из антрациклинов (таких как идарубицин), цитарабина (также известный как цитозин арабинозид или ага-С) и гипометилирующих агентов (таких как децитабин, азацитидин). Настоящее изобретение относится к комбинации ингибитора Mcl-1 со вторым противораковым агентом, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина, децитабина, азацитидина. Также изобретение относится к применению указанной комбинации для лечения злокачественного новообразования, в частности гематологического злокачественного новообразования, и более предпочтительно острой миелоидной лейкемии (AML), миелодиспластических синдромов, острой лимфоцитарной лейкемии (ALL) и лимфомы. Также обеспечиваются фармацевтические препараты, подходящие для введения таких комбинаций.

Наличие множества приобретенных мутаций в нескольких клонах в каждом случае AML делает концепцию успешного избирательного нацеливания особенно сложной. Данное изобретение предлагает концепцию, согласно которой злокачественные новообразования с разнообразными и многоклональными молекулярными композициями можно успешно лечить комбинацией ингибитора Mcl-1 и цитотоксического препарата, способного эффективно активировать клеточный апоптоз разнородным образом, что приводит к общей гибели раковых клеток, кроме того, что достигается при использовании ингибитора Mcl-1 или стандартной медицинской химиотерапии (SOC) раздельно. Этот подход может привести к повышению частоты ремиссии и увеличению клиренса минимального остаточного заболевания в условиях индукционной химиотерапии, и это может привести к снижению частоты рецидивов заболевания и, как пример, к более высоким показателям общего излечения при AML. AML предлагается в качестве модельного примера благодаря способности количественно измерять изменения клональной композиции поочередно с лечением с использованием цифровых PCR и RT-qPCR.

Ингибиторы Mcl-1 в сочетании с низкодозовой химиотерапией SOC могут повысить направленность лейкозных стволовых клеток и клеток-предшественников за счет снижения апоптотического порога. Этот подход может быть использован в условиях пост-ремиссии в качестве поддерживающей терапии для устранения остаточных стволовых клеток AML и клонов предлейкозных стволовых клеток, состоящих из различных молекулярных и цитогенетических аномалий. Принцип демонстрации эрадикации лейкозных и предлейкозных предшественников будет продемонстрирован путем снижения уровней клональных минимальных остаточных заболеваний или предлейкозных клонов, измеренных в дифференцированных мононуклеарных клетках в пост-ремиссионных условиях после воздействия ингибитора Mcl-1 в комбинации с SOC химиотерапией.

Предпосылки создания изобретения

Апоптоз представляет собой строго регулируемый путь гибели клеток, который инициируется различными цитотоксическими стимулами, включая онкогенный стресс и химиотерапевтические средства. Было показано, что уклонение от апоптоза является отличительным признаком злокачественного новообразования и что эффективность многих химиотерапевтических средств зависит от активации внутреннего митохондриального пути. Три разные подгруппы белков Bcl-2 семейства контролируют внутренний апоптотический путь: (I) проапоптотические BНЗ (Bcl-2 гомология 3)-только белки; (II) способствующие выживанию представители, такие как сам Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1 и Bcl-2a1; и (III) проапоптотические эффекторные белки BAX и BAK (Czabotar и др., Nature Reviews Molecular cell biology 2014, 15, 49-63). Сверхэкспрессия анти-апоптотических представителей Bcl-2 семейства наблюдается при многих злокачественных новообразованиях, в особенности при злокачественных заболеваниях системы крови, таких как лимфома из клеток зоны мантии (MCL), фолликулярная лимфома/диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (FL/DLCL) и множественная миелома (Adams и Cory, Oncogene 2007, 26, 1324-1337). Фармакологическое ингибирование анти-апоптотических белков Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w и Mcl-1 с помощью разработанных недавно BНЗ-миметических лекарственных средств, таких как АВТ-199 (внктоклак), АВТ-263 (навитоклак) и S63845, является терапевтической стратегией для индуцирования апоптоза и вызывает регрессию опухоли при злокачественном новообразовании (Zhang et al., Drug Resist. Updat. 2007, 10, 207-217; Kotschy et al., Nature 2016, 538, 477-482). Тем не менее, проводятся наблюдения относительно механизмов резистентности к BНЗ миметикам (Choudhary et al., Cell Death и Disease 2015, 6, e1593) и применение комбинационной терапии могло бы улучшить эффективность и задержать или даже отменить развитие устойчивости.

Острая миелоидная лейкемия (AML) представляет собой стремительно развивающееся смертельное злокачественное заболевание крови, возникающее при клоновой трансформации гемопоэтических стволовых клеток, что приводит к параличу нормального функционирования костного мозга и смерти вследствие осложнений от абсолютной панцитопении. AML отвечает за 25% всех лейкозов у взрослых, и самый большой коэффициент заболеваемости наблюдается в Соединенных Штатах Америки, Австралии и Европе (WHO. GLOBOCAN 2012. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. International Agency for Research on Cancer). Во всем мире, ежегодно диагностируется приблизительно 88 тыс. новых случаев. AML продолжает сохранять наиболее низкий коэффициент выживаемости из всех лейкозов, с предполагаемым 5-летним выживанием только 24%.

Современные способы лечения AML включают введение цитарабина отдельно или в комбинации с антрациклином, таким как даунорубин или идарубин. Низкие дозы цитарабина для лечения и деметилирующие агенты, такие как азацитидин и децитабин, также рекомендуются в качестве вариантов низкой интенсивности для пациентов, не имеющих права на интенсивную химиотерапию (Dohner et al., DOI 10.1182/blood-2016-08-733196). Несмотря на то, что стандартная терапия AML (цитарабин в комбинации с антрациклинами) была задумана более 4 десятилетий назад, внедрение успешных целевых методов лечения этого заболевания остается нерешенной целью. Концепция целевой терапии при AML была затруднена осознанием того, что это заболевание развивается в виде мультиклональной иерархии с быстрым ростом лейкозных субклонов как основной причины устойчивости к лекарственным средствам и рецидива заболевания (Ding et al., Nature 2012, 481, 506-510). Недавние клинические исследования продемонстрировали эффективность ингибиторов Bcl-2 в лечении AML (Konopleva et al., American Society of Hematology 2014, 118).

Остается необходимостью в новом лечении и терапии гематологического злокачественного новообразования, в частности AML, миелодиспластических синдромов, ALL и лимфомы, и более предпочтительно, в лечении AML. Настоящее изобретение обеспечивает новую комбинацию ингибитора Mcl-1 и второго противоракового агента, где второй противораковый агент выбран из антрациклинов, цитарабина и гипометилирующих агентов, более предпочтительно идарубина, даунорубина, митоксантрона, цитарабина, децитабина, азацитидина и гвадецитабина, и более предпочтительно идарубина, даунорубина, цитарабина, децитабина и азацитидина. Результаты показывают, что ингибитор Mcl-1 в комбинации со вторым противораковым агентом, где второй противораковый агент выбран из идарубина, цитарабина и децитабина, синергетически взаимодействует с клеточными линиями AML (фиг. 1; табл. 3, 4 и 5). Нами также показано, что комбинация ингибитора Mcl-1 со вторым противораковым агентом, где второй противораковый агент выбран из идарубина или децитабина, проявляет синергетическую проапоптотическую активность в первичных образцах AML человека (фиг. 2 и 6; табл. 6). Нами также показано, что подмножество первичных образцов AML было чувствительным к комбинации ингибитора Mcl-1 с цитарабином, тогда как нормальные человеческие клетки-предшественники CD34 + были устойчивы к той же дозе (фиг. 3). Нами также показано, что ингибитор Mcl-1 в сочетании с децитабином хорошо переносился без потери веса в течение лечения и, тем не менее, приводит к усилению активности против AML у человека на модели ксенотрансплантата, полученной от пациента *in vivo* (фиг. 4, 5 и 6). В завершение, нами показано, что комбинация ингибитора Mcl-1 с цитарабином может быть полезна для лечения пациентов с ALL (табл. 7).

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к фармацевтической комбинации, которая содержит:

(а) ингибитор Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту,

или их энантиомеры, диастереоизомеры, атропоизомеры или их соли присоединения с фармацевтически приемлемой кислотой или основанием,

и (б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азацитидина,

в синергетически эффективных количествах, для одновременного, последовательного или раздельного введения.

Указанные соединения (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановая кислота и (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановая кислота, их синтез, их применение для лечения злокачественного новообразования и их фармацевтические составы описаны в WO 2015/097123, WO 2016/207216, WO 2016/207217, WO 2016/207225, WO 2016/207226, и WO 2017/125224, содержание которых включены посредством ссылки.

В первом варианте осуществления, изобретение обеспечивает комбинацию, которая содержит:

(а) соединение 1: (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту, или её фармацевтически приемлемую кислоту, и

(б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азацитидина, для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В качестве альтернативы, изобретение обеспечивает комбинацию, которая содержит:

(а) соединение 2: (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-

ил]метокси}фенил)пропановую кислоту, или её фармацевтически приемлемую кислоту, и

(б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азацитидина, для одновременного, последовательного или раздельного введения.

В другом варианте осуществления, изобретение обеспечивает комбинацию, как описано выше, для применения для лечения злокачественного новообразования, более предпочтительно, лечения гематологического злокачественного новообразования. Лечение АМЛ, миелодиспластических синдромов, острой лимфоцитарной лейкемии и лимфомы является особенно предпочтительным. Более предпочтительным является лечение АМЛ.

В другом варианте осуществления, изобретение обеспечивает применение комбинации, как описано выше, для приготовления лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования, более предпочтительно, лечения гематологического злокачественного новообразования, ещё более предпочтительно лечения АМЛ, миелодиспластических синдромов, острой лимфоцитарной лейкемии и лимфомы.

В другом варианте осуществления, изобретение обеспечивает лекарственное средство, которое содержит, отдельно или вместе,

(а) ингибитор Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту, и

(б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азацитидина, для одновременного, последовательного или раздельного введения, и где ингибитор Mcl-1 и второй противораковый агент обеспечивают в эффективных количествах для лечения злокачественного новообразования.

В другом варианте осуществления, изобретение обеспечивает способ лечения злокачественного новообразования, который включает совместное введение терапевтически эффективного количества:

(а) ингибитора Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту, и

(б) второго противоракового агента, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азацитидина, субъекту, нуждающемуся в этом.

В другом варианте осуществления, ингибитор Mcl-1 представляет собой (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту (соединение 1).

В другом варианте осуществления, ингибитор Mcl-1 представляет собой (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту (соединение 2).

Краткое описание фигур

На фиг. 1 проиллюстрированы в качестве примера эффект ингибирования роста клеток и синергичные матрицы комбинации для ингибирования роста клеток (слева) и ингибирования избытка Loewe (справа), обеспечиваемые соединением 2 (ингибитор Mcl-1) в комбинации с идарубицином на клеточной линии АМЛ ОС1-АМЛ3 в двух независимых экспериментах. Значения в матрице эффекта находятся в диапазоне от 0 (нет ингибирования) до 100 (полное ингибирование). Значения в матрице синергизма представляют собой степень ингибирования роста, превышающую теоретическую аддитивность, рассчитанную на основании активности отдельных средств соединения 2 и идарубицина в тестируемых концентрациях.

На фиг. 2 проиллюстрировано, что комбинация ингибитора Mcl-1 с идарубицином обладает синергической активностью при АМЛ. Ряд первичных образцов АМЛ от пациентов с различными цитогенетическими и молекулярными характеристиками инкубировали в течение 48 ч с одним соединением 2 или идарубицином отдельно или в комбинации и с определенным поражающим эффектом LC₅₀. Это показало существенный синергизм этой комбинации в большой пропорции первичных образцов АМЛ.

На фиг. 3 проиллюстрировано сравнение активности первичных образцов АМЛ относительно здоровых CD34 + донорских клеток для цитарабина, соединения 2 (ингибитор Mcl-1) и соединения 2 в комбинации с цитарабином. Показана жизнеспособность первичных клеток АМЛ и нормальных CD34 + клеток (серая линия), нормализованных к контролю носителя после воздействия цитарабина, показаны соединения 2 и соединения 2 в комбинации с цитарабином (в нМ).

На фиг. 4 проиллюстрировано поддержание нормальной массы тела в течение терапии. Мышей

NSG лечили децитабином 0,4 мг/кг или 0,8 мг/кг внутривенно или децитабином 0,4 мг/кг или 0,8 мг/кг в комбинации с соединением 2 (ингибитор Mcl-1) 25 мг/кг (в/в) в течение 1 недели.

На фиг. 5 проиллюстрирована гематологическая токсичность у мышей NSG в течение терапии. Мышей NSG лечили децитабином 0,4 мг/кг или 0,8 мг/кг с помощью интраперитонеальной инъекции или децитабином 0,4 мг/кг или 0,8 мг/кг в комбинации с соединением 2 (ингибитор Mcl-1) 25 мг/кг (в/в) в течение 1 недели и количество лейкоцитов (WBC), тромбоцитов, гемоглобина (Hb), количество эритроцитов (RBC) определяют с помощью анализатора крови Хемавета.

На фиг. 6 проиллюстрирована превосходная эффективность децитабина в комбинации с соединением 2 (ингибитор Mcl-1) по сравнению с одним из агентов, взятым отдельно. Мышам NRG-SG3 трансплантировали 10 первичных клеток AML (AML54). Приживление было подтверждено через 6 недель путем обнаружения hCD45 в периферической крови. Затем группам мышей давали а) носитель, б) Соединение 2 (ингибитор Mcl-1) 25 мг/кг в/в (2 дня) в) децитабин 0,4 мг/кг/д с помощью интраперитонеальной инъекции (5 дней) или г) комбинацию соединения 2 + децитабин. Мышей умерщвляли на 8-й день после этого и определяли тяжесть лейкемии по проточной цитометрии покрасневшей бедренной кости, показывающей процент человеческих CD45 + клеток, после указанной процедуры.

Подробное описание изобретения

Поэтому изобретение обеспечивает в варианте осуществления E1, фармацевтическую комбинацию, которая содержит:

(а) ингибитор Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту,

или их энантиомеры, диастереоизомеры, атропоизомеры или их соли присоединения с фармацевтически приемлемой кислотой или основанием,

и (б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азацитина, в синергетически эффективных количествах, для одновременного, последовательного или раздельного введения.

Дополнительные перечисленные варианты осуществления (E) изобретения описаны в данном изобретении. Следует понимать, что признаки, указанные в каждом из вариантов осуществления, могут быть объединены с другими указанными признаками для обеспечения дополнительных вариантов осуществления настоящего изобретения.

E2. Комбинация в соответствии с E1, где второй противораковый агент представляет собой идарубицин.

E3. Комбинация в соответствии с E1, где второй противораковый агент представляет собой цитарабин.

E4. Комбинация в соответствии с E1, где второй противораковый агент представляет собой децитабин.

E5. Комбинация в соответствии с E1, где второй противораковый агент представляет собой азацитин.

E6. Комбинация в соответствии с любым из E1 - E5, где ингибитор Mcl-1 представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту.

E7. Комбинация в соответствии с любым из E1 - E5, где ингибитор Mcl-1 представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту.

E8. Комбинация в соответствии с E1, которая содержит:

(а) ингибитор Mcl-1, выбранный из (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановой кислоты или (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановой кислоты, и

(б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина, децитабина и азацитина, для одновременного, последовательного или раздельного введения.

E9. Комбинация в соответствии с E7 или E8, где доза (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановой кислоты в течение комбинированного лечения составляет от 25 мг до 1500 мг.

E10. Комбинация в соответствии с E7, E8 или E9, где (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{2-(2-

метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту вводят в течение комбинированного лечения один раз в неделю.

E11. Комбинация в соответствии с любым из E1 - E10, где ингибитор Mcl-1 вводят перорально.

E12. Комбинация в соответствии с любым из E1 - E10, где ингибитор Mcl-1 вводят внутривенно.

E13. Комбинация в соответствии с любым из E1 - E12, для применения для лечения злокачественного новообразования.

E14. Комбинация в соответствии с E13, где злокачественное новообразование представляет собой острую миелоидную лейкемию.

E15. Комбинация в соответствии с E13, где злокачественное новообразование представляет собой острую лимфоцитарную лейкемию.

E16. Комбинация для применения в соответствии с любым из E13 - E15, где ингибитор Mcl-1 и второй противораковый агент обеспечивают в количествах, которые совместно являются терапевтически эффективными для лечения злокачественного новообразования.

E17. Комбинация для применения в соответствии с E16, где ингибитор Mcl-1 и второй противораковый агент обеспечивают в количествах, которые являются синергетически эффективными для лечения злокачественного новообразования.

E18. Комбинация для применения в соответствии с E17, где Mcl-1 ингибитор и второй противораковый агент обеспечивают в синергетически эффективных количествах, которые позволяют уменьшить дозу, необходимую для каждого соединения при лечении злокачественного новообразования, обеспечивая эффективное лечение злокачественного новообразования, с последующим уменьшением побочных эффектов.

E19. Комбинация в соответствии с любым из E1 - E12, для применения для лечения острой миелоидной лейкемии у пациентов, которые достигают ремиссии.

E20. Комбинация в соответствии с любым из E1 - E19, которая дополнительно содержит один или несколько наполнителей.

E21. Комбинация в соответствии с E1, которая дополнительно содержит третий противораковый агент.

E22. Комбинация в соответствии с E21, где второй противораковый агент представляет собой цитарабин, и третий противораковый агент представляет собой идарубицин.

E23. Применение комбинации в соответствии с любым из E1 - E22, для приготовления лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

E24. Применение в соответствии с E23, где злокачественное новообразование представляет собой острую миелоидную лейкемию.

E25. Применение в соответствии с E23, где злокачественное новообразование представляет собой острую лимфоцитарную лейкемию.

E26. Лекарственное средство, которое содержит, отдельно или вместе,

(а) ингибитор Mcl-1, как определено в E1, и

(б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина, для одновременного, последовательного или раздельного введения, и где ингибитор Mcl-1 и второй противораковый агент обеспечивают в эффективных количествах для лечения злокачественного новообразования.

E27. Лекарственное средство, которое содержит, отдельно или вместе,

(а) ингибитор Mcl-1, как определено в E1, и

(б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина, для одновременного, последовательного или раздельного введения, и где ингибитор Mcl-1 и второй противораковый агент обеспечивают в эффективных количествах для лечения злокачественного новообразования.

E28. Лекарственное средство в соответствии с E26 или E27, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, даунорубицина, цитарабина, децитабина и азациитидина.

E29. Способ лечения злокачественного новообразования, который включает совместное введение терапевтически эффективного количества:

(а) ингибитора Mcl-1, как определено в E1, и

(б) второго противоракового агента, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина, субъекту, нуждающемуся в этом.

E30. Способ лечения злокачественного новообразования, который включает совместное введение терапевтически эффективного количества:

(а) ингибитора Mcl-1 как определено в E1, и

(б) второго противоракового агента, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина, субъекту, нуждающемуся в этом.

E31. Способ в соответствии с E29 или E30, где второй противораковый агент выбран из идарубици-

на, цитарабина, децитабина и азациитидина.

Е32. Способ в соответствии с Е29 или Е30, где ингибитор Мсl-1 формулы (I) представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил}окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил}метокси}фенил)пропановую кислоту.

"Комбинация" относится либо к комбинации с фиксированной дозой в одной отдельно взятой дозированной форме (например, капсуле, таблетке или саше), комбинации с нефиксированной дозой, или набору для комбинированного введения, где соединение согласно настоящему изобретению и один или несколько компонентов из комбинации (например, другое лекарственное средство, как объясняется ниже, также обозначается в виде "терапевтического средств" или "соагента") могут вводиться независимо в одно и то же время или раздельно в течение временных интервалов, в особенности, если эти временные интервалы предоставляют возможность для компонентов комбинации проявлять совместный, например, синергетический эффект.

Термины "совместное введение" или "комбинированное введение" или тому подобные, как используется в настоящем изобретении, охватывают введение выбранного компонента комбинации отдельно взятому субъекту, который в этом нуждается (например, пациенту), и включают схемы лечения, при которых агенты не обязательно вводятся одним и тем же путем введения или в одно и то же время.

Термин "комбинация с фиксированной дозой" обозначает, что активные компоненты, например, соединение формулы (I) и один или несколько компонентов комбинации, оба вводятся пациенту одновременно в форме единого целого или дозировки.

Термин "комбинация с нефиксированной дозой" обозначает, что активные компоненты, например, соединение согласно настоящему изобретению и один или несколько компонентов комбинации, оба вводятся пациенту в виде раздельных составляющих либо одновременно или последовательно, без специфических временных ограничений, где такое введение обеспечивает терапевтически эффективные уровни двух соединений в организме пациента. Последнее также применяется для коктейльной терапии, например, введение трех или более активных компонентов.

Термин 'злокачественное новообразование' означает класс заболевания, при котором группа клеток демонстрирует неконтролируемый рост. Типы злокачественных новообразований включают гематологические злокачественные новообразования, включая острую миелоидную лейкемию, миелодиспластические синдромы, острую лимфоцитарную лейкемию и лимфому. Типы злокачественных новообразований также включают солидные опухоли, включая карциному, саркому или бластому.

Термин "совместно терапевтически эффективны" обозначает, что терапевтические средства могут вводиться раздельно (в хронологически установленном порядке, в особенности специфически к последовательности образом) в такие временные интервалы, что они могут предпочтительно, у теплокровного животного, в особенности у человека, лечить, все еще проявляя (предпочтительно синергетическое) взаимодействие (совместный терапевтический эффект). В любом случае, это может быть установлено, в частности, путем определения последующих уровней в крови, свидетельствующих о том, что оба соединения присутствуют в крови человека, подвергаемого лечению, по меньшей мере на протяжении определенных временных интервалов.

Термин "стандартный лекарственный препарат" или "стандартная химиотерапия" означает идарубицин, даунорубицин, митоксантрон, цитарабин, децитабин, гвадецитабин или азациитидин. В частности, "стандартный лекарственный препарат" или "стандартная химиотерапия" предполагает идарубицин, даунорубицин, цитарабин, децитабин или азациитидин.

"Синергетически эффективны" или "синергизм" обозначает, что терапевтический эффект, наблюдаемые после введения двух или более агентов является больше, чем сумма терапевтических эффектов, наблюдаемых после введения каждого отдельно взятого средства.

Как используется в настоящем изобретении, термин "лечить", "лечение" или "терапия" любого заболевания или нарушения относится в одном варианте осуществления, к ослаблению заболевания или нарушения (то есть, облучение или остановка или уменьшение развития заболевания или по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом варианте осуществления "лечить", "лечение" или "терапия" относится к ослаблению или облегчению по меньшей мере одного физического параметра, включая те, которые могут не ощущаться пациентом. В еще другом варианте осуществления, "лечить", "лечение" или "терапия" относится к модуляции заболевания или нарушения, либо физически, (например, стабилизация различного симптома), физиологически, (например, стабилизация физического параметра), или обоих.

Как используется в настоящем изобретении, субъект "нуждается в" лечении, если такой субъект будет получать преимущества биологически, медицински или качества жизни от такого лечения.

Термин "ремиссия" относится к уменьшению или исчезновению признаков и симптомов злокачественного новообразования.

В другом аспекте, обеспечивается способ сенсбилизации человека, который (I) рефракторный к по меньшей мере одному химиотерапевтическому лечению, или (II) имеет рецидив после лечения с применением химиотерапии, или в обоих случаях (I) и (II), где способ включает введение ингибитора Мсl-1

формулы (I) в комбинации со вторым противораковым агентом, как описано выше, пациенту. Пациент, который сенсibilизируется, представляет собой пациента, который отвечает на лечение, включающее введение ингибитора Mcl-1 формулы (I) в комбинации со вторым противораковым агентом, как описано выше, или у которого не развилась резистентность к такому лечению.

"Лекарственное средство" обозначает фармацевтическую композицию, или комбинацию нескольких фармацевтических композиций, которые содержат один или несколько активных компонентов в присутствии одного или нескольких наполнителей.

'AML' означает острую миелоидную лейкемию.

'ALL' означает острую лимфоцитарную лейкемию.

В фармацевтических композициях в соответствии с изобретением, пропорция активных компонентов по весу (вес активных компонентов по отношению к общему весу композиции) составляет 5-50%.

В качестве фармацевтических композиций в соответствии с изобретением, более специфически используют те, которые являются подходящими для введения пероральным, парентеральным и в особенности внутривенным, через-или транс-кожным, назальным, ректальным, подъязычным, глазным или респираторным путем, более специфически таблетки, драже, подъязычные таблетки, твердые желатиновые капсулы, таблетки для медленного растворения под языком, капсулы, пастилки, инъеклируемые препараты, аэрозоли, глазные капли или капли в нос, суппозитории, кремы, мази, кожные гели и др.

Фармацевтические композиции в соответствии с изобретением могут содержать один или несколько наполнителей или носителей, выбранных из разбавителей, смазывающих веществ, связующих, дезинтеграторов, стабилизаторов, консервантов, абсорбентов, красителей, подсластителей, ароматизаторов и др.

В качестве неограничивающего примера можно указать:

в качестве разбавителей: лактоза, декстроза, сахароза, маннит, сорбит, целлюлоза, глицерин,

в качестве смазывающих веществ: диоксид кремния, тальк, стеариновая кислота и ее магниевая и кальциевая соли, полиэтиленгликоль,

в качестве связующих: алюмосиликат магния, крахмал, желатин, трагакант, метилцеллюлоза, натрий карбоксиметилцеллюлоза и поливинилпирролидон,

в качестве дезинтеграторов: агар, альгиновая кислота и ее натриевая соль, шипучие смеси.

Соединения комбинации могут вводиться одновременно или последовательно. Путь введения предпочтительно представляет собой внутривенную инфузию или инъекцию, и соответствующие фармацевтические композиции могут предоставлять возможность немедленного или отсроченного

высвобождения активных компонентов. Соединения комбинации, кроме того, могут вводиться в форме двух отдельных фармацевтических композиций, каждая из которых содержит один из активных компонентов, или в форме единственной фармацевтической композиции, в которой активные компоненты представлены в смеси.

Применяемые схемы дозирования изменяются в зависимости от пола, возраста и веса пациента, пути введения, природы злокачественного новообразования и любых сопутствующих лечений и находится в диапазоне от 25 мг до 1500 мг Mcl-1 ингибитора в неделю, более предпочтительно от 50 мг до 1400 мг в неделю. Доза второго противоракового агента, как описано выше, будет такой же, как используется при его самостоятельном введении.

Фармакологические данные.

Пример 1. Влияние на пролиферацию *in vitro* комбинации ингибитора Mcl-1 с идарубицином, цитарабином и децитабином на клеточных линиях острой миелоидной лейкемии (AML).

Вещества и методы.

Клеточные линии получали и поддерживали в основной среде, дополненной фетальной бычьей сывороткой, как указано в табл. 1. Дополнительно, все питательные среды содержали пенициллин (100 МЕ/мл), стрептомицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (2 мМ).

Клеточные линии культивировали при 37°C в увлажненной атмосфере, содержащей 5% CO₂, и распротраняли в T-150 колбах. Во всех случаях, клетки размораживали из замороженных стоков, пропускали через ≥ 1 пассаж, используя подходящие разведения, подсчитывали и оценивали их жизнеспособность, используя CASY счетчик клеток перед высеванием 150 мкл/лунку при плотностях, указанных в табл. 1, в 96-луночные планшеты. Все клеточные линии определяли как не содержащие микоплазматических загрязнений с помощью собственных методов. Маточные растворы соединений готовили при концентрации 5 мМ в ДМСО и хранили при -20°C.

Чтобы проанализировать активность соединений как отдельных агентов, клетки высевали и обрабатывали девятью 2-кратными серийными разведениями каждого соединения, раздаваемого индивидуально непосредственно в планшеты для анализа клеток. Влияние соединений на жизнеспособность клеток оценивали после 3 дней инкубации при 37°C/5% CO₂ путем количественного определения уровней АТФ в клетках с использованием CellTiterGlo при концентрации реагента 75 мкл/лунку. Все эксперименты были выполнены в трех экземплярах. Люминесценцию количественно определяли на многофункциональном планшет-ридере. Значения IC₅₀ для одного агента рассчитывали с использованием стандартного подбора четырехпараметрической кривой. Значение IC₅₀ определяется как концентрация соединения, при

которой сигнал CTG уменьшается до 50% от измеренного для контроля носителя (ДМСО) (табл. 2).

Для анализа активности соединений в комбинации с цитарабином (табл. 3), идарубицином (табл. 4) и децитабином (табл. 5), клетки высевали и обрабатывали семи или восьми 3,16-кратными серийными разведениями для каждого диспергированного соединения, либо индивидуально, либо во всех возможных перестановках в шахматном порядке, непосредственно в планшетах для анализа клеток, как указано на фиг. 1. Влияния отдельно взятых агентов, а также их комбинаций в шахматном порядке, на жизнеспособность клеток оценивали после инкубирования в течение 3 дней при 37°C/5 % CO₂ путем количественного определения клеточных уровней АТФ, используя CellTiterGlo в количестве 75 мкл реагента/лунку. Осуществляли по меньшей мере два независимых эксперимента, каждый из них осуществляли в двух повторах. Люминесценцию количественно определяли на многоцелевом планшет-ридере.

Оценивали потенциальные синергетические взаимодействия между комбинациями соединений, используя 2D матрицу избытка ингибирования в соответствии с моделью аддитивности Loewe и представляли в виде Оценки синергизма (Lehar et al., Nature Biotechnology 2009, 27(7), 659-66). Все расчеты осуществляли, используя программное обеспечение Clalice™ Bioinformatics, доступное на вебсайте Horizon.

Время удвоения, указанное в табл. 1, представляет собой среднее значение времени удвоения, полученное в различных пассажах (в T-150 колбах), проведенных из размороженных клеток при их высевании в 96-луночные планшеты.

Оценка синергизма.

SS ~ 0 → аддитивный.

SS ≥ 1 → слабый синергизм.

SS ≥ 2 → синергизм.

Таблица 1

Условия идентификации и анализов для 13 клеточных линий AML, используемых в комбинированных экспериментах

Клеточная линия	Среда	%FBS	Источник	Время удвоения (часы)	Количество высеванных клеток /лунку
MV4;11	RPMI	10	ATCC Cat# CRL-9591	31.0	56520
MOLM-13	RPMI	10	DSMZ Cat# ACC554	32.4	56520
PL-21	RPMI	10	DSMZ Cat# ACC536	32.4	56520
ML-2	RPMI	10	DSMZ Cat# ACC15	31.6	56520
Nom0-1	RPMI	10	DSMZ Cat# ACC552	43.5	56520
THP-1	RPMI	10	ATCC Cat# TIB-202	49.6	56520
HL-60	IMDM	20	ATCC Cat# CCL240	34.8	56520
Kasumi-1	RPMI	20	ATCC Cat# CRL2724	59.4	56520
OCI-AML3	MEM альфа	20	DSMZ Cat# ACC582	25.7	56520
EOL-1	RPMI	10	DSMZ Cat# ACC386	37.6	113040
GDM-1	RPMI	10	ATCC Cat# CRL2627	31.6	56520
KG1	IMDM	20	ATCC Cat# CCL246	45.7	56520
KG1a	IMDM	20	ATCC Cat# CCL246.1	36.5	56520

Таблица 2

Клеточная линия	Соединение 1		Соединение 2		Цитарабин		Идарубицин		Децитабин	
	Исх. конц. [мкМ]	IC ₅₀ [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	IC ₅₀ [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	IC ₅₀ [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	IC ₅₀ [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	IC ₅₀ [мкМ]
MV4;11	0.01	0.001	0.01	0.001	2.0	0.14	0.1	0.001	5.0	0.4
MOLM-13	0.01	0.002	0.10	0.004	2.0	0.19	0.1	0.003	5.0	0.4
PL-21	0.10	0.065	2.00	0.238	2.0	0.10	2.0	0.023	5.0	> 5
ML-2	0.10	0.005	0.10	0.022	0.1	0.03	0.1	0.010	40.0	14.0
Nomo-1	0.05	0.013	0.05	0.022	2.0	0.99	0.1	0.028	5.0	> 5
THP-1	0.10	0.017	2.00	0.051	2.0	> 2	0.1	0.024	30.0	> 30
HL-60	0.10	0.025	2.00	0.086	2.0	0.74	0.1	0.002	30.0	14.0
Kasumi-1	2.00	0.033	2.00	0.066	2.0	1.02	0.1	0.003	30.0	5.5
OCI-AML3	2.00	0.146	2.00	0.340	2.0	> 2	0.1	0.020	30.0	8.0
EOL-1	0.10	0.001	0.10	0.002	2.0	0.09	0.1	0.002	5.0	0.49
GDM-1	0.10	0.008	0.10	0.027	0.1	0.03	0.1	0.008	80.0	41.0
KG1	30.00	0.390	2.00	0.413	2.0	0.17	0.1	0.006	30.0	5.8
KG1a	30.00	2.000	30.00	2.200	2.0	0.24	0.1	0.010	30.0	14.0

Указаны значения IC₅₀ для отдельно взятого соединения 1, соединения 2, цитарабина, идарубицина и децитабина в 13 клеточных линиях AML.

Таблица 3

Клеточная линия	Соединение 1	Соединение 2	Цитарабин	Комбинация Соединение 1 + Цитарабин		Комбинация Соединение 2 + Цитарабин	
	Исх. конц. [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	Среднее значение оценки синергизма	Отклонение в оценке синергизма (co)	Среднее значение оценки синергизма	Отклонение в оценке синергизма (co)
MV4;11	0.1	0.3	2.0	2.3	0.1	5.3	2.7
MOLM-13	0.1	0.3	2.0	3.6	1.2	2.7	0.1
PL-21	0.3	2.0	2.0	2.4	0.1	2.5	0.5
ML-2	0.1	0.3	2.0	2.7	0.3	3.2	0.2
Nomo-1	-	0.3	2.0	ND	ND	2.0	0.3
THP-1	-	0.3	2.0	ND	ND	0.6	0.4
HL-60	-	0.3	2.0	ND	ND	1.0	0.0
Kasumi-1	-	0.3	2.0	ND	ND	3.3	0.4
OCI-AML3	2	2.0	2.0	2.7	0.2	2.9	0.3
EOL-1	-	0.1	2.0	ND	ND	2.7	0.4
GDM-1	0.1	0.3	2.0	3.1	0.0	4.2	0.4
KG1	-	2.0	2.0	ND	ND	0.9	0.1
KG1a	-	5.0	2.0	ND	ND	1.5	0.5

Указаны оценки синергизма для ингибитора Mcl-1 в комбинации с цитарабином в указанных клеточных линиях AML. Взаимодействия считаются синергетическими, если наблюдается оценка $\geq 2,0$. Указаны исходные концентрации соединений, среднее значение максимального ингибирования и стандартное отклонение (co) в оценках синергизма.

Таблица 4

Клеточная линия	Соединение 1	Соединение 2	Идарубицин	Комбинация Соединение 1 + Идарубицин		Комбинация Соединение 2 + Идарубицин	
	Исх. конц. [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	Среднее значение оценки синергизма	Отклонение в оценке синергизма (co)	Среднее значение оценки синергизма	Отклонение в оценке синергизма (co)
MV4;11	0.1	0.3	0.1	1.0	0.1	4.9	0.1
MOLM-13	0.1	0.3	0.1	1.6	1.3	3.4	0.5
PL-21	0.3	2.0	0.1	1.0	0.1	1.6	0.6
ML-2	0.1	0.3	0.1	3.7	0.4	4.7	0.2
Nomo-1	-	0.3	0.1	ND	ND	2.2	0.0
THP-1	-	0.3	0.1	ND	ND	1.1	0.3
HL-60	-	0.3	0.1	ND	ND	1.8	0.3
Kasumi-1	-	0.3	0.1	ND	ND	3.1	0.5
OCI-AML3	2	2.0	0.1	5.5	0.6	8.2	1.0
EOL-1	-	0.1	0.1	ND	ND	3.9	1.2
GDM-1	0.1	0.3	0.1	4.0	1.3	4.7	1.1
KG1	-	2.0	0.1	ND	ND	1.8	0.9
KG1a	-	5.0	0.1	ND	ND	1.4	0.4

Указаны оценки синергизма для ингибитора Mcl-1 в комбинации с идарубицином в указанных клеточных линиях AML. Взаимодействия считаются синергетическими, если наблюдается оценка $\geq 2,0$. Указаны исходные концентрации соединений, среднее значение максимального ингибирования и стандартное отклонение (co) в оценках синергизма.

Таблица 5

Клеточная линия	Соединение 1	Соединение 2	Децитабин	Комбинация Соединение 1 + Децитабин		Комбинация Соединение 2 + Децитабин	
	Исх. конц. [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	Исх. конц. [мкМ]	Среднее значение оценки синергизма	Отклонение в оценке синергизма (co)	Среднее значение оценки синергизма	Отклонение в оценке синергизма (co)
MV4;11	0.1	0.3	5.0	4.1	1.9	8.1	1.6
MOLM-13	0.1	0.3	5.0	4.8	1.0	5.4	1.3
PL-21	0.3	2.0	5.0	1.5	0.2	1.6	0.1
ML-2	0.1	0.3	5.0	4.3	0.4	3.7	0.7
Nomo-1	-	0.3	5.0	ND	ND	4.1	1.0
THP-1	-	0.3	5.0	ND	ND	1.7	0.4
HL-60	-	0.3	5.0	ND	ND	2.3	0.2
Kasumi-1	-	0.3	5.0	ND	ND	4.8	0.4
OCI-AML3	2	2.0	5.0	6.6	0.7	7.1	0.0
EOL-1	-	0.1	5.0	ND	ND	6.3	1.2
GDM-1	0.1	0.3	5.0	4.5	0.3	4.3	0.6
KG1	-	2.0	5.0	ND	ND	2.8	0.4
KG1a	-	5.0	5.0	ND	ND	2.7	0.8

Указаны оценки синергизма для ингибитора Mcl-1 в комбинации с децитабином в указанных клеточных линиях AML. Взаимодействия считаются синергетическими, если наблюдается оценка $\geq 2,0$. Указаны исходные концентрации соединений, среднее значение максимального ингибирования и стандартное отклонение (co) в оценках синергизма.

Результаты.

Влияние на пролиферацию комбинации ингибиторов Mcl-1 данного изобретения с цитарабином, идарубицином и децитабином оценивали на панели 13 клеточных линий AML. Ингибиторы Mcl-1 как отдельные агенты сильно ингибировали рост большинства из 13 протестированных линий AML (значения IC₅₀ от 1 нМ до 2,2 мкМ - табл. 2). В комбинации со стандартными лекарственными средствами цитарабином, идарубицином и децитабином наблюдалось синергетическое ингибирование роста (то есть

оценка синергизма - выше 2 (Lehar et al, 2009)) для большинства протестированных клеточных линий (табл. 3, 4 и 5). Эти данные указывают на то, что комбинация ингибиторов Mcl-1 с стандартными лекарственными препаратами для медицинской помощи для лечения гематологического злокачественного новообразования может быть полезной для лечения пациентов с AML.

Пример 2. Синергетическая проапоптотическая активность комбинации ингибиторов Mcl-1 с идарубицином в первичных образцах AML человека.

Вещества и метод. Пациент с клетками AML.

Образцы костного мозга от пациентов с AML были собраны после информированного согласия в соответствии с руководящими принципами, утвержденными Комитетом по этике научных исследований при больнице Альфреда.

Мононуклеарные клетки выделяли центрифугированием в градиенте плотности Ficoll-Huраque (GE Healthcare, Австралия) и лизис эритроцитов проводили с использованием 0,156 М NH₄Cl, 0,017 М Tris-HCl, при pH 7,2, как описано ранее (Rijal et al., Blood 2015, 125, 2815-2824). Клетки затем повторно суспендировали в забуференном фосфатом соляном растворе, содержащем 2% фетальной бычьей сыворотки (FBS; Sigma, Австралия). Затем мононуклеарные клетки суспендировали в среде RPMI-1640 (GIBCO, Австралия), содержащей пенициллин и стрептомицин (GIBCO) и инактивированную теплом фетальную бычью сыворотку 15% (Sigma). Клетки промывали в фосфатно-соляном буфере (PBS), содержащем 2% FBS, перед использованием.

Анализ жизнеспособности клеток.

Свежеочищенные мононуклеарные клетки из образцов пациентов с AML доводили до концентрации $2,5 \times 10^5$ /мл, и отбирали аликвоту клеток объемом 100 мкл на лунку в 96-луночные планшеты (Sigma). Клетки затем обрабатывали идарубицином и соединением 2 в рамках 5 log-концентраций в диапазоне от 1 нМ до 10 мкМ в течение 48 ч. Для анализов комбинаций препараты добавляли в соотношении 1:1, получая концентрации от 1 нМ до 10 мкМ, и клетки инкубировали при 37°C и 5% CO₂. Клетки затем окрашивали с помощью красителя Sytox blue nucleic acid stain (Invitrogen, Австралия) и флуоресценцию измеряли с помощью проточного цитометрического анализа с использованием LSR-II Fortessa (Becton Dickinson, Австралия). Для сбора данных использовали программное обеспечение FACSDiva, а программное обеспечение FlowJo использовали для анализа. Бластные клетки стробировали с использованием свойств прямого и бокового рассеяния. Параметры жизнеспособных клеток, которые не включали Sytox blue, определяли при 6 концентрациях для каждого препарата и 50% летальной концентрации (LC₅₀, в мкМ).

Таблица 6
Синергетическая проапоптотическая активность в первичных образцах АМЛ человека

Пациент с АМЛ	Соединение 2 (мкМ)	Идарубицин (мкМ)	Соединение 2 + Идарубицин (мкМ)
АН6214498	0.0008676	0.001114	0.0004251
АН6223646	0.1476	0.3153	0.0008576
АН6607085	0.1427	0.563	0.0009918
АН6229985	0.004826	0.001379	0.001667
АН0979006	0.06177	0.001069	0.004134
АН6220847	0.2097	0.01442	0.004207
АН6208654	9.424	0.308	0.004915
6200840	0.2268	0.3844	0.006903
АН6210946	0.0556	0.1054	0.01187
АН6217528	1.157	0.03348	0.02817
АН1081582	4.355	0.1839	0.08559
АН0131936	10.65	0.8862	0.09514
АН0607688	22.87	0.5928	0.5928
АН6208160	21.62	1.75	0.6885
АН6627892	14.16	2.204	0.936
АН6202849	13.01	2.874	1.145
АН6181414_2	15.5	3.468	1.703
АН6615742	14.51	2.934	2.932
АН0465385	23.02	5.128	4.969
АН6120264	0.6793	0.328	5.077
АН6219953	38.83	4.367	6.111
АН1228742	5365	404	90.68
АН6224104	607.8	192.3	192.3

Результаты.

Влияние на выживаемость комбинации ингибиторов Mcl-1 согласно изобретению с идарубицином оценивали в нескольких первичных образцах АМЛ человека (фиг. 2; табл. 6). Даже если несколько образцов являются чувствительными к ингибиторам Mcl-1 и стандартным лекарственным препаратам для лечения АМЛ в качестве монотерапии, большее количество образцов, где монотерапия неэффективна или слабоэффективна, являются синергетически чувствительными к комбинации ингибиторов Mcl-1 со стандартными лекарственными препаратами для лечения гематологического злокачественного новообразования, демонстрируя, что комбинация может быть полезна для лечения пациентов с АМЛ.

Пример 3. Лейкозные бластные клетки показывали большую чувствительность к ингибиторам Mcl-1 в комбинации с цитарабином, чем кроветворные клетки-предшественники CD34+.

Вещества и метод. Анализы колониеобразования.

Анализы колониеобразования проводили на свежеочищенных и замороженных мононуклеарных фракциях от пациентов с АМЛ.

Первичные клетки культивировали в двух экземплярах в 35 мм сосудах (Griener-bio, Германия) от 1×10^4 до 1×10^5 . Клетки высевали в 0,6% агара (Difco, Австралия): AIMDM 2x (IMDM порошок-Invitrogen, дополненный NaHCO_3 , декстраном, Pen/Strep, В-меркаптоэтанолом и аспарагином): фетальная бычья сыворотка (Sigma) в соотношении 2:1:1. Для оптимальных условий роста все сосуды содержали GM-CSF (100 нг на сосуд), IL-3 (100 нг на сосуд R & D Systems, США), SCF (100 нг/сосуд системы R & D) и EPO (4 ед./сосуд). Рост происходил в течение 2-3 недель в присутствии и отсутствии препарата при 37°C и 5% CO_2 в инкубаторе с высокой влажностью. После инкубации планшеты фиксировали с помощью 2,5% глутаральдегида в соляном растворе и оценивали, используя GelCount от Oxford Optonix (Абингдон, Великобритания).

Результаты.

В клоногенных анализах подмножество первичных образцов АМЛ и нормальных клеток-предшественников CD34+ человека были устойчивы к 100 нМ соединения 2. В отличие от этого, стандартные лекарственные препараты, такие как цитарабин 10 нМ, были токсичными для клоногенного роста как лейкемических, так и нормальных клеток-предшественников. В конце концов, подмножество первичных образцов АМЛ было чувствительным к 10 нМ соединения 2 + цитарабина, тогда как на нормаль-

ные клетки-предшественники CD34 + человека эта доза имела меньшее воздействие (фиг. 3).

Пример 4. Ингибитор Mcl-1 в комбинации с децитабином является хорошо переносимым *in vivo*.

Для определения переносимости соединения 2 в комбинации с децитабином мышам NSG вводили:

а) децитабин 0,4 мг/кг или 0,8 мг/кг с помощью интраперитонеальной инъекции, или

б) децитабин 0,4 мг/кг или 0,8 мг/кг в комбинации с соединением 2 25 мг/кг (в/в),

в течение 1 недели и количество лейкоцитов (WBC), тромбоцитов, гемоглобина (Hb), количество эритроцитов (RBC) определяли с помощью анализатора крови Hemavet.

Соединение 2 в сочетании с децитабином является хорошо переносимым (фиг. 5) и мыши не теряли вес в течение лечения (фиг. 4).

Взятые в целом, примеры 2, 3 и 4 показывают, что комбинация ингибиторов Mcl-1 и стандартного лекарственного препарата для лечения гематологического злокачественного новообразования является новым подходом к лечению, в частности, AML, без необходимости в дополнительной химиотерапии и с приемлемым терапевтическим окном безопасности.

Пример 5. Ингибитор Mcl-1 в сочетании с децитабином синергетически ингибирует PDX AML *in vivo*.

Вещества и метод.

Лейкозные бластные клетки костного мозга из образца AML54 пациента с AML внутривенно инъецировали мышам NOD-IL2Rγnull (NRG) (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, США) для размножения. Мыши NRG-SG3 подвергали мониторингу на развитие лейкемии с помощью проточного цитометрического анализа периферической крови в отношении CD45-позитивных (hCD45 +) клеток человека. Для создания мышинных моделей первичной AML у пациентов мышей NRG-SG3 инъецировали 1×10^6 лейкозными бластными клетками посредством инъекции в хвостовую вену, и животных наблюдали на предмет прогрессирования лейкемии с использованием проточного цитометрического анализа периферической крови в отношении hCD45 + клеток. Количество клеток hCD45 + в костном мозге от бедренных костей у умерщвленных животных использовали для определения степени инфильтрации лейкемии. Клетки костного мозга извлекали путем промывки бедренных костей в PBS с добавлением 2% эмбриональной бычьей сыворотки. Чтобы определить действие на AML, группы мышам вводили контрольный носитель, децитабин (0,4 мг/кг) ежедневно в течение 5 дней, интраперитонеально, дважды в неделю внутривенно инъекцией соединения 2 (ингибитор Mcl-1, 25 мг/кг) или децитабина в комбинации с соединением 2. Эффективность препарата определяли с помощью проточного цитометрического анализа клеток hCD45 + в костном мозге, выделенном из бедренных костей мышей в носителе.

Результаты.

Как показано на фиг. 6, наблюдалось значительное снижение количества клеток AML человека у мышей, которым вводили децитабин в комбинации с соединением 2, причем клетки hCD45 + составляли менее 9% лейкоцитов костного мозга. Эти результаты показывают, что комбинация ингибитора Mcl-1 и стандартного лекарственного препарата для лечения гематологического злокачественного новообразования эффективно убивает объемные бластные клетки AML человека в PDX-модели AML54.

Пример 6. Синергетическая проапоптотическая активность комбинации ингибиторов Mcl-1 со стандартными лекарственными препаратами для медицинской помощи в первичных образцах ALL человека.

Вещества и метод: первичные образцы ALL пациента.

Образцы костного мозга или периферической крови пациентов с ALL были собраны после информированного согласия в соответствии с руководящими принципами, утвержденными Комитетом по этике научных исследований в больнице Альфреда. Мононуклеарные клетки выделяли центрифугированием в градиенте плотности Ficoll-Paque (GE Healthcare, Australia) с последующим уменьшением эритроцитов в лизисном буфере хлорида аммония (NH_4Cl) при 37°C в течение 10 мин. Затем клетки повторно суспендировали в забуференном фосфатом соляном растворе, содержащем 2% фетальной бычьей сыворотки (Sigma, Австралия). Затем мононуклеарные клетки суспендировали в среде RPMI-1640 (GIBCO, Австралия), содержащей пенициллин и стрептомицин (GIBCO) и инактивированную теплом фетальную бычью сыворотку 15% (Sigma).

Анализ жизнеспособности клеток.

Свежеочищенные мононуклеарные клетки из образцов пациентов с ALL доводили до концентрации $2,5 \times 10^5$ /мл, и отбирали аликвоту клеток объемом 100 мкл на лунку в 96-луночные планшеты (Sigma). Клетки затем обрабатывали указанными лекарственными средствами в рамках 6 log-концентраций в диапазоне от 1 нМ до 10 мкМ в течение 48 часов. Для анализов комбинаций препараты добавляли в соотношении 1:1, получая концентрации от 1 нМ до 10 мкМ, и клетки инкубировали при 37°C и 5% CO_2 . Клетки затем окрашивали с помощью красителя Sytox blue nucleic acid stain (Invitrogen, Австралия) и флуоресценцию измеряли с помощью проточного цитометрического анализа с использованием LSR-II Fortessa (Becton Dickinson, Австралия). Для сбора данных использовали программное обеспечение FACSDiva, а программное обеспечение FlowJo использовали для анализа. Бластные клетки стробировали с использованием свойств прямого и бокового рассеяния. Параметры жизнеспособных клеток, которые не включали Sytox blue, определяли при 6 концентрациях для каждого препарата и 50% летальной кон-

центрации (LC₅₀, в мкМ).

Таблица 7

Синергетическая проапоптотическая активность в первичных образцах ALL человека.

Пациент с AML	Соединение 2 (мкМ)	Цитарабин (мкМ)	Соединение 2 + Цитарабин (мкМ)
АН6198549	0.0159	10.62	0.0131
АН7024700	1.31	35.89	0.0283
АН7008157	0.0129	> 100	0.0144
ТВ 17-06-18	8.489	> 100	0.0718
ТВ 15-06-05	0.9755	> 100	0.4898
ТВ 10-05-02	> 10	> 100	33.69
ТВ 11-08-06	> 10	> 100	0.2241
АН6258921	2.959	> 100	10.34
АН6196680	1.061	> 100	1.834
ТВ120803	2.143	> 100	7.803
АН7104727	3.213	> 100	22.55
АН6031524	7.048	51.65	> 10
АН6184311	4.882	87.96	10.4
ТВ151005	> 10	> 100	> 100
01-046-2018	1.301	> 100	2.837

Результаты.

Влияние на выживаемость комбинации ингибиторов Mcl-1 согласно изобретению с цитарабином оценивали в нескольких первичных образцах ALL человека (табл. 7). Даже если несколько образцов являются чувствительными к ингибиторам Mcl-1 и стандартным лекарственным препаратам для лечения ALL в качестве монотерапии, большее количество образцов, где монотерапия неэффективна или слабоэффективна, являются синергетически чувствительными к комбинации ингибиторов Mcl-1 со стандартными лекарственными препаратами для лечения гематологического злокачественного новообразования, демонстрируя, что комбинация может быть полезна для лечения пациентов с ALL.

Пример 7. Ингибитор Mcl-1 в сочетании с децитабином синергетически ингибирует PDX AML *in vivo*.

Вещества и метод.

Для создания мышиных моделей первичной AML у пациентов, мышей NOD-IL2R γ null (NRG-SG3) (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, США) инъецировали 1×10^6 лейкозными бластными клетками путем инъекции в хвостовую вену, и животных, наблюдали на предмет прогрессирования лейкемии с использованием проточного цитометрического анализа периферической крови в отношении hCD45 + клеток. Количество клеток hCD45 + в костном мозге от бедренных костей у умерщвленных животных использовали для определения степени инфильтрации лейкемии. Клетки костного мозга извлекали путем промывки бедренных костей в PBS с добавлением 2% эмбриональной бычьей сыворотки. Чтобы определить действие комбинации соединения 1 + децитабин, мышам вводили соединение 1 по 25 мг/кг дважды в неделю внутривенно и децитабин интраперитонеально каждый день (D1-D5) по 0.4 мг/кг. Эффективность препарата определяли с помощью проточного цитометрического анализа клеток hCD45 + в костном мозге, выделенном из бедренных костей. Грудные кости фиксировали в формалине, делали срезы и окрашивали гематоксилином и эозином или анти-hCD45 для оценки тяжести лейкемии и насыщенности лейкозными клетками.

Результаты.

Полученные результаты показывают, что комбинация ингибиторов Mcl-1 со стандартными лекарственными препаратами для лечения гематологического злокачественного новообразования может быть полезной для лечения пациентов с AML.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая комбинация, которая содержит:

(а) ингибитор Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил}окси}-3-(2-{{1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пирозол-5-ил}метокси}фенил)пропановую кислоту или (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил}окси}-3-(2-{{2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил}метокси}фенил)пропановую кислоту,

или их энантиомеры, диастереоизомеры, атропоизомеры или их соли присоединения с фармацевтически приемлемой кислотой или основанием,

и (б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина,

в синергетически эффективных количествах, для одновременного, последовательного или раздельного введения.

2. Фармацевтическая комбинация по п.1, где второй противораковый агент представляет собой идарубицин.

3. Фармацевтическая комбинация по п.1, где второй противораковый агент представляет собой цитарабин.

4. Фармацевтическая комбинация по п.1, где второй противораковый агент представляет собой децитабин.

5. Фармацевтическая комбинация по п.1, где второй противораковый агент представляет собой азациитидин.

6. Фармацевтическая комбинация по п.1, где ингибитор Mcl-1 представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту.

7. Фармацевтическая комбинация по п.1, где ингибитор Mcl-1 представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту.

8. Фармацевтическая комбинация по п.7, где доза (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановой кислоты в течение комбинированного лечения составляет от 25 до 1500 мг в неделю.

9. Фармацевтическая комбинация по п.7 или 8, где (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту вводят в течение комбинированного лечения один раз в неделю.

10. Фармацевтическая комбинация по п.1, где ингибитор Mcl-1 вводят перорально.

11. Фармацевтическая комбинация по п.1, где ингибитор Mcl-1 вводят внутривенно.

12. Применение фармацевтической комбинации по п.1 для лечения злокачественного новообразования.

13. Применение по п.12, где злокачественным новообразованием является острая миелоидная лейкемия или острая лимфоцитарная лейкемия.

14. Применение по п.12 или 13, где ингибитор Mcl-1 и второй противораковый агент обеспечивают в синергетически эффективных количествах, которые позволяют уменьшить дозу, необходимую для каждого соединения при лечении злокачественного новообразования, обеспечивая эффективное лечение злокачественного новообразования, с последующим уменьшением побочных эффектов.

15. Применение по п.13, где злокачественным новообразованием является острая миелоидная лейкемия у пациентов, которые достигают ремиссии.

16. Фармацевтическая комбинация по п.1, которая дополнительно содержит один или несколько наполнителей.

17. Фармацевтическая комбинация по п.1, которая дополнительно содержит третий противораковый агент.

18. Фармацевтическая комбинация по п.17, где второй противораковый агент представляет собой цитарабин, и третий противораковый агент представляет собой даунорубицин или идарубицин.

19. Применение фармацевтической комбинации по п.1 для приготовления лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

20. Применение по п.19, где злокачественным новообразованием является острая миелоидная лейкемия или острая лимфоцитарная лейкемия.

21. Лекарственное средство, которое содержит, отдельно или вместе,

(а) ингибитор Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пиразол-5-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту или (2R)-2-{{(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил)пропановую кислоту, и

(б) второй противораковый агент, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина,

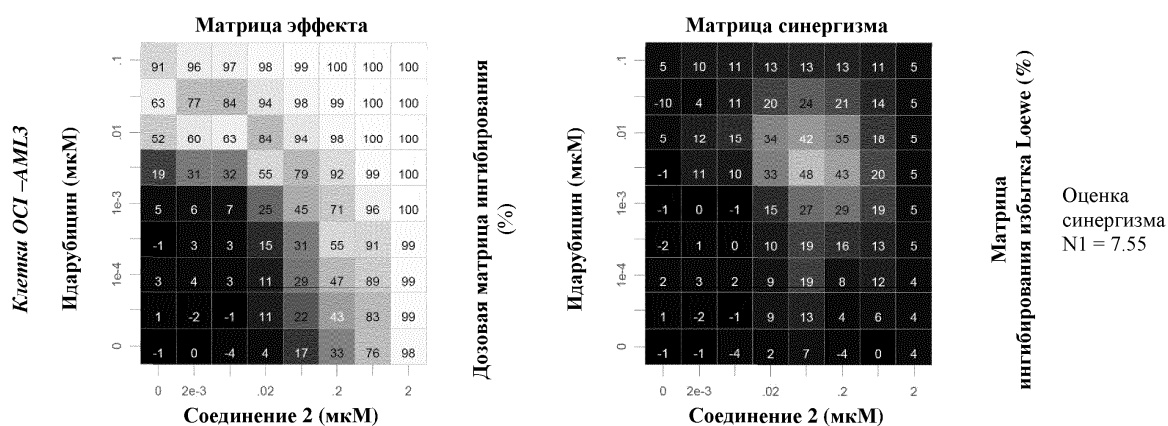
для одновременного, последовательного или раздельного введения, и где ингибитор Mcl-1 и второй противораковый агент обеспечивают в синергетически эффективных количествах для лечения злокачественного новообразования.

22. Способ лечения злокачественного новообразования, который включает введение синергетически эффективного количества:

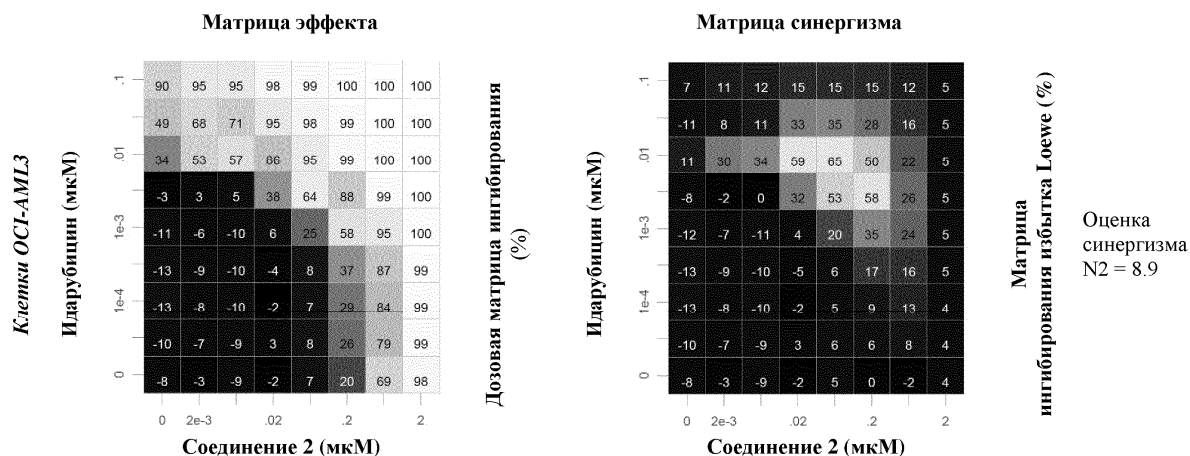
(а) ингибитора Mcl-1, который представляет собой (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(5-фторфуран-2-ил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[1-(2,2,2-трифторэтил)-1H-пирозол-5-ил]метокси}фенил]пропановую кислоту или (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил]пропановую кислоту, и

(б) второго противоракового агента, где второй противораковый агент выбран из идарубицина, цитарабина и гипометилирующих агентов, выбранных из децитабина и азациитидина, субъекту, нуждающемуся в этом.

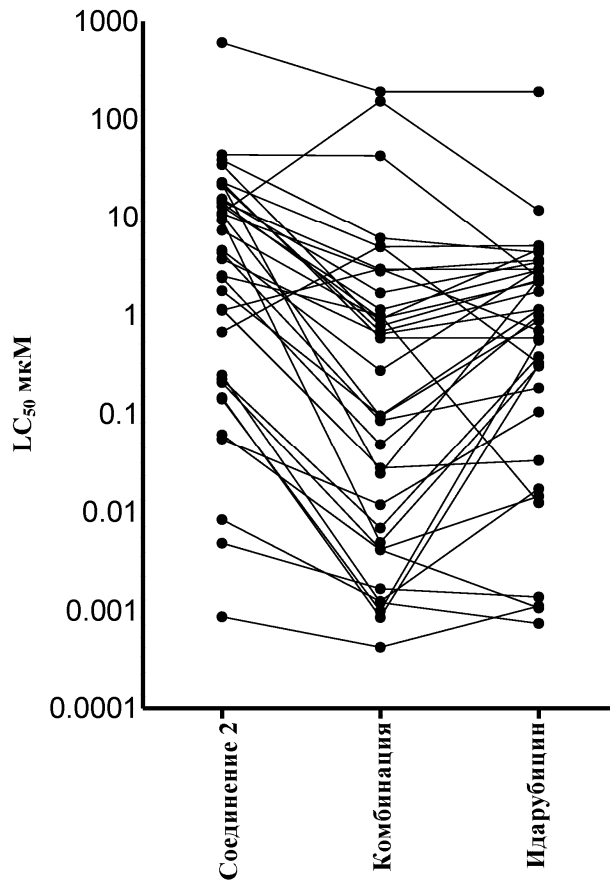
23. Способ по п.22, где ингибитор Mcl-1 представляет собой (2R)-2-{{[(5S_a)-5-{3-хлор-2-метил-4-[2-(4-метилпиперазин-1-ил)этокси]фенил}-6-(4-фторфенил)тиено[2,3-d]пиримидин-4-ил]окси}-3-(2-{{[2-(2-метоксифенил)пиримидин-4-ил]метокси}фенил]пропановую кислоту.



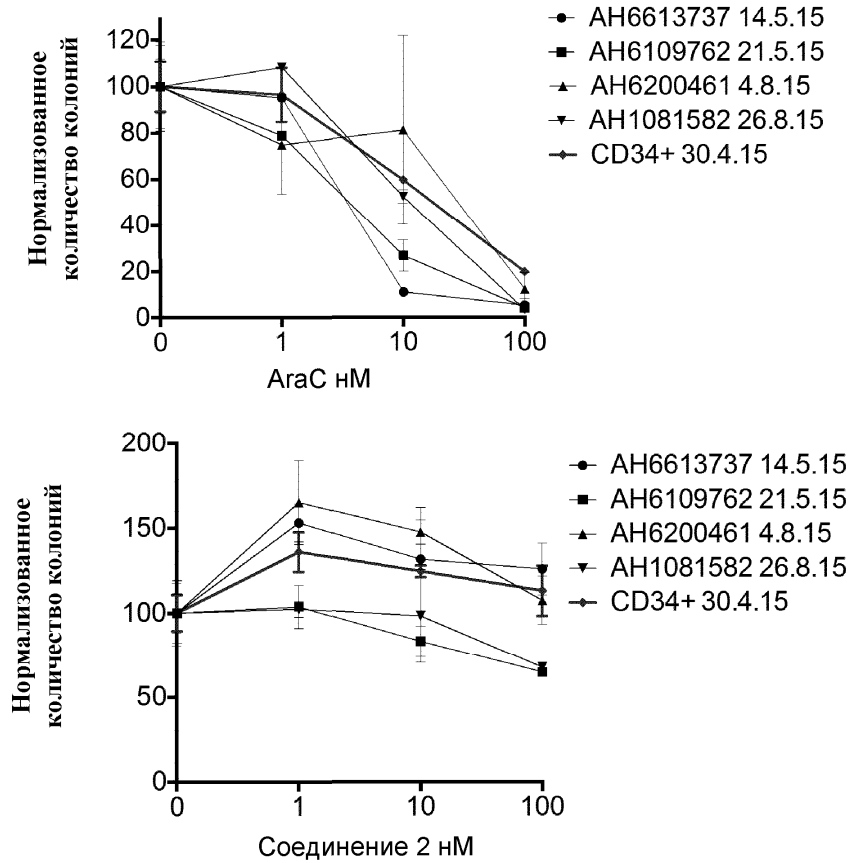
Фиг. 1



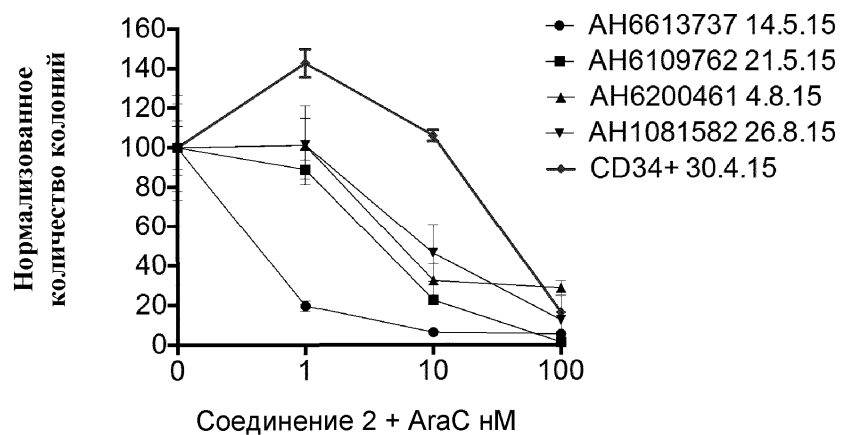
Фиг. 1 (продолжение)



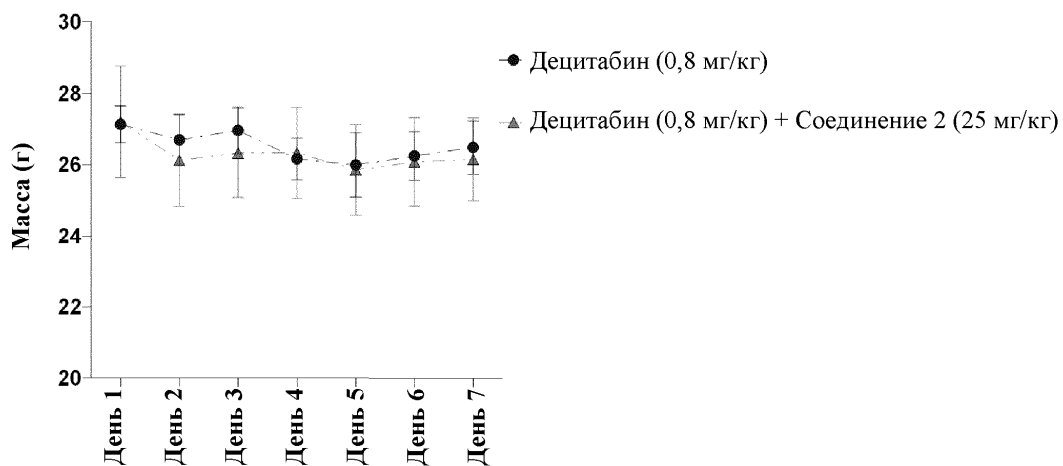
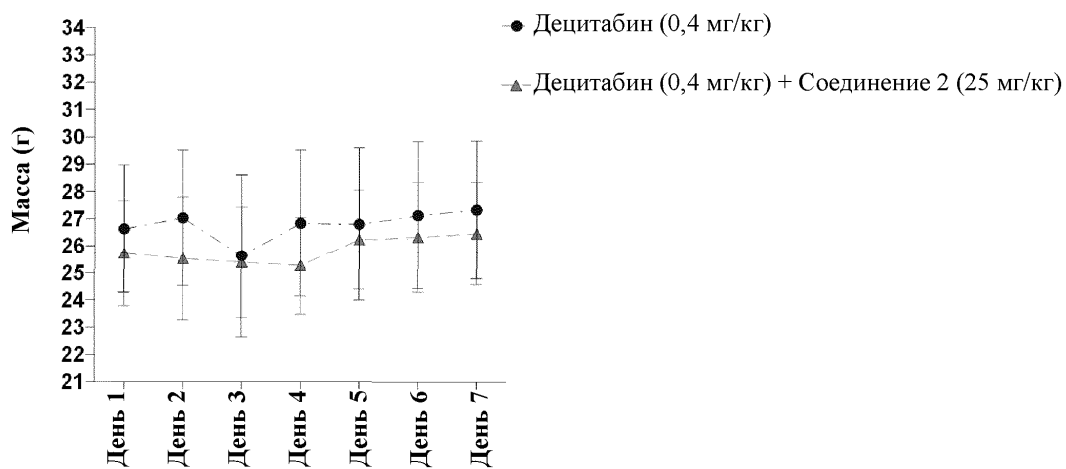
Фиг. 2



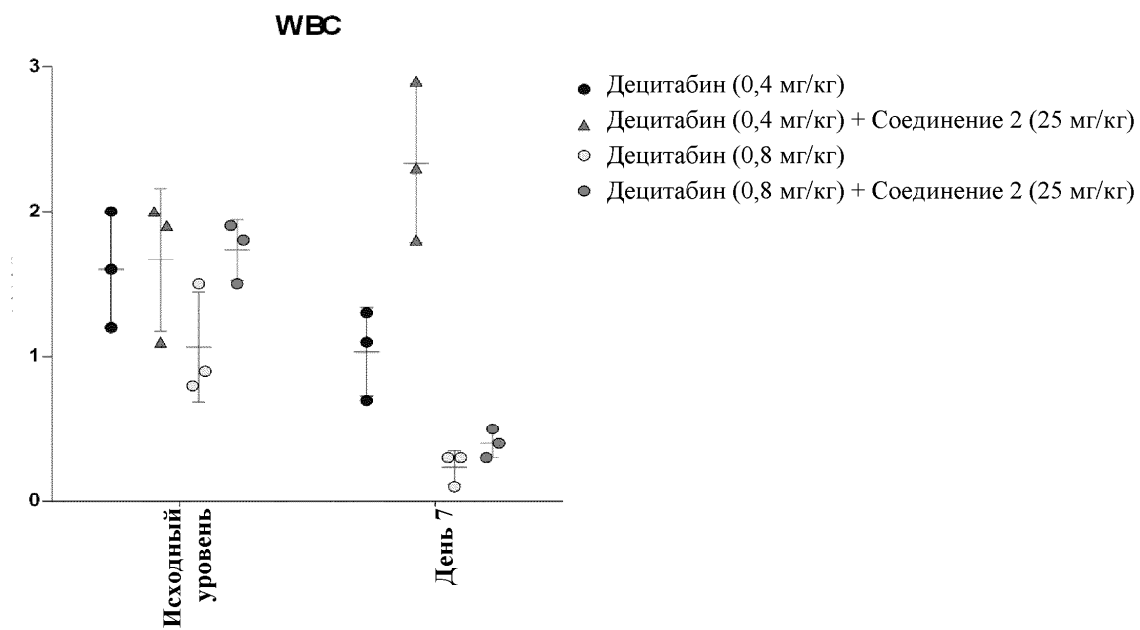
Фиг. 3



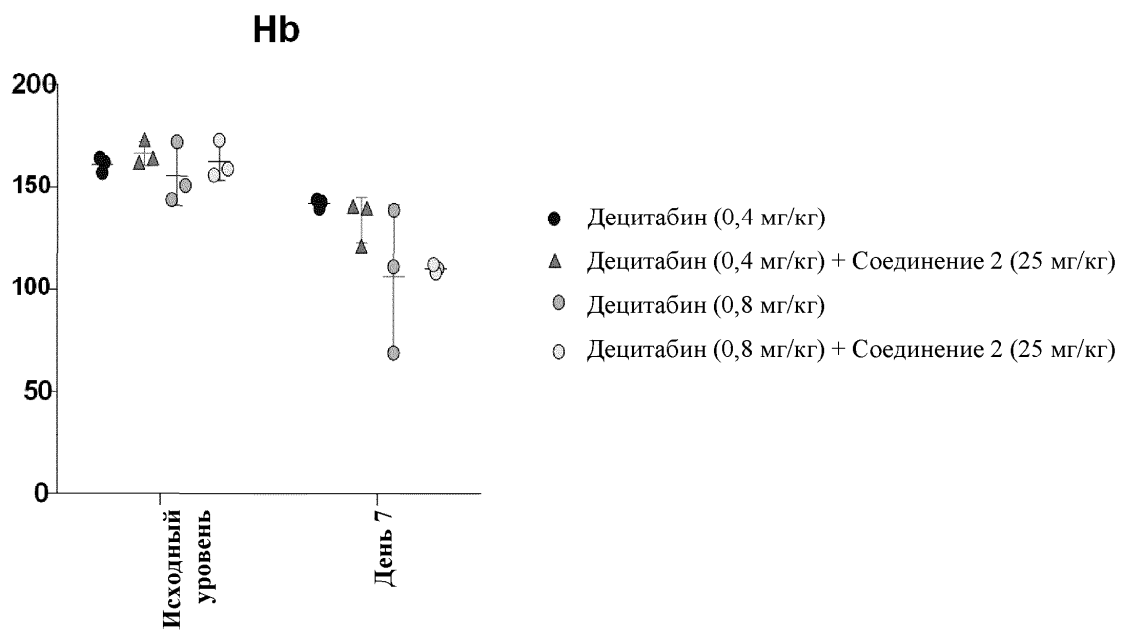
Фиг. 3 (продолжение)



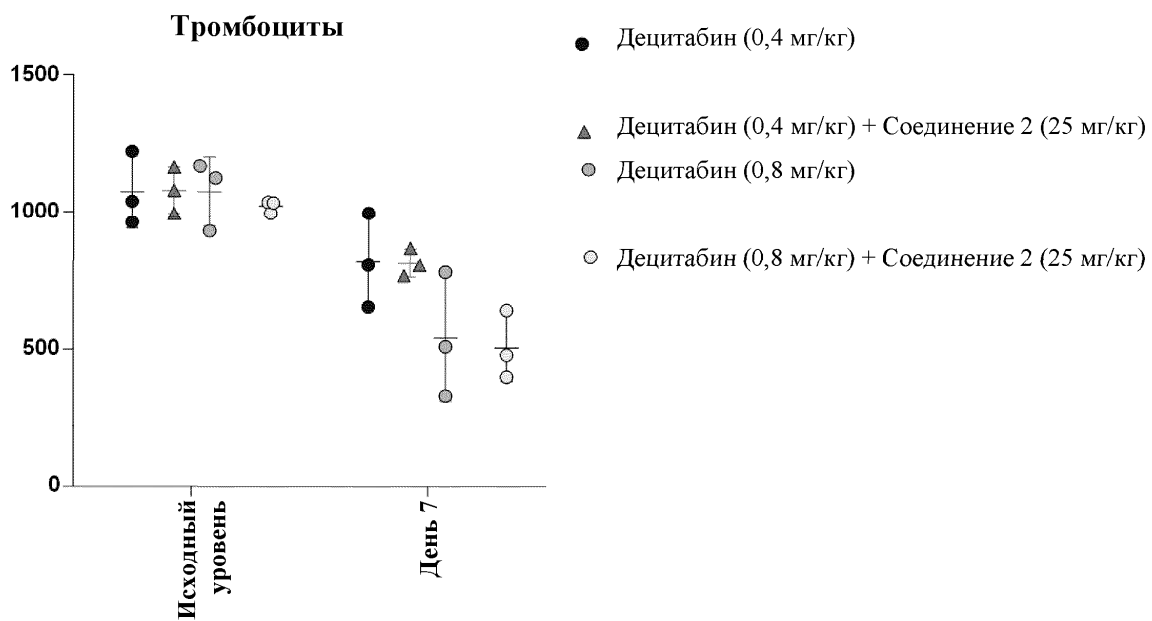
Фиг. 4



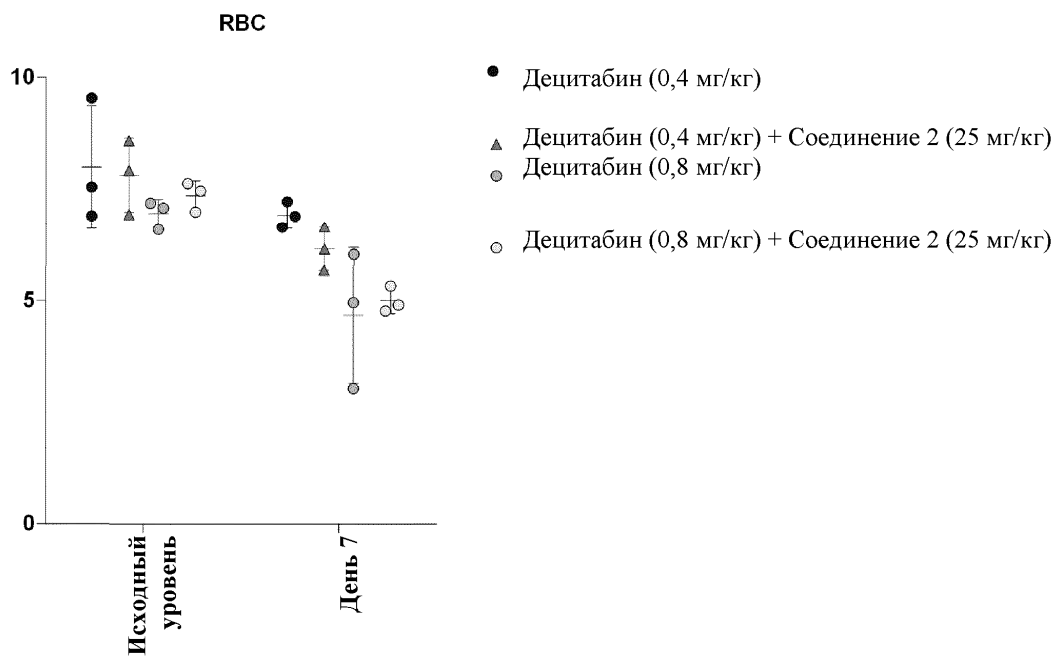
Фиг. 5



Фиг. 5 (продолжение)

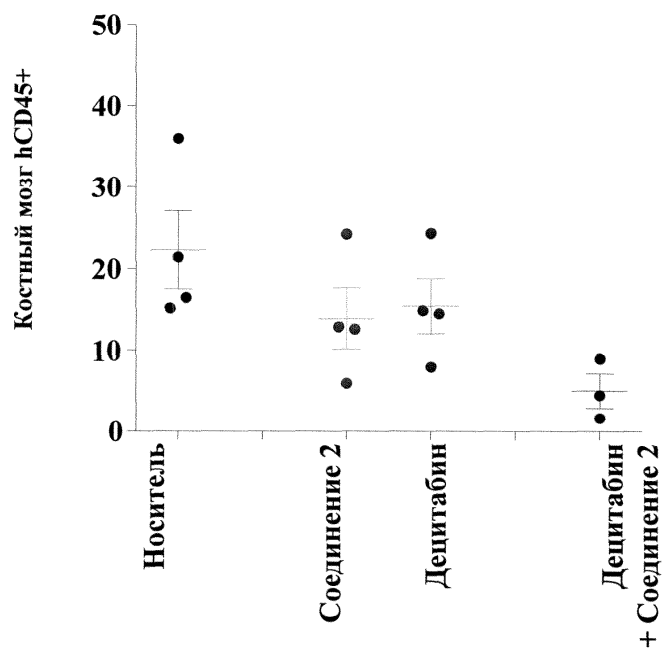


Фиг. 5 (продолжение)



Фиг. 5 (продолжение)

PDX AML 54



Фиг. 6

