

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038337**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2021.08.11

(21) Номер заявки

201692285

(22) Дата подачи заявки

2015.06.17(51) Int. Cl. **A61K 31/5377** (2006.01)**A61K 31/4412** (2006.01)**A61K 31/444** (2006.01)**A61P 35/00** (2006.01)**(54) ИНГИБИТОРЫ EZH2 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЛИМФОМЫ**(31) **62/013,522; 62/036,265**(32) **2014.06.17; 2014.08.12**(33) **US**(43) **2017.06.30**(86) **PCT/US2015/036310**(87) **WO 2015/195848 2015.12.23**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ЭПИЗИМ, ИНК. (US); ЭЙСАЙ Ар
ЭНД Ди МЕНЕДЖМЕНТ КО., ЛТД.
(JP)**

(72) Изобретатель:

**Кайльхак Хайке (US), Отгесен Лоун
(GB), Рейдерман Лариса, Натсон
Сара К., Джонстон Л. Дэниелл (US)**

(74) Представитель:

**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В. (RU)**

(56) View of NCT01897571 on 2014_03_27 on ClinicalTrials.gov Archive. Study of E7438 (EZH2 Histone Methyl Transferase [HMT] Inhibitor) as a Single Agent in Subjects With Advanced Solid Tumors or With B Cell Lymphomas. [retrieved from internet on 9 July 2015] <URL: https://clinicaltrials.gov/archi ve/NCT01897571/2014_03_27> (published 27 March 2014) Brief Summary; Detailed Description

WO-A2-2014062720

WO-A1-2013138361

Dyer M.J.S. et al. (1990) A New Human B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Cell Line (Karpas 422) Exhibiting Both t(14;18) and t(4;11) Chromosomal Translocations, Blood 75: 709-714, Abstract; Table 2

Knutson S.K. et al. (2014) Selective Inhibition of EZH2 by EPZ-6438 Leads to Potent Antitumor Activity in EZH2-Mutant Non-Hodgkin Lymphoma. Molecular Cancer Therapeutics 13: 842-854. Published online 21 February, 2014, Abstract; Pages 842-843; Figures 3&4

WO-A1-2014071109

Hassan U. et al. (2012) Prognostic Sub-Grouping of Diffuse Large B-Cell Lymphomas into Germinal Centre And Post Germinal Centre Groups by Immunohistochemistry after 6 Cycles of Chemotherapy. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 13: 1341-1347, Abstract; Table 1

(57) Изобретение относится к способам лечения онкологического заболевания путем введения нуждающемуся в этом субъекту ингибитора EZH2 или его фармацевтической композиции. В формуле изобретения заявляются определенные способы лечения специфических подтипов неходжкинской лимфомы, включающие введение субъекту ингибиторов EZH2. Предпочтительные ингибиторы EZH2 включают таземетостат (EPZ6438 E7438) и другие соединения. Также определены размеры и схемы дозирования.

B1**038337****038337 B1**

Родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущество и приоритет согласно заявкам на патент США № 62/013522, поданной 17 июня 2014 года; и № 62/036265, поданной 12 августа 2014 года. Содержание каждой из этих заявок включено в данный документ во всей своей полноте с помощью ссылки.

Уровень техники изобретения

Было показано, что EZH2, который является гистонметилтрансферазой, ассоциирован с различными типами онкологических заболеваний. В частности, мутации и/или повышенная активность EZH2 были найдены при различных онкологических заболеваниях, таких как лимфомы, лейкозы и рак молочной железы. Существует постоянная потребность в новых средствах, выступающих в качестве ингибиторов EZH2, для применения в рамках противоопухолевой терапии.

Краткое описание изобретения

Согласно одному аспекту в настоящем раскрытии описывается способ лечения или предупреждения неходжкинской лимфомы (NHL) у нуждающегося в этом субъекта. Способ включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Способ может включать один или несколько из следующих признаков. Согласно одному варианту осуществления NHL выбрана из диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы, происходящей из герминативного центра, лимфомы, отличной от происходящей из герминативного центра, фолликулярной лимфомы (FL), первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (PMBCL), лимфомы маргинальной зоны (MZL), лимфомы Беркитта и другого подтипа неходжкинской лимфомы.

Согласно одному варианту осуществления NHL является лимфомой, происходящей из герминативного центра.

Согласно одному варианту осуществления NHL является лимфомой, отличной от происходящей из герминативного центра.

Согласно одному варианту осуществления NHL является фолликулярной лимфомой. Согласно одному варианту осуществления NHL является PMBCL.

Согласно одному варианту осуществления NHL является лимфомой маргинальной зоны.

Согласно одному варианту осуществления NHL является лимфомой Беркитта.

Согласно одному варианту осуществления NHL является другим подтипом неходжкинской лимфомы.

Согласно одному варианту осуществления NHL является В-клеточной лимфомой, ассоциированной с EZH2 дикого типа, например клетки NHL содержат белок EZH2 без мутации, дикого типа.

Согласно одному варианту осуществления NHL является В-клеточной лимфомой, ассоциированной с мутантной EZH2, например клетки NHL содержат мутантный белок EZH2.

Согласно определенным вариантам осуществления лимфома, отличная от происходящей из герминативного центра, является лимфомой из активированных В-клеток (ABC).

Согласно одному варианту осуществления В-клеточная лимфома, отличная от происходящей из герминативного центра, является В-клеточной лимфомой, ассоциированной с EZH2 дикого типа, например клетки лимфомы содержат белок EZH2 без мутации, дикого типа.

Согласно другому варианту осуществления В-клеточная лимфома, отличная от происходящей из герминативного центра, является В-клеточной лимфомой, ассоциированной с мутантным EZH2, например клетки лимфомы содержат мутантный белок EZH2.

Согласно одному варианту осуществления лимфома, происходящая из герминативного центра, является В-клеточной лимфомой, ассоциированной с EZH2 дикого типа, например клетки лимфомы содержат белок EZH2 без мутации, дикого типа.

Согласно другому варианту осуществления лимфома, происходящая из герминативного центра, является В-клеточной лимфомой, ассоциированной с мутантным EZH2, например клетки лимфомы содержат мутантный белок EZH2.

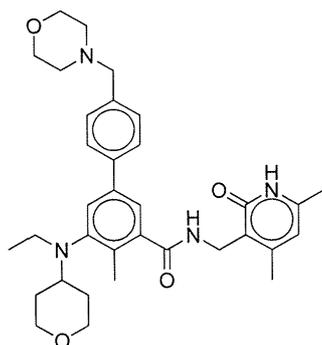
Согласно одному варианту осуществления фолликулярная лимфома (FL), первичная медиастинальная крупноклеточная В-клеточная лимфома (PMBCL) или лимфома маргинальной зоны (MZL) является В-клеточной лимфомой, происходящей из герминативного центра, ассоциированной с EZH2 дикого типа, например, клетки В-клеточной лимфомы, происходящей из герминативного центра содержат белок EZH2 без мутации, дикого типа.

Согласно другому варианту осуществления фолликулярная лимфома (FL), первичная медиастинальная крупноклеточная В-клеточная лимфома (PMBCL) или лимфома маргинальной зоны (MZL) являются В-клеточной лимфомой, происходящей из герминативного центра, ассоциированной с мутантным EZH2, например клетки В-клеточной лимфомы, происходящей из герминативного центра содержат мутантный белок EZH2.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор EZH2 вводят перорально.

В одном варианте осуществления субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор EZH2 представляет собой EPZ-6438 (таземетостат) следующей формулы:



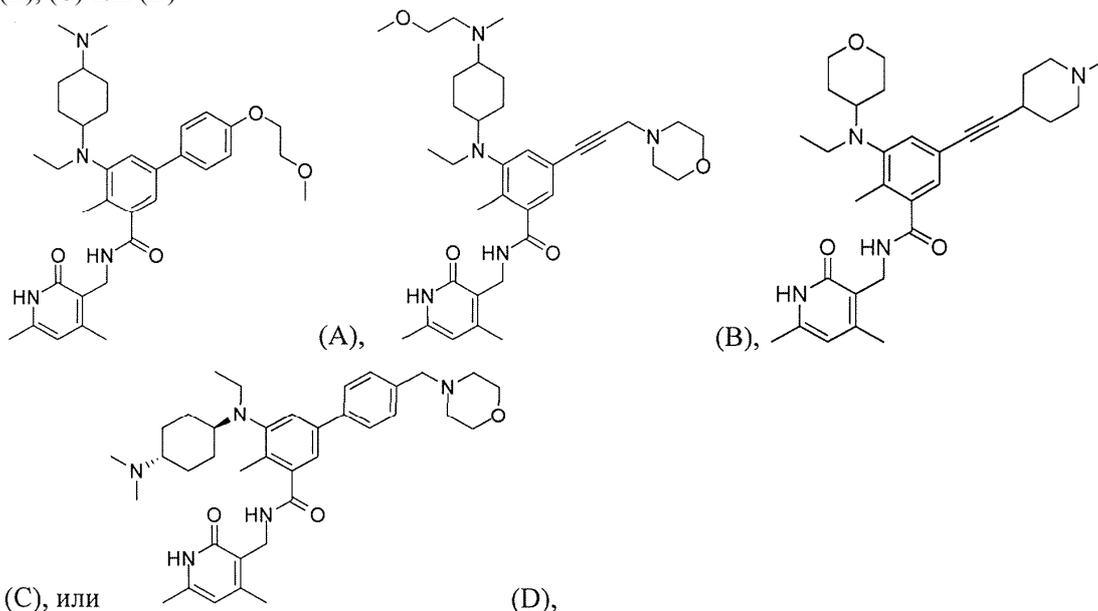
или его фармацевтически приемлемую соль.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор EZH2 ежедневно вводят субъекту в дозе от примерно 100 мг до примерно 3200 мг.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор EZH2 вводят субъекту в дозе от примерно 100 мг два раза в день до примерно 1600 мг два раза в день.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор EZH2 вводят субъекту в дозе примерно 100 мг два раза в день, 200 мг два раза в день, 400 мг два раза в день, 800 мг два раза в день или 1600 мг два раза в день.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор EZH2 представляет собой или соединение из (A), (B), (C) или (D)



или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты.

Любой из вышеприведенных аспектов и вариантов осуществления может быть объединен с любым другим аспектом или вариантом осуществления. Если не определено иное, все используемые в данном документе технические и научные термины имеют те же значения, которые будут понятны специалисту в данной области, к которой относится данное изобретение. В описании изобретения формы единственного числа включают также множественное число, если из контекста явно не следует иное. Несмотря на то, что способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, можно использовать на практике или при тестировании настоящего изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патент, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки. Ссылки, приводимые в данном документе, не признаются предшествующим уровнем техники для заявляемого изобретения. В случае конфликта настоящее описание, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Кроме того, материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и прилагаемой формулы изобретения.

Краткое описание графических материалов

Вышеуказанные и дополнительные признаки будут более четко понятны из следующего подробного описания, приведенного в сочетании с прилагаемыми графическими материалами.

На фиг. 1 показано описание фазы 1 испытания, проводимого у человека впервые, с использованием таземетостата (EPZ-6438) E7438-G000-001 (NCT01897571);

- на фиг. 2 - типы опухолей у пациентов;
- на фиг. 3 - демографические данные пациентов с NHL;
- на фиг. 4 - фармакокинетика таземетостата (EPZ-6438);
- на фиг. 5 - PK-PD: ингибирование EZH2 в замещенной ткани;
- на фиг. 6 - побочные эффекты испытания;
- на фиг. 7 - наилучший общий ответ у пациентов с NHL;
- на фиг. 8 - активность целевых поражений;
- на фиг. 9 - CR (полный ответ) первичной медиастинальной В-клеточной лимфомы;
- на фиг. 10 - CR фолликулярной лимфомы, ассоциированной с EZH2 дикого типа.
- на фиг. 11 - ответ DLBCL с лимфомой, ассоциированной с мутантным EZH2 (Y646H).

Подробное описание изобретения

EZH2 представляет собой гистонметилтрансферазу, которая является каталитической субъединицей комплекса PRC2, которая катализирует монотриметилирование лизина 27 гистона H3 (H3-K27). Триметилирование гистона при помощи H3-K27 представляет собой механизм подавления транскрипции специфических генов, которые приближены к сайту модификации гистона. Данное триметилирование известно как маркер онкологических заболеваний с измененной экспрессией при онкологических заболеваниях, таких как рак предстательной железы (см., например, публикацию заявки на патент США № 2003/0175736; полное содержание которого включено в настоящий документ с помощью ссылки). В других исследованиях предоставлено подтверждение функциональной связи между нарушенной регуляцией экспрессии EZH2, транскрипционной репрессии и неопластической трансформации. Varambally et al. (2002) *Nature* 419(6907):624-9, Kleer et al. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100(20):11606-11.

Активность метилирования EZH2 играет важную роль в регуляции и активации В-клеток в герминативном центре. Уровни белка EZH2 повышались после активации В-клеток. После активации В-клетки находятся в герминативном центре лимфоидных органов, где происходит соматическая сверхмутация, процесс, связанный с репрессией антиапоптозных генов и регуляторов контрольных точек. Метилирование EZH2 определяют целевые гены, которые задействованы в пролиферации В-клеток, дифференцировке и созревании, включая CDKN1A (роль в клеточной пролиферации), PRDM1 (роль в дифференциации В-клеток) и IRF4 (роль в дифференцировке В-клеток). После созревания и выхода В-клеток из герминативного центра происходит снижение уровней EZH2 в В-клетках. Однако наличие и активность EZH2 после созревания В-клетки связаны с несколькими видами лимфомы, включая В-клеточную лимфому, происходящую из герминативного центра, наряду с другими. Аномальная активация или неправильная регуляция EZH2 обнаружена при многих широко распространенных подтипах неходжкинской лимфомы (NHL): диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме (DLBCL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме, сходной с В-клеточной лимфомой, происходящей из герминативного центра (GCB DLBCL), диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфоме, сходной с В-клеточной лимфомой, отличной от происходящей из герминативного центра, включая В-клеточную лимфому, затрагивающую активированные В-клетки (ABC DLBCL), лимфому Беркитта и других подтипах неходжкинской лимфомы. Аномальная активация или неправильная регуляция EZH2 также обнаружена при фолликулярной лимфоме (FL), первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфоме (PMBCL) и лимфоме маргинальной зоны (MZL).

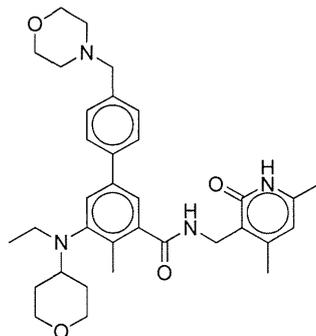
Генетические изменения в гене EZH2 связаны с изменениями типов метилирования гистонов. Мутации EZH2, приводящие к конверсии аминокислоты Y641 (аналогичной Y646, каталитический домен), с одним любым из F, N, H, S или C, приводят к гипертриметилированию H3K27 и запускают лимфомагенез. Дополнительные генетические изменения, которые влияют на метилирование H3K27, включают мутации в SET-домене EZH2, сверхэкспрессию EZH2, сверхэкспрессию других субъединиц PRC2, потерю функциональных мутаций гистонацетилтрансфераз (НАТ) и потерю функции MLL2. Клетки, которые являются гетерозиготными по мутации Y646 EZH2, приводят к гипертриметилированию H3K27 относительно клеток, которые являются гомозиготными по белку EZH2 дикого типа (WT), или клеток, которые являются гомозиготными по мутации Y646.

Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения или облегчения симптомов NHL у нуждающегося в этом субъекта путем введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2. Согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения или облегчения симптомов NHL у нуждающегося в этом субъекта путем введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2. Согласно другому аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения или облегчения симптомов GCB DLBCL у нуждающегося в этом субъекта путем введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2. Согласно еще другому аспекту настоящее изобретение относится к способу лечения или облегчения симптомов FL, PMBCL или MZL у нуждающегося в этом субъекта путем введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2. У субъекта, подходящего для способа лечения, описанного в данном документе, может экспрессироваться мутантный EZH2 или EZH2 дикого типа, или может иметься мутация в гене EZH2 или иметься геном EZH2 дикого типа. Как описано в данном документе, ингибитор активности EZH2 значительно подавляет деление злокачественных клеток.

Согласно одному варианту осуществления ингибитор EZH2 вводят перорально. В одном варианте осуществления субъект представляет собой человека. Согласно любому из вышеприведенных аспектов или вариантов осуществления настоящее изобретение также относится к способам обнаружения уровня метилирования гистонов, например триметилирования H3K27 при биопсии кожи. Метилирование гистонов обнаруживают до начала лечения, во время когда субъект получал лечение и/или после завершения лечения.

Мутантный EZH2, описанный в данном документе, относится к мутантному полипептиду EZH2 или нуклеотидной последовательности, кодирующей мутантный полипептид EZH2. Согласно определенным вариантам осуществления мутантный EZH2 содержит одну или несколько мутаций в пределах кармана домена связывания с субстратом. Например, мутация может представлять собой замену, точечную мутацию, нонсенс-мутацию, миссенс-мутацию, делецию или вставку. Способы обнаружения мутаций EZH2 были описаны в PCT/US11/051258, PCT/US13/030565, US 20150099747, полное содержание которых включено в настоящей документ с помощью ссылки. Для целей настоящей заявки следует понимать, что мутантный по Y641 EZH2 человека и, эквивалентный, мутантный по Y641 EZH2 человека дикого типа, замещен аминокислотным остатком, отличным от тирозина.

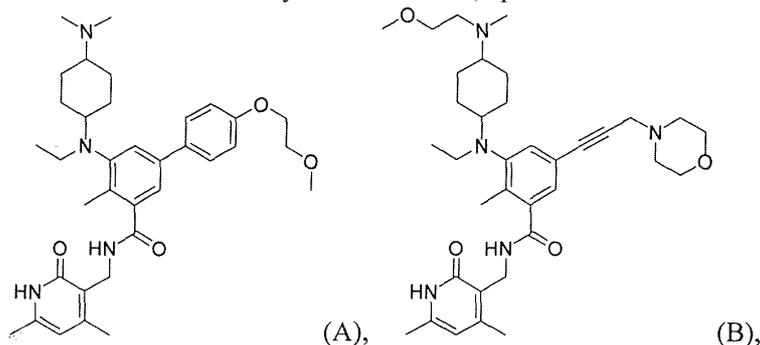
Соединения, подходящие для способов, раскрытых в данном документе, описаны в публикациях США № 20120264734 и 20140107122, содержание которых включено в настоящий документ с помощью ссылки. Соединения также пригодны для введения в качестве части комбинированной терапии с одним или несколькими другими терапевтическими средствами или способами лечения, подходящими для введения совместно, последовательно или через определенные промежутки времени. Согласно одному варианту осуществления соединение, пригодное для способов, раскрытых в данном документе, представляет собой EPZ-6438 (таземетостат)



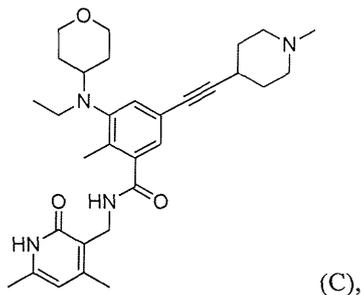
или его фармацевтически приемлемую соль.

EPZ-6438 или его фармацевтически приемлемая соль, как раскрыто в данном документе, является эффективным при воздействии как на EZH2 WT, так и на мутантный EZH2. EPZ-6438 биодоступен перорально и характеризуется высокой селективностью к EZH2 по сравнению с другими гистонметилтрансферазами (т.е. >20000 более селективным согласно Ki). Важно отметить, что EPZ-6438 характеризуется ингибированием целевой метильной метки, что приводит к уничтожению генетически определенных раковых клеток *in vitro*. Животные модели также показывали устойчивую эффективность *in vivo* с последующим ингибированием целевой метильной метки. Результаты описанных в данном документе клинических исследований также показывают безопасность и эффективность EPZ-6438.

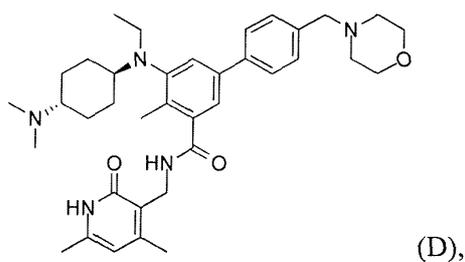
Согласно одному варианту осуществления EPZ-6438 или его фармацевтически приемлемую соль вводят субъекту в дозе от примерно 100 мг до примерно 3200 мг ежедневно, например от приблизительно 100 мг два раза в день до приблизительно 1600 мг два раза в день (например, 100 мг два раза в день, 200 мг два раза в день, 400 мг два раза в день, 800 мг два раза в день или 1600 мг два раза в день) для лечения NHL. Согласно одному варианту осуществления доза составляет 800 мг два раза в день. Согласно некоторым вариантам осуществления соединение (например, ингибитор EZH2), которое можно применять в любых представленных в данном документе способах, представляет собой



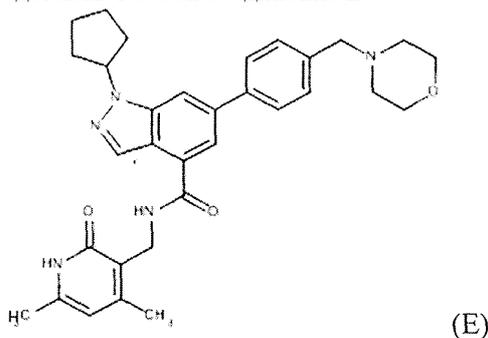
или



или

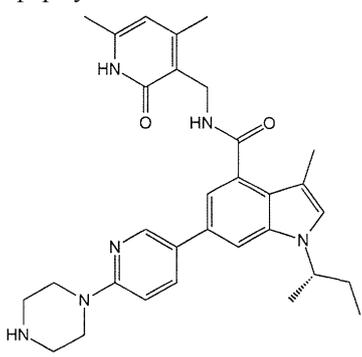


или их стереоизомеры, или их фармацевтически приемлемые соли и сольваты. Согласно определенным вариантам осуществления соединение, которое можно использовать в любых представленных в данном документе способах, представляет собой соединение E



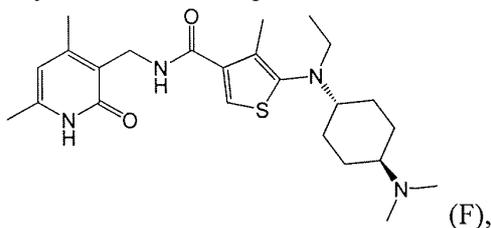
или его фармацевтически приемлемые соли.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединение (например, ингибитор EZH2), которое можно применять в любых представленных в данном документе способах, представляет собой GSK-126, который характеризуется следующей формулой:



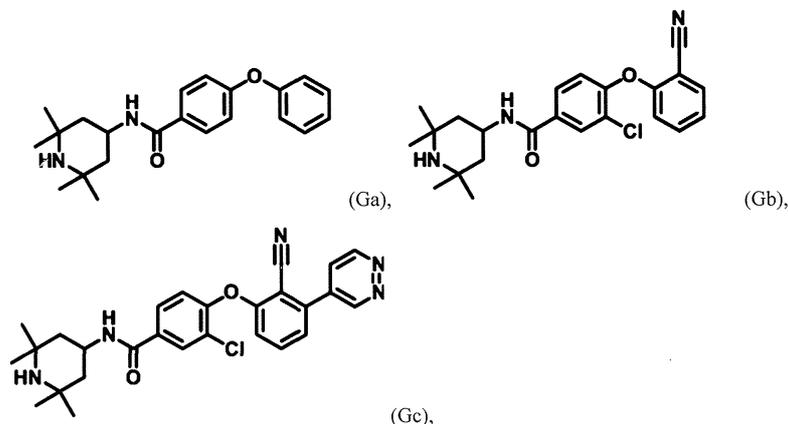
его стереоизомеры, или его фармацевтически приемлемые соли или сольваты.

Согласно определенным вариантам осуществления соединение, которое можно использовать в любых представленных в данном документе способах, представляет собой соединение F



или его стереоизомеры, или его фармацевтически приемлемые соли и сольваты.

Согласно определенным вариантам осуществления соединение (например, ингибитор EZH2), которое можно использовать в любых представленных в данном документе способах, представляет собой любое из соединений Ga-Gc



или их стереоизомеров, фармацевтически приемлемых солей или сольватов.

Согласно определенным вариантам осуществления соединение (например, ингибитор EZH2), которое можно использовать в любых представленных в данном документе способах, представляет собой CPI-1205 или GSK343. Согласно одному варианту осуществления раскрытое в данном документе соединение представляет собой соединение само по себе, т.е. свободное основание или "голую" молекулу. Согласно другому варианту осуществления соединение представляет собой его соль, например соль моно-HCl или три-HCl, соль моно-NH₂ или три-NH₂ голой молекулы.

Раскрытые в данном документе соединения, которые содержат азот, могут переходить в форму N-оксидов путем обработки с помощью оксиданта (например, 3-хлорпероксибензойной кислотой (mCPBA) и/или пероксидом водорода) с получением других соединений, пригодных для любых раскрытых в данном документе способов. Таким образом, рассматривается, что все показанные и заявленные азотсодержащие соединения, когда это допустимо валентно и структурно, включают в себя как представленное соединение, так и его производное, представляющее собой N-оксид (которое можно обозначить как N→O или N⁺-O⁻). Кроме того, в других случаях, азот в раскрытых в данном документе соединениях можно превращать в соединения, содержащие N-гидрокси или N-алкоксигруппы. Например, соединения, содержащие N-гидроксигруппу, можно получить путем окисления основного амина с помощью оксиданта, такого как mCPBA. Также рассматривается, что все показанные и заявляемые азотсодержащие соединения, когда это допустимо валентно и структурно, включают в себя как представленное соединение, так и его производные, содержащие N-гидрокси (т.е. N-OH) и N-алкокси (т.е. N-OR, где R представляет собой замещенный или незамещенный C₁-C₆-алкил, C₁-C₆-алкенил, C₁-C₆-алкинил, 3-14-членный углеродный цикл или гетероцикл от 3 до 14 членов).

"Изомерия" означает соединения, которые характеризуются одинаковой молекулярной формулой, но различаются последовательностью связывания их атомов или расположением их атомов в пространстве. Изомеры, различающиеся расположением атомов в пространстве, называют "стереоизомерами". Стереоизомеры, не являющиеся зеркальными отражениями друг друга, называют "диастереоизомерами", а стереоизомеры, представляющие собой зеркальные отражения друг друга, не совмещаемые в пространстве, называют "энантиомерами" или иногда оптическими изомерами. Смесь, содержащую равные количества отдельных энантиомерных форм с противоположной хиральностью, называют "рацемической смесью".

Атом углерода, связанный с четырьмя неодинаковыми заместителями, называют "хиральным центром".

"Хиральный изомер" означает соединение по меньшей мере с одним хиральным центром. Соединения с более чем одним хиральным центром могут существовать либо в виде индивидуального диастереомера, либо в виде смеси диастереомеров, называемой "диастереомерной смесью". При наличии одного хирального центра стереоизомер может характеризоваться абсолютной конфигурацией (R или S) данного хирального центра. Абсолютная конфигурация относится к расположению в пространстве заместителей, связанных с хиральным центром. Заместители, связанные рассматриваемым хиральным центром, расположены в соответствии с Правилom последовательности Кана, Ингольда и Прелога. (Cahn et al., *Angew. Chem. Intern. Edit.* 1966, 5, 385; errata 511; Cahn et al., *Angew. Chem.* 1966, 78, 413; Cahn и Ingold, *J. Chem. Soc.* 1951 (London), 612; Cahn et al., *Experientia* 1956, 12, 81; Cahn, *J. Chem. Educ.* 1964, 41, 116).

"Геометрический изомер" означает диастереомеры, обусловленные замедленным вращением вокруг двойных связей или циклоалкильного линкера (например, 1,3-циклобутила). Эти конфигурации различают в названии по префиксам цис- и транс- или Z- и E, которые указывают на то, что группы находятся на той же или противоположной стороне относительно двойной связи в молекуле в соответствии с правилами Кана-Ингольда-Прелога.

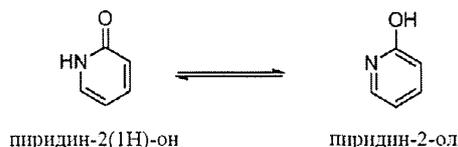
Следует понимать, что соединения, раскрытые в данном документе, могут быть изображены в виде различных хиральных изомеров или геометрических изомеров. Следует также понимать, что когда соединения имеют хиральные изомерные или геометрические изомерные формы, то все изомерные формы предназначены для включения в объем настоящего раскрытия, а также названия соединений не исключают любые изомерные формы.

Кроме того, структуры и другие соединения, описанные в настоящем изобретении, включают все их атропоизомеры. "Атропоизомеры" представляют собой тип стереоизомера, в котором атомы двух изомеров по-разному расположены в пространстве. Атропоизомеры обусловлены ограниченным вращением, вызванным замедленным вращением больших групп вокруг центральной связи. Такие атропоизомеры обычно существуют в виде смеси, однако в результате последних достижений в области хроматографии оказалось возможным в некоторых случаях разделять смеси двух атропоизомеров.

"Таутомер" представляет собой один или несколько структурных изомеров, существующих в равновесии и легко переходящих из одной изомерной формы в другую. Это преобразование приводит к формальной миграции атома водорода с последующим поворотом смежных сопряженных двойных связей. Таутомеры существуют в виде смеси таутомерного набора в растворе. В растворах, где возможна таутомеризация, достигается химическое равновесие таутомеров. Точное соотношение таутомеров зависит от нескольких факторов, в том числе температуры, растворителя и pH. Модель, при которой таутомеры являются взаимопревращающимися при таутомеризации, называется таутомерия.

Из различных возможных типов таутомерии типичным предметом наблюдений являются два. При кето-енольной таутомерии происходит совместное смещение электронов и атома водорода. Кольчатая таутомерия возникает в результате реакции альдегидной группы (-CHO) в молекуле цепной формы сахара с одной из гидроксильных групп (-OH) в той же молекуле с получением циклической (кольцеобразной) формы, какой характеризуется глюкоза.

Типичными таутомерными парами являются: кето-енольная, амид-нитрильная, лактам-лактимная, таутомерия амид-имидной кислоты в гетероциклических кольцах (например, в нуклеиновых основаниях таких как гуанин, тимин и цитозин), имин-енаминная и енамин-енаминная. Примером кето-енольного равновесия является равновесие между пиридин-2(1H)-онами и соответствующими пиридин-2-олами, как показано ниже



Следует понимать, что раскрытые в данном документе соединения могут быть показаны в виде различных таутомеров. Также следует понимать, что если соединения имеют таутомерные формы, то все таутомерные формы подлежат включению в объем настоящего раскрытия, а также названия соединений не исключают какую-либо таутомерную форму.

Соединения, раскрытые в данном документе, включают в себя собственно соединения, а также их соли и их сольваты, если это применимо. Соль, например, может быть образована между анионом и положительно заряженной группой (например, аминогруппой) арил- или гетероарилзамещенного бензольного соединения. Подходящие анионы включают хлорид, бромид, иодид, сульфат, бисульфат, сульфат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, глутамат, глюкуроновую кислоту, глутарат, малат, малеат, сукцинат, фумарат, тартрат, тозилат, салицилат, лактат, нафталинсульфонат и ацетат (например, трифторацетат). Термин "фармацевтически приемлемый анион" относится к аниону, подходящему для образования фармацевтически приемлемой соли. Подобным образом, соль также может быть образована между катионом и отрицательно заряженной группой (например, карбоксилатом) на арил- или гетероарильном-замещенном бензольном соединении. Подходящие катионы включают ион натрия, ион калия, ион магния, ион кальция, а также катион аммония, такой как ион тетраметиламмония. Арил- или гетероарилзамещенные бензольные соединения также включают соли, содержащие четвертичные атомы азота. Следует понимать что в солевой форме соотношение соединения к катионной или анионной соли может быть 1:1, или любое соотношение, отличное от 1:1, например 3:1, 2:1, 1:2 или 1:3. Кроме того, соединения, раскрытые в данном документе, например соли соединений, могут существовать в любой из гидратированной или негидратированной (безводной) форме, или в виде сольватов с другими молекулами растворителя. Неограничивающие примеры гидратов включают моногидраты, дигидраты и т.д. Неограниченные примеры сольватов включают сольваты этанола, сольваты ацетона и т.д. "Сольват" означает формы присоединения растворителя, которые включают либо стехиометрические, либо нестехиометрические количества растворителя. Некоторые соединения имеют тенденцию удерживать фиксированное молярное соотношение молекул растворителя в кристаллическом твердом состоянии, образуя таким образом сольват. Если растворителем является вода, то сольват представляет собой гидрат; и если растворителем является спирт, то образованный сольват представляет собой алкогольат. Гидраты образуют путем комбинации одной или более молекул воды с одной молекулой вещества, в котором вода со-

храняет свое молекулярное состояние, как H_2O . Используемый в данном документе термин "аналог" относится к химическому соединению, которое структурно подобно другим, но незначительно отличается по составу (например, заменой одного атома атомом другого элемента, или присутствием конкретной функциональной группы, или заменой одной функциональной группы другой функциональной группой). Таким образом, аналог представляет собой соединение, которое подобно или сравнимо по функциям и внешнему виду, но не по структуре или происхождению, со сравниваемым соединением.

Как определено в данном документе, термин "производное" относится к соединениям, которые имеют общую структуру основы и которые замещены различными группами, как описано в данном документе. Например, все соединения, представленные формулой (I), являются арил- или гетероарилзамещенными бензольными соединениями и имеют формулу (I) в качестве общего основы.

Термин "биоизоостер" относится к соединению, полученному в результате обмена атома или групп атомов на другие, в целом аналогичные, атом или группу атомов. Целью биоизоостерического замещения является создание нового соединения с биологическими свойствами, аналогичными исходному соединению. Биоизоостерическое замещение может быть физико-химическим или топологическим. Примеры биоизоостеров карбоновых кислот включают без ограничения ацилсульфонимиды, тетразоли, сульфонаты и фосфонаты. См., например, Patani and LaVoie, Chem. Rev. 96, 3147-3176, 1996. Настоящее изобретение включает все изотопы атомов, встречающиеся в настоящих соединениях. Изотопы включают те атомы, которые имеют одно и то же атомное число, но разные массовые числа. В качестве общего примера и без ограничения, изотопы водорода включают тритий и дейтерий, и изотопы углерода включают C-13 и C-14.

Согласно определенным аспектам "комбинированная терапия" также включает введение описанных выше терапевтических средств в дополнительной комбинации с другими биологически активными ингредиентами и безмедикаментозными вариантами терапии (например, хирургическим вмешательством или лучевой терапией). В случае, если комбинированная терапия дополнительно включает безмедикаментозное лечение, то безмедикаментозное лечение можно осуществлять в любое подходящее время при условии, что достигается положительный эффект за счет взаимодействия в результате комбинации терапевтических средств и безмедикаментозного лечения. Например, в определенных случаях положительный эффект все еще достигается, когда безмедикаментозное лечение исключают от введения терапевтических средств, предположительно на несколько дней или даже недель.

Согласно другому аспекту, композицию, раскрытую в данном документе, или ее фармацевтически приемлемую соль, сольват, аналог или ее производное можно вводить в комбинации с лучевой терапией. Лучевую терапию также можно применять в комбинации с композицией, раскрытой в данном документе, и другим описанным в данном документе химиотерапевтическим средством как части терапии с применением нескольких средств.

"Фармацевтическая композиция" представляет собой состав, содержащий соединение в форме, подходящей для введения субъекту. Каждое из раскрытого в данном документе соединения и одного или нескольких других описанных в данном документе терапевтических средств можно составлять отдельно или в виде нескольких фармацевтических композиций в любых комбинациях активных ингредиентов. Таким образом, один или несколько путей введения можно надлежащим образом выбирать исходя из лекарственной формы каждой фармацевтической композиции. Альтернативно, раскрытое в данном документе соединение и одно или несколько других терапевтических средств, описанных в данном документе, можно составлять в виде одной фармацевтической композиции.

Согласно одному варианту осуществления фармацевтическая композиция может быть нефасованной или в виде стандартной лекарственной формы. Стандартная лекарственная форма представляет собой любую из различных форм, в том числе, например, капсулу, мешок для IV инфузий, таблетку, инфузионный насос или аэрозольный ингалятор или флакон. Количество активного ингредиента (например, состава описанного соединения или его соли, гидрата, сольвата или изомера) в стандартной дозе композиции представляет собой эффективное количество, и оно варьируется в зависимости от конкретного предполагаемого лечения. Специалисту в данной области будет понятно, что иногда необходимо вносить общепринятые изменения относительно дозировки в зависимости от возраста и состояния пациента. Дозировка также будет зависеть от пути введения. Предусмотрены различные пути, в том числе пероральный, легочный, ректальный, парентеральный, трансдермальный, подкожный, внутривенный, внутримышечный, интраперитонеальный, ингаляционный, буккальный, сублингвальный, интраплевральный, интракальный, интраназальный и т.п. Лекарственные формы для местного или трансдермального введения соединения по настоящему изобретению включают порошки, аэрозоли, мази, пасты, крема, лосьоны, гели, растворы, пластыри и ингаляторы. Согласно одному варианту осуществления активное соединение смешивают в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми необходимыми консервантами, буферами или пропеллентами. В контексте настоящего документа фраза "фармацевтически приемлемый" относится к таким соединениям, анионам, катионам, материалам, композициям, носителям и/или лекарственным формам, которые по результатам медицинской оценки являются приемлемыми для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другого нарушения или осложнения, в соответствии с обоснованным соотношением польза/риск. "Фармацевтически приемлемый наполнитель" означает наполнитель,

пригодный для получения фармацевтической композиции, которая в целом является безопасной, нетоксичной, а также не является нежелательной ни с биологической, ни с другой точки зрения, и включает наполнитель, приемлемый для применения в области ветеринарии, а также применения в области фармацевтики применительно к человеку. В контексте настоящего описания и прилагаемой формулы изобретения "фармацевтически приемлемый наполнитель" включает как один, так и более одного таких наполнителей. Раскрытую в данном документе фармацевтическую композицию составляют таким образом, чтобы она была совместима с предполагаемым для нее путем введения. Примеры путей введения включают парентеральное, например внутривенное, интрадермальное, подкожное, пероральное (например, ингаляция), трансдермальное (местное) и трансмукозальное введение. Растворы или суспензии, используемые для парентерального, интрадермального или подкожного применения могут включать следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, летучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или гидросульфит натрия; хелатообразующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как цитраты или фосфаты, и средства для коррекции тоничности, такие как натрия хлорид или декстроза. Значение pH можно доводить с помощью кислот или щелочей, такими как соляная кислота или гидроксид натрия. Лекарственный препарат для парентерального введения может быть заключен в ампулы, шприцы одноразового применения или флаконы для нескольких доз из стекла или пластика.

Раскрытую в данном документе композицию можно вводить субъекту с помощью множества хорошо известных способов, применяемых на сегодняшний день для химиотерапевтического лечения. Например, для лечения онкологического заболевания раскрытое в данном документе соединение можно вводить непосредственно в опухоли, в кровяное русло или полости тела, или его можно принимать перорально, или наносить через кожу с помощью пластырей. Выбранная доза должна быть достаточной, чтобы обеспечивать эффективное лечение, но не настолько высокой, чтобы вызывать неприемлемые побочные эффекты. Состояние течения заболевания (например, онкологического заболевания, предракового состояния и т.п.) и здоровья пациента следует тщательно контролировать во время и в течение целесообразного периода времени после лечения.

В контексте настоящего документа термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству фармацевтического средства для лечения, облегчения или предупреждения выявленного заболевания или состояния, или для проявления обнаруживаемого терапевтического или ингибиторного эффекта. Указанный эффект может быть обнаружен с помощью любого известного из уровня техники аналитического способа. Точное эффективное количество для субъекта будет зависеть от веса тела субъекта, размера и состояния здоровья; характера и выраженности состояния; и выбранного для введения терапевтического средства или комбинации терапевтических средств. Например, терапевтически эффективное количество ингибитора EZN2 может быть различным для пациентов, имеющих В-клеточную лимфому, происходящую из герминативного центра с EZN2 дикого типа, чем у пациентов, имеющих В-клеточную лимфому, происходящую из герминативного центра с мутантным EZN2. Терапевтически эффективные количества для конкретной ситуации можно определять с помощью общепринятого эксперимента, находящегося в рамках квалификации клинициста, и на его усмотрение.

Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически эффективное количество каждого фармацевтического средства, применяемого в комбинации, будет более низким в случае применения в комбинации, по сравнению с монотерапией, в случае каждого средства отдельно. Такое более низкое терапевтически эффективное количество может обеспечить более низкую токсичность при определенной схеме лечения. Для любого соединения терапевтически эффективное количество может быть установлено изначально либо с помощью анализов в культуре клеток, например опухолевых клеток или на животных моделях, как правило крысах, мышах, кроликах, собаках или свиньях. Животную модель также можно применять для определения соответствующего диапазона концентраций и пути введения. Такие данные затем можно применять для определения пригодных доз и путей введения для людей. Терапевтическую/профилактическую эффективность и токсичность можно определять с помощью стандартных для области фармацевтики процедур на культурах клеток или экспериментальных животных, например ED₅₀ (доза, терапевтически эффективная для 50% популяции) и LD₅₀ (доза, летальная для 50% популяции). Соотношение между токсичностью и терапевтическими эффектами дозы представляет собой терапевтический индекс, и он может быть выражен в виде соотношения LD₅₀/ED₅₀. Предпочтительными являются фармацевтические композиции, характеризующиеся высокими терапевтическими индексами. Дозировка может варьироваться в этом диапазоне в зависимости от используемой лекарственной формы, чувствительности пациента и пути введения.

Для обеспечения достаточных уровней активного средства(средств) или для поддержания требуемого эффекта дозировку и способ введения корректируют. Факторы, которые могут быть приняты во внимание, включают тяжесть течения заболевания, общее состояние здоровья субъекта, возраст, вес и пол субъекта, режим питания, время и частоту введения, комбинацию(комбинации) лекарственных средств, реакции чувствительности и переносимость/ответ на терапию. Фармацевтические композиции

длительного действия можно вводить каждые 3-4 дня, каждую неделю или раз в две недели в зависимости от периода полувыведения и показателя клиренса конкретного состава.

Фармацевтические композиции, содержащие активные соединения, раскрытые в данном документе, могут быть изготовлены общеизвестным образом, например с помощью традиционных способов смешивания, растворения, гранулирования, получения драже, растирания в порошок, эмульгирования, инкапсулирования, включения или лиофилизации. Фармацевтические композиции можно составлять традиционным образом с помощью одного или нескольких фармацевтически приемлемых носителей, содержащих наполнители и/или вспомогательные вещества, способствующие преобразованию активных соединений в лекарственные препараты, которые можно применять в фармацевтических целях. Разумеется, соответствующий состав зависит от выбранного пути введения.

Подходящие для применения в инъекционной форме фармацевтические композиции включают стерильные водные растворы (в случае водорастворимых) или дисперсии и стерильные порошки для получения по индивидуальному рецепту стерильных инъекционных растворов или дисперсии. В случае внутривенного введения подходящие носители включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) или забуференный фосфатом физиологический раствор (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной, и она должна быть жидкой до такой степени, чтобы обеспечивалась возможность введения через шприц. Она должна быть стабильной в условиях изготовления и хранения и должна быть защищена от контаминации микроорганизмами, такими как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсную среду и содержать, например, воду, этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси. Надлежащую текучесть можно сохранять, например, путем применения эмульгатора, такого как лецитин, путем сохранения требуемого размера частиц в случае дисперсии, и путем применения поверхностно-активных веществ. Предупреждение действия микроорганизмов можно обеспечить с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств, например парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. Во многих случаях предпочтительным будет включение в композицию изотонических средств, например сахаров, полиспиртов, таких как маннит и сорбит, и натрия хлорида. Пролонгированную абсорбцию инъекционных композиций можно обеспечить путем включения в композицию средства, задерживающего абсорбцию, например алюминия моностеарата и желатина.

Стерильные инъекционные растворы можно получать путем введения активного соединения в требуемом количестве в соответствующий растворитель с одним или с комбинацией перечисленных выше ингредиентов с последующей стерилизацией фильтрованием при необходимости. Как правило, дисперсии получают путем введения активного соединения в стерильную основу, содержащую исходную дисперсную среду и другие требуемые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов способы получения включают сушку в вакууме и лиофилизацию, в результате чего получают порошок активного ингредиента в комбинации с каким-либо требуемым ингредиентом из их предварительно стерилизованного фильтрованием раствора.

Композиции для перорального применения, как правило, включают инертный разбавитель или пищевой фармацевтически приемлемый носитель. Они могут быть заключены в желатиновые капсулы или спрессованы в виде таблеток. Для введения терапевтического средства для перорального применения активное соединение можно выключать вместе с наполнителями и применять в форме таблеток, пастилок или капсул. Композиции для перорального применения также можно получать с помощью жидкого носителя для применения в виде жидкости для полоскания рта, при этом соединение в жидком носителе применяют перорально и осуществляют полоскание и сплевывают или глотают. Фармацевтически совместимые связующие средства и/или вспомогательные материалы можно включать как часть композиции. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т.п. могут содержать любой из следующих ингредиентов или соединений аналогичной природы: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакант или желатин; наполнитель, такой как крахмал или лактоза, средство для улучшения распадаемости таблеток, такое как альгиновая кислота, примогель или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния или гидрогенизированные растительные масла; скользящее вещество, такое как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизатор, такой как мята перечная, метилсалицилат или апельсиновая вкусовая добавка.

Для введения путем ингаляции соединения доставляются в форме спрей-аэрозоля из находящейся под давлением емкости или дозатора, содержащего подходящий пропеллент, например газ, такой как углекислый газ, или распылителя. Системное введение также можно осуществлять трансмукозальным или трансдермальным путем. Для трансмукозального или трансдермального введения в составе применяют смачивающие вещества, соответствующие барьеру, через который они должны проходить. Такие смачивающие вещества, как правило, известны из уровня техники и включают, например, в случае трансмукозального введения, детергенты, желчные кислоты и производные фусидовой кислоты. Трансмукозальное введение можно осуществлять с помощью назального аэрозоля или суппозитория. В случае трансдермального введения активные соединения составлены в виде мазей, бальзамов, гелей или кремов, как правило известных из уровня техники.

Активные соединения можно получать вместе с фармацевтически приемлемыми носителями, которые будут защищать соединение от быстрого удаления из организма, например в виде состава с контролируемым высвобождением, в том числе имплантантов и системы доставки в микроинкапсулированной форме. Можно применять биodeградируемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфир и полимолочная кислота. Способы получения таких составов будут понятны специалисту в области техники. Материалы также могут быть получены коммерчески от Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc. Суспензии липосом (в том числе липосом с моноклональными антителами против вирусных антигенов, мишенью которых являются инфицированные клетки) также можно применять в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Они могут быть получены в соответствии со способами, известными специалисту в области техники, например, описанными в патенте США № 4522811. Особенно предпочтительным является составление композиций для перорального или парентерального применения в виде стандартной лекарственной формы для простоты введения и однородности дозирования. В контексте настоящего документа, стандартная лекарственная форма относится к физической дискретным единицам, подходящим для однократных дозировок, вводимых субъекту, которого лечат; каждая единица содержит заданное количество активного соединения, рассчитанное с учетом получения требуемого эффекта, в комбинации с требуемым фармацевтическим носителем. Спецификация для стандартных лекарственных форм раскрытых в данном документе определяется и непосредственно зависит от индивидуальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, который необходимо достичь. В контексте терапевтического применения, дозировки соединений-ингибиторов EZH2, описанных в данном документе, или фармацевтических композиций, применяемых в соответствии с настоящим изобретением, варьируются в зависимости от средства, возраста, веса и клинического состояния пациента, получающего лечение, и оценки и решения клинициста или практикующего врача, наряду с другими факторами, влияющими на выбор дозировки. Как правило, доза должна быть достаточной для получения результата в виде замедления, а предпочтительно регрессии, роста опухолей, и также предпочтительно результата в виде полной регрессии онкологического заболевания. Дозировки могут находиться в диапазоне от приблизительно 0,01 мг/кг в сутки до приблизительно 5000 мг/кг в сутки. Согласно предпочтительным аспектам дозировки могут находиться в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг в сутки до приблизительно 1000 мг/кг в сутки. Согласно одному аспекту доза будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 50 г/сутки, от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 25 г/сутки, от приблизительно 0,1 мг/сутки до приблизительно 10 г/сутки, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 3 г/сутки или от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 1 г/сутки, в виде однократных, дробных или непрерывных доз (каждая доза может быть скорректирована в соответствии с весом пациента в кг, площадью тела в м² и возрастом в годах). Эффективным количеством фармацевтического средства является количество, которое обеспечивает объективно выявляемое улучшение, определяемое клиницистом или другим квалифицированным наблюдателем. Например, регрессия опухоли у пациента может быть определена в отношении диаметра опухоли. Уменьшение диаметра опухоли указывает на регрессию. На регрессию также указывает неспособность опухолей возникать повторно после прекращения лечения. В контексте настоящего документа термин "эффективный способ дозировки" относится к количеству активного соединения для получения требуемого биологического эффекта у субъекта или у клетки.

Фармацевтические композиции могут содержаться в емкости, упаковке или дозаторе вместе с инструкциями по применению.

Композиция, раскрытая в данном документе, может дополнительно образовывать соли. Композиция, раскрытая в данном документе, может образовывать более одной соли на молекулу, например моно-, ди-, три-. Все эти формы также охватываются объемом заявленного изобретения.

В контексте настоящего документа "фармацевтически приемлемые соли" относятся к производным соединениям, раскрытым в данном документе, при этом исходное соединение модифицировано путем образования его кислых или основных солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают без ограничения соли неорганических или органических кислот с основными остатками, такими как амины, щелочи, или органические соли с кислотными остатками, такими как карбоновые кислоты и т.п. Фармацевтически приемлемые соли включают традиционные нетоксичные соли или четвертичные аммониевые соли, образованные из исходного соединения, например из нетоксичных неорганических или органических кислот. Например, такие традиционные нетоксичные соли включают без ограничения соли, полученные из неорганических и органических кислот, выбранных из 2-ацетоксибензойной, 2-гидроксиэтансульфоновой, уксусной, аскорбиновой, бензолсульфоновой, бензойной, дикарбоновой, углекислоты, лимонной, этилендиаминтетрауксусной, этионовой, 1,2-этансульфоновой, фумаровой, глюкогептоновой, глюконовой, глутаминовой, гликолевой, гликолиларсаниловой, гексилрезорциновой, гидраминаминовой, бромистоводородной, соляной, йодистоводородной, гидроксималеиновой, гидроксинафтойной, изэтионовой, молочной, лактобионовой, лаурилсульфоновой, малеиновой, яблочной, миндальной, метансульфоновой, напсильевой, азотной, щавелевой, памоевой, пантотеновой, фенилуксусной, ортофосфорной, полигалактуроновой, пропионовой, салициловой, стеариновой, слабой уксусной, янтарной, сульфаминовой, сульфаниловой, серной, дубильной, винной, толуолсульфоновой и часто встречающихся

аминокислот, например глицина, аланина, фенилаланина, аргинина и т.д.

Другие примеры фармацевтически приемлемых солей включают соли капроновой кислоты, циклопентанпропионовой кислоты, пировиноградной кислоты, малоновой кислоты, 3-(4-гидроксibenзоил)бензойной кислоты, коричной кислоты, 4-хлорбензолсульфоновой кислоты, 2-нафталинсульфоновой кислоты, 4-толуолсульфоновой кислоты, камфорсульфоновой кислоты, 4-метилбицикло-[2,2,2]-окта-2-ен-1-карбоновой кислоты, 3-фенилпропионовой кислоты, триметилуксусной кислоты, трет-бутилуксусной кислоты, муконовой кислоты и т.п. Настоящее изобретение также охватывает соли, образующиеся, когда протон кислоты, присутствующий в исходном соединении, замещается либо на ион металла, например, ион щелочного металла, ион щелочно-земельного металла или ион алюминия, либо взаимодействует с органическим основанием, таким как этаноламин, диэтиламин, триэтиламин, триметамин, N-метилглюкамин и т.п.

Следует понимать, что все ссылки на фармацевтически приемлемые соли включают формы присоединения растворителя (сольваты) тех же солей. Соединения, раскрытые в данном документе, можно также получать в виде сложных эфиров, например фармацевтически приемлемых сложных эфиров. Например, функциональная группа карбоновых кислот в соединении может переходить в ее соответствующий сложный эфир, например метиловый, этиловый или другой сложный эфир. Также, спиртовая группа в соединении может переходить в ее соответствующий сложный эфир, например ацетатный, пропионовый или другой сложный эфир. Композицию или ее фармацевтически приемлемые соли или сольваты вводят пероральным, назальным, трансдермальным, легочным, ингаляционным, буккальным, сублингвальным, интраперитонеальным, подкожным, внутримышечным, внутривенным, ректальным, интраплевральным, интратекальным и парентеральным путем. Согласно одному варианту осуществления соединения вводят перорально. Специалисту в данной области будут понятны преимущества определенных путей введения. Схему приема с использованием соединений выбирают в соответствии с рядом факторов, в том числе тип, вид, возраст, вес, пол и медицинское состояние пациента, тяжесть состояния, подлежащего лечению, путь введения, функция почек и печени пациента и конкретное используемое соединение или его соль. Рядовой врач или ветеринар сможет легко определить и назначить эффективное количество лекарственного средства, требуемое для предупреждения, противодействия или остановки и прогрессирования состояния.

Методики составления и введения раскрытых соединений можно найти в Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). Согласно одному варианту осуществления описанные в данном документе соединения и их фармацевтически приемлемые соли применяют в качестве фармацевтических препаратов в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем. Подходящие фармацевтически приемлемые носители включают инертные твердые наполнители или разбавители и стерильные водные или органические растворы. В таких фармацевтических композициях соединения будут находиться в количествах, достаточных для получения требуемой величины дозировки в диапазоне, описанном в данном документе.

В контексте настоящего документа все процентные значения и соотношения указаны по весу, если не указано иное. Другие особенности и преимущества настоящего раскрытия становятся очевидными из различных примеров. Предоставленные примеры иллюстрируют различные компоненты и методологию, полезные при применении настоящего изобретения. Примеры не ограничивают формулу изобретения. Основываясь на настоящем раскрытии, специалист в данной области сможет выявить и использовать другие компоненты и методологию, пригодные при применении настоящего изобретения. В контексте настоящего документа "нуждающимся в этом субъектом" является субъект, имеющий NHL, или субъект с повышенным риском развития такого нарушения по сравнению с общей популяцией. У нуждающегося в этом субъекта может наблюдаться предраковое состояние. "Субъект" включает млекопитающее. Млекопитающим может быть, например, любым млекопитающим, например человеком, приматом, птицей, мышью, крысой, домашней птицей, собакой, кошкой, коровой, лошастью, козой, верблюдом, овцой или свиньей. Предпочтительно, млекопитающее представляет собой человека.

Субъект включает любого субъекта-человека с диагностированной NHL, с симптомами или с риском развития NHL, включая DLBCL, GCB DLBCL, DLBCL, отличную от происходящей из герминативного центра, включая ABC DLBCL, FL, PMBCL и MZL. Раскрытый в данном документе субъект включает любого субъекта-человека, экспрессирующего мутантный EZH2 или EZH2 WT, или характеризуется мутацией в гене EZH2 или характеризуется геном EZH2 дикого типа. Например, мутантный EZH2 содержит одну или несколько мутаций, при этом мутация представляет собой замену, точечную мутацию, нонсенс-мутацию, миссенс-мутацию, делецию или вставку или любую другую описанную в данном документе мутацию EZH2. Нуждающийся в этом субъект может страдать от онкологического заболевания, неподдающегося лечению или устойчивого к лечению. "Онкологическое заболевание, тяжело поддающееся лечению или устойчивое к лечению" означает онкологическое заболевание без ответа на лечение. Онкологическое заболевание может быть устойчивым вначале лечения или может приобрести устойчивость во время лечения. Согласно некоторым вариантам осуществления у нуждающегося в этом субъекта наблюдается рецидив онкологического заболевания после ремиссии в результате последнего лечения.

Согласно некоторым вариантам осуществления нуждающийся в этом субъект безрезультатно полу-

чил все известные эффективные виды терапии для лечения онкологического заболевания. В некоторых вариантах осуществления нуждающийся в этом субъект получил по меньшей мере один вид предшествующей терапии. Согласно определенным вариантам осуществления предшествующая терапия представляет собой монотерапию. Согласно определенным вариантам осуществления предшествующая терапия представляет собой комбинированную терапию.

Согласно определенным вариантам осуществления нуждающийся в этом субъект может страдать от вторичного онкологического заболевания в результате предыдущей терапии. "Вторичное онкологическое заболевание" означает онкологическое заболевание, возникающее в связи с предыдущими видами терапии или в результате предыдущих видов терапии, таких как химиотерапия.

У субъекта также может проявляться устойчивость к ингибиторам метилтрансферазы EZH2 гистонов или другому терапевтическому средству. В настоящем изобретении также описывается способ подбора терапии для субъекта с лимфомой, включая DLBCL, GCB DLBCL, DLBCL, отличную от происходящей из герминативного центра, ABC DLBCL, FL, PMBCL и MZL. Способ предусматривает стадии обнаружения наличия или отсутствия в образце от субъекта одной или нескольких описанных в данном документе мутаций EZH2; и подбора, исходя из наличия или отсутствия одной или нескольких мутаций EZH2, терапии для лечения лимфомы. Согласно одному варианту осуществления терапия включает введение субъекту терапевтически эффективного количества описанного в данном документе ингибитора EZH2. Мутация EZH2 или ее отсутствие может быть обнаружена с помощью подходящего способа, известного из уровня техники. Описанные в данном документе способы и применения включают стадии обнаружения наличия или отсутствия в образце от нуждающегося в этом субъекта одной или нескольких мутаций EZH2, описанных в данном документе, до и/или после введения субъекту композиции, описанной в данном документе (например, композиции, содержащей раскрытое соединение или его фармацевтически приемлемой соли, отдельно или в комбинации с одним или несколькими второстепенными терапевтическими средствами).

Настоящее изобретение предусматривает персонализированную медицину, лечение и/или борьбу с онкологическим заболеванием для субъекта с имеющимся или с риском наличия лимфомы, происходящей из герминативного центра, в соответствии с генетическим скринингом на предмет одной или нескольких описанных в данном документе мутаций EZH2 у субъекта. Например, настоящее изобретение предусматривает способы лечения или облегчения симптома лимфомы, происходящей из герминативного центра, у нуждающегося в этом субъекта в соответствии с определением у субъекта ответной реакции на терапию и, в случае ответа субъекта на терапию, введения субъекту композиции, раскрытой в данном документе. После определения у субъекта ответной реакции можно вводить терапевтически эффективное количество композиции, например композиции, содержащей соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль отдельно или в комбинации с одним или несколькими второстепенными терапевтическими средствами. Терапевтически эффективное количество композиции может быть определено рядовым специалистом в данной области.

В контексте настоящего документа термин "ответная реакция" является взаимозаменяемым для терминов "ответающий", "восприимчивый" и "восприимчивость", и означает, что у субъекта проявляются терапевтические ответы при введении композиции раскрытой в данном документе, например, опухолевые клетки или опухолевые ткани субъекта подвергаются апоптозу и/или некрозу, и/или характеризуются снижением роста, деления или пролиферации. Этот термин также означает, что субъект будет иметь или имеет более высокую вероятность, по сравнению с общей популяцией, проявления терапевтических ответов при введении композиции раскрытой в данном документе, например, опухолевые клетки или опухолевые ткани субъекта подвергаются апоптозу и/или некрозу, и/или характеризуются снижением роста, деления или пролиферации.

Под "образцом" подразумевается любой биологический образец, полученный от субъекта, в том числе без ограничения, клетки, образцы тканей, жидкости организма (в том числе без ограничения, слезы, кровь, плазма, сыворотка, моча, слюна и семенная жидкость), опухолевые клетки и опухоли ткани. Предпочтительно, образец выбран из костного мозга, клеток периферической крови, крови, плазмы и сыворотки. Образцы могут быть получены от субъекта во время лечения или исследования. Альтернативно, образцы могут быть получены врачом согласно общепринятой в уровне техники практике.

В контексте настоящего документа "представляющее интерес соединение" относится к раскрытому в данном документе соединению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвату, которое было или будет исследовано в одном или нескольких *in vitro* или *in vivo* биологических анализах, с целью определение того факта, может ли указанное соединение вызывать требуемый биологический или клинический ответ клетки, ткани, системы, у животного или человека, необходимый с точки зрения исследователя или клинициста. Представляющее интерес соединение представляет собой раскрытое в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемую соль или сольват. Биологический или клинический ответ может представлять собой лечение онкологического заболевания. Биологический или клинический ответ может представлять собой лечение или предупреждение нарушения, связанного с клеточной пролиферацией. *In vitro* или *in vivo* биологические анализы могут включать без ограничения анализы ферментативной активности, анализы изменения электрофоретической подвижности, анализы с приме-

нением репортерных генов, *in vitro* анализы жизнеспособности клеток и описанные в данном документе анализы.

В контексте настоящего документа термин "лечение" или "лечить" описывает ведение и уход за пациентом с целью борьбы с заболеванием, состоянием или нарушением и включает введение раскрытого в данном документе соединения или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата с целью облегчения симптомов или осложнения заболевания, состояния или нарушения, или устранения заболевания, состояния или нарушения.

Раскрытую в данном документе композицию или ее фармацевтически приемлемую соль или сольват также можно применять для предупреждения заболевания, состояния или нарушения. В контексте настоящего документа термин "предупреждение" или "предупреждать" описывает снижение вероятности или устранение наступления симптомов или осложнений заболевания, состояния или нарушения. В контексте настоящего документа термин "облегчать" описывает процесс, за счет которого снижается степень тяжести признака или симптома нарушения. Важно отметить, что признак или симптом может быть облегчен без его устранения. Согласно предпочтительному варианту осуществления введения фармацевтических композиций, раскрытых в данном документе, приводит к устранению признака или симптома, хотя указанное устранение не требуется. Предполагается, что эффективные дозировки будут снижать степень тяжести признака или симптома. Например, признак или симптом нарушения, такого как онкологическое заболевание, который может возникать в нескольких участках, облегчается в случае, если степень тяжести онкологического заболевания снижается в пределах по меньшей мере одного из нескольких участков.

В контексте настоящего документа термин "тяжесть" описывает способность онкологического заболевания переходить из предракового состояния или доброкачественного состояния в злокачественное состояние. Альтернативно, или в дополнение, тяжесть подразумевает стадию онкологического заболевания, например, согласно системе TNM (принятой Международным союзом по борьбе с раком (UICC) и Американским объединенным комитетом по раку (AJCC)) или другим принятым в данной области способам. Стадия онкологического заболевания относится к мере или тяжести онкологического заболевания, исходя из таких факторов, как локализация первичной опухоли, размер опухоли, количество опухолей и распространение на лимфатические узлы (метастазирование в лимфатические узлы). Альтернативно или в дополнение, тяжесть подразумевает определение степени злокачественности опухоли с помощью принятых в данной области способов (см. на сайте Национального института рака, www.cancer.gov). Степень злокачественности опухоли представляет собой систему, применяемую для классификации раковых клеток в контексте того, насколько аномальными они выглядят под микроскопом, и как быстро опухоль может расти и метастазировать. При определении степени злокачественности опухоли рассматривается множество факторов, в том числе структура и характер роста клеток. Конкретные факторы, применяемые для определения степени злокачественности опухоли, варьируются в случае каждого типа онкологического заболевания. Тяжесть также подразумевает гистологическую степень злокачественности, также называемую дифференциацией, в отношении того, насколько опухолевые клетки схожи с нормальными клетками ткани того же типа (см. на сайте Национального института рака, www.cancer.gov). Кроме того, тяжесть подразумевает степень полиморфизма ядер, в отношении размера и формы ядра опухолевых клеток и процентное количество делящихся опухолевых клеток (см. на сайте Национального института рака, www.cancer.gov).

Согласно другому аспекту тяжесть подразумевает степень интенсивности секретии ростовых факторов, деградации внеклеточного матрикса, васкуляризации, потери адгезии с контактирующими тканями или метастазирования. Кроме того, тяжесть подразумевает число локализаций, куда метастазировала опухоль. Наконец, тяжесть включает сложность лечения опухолей различных типов и локализаций. Например, неоперабельные опухоли при таких онкологических заболеваниях, которые обладают большим доступом к нескольким системам организма (гематологические опухоли и опухоли, связанные с иммунной системой), а также при наиболее устойчивых к традиционным типам лечения онкологических заболеваниях, рассматриваются как наиболее тяжелые. В этих случаях увеличение продолжительности жизни субъекта и/или ослабление боли, уменьшение доли опухолевых клеток или ограничение указанных клеток до пределов одной системы, улучшение в отношении стадии онкологического заболевания/степени злокачественности опухоли/гистологической степени злокачественности/степени полиморфизма ядер рассматриваются как облегчение признака или симптома онкологического заболевания.

В контексте настоящего документа термин "симптом" определяется как показатель заболевания, расстройства, поражения или какого-либо нарушения в организме. Симптомы ощущаются и отмечаются индивидуумом, испытывающим симптом, и не могут быть отмечены другими. "Другие" определяются как не являющиеся специалистами в области медицины.

В контексте настоящего документа термин "признак" также определяется как показатель какого-либо нарушения в организме. Но признаки определяются как факторы, которые могут быть обнаружены врачом, медсестрой или другим специалистом в области медицины.

Онкологическое заболевание представляет собой группу заболеваний, которые могут быть причиной любого признака или симптома. Признаки и симптомы будут зависеть от локализации опухоли, раз-

мера опухоли и как сильно она влияет на ближайшие органы и структуры. Если онкологическое заболевание распространяется (метастазирует), тогда симптомы могут возникать в разных частях организма. Лечение онкологического заболевания может приводить к уменьшению размера опухоли. Уменьшение размера опухоли также может быть названо "регрессией опухоли". Предпочтительно, после лечения размер опухоли уменьшается на 5% или более относительно ее размера до лечения; более предпочтительно размер опухоли уменьшается на 10% или более; более предпочтительно уменьшается на 20% или более; более предпочтительно уменьшается на 30% или более; более предпочтительно уменьшается на 40% или более; еще более предпочтительно уменьшается на 50% или более; и наиболее предпочтительно уменьшается более чем на 75% или более. Размер опухоли может быть определен с помощью любых воспроизводимых способов определения. Размер опухоли может быть определен диаметром опухоли. Лечение онкологического заболевания может приводить к уменьшению объема опухоли. Предпочтительно, после лечения объем опухоли уменьшается на 5% или более относительно ее размера до лечения; более предпочтительно объем опухоли уменьшается на 10% или более; более предпочтительно уменьшается на 20% или более; более предпочтительно уменьшается на 30% или более; более предпочтительно уменьшается на 40% или более; еще более предпочтительно уменьшается на 50% или более; и наиболее предпочтительно уменьшается более чем на 75% или более. Объем опухоли может быть определен с помощью любых воспроизводимых способов определения.

Лечение онкологического заболевания приводит к уменьшению числа опухолей. Предпочтительно, после лечения количество опухолей уменьшается на 5% или более относительно количества до лечения; более предпочтительно количество опухолей уменьшается на 10% или более; более предпочтительно уменьшается на 20% или более; более предпочтительно уменьшается на 30% или более; более предпочтительно уменьшается на 40% или более; еще более предпочтительно уменьшается на 50% или более; и наиболее предпочтительно уменьшается более чем на 75%. Количество опухолей может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов определения. Количество опухолей может быть определено путем подсчета опухолей, видимых невооруженным глазом или при заданном увеличении. Предпочтительно, заданное увеличение является 2x, 3x, 4x, 5x, 10x или 50x.

Лечение онкологического заболевания может приводить к уменьшению количества метастатических поражений в других тканях или органах, отдаленных от первичной локализации опухоли. Предпочтительно, после лечения количество метастатических поражений уменьшается на 5% или более относительно количества до лечения; более предпочтительно количество метастатических поражений уменьшается на 10% или более; более предпочтительно уменьшается на 20% или более; более предпочтительно уменьшается на 30% или более; более предпочтительно уменьшается на 40% или более; еще более предпочтительно уменьшается на 50% или более; и наиболее предпочтительно уменьшается более чем на 75%. Количество метастатических поражений может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов определения. Количество метастатических поражений может быть определено путем подсчета метастатических поражений, видимых невооруженным глазом или при заданном увеличении. Предпочтительно, заданное увеличение является 2x, 3x, 4x, 5x, 10x или 50x. Лечение онкологического заболевания может приводить к увеличению средней продолжительности жизни популяции субъектов, получающих лечение, по сравнению с популяцией, получающей только носитель. Предпочтительно, средняя продолжительность жизни увеличивается более чем на 30 дней; более предпочтительно более чем на 60 дней; более предпочтительно более чем на 90 дней; и наиболее предпочтительно более чем на 120 дней. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности жизни после начала лечения активным соединением. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности жизни после завершения первого цикла лечения активным соединением. Лечение онкологического заболевания может приводить к увеличению средней продолжительности жизни популяции субъектов, получающих лечение, по сравнению с популяцией субъектов, не получающих лечение. Предпочтительно, средняя продолжительность жизни увеличивается более чем на 30 дней; более предпочтительно более чем на 60 дней; более предпочтительно более чем на 90 дней; и наиболее предпочтительно более чем на 120 дней. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности жизни после начала лечения активным соединением. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности жизни после завершения первого цикла лечения активным соединением. Лечение онкологического заболевания может приводить к увеличению средней продолжительности жизни популяции субъектов, получающих лечение, по сравнению с популяцией, получающей монотерапию лекарственным средством, которое не является раскрытым в данном документе соединением или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, аналогом или производным. Предпочтительно средняя продолжительность жизни увеличивается более чем на 30 дней; более предпочтительно

более чем на 60 дней; более предпочтительно более чем на 90 дней; и наиболее предпочтительно более чем на 120 дней. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности жизни после начала лечения активным соединением. Увеличение средней продолжительности жизни популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности жизни после завершения первого цикла лечения активным соединением.

Лечение онкологического заболевания может приводить к снижению уровня смертности популяции субъектов, получающих лечение, по сравнению с популяцией, получающей только носитель. Лечение онкологического заболевания может приводить к снижению уровня смертности популяции субъектов, получающих лечение, по сравнению с популяцией, не получающей лечение. Лечение онкологического заболевания может приводить к снижению уровня смертности популяции субъектов, получающих лечение, по сравнению с популяцией, получающей монотерапию лекарственным средством, которое не является раскрытым в данном документе соединением или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом, аналогом или производным. Предпочтительно, уровень смертности снижается более чем на 2%; более предпочтительно более чем на 5%; более предпочтительно более чем на 10%; и наиболее предпочтительно более чем на 25%. Снижение уровня смертности популяции субъектов, получающих лечение, может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов. Снижение уровня смертности популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции среднего количества связанных с заболеванием случаев смерти на единицу времени после начала лечения активным соединением. Снижение уровня смертности популяции также может быть определено, например, путем расчета для популяции среднего количества связанных с заболеванием случаев смерти на единицу времени после завершения первого цикла лечения активным соединением. Лечение онкологического заболевания может приводить к снижению скорости роста опухоли. Предпочтительно, после лечения скорость роста опухоли снижается по меньшей мере на 5% относительно показателей до лечения; более предпочтительно скорость роста опухоли снижается по меньшей мере на 10%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 20%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 30%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 40%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 50%; еще более предпочтительно снижается по меньшей мере на 50%; и наиболее предпочтительно снижается по меньшей мере на 75%. Скорость роста опухоли может быть определена с помощью любых воспроизводимых способов определения. Скорость роста опухоли может быть определена в соответствии с изменением диаметра опухоли за единицу времени. Лечение онкологического заболевания может приводить к сокращению возобновления роста опухоли. Предпочтительно, после лечения возобновление роста опухоли составляет менее чем 5%; более предпочтительно возобновление роста опухоли составляет менее чем 10%; более предпочтительно менее чем 20%; более предпочтительно менее чем 30%; более предпочтительно менее чем 40%; более предпочтительно менее чем 50%; еще более предпочтительно менее чем 50%; и наиболее предпочтительно менее чем 75%. Возобновление роста опухоли может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов определения. Возобновление роста опухоли определяют, например, путем определения увеличения диаметра опухоли после предшествующего сокращения опухоли после лечения. Сокращение возобновления роста опухоли определяется неспособностью опухолей возникать снова после прекращения лечения.

Лечение или предупреждение нарушения, связанного с клеточной пролиферацией, может приводить к снижению скорости клеточной пролиферации. Предпочтительно, после лечения скорость клеточной пролиферации снижается по меньшей мере на 5%; более предпочтительно по меньшей мере на 10%; более предпочтительно по меньшей мере на 20%; более предпочтительно по меньшей мере на 30%; более предпочтительно по меньшей мере на 40%; более предпочтительно по меньшей мере на 50%; еще более предпочтительно по меньшей мере на 50%; и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 75%. Скорость клеточной пролиферации может быть определена с помощью любых воспроизводимых способов определения. Скорость клеточной пролиферации определяется, например, путем определения количества делящихся клеток в образце ткани за единицу времени.

Лечение или предупреждение нарушения, связанного с клеточной пролиферацией, может приводить к уменьшению доли пролиферирующих клеток. Предпочтительно, после лечения доля пролиферирующих клеток уменьшается по меньшей мере на 5%; более предпочтительно по меньшей мере на 10%; более предпочтительно по меньшей мере на 20%; более предпочтительно по меньшей мере на 30%; более предпочтительно по меньшей мере на 40%; более предпочтительно по меньшей мере на 50%; еще более предпочтительно по меньшей мере на 50%; и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 75%. Доля пролиферирующих клеток может быть определена с помощью любых воспроизводимых способов определения. Предпочтительно, доля пролиферирующих клеток определяется, например, путем подсчета количества делящихся клеток относительно количества неделящихся клеток в образце ткани. Доля пролиферирующих клеток может равняться митотическому индексу.

Лечение или предупреждение нарушения, связанного с клеточной пролиферацией, может приводить к уменьшению размера площади или зоны клеточной пролиферации. Предпочтительно, после лече-

ния размер площади или зоны клеточной пролиферации уменьшается по меньшей мере на 5% относительно ее размера до лечения; более предпочтительно уменьшается по меньшей мере на 10%; более предпочтительно уменьшается по меньшей мере на 20%; более предпочтительно уменьшается по меньшей мере на 30%; более предпочтительно уменьшается по меньшей мере на 40%; более предпочтительно уменьшается по меньшей мере на 50%; еще более предпочтительно уменьшается по меньшей мере на 50%; и наиболее предпочтительно уменьшается по меньшей мере на 75%. Размер площади или зоны клеточной пролиферации может быть определен с помощью любых воспроизводимых способов определения. Размер площади или зоны клеточной пролиферации может быть определен как диаметр или ширина площади или зоны клеточной пролиферации.

Лечение или предупреждение нарушения, связанного с клеточной пролиферацией, может приводить к уменьшению количества или доли клеток с аномальным внешним видом или морфологией. Предпочтительно, после лечения количество клеток с аномальной морфологией снижается по меньшей мере на 5% относительно его значения до лечения; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 10%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 20%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 30%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 40%; более предпочтительно снижается по меньшей мере на 50%; еще более предпочтительно снижается по меньшей мере на 50%; и наиболее предпочтительно снижается по меньшей мере на 75%. Аномальный внешний вид или морфология клеток могут быть определены с помощью любых воспроизводимых способов определения. Аномальная морфология клеток может быть определена с помощью микроскопии, например, с применением инвертированного микроскопа для изучения тканевых культур. Аномальная морфология клеток может быть выражена в виде ядерного плейоморфизма.

В контексте настоящего документа термин "избирательно" означает склонность возникать с большей частотой в одной популяции, чем в другой популяции. Сравнимые популяции могут представлять собой популяции клеток. Предпочтительно, раскрытое в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемая соль или сольват действуют избирательно в отношении опухолевой или предопухолевой клетки, но не в отношении нормальной клетки. Предпочтительно, раскрытое в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемая соль или сольват действует избирательно с целью модулирования одной молекулярной мишени (например, метилтрансферазы в качестве белка-мишени), но не приводит к существенному модулированию другой молекулярной мишени (например, не являющейся белком-мишенью метилтрансферазы). Настоящее изобретение также предусматривает способ избирательного ингибирования активности фермента, такого как метилтрансфераза. Предпочтительно, событие проявляется селективно в популяции А относительно популяции В, если оно происходит более чем в два раза чаще в популяции А, по сравнению с популяцией В. Событие проявляется избирательно, если оно происходит более чем в пять раз чаще в популяции А. Событие проявляется селективно, если оно происходит более чем в десять раз чаще в популяции А; более предпочтительно более чем в пятьдесят раз; еще более предпочтительно более чем в 100 раз; и наиболее предпочтительно более чем в 1000 раз чаще в популяции А, по сравнению с популяцией В. Например, будет считаться, что клеточная гибель в раковых клетках проявляется избирательно, если она происходит более чем в два раза чаще в раковых клетках, по сравнению с нормальными клетками.

Композиция, раскрытая в данном документе, например композиция, содержащая любое соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль, может модулировать активность молекулярной мишени (например, метилтрансферазы в качестве белка-мишени). Модулирование относится к стимулированию или ингибированию активности молекулярной мишени. Предпочтительно, соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, модулирует активность молекулярной мишени, если он(она) стимулирует или ингибирует активность молекулярной мишени по меньшей мере в 2 раза сильнее относительно активности молекулярной мишени при тех же состояниях, но в отсутствие лишь указанного соединения. Более предпочтительно, соединение, раскрытое в данном документе, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват модулирует активности молекулярной мишени, если он(она) стимулирует или ингибирует активность молекулярной мишени по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 20 раз, по меньшей мере в 50 раз, по меньшей мере в 100 раз сильнее относительно активности молекулярной мишени при тех же состояниях, но в отсутствие лишь указанного соединения. Активность молекулярной мишени может быть определена с помощью любых воспроизводимых способов. Активность молекулярной мишени может быть определена *in vitro* или *in vivo*. Например, активность молекулярной мишени может быть определена *in vitro* с помощью анализа ферментативной активности или анализа связывания ДНК или активность молекулярной мишени может быть определена *in vivo* с помощью анализа экспрессии репортерного гена.

Композиция, раскрытая в данном документе, не приводит к значительному модулированию активности молекулярной мишени, если добавление соединения не приводит к стимуляции или ингибированию активности молекулярной мишени более чем на 10% относительно активности молекулярной мишени при тех же состояниях, но в отсутствие лишь указанного соединения.

В контексте настоящего документа термин "избирательность в отношении изофермента" означает

предпочтительное ингибирование или стимуляцию первой изоформы фермента по сравнению со второй изоформой фермента (например, предпочтительное ингибирование или стимуляцию изоформы метилтрансферазы альфа по сравнению с изоформой метилтрансферазы бета). Предпочтительно, раскрытое в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемая соль или сольват характеризуется минимум четырехкратным различием, предпочтительно десятикратным различием, более предпочтительно пятидесятикратным различием в отношении дозировки, требуемой для достижения биологического эффекта. Предпочтительно, раскрытое в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, характеризуется этим отличием во всем диапазоне ингибирования, и примером указанного различия является значение IC_{50} , т.е. 50% ингибирование молекулярной мишени, представляющей интерес.

Введение раскрытой в данном документе композиции в клетку или нуждающемуся в этом субъекту может приводить к модулированию (т.е. стимуляции или ингибированию) активности метилтрансферазы, представляющей интерес. Введение раскрытого в данном документе соединения, например композиции, содержащей раскрытое в данном документе соединение или его фармацевтически приемлемую соль, и одного или нескольких других терапевтических средств, таких как преднизон, в клетку или нуждающемуся в этом субъекту, приводит к модулированию (т.е. стимуляции или ингибированию) активности внутриклеточной мишени (например, субстрата). Подвергать модулированию с помощью раскрытых в данном документе соединений можно несколько внутриклеточных мишеней, в том числе без ограничения метилтрансферазу.

Активирование относится к приведению композиции по настоящему изобретению (например, белка или нуклеиновой кислоты) в состояние, подходящее для осуществления требуемой биологической функции. Композиция по настоящему изобретению, способная активироваться, также может находиться в неактивированном состоянии.

Активированная композиция по настоящему изобретению может характеризоваться ингибиторной или стимулирующей биологической функцией или и той и другой. Повышение относится к увеличению требуемой биологической активности композиции по настоящему изобретению (например, белка или нуклеиновой кислоты). Повышение может происходить за счет увеличения концентрации композиции по настоящему изобретению.

Лечение онкологического заболевания или нарушения, связанного с клеточной пролиферацией, может приводить к клеточной гибели, и, предпочтительно, клеточная гибель приводит к уменьшению количества клеток в популяции по меньшей мере на 10%. Более предпочтительно, клеточная гибель означает уменьшение по меньшей мере на 20%; более предпочтительно уменьшение по меньшей мере на 30%; более предпочтительно уменьшение по меньшей мере на 40%; более предпочтительно уменьшение по меньшей мере на 50%; наиболее предпочтительно уменьшение по меньшей мере на 75%. Количество клеток в популяции может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов. Количество клеток в популяции может быть определено с помощью способа сортировки клеток с возбуждением флуоресценции (FACS), иммунофлуоресцентной микроскопии и световой микроскопии. Способы определения клеточной гибели приведены в Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 100(5): 2674-8, 2003. Согласно одному аспекту клеточная гибель происходит в результате апоптоза. Предпочтительно, эффективное количество композиции, раскрытой в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата не является значительно цитотоксичным для нормальных клеток. Терапевтически эффективное количество соединения не является существенно цитотоксичным для нормальных клеток, если введение соединения в терапевтически эффективном количестве не индуцирует клеточную гибель более 10% нормальных клеток. Терапевтически эффективное количество соединения существенно не влияет на жизнеспособность нормальных клеток, если введение соединения в терапевтически эффективном количестве не индуцирует клеточную гибель более 10% нормальных клеток. Согласно одному аспекту клеточная гибель происходит в результате апоптоза.

Приведение клетки в контакт с композицией, раскрытой в данном документе, или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом может избирательно индуцировать или активировать клеточную гибель в раковых клетках. Введение нуждающемуся в этом субъекту раскрытого в данном документе соединения или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата может избирательно индуцировать или активировать клеточную гибель в раковых клетках. Приведение клетки в контакт с раскрытой в данном документе композицией или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом может избирательно индуцировать клеточную гибель среди одного или нескольких типов клеток, пораженных в результате нарушения, связанного с клеточной пролиферацией. Предпочтительно, введение нуждающемуся в этом субъекту раскрытой в данном документе композиции или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата избирательно индуцирует клеточную гибель среди одного или нескольких типов клеток, пораженных в результате нарушения, связанного с клеточной пролиферацией.

Настоящее раскрытие относится к способу лечения или предупреждения онкологического заболевания путем введения нуждающемуся в этом субъекту раскрытой в данном документе композиции или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, при этом введение раскрытой в данном документе композиции или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата приводит к одному или несколь-

ким из следующего: предупреждению пролиферации раковых клеток путем удерживания клеток в одной или нескольких фазах клеточного цикла (например, G1, G1/S, G2/M), или индуцированию старения клеток, или активации дифференцировки опухолевых клеток; активации клеточной гибели раковых клеток за счет цитотоксичности, некроза или апоптоза, не сопровождающейся значительной степенью клеточной гибели нормальных клеток; противоопухолевой активности у животных с терапевтическим индексом по меньшей мере 2. В контексте настоящего документа "терапевтический индекс" представляет собой результат деления максимальной переносимой дозы на эффективную дозу.

Специалист в данной области может обратиться к общим текстам ссылок за подробными описаниями известных техник, которые обсуждались в данном документе или аналогичных методиках. Эти тексты включают Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (3rd edition), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (2000); Coligan et al., *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna et al., *Current Protocols in Pharmacology*, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (1975), Remington's *Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990). Разумеется, на эти тексты можно также ссылаться при создании или применении аспекта по настоящему изобретению.

Пример 1. Клиническое исследование EPZ-6438.

Фаза 1 испытания включала пациентов с рецидивными/неподдающимися лечению солидными опухолями и В-клеточной лимфомой. В исследовании использовали стандартный план в виде повышения дозы 3+3 с двумя запланированными дозами у расширенных когорт и клинической фармакологии дополнительных исследований. Первичной конечной точкой было определение рекомендуемой дозы в фазе 2 или MTD со стандартными конечными точками.

Включенные пациенты включали 19 пациентов с NHL, из которых 13 пациентов имели DLBCL. Исследования клетки-предшественницы предполагали для всех пациентов с NHL, однако у 3 пациентов с DLBCL имелось недостаточно ткани, чтобы иметь основания определения происхождения либо из герминативного центра, либо из отличного от герминативного центра. Исследование мутации EZH2 централизованно осуществляли для 14 пациентов с NHL с помощью теста cobas® (Roche). Один пациент с лимфомой, опухоль которого до сих пор обрабатывали, имел мутацию EZH2. В отношении пациентов с солидными опухолями внимание было уделено набору пациентов с INI1-дефицитными опухолями вследствие онкогенной роли EZH2 в этих опухолях. Пациентов с NHL в период исследования предварительно лечили большими дозами, причем 85% получали три или более предшествующих системных терапии и почти половина получала четыре или более предшествующих схем лечения. У 37% отсутствовала реакция на их последнюю схему лечения и у пяти пациентов имелась предварительная трансплантация.

Фармакокинетика EPZ-6438 характеризовалась быстрой абсорбцией и конечным периодом полувыведения от 3 до 5 ч (фиг. 4). Лекарственное средство характеризовалось дозопропорциональной линейной PK в устойчивом состоянии по всему диапазону дозирования. В то время как наблюдалось снижение AUC между первой дозой и 15 днем, отсутствовало дальнейшее снижение системного воздействия вне этого времени, о чем в правой панели свидетельствовали уровни C_{trough} перед использованием препарата.

На фиг. 5 показано собранные образцы биопсии кожи до и после использования препарата для оценки фармакодинамики в замещенной ткани посредством измерения уровня триметил-НЗК27 с помощью иммуногистохимии. Ранее было показано, что происходило дозозависимое снижение уровней триметил-НЗК27 по всей толщине кожи, как показано в верхней правой панели. При дальнейшем уточненном количестве с использованием анализа изображений для оценки сигнала НЗК27 в различных слоях кожи наблюдали значительно большее снижение сигнала триметил-НЗК27 в остистом слое по сравнению с базальным слоем, который существенно не менялся.

Данные различия в фармакодинамическом ответе между различными слоями кожи свидетельствовали о возможной вариабельности в кинетике обновления триметил-НЗК27, даже в клетках той же ткани.

EPZ-6438 хорошо переносился, а наиболее распространенными побочными эффектами были астения, анорексия, анемия, одышка и тошнота по всей популяции (фиг. 6).

3 стадии или более неблагоприятные события наблюдались менее чем у трети пациентов.

3 стадии или более неблагоприятные события, связанные с лечением, наблюдались только у 5 пациентов.

Единственным наблюдаемым видом DLT была тромбоцитопения, которая случалась при 1600 мг.

Одному пациенту потребовалось снижение дозы при тромбоцитопении. Один пациент досрочно завершил лечение препаратом на 4 стадии нейтропении. Оба этих пациента получали лечение при 800 мг в расширенной когорте.

Семь пациентов временно прекращали терапию. Из них 6 были с обратимой токсичностью и возобновили исследования средства с предыдущей дозой без дополнительного исследования.

На фиг. 7 показано, что из 15 обследованных пациентов с NHL 9 имели объективный ответ.

При DLBCL объективные ответы замечали у 5 из 9 пациентов. Из них один пациент остался в исследовании на более чем 18 месяцев и дополнительный пациент с мутацией EZH2 остался в исследовании в течение 6 месяцев.

При фолликулярной лимфоме 3 из 5 пациентов достигали объективных ответов, причем для двух пациентов в период исследования в течение 12 месяцев.

Одного пациента с нодулярной лимфомой маргинальной зоны оставили в исследовании, причем с постепенным улучшением частичного ответа с наступлением одного года терапии.

Одной из особенностей противоопухолевой активности EPZ-6438 при NHL являлось постепенное, но продолжительное снижение массы опухоли. Это приводило к образованию объективного ответа, который может произойти через 10 месяцев исследования. У пациентов мог быть длительный период SD с постепенным сокращением опухоли до наступления PR. И то же самое могли наблюдать до того, как PR переходил в CR. Данный образец ответа наблюдали у всех подтипов NHL, изученных на сегодняшний день.

На фиг. 9 показан 23-летний мужчина с первичной медиастинальной В-клеточной лимфомой, у которого наступал CR на 40 неделе с отрицательным PET несмотря на отсутствие реакции на многократные схемы с интенсивным ритуксимабом + химиотерапией. Он пребывал с CR до 78 недели.

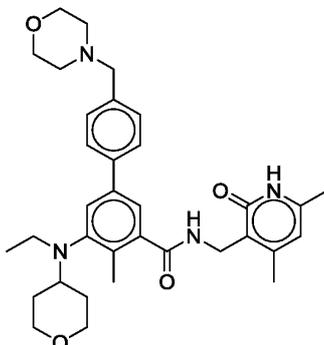
На фиг. 10 в качестве другого примера образования ответа показан мужчина с множественной неподающейся лечению фолликулярной лимфомой. Его периорбитальная опухоль достигала критериев PR на 16 неделе, а затем CR с 32 недели. Он пребывал с CR до 60 недели.

На фиг. 11 показана пациентка с опухолью, несущая мутацию EZH2. Она имела агрессивную DLBCL, и ее предварительно лечили очень большими дозами шестью предыдущими схемами и без объективного ответа в течение последних 3 лет. Ее сканирования показали резкий ответ на таземетостат со снижением на 52% очень крупного объемного образования брюшной полости на 16 неделе. Она пребывала с PR в течение 24 недель исследования.

Все публикации и патентные документы, процитированные в данном документе, включены в настоящий документ с помощью ссылки, как если бы каждая(каждый) из такой публикации или документа была(был) конкретно и отдельно указана(указан) как включенная(включенный) с помощью ссылки. Упоминание публикаций и патентных документов не подразумевает в качестве признания того, что любое такое упоминание имеет отношение к предшествующему уровню техники, так и не представляет собой любое признание в отношении их содержания или даты. Из настоящего изобретения, описанного посредством письменного описания, специалисту в данной области будет понятно, что настоящее изобретение на практике может быть реализовано в различных вариантах осуществления, и что вышеизложенные описание и примеры приведены в целях иллюстрации, а не ограничения прилагаемой формулы изобретения. Настоящее изобретение может быть воплощено в других конкретных формах без отклонения от идеи или основных характеристик. Поэтому вышеизложенные варианты осуществления нужно рассматривать скорее как иллюстративные, а не ограничивающие настоящее изобретение, описанное в данном документе. Таким образом, объем настоящего изобретения задан скорее приложенной формулой изобретения, а не вышеизложенным описанием, и все изменения, которые подпадают под значение и диапазон соответствия формулы изобретения, предназначены для включения в него.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения неходжкинской лимфомы (NHL), включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2, где NHL представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL) и где ингибитор EZH2 представляет собой EPZ-6438 следующей формулы:



или его фармацевтически приемлемую соль.

2. Способ по п.1, где NHL представляет собой NHL, ассоциированную с EZH2 дикого типа.
3. Способ по п.1, где NHL представляет собой NHL, ассоциированную с мутантным EZH2.
4. Способ по п.1, где NHL представляет собой лимфому, происходящую из герминативного центра.
5. Способ по п.1, где NHL представляет собой лимфому, отличную от происходящей из герминативного центра.
6. Способ по любому из пп.1-5, где ингибитор EZH2 вводят перорально.
7. Способ по любому из пп.1-6, где ингибитор EZH2 ежедневно вводят субъекту в дозе от прибли-

зительно 100 мг до приблизительно 3200 мг.

8. Способ по любому из пп.1-7, где ингибитор EZH2 вводят субъекту в дозе от приблизительно 100 мг два раза в день до приблизительно 1600 мг два раза в день.

9. Способ по любому из пп.1-8, где ингибитор EZH2 вводят субъекту в дозе приблизительно 100 мг два раза в день, 200 мг два раза в день, 400 мг два раза в день, 800 мг два раза в день или приблизительно 1600 мг два раза в день.

10. Способ по любому из пп.1-9, где ингибитор EZH2 вводят субъекту в дозе 800 мг два раза в день.

11. Способ по любому из пп.1-10, где ингибитор EZH2 вводят в качестве части комбинированной терапии с одним или несколькими другими терапевтическими средствами или способами лечения.

12. Способ по любому из пп.1-11, где у субъекта экспрессируется мутантный EZH2 или EZH2 дикого типа.

13. Способ по любому из пп.1-11, где у субъекта имеется мутация в гене EZH2 или имеется ген EZH2 дикого типа.

14. Способ по любому из пп.1-13, где субъект является человеком.

Фаза 1 испытания, проводимого у человека впервые

- EPZ-6438 (тазаметостат): пероральный прием от 100 мг до 1600 мг BID
- Популяция: рецидивная/неподдающаяся лечению В-клеточная лимфома или солидные опухоли
- План клинического исследования: повышение дозы 3+3
 - Расширенные когорты при 800 мг (запланированное n=6) и 1600 мг (запланированное n=6)
 - Дополнительное исследование влияния пищи при 400 мг (запланированное n=12)
- Первичная конечная точка: определение RP2D/MTD
- Вторичные конечные точки: безопасность, PK, PD и ответ опухоли (каждые 8 недель)
- Прекращение сбора данных: 8 июня 2015 года

Дозировка (мг BID)	Пациенты (n=45)	Солидные опухоли (n=26)	В-клеточная NHL (n=19)
100*	6	5	1
200	3	1	2
400	3	2	1
800	14	6	8
1600	12	8	4
Food Effect	7	4	3

* 2 состава

Фиг. 1

Типы опухолей у пациентов

Рецидивная/неподдающаяся лечению NHL	n=19 *	
Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL)	GCB	4
	отличная от GCB	6
	неопределенная	3
Фолликулярная лимфома (FL)	5	
Лимфома маргинальной зоны (MZL)	1	
Рецидивная или неподдающаяся лечению солидная опухоль	n=26	
INI1-дефицитная опухоль	10	
Злокачественная опухоль GI	7	
Злокачественная опухоль GU	5	
Саркома	3	
Опухоль CNS	1	

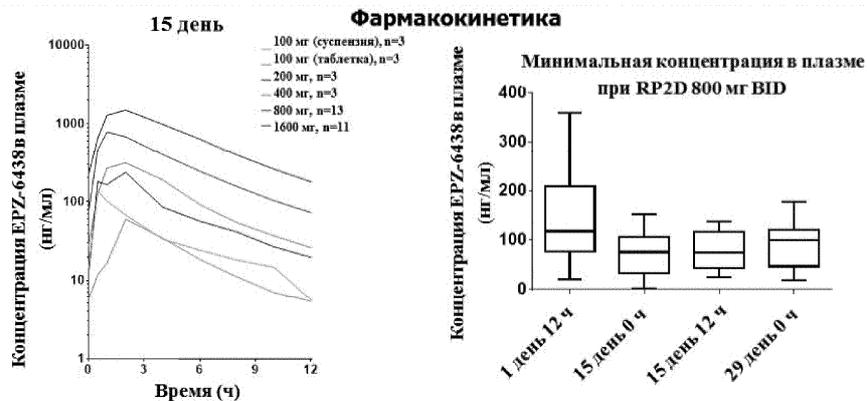
* На тот момент исследовали 14 пациентов с NHL: 13 WT + 1 мутантного согласно тесту на мутацию EZH2 cobas® (в разработке, Roche Molecular Systems, Inc.)

Фиг. 2

Демографические данные пациентов с NHL

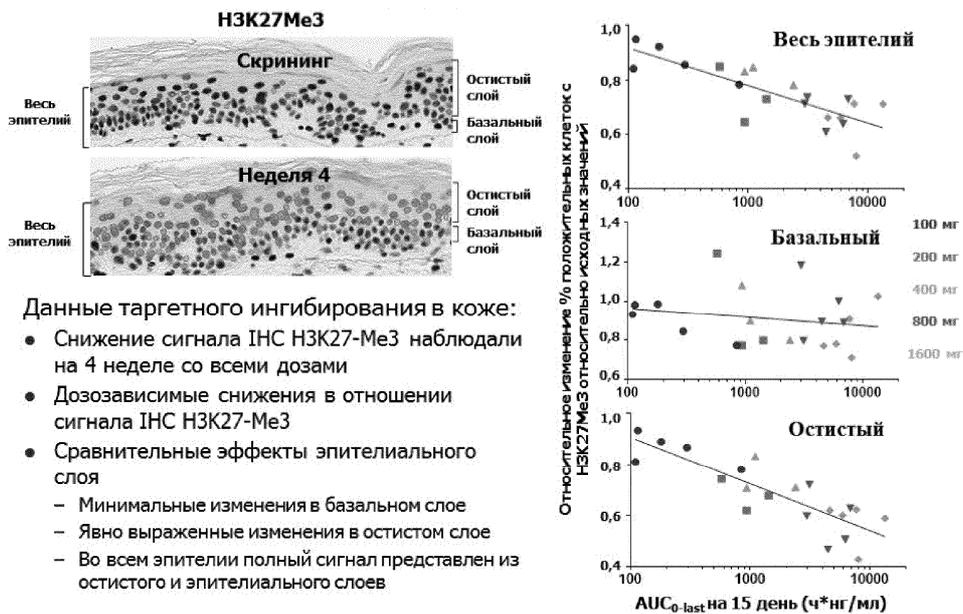
Характеристика		Пациенты (n=19) n (%)
Средний возраст, лет (промежуток)		61 (24 - 84)
Пол (М/Ж)		14 (74) / 5 (26)
№ предшествующих схем лечения	1	2 (10)
	2	1 (5)
	3	7 (37)
	4	2 (10)
	≥5	7 (37)
Резистентность к предыдущему режиму		7 (37)
Предыдущая пересадка аутологичной гемопоэтической клетки		5 (26)

Фиг. 3



- Быстрая абсорбция ($t_{max} = 1-2$ ч) со средним конечным периодом $t_{1/2} = 3-5$ ч
- Дозопропорциональные C_{max} и $AUC_{0-12ч}$ в равновесном состоянии (15 день) при 1600 мг BID
- Снижение системного воздействия от 1 дня до 15 дня без дальнейшего уменьшения
 - Снижение на 42% у AUC_{0-12h} на 15 день по сравнению с 1 днем при 800 мг BID
 - Уровни C_{trough} достигали равновесного состояния на 15 день

Фиг. 4



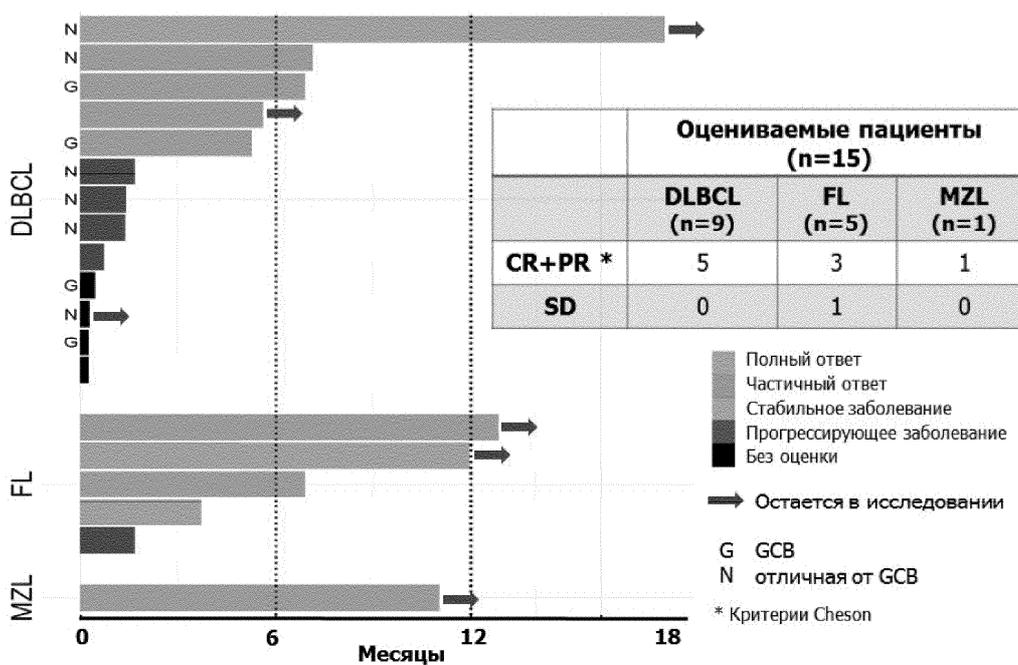
Фиг. 5

	n = 45			
	Все случаи		Связанные с лечением	
	Все стадии *	Стадия ≥ 3	Все стадии	Стадия ≥ 3 †
Любой пациент с АЕ	42	13	29	5
Астения	23	1	10	0
Анорексия	11	2	4	1
Анемия	9	1	4	0
Одышка	9	0	0	0
Тошнота	8	0	6	0
Констипация	7	0	2	0
Рвота	6	0	3	0
Тромбоцитопения	6	2	4	1
Диспепсия	5	0	5	0
Мышечный спазм	5	0	2	0
Гипертензия	4	1	2	1
Нейтропения	2	1	2	1
↑ трансаминаза	2	1	1	1

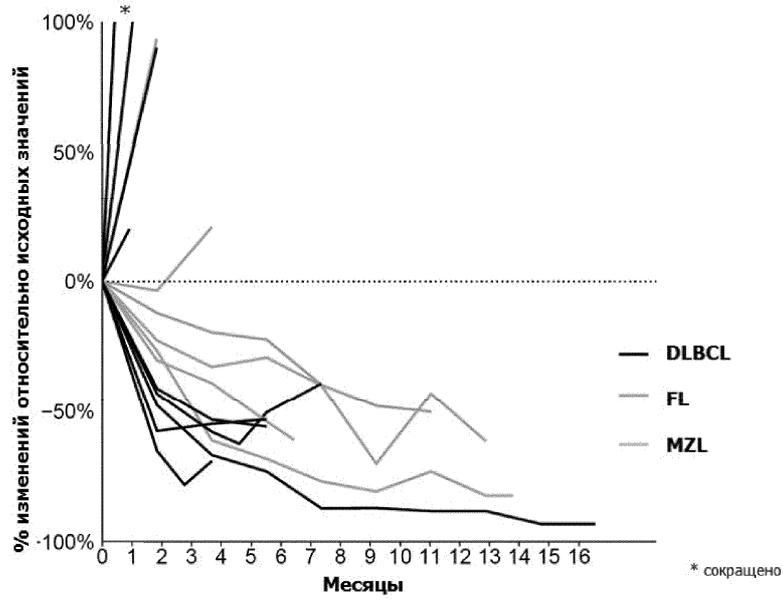
Пациенты с:
 Снижением дозы = 1
 Прекращением приема лекарства = 1
 Временным прекращением приема препарата = 7

* >10% пациентов
 † все пациенты

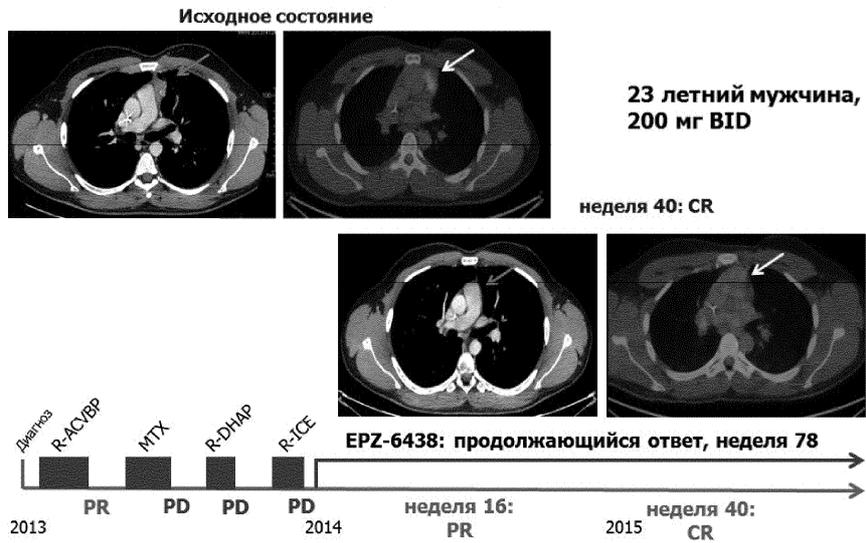
Фиг. 6



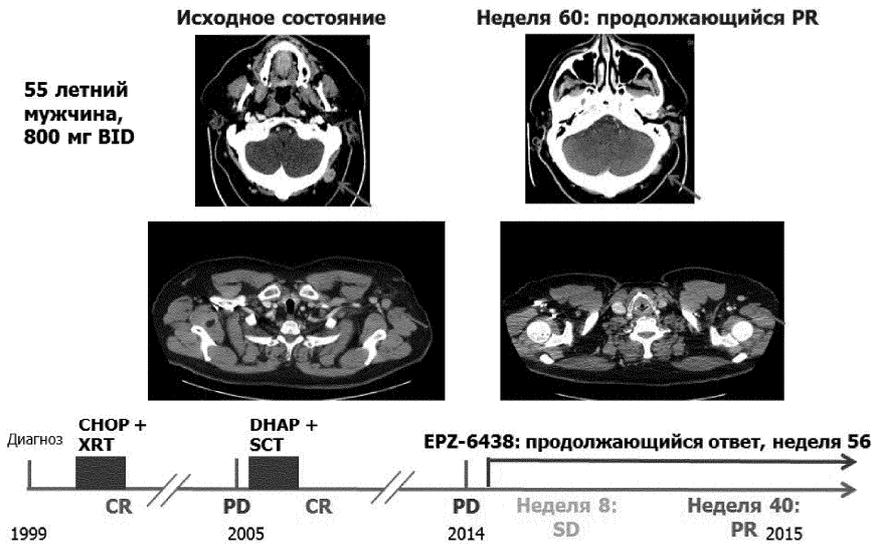
Фиг. 7



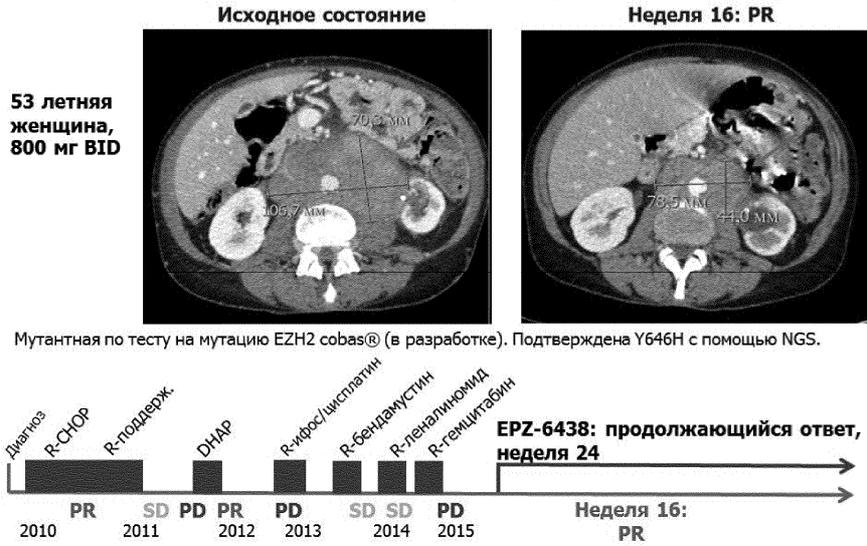
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2