

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043327**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.15

(21) Номер заявки
201790845

(22) Дата подачи заявки
2015.10.16

(51) Int. Cl. **A61K 31/4412** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) **62/064,948; 62/065,590**

(32) **2014.10.16; 2014.10.17**

(33) **US**

(43) **2017.08.31**

(86) **PCT/US2015/056022**

(87) **WO 2016/061507 2016.04.21**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭПИЗАЙМ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Кайльхак Хайке (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **WO-A2-2014062720**
WO-A1-2014100646
WO-A2-2014062733
WO-A1-2014062732
WO-A1-2013155464
WO-A1-2013138361

TRUAX, A.D. et al., "Dysregulated Recruitment of the Histone Methyltransferase EZH2 to the Class II Transactivator (CIITA) Promoter IV in Breast Cancer Cells", PLOS ONE. 2012, vol. 7, issue 4, page e36013. [Title], [Abstract], [Page 8, column 2, paragraph 2], [Page 10, column 1, paragraph 2]

VELLA, S. et al., "EZH2 Down-Regulation Exacerbates Lipid Accumulation and Inflammation in In Vitro and In Vivo NAFLD", International Journal of Molecular Sciences. 2013, vol. 14, issue 12, pages 24154-24168. [Abstract], [Page 24156, Section 2.1, paragraph 4], [Page 24159, Section 2.2, paragraph 4; Figure 4a-b] and [Page 24165, Section 4, paragraph 1]

CIARAPICA, R. et al., "Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) in pediatric soft tissue sarcomas: first implications", BMC Medicine. 2011, vol. 9:63, pages 1-9. [Abstract], [Introduction], [Figure 2] and [Page 5, left column, paragraph 2 to Page 6, left column, paragraph 1]

WO-A1-2015085325

WO-A1-2015058125

(57) Изобретение относится к способу лечения рака, включающему контактирование раковой клетки человека с некоторым количеством ингибитора EZH2, эффективным для увеличения экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) в раковой клетке (варианты).

B1**043327****043327****B1**

Родственные заявки

Настоящая заявка заявляет приоритет и преимущество согласно заявкам на патент США № 62/064948, поданной 16 октября 2014 г. и № 62/065590, поданной 17 октября 2014 г., содержание каждой из которых включено в данный документ во всей своей полноте с помощью ссылки.

Уровень техники изобретения

Ассоциированные с заболеванием модифицирующие хроматин ферменты (например, EZH2) играют роль в заболеваниях, таких как пролиферативные нарушения, метаболические нарушения и нарушения со стороны крови. Таким образом, существует потребность в разработке малых молекул, способных модулировать активность EZH2.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение предусматривает способ лечения или облегчения симптома нарушения, например, ускользания от иммунологического надзора, нарушения функции иммунной системы, индуцируемого раковой клеткой, ослабленного иммунного ответа, пониженной интенсивности воспаления, пониженного уровня экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) или рака, характеризующегося аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью и/или экспрессией энхансера гомолога-2 белка Zeste (EZH2) в клетке или у субъекта, нуждающегося в этом, путем приведения клетки в контакт с терапевтически эффективным количеством ингибитора EZH2 или введения его субъекту.

Согласно определенному аспекту способ относится к препятствованию ускользания раковой клетки от иммунологического надзора, при этом способ включает стадию приведения клетки в контакт с терапевтически эффективным количеством ингибитора EZH2.

Согласно определенному аспекту способ относится к лечению и/или корректированию нарушения функции иммунной системы, индуцируемого раковой клеткой, у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Согласно определенному аспекту способ относится к усилению, повышению или индуцированию иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Согласно определенному аспекту способ относится к повышению уровня экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) в раковой клетке, при этом способ включает стадию приведения раковой клетки в контакт с терапевтически эффективным количеством ингибитора EZH2.

Согласно определенному аспекту способ относится к повышению интенсивности воспаления у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Согласно определенному аспекту способ относится к лечению рака или нарушения пролиферации клеток у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Согласно определенному аспекту способ относится к определению вероятности эффективности лечения, предусматривающего ингибитор EZH2, для субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает стадии (1) получения биологического образца от субъекта и (2) осуществления анализа биологического образца в отношении снижения уровня экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) по сравнению с контрольным образцом. Предусматриваемое ингибитор EZH2 лечение будет с большей вероятностью эффективным для субъекта, если биологический образец характеризуется сниженным уровнем экспрессии МНС по сравнению с контрольным образцом.

Согласно определенному аспекту способ относится к определению вероятности эффективности лечения, предусматривающего ингибитор EZH2, для субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает осуществление анализа полученного от субъекта биологического образца в отношении снижения уровня экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) в образце по сравнению с контрольным образцом. Предусматриваемое ингибитор EZH2 лечение будет с большей вероятностью эффективным для субъекта, если биологический образец характеризуется сниженным уровнем экспрессии МНС по сравнению с контрольным образцом.

Согласно определенному аспекту способ относится к скринингу эффективности лечения, предусматривающего ингибитор EZH2, для субъекта, нуждающегося в этом, при этом способ включает (1) получение первого и второго биологических образцов от субъекта; (2) приведение второго биологического образца в контакт с ингибитором EZH2; (3) осуществление анализа первого и второго биологических образцов в отношении экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) и (4) сравнение экспрессии МНС в первом биологическом образце с экспрессией МНС во втором биологическом образце. Предусматриваемое ингибитор EZH2 лечение будет с большей вероятностью эффективным для субъекта, если второй биологический образец характеризуется повышенным уровнем экспрессии МНС по сравнению с экспрессией в первом биологическом образце.

В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам в клетке или у субъекта наблюдается аномальная, неправильно регулируемая или повышенная активность EZH2.

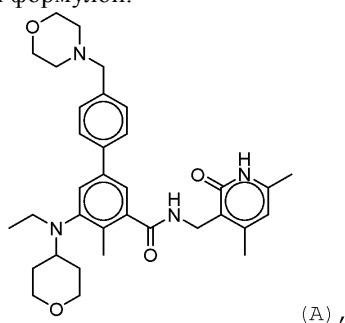
В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам клетка или субъект характеризуется хромосомной транслокацией t(x;18)(p11.2;q11.2).

В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам транслокация приводит к образованию слитого гена SS18-SSX.

В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам клетка или субъект характеризуется сниженной функцией или уровнем экспрессии INI1 (также упоминаемого в данном документе как BAF47, SNF5 или SMARCB1).

В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам клетка или субъект характеризуется сниженной функцией или уровнем экспрессии INI1.

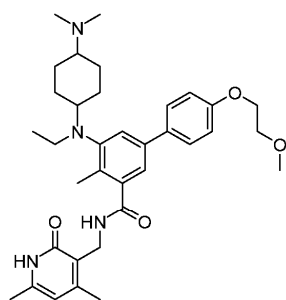
В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам ингибитор EZH2 представляет собой соединение А (также упоминаемое в данном документе как E7438, или EPZ-6438, или таземетостат), характеризующееся следующей формулой:



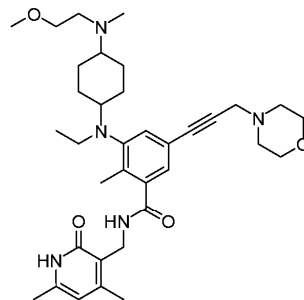
(A) ,

и его фармацевтически приемлемые соли или стереизомеры.

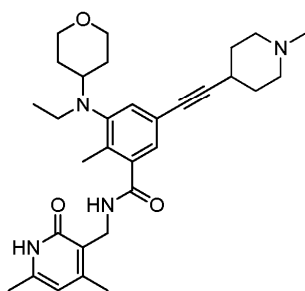
В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам ингибитор EZH2 представляет собой одно или несколько из



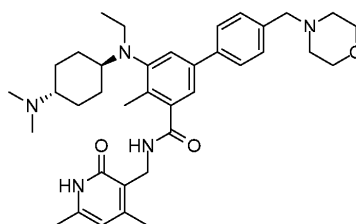
(B) ,



(C) ,



(D) ,



(E)

и их фармацевтически приемлемых солей или стереоизомеров.

В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам способ дополнительно включает введение химиотерапевтического соединения, например, ингибитора PD-1, ингибитора PD-L1 или ингибитора CTLA-4.

В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам раковая клетка находится в организме субъекта, например, человека.

В вариантах осуществления согласно приведенным выше аспектам ускользание от иммунологического надзора, нарушение функции иммунной системы, индуцируемой раковой клеткой, иммунный ответ, требующий усиления, воспаление или рак характеризуются сниженным уровнем экспрессии одного или нескольких из MHC, β 2-микроглобулина, рецептора фактора некроза опухоли (TNF), низкомолекулярного полипептида 2 (LMP2), низкомолекулярного полипептида 7, (LMP7), транспортера, ассоциированного с процессированием антигена (TAP), и TAP-ассоциированного гликопротеина (тапазина) в раковой клетке по сравнению с клеткой, не являющейся раковой. MHC может представлять собой человеческий лейкоцитарный антиген (HLA), например, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DM альфа, HLA-DM бета, HLA-DO альфа, HLA-DO бета 1, HLA-DP альфа 1, HLA-DP бета 1, HLA-DR альфа, HLA-DR бета 1, HLA-DR бета 3, HLA-DR бета 4, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-K или HLA-L.

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 настоящее изобретение. В описании настоящего изобретения формы единственного числа включают также множественное число, если из контекста явно не следует иное. Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, используемые в данном документе формы единственного числа понимают как означающие единственное или множественное число. Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, используемый в данном документе термин "или" следует понимать как включающий.

Если конкретно не указано или не очевидно из контекста, используемый в данном документе термин "приблизительно" следует понимать как находящийся в диапазоне нормального отклонения в данной области, например, в пределах 2 стандартных отклонений среднего. "Приблизительно" можно понимать как нахождение в пределах 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,1, 0,05 или 0,01% от указанного значения. Если из контекста явно не следует иное, все числовые значения, предусмотренные в данном документе, модифицируются термином "приблизительно".

Несмотря на то, что способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, могут быть использованы 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 с помощью 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 исключительно иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Любой из вышеприведенных аспектов и вариантов осуществления может быть объединен с любым другим аспектом или вариантом осуществления.

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

Описание фигур

На фиг. 1 представлены результаты вестерн-блоттинга клеточных лизатов, демонстрирующие экспрессию SS18-SSX1 и понижающую регуляцию INI1 (также упоминаемого в данном документе как BAF47, SNF5 или SMARCB1) в линии клеток HS-SY-II.

На фиг. 2A представлены результаты вестерн-блоттинга выделенных гистонов, демонстрирующие уровни триметилирования H3K27 (H3K27me3) и диметилирования H3K27 (H3K27me2) в различных линиях клеток. На фиг. 2B-2D приведена серия графиков, демонстрирующих количественное соотношение H3K27me3/общий H3 (B), H3K27me2/общий H3 (C) или H3K27me3/H3K27me2 (D) в различных линиях клеток. Эти количественные данные были получены исходя из расчета на основе полос белка, полученных в результате вестерн-блот-анализа.

На фиг. 3A-3D приведена серия графиков, демонстрирующих, что клетки HS-SY-II являются высокочувствительными к ингибиторам EZH2, тогда как клетки SW982 не являются таковыми. Клеточную линию HS-SY-II, показанную на фиг. 3A, и клеточную линию SW982, показанную на фиг. 3B, обрабатывали соединением E. Клеточную линию HS-SY-II, показанную на фиг. 3C, и клеточную линию SW982, показанную на фиг. 3D, обрабатывали соединением A (также упоминаемым в данном документе как E7438 или EPZ-6438). Каждый тип клеток предварительно обрабатывали соединением (соединением E или соединением A) в течение 7 дней в определенных концентрациях и пересекали и обрабатывали в течение дополнительных 7 дней. Жизнеспособность клеток определяли с помощью анализа жизнеспособности клеток на основе люминесценции CellTiter-Glo®.

На фиг. 4A-4F продемонстрировано, что снижение уровней INI1 обеспечивает чувствительность к ингибитору EZH2 (EZH2i) в линиях клеток саркомы мягких тканей. На (A) представлены результаты вестерн-блоттинга клеточных лизатов, демонстрирующие экспрессию INI1 в различных линиях опухолевых клеток. Линии опухолевых клеток хондросаркомы характеризовались понижающей регуляцией INI1 (например, в линиях клеток b и c). На (B) и (C) приведены графики, демонстрирующие, что линия клеток b (график B) и линия клеток c (график C) являются чувствительными к ингибиторам EZH2. На (D) представлены результаты вестерн-блоттинга клеточных лизатов, демонстрирующие экспрессию INI1 и SS18 в различных линиях клеток. На (E) приведен график, демонстрирующий, что SSX-SS18-положительные клетки являются чувствительными к ингибиторам EZH2. На (F) приведен график, демонстрирующий, что 33X-3318-отрицательные клетки не являются чувствительными к ингибиторам EZH2.

На фиг. 5A и 5B приведена серия графиков, демонстрирующих, что клетки HS-SY-II являются высокочувствительными к соединению A (фиг. 5A), тогда как клетки SW982 не являются таковыми (фиг. 5B). Каждый тип клеток обрабатывали соединением A в определенных концентрациях. Клетки пересекали в день 7 и обрабатывали в течение дополнительных 7 дней. Жизнеспособность клеток определяли с помощью анализа жизнеспособности клеток на основе люминесценции CellTiter-Glo®.

На фиг. 6A показаны сниженные соотношения H3K27me3/общий H3 (отношение к контролю) в клетках HS-SY-II и клетках SW982 после обработки соединением A. Клетки обрабатывали соединением

А в течение 96 ч и экстрагировали гистоны. Изменения количества гистонов в качестве маркера анализировали с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Изменения количества гистонов в качестве маркера были сопоставимы между HS-SY-II и SW982, что свидетельствовало о том, что изменения не зависели от наличия слитого белка SS18-SSX. На фиг. 6B показана концентрация (IC₅₀) соединения, необходимая для снижения соотношения H3K27me3/общий H3 на 50%.

На фиг. 7A и 7B показаны соответственно фармакокинетические (PK) значения и фармакодинамические (PD) изменения в ксенотрансплантатной модели HS-SY-II. На фиг. 7A показаны концентрации соединения А в плазме крови. В данном случае соединение А давали мышам перорально дважды в день в течение 7 дней. Образцы периферической крови отбирали у мышей, обработанных соединением А, примерно за 5 мин до и через 3 ч после введения последней дозы. Осуществляли анализ в отношении концентрации соединения А в плазме крови. Концентрации приведены в графическом виде (n=5). Каждая планка представляет собой среднее значение концентрации в плазме крови в каждой группе. На фиг. 7B показаны ингибирующие эффекты соединения А у мышей в отношении H3K27me3 в ксенотрансплантате HS-SY-II. В данном случае соединение А давали мышам перорально дважды в день в течение 7 дней. Показатели H3K27me3 в опухоли приведены в графическом виде (n=5). Каждая планка представляет собой среднее значение $\pm$ SEM уровня триметилирования в каждой группе. В табл. 2 и 3 ниже представлены результаты статистических анализов относительно данных, показанных на фиг. 7B.

Результаты статистических анализов подтверждают дозозависимое изменение.

На фиг. 8 показаны изменения экспрессии предполагаемых маркеров PD после обработки соединением А в экспериментах на HS-SY-II и SW982 *in vitro*. В данном случае каждый тип клеток обрабатывали соединением А или EPZ-011989 (который также является ингибитором EZH2 и также упоминается в данном документе как соединение С); концентрация и период времени (дней) показаны. Изменения генной экспрессии анализировали с помощью RT-PCR. Уровни генной экспрессии нормализовали относительно уровней GAPDH. Столбики показаны в виде отношения к обработанным 0 мкМ контролям. В табл. 4 ниже представлены результаты статистического анализа относительно данных, показанных на фиг. 8. Звездочки означают значимые изменения по сравнению с уровнями в группах, обработанных 0 мкМ.

На фиг. 9 показаны изменения экспрессии предполагаемых маркеров PD после обработки соединением А в эксперименте на HS-SY-II *in vivo*. В данном случае соединение А давали мышам перорально дважды в день в течение 7 дней. Образцы опухоли отбирали примерно через 3 ч после введения последней дозы. Изменения генной экспрессии анализировали с помощью RT-PCR. Уровни генной экспрессии нормализовали относительно уровней GAPDH. Столбики показаны в виде соотношений относительно данных группы, получающей среду-носитель.

На фиг. 10A-10C показаны средние значения объемов опухолей для бестимусных мышей с ксенотрансплантатами HS-SY-II, которым вводили либо среду-носитель (перорально или *iv*), либо соединение А (перорально), либо доксорубин (*iv*), либо комбинацию соединения А/доксорубин в определенных дозах в течение 28 дней. Объемы опухолей измеряли дважды в неделю. Осуществляли два независимых исследования. На фиг. 10A и 10B показаны результаты первого исследования, а на фиг. 10C показаны результаты второго исследования. Опухоли от животных из второго исследования извлекали в день 28 (через 3 ч. после введения последней дозы) и подвергали анализу в отношении H3K27me3 с применением ELISA (фиг. 10D) или иммуногистохимии (ИHC) по маркеру пролиферации Ki67 (фиг. 10E).

На фиг. 11A-11D показаны средние значения объемов опухолей и выживаемость в процентах для бестимусных мышей с двумя разными ксенотрансплантатами, полученными от пациентов (PDX), опухолей, характерных для синовиальной саркомы, и которым вводили либо среду-носитель (перорально), либо соединение А (перорально), либо доксорубин (*iv*) в определенных дозах в течение 35 дней. На фиг. 11A и 11B показаны данные, полученные для мышей с PDX от субъекта мужского пола возрастом 57 лет, имеющего веретенноклеточную саркому высокой степени злокачественности (CTG-0771). На фиг. 11C и 11D показаны данные, полученные для мышей с PDX от субъекта женского пола возрастом 16 лет (CTG-0331). Объемы опухолей измеряли дважды в неделю. Введение дозы прекращали в день 35 и за животными наблюдали до дня 60, при этом измерения проводили дважды в неделю. Если объем опухоли данного животного превышал 2000 мм³, мышью подвергали эвтаназии (анализировали на основе графика согласно методу Каплана-Майера).

На фиг. 12A и 12B показан массив данных, полученных для PDX опухолей, характерных для синовиальной саркомы, от подгрупп мышей, которые извлекали в день 35 и анализировали с помощью анализа последовательности РНК. На фиг. 12A приведены данные, полученные для мышей с PDX от субъекта мужского пола возрастом 57 лет; на фиг. 12B приведены данные по мышам, несущим PDX от субъекта женского пола возрастом 16 лет. Показаны результаты экспрессии генов HLA в опухолях от мышей, обработанных либо средой-носителем, либо соединением А BID в концентрации 400 мг/кг. На фигуре обозначены низкий уровень экспрессии и высокий уровень экспрессии.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение предусматривает способ лечения или облегчения симптома нарушения, например, ускользания от иммунологического надзора, нарушения функции иммунной системы, индуцируемого раковой клеткой, ослабленного иммунного ответа, пониженной интенсивности воспаления, пониженного уровня экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) или рака, характеризующегося аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью или экспрессией энансера гомолога-2 белка Zeste (EZH2) в клетке или у субъекта, нуждающегося в этом, путем приведения клетки в контакт с терапевтически эффективным количеством ингибитора EZH2 или введения его субъекту. EZH2 представляет собой ферментативную субъединицу участвующего в репрессии транскрипции комплекса 2 (PRC2), комплекса, который катализирует метилирование гистона 3 по лизину 27 (H3K27). Метилирование гистона 3 по лизину 27 (H3K27) является эпигенетическим маркером репрессии транскрипции, который причинно ассоциирован с рядом видов рака, представляющих собой гемобластоз и солидный рак. Сообщалось, что при формах рака человека несколько молекулярных механизмов приводят к повышенному уровню триметилирования H3K27.

Настоящее изобретение частично основано на обнаружении того, что с помощью ингибиторов EZH2 можно эффективно лечить ускользание от иммунологического надзора или нарушения, характеризующиеся или индуцируемые нарушением функции иммунной системы, индуцируемой раковой клеткой, ослабленным иммунным ответом, пониженной интенсивностью воспаления, пониженным уровнем экспрессии МНС.

Согласно некоторым вариантам осуществления клетки, субъекты, опухоли или опухолевые клетки, характеризующиеся аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, являются чувствительными к ингибиторам EZH2 по настоящему изобретению.

Синовиальная саркома человека составляет 8-10% случаев всех злокачественных опухолей мягких тканей и чаще всего возникает в конечностях у молодых людей. Рекуррентная хромосомная транслокация, t(x;18)(p11.2;q11.2), которая приводит к слиянию гена SS18 в хромосоме 18 с одним из трех близкородственных генов в X-хромосоме SSX1, SSX2 и реже SSX4, приводит в результате к образованию слитого в рамке считывания белка, в котором восемь С-концевых аминокислот SS18 замещены 78 аминокислотами С-конца SSX. Это приводит к экспрессии онкогенного слитого белка SS18-SSX, который связывается с комплексом SWI/SNF, замещая как SS18 дикого типа, так и онкосупрессор INI1, которые затем подвергаются деградации. Это приводит к аномальной генной экспрессии и, в конечном счете, к развитию рака.

Настоящее изобретение предусматривает способы препятствования ускользанию раковой клетки от иммунологического надзора, включающие стадию приведения клетки в контакт с терапевтически эффективным количеством ингибитора EZH2.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы лечения или корректирования нарушения функции иммунной системы, индуцируемого раковой клеткой, у субъекта, нуждающегося в этом, которые включают стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы усиления, повышения или индуцирования иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающие стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы повышения уровня экспрессии или активности главного комплекса гистосовместимости (МНС) в раковой клетке, включающие стадию приведения раковой клетки в контакт с терапевтически эффективным количеством ингибитора EZH2.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы повышения интенсивности воспаления у субъекта, нуждающегося в этом, включающие стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы лечения рака или нарушения пролиферации клеток у субъекта, нуждающегося в этом, включающие стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы определения вероятности эффективности лечения, предусматривающего ингибитор EZH2, для субъекта, нуждающегося в этом, включающие стадии (1) получения биологического образца от субъекта и (2) осуществления анализа биологического образца в отношении снижения уровня экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) по сравнению с контрольным образцом. Предусматриваемое ингибитор EZH2 лечение будет с большей вероятностью эффективным для субъекта, если биологический образец характеризуется сниженным уровнем экспрессии МНС по сравнению с контрольным образцом.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы определения вероятности эффективности лечения, предусматривающего ингибитор EZH2, для субъекта, нуждающегося в этом, включающие осуществление анализа полученного от субъекта биологического образца в отношении снижения уровня экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) в образце по сравнению с контрольным образцом. Предусматриваемое ингибитор EZH2 лечение будет с большей вероятностью эф-

фективным для субъекта, если биологический образец характеризуется сниженным уровнем экспрессии МНС по сравнению с контрольным образцом.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы скрининга эффективности лечения, предусматривающего ингибитор EZH2, для субъекта, нуждающегося в этом, включающие (1) получение первого и второго биологических образцов от субъекта; (2) приведение второго биологического образца в контакт с ингибитором EZH2; (3) осуществление анализа первого и второго биологических образцов в отношении экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) и (4) сравнение экспрессии МНС в первом биологическом образце с экспрессией МНС во втором биологическом образце. Предусматривающее ингибитор EZH2 лечение будет с большей вероятностью эффективным для субъекта, если второй биологический образец характеризуется повышенным уровнем экспрессии МНС по сравнению с экспрессией в первом биологическом образце.

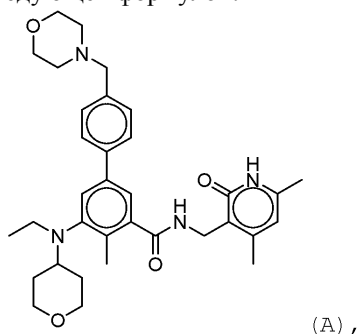
Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения в клетке или у субъекта наблюдается аномальная, неправильно регулируемая или повышенная активность EZH2.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения клетка или субъект характеризуются хромосомной транслокацией t(x;18)(p11.2;q11.2).

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения транслокация приводит к образованию слитого гена SS18-SSX.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения клетка или субъект характеризуются сниженной функцией или уровнем экспрессии INI1 (также упоминаемого в данном документе как BAF47, SNF5 или SMARCB1). Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения клетка или субъект характеризуются сниженной функцией или уровнем экспрессии INI1. Согласно некоторым вариантам осуществления клетка или субъект предположительно являются или определены как INI1-негативные или дефицитные по INI1.

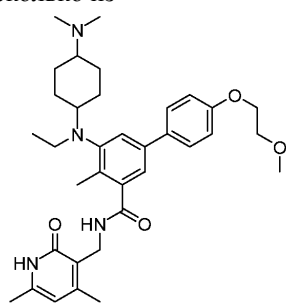
Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения ингибитор EZH2 представляет собой соединение А, характеризующееся следующей формулой:



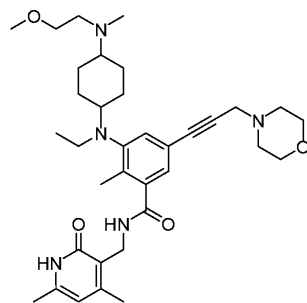
(A) ,

и его фармацевтически приемлемые соли.

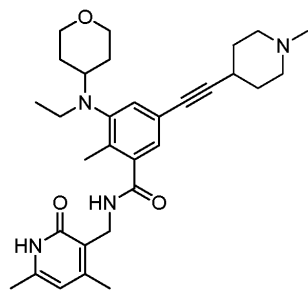
Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения ингибитор EZH2 представляет собой одно или несколько из



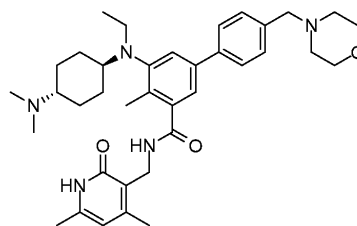
(B) ,



(C) ,



(D) ,



(E)

и их фармацевтически приемлемые соли.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает вве-

дение химиотерапевтического соединения, например, ингибитора PD-1, ингибитора PD-L1 или ингибитора CTLA-4.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения раковая клетка находится в организме субъекта, например, человека.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения ускользание от иммунологического надзора, нарушение функции иммунной системы, индуцируемой раковой клеткой, иммунный ответ, требующий усиления, воспаление или рак характеризуются сниженным уровнем экспрессии одного или нескольких из МНС, β 2-микроглобулина, рецептора фактора некроза опухоли (TNF), низкомолекулярного полипептида 2 (LMP2), низкомолекулярного полипептида 7, (LMP7), транспортера, ассоциированного с процессированием антигена (TAP), и TAP-ассоциированного гликопротеина (тапазина) в раковой клетке по сравнению с клеткой, не являющейся раковой. МНС может представлять собой человеческий лейкоцитарный антиген (HLA), например, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DM альфа, HLA-DM бета, HLA-DO альфа, HLA-DO бета 1, HLA-DP альфа 1, HLA-DP бета 1, HLA-DR альфа, HLA-DR бета 1, HLA-DR бета 3, HLA-DR бета 4, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-K или HLA-L.

Соответственно, настоящее изобретение может предусматривать способы лечения ускользания от иммунологического надзора, нарушения функции иммунной системы, индуцируемого раковой клеткой, ослабленного иммунного ответа, пониженной интенсивности воспаления, пониженного уровня экспрессии МНС в клетке или у субъекта, нуждающегося в этом, путем приведения клетки в контакт с терапевтически эффективным количеством соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа или путем введения его субъекту. Настоящее изобретение может дополнительно предусматривать применение соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа для получения лекарственного препарата, применимого для лечения ускользания от иммунологического надзора, нарушения функции иммунной системы, индуцируемого раковой клеткой, ослабленного иммунного ответа, пониженной интенсивности воспаления, пониженного уровня экспрессии МНС.

Согласно вариантам осуществления нарушения характеризуются аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью или экспрессией EZH2. "Аномальная активность EZH2" в контексте данного документа относится к неправильному расположению EZH2 в клетке или неправильному связыванию EZH2 с белковым комплексом/в его пределах. Согласно вариантам осуществления аномальная активность EZH2 является результатом потери регуляторной функции INI1, что, в свою очередь, может иметь место при ряде генетических изменений, примеры некоторых из которых обсуждаются более подробно в данном документе. Согласно некоторым вариантам осуществления аномальная, неправильно регулируемая или повышенная активность или экспрессия EZH2 приводят к повышению уровня триметилирования H3K27 или связаны с ним.

Согласно вариантам осуществления нарушение характеризуется хромосомной транслокацией t(x;18)(p11.2;q11.2). Такая транслокация приводит к образованию слитого гена SS18-SSX.

Согласно вариантам осуществления субъект, нуждающийся в лечении, характеризуется аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2.

Согласно вариантам осуществления субъект, нуждающийся в лечении, характеризуется сниженными функцией или уровнем экспрессии INI1, или как тем, так и другим. Согласно вариантам осуществления у субъекта не наблюдается выявляемая функция или экспрессия INI1, или как то, так и другое.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения синовиальная саркома характеризуется слиянием SSX1. Согласно другому варианту осуществления синовиальная саркома характеризуется слиянием SSX2. Согласно вариантам осуществления синовиальная саркома характеризуется слиянием SSX4. Согласно вариантам осуществления субъект, нуждающийся в лечении, схема лечения, доза и частота введения выбраны в соответствии с типом слияния SSX, которое выявляется. Согласно вариантам осуществления ингибитор EZH2, подлежащий введению, также выбран в соответствии со слиянием SSX, ассоциированным с раком.

Настоящее изобретение также может предусматривать способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества соединения, описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа, где субъект, нуждающийся в лечении, имеет хромосомную транслокацию t(x;18)(p11.2;q11.2) или слитый ген SS18-SSX. Настоящее изобретение дополнительно предусматривает применение соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа для получения лекарственного препарата, применимого для лечения рака.

Согласно вариантам осуществления способ включает стадию определения наличия хромосомной транслокации t(x;18)(p11.2;q11.2) или слитого гена SS18-SSX в образце от субъекта до стадии введения.

Определение наличия хромосомной транслокации t(x;18)(p11.2;q11.2) в образце можно осуществлять с помощью любого способа, известного из уровня техники. Например, его можно определять с помощью кариотипирования и RT-PCR-транскриптов SS18-SSX или с помощью FISH (флуоресцентной гибридизации in situ). Слитый ген SS18-SSX может быть выявлен с помощью любого способа, известного из уровня техники. Например, он может быть выявлен с помощью RT-PCR, анализа с иммуногистохи-

мическим окрашиванием или флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Подлежащий лечению рак может быть оценен с помощью ДНК-цитометрии, проточной цитометрии или отображающей цитометрии. Подлежащий лечению рак может быть определен как характеризующийся 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90% клеток в фазе синтеза ДНК клеточного деления (например, S-фазе клеточного деления). Подлежащий лечению рак может быть определен как характеризующийся низкой долей клеток в S-фазе или высокой долей клеток в S-фазе.

Согласно аспектам настоящего изобретения синовиальная саркома представляет собой монофазную синовиальную саркому. Согласно другим аспектам настоящего изобретения синовиальная саркома представляет собой двухфазную синовиальную саркому.

Настоящее изобретение также предусматривает способы, которые включают стадии выявления наличия хромосомной транслокации $t(x;18)(p11.2;q11.2)$ или слитого гена SS18-SSX в образце от субъекта и лечения субъекта путем введения терапевтически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа.

Настоящее изобретение дополнительно предусматривает способы, которые включают выбор схемы лечения, включающей введение субъекту-кандидату терапевтически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата. Схема лечения также может включать хирургическое вмешательство, химиотерапию, лучевую терапию, иммунотерапию или любую их комбинацию.

Согласно вариантам осуществления способ по настоящему изобретению включает введение субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора EZH2, хирургическое вмешательство, химиотерапию, лучевую терапию, акупунктуру, иммунотерапию или любую их комбинацию. При лечении синовиальной саркомы может быть рекомендуемой химиотерапия (обычно доксорубицином и/или ифосфамидом), в частности, при прогрессирующей или метастатической форме заболевания.

Настоящее изобретение дополнительно предусматривает способ лечения рака или нарушения пролиферации клеток, ассоциированного с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2 у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа. Например, рак представляет собой синовиальную саркому. Например, рак представляет собой эпителиоидную саркому, внескелетную миксоидную хондросаркому, злокачественную рабдоидную опухоль или атипическую хордому.

Например, ингибитор EZH2, который можно применять согласно данному документу, включает соединение A, B, C, D или E. Соединение A также упоминается в данном документе как E7438 или EPZ-6438.

Используемым в данном документе "нуждающимся в лечении субъектом" является субъект с раком, ассоциированным с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2 или субъектом с раком, опосредованным хромосомной транслокацией $t(x;18)(p11.2;q11.2)$. Например, у субъекта, нуждающегося в лечении, имеется синовиальная саркома.

Согласно вариантам осуществления субъект, нуждающийся в лечении, получал по меньшей мере один вид предшествующей терапии с целью лечения нарушения, ассоциированного с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2.

Согласно вариантам осуществления у субъекта имеется рефрактерный рак на период самой последней терапии. "Рефрактерный рак" означает любой рак, описанный в данном документе, в том числе синовиальную саркому, которая не отвечает на лечение. Рак может быть устойчивым вначале лечения или может приобрести устойчивость в ходе лечения. Рефрактерный рак также называют резистентным раком. Согласно вариантам осуществления у субъекта, нуждающегося в лечении, наблюдается рецидив рака после ремиссии на период самой последней терапии. Согласно вариантам осуществления субъект получал и безуспешно прошел все известные эффективные виды терапии синовиальной саркомы, от которых страдает субъект.

Согласно вариантам осуществления субъект одновременно подвергался лечению другим видом терапии с целью лечения рака, опосредованного хромосомной транслокацией $t(x;18)(p11.2;q11.2)$, например, синовиальной саркомы.

"Субъект" включает млекопитающее. Млекопитающее может представлять собой например, любое млекопитающее, например, человека, примата, мышь, крысу, собаку, кошку, корову, лошадь, козу, верблюда, овцу или свинью. Предпочтительно млекопитающее представляет собой человека.

Согласно вариантам осуществления у субъекта наблюдается повышенный уровень триметилирования Lys27 гистона H3 (H3-K27me3). Согласно вариантам осуществления аномальная, неправильно регулируемая или повышенная активностью EZH2 или хромосомная транслокация $t(x;18)(p11.2;q11.2)$ ассоциирована с повышенным уровнем триметилирования H3-K27me.

Используемый в данном документе "образец от субъекта" относится к любому подходящему образцу, содержащему клетки или компоненты клеток, полученному или происходящему от субъекта. Например, согласно вариантам осуществления образец содержит раковые клетки. Согласно вариантам осуществления образец представляет собой биоптат, полученный, например, из мягких тканей (например, сус-

тавов). Согласно вариантам осуществления образец представляет собой биоптат, полученный из ткани, отличающейся от мягкой ткани, или в дополнение к ней. Например, согласно вариантам осуществления образец представляет собой биоптат, получаемый при раке, например, из опухоли, состоящей из раковых клеток. Клетки в образце могут быть выделены из других компонентов образца в соответствии со способами, хорошо известными специалистам в данной области. Например, согласно вариантам осуществления образец представляет собой ткань, орган или биологическую жидкость, например, цельную кровь, плазму крови, сыворотку, мочу, слюну, выделения половых органов, спинномозговую жидкость, пот или продукты жизнедеятельности.

Используемая в данном документе "монотерапия" относится к введению одного активного или терапевтического соединения субъекту, нуждающемуся в этом. Предпочтительно монотерапия будет включать введение терапевтически эффективного количества одного активного соединения. Например, монотерапия рака предусматривает введение одного соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата субъекту, нуждающемуся в лечении рака, ассоциированного с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZN2. Согласно одному аспекту одно активное соединение представляет собой соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф. Согласно определенному варианту осуществления одно активное соединение представляет собой таземетостат.

Используемые в данном документе "лечение" или "лечить" описывают ведение и уход за пациентом с целью борьбы с заболеванием, состоянием или нарушением, ассоциированным с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZN2, и включает введение соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа с целью облегчения симптомов или осложнений заболевания, состояния или нарушения или устранения заболевания, состояния или нарушения.

Соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф можно также применять для предупреждения заболевания, состояния или нарушения, ассоциированного с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZN2. Используемые в данном документе "предупреждение" или "предупреждать" описывают снижение вероятности или устранение наступления симптомов или осложнений заболевания, состояния или нарушения.

Используемый в данном документе 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 введение фармацевтических композиций по настоящему изобретению приводит к устранению признака или симптома, несмотря на то, что устранение не требуется. Предполагается, что эффективные дозировки будут снижать степень тяжести признака или симптома. Например, признак или симптом нарушения, такого как рак, который может возникать в нескольких участках, облегчается в случае, если степень тяжести рака снижается в пределах по меньшей мере одного из нескольких участков.

Используемый в данном документе термин "симптом" определяется как показатель заболевания, расстройства, поражения или какого-либо сбоя в организме. Симптомы ощущаются и отмечаются индивидумом, испытывающим симптом, и не могут быть отмечены другими. "Другие" определяются как не являющиеся специалистами в области медицины.

Используемый в данном документе 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.

Лечение рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZN2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к уменьшению размера или объема опухоли, или снижению темпов роста опухоли, или возобновлению роста или любой комбинации вышеперечисленного. Уменьшение размера или объема опухоли также может быть названо "регрессией опухоли". Предпочтительно после лечения размер опухоли уменьшается на 5% или больше относительно ее размера до лечения; более предпочтительно размер опухоли уменьшается на 10% или больше; более предпочтительно уменьшается на 20% или больше; более предпочтительно уменьшается на 30% или больше; более предпочтительно уменьшается на 40% или больше; еще более предпочтительно уменьшается на 50% или больше и наиболее предпочтительно уменьшается более чем на 75% или больше. Размер или объем опухоли может быть определен с помощью любых воспроизводимых способов измерения. Размер или объем опухоли может быть измерен как диаметр опухоли.

Лечение рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью или экспрессией EZN2 с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к снижению числа опухолей. Предпочтительно после лечения число опухолей уменьшается на 5% или больше относительно числа до лечения; более предпочтительно количество опухолей уменьшается на 10% или больше; более предпочтительно уменьшается на 20% или больше; более предпочтительно уменьшается на 30% или больше; более предпочтительно, уменьшается на 40% или больше; еще более

предпочтительно уменьшается на 50% или больше и наиболее предпочтительно уменьшается более чем на 75%. Число опухолей может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов количественного определения. Число опухолей может быть определено путем подсчета опухолей, видимых невооруженным глазом или при заданном увеличении.

Лечение рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к увеличению среднего времени выживаемости или снижению уровня смертности или как того, так и другого, в популяции субъектов, проходивших лечение, по сравнению с популяцией субъектов, не проходивших лечение, или субъектов, получающих только носитель. Согласно определенному варианту осуществления популяция субъектов, проходивших лечение, получает терапию с помощью лекарственного средства или комбинации лекарственных средств, которые не являются соединением по настоящему изобретению. Предпочтительно среднее время выживаемости увеличивается более чем на 10, 20 или 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 среднего времени выживаемости популяции может быть определено с помощью любых воспроизводимых способов. Увеличение среднего времени выживаемости популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности выживания после начала лечения активным соединением. Увеличение среднего времени выживаемости популяции может быть определено, например, путем расчета для популяции средней длительности выживания после завершения первого цикла лечения активным соединением.

Лечение рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к снижению смертности популяции субъектов, проходивших лечение, по сравнению с популяцией, получающей только носитель. Лечение рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к снижению уровня смертности популяции субъектов, проходивших лечение, по сравнению с популяцией, не проходившей лечение. Лечение рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к снижению уровня смертности популяции субъектов, проходивших лечение, по сравнению с популяцией, получающей монотерапию с помощью лекарственного средства, которое не является соединением по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом. 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 рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате 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 рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате 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 рака (видов рака), ассоциированного с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к уменьшению числа или доли клеток с аномальным внешним видом или морфологией. Предпочтительно после лечения число 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 плеоморфизма.

Лечение рака (видов рака) или нарушения (нарушений) пролиферации клеток, ассоциированного (ассоциированных) с аномальной, неправильно регулируемой или повышенной активностью EZH2, с помощью соединений, описанных в данном документе, может приводить в результате к клеточной гибели, и предпочтительно клеточная гибель приводит к уменьшению числа 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 метода сортировки клеток с возбуждением флуоресценции (FACS), иммунофлуоресцентной микроскопии и световой микроскопии. Способы определения клеточной гибели приведены в Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 100(5): 2674-8, 2003. Согласно определенному аспекту клеточная гибель происходит в результате апоптоза.

Используемый в данном документе термин "избирательно" означает склонность возникать с большей частотой в одной популяции, чем в другой популяции. Сравнимые популяции могут представлять собой популяции клеток. Предпочтительно, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф действуют избирательно в отношении опухолевой или предопухолевой клетки, но не в отношении нормальной клетки. Предпочтительно соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф 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 EZH2. 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.

Ведение соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа в клетку или субъекту, нуждающемуся в этом, может приводить в результате к модулированию (то есть ингибированию) активности EZH2.

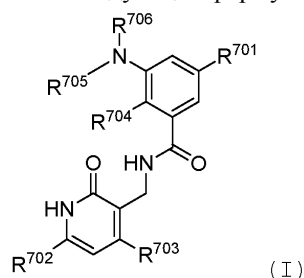
Введение соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа в клетку или субъекту, нуждающемуся в этом, приводит в результате к модулированию (то есть ингибированию) EZH2.

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 инактивированном состоянии. Активированная композиция по настоящему изобретению может характеризоваться ингибирующей 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.

Соединение (то есть ингибитор EZH2), которое можно применять в любых способах, описанных в данном документе, может характеризоваться следующей формулой I:



или находиться в форме его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа;

где R^{701} представляет собой H, F, OR^{707} , NHR^{707} , $-(C\equiv C)-(CH_2)_n-R^{708}$, фенил, 5- или 6-членный гетероарил, C_{3-8} циклоалкил или 4-7-членный гетероциклоалкил, содержащий 1-3 гетероатома, где каждый из фенила, 5- или 6-членного гетероарила, C_{3-8} циклоалкила или 4-7-членного гетероциклоалкила независимо необязательно замещен одной или несколькими группами, выбранными из галогена, C_{1-3} алкила, OH, $O-C_{1-6}$ алкила, $NH-C_{1-6}$ алкила и C_{1-3} алкила, замещенного C_{3-8} циклоалкилом или 4-7-членным гетероциклоалкилом, содержащим 1-3 гетероатома, где каждый из $O-C_{1-6}$ алкила и $NH-C_{1-6}$ алкила необязательно замещен гидроксильной группой, $O-C_{1-3}$ алкилом или $NH-C_{1-3}$ алкилом, при этом каждый из $O-C_{1-3}$ алкила и $NH-C_{1-3}$ алкила необязательно дополнительно замещен $O-C_{1-3}$ алкилом или $NH-C_{1-3}$ алкилом;

каждый из R^{702} и R^{703} независимо представляет собой H, галоген, C_{1-4} алкил, C_{1-6} алкоксил или C_6-C_{10} арилоксил, при этом каждый необязательно замещен одним или несколькими галогенами;

каждый из R^{704} и R^{705} независимо представляет собой C_{1-4} алкил;

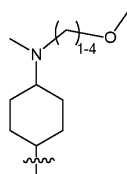
R^{706} представляет собой циклогексил, замещенный $N(C_{1-4}алкил)_2$, где один или оба C_{1-4} алкила замещены C_{1-6} алкокси; или R^{706} представляет собой тетрагидропиранил;

R^{707} представляет собой C_{1-4} алкил, необязательно замещенный одной или несколькими группами, выбранными из гидроксильной, C_{1-4} алкокси, амино, моно- или ди- C_{1-4} алкиламино, C_{3-8} циклоалкила и 4-7-членного гетероциклоалкила, содержащего 1-3 гетероатома, где каждый из C_{3-8} циклоалкила или 4-7-членного гетероциклоалкила независимо является дополнительно необязательно замещенным C_{1-3} алкилом;

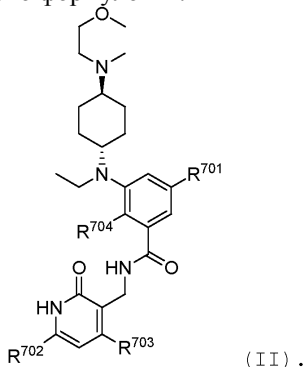
R^{708} представляет собой C_{1-4} алкил, необязательно замещенный одной или несколькими группами, выбранными из OH, галогена и C_{1-4} алкокси, 4-7-членного гетероциклоалкила, содержащего 1-3 гетероатома, или $O-C_{1-6}$ алкила, где 4-7-членный гетероциклоалкил может быть необязательно дополнительно замещен OH или C_{1-6} алкилом; и n равняется 0, 1 или 2.

Например, R^{706} представляет собой циклогексил, замещенный $N(C_{1-4}алкил)_2$, где один C_{1-4} алкил является незамещенным, а другой замещен метоксильной группой.

Например, R^{706} представляет собой



Например, соединение представлено формулой II:



Например, R^{702} представляет собой метил или изопропил, а R^{703} представляет собой метил или метоксильный.

Например, R^{704} представляет собой метил.

Например, R^{701} представляет собой OR^{707} , а R^{707} представляет собой C_{1-3} алкил, необязательно замещенный OCH_3 или морфолином.

Например, R^{701} представляет собой H или F.

Например, R^{701} представляет собой тетрагидропиранил, фенил, пиридил, пиримидил, пиразинил, имидазолил или пиазолил, каждый из которых необязательно замещен метилом, метокси, этилом, замещенным морфолином, или $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$.

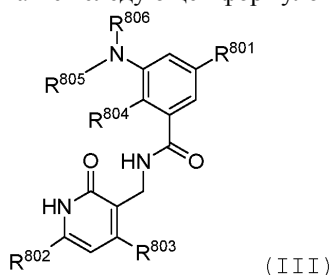
Например, R^{708} представляет собой морфолин, пиперидин, пиперазин, пирролидин, diaзепан или азетидин, каждый из которых необязательно замещен OH или C_{1-6} алкилом.

Например, R^{708} представляет собой морфолин.

Например, R^{708} представляет собой пиперазин, замещенный C_{1-6} алкилом.

Например, R^{708} представляет собой метил, трет-бутил или $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$.

Соединение (то есть ингибитор EZH2), которое можно применять в любых способах, описанных в данном документе, может характеризоваться следующей формулой III:



или представляет собой его фармацевтически приемлемую соль.

В данной формуле R^{801} представляет собой C_{1-6} алкил, C_{2-6} алкенил, C_{2-6} алкинил, C_{3-8} циклоалкил, 4-7-членный гетероциклоалкил, содержащий 1-3 гетероатома, фенил или 5- или 6-членный гетероарил, каждый из которых замещен $\text{O}-\text{C}_{1-6}$ алкил- R_x или $\text{NH}-\text{C}_{1-6}$ алкил- R_x , где R_x представляет собой гидроксил, $\text{O}-\text{C}_{1-3}$ алкил или $\text{NH}-\text{C}_{1-3}$ алкил, и при этом R_x необязательно дополнительно замещен $\text{O}-\text{C}_{1-3}$ алкилом или $\text{NH}-\text{C}_{1-3}$ алкилом, за исключением случая, когда R_x представляет собой гидроксил; или R^{801} представляет собой фенил, замещенный $-\text{Q}_2-\text{T}_2$, где Q_2 представляет собой связь или C_{1-3} алкил в качестве линкера, необязательно замещенный галогеном, циано, гидроксильной группой или C_{1-6} алкокси, а T_2 является необязательно замещенным 4-12-членным гетероциклоалкилом; и R^{801} является необязательно дополнительно замещенным;

каждый из R^{802} и R^{803} независимо представляет собой H, галоген, C_{1-4} алкил, C_{1-6} алкоксил или C_6-C_{10} арилокси, при этом каждый необязательно замещен одним или несколькими галогенами;

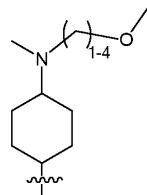
каждый из R^{804} и R^{805} независимо представляет собой C_{1-4} алкил; и

R^{806} представляет собой $-\text{Q}_x-\text{T}_x$, где Q_x представляет собой связь или C_{1-4} алкил в качестве линкера, T_x представляет собой H, необязательно замещенный C_{1-4} алкил, необязательно замещенный C_3-C_8 циклоалкил или необязательно замещенный 4-14-членный гетероциклоалкил.

Например, каждый из Q_x и Q_2 независимо представляет собой связь или метил в качестве линкера, и каждый из T_x и T_2 независимо представляет собой тетрагидропиранил, пиперидинил, замещенный 1, 2, или 3 C_{1-4} алкильными группами, или циклогексил, замещенный $\text{N}(\text{C}_{1-4}\text{алкил})_2$, где один или оба C_{1-4} алкила являются необязательно замещенными C_{1-6} алкокси;

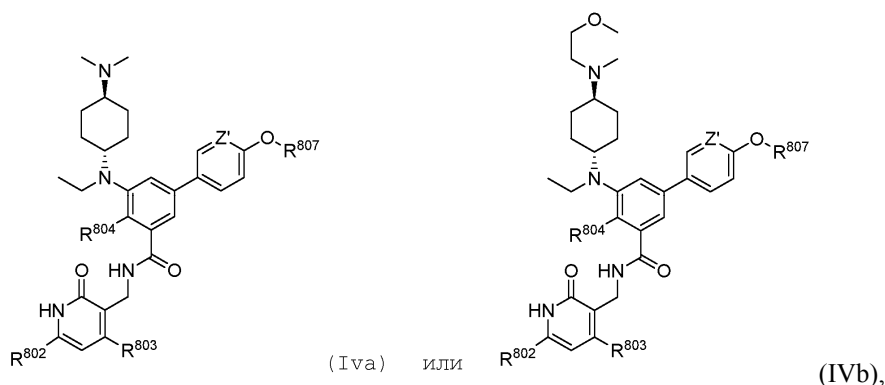
Например, R^{806} представляет собой циклогексил, замещенный $\text{N}(\text{C}_{1-4}\text{алкил})_2$, или R^{806} представляет собой тетрагидропиранил.

Например, R^{806} представляет собой



Например, R^{801} представляет собой фенил или 5- или 6-членный гетероарил, замещенный $\text{O}-\text{C}_{1-6}$ алкил- R_x , или R^{801} замещен CH_2 -тетрагидропиранилом.

Например, соединение по настоящему изобретению представлено формулой IVa или IVb:



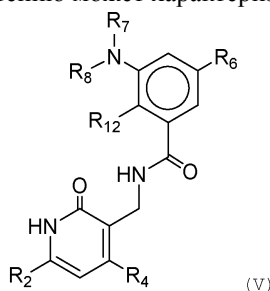
где Z' представляет собой CH или N и R⁸⁰⁷ представляет собой C₂₋₃алкил-R_x.

Например, R⁸⁰⁷ представляет собой -CH₂CH₂OH, CH₂CH₂OCH₃ или -CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃.

Например, R⁸⁰² представляет собой метил или изопропил, а R⁸⁰³ представляет собой метил или метоксил.

Например, R⁸⁰⁴ представляет собой метил.

Соединение по настоящему изобретению может характеризоваться следующей формулой (V):



или являться его фармацевтически приемлемой солью или сложным эфиром.

В данной формуле каждый из R₂, R₄ и R₁₂ независимо представляет собой C₁₋₆ алкил;

R₆ представляет собой C₆-C₁₀арил или 5- или 6-членный гетероарил, каждый из которых необязательно замещен одним или несколькими -Q₂-T₂, где Q₂ представляет собой связь или C₁-C₃алкил в качестве линкера, необязательно замещенный галогеном, циано, гидроксилом или C₁-C₆алкокси, а T₂ представляет собой H, галоген, циано, -OR_a, -NR_aR_b, -(NR_aR_bR_c)⁺A⁻, -C(O)R_a, -C(O)OR_a, -C(O)NR_aR_b, -NR_bC(O)R_a, -NR_bC(O)OR_a, -S(O)₂R_a, -S(O)₂NR_aR_b или R_{S2}, в которых каждый из R_a, R_b и R_c независимо представляет собой H или R_{S3}, A⁻ представляет собой фармацевтически приемлемый анион, каждый из R_{S2} и R_{S3} независимо представляют собой C₁-C₆алкил, C₃-C₈циклоалкил, C₆-C₁₀арил, 4-12-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, или R_a и R_b вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-12-членное гетероциклоалкильное кольцо с 1 дополнительным гетероатомом или без него, и каждый из R_{S2}, R_{S3} и 4-12-членного гетероциклоалкильного кольца, образованного R_a и R_b, необязательно замещены одним или несколькими -Q₃-T₃, где Q₃ представляет собой связь или C₁-C₃алкил в качестве линкера, при этом каждый необязательно замещен галогеном, циано, гидроксилом или C₁-C₆алкокси, а T₃ выбран из группы, состоящей из галогена, циано, C₁-C₆алкила, C₃-C₈циклоалкила, C₆-C₁₀арила, 4-12-членного гетероциклоалкила, 5- или 6-членного гетероарила, OR_d, COOR_d, S(O)₂R_d, -NR_dR_e и -C(O)NR_dR_e, при этом каждый из R_d и R_e независимо представляет собой H или C₁-C₆алкил, или -Q₃-T₃ представляет собой оксо; или любые два соседних -Q₂-T₂, вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членное кольцо, необязательно содержащее 1-4 гетероатома, выбранные из N, O и S, и необязательно замещенное одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, гидроксила, COOH, C(O)O-C₁-C₆алкила, циано, C₁-C₆алкоксила, амина, моно-C₁-C₆алкиламино, ди-C₁-C₆алкиламино, C₃-C₈циклоалкила, C₆-C₁₀арила, 4-12-членного гетероциклоалкила и 5- или 6-членного гетероарила;

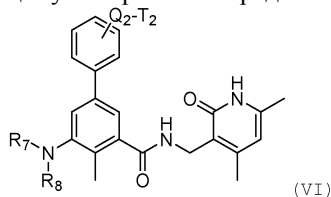
R₇ представляет собой -Q₄-T₄, в котором Q₄ представляет собой связь, C₁-C₄алкил в качестве линкера или C₂-C₄алкенил в качестве линкера, при этом каждый линкер необязательно замещен галогеном, циано, гидроксилом или C₁-C₆алкокси, и T₄ представляет собой H, галоген, циано, NR_fR_g, -OR_f, -C(O)R_f, -C(O)OR_f, -C(O)NR_fR_g, C(O)NR_fOR_g, -NR_fC(O)R_g, -S(O)₂R_f или R_{S4}, в которых каждый из R_f и R_g независимо представляют собой H или R_{S5}, каждый из R_{S4} и R_{S5} независимо представляют собой C₁-C₆алкил, C₂-C₆алкенил, C₂-C₆алкинил, C₃-C₈циклоалкил, C₆-C₁₀арил, 4-12-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, и каждый из R_{S4} и R_{S5} необязательно замещены одним или несколькими -Q₅-T₅, где Q₅ представляет собой связь, C(O), C(O)NR_k, NR_kC(O), S(O)₂ или C₁-C₃алкил в качестве линкера, R_k представляет собой H или C₁-C₆алкил, и T₅ представляет собой H, галоген, C₁-C₆алкил, гидроксил, циано, C₁-C₆алкоксил, амина, моно-C₁-C₆алкиламино, ди-C₁-C₆алкиламино, C₃-C₈циклоалкил, C₆-C₁₀арил, 4-12-членный гетероциклоалкил, 5- или 6-членный гетероарил или S(O)_qR_q, в котором q равняется 0, 1 или 2, и

R_q представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_2 - C_6 алкенил, C_2 - C_6 алкинил, C_3 - C_8 циклоалкил, C_6 - C_{10} арил, 4-12-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, и T_5 необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1 - C_6 алкила, гидроксила, циано, C_1 - C_6 алкоксила, amino, моно- C_1 - C_6 алкиламино, ди- C_1 - C_6 алкиламино, C_3 - C_8 циклоалкила, C_6 - C_{10} арила, 4-12-членного гетероциклоалкила и 5- или 6-членного гетероарила, за исключением случая, когда T_5 представляет собой H, галоген, гидроксил или циано; или $-Q_5-T_5$ представляет собой оксо; и

R_8 представляет собой H, галоген, гидроксил, COOH, циано, R_{S6} , OR_{S6} или $COOR_{S6}$, в которых R_{S6} представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_2 - C_6 алкенил, C_2 - C_6 алкинил, C_3 - C_8 циклоалкил, 4-12-членный гетероциклоалкил, amino, моно- C_1 - C_6 алкиламино или ди- C_1 - C_6 алкиламино, и R_{S6} необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, гидроксила, COOH, $C(O)O$ - C_1 - C_6 алкила, циано, C_1 - C_6 алкоксила, amino, моно- C_1 - C_6 алкиламино и ди- C_1 - C_6 алкиламино; или R_7 и R_8 , вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-11-членное гетероциклоалкильное кольцо с 2 дополнительными гетероатомами или без них, и при этом 4-11-членное гетероциклоалкильное кольцо, образованное R_7 и R_8 , необязательно замещено одним или несколькими $-Q_6-T_6$, где Q_6 представляет собой связь, $C(O)$, $C(O)NR_m$, $NR_mC(O)$, $S(O)_2$ или C_1 - C_3 алкил в качестве линкера, R_m представляет собой H или C_1 - C_6 алкил, и T_6 представляет собой H, галоген, C_1 - C_6 алкил, гидроксил, циано, C_1 - C_6 алкоксил, amino, моно- C_1 - C_6 алкиламино, ди- C_1 - C_6 алкиламино, C_3 - C_8 циклоалкил, C_6 - C_{10} арил, 4-12-членный гетероциклоалкил, 5- или 6-членный гетероарил или $S(O)_pR_p$, в котором p равняется 0, 1 или 2 и R_p представляет собой C_1 - C_6 алкил, C_2 - C_6 алкенил, C_2 - C_6 алкинил, C_3 - C_8 циклоалкил, C_6 - C_{10} арил, 4-12-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, и T_6 необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1 - C_6 алкила, гидроксила, циано, C_1 - C_6 алкоксила, amino, моно- C_1 - C_6 алкиламино, ди- C_1 - C_6 алкиламино, C_3 - C_8 циклоалкила, C_6 - C_{10} арила, 4-12-членного гетероциклоалкила и 5- или 6-членного гетероарила, за исключением случая, когда T_6 представляет собой H, галоген, гидроксил или циано; или $-Q_6-T_6$ представляет собой оксо.

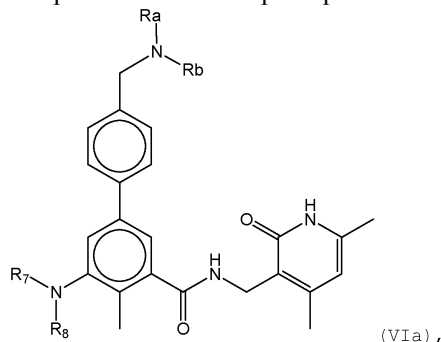
Например, R_6 представляет собой C_6 - C_{10} арил или 5- или 6-членный гетероарил, каждый из которых необязательно независимо замещен одним или несколькими $-Q_2-T_2$, где Q_2 представляет собой связь или C_1 - C_3 алкил в качестве линкера, а T_2 представляет собой H, галоген, циано, $-OR_a$, $-NR_aR_b$, $-(NR_aR_bR_c)^+A^-$, $-C(O)NR_aR_b$, $NR_bC(O)R_a$, $-S(O)_2R_a$ или R_{S2} , в которых каждый из R_a и R_b независимо представляет собой H или R_{S3} , каждый из R_{S2} и R_{S3} независимо представляет собой C_1 - C_6 алкил, или R_a и R_b вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-7-членное гетероциклоалкильное кольцо с 1 дополнительным гетероатомом или без него, и каждый из R_{S2} , R_{S3} и 4-7-членного гетероциклоалкильного кольца, образованного R_a и R_b , необязательно независимо замещены одним или несколькими $-Q_3-T_3$, где Q_3 представляет собой связь или C_1 - C_3 алкил в качестве линкера, и T_3 выбран из группы, состоящей из галогена, C_1 - C_6 алкила, 4-7-членного гетероциклоалкила, OR_d , $-S(O)_2R_d$ и $-NR_dR_e$, при этом каждый из R_d и R_e независимо представляет собой H или C_1 - C_6 алкил или $-Q_3-T_3$ представляет собой оксо; или любые два соседние $-Q_2-T_2$, вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют 5- или 6-членное кольцо, необязательно содержащее 1-4 гетероатома, выбранные из N, O и S.

Например, соединение по настоящему изобретению представлено формулой (VI):



или представляет собой его фармацевтически приемлемую соль, где Q_2 представляет собой связь или метил в качестве линкера, T_2 представляет собой H, галоген, $-OR_a$, $-NR_aR_b$, $-(NR_aR_bR_c)^+A^-$, или $-S(O)_2NR_aR_b$, R_7 представляет собой пиперидинил, тетрагидропиран, циклопентил или циклогексил, при этом каждый необязательно замещен одним $-Q_5-T_5$, и R_8 представляет собой этил.

Соединение по настоящему изобретению может характеризоваться следующей формулой (VIa):



где каждый из R_a и R_b независимо представляет собой H или R_{S3} , R_{S3} представляет собой C_1 -

С₆алкил, С₃-С₈циклоалкил, С₆-С₁₀арил, 4-12-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, или R_a и R_b вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-12-членное гетероциклоалкильное кольцо с 1 дополнительным гетероатомом или без него, и каждый из R_{S3} и 4-12-членного гетероциклоалкильного кольца, образованного R_a и R_b, необязательно замещен одним или несколькими -Q₃-T₃, где Q₃ представляет собой связь или С₁-С₃алкил в качестве линкера, при этом каждый необязательно замещен галогеном, циано, гидроксилом или С₁-С₆алкокси, и T₃ выбран из группы, состоящей из галогена, циано, С₁-С₆алкила, С₃-С₈циклоалкила, С₆-С₁₀арила, 4-12-членного гетероциклоалкила, 5- или 6-членного гетероарила, OR_d, COOR_d, S(O)₂R_d, -NR_dR_e и -C(O)NR_dR_e, при этом каждый из R_d и R_e независимо представляет собой H или С₁-С₆алкил, или -Q₃-T₃ представляет собой оксо;

R₇ представляет собой -Q₄-T₄, в котором Q₄ представляет собой связь, С₁-С₄алкил в качестве линкера или С₂-С₄алкенил в качестве линкера, при этом каждый линкер необязательно замещен галогеном, циано, гидроксилом или С₁-С₆алкокси, и T₄ представляет собой H, галоген, циано, NR_fR_g, -OR_f, -C(O)R_f, -C(O)OR_f, -C(O)NR_fR_g, C(O)NR_fOR_g, -NR_fC(O)R_g, -S(O)₂R_f или R_{S4}, в которых каждый из R_f и R_g независимо представляет собой H или R_{S5}, каждый из R_{S4} и R_{S5} независимо представляет собой С₁-С₆алкил, С₂-С₆алкенил, С₂-С₆алкинил, С₃-С₈циклоалкил, С₆-С₁₀арил, 4-7-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, и каждый из R_{S4} и R_{S5} необязательно замещен одним или несколькими -Q₅-T₅, где Q₅ представляет собой связь, C(O), C(O)NR_k, NR_kC(O), S(O)₂ или С₁-С₃алкил в качестве линкера, R_k представляет собой H или С₁-С₆алкил, и T₅ представляет собой H, галоген, С₁-С₆алкил, гидроксил, циано, С₁-С₆алкоксил, amino, моно-С₁-С₆алкиламино, ди-С₁-С₆алкиламино, С₃-С₈циклоалкил, С₆-С₁₀арил, 4-7-членный гетероциклоалкил, 5- или 6-членный гетероарил или S(O)_qR_q, в котором q равняется 0, 1 или 2, и R_q представляет собой С₁-С₆алкил, С₂-С₆алкенил, С₂-С₆алкинил, С₃-С₈циклоалкил, С₆-С₁₀арил, 4-7-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, и T₅ необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, С₁-С₆алкила, гидроксила, циано, С₁-С₆алкоксила, amino, моно-С₁-С₆алкиламино, ди-С₁-С₆алкиламино, С₃-С₈циклоалкила, С₆-С₁₀арила, 4-7-членного гетероциклоалкила и 5- или 6-членного гетероарила, за исключением случая, когда T₅ представляет собой H, галоген, гидроксил или циано; или -Q₅-T₅ представляет собой оксо; при условии, что R₇ не является H; и

R₈ представляет собой H, галоген, гидроксил, COOH, циано, R_{S6}, OR_{S6} или COOR_{S6}, в которых R_{S6} представляет собой С₁-С₆алкил, С₂-С₆алкенил, С₂-С₆алкинил, amino, моно-С₁-С₆алкиламино или ди-С₁-С₆алкиламино, и R_{S6} необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, гидроксила, COOH, C(O)O-С₁-С₆алкила, циано, С₁-С₆алкоксила, amino, моно-С₁-С₆алкиламино и ди-С₁-С₆алкиламино; или R₇ и R₈ вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-11-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое не содержит или содержит 2 дополнительных гетероатома и необязательно замещено одним или несколькими -Q₆-T₆, где Q₆ представляет собой связь, C(O), C(O)NR_m, NR_mC(O), S(O)₂ или С₁-С₃алкил в качестве линкера, R_m представляет собой H или С₁-С₆алкил, и T₆ представляет собой H, галоген, С₁-С₆алкил, гидроксил, циано, С₁-С₆алкоксил, amino, моно-С₁-С₆алкиламино, ди-С₁-С₆алкиламино, С₃-С₈циклоалкил, С₆-С₁₀арил, 4-7-членный гетероциклоалкил, 5- или 6-членный гетероарил или S(O)_pR_p, в котором p равняется 0, 1 или 2, и R_p представляет собой С₁-С₆алкил, С₂-С₆алкенил, С₂-С₆алкинил, С₃-С₈циклоалкил, С₆-С₁₀арил, 4-7-членный гетероциклоалкил или 5- или 6-членный гетероарил, и T₆ необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, С₁-С₆алкила, гидроксила, циано, С₁-С₆алкоксила, amino, моно-С₁-С₆алкиламино, ди-С₁-С₆алкиламино, С₃-С₈циклоалкила, С₆-С₁₀арила, 4-7-членного гетероциклоалкила и 5- или 6-членного гетероарила, за исключением случая, когда T₆ представляет собой H, галоген, гидроксил или циано; или -Q₆-T₆ представляет собой оксо.

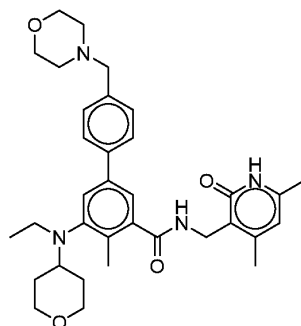
Например, R_a и R_b, вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют 4-7-членное гетероциклоалкильное кольцо с 1 дополнительным гетероатомом или без него по атому N, и при этом кольцо необязательно замещено одним или несколькими -Q₃-T₃, где гетероциклоалкил представляет собой азетидинил, пирролидинил, имидазолидинил, пиразолидинил, оксазолидинил, изоксазолидинил, триазолидинил, пиперидинил, 1,2,3,6-тетрагидропиридинил, пиперазинил или морфолинил.

Например, R₇ представляет собой С₃-С₈циклоалкил или 4-7-членный гетероциклоалкил, при этом каждый необязательно замещен одним или несколькими -Q₅-T₅.

Например, R₇ представляет собой пиперидинил, тетрагидропиранил, тетрагидро-2Н-тиопиранил, циклопентил, циклогексил, пирролидинил или циклогептил, при этом каждый необязательно замещен одним или несколькими -Q₅-T₅.

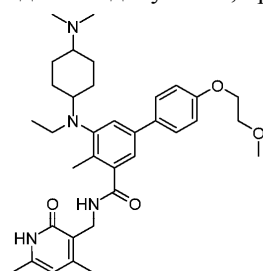
Например, R₈ представляет собой H или С₁-С₆алкил, который необязательно замещен одним или несколькими заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, гидроксила, COOH, C(O)O-С₁-С₆алкила, циано, С₁-С₆алкоксила, amino, моно-С₁-С₆алкиламино и ди-С₁-С₆алкиламино.

Согласно вариантам осуществления соединение, которое можно применять в любых способах, представленных в данном документе, представляет собой:

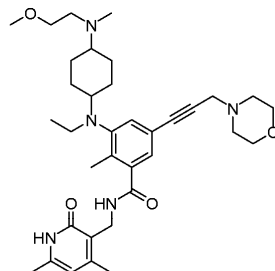


(соединение А, также упоминаемое в данном документе как E7438 или EPZ-6438) или его фармацевтически приемлемую соль.

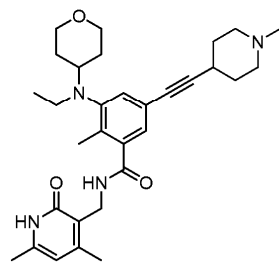
Согласно вариантам осуществления соединения, которое можно применять в любых способах, представленных в данном документе, представляет собой:



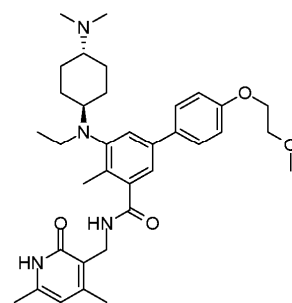
(B) ,



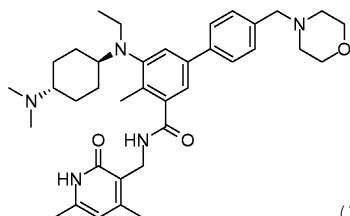
(C) ,



(D) ,



(B') ,

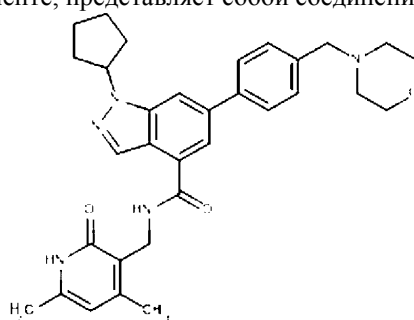


(E) ,

и их фармацевтически приемлемые соли.

В качестве альтернативы, ингибитор EZH2 выбран из группы, состоящей из соединений В и С, их стереоизомеров и их фармацевтически приемлемых солей.

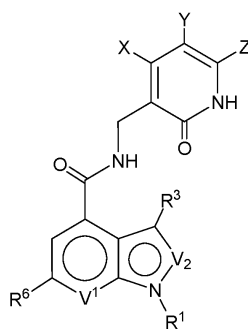
Согласно вариантам осуществления соединения, которое можно применять в любых способах, представленных в данном документе, представляет собой соединение F



(F),

или его фармацевтически приемлемые соли.

Согласно вариантам осуществления соединения, подходящие для применения в способе по настоящему изобретению, включают соединения формулы (VII)



(VII),

где V^1 представляет собой N или CR^7 , V^2 представляет собой N или CR^2 , при условии, что, если V^1 представляет собой N, V^2 представляет собой N, X и Z независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, (C_1-C_8) алкила, (C_2-C_8) алкенила, (C_2-C_8) алкинила, незамещенного или замещенного (C_3-C_8) циклоалкила, незамещенного или замещенного (C_3-C_8) циклоалкил- (C_1-C_8) алкила или $-(C_2-C_8)$ алкенила, незамещенного или замещенного (C_5-C_8) циклоалкенила, незамещенного или замещенного (C_5-C_8) циклоалкенил- (C_1-C_8) алкила или $-(C_2-C_8)$ алкенила, (C_6-C_{10}) бициклоалкила, незамещенного или замещенного гетероциклоалкила, незамещенного или замещенного гетероциклоалкил- (C_1-C_8) алкила или $-(C_2-C_8)$ алкенила, незамещенного или замещенного арила, незамещенного или замещенного арил- (C_1-C_8) алкила или $-(C_2-C_8)$ алкенила, незамещенного или замещенного гетероарила, незамещенного или замещенного гетероарил- (C_1-C_8) алкила или $-(C_2-C_8)$ алкенила, галогена, циано, $-COR^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-CONR^aNR^aR^b$, $-SR^a$, $-SOR^a$, $-SO_2R^a$, $-SO_2NR^aR^b$, нитро, $-NR^aR^b$, $-NR^aC(O)R^b$, $-NR^aC(O)NR^aR^b$, $-NR^aC(O)OR^a$, $-NR^aSO_2R^b$, $-NR^aSO_2NR^aR^b$, $-NR^aNR^aR^b$, $-NR^aNR^aC(O)R^b$, $-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b$, $-NR^aNR^aC(O)OR^a$, $-OR^a$, $-OC(O)R^a$ и $-OC(O)NR^aR^b$;

Y представляет собой H или галоген;

R^1 представляет собой (C_1-C_8) алкил, (C_2-C_8) алкенил, (C_2-C_8) алкинил, незамещенный или замещенный (C_3-C_8) циклоалкил, незамещенный или замещенный (C_3-C_8) циклоалкил- (C_1-C_8) алкил или $-(C_2-C_8)$ алкенил, незамещенный или замещенный (C_5-C_8) циклоалкенил, незамещенный или замещенный (C_5-C_8) циклоалкенил- (C_1-C_8) алкил или $-(C_2-C_8)$ алкенил, незамещенный или замещенный (C_6-C_{10}) бициклоалкил, незамещенный или замещенный гетероциклоалкил или $-(C_2-C_8)$ алкенил, незамещенный или замещенный гетероциклоалкил- (C_1-C_8) алкил, незамещенный или замещенный арил, незамещенный или замещенный арил- (C_1-C_8) алкил или $-(C_2-C_8)$ алкенил, незамещенный или замещенный гетероарил, незамещенный или замещенный гетероарил- (C_1-C_8) алкил или $-(C_2-C_8)$ алкенил, $-COR^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-CONR^aNR^aR^b$;

R^2 представляет собой водород, (C_1-C_8) алкил, трифторметил, алкокси или галоген, где указанный (C_1-C_8) алкил необязательно замещен одной-двумя группами, выбранными из amino и (C_1-C_3) алкиламино;

R^7 представляет собой водород, (C_1-C_3) алкил или алкокси;

R^3 представляет собой водород, (C_1-C_8) алкил, циано, трифторметил, $-NR^aR^b$ или галоген;

R^6 выбран из группы, состоящей из водорода, галогена, (C_1-C_8) алкила, (C_2-C_8) алкенила, (C_2-C_8) алкинила, незамещенного или замещенного (C_3-C_8) циклоалкила, незамещенного или замещенного (C_3-C_8) циклоалкил- (C_1-C_8) алкила, незамещенного или замещенного (C_5-C_8) циклоалкенила, незамещенного или замещенного (C_5-C_8) циклоалкенил- (C_1-C_8) алкила, (C_6-C_{10}) бициклоалкила, незамещенного или замещенного гетероциклоалкила, незамещенного или замещенного гетероциклоалкил- (C_1-C_8) алкила, незамещенного или замещенного арила, незамещенного или замещенного арил- (C_1-C_8) алкила, незамещенного или замещенного гетероарила, незамещенного или замещенного гетероарил- (C_1-C_8) алкила, циано, $-COR^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-CONR^aNR^aR^b$, $-SR^a$, $-SOR^a$, $-SO_2R^a$, $-SO_2NR^aR^b$, нитро, $-NR^aR^b$, $-NR^aC(O)R^b$, $-NR^aC(O)NR^aR^b$, $-NR^aC(O)OR^a$, $-NR^aSO_2R^b$, $-NR^aSO_2NR^aR^b$, $-NR^aNR^aR^b$, $-NR^aNR^aC(O)R^b$, $-NR^aNR^aC(O)NR^aR^b$, $-NR^aNR^aC(O)OR^a$, $-OR^a$, $-OC(O)R^a$, $-OC(O)NR^aR^b$;

где любая (C_1-C_8) алкильная, (C_2-C_8) алкенильная, (C_2-C_8) алкинильная, циклоалкильная, циклоалкенильная, бициклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из группы, состоящей из $-O(C_1-C_6)$ алкил(R^c)₁₋₂, $-S(C_1-C_6)$ алкил(R^c)₁₋₂, $-(C_1-C_6)$ алкил(R^c)₁₋₂, $-(C_1-C_8)$ алкил-гетероциклоалкила, (C_3-C_8) циклоалкил-гетероциклоалкила, галогена, (C_1-C_6) алкила, (C_3-C_8) циклоалкила, (C_5-C_8) циклоалкенила, (C_1-C_6) галогеналкила, циано, $-COR^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-SR^a$, $-SOR^a$, $-SO_2R^a$, $-SO_2NR^aR^b$, нитро, $-NR^aR^b$, $-NR^aC(O)R^b$, $-NR^aC(O)NR^aR^b$, $-NR^aC(O)OR^a$, $-NR^aSO_2R^b$, $-NR^aSO_2NR^aR^b$, $-OR^a$, $-OC(O)R^a$, $-OC(O)NR^aR^b$, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, арил- (C_1-C_4) алкила и гетероарил- (C_1-C_4) алкила;

где любой арильный или гетероарильный фрагмент указанного арила, гетероарила, арил- (C_1-C_4) алкила или гетероарил- (C_1-C_4) алкила необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, (C_1-C_6) алкила, (C_3-C_8) циклоалкила, (C_5-C_8) циклоалкенила, (C_1-C_6) галогеналкила, циано, $-COR^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^aR^b$, $-SR^a$, $-SOR^a$, $-SO_2R^a$, $-SO_2NR^aR^b$, нитро, $-NR^aR^b$, $-NR^aC(O)R^b$, $-NR^aC(O)NR^aR^b$, $-NR^aC(O)OR^a$, $-NR^aSO_2R^b$, $-NR^aSO_2NR^aR^b$, $-OR^a$, $-OC(O)R^a$ и

$-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$;

каждый из R^a и R^b независимо представляет собой водород, $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкил, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкенил, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкинил, $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкил, $(\text{C}_5\text{--C}_8)$ циклоалкенил, $(\text{C}_6\text{--C}_{10})$ бициклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил, где указанная $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкильная, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкенильная, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкинильная, циклоалкильная,

циклоалкенильная, бициклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена, гидроксила, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкокси, amino, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкиламино, $((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})\text{амино}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONH}(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$, $-\text{CON}((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})$, $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$, SO_2NH_2 , $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$ и $\text{SO}_2\text{N}((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})$;

или R^a и R^b , взятые вместе с атомом азота, к которому они присоединены, представляют собой 5-8-членное насыщенное или ненасыщенное кольцо, необязательно содержащее дополнительный гетероатом, выбранный из кислорода, азота и серы, где указанное кольцо необязательно замещено 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкила, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ галогеналкила, amino, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкиламино, $((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})\text{амино}$, гидроксила, оксо, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкокси и $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкокси $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкила, при этом указанное кольцо необязательно конденсировано с $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкильным, гетероциклоалкильным, арильным или гетероарильным кольцом;

или R^a и R^b , взятые вместе с атомом азота, к которому они присоединены, представляют собой 6-10-членную мостиковую бициклическую кольцевую систему, необязательно конденсированную с $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкильным, гетероциклоалкильным, арильным или гетероарильным кольцом;

каждый R^c независимо представляет собой $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкиламино, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$, $-\text{SOR}^a$, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{NR}^a\text{R}^b$ или $-\text{CO}_2\text{R}^a$;

или его соли.

Подгруппы соединений, охватываемых общей структурой формулы (I), представляют собой следующие.

Подгруппа А формулы (VII) X и Z выбраны из группы, состоящей из $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкила, $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкила, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, $-\text{NR}^a\text{R}^b$ и $-\text{OR}^a$;

Y представляет собой H или F;

R^1 выбран из группы, состоящей из $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкила, $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкила, гетероциклоалкила, арила и гетероарила;

R^2 представляет собой водород, $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкил, трифторметил, алкокси или галоген, где указанный $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкил необязательно замещен одной-двумя группами, выбранными из amino и $(\text{C}_1\text{--C}_3)$ алкиламино;

R^7 представляет собой водород, $(\text{C}_1\text{--C}_3)$ алкил или алкокси;

R^3 выбран из группы, состоящей из водорода, $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкила, циано, трифторметила, $-\text{NR}^a\text{R}^b$ и галогена;

R^6 выбран из группы, состоящей из водорода, галогена, циано, трифторметила, amino, $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкила, $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкила, арила, гетероарила, ациламино, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкинила, арилалкинила, гетероарилалкинила, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ и $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$;

где любая $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкильная, $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкильная, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкинильная, арилалкинильная, гетероарилалкинильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из $-\text{O}(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{алкил}(\text{R}^c)_{1-2}$, $-\text{S}(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{алкил}(\text{R}^c)_{1-2}$, $-(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{алкил}(\text{R}^c)_{1-2}$, $-(\text{C}_1\text{--C}_8)\text{алкил-гетероциклоалкила}$, $(\text{C}_3\text{--C}_8)\text{циклоалкил-гетероциклоалкила}$, галогена, $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкила, $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкила, $(\text{C}_5\text{--C}_8)$ циклоалкенила, $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ галогеналкила, циано, $-\text{COR}^a$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$, $-\text{CONR}^a\text{R}^b$, $-\text{SR}^a$, $-\text{SOR}^a$, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, нитро, $-\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, $\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{OR}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, арил $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкила и гетероарил $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкила;

каждый из R^a и R^b независимо представляет собой водород, $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкил, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкенил, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкинил, $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкил, $(\text{C}_5\text{--C}_8)$ циклоалкенил, $(\text{C}_6\text{--C}_{10})$ бициклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил, где указанная $(\text{C}_1\text{--C}_8)$ алкильная, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкенильная, $(\text{C}_2\text{--C}_8)$ алкинильная, циклоалкильная, циклоалкенильная, бициклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена, гидроксила, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкокси, amino, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкиламино, $((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})\text{амино}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONH}(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$, $-\text{CON}((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})$, $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$, SO_2NH_2 , $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкила}$ и $-\text{SO}_2\text{N}((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})$;

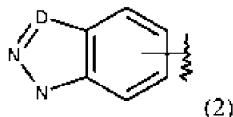
или R^a и R^b , взятые вместе с атомом азота, к которому они присоединены, представляют собой 5-8-членное насыщенное или ненасыщенное кольцо, необязательно содержащее дополнительный гетероатом, выбранный из кислорода, азота и серы, где указанное кольцо необязательно замещено 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкила, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ галогеналкила, amino, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкиламино, $((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})((\text{C}_1\text{--C}_4)\text{алкил})\text{амино}$, гидроксила, оксо, $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкокси и $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкокси $(\text{C}_1\text{--C}_4)$ алкила, при этом указанное кольцо необязательно конденсировано с $(\text{C}_3\text{--C}_8)$ циклоалкильным, гетероциклоалкильным, арильным или гетероарильным кольцом;

или R^a и R^b , взятые вместе с атомом азота, к которому они присоединены, представляют собой 6-10-

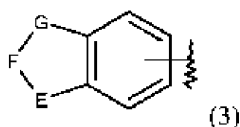
членную мостиковую бициклическую кольцевую систему, необязательно конденсированную с (C₃-C₈)циклоалкильным, гетероциклоалкильным, арильным или гетероарильным кольцом. Арильная или гетероарильная группа в этой конкретной подгруппе А независимо выбрана из группы, состоящей из фурана, тиафена, пиррола, оксазола, тиазола, имидазола, пиразола, оксадиазола, тиадиазола, триазола, тетразола, бензофурана, бензотиафена, бензоксазола, бензотиазола, фенила, пиридина, пиридазина, пиримидина, пиазина, триазина, тетразина, хинолина, циннолина, хиназолина, хиноксалина и нафтиридина или другой арильной или гетероарильной группы, такой как следующие:



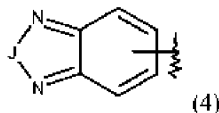
где в (1) А представляет собой О, NH или S; В представляет собой СН или N, и С представляет собой водород или C₁-C₈алкил; или



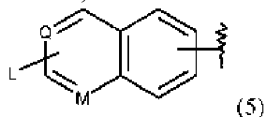
где в (2) D представляет собой N или C, необязательно замещенный водородом или C₁-C₈алкилом; или



где в (3) E представляет собой NH или CH₂; F представляет собой O или CO; и G представляет собой NH или CH₂; или



где в (4) J представляет собой O, S или CO; или

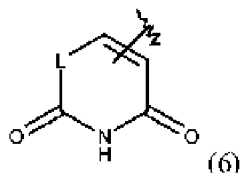


где в (5) Q представляет собой СН или N;

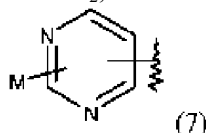
М представляет собой СН или N, и

L/(5) представляет собой водород, галоген, amino, циано, (C₁-C₈)алкил, (C₃-C₈)циклоалкил, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, CONR^aNR^aR^b, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, -NR^aSO₂R^b, NR^aSO₂NR^aR^b, -NR^aNR^aR^b, -NR^aNR^aC(O)R^b, -NR^aNR^aC(O)NR^aR^b или -OR^a,

где любая (C₁-C₈)алкильная или (C₃-C₈)циклоалкильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из (C₁-C₆)алкила, (C₃-C₈)циклоалкила, (C₅-C₈)циклоалкенила, (C₁-C₆)галогеналкила, циано, -COR^a, -CO₂R^a, CONR^aR^b, -SR^a, -SOR^a, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, нитро, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)OR^a, -NR^aSO₂R^b, -NR^aSO₂NR^aR^b, -OR^a, -OC(O)R^a и -OC(O)NR^aR^b; где R^a и R^b определены выше; или



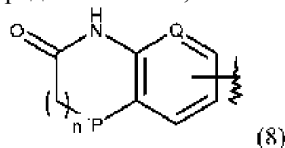
где в (6) L/(6) представляет собой NH или CH₂; или



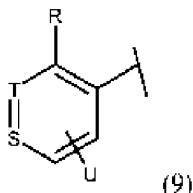
где в 7 M/(7) представляет собой водород, галоген, amino, циано, (C₁-C₈)алкил, (C₃-C₈)циклоалкил, гетероциклоалкил, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -CONR^aNR^aR^b, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, NR^aSO₂R^b, -NR^aSO₂NR^aR^b, -NR^aNR^aR^b, -NR^aNR^aC(O)R^b, -NR^aNR^aC(O)NR^aR^b или -OR^a,

где любая (C₁-C₈)алкильная, (C₃-C₈)циклоалкильная или гетероциклоалкильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из (C₁-C₆)алкила, (C₃-C₈)циклоалкила, (C₅-C₈)циклоалкенила, (C₁-C₆)галогеналкила, циано, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -SR^a, -SOR^a, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, нитро, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)OR^a, -NR^aSO₂R^b, NR^aSO₂NR^aR^b, -OR^a,

$-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ и $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$; где R^a и R^b определены выше; или



где в (8) P представляет собой CH_2 , NH , O или S ; Q /(8) представляет собой CH или N ; и n равняется 0-2; или



где в (9) S /(9) и T /(9) представляют собой C , или S /(9) представляет собой C , и T /(9) представляет собой N , или S /(9) представляет собой N , и T /(9) представляет собой C ;

R представляет собой водород, amino, метил, трифторметил или галоген;

U представляет собой водород, галоген, amino, циано, нитро, трифторметил, (C_1-C_8) алкил, (C_3-C_8) циклоалкил, $-\text{COR}^a$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$, CONR^aR^b , $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$, $-\text{OR}^a$ или 4-(1H-пиразол-4-ил),

где любая (C_1-C_8) алкильная или (C_3-C_8) циклоалкильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из (C_1-C_6) алкила, (C_3-C_8) циклоалкила, (C_5-C_8) циклоалкенила, (C_1-C_6) галогеналкила, циано, $-\text{COR}^a$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$, CONR^aR^b , $-\text{SR}^a$, $-\text{SOR}^a$, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, нитро, $-\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{OR}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ и $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$; где R^a и R^b определены выше.

Подгруппа V формулы (VII) X и Z независимо выбраны из группы, состоящей из (C_1-C_8) алкила, (C_3-C_8) циклоалкила, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, $-\text{NR}^a\text{R}^b$ и $-\text{OR}^a$;

Y представляет собой H ;

R^1 представляет собой (C_1-C_8) алкил, (C_3-C_8) циклоалкил или гетероциклоалкил;

R^2 представляет собой водород, (C_1-C_3) алкил или галоген, где указанный (C_1-C_3) алкил необязательно замещен одной-двумя группами, выбранными из amino и (C_1-C_3) алкиламино;

R^7 представляет собой водород, (C_1-C_3) алкил или алкокси;

R^3 представляет собой водород, (C_1-C_8) алкил или галоген;

R^6 представляет собой водород, галоген, циано, трифторметил, amino, (C_1-C_8) алкил, (C_3-C_8) циклоалкил, арил, гетероарил, ациламино; (C_2-C_8) алкинил, арилалкинил, гетероарилалкинил, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ или $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$;

где любая (C_1-C_8) алкильная, (C_3-C_8) циклоалкильная, (C_2-C_8) алкинильная, арилалкинильная или гетероарилалкинильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена, (C_1-C_6) алкила, (C_3-C_8) циклоалкила, (C_5-C_8) циклоалкенила, (C_1-C_6) галогеналкила, циано, $-\text{COR}^a$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$, CONR^aR^b , $-\text{SR}^a$, $-\text{SOR}^a$, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, нитро, $-\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{OR}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, гетероциклоалкила, арила, гетероарила, арил (C_1-C_4) алкила и гетероарил (C_1-C_4) алкила;

каждый из R^a и R^b независимо представляет собой водород, (C_1-C_8) алкил, (C_2-C_8) алкенил, (C_2-C_8) алкинил, (C_3-C_8) циклоалкил, (C_5-C_8) циклоалкенил, $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ бициклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил, где указанная (C_1-C_8) алкильная, (C_2-C_8) алкенильная, (C_2-C_8) алкинильная, циклоалкильная, циклоалкенильная, бициклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена, гидроксила, (C_1-C_4) алкокси, amino, (C_1-C_4) алкиламино, $((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил) $((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил)амино, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкила, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CONH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкила, $-\text{CON}((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил) $((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил), $-\text{SO}_2(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкила, SO_2NH_2 , $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкила и $-\text{SO}_2\text{N}((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил) $((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил);

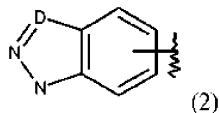
или R^a и R^b , взятые вместе с атомом азота, к которому они присоединены, представляют собой 5-8-членное насыщенное или ненасыщенное кольцо, необязательно содержащее дополнительный гетероатом, выбранный из кислорода, азота и серы, где указанное кольцо необязательно замещено 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из (C_1-C_4) алкила, (C_1-C_4) галогеналкила, amino, (C_1-C_4) алкиламино, $((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил) $((\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил)амино, гидроксила, оксо, (C_1-C_4) алкокси и (C_1-C_4) алкокси (C_1-C_4) алкила, при этом указанное кольцо необязательно конденсировано с (C_3-C_8) циклоалкильным, гетероциклоалкильным, арильным или гетероарильным кольцом;

или R^a и R^b , взятые вместе с атомом азота, к которому они присоединены, представляют собой 6-10-членную мостиковую бициклическую кольцевую систему, необязательно конденсированную с (C_3-C_8) циклоалкильным, гетероциклоалкильным, арильным или гетероарильным кольцом. Арил и гетероарил в рамках этого определения выбраны из фурана, тиафена, пиррола, оксазо-

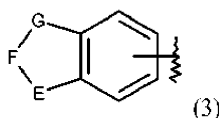
ла, тиазола, имидазола, пиразола, оксадиазола, тиадиазола, триазола, тетразола, бензофурана, бензотиофена, бензоксазола, бензотиазола, фенила, пиридина, пиридазина, пиримидина, пиразина, триазина, тетраина, хинолина, циннолина, хиназолина, хиноксалина и нафтиридина, или соединения другой арильной или гетероарильной группы, такой следующие:



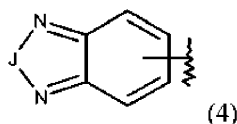
где в (1) А представляет собой О, NH или S; В представляет собой CH или N, и С представляет собой водород или C₁-C₈алкил; или



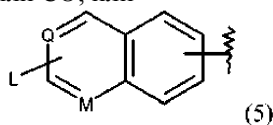
где в (2) D представляет собой N или C, необязательно замещенный водородом или C₁-C₈алкилом; или



где в (3) E представляет собой NH или CH₂; F представляет собой O или CO; и G представляет собой NH или CH₂; или



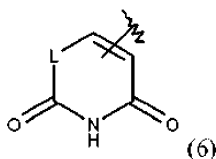
где в (4) J представляет собой O, S или CO; или



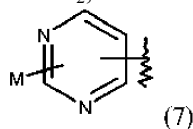
где в (5) Q представляет собой CH или N;

M представляет собой CH или N, и L/(5) представляет собой водород, галоген, amino, циано, (C₁-C₈)алкил, (C₃-C₈)циклоалкил, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -CONR^aNR^aR^b, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, -NR^aSO₂R^b, -NR^aSO₂NR^aR^b, -NR^aNR^aR^b, -NR^aNR^aC(O)R^b, -NR^aNR^aC(O)NR^aR^b или -OR^a, где любая (C₁-C₈)алкильная, (C₃-C₈)циклоалкильная, группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из (C₁-C₆)алкила, (C₃-C₈)циклоалкила, (C₅-C₈)циклоалкенила, (C₁-C₆)галогеналкила, циано, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -SR^a, -SOR^a, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, нитро, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)OR^a, NR^aSO₂R^b, -NR^aSO₂NR^aR^b, -OR^a, -OC(O)R^a и -OC(O)NR^aR^b,

где R^a и R^b определены выше; или

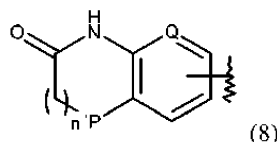


где в (6) L/(6) представляет собой NH или CH₂; или

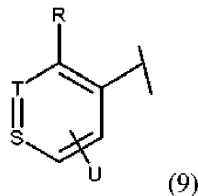


где в (7) M/(7) представляет собой водород, галоген, amino, циано, (C₁-C₈)алкил, (C₃-C₈)циклоалкил, гетероциклоалкил, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -CONR^aNR^aR^b, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, NR^aSO₂R^b, -NR^aSO₂NR^aR^b, -NR^aNR^aR^b, -NR^aNR^aC(O)R^b, -NR^aNR^aC(O)NR^aR^b или -OR^a,

где любая (C₁-C₈)алкильная, (C₃-C₈)циклоалкильная, гетероциклоалкильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из (C₁-C₆)алкила, (C₃-C₈)циклоалкила, (C₅-C₈)циклоалкенила, (C₁-C₆)галогеналкила, циано, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -SR^a, -SOR^a, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, нитро, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)OR^a, -NR^aSO₂R^b, -NR^aSO₂NR^aR^b, -OR^a, -OC(O)R^a, -OC(O)NR^aR^b; где R^a и R^b определены выше; или



где в (8) P представляет собой CH₂, NH, O или S; Q/(8) представляет собой CH или N; и n равняется 0-2; или



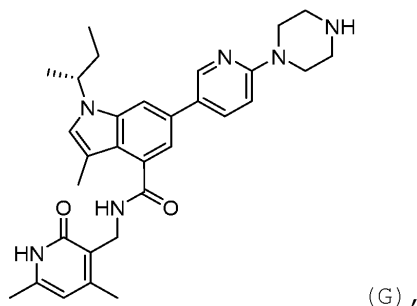
где в (9) S/(9) и T/(9) представляют собой C, или S/(9) представляет собой C, и T/(9) представляет собой N, или S/(9) представляет собой N, и T/(9) представляет собой C;

R представляет собой водород, amino, метил, трифторметил, галоген;

U представляет собой водород, галоген, amino, циано, нитро, трифторметил, (C₁-C₈)алкил, (C₃-C₈)циклоалкил, -COR^a, -CO₂R^a, CONR^aR^b, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, -NR^aSO₂R^b, NR^aSO₂NR^aR^b, -NR^aNR^aR^b, -NR^aNR^aC(O)R^b, -OR^a или 4-(1H-пиразол-4-ил),

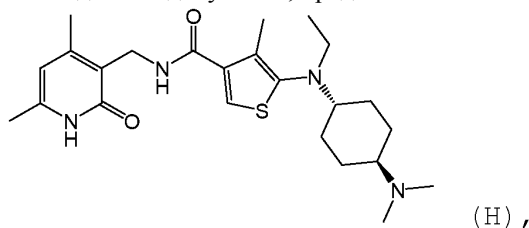
где любая (C₁-C₈)алкильная или (C₃-C₈)циклоалкильная группа необязательно замещена 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из (C₁-C₆)алкила, (C₃-C₈)циклоалкила, (C₅-C₈)циклоалкенила, (C₁-C₆)галогеналкила, циано, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -SOR^a, -SO₂R^a, -SO₂NR^aR^b, нитро, -NR^aR^b, -NR^aC(O)R^b, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)OR^a, -NR^aSO₂R^b, -NR^aSO₂NR^aR^b, -OR^a, -OC(O)R^a и -OC(O)NR^aR^b, где R^a и R^b определены выше.

Согласно вариантам осуществления ингибитор EZH2 представляет собой соединение G или GSK-126



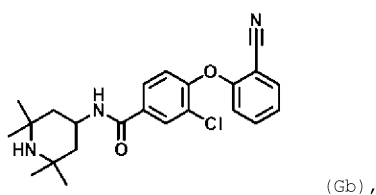
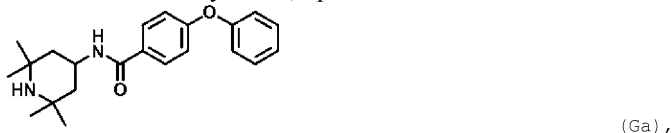
или его стереоизомеры, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват.

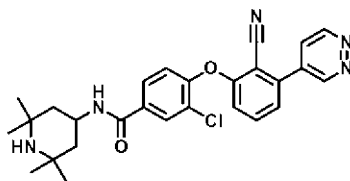
Согласно определенным вариантам осуществления ингибитор EZH2, который можно применять в любых способах, представленных в данном документе, представляет собой соединение H



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

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор EZH2, который можно применять в любых способах, представленных в данном документе, представляет собой любое из соединений Ga-Gc





(Gc),

или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль или сольват.

Согласно некоторым вариантам осуществления ингибитор EZH2, который можно применять в любых способах, представленных в данном документе, представляет собой CPI-1205 или GSK343.

Согласно одному варианту осуществления раскрытое в данном документе соединение (например, ингибитор EZH2) 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-HBr или три-HBr голой молекулы.

Соединения, описанные в данном документе, можно синтезировать в соответствии с любым способом, известным из уровня техники. Например, соединения, характеризующиеся формулой (VII), можно синтезировать в соответствии со способом, описанным в WO 2011/140325; WO 2011/140324 и WO 2012/005805, каждый из которых включен в данный документ с помощью ссылки во всей своей полноте.

Подразумевается, что используемый в данном документе "алкил", "C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ или C₆алкил" или "C₁-C₆алкил" включает насыщенные алифатические углеводородные группы с прямой цепью (линейные) из C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ или C₆ атомов и разветвленные насыщенные алифатические углеводородные группы из C₃, C₄, C₅ или C₆ атомов. Например, подразумевается, что C₁-C₆алкил включает C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ и C₆алкильные группы. Примеры алкила включают фрагменты, содержащие один-шесть атомов углерода, например, без ограничения метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, s-бутил, трет-бутил, н-пентил, s-пентил или н-гексил.

Согласно вариантам осуществления алкил с прямой или разветвленной цепью содержит шесть или меньше атомов углерода (например, C₁-C₆ в случае прямой цепи, C₃-C₆ в случае разветвленной цепи), и согласно другому варианту осуществления алкил с прямой или разветвленной цепью содержит четыре или меньше атомов углерода.

Используемый в данном документе термин "циклоалкил" относится к насыщенной или ненасыщенной неароматической углеводородной одно- или многокольцевой системе (например, конденсированной, мостиковой или спирокольцевой) с 3-30 атомами углерода (например, C₃-C₁₀). Примеры циклоалкила включают без ограничения циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, цикlopентенил, циклогексенил, циклогептенил и адамантил. Термин "гетероциклоалкил" относится к насыщенной или ненасыщенной неароматической 3-8-членной моноциклической, 7-12-членной бициклической (конденсированной, мостиковой или спирокольцевой) или 11-14-членной трициклической кольцевой системе (конденсированной, мостиковой или спирокольцевой) с одним или несколькими гетероатомами (такими как O, N, S или Se), если не указано иное. Примеры гетероциклоалкильных групп включают без ограничения пиперидинил, пиперазинил, пирролидинил, диоксанил, тетрагидрофуранил, изоиндолинил, индолинил, имидазолидинил, пиразолидинил, оксазолидинил, изоксазолидинил, триазолидинил, тетрагидрофуранил, оксиранил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, 1,2,3,6-тетрагидропиридинил, тетрагидропиранил, дигидропиранил, пиранил, морфолинил, 1,4-дiazепанил, 1,4-оксазепанил, 2-окса-5-азабицикло[2.2.1]гептанил, 2,5-дiazабицикло[2.2.1]гептанил, 2-окса-6-азаспиро[3.3]гептанил, 2,6-дiazаспиро[3.3]гептанил, 1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]деканил и т.п.

Термин "необязательно замещенный алкил" относится к незамещенному алкилу или алкилу с обозначенными заместителями, заменяющими один или несколько атомов водорода на одном или нескольких атомах углерода углеводородного каркаса. Такие заместители могут включать, например, алкил, алкенил, алкинил, галоген, гидроксил, алкилкарбонилокси, арилкарбонилокси, алкоксикарбонилокси, ариллоксикарбонилокси, карбоксилат, алкилкарбонил, арилкарбонил, алкоксикарбонил, аминокарбонил, алкиламинокарбонил, диалкиламинокарбонил, алкилтиокарбонил, алкоксил, фосфат, фосфонато, фосфинато, amino (в том числе алкиламино, диалкиламино, ариламино, диариламино и алкилариламино), ациламино (в том числе алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоил и уреидо), амидино, имино, сульфгидрил, алкилтио, арилтио, тиокарбоксилат, сульфаты, алкилсульфинил, сульфонато, сульфоамил, сульфонамидо, нитро, трифторметил, циано, азидо, гетероцикл, алкиларил или ароматический или гетероароматический фрагмент.

"Арилалкильный" или "аралкильный" фрагмент представляет собой алкил, замещенный арилом (например, фенилметил (бензил)). "Алкиларильный" фрагмент представляет собой арил, замещенный алкилом (например, метилфенил).

Подразумевается, что используемый в данном документе "алкил в качестве линкера" включает насыщенные двухвалентные алифатические углеводородные группы с прямой цепью (линейные) из C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ или C₆ атомов и разветвленные насыщенные алифатические углеводородные группы из C₃, C₄, C₅ или C₆ атомов. Например, подразумевается, что C₁-C₆алкил в качестве линкера включает C₁, C₂, C₃, C₄,

C₅ и C₆ алкильные линкерные группы. Примеры алкила в качестве линкера включают фрагменты с одним-шестью атомами углерода, например, без ограничения метил (-CH₂-), этил (-CH₂CH₂-), н-пропил (-CH₂CH₂CH₂-), изопропил (-CH(CH₃)CH₂-), н-бутил (-CH₂CH₂CH₂CH₂-), s-бутил (-CH(CH₃)CH₂CH₂-), изобутил (-C(CH₃)₂CH₂-), н-пентил (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-), s-пентил (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂-) или н-гексил (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-).

"Алкенил" включает ненасыщенные алифатические группы, аналогичные по длине и возможному замещению на алкилы, описанные выше, но которые содержат по меньшей мере одну двойную связь. Например, термин "алкенил" включает алкенильные группы с прямой цепью (например, этенил, пропенил, бутенил, пентенил, гексенил, гептенил, октенил, ноненил, деценил) и разветвленные алкенильные группы. Согласно вариантам осуществления алкенильная группа с прямой или разветвленной цепью содержит шесть или меньше атомов углерода в своем каркасе (например, C₂-C₆ в случае прямой цепи, C₃-C₆ в случае разветвленной цепи). Термин "C₂-C₆" включает алкенильные группы, содержащие два-шесть атомов углерода. Термин "C₃-C₆" включает алкенильные группы, содержащие три-шесть атомов углерода.

Термин "необязательно замещенный алкенил" относится к незамещенному алкенилу или алкенилу с обозначенными заместителями, заменяющими один или несколько атомов водорода на одном или нескольких атомах углерода углеводородного каркаса. Такие заместители могут включать, например, алкил, алкенил, алкинил, галоген, гидроксил, алкилкарбонилокси, арилкарбонилокси, алкоксикарбонилокси, арилоксикарбонилокси, карбоксилат, алкилкарбонил, арилкарбонил, алкоксикарбонил, аминокарбонил, алкиламинокарбонил, диалкиламинокарбонил, алкилтиокарбонил, алкоксил, фосфат, фосфонато, фосфинато, amino (в том числе алкиламино, диалкиламино, ариламино, диариламино и алкилариламино), ациламино (в том числе алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоил и уреидо), амидино, имино, сульфгидрил, алкилтио, арилтио, тиокарбоксилат, сульфаты, алкилсульфинил, сульфонато, сульфамойл, сульфонамидо, нитро, трифторметил, циано, гетероцикл, алкиларил или ароматический или гетероароматический фрагмент.

"Алкинил" включает ненасыщенные алифатические группы, аналогичные по длине и возможному замещению на алкилы, описанные выше, но которые содержат по меньшей мере одну тройную связь. Например, "алкинил" включает алкинильные группы с прямой цепью (например, этинил, пропинил, бутинил, пентинил, гексинил, гептинил, октинил, нонинил, децинил) и разветвленные алкинильные группы. Согласно вариантам осуществления алкинильная группа с прямой или разветвленной цепью содержит шесть или меньше атомов углерода в своем каркасе (например, C₂-C₆ в случае прямой цепи, C₃-C₆ в случае разветвленной цепи). Термин "C₂-C₆" включает алкинильные группы, содержащие два-шесть атомов углерода. Термин "C₃-C₆" включает алкинильные группы, содержащие три-шесть атомов углерода.

Термин "необязательно замещенный алкинил" относится к незамещенному алкинилу или алкинилу с обозначенными заместителями, заменяющими один или несколько атомов водорода на одном или нескольких атомах углерода углеводородного каркаса. Такие заместители могут включать, например, алкил, алкенил, алкинил, галоген, гидроксил, алкилкарбонилокси, арилкарбонилокси, алкоксикарбонилокси, арилоксикарбонилокси, карбоксилат, алкилкарбонил, арилкарбонил, алкоксикарбонил, аминокарбонил, алкиламинокарбонил, диалкиламинокарбонил, алкилтиокарбонил, алкоксил, фосфат, фосфонато, фосфинато, amino (в том числе алкиламино, диалкиламино, ариламино, диариламино и алкилариламино), ациламино (в том числе алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоил и уреидо), амидино, имино, сульфгидрил, алкилтио, арилтио, тиокарбоксилат, сульфаты, алкилсульфинил, сульфонато, сульфамойл, сульфонамидо, нитро, трифторметил, циано, азидо, гетероцикл, алкиларил или ароматический или гетероароматический фрагмент.

Другие необязательно замещенные фрагменты (такие как необязательно замещенный циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил) включают как незамещенные фрагменты, так и фрагменты с одним или несколькими обозначенными заместителями. Например, замещенный гетероциклоалкил включает таковые, замещенные одной или несколькими алкильными группами, такими как 2,2,6,6-тетраметилпиперидинил и 2,2,6,6-тетраметил-1,2,3,6-тетрагидропирдинил.

"Арил" включает группы с определенной степенью ароматизации, включая "конъюгированные" или мультициклические системы по меньшей мере с одним ароматическим кольцом, и не содержащие какой-либо гетероатома в кольцевой структуре. Примеры включают фенил, бензил, 1,2,3,4-тетрагидронафталинил и т.п.

"Гетероарильные" группы представляют собой арильные группы, определенные выше, за исключением содержащих один-четыре гетероатома в кольцевой структуре, и могут также называться "арильными гетероциклами" или "гетероароматическими соединениями." Подразумевается, что используемый в данном документе термин "гетероарил" включает стабильное 5-, 6- или 7-членное моноциклическое или 7-, 8-, 9-, 10-, 11- или 12-членное бициклическое ароматическое гетероциклическое кольцо, которое состоит из атомов углерода и одного или нескольких гетероатомов, например, 1, или 1-2, или 1-3, или 1-4, или 1-5, или 1-6 гетероатомов, или, например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 гетероатомов, независимо выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода и серы. Атом азота может быть замещенным или незамещенным (то есть N или NR, где R представляет собой H или другие заместители, как определено). Гетероатомы,

представляющие собой азот и серу, необязательно могут быть окисленными (то есть $N \rightarrow O$ и $S(O)_p$, где $p=1$ или 2). Следует отметить, что общее число атомов S и O в ароматическом гетероцикле составляет не более 1.

Примеры гетероарильных групп включают пиррол, фуран, тиофен, тиазол, изотиазол, имидазол, триазол, тетразол, пиразол, оксазол, изоксазол, пиридин, пиразин, пиридазин, пиримидин и т.п.

Кроме того, термины "арил" и "гетероарил" включают мультициклические арильные и гетероарильные группы, например, трициклические, бициклические, например, нафталин, бензоксазол, бензодиоксазол, бензотиазол, бензимидазол, бензотиофен, метилendioксифенил, хинолин, изохинолин, нафтиридин, индол, бензофуран, пурин, бензофуран, деазапурин, индолизин.

В случае мультициклических ароматических колец требуется, чтобы только одно из колец было ароматическим (например, 2,3-дигидроиндол), хотя все из колец могут быть ароматическими (например, хинолин). Второе кольцо также может быть конденсированным или мостиковым.

Циклоалкильное, гетероциклоалкильное, арильное или гетероарильное кольцо может быть замещено по одному или нескольким положениям в кольце (например, образующему кольцо атому углерода или гетероатому, такому как N) заместителями, такими как описанные выше, например, алкилом, алкенилом, алкинилом, галогеном, гидроксилом, алкокси, алкилкарбонилокси, арилкарбонилокси, алкоксикарбонилокси, арилоксикарбонилокси, карбоксилатом, алкилкарбонилом, алкиламинокарбонилом, аралкиламинокарбонилом, алкениламинокарбонилом, алкилкарбонилом, арилкарбонилом, аралкилкарбонилом, алкенилкарбонилом, алкоксикарбонилом, аминокарбонилом, алкилтиокарбонилом, фосфатом, фосфонато, фосфинато, amino (в том числе алкиламино, диалкиламино, ариламино, диариламино и алкилариламино), ациламино (в том числе алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоилом и уреидо), амидино, имино, сульфгидрилом, алкилтио, арилтио, тиокарбоксилатом, сульфатами, алкилсульфинилом, сульфонато, сульфоамилом, сульфонамидо, нитро, трифторметилом, циано, азидо, гетероциклилом, алкиларилом или ароматическим или гетероароматическим фрагментом. Арильные и гетероарильные группы могут быть конденсированы с алициклическими или гетероциклическими кольцами, которые не являются ароматическими, или образовывать с ними мостики с образованием мультициклической системы (например, тетралин, метилendioксифенил).

Подразумевается, что используемые в данном документе "карбоцикл" или "карбоциклическое кольцо" включают любое стабильное моноциклическое, бициклическое или трициклическое кольцо с определенным числом атомов углерода, каждое из которых может быть насыщенным, ненасыщенным или ароматическим. Карбоцикл включает циклоалкил и арил. Например, подразумевается, что C_3 - C_{14} карбоцикл включает моноциклическое, бициклическое или трициклическое кольцо с 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 атомами углерода. Примеры карбоциклов включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклобутенил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогептенил, циклогептил, циклогептенил, адамантил, циклооктил, циклооктенил, циклооктадиенил, флуоренил, фенил, нафтил, инданил, адамантил и тетрагидронафтил. Мостиковые кольца также включены в определение карбоцикла, в том числе, например, [3.3.0]бициклооктан, [4.3.0]бициклононан, [4.4.0]бициклодекан и [2.2.2]бициклооктан. Мостиковое кольцо имеет место, когда один или несколько атомов углерода связывают два атома углерода, не являющихся смежными. Согласно одному варианту осуществления мостиковые кольца представляют один или два атома углерода. Следует отметить, что мостик всегда преобразовывает моноциклическое кольцо в трициклическое кольцо. Если кольцо является мостиковым, заместители, перечисленные для кольца, также могут присутствовать в мостике. Конденсированные (например, нафтил, тетрагидронафтил) кольца и спирокольца также включены.

Используемые в данном документе "гетероцикл" или "гетероциклическая группа" включают любую кольцевую структуру (насыщенную, ненасыщенную или ароматическую), которая содержит по меньшей мере один гетероатом в кольце (например, N, O или S). Гетероцикл включает гетероциклоалкил и гетероарил. Примеры гетероциклов включают без ограничения морфолин, пирролидин, тетрагидротиофен, пиперидин, пиперазин, оксетан, пиран, тетрагидропиран, азетидин и тетрагидрофуран.

Примеры гетероциклических групп включают без ограничения акридинил, азоцинил, бензимидазолил, бензофуранил, бензотиофуранил, бензотиофенил, бензоксазолил, бензоксазолинил, бензтиазолил, бензтриазолил, бензтетразолил, бензизоксазолил, бензизотиазолил, бензимидазолинил, карбазолил, 4aH-карбазолил, карболинил, хроманил, хроменил, циннолинил, декагидрохинолинил, 2H,6H-1,5,2-дитиазинил, дигидрофурано[2,3-b]тетрагидрофуран, фуранил, фуразанил, имидазолидинил, имидазолинил, имидазолил, 1H-индазолил, индоленил, индолинил, индолизинил, индолил, 3H-индолил, изатионил, изобензофуранил, изохроманил, изоиндазолил, изоиндолинил, изоиндолил, изохинолинил, изотиазолил, изоксазолил, метилendioксифенил, морфолинил, нафтиридинил, октагидроизохинолинил, оксадиазолил, 1,2,3-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, 1,2,5-оксадиазолил, 1,3,4-оксадиазолил, 1,2,4-оксадиазол-5(4H)-он, оксазолидинил, оксазолил, оксиндолил, пиримидинил, фенантридинил, фенантролинил, феназинил, фенотиазинил, феноксатинил, феноксазинил, фталазинил, пиперазинил, пиперидинил, пиперидонил, 4-пиперидонил, пиперонил, птеридинил, пуринил, пиранил, пиразинил, пиразолидинил, пиразолинил, пиразолил, пиридазинил, пиридооксазол, пиридоимидазол, пиридотиазол, пиридинил, пиридил, пиримидинил, пирролидинил, пирролинил, 2H-пирролил, пирролил, хиназолинил, хинолинил, 4H-хинолизинил,

хиноксалинил, хинуклидинил, тетрагидрофуранил, тетрагидроизохинолинил, тетрагидрохинолинил, тетразолил, 6Н-1,2,5-тиадиазинил, 1,2,3-тиадиазолил, 1,2,4-тиадиазолил, 1,2,5-тиадиазолил, 1,3,4-тиадиазолил, тиантренил, тиазолил, тиенил, тиенотиазолил, тиенооксазолил, тиеноимидазолил, тиофенил, триазилил, 1,2,3-триазолил, 1,2,4-триазолил, 1,2,5-триазолил, 1,3,4-триазолил и ксантенил.

Используемый в данном документе термин "замещенный" означает, что любой один или несколько атомов водорода на обозначенном атоме заменен выбранным из указанных групп, при условии, что нормальная валентность обозначенного атома не превышает, и что в результате замещения образуется стабильное соединение. Если заместитель представляет собой оксо или кето (то есть =O), то на атоме заменены 2 атома водорода. Кето-заместители отсутствуют на ароматических фрагментах. Двойные связи кольца, используемые в данном документе, представляют собой двойные связи, которые образуются между двумя смежными атомами кольца (например, C=C, C=N или N=N). Подразумевается, что "стабильное соединение" и "стабильная структура" означают соединение, которое является достаточно устойчивым, чтобы выдержать выделение до достижения пригодной степени чистоты из реакционной смеси и составление в эффективное терапевтическое средство.

Если показано, что связь к заместителю пересекает связь, соединяющую два атома в кольце, то такой заместитель может быть связан с любым атомом в кольце. Когда заместитель перечислен без указания атома, через который такой заместитель присоединен к остальной части соединения данной формулы, то такой заместитель может быть связан через любой атом в такой формуле. Допускаются комбинации заместителей или переменных (или как того, так и другого), но только если такие комбинации приводят к образованию стабильных соединений.

Когда какая-либо переменная (например, R₁) встречается более одного раза в любой составляющей или формуле соединения, ее определение в каждом случае не зависит от ее определения в каждом другом случае. Так, например, если показано, что группа замещена 0-2 фрагментами R₁, то группа может быть необязательно замещена не более чем двумя фрагментами R₁, и R₁ в каждом случае выбран независимо от определения R₁. Также допускаются комбинации заместителей или переменных (или как того, так и другого), но только если такие комбинации приводят к образованию стабильных соединений.

Термин "гидроксил" или "гидроксил" включает группы с -ОН или -О'.

Используемые в данном документе "галоген" или "галогенид" относятся к фтору, хлору, бром и иоду. Термин "пергалогенизированный", как правило, относится к фрагменту, в котором все атомы водорода замещены атомами галогена. Термин "галогеналкил" или "галогеналкоксил" относится к алкилу или алкоксилу, замещенному одним или несколькими атомами галогена.

Термин "карбонил" включает соединения и фрагменты, которые содержат атом углерода, присоединенный двойной связью к атому кислорода. Примеры фрагментов, содержащих карбонил, включают без ограничения альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, амиды, сложные эфиры, ангидриды и т.д.

Термин "карбоксил" относится к -COOH или его сложному C₁-C₆алкильному эфиру.

"Ацил" включает фрагменты, которые содержат ацильный радикал (R-C(O)-) или карбонильную группу. "Замещенный ацил" включает ацильные группы, в которых один или несколько атомов водорода замещены, например, алкильными группами, алкинильными группами, галогеном, гидроксильной, алкилкарбонил, арилкарбонил, алкоксикарбонил, арилоксикарбонил, карбоксилатом, алкилкарбонил, арилкарбонил, алкоксикарбонил, аминокарбонил, алкиламинокарбонил, диалкиламинокарбонил, алкилтиокарбонил, алкоксил, фосфатом, фосфонатом, фосфинатом, аминок (в том числе алкиламино, диалкиламино, ариламино, диариламино и алкилариламино), ациламино (в том числе алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоил и уреидо), амидино, имино, сульфгидрилом, алкилтио, арилтио, тиокарбоксилатом, сульфатами, алкилсульфинилом, сульфонатом, сульфамойлом, сульфонамидом, нитро, трифторметилом, циано, азидо, гетероциклом, алкиларилом или ароматическим или гетероароматическим фрагментом.

"Ароил" включает фрагменты с арильным или гетероароматическим фрагментом, связанным с карбонильной группой. Примеры ароильных групп включают фенилкарбоксы, нафтилкарбоксы и т.д.

"Алкоксиалкил", "алкиламиноалкил" и "тиоалкоксиалкил" включает алкильные группы, описанные выше, в которых один или несколько атомов углерода углеводородного каркаса замещены атомами кислорода, азота или серы.

Термин "алкокси" или "алкоксил" включает замещенные и незамещенные алкильные, алкенильные и алкинильные группы, ковалентно связанные с атомом кислорода. Примеры алкоксигрупп или алкоксильных радикалов включают без ограничения метокси-, этокси-, изопропилокси-, пропокси-, буюкси- и пентоксигруппы. Примеры замещенных алкоксигрупп включают галогенированные алкоксигруппы. Алкоксигруппы могут быть замещены группами, такими как алкенил, алкинил, галоген, гидроксил, алкилкарбонил, арилкарбонил, алкоксикарбонил, аминокарбонил, алкиламинокарбонил, диалкиламинокарбонил, алкилтиокарбонил, алкоксил, фосфат, фосфонат, фосфинат, аминок (в том числе алкиламино, диалкиламино, ариламино, диариламино и алкилариламино), ациламино (в том числе алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоил и уреидо), амидино, имино, сульфгидрил, алкилтио, арилтио, тиокарбоксилат, сульфаты, алкилсульфинил, сульфонат, сульфамойл, сульфонамидо, нитро, трифторметил, циано,

азидо, гетероциклил, алкиларил или ароматические или гетероароматические фрагменты. Примеры галогена, замещенного алкоксигруппами, включают без ограничения фторметокси, дифторметокси, трифторметокси, хлорметокси, дихлорметокси и трихлорметокси.

Термины "эфир" или "алкокси" включает соединения или фрагменты, которые содержат атом кислорода, связанный с двумя атомами углерода или гетероатомами. Например, термин включает "алкоксиалкил", который относится к алкильной, алкенильной или алкинильной группе, ковалентно связанной с атомом кислорода, который ковалентно связан с алкильной группой.

Термин "сложный эфир" включает соединения или фрагменты, которые содержат атом углерода или гетероатом, связанный с атомом кислорода, который связан с атомом углерода карбонильной группы. Термин "сложный эфир" включает алкоксикарбоксигруппы, такие как метоксикарбонил, этоксикарбонил, пропоксикарбонил, бутоксикарбонил, пентоксикарбонил и т.д.

Термин "тиоалкил" включает соединения или фрагменты, которые содержат алкильную группу, присоединенную посредством атома серы. Тиоалкильные группы могут быть замещены группами, такими как алкил, алкенил, алкинил, галоген, гидроксил, алкилкарбонилокси, арилкарбонилокси, алкоксикарбонилокси, арилоксикарбонилокси, карбоксилат, карбоксильная, алкилкарбонил, арилкарбонил, алкоксикарбонил, аминокарбонил, алкиламинокарбонил, диалкиламинокарбонил, алкилтиокарбонил, алкоксил, amino (в том числе алкиламино, диалкиламино, ариламино, диариламино и алкилариламино), ациламино (в том числе алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоил и уреидо), амидино, имино, сульфгидрил, алкилтио, арилтио, тиокарбоксилат, сульфаты, алкилсульфинил, сульфonato, сульфамойл, сульфонамидо, нитро, трифторметил, циано, азидо, гетероциклил, алкиларил или ароматические или гетероароматические фрагменты.

Термин "тиокарбонил" или "тиокарбокси" включает соединения и фрагменты, которые содержат атом углерода, присоединенный двойной связью к атому серы.

Термин "тиоэфиры" включает фрагменты, которые содержат атом серы, связанный с двумя атомами углерода или гетероатомами. Примеры тиоэфиров включают без ограничения алктиоалкилы, алктиоалкенилы и алктиоалкинилы. Термин "алктиоалкилы" включает фрагменты с алкильной, алкенильной или алкинильной группой, связанной с атомом серы, которая связана с алкильной группой. Подобным образом, термин "алктиоалкенилы" относится к фрагментам, в которых алкильная, алкенильная или алкинильная группа связана с атомом серы, который ковалентно связан с алкенильной группой; и "алктиоалкинилы" относится к фрагментам, в которых алкильная, алкенильная или алкинильная группа связаны с атомом серы, который ковалентно связан с алкинильной группой.

Используемые в данном документе "амин" или "амино" относятся к незамещенному или замещенному $-NH_2$. "Алкиламино" включает группы соединений, в которых атом азота $-NH_2$ связан по меньшей мере с одной алкильной группой. Примеры алкиламиногрупп включают бензиламино, метиламино, этиламино, фенетиламино и т.д. "Диалкиламино" включает группы, в которых атом азота $-NH_2$ связан по меньшей мере с двумя дополнительными алкильными группами. Примеры диалкиламиногрупп включают без ограничения диметиламино и диэтиламино. "Ариламино" и "диариламино" включают группы, в которых атом азота связан по меньшей мере с одним или двумя арильными группами соответственно. "Аминоарил" и "аминоарилокси" относятся к арилу и арилокси, замещенным амином.

"Алкилариламино", "алкиламиноарил" или "ариламиноалкил" относятся к аминогруппе, которая связана по меньшей мере с одной алкильной группой и по меньшей мере с одной арильной группой. "Алкаминоалкил" относится к алкильной, алкенильной или алкинильной группе, связанной с атомом азота, который также связан с алкильной группой. "Ациламино" включает группы, в которых атом азота связан с ацильной группой. Примеры ациламино включают без ограничения группы алкилкарбониламино, арилкарбониламино, карбамоил и уреидо.

Термин "амид" или "аминокарбокси" включает соединения или фрагменты, которые содержат атом азота, который связан с атомом углерода карбонильной или тиокарбонильной группы. Термин включает "алкаминокарбоксильные" группы, которые включают алкильные, алкенильные или алкинильные группы, связанные с аминогруппой, которая связана с атомом углерода карбонильной или тиокарбонильной группы. Он также включает "ариламинокарбоксильные" группы, которые включают арильные или гетероарильные фрагменты, связанные с аминогруппой, которая связана с атомом углерода карбонильной или тиокарбонильной группы. Термины "алкиламинокарбокси", "алкениламинокарбокси", "алкиниламинокарбокси" и "ариламинокарбокси" включают такие фрагменты, в которых соответственно алкильные, алкенильные, алкинильные и арильные фрагменты связаны с атомом азота, который, в свою очередь, связан с атомом углерода карбонильной группы. Амиды могут быть замещены заместителями, такими как алкил с прямой цепью, разветвленный алкил, циклоалкил, арил, гетероарил или гетероцикл. Заместители при амидных группах могут быть дополнительно замещены.

В настоящем описании в некоторых случаях для удобства структурная формула соединения представляет собой определенный изомер, однако настоящее изобретение включает все изомеры, такие как геометрические изомеры, оптические изомеры, основанные на асимметрическом атоме углерода, стереоизомеры, таутомеры и т.п., при этом следует понимать, что не все изомеры могут характеризоваться одинаковым уровнем активности. Кроме того, в соединениях, представленных формулой, может присутст-

вывать полиморфизм кристаллов. Следует отметить, что любая кристаллическая форма, смесь кристаллических форм или их ангидрид или гидрат включены в объем настоящего изобретения.

"Изомерия" означает соединения, которые характеризуются одинаковой молекулярной формулой, но различаются в последовательности связывания их атомов или расположением их атомов в пространстве. Изомеры, различающиеся расположением атомов в пространстве, называют "стереоизомеры". Стереизомеры, которые характеризуются не зеркальными изображениями друг друга, называют "диастереоизомеры", а стереоизомеры, которые характеризуются неналагающимся зеркальным изображением друг друга, называют "энантиомеры" или иногда оптические изомеры. Смесь, содержащую равные количества форм отдельных энантиомеров с противоположной хиральностью, называют "рацемическая смесь".

Атом углерода, связанный с четырьмя неодинаковыми заместителями, называют "хиральный центр".

"Хиральный изомер" означает соединение по меньшей мере с одним хиральным центром. Могут существовать соединения, имеющие более одного хирального центра, либо в виде отдельного диастереомера или в виде смеси диастереомеров, которую называют "диастереомерная смесь". Когда присутствует один хиральный центр, стереоизомер можно охарактеризовать абсолютной конфигурацией (R или S) данного хирального центра. Абсолютная конфигурация относится к расположению в пространстве заместителей, присоединенных к хиральному центру. Заместители, присоединенные к рассматриваемому хиральному центру, расположены в соответствии с правилом последовательности по Кану, Ингольду и Прелогу. (Cahn et al., Angew. Chem. Inter. Edit. 1966, 5, 385; errata 511; Cahn et al., Angew. Chem. 1966, 78, 413; Cahn and 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, которые обязаны своим существованием затрудненному вращению вокруг двойных связей или циклоалкильного линкера (например, 1,3-циклобутила). Эти конфигурации различаются в названии префиксами цис и транс или Z- и E, которые показывают, что группы находятся на одной или другой стороне двойной связи в молекуле в соответствии с правилами Кана-Ингольда-Прелога.

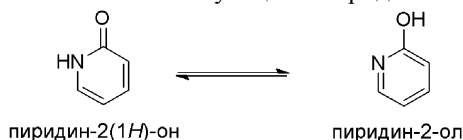
Следует понимать, что соединения, раскрытые в данном изобретении, могут быть изображены в виде различных хиральных изомеров или геометрических изомеров. Также следует понимать, что если соединения имеют хиральные изомерные или геометрические изомерные формы, то все изомерные формы подлежат включению в объем настоящего изобретения, и названия соединений не исключают любые изомерные формы, при этом следует понимать, что не все изомеры могут характеризоваться одинаковым уровнем активности.

Более того, структуры и другие соединения, обсуждаемые в настоящем изобретении, включают все их атропные изомеры, при этом следует понимать, что не все атропные изомеры могут характеризоваться одинаковым уровнем активности. "Атропоизомеры" представляют собой тип стереоизомера, в котором атомы двух изомеров по-разному расположены в пространстве. Атропоизомеры обязаны своим существованием ограниченному вращению, вызванному замедлением вращения больших групп вокруг центральной связи. Такие атропоизомеры обычно существуют в виде смеси, однако в результате последних достижений в области методик хроматографии оказалось возможным в некоторых случаях разделить смеси двух атропоизомеров.

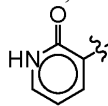
"Таутомер" представляет собой один или несколько структурных изомеров, существующих в равновесии и легко переходящих из одной изомерной формы в другую. Это преобразование приводит к формальной миграции атома водорода в сопровождении переключателя смежных сопряженных двойных связей. Таутомеры существуют в виде смеси таутомерного набора в растворе. В растворах, где возможна таутомеризация, достигали химического равновесия 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, обычно наблюдают два. При кето-енольной таутомерии происходит одновременное смещение электронов и атома водорода. Кольчато-цепная таутомерия возникает в результате реакции альдегидной группы (-CHO) в цепной молекуле сахара с одной из гидроксильных групп (-OH) в той же молекуле для придания ей циклической (кольцеобразной) формы, какой характеризуется глюкоза.

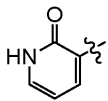
Обычными таутомерными парами являются: кетон-енольная, амид-нитрильная, лактам-лактимная, таутомерия амид-имидной кислоты в гетероциклических кольцах (например, в нуклеиновых основаниях, таких как гуанин, тимин и цитозин), имин-енаминная и енамин-енаминная. Пример кето-енольного равновесия между пиридин-2(1H)-онами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



В соединениях, описанных в данном документе,



в каждом случае его употребления следует истолковывать как



Следует понимать, что соединения в соответствии с настоящим изобретением 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 изобретения, при этом названия соединений не исключают какую-либо таутомерную форму. Определенные таутомеры, как будет понятно, могут характеризоваться более высоким уровнем активности, чем другие.

Термин "кристаллические полиморфы", "полиморфы" или "кристаллические формы" означают кристаллические структуры, при которых соединение (или его соль или сольват) может кристаллизоваться с образованием различных типов кристаллической решетки, при этом каждая имеет одинаковый элементарный состав. Разные кристаллические формы обычно характеризуются разными дифракционными рентгенограммами, разным спектром инфракрасного излучения, значениями температуры плавления, значениями плотности, формами кристаллов, оптическими и электрическими свойствами, стабильностью и растворимостью. Перекристаллизация растворителя, скорость кристаллизации, температура хранения и другие факторы могут обуславливать преобладание одной кристаллической формы. Кристаллические полиморфы соединений можно получить путем кристаллизации в разных условиях.

Соединения любой формулы, раскрытой 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) на арил- или гетероарил-замещенном бензольном соединении. Подходящие анионы включают хлорид, бромид, иодид, сульфат, бисульфат, сульфамат, нитрат, фосфат, цитрат, метансульфонат, трифторацетат, глутамат, глюкуронат, 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 гетероарильно-замещенные бензольные соединения также включают соли, содержащие четвертичные атомы азота.

Кроме того, соединения по настоящему изобретению, например соли соединений, могут существовать либо в гидратированной, либо в 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 содержат либо стехиометрическое, либо нестехиометрическое 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 алкоголь. Гидраты образуют путем объединения одной или более молекул воды с одной молекулой вещества, в котором вода сохраняет свое молекулярное состояние, как H_2O .

Термин "биоизостер" относится к соединению, полученному в результате обмена атома или групп атомов на другие, в целом аналогичные, атом или группу атомов. Целью биоизостерического замещения является создание нового соединения с биологическими свойствами, аналогичными исходному соединению. Биоизостерическое замещение может быть физико-химическим или топологическим. Примеры биоизостеров карбоновых кислот включают, но не ограничиваются ими, ацилсульфонидами, 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 $C-14$.

Настоящее изобретение предусматривает способы синтеза соединений любой формулы, раскрытой в данном документе. В настоящем изобретении также подробно представлены способы синтеза различных раскрытых соединений по настоящему изобретению в соответствии со следующими схемами, показанными в примерах.

Во всем данном описании в случае, когда композиции описаны как имеющие, включающие или со-

держат конкретные компоненты, предполагается, что эти композиции также состоят практически из, или состоят из указанных компонентов. Подобным образом, в случае, когда методы или способы описаны как характеризующиеся, включающие или предусматривающие конкретные стадии способа, данные способы также практически включают или включают перечисленные стадии способа. Кроме того, следует понимать, что порядок стадий или порядок осуществления определенных действий не имеет значения при условии, что настоящее изобретение остается выполняемым. Более того, две или более стадий или действий можно осуществлять одновременно.

В способах синтеза по настоящему изобретению может допускаться широкий ряд функциональных групп, следовательно можно применять различные замещенные исходные материалы. В способах требуемое конечное соединение, как правило, получают в конце или ближе к концу всего процесса, хотя в некоторых случаях может требоваться дополнительное превращение соединения в его фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф.

Соединения по настоящему изобретению можно получать различными путями с применением коммерчески доступных исходных материалов, соединений, известных из литературы, или из легко получаемых промежуточных соединений с использованием стандартных способов и процедур синтеза, которые либо известны специалистам в данной области, либо будут очевидны специалисту в данной области в свете представленных в данном документе идей. Стандартные способы и процедуры синтеза для получения органических молекул, а также способы преобразования и манипуляции с функциональными группами можно найти в соответствующей научной литературе или в стандартных пособиях данной области. Хотя и без ограничения одним или несколькими источниками, классические тексты, такие как Smith, M.B., March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001; Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999; R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994) и L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), включенные в данный документ с помощью ссылки, являются пригодными и общепризнанными справочными пособиями по органическому синтезу, известными специалистам в данной области. Следующие описания способов синтеза предназначены для иллюстрирования, а не ограничения общих способов получения соединений по настоящему изобретению.

Соединения по настоящему изобретению можно с легкостью получать с помощью различных способов, известных специалистам в данной области. Соединения по настоящему изобретению с любой формулой, раскрытой в данном документе, можно получать в соответствии с процедурами, проиллюстрированными на схемах 1-10 ниже, из коммерчески доступных исходных материалов или исходных материалов, которые можно получить с использованием процедур, известных из литературы. Группы Z и R (такие как R₂, R₃, R₄, R₆, R₇, R₈ и R₁₂) на схемах 1-10 являются такими, как определено в любой формуле, раскрытой в данном документе, если не указано иное.

Специалист в данной области примет во внимание, что в пределах последовательностей реакции и схем синтеза, описанных в данном документе, порядок определенных стадий может быть изменен, как, например, введение и удаление защитных групп.

Специалисту в данной области будет понятно, что для определенных групп может требоваться защита от условий реакции посредством применения защитных групп. Защитные группы также можно применять для установления различия подобных функциональных групп в молекулах. Перечень защитных групп и способы введения и удаления этих групп можно найти в Greene, T.W., Wuts, P.G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999.

Предпочтительные защитные группы включают без ограничения:

- в случае гидроксильного фрагмента - TBS, бензил, THP, Ac;
- в случае карбоновых кислот - сложный бензиловый эфир, сложный метиловый эфир, сложный этиловый эфир, сложный аллиловый эфир;
- в случае аминов - Cbz, BOC, DMБ;
- в случае диолов - Ac (x2) TBS (x2) или взятые вместе ацетониды;
- в случае тиолов - Ac;
- в случае бензимидазолов - SEM, бензил, PMB, DMБ;
- в случае альдегидов - диалкиловые ацетали, такие как диметоксиацеталь или диэтилацеталь.

В схемах реакции, описанных в данном документе, могут быть получены несколько стереоизомеров. Если конкретный стереоизомер не указан, то это означает, что подразумеваются все возможные стереоизомеры, которые могут быть получены в результате реакции. Специалисту в данной области будет понятно, что реакции можно оптимизировать для получения одного предпочтительного изомера или можно разработать новые схемы для получения одного изомера. Если получают смеси, то для разделения изомеров можно применять такие методики, как препаративная тонкослойная хроматография, препаративная HPLC, препаративная хиральная HPLC или препаративная SFC.

Следующие сокращения используются во всем данном описании и определены ниже:

Ac ацетил;

AcOH уксусная кислота;
 водн. водный;
 BID или b.i.d. дважды в день (два раза в день);
 BOC трет-бутоксикарбонил;
 Cbz бензилоксикарбонил;
 CDCl₃ дейтерированный хлороформ;
 CH₂Cl₂ дихлорметан;
 DCM дихлорметан;
 DMB 2,4-диметоксibenзил;
 MF N,N-диметилформамид;
 DMSO диметилсульфоксид;
 EA или EtOAc этилацетат;
 EDC или EDCI N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид;
 ESI- режим отрицательных ионов электрораспыления;
 ESI+ режим положительных ионов электрораспыления;
 EtOH этанол;
 ч часы;
 H₂O вода;
 HOBT 1-гидроксibenзотриазол;
 HCl хлороводород или соляная кислота;
 HPLC высокоэффективная жидкостная хроматография;
 K₂CO₃ карбонат калия;
 LC/MS или LC-MS жидкостная хроматография с масс-спектрометрией;
 M молярный;
 MeCN ацетонитрил;
 мин. минуты;
 Na₂CO₃ карбонат натрия;
 Na₂SO₄ сульфат натрия;
 NaHCO₃ бикарбонат натрия;
 NaHMDS гексаметилдисилазид натрия;
 NaOH гидроксид натрия;
 NaHCO₃ бикарбонат натрия;
 Na₂SO₄ сульфат натрия;
 NMR ядерный магнитный резонанс;
 Pd(OH)₂ дигидроксид палладия;
 PMB пара-метоксibenзил;
 p.o. через рот (пероральное введение);
 ppm частей на миллион;
 препаративная HPLC препаративная высокоэффективная жидкостная хроматография;
 PYBOP гексафторфосфат (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония;
 Rt или RT комнатная температура;
 TBME трет-бутилметилловый эфир;
 TFA трифторуксусная кислота;
 THF тетрагидрофуран;
 THP тетрагидропиран.

Эффективное количество соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа не является существенно 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 определенному аспекту клеточная гибель происходит в результате апоптоза.

Приведение клетки в контакт с соединением по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом или полиморфом может избирательно индуцировать или активировать клеточную гибель в раковых клетках. Введение нуждающемуся субъекту соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа может избирательно индуцировать или активировать клеточную гибель в раковых клетках. Приведение клетки в контакт с соединением по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом или полиморфом может избирательно индуцировать клеточную гибель у одной или нескольких клеток, пораженных в результате нарушения пролиферации клеток. Предпочтительно введение нуждающемуся субъекту соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата

или полиморфа избирательно индуцирует клеточную гибель у одной или нескольких клеток, пораженных в результате нарушения пролиферации клеток.

Специалист в данной области может обратиться к общим текстам ссылок за подробными описаниями известных методик, которые обсуждались в данном документе или аналогичных методиках. Эти тексты включают Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley и 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 сослаться при создании или применении аспекта по настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также может предусматривать фармацевтические композиции, содержащие соединение по настоящему изобретению, например, соединение А, В, С или D, в комбинации по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым наполнителем или носителем.

"Фармацевтическая композиция" представляет собой состав, содержащий соединения по настоящему изобретению в форме, подходящей для введения субъекту. Согласно одному варианту осуществления фармацевтическая композиция может быть нефасованной или в виде единичной лекарственной формы. Единичная лекарственная форма представляет собой любую из различных форм, в том числе, например, капсулу, пакет для внутривенного вливания, таблетку, одноцилиндровый насос на аэрозольном ингаляторе или флакон. Количество активного ингредиента в единичной дозе композиции представляет собой эффективное количество, и оно варьирует 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, чрескожный, подкожный, внутривенный, внутримышечный, интраперитонеальный, ингаляционный, трансбуккальный, сублингвальный, интраплевральный, интратекальный, интраназальный и т.п. Лекарственные формы для местного или чрескожного введения соединения по настоящему изобретению включают порошки, спреи, 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 требуемыми консервантами, буферами или пропеллентами.

Используемая в данном документе фраза "фармацевтически приемлемый" относится к таким соединениям, материалам, композициям, носителям 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 другой проблемы 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 по отношению к человеку. В контексте настоящего описания и прилагаемой формулы изобретения "фармацевтически приемлемый наполнитель" включает как один, так и более одного таких наполнителей.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению 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), чрескожное (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, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или гидросульфит натрия; хелатообразующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как цитраты или фосфаты, и средства для корректировки тоничности, такие как натрия хлорид или декстроза. Значение pH можно регулировать с помощью кислот или оснований, 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.

Соединение или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить субъекту с помощью множества хорошо известных способов, применяемых на сегодняшний день для химиотерапевтического лечения. Например, для лечения рака (видов рака) соединение по настоящему изобретению можно вводить путем инъекции непосредственно в опухоль, водить путем инъекции 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 на-

столько высокой, чтобы вызывать неприемлемые побочные эффекты. Стадию состояния заболевания (например, онкологическое заболевание, предраковое состояние и т.п.) и здоровье пациента следует тщательно контролировать во время и в течение целесообразного периода времени после лечения.

Используемый в данном документе термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству фармацевтического средства для лечения, облегчения или предупреждения выявленного заболевания или состояния или для проявления обнаруживаемого терапевтического или ингибирующего 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, природы и выраженности состояния, а также выбранного для введения терапевтического средства. Терапевтически эффективные количества для конкретной ситуации можно определять с помощью рутинного эксперимента, находящегося в рамках квалификации клинициста, и на его усмотрение. Согласно предпочтительному аспекту подлежащее лечению заболевание или состояние представляет собой рак. Согласно другому аспекту подлежащее лечению заболевание или состояние представляет собой нарушение, связанное с клеточной пролиферацией.

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.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения ингибиторы EZH2 вводят в дозе, составляющей 100-1600 мг/кг. Согласно вариантам осуществления доза составляет 100 мг/кг, или 200 мг/кг, или 400 мг/кг, или 800 мг/кг, или 1600 мг/кг. Согласно определенным вариантам осуществления дозу вводят один раз в день или два раза в день. Согласно вариантам осуществления ингибитор EZH2 представляет собой соединение А, и доза составляет 100 мг/кг, или 200 мг/кг, или 400 мг/кг, или 800 мг/кг, или 1600 мг/кг два раза в день. Согласно предпочтительному варианту осуществления ингибитор EZH2 представляет собой соединение А, и доза составляет 800 мг/кг два раза в день.

Для обеспечения достаточных уровней активного средства (средств) или для поддержания требуемого эффекта дозировку и способ введения регулируют. Факторы, которые могут быть приняты во внимание, включают тяжесть течения заболевания, общее состояние здоровья субъекта, возраст, вес и пол субъекта, рацион, время и частоту введения, взаимодействие (взаимодействия) 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 по настоящему изобретению, 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 способом с помощью одного или нескольких фармацевтически приемлемых носителей, содержащих наполнители и/или вспомогательные вещества (или оба), 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, Парсиппани, Нью-Джерси) или забуференный фосфатом физиологический раствор (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной, и она должна быть текучей до такой степени, чтобы обеспечивалась возможность введения через шприц. Она должна быть стабильной в условиях изготовления и хранения и должна быть защищена от загрязнения 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 среду-носитель, 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 и какой-либо требуемый ингредиент 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. С целью введения терапевтического средства для перорального применения активное соединение можно включать 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 связывающие средства или вспомогательные материалы могут быть включены в качестве части композиции. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т.п. могут содержать любой из следующих ингредиентов или соединений аналогичной природы: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь 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 Sterotes; вещество, способствующее скольжению, такое как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизатор, такой как мята перечная, метилсалицилат или апельсиновая вкусоароматическая 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 чрескожным путем. Для трансмукозального или чрескожного 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, соли желчных кислот и производные фусидовой кислоты. Трансмуккозальное введение можно осуществлять с помощью назального спрея или суппозитория. В случае чрескожного 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 имплантатов и систем 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 очевидны специалисту в данной области. Материалы также могут быть получены коммерчески от Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc. Liposomal. 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 данной области, например, описанными в патенте США № 4522811.

Особенно предпочтительным является составление композиции для перорального или парентерального применения в виде стандартной лекарственной формы для простоты введения и однородности дозирования. Используемая в данном документе стандартная лекарственная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим для однократных дозировок, вводимых субъекту, подлежащему лечению; при этом каждая единица содержит заданное количество активного соединения, рассчитанное с учетом получения требуемого терапевтического эффекта, в сочетании с требуемым фармацевтическим носителем. Спецификация для стандартных лекарственных форм по настоящему изобретению определяется и непосредственно зависит от индивидуальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, которого необходимо достичь.

В контексте терапевтического применения дозировки фармацевтических композиций, применяемых в соответствии с настоящим изобретением, варьируют в зависимости от средства, возраста, веса и клинического состояния пациента, получающего лечение, и опыта и решения клинициста или практикующего врача, назначающих терапию, 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, а также предпочтительно результата в виде полной регрессии рака. Дозировки могут находиться в диапазоне от приблизительно 0,01 мг/кг в день до приблизительно 5000 мг/кг в день. Согласно предпочтительным аспектам дозировки могут находиться в диапазоне от приблизительно 1 мг/кг в день до приблизительно 1000 мг/кг в день. Согласно определенному аспекту доза будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,1 мг/день до приблизительно 50 г/день, от прибли-

тельно 0,1 мг/день до приблизительно 25 г/день, от приблизительно 0,1 мг/день до приблизительно 10 г/день, от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 3 г/день или от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 1 г/день, в виде однократных, дробных или непрерывных доз (каждая доза может быть отрегулирована 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. Используемый в данном документе 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 введению.

Соединения по настоящему изобретению могут дополнительно образовывать соли.

Используемые в данном документе "фармацевтически приемлемые соли" относятся к солям соединений по настоящему изобретению, 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, бикарбонатной углекислоты, углекислоты, лимонной, этилендиаминтетрауксусной, этионовой, 1,2-этансульфоновой, fumarовой, глюкогептоновой, глюконовой, глутаминовой, гликолевой, гликолиларсаниловой, гексилрезорциновой, гидрабиновой, бромистоводородной, соляной, йодистоводородной, гидроксималеиновой, гидроксинафтойной, изэтионовой, молочной, лактобионовой, лаурилсульфоновой, малеиновой, яблочной, миндальной, метансульфоновой, напсиловой, 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-гидроксибензоил)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 щелочноземельного металла или ион алюминия, либо взаимодействует с органическим основанием, таким как этаноламин, диэтиламин, триэтиламин, трометамин, N-метилглюкамин и т.п.

Соединения или их фармацевтически приемлемые соли, сольваты или полиморфы вводят пероральным, назальным, чрескожным, легочным, ингаляционным, трансбуккальным, 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, включающих тип, вид, возраст, вес, пол и медицинское состояние пациента; тяжесть состояния, подлежащего лечению, путь введения, функцию 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 прогрессирования состояния.

Методики составления и введения раскрытых в настоящем изобретении 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 изобретения становятся очевидными из различных примеров. Представленные примеры иллюстрируют различные компоненты и методологию, полезные при применении на практике 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 схемах синтеза, описанных в данном документе, соединения могут быть изображены в одной конкретной конфигурации с целью упрощения. Такие конкретные конфигурации не должны рассматриваться ни как ограничивающие настоящее изобретение тем или иным изомером, таутомером, региоизомером или стереоизомером, ни как исключаящие смеси изомеров, таутомеров, региоизомеров или стереоизомеров.

Дополнительные соединения, подходящие для способов по настоящему изобретению, а также фармацевтические композиции на их основе и их пути применения описаны в документах WO12/142504 и WO12/142513, содержание каждого из которых включено в данный документ во всей своей полноте с помощью ссылки.

Посттрансляционная модификация гистоновых белков и АТФ-зависимое ремоделирование хроматина являются ключевыми процессами для регуляции точности нормальной генной экспрессии. При раке белки, вовлеченные в эти процессы, такие как комплексы PRC2 и SWI/SNF, зачастую генетически изменены. Важно отметить, что эти два комплекса в обычных условиях конкурируют друг с другом за связывание и воздействие на хроматин; при этом генетические изменения могут обеспечивать нарушение равновесия в данном антагонизме. Например, INI1 представляет собой субъединицу комплекса SWI/SNF, которая отсутствует почти во всех рабдоидных опухолях, что обуславливает онкогенную зависимость в метилтрансферазе PRC2-EZH2, при этом модели рабдоидной опухоли чувствительны к низкомолекулярным ингибиторам EZH2. В синовиальной саркоме, другом типе опухоли, дефицитной по INI1, рекуррентная хромосомная транслокация приводит к слиянию гена SS18 (субъединица ремоделирующего хроматин комплекса SWI/SNF) в хромосоме 18 с одним из трех родственных генов в X-хромосоме, SSX1, SSX2 и реже SSX4. Это приводит к экспрессии онкогенного слитого белка SS18-SSX, который связывается с комплексом SWI/SNF, замещая как SS18 дикого типа, так и онкосупрессор INI1, которые затем подвергаются деградации. Это приводит к аномальной генной экспрессии и, в конечном счете, к развитию рака.

В данном документе описаны данные, показывающие, что соединение А (также упоминаемое в данном документе как E7438 или EPZ-6438), которое представляет собой тестируемый на ранних стадиях клинических испытаний, селективный и биодоступный при пероральном приеме низкомолекулярный ингибитор ферментативной активности EZH2, индуцирует антипролиферативную активность в доклинических моделях синовиальной саркомы как в виде отдельного средства, так и в комбинации с химиотерапией. Соединение индуцирует дозозависимое ингибирование клеточного роста и клеточную гибель, в особенности, в линии клеток синовиальной саркомы (которая является положительной в отношении слияния SS18-SSX1) *in vitro*. Обработка мышей либо с моделью ксенотрансплантата на основе клеточной линии, либо моделями двух ксенотрансплантатов, полученных от пациентов (PDX), приводит к дозозависимому ингибированию роста опухоли с соответствующим снижением уровней триметилирования EZH2-специфичного субстрата, лизина 27 в гистоне H3. Эти данные демонстрируют зависимость разнообразностей синовиальной саркомы, положительных по SS18-SSX1, в отношении ферментативной активности EZH2 в ксенотрансплантатных моделях и указывает на потенциальную полезность лекарственных средств, оказывающих целенаправленное воздействие на EZH2, при данном генетически определенном раке (видах рака) с соответствующим биомаркером.

Все публикации и патентные документы, процитированные в данном документе, включены в данный документ с помощью ссылки, как если бы каждая (каждый) из такой публикации или документа была (был) конкретно и отдельно указана (указан) как включенная (включенный) в данный документ 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.

Примеры

Пример 1. Уровни белков EZH2, INI1, SS18-SSX1 и контроля нагрузки β-актина в различных линиях клеток.

Клетки синовиальной саркомы человека HS-SY-II и SW982, клетки рабдомиосаркомы человека RD, клетки рабдоидной опухоли человека G401 и эмбриональные клетки почки человека HEK293 подвергали лизису с применением 1x буфера для лизиса клеток (#9803, Cell Signaling Technology, Данверс, Массачусетс), содержащего 1x смесь ингибиторов протеаз (Thermo Scientific, Рокфорд, Иллинойс). Образцы под-

вергали действию ультразвука и осветляли путем центрифугирования при 10000×g в течение 10 мин при 4°C. Содержание белка в лизатах определяли с применением набора для анализа белков с помощью BCA (Thermo Scientific). Раствор образца получали путем смешивания 2х загрузочного буфера (β-ME для обработки образца с Tris SDS, Cosmo bio, Токио, Япония) и воды с клеточным лизатом и инкубировали в течение 5 мин при 95°C. Вестерн-блот-анализ осуществляли следующим образом. Растворы образцов разделяли в полиакриламидном геле с градиентом 2-15% в случае SS18 и EZH2 или в полиакриламидном геле с градиентом 4-20% в случае INI1 и β-актина в восстанавливающих условиях и переносили на нитроцеллюлозные мембраны (GE Healthcare, Вокеша, Висконсин). Блоты блокировали в течение 1 ч при комнатной температуре с применением следующих блокирующих растворов: 1х раствор Block Ace (Yukijirushi, Саппоро, Япония) в случае EZH2, INI1 и SS18, и TBS, содержащий 0,5% Tween 20 и 5% обезжиренного молока, в случае р-актина. Блоты инкубировали с первичными антителами в течение ночи при 4°C при следующих условиях разведения: антитело к EZH2 (07-689, Millipore, Биллерика, Массачусетс) в разведении 1:1000 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 0,1х раствор Block Ace, антитело к INI1 (#8745, Cell Signaling Technology) в разведении 1:1000 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 0,1х раствор Block Ace, антитело к SS18 (sc-365170, Santa Cruz, Санта-Круз, Калифорния) в разведении 1:500 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 0,1х раствор Block Ace, и антитело к р-актину (A5441, Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури) в разведении 1:2000 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 5% обезжиренного молока. После промывки с помощью TBS, содержащего 0,5% Tween 20, блоты дополнительно инкубировали с пероксидазой хрена, конъюгированной с антителом к IgG кролика (Cell Signaling Technology) или с антителом к IgG мыши (Cell Signaling Technology), при комнатной температуре в течение 60 мин при следующих условиях разведения: разведение 1:1000 антитела к IgG кролика в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 0,1х раствор Block Ace, в случае EZH2, INI1 и SS18, и разведение 1:2000 антитела к IgG мыши в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 5% обезжиренного молока, в случае β-актина. После тщательной промывки с помощью TBS, содержащего 0,5% Tween 20, блоты проявляли с применением хемилюминесцентного субстрата HRP для вестерн-блоттинга Immobilon (Millipore). Иммунореактивные полосы визуализировали посредством хемилюминесценции с применением люминесцентного анализатора изображений LAS-3000 (Fuji Film, Токио, Япония). Иллюстративные изображения результата вестерн-блоттинга показаны на фиг. 1. Экспрессия SS18-SSX1 была подтверждена в клетках HS-SY-II. В данной линии клеток также наблюдалась понижающая регуляция INI1. Однако в другой линии синовиальной саркомы SW982 слитый белок не экспрессировался, при этом она характеризовалась аналогичной экспрессией INI1, что и клетки RD и HEK293.

Пример 2. Уровни триметилирования и диметилирования H3K27 в различных линиях клеток.

Клетки синовиальной саркомы человека HS-SY-II и SW982, клетки рабдомиосаркомы человека RD, клетки рабдоидной опухоли человека G401, клетки диффузной В-крупноклеточной лимфомы человека WSU-DLCL2 и OCI-LY19 и эмбриональные клетки почки человека HEK293 суспендировали в 500 мкл лизирующего буфера (10 ммоль/л MgCl₂, 10 ммоль/л Tris-HCl, 25 ммоль/л KCl, 1% Triton X-100, 8,6% сахарозы и 1х смесь ингибиторов протеаз).

После 5 мин инкубации на льде ядра собирали путем центрифугирования при 600×g в течение 5 мин при 4°C и промывали один раз с помощью ледяного PBS. После центрифугирования при 600×g в течение 5 мин при 4°C осадок ресуспендировали в 100 мкл 0,2 моль/л ледяной серной кислоты в течение 1 ч с применением вортекса несколько раз в течение инкубации. Надосадочную жидкость осветляли путем центрифугирования при 10000×g в течение 10 мин при 4°C и к собранной надосадочной жидкости добавляли 1 мл ледяного ацетона. Гистоны осаждали при -20°C в течение 1 ч, выделяли осадок путем центрифугирования при 10000×g в течение 10 мин при 4°C и ресуспендировали в 100 мкл воды. Количество экстрагированных гистонов определяли с применением набора для анализа белков с помощью BCA (Pierce). Раствор образца получали путем смешивания 2х загрузочного буфера (β-ME для обработки образца с Tris SDS, Cosmo bio) и воды с клеточным лизатом и инкубировали в течение 5 мин при 95°C. Вестерн-блот-анализ осуществляли следующим образом. Растворы образцов разделяли в полиакриламидном геле с градиентом 15-25% в восстанавливающих условиях и переносили на нитроцеллюлозные мембраны (GE Healthcare, Вокеша, Висконсин). Блоты блокировали в течение 1 ч при комнатной температуре с применением следующих блокирующих растворов: 1х раствор Block Ace в случае H3K27me3 и H3K27me2 и TBS, содержащий 0,5% Tween 20 и 5% обезжиренного молока, в случае общего гистона H3. Блоты инкубировали с первичными антителами в течение ночи при 4°C при следующих условиях разведения: антитело к H3K27me3 (#9733, Cell Signaling Technology) и антитело к H3K27me2 (#9728, Cell Signaling Technology) в разведении 1:1000 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 0,1х раствор Block Ace, и антитело к общему гистону H3 (ab1791, Abcam, Кембридж, Массачусетс) в разведении 1:2000 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 5% обезжиренного молока. После промывки с помощью TBS, содержащего 0,5% Tween 20, блоты дополнительно инкубировали с пероксидазой хрена, конъюгированной с антителом к IgG кролика (Cell Signaling Technology), при комнатной температуре в течение 60 мин в разведении 1:1000 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 0,1х раствор Block Ace, в случае H3K27me3 и H3K27me2 или в разведении 1:2000 в TBS, содержащем 0,5% Tween 20 и 5% обезжиренного молока, в случае обще-

го гистона H3. После тщательной промывки с помощью TBS, содержащего 0,5% Tween 20, блоты проявляли с применением хемилюминесцентного субстрата HRP для вестерн-блоттинга Immobilon (Millipore). Иммунореактивные полосы визуализировали посредством хемилюминесценции с применением люминесцентного анализатора изображений LAS-3000 (Fuji Film, Токио, Япония). Иллюстративные изображения результата вестерн-блоттинга показаны на фиг. 2А. Сигналы от полос белка количественно определяли с помощью программного обеспечения Multi Gauge версии 3.0 (Fuji Film). Приведена серия графиков, демонстрирующих количественное соотношение H3K27me3/общий H3 (фиг. 2В), H3K27me2/общий H3 (фиг. 2С) или H3K27me3/H3K27me2 (фиг. 2D) в различных линиях клеток. В отличие от высокого уровня H3K27me3/H3K27me2, наблюдаемого в WSU-DLCL2 с мутацией EZH2 в Y646, HS-SY-II не характеризовалась высоким уровнем H3K27me3/H3K27me2.

Пример 3. Анализ долговременной пролиферации прикрепленных к субстрату линий клеток.

Протокол.

Посев в 96-луночные планшеты для анализа в течение 7 дней. Для получения каждой прикрепленной к субстрату линии клеток клетки высевали в объеме 100 мкл в 96-луночные планшеты, подлежащие трехкратной обработке, либо вечером (с обработкой соединением на следующий день), либо утром (с обработкой соединением вечером) с обеспечением возможности прикрепления клеток к планшетам перед осуществлением обработки соединением.

Разделение в 6-луночные планшеты для анализа в течение 7-14 дней. В каждую лунку 6-луночного планшета высевали 2 мл клеток при надлежащей плотности. Надлежащую плотность рассчитывали из кривой роста в 96-луночном планшете путем умножения плотности в 96 лунках на 30. Коэффициент 30 получен из значения площади роста в 6-луночном планшете, деленного на значение площади роста в 96-луночном планшете ($9,5 \text{ см}^2 / 0,32 \text{ см}^2 = 29,7$, округленное до 30), что соответствует 30-кратному увеличению площади поверхности в 6-луночном планшете по сравнению с 96-луночным.

День 0. Обработка соединением или DMSO путем удаления среды и добавления назад либо 100 мкл (в случае 96-луночного планшета), либо 2 мл (в случае 6-луночного планшета) среды с надлежащим разбавлением соединения/DMSO. Табл. 1 включает пример схемы с 96-луночным планшетом. Планшеты инкубировали в течение 96 ч.

Таблица 1

A	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1											
B	Необра- ботанные	10	2,5	0,63	0,16	0,04	0,01	0,0024	0,0006	DMSO	
C	Необра- ботанные	10	2,5	0,63	0,16	0,04	0,01	0,0024	0,0006	DMSO	
D	Необра- ботанные	10	2,5	0,63	0,16	0,04	0,01	0,0024	0,0006	DMSO	
E		Соединение	Разведения	---	---	---	---	---	>		
F											
G											
H											

Прочтение одного 96-луночного планшета с применением CellTiter-Glo® для получения показателей в день 0 (смена среды не обязательна для этого планшета).

День 4. Прочтение одного 96-луночного планшета с применением CellTiter-Glo® для получения показателей в день 4 (смена среды перед получением показателей не обязательна для этого планшета). Замена сред в 96-луночных планшетах и 6-луночных планшетах свежими средами, содержащими соединение, в день 4.

День 7. Прочтение последнего 96-луночного планшета с применением CellTiter-Glo®.

Подсчет в отдельных лунках 6-луночных планшето и пересев клеток в изначальной плотности посева в 96-луночные планшеты, как описано выше.

Повторение стадий, выполняемых в дни 0-7, для дней 7-14 анализа пролиферации.

В частности, примерно за 12 ч до обработки соединением клетки HS-SY-II или SW982 высевали в 6-луночные планшеты при плотности 24000 клеток/лунка и 7500 клеток/лунка соответственно. В день 0 клетки обрабатывали либо DMSO, либо соединением, начиная от 10 мкмоль/л и снижаясь до четырехкратных разведений. В день 7 клетки в 6-луночных планшетах подвергали действию трипсина, подсчитывали с помощью автоматизированного устройства для подсчета клеток TC10 (Bio-Rad, Ричмонд, Калифорния) и пересевали в трех повторах в 96-луночные планшеты при плотности 800 клеток/лунка и 250 клеток/лунка для HS-SY-II и SW982 соответственно. Клеткам давали возможность прикрепиться к планшету в течение ночи и обрабатывали либо DMSO, либо соединением, как в день 0. В дни 0, 7, 11 и 14 определяли жизнеспособность клеток с помощью набора для анализа жизнеспособности клеток по люминесценции CellTiter-Glo® (Promega) с применением многофункционального ридера Envision 2103 (Perkin-Elmer, Уэллсли, Массачусетс). Соединение/среду заменяли новыми в дни 4 и 11. Соотношения измеренных значений в дни 7, 11 и 14 и измеренных значений в день 7 применяли для построения графика, демонстрирующего пролиферацию со дня 7 по день 14, и для расчета значений IC_{50} в день 14. Репрезентативные графики, демонстрирующие результаты экспериментов с применением соединения E и соединения A (также упоминаемых в данном документе как E7438 и EPZ-6438), показаны на фиг. 3A, 3B и 3C, 3D соответственно. Клетки HS-SY-II характеризовались высокой чувствительностью к соединению E и соединению A ко 14 дню анализа долговременной пролиферации, тогда как клетки SW982 не характеризовались.

Пример 4. Обработки соединением A *in vitro* и *in vivo*.

In vitro клетки HS-SY-II были высокочувствительными к соединению A и характеризовались дозозависимым ингибированием пролиферации клеток. Однако клетки SW982 были нечувствительными к соединению A (фиг. 5A и 5B).

Снижение уровня H3K27me3 наблюдали в обеих линиях клеток в результате обработки ингибитором EZH2 (фиг. 6A), и значения IC_{50} были сопоставимы друг с другом (фиг. 6B). Это дает основание предположить, что изменения количества гистонов в результате обработки ингибитором EZH2 не зависели от наличия слитого белка SS18-SSX.

ПК-значения и изменения PD анализировали в мышинной ксенотрансплантатной модели HS-SY-II. Концентрации соединения A в плазме крови определяли за 5 мин до введения последней дозы и через 3 ч после него. Наблюдали дозозависимое влияние (фиг. 7A). В тоже время также наблюдали дозозависимое снижение уровней H3K27me3 в опухолевых тканях (фиг. 7B). В табл. 2 и 3 представлены результаты статистических анализов относительно данных, показанных на фиг. 7B.

Таблица 2

Число семейств	1							
Число сравнений на семейство	3							
Альфа	0,05							
Тест множественного сравнения Даннета	Разность средних	95% CI для разности	Является ли значимым?	Сводка				
Среда-носитель в сопоставлении с E7438, 125 мг/кг	0,3	0,1681-0,4319	Да	****				
Среда-носитель в сопоставлении с E7438, 250 мг/кг	0,45	0,3101-0,5099	Да	****				
Среда-носитель в сопоставлении с E7438, 500 мг/кг	0,696	0,5641-0,8279	Да	****				
Подобности теста	Среднее 1	Среднее 2	Разность средних	SE разности	n1	n2	q	DF
Среда-носитель в сопоставлении с E7438, 125 мг/кг	1	0,7	0,3	0,05052	5	5	5,938	15
Среда-носитель в сопоставлении с E7438, 250 мг/кг	1	0,55	0,45	0,05359	5	4	8,398	15
Среда-носитель в сопоставлении с E7438, 500 мг/кг	1	0,304	0,696	0,05052	5	5	13,78	15

Таблица 3

Конечный тест для линейного тренда	
Наклон	-0,1119
R-квадрат	0,9104
P-значения	< 0,0001
Сводка P-значений	****
Является ли линейный тренд значимым? (P<0,05)	Да

Изменения генной экспрессии в результате обработки соединением А или EPZ-011989 (т.е. соединением С) анализировали в культурах HS-SY-II и SW982 *in vitro*. Сообщалось, что комплекс PRC2 рекрутируется слитым белком SS18-SSX посредством TLE1 и репрессирует гены, являющиеся мишенями для ATF2 (EGR1, ATF3, MEIS2 и CDKN2A) (Cancer Cell 21, 333-347, 2012). В данном случае изучали уровни экспрессии EGR1, ATF3 и CDKN2A. Зависимое от дозы и времени повышение экспрессии CDKN2A наблюдали в HS-SY-II, тогда как в SW982 локус CDKN2A, как известно, был подвержен гомозиготной делецией (фиг. 8). Экспрессия ATF3 и EGR1 повышалась в результате обработки соединением А и EPZ-011989 в HS-SY-II, но не в SW982. Таким образом, соединение А индуцировало изменения экспрессии генов, вовлеченных в патогенез синовиальной саркомы.

В табл. 4 представлены результаты статистического анализа относительно данных, показанных на фиг. 8.

Таблица 4

			0 мкМ по сравне нию с	день 2	день 4	день 7
SW982	E7438	ATF3	0,1 мкМ	ns	ns	ns
			1 мкМ	ns	ns	ns
		EGR1	0,1 мкМ	ns	ns	ns
			1 мкМ	ns	ns	ns
	EPZ011989	ATF3	0,1 мкМ	ns	ns	ns
			1 мкМ	ns	ns	ns
		EGR1	0,1 мкМ	*	**	ns
			1 мкМ	ns	ns	*
HS-SY-II	E7438	ATF3	0,1 мкМ	ns	ns	ns
			1 мкМ	ns	*	**
		EGR1	0,1 мкМ	ns	ns	ns
			1 мкМ	ns	ns	**
		CDKN2A	0,1 мкМ	ns	ns	ns
			1 мкМ	**	****	****
	EPZ01198g	ATF3	0,1 мкМ	ns	**	ns
			1 мкМ	*	*	**
		EGR1	0,1 мкМ	ns	**	ns
			1 мкМ	ns	**	**
		CDKN2A	0,1 мкМ	ns	****	ns
			1 мкМ	***	****	****

Звездочки означают значимые изменения по сравнению с уровнями в группах, обработанных 0 мкМ.

Изменения генной экспрессии в результате обработки соединением А также анализировали в ксенотрансплантатной модели HS-SY-II. Экспрессия CDKN2A существенно повышалась у мышей, которым вводили 500 мг/кг соединения А (фиг. 9). В этом случае соединение А также индуцировало изменения экспрессии генов, вовлеченных в патогенез синовиальной саркомы.

На фиг. 10А-1С показаны средние значения объемов опухолей *in vivo* для бестимусных "голых" мышей с ксенотрансплантатами HS-SY-II. В первом исследовании мышам вводили либо среду-носитель (перорально в течение 28 дней или *iv* в день 1 и день 22), либо соединение А (перорально: 125 мг/кг, 250 мг/кг или 500 мг/кг в течение 28 дней), либо доксорубин (*iv*: 10 мг/кг, день 1 и день 22); при этом объемы опухоли измеряли дважды в неделю (фиг. 10А и 10В). Во втором исследовании мышам вводили либо среду-носитель (перорально в течение 28 дней), либо соединение А (перорально: 250 мг/кг или 500 мг/кг в течение 28 дней), либо доксорубин (*iv*: 10 мг/кг в день 1 и день 22), либо комбинацию доксорубина (*iv*: 10 мг/кг в день 1 и день 22) и соединения А (перорально: 250 мг/кг в течение 28 дней) (фиг. 10С). Опухоли от животных из второго исследования извлекали в день 28 (через 3 ч. после введения последней дозы) и подвергали анализу в отношении H3K27me3 с применением ELISA (фиг. 10D) или ИHC по маркеру пролиферации Ki67 (фиг. 10E).

Не смотря на чувствительность к соединению А в клеточной культуре 2D, ксенотрансплантаты на основе линии клеток HS-SY-II характеризовались дозозависимым повышением объема опухоли в мышинной ксенотрансплантатной модели; при этом изучали механизм, лежащий в основе данного наблюдения.

На фиг. 11А и 11С показаны средние значения объемов опухолей *in vivo* для бестимусных "голых" мышей с одним из двух разных PDX опухолей, характерных для синовиальной саркомы. На фиг. 11В и 11D показана выживаемость в процентах для мышей с PDX. Мышам вводили либо среду-носитель (перорально в течение 35 дней), либо соединение А (перорально: 125 мг/кг, 250 мг/кг или 500/400 мг/кг в течение 35 дней), либо доксорубин (*iv*: 3 мг/кг, один раз в неделю в течение 3 недель). На фиг. 11А и 11В показаны данные, полученные для мышей с PDX от субъекта мужского пола возрастом 57 лет, имеющего веретенноклеточную саркому высокой степени злокачественности. На фиг. 11С и 11D показаны данные, полученные для мышей с PDX от субъекта женского пола возрастом 16 лет. В отличие от ксенотрансплантатов на основе линии клеток HS-SY-II PDX у мышей характеризовались дозозависимым снижением объема опухоли *in vivo*.

На фиг. 12А и 12В показан массив данных, полученных для PDX опухолей, характерных для синовиальной саркомы, от подгрупп мышей, которые извлекали в день 35 и анализировали с помощью анализа последовательности РНК. На фиг. 12А приведены данные, полученные для мышей с PDX от субъекта мужского пола возрастом 57 лет; на фиг. 2В приведены данные, полученные для мышей с PDX от субъекта женского пола возрастом 16 лет. Экспрессия генов HLA, Fas и KLRD1 была повышенной у мышей,

обработанных с помощью 400 мг/кг соединения А, по сравнению с экспрессией у мышей, обработанных средой-носителем. На фигуре обозначены низкий уровень экспрессии и обозначен высокий уровень экспрессии.

Материалы и способы

Культура клеток.

HS-SY-II (RCB2231, центр биоресурсов RIKEN) и SW982 (HTB-93, ATCC) выращивали в RPMI1640 с 10% FBS в условиях 37°C, 5% CO₂. Клетки HS-SY-II характеризовались наличием слитого SS18-SSX1, тогда как клетки SW982 имели SS18 дикого типа.

Изменения метилирования H3K27, индуцированные соединением А.

Клетки HS-SY-II и SW982 обрабатывали либо DMSO, либо соединением А, начиная от 40 нмоль/л и снижаясь до четырехкратных разведений, в течение 96 ч. Клетки промывали ледяным PBS, собирали с помощью скребка для клеток и подвергали лизису с помощью 100 мкл буфера для экстракции ядер (10 ммоль Tris-HCl, 10 ммоль MgCl₂, 25 ммоль KCl, 1% Triton X-100, 8,6% сахарозы и 1х смесь ингибиторов протеаз Halt (18 61281, Thermo Scientific)). Ядра собирали путем центрифугирования при 600 g в течение 5 мин при 4°C и промывали один раз с помощью ледяного PBS. Надосадочную жидкость удаляли и гистоны экстрагировали в течение одного часа с помощью 100 мкл 0,4 н. ледяной серной кислоты. Экстракты освещали путем центрифугирования при 10000 g в течение 10 мин при 4°C и переносили в новую микроцентрифужную пробирку, содержащую 1 мл ледяного ацетона. Гистоны осаждали при -2,0°C в течение ночи, выделяли осадок путем центрифугирования при 10000 g в течение 10 мин и ресуспендировали в 100 мкл воды. Количество гистонов определяли с применением набора для анализа белков с помощью BCA (23225, Pierce). Планшеты Immulon 4HBX (3855, Thermo Scientific) покрывали разведенными гистонами в течение ночи и осуществляли ELISA. Вкратце, после блокирования с помощью PBS, содержащего 0,05% Tween 20 и 2% бычьего сывороточного альбумина (BSA), планшеты инкубировали с антителом к H3K27me3 (#9733, Cell Signaling Technology) или антителом к общему гистону H3 (AB1791, Abcam). Далее планшеты инкубировали с пероксидазой хрена, конъюгированной с антителом к IgG кролика (#7074, Cell Signaling Technology), с последующей инкубацией с субстратом TMB (TMB-0100-01, BioRx Laboratories). Затем интенсивность проявленного цвета в лунках измеряли с применением планшетного спектрофотометра (SpectraMax 250, Molecular Devices) при 450 нм (опорная длина волны 650 нм). Уровни H3K27me3 регулировали по уровню общего гистона H3 и выражали в виде кратности изменения относительно контроля DMSO.

На фиг. 6А показан репрезентативный график. Диапазон значений IC₅₀ (два независимых эксперимента), показанный на фиг. 6В, определяли с помощью GraphPad Prism (программное обеспечение GraphPad). Изменения количества гистонов в качестве маркера были сопоставимы между HS-SY-II и SW982, при этом изменения не зависели от присутствия слитого белка SS18-SSX.

PK-значения и изменения PD в ксенотрансплантатной модели HS-SY-II.

Клетки HS-SY-II собирали в середине логарифмической фазы роста и ресуспендировали в сбалансированном солевом растворе Хенкса с 50% матригеля (BD Biosciences). "Голым" мышам Balb/C (Charles River Laboratories, Япония) подкожно вводили 1x10⁷ клеток (0,1 мл суспензии клеток) в правый бок. Мышей с опухолями объемом примерно 200 мм³ (через 31 день после инъекции) разделяли на группы обработки по подобным средним значениям объемов опухоли. Соединение А или среду-носитель (0,5% MC+0,1% Tween-80 в воде) вводили перорально через зонд в определенных дозах два раза в день в течение 7 дней. Каждая доза была доставлена в объеме 0,2 мл/20 г мышь (10 мл/кг), и отрегулирована с поправкой на последний зарегистрированный вес для отдельных животных. Образцы периферической крови отбирали у мышей, обработанных соединением А, примерно за 5 мин до и через 3 ч после введения последней дозы. После получения образцов плазмы крови в результате центрифугирования проводили анализы концентраций соединения А в плазме крови с помощью способа жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии (LC/MS/MS). Для количественного определения соединения А применяли систему UPLC (Acquity, Waters), оснащенную масс-спектрометром (Quattro premier, MICROMASS). Концентрации приведены в графическом виде (n=5) на фиг. 7А. Каждая планка представляет собой среднее значение концентрации в плазме крови в каждой группе.

Образцы опухолей отбирали у мышей, используемых в анализе PK-значений и изменений PD, примерно через 3 ч после введения последней дозы. Образцы опухолей хранили с применением реагента RNeasy (AM7020, Life technologies). Проводили выделение общей РНК и обратную транскрипцию с применением набора RNeasy Mini Kit (74104, Qiagen) и набора для высокоэффективной обратной транскрипции кДНК (4368814, Life technologies) в соответствии с инструкциями производителя. Образцы кДНК применяли в ПЦР в режиме реального времени, как описано выше. Уровни экспрессии регулировали по GAPDH и выражали в виде кратности изменения относительно контроля среды-носителя (фиг. 9).

Что касается фиг. 10D, опухоли подвергали быстрой заморозке в жидком азоте. Замороженные образцы опухолей разрезали на кусочки по 20 мг, и помещали в 500 мкл ледяного буфера для экстракции ядер (10 ммоль Tris-HCl, 10 ммоль MgCl₂, 25 ммоль KCl, 1% Triton X-100, 8,6% сахарозы и 1х смесь ингибиторов протеаз Halt (1861281, Thermo Scientific)), и подвергали гомогенизации с применением ручно-

го микрогомогенизатора. Ядра собирали путем центрифугирования при 600 g в течение 5 мин при 4°C и промывали один раз с помощью ледяного PBS. Надосадочную жидкость удаляли и гистоны экстрагировали в течение одного часа с помощью 100 мкл 0,4 н. ледяной серной кислоты. Экстракты осветляли путем центрифугирования при 10000 g в течение 10 мин при 4°C и переносили в новую микроцентрифужную пробирку, содержащую 1 мл ледяного ацетона. Гистоны осаждали при -20°C в течение ночи, выделяли осадок путем центрифугирования при 10000 g в течение 10 мин и ресуспендировали в 100 мкл воды. Количество гистонов определяли с применением набора для анализа белков с помощью BCA (23225, Pierce). Планшеты Immulon 4HBX (3855, Thermo Scientific) покрывали разведенными гистонами в течение ночи и осуществляли ELISA. Вкратце, после блокирования с помощью PBS, содержащего 0,05% Tween 20 и 2% бычьего сывороточного альбумина (BSA), планшеты инкубировали с антителом к H3K27me3 (#9733, Cell Signaling Technology) или антителом к общему гистону H3 (AB1791, Abcam). Далее планшеты инкубировали с пероксидазой хрена, конъюгированной с антителом к IgG кролика (#7074, Cell Signaling Technology), с последующей инкубацией с субстратом TMB (TMB-0100-01, BioRx Laboratories). Затем интенсивность проявленного цвета в лунках измеряли с применением планшетного спектрофотометра (SpectraMax 250, Molecular Devices) при 450 нм (опорная длина волны 650 нм). Уровни H3K27me3 регулировали по уровню общего гистона H3 и выражали в виде кратности изменения относительно контроля среды-носителя. Значения приведены в графическом виде (n=6) на фиг. 10D. Каждая планка представляет собой среднее значение в каждой группе. Существенное снижение уровней H3K27me3 наблюдали в опухолях, полученных от мышей, которым вводили соединение А. Гистоны экстрагировали и определяли их количество, а также анализировали уровни H3K27me3, как описано выше. Уровни триметилирования H3K27 в опухоли приведены в графическом виде (n=5) на фиг. 7B. Каждая планка представляет собой среднее значение + SEM уровня триметилирования в каждой группе.

Изменения генной экспрессии в условиях *in vitro* после обработки соединением А.

Клетки HS-SY-II и SW982 обрабатывали ингибиторами EZH2 (соединением А или EPZ-011989) и собирали в определенные моменты времени. Осуществляли выделение общей РНК и синтез кДНК с применением набора TaqMan Gene Expression Cells-to-CT (4399002, Life technologies) в соответствии с протоколом производителя. Экспрессию ATF3, EGR1, CDKN2A и GAPDH анализировали с применением набора для анализов генной экспрессии TaqMan (Life technologies, 4331182) и зондов TaqMan (Hs00231069_m1, Hs00152928_m1, Hs00233365_m1 и Hs99999905_m1 соответственно). Уровни экспрессии регулировали по GAPDH и выражали в виде кратности изменения относительно контроля DMSO (фиг. 8).

Изменения генной экспрессии в условиях *in vivo* после обработки соединением А.

Образцы опухолей отбирали у мышей, используемых в анализе РК-значений и изменений PD, примерно через 3 ч после введения последней дозы. Образцы опухолей хранили с применением реагента RNeasy Lysis Buffer (AM7020, Life technologies). Проводили выделение общей РНК и обратную транскрипцию с применением набора RNeasy Mini Kit (74104, Qiagen) и набора для высокоэффективной обратной транскрипции кДНК (4368814, Life technologies) в соответствии с инструкциями производителя. Образцы кДНК применяли в ПЦР в режиме реального времени, как описано выше. Уровни экспрессии регулировали по GAPDH и выражали в виде кратности изменения относительно контроля среды-носителя (фигура 9). Дополнительно или альтернативно, образцы общей РНК выделяли из замороженных образцов опухоли. Набор для получения образцов РНК TruSeq™ (Illumina) применяли для создания библиотеки кДНК для парноконцевого секвенирования на Illumina HiSeq (подробности описаны в руководстве к набору для получения образцов РНК TruSeq от Illumina). С помощью стандартного набора для генерации кластеров (Standard Cluster Generation Kit v5) библиотеки кДНК связывали с поверхностью проточной ячейки. Парноконцевые чтения от ~50 млн. кластеров на образец получали с применением набора TruSeq SBS на Illumina HiSeq.

Обработка данных секвенирования РНК.

Необработанные чтения, полученные в результате секвенирования, в формате FASTQ выравнивали относительно генома человека hg19, а также генома мыши mm10. Транскриптомный количественный анализ осуществляли с помощью программы RSEM v1.1.13 с применением транскриптома из базы данных известных генов UCSC KnownGene в качестве эталонного. Вычисление экспрессии в RSEM выполнялось с параметрами, оптимизированными для парноконцевого секвенирования 50x50 Illumina.

Анализ транскриптомных данных, полученных с помощью секвенирования PEK, для биологической интерпретации.

Анализ представленности групп генов (GSEA) осуществляли для сравнения двух образцов, обработанных соединением А или DMSO, для обеих моделей PDX при моделировании в 5 повторах с применением настольного программного обеспечения GSEA с поддержкой Java (версия 2.0.13, доступна в Интернете: iviv.broadinstitute.org/gsea/index.jsp). Полученные в RSEM данные подсчета уровней генов после нормализации применяли для ввода в GSEA. Пермутацию осуществляли с группой генов, а не с фенотипом для обеспечения небольшого объема выборки. Для сравнения пути KEGG, а также группы генов связывающего мотива транскрипционного фактора из MSigDB версии 4.0, доступного в интернете

(iviv.broadinstitute.org/gsea/msigdb/index.jsp), использовали для всех анализов GSEA.

Что касается фиг. 10Е, отобранные образцы опухоли подвергали фиксации в формалине с заливкой парафином. Получали парафиновые срезы, депарафинировали и обрабатывали их для ИHC, следуя общей процедуре в соответствии со способом с системой на основе полимеров (Envision, DAKO, Япония). Депарафинизированные срезы обрабатывали для демаскировки антигена путем автоклавирования в течение 20 мин при 121°C при давлении 2 атмосфер в растворе для демаскировки мишени (DAKO, разведенный до конечной концентрации 10%) и обрабатывали с помощью 3% раствора перекиси водорода в течение 5 мин для блокирования активности эндогенной пероксидазы. Обеспечивали реакцию коммерчески доступного первичного антитела с Ki-67 в течение примерно часа (мышинное моноклональное антитело к Ki-67 человека, DAKO, Япония, в разведении 1:50) при комнатной температуре. Следующие стадии выполняли с применением системы Envision, следуя инструкциям производителя, в том числе обработку вторичным антителом в течение 30 мин при комнатной температуре; при этом 3,3'-диаминобензидин применяли в качестве хромогена и гематоксилин в качестве контрастного красителя. Что касается фигуры 10Е, микроскопические препараты оцифровывали с применением сканера Aperio XT™. Оцифрованные микроскопические препараты анализировали с помощью программного обеспечения Aperio Image Scope™ с количественным определением процента положительных клеток. Количественное определение окрашенных с помощью ИHC Ki67 не показало изменений в отношении пролиферации клеток в группах обработки. Каждая планка представляет собой среднее значение в каждой группе. (Значимое изменение процента Ki67-положительных клеток не наблюдали во всех группах введения дозы).

Способы секвенирования РНК из образцов синовиальной саркомы.

Модели ксенотрансплантата, полученные от пациентов (PDX), CTG-0331 и CTG-0771 представляли собой установленные после небольшого количества пассажей модели Champions TumorGraft™, представляющие собой синовиальную саркому человека. Самкам мышей с ослабленным иммунитетом (Taconic; дефицитные по NCr) имплантировали с одной стороны в область бока фрагменты опухоли (5 мм x 5 мм x 5 мм), извлеченные у животных-доноров, при этом каждый имплантировали после определенного количества пассажей (CTG-0331 и CTG-0771 при P4). Когда опухоли достигали объема примерно 100-300 мм³, животных распределяли на основе объема опухоли в группы обработки и контроля и начинали вводить дозы. Среду-носитель (0,5% NaCMC и 0,1% Tween 80 в воде) или соединение А (500 мг/кг в случае CTG-0331 и 500 мг/кг со снижением до 400 мг/кг в день 17 в случае CTG-0771) вводили перорально BID в объеме дозы 10 мкл/г в течение 35 дней. Размер опухолей измеряли дважды в неделю. В день 35 не меньше 5 мышей с наибольшей массой опухоли подвергали эвтаназии для отбора опухолей через 3 ч после введения последней дозы и подвергали последних быстрой заморозке. Замороженные образцы опухолей (30 мг) от групп введения среды-носителя и наибольшей дозы соединения А перевозили для анализа экспрессии, обработки РНК и анализа последовательности РНК.

Полное раскрытие каждого патентного документа и научной статьи, связанных с данным документом, включено посредством ссылки для любых целей.

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 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

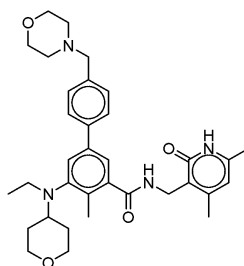
1. Способ лечения рака, включающий контактирование раковой клетки человека с некоторым количеством ингибитора EZH2, эффективным для увеличения экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) в раковой клетке, где раковая клетка содержит хромосомную транслокацию t(x;18)(p11.2;q11.2), которая приводит к образованию слитого гена SS18-SSX.

2. Способ лечения рака, включающий контактирование раковой клетки человека с некоторым количеством ингибитора EZH2, эффективным для увеличения экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) в раковой клетке, где функция и/или экспрессия INI1 в раковой клетке снижена.

3. Способ лечения рака, включающий контактирование раковой клетки человека с некоторым количеством ингибитора EZH2, эффективным для увеличения экспрессии главного комплекса гистосовместимости (МНС) в раковой клетке, где раковая клетка содержит aberrантную, неправильно регулируемую или повышенную активность EZH2.

4. Способ по п.2, в котором раковая клетка имеет пониженную функцию и экспрессию INI1.

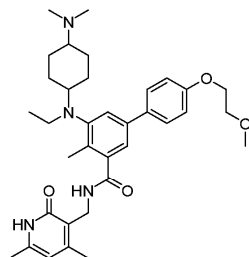
5. Способ по любому из пп.1-4, в котором ингибитор EZH2 представляет собой соединение А, имеющее следующую формулу:



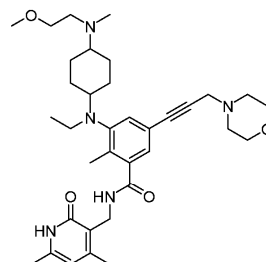
(A) ,

и его фармацевтически приемлемые соли.

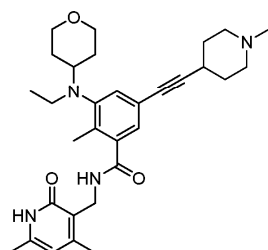
6. Способ по любому из пп.1-4, в котором ингибитор EZH2 выбран из группы, состоящей из



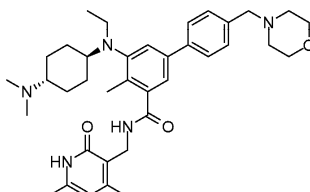
(B) ,



(C) ,



(D) ,



(E)

и их фармацевтически приемлемых солей.

7. Способ по любому из пп.1-6, где способ дополнительно включает контактирование раковой клетки с химиотерапевтическим соединением.

8. Способ по п.7, в котором химиотерапевтическое соединение выбрано из группы, состоящей из ингибитора PD-1, ингибитора PD-L1 и ингибитора CTLA-4.

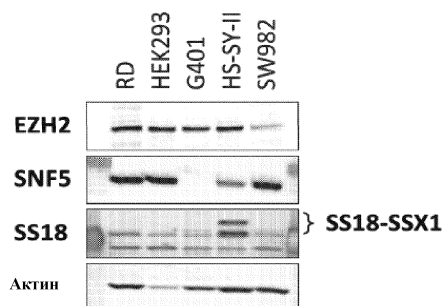
9. Способ по любому из пп.1-8, в котором раковая клетка находится у субъекта.

10. Способ по п.9, в котором субъектом является человек.

11. Способ по любому из пп.1-10, в котором МНС представляет собой лейкоцитарный антиген человека (HLA).

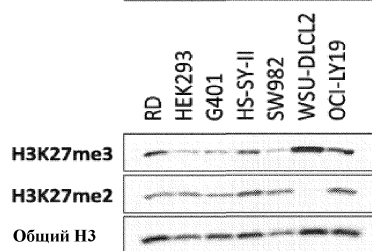
12. Способ по п.11, в котором HLA выбран из группы, состоящей из HLA-A, HLA B, HLA-C, HLA DM альфа, HLA DM бета, HLA-DO альфа, HLA DO бета 1, HLA DP альфа 1, HLA DP бета 1, HLA DR альфа, HLA-DR бета 1, HLA-DR бета 3., HLA DR бета 4, HLA E, HLA F, HLA G, HLA K и HLA L.

13. Способ по любому из пп.1-10, в котором МНС выбран из группы, состоящей из HLA-A, HLA B, HLA-C, HLA DM альфа, HLA DM бета, HLA-DO альфа, HLA DO бета 1, HLA DP альфа 1, HLA DP бета 1, HLA DR альфа, HLA-DR бета 1, HLA-DR бета 3, HLA DR бета 4, HLA E, HLA F, HLA G, HLA K и HLA L.

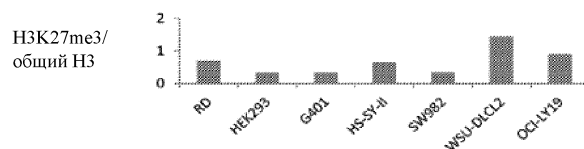


Фиг. 1

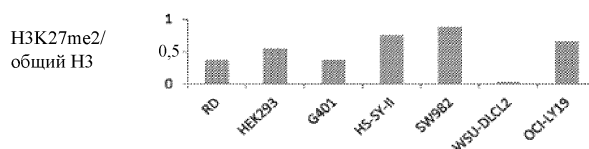
Образцы экстр. гистона



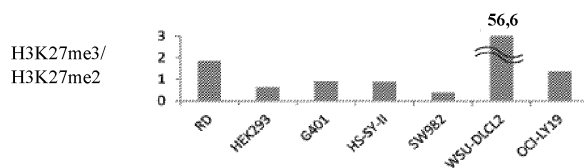
Фиг. 2А



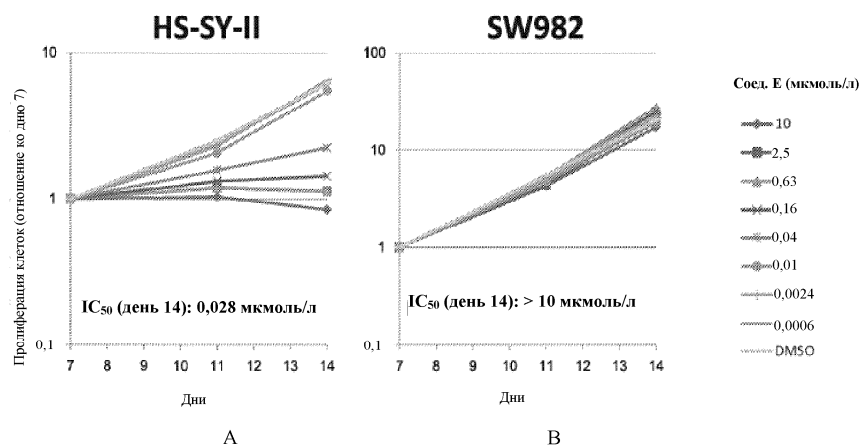
Фиг. 2В



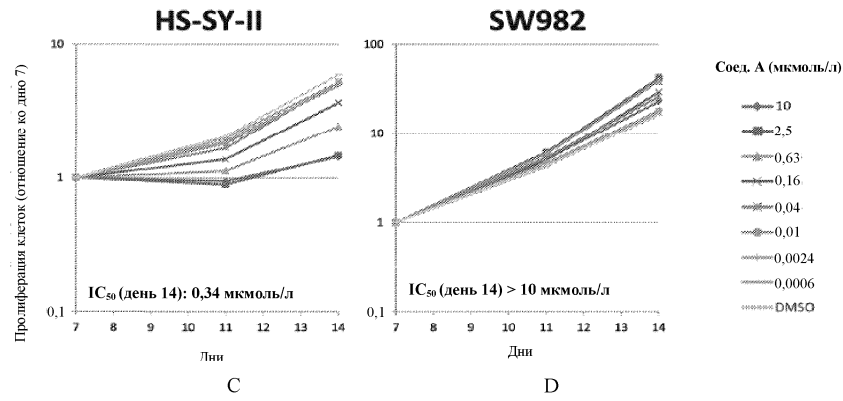
Фиг. 2С



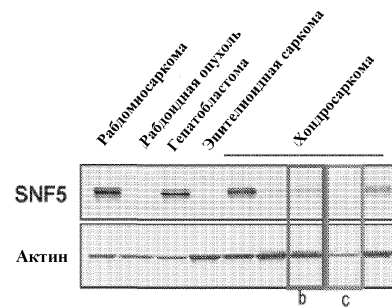
Фиг. 2D



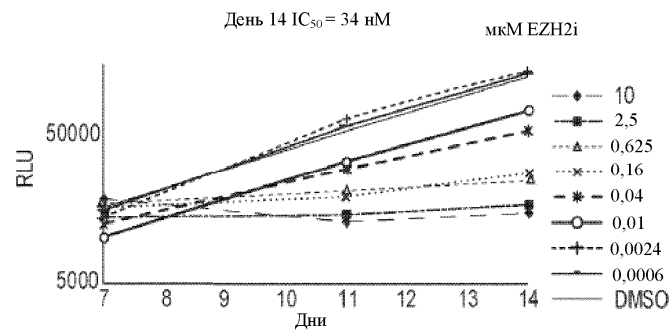
Фиг. 3



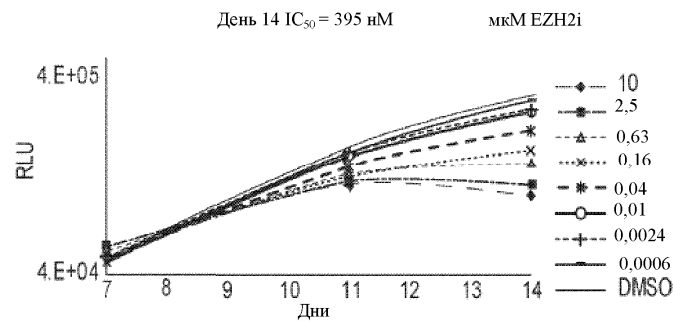
Фиг. 3



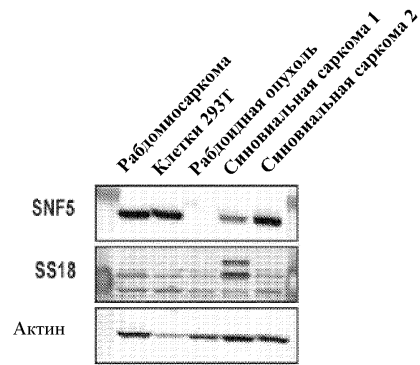
Фиг. 4А



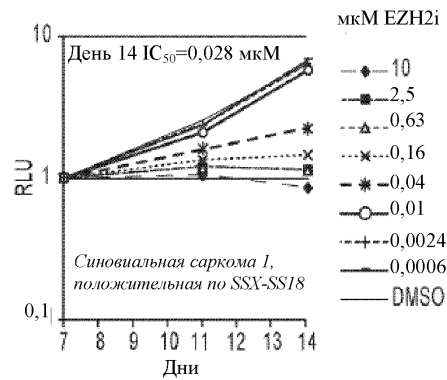
Фиг. 4В



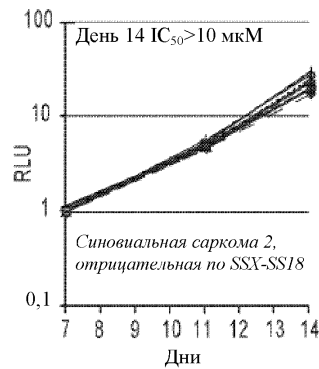
Фиг. 4С



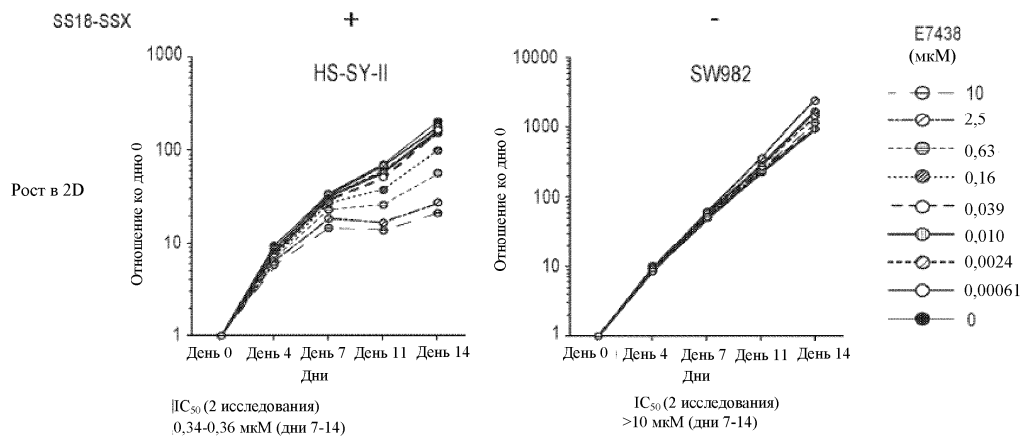
Фиг. 4D



Фиг. 4E



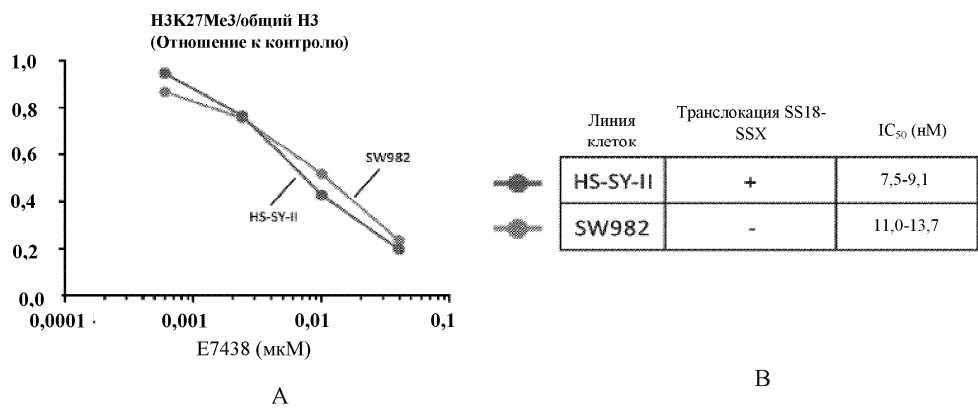
Фиг. 4F



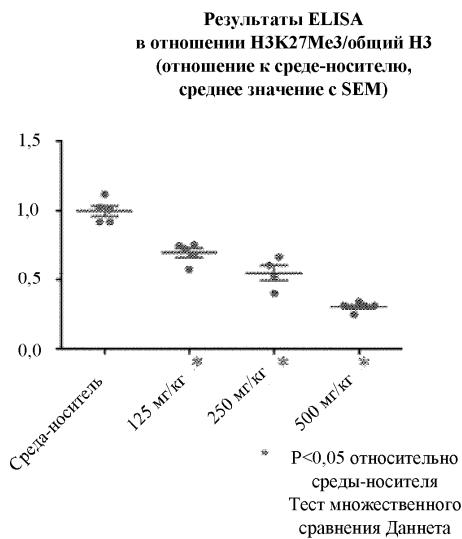
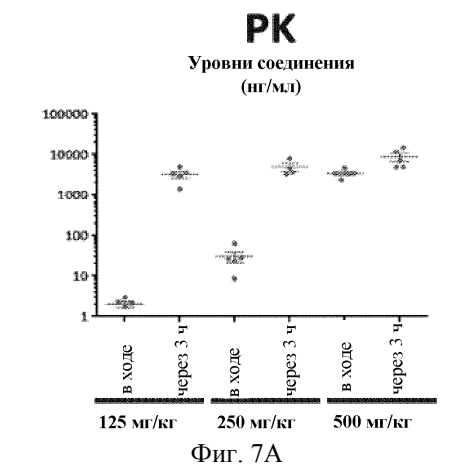
А

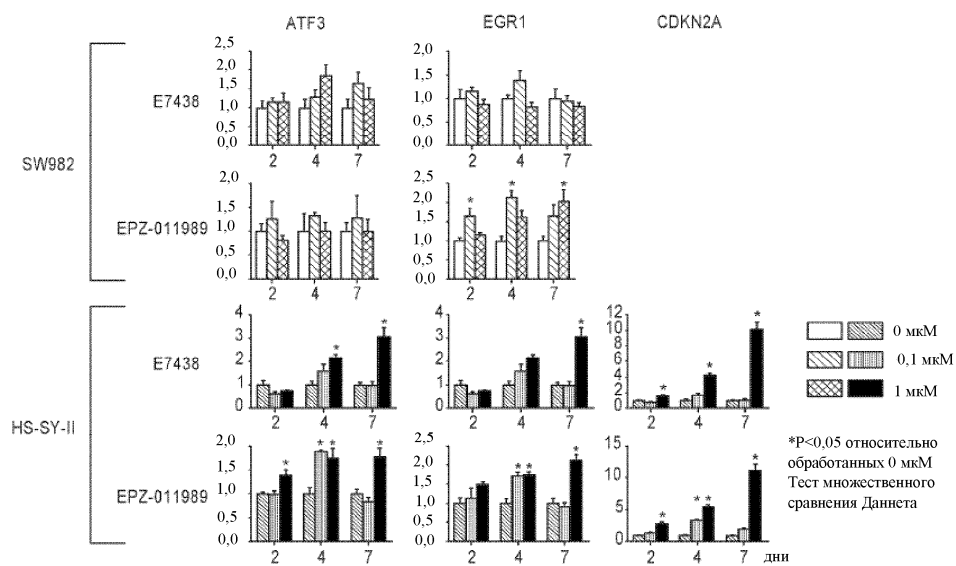
В

Фиг. 5

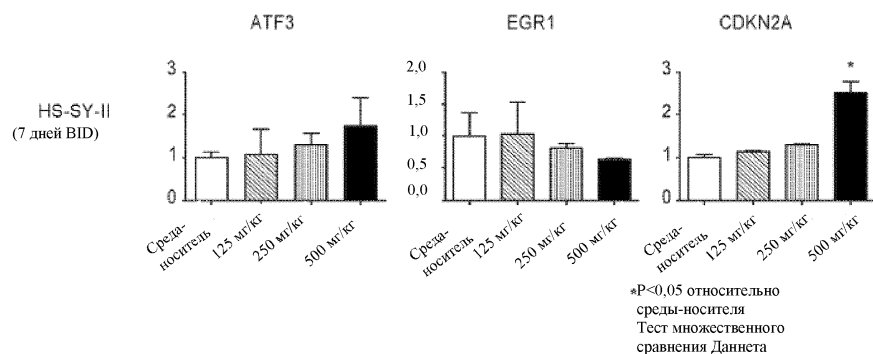


Фиг. 6

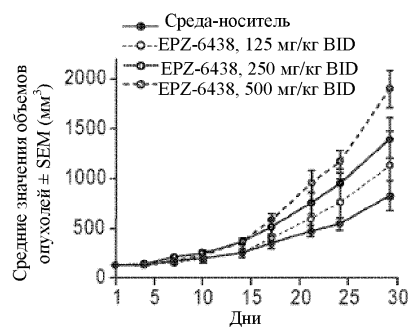




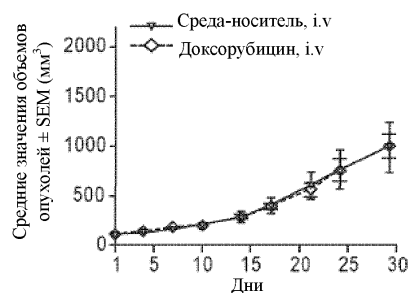
Фиг. 8



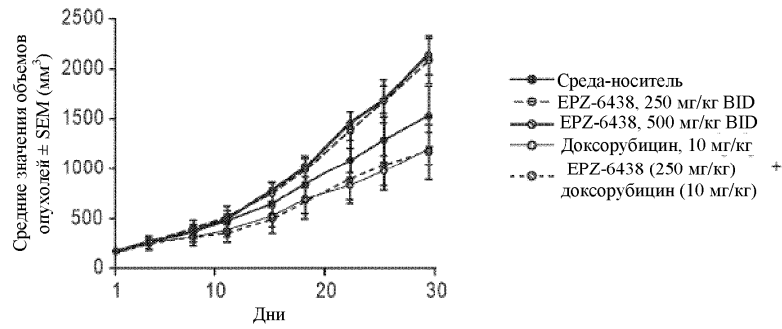
Фиг. 9



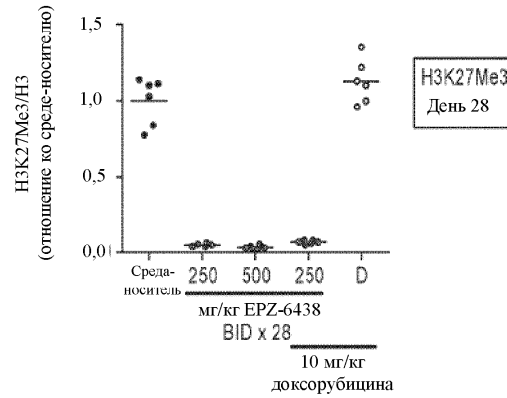
Фиг. 10А



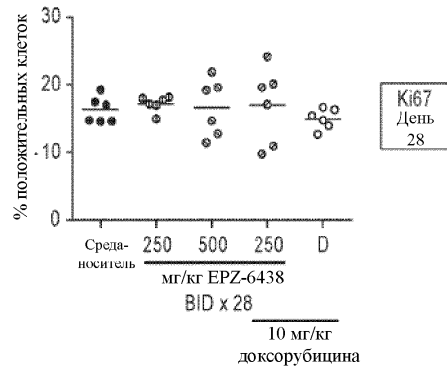
Фиг. 10В



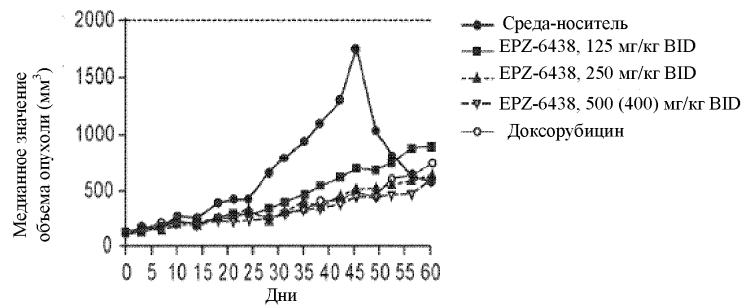
Фиг. 10С



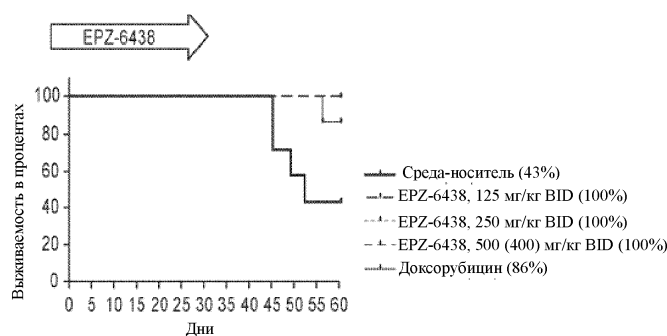
Фиг. 10D



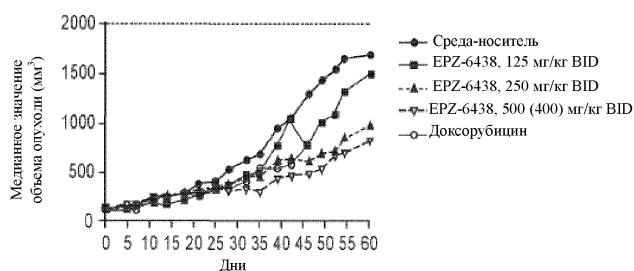
Фиг. 10E



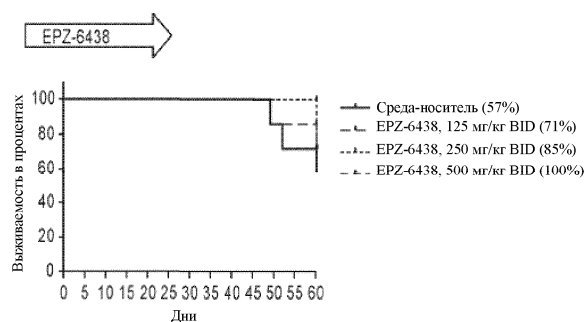
Фиг. 11А



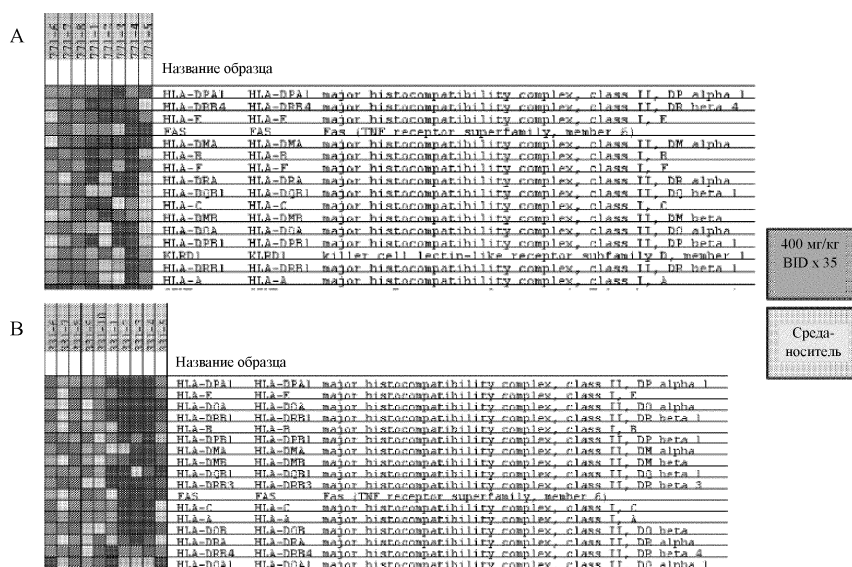
Фиг. 11B



Фиг. 11C



Фиг. 11D



Фиг. 12



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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