

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-532338
(P2017-532338A)

(43) 公表日 平成29年11月2日(2017.11.2)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 5 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 5 7
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	4 C 0 6 3
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 85 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-520304 (P2017-520304)
 (86) (22) 出願日 平成27年10月16日 (2015.10.16)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年6月7日 (2017.6.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/056022
 (87) 国際公開番号 W02016/061507
 (87) 国際公開日 平成28年4月21日 (2016.4.21)
 (31) 優先権主張番号 62/064, 948
 (32) 優先日 平成26年10月16日 (2014.10.16)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/065, 590
 (32) 優先日 平成26年10月17日 (2014.10.17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 513137330
 エピザイム, インコーポレイティド
 アメリカ合衆国, マサチューセッツ 02
 139, ケンブリッジ, テクノロジー ス
 クエア 400, フォース フロア
 (74) 代理人 100169904
 弁理士 村井 康司
 (74) 代理人 100117422
 弁理士 堀川 かおり
 (72) 発明者 ハイク キールハック
 アメリカ合衆国, マサチューセッツ州 O
 2478, ベルモント, ファルマス スト
 リート 3
 Fターム(参考) 4C055 AA01 BA03 BA06 BA42 CA02
 CA06 CA28 CB04 DA06
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌を治療する方法

(57) 【要約】

本発明は、細胞を治療有効量の E Z H 2 阻害剤に接触させることまたは被験体に治療有効量の E Z H 2 阻害剤を投与することによる、それを必要とする細胞または被験体における Z e s t e ホモログ2のエンハンサー (E Z H 2) 活性の異常、誤制御、または増大を特徴とする疾患、例えば、免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、免疫応答の減少、炎症の低下、主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現低下、または癌の症状を治療または緩和する方法を提供する。

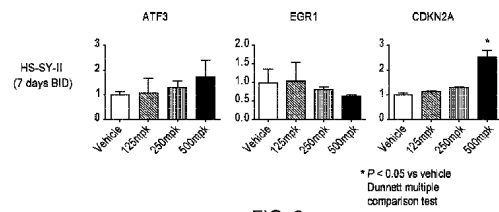


FIG. 9

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

癌細胞における免疫回避を阻害する方法であって、前記細胞を治療有効量の E Z H 2 阻害剤と接触させるステップを含む方法。

【請求項 2】

それを必要とする被験体における免疫機能不全を治療する方法であって、前記被験体に治療有効量の E Z H 2 阻害剤を投与することを含む方法。

【請求項 3】

それを必要とする被験体における免疫応答を増強する方法であって、前記被験体に治療有効量の E Z H 2 阻害剤を投与するステップを含む方法。

10

【請求項 4】

癌細胞における主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現を増加させる方法であって、前記癌細胞を治療有効量の E Z H 2 阻害剤と接触させるステップを含む方法。

【請求項 5】

それを必要とする被験体における炎症を増加させる方法であって、前記被験体に治療有効量の E Z H 2 阻害剤を投与するステップを含む方法。

【請求項 6】

それを必要とする被験体における癌または細胞増殖性疾患を治療する方法であって、前記被験体に治療有効量の E Z H 2 阻害剤を投与するステップを含む方法。

【請求項 7】

それを必要とする被験体における E Z H 2 阻害剤を含む治療の有効性を見込みを決定する方法であって、

20

(1) 生体学的サンプルを前記被験体から得るステップ ; および

(2) 前記生体学的サンプルを、対照試料と比較した主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現の低下に関してアッセイするステップ

を含み、

前記生体学的サンプルが、前記対照試料と比較して M H C の低下した発現を有する場合に、前記 E Z H 2 阻害剤を含む治療が、前記被験体において有効である可能性がより高い方法。

【請求項 8】

それを必要とする被験体における E Z H 2 阻害剤を含む治療の有効性を見込みを決定する方法であって、前記被験体から得た生体学的サンプルを、対照試料と比較して試料中の主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現の低下に関してアッセイすることを含み、前記生体学的サンプルが、前記対照試料と比較して M H C の低下した発現を有する場合に、前記 E Z H 2 阻害剤を含む治療が、前記被験体において有効である可能性がより高い方法。

30

【請求項 9】

それを必要とする被験体における E Z H 2 阻害剤を含む治療の有効性をスクリーニングする方法であって、

(1) 前記被験体から、第 1 および第 2 の生体学的サンプルを得ること ;

40

(2) 前記第 2 の生体学的サンプルを E Z H 2 阻害剤と接触させること ;

(3) 前記第 1 および第 2 の生体学的サンプルを、主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現に関してアッセイすること ; ならびに

(4) 前記第 1 の生体学的サンプルにおける M H C の発現を、前記第 2 の生体学的サンプルにおける M H C の発現と比較すること

を含み、

前記第 2 の生体学的サンプルが、前記第 1 の生体学的サンプルにおける発現と比較して M H C の増加した発現を有する場合、前記 E Z H 2 阻害剤を含む治療が、前記被験体において有効である可能性がより高い方法。

【請求項 10】

50

前記細胞または前記被験体が、EZH2活性の異常、誤制御、または増大を含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記細胞または前記被験体が、染色体転座t(x;18)(p11.2;q11.2)を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記転座がSS18-SSX融合遺伝子をもたらす、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記細胞または前記被験体が、INI1の低下した機能または発現を有する、請求項1～12のいずれか一項に記載の方法。

10

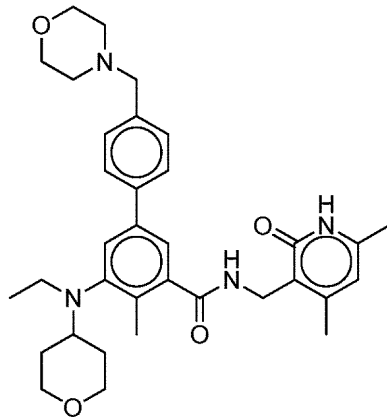
【請求項14】

前記細胞または前記被験体が、INI1の低下した機能および発現を有する、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記EZH2阻害剤が、以下の式を有する化合物A：

【化1】



(A)

20

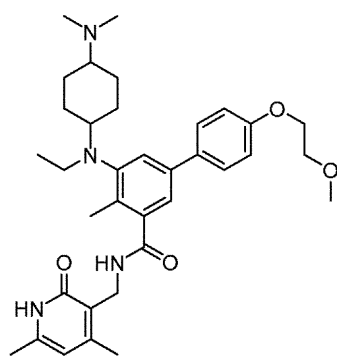
およびその薬学的に許容できる塩である、請求項1～14のいずれか一項に記載の方法。

30

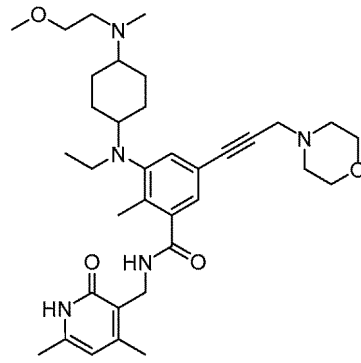
【請求項16】

前記EZH2阻害剤が、

【化 2】

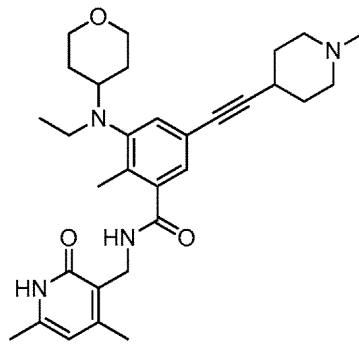


(B),

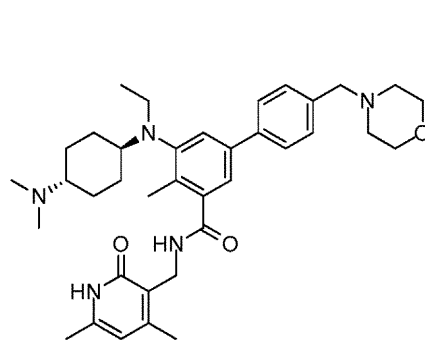


(C),

10



(D),



(E)

20

およびその薬学的に許容できる塩からなる群から選択される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記方法が、化学療法化合物を投与することをさらに含む、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記化学療法化合物が、PD-1 阻害剤、PD-L1 阻害剤、および CTLA-4 阻害剤からなる群から選択される、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 19】

前記癌細胞が被験体の中にある、請求項 1、4、7、および 10 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記被験体がヒトである、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、増強を必要とする免疫応答、炎症、または癌が、非癌細胞と比較して癌細胞における、MHC、 α 2ミクログロブリン、腫瘍壊死因子 (TNF) 受容体、低分子量ポリペプチド 2、(LMP2)、低分子量ポリペプチド 7、(LMP7)、抗原プロセッシング関連トランスポーター (TAP)、および TAP 関連糖タンパク質 (タパシン) の 1 つ以上の低下した発現を特徴とする、請求項 1 ~ 3、5、または 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 22】

前記 MHC がヒト白血球抗原 (HLA) であり、前記 HLA が、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DM、HLA-DM、HLA-DO、HLA-DO1、HLA-DP1、HLA-DP1、HLA-DR、HLA-DR1、HLA-DR3、HLA-DR4、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K、および HLA-L からなる群から選択される、請求項 4 または 21 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2014年10月16日に出願された米国特許出願第62/064,948号明細書および2014年10月17日に出願された米国特許出願第62/065,590号明細書の利益および優先権を主張し、これらのそれぞれの内容を引用により全体として本明細書に組み込む。

【背景技術】

【0002】

疾患に関連するクロマチン修飾酵素（たとえば、EZH2）は、増殖障害、代謝障害、および血液障害などの疾患に関与している。したがって、EZH2の活性を調節することができる小分子の開発が必要とされている。

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0003】

本発明は、それを必要とする細胞または被験体におけるZesteホモログ2のエンハンサー（EZH2）の活性および/または発現の異常、誤制御、または増大を特徴とする疾患、例えば、免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、免疫応答の減少、炎症の低下、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）の発現低下、または癌の症状を治療または緩和する方法であって、細胞に治療有効量のEZH2阻害剤を接触させることまたは被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与することによる方法を提供する。

20

【0004】

ある種の態様では、方法は、細胞を治療有効量のEZH2阻害剤に接触させるステップを含む、癌細胞における免疫回避を阻害することに関する。

【0005】

ある種の態様では、方法は、被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与するステップを含む、それを必要とする被験体における癌細胞誘導性免疫機能不全を治療および/または修正することに関する。

【0006】

ある種の態様では、方法は、被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与するステップを含む、それを必要とする被験体における免疫応答を増強、増加、または誘導することに関する。

30

【0007】

ある種の態様では、方法は、癌細胞を治療有効量のEZH2阻害剤と接触させるステップを含む、癌細胞中の主要組織適合遺伝子複合体（MHC）の発現を増加させることに関する。

【0008】

ある種の態様では、方法は、被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与するステップを含む、それを必要とする被験体における炎症を増加させることに関する。

【0009】

ある種の態様では、本発明は、被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与するステップを含む、それを必要とする被験体における癌または細胞増殖性疾患を治療することに関する。

40

【0010】

ある種の態様では、方法は、（1）被験体から生体学的サンプルを得るステップ；および（2）対照試料と比較して主要組織適合遺伝子複合体（MHC）の発現の低下に関して生体学的サンプルをアッセイするステップを含む、それを必要とする被験体におけるEZH2阻害剤を含む治療の有効性を見込みを決定することに関する。EZH2阻害剤を含む治療は、生体学的サンプルが、対照試料と比べて低下したMHCの発現を有する場合、被験体において有効である可能性がより高い。

50

【0011】

ある種の態様では、方法は、被験体から得られた生体学的サンプルを、対照試料と比べた試料中の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)の発現低下に関してアッセイすることを含む、それを必要とする被験体におけるEZH2阻害剤を含む治療の有効性を見込みを決定することに関する。EZH2阻害剤を含む治療は、生体学的サンプルが、対照試料と比べて低下したMHCの発現を有する場合、被験体において有効である可能性がより高い。

【0012】

ある種の態様では、方法は、(1)被験体から第1および第2の生体学的サンプルを得ること；(2)第2の生体学的サンプルをEZH2阻害剤と接触させること；(3)第1および第2の生体学的サンプルを、主要組織適合遺伝子複合体(MHC)の発現に関してアッセイすること；ならびに(4)第1の生体学的サンプル中のMHCの発現を、第2の生体学的サンプル中のMHCの発現と比較することを含む、それを必要とする被験体におけるEZH2阻害剤を含む治療の有効性をスクリーニングすることに関する。EZH2阻害剤を含む治療は、第2の生体学的サンプルが、第1の生体学的サンプルにおける発現に比べて増加したMHCの発現を有する場合、被験体において有効である可能性がより高い。

10

【0013】

上記態様の実施形態では、細胞または被験体は、EZH2活性の異常、誤制御、または増大を含む。

【0014】

上記態様の実施形態では、細胞または被験体は、染色体転座t(x;18)(p11.2;q11.2)を含む。

20

【0015】

上記態様の実施形態では、転座は、SS18-SSX融合遺伝子をもたらす。

【0016】

上記態様の実施形態では、細胞または被験体は、INI1(本明細書で、BAF47、SNF5、またはSMARCB1とも呼ばれる)の低下した機能または発現を有する。

【0017】

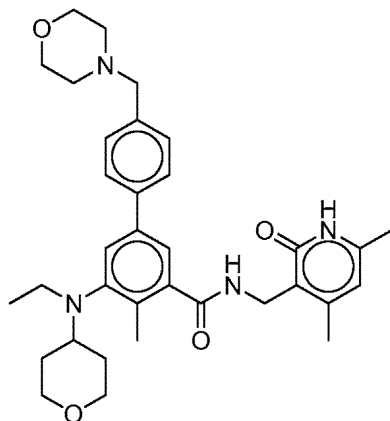
上記態様の実施形態では、細胞または被験体は、INI1の低下した機能および発現を有する。

30

【0018】

上記態様の実施形態では、EZH2阻害剤は、以下の式を有する化合物A(本明細書において、E7438またはEPZ-6438またはタゼメトスタット(tazemetostat)とも呼ばれる)：

【化1】



(A)

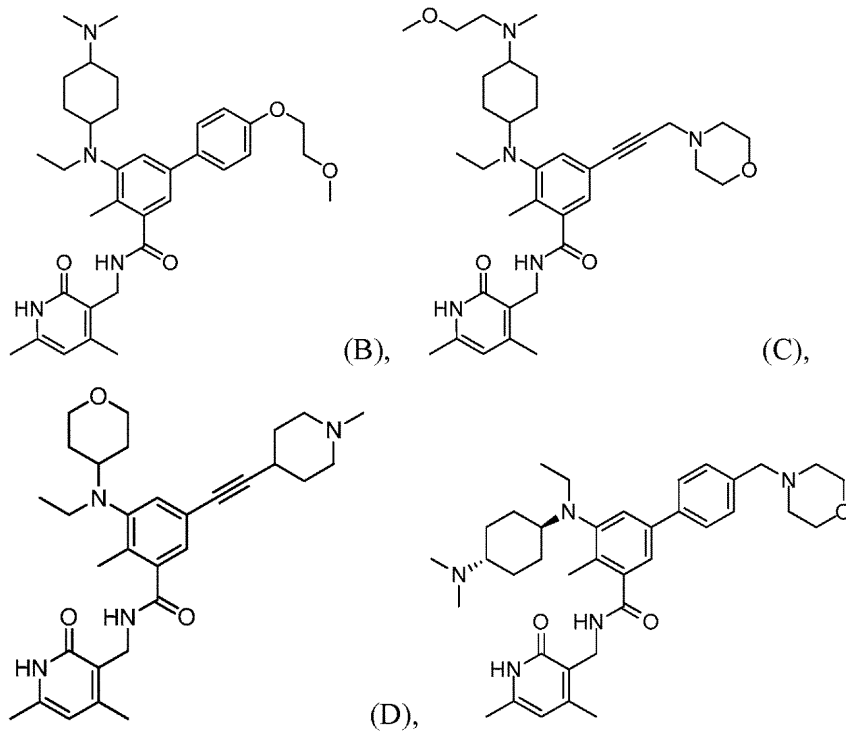
40

およびその薬学的に許容できる塩またはその立体異性体である。

【0019】

50

上記態様の実施形態では、EZH2阻害剤は、
【化2】



10

20

の1つ以上、およびその薬学的に許容できる塩またはその立体異性体である。

【0020】

上記態様の実施形態では、方法は、化学療法化合物、例えば、PD-1阻害剤、PD-L1阻害剤、またはCTLA-4阻害剤を投与することをさらに含む。

【0021】

上記態様の実施形態では、癌細胞は、被験体、例えば、ヒトの中にある。

【0022】

上記態様の実施形態では、免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、増強を必要とする免疫応答、炎症、または癌は、非癌細胞と比べて癌細胞における、MHC、2マイクログロブリン、腫瘍壊死因子(TNF)受容体、低分子量ポリペプチド2、(LMP2)、低分子量ポリペプチド7、(LMP7)、抗原プロセッシング関連トランスポーター(TAP)、およびTAP関連糖タンパク質(タパシン)の1つ以上の発現低下を特徴とする。MHCは、ヒト白血球抗原(HLA)、例えば、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DM、HLA-DM、HLA-DO、HLA-DO1、HLA-DP1、HLA-DP1、HLA-DR、HLA-DR1、HLA-DR3、HLA-DR4、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K、またはHLA-Lであり得る。

30

40

【0023】

他に定義しない限り、本明細書で使用する技術用語および科学用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者が一般に理解しているのと同じ意味を持つ。本明細書では、単数形は、文脈上明らかに他の意味に解すべき場合を除き、複数形をさらに含む。特別に記述されていない限りまたは文脈から明らかでない限り、本明細書で使用する場合、「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」という用語は、単数または複数であると理解される。特別に記述されていない限りまたは文脈から明らかでない限り、本明細書で使用する場合、「または(or)」という用語は、包括的であると理解される。

【0024】

50

特別に記述されていない限りまたは文脈から明らかでない限り、本明細書で使用する場合、「約」という用語は、当該技術分野で通常許容される範囲内、たとえば、平均の2標準偏差以内として理解される。「約」は、記述値の10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%または0.01%の範囲内と理解することができる。他に文脈から明確でない限り、本明細書に提供する数値はすべて、「約」という用語により修飾されている。

【0025】

本発明の実施または試験において、本明細書に記載されたものと類似または同等の方法および材料を使用してもよいが、好適な方法および材料を下記に記載する。本明細書に記載した刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献はすべて援用する。本明細書に引用する参考文献は、特許請求の範囲に記載されている発明に対する従来技術と認めるものではない。矛盾がある場合、定義を含む本明細書が優先する。さらに、材料、方法、および例は、単に例示のためのものであり、限定的であることを意図するものではない。

10

【0026】

上記の態様および実施形態のいずれも、任意の他の態様または実施形態と組み合わせることができる。

【0027】

本発明の他の特徴と利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

20

【0028】

【図1】図1は、HS-SY-II細胞株におけるSS18-SSX1の発現およびINI1（本明細書では、BAF47、SNF5、またはSMARCB1とも呼ばれる）のダウンレギュレーションを示す細胞溶解物のウェスタンブロットである。

【図2A-2D】図2Aは、様々な細胞株における、H3K27のトリメチル化（H3K27me3）およびH3K27のジメチル化（H3K27me2）のレベルを示す、単離されたヒストンのウェスタンブロットを示す図である。図2B~2Dは、様々な細胞株における、定量的なH3K27me3/全H3（B）、H3K27me2/全H3（C）またはH3K27me3/H3K27me2（D）の比を示す一連のプロットを示す図である。これらの定量的データは、ウェスタンブロッティング解析により得られたタンパク質バンドの計算から得たものである。

30

【図3A-3D】HS-SY-II細胞はEZH2阻害剤に高度に感受性があるが、一方SW982細胞はそうではないことを示す一連のプロットを示す図である。図3Aに示す細胞株HS-SY-IIおよび図3Bに示す細胞株SW982は化合物Eで処理した。図3Cに示す細胞株HS-SY-IIおよび図3Dに示す細胞株SW982は化合物A（本明細書ではE7438またはEPZ-6438とも呼ばれる）で処理した。各細胞型を表示濃度の化合物（化合物Eまたは化合物A）で7日間、前処理し、再度蒔き、さらに7日間処理した。細胞生存率を、CellTiter-Glo（登録商標）ルミネセンス細胞生存率アッセイにより決定した。

【図4A-4F】軟部肉腫細胞株において、INI1レベルが低下すると、EZH2阻害剤（EZH2i）に対する感受性が付与されることを示す図である。図Aは、様々な腫瘍細胞株におけるINI1発現を示す、細胞溶解物のウェスタンブロットである。軟骨肉腫の腫瘍細胞株は、INI1のダウンレギュレーションを示した（たとえば、細胞株bおよびc）。図BおよびCは、細胞株b（グラフB）および細胞株c（グラフC）がEZH2阻害剤に感受性があることを示すグラフである。図Dは、様々な細胞株におけるINI1およびSS18の発現を示す細胞溶解物のウェスタンブロットである。図Eは、SSX-SS18陽性細胞がEZH2阻害剤に感受性があることを示すグラフである。図Fは、SSX-SS18陰性細胞がEZH2阻害剤に感受性がないことを示すグラフである。

40

【図5A-5B】HS-SY-II細胞は化合物Aに高度に感受性があるが（図5A）、一方SW982細胞はそうではない（図5B）ことを示す一連のプロットを示す図である

50

。各細胞型を表示濃度の化合物 A で処理した。7 日目に細胞を再度蒔き、さらに 7 日間処理した。細胞生存率を Cell Titer - Glo (登録商標) ルミネセンス細胞生存率アッセイにより決定した。

【図 6 A - 6 B】図 6 A は、HS - SY - II 細胞および SW982 細胞において、化合物 A の処理後、H3K27me3 / 全 H3 の比 (対照に対する比) が減少することを示す図である。細胞を化合物 A で 96 時間処理し、ヒストンを抽出した。ヒストンマークの変化を酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) により分析した。ヒストンマークの変化は HS - SY - II と SW982 との間で同等であり、これらの変化が SS18 - SSX 融合タンパク質の存在には無関係であることが示唆された。図 6 B は、H3K27me3 / 全 H3 の比を 50% 阻害するのに必要な化合物の濃度 (IC₅₀) を示す。

10

【図 7 A - 7 B】HS - SY - II 異種移植モデルにおける、薬物動態学 (PK) の値および薬力学的な (PD) 変化をそれぞれ示す図である。図 7 A は、化合物 A の血漿中濃度を示す。ここでは、化合物 A をマウスに 1 日 2 回、7 日間経口投与した。最後の投与の約 5 分前および 3 時間後に、化合物 A 処置マウスから末梢血サンプルを採取した。化合物 A の血漿中濃度の分析を行った。濃度をプロットする (n = 5)。各バーは、各群における血漿中濃度の平均値を表す。図 7 B は、マウスの HS - SY - II 異種移植片における、H3K27me3 に対する化合物 A の阻害効果を示す。ここでは、化合物 A をマウスに 1 日 2 回、7 日間経口投与した。腫瘍中の H3K27me3 をプロットする (n = 5)。各バーは、各群における、トリメチル化レベルの平均 ± SEM を表す。下記の表 2 および 3 は、図 7 B に示すデータに関する統計解析を示す。統計解析の結果から用量依存的な変化が確認される。

20

【図 8】インビトロ実験における、HS - SY - II および SW982 の化合物 A 処理後の推定上の PD マーカーの発現変化を示す図である。ここで、各細胞型は、化合物 A または EPZ - 011989 (これも EZH2 阻害剤であり、本明細書で化合物 C とも呼ばれる) で処理した; 濃度および期間 (日) を示す。遺伝子発現変化を RT - PCR により分析した。遺伝子発現レベルは、GAPDH レベルに対して規準化した。バーは、0 μM 処理の対照に対する比として示す。下記の表 4 は、図 8 に示すデータに関する統計解析を示す。アスタリスクは、0 μM 処理群のレベルに比較して有意な変化を意味する。

【図 9】インビボ実験における、HS - SY - II の化合物 A 処理後の推定上の PD マーカーの発現変化を示す図である。ここでは、化合物 A をマウスに 1 日 2 回、7 日間経口投与した。腫瘍サンプルを最後の投与の約 3 時間後に採取した。遺伝子発現変化を RT - PCR により分析した。遺伝子発現レベルは、GAPDH レベルに対して規準化した。バーはビヒクル群のデータに対する比として示す。

30

【図 10 A - 10 E】図 10 A ~ 10 C は、ビヒクル (経口もしくは iv)、化合物 A (経口)、ドキシソルピシン (iv) または化合物 A / ドキシソルピシン併用のいずれかを、表示用量で 28 日間投与した無胸腺ヌードマウスが担持する HS - SY - II 異種移植片の平均腫瘍容積を示す図である。腫瘍容積は週に 2 回測定した。2 つの独立した試験を実施した。図 10 A および 10 B は第 1 の試験の結果を示し、図 10 C は第 2 の試験の結果を示す。第 2 の試験の動物腫瘍は 28 日目 (最後の投与の 3 時間後) に摘出し、ELISA による H3K27me3 分析 (図 10 D) または増殖マーカー Ki67 に対する免疫組織化学 (IHC) (図 10 E) に供した。

40

【図 11 A - 11 D】滑膜肉腫腫瘍の 2 つの異なる患者由来異種移植片 (PDX) を担持し、ビヒクル (経口)、化合物 A (経口) またはドキシソルピシン (iv) のいずれかを、表示濃度で 35 日間投与した無胸腺ヌードマウスの平均腫瘍容積およびパーセント生存率を示す図である。図 11 A および 11 B は、高グレードの紡錘細胞肉腫を有する 57 歳男性に由来する PDX を担持するマウスのデータを示す (CTG - 0771)。図 11 C および 11 D は、16 歳女性に由来する PDX を担持するマウスのデータを示す (CTG - 0331)。腫瘍容積は週に 2 回測定した。35 日目に投与を中止し、週に 2 回腫瘍を測定しながら、60 日目まで動物を観察した。所与の動物の腫瘍容積が 2000 mm³ を超えたときに、マウスを安楽死させた (Kaplan - Meyer プロットで分析した)。

50

【図12A - 12B】図12Aおよび12Bは、35日目に収集され、RNA-seq解析により分析された、マウスのサブセットから得た滑膜肉腫PDX腫瘍のアレイデータを示す。図12Aは、57歳の男性からのPDXを有するマウスから得たデータである。図12Bは、16歳の女性からのPDXを有するマウスから得たデータである。ビヒクルが1日2回の400mg/kgの化合物(Compound)Aのいずれかにより処置されたマウスからの腫瘍におけるHLA遺伝子の発現が示される。図中で、青は低発現であり、赤は高発現である。

【発明を実施するための形態】

【0029】

本発明は、それを必要とする細胞または被験体におけるZest2ホモログ2のエンハンサー(EZH2)の活性または発現の異常、誤制御、または増大を特徴とする疾患、例えば、免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、免疫応答の減少、炎症の低下、主要組織適合遺伝子複合体(MHC)の発現低下、または癌の症状を治療または緩和する方法であって、細胞を治療有効量のEZH2阻害剤に接触させることまたは被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与することによる方法を提供する。EZH2は、ポリコーム抑制複合体2(PRC2)、ヒストン3リジン27(H3K27)のメチル化を触媒する複合体の酵素サブユニットである。ヒストン3リジン27(H3K27)メチル化は、いくつかの血液癌および固形のヒト癌と因果関係がある転写抑制的なエピジェネティックマークである。H3K27の過剰なトリメチル化状態をもたらすいくつかの分子機構が、ヒト癌の間で報告されている。

10

20

【0030】

本発明は、EZH2阻害剤が、免疫回避、または癌細胞誘導性免疫機能不全、免疫応答の減少、炎症の低下、MHCの発現低下を特徴とする、もしくは誘導される疾患を効果的に治療し得るといふ発見に一部基づいている。

【0031】

ある種の実施形態では、EZH2活性の異常、誤制御、または増大を有する細胞、被験体、腫瘍、または腫瘍細胞は、本発明のEZH2阻害剤に対して感受性がある。

【0032】

ヒト滑膜肉腫は、すべての軟部組織悪性腫瘍の8%~10%を占めており、若年層の四肢に最も一般的に発生する。再発性染色体転座t(x;18)(p11.2;q11.2)により、X染色体上の3つの密接に関連した遺伝子であるSSX1、SSX2、およびまれにSSX4のうちの一つに、染色体18上のSS18遺伝子が融合し、SS18の8個のC末端アミノ酸がSSXのC末端の78アミノ酸で置き換わっているインフレイム融合タンパク質が生じる。これにより、野生型SS18および腫瘍抑制因子INI1の両方を排除する(次いで、これらは分解される)SWI/SNF複合体に結合する腫瘍形成性SS18-SSX融合タンパク質の発現がもたらされる。これは異常な遺伝子発現および最終的には癌の発生をもたらす。

30

【0033】

本発明は、癌細胞における免疫回避を阻害する方法であって、細胞を治療有効量のEZH2阻害剤と接触させるステップを含む方法を提供する。

40

【0034】

本発明は、それを必要とする被験体における癌細胞誘導性免疫機能不全を治療または修正する方法であって、被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与するステップを含む方法も提供し得る。

【0035】

本発明は、それを必要とする被験体における免疫応答を増強、増加、または誘導する方法であって、被験体に治療有効量のEZH2阻害剤を投与するステップを含む方法も提供し得る。

【0036】

本発明は、癌細胞中の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)の発現または活性を増加さ

50

せる方法であって、癌細胞を治療有効量の E Z H 2 阻害剤と接触させるステップを含む方法も提供し得る。

【 0 0 3 7 】

本発明は、それを必要とする被験体における炎症を増加させる方法であって、被験体に治療有効量の E Z H 2 阻害剤を投与するステップを含む方法も提供し得る。

【 0 0 3 8 】

本発明は、それを必要とする被験体における癌または細胞増殖性疾患を治療する方法であって、被験体に治療有効量の E Z H 2 阻害剤を投与するステップを含む方法も提供し得る。

【 0 0 3 9 】

本発明は、それを必要とする被験体における E Z H 2 阻害剤を含む治療の有効性の見込みを決定する方法であって、(1) 被験体から生体学的サンプルを得るステップ；および (2) 対照試料と比較した主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現の低下に関して生体学的サンプルをアッセイするステップを含む方法も提供し得る。E Z H 2 阻害剤を含む治療は、生体学的サンプルが、対照試料と比較して M H C の低下した発現を有する場合に、被験体において有効である可能性がより高い。

10

【 0 0 4 0 】

本発明は、それを必要とする被験体における E Z H 2 阻害剤を含む治療の有効性の見込みを決定する方法であって、被験体から得られた生体学的サンプルを、対照試料と比較した試料中の主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現の低下に関してアッセイすることを含む方法も提供し得る。E Z H 2 阻害剤を含む治療は、生体学的サンプルが対照試料と比較して M H C の低下した発現を有する場合に、被験体において有効である可能性がより高い。

20

【 0 0 4 1 】

本発明は、それを必要とする被験体における E Z H 2 阻害剤を含む治療の有効性をスクリーニングする方法であって、(1) 被験体から、第 1 および第 2 の生体学的サンプルを得ること；(2) 第 2 の生体学的サンプルを E Z H 2 阻害剤と接触させること；(3) 第 1 および第 2 の生体学的サンプルを、主要組織適合遺伝子複合体 (M H C) の発現に関してアッセイすること；ならびに (4) 第 1 の生体学的サンプルにおける M H C の発現を、第 2 の生体学的サンプルにおける M H C の発現と比較することを含む方法も提供し得る。E Z H 2 阻害剤を含む治療は、第 2 の生体学的サンプルが、第 1 の生体学的サンプルにおける発現と比較して M H C の増加した発現を有する場合、被験体において有効である可能性がより高い。

30

【 0 0 4 2 】

本発明の実施形態では、細胞または被験体は、E Z H 2 活性の異常、誤制御、または増大を含む。

【 0 0 4 3 】

本発明の実施形態では、細胞または被験体は、染色体転座 $t(x; 18)(p11.2; q11.2)$ を含む。

【 0 0 4 4 】

本発明の実施形態では、転座は、S S 1 8 - S S X 融合遺伝子をもたらす。

40

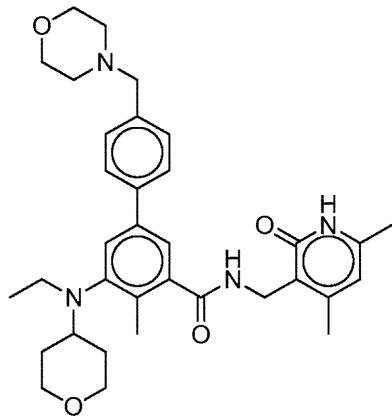
【 0 0 4 5 】

本発明の実施形態では、細胞または被験体は、I N I 1 (本明細書では、B A F 4 7、S N F 5、または S M A R C B 1 と呼ばれる) の低下した機能または発現を有する。本発明の実施形態では、細胞または被験体は、I N I 1 の低下した機能および発現を有する。ある種の実施形態では、細胞または被験体は、I N I 1 陰性または I N I 1 欠乏であると考えられるか、または決定される。

【 0 0 4 6 】

本発明の実施形態では、E Z H 2 阻害剤は、以下の式を有する化合物 A :

【化3】



(A)

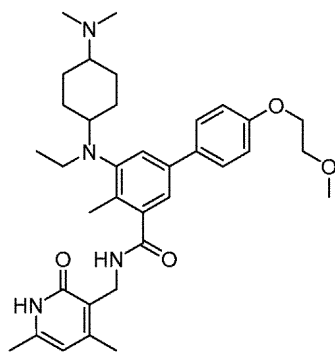
10

およびその薬学的に許容できる塩である。

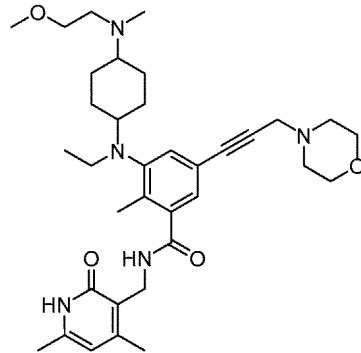
【0047】

本発明の実施形態では、EZH2阻害剤は

【化4】

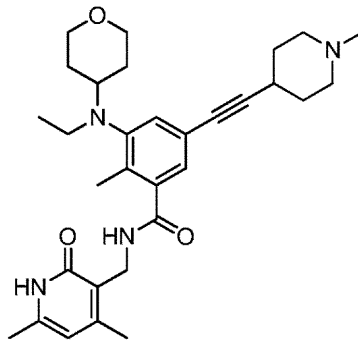


(B),

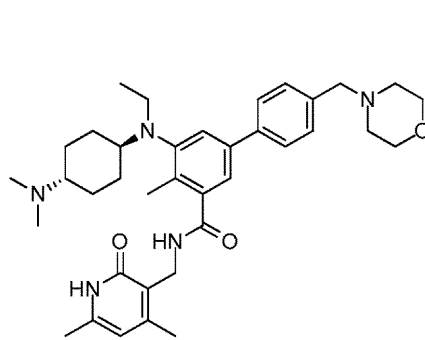


(C),

20



(D),



(E)

30

の1つ以上およびその薬学的に許容できる塩である。

40

【0048】

本発明の実施形態では、方法は、化学療法化合物、例えば、PD-1阻害剤、PD-L1阻害剤、またはCTLA-4阻害剤を投与することをさらに含む。

【0049】

本発明の実施形態では、癌細胞は、被験体、例えば、ヒトの中にある。

【0050】

本発明の実施形態では、免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、増強を必要とする免疫応答、炎症、または癌は、非癌細胞と比較して癌細胞における、MHC、 α 2ミクログロブリン、腫瘍壊死因子(TNF)受容体、低分子量ポリペプチド2、(LMP2)、低分子量ポリペプチド7、(LMP7)、抗原プロセッシング関連トランスポーター(TAP)

50

、およびTAP関連糖タンパク質(タパシン)の1つ以上の低下した発現を特徴とする。MHCは、ヒト白血球抗原(HLA)、例えば、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DM、HLA-DM、HLA-DO、HLA-DO1、HLA-DP1、HLA-DP1、HLA-DR、HLA-DR1、HLA-DR3、HLA-DR4、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-K、またはHLA-Lであり得る。

【0051】

したがって、本発明は、細胞に治療有効量の本発明の化合物、もしくはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、もしくは多形を接触させることまたは被験体に治療有効量の本発明の化合物、もしくはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、もしくは多形を投与することによる、細胞またはそれを必要とする被験体における免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、免疫応答の減少、炎症の低下、MHCの発現低下の治療の方法を提供し得る。本発明は、免疫回避、癌細胞誘導性免疫機能不全、免疫応答の減少、炎症の低下、MHCの発現低下の治療に有用な医薬品の調製のための、本発明の化合物またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、もしくは多形の使用をさらに提供し得る。

10

【0052】

実施形態では、疾患は、EZH2活性または発現の異常、誤制御、または増大を特徴とする。本明細書での「異常なEZH2活性」は、細胞中のEZH2の誤った局在化またはタンパク質複合体との/タンパク質複体内でのEZH2の誤った会合を指す。実施形態では、異常なEZH2活性は、INI1の制御機能の低下から生じ得るが、それは種々の遺伝子変異により起こった可能性があり、そのいくつかの例は本明細書でより詳細に議論される。ある種の実施形態では、EZH2活性または発現の異常、誤制御、または増大は、H3K27の増加したトリメチル化と関連するか、またはそれをもたらす。

20

【0053】

実施形態では、疾患は、染色体転座t(x;18)(p11.2;q11.2)を特徴とする。そのような転座は、SS18-SSX融合遺伝子をもたらす。

【0054】

実施形態では、治療を必要とする被験体は、EZH2活性の異常、誤制御、または増大を有する。

【0055】

実施形態では、治療を必要とする被験体は、INI1の低下した機能もしくは発現または両方を有する。実施形態では、被験体は、INI1の検出可能な機能もしくは発現または両方を有さない。

30

【0056】

本発明の実施形態では、滑膜肉腫はSSX1融合を特徴とする。別の実施形態では、滑膜肉腫はSSX2融合を特徴とする。実施形態では、滑膜肉腫は、SSX4融合を特徴とする。実施形態では、治療を必要とする被験体、治療レジメン、投与の投与量および頻度は、検出されるSSX融合の種類により選択される。実施形態では、投与すべきEZH2阻害剤も、癌と関連するSSX融合により選択される。

【0057】

本発明はまた、治療有効量の本明細書に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形を被験体に投与することにより、それを必要とする被験体において癌を治療するための方法であって、治療を必要とする被験体が染色体転座t(x;18)(p11.2;q11.2)またはSS18-SSX融合遺伝子を有する方法を提供することができる。本発明はさらに、癌の治療に有用な薬物の調製のために、本発明の化合物またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形の使用を提供することができる。

40

【0058】

実施形態では、この方法は、投与するステップの前に、被験体由来のサンプル中の染色体転座t(x;18)(p11.2;q11.2)またはSS18-SSX融合遺伝子の

50

存在を判定するステップを含む。

【0059】

サンプル中の染色体転座 $t(x; 18)(p11.2; q11.2)$ の存在の判定は、当該技術分野で公知の任意の方法で実施することができる。たとえば、それは、核型分析および $SS18-SSX$ 転写物に対する $RT-PCR$ により、または $FISH$ (蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション法) により判定することができる。 $SS18-SSX$ 融合遺伝子は、当該技術分野で公知の任意の方法により検出することができる。たとえば、それは、 $RT-PCR$ 、免疫組織染色アッセイまたは蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション法 ($FISH$) により検出することができる。

【0060】

治療できる癌は、 DNA サイトメトリー、フローサイトメトリーまたはイメージサイトメトリーにより評価してもよい。治療できる癌は、細胞の 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80% または 90% が細胞分裂の合成期 (たとえば、細胞分裂の S 期) にあるものとして型別にしてもよい。治療できる癌は、 S 期分画が低いまたは S 期分画が高いものとして型別にしてもよい。

【0061】

本発明の態様では、滑膜肉腫は単相型滑膜肉腫である。本発明の他の態様では、滑膜肉腫は二相型滑膜肉腫である。

【0062】

本発明はまた、被験体由来のサンプル中に染色体転座 $t(x; 18)(p11.2; q11.2)$ または $SS18-SSX$ 融合遺伝子の存在を検出するステップと、治療有効量の化合物またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形を投与することにより、被験体を治療するステップとを含む方法を提供する。

【0063】

本発明は、候補被験体に治療有効量の化合物またはその薬学的に許容できる塩もしくは溶媒和物を投与することを含む、治療レジメンを選択することを含む方法をさらに提供する。治療レジメンは、手術、化学療法、放射線療法、免疫療法、またはこれらのあらゆる組み合わせも含み得る。

【0064】

実施形態では、本発明の方法は、治療有効量の $EZH2$ 阻害剤を被験体に投与すること、手術、化学療法、放射線療法、鍼療法、免疫療法、またはこれらのあらゆる組み合わせを含む。化学療法 (典型的には、ドキシソルピシンおよび/またはイホスファミド) は、滑膜肉腫、特に進行性または転移性疾患の治療において推奨されることがある。

【0065】

本発明は、それを必要とする被験体における $EZH2$ 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を治療する方法であって、被験体に、治療有効量の本発明の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、もしくは多形を投与することによる方法をさらに提供する。例えば癌は滑膜肉腫である。例えば、癌は、類上皮肉腫、骨外性粘液型軟骨肉腫、悪性ラブドイド腫瘍、または異型脊索腫である。

【0066】

例えば、本明細書で使用できる $EZH2$ 阻害剤には、化合物 A、B、C、D、または E がある。化合物 A は、本明細書で $E7438$ または $EPZ-6438$ とも呼ばれる。

【0067】

本明細書では、「それを必要とする被験体」は、 $EZH2$ 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌を有する被験体または染色体転座 $t(x; 18)(p11.2; q11.2)$ により媒介される癌を有する被験体である。例えば、それを必要とする被験体は滑膜肉腫を有する。

【0068】

実施形態では、それを必要とする被験体は、 $EZH2$ 活性の異常、誤制御、または増大と関連する疾患を治療する少なくとも 1 つの以前の療法を有した。

10

20

30

40

50

【0069】

実施形態では、被験体は、直近の療法で不応性の癌を有する。「不応性癌」は、治療に反応しない滑膜肉腫を含む、本明細書に記載されるあらゆる癌を意味する。癌は、治療の開始時に抵抗性であることも、治療の間に抵抗性になることもある。不応性癌は抵抗性癌とも呼ばれる。実施形態では、それを必要とする被験体は、直近の療法での寛解の後に癌の再発を有する。実施形態では、被験体は、被験体が患っている滑膜肉腫の全ての公知の有効な療法を受け、奏功しなかった。

【0070】

実施形態では、被験体は、染色体転座 $t(x; 18)(p11.2; q11.2)$ により媒介される癌、たとえば滑膜肉腫を治療するために、別の療法でも同時に治療されている。

10

【0071】

「被験体」には哺乳動物が含まれる。哺乳動物は、たとえば、任意の哺乳動物、たとえばヒト、霊長類、トリ、マウス、ラット、イヌ、ネコ、雌ウシ、ウマ、ヤギ、ラクダ、ヒツジまたはブタであってもよい。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

【0072】

実施形態では、被験体は、ヒストンH3のLys27のトリメチル化(H3-K27me3)レベルが増大している。実施形態では、EZH2活性の異常、誤制御もしくは増大または染色体転座 $t(x; 18)(p11.2; q11.2)$ は、H3-K27meのトリメチル化レベルの増大に関連する。

20

【0073】

本明細書で使用する場合、「被験体由来のサンプル」とは、被験体から得られたかまたは被験体に由来する細胞または細胞成分を含有する任意の好適なサンプルをいう。たとえば、実施形態では、サンプルは癌細胞を含む。実施形態では、サンプルは、たとえば軟部組織(たとえば関節)から得られた生検サンプルである。実施形態では、サンプルは、軟部組織以外の組織または軟部組織に追加した組織から得られた生検サンプルである。たとえば、実施形態では、サンプルは、癌、たとえば癌細胞で構成される腫瘍からの生検である。サンプル中の細胞は、当業者が精通する方法に従ってサンプルの他の成分から単離することができる。たとえば、実施形態では、サンプルは、組織、器官、または全血、血漿、血清、尿、唾液、生殖器分泌物、脳脊髄液、汗もしくは排泄物などの体液である。

30

【0074】

本明細書で使用する場合、「単独療法」とは、それを必要とする被験体に単一の活性化化合物または治療用化合物を投与することをいう。好ましくは、単独療法は、治療有効量の単一の活性化化合物の投与を含む。たとえば、本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物の1つを用いた、EZH2活性の異常、誤制御または増大に関連した癌の治療を必要とする被験体への癌単独療法である。一態様では、単一の活性化化合物は、本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形である。ある種の実施形態では、単一の活性化化合物はタゼメトスタットである。

【0075】

本明細書で使用する場合、「治療すること」または「治療する」は、EZH2活性の異常、誤制御または増大に関連した疾患、状態または障害の対処を目的とした患者の管理およびケアをいい、疾患、状態もしくは障害の症状または合併症を緩和するため、あるいは疾患、状態もしくは障害を除去するため本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形を投与することを含む。

40

【0076】

本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形はまた、EZH2活性の異常、誤制御または増大に関連した疾患、状態または障害を予防するために使用してもよい。本明細書で使用する場合、「予防すること」または「予防する」とは、疾患、状態もしくは障害の症状、または合併症の発症を減少または除去することをいう。

【0077】

50

本明細書で使用する場合、「緩和する」という用語は、障害の徴候または症状の重症度を低下させるプロセスを記載することを意図している。重要な点として、徴候または症状は、除去することなく緩和することができる。好ましい実施形態では、本発明の医薬組成物を投与すると徴候または症状が除去されるが、しかしながら、除去は必須ではない。効果的な投薬量は徴候または症状の重症度を低下させると予想される。たとえば、複数の部位で起こり得る癌などの障害の徴候または症状は、複数の部位の少なくとも1つで癌の重症度が低下すると緩和される。

【0078】

本明細書で使用する場合、「症状」という用語は、疾患、疾病、障害または体内に適切でないものがあることの兆しと定義される。症状は、症状を経験している個体を感じあるいは気付くものであるが、他人は容易に気付くことができない。他人は、非医療専門家と定義される。

10

【0079】

本明細書で使用する場合、「徴候」という用語も、体内に適切でないものがあることの兆しと定義される。ただし、徴候は、医師、看護師または他の医療専門家により確認することができるものと定義される。

【0080】

EZH2活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、腫瘍の大きさもしくは体積の減少または腫瘍成長もしくは再成長の減少または上記のあらゆる組み合わせをもたらし得る。腫瘍の大きさまたは体積の減少は、「腫瘍退縮」とも称され得る。好ましくは、治療後に、腫瘍の大きさは、治療前のその大きさに対して5%以上減少する。一層好ましくは、腫瘍サイズは、10%以上減少し；一層好ましくは、20%以上減少し；一層好ましくは、30%以上減少し；一層好ましくは、40%以上減少し；なお一層好ましくは、50%以上減少し；最も好ましくは、75%超またはそれ以上減少する。腫瘍の大きさまたは体積は、再現性のある任意の測定手段で測定できる。腫瘍の大きさまたは体積は、腫瘍の直径として測定できる。

20

【0081】

EZH2の活性または発現の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、腫瘍の数の減少をもたらし得る。好ましくは、治療後に、腫瘍数は、治療前の数に対して5%以上減少する。一層好ましくは、腫瘍数は10%以上減少し；一層好ましくは、20%以上減少し；一層好ましくは、30%以上減少し；一層好ましくは、40%以上減少し；なお一層好ましくは、50%以上減少し；最も好ましくは、75%超減少する。腫瘍の数は、再現性のある任意の測定手段で測定できる。腫瘍の数は、肉眼でまたは明示される倍率で見える腫瘍を数えることにより測定できる。

30

【0082】

EZH2活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、治療されていない被験体またはキャリアのみを投与された被験体の集団と比べて、治療された被験体の集団の平均生存時間の増加もしくは死亡率の減少または両方をもたらし得る。ある種の実施形態では、治療された被験体の集団は、本発明の化合物でない薬物または薬物の組み合わせによる療法を受けている。好ましくは、平均生存時間は、10、20、または30日超増加し；一層好ましくは、60日超；一層好ましくは、90日超；最も好ましくは、120日超増加する。集団の平均生存時間の増加は、再現性のある任意の手段により測定できる。集団の平均生存時間の増加は、例えば、ある集団に関して活性化化合物による治療の開始後の平均の生存の長さを計算することにより測定できる。集団の平均生存時間の増加は、例えば、ある集団に関して活性化化合物による治療の第1期の完了後の平均の生存の長さを計算することによっても測定できる。

40

【0083】

50

EZH2 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、キャリアのみを投与された集団と比べて治療された被験体の集団の死亡率の減少をもたらす得る。EZH2 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、治療されていない集団と比べて治療された被験体の集団の死亡率の減少をもたらす得る。EZH2 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、本発明の化合物またはその薬学的に許容できる塩もしくは溶媒和物でない薬物による単独療法を受けている集団と比べて治療された被験体の集団の死亡率の減少をもたらす得る。好ましくは、死亡率は、2 % 超減少し；一層好ましくは、5 % 超；一層好ましくは、10 % 超；最も好ましくは、25 % 超減少する。治療された被験体の集団の死亡率の減少は、再現性のある任意の手段により測定できる。集団の死亡率の減少は、例えば、ある集団に関して活性化化合物による治療の開始後の単位時間当たりの疾病関連死の平均数を計算することにより測定できる。集団の死亡率の減少は、例えば、ある集団に関して活性化化合物による治療の第1期の完了後の単位時間当たりの疾病関連死の平均数を計算することによっても測定できる。

10

20

30

40

50

【0084】

EZH2 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、腫瘍成長速度の減少をもたらす得る。好ましくは、治療後に、腫瘍成長速度は、治療前の数に対して少なくとも5 % 減少する。一層好ましくは、腫瘍成長速度は、少なくとも10 % 減少し；一層好ましくは少なくとも20 % 減少し；一層好ましくは、少なくとも30 % 減少し；一層好ましくは、少なくとも40 % 減少し；一層好ましくは少なくとも50 % 減少し；なお一層好ましくは少なくとも50 % 減少し；最も好ましくは少なくとも75 % 減少する。腫瘍成長速度は、再現性のある任意の測定手段により測定できる。腫瘍成長速度は、単位時間当たりの腫瘍直径の変化により測定できる。

【0085】

EZH2 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、腫瘍再成長の減少をもたらす得る。好ましくは、治療後に、腫瘍再成長は、5 % 未満である。一層好ましくは、腫瘍再成長は、10 % 未満；一層好ましくは、20 % 未満；一層好ましくは、30 % 未満；一層好ましくは、40 % 未満；一層好ましくは、50 % 未満；なお一層好ましくは、50 % 未満；最も好ましくは、75 % 未満である。腫瘍再成長は、再現性のある任意の測定手段により測定できる。腫瘍再成長は、例えば、治療後の先の腫瘍縮小後の腫瘍の直径の増加を測定することにより測定される。腫瘍再成長の減少は、治療を停止した後に、腫瘍が再び発生しないことにより示される。

【0086】

EZH2 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌を、本明細書に記載される化合物により治療または予防することは、異常な外観またはモルホロジーを有する細胞の数または比率の減少をもたらす得る。好ましくは、治療後に、異常なモルホロジーを有する細胞の数は、治療前のその大きさに対して少なくとも5 % 減少し；一層好ましくは少なくとも10 % 減少し；一層好ましくは少なくとも20 % 減少し；一層好ましくは少なくとも30 % 減少し；一層好ましくは、少なくとも40 % 減少し；一層好ましくは少なくとも50 % 減少し；なお一層好ましくは、少なくとも50 % 減少し；最も好ましくは少なくとも75 % 減少する。異常な細胞の外観またはモルホロジーは、再現性のある任意の測定手段により測定できる。異常な細胞のモルホロジーは、例えば倒立組織培養顕微鏡を使用して、顕微鏡法により測定できる。異常な細胞のモルホロジーは、核多形性 (nuclear pleiomorphism) の形態をとることがある。

【0087】

EZH2 活性の異常、誤制御、または増大と関連する癌または細胞増殖性疾患を、本明細書に記載される化合物により治療することは、細胞死をもたらすことがあり、好ましく

は、細胞死は、集団中の細胞数の少なくとも10%の減少をもたらす。一層好ましくは、細胞死は、少なくとも20%の減少；一層好ましくは少なくとも30%の減少；一層好ましくは少なくとも40%の減少；一層好ましくは少なくとも50%の減少；最も好ましくは少なくとも75%の減少を意味する。集団における細胞数は、任意の再現可能な手段により測定することができる。集団における細胞数は、蛍光活性化セルソーター（FACS）、免疫蛍光顕微鏡および光学顕微鏡により測定してもよい。細胞死を測定する方法は、Li et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 100(5): 2674-8, 2003に示される通りである。ある種の態様では、細胞死はアポトーシスにより起こる。

【0088】

本明細書で使用する場合、「選択的に」という用語は、ある集団において別の集団より高頻度で起こる傾向があることを意味する。比較される集団は細胞集団であってもよい。好ましくは、本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形は、癌または前癌性細胞に選択的に作用するが、正常な細胞には作用しない。好ましくは、本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形は、ある分子標的（たとえば、標的タンパク質メチルトランスフェラーゼ）を調節するが、別の分子標的（たとえば、非標的タンパク質メチルトランスフェラーゼ）をあまり調節しないように選択的に作用する。本発明はまた、酵素、たとえばEZH2の活性を選択的に阻害するための方法を提供する。好ましくは、あるイベントが集団Bと比較して集団Aで2倍を超える高い頻度で起こる場合、そのイベントは、集団Bに対して集団Aにおいて選択的に起こる。あるイベントが集団Aで5倍を超える高い頻度で起こる場合、そのイベントは選択的に起こる。あるイベントが集団Bと比較して集団Aで10倍を超える高い頻度で；一層好ましくは50倍を超える；なお一層好ましくは100倍を超える；最も好ましくは1000倍を超える高い頻度で集団Aで起こる場合、そのイベントは選択的に起こる。たとえば、細胞死は、正常な細胞と比較して癌細胞で2倍を超える頻度で起こる場合、癌細胞で選択的に起こるといえると考えられる。

【0089】

本発明の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、もしくは多形を、細胞またはそれを必要とする被験体に投与することは、EZH2の活性の調節（すなわち阻害）をもたらす得る。

【0090】

本発明の化合物、またはその薬学的に許容できる塩、溶媒和物、もしくは多形を、細胞またはそれを必要とする被験体に投与することは、EZH2の調節（すなわち阻害）をもたらす。

【0091】

活性化することは、組成物（例えば、タンパク質または核酸）を、所望の生物学的機能を実施するのに好適な状態にすることを指す。活性化されることが可能な組成物は、不活性化された状態も有する。活性化された組成物は、阻害性もしくは刺激性の生物学的機能または両方を有し得る。

【0092】

上昇とは、組成物（たとえば、タンパク質または核酸）の所望の生物活性の増加をいう。上昇は、組成物の濃度の増加により起きてもよい。

【0093】

本明細書に記載の任意の方法で使用することができる化合物（すなわち、EZH2阻害剤）は、下記式I：

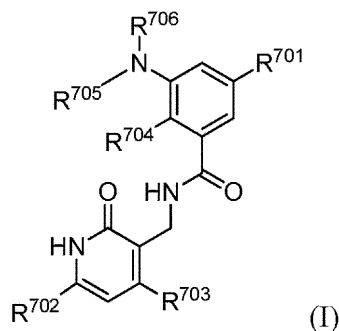
10

20

30

40

【化5】



10

(式中、

R^{701} は、H、F、OR⁷⁰⁷、NHR⁷⁰⁷、-(C-C)-(CH₂)_{n7}-R⁷⁰⁸、フェニル、5もしくは6員ヘテロアリール、C₃-₈シクロアルキルまたは1~3個のヘテロ原子を含有する4~7員ヘテロシクロアルキルであり、フェニル、5もしくは6員ヘテロアリール、C₃-₈シクロアルキルまたは4~7員ヘテロシクロアルキルは各々独立に、ハロ、C₁-₃アルキル、OH、O-C₁-₆アルキル、NH-C₁-₆アルキル、およびC₃-₈シクロアルキルまたは1~3個のヘテロ原子を含有する4~7員ヘテロシクロアルキルで置換されたC₁-₃アルキルから選択される1つまたは複数の基で任意選択的に置換されており、O-C₁-₆アルキルおよびNH-C₁-₆アルキルは各々、ヒドロキシル、O-C₁-₃アルキルまたはNH-C₁-₃アルキルで任意選択的に置換されており、O-C₁-₃アルキルおよびNH-C₁-₃アルキルは各々、O-C₁-₃アルキルまたはNH-C₁-₃アルキルで任意選択的にさらに置換されており；

20

R^{702} および R^{703} は各々独立に、H、ハロ、C₁-₄アルキル、C₁-₆アルコキシルまたはC₆-₁₀アリールオキシであり、各々は1つまたは複数のハロで任意選択的に置換されており；

R^{704} および R^{705} は各々独立にC₁-₄アルキルであり；

R^{706} はN(C₁-₄アルキル)₂で置換されたシクロヘキシルであり、C₁-₄アルキルの一方または両方はC₁-₆アルコキシで置換されており；あるいは R^{706} はテトラヒドロピラニルであり；

30

R^{707} は、ヒドロキシル、C₁-₄アルコキシ、アミノ、モノもしくはジC₁-₄アルキルアミノ、C₃-₈シクロアルキル、および1~3個のヘテロ原子を含有する4~7員ヘテロシクロアルキルから選択される1つまたは複数の基で任意選択的に置換されたC₁-₄アルキルであり、C₃-₈シクロアルキルまたは4~7員ヘテロシクロアルキルは各々独立に、C₁-₃アルキルでさらに任意選択的に置換されており；

R^{708} は、OH、ハロおよびC₁-₄アルコキシから選択される1つもしくは複数の基で任意選択的に置換されたC₁-₄アルキル、1~3個のヘテロ原子を含有する4~7員ヘテロシクロアルキルまたはO-C₁-₆アルキルであり、4~7員ヘテロシクロアルキルは、OHまたはC₁-₆アルキルで任意選択的にさらに置換することができ；かつ

n_7 は、0、1または2である)

40

またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形を有することができる。

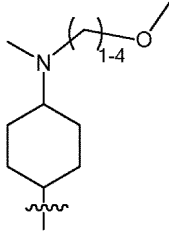
【0094】

たとえば、 R^{706} は、N(C₁-₄アルキル)₂で置換されたシクロヘキシルであり、C₁-₄アルキルの一方は置換されておらず、他方はメトキシで置換されている。

【0095】

たとえば、 R^{706} は、

【化6】



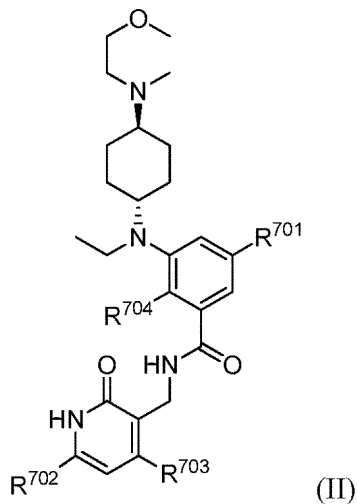
10

である。

【0096】

たとえば、化合物は、式 I I :

【化7】



(II)

20

である。

30

【0097】

たとえば、 R^{702} はメチルまたはイソプロピルであり、 R^{703} はメチルまたはメトキシルである。

【0098】

たとえば、 R^{704} はメチルである。

【0099】

たとえば、 R^{701} は OR^{707} であり、 R^{707} は OCH_3 またはモルホリンで任意選択的に置換された C_{1-3} アルキルである。

【0100】

たとえば、 R^{701} は H または F である。

40

【0101】

たとえば、 R^{701} は、テトラヒドロピラニル、フェニル、ピリジル、ピリミジル、ピラジニル、イミダゾリルまたはピラゾリルであり、その各々は、メチル、メトキシ、モルホリンで置換されたエチル、または $-OCH_2CH_2OCH_3$ で任意選択的に置換されている。

【0102】

たとえば、 R^{708} は、モルホリン、ピペリジン、ピペラジン、ピロリジン、ジアゼパンまたはアゼチジンであり、その各々は OH または C_{1-6} アルキルで任意選択的に置換されている。

【0103】

50

たとえば、 R^{708} はモルホリンである。

【0104】

たとえば、 R^{708} は C_{1-6} アルキルで置換されたピペラジンである。

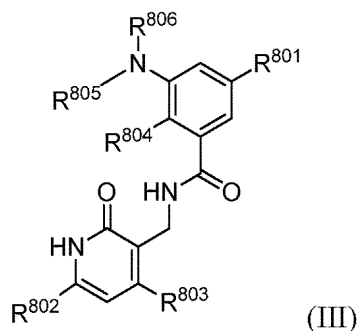
【0105】

たとえば、 R^{708} はメチル、*t*-ブチルまたは $C(CH_3)_2OH$ である。

【0106】

本明細書に記載の任意の方法で使用することができる化合物（すなわち、EZH2阻害剤）は、下記式 III :

【化8】



10

またはその薬学的に許容される塩を有することができる。

20

【0107】

この式では：

R^{801} は、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-8} シクロアルキル、1~3個のヘテロ原子を含有する4~7員ヘテロシクロアルキル、フェニルまたは5または6員ヘテロアリールであり、その各々は、 $O-C_{1-6}$ アルキル- R_x または $NH-C_{1-6}$ アルキル- R_x で置換されており、 R_x は、ヒドロキシル、 $O-C_{1-3}$ アルキルまたは $NH-C_{1-3}$ アルキルであり、 R_x は、 R_x がヒドロキシルである場合以外は、 $O-C_{1-3}$ アルキルまたは $NH-C_{1-3}$ アルキルで任意選択的にさらに置換されており；あるいは R^{801} は、 $-Q_2-T_2$ で置換されたフェニルであり、 Q_2 は、結合または八口、シアノ、ヒドロキシルもしくは C_{1-6} アルコキシで任意選択的に置換された C_{1-3} アルキルリンカーであり、 T_2 は、任意選択的に置換された4~12員ヘテロシクロアルキルであり；かつ R^{801} は任意選択的にさらに置換されており；

30

R^{802} および R^{803} は各々独立に、H、八口、 C_{1-4} アルキル、 C_{1-6} アルコキシルまたは C_{6-10} アリーロキシであり、各々は1つまたは複数の八口で任意選択的に置換されており；

R^{804} および R^{805} は各々独立に、 C_{1-4} アルキルであり；かつ

R^{806} は、 $-Q_x-T_x$ であり、 Q_x は、結合または C_{1-4} アルキルリンカーであり、 T_x は、H、任意選択的に置換された C_{1-4} アルキル、任意選択的に置換された C_{3-8} シクロアルキルまたは任意選択的に置換された4~14員ヘテロシクロアルキルである。

40

【0108】

たとえば、 Q_x および Q_2 は各々独立に、結合またはメチルリンカーであり、 T_x および T_2 は各々独立に、テトラヒドロピラニル、1、2もしくは3個の C_{1-4} アルキル基により置換されたピペリジニルまたは $N(C_{1-4} \text{アルキル})_2$ (C_{1-4} アルキルの一方または両方が C_{1-6} アルコキシで任意選択的に置換されている) により置換されたシクロヘキシルである。

【0109】

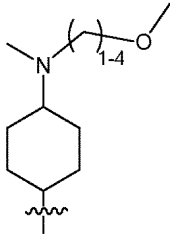
たとえば、 R^{806} は $N(C_{1-4} \text{アルキル})_2$ により置換されたシクロヘキシルであるか、または R^{806} はテトラヒドロピラニルである。

50

【0110】

たとえば、 R^{806} は、

【化9】



10

である。

【0111】

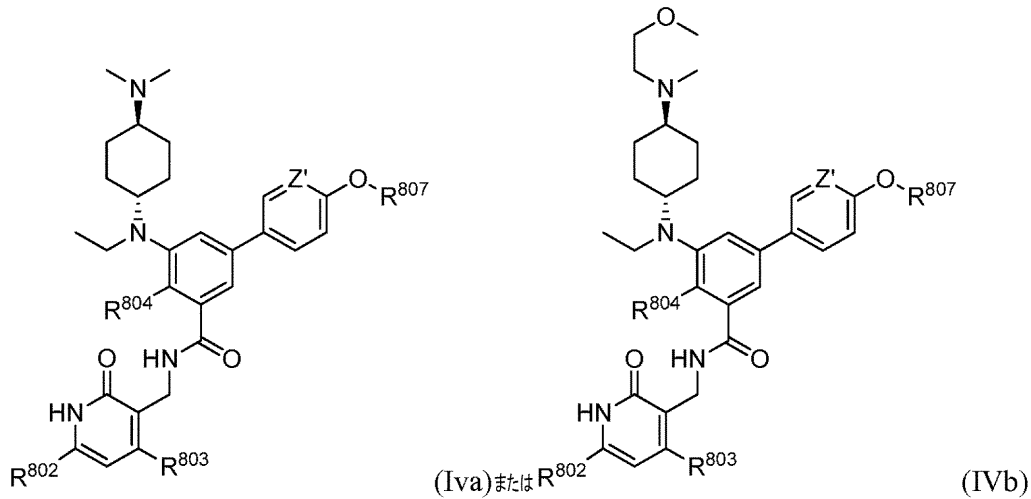
たとえば、 R^{801} は、 $O-C_{1-6}$ アルキル- R_x で置換されたフェニルまたは5もしくは6員ヘテロアリアルであり、あるいは R^{801} は、 CH_2 -テトラヒドロピラニルで置換されたフェニルである。

【0112】

たとえば、本発明の化合物は、式IVaまたはIVb：

【化10】

20



30

であり、式中、 Z' は CH または N であり、 R^{807} は C_{2-3} アルキル- R_x である。

【0113】

たとえば、 R^{807} は、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OCH_3$ または $-CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_3$ である。

【0114】

たとえば、 R^{802} はメチルまたはイソプロピルであり、 R^{803} はメチルまたはメトキシルである。

40

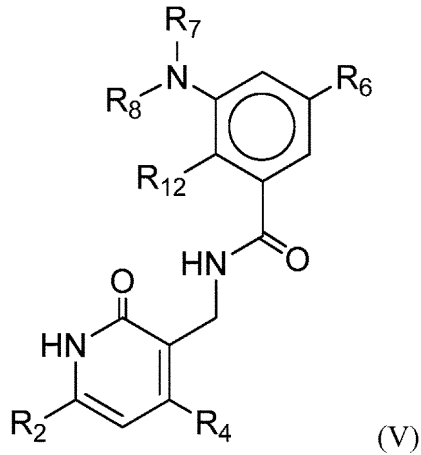
【0115】

たとえば、 R^{804} はメチルである。

【0116】

本発明の化合物は、下記式(V)：

【化 1 1】



10

またはその薬学的に許容される塩もしくはエステルを有することができる。

【0117】

この式では：

R_2 、 R_4 および R_{12} は各々独立に、 C_{1-6} アルキルであり；

R_6 は、 $C_6 \sim C_{10}$ アリールまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、その各々は、1つまたは複数の $-Q_2 - T_2$ で任意選択的に置換されており、 Q_2 は、結合または八口、シアノ、ヒドロキシルもしくは $C_1 \sim C_6$ アルコキシで任意選択的に置換された $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 T_2 は、H、八口、シアノ、 $-OR_a$ 、 $-NR_aR_b$ 、 $-(NR_aR_bR_c)^+A^-$ 、 $-C(O)R_a$ 、 $-C(O)OR_a$ 、 $-C(O)NR_aR_b$ 、 $-NR_bC(O)R_a$ 、 $-NR_bC(O)OR_a$ 、 $-S(O)_2R_a$ 、 $-S(O)_2NR_aR_b$ または R_{S2} であり、 R_a 、 R_b および R_c は各々独立に H または R_{S3} であり、 A^- は薬学的に許容されるアニオンであり、 R_{S2} および R_{S3} は各々独立に、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4～12員ヘテロシクロアルキルまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、あるいは R_a および R_b は、それらが結合する N 原子と共に互いに結合して、0 または 1 個の追加のヘテロ原子を有する 4～12員ヘテロシクロアルキル環を形成し、 R_{S2} 、 R_{S3} の各々、ならびに R_a および R_b により形成された 4～12員ヘテロシクロアルキル環は、1つまたは複数の $-Q_3 - T_3$ で任意選択的に置換されており、 Q_3 は、結合または各々が八口、シアノ、ヒドロキシルもしくは $C_1 \sim C_6$ アルコキシで任意選択的に置換された $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 T_3 は、八口、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4～12員ヘテロシクロアルキル、5 または 6 員ヘテロアリール、 OR_d 、 $COOR_d$ 、 $-S(O)_2R_d$ 、 $-NR_dR_e$ および $-C(O)NR_dR_e$ からなる群から選択され、 R_d および R_e は各々独立に H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、あるいは $-Q_3 - T_3$ はオキソであり；あるいは任意の 2 つの隣接する $-Q_2 - T_2$ は、それらが結合する原子と共に互いに結合して、N、O および S から選択される 1～4 個のヘテロ原子を任意選択的に含有し、かつ八口、ヒドロキシル、 $COOH$ 、 $C(O)O - C_1 \sim C_6$ アルキル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4～12員ヘテロシクロアルキルおよび 5 または 6 員ヘテロアリールからなる群から選択される 1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された 5 または 6 員環を形成し；

20

30

40

R_7 は、 $-Q_4 - T_4$ であり、 Q_4 は、結合、 $C_1 \sim C_4$ アルキルリンカーまたは $C_2 \sim C_4$ アルケニルリンカーであり、各リンカーは、八口、シアノ、ヒドロキシルまたは $C_1 \sim C_6$ アルコキシで任意選択的に置換されており、 T_4 は、H、八口、シアノ、 NR_fR_g 、 $-OR_f$ 、 $-C(O)R_f$ 、 $-C(O)OR_f$ 、 $-C(O)NR_fR_g$ 、 $-C(O)$

50

) NR_fOR_g 、 $-NR_fC(O)R_g$ 、 $-S(O)_2R_f$ または R_{S_4} であり、 R_f および R_g は各々独立に、 H または R_{S_5} であり、 R_{S_4} および R_{S_5} は各々独立に、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキルまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、かつ R_{S_4} および R_{S_5} は各々、1つまたは複数の $-Q_5 - T_5$ で任意選択的に置換されており、 Q_5 は、結合、 $C(O)$ 、 $C(O)NR_k$ 、 $NR_kC(O)$ 、 $S(O)_2$ または $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 R_k は、 H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、 T_5 は、 H 、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキル、5もしくは6員ヘテロアリールまたは $S(O)_qR_q$ であり、 q は、0、1または2であり、 R_q は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキルまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、 T_5 は、 H 、ハロ、ヒドロキシルまたはシアノである場合以外では、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキルおよび5もしくは6員ヘテロアリールからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されており；あるいは $-Q_5 - T_5$ はオキソであり；かつ

R_8 は、 H 、ハロ、ヒドロキシル、 $COOH$ 、シアノ、 R_{S_6} 、 OR_{S_6} または $COOR_{S_6}$ であり、 R_{S_6} は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノまたはジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノであり、かつ R_{S_6} は、ハロ、ヒドロキシル、 $COOH$ 、 $C(O)O - C_1 \sim C_6$ アルキル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノおよびジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されており；あるいは R_7 および R_8 は、それらが結合する N 原子と共に互いに結合して、0~2個の追加のヘテロ原子を有する $4 \sim 11$ 員ヘテロシクロアルキル環を形成し、かつ R_7 および R_8 により形成された $4 \sim 11$ 員ヘテロシクロアルキル環は、1つまたは複数の $-Q_6 - T_6$ で任意選択的に置換されており、 Q_6 は、結合、 $C(O)$ 、 $C(O)NR_m$ 、 $NR_mC(O)$ 、 $S(O)_2$ または $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 R_m は、 H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、 T_6 は、 H 、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキル、5もしくは6員ヘテロアリールまたは $S(O)_pR_p$ であり、 p は、0、1または2であり、 R_p は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキルまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、かつ T_6 は、 H 、ハロ、ヒドロキシルまたはシアノである場合以外では、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、 $4 \sim 12$ 員ヘテロシクロアルキルおよび5もしくは6員ヘテロアリールからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されており；あるいは $-Q_6 - T_6$ はオキソである。

【0118】

たとえば、 R_6 は、 $C_6 \sim C_{10}$ アリールまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、その各々は独立に、1つまたは複数の $-Q_2 - T_2$ で任意選択的に置換されており、 Q_2 は、結合または $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 T_2 は、 H 、ハロ、シアノ、 $-OR_a$ 、 $-NR_aR_b$ 、 $-(NR_aR_bR_c)^+A^-$ 、 $-C(O)NR_aR_b$ 、 $-NR_bC(O)R_a$ 、 $-S(O)_2R_a$ または R_{S_2} であり、 R_a および R_b は各々独立に、 H または R_{S_3} であり、 R_{S_2} および R_{S_3} は各々独立に、 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、ある

10

20

30

40

50

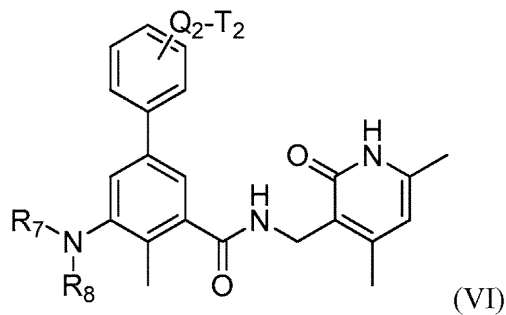
いは R_a および R_b は、それらが結合する N 原子と共に互いに結合して、0 または 1 個の追加のヘテロ原子を有する 4 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル環を形成し、かつ R_{S2} 、 R_{S3} 、ならびに R_a および R_b により形成された 4 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル環は各々独立に、1 つまたは複数の $-Q_3 - T_3$ で任意選択的に置換されており、 Q_3 は、結合または $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 T_3 は、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、4 ~ 7 員ヘテロシクロアルキル、 OR_d 、 $-S(O)_2 R_d$ および $-NR_d R_e$ からなる群から選択され、 R_d および R_e は各々独立に、H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、あるいは $-Q_3 - T_3$ はオキソであり；あるいは任意の 2 つの隣接する $-Q_2 - T_2$ は、それらが結合する原子と共に互いに結合して、N、O および S から選択される 1 ~ 4 個のヘテロ原子を任意選択的に含有する 5 もしくは 6 員環を形成する。

10

【0119】

たとえば、本発明の化合物は、式 (VI) :

【化12】



20

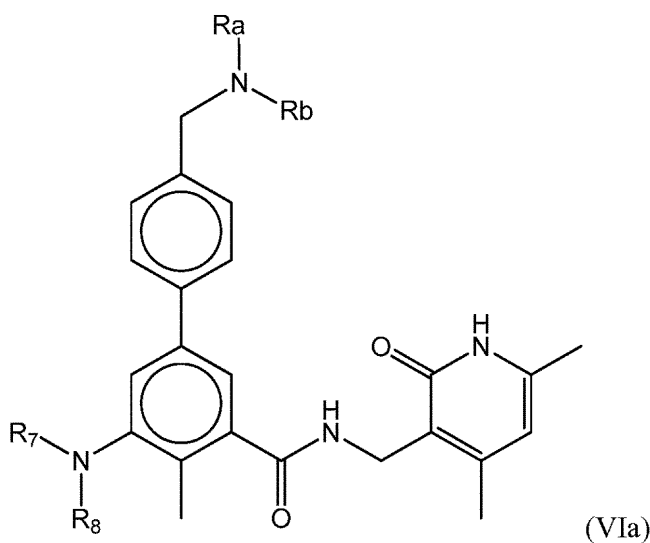
またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 Q_2 は、結合またはメチルリンカーであり、 T_2 は、H、ハロ、 $-OR_a$ 、 $-NR_a R_b$ 、 $-(NR_a R_b R_c)^+ A^-$ または $-S(O)_2 NR_a R_b$ であり、 R_7 は、ピペリジニル、テトラヒドロピラン、シクロペンチルまたはシクロヘキシルであり、各々は、1 つの $-Q_5 - T_5$ で任意選択的に置換されており、かつ R_8 は、エチルである。

【0120】

本発明の化合物は、下記式 (VIa) :

30

【化13】



40

(式中、

R_a および R_b は各々独立に、H または R_{S3} であり、 R_{S3} は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4 ~ 12 員ヘテロシクロアルキル

50

または5もしくは6員ヘテロアリールであり、あるいは R_a および R_b は、それらが結合するN原子と共に互いに結合して、0または1個の追加のヘテロ原子を有する4~12員ヘテロシクロアルキル環を形成し、かつ R_{s3} ならびに R_a および R_b により形成された4~12員ヘテロシクロアルキル環は各々、1つまたは複数の $-Q_3-T_3$ で任意選択的に置換されており、 Q_3 は、結合、または各々がハロ、シアノ、ヒドロキシルもしくは $C_1 \sim C_6$ アルコキシで任意選択的に置換された $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 T_3 は、ハロ、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4~12員ヘテロシクロアルキル、5もしくは6員ヘテロアリール、 OR_d 、 $COOR_d$ 、 $-S(O)_2R_d$ 、 $-NR_dR_e$ および $-C(O)NR_dR_e$ からなる群から選択され、 R_d および R_e は各々独立に、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、あるいは $-Q_3-T_3$ は、オキソであり；

R_7 は、 $-Q_4-T_4$ であり、 Q_4 は、結合、 $C_1 \sim C_4$ アルキルリンカーまたは $C_2 \sim C_4$ アルケニルリンカーであり、各リンカーは、ハロ、シアノ、ヒドロキシルまたは $C_1 \sim C_6$ アルコキシで任意選択的に置換されており、 T_4 は、H、ハロ、シアノ、 NR_f 、 R_g 、 $-OR_f$ 、 $-C(O)R_f$ 、 $-C(O)OR_f$ 、 $-C(O)NR_fR_g$ 、 $-C(O)NR_fOR_g$ 、 $-NR_fC(O)R_g$ 、 $-S(O)_2R_f$ または R_{s4} であり、 R_f および R_g は各々独立に、Hまたは R_{s5} であり、 R_{s4} および R_{s5} は各々独立に、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4~7員ヘテロシクロアルキルまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、かつ R_{s4} および R_{s5} は各々、1つまたは複数の $-Q_5-T_5$ で任意選択的に置換されており、 Q_5 は、結合、 $C(O)$ 、 $C(O)NR_k$ 、 $NR_kC(O)$ 、 $S(O)_2$ または $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 R_k は、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、 T_5 は、H、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4~7員ヘテロシクロアルキル、5もしくは6員ヘテロアリールまたは $S(O)_qR_q$ であり、 q は、0、1または2であり、 R_q は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4~7員ヘテロシクロアルキルまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、 T_5 は、H、ハロ、ヒドロキシルまたはシアノである場合以外では、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4~7員ヘテロシクロアルキルおよび5もしくは6員ヘテロアリールからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されており；あるいは $-Q_5-T_5$ はオキソであり；ただし、 R_7 はHではなく；かつ

R_8 は、H、ハロ、ヒドロキシル、 $COOH$ 、シアノ、 R_{s6} 、 OR_{s6} または $COOR_{s6}$ であり、 R_{s6} は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アルケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノまたはジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノであり、かつ R_{s6} は、ハロ、ヒドロキシル、 $COOH$ 、 $C(O)O-C_1 \sim C_6$ アルキル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノおよびジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されており；あるいは R_7 および R_8 は、それらが結合するN原子と共に互いに結合して、0~2個の追加のヘテロ原子を有し、かつ1つまたは複数の $-Q_6-T_6$ で任意選択的に置換された4~11員ヘテロシクロアルキル環を形成し、 Q_6 は、結合、 $C(O)$ 、 $C(O)NR_m$ 、 $NR_mC(O)$ 、 $S(O)_2$ または $C_1 \sim C_3$ アルキルリンカーであり、 R_m は、Hまたは $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、 T_6 は、H、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4~7員ヘテロシクロアルキル、5もしくは6員ヘテロアリールまたは $S(O)_pR_p$ であり、 p は、0、1または2であり、 R_p は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_2 \sim C_6$ アル

10

20

30

40

50

ケニル、 $C_2 \sim C_6$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4～7員ヘテロシクロアルキルまたは5もしくは6員ヘテロアリールであり、かつ T_6 は、H、ハロ、ヒドロキシルまたはシアノである場合以外では、ハロ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、ヒドロキシル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、ジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_6 \sim C_{10}$ アリール、4～7員ヘテロシクロアルキルおよび5もしくは6員ヘテロアリールからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換されており；あるいは $-Q_6 - T_6$ はオキソである)

を有することができる。

【0121】

たとえば、 R_a および R_b は、それらが結合するN原子と共に互いに結合して、N原子に加えて0または1個のヘテロ原子を有する4～7員ヘテロシクロアルキル環を形成し、この環は、1つまたは複数の $-Q_3 - T_3$ で任意選択的に置換されており、ヘテロシクロアルキルは、アゼチジニル、ピロリジニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、トリアゾリジニル、ピペリジニル、1,2,3,6-テトラヒドロピリジニル、ピペラジニルまたはモルホリニルである。

【0122】

たとえば、 R_7 は、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルまたは4～7員ヘテロシクロアルキルであり、各々は、1つまたは複数の $-Q_5 - T_5$ で任意選択的に置換されている。

【0123】

たとえば、 R_7 は、ピペリジニル、テトラヒドロピラン、テトラヒドロ-2H-チオピラニル、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピロリジニルまたはシクロヘプチルであり、各々は、1つまたは複数の $-Q_5 - T_5$ で任意選択的に置換されている。

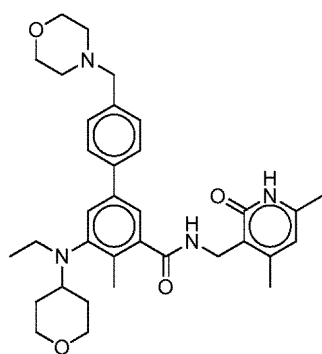
【0124】

たとえば、 R_8 は、H、またはハロ、ヒドロキシル、 $COOH$ 、 $C(O)O - C_1 \sim C_6$ アルキル、シアノ、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノおよびジ $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノからなる群から選択される1つまたは複数の置換基で任意選択的に置換された $C_1 \sim C_6$ アルキルである。

【0125】

実施形態では、本明細書に示す任意の方法で使用することができる化合物は、

【化14】



(化合物A、E7438またはEPZ-6438とも呼ばれる)またはその薬学的に許容される塩である。

【0126】

実施形態では、本明細書に示す任意の方法で使用することができる化合物は、

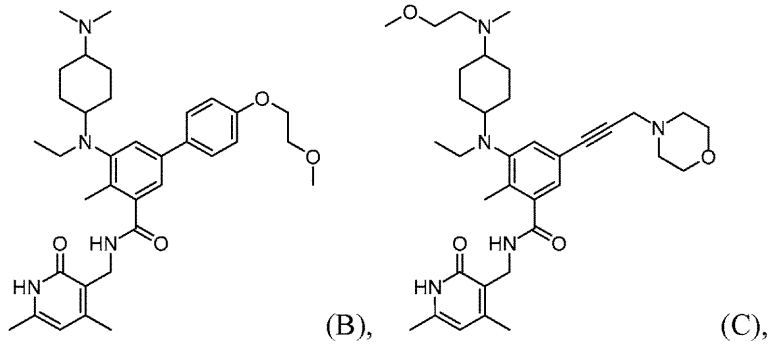
10

20

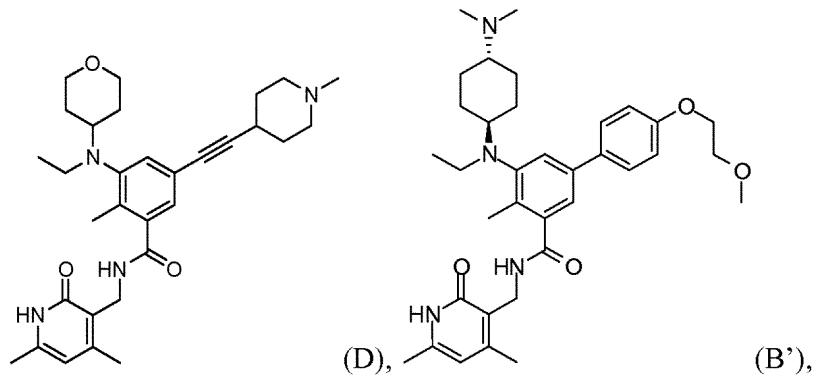
30

40

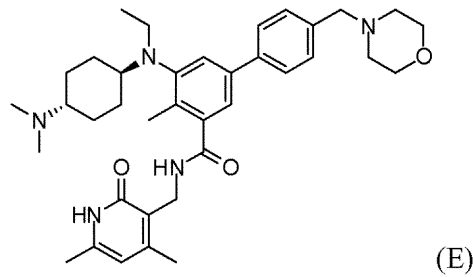
【化 1 5】



10



20



およびその薬学的に許容される塩である。

30

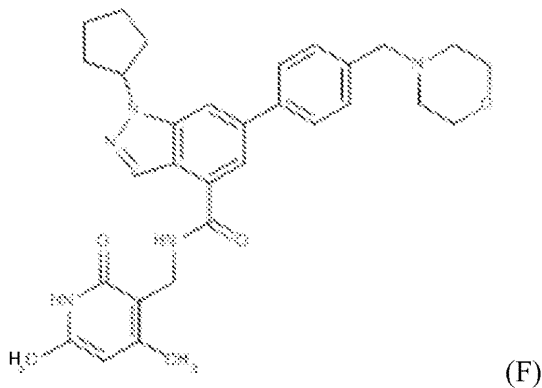
【0127】

あるいは、EZH2阻害剤は、化合物BおよびC、それらの立体異性体、ならびにそれらの薬学的に許容される塩からなる群から選択される。

【0128】

実施形態では、本明細書に示す任意の方法で使用することができる化合物は、化合物F

【化 1 6】



40

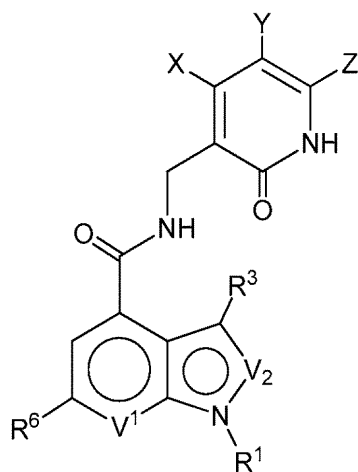
またはその薬学的に許容される塩である。

50

【 0 1 2 9 】

実施形態では、本発明の方法で使用するのに適した化合物は、式 (VII) の化合物：

【 化 1 7 】



(VII)

10

(式中、

20

V¹は、NまたはCR⁷であり、V²は、NまたはCR²であるが、V¹がNである場合、V²はNであり、

XおよびZは独立に、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₂~C₈)アルケニル、(C₂~C₈)アルキニル、非置換または置換(C₃~C₈)シクロアルキル、非置換または置換(C₃~C₈)シクロアルキル-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、非置換または置換(C₅~C₈)シクロアルケニル、非置換または置換(C₅~C₈)シクロアルケニル-アルキル(C₁~C₈)または-(C₂~C₈)アルケニル、(C₆~C₁₀)ピシクロアルキル、非置換または置換ヘテロシクロアルキル、非置換または置換ヘテロシクロアルキル-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、非置換または置換アリール、非置換または置換アリール-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、非置換または置換ヘテロアリール、非置換または置換ヘテロアリール-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、八口、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-CONR^aNR^aR^b、-SR^a、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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、-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および-OC(O)NR^aR^bからなる群から選択され；

30

YはHまたは八口であり；

R¹は、(C₁~C₈)アルキル、(C₂~C₈)アルケニル、(C₂~C₈)アルキニル、非置換または置換(C₃~C₈)シクロアルキル、非置換または置換(C₃~C₈)シクロアルキル-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、非置換または置換(C₅~C₈)シクロアルケニル、非置換または置換(C₅~C₈)シクロアルケニル-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、非置換または置換(C₆~C₁₀)ピシクロアルキル、非置換または置換ヘテロシクロアルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、非置換または置換ヘテロシクロアルキル-アルキル(C₁~C₈)、非置換または置換アリール、非置換または置換アリール-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、非置換または置換ヘテロアリール、非置換または置換ヘテロアリール-(C₁~C₈)アルキルまたは-(C₂~C₈)アルケニル、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-CONR^aNR^aR^b；

40

50

R² は、水素、(C₁ ~ C₈) アルキル、トリフルオロメチル、アルコキシ、またはハロゲンであり、前記(C₁ ~ C₈) アルキルは、アミノおよび(C₁ ~ C₃) アルキルアミノから選択される1 ~ 2個の基で任意選択的に置換されており；

R⁷ は、水素、(C₁ ~ C₃) アルキルまたはアルコキシであり；

R³ は、水素、(C₁ ~ C₈) アルキル、シアノ、トリフルオロメチル、-NR^aR^bまたはハロゲンであり；

R⁶ は、水素、ハロゲン、(C₁ ~ C₈) アルキル、(C₂ ~ C₈) アルケニル、(C₂ ~ C₈) アルキニル、非置換または置換(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、非置換または置換(C₃ ~ C₈) シクロアルケニル、非置換または置換(C₅ ~ C₈) シクロアルケニル、非置換または置換(C₅ ~ C₈) シクロアルケニル - (C₁ ~ C₈) アルキル、(C₆ ~ C₁₀) ビシクロアルキル、非置換または置換ヘテロシクロアルキル、非置換または置換ヘテロシクロアルケニル、非置換または置換ヘテロシクロアルケニル - (C₁ ~ C₈) アルキル、非置換または置換アリール、非置換または置換アリール - (C₁ ~ C₈) アルキル、非置換または置換ヘテロアリール、非置換または置換ヘテロアリール - (C₁ ~ C₈) アルキル、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-CONR^aNR^aR^b、-SR^a、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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、-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 からなる群から選択され；

任意の(C₁ ~ C₈) アルキル、(C₂ ~ C₈) アルケニル、(C₂ ~ C₈) アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ビシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール基は、-O(C₁ ~ C₆) アルキル(R^c)₁₋₂、-S(C₁ ~ C₆) アルキル(R^c)₁₋₂、-(C₁ ~ C₆) アルキル(R^c)₁₋₂、-(C₁ ~ C₈) アルキル - ヘテロシクロアルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル - ヘテロシクロアルケニル、ハロゲン、(C₁ ~ C₆) アルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、(C₅ ~ C₈) シクロアルケニル、(C₁ ~ C₆) ハロアルキル、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-SR^a、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリール(C₁ ~ C₄) アルキルおよびヘテロアリール(C₁ ~ C₄) アルキルからなる群から独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に置換されており；

前記アリール、ヘテロアリール、アリール(C₁ ~ C₄) アルキルまたはヘテロアリール(C₁ ~ C₄) アルキルの任意のアリールまたはヘテロアリール部分は独立に、ハロゲン、(C₁ ~ C₆) アルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、(C₅ ~ C₈) シクロアルケニル、(C₁ ~ C₆) ハロアルキル、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-SR^a、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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 および -OC(O)NR^aR^b からなる群から選択され；

R^a および R^b は各々独立に、水素、(C₁ ~ C₈) アルキル、(C₂ ~ C₈) アルケニル、(C₂ ~ C₈) アルキニル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、(C₅ ~ C₈) シクロアルケニル、(C₆ ~ C₁₀) ビシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリールであり、前記(C₁ ~ C₈) アルキル、(C₂ ~ C₈) アルケニル、(C₂ ~ C₈) アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ビシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール基は、ハロゲン、ヒドロキシル、(C₁ ~ C₄) アルコキシ、アミノ、(C₁ ~ C₄) アルキルアミノ、((C₁ ~ C₄) アルキル)(C₁ ~ C₄) アルキル)アミノ、-CO₂H、-CO₂(C₁ ~ C₄) アルキル

10

20

30

40

50

、 $-CONH_2$ 、 $-CONH(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $-CON((C_1 \sim C_4)$ アルキル) $(C_1 \sim C_4)$ アルキル)、 $-SO_2(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_1 \sim C_4)$ アルキルおよび $SO_2N((C_1 \sim C_4)$ アルキル) $(C_1 \sim C_4)$ アルキル)から独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に置換されており；

あるいはそれらが結合する窒素と共に互いに結合した R^a および R^b は、酸素、窒素およびイオウから選択される追加のヘテロ原子を任意選択的に含有する5～8員の飽和または不飽和環を表し、前記環は、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、アミノ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルアミノ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル) $(C_1 \sim C_4)$ アルキル)アミノ、ヒドロキシル、オキソ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシおよび $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ $(C_1 \sim C_4)$ アルキルから独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に置換されており、前記環は、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール環に任意選択的に融合されており；

あるいはそれらが結合する窒素と共に互いに結合した R^a および R^b は、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール環に任意選択的に融合した6～10員の架橋二環式環系を表し；

R^c は各々独立に、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルアミノ、 $-NR^aSO_2R^b$ 、 $-SOR^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-NR^aC(O)OR^a$ 、 $-NR^aR^b$ または $-CO_2R^a$ である)またはその塩を含む。

【0130】

式(I)の一般構造により包含される化合物のサブグループは、以下のように表される：

式(VII)のサブグループA

XおよびZは、 $(C_3 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_8)$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、 $-NR^aR^b$ および $-OR^a$ からなる群から選択され；

YはHまたはFであり；

R^1 は、 $(C_3 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_8)$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールおよびヘテロアリールからなる群から選択され；

R^2 は、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、トリフルオロメチル、アルコキシまたはハロであり、前記 $(C_1 \sim C_8)$ アルキルは、アミノおよび $(C_1 \sim C_3)$ アルキルアミノから選択される1～2個の基で任意選択的に置換されており；

R^7 は、水素、アルキル $(C_1 \sim C_3)$ またはアルコキシであり；

R^3 は、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、シアノ、トリフルオロメチル、 $-NR^aR^b$ およびハロからなる群から選択され；

R^6 は、水素、ハロ、シアノ、トリフルオロメチル、アミノ、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル；アリール、ヘテロアリール、アシルアミノ； $(C_2 \sim C_8)$ アルキニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキニル； $-SO_2R^a$ ； $-SO_2NR^aR^b$ および $-NR^aSO_2R^b$ からなる群から選択され；

任意の $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_2 \sim C_8)$ アルキニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキニル基は、 $-O(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(R^c)_{1-2}$ 、 $-S(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(R^c)_{1-2}$ 、 $-(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(R^c)_{1-2}$ 、 $-(C_1 \sim C_8)$ アルキル-ヘテロシクロアルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル-ヘテロシクロアルキル、ハロ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_5 \sim C_8)$ シクロアルケニル、 $(C_1 \sim C_6)$ ハロアルキル、シアノ、 $-COR^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-CONR^aR^b$ 、 $-SR^a$ 、 $-SOR^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ 、ニトロ、 $-NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)R^b$ 、 $-NR^aC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)OR^a$ 、 $-NR^aSO_2R^b$ 、 $-NR^aSO_2NR^aR^b$ 、 $-OR^a$ 、 $-OC(O)R^a$ 、 $-OC(O)NR^aR^b$ 、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリール $(C_1 \sim C_4)$ アルキルおよびヘテロアリ

10

20

30

40

50

ール ($C_1 \sim C_4$) アルキルから独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に置換されており；

R^a および R^b は各々独立に、水素、($C_1 \sim C_8$) アルキル、($C_2 \sim C_8$) アルケニル、($C_2 \sim C_8$) アルキニル、($C_3 \sim C_8$) シクロアルキル、($C_5 \sim C_8$) シクロアルケニル、($C_6 \sim C_{10}$) ビシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリールであり、前記 ($C_1 \sim C_8$) アルキル、($C_2 \sim C_8$) アルケニル、($C_2 \sim C_8$) アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ビシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール基は、ハロ、ヒドロキシル、($C_1 \sim C_4$) アルコキシ、アミノ、($C_1 \sim C_4$) アルキルアミノ、($(C_1 \sim C_4)$ アルキル) ($(C_1 \sim C_4)$ アルキル) アミノ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2$ ($C_1 \sim C_4$) アルキル、 $-CONH_2$ 、 $-CONH$ ($C_1 \sim C_4$) アルキル、 $-CON$ ($(C_1 \sim C_4)$ アルキル) ($(C_1 \sim C_4)$ アルキル)、 $-SO_2$ ($C_1 \sim C_4$) アルキル、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH$ ($C_1 \sim C_4$) アルキルおよび $-SO_2N$ ($(C_1 \sim C_4)$ アルキル) ($(C_1 \sim C_4)$ アルキル) から独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に置換されており；

あるいはそれらが結合する窒素と共に互いに結合した R^a および R^b は、酸素、窒素およびイオウから選択される追加のヘテロ原子を任意選択的に含有する5～8員の飽和または不飽和環を表し、前記環は、($C_1 \sim C_4$) アルキル、($C_1 \sim C_4$) ハロアルキル、アミノ、($C_1 \sim C_4$) アルキルアミノ、($(C_1 \sim C_4)$ アルキル) ($(C_1 \sim C_4)$ アルキル) アミノ、ヒドロキシル、オキソ、($C_1 \sim C_4$) アルコキシおよび ($C_1 \sim C_4$) アルコキシ ($C_1 \sim C_4$) アルキルから独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に選択され、前記環は、($C_3 \sim C_8$) シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール環に任意選択的に融合しており；

あるいはそれらが結合する窒素と共に互いに結合した R^a および R^b は、($C_3 \sim C_8$) シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール環に任意選択的に融合した6～10員の架橋二環式環系を表す。この特定のサブグループAのアリールまたはヘテロアリール基は、フラン、チオフェン、ピロール、オキサゾール、チアゾール、イミダゾール、ピラゾール、オキサジアゾール、チアジアゾール、トリアゾール、テトラゾール、ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、ベンゾキサゾール、ベンゾチアゾール、フェニル、ピリジン、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、トリアジン、テトラジン、キノリン、シンノリン、キナゾリン、キノキサリン、およびナフチリジン、または下記のような別のアリールもしくはヘテロアリール基からなる群から独立に選択される：

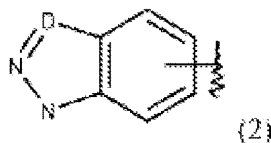
【化18】



(1) では、

AはO、NHもしくはSであり；BはCHもしくはNであり、Cは水素もしくは $C_1 \sim C_8$ アルキルであり；または

【化19】

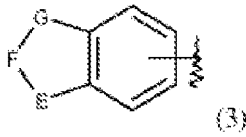


(2) では、

Dは水素もしくは $C_1 \sim C_8$ アルキルにより任意選択的に置換されたNもしくはCであ

り；または

【化 2 0】

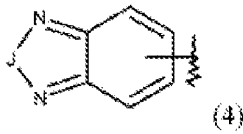


(3)では、

EはNHもしくはCH₂であり；FはOもしくはCOであり；GはNHもしくはCH₂であり；または

10

【化 2 1】

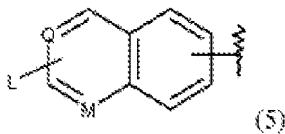


(4)では、

JはO、SもしくはCOであり；または

20

【化 2 2】



(5)では、

QはCHもしくはNであり；

MはCHもしくはNであり；かつ

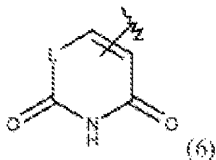
30

L / (5)は、水素、ハロ、アミノ、シアノ、(C₁ ~ C₈)アルキル、(C₃ ~ C₈)シクロアルキル、-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もしくは-OR^aであり、

任意の(C₁ ~ C₈)アルキルもしくは(C₃ ~ C₈)シクロアルキル基は、(C₁ ~ C₆)アルキル、(C₃ ~ C₈)シクロアルキル、(C₅ ~ C₈)シクロアルケニル、(C₁ ~ C₆)ハロアルキル、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-SR^a、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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および-OC(O)NR^aR^bから独立に選択される1つ、2つもしくは3つの基により任意選択的に置換されており；R^aおよびR^bは上記のように定義され；または

40

【化 2 3】



50

(6) では、

L / (6) は NH もしくは CH_2 であり ; または

【化 24】



(7) では、

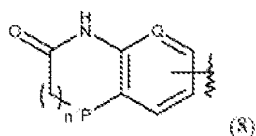
10

M / (7) は、水素、ハロ、アミノ、シアノ、($\text{C}_1 \sim \text{C}_8$) アルキル、($\text{C}_3 \sim \text{C}_8$) シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、 $-\text{COR}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{CONR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{CONR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ もしくは $-\text{OR}^a$ であり、

任意の ($\text{C}_1 \sim \text{C}_8$) アルキル、($\text{C}_3 \sim \text{C}_8$) シクロアルキル もしくは ヘテロシクロアルキル 基は、($\text{C}_1 \sim \text{C}_6$) アルキル、($\text{C}_3 \sim \text{C}_8$) シクロアルキル、($\text{C}_5 \sim \text{C}_8$) シクロアルケニル、($\text{C}_1 \sim \text{C}_6$) ハロアルキル、シアノ、 $-\text{COR}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{CONR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SR}^a$ 、 $-\text{SOR}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、ニトロ、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{OR}^a$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{OR}^a$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^a$ および $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$ から独立に選択される 1 つ、2 つ もしくは 3 つ の基により任意選択的に置換されており ; R^a および R^b は上記のように定義され ; または

20

【化 25】

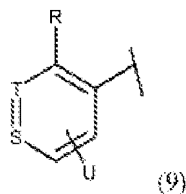


30

(8) では、

P は CH_2 、NH、O もしくは S であり ; Q / (8) は CH もしくは N であり ; n は 0 ~ 2 であり ; または

【化 26】



40

(9) では、

S / (9) および T / (9) は C であるか、もしくは S / (9) は C でありかつ T / (9) は N であるか、もしくは S / (9) は N でありかつ T / (9) は C であり ;

R は、水素、アミノ、メチル、トリフルオロメチル もしくは ハロ であり ;

U は、水素、ハロ、アミノ、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、($\text{C}_1 \sim \text{C}_8$) アルキル、($\text{C}_3 \sim \text{C}_8$) シクロアルキル、 $-\text{COR}^a$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{CONR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^a$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{SO}_2\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{R}^b$ 、 $-\text{NR}^a\text{NR}^a\text{C}(\text{O})$

50

R^b 、 $-OR^a$ もしくは $4 - (1H - \text{ピラゾール} - 4 - y1)$ であり、

任意の $(C_1 \sim C_8)$ アルキルもしくは $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル基は、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_5 \sim C_8)$ シクロアルケニル、 $(C_1 \sim C_6)$ ハロアルキル、シアノ、 $-COR^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-CONR^aR^b$ 、 $-SR^a$ 、 SOR^a 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ 、ニトロ、 $-NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)R^b$ 、 $-NR^aC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)OR^a$ 、 $-NR^aSO_2R^b$ 、 $-NR^aSO_2NR^aR^b$ 、 $-OR^a$ 、 $-OC(O)R^a$ および $-OC(O)NR^aR^b$ から独立に選択される1つ、2つもしくは3つの基により任意選択的に置換されており； R^a および R^b は上記のように定義される。

【0131】

式(VII)のサブグループB

X および Z は、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、 $-NR^aR^b$ および $-OR^a$ からなる群から独立に選択され；

Y は H であり；

R^1 は、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルであり；

R^2 は、水素、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたはハロであり、前記 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルは、アミノおよび $(C_1 \sim C_3)$ アルキルアミノから選択される1~2個の基により任意選択的に置換されており；

R^7 は、水素、 $(C_1 \sim C_3)$ アルキルまたはアルコキシであり；

R^3 は、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキルまたはハロであり；

R^6 は、水素、ハロ、シアノ、トリフルオロメチル、アミノ、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アシルアミノ； $(C_2 \sim C_8)$ アルキニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキニル、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ または $-NR^aSO_2R^b$ であり；

任意の $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_2 \sim C_8)$ アルキニル、アリールアルキニルまたはヘテロアリールアルキニル基は、ハロ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_5 \sim C_8)$ シクロアルケニル、 $(C_1 \sim C_6)$ ハロアルキル、シアノ、 $-COR^a$ 、 $-CO_2R^a$ 、 $-CONR^aR^b$ 、 $-SR^a$ 、 $-SOR^a$ 、 $-SO_2R^a$ 、 $-SO_2NR^aR^b$ 、ニトロ、 $-NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)R^b$ 、 $-NR^aC(O)NR^aR^b$ 、 $-NR^aC(O)OR^a$ 、 $-NR^aSO_2R^b$ 、 $-NR^aSO_2NR^aR^b$ 、 $-OR^a$ 、 $-OC(O)R^a$ 、 $-OC(O)NR^aR^b$ 、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アリール $(C_1 \sim C_4)$ アルキルおよびヘテロアリール $(C_1 \sim C_4)$ アルキルから独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に置換されており；

R^a および R^b は各々独立に、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_8)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_8)$ アルキニル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_5 \sim C_8)$ シクロアルケニル、 $(C_6 \sim C_{10})$ ビシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリールであり、前記 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_8)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_8)$ アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ビシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール基は、ハロ、ヒドロキシル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、アミノ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルアミノ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル $(C_1 \sim C_4)$ アルキルアミノ、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $-CONH_2$ 、 $-CONH(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $-CON(C_1 \sim C_4)$ アルキル $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $-SO_2(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_1 \sim C_4)$ アルキルおよび $-SO_2N(C_1 \sim C_4)$ アルキル $(C_1 \sim C_4)$ アルキル から独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に置換されており；

あるいはそれらが結合する窒素と共に互いに結合した R^a および R^b は、酸素、窒素お

10

20

30

40

50

よびイオウから選択される追加のヘテロ原子を任意選択的に含有する5～8員の飽和または不飽和環を表し、前記環は、(C₁～C₄)アルキル、(C₁～C₄)ハロアルキル、アミノ、(C₁～C₄)アルキルアミノ、((C₁～C₄)アルキル)((C₁～C₄)アルキル)アミノ、ヒドロキシル、オキソ、(C₁～C₄)アルコキシおよび(C₁～C₄)アルコキシ(C₁～C₄)アルキルから独立に選択される1つ、2つまたは3つの基により任意選択的に選択されており、前記環は、(C₃～C₈)シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリアルまたはヘテロアリアル環に任意選択的に融合しており；

あるいはそれらが結合する窒素と共に互いに結合したR^aおよびR^bは、(C₃～C₈)シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリアルまたはヘテロアリアル環に任意選択的に融合した6～10員の架橋二環式環系を表す。この定義におけるアリアルおよびヘテロアリアルは、フラン、チオフェン、ピロール、オキサゾール、チアゾール、イミダゾール、ピラゾール、オキサジアゾール、チアジアゾール、トリアゾール、テトラゾール、ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、ベンゾキサゾール、ベンゾチアゾール、フェニル、ピリジン、ピリダジン、ピリミジン、ピラジン、トリアジン、テトラジン、キノリン、シンノリン、キナゾリン、キノキサリンおよびナフチリジン、または以下のような別のアリアルもしくはヘテロアリアル基の化合物からなる群から選択される：

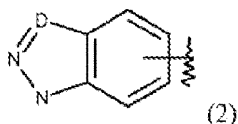
【化27】



(1)では、

AはO、NHもしくはSであり；BはCHもしくはNであり、Cは水素もしくはC₁～C₈アルキルであり；または

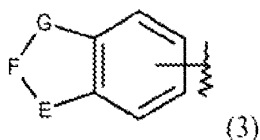
【化28】



(2)では、

Dは、水素もしくはC₁～C₈アルキルにより任意選択的に置換されたNもしくはCであり；または

【化29】



(3)では、

EはNHもしくはCH₂であり；FはOもしくはCOであり；GはNHもしくはCH₂であり；または

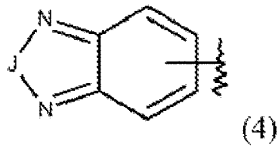
10

20

30

40

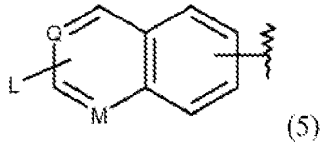
【化30】



(4)では、

JはO、SもしくはCOであり；または

【化31】



(5)では、

QはCHもしくはNであり；

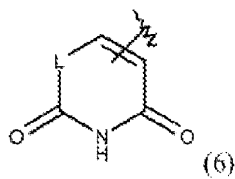
MはCHもしくはNであり；かつ

L / (5)は、水素、ハロ、アミノ、シアノ、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、-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もしくは-OR^aであり、

任意の(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル基は、(C₁~C₆)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₅~C₈)シクロアルケニル、(C₁~C₆)ハロアルキル、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-SR^a、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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および-OC(O)NR^aR^bから独立に選択される1つ、2つもしくは3つの基により任意選択的に置換されており、

R^aおよびR^bは上記のように定義され；または

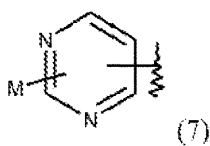
【化32】



(6)では、

L / (6)はNHもしくはCH₂であり；または

【化33】



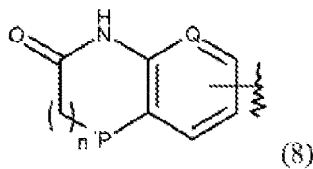
(7)では、

M / (7) は、水素、ハロ、アミノ、シアノ、(C₁ ~ C₈) アルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、-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 もしくは -OR^a であり、

任意の(C₁ ~ C₈) アルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル基は、(C₁ ~ C₆) アルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、(C₅ ~ C₈) シクロアルケニル、(C₁ ~ C₆) ハロアルキル、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-SR^a、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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 から独立に選択される1つ、2つもしくは3つの基により任意選択的に置換されており；R^a および R^b は上記のように定義され；または

10

【化34】

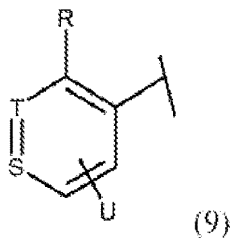


20

(8) では、

P は CH₂、NH、O もしくは S であり；Q / (8) は CH もしくは N であり；n は 0 ~ 2 であり；または

【化35】



30

(9) では、

S / (9) および T / (9) は C であるか、もしくは S / (9) は C でありかつ T / (9) は N であるか、もしくは S / (9) は N でありかつ T / (9) は C であり；

R は、水素、アミノ、メチル、トリフルオロメチル、ハロであり；

U は、水素、ハロ、アミノ、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、(C₁ ~ C₈) アルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、-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 もしくは 4-(1H-ピラゾール-4-イル) であり、

40

任意の(C₁ ~ C₈) アルキルもしくは(C₃ ~ C₈) シクロアルキル基は、(C₁ ~ C₆) アルキル、(C₃ ~ C₈) シクロアルキル、(C₅ ~ C₈) シクロアルケニル、(C₁ ~ C₆) ハロアルキル、シアノ、-COR^a、-CO₂R^a、-CONR^aR^b、-SOR^a、-SO₂R^a、-SO₂NR^aR^b、ニトロ、-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 および -OC(O)NR^aR^b から独立に選択される1つ、2つもしくは3つの基により任意選択的に置換されており

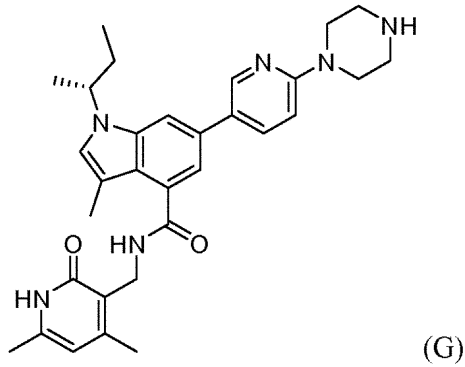
50

、 R^a および R^b は上記のように定義される。

【0132】

実施形態では、EZH2阻害剤は、化合物GまたはGSK-126：

【化36】



10

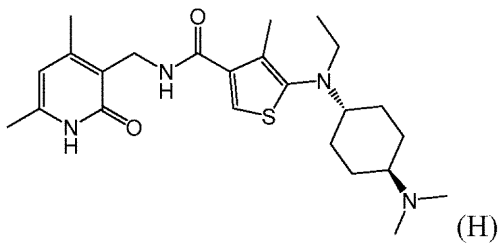
またはその立体異性体、もしくはその薬学的に許容できる塩、もしくは溶媒和物である。

【0133】

ある種の実施形態では、本明細書に示されるいずれの方法にも使用できるEZH2阻害剤は、化合物H：

20

【化37】



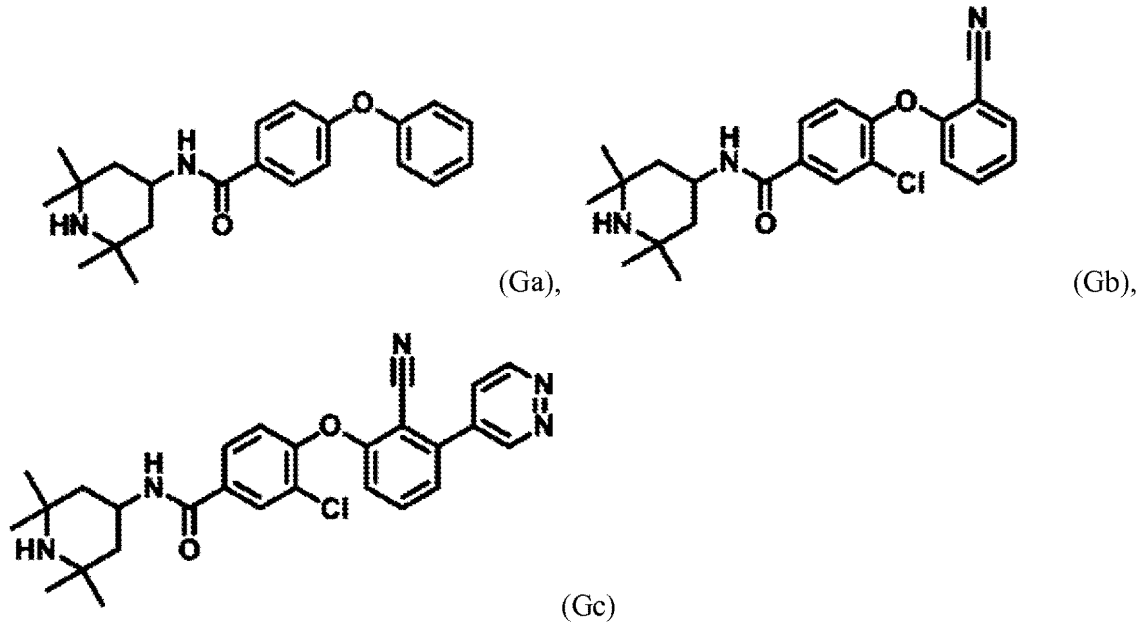
またはその立体異性体、もしくはその薬学的に許容できる塩、もしくは溶媒和物である。

30

【0134】

ある種の実施形態では、本明細書に示されるいずれの方法にも使用できるEZH2阻害剤は、化合物Ga~Gcのいずれか：

【化 3 8】



10

またはその立体異性体、薬学的に許容できる塩、もしくは溶媒和物である。

20

【0135】

ある種の実施形態では、本明細書に示されるいずれの方法にも使用できる E Z H 2 阻害剤は C P I - 1 2 0 5 または G S K 3 4 3 である。

【0136】

一実施形態では、本明細書に開示される化合物（例えば、E Z H 2 阻害剤）は、化合物自体、すなわち遊離塩基または「裸の」分子である。別の実施形態では、化合物は、その塩、例えば、裸の分子の - H C l 塩または三 H C l 塩、- H B r 塩または三 H B r 塩である。

【0137】

本明細書に記載の化合物は、当該技術分野で周知の任意の方法に従って合成することができる。たとえば、式 (V I I) を有する化合物は、国際公開第 2 0 1 1 / 1 4 0 3 2 5 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 1 / 1 4 0 3 2 4 号パンフレット；および国際公開第 2 0 1 2 / 0 0 5 8 0 5 号パンフレットに記載された方法に従って合成することができ；その内容全体を各々参照により援用する。

30

【0138】

本明細書で使用する場合、「アルキル」、「C₁、C₂、C₃、C₄、C₅ または C₆ アルキル」または「C₁ ~ C₆ アルキル」は、C₁、C₂、C₃、C₄、C₅ または C₆ 直鎖（線状）飽和脂肪族炭化水素基、および C₃、C₄、C₅ または C₆ 分岐飽和脂肪族炭化水素基を含むことを意図している。たとえば、C₁ ~ C₆ アルキルは、C₁ アルキル基、C₂ アルキル基、C₃ アルキル基、C₄ アルキル基、C₅ アルキル基および C₆ アルキル基を含むことを意図している。アルキルの例として、以下に限定されるものではないが、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、s-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル、s-ペンチルまたは n-ヘキシルなど 1 ~ 6 個の炭素原子を有する部分が挙げられる。

40

【0139】

実施形態では、直鎖または分岐アルキルは 6 個以下の炭素原子（たとえば、直鎖の C₁ ~ C₆、分岐鎖の C₃ - C₆）を有し、別の実施形態では、直鎖または分岐アルキルは 4 個以下の炭素原子を有する。

【0140】

本明細書で使用する場合、「シクロアルキル」という用語は、3 ~ 30 個の炭素原子（

50

たとえば、 $C_3 \sim C_{10}$)を有する単環または多環系の飽和もしくは不飽和非芳香族炭化水素(たとえば、縮合環、架橋環またはスピロ環)系をいう。シクロアルキルの例として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニルおよびアダマンチルがあるが、これに限定されるものではない。「ヘテロシクロアルキル」という用語は、特に明記されない限り、1つまたは複数のヘテロ原子(たとえばO、N、SまたはSe)を有する3~8員の単環式飽和もしくは不飽和非芳香族環系、7~12員の二環式飽和もしくは不飽和非芳香族環系(縮合環、架橋環またはスピロ環)、または11~14員の三環式飽和もしくは不飽和非芳香族環系(縮合環、架橋環またはスピロ環)をいう。ヘテロシクロアルキル基の例として、ペペリジニル、ペペラジニル、ピロリジニル、ジオキサニル、テトラヒドロフラニル、イソインドリニル、インドリニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、オキサゾリジニル、イソキサゾリジニル、トリアゾリジニル、テトラヒドロフラニル、オキシラニル、アゼチジニル、オキセタニル、チエタニル、1,2,3,6-テトラヒドロピリジニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピラニル、ピラニル、モルホリニル、1,4-ジアゼパニル、1,4-オキサゼパニル、2-オキサ-5-アザピシクロ[2.2.1]ヘプタニル、2,5-ジアザピシクロ[2.2.1]ヘプタニル、2-オキサ-6-アザスピロ[3.3]ヘプタニル、2,6-ジアザスピロ[3.3]ヘプタニル、1,4-ジオキサ-8-アザスピロ[4.5]デカニル等があるが、これに限定されるものではない。

10

20

30

40

50

【0141】

「任意選択的に置換されたアルキル」という用語は、非置換アルキル、または炭化水素骨格の1つまたは複数の炭素上の1つまたは複数の水素原子に置き換わる所定の置換基を有するアルキルをいう。こうした置換基として、たとえば、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィナート、アミノ(アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノおよびアルキルアリールアミノを含む)、アシルアミノ(アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイルおよびウレイドを含む)、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、アルキルスルフィニル、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、アジド、ヘテロシクリル、アルキルアリール、または芳香族部分もしくは芳香族複素環部分を挙げることができる。

【0142】

「アリールアルキル」または「アラルキル」部分とは、アリールで置換されたアルキル(たとえば、フェニルメチル(ベンジル))である。「アルキルアリール」部分は、アルキルで置換されたアリール(たとえば、メチルフェニル)である。

【0143】

本明細書で使用する場合、「アルキルリンカー」は、 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 または C_6 直鎖(線状)飽和二価脂肪族炭化水素基、および C_3 、 C_4 、 C_5 または C_6 分岐飽和脂肪族炭化水素基を含むことを意図している。たとえば、 $C_1 \sim C_6$ アルキルリンカーは、 C_1 アルキルリンカー基、 C_2 アルキルリンカー基、 C_3 アルキルリンカー基、 C_4 アルキルリンカー基、 C_5 アルキルリンカー基および C_6 アルキルリンカー基を含むことを意図している。アルキルリンカーの例として、以下に限定されるものではないが、メチル(-CH₂-)、エチル(-CH₂CH₂-)、n-プロピル(-CH₂CH₂CH₂-)、i-プロピル(-CH(CH₃)CH₂-)、n-ブチル(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)、s-ブチル(-CH(CH₃)CH₂CH₂-)、i-ブチル(-C(CH₃)₂CH₂-)、n-ペンチル(-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-)、s-ペンチル(-

- CHCH₃CH₂CH₂CH₂-) または n-ヘキシル (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-) など 1~6 個の炭素原子を有する部分が挙げられる。

【0144】

「アルケニル」は、上述のアルキルと長さが類似し、上述のアルキルへの置換が可能であるが、少なくとも 1 つの二重結合を含む不飽和脂肪族基を含む。たとえば、「アルケニル」という用語は、直鎖アルケニル基（たとえば、エテニル、プロペニル、ブテニル、ペンテニル、ヘキセニル、ヘプテニル、オクテニル、ノネニル、デセニル）、および分岐アルケニル基を含む。実施形態では、直鎖または分岐アルケニル基はその骨格に 6 個以下の炭素原子（たとえば、直鎖に対して C₂~C₆、分岐鎖に対して C₃~C₆）を有する。「C₂~C₆」という用語は、2~6 個の炭素原子を含むアルケニル基を含む。「C₃~C₆」という用語は、3~6 個の炭素原子を含むアルケニル基を含む。

10

【0145】

「任意選択的に置換されたアルケニル」という用語は、非置換アルケニル、または 1 つまたは複数の炭化水素骨格の炭素原子上の 1 つまたは複数の水素原子に置き換わる所定の置換基を有するアルケニルをいう。こうした置換基として、たとえば、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィナート、アミノ（アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノおよびアルキルアリールアミノを含む）、アシルアミノ（アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイルおよびウレイドを含む）、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、アルキルスルフィニル、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、ヘテロシクリル、アルキルアリールまたは芳香族部分もしくは芳香族複素環部分を挙げることができる。

20

【0146】

「アルキニル」は、上述のアルキルと長さが類似し、上述のアルキルへの置換が可能であるが、少なくとも 1 つの三重結合を含む不飽和脂肪族基を含む。たとえば、「アルキニル」は、直鎖アルキニル基（たとえば、エチニル、プロピニル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、ヘプチニル、オクチニル、ノニニル、デシニル）、および分岐アルキニル基を含む。実施形態では、直鎖または分岐アルキニル基はその骨格に 6 個以下の炭素原子（たとえば、直鎖に対して C₂~C₆、分岐鎖に対して C₃~C₆）を有する。「C₂~C₆」という用語は、2~6 個の炭素原子を含むアルキニル基を含む。「C₃~C₆」という用語は、3~6 個の炭素原子を含むアルキニル基を含む。

30

【0147】

「任意選択的に置換されたアルキニル」という用語は、非置換アルキニル、または 1 つまたは複数の炭化水素骨格の炭素原子上の 1 つまたは複数の水素原子に置き換わる所定の置換基を有するアルキニルをいう。こうした置換基として、たとえば、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィナート、アミノ（アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノおよびアルキルアリールアミノを含む）、アシルアミノ（アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイルおよびウレイドを含む）、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、アルキルスルフィニル、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ

40

50

、アジド、ヘテロシクロリル、アルキルアリールまたは芳香族部分もしくは芳香族複素環部分を挙げることができる。

【0148】

他の任意選択的に置換された部分（たとえば任意選択的に置換されたシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール）は、非置換部分、および1つまたは複数の所定の置換基を有する部分の両方を含む。たとえば、置換されたヘテロシクロアルキルとして、1つまたは複数のアルキル基、たとえば2, 2, 6, 6-テトラメチル-ピペリジニルおよび2, 2, 6, 6-テトラメチル-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジニルで置換されたものが挙げられる。

【0149】

「アリール」は、少なくとも1つの芳香環を有するが、環構造に任意のヘテロ原子を有さない「結合された」環系、または多環系を含む、芳香族性を有する基を含む。例として、フェニル、ベンジル、1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフタレニル等が挙げられる。

【0150】

「ヘテロアリール」基は、環構造に1~4個のヘテロ原子を有すること以外は上記で定義したようなアリール基であり、「複素環アリール」または「複素芳香族化合物」ということもある。本明細書で使用する場合、「ヘテロアリール」という用語は、炭素原子と、窒素、酸素および硫黄からなる群から独立に選択される1つまたは複数のヘテロ原子、たとえば1個もしくは1~2個もしくは1~3個もしくは1~4個もしくは1~5個もしくは1~6個のヘテロ原子、または、たとえば1個、2個、3個、4個、5個もしくは6個のヘテロ原子とからなる安定な5員、6員もしくは7員単環式または7員、8員、9員、10員、11員もしくは12員二環式芳香族複素環式環を含むことを意図している。窒素原子は置換されていても、あるいは置換されていなくてもよい（すなわち、N、あるいはRがHまたは定義された他の置換基であるNR）。窒素ヘテロ原子および硫黄ヘテロ原子は、任意選択的に酸化されていてもよい（すなわち、N=OおよびS(O)_p、式中、p=1または2）。芳香族複素環のS原子およびO原子の総数は、1以下である点に留意されたい。

【0151】

ヘテロアリール基の例として、ピロール、フラン、チオフェン、チアゾール、イソチアゾール、イミダゾール、トリアゾール、テトラゾール、ピラゾール、オキサゾール、イソキサゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン、ピリミジンおよび同種のもものが挙げられる。

【0152】

さらに、「アリール」および「ヘテロアリール」という用語は、多環式、たとえば、三環式、二環式アリール基およびヘテロアリール基、たとえば、ナフタレン、ベンゾキサゾール、ベンゾジキサゾール、ベンゾチアゾール、ベンゾイミダゾール、ベンゾチオフェン、メチレンジオキシフェニル、キノリン、イソキノリン、ナフトリジン、インドール、ベンゾフラン、プリン、ベンゾフラン、デアザプリン、インドリジンを含む。

【0153】

多環式芳香環の場合、すべての環が芳香族（たとえば、キノリン）であってもよいが、環の1つのみが芳香族（たとえば、2, 3-ジヒドロインドール）であってもよい。また第2の環は縮合していても、あるいは架橋していてもよい。

【0154】

シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール環は、1つまたは複数の環位置（たとえば、環形成炭素またはNなどのヘテロ原子）において上記のような置換基、たとえば、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アルキルアミノカルボニル、アラルキルアミノカルボニル、アルケニルアミノカルボニル、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アラルキルカルボニル、アルケニルカル

10

20

30

40

50

ボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィナート、アミノ（アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノおよびアルキルアリールアミノを含む）、アシルアミノ（アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイルおよびウレイドを含む）、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、アルキルスルフィニル、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、アジド、ヘテロシクリル、アルキルアリールまたは芳香族部分もしくは芳香族複素環部分で置換されていてもよい。アリールおよびヘテロアリール基はさらに、多環式系（たとえば、テトラリン、メチレンジオキシフェニル）を形成するように、芳香族でない脂環式環または複素環式環と縮合していても、あるいは架橋していてもよい。

【0155】

本明細書で使用する場合、「炭素環 (carbocycle)」または「炭素環 (carbocyclic ring)」は、そのいずれもが飽和でも、不飽和でも、あるいは芳香族でもよい、特定の数の炭素を有する任意の安定な単環式、二環式または三環式環を含むことを意図している。炭素環は、シクロアルキルおよびアリールを含む。たとえば、 $C_3 \sim C_{14}$ 炭素環は、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個または14個の炭素原子を有する単環式、二環式または三環式環を含むことを意図している。炭素環の例として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロブテニル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル、シクロヘプテニル、シクロヘプチル、シクロヘプテニル、アダマンチル、シクロオクチル、シクロオクテニル、シクロオクタジエニル、フルオレニル、フェニル、ナフチル、インダニル、アダマンチルおよびテトラヒドロナフチルがあるが、これに限定されるものではない。炭素環の定義には、架橋環も含まれ、たとえば、[3.3.0]ピシクロオクタン、[4.3.0]ピシクロノナン、[4.4.0]ピシクロデカンおよび[2.2.2]ピシクロオクタンがある。架橋環は、1個または複数個の炭素原子が2個の隣接しない炭素原子を連結すると生じる。一実施形態では、架橋環は、1個または2個の炭素原子である。架橋は常に単環式環を三環式環に変換する点に注意されたい。環が架橋されると、当該環について記載された置換基も架橋上に存在してもよい。さらに縮合環（たとえば、ナフチル、テトラヒドロナフチル）およびスピロ環も含まれる。

【0156】

本明細書で使用する場合、「複素環」または「複素環基」は、少なくとも1つの環ヘテロ原子（たとえば、N、OまたはS）を含む任意の環構造（飽和、不飽和、または芳香族）を含む。複素環は、ヘテロシクロアルキルおよびヘテロアリールを含む。複素環の例として、モルホリン、ピロリジン、テトラヒドロチオフエン、ピペリジン、ピペラジノキサタン、ピラン、テトラヒドロピラン、アゼチジン、およびテトラヒドロフランがあるが、これに限定されるものではない。

【0157】

複素環式基の例として、アクリジニル、アゾシニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフラニル、ベンゾチオフエニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾオキサゾリニル、ベンズチアゾリル、ベンズトリアゾリル、ベンズテトラゾリル、ベンゾイソオキサゾリル、ベンゾイソチアゾリル、ベンズイミダゾリニル、カルバゾリル、4aH-カルバゾリル、カルボリニル、クロマニル、クロメニル、シンノリニル、デカヒドロキノリニル、2H, 6H-1, 5, 2-ジチアジニル、ジヒドロフロ[2, 3-b]テトラヒドロフラン、フラニル、フラザニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリル、1H-インダゾリル、インドレニル、インドリニル、インドリジニル、インドリル、3H-インドリル、イサチノイル、イソベンゾフラニル、イソクロマニル、イソインダゾリル、イソインドリニル、イソインドリル、イソキノリニル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、メチレンジオキシフェニル、モルホリニル、ナフチリジニル、オクタヒドロイソキノリニル、オキサジアゾリル、1, 2, 3-オキサジアゾリル、1, 2, 4-オキサジアゾ

10

20

30

40

50

リル、1, 2, 5 - オキサジアゾリル、1, 3, 4 - オキサジアゾリル、1, 2, 4 - オキサジアゾール5 (4H) - オン、オキサゾリジニル、オキサゾリル、オキシンドリル、ピリミジニル、フェナントリジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサチニル、フェノキサジニル、フタラジニル、ペペラジニル、ペペリジニル、ペペリドニル、4 - ペペリドニル、ペペロニル、プテリジニル、プリニル、ピラニル、ピラジニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピリドオキサゾール、ピリドイミダゾール、ピリドチアゾール、ピリジニル、ピリジル、ピリミジニル、ピロリジニル、ピロリニル、2H - ピロリル、ピロリル、キナゾリニル、キノリニル、4H - キノリジニル、キノキサリニル、キヌクリジニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロイソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、テトラゾリル、6H - 1, 2, 5 -

【0158】

「置換された」という用語は、本明細書で使用する場合、指定された原子上の任意の1つまたは複数の水素原子が、表記された基から選択された基で置き換えられていることを意味する。ただし、指定された原子の通常原子価を超えず、かつ置換の結果、安定な化合物が得られるものとする。置換基がオキソまたはケト(すなわち、=O)である場合、原子上の2個の水素原子が置き換えられる。ケト置換基は芳香族部分には存在しない。環二重結合は、本明細書で使用する場合、隣接する2つの環原子間に形成される二重結合(たとえば、C=C、C=NまたはN=N)である。「安定な化合物」および「安定な構造」とは、ある化合物が、反応混合物から有用な程度の純度に単離されること、および有効な治療薬として製剤化することに耐えるのに十分に強いことを示すことを意図する。

【0159】

置換基との結合が、環内の2つの原子を連結する結合を横切るように示される場合、そうした置換基は、環内のどの原子に結合してもよい。ある置換基について、そうした置換基が所定の式の化合物の残部に結合している原子を示さずに記載される場合、そうした置換基は当該式のどの原子を介して結合してもよい。置換基または可変基の組み合わせも許容される(または両方)が、そうした組み合わせの結果、安定な化合物が得られる場合に限られる。

【0160】

任意の可変基(たとえば、R₁)が、ある化合物の任意の構成要素または式に2回以上存在する場合、その各存在時の定義は、その他のすべての存在時の定義と無関係である。したがって、たとえば、ある基が0~2のR₁部分で置換されているように示される場合、その基は、最大2つのR₁部分で任意選択的に置換されていてもよく、各存在時のR₁は、R₁の定義から独立に選択される。さらに、置換基または可変基の組み合わせも許容される(または両方)が、そうした組み合わせの結果、安定な化合物が得られる場合に限られる。

【0161】

「ヒドロキシ」または「ヒドロキシル」という用語は、-OHまたは-O[·]を有する基を含む。

【0162】

本明細書で使用する場合、「ハロ」または「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、プロモおよびヨードをいう。「過ハロゲン化」という用語は一般に、ある部分においてすべての水素原子がハロゲン原子で置き換えられていることをいう。「ハロアルキル」または「ハロアルコキシル」という用語は、1つまたは複数のハロゲン原子で置換されたアルキルまたはアルコキシルをいう。

10

20

30

40

50

【0163】

「カルボニル」という用語は、酸素原子に二重結合で連結された炭素を含む化合物および部分を含む。カルボニルを含む部分の例として、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、アミド、エステル、無水物等があるが、これに限定されるものではない。

【0164】

「カルボキシル」という用語は、 $-COOH$ またはその $C_1 \sim C_6$ アルキルエステルをいう。

【0165】

「アシル」は、アシルラジカル ($R-C(O)-$) またはカルボニル基を含む部分を含む。「置換アシル」は、1つまたは複数の水素原子が、たとえば、アルキル基、アルキニル基、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィナート、アミノ(アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノおよびアルキルアリールアミノを含む)、アシルアミノ(アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイルおよびウレイドを含む)、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、アルキルスルフィニル、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、アジド、ヘテロシクリル、アルキルアリールまたは芳香族部分もしくは芳香族複素環部分で置き換えられているアシル基を含む。

10

20

【0166】

「アロイル」は、カルボニル基に結合したアリールまたは芳香族複素環部分を有する部分を含む。アロイル基の例として、フェニルカルボキシ、ナフチルカルボキシ等が挙げられる。

【0167】

「アルコキシアルキル」、「アルキルアミノアルキル」および「チオアルコキシアルキル」は、1つまたは複数の炭化水素骨格の炭素原子が酸素原子、窒素原子または硫黄原子で置き換えられている上記のようなアルキル基を含む。

30

【0168】

「アルコキシ」または「アルコキシル」という用語は、酸素原子に共有結合した置換および非置換アルキル基、アルケニル基およびアルキニル基を含む。アルコキシ基またはアルコキシルラジカルの例として、メトキシ基、エトキシ基、イソプロピルオキシ基、プロポキシ基、ブトキシ基およびペントキシ基があるが、これに限定されるものではない。置換アルコキシ基の例として、ハロゲン化アルコキシ基が挙げられる。アルコキシ基は、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィナート、アミノ(アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノおよびアルキルアリールアミノを含む)、アシルアミノ(アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイルおよびウレイドを含む)、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、アルキルスルフィニル、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、アジド、ヘテロシクリル、アルキルアリール、または芳香族部分または芳香族複素環部分などの基で置換されていてもよい。ハロゲン置換アルコキシ基の例として、フルオロメトキシ、ジフルオロメトキシ、トリフルオロメトキシ、クロロメトキシ、ジクロロメトキシおよびトリクロロメトキシがあるが、これに限定されるものではない。

40

50

【0169】

「エーテル」または「アルコキシ」という用語は、2個の炭素原子またはヘテロ原子に結合した酸素を含む化合物または部分を含む。たとえば、この用語は、アルキル基に共有結合している酸素原子に共有結合したアルキル基、アルケニル基またはアルキニル基をいう「アルコキシアルキル」を含む。

【0170】

「エステル」という用語は、カルボニル基の炭素に結合している酸素原子に結合した炭素またはヘテロ原子を含む化合物または部分を含む。「エステル」という用語は、アルコキシカルボキシ基、たとえばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、ペントキシカルボニル等を含む。

10

【0171】

「チオアルキル」という用語は、硫黄原子と連結したアルキル基を含む化合物または部分を含む。チオアルキル基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、カルボキシ酸、アルキルカルボニル、アリールカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルアミノカルボニル、ジアルキルアミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、アミノ（アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノおよびアルキルアリールアミノを含む）、アシルアミノ（アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイルおよびウレイドを含む）、アミジノ、イミノ、スルフ

20

【0172】

「チオカルボニル」または「チオカルボキシ」という用語は、硫黄原子に二重結合で連結された炭素を含む化合物および部分を含む。

【0173】

「チオエーテル」という用語は、2個の炭素原子またはヘテロ原子に結合した硫黄原子を含む部分を含む。チオエーテルの例として、アルクチオアルキル、アルクチオアルケニルおよびアルクチオアルキニルがあるが、これに限定されるものではない。「アルクチオアルキル」という用語は、アルキル基に結合している硫黄原子に結合したアルキル基、アルケニル基またはアルキニル基を有する部分を含む。同様に、「アルクチオアルケニル」という用語は、アルキル基、アルケニル基またはアルキニル基が、アルケニル基に共有結合している硫黄原子に結合している部分をいう。「アルクチオアルキニル」は、アルキル基、アルケニル基またはアルキニル基が、アルキニル基に共有結合している硫黄原子に結合している部分をいう。

30

【0174】

本明細書で使用する場合、「アミン」または「アミノ」は、非置換または置換 NH_2 をいう。「アルキルアミノ」は、 $-\text{NH}_2$ の窒素が少なくとも1つのアルキル基に結合している化合物の基を含む。アルキルアミノ基の例として、ベンジルアミノ、メチルアミノ、エチルアミノ、フェネチルアミノ等が挙げられる。「ジアルキルアミノ」は、 $-\text{NH}_2$ の窒素が少なくとも2つの別のアルキル基に結合している基を含む。ジアルキルアミノ基の例として、ジメチルアミノおよびジエチルアミノがあるが、これに限定されるものではない。「アリールアミノ」および「ジアリールアミノ」はそれぞれ、窒素が少なくとも1つまたは2つのアリール基に結合している基を含む。「アミノアリール」および「アミノアリールオキシ」は、アミノで置換されたアリールおよびアリールオキシをいう。「アルキルアリールアミノ」、「アルキルアミノアリール」または「アリールアミノアルキル」は、少なくとも1つのアルキル基および少なくとも1つのアリール基に結合しているアミノ基をいう。「アルカミノアルキル」は、アルキル基にも結合している窒素原子に結合した

40

50

アルキル基、アルケニル基またはアルキニル基をいう。「アシルアミノ」は、窒素がアシル基に結合している基を含む。アシルアミノの例として、アルキルカルボニルアミノ基、アリールカルボニルアミノ基、カルバモイル基およびウレイド基があるが、これに限定されるものではない。

【0175】

「アミド」または「アミノカルボキシ」という用語は、カルボニル基またはチオカルボニル基の炭素に結合している窒素原子を含む化合物または部分を含む。この用語は、カルボニル基またはチオカルボニル基の炭素に結合しているアミノ基に結合したアルキル基、アルケニル基またはアルキニル基を含む「アルカミノカルボキシ」基を含む。この用語はさらに、カルボニル基またはチオカルボニル基の炭素に結合しているアミノ基に結合したアリール部分またはヘテロアリール部分を含む「アリールアミノカルボキシ」基を含む。「アルキルアミノカルボキシ」、「アルケニルアミノカルボキシ」、「アルキニルアミノカルボキシ」および「アリールアミノカルボキシ」という用語はそれぞれ、アルキル部分、アルケニル部分、アルキニル部分およびアリール部分が窒素原子に結合し、その窒素原子がカルボニル基の炭素に結合している部分を含む。アミドは、直鎖アルキル、分岐アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリールまたは複素環などの置換基で置換されていてもよい。アミド基上の置換基はさらに置換されていてもよい。

10

【0176】

本明細書では、化合物の構造式は、場合によっては便宜上、特定の異性体を表しているが、本発明は、すべての異性体、たとえば幾何異性体、不斉炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体および同種のものを含み、すべての異性体が必ずしも同レベルの活性を有し得るものではないことを理解されたい。さらに、式で表される化合物の結晶多形が存在してもよい。任意の結晶形、結晶形混合物またはその無水物もしくは水和物が本発明の範囲に含まれる点に注意されたい。

20

【0177】

「異性」は、化合物が同一の分子式を有するものの、その原子の結合順序またはその原子の空間配置が異なることを意味する。原子の空間配置が異なる異性体は「立体異性体」と呼ばれる。互いに鏡像でない立体異性体は「ジアステレオ異性体」と呼ばれ、互いに重ね合わせることができない鏡像である立体異性体は「エナンチオマー」と呼ばれ、光学異性体と呼ばれることもある。逆のキラリティーの各エナンチオマー型を等量含む混合物は「ラセミ混合物」と呼ばれる。

30

【0178】

同一でない4つの置換基に結合した炭素原子は「キラル中心」と呼ばれる。

【0179】

「キラル異性体」は、少なくとも1つのキラル中心を有する化合物を意味する。2つ以上のキラル中心を有する化合物は、個々のジアステレオマーとして存在しても、あるいは「ジアステレオマー混合物」と呼ばれるジアステレオマーの混合物として存在してもよい。1つのキラル中心が存在する場合、立体異性体は、そのキラル中心の絶対配置(RまたはS)により特徴付けてもよい。絶対配置とは、キラル中心に結合した置換基の空間配置をいう。検討対象のキラル中心に結合した置換基は、Sequence Rule of Cahn, Ingold and Prelogに従いランク付けされる。(Cahn et al., Angew. Chem. Intern. 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)。

40

【0180】

「幾何異性体」は、存在する原因が二重結合またはシクロアルキルリンカー(たとえば、1,3-シクロブチル)の周りの回転障壁であるジアステレオマーを意味する。これら配置は、接頭辞シスおよびトランス、またはカーン-インゴルド-プレローグ順位則に従

50

い各基が分子の二重結合に関して同じ側または反対側にあることを示すZおよびEにより、その名称により区別される。

【0181】

本発明の化合物は、異なるキラル異性体または幾何異性体として図示し得ることが理解されよう。さらに、化合物がキラル異性体型または幾何異性体型を有する場合、すべての異性体型が本発明の範囲に含まれることを意図しており、化合物の名称は任意の異性体型を除外するものではないことも理解されるべきであり、すべての異性体が必ずしも同レベルの活性を有し得るものではないことを理解されたい。

【0182】

さらに、こうした構造および本発明で考察された他の化合物は、そのすべてのアトロピック(atropic)異性体を含み、すべてのアトロピック異性体が必ずしも同レベルの活性を有し得るものではないことを理解されたい。「アトロピック異性体」は、2つの異性体の原子が空間で異なって配置されている立体異性体の1種である。アトロピック異性体が存在する原因は、中心結合の周りの大きな基の回転障壁により引き起こされる回転の束縛である。こうしたアトロピック異性体は典型的には混合物として存在するが、クロマトグラフィ技術の最近の進歩の結果、特定の場、2つのアトロピック異性体の混合物を分離することが可能になっている。

10

【0183】

「互変異性体」は、2つ以上の構造異性体が平衡状態で存在し、ある異性体型から別の異性体型に容易に変換される、それらの構造異性体の1つである。この変換の結果、水素原子が、隣接する共役二重結合の変化を伴って形式的に移動する。互変異性体は、溶液中で互変異性体のセットの混合物として存在する。互変異性が可能である溶液においては、互変異性体の化学平衡に達する。互変異性体の正確な比率は、温度、溶媒およびpHを含むいくつかの要因によって異なる。互変異性化により相互変換可能な互変異性体の概念は、互変異性と呼ばれる。

20

【0184】

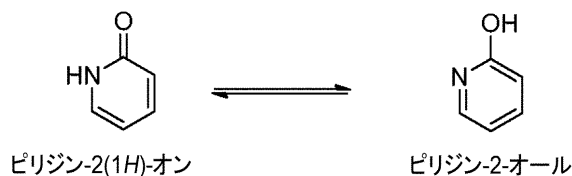
考えられる様々なタイプの互変異性のうち、2つが一般に観察される。ケト-エノール互変異性では、電子および水素原子の同時移動が起こる。環鎖互変異性は、糖鎖分子のアルデヒド基(-CHO)が同じ分子のヒドロキシ基(-OH)の1つと反応して、分子にグルコースに見られるような環式(環状)形態が生じた結果として起こる。

30

【0185】

一般的な互変異性のペアとして、ケトン-エノール、アミド-ニトリル、ラクタム-ラクチム、複素環式環における(たとえば、核酸塩基、たとえばグアニン、チミンおよびシトシンにおける)アミド-イミド酸互変異性、イミン-エナミンおよびエナミン-エナミンがある。ケト-エノール平衡の一例として、下記に示すようなピリジン-2(1H)-オンと対応するピリジン-2-オールとの間がある。

【化39】

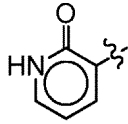


40

【0186】

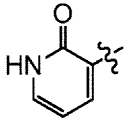
本明細書に記載の化合物では、

【化 4 0】



の各存在は、

【化 4 1】



として解釈されるべきである。

【0187】

本発明の化合物は、様々な互変異性体として図示し得ることが理解されよう。さらに、化合物が互変異性形を有する場合、すべての互異性形が本発明の範囲に含まれることを意図しており、化合物の名称は任意の互変異性体形を除外するものではないことも理解されるべきである。特定の互変異性体は、他のものよりも高い活性レベルを有し得ることを理解されよう。

10

20

【0188】

「結晶多形」、「多形」または「結晶形」という用語は、化合物（またはその塩または溶媒和物）が様々な結晶のパッキング構造で結晶化することができ、そのすべてが同じ元素組成を有する結晶構造を意味する。異なる結晶形は通常、X線回折パターン、赤外スペクトル、融点、密度、硬度、結晶形状、光学的特性および電気的特性、安定性ならびに溶解性が異なる。再結晶溶媒、結晶化の速度、保存温度および他の要因により、1つの結晶形が多くを占めるようにすることができる。化合物の結晶多形は、様々な条件下、結晶化により調製することができる。

30

【0189】

本明細書に開示された式のいずれの化合物も、化合物自体のほか、妥当な場合、その塩または溶媒和物を含む。塩は、たとえば、アニオンとアリアルまたはヘテロアリアル置換ベンゼン化合物の正電荷を帯びた基（たとえば、アミノ）との間で形成することができる。好適なアニオンとして、クロリド、プロミド、ヨージド、スルフェート、ビスルフェート、スルファメート、ニトレート、ホスフェート、シトレート、メタンサルホネート、トリフルオロアセテート、グルタメート、グルクロネート、グルタレート、マレート、マレエート、スクシネート、フマレート、タルトレート、トシレート、サリチレート、ラクテート、ナフタレンサルホネート、およびアセテート（たとえば、トリフルオロアセテート）が挙げられる。「薬学的に許容されるアニオン」という用語は、薬学的に許容される塩の形成に好適なアニオンをいう。同様に、塩は、カチオンとアリアルまたはヘテロアリアル置換ベンゼン化合物の負電荷を帯びた基（たとえば、カルボキシレート）の間でも形成することができる。好適なカチオンとして、ナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオンおよびアンモニウムカチオン、たとえばテトラメチルアンモニウムイオンが挙げられる。アリアルまたはヘテロアリアル置換ベンゼン化合物は、第四級窒素原子を含む塩をさらに含む。

40

【0190】

加えて、本発明の化合物、たとえば、化合物の塩は、水和もしくは非水和（無水）形態で存在しても、あるいは他の溶媒分子との溶媒和物として存在してもよい。水和物の非限定的な例として、一水和物、二水和物等が挙げられる。溶媒和物の非限定的な例として、

50

エタノール溶媒和物、アセトン溶媒和物等が挙げられる。

【0191】

「溶媒和物」は、化学量論量あるいは非化学量論量の溶媒を含む溶媒付加形態を意味する。一部の化合物は、結晶性固体状態で一定のモル比の溶媒分子を捕捉する傾向があり、したがって溶媒和物を形成する。溶媒が水の場合、形成される溶媒和物は水和物であり、溶媒がアルコールの場合、形成される溶媒和物はアルコールである。水和物は1つの物質分子と1つまたは複数の水分子の組み合わせにより形成され、水はその分子状態をH₂Oとして維持する。半水和物は、2つ以上の物質分子と1つの水分子の組み合わせにより形成され、水はその分子状態をH₂Oとして維持する。

【0192】

「生物学的等価体」という用語は、ある原子または原子団と、別の概ね類似した原子または原子団との交換により生じる化合物をいう。生物学的等価性置換の目的は、親化合物に類似した生物学的特性を有する新しい化合物を作ることにある。生物学的等価性置換は、物理化学をベースにしても、あるいは位相幾何学をベースにしてもよい。カルボン酸の生物学的等価体の例として、アシルスルホニイミド、テトラゾール、スルホネートおよびホスホネートがあるが、これに限定されるものではない。たとえば、Patani and LaVoie, Chem. Rev. 96, 3147-3176, 1996を参照されたい。

【0193】

本発明は、本化合物に生じる原子の同位体をすべて含むことを意図している。同位体は、同じ原子番号を有するが、異なる質量数を有する原子を含む。一般的な例として、限定するものではないが、水素の同位体としてトリチウムおよびジウテリウムがあり、炭素の同位体としてC-13およびC-14がある。

【0194】

本発明は、本明細書に開示された任意の式の化合物の合成方法を提供する。本発明はまた、実施例に示すような下記のスキームに従って、本発明の様々な開示化合物を合成するための詳細な方法も提供する。

【0195】

組成物が特定の成分を有する、それを含む(including)またはそれを含む(comprising)ものとして記載される説明において、組成物はさらに、記載された成分から本質的になる、またはそれからなることも意図している。同様に、方法またはプロセスが特定のプロセスステップを有する、それを含む(including)またはそれを含む(comprising)ものとして記載される場合、当該プロセスはさらに、記載されたプロセスステップから本質的になる、またはそれからなる。さらに、ステップの順序またはある行為を行う順序は、本発明が実施可能な状態である限り、重要でないことを理解すべきである。さらに、2つ以上のステップまたは行為を同時に行ってもよい。

【0196】

本発明の合成プロセスは、多種多様な官能基に対応することができ、したがって様々な置換出発材料を使用することができる。本プロセスは一般に、プロセス全体の終了時または終了時近くで所望の最終化合物を与えるが、場合によっては化合物をさらにその薬学的に許容される塩、溶媒和物または多形体に変換することが望ましい場合がある。

【0197】

本発明の化合物は、当業者に公知のまたは本明細書の教示内容によって当業者に明らかになる標準的な合成方法および手順を利用して、市販されている出発材料、文献で公知の化合物を用いてまたは容易に調製される中間体から、種々の方法で調製することができる。有機分子の調製と、官能基の変換および操作のための標準的な合成方法および手順は、当該分野に関連した科学文献または標準的な指導書から得ることができる。任意の1つまたは複数の資料に限定するものではないが、古典的な指導書、たとえば、本明細書に採用するSmith, M. B., March, J., March's Advanced

10

20

30

40

50

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); and L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995) は、当業者に公知の、有機合成に関する有用かつ認められた標準指導書である。合成方法に関する以下の記載は、本発明の化合物の調製の一般的な手順の説明を目的とするものであり、限定を目的とするものではない。

【0198】

本発明の化合物は、当業者が精通した様々な方法により好都合に調製することができる。本明細書で開示された任意の式を有する本発明の化合物は、市販の出発物質または文献の手順を使用して調製することができる出発物質から、下記のスキーム1~10に図示された手順に従って調製することができる。スキーム1~10におけるZおよびRの基（たとえば、R₂、R₃、R₄、R₆、R₇、R₈およびR₁₂）は、特に明記されない限り、本明細書に開示された式のいずれかで定義された通りである。

【0199】

当業者であれば、本明細書に記載の反応順序および合成スキームにおいて、保護基の導入および除去など特定のステップの順序が変わってもよいことに気付くであろう。

【0200】

当業者であれば、特定の基が、保護基の使用により反応条件からの保護を必要とし得ること認識するであろう。保護基はさらに、分子内の類似の官能基を区別するために使用してもよい。保護基のリストと、そうした基をどのように導入および除去するかについては、Greene, T. W., Wuts, P. G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999で確認することができる。

【0201】

好ましい保護基として、下記があるが、これに限定されるものではない。

ヒドロキシル部分には：TBS、ベンジル、THP、Ac

カルボン酸には：ベンジルエステル、メチルエステル、エチルエステル、アリルエステル

アミンには：Cbz、BOC、DMB

ジオールには：Ac(x2)TBS(x2)、あるいは同時に行う場合はアセトニド

チオールには：Ac

ベンゾイミダゾールには：SEM、ベンジル、PMB、DMB

アルデヒドには：ジ-アルキルアセタール、たとえばジメトキシアセタールまたはジエチルアセチル。

【0202】

本明細書に記載の反応スキームでは、複数の立体異性体を得られることがある。特定の立体異性体が記載されていない場合、反応から生成され得るあらゆる可能な立体異性体を意味することが理解されよう。当業者であれば、ある異性体を優先的に得るため反応を最適化できること、または単一の異性体を得るため新しいスキームを考案できることを認識するであろう。混合物が生成される場合、分取薄層クロマトグラフィー、分取HPLC、分取キラルHPLC、または分取SFCなどの技術を用いて異性体を分離することができる。

10

20

30

40

50

【 0 2 0 3 】

本明細書を通じて以下の略語を使用し、下記に定義する。

A c	アセチル	
A c O H	酢酸	
a q .	水性	
B I D	または b . i . d . b i s i n d i e (1 日 2 回)	
B O C	t e r t - ブトキシカルボニル	
C b z	ベンジルオキシカルボニル	
C D C l ₃	重水素化クロロホルム	
C H ₂ C l ₂	ジクロロメタン	10
D C M	ジクロロメタン	
D M B	2 , 4 ジメトキシベンジル	
D M F	N , N - ジメチルホルムアミド	
D M S O	ジメチルスルホキシド	
E A	または E t O A c 酢酸エチル	
E D C	または E D C I N - (3 - ジメチルアミノプロピル) - N ' - エチルカルボジ イミド	
E S I -	エレクトロスプレーネガティブモード	
E S I +	エレクトロスプレーポジティブモード	
E t O H	エタノール	20
h	時間	
H ₂ O	水	
H O B t	1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール	
H C l	塩化水素または塩酸	
H P L C	高速液体クロマトグラフィー	
K ₂ C O ₃	炭酸カリウム	
L C / M S	または L C - M S 液体クロマトグラフィー質量スペクトル	
M	モル	
M e C N	アセトニトリル	
m i n	分	30
N a ₂ C O ₃	炭酸ナトリウム	
N a ₂ S O ₄	硫酸ナトリウム	
N a H C O ₃	炭酸水素ナトリウム	
N a H M D s	ナトリウムヘキサメチルジシラジド	
N a O H	水酸化ナトリウム	
N a H C O ₃	炭酸水素ナトリウム	
N a ₂ S O ₄	硫酸ナトリウム	
N M R	核磁気共鳴	
P d (O H) ₂	二水酸化パラジウム	
P M B	パラ - メトキシベンジル	40
p . o .	p e r o s (経口投与)	
p p m	百万分率	
p r e p	H P L C 分取高速液体クロマトグラフィー	
P Y B O P	(ベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシ) トリピロリジノホスホニウム ・ ヘキサフルオロホスフェート	
r t	または R T 室温	
T B M E	t e r t - ブチルメチルエーテル	
T F A	トリフルオロ酢酸	
T H F	テトラヒドロフラン	
T H P	テトラヒドロピラン	50

【0204】

本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形の有効量は、正常な細胞に対してあまり細胞毒性を示さない。治療有効量の化合物の投与により細胞死が正常な細胞の10%より多く誘導されない場合、治療有効量の化合物は正常な細胞に対してあまり細胞毒性を示さない。治療有効量の化合物の投与により細胞死が正常な細胞の10%より多く誘導されない場合、治療有効量の化合物は正常な細胞の生存率にあまり影響を与えない。ある種の態様では、細胞死はアポトーシスにより起こる。

【0205】

本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形と細胞を接触させると、癌細胞の細胞死を選択的に誘導または活性化することがある。それを必要とする被験体に本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形を投与すると、癌細胞の細胞死を選択的に誘導または活性化することがある。本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形と細胞を接触させると、細胞増殖性障害に冒された1つまたは複数の細胞の細胞死を選択的に誘導することがある。好ましくは、それを必要とする被験体に本発明の化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形を投与すると、細胞増殖性障害に冒された1つまたは複数の細胞の細胞死が選択的に誘導される。

10

【0206】

当業者は、本明細書で考察した公知の技術または等価な技術の詳細な説明に関する一般的な参考図書を参照してもよい。そうした図書として、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3rd edition), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (2000); Coligan et al., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna et al., Current Protocols in Pharmacology, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl et al., The Pharmacological Basis of Therapeutics (1975), Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990) が挙げられる。さらにこれらの図書は、本発明の態様の製造または使用の際に参照してもよいことは、言うまでもない。

20

30

【0207】

本発明はまた、少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤またはキャリアと組み合わせ、本発明の化合物（たとえば、化合物A、B、CまたはD）を含む医薬組成物も提供することができる。

【0208】

「医薬組成物」は、被験体への投与に好適な形態で本発明の化合物を含む製剤である。一実施形態では、医薬組成物はバルクまたは単位剤形である。単位剤形は、たとえば、カプセル、IVバッグ、錠剤、エアロゾル吸入器の単一ポンプまたはバイアルなど種々の形態のいずれかである。単位用量の組成物における活性成分の量は有効量であり、関連する個々の治療に応じて変化する。当業者であれば、患者の年齢および状態によって投薬量を日常的に変える必要があることもあることを理解するであろう。投薬量はまた投与経路によって異なる。経口、経肺、直腸、非経口、経皮、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、吸入、口腔内、舌下、胸膜内、髄腔内、鼻腔内および同種のものなど種々の経路を意図している。本発明の化合物の局所投与または経皮投与用の剤形として、散剤、スプレー剤、軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、溶液剤、パッチ剤および吸入薬が挙げられる。一実施形態では、活性化合物は、滅菌条件下で薬学的に許容されるキャリア

40

50

と、必要とされる任意の防腐剤、バッファーまたは噴霧剤と混合される。

【0209】

本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される」という語句とは、化合物、材料、組成物、キャリアまたは剤形が、適切な医学的判断の範囲内において、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を回避しつつ、合理的なベネフィット/リスク比に見合っ

【0210】

「薬学的に許容される賦形剤」は、医薬組成物の調製に有用であり、かつ一般に安全で無毒性であり、生物学的にもあるいは他の点でも望ましい賦形剤を意味し、動物用途のほか、ヒトの医薬用途に許容可能な賦形剤を含む。本明細書および特許請求の範囲に使用される「薬学的に許容される賦形剤」は、そうした賦形剤の1種および2種以上の両方を含む。

【0211】

本発明の医薬組成物は、その目的の投与経路に適合するように製剤化される。投与経路の例として、非経口投与、たとえば、静脈内投与、皮内投与、皮下投与、経口投与（たとえば、吸入）、経皮投与（局所）、および経粘膜投与が挙げられる。非経口用途、皮内用途または皮下用途に使用される溶液または懸濁液として、以下の成分：無菌希釈液、たとえば食塩水溶液、揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒；抗菌薬、たとえばベンジルアルコールまたはメチルパラベン；酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム；キレート化剤、たとえばエチレンジアミン四酢酸；バッファー、たとえばアセテート、シトレートまたはホスフェート、および張度調整剤、たとえば塩化ナトリウムまたはブドウ糖を挙げることができる。pHは、酸または塩基、たとえば塩酸または水酸化ナトリウムで調整することができる。非経口調製物は、ガラスもしくはプラスチック製のアンプル、ディスポーザブルシリンジまたはマルチドーズバイアルに封入してもよい。

【0212】

本発明の化合物または医薬組成物は、化学療法治療に現在使用されるよく知られた方法の多くで被験体に投与することができる。たとえば、癌の治療では、本発明の化合物を腫瘍に直接注射しても、血流中もしくは体腔に注射しても、あるいは経口投与しても、あるいはパッチを用いて経皮適用してもよい。選択される用量は効果的な治療となるのに十分であるが、許容できない副作用を引き起こすほど高くないようにすべきである。病状の状況（たとえば、癌、前癌および同種のもの）および患者の健康については好ましくは、治療中および治療後相当期間、詳細にモニターすべきである。

【0213】

「治療有効量」という用語は、本明細書で使用する場合、特定された疾患または状態を治療、軽減または予防する、あるいは検出可能な治療効果または阻害効果を示す医薬剤の量をいう。効果は、当該技術分野において公知の任意のアッセイ方法により検出することができる。被験体の正確な有効量は、被験体の体重、大きさおよび健康；その状態の性質および程度；ならびに投与のために選択した治療法によって異なる。ある状況に対する治療有効量は、臨床医の技能および判断の範囲内にある通常の実験により決定することができる。好ましい態様では、治療対象の疾患または状態は癌である。別の態様では、治療対象の疾患または状態は細胞増殖性障害である。

【0214】

いずれの化合物でも、治療有効量は、たとえば、腫瘍性細胞の細胞培養アッセイ、または動物モデル、通常ラット、マウス、ウサギ、イヌもしくはブタを用いて最初に推定することができる。動物モデルはさらに、適切な濃度範囲および投与経路を判定するのに使用してもよい。次いでこうした情報を使用して、ヒトの投与に有用な用量および経路を判定することができる。

【0215】

10

20

30

40

50

本発明の実施形態では、EZH2阻害剤は、100～1600mg/kgの用量で投与される。実施形態では、用量は、100mg/kgまたは200mg/kgまたは400mg/kgまたは800mg/kgまたは1600mg/kgである。ある種の実施形態では、用量は1日1回または1日2回投与される。実施形態では、EZH2阻害剤は化合物Aであり、用量は、1日2回、100mg/kgまたは200mg/kgまたは400mg/kgまたは800mg/kgまたは1600mg/kgである。好ましい実施形態では、EZH2阻害剤は化合物Aであり、用量は1日2回、800mg/kgである。

【0216】

投薬量および投与は、十分なレベルの活性剤（単数または複数）を与えるか、または所望の効果を維持するように調整される。考慮に入れてもよい因子として、病状の重症度、被験体の一般的な健康状態、被験体の年齢、体重および性別、食事、投与の時間および頻度、薬剤相互作用（単数または複数）、反応感受性、ならびに治療に対する忍容性/反応が挙げられる。長時間作用性医薬組成物は、特定の製剤の半減期およびクリアランス速度によって3～4日毎、毎週あるいは2週に1回投与してもよい。

10

【0217】

本発明の活性化合物を含む医薬組成物は、一般に知られた方法で、たとえば、従来の混合プロセス、溶解プロセス、造粒プロセス、糖衣錠製造プロセス、研和プロセス、乳化プロセス、カプセル化プロセス、封入プロセスまたは凍結乾燥プロセスによって製造することができる。医薬組成物は、活性化合物を薬学的に使用することができる調製物に加工しやすくする賦形剤もしくは助剤（または両方）を含む、1種もしくは複数種の薬学的に許容されるキャリアを用いて従来の方法で製剤化してもよい。言うまでもなく、適切な製剤は選択された投与経路によって異なる。

20

【0218】

注射用途に好適な医薬組成物は、無菌水溶液（水溶性の場合）または分散液、および必要に応じて調製される無菌注射用溶液または分散液用の無菌粉末を含む。静脈内投与では、好適なキャリアとして、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL（商標）（BASF, Parsippany, N.J.）またはリン酸塩緩衝生理食塩水（PBS）が挙げられる。すべての場合において、組成物は無菌でなければならず、シリンジ操作が容易である程度の流動性があるべきである。組成物は、製造および保存条件下で安定でなければならず、細菌および真菌などの混入微生物の作用を防止しなければならない。キャリアは、たとえば、水、エタノール、ポリオール（たとえば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールならびに同種のもの）およびこれらの好適な混合物を含む溶媒または分散媒であってもよい。適切な流動性は、たとえば、レシチンなどのコーティングの使用により、分散液の場合には、必要とされる粒度の維持により、および界面活性剤の使用により維持することができる。微生物の作用の防止は、様々な抗菌剤および抗真菌剤、たとえば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルおよび同種のものを使用により達成することができる。多くの場合、組成物中に等張剤、たとえば、糖、多価アルコール、たとえばマニトールおよびソルビトール、ならびに塩化ナトリウムを含むことが好ましい。注射用組成物の吸収の持続化は、組成物に吸収を遅らせる薬、たとえば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを含ませることにより行うことができる。

30

40

【0219】

無菌注射溶液は、必要量の活性化合物を、必要に応じて上記に列挙した1つの成分または成分の組み合わせと共に適切な溶媒に加え、続いて濾過滅菌を行うことにより調製することができる。一般に、分散液は、基本的な分散媒および上記に列挙したものから必要とされる他の成分を含む無菌ビヒクルに活性化合物を加えることにより調製される。無菌注射溶液の調製用の無菌粉末の場合、調製方法は真空乾燥およびフリーズドライであり、これにより活性成分と任意の所望の追加成分との、前もって滅菌濾過した溶液から、活性成分と任意の所望の追加成分との粉末が得られる。

【0220】

50

経口組成物は一般に、不活性希釈剤または食用の薬学的に許容されるキャリアを含む。経口組成物はゼラチンカプセルに封入しても、あるいは錠剤に圧縮してもよい。経口治療投与の目的上、活性化合物を賦形剤と混合し、錠剤、トローチ剤またはカプセル剤の形態で使用してもよい。経口組成物はさらに、洗口剤として使用される液体キャリアを用いて調製してもよく、液体キャリア中の化合物は経口適用し、すすいで吐き出すかまたは飲み込む。薬学的に適合する結合剤もしくは補助剤、または両方を組成物の一部として含めてもよい。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤および同種のもは、性質の類似した以下の成分または化合物：バインダー、たとえば微結晶性セルロース、トラガントゴムまたはゼラチン；賦形剤、たとえばデンプンまたはラクトース、崩壊剤、たとえばアルギン酸、Primogelまたはコーンスターチ；滑沢剤、たとえばステアリン酸マグネシウムまたはSterotes；流動促進剤、たとえばコロイド状二酸化ケイ素；甘味剤、たとえばスクロースまたはサッカリン；または着香剤、たとえばペパーミント、サリチル酸メチルまたはオレンジ香味料のいずれかを含んでもよい。

10

【0221】

吸入による投与では、化合物は、好適な噴射剤、たとえば、二酸化炭素などのガスを含む加圧容器もしくはディスペンサー、またはネブライザーからエアロゾルスプレーの形態で送達される。

【0222】

全身投与はまた、経粘膜または経皮手段によるものでもよい。経粘膜または経皮投与では、透過対象のバリアに適した浸透剤を製剤に使用する。こうした浸透剤は一般に当該技術分野において公知であり、たとえば、経粘膜投与の場合、界面活性剤、胆汁酸塩およびフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは坐剤の使用により達成することができる。経皮投与では、活性化合物を一般に当該技術分野において公知の軟膏、膏薬、ゲルまたはクリームに製剤する。

20

【0223】

活性化合物は、化合物の身体からの急速な排除を防ぐ薬学的に許容されるキャリア、たとえばインプラントおよびマイクロカプセル化送達系などの放出制御製剤と共に調製してもよい。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸などの生分解性生体適合性ポリマーを使用してもよい。こうした製剤を調製するための方法は、当業者に明らかであろう。こうした材料はさらに、Alza CorporationおよびNova Pharmaceuticals, Inc. から市販品として入手することができる。リポソーム懸濁液（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を用いて感染細胞を標的としたリポソームを含む）も、薬学的に許容されるキャリアとして使用することができる。これらは、たとえば米国特許第4,522,811号明細書に記載されているような当業者に公知の方法に従い調製することができる。

30

【0224】

投与のしやすさおよび投薬量の均一性のため、経口または非経口組成物を投薬単位剤形で製剤化すると特に有利である。投薬単位剤形とは、本明細書で使用する場合、単位投薬量として治療対象の被験体に適した物理的に分離した単位をいい、各単位は、必要とされる薬学的キャリアと共に、所望の治療効果を発揮するように計算された所定量の活性化合物を含む。本発明の投薬単位剤形の規格は、活性化合物の特有の特徴および達成されるべき個々の治療効果により決定され、それらに直接左右される。

40

【0225】

治療用途では、本発明に従い使用される医薬組成物の投薬量は、選択した投薬量に影響を与える数ある要因の中でも、薬、レシピエント患者の年齢、体重および臨床状態、ならびに治療を行う臨床医または開業医の経験および判断によって異なる。一般に、用量は、腫瘍の増殖を遅延させる、そして好ましくは退縮させる、さらに好ましくは癌を完全に退縮させるのに十分であるべきである。投薬量は、単回投与、分割投与または連続投与で約0.01mg/kg/日～約5000mg/kg/日の範囲であってもよい。好ましい態

50

様では、投薬量は約 1 mg / kg / 日 ~ 約 1000 mg / kg / 日の範囲であってもよい。ある種の態様では、用量は約 0.1 mg / 日 ~ 約 50 g / 日；約 0.1 mg / 日 ~ 約 25 g / 日；約 0.1 mg / 日 ~ 約 10 g / 日；約 0.1 mg ~ 約 3 g / 日；または約 0.1 mg ~ 約 1 g / 日の範囲であってもよい（投与は kg 単位の患者の体重、m² 単位の体表面積および年齢に応じて調整してもよい）。医薬剤の有効量は、臨床医または他の適格な観察者により認められる改善が客観的に特定できる量である。たとえば、患者の腫瘍の退縮は、腫瘍の直径を基準に測定してもよい。腫瘍の直径の減少は退縮を示す。退縮はさらに、治療を中止した後に再発する腫瘍がないことによっても示される。本明細書で使用する場合、「投薬量効果的方法」という用語は、活性化化合物の量が被験体または細胞で所望の生物学的作用を発揮することをいう。

10

【0226】

医薬組成物は、投与説明書と共に容器、パックまたはディスペンサーに含めてもよい。

【0227】

本発明の化合物はさらに塩を形成することができる。

【0228】

本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される塩」は、親化合物がその酸性塩または塩基性塩を作ることにより修飾された本発明の化合物の塩をいう。薬学的に許容される塩の例として、アミンなどの塩基性残基の鉱酸塩または有機酸塩、カルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩または有機塩、および同種のものがあるが、これに限定されるものではない。薬学的に許容される塩は、たとえば、無毒性無機酸または有機酸から形成された親化合物の従来は無毒性塩または第四級アンモニウム塩を含む。たとえば、そうした従来は無毒性塩として、2 - アセトキシ安息香酸、2 - ヒドロキシエタンスルホン酸、酢酸、アスコルビン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、重炭酸、炭酸、クエン酸、エデト酸、エタンジスルホン酸、1, 2 - エタンスルホン酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、グリコリアルサニル酸、ヘキシルレゾルシン酸、ヒドラバム酸、臭化水素酸、塩酸、ヨウ化水素酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフトエ酸、イセチオン酸、乳酸、ラクチオン酸、ラウリルスルホン酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ナブシル酸、硝酸、シュウ酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、リン酸、ポリガラクトン酸、プロピオン酸、サリチル酸、ステアリン酸、サブ酢酸 (subacetic)、コハク酸、スルファミン酸、スルファニル酸、硫酸、タンニン酸、酒石酸、トルエンスルホン酸および一般に存在するアミン酸、たとえば、グリシン、アラニン、フェニルアラニン、アルギニン等から選択される無機酸および有機酸から得られるものがあるが、これに限定されるものではない。

20

30

【0229】

薬学的に許容される塩の他の例として、ヘキサン酸、シクロペンタンプロピオン酸、ピルビン酸、マロン酸、3 - (4 - ヒドロキシベンゾイル) 安息香酸、桂皮酸、4 - クロロベンゼンスルホン酸、2 - ナフタレンスルホン酸、4 - トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸、4 - メチルピシクロ - [2.2.2] - オクト - 2 - エン - 1 - カルボン酸、3 - フェニルプロピオン酸、トリメチル酢酸、第三級ブチル酢酸、ムコン酸および同種のもものが挙げられる。本発明はさらに、親化合物に存在する酸性プロトンが金属イオン、たとえば、アルカリ金属イオン、アルカリ土類イオン、またはアルミニウムイオンに置き換えられている場合、あるいは有機塩基、たとえばエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、トロメタミン、N - メチルグルカミンおよび同種のものと同位している場合に形成される塩を包含する。

40

【0230】

化合物、またはその薬学的に許容される塩、溶媒和物もしくは多形は、経口投与、経鼻投与、経皮投与、経肺投与、吸入投与、口腔内投与、舌下投与、腹腔内投与、皮下投与、筋肉内投与、静脈内投与、直腸内投与、胸膜内投与、髄腔内投与および非経口投与される。一実施形態では、化合物は経口投与される。当業者であれば、特定の投与経路の利点を認識するであろう。

50

【0231】

化合物を利用する投与レジメンは、患者のタイプ、種、年齢、体重、性別および医学的狀態；治療對象の狀態の重症度；投与経路；患者の腎機能および肝機能；ならびに利用される個々の化合物またはその塩など種々の因子に従い選択される。通常の知識を有する医師または獣医師であれば、当該狀態の進行を予防、防止または停止するのに必要な薬劑の有効量を容易に判定し、処方することができる。

【0232】

開示した本發明の化合物の製劑および投与のための技術は、Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995)で確認することができる。一実施形態では、本明細書に記載の化合物およびその薬学的に許容される塩は、薬学的に許容されるキャリアまたは希釈薬と組み合わせて医薬調製物に使用される。好適な薬学的に許容されるキャリアとして、不活性な固体充填劑または希釈薬、および無菌水溶液または有機溶液が挙げられる。本化合物は、本明細書に記載の範囲の所望の投薬量を与えるのに十分な量でそうした医薬組成物中に存在する。

10

【0233】

本明細書に使用されるパーセンテージおよび比率はすべて、他に記載がない限り、重量による。本發明の他の特徴と利点は様々な例から明らかである。提示した例は、本發明を実施する際に有用な様々な要素および方法を説明するものである。こうした例は、特許請求の範囲に記載されている發明を限定するものではない。本開示に基づき、当業者であれば、本發明を実施するのに有用な他の要素および方法を特定し、利用することができる。

20

【0234】

本明細書に記載の合成スキームでは、簡潔にするため1つの特定の構造で化合物を描いていることがある。こうした特定の構造は、本發明を異性体、互変異性体、位置異性体または立体異性体のいずれかに限定するものと解釈してはならず、異性体、互変異性体、位置異性体または立体異性体は、異性体、互変異性体、位置異性体または立体異性体の混合物を排除するものでもない。

【0235】

本發明の方法に好適な追加の化合物、ならびに医薬組成物およびその使用について、国際公開第12/142504号パンフレットおよび国際公開第12/142513号パンフレットに記載されており、その内容全体を各々参照により本明細書に援用する。

30

【0236】

ヒストンタンパク質の翻訳後修飾およびATP依存性クロマチンリモデリングは、正常な遺伝子発現の正確さを制御する重要なプロセスである。PRC2およびSWI/SNF複合体など、これらのプロセスに関与するタンパク質は、癌において遺伝子変異していることが多い。重要なことだが、これらの2つの複合体は、通常、クロマチンへの結合およびクロマチンに対する影響において互いに競合しており、遺伝子変異が、この拮抗作用に不均衡を起し得る。例えば、INI1はSWI/SNF複合体のサブユニットであるが、ほぼ全てのラブドイド腫瘍において失われており、それは、PRC2-EZH2メチルトランスフェラーゼへの発癌性の依存性 (oncogenic dependency) をつくり、ラブドイド腫瘍モデルはEZH2小分子阻害剤に感受性がある。別のINI1欠乏腫瘍タイプである滑膜肉腫において、再発性の染色体転座は、染色体18上のSS18遺伝子 (SWI/SNFクロマチンリモデリング複合体のサブユニット) を、X染色体上の3つの関連する遺伝子、SSX1、SSX2、および稀にはSSX4の1つに融合する。これは、発癌性のSS18-SSX融合タンパク質の発現をもたらすが、それはSWI/SNF複合体に結合して、野生型SS18と腫瘍抑制因子INI1の両方を追い出し、これらはその後分解する。これは、異常な遺伝子発現をもたらし、最終的に癌が発生する。

40

【0237】

化合物A (本明細書において、E7438またはEPZ-6438とも呼ばれる)、臨

50

床早期の選択的かつ経口的に生物学的利用可能な、EZH2 酵素活性の小分子阻害剤が、単剤としても化学療法との組み合わせでも滑膜肉腫の前臨床モデルにおいて抗増殖活性を誘導することを示すデータが本明細書に記載される。化合物は、具体的には滑膜肉腫細胞株 (SS18 - SSX1 融合陽性である) において、インビトロで用量依存性の細胞成長阻害および細胞死を誘導する。細胞株異種移植片が2つの患者由来異種移植片 (PDX) モデルのいずれかを有するマウスの処置は、EZH2 特異的基質、ヒストンH3 上のリジン27のトリメチル化レベルの相関的阻害と共に、用量依存性腫瘍成長阻害をもたらす。これらのデータは、異種移植片モデル中のEZH2 酵素活性に対するSS18 - SSX1 陽性滑膜肉腫の依存性を示し、適切なバイオマーカーを有するこれらの遺伝子により規定された癌におけるEZH2 標的薬の潜在的な有用性を示唆する。

10

【0238】

本明細書に引用された全刊行物および特許文書は、そのような刊行物または文書のそれぞれが、具体的かつ個別に引用により本明細書に組み込まれると示されたかのように、引用により本明細書に組み込まれる。刊行物および特許文書の引用は、いずれもが関係する従来技術であることの承認として意図されず、その内容または日付に関する何らかの承認を構成するものでもない。本発明は、書面での説明により説明されてきたので、当業者は、本発明が種々の実施形態で実施でき、前記説明および以下の実施例が説明のためのものであり、以下の特許請求の範囲を限定するものでないことを認識するだろう。

【実施例】

【0239】

実施例1：様々な細胞株におけるEZH2、INI1、SS18 - SSX1 およびローディング対照 - アクチンのタンパク質レベル

HS - SY - II および SW982 ヒト滑膜肉腫細胞、RD ヒト横紋筋肉腫細胞、G401 ヒトラブドイド腫瘍細胞ならびに HEK293 ヒト胎児由来腎臓細胞を、1x プロテアーゼ阻害剤カクテル (Thermo Scientific, Rockford, IL) を含有する 1x 細胞溶解バッファー (#9803, Cell Signaling Technology, Danvers, MA) で溶解した。サンプルを超音波処理し、4 で10分間、10,000xg の遠心分離により清澄化した。溶解物のタンパク質含量を、BCA タンパク質アッセイキット (Thermo Scientific) を使用して測定した。2x ローディングバッファー (トリス SDS - ME サンプル処理液, Cosmo bio, Tokyo, Japan) および水を細胞溶解物と混合することによりサンプル溶液を調製し、95 で5分間インキュベートした。ウエスタンブロット分析を以下のように行った。サンプル溶液を還元条件下で、SS18 およびEZH2 について2~15% 勾配ポリアクリルアミドゲルにて、またはINI1 および - アクチンについて4~20% 勾配ポリアクリルアミドゲルにて分離し、ニトロセルロース膜 (GE Healthcare, Waukesha, WI) に転写した。ブロットを以下のブロッキング溶液を用いて室温で1時間ブロッキングした：EZH2、INI1 およびSS18 については1x Block Ace 溶液 (Yukijirushi, Sapporo, Japan)、また - アクチンについては0.5% ツイーン20 および5% スキムミルクを含有するTBS。ブロットを、以下の希釈条件を用いて、一次抗体と4 で一晚インキュベートした：0.5% ツイーン20 および0.1x Block Ace 溶液を含有するTBS 中で1:1000 希釈のEZH2 抗体 (07-689, Millipore, Billerica, MA)、0.5% ツイーン20 および0.1x Block Ace 溶液を含有するTBS 中で1:1000 希釈のINI1 抗体 (#8745, Cell Signaling Technology)、0.5% ツイーン20 および0.1x Block Ace 溶液を含有するTBS 中で1:500 希釈のSS18 抗体 (sc-365170, Santa Cruz, Santa Cruz, CA)、および0.5% ツイーン20 および5% スキムミルクを含有するTBS 中で1:2000 希釈の - アクチン抗体 (A5441, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)。0.5% ツイーン20 を含有するTBS で洗浄後、ブロットを、西洋ワサビペルオキシダーゼをコンジュゲ

20

30

40

50

トした抗ラビットIgG (Cell Signaling Technology) または抗マウスIgG (Cell Signaling Technology) と以下の希釈条件を用いて、室温で60分間さらにインキュベートした: EZH2、INI1およびSS18については、0.5%ツイーン20および0.1xBlock Ace溶液を含有するTBS中で1:1000希釈の抗ラビットIgG、また - アクチンについては、0.5%ツイーン20および5%スキムミルクを含有するTBS中で1:2000希釈の抗マウスIgG。0.5%ツイーン20を含有するTBSによる広範な洗浄後、プロットをImmobilon Western化学発光HRP基質 (Millipore) で発色させた。免疫反応性のバンドを、発光イメージアナライザーLAS-3000 (Fuji Film, Tokyo, Japan) を用い、化学発光により可視化した。ウエスタンプロットの代表的な画像を図1に示す。SS18-SSX1の発現がHS-SY-II細胞で確認された。INI1のダウンレギュレーションもこの細胞株で観察された。一方、別の滑膜肉腫株SW982は融合タンパク質を発現せず、RD細胞およびHEK293細胞と同等のINI1の発現を示した。

10

【0240】

実施例2: 様々な細胞株におけるH3K27のトリメチル化およびジメチル化のレベル
 ヒトHS-SY-IIおよびSW982ヒト滑膜肉腫細胞、RDヒト横紋筋肉腫細胞、G401ヒトラブドイド腫瘍細胞、WSU-DLCL2およびOCI-LY19ヒトびまん性大型B細胞リンパ腫細胞、ならびにHEK293ヒト胎児由来腎臓細胞を、500μLの溶解バッファー(10mmol/LのMgCl₂、10mmol/Lのトリス-HCl、25mmol/LのKCl、1%トリトンX-100、8.6%ショ糖および1xプロテアーゼ阻害剤カクテル)中に懸濁させた。氷上で5分間インキュベートした後、4で5分間、600xgの遠心分離により核を集め、氷冷PBSで1回洗浄した。4で5分間、600xgで遠心分離した後、ペレットを、0.2mol/Lの氷冷硫酸100μL中に1時間再懸濁し、インキュベーション中に数回、ボルテックスした。上清を4で10分間、10,000xgの遠心分離により清澄化し、回収した上清に1mLの氷冷アセトンを加えた。ヒストンを-20で1時間沈殿させ、4で10分間、10,000xgの遠心分離によりペレットにし、100μLの水に再懸濁した。抽出したヒストンを、BCAタンパク質アッセイキット(Pierce)を使用して定量した。2xローディングバッファー(トリスSDS-MEサンプル処理液, Cosmo bio)および水を細胞溶解物と混合することによりサンプル溶液を調製し、95で5分間インキュベートした。ウエスタンプロット分析を以下のように行った。サンプル溶液を還元条件下で、15~25%勾配ポリアクリルアミドゲルにて分離し、ニトロセルロース膜(GE Healthcare, Waukesha, WI)に転写した。プロットを、以下のブロッキング溶液を用いて、室温で1時間ブロッキングした: H3K27me3およびH3K27me2については、1xBlock Ace溶液、また全ヒストンH3については、0.5%ツイーン20および5%スキムミルクを含有するTBS。プロットを、以下の希釈条件を用いて、一次抗体と4で一晩インキュベートした: 0.5%ツイーン20および0.1xBlock Ace溶液を含有するTBS中で1:1000希釈のH3K27me3抗体(#9733, Cell Signaling Technology)およびH3K27me2抗体(#9728, Cell Signaling Technology)、ならびに0.5%ツイーン20および5%スキムミルクを含有するTBS中で1:2000希釈の全ヒストンH3抗体(ab1791, Abcam, Cambridge, MA)。0.5%ツイーン20を含有するTBSで洗浄後、プロットを、H3K27me3およびH3K27me2について、0.5%ツイーン20および0.1xBlock Ace溶液を含有するTBS中で1:1000希釈した、または全ヒストンH3について、0.5%ツイーン20および5%スキムミルクを含有するTBS中で1:2000希釈した、西洋ワサビペルオキシダーゼをコンジュゲートした抗ラビットIgG (Cell Signaling Technology) と室温で60分間さらにインキュベートした。0.5%ツイーン20を含有するTBSによる広範な洗浄後、プロットをImmobilon Western化学発光HRP基質 (Millipore) で発色させた。免疫反応性のバンドを、発光イメージアナライザーLAS-3000 (Fuji Film, Tokyo, Japan) を用い、化学発光により可視化した。ウエスタンプロットの代表的な画像を図1に示す。SS18-SSX1の発現がHS-SY-II細胞で確認された。INI1のダウンレギュレーションもこの細胞株で観察された。一方、別の滑膜肉腫株SW982は融合タンパク質を発現せず、RD細胞およびHEK293細胞と同等のINI1の発現を示した。

20

30

40

50

bilon Western 化学発光 HRP 基質 (Millipore) で発色させた。免疫反応性のバンドを、発光イメージアナライザー LAS-3000 (Fuji Film, Tokyo, Japan) を用い、化学発光により可視化した。ウエスタンプロットの代表的な画像を図 2 A に示す。タンパク質バンドのシグナルを、Multi Gauge バージョン 3.0 ソフトウェア (Fuji Film) を使用して定量した。様々な細胞株における定量的な H3K27me3 / 全 H3 (図 2 B)、H3K27me2 / 全 H3 (図 2 C) または H3K27me3 / H3K27me2 (図 2 D) の比を示す一連のプロットを示す。Y646 EZH2 突然変異を保持する WSU-DLCL2 における高い H3K27me3 / H3K27me2 状態とは対照的に、HS-SY-II は高い H3K27me3 / H3K27me2 状態を示さなかった。

10

【0241】

実施例 3：付着細胞株の長期間増殖アッセイ
 プロトコール：

7 日間アッセイのための 96 ウェルプレATING：各付着細胞株について、化合物処理の前に細胞をプレートに付着させるために、夜（翌日化合物で処理するように）または朝（夜に化合物で処理するように）のいずれかに、三つ組で処理するように、96 ウェルプレート中に 100 μL の容量で細胞を蒔いた。

【0242】

7 ~ 14 日間アッセイ用に分けられる 6 ウェルプレート：6 ウェルプレートの各ウェル中に正確な密度で 2 mL の細胞を蒔いた。96 ウェルの密度を 30 倍することにより、96 ウェルプレートの増殖曲線から正確な密度を計算した。係数 30 は、6 ウェルプレートの増殖面積を 96 ウェルプレートの増殖面積で除することから得られ ($9.5 \text{ cm}^2 / 0.32 \text{ cm}^2 = 29.7$ 、切り上げて 30 にする)、これは、96 ウェルプレートに対して 6 ウェルプレートの表面積が 30 倍大きいことに対応する。

20

【0243】

0 日目：培地を除去し、正確に希釈した化合物 / DMSO を含む、100 μL (96 ウェルプレートに対して) または 2 mL (6 ウェルプレートに対して) の培地を加えることによって、化合物または DMSO で処理した。表 1 に 96 ウェルプレートのマップの一例を挙げる。プレートを 96 時間インキュベートした。

30

【0244】

【表 1】

表1:

A	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	無処置	10	2.5	0.63	0.16	0.04	0.01	0.0024	0.0006	DMSO	
C	無処置	10	2.5	0.63	0.16	0.04	0.01	0.0024	0.0006	DMSO	
D	無処置	10	2.5	0.63	0.16	0.04	0.01	0.0024	0.0006	DMSO	
E		化合物	希釈	-----	-----	-----	-----	-----	----->		
F											
G											
H											

40

【0245】

0 日目の読み取りのために Cell Titer - Glo (登録商標) を用いて 96 ウェルプレートを読み取った (培地交換はこのプレートについて必要ない)。

【0246】

4 日目：4 日目の読み取りのために Cell Titer - Glo (登録商標) を用いて 96 ウェルプレートを読み取った (読み取り前の培地交換はこのプレートについて必要ない)。96 ウェルプレートおよび 6 ウェルプレートにおいて、4 日目に化合物を含有する新鮮培地に培地を置き換えた。

【0247】

50

7日目：CellTiter-Glo（登録商標）を用いて96ウェルプレートを読み取った。

【0248】

6ウェルプレートの個々のウェルをカウントし、上記に記載のように、開始プレーティング密度になるように96ウェルプレートに細胞を再度蒔いた。

【0249】

増殖アッセイの7～14日目のために、0～7日目のステップを繰り返した。

【0250】

具体的には、化合物処理の約12時間前に、HS-SY-II細胞またはSW982細胞をそれぞれ、24,000細胞/ウェルおよび7,500細胞/ウェルの密度で6ウェルプレートに蒔いた。0日目に、DMSOまたは10 μ mol/Lから4倍希釈で希釈した化合物で細胞を処理した。7日目に、6ウェルプレートの細胞をトリプシン処理し、TC10自動細胞カウンター（Bio-Rad, Richmond, CA）によりカウントし、HS-SY-IIおよびSW982についてそれぞれ、800細胞/ウェルおよび250細胞/ウェルの密度で96ウェルプレートに三つ組で再度蒔いた。細胞をプレートに一晩附着させ、0日目のように、DMSOまたは化合物のいずれかで処理した。0、7、11および14日目に、EnVision 2103 Multilabel Reader（Perkin-Elmer, Wellesley, MA）を用いて、CellTiter-Glo（登録商標）ルミネセンス細胞生存率アッセイ（Promega）により細胞生存率を決定した。4および11日目に化合物/培地を新しいものと交換した。7日目に對する7、11および14日目の測定値の比を用いて、7日目から14日目までの増殖をプロットし、14日目のIC₅₀値を計算した。化合物Eおよび化合物A（本明細書ではE7438およびEPZ-6438とも呼ばれる）を使用する実験の代表的なグラフをそれぞれ、図3A、3Bおよび3C、3Dに示す。HS-SY-II細胞は、14日間の長期間増殖アッセイにおいて化合物Eおよび化合物Aに高感受性を示したが、一方SW982細胞は高感受性を示さなかった。

10

20

【0251】

実施例4：インビトロおよびインビボにおける化合物A処理

インビトロにおいて、HS-SY-II細胞は、化合物Aに高感受性であり、用量依存的に細胞増殖の阻害を示す。一方、SW982細胞は化合物Aに感受性ではない（図5Aおよび5B）。

30

【0252】

H3K27me3の減少がEZH2阻害剤による処理により両方の細胞株で観察され（図6A）、そのIC₅₀値は互いに同等であった（図6B）。これから、EZH2阻害剤を用いる処理によるヒストンマークの変化は、SS18-SSX融合タンパク質の存在とは無関係であることが示唆される。

【0253】

PK値およびPD変化をHS-SY-II異種移植マウスモデルで分析した。最後の投与の5分前および3時間後の化合物Aの血漿中濃度を測定した。用量依存的な暴露量が観察された（図7A）。同時に、腫瘍組織中のH3K27me3レベルの用量依存的な低下も観察された（図7B）。表2および3に、図7Bに示すデータに関する統計解析を示す。

40

【0254】

【表 2】

表2:

ファミリー数	3								
ファミリーあたりの比較の数	3								
アルファ	0.05								
ダネット多重比較検定	平均の差	差の95%信頼区間	有意か?	要約					
ビヒクル対 E7438125 mg/kg	0.3	0.1631 ~ 0.4319	はい	****					
ビヒクル対 E7438250 mg/kg	0.45	0.3101 ~ 0.5899	はい	****					
ビヒクル対 E7438500 mg/kg	0.696	0.5641 ~ 0.8279	はい	****					
検定詳細	平均 1	平均 2	平均の差	差の平均誤差	n1	n2	α	DF	
ビヒクル対 E7438125 mg/kg	1	0.7	0.3	0.05052	5	5	5.938	15	
ビヒクル対 E7438250 mg/kg	1	0.55	0.45	0.05359	5	4	8.398	15	
ビヒクル対 E7438500 mg/kg	1	0.304	0.696	0.05052	5	5	13.78	15	

10

【 0 2 5 5 】

【表 3】

20

表3:

線形トレンドの事後検定	
傾き	-0.1119
R二乗	0.9104
P値	< 0.0001
P値要約	****
線形トレンドは有意か(P < 0.05)?	はい

30

【 0 2 5 6 】

化合物 A または EPZ - 011989 (すなわち、化合物 C) を用いる処理による遺伝子発現変化を、インビトロ培養の HS - SY - II および SW982 で分析した。PRC2 複合体が TLE1 により SS18 - SSX 融合タンパク質に動員され、ATF2 標的遺伝子 (EGR1、ATF3、MEIS2 および CDKN2A) を抑制することが報告されている (Cancer Cell 21, 333 - 347, 2012)。そこで、EGR1、ATF3 および CDKN2A の発現レベルを検査した。用量および時間依存的な CDKN2A のアップレギュレーションが HS - SY - II で観察されたが、一方 SW982 では、CDKN2A 遺伝子座がホモ接合性に欠失していることが知られている (図 8)。

40

【 0 2 5 7 】

表 4 に、図 8 に示すデータに関する統計解析を示す。

【 0 2 5 8 】

【表 4】

表 4:

		0μMに対して		2日目	4日目	7日目
SW982	E7438	ATF3	0.1 uM	ns	ns	ns
			1 uM	ns	ns	ns
		EGR1	0.1 uM	ns	ns	ns
			1 uM	ns	ns	ns
	EPZ011989	ATF3	0.1 uM	ns	ns	ns
			1 uM	ns	ns	ns
EGR1		0.1 uM	*	**	ns	
		1 uM	ns	ns	*	
HS-SY-II	E7438	ATF3	0.1 uM	ns	ns	ns
			1 uM	ns	*	**
		EGR1	0.1 uM	ns	ns	ns
			1 uM	ns	ns	**
		CDKN2A	0.1 uM	ns	ns	ns
			1 uM	**	****	****
	EPZ011989	ATF3	0.1 uM	ns	**	ns
			1 uM	*	*	**
		EGR1	0.1 uM	ns	**	ns
			1 uM	ns	**	**
		CDKN2A	0.1 uM	ns	****	ns
			1 uM	***	****	****

アスタリスクは、0μM処置群のレベルに対する有意な変化を意味する。

【0259】

化合物 A を用いる処理による遺伝子発現変化はまた HS - SY - II 異種移植モデルでも分析した。CDKN2A は、500 mg / kg の化合物 A を投与したマウスで顕著にアップレギュレートされた (図 9)。ここでも、化合物 A は、滑膜肉腫病態形成に關与する遺伝子の発現変化を誘導する。

【0260】

図 10 A ~ 10 C に、HS - SY - II 異種移植片を担持する無胸腺ヌードマウスの平均インビボ腫瘍容積を示す。第 1 の試験では、ビヒクル (28 日間経口もしくは 1 日目および 22 日目に iv)、化合物 A (経口: 28 日間 125 mg / kg、250 mg / kg もしくは 500 mg / kg) またはドキソルビシン (iv: 10 mg / kg、1 日目および 22 日目) のいずれかをマウスに投与し、腫瘍容積を週に 2 回測定した (図 10 A および 10 B)。第 2 の試験では、ビヒクル (28 日間経口)、化合物 A (経口: 28 日間 250 mg / kg または 500 mg / kg)、ドキソルビシン (iv: 1 日目および 22 日目に 10 mg / kg) またはドキソルビシン (iv: 1 日目および 22 日目に 10 mg / kg) と化合物 A (経口: 28 日間 250 mg / kg) の併用のいずれかをマウスに投与した (図 10 C)。第 2 の試験の動物腫瘍は 28 日目 (最後の投与の 3 時間後) に摘出し、ELISA による H3K27me3 分析 (図 10 D) または増殖マーカー Ki67 に対する IHC (図 10 E) に供した。

【0261】

2D 細胞培養では、化合物 A に感受性であるが、HS - SY - II 細胞株異種移植では、マウス異種移植モデルは用量相関的な腫瘍容積の増加を示した; この観察の基礎となる機構は検討中である。

【0262】

図11Aおよび11Cは、滑膜肉腫腫瘍の2つの異なるPDXの1つを担持する無胸腺ヌードマウスの平均インビボ腫瘍容積を示す。図11Bおよび11Dは、PDXを担持するマウスのパーセント生存率を示す。ビヒクル(35日間経口)、化合物A(経口:35日間125mg/kg、250mg/kgもしくは500/400mg/kg)またはドキシルピシン(iv:3mg/kg、3週間週に1回)のいずれかをマウスに投与した。図11Aおよび11Bは、高グレードの紡錘細胞肉腫を有する57歳男性に由来するPDXを担持するマウスのデータを示す。図11Cおよび11Dは、16歳女性に由来するPDXを担持するマウスのデータを示す。HS-SY-II細胞株異種移植とは対照的に、PDXマウスはインビボで用量相関的な腫瘍容積の減少を示した。

10

【0263】

図12Aおよび12Bは、35日目に収集しRNA-seq解析により分析した、マウスのサブセットから得た滑膜肉腫PDX腫瘍のアレイデータを示す。図12Aは、57歳の男性からのPDXを有するマウスから得たデータであり;図12Bは、16歳の女性からのPDXを有するマウスから得たデータである。HLA遺伝子、Fas、およびKLRD1の発現は、ビヒクルにより処置されたマウスに対して400mg/kg化合物Aにより処置されたマウスで増加した。図中で、青は低発現であり、赤は高発現である。

【0264】

材料および方法
細胞培養

20

HS-SY-II(RCB2231,RIKEN BioResource Center)およびSW982(HTB-93,ATCC)を、37、5%CO₂の条件下、10%FBS含有RPMI1640中で増殖させた。HS-SY-II細胞はSS18-SSX1融合体を有することを特徴とするが、SW982細胞は野生型SS18を有する。

【0265】

化合物Aにより誘導される、H3K27メチル化の変化

HS-SY-IIおよびSW982細胞を、DMSOまたは40nmol/Lから4倍希釈で希釈した化合物Aのいずれかで、96時間処理した。細胞を氷冷PBSにより洗浄し、細胞スクレーパーにより回収し、100μlの核抽出バッファー(10mMのトリス-HCl、10mMのMgCl₂、25mMのKCl、1%トリトンX-100、8.6%スクロース+1xHalt Protease阻害剤カクテル(1861281,Thermo Scientific))で溶解した。4で5分間、600gの遠心分離により核を集め、氷冷PBSで1回洗浄した。上清を除去し、ヒストンを100μlの0.4N冷硫酸で1時間抽出した。抽出物を4で10分間、10,000gの遠心分離により清澄化し、1mLの氷冷アセトンを含む新しい微小遠心管に移した。ヒストンを-20で一晩沈殿させ、10,000xgで10分間の遠心分離によりペレットにし、100μlの水に再懸濁した。ヒストンを、BCAタンパク質アッセイ(23225,Pierce)を使用して定量した。希釈したヒストンを、Immulon 4HBXプレート(3855,Thermo Scientific)上に一晚コーティングして、ELISAを行った。手短に言えば、0.05%ツイーン20および2%ウシ血清アルブミン(BSA)を含むPBSでブロッキングした後、プレートを、H3K27me3抗体(#9733,Cell Signaling Technology)または全ヒストンH3抗体(AB1791,Abcam)とインキュベートした。プレートをさらに、西洋ワサビペルオキシダーゼをコンジュゲートした抗ラビットIgG(#7074,Cell Signaling Technology)とインキュベートした後、TMB基質(TMBS-0100-01,BioFxlaboratories)とインキュベートした。次いで、ウェル中で発色した色を、プレート分光光度計(SpectraMax 250,Molecular Devices)を使用して、450nm(基準波長650nm)で測定した。H3K27me3レベルを全ヒストンH3に合わせて、DMSO

30

40

50

対照に対する比 (fold change) として表現した。

【0266】

図6Aに代表的なプロットを示す。図6Bに示す IC_{50} 値(2つの独立した実験)の範囲は、GraphPad Prism(GraphPad Software)により決定した。ヒストンマークの変化は、HS-SY-IIとSW982との間で同等であり、この変化はSS18-SSX融合タンパク質に無関係であった。

【0267】

HS-SY-II異種移植モデルにおけるPK値およびPD変化

HS-SY-II細胞を対数増殖の中間時点で回収し、50%マトリゲル(BD Biosciences)含有ハंक平衡塩類溶液中に再懸濁した。Balb/C-numaウス(Charles River Laboratories Japan)の右側腹部に 1×10^7 細胞(0.1mLの細胞浮遊液)を皮下投与した。約200mm³(注入後31日目)の腫瘍を担持するマウスを、同様の平均腫瘍容積を有する処置群に選別した。化合物Aまたはビヒクル(0.5%MC+0.1%ツイーン80の水溶液)を、経口の胃管栄養法により7日間1日2回、指示用量で投与した。各用量を、0.2mL/20gマウス(10mL/kg)の容量で送達し、個々の動物の最後に記録された体重に対して調整した。最後の投与の約5分前および3時間後に、化合物A処置マウスから末梢血サンプルを採取した。遠心分離により血漿サンプルを得た後、化合物Aの血漿中濃度分析を、液体クロマトグラフィー・タンデム型質量分析(LC/MS/MS)法により行った。質量分析計(Quattro premier, MICROMASS)を装備したUPLCシステム(Acquity, Waters)を使用して、化合物Aを定量した。濃度のプロットを図7Aに示す(n=5)。各バーは、各群における血漿中濃度の平均値を表す。

【0268】

腫瘍サンプルを、PK値およびPD変化の分析に使用したマウスから、最後の投与の約3時間後に採取した。腫瘍サンプルを、RNAlater(AM7020, Life technologies)を使用して保存した。全RNAの単離および逆転写を、製造業者の指示に従って、RNeasy Miniキット(74104, Qiagen)および高容量cDNA逆転写キット(4368814, Life technologies)により行った。このcDNAサンプルを、上記のようにリアルタイムPCRに使用した。発現レベルは、GAPDHに合わせて、ビヒクル対照に対する比(fold change)として表現した(図9)。

【0269】

図10Dの場合、腫瘍を液体窒素で瞬間凍結させた。凍結した腫瘍サンプルを20mgの薄片に切断し、500μLの氷冷核抽出バッファー(10mMのトリス-HCl、10mMのMgCl₂、25mMのKCl、1%トリトンX-100、8.6%スクロース+1xHalt Protease阻害剤カクテル(1861281, Thermo Scientific))に入れ、簡便なマイクロホモジナイザーでホモジナイズした。4で5分間、600gの遠心分離により核を集め、氷冷PBSで1回洗浄した。上清を除去し、ヒストンを100μLの0.4N冷硫酸で1時間抽出した。抽出物を4で10分間、10,000gの遠心分離により清澄化し、1mLの氷冷アセトンを含む新しい微小遠心管に移した。ヒストンを-20で一晩沈殿させ、10,000xgで10分間の遠心分離によりペレットにし、100μLの水に再懸濁した。ヒストンを、BCAタンパク質アッセイ(23225, Pierce)を使用して定量した。希釈したヒストンを、Immulon 4HBXプレート(3855, Thermo Scientific)上に一晩コーティングして、ELISAを行った。手短に言えば、0.05%ツイーン20および2%ウシ血清アルブミン(BSA)を含むPBSでブロッキングした後、プレートを、H3K27me3抗体(#9733, Cell Signaling Technology)または全ヒストンH3抗体(AB1791, Abcam)とインキュベートした。プレートをさらに、西洋ワサビペルオキシダーゼをコンジュゲートした抗ラビットIgG(#7074, Cell Signaling Technology)とイン

10

20

30

40

50

キュベートした後、TMB基質 (TMB S - 0100 - 01, BioF x L a b o r a t o r i e s) とインキュベートした。次いで、ウェル中で発色した色を、450nm (基準波長650nm) でプレート分光光度計 (S p e c t r a M a x 250, M o l e c u l a r D e v i c e s) を使用して測定した。H3K27me3レベルを全ヒストンH3に合わせて、ビヒクル対照に対する比 (f o l d c h a n g e) として表現した。これらの値のプロットを図10Dに示す (n = 6)。各バーは、各群における値の平均値を表す。H3K27me3レベルの顕著な低下が化合物A投与マウス由来の腫瘍で観察された。ヒストンを抽出および定量し、上記のようにH3K27me3レベルを分析した。腫瘍中のH3K27のトリメチル化レベルのプロットを図7Bに示す (n = 5)。各バーは、各群における、トリメチル化レベルの平均 ± S E M を表す。

10

【0270】

化合物A処理後のインピトロにおける遺伝子発現変化

H S - S Y - I I 細胞および S W 9 8 2 細胞を E Z H 2 阻害剤 (化合物Aまたは E P Z - 011989) で処理し、指示時点で回収した。全RNAの単離およびcDNA合成を、製造業者のプロトコールに従い、TaqMan Gene Expression Cells - to - CTキット (4399002, Life technologies) を使用して行った。ATF3、EGR1、CDKN2AおよびGAPDHの発現を、TaqMan Gene Expression Assays (Life technologies, 4331182) およびTaqMan Probes (それぞれ Hs00231069__m1、Hs00152928__m1、Hs00233365__m1 および Hs 99999905__m1) の使用により分析した。発現レベルは、GAPDHに合わせて、DMSO対照に対する比 (f o l d c h a n g e) として表現した (図8)。

20

【0271】

化合物A処理後のインピボにおける遺伝子発現変化

腫瘍サンプルを、PK値およびPD変化の分析に使用したマウスから、最後の投与の約3時間後に採取した。腫瘍サンプルを、RNA later (AM7020, Life technologies) を使用して保存した。全RNAの単離および逆転写を、製造業者の指示に従って、RNeasy Miniキット (74104, Qiagen) および高容量cDNA逆転写キット (4368814, Life technologies) により行った。このcDNAサンプルを、上記のようにリアルタイムPCRに使用した。発現レベルは、GAPDHに合わせて、ビヒクル対照に対する比 (f o l d c h a n g e) として表現した (図9)。追加的または代替的に、全RNAを凍結した腫瘍サンプルから単離した。TruSeq (商標) RNA Sample Prep Kit (Illumina) を使用して、Illumina HiSeq (Illumina TruSeq RNA Sample Preparation Guideに詳述されている) 上でペアエンドシーケンシング (paired - end sequencing) 用のcDNAライブラリーを構築した。Standard Cluster Generation Kit v5は、cDNAライブラリーをフローセル表面に結合させる。1サンプル当たり約50Mクラスターからのペアエンドリードを、Illumina HiSeq 上でTruSeq SBSキットを使用して生成させた。

30

40

【0272】

RNA seq データ処理

FASTQ形式での生シーケンシングリードを、ヒトゲノムhg19およびマウスゲノムmm10に対してアライメントした。トランスクリプトームの定量を、参照としてUSCS KnownGeneトランスクリプトームを使用して、RSEM v1.1.13プログラムで行った。RSEM発現計算は、Illumina 50x50ペアエンドシーケンシング用に最適化されたパラメーターを用いて実行した。

【0273】

生物学的解釈のためのRNA seqトランスクリプトームデータの分析

両方のPDXモデル (各モデルについて5つのレプリケートによる処理) について、化

50

合物 A 対 DMSO 処理の 2 つのサンプル比較に関する遺伝子セット濃縮分析 (Gene Set Enrichment Analysis) (GSEA) を、GSEA Java (登録商標) 対応のデスクトップソフトウェア (バージョン 2.0.13、ワールドワイドウェブ (www.broadinstitute.org/gsea/index.jsp)) を使用して行った。規準化後の RSEM 生成遺伝子レベルのカウントを GSEA 入力に使用した。表現型ではなく遺伝子セットに対して並び替えを行って、小サンプルサイズを処理した。キュレーションされた KEGG 経路およびワールドワイドウェブ (www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/index.jsp) の MSigDB バージョン 4.0 から転写因子結合モチーフ遺伝子セットを、すべての GSEA データ分析に使用した。

10

【0274】

図 10E の場合、集めた腫瘍をホルマリン固定に供し、パラフィン包埋した。パラフィン切片を調製し、脱パラフィンし、ポリマーベースの方法 (EnVision, DAKO, Japan) に準拠した一般的な工程の後に IHC 用に処理した。脱パラフィンした切片を、標的検索溶液 (DAKO、10% の最終濃度に希釈) 中で、121 で 20 分間、2 気圧下でオートクレーブ滅菌することにより抗原検索用に処理し、3% 過酸化水素水で 5 分間処理して内因性ペルオキシダーゼ活性を遮断した。市販の一次抗体を室温で約 1 時間、Ki-67 と反応させた (抗ヒト Ki-67 マウスモノクローナル抗体、DAKO, Japan、1:50 希釈)。EnVision システムを使用する次のステップは、室温で 30 分間の二次抗体による処理を含めて、製造業者の指示に従った; 3, 3'-ジアミノベンジジン を クロモゲン として、また ヘマトキシリン を 対比染色 として使用した。図 10E では、Aperio XT (商標) スキャナーを使用して、スライドをデジタル化した。デジタル化されたスライドを Aperio Image Scope (商標) ソフトウェアを使用して分析し、陽性細胞のパーセントを定量化した。Ki67 の IHC 染色の定量化は、処置群における細胞増殖の変化を示さなかった。各バーは、各群の値の平均を表す。(Ki67 陽性細胞のパーセントの有意な差は、全投与群で観察されなかった)

20

【0275】

滑膜肉腫 RNA-seq 方法

患者由来異種移植片 (PDX) モデル CTG-0331 および CTG-0771 は、ヒト滑膜肉腫を表す低継代の Champions Tumor Graft (商標) モデルである。免疫不全の雌のマウス (Taconic; NCrヌード) の一方の脇腹領域に、ドナー動物から収集した腫瘍断片 (5 mm x 5 mm x 5 mm) を移植したが、それぞれは、特定の継代ロット (CTG-0331 および CTG-0771 で P4) から移植した。腫瘍がおよそ 100 ~ 300 mm³ に達すると、動物を腫瘍体積により調整して処置群と対照群にして、投薬を開始した。ピヒクル (0.5% NaCMC プラス水中 0.1% ツイーン 80) または化合物 A (CTG-0331 には 500 mg/kg および CTG-0771 には 500 mg/kg を 17 日に 400 mg/kg に減らした) を、10 µL/g の投与体積で、35 日間、1 日 2 回経口投与した。腫瘍サイズを週に 2 回測定した。35 日目に、最大腫瘍量を有する 5 匹までのマウスを、最後の投与の 3 時間後に腫瘍収集のために安楽死させ、急速冷凍した。ピヒクル群および最高の化合物 A 投与量群から得た冷凍された腫瘍試料 (30 mg) を、RNA プロセッシングおよび RNA-seq 解析のために Expression Analysis に発送した。

30

40

【0276】

参照による援用

本明細書に言及した特許文書および科学論文の各々の開示内容全体は、あらゆる目的において援用する。

【0277】

均等物

本発明は、その精神または本質的な特徴を逸脱することなく他の特定の形態で実施することができる。したがって、前述の実施形態は、あらゆる点で本明細書に記載の本発明に

50

関する限定ではなく、例示と見なすべきである。このため、本発明の範囲は、明細書本文ではなく添付の特許請求の範囲により示され、特許請求の範囲の均等範囲に属するすべての変更をすべてその範囲内に包含することを意図している。

【 図 1 】

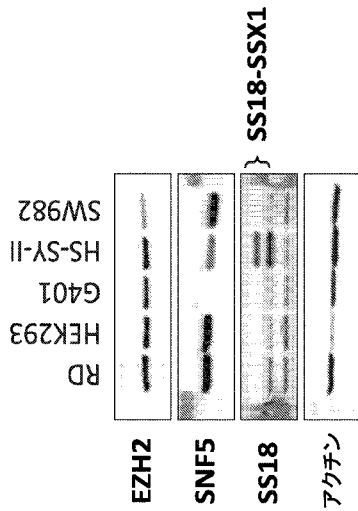


図1

【 図 2 A 】

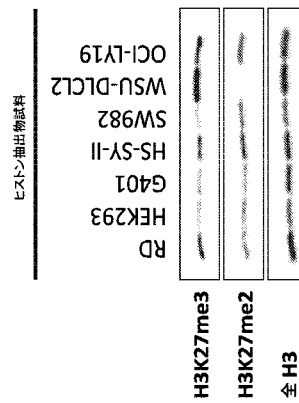
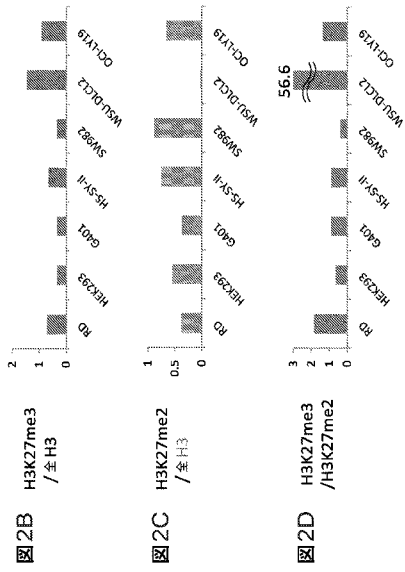
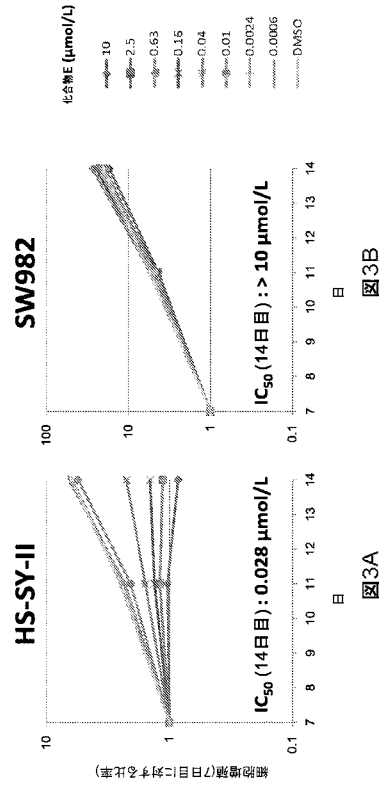


図2A

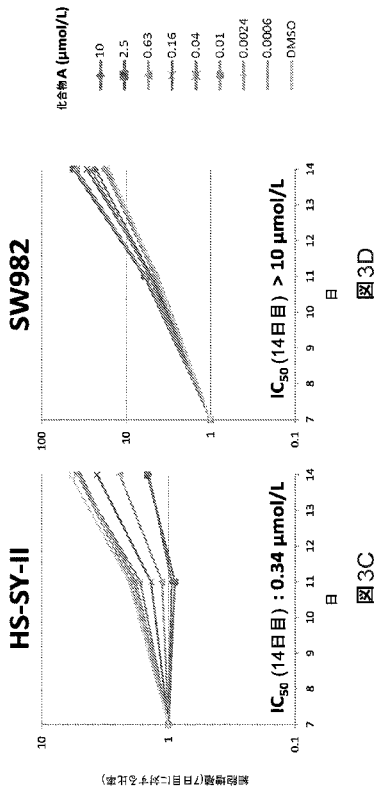
【 図 2 B - 2 C 】



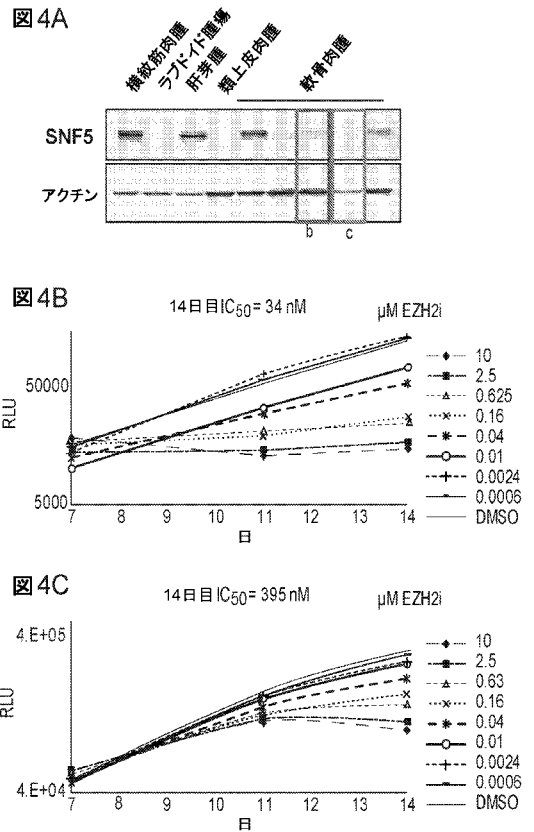
【 図 3 A - 3 B 】



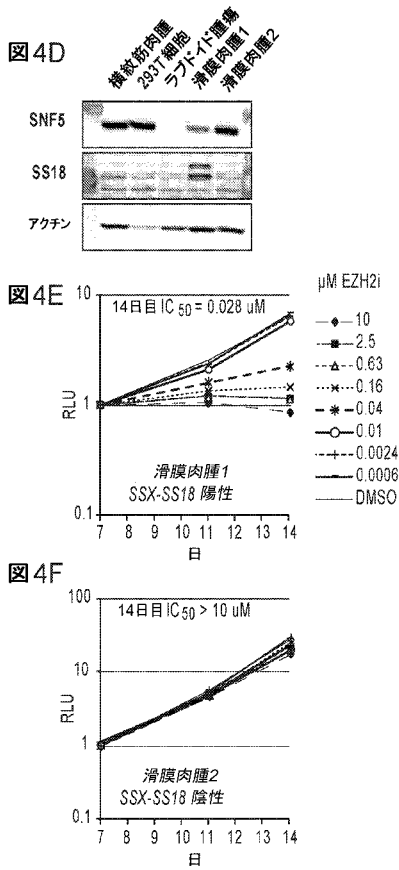
【 図 3 C - 3 D 】



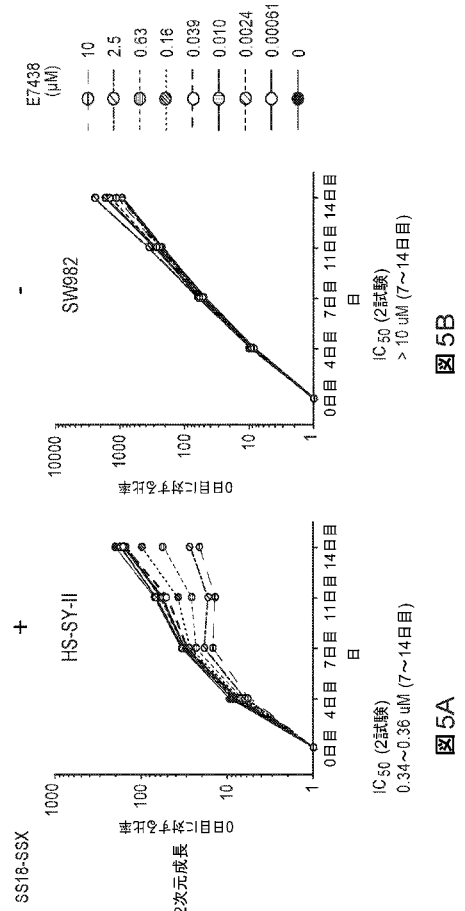
【 図 4 A - 4 C 】



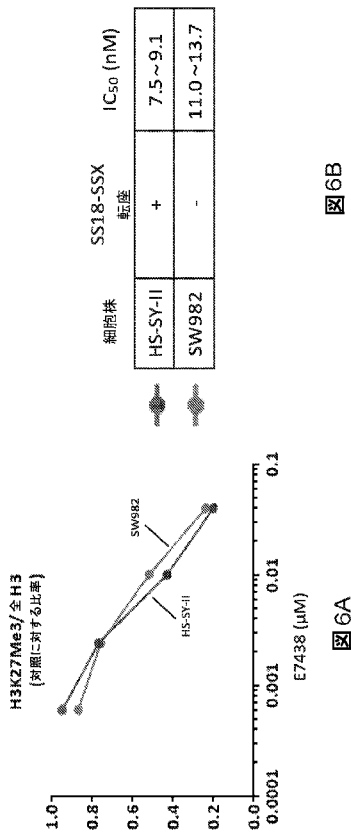
【 図 4 D - 4 F 】



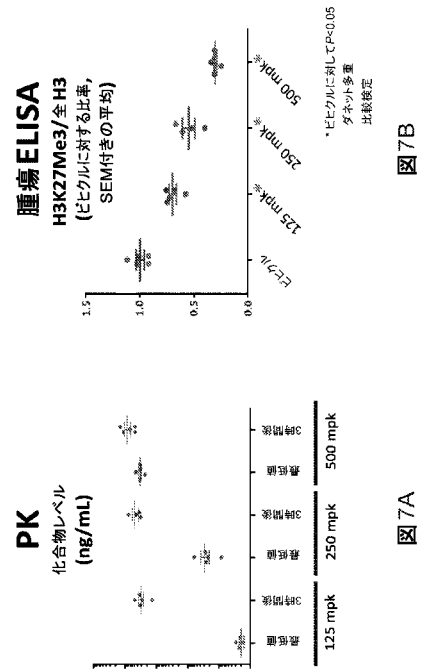
【 図 5 A - 5 B 】



【 図 6 A - 6 B 】



【 図 7 A - 7 B 】



【 図 8 】

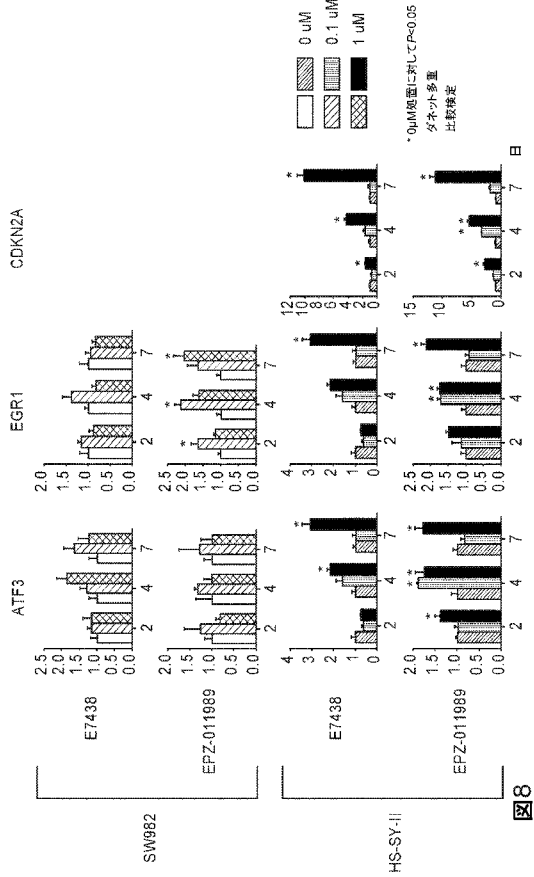


図8

【 図 9 】

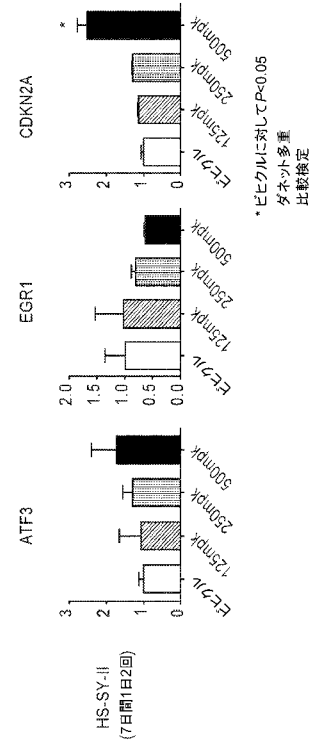


図9

【 図 10 A - 10 C 】

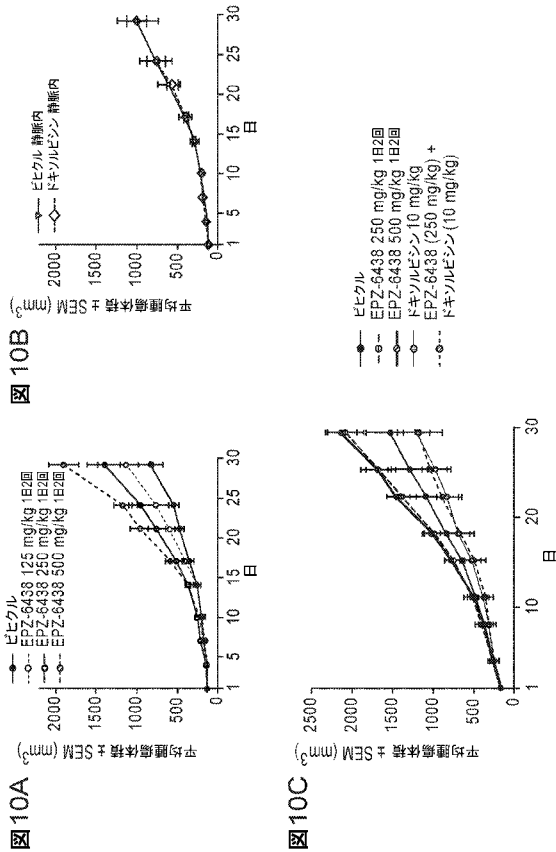


図10A

図10B

図10C

【 図 10 D - 10 E 】

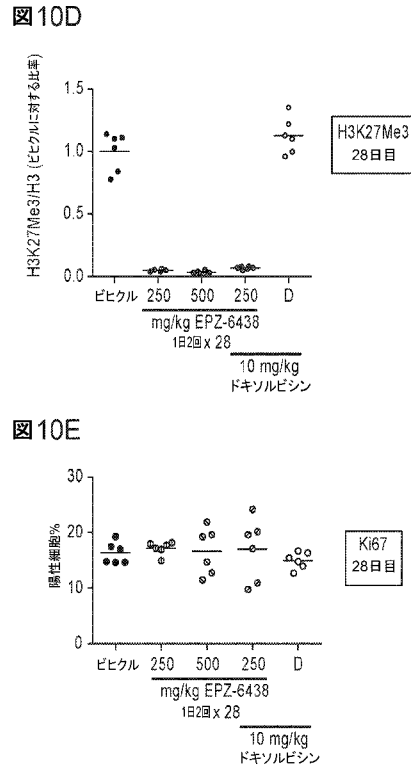
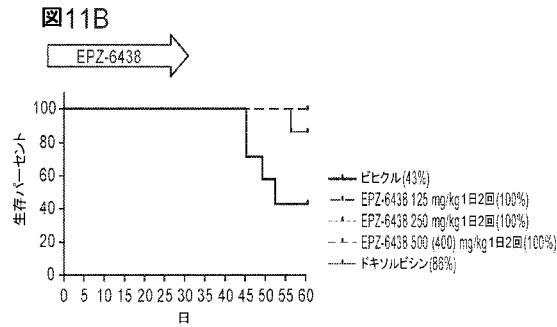
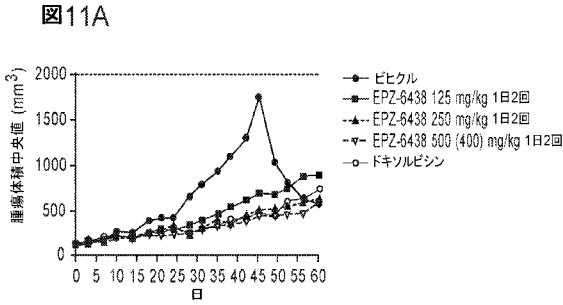


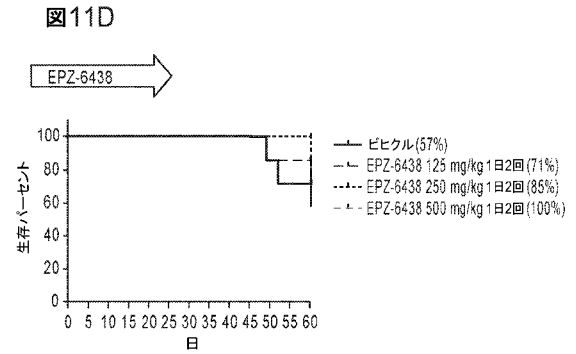
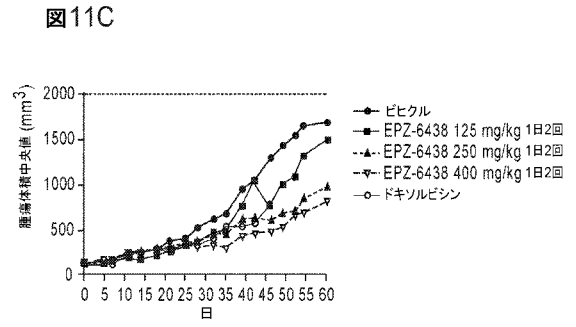
図10D

図10E

【 図 1 1 A - 1 1 B 】



【 図 1 1 C - 1 1 D 】



【 図 1 2 A - 1 2 B 】

400 mg/kg 1日2回 x 35

ビヒクル

図12A

図12A	図12B
771-5	771-5
771-6	771-6
771-7	771-7
771-8	771-8
771-9	771-9
771-10	771-10
771-11	771-11
771-12	771-12
771-13	771-13
771-14	771-14
771-15	771-15
771-16	771-16
771-17	771-17
771-18	771-18
771-19	771-19
771-20	771-20
771-21	771-21
771-22	771-22
771-23	771-23
771-24	771-24
771-25	771-25
771-26	771-26
771-27	771-27
771-28	771-28
771-29	771-29
771-30	771-30
771-31	771-31
771-32	771-32
771-33	771-33
771-34	771-34
771-35	771-35
771-36	771-36
771-37	771-37
771-38	771-38
771-39	771-39
771-40	771-40
771-41	771-41
771-42	771-42
771-43	771-43
771-44	771-44
771-45	771-45
771-46	771-46
771-47	771-47
771-48	771-48
771-49	771-49
771-50	771-50
771-51	771-51
771-52	771-52
771-53	771-53
771-54	771-54
771-55	771-55
771-56	771-56
771-57	771-57
771-58	771-58
771-59	771-59
771-60	771-60
771-61	771-61
771-62	771-62
771-63	771-63
771-64	771-64
771-65	771-65
771-66	771-66
771-67	771-67
771-68	771-68
771-69	771-69
771-70	771-70
771-71	771-71
771-72	771-72
771-73	771-73
771-74	771-74
771-75	771-75
771-76	771-76
771-77	771-77
771-78	771-78
771-79	771-79
771-80	771-80
771-81	771-81
771-82	771-82
771-83	771-83
771-84	771-84
771-85	771-85
771-86	771-86
771-87	771-87
771-88	771-88
771-89	771-89
771-90	771-90
771-91	771-91
771-92	771-92
771-93	771-93
771-94	771-94
771-95	771-95
771-96	771-96
771-97	771-97
771-98	771-98
771-99	771-99
771-100	771-100

図12B

図12B	図12A
771-5	771-5
771-6	771-6
771-7	771-7
771-8	771-8
771-9	771-9
771-10	771-10
771-11	771-11
771-12	771-12
771-13	771-13
771-14	771-14
771-15	771-15
771-16	771-16
771-17	771-17
771-18	771-18
771-19	771-19
771-20	771-20
771-21	771-21
771-22	771-22
771-23	771-23
771-24	771-24
771-25	771-25
771-26	771-26
771-27	771-27
771-28	771-28
771-29	771-29
771-30	771-30
771-31	771-31
771-32	771-32
771-33	771-33
771-34	771-34
771-35	771-35
771-36	771-36
771-37	771-37
771-38	771-38
771-39	771-39
771-40	771-40
771-41	771-41
771-42	771-42
771-43	771-43
771-44	771-44
771-45	771-45
771-46	771-46
771-47	771-47
771-48	771-48
771-49	771-49
771-50	771-50
771-51	771-51
771-52	771-52
771-53	771-53
771-54	771-54
771-55	771-55
771-56	771-56
771-57	771-57
771-58	771-58
771-59	771-59
771-60	771-60
771-61	771-61
771-62	771-62
771-63	771-63
771-64	771-64
771-65	771-65
771-66	771-66
771-67	771-67
771-68	771-68
771-69	771-69
771-70	771-70
771-71	771-71
771-72	771-72
771-73	771-73
771-74	771-74
771-75	771-75
771-76	771-76
771-77	771-77
771-78	771-78
771-79	771-79
771-80	771-80
771-81	771-81
771-82	771-82
771-83	771-83
771-84	771-84
771-85	771-85
771-86	771-86
771-87	771-87
771-88	771-88
771-89	771-89
771-90	771-90
771-91	771-91
771-92	771-92
771-93	771-93
771-94	771-94
771-95	771-95
771-96	771-96
771-97	771-97
771-98	771-98
771-99	771-99
771-100	771-100

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2015/056022
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/4412 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) A61P 37/04 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<u>EPOQUE and STN</u> : EPODOC WPIAP, HACAPLUS, BIOSIS, MEDLINE EZH2, inhibitor, immune evasion/dysfunction/boosting, MHC, cancer, inflammation <u>Patentscope and AusPat</u> : Inventor and applicant name searches <u>Google</u> : keywords EZH2 inhibitor and immune evasion/dysfunction/boosting, or MHC, or cancer, or inflammation		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Documents are listed in the continuation of Box C		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 2 December 2015	Date of mailing of the international search report 02 December 2015	
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaaustralia.gov.au	Authorised officer Joseph Ambrus AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. 0262223649	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/US2015/056022
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2014/062720 A2 (EPIZYME, INC.) 24 April 2014 [Abstract], [002], [027-031], [052], [076], [0100] and [0365-0385] [Abstract], [002], [027-031], [052], [076], [0100] and [0365-0385]	6, 10, 13-18 and 19-20 11-12
X	WO 2014/100646 A1 (EPIZYME, INC.) 26 June 2014 [Abstract], [033-035] and Pages 156-162 [0164-0188]	6, 10, 13-14 and 17-20
X	WO 2014/062733 A2 (EPIZYME, INC.) 24 April 2014 [004], [020-022], [Table 1A-1B], [Table 3A-3B] and [Claim 53]	6, 10, 13-14 and 16-20
X	WO 2014/062732 A1 (EPIZYME, INC.) 24 April 2014 [003-004], [011-012], [0176], [Table 3] and [0271]	6, 10, 13-14 and 16-20
X	WO 2013/155464 A1 (EPIZYME, INC.) 17 October 2013 [Abstract], [004], [Table 1], [0176], [0340-0342], [0356-0391] and [0393-0402]	6, 10 and 15-20
X	WO 2013/138361 A1 (EPIZYME, INC.) 19 September 2013 [Abstract], [Page 4, lines 17-18], [Page 5, line 18], [Page 52, lines 9-28], [Page 54, line 20], [Page 75, line 13], [Page 92-93, Table 1] and [Example 16, Table 7]	6, 10 and 15-20
X	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],	1-4, 6-10 and 17-22
X	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]	5, 10, 15-18 and 20-21
Y	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]	11-12
P,X	WO 2015/085325 A1 (EPIZYME, INC) 11 June 2015 [Abstract], [004] and [0214-0229]	6, 10, 15, 17 and 19-20
P,X	WO 2015/058125 A1 (EPIZYME, INC. et al) 23 April 2015 [Abstract], [003-004] [012-013], [046] and [0264-0284]	6, 10-17 and 19-20
Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2009)		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US2015/056022
--

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
the subject matter listed in Rule 39 on which, under Article 17(2)(a)(i), an international search is not required to be carried out, including
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a)

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See Supplemental Box for Details

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/US2015/056022
Supplemental Box	
<p>Continuation of: Box III</p> <p>This International Application does not comply with the requirements of unity of invention because it does not relate to one invention or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.</p> <p>This Authority has found that there are different inventions based on the following features that separate the claims into distinct groups:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Claim 1 (in full) and claims 10-22 (in part) are directed to a method for inhibiting immune evasion in a cancer cell with an EZH2 inhibitor. The feature of a method for inhibiting immune evasion in a cancer cell is specific to this group of claims. • Claim 2 (in full) and claims 10-22 (in part) are directed to a method for treating immune dysfunction with an EZH2 inhibitor. The feature of a method for treating immune dysfunction is specific to this group of claims. • Claim 3 (in full) and claims 10-22 (in part) are directed to method for boosting an immune response with an EZH2 inhibitor. The feature of a method for boosting an immune response is specific to this group of claims. • Claim 4 (in full) and claims 10-20 and 22 (in part) are directed to a method for increasing expression of a major histocompatibility complex (MHC) in a cancer cell with an EZH2 inhibitor. The feature of a method for increasing expression of a major histocompatibility complex (MHC) in a cancer cell is specific to this group of claims. • Claim 5 (in full) and claims 10-22 (in part) are directed to a method for increasing inflammation with an EZH2 inhibitor. The feature of a method for increasing inflammation is specific to this group of claims. • Claim 6 (in full) and claims 10-22 (in part) are directed to a method for treating a cancer or a cell proliferative disorder with an EZH2 inhibitor. The feature of a method for treating a cancer or a cell proliferative disorder is specific to this group of claims. • Claims 7-8 (in full) and claims 10-20 (in part) are directed to a method for determining the likelihood of effectiveness of a treatment with an EZH2 inhibitor, comprising assaying a biological sample obtained from the subject for a reduction in expression of a major histocompatibility complex (MHC) in a sample when compared to a control sample. The feature of a method for determining the likelihood of effectiveness of a treatment with an EZH2 inhibitor, comprising assaying a biological sample obtained from the subject for a reduction in expression of a major histocompatibility complex (MHC) in a sample when compared to a control sample is specific to this group of claims. • Claim 9 (in full) and claims 10-20 (in part) are directed to a method for screening the effectiveness of a treatment with an EZH2 inhibitor, obtaining a first and a second biological sample, contacting the second biological sample with an EZH2 inhibitor, assaying the first and the second biological sample for expression of a major histocompatibility complex (MHC) and comparing expression of the MHC in the first biological sample to expression of the MHC in the second biological sample. The feature of a method for screening the effectiveness of a treatment with an EZH2 inhibitor, obtaining a first and a second biological sample, contacting the second biological sample with an EZH2 inhibitor, assaying the first and the second biological sample for expression of a major histocompatibility complex (MHC) and comparing expression of the MHC in the first biological sample to expression of the MHC in the second biological sample is specific to this group of claims. 	
Form PCT/ISA/210 (Supplemental Box) (July 2009)	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/US2015/056022
Supplemental Box	
<p>PCT Rule 13.2, first sentence, states that unity of invention is only fulfilled when there is a technical relationship among the claimed inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. PCT Rule 13.2, second sentence, defines a special technical feature as a feature which makes a contribution over the prior art.</p> <p>When there is no special technical feature common to all the claimed inventions there is no unity of invention.</p> <p>In the above groups of claims, the identified features may have the potential to make a contribution over the prior art but are not common to all the claimed inventions and therefore cannot provide the required technical relationship. The only feature common to all of the claimed inventions and which provides a technical relationship among them is <i>an EZH2 inhibitor</i>.</p> <p>However this feature does not make a contribution over the prior art because it is disclosed in:</p> <p>D1: WO 2014/062720 A2 (EPIZYME, INC.) 24 April 2014.</p> <p>D1 discloses EZH2 inhibitors, including compounds (A)-(E) of the instant invention [027-031], for the treatment of cancer [Abstract].</p> <p>Therefore in the light of this document this common feature cannot be a special technical feature. Therefore there is no special technical feature common to all the claimed inventions and the requirements for unity of invention are consequently not satisfied <i>a posteriori</i>.</p> <p><i>Please note: This examination report has not been restricted and provides comment on all claimed inventions.</i></p> <p>Form PCT/ISA/210 (Supplemental Box) (July 2009)</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/US2015/056022	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
WO 2014/062720 A2	24 April 2014	WO 2014062720 A2	24 Apr 2014
		AU 2013331368 A1	30 Apr 2015
		AU 2013331380 A1	30 Apr 2015
		AU 2013331381 A1	30 Apr 2015
		CA 2887243 A1	24 Apr 2014
		CA 2887562 A1	24 Apr 2014
		CA 2888021 A1	24 Apr 2014
		CN 105102431 A	25 Nov 2015
		CN 105102432 A	25 Nov 2015
		EP 2906537 A2	19 Aug 2015
		EP 2906538 A1	19 Aug 2015
		EP 2908823 A2	26 Aug 2015
		IL 238254 A	30 Jun 2015
		KR 20150067370 A	17 Jun 2015
		KR 20150069011 A	22 Jun 2015
		KR 20150086264 A	27 Jul 2015
		PE 08862015 A1	04 Jun 2015
		PE 08872015 A1	04 Jun 2015
		PH 12015500800 A1	08 Jun 2015
		PH 12015500825 A1	22 Jun 2015
		TW 201427950 A	16 Jul 2014
		US 2014107122 A1	17 Apr 2014
		US 9006242 B2	14 Apr 2015
		US 2015174136 A1	25 Jun 2015
		US 9089575 B2	28 Jul 2015
		US 2014128393 A1	08 May 2014
		US 2015284370 A1	08 Oct 2015
WO 2014062732 A1	24 Apr 2014		
WO 2014062733 A2	24 Apr 2014		
WO 2014/100646 A1	26 June 2014	WO 2014100646 A1	26 Jun 2014
		CA 2894216 A1	26 Jun 2014
		EP 2935214 A1	28 Oct 2015
WO 2014/062733 A2	24 April 2014	WO 2014062733 A2	24 Apr 2014
		AU 2013331368 A1	30 Apr 2015
		AU 2013331380 A1	30 Apr 2015

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/US2015/056022	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
		AU 2013331381 A1	30 Apr 2015
		CA 2887243 A1	24 Apr 2014
		CA 2887562 A1	24 Apr 2014
		CA 2888021 A1	24 Apr 2014
		CN 105102431 A	25 Nov 2015
		CN 105102432 A	25 Nov 2015
		EP 2906537 A2	19 Aug 2015
		EP 2906538 A1	19 Aug 2015
		EP 2908823 A2	26 Aug 2015
		IL 238254 A	30 Jun 2015
		KR 20150067370 A	17 Jun 2015
		KR 20150069011 A	22 Jun 2015
		KR 20150086264 A	27 Jul 2015
		PE 08862015 A1	04 Jun 2015
		PE 08872015 A1	04 Jun 2015
		PH 12015500800 A1	08 Jun 2015
		PH 12015500825 A1	22 Jun 2015
		TW 201427950 A	16 Jul 2014
		US 2014107122 A1	17 Apr 2014
		US 9006242 B2	14 Apr 2015
		US 2015174136 A1	25 Jun 2015
		US 9089575 B2	28 Jul 2015
		US 2014128393 A1	08 May 2014
		US 2015284370 A1	08 Oct 2015
		WO 2014062720 A2	24 Apr 2014
		WO 2014062732 A1	24 Apr 2014

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/US2015/056022	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
WO 2014/062732 A1	24 April 2014	WO 2014062732 A1	24 Apr 2014
		AU 2013331368 A1	30 Apr 2015
		AU 2013331380 A1	30 Apr 2015
		AU 2013331381 A1	30 Apr 2015
		CA 2887243 A1	24 Apr 2014
		CA 2887562 A1	24 Apr 2014
		CA 2888021 A1	24 Apr 2014
		CN 105102431 A	25 Nov 2015
		CN 105102432 A	25 Nov 2015
		EP 2906537 A2	19 Aug 2015
		EP 2906538 A1	19 Aug 2015
		EP 2908823 A2	26 Aug 2015
		IL 238254 A	30 Jun 2015
		KR 20150067370 A	17 Jun 2015
		KR 20150069011 A	22 Jun 2015
		KR 20150086264 A	27 Jul 2015
		PE 08862015 A1	04 Jun 2015
		PE 08872015 A1	04 Jun 2015
		PH 12015500800 A1	08 Jun 2015
		PH 12015500825 A1	22 Jun 2015
		TW 201427950 A	16 Jul 2014
		US 2014107122 A1	17 Apr 2014
		US 9006242 B2	14 Apr 2015
		US 2015174136 A1	25 Jun 2015
		US 9089575 B2	28 Jul 2015
		US 2014128393 A1	08 May 2014
		US 2015284370 A1	08 Oct 2015
		WO 2014062720 A2	24 Apr 2014
		WO 2014062733 A2	24 Apr 2014
		WO 2013/155464 A1	17 October 2013
AU 2013245661 A1	23 Oct 2014		
CA 2870010 A1	17 Oct 2013		
CN 104768555 A	08 Jul 2015		
EP 2836216 A1	18 Feb 2015		
JP 2015518001 A	25 Jun 2015		

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/US2015/056022	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
WO 2013/138361 A1	19 September 2013	KR 20140143846 A	17 Dec 2014
		MX 2014012381 A	09 Mar 2015
		US 2015051163 A1	19 Feb 2015
		WO 2013138361 A1	19 Sep 2013
		AU 2011298987 A1	28 Mar 2013
		AU 2013232229 A1	02 Oct 2014
		CA 2810998 A1	15 Mar 2012
		CA 2867282 A1	19 Sep 2013
		CN 103261890 A	21 Aug 2013
		CN 104540500 A	22 Apr 2015
		EP 2614369 A2	17 Jul 2013
		EP 2825161 A1	21 Jan 2015
		JP 2013543114 A	28 Nov 2013
		JP 2015511603 A	20 Apr 2015
		KR 20140019770 A	17 Feb 2014
		KR 20140147836 A	30 Dec 2014
		RU 2013115928 A	20 Oct 2014
		US 2013303555 A1	14 Nov 2013
		US 8691507 B2	08 Apr 2014
		US 2012071418 A1	22 Mar 2012
US 8895245 B2	25 Nov 2014		
US 2013040906 A1	14 Feb 2013		
US 9175331 B2	03 Nov 2015		
US 2014275081 A1	18 Sep 2014		
US 2015141362 A1	21 May 2015		
WO 2012034132 A2	15 Mar 2012		
WO 2015/085325 A1	11 June 2015	WO 2015085325 A1	11 Jun 2015
WO 2015/058125 A1	23 April 2015	WO 2015058125 A1	23 Apr 2015

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.
Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/US2015/056022	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
End of Annex			
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001. Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)			

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/44	(2006.01)	A 6 1 K 31/44	
A 6 1 K 31/4545	(2006.01)	A 6 1 K 31/4545	
A 6 1 K 31/704	(2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 31/675	(2006.01)	A 6 1 K 31/675	
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/574	(2006.01)	G 0 1 N 33/574	
C 0 7 D 405/12	(2006.01)	C 0 7 D 405/12	
C 0 7 D 213/64	(2006.01)	C 0 7 D 213/64	
C 0 7 D 405/14	(2006.01)	C 0 7 D 405/14	
C 0 7 H 15/252	(2006.01)	C 0 7 H 15/252	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

Fターム(参考) 4C057 BB02 BB05 CC04 DD01 JJ50
 4C063 AA01 AA03 BB09 CC78 DD12 EE01
 4C084 AA17 MA02 NA05 NA14 ZB07 ZB09 ZB26
 4C086 AA01 AA02 BC17 BC73 DA38 EA10 GA02 GA08 GA12 MA01
 MA02 MA04 NA05 NA14 ZB07 ZB09 ZB26

专利名称(译)	治疗癌症的方法		
公开(公告)号	JP2017532338A	公开(公告)日	2017-11-02
申请号	JP2017520304	申请日	2015-10-16
[标]申请(专利权)人(译)	雅酶股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	Epizaimu , Incorporated的雷开球德		
[标]发明人	ハイキールハック		
发明人	ハイキールハック		
IPC分类号	A61K45/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61K31/5377 A61K31/44 A61K31/4545 A61K31/704 A61K31/675 G01N33/53 G01N33/574 C07D405/12 C07D213/64 C07D405/14 C07H15/252		
CPC分类号	A61K31/45 A61K31/453 A61K31/5375 A61K31/5377 A61K45/06 A61P35/00 A61P37/00 A61K31/4412 G01N33/6893 G01N2800/52		
FI分类号	A61K45/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/04 A61K31/5377 A61K31/44 A61K31/4545 A61K31/704 A61K31/675 G01N33/53.D G01N33/574 C07D405/12 C07D213/64 C07D405/14 C07H15/252		
F-TERM分类号	4C055/AA01 4C055/BA03 4C055/BA06 4C055/BA42 4C055/CA02 4C055/CA06 4C055/CA28 4C055/CB04 4C055/DA06 4C057/BB02 4C057/BB05 4C057/CC04 4C057/DD01 4C057/JJ50 4C063/AA01 4C063/AA03 4C063/BB09 4C063/CC78 4C063/DD12 4C063/EE01 4C084/AA17 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZB07 4C084/ZB09 4C084/ZB26 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC17 4C086/BC73 4C086/DA38 4C086/EA10 4C086/GA02 4C086/GA08 4C086/GA12 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/ZB07 4C086/ZB09 4C086/ZB26		
优先权	62/064948 2014-10-16 US 62/065590 2014-10-17 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明通过使细胞与治疗有效量的EZH2抑制剂接触或向该受试者施用治疗有效量的EZH2抑制剂 (EZH2) 以异常, 失调或活动增加为特征的疾病, 例如免疫逃避, 癌细胞诱导的免疫功能障碍, 免疫反应降低, 炎症减少, 主要组织相容性复合体 (MHC) 表达 提供了治疗或减轻抑郁症或癌症症状的方法。

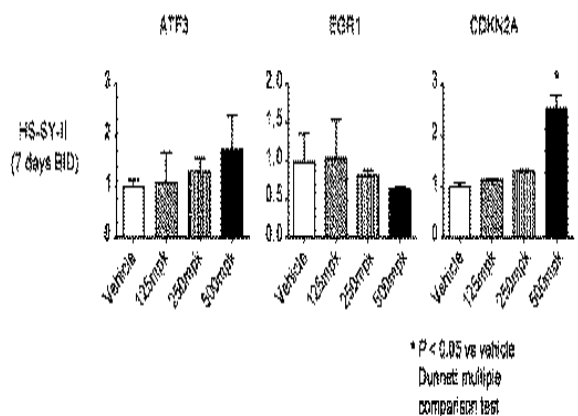


FIG. 9