



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0143846  
(43) 공개일자 2014년12월17일

- |  |  |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/>A61K 31/5377 (2006.01) A61K 31/4412 (2006.01)<br/>A61P 35/02 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2014-7031741</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2013년04월12일<br/>심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2014년11월12일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2013/036452</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2013/155464<br/>국제공개일자 2013년10월17일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>61/624,194 2012년04월13일 미국(US)<br/>61/785,169 2013년03월14일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>에피자임, 인코포레이티드<br/>미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 4th 플로어 테크놀로지 스퀘어 400</p> <p>(72) 발명자<br/>케일호크 하이케<br/>미국 02478 매사추세츠주 벨몬트 필마우스 스트리트 3<br/>넛슨 사라 케틀린<br/>미국 02138 매사추세츠주 캠브리지 베이 스테이트 로드 24 유닛 22<br/>쿤츠 케빈 웨인<br/>미국 01801 매사추세츠주 워번 뉴 빌리지 로드 8</p> <p>(74) 대리인<br/>김성기, 김진희</p> |
|--|--|

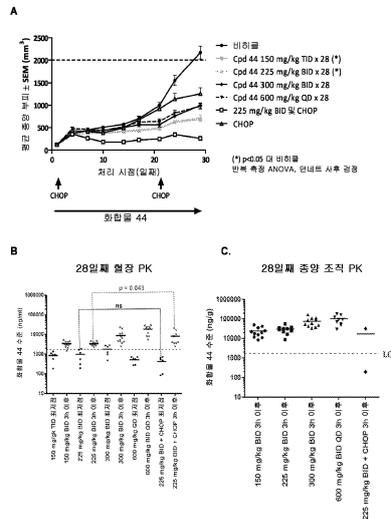
전체 청구항 수 : 총 37 항

(54) 발명의 명칭 암 치료용 병용 요법

(57) 요약

본 발명은 인간 히스톤 메틸트랜스퍼라제 EZH2의 억제제 및 하나 이상의 다른 치료제, 특히, 항암제, 예컨대, 프레드니손을 포함하는 조성물, 및 암 치료를 위해 그를 필요로 하는 피험체에게 투여하기 위한 병용 요법 방법에 관한 것이다.

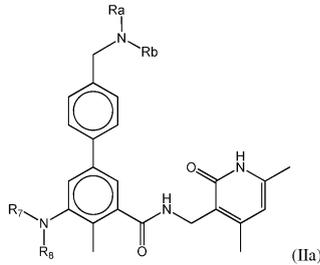
대표도 - 도7



**특허청구의 범위**

**청구항 1**

하기 화학식 IIa의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물:



상기 식에서,

$R_a$  및  $R_b$ 는 각각 독립적으로 H, 또는 임의적으로 하나 이상의  $-Q_3-T_3$ 으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이고, 여기서,  $Q_3$ 은 결합 또는 비치환된 또는 치환된  $C_1-C_3$  알킬 링커이고,  $T_3$ 은 H, 할로, 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬,  $C_1-C_3$  알킬,  $OR_d$ ,  $COOR_d$ ,  $-S(O)_2R_d$ , 또는  $-NR_dR_e$ 이고, 여기서,  $R_d$  및  $R_e$ 는 각각 독립적으로 H 또는  $C_1-C_6$  알킬이거나, 또는  $-Q_3T_3$ 은 옥소이고;

$R_7$ 은 이소프로필, 또는 각각 임의적으로 하나 이상의  $-Q_5-T_5$ 로 치환된,  $C_1-C_6$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬, 피페리딘, 테트라하이드로피란, 테트라하이드로-2H-티오피라닐, 사이클로헥실, 또는 사이클로헥실, 또는 4 내지 12원 헤테로사이클로알킬이고, 여기서,  $Q_5$ 는 결합,  $C(O)$ ,  $C(O)NR_k$ ,  $NR_kC(O)$ ,  $S(O)_2$ , 또는  $C_1-C_3$  알킬 링커이고,  $R_k$ 는 H 또는  $C_1-C_6$  알킬이고,  $T_5$ 는 H, 할로,  $C_1-C_6$  알킬, 하이드록실, 시아노,  $C_1-C_6$  알콕실, 아미노, 모노- $C_1-C_6$  알킬아미노, 디- $C_1-C_6$  알킬아미노,  $C_3-C_8$  사이클로알킬,  $C_6-C_{10}$  아릴, 4 내지 12원 헤테로사이클로알킬, 5 또는 6원 헤테로아릴, 또는  $S(O)_qR_q$ 이고, 여기서,  $q$ 는 0, 1, 또는 2이고,  $R_q$ 는  $C_1-C_6$  알킬,  $C_2-C_6$  알케닐,  $C_2-C_6$  알키닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬,  $C_6-C_{10}$  아릴, 4 내지 12원 헤테로사이클로알킬, 또는 5 또는 6원 헤테로아릴이고,  $T_5$ 가 H, 할로, 하이드록실, 또는 시아노인 경우를 제외하면,  $T_5$ 는 할로,  $C_1-C_6$  알킬, 하이드록실, 시아노,  $C_1-C_6$  알콕실, 아미노, 모노- $C_1-C_6$  알킬아미노, 디- $C_1-C_6$  알킬아미노,  $C_3-C_8$  사이클로알킬,  $C_6-C_{10}$  아릴, 4 내지 12원 헤테로사이클로알킬, 및 5 또는 6원 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 임의적으로 치환되거나; 또는  $-Q_5-T_5$ 는 옥소이고;

$R_8$ 은 H, 메틸, 또는 에틸이다.

**청구항 2**

표 1에 열거된 화합물 중 어느 하나, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물.

**청구항 3**

화합물 44, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 치료제를 포함하는 조성물.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다른 치료제가 항암제 또는 글루코코르티코이드인 것인 방법.

**청구항 5**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다른 치료제가 프레드니손, 프레드니솔론,

사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 마포스파미드, 시스플라틴, AraC, 에베로리무스, 데시타빈, 텍사메타손, 및 그의 유사체, 유도체, 또는 조합으로부터 선택되는 것인 조성물.

**청구항 6**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다른 치료제가 프레드니손, 또는 그의 유사체 또는 유도체인 것인 조성물.

**청구항 7**

치료적 유효량의 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 것, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물.

**청구항 8**

질환 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의 제1항의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 질환의 치료 또는 예방 방법.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 상기 질환이 히스톤 또는 다른 단백질의 메틸화 상태를 조절함으로써 영향을 받을 수 있는 것인 방법.

**청구항 10**

제8항에 있어서, 질환이 암 또는 전암성 병증인 것인 방법.

**청구항 11**

제9항에 있어서, 상기 메틸화 상태가 적어도 부분적으로 EZH2의 활성화에 의해 매개되는 것인 방법.

**청구항 12**

암 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의 화학식 IIa의 화합물 및 하나 이상의 다른 치료제를 투여하는 단계를 포함하는 암의 치료 또는 예방 방법으로서, 상기 화학식 IIa 및 상기 다른 치료제는 동시에 또는 순차적으로 투여되는 것인 방법.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 화학식 IIa의 화합물을 상기 다른 치료제 투여 이전에 투여하는 것인 방법.

**청구항 14**

치료적 유효량의 제1항의 조성물을 투여하기 이전에, 암 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법.

**청구항 15**

제8항 또는 제12항에 있어서, 제1항의 조성물을 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체에게 0.01 mg/kg/일 내지 약 1,000 mg/kg/일의 투여량으로 투여하는 것인 방법.

**청구항 16**

제12항 또는 제14항에 있어서, 화학식 IIa의 화합물을 0.01 mg/kg/일 내지 약 1,000 mg/kg/일의 투여량으로 투여하는 것인 방법.

**청구항 17**

제12항 또는 제14항에 있어서, 하나 이상의 다른 치료제를 각각 0.01 mg/kg/일 내지 약 1,000 mg/kg/일의 투여량으로 투여하는 것인 방법.

**청구항 18**

제8항, 제12항 및 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 피협체가 돌연변이체 EZH2를 발현하는 것인 방법.

**청구항 19**

제18항에 있어서, 상기 돌연변이체 EZH2가 하나 이상의 돌연변이를 가지고, 상기 돌연변이는 치환, 점 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 미스센스 돌연변이, 결실, 또는 삽입인 것인 방법.

**청구항 20**

제18항에 있어서, 상기 돌연변이체 EZH2가 서열 번호 6에 정의된 기질 포켓 도메인에서 하나 이상의 돌연변이를 가지는 것인 방법.

**청구항 21**

제18항에 있어서, 상기 돌연변이체 EZH2가 Y641 돌연변이체인 것인 방법.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 상기 Y641 돌연변이체가 Y641F, Y641H, Y641N, 및 Y641S로부터 선택되는 것인 방법.

**청구항 23**

제18항에 있어서, 돌연변이체 EZH2가 서열 번호 1의 아미노산 위치 677, 687, 674, 685, 또는 641에 돌연변이를 가지는 것인 방법.

**청구항 24**

제18항에 있어서, 상기 돌연변이체 EZH2가 서열 번호 1의 아미노산 위치 677의 야생형 잔기 알라닌(A)의 글리신(G)으로의 치환(A677G); 서열 번호 1의 아미노산 위치 687의 야생형 잔기 알라닌(A)의 발린(V)으로의 치환(A687V); 서열 번호 1의 아미노산 위치 674의 야생형 잔기 발린(V)의 메티오닌(M)으로의 치환(V674M); 서열 번호 1의 아미노산 위치 685의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R685H); 서열 번호 1의 아미노산 위치 685의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R685C); 서열 번호 3의 아미노산 위치 322의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 세린(S)으로의 치환(N322S), 서열 번호 3의 아미노산 위치 288의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R288Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 573의 야생형 잔기 트레오닌(T)의 이소류신(I)으로의 치환(T573I), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 글루탐산(E)으로의 치환(D664E), 서열 번호 5의 아미노산 위치 458의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R458Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 249의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 리신(K)으로의 치환(E249K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 684의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R684C), 서열 번호 11의 아미노산 위치 628의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R628H), 서열 번호 5의 아미노산 위치 501의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 히스티딘(H)으로의 치환(Q501H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 192의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 아스파라긴(N)으로의 치환(D192N), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 발린(V)으로의 치환(D664V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 704의 야생형 잔기 발린(V)의 류신(L)으로의 치환(V704L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 132의 야생형 잔기 프롤린(P)의 세린(S)으로의 치환(P132S), 서열 번호 11의 아미노산 위치 669의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 리신(K)으로의 치환(E669K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 255의 야생형 잔기 알라닌(A)의 트레오닌(T)으로의 치환(A255T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 726의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 발린(V)으로의 치환(E726V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 571의 야생형 잔기 시스테인(C)의 티로신(Y)으로의 치환(C571Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 145의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 시스테인(C)으로의 치환(F145C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 트레오닌(T)으로의 치환(N693T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 145의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 세린(S)으로의 치환(F145S), 서열 번호 11의 아미노산 위치 109의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 히스티딘(H)으로의 치환(Q109H), 서열 번호 11의 아미노산 위치 622의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 시스테인(C)으로의 치환(F622C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 135의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G135R), 서열 번호 5의 아미노산 위치 168의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R168Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 159의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G159R), 서열 번호 5의 아미노산 위치 310의 야생형 잔기 아르기

닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R310C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 561의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R561H), 서열 번호 11의 아미노산 위치 634의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R634H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 660의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G660R), 서열 번호 3의 아미노산 위치 181의 야생형 잔기 티로신(Y)의 시스테인(C)으로의 치환(Y181C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 297의 야생형 잔기 히스티딘(H)의 아르기닌(R)으로의 치환(H297R), 서열 번호 11의 아미노산 위치 612의 야생형 잔기 시스테인(C)의 세린(S)으로의 치환(C612S), 서열 번호 3의 아미노산 위치 694의 야생형 잔기 히스티딘(H)의 티로신(Y)으로의 치환(H694Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 알라닌(A)으로의 치환(D664A), 서열 번호 3의 아미노산 위치 150의 야생형 잔기 이소류신(I)의 트레오닌(T)으로의 치환(I150T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 264의 야생형 잔기 이소류신(I)의 아르기닌(R)으로의 치환(I264R), 서열 번호 3의 아미노산 위치 636의 야생형 잔기 프롤린(P)의 류신(L)으로의 치환(P636L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 713의 야생형 잔기 이소류신(I)의 트레오닌(T)으로의 치환(I713T), 서열 번호 5의 아미노산 위치 501의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 프롤린(P)으로의 치환(Q501P), 서열 번호 3의 아미노산 위치 243의 야생형 잔기 리신(K)의 글루타민(Q)으로의 치환(K243Q), 서열 번호 5의 아미노산 위치 130의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 아스파르트산(D)으로의 치환(E130D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 509의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글리신(G)으로의 치환(R509G), 서열 번호 3의 아미노산 위치 566의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R566H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 677의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 히스티딘(H)으로의 치환(D677H), 서열 번호 5의 아미노산 위치 466의 야생형 잔기 리신(K)의 아스파라긴(N)으로의 치환(K466N), 서열 번호 3의 아미노산 위치 78의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R78H), 서열 번호 6의 아미노산 위치 1의 야생형 잔기 리신(K)의 메티오닌(M)으로의 치환(K6M), 서열 번호 3의 아미노산 위치 538의 야생형 잔기 세린(S)의 류신(L)으로의 치환(S538L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 149의 야생형 잔기 류신(L)의 글루타민(Q)으로의 치환(L149Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 252의 야생형 잔기 류신(L)의 발린(V)으로의 치환(L252V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 674의 야생형 잔기 류신(L)의 발린(V)으로의 치환(L674V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 656의 야생형 잔기 알라닌(A)의 발린(V)으로의 치환(A656V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 731의 야생형 잔기 알라닌(A)의 아스파르트산(D)으로의 치환(Y731D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 345의 야생형 잔기 알라닌(A)의 트레오닌(T)으로의 치환(A345T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 244의 야생형 잔기 알라닌(A)의 아스파르트산(D)으로의 치환(Y244D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 576의 야생형 잔기 시스테인(C)의 트립토판(W)으로의 치환(C576W), 서열 번호 3의 아미노산 위치 640의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N640K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 675의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N675K), 서열 번호 11의 아미노산 위치 579의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 티로신(Y)으로의 치환(D579Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 이소류신(I)으로의 치환(N693I), 및 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N693K)으로 이루어진 균으로부터 선택되는 하나 이상의 돌연변이를 가지는 것인 방법.

**청구항 25**

제18항에 있어서, 상기 돌연변이체 EZH2가 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 730, 391, 461, 441, 235, 254, 564, 662, 715, 405, 685, 64, 73, 656, 718, 374, 592, 505, 730, 또는 363에, 또는 서열 번호 3, 5 또는 11을 코딩하는 핵산 서열의 상응하는 뉴클레오티드 위치에 프레임쉬프트를 가지는 것인 방법.

**청구항 26**

제18항에 있어서, 상기 돌연변이체 EZH2가 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 148 및 149에 글루탐산(E) 및 류신(L)의 결실을 가지는 것인 방법.

**청구항 27**

제18항에 있어서, 상기 돌연변이체 EZH2가 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 733, 25, 317, 62, 553, 328, 58, 207, 123, 63, 137, 또는 60에 넌센스 돌연변이를 가지는 것인 방법.

**청구항 28**

제8항, 제12항 및 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 피험체는, 단일 제제로서 투여되었을 때 제1항의 조성물의 성분 중 어느 하나에 대해 내성을 보이는 것인 방법.

**청구항 29**

제1항의 조성물과 암 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는, 암 세포 증식의 억제 방법.

**청구항 30**

화학식 IIa의 화합물 및 하나 이상의 다른 치료제와 암 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 암 세포 증식의 억제 방법으로서, 상기 화학식 IIa 및 상기 다른 치료제는 동시에 또는 순차적으로 전달되는 것인 방법.

**청구항 31**

제30항에 있어서, 화학식 IIa의 화합물을 상기 다른 치료제 투여 이전에 투여하는 것인 방법.

**청구항 32**

치료적 유효량의 제1항의 조성물을 투여하기 이전에, 치료적 유효량의 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는, 암 세포 증식의 억제 방법.

**청구항 33**

제12항 또는 제30항에 있어서, 상기 다른 치료제가 프레드니손 또는 프레드니솔론, 또는 그의 유사체 또는 유도체인 것인 방법.

**청구항 34**

제12항, 제14항, 제29항, 제30항 및 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 림프종, 백혈병, 또는 흑색종인 것인 방법.

**청구항 35**

제34항에 있어서, 림프종이 비호지킨 림프종, 여포성 림프종, 및 미만성 거대 B 세포 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

**청구항 36**

제34항에 있어서, 백혈병이 만성 골수성 백혈병(CML)인 것인 방법.

**청구항 37**

제34항에 있어서, 전암성 병증이 골수형성이상 증후군(MDS, 이전에는 전백혈병으로 공지됨)인 것인 방법.

**명세서**

**기술분야**

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본 출원은 2013년 4월 12일 출원된 국제 출원 번호 PCT/US2013/036452의 미국 국내 단계 출원으로서, 이는 2012년 4월 13일 출원된 미국 가출원 번호 제61/624,194호, 및 2013년 3월 14일 출원된 미국 가출원 번호 제61/785,169호의 우선권 및 이점을 주장하며, 상기 각 출원은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록 참조 포함
- [0004] 2014년 10월 14일 작성되고, 크기가 45 KB인, 파일명 "EPIZ009001WO\_ST25.txt" 텍스트 파일의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0005] 본 발명의 기술분야
- [0006] 본 발명은 히스톤 H3 상의 리신 27(H3-K27)의 모노 내지 트리메틸화를 촉매화시키는 PRC2 복합체의 촉매성 서브유닛인 인간 히스톤 메틸트랜스퍼라제 EZH2의 억제제, 및 하나 이상의 다른 치료제, 특히, 항암제를 포함하는 조성물, 및 암 치료용 병용 요법 방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

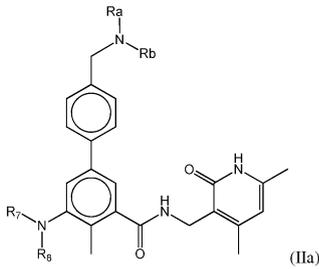
[0007] 암 치료용 병용 요법 치료법이 부분적으로는 다중 수단을 통해 질환을 공격한다는 이점이 인지됨에 따라 그에 기인하여 상기 치료법은 점점 더 일반화되어 가고 있다. 비록 다수의 효과적인 병용 요법 치료법이 지난 수십 년간에 걸쳐 확인되기는 하였지만; 계속해서 매년 암 사망수는 높다는 것에 비추어 볼 때, 항암 치료법에서 사용하기 위한 효과적인 치료학적 요법을 확인하는 것이 계속적으로 요구되고 있다.

**발명의 내용**

[0008] 본 발명의 요약

[0009] 한 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 IIa의 화합물 및 하나 이상의 다른 치료제 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염 또는 에스테르를 포함하는 조성물을 특징으로 한다.

[0010] <화학식 IIa>



[0011] 화학식 IIa의 화합물은 하기 특징들 중 하나 이상의 것을 포함할 수 있다:  
 [0012] Ra 및 Rb는 각각 독립적으로 H 또는 C1-C6 알킬이다.

[0013] Ra 및 Rb는 그들이 부착되는 N 원자와 함께 0 또는 1개의 추가 헤테로원자를 가지는 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬 고리이고, 상기 C1-C6 알킬 및 4 내지 12원(예컨대, 4 내지 7원) 헤테로사이클로알킬 고리는 임의적으로 하나 이상의 -Q5-T5로 치환된다.  
 [0014] Q5는 결합 또는 비치환된 또는 치환된 C1-C3 알킬 링커이다.

[0015] T5는 H, 할로, 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬, C1-C3 알킬, ORd, COORd, -S(O)2Rd, 또는 -NRdRc이고, Rd 및 Rc는 각각 독립적으로 H 또는 C1-C6 알킬이다.  
 [0016] R7은 각각 임의적으로 하나 이상의 -Q5-T5로 치환된, C1-C6 알킬, C3-C8 사이클로알킬 또는 4 내지 12원(예컨대, 4 내지 7원) 헤테로사이클로알킬이다. 예를 들어, R7은 H가 아니다.

[0017] R8은 임의적으로 하나 이상의 -Q5-T5로 치환된 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬이다.  
 [0018] R7은 각각 임의적으로 하나의 -Q5-T5로 치환된, 피페리딘, 테트라하이드로피란, 사이클로헥실, 또는 사이클로헥실이다.  
 [0019] T5는 H, 할로, C1-C6 알킬, C1-C6 알콕실, C3-C8 사이클로알킬, C6-C10 아릴, 또는 4 내지 12원(예컨대, 4 내지 7원) 헤테로사이클로알킬이다.

[0020] Q5는 결합이고, T5는 C1-C6 알킬, C3-C8 사이클로알킬, 또는 4 내지 12원(예컨대, 4 내지 7원) 헤테로사이클로알킬이다.  
 [0021] Q5는 CO, S(O)2, 또는 NHC(O)이고; T5는 C1-C6 알킬, C1-C6 알콕실, C3-C8 사이클로알킬, 또는 4 내지 12원(예컨대, 4 내지 7원) 헤테로사이클로알킬이다.

[0022] Q5는 C1-C3 알킬 링커이고, T5는 H 또는 C6-C10 아릴이다.  
 [0023]

[0024] Q<sub>5</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬 링커이고, T<sub>5</sub>는 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬, 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬, 또는 S(O)<sub>q</sub>R<sub>q</sub>이다.

[0025] R<sub>7</sub>은 각각 임의적으로 하나의 -Q<sub>5</sub>-T<sub>5</sub>로 치환된, 사이클로펜틸 또는 사이클로헥실이다.

[0026] Q<sub>5</sub>는 NHC(O)이고, T<sub>5</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시이다.

[0027] R<sub>7</sub>은 이소프로필이다.

[0028] R<sub>2</sub> 내지 R<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 H, 또는 임의적으로 아미노, 모노-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬아미노, 디-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬아미노, 또는 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 아릴로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다.

[0029] R<sub>8</sub>은 H, 메틸, 또는 에틸이다.

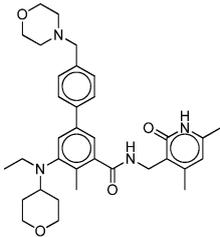
[0030] R<sub>8</sub>은 메틸이다.

[0031] R<sub>8</sub>은 에틸이다.

[0032] R<sub>8</sub>은 4 내지 7 헤테로사이클로알킬, 예컨대, 테트라하이드로피란이다.

[0033] 본 발명은 하기 표 1로부터 선택되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염 또는 에스테르, 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물을 특징으로 한다.

[0034] 본 발명은 하기 화합물 44, 또는 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염 또는 에스테르, 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물을 특징으로 한다:



[0035]

[0036] 본 발명의 상기 및 다른 측면에서, 한 실시양태에서, 다른 치료제는 항암제이다.

[0037] 본 발명의 상기 및 다른 측면에서, 한 실시양태에서, 다른 치료제는 글루코코르티코이드이다.

[0038] 본 발명의 상기 및 다른 측면에서, 한 실시양태에서, 다른 치료제는 프레드니손, 프레드니솔론, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 마포스파미드, 시스플라틴, AraC, 에베로리무스, 데시타빈, 텍사메타손, 및 그의 유사체, 유도체, 또는 조합으로부터 선택된다.

[0039] 본 발명의 상기 및 다른 측면에서, 한 실시양태에서, 다른 치료제는 프레드니손, 또는 그의 유사체 또는 유도체이다.

[0040] 본 발명은 또한 본원에 개시된 화학식 IIa의 화합물로부터 선택되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 치료제, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

[0041] 본 발명은 또한 하기 표 I로부터 선택되는 화합물, 하나 이상의 다른 치료제, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0042] 본 발명은 또한 본원에 개시된 화학식 IIa의 화합물로부터 선택되는 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 하나 이상의 다른 치료제, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0043] 본 발명의 또 다른 측면은 질환 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의, 화학식 IIa의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 조성물을 투여함으로써 질환을 치료 또는 예방하는 방법이다. 본 발명의 질환은 히스톤 또는 다른 단백질의 메틸화 상태를 조절함으로써 영향을 주거나, 치료하거나, 예방할 수 있다. 예를 들어, 질환은 암, 전암성 병증, 또는 신경계 질환이다. 바람직하게, 림프종은 비호지킨 림프종, 여포성 림프종 또는 미만성 거대 B 세포 림프종이다. 별법으로, 백혈병은 만성 골수성 백혈병(CML)이다. 전암성 병증은 예컨대, 골수형성이상 증후군(MDS, 이전에는 전백혈병으로

공지됨)이다.

[0044]

본 발명의 피험체로는 암 또는 전암성 병증 진단을 받았거나, 그 증상을 앓거나, 또는 발병 위험에 있는 임의의 인간 피험체를 포함한다. 본 발명의 피험체로는 돌연변이체 EZH2를 발현하는 임의의 인간 피험체를 포함한다. 예를 들어, 돌연변이체 EZH2는 치환, 점 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 미스센스 돌연변이, 결실, 또는 삽입인 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 본 발명의 돌연변이체 EZH2는 서열 번호 6에 정의된, 그의 기질 포켓 도메인 중 돌연변이를 포함할 수 있다. 돌연변이체 EZH2는 아미노산 Y641에 치환을 가질 수 있다. 바람직하게, 돌연변이체 EZH2는 하기 돌연변이 중 하나를 가진다: 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 페닐알라닌(F)으로의 치환(Y641F); 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 히스티딘(H)으로의 치환(Y641H); 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 아스파라긴(N)으로의 치환(Y641N); 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 세린(S)으로의 치환(Y641S); 및 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 시스테인(C)으로의 치환(Y641C).

[0045]

EZH2의 다른 돌연변이로는 서열 번호 1의 아미노산 위치 677의 야생형 잔기 알라닌(A)의 글리신(G)으로의 치환(A677G); 서열 번호 1의 아미노산 위치 687의 야생형 잔기 알라닌(A)의 발린(V)으로의 치환(A687V); 서열 번호 1의 아미노산 위치 674의 야생형 잔기 발린(V)의 메티오닌(M)으로의 치환(V674M); 서열 번호 1의 아미노산 위치 685의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R685H); 서열 번호 1의 아미노산 위치 685의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R685C); 서열 번호 3의 아미노산 위치 322의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 세린(S)으로의 치환(N322S), 서열 번호 3의 아미노산 위치 288의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R288Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 573의 야생형 잔기 트레오닌(T)의 이소류신(I)으로의 치환(T573I), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 글루탐산(E)으로의 치환(D664E), 서열 번호 5의 아미노산 위치 458의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R458Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 249의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 리신(K)으로의 치환(E249K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 684의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R684C), 서열 번호 11의 아미노산 위치 628의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R628H), 서열 번호 5의 아미노산 위치 501의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 히스티딘(H)으로의 치환(Q501H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 192의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 아스파라긴(N)으로의 치환(D192N), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 발린(V)으로의 치환(D664V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 704의 야생형 잔기 발린(V)의 류신(L)으로의 치환(V704L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 132의 야생형 잔기 프롤린(P)의 세린(S)으로의 치환(P132S), 서열 번호 11의 아미노산 위치 669의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 리신(K)으로의 치환(E669K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 255의 야생형 잔기 알라닌(A)의 트레오닌(T)으로의 치환(A255T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 726의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 발린(V)으로의 치환(E726V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 571의 야생형 잔기 시스테인(C)의 티로신(Y)으로의 치환(C571Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 145의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 시스테인(C)으로의 치환(F145C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 트레오닌(T)으로의 치환(N693T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 145의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 세린(S)으로의 치환(F145S), 서열 번호 11의 아미노산 위치 109의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 히스티딘(H)으로의 치환(Q109H), 서열 번호 11의 아미노산 위치 622의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 시스테인(C)으로의 치환(F622C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 135의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G135R), 서열 번호 5의 아미노산 위치 168의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R168Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 159의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G159R), 서열 번호 5의 아미노산 위치 310의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R310C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 561의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R561H), 서열 번호 11의 아미노산 위치 634의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R634H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 660의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G660R), 서열 번호 3의 아미노산 위치 181의 야생형 잔기 티로신(Y)의 시스테인(C)으로의 치환(Y181C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 297의 야생형 잔기 히스티딘(H)의 아르기닌(R)으로의 치환(H297R), 서열 번호 11의 아미노산 위치 612의 야생형 잔기 시스테인(C)의 세린(S)으로의 치환(C612S), 서열 번호 3의 아미노산 위치 694의 야생형 잔기 히스티딘(H)의 티로신(Y)으로의 치환(H694Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 알라닌(A)으로의 치환(D664A), 서열 번호 3의 아미노산 위치 150의 야생형 잔기 이소류신(I)의 트레오닌(T)으로의 치환(I150T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 264의 야생형 잔기 이소류신(I)의 아르기닌(R)으로의 치환(I264R), 서열 번호 3의 아미노산 위치 636의 야생형 잔기 프롤린(P)의 류신(L)으로의 치환(P636L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 713의 야생형 잔기 이소류신(I)의 트레오닌(T)으로의 치환(I713T), 서열 번호 5의 아미노산 위치 501의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 프롤린(P)으로의 치환(Q501P), 서열 번호 3의 아미노산 위치 243의 야생형 잔기 리

신(K)의 글루타민(Q)으로의 치환(K243Q), 서열 번호 5의 아미노산 위치 130의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 아스파르트산(D)으로의 치환(E130D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 509의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글리신(G)으로의 치환(R509G), 서열 번호 3의 아미노산 위치 566의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R566H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 677의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 히스티딘(H)으로의 치환(D677H), 서열 번호 5의 아미노산 위치 466의 야생형 잔기 리신(K)의 아스파라긴(N)으로의 치환(K466N), 서열 번호 3의 아미노산 위치 78의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R78H), 서열 번호 6의 아미노산 위치 1의 야생형 잔기 리신(K)의 메티오닌(M)으로의 치환(K6M), 서열 번호 3의 아미노산 위치 538의 야생형 잔기 세린(S)의 류신(L)으로의 치환(S538L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 149의 야생형 잔기 류신(L)의 글루타민(Q)으로의 치환(L149Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 252의 야생형 잔기 류신(L)의 발린(V)으로의 치환(L252V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 674의 야생형 잔기 류신(L)의 발린(V)으로의 치환(L674V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 656의 야생형 잔기 알라닌(A)의 발린(V)으로의 치환(A656V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 731의 야생형 잔기 알라닌(A)의 아스파르트산(D)으로의 치환(Y731D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 345의 야생형 잔기 알라닌(A)의 트레오닌(T)으로의 치환(A345T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 244의 야생형 잔기 알라닌(A)의 아스파르트산(D)으로의 치환(Y244D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 576의 야생형 잔기 시스테인(C)의 트립토판(W)으로의 치환(C576W), 서열 번호 3의 아미노산 위치 640의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N640K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 675의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N675K), 서열 번호 11의 아미노산 위치 579의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 티로신(Y)으로의 치환(D579Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 이소류신(I)으로의 치환(N693I), 및 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N693K)을 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다.

[0046] EZH2의 다른 돌연변이는 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 730, 391, 461, 441, 235, 254, 564, 662, 715, 405, 685, 64, 73, 656, 718, 374, 592, 505, 730, 또는 363에, 또는 서열 번호 3, 5 또는 11을 코딩하는 핵산 서열의 상응하는 뉴클레오티드 위치에 프레임쉬프트를; 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 148 및 149에 글루탐산(E) 및 류신(L)의 결실을, 또는 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 733, 25, 317, 62, 553, 328, 58, 207, 123, 63, 137, 또는 60에 넨센스 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0047] 본 발명의 피험체는 임의의 하나 이상의 다른 치료제 또는 본원에 기술된 화합물 중 임의의 것에 내성을 가질 수 있다. 예를 들어, 피험체는 EZH 억제제 또는 프레드니손에 내성을 가질 수 있다.

[0048] 본 발명은 암 세포를 화학식 IIa의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 암 세포 증식을 억제시키는 방법을 특징으로 한다. 암 세포 증식 억제는 암 세포 성장을 지연시키는 것, 세포 사멸을 유도하는 것, 암 세포 생존능을 감소시키는 것, 종양 성장을 억제 또는 지연시키는 것, 또는 종양 크기를 축소시키는 것을 포함한다.

[0049] 본 발명은 화학식 IIa의 임의의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제를 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것인, 병용 요법 방법을 특징으로 한다. 예를 들어, 화학식 IIa의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염은 하나 이상의 다른 치료제 투여 이전에 투여될 수 있다. 예를 들어, 화학식 IIa의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염은 화학식 IIa의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물 투여 이전에 투여될 수 있다. 화학식 IIa의 임의의 화합물 및/또는 각 치료제의 동시 또는 순차적 투여는 경구 경로, 정맥내 경로, 근육내 경로, 및 점막 조직을 통한 직접적인 흡수를 포함하나, 이에 한정되지 않는 임의의 적절한 경로에 의해 수행될 수 있다. 치료제는 동일 경로 또는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다.

[0050] 본 발명의 특징이 되는 병용 요법의 방법을 통해, 화합물 또는 다른 치료제의 조합의 효과가 화합물 또는 다른 치료제 중 임의의 것을 단일 제제로서 투여하였을 때 얻게 되는 효과의 합보다 더 큰, 상승작용 효과를 얻을 수 있다. 상승작용 효과는 또한 화합물 또는 다른 치료제 중 임의의 것을 단일 제제로서 투여하였을 때는 달성될 수 없는 효과일 수 있다. 상승작용 효과로는 종양 크기를 축소시키거나, 종양 성장을 억제시키거나, 또는 피험체의 생존을 증가시킴으로써 암을 치료하는 효과를 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 상승작용 효과로는 또한 암 세포 생존능을 감소시키고, 암 세포 사멸을 유도하고, 암 세포 성장을 억제시키거나, 지연시키는 것을 포함할 수 있다.

[0051] 본 발명의 조성물은 0.01 mg/kg/일 내지 약 1,000 mg/kg/일의 투여량으로 투여될 수 있다. 화학식 IIa의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염은 0.01 mg/kg/일 내지 약 1,000 mg/kg/일의 투여량으로 투여될 수 있다. 임의의 다른 치료제는 0.01 mg/kg/일 내지 약 1,000 mg/kg/일의 투여량으로 투여될 수 있다.

[0052] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 숙련자가 통상 이해하는 것과 같은 의미를 가진다. 본 명세서에서, 문맥상 명백하게 달리 명시되지 않는 한, 단수 형태는 또한 복수 형태도 포함한다. 비록 본원에 기술된 것과 유사하거나, 또는 등가인 방법 및 물질이 본 발명을 실시하거나, 테스트하는 데 사용될 수 있기는 하지만, 적합한 방법 및 물질은 하기 기술된다. 본원에서 언급된 모든 공개 문헌, 특허 출원, 특허 및 다른 참고 문헌은 참조로 포함된다. 본원에서 인용된 참고 문헌은 주장하는 본 발명의 선행 기술이라고 인정되는 것은 아니다. 상충되는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서를 통해 조정될 것이다. 추가로, 물질, 방법 및 예는 단지 예시적인 것이며, 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0053] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기 상세한 설명 및 특허청구범위로부터 자명해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0054] **도 1**은 병용 요법이 세포 생존능에 미치는 효과를 측정하기 위한 시험관내 치료 스케줄을 상세하게 설명한 개략도이다. (A) 화합물 44 및 CHOP 성분 (사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레드니솔론)을 투여하기 전 화합물 44 투여. (B) CHOP 성분을 투여하기 전 화합물 44 투여. (C) 화합물 44 및 CHOP 성분을 투여하기 전 CHOP 성분 투여. 4일 경과 후, 세포 생존능을 측정하였다.

**도 2**는 화합물 44 및 CHOP 성분을 단독으로, 또는 그들 조합하여 처리한 이후 시험관내에서 암 세포 생존능을 측정된 4개의 그래프이다. WSU-DLCL2 세포를 도 1A에 제시된 바와 같이 처리하였다. 세포를 먼저 다양한 농도의 화합물 44로 처리하였다. 4일 경과 후, 세포를 다양한 농도의 화합물 44 및 (A) 마포스파미드(사이클로포스파미드 대사산물), (B) 독소루비신, (C) 빈크리스틴, 또는 (D) 프레드니솔론(프레드니손 대사산물)의 조합으로 처리하였다. 대조군 세포는 DMSO로 처리하였다. 각 화합물 44 농도에 대한 세포 생존능을 DMSO로 처리된 것에서의 세포 생존능에 대한 상대적인 비율(%)로 정규화하였다.

**도 3**은 다양한 처리 스케줄 이후에 암 세포 생존능을 측정된 3개의 그래프이다. WSU-DLCL2 세포를 프레드니솔론 및 화합물 44의 농도를 증가시켜가면서 처리하였다. 세포를 (A) 도 1A, (B) 도 1B, 또는 (C) 도 1C의 처리 스케줄에 따라 화합물 44 및 프레드니솔론으로 처리하였다. 세포 생존능을 DMSO/DMSO로 처리된 시료로 정규화하였다.

**도 4**는 상이한 EZH2 돌연변이를 가지는 세포주에서 프레드니솔론 및 화합물 44로 처리한 이후에 암 세포 생존능을 측정된 3개의 그래프이다. 세포를 도 1A에 도시된 바와 같이, 프레드니솔론 및 화합물 44의 농도를 증가시켜가면서 처리하였다. 세포 생존능을 DMSO/DMSO로 처리된 시료로 정규화하였다. (A) WSU-DLCL2 세포는 Y641F 돌연변이를 발현하고, EZH2 억제제에 대해 감수성이다. (B) RL 세포는 Y641N 돌연변이를 발현하고, EZH2 억제제 및 프레드니솔론에 대해 내성이다. (C) OCI-LY19 세포는 Y641에서 야생형이고, 프레드니솔론에 대해서는 감수성을 나타내지만, 화합물 44에 대해서는 감수성을 보이지 않거나, 화합물 44 + 프레드니솔론의 조합에 대해서는 증가된 감수성을 보이지 않는다.

**도 5**는 화합물 44 및 CHOP 성분의 공동 투여에 대한 생체내 약동학적 프로파일 패널을 보여주는 5개의 그래프이다. BALB/c 마우스에 경구적으로 화합물 44 및 CHOP 성분을 단일 투여로 투여하였다. 투여 후 0-24시간 경과 다양한 시점에 혈장 중 화합물 44의 농도(ng/mL)를 측정하였다. 사이클로포스파미드를 30 mg/kg으로 복강내 주사에 의해 투여하였다. 빈크리스틴은 0.375 mg/kg으로 정맥내 주사에 의해 투여하였다. 독소루비신은 2.475 mg/kg으로 정맥내 주사에 의해 투여하였다. 프레드니솔론은 0.15 mg/kg으로 경구 투여에 의해 투여하였다. 화합물 44는 225 mg/kg으로 경구 투여에 의해 투여하였다.

**도 6**은 화합물 44 및 CHOP 투여가 SUDHL6 이종이식 모델에서 종양 성장 및 생존에 미치는 효과를 입증하는 2개의 그래프이다. 가슴샘이 없는 누드 마우스에  $1 \times 10^7$ 개의 SUDHL6 인간 림프종 세포를 피하로 주사하였다. 종양 크기가 대략 120 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때, 28일 동안에 걸쳐 화합물 44를 명시된 투여량으로 1일 3회(TID) 또는 1일 2회(BID) 투여하였다. 1일 2회 225 mg/kg을 투여받는 마우스에 CHOP(사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 및 프레드니손)를 1 및 8일째 투여하였다(225 mg/kg BID 및 CHOP). 대조군 마우스는 어떤 화합물 44(비히클)도 받지 않았거나, 또는 오직 CHOP만(CHOP)을 받았다. 주 2회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였다. 종양 부피가 2,000 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때, 또는 1차 투약 후 60일이 경과하였을 때, 동물을 안락사시켰다. (A) 종양 성장 지연 분석을 위해, 60일 동안 또는 종양이 2,000 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때까지 주 2회에 걸쳐 종양을 측정함으로써 각 처리군에 대한 종양 부피 중앙값을 계산하였다. (B) 카플란-마이어(Kaplan-meier) 곡선은 마우스의 생존율을 도시한 것이다.

도 7은 화합물 44 및 CHOP 투여가 WSU-DLCL2 이종이식 모델에서 종양 성장 및 생존에 미치는 효과를 입증하는 2개의 그래프이다. SCID 마우스에  $1 \times 10^7$ 개의 WSU-DLCL2 인간 림프종 세포를 피하로 주사하였다. 종양 크기가 대략 120 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때, 28일 동안에 걸쳐 화합물 44를 명시된 투여량으로 1일 3회(TID) 또는 1일 2회(BID), 또는 1일 1회(QD) 투여하였다. 1일 2회 225 mg/kg을 투여받는 마우스에 CHOP(사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 및 프레드니손)를 1 및 22일째 투여하였다(225 mg/kg BID 및 CHOP). 대조군 마우스는 어떤 화합물 44(비히클)도 받지 않았거나, 또는 오직 CHOP만(CHOP)을 받았다. 주 2회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였다. 1차 투약 후 28일이 경과하였을 때, 동물을 안락사시켰다. (A) 처리 경과에 따른 평균 종양 부피를 측정함으로써 처리 효능을 측정하였다. (B) 28일째에 투여 이전(최저점) 및 투여 후 3시간 경과하였을 때(이후) 마우스로부터의 혈장 중 화합물 44의 농도(ng/mL)를 측정하였다. (C) 28일째에 투여 후 3시간 경과하였을 때 종양 조직으로부터 화합물 44의 농도(ng/g)를 측정하였다.

도 8은 WSU-DLCL2 이종이식 모델로부터 유래된 종양 시료로부터의 히스톤 메틸화 상태를 보여주는 웨스턴 블롯 분석 및 그래프이다. 종양을 주사 후 28일째에 수거하고, 히스톤을 추출하였다. (A) 히스톤 H3의 트리메틸화된 리신 27, 및 전체 히스톤 H3 단백질을 특이적으로 인식하는 항체로 웨스턴 블롯으로 프로빙하였다. (B) ELISA에 의해 종양의 메틸화 상태를 측정하였다. H3K27 트리메틸화를 검출하고, 전체 히스톤 H3 수준으로 정규화시켰다.

도 9는 화합물 44 및 CHOP 투여가 SUDHL6 이종이식 모델에서 종양 성장 및 생존에 미치는 효과를 입증하는 4개의 그래프이다. SCID 마우스에  $1 \times 10^7$ 개의 SUDHL10 인간 림프종 세포를 피하로 주사하였다. 종양 크기가 대략 120 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때, 28일 동안에 걸쳐 화합물 44를 명시된 투여량으로 1일 2회(BID) 투여하였다. 1일 2회 250 mg/kg을 투여받는 마우스에 COP(사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 및 프레드니손)를 1 및 22일째 투여하였다(250 mg/kg BID 및 COP). 대조군 마우스는 어떤 화합물 44(비히클)도 받지 않았거나, 또는 오직 COP만(COP)을 받았다. 주 2회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였다. (A) 처리 경과에 따른 평균 종양 부피를 측정함으로써 처리 효능을 측정하였다. (B) 1차 투약 후 28일째 동물을 안락사시킨 후, 평균 종양 중량을 측정하였다. (C) 종양 성장 지연 분석을 위해, 60일 동안 또는 종양이 2,000 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때까지 주 2회에 걸쳐 종양을 측정함으로써 각 처리군에 대한 평균 종양 부피 및 SEM을 계산하였다. (D) 카플란-마이어 곡선은 처리된 마우스의 생존율을 도시한 것이다.

도 10은 SUDHL10 이종이식 모델에서의 COP 및 화합물 44 투여 이후의 약동학적 및 약력학적 프로파일을 보여주는 4개의 그래프이다. 처리 28일 후 종양을 보유하는 마우스를 안락사시키고, 조직을 수거하였다. (A) 28일째에 투여 이전(최저점) 및 투여 이후(이후) 마우스로부터의 혈장 중 화합물 44의 농도(ng/mL)를 LC-MS/MS에 의해 측정하였다. 종양을 보유하는 마우스로부터의 다양한 조직의 메틸화 상태를 ELISA에 의해 측정하였다: (B) 종양, (C) 비장, 및 (D) 골수. H3K27 트리메틸화를 검출하고, 전체 히스톤 H3 수준으로 정규화시켰다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0055] 본 발명의 상세한 설명

[0056] 본 발명은 EZH2 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 다른 항암제가 특정 종양을 치료하는 데 조합하여 사용될 수 있으며, 이를 통해 EZH2 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 항암제, 단독으로 종양을 치료함으로써 달성되는 것보다 더 우수한 결과를 얻을 수 있다는 발견에 기초한다. 따라서, 본 발명은 EZH2 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물, 및 예컨대, 암과 같이, 그의 과정이 히스톤 또는 다른 단백질의 메틸화 상태 조절에 영향을 받을 수 있는 것인 질환을 치료하기 위한 상기 조성물의 사용 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 화학식 IIa의 화합물 및 프레드니손을 포함하는 조성물을 특징으로 한다. 본 발명은 또한 암, 예컨대, 여포성 림프종(FL) 및 미만성 세포 큰 B 세포 림프종(DCLBL)을 치료하기 위한, EZH2 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 하나 이상의 치료제, 예컨대, 화학식 IIa의 화합물 및 프레드니손을 포함하는 병용 요법 방법을 포함한다. 구체적으로, 본 발명의 방법은 암을 치료 또는 예방하는 데 또는 암 세포 증식을 억제시키는 데 유용하다.

[0057] EZH2는 히스톤 H3 상의 리신 27(H3-K27)의 모노 내지 트리메틸화를 촉매화시키는 PRC2 복합체의 촉매성 서브유니트인 히스톤 메틸트랜스퍼라제이다. 히스톤 H3-K27 트리메틸화는 히스톤 변형 부위에 인접한 특이 유전자의 전사를 억제시키는 기전이다. 이러한 트리메틸화는 암, 예컨대, 전립샘암에서 발현이 변경된 암 마커인 것으로 알려져 있다(예컨대, 미국 특허 출원 공개 번호 제2003/0175736호(상기 출원은 본원에서 그 전문이 참조로 포함된다) 참조). 다른 연구를 통해서서는 EZH2 발현 조절 이상과, 전사 억제, 및 신생물성 형질전환 사이의 기능적 연관성이 입증되었다(문헌 [Varambally et al., (2002) *Nature* 419(6907):624-9]; [Kleer et al., (2003) *Proc*

Natl Acad Sci USA 100(20): 11606-11].

[0058] 본 발명의 한 측면은 돌연변이체 EZH2를 발현하는 피험체에게 치료적 유효량의, EZH2 억제제 및 하나 이상의 다른 치료제를 투여함으로써 피험체에서 암 또는 전암성 병증의 증상을 치료하거나, 완화시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 돌연변이체 EZH2는 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드, 또는 돌연변이체 EZH2 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 의미한다. 특정 실시양태에서, 돌연변이체 EZH2는 서열 번호 6에 정의된, 그의 기질 포켓 도메인 중 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 돌연변이는 치환, 점 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 미스센스 돌연변이, 결실, 또는 삽입일 수 있다.

[0059] 인간 EZH2 핵산 및 폴리펩티드는 앞서 기술된 바 있다. 예컨대, 문헌 [Chen et al., (1996) *Genomics* 38:30-7][746개의 아미노산]; 스위스-프롯 수탁 번호(Swiss-Prot Accession No.) Q15910[746개의 아미노산]; 진뱅크 수탁 번호(GenBank Accession No) NM\_004456 및 NP\_004447(이소폼 a [751개의 아미노산]); 및 진뱅크 수탁 번호 NM\_152998 및 NP\_694543(이소폼 b [707개의 아미노산])(이들 각각은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다)을 참조할 수 있다.

인간 EZH2의 아미노산 서열(스위스-프롯 수탁 번호 Q15910)(서열 번호 1)
<pre> MQGTGKKEKGPVCWRKRVKSEYMLRQLKRFRRADVEVKSMFSSNRQKILERTEILNQEW KQRRIQPVHILTSVSSLRGTRRECSVTSLDLDFPTQVILPKTLNVAASVPIMYSWSPQQNF MVEDETVLHNIPYMGDEVLDQDGTPIEELIKNYDGVHGDRECGFINDEIFVELVNALGQ YNDDDDDDDGDDPBEREKQKLEDRDDKESRPPKFFPSDKIFEAISSMFFDKGTAEEL KEKYKELTEQQLPALPPECTPNIDGNPAKSVQREQLSHSFHTLFCRRCFKYDCLHLPFH ATPNTYKRNTEALDNKPCGPOCYQHLGAKFAAALTAERIKTPPKRPGRRRGRRLPN NSSRPPTPTINVLESKDTSDREAGTEITGGENNDKEEKKDETSSSSEANSRQCTPIKM KPNIEPPENVEWSGAEASMFVRLIGTYDNIACAIARLIGTKCRQVYEFVRKESIIAPA PAEDVDTPPKRRKRRHRLMAAHCRIQLKKGSSNHVYVQPCDHPQPCDSSCPCVIAQ NFEKFKCQCSSECCNRFPGRCKAQCNKQKPCYLAVRECDPLCLTCGAADHWDSKNVS CKNCSIQRGSKKHLHLLAPSDVAGWGFIFKDPVQKNEFISEYCGEIIISQDEADRRGKVDK YMSFSLFNLNDFVDVATRRGNKIRFANHSVNPNCYAKVMVNGDHRIGIFAKRAIQTGE ELFFDYRYSQADALKVGIEREMEIF                     </pre>

인간 EZH2의 뉴클레오타이드서열, 전사체 변이체 1(진뱅크 수탁 번호 NM_004456)(서열 번호 2)
<pre> ggcggcgcttgattgggctgggggggccaataaaaagcagatggcgattgggctgccgcgt ttggcgctcggctcggctcggctccgacacccggctgggactcagaagcagtgaggcccg gcccggcgggcgggcgcgccggggcgagcgcggggaacaacgcagatcgggcgcgggg acgaaataaatcatgggacagactgggaagaatactgagaagggaccagtttggcgcg gaagcgtgtaaaatcagagtcacatcgactgagacagctcaagaggttcagacgagctga tgaagtaaaagatagttagtccaatcgtcagaaatttggaaagaacggaatactt aaaccaagaatggaacagcgaagatcacagcctgtgcacatcctgactctgtgagctc attgcggggactagggagtgctcggtagcagctgacttggatttccaacacaagtcac cccattaaagactcgaatgcagtgcttcagtagccataatgtattcttggtctccct acagcagaattttatggtggaagatgaaactgtttacataaacattccttatatgggaga tgaagtttagatcaggatggtactttcattgaagaactaataaaaaattatgatgggaa agtacacgggagtagagaatgggtttataaatgatgaaattttgtggagttgttgaa tgcccttggtcaataataatgatgacgatgatgatgagggagacgactcctgaagaag agaagaagaagcagaagaatctggaggatcaccgagatgataaagaagccgcccactcg gaaatttctctgatataaaattttgaagcatttctcctcaatgttccagataaaggcac agcagaagaactaaaggaaaaatataaagaactcaccgaacagcagctcccaggcgact ctcctcctgaatgtaccaccaatagatggaccaaatgctaaatctgttcagagagagca aagctacactcctttcatacagctttctgtaggcgatgttttaaatatgactgcttct acatcgtaaagtcaattattctttcatgcaacaccaacactataaagcgaagaacaac agaaacagctctagacaacaacactgtggaccacagtgtagcagctttggagggagc aaaggagtttgctgctcctcaccgctgagcggataaagaccccacaaaacgtccag aggccgcagaagaggacggcttccaataaacagtagcagggccagaccccaccattaa tgctgctggaatcaaggatcacagacagtgatgggaagcagggactgaaacggggggaga gaacaatgataaagaagaagaagaagaagaatgaaacttcgagctcctctgaagcaaa ttctcgggtgcaaacaccaataaagatgaagcacaatattgaaactcctgagaatgtgga gtggagtggtgctgaagcctcaatgttagagtcctcattggcacttactatgacaattt ctgtgccattgctaggttaattgggacccaaacatctagacaggtgtatgagtttagat caaagaatctagcatcatagctccagctcccgtgaggatgggatactcctccaaggaa aaagaagaggaacaccggttgtgggctgcacactgcagaagaatcacagctgaaaaggga cggctcctctaacctgtttacaactatcaaccctgtgatcatccacggcagcctgtgga cagttcgtgcctgtgtgatgacacaataattttgtgaaagttttgtcaatgtagttc agagtgcaaaacggcttccgggatgccgctgcaaaagcacagtgcaacaccaagcagtg ccggtctacctggctgcccagagtgtagccctgacctctgtcttacttggagccgc tgaccattgggacagtaaaatgtgctcctgcaagaactgcagattcagcggggctccaa aaagcatctattgctggcaccatctgacgtggcagcgtgggggattttatcaaaagatcc tgtgcagaaaaatgaattcactcagaaactgtggagagattatttctcaagatgaagc                     </pre>

[0060]



```
ccatgtttacaactatcaacctgtgatcatccacggcagcctgtgacagttcgtgcc
ttgtgtgatagcacaataattttggtaaaagtttgtcaatgtagttcagagtgcaaa
ccgcttccgggagcggcctgcaaaagcagagtgcaacccaagcagtgccctgctacct
ggctgtccgagagtgtagccctgacctctgtcttactgtggagcggctgaccttgga
cagtaaaatgtgctcgaagaactcagattcagcggggctccaaaagcattctatt
gtggcaccatctgacgtggcaggtgggggattttatcaaatcctgtgcagaaaa
tgaatctatcagaatctgtggagagattttctcaagatgaagctgacagagaagg
gaaagtgtatgataaatacatgtgagcttctgttcaactgacaatgattttgtgt
ggatgcaaccgcgaaggtaacaaaatctgtttgcaaatcattcggtaaatccaaaatg
ctatgcaaaagtattgatggttaacggtgatcacagataggtattttgcaagagagc
catccagactggcgaagagctgtttttgatgacagatcacagcaggctgatgccctgaa
gtatgtcggcatgcaagagaaatgaaatcccttgacatctgctacctctccccctc
ctctgaaacagctgccttagcttcaggaacctcgagtactgtgggcaatttagaaaaaga
acatgagctttgaaatctgaaatgtgcaaaagtactgtaagaataattatagtaagat
ttaaaaatacaactttttatgcctctcaccagctgcaaaagtgtttgtaccagtaatt
ttgcaataatgagctatggtacattttcaactttgaaataagaatactgaaactgtc
ctgttgaatc
```

EZH2의 전장의 아미노산, 이소폼 b(진뱅크 수탁 번호 NP\_694543)(서열 번호 5)

```
MGQTGKKSEKGPVCRKRKVKSEYMLRQLKRFRRRADEVKSMFSSNRQKIL
ERTEILNQEWKQRIIPVHILTSVSSLRGTRVEDEVTLHNIYPMGDEVL
DQDGTIEELIKNYDGKVGHDRECGFINDEIFVELVNLGQYNDDDDDDD
GDDPEEREKQKDLDEHRDKEKSRPFRKFDKIFEAISSMFPDKGTAE
LKEKYKELTEQQLPGALPPECTPNIDGNPAKSVQREQLSHSFHFLFCRRC
FKYDCLHPFHATPNTYKRNKNETALDNKPCGQCYOHLGAKFAAALTA
AERIKTPPKRPGRRRRLPNNSRPTPTINVLESKDTSDREAGTETG
GENNDKEEKKDETSSEANSRCQTPIKMKPNIEPPENVEWSGAEASM
FRVLIGTYDNFCALARLIGTKTRQVYEFVKESSIIAPAPAEVDVTPP
RKKRKRHLWAHCRKIQLKKGSSNHVYQPCDHPRQPCDSSCPCVIA
QNFCEKFCQCSSECNRFPGCRCKAQCNKQPCYLAVRECDPLCLTCG
AADHWDKMNVSCKNCSIQRGSKHLLAPSDVAGWGFIKDPVQKNEFIS
EYCGEIIISQDEADRRGKVYDKYMCSEFLNLNDFVVDATRKGKIRFANH
SVNPNYAKVMVMVNGDHRIGIFAKRAITGGEELFFDYRSQADALKYVGI
EREMEIP
```

EZH2의 전장의 아미노산, 이소폼 e(진뱅크 수탁 번호 NP\_001190178.1)(서열 번호 11)

```
MGQTGKKSEKGPVCRKRKVKSEYMLRQLKRFRRRADEVKSMFSSNRQKIL
ERTEILNQEWKQRIIPVHILTSVSSLRGTRVEDEVTLHNIYPMGDEVL
DQDGTIEELIKNYDGKVGHDRECGFINDEIFVELVNLGQYNDDDDDDD
GDDPEEREKQKDLDEHRDKEKSRPFRKFDKIFEAISSMFPDKGTAE
LKEKYKELTEQQLPGALPPECTPNIDGNPAKSVQREQLSHSFHFLFCRRC
FKYDCLHPFHATPNTYKRNKNETALDNKPCGQCYOHLGAKFAAALTA
AERIKTPPKRPGRRRRLPNNSRPTPTINVLESKDTSDREAGTETG
GENNDKEEKKDETSSEANSRCQTPIKMKPNIEPPENVEWSGAEASM
FRVLIGTYDNFCALARLIGTKTRQVYEFVKESSIIAPAPAEVDVTPP
RKKRKRHLWAHCRKIQLKKGSSNHVYQPCDHPRQPCDSSCPCVIA
QNFCEKFCQCSSECNRFPGCRCKAQCNKQPCYLAVRECDPLCLTCG
AADHWDKMNVSCKNCSIQRGSKHLLAPSDVAGWGFIKDPVQKNEFIS
EYCGEIIISQDEADRRGKVYDKYMCSEFLNLNDFVVDATRKGKIRFANH
SVNPNYAKVMVMVNGDHRIGIFAKRAITGGEELFFDYRSQADALKYVGI
EREMEIP
```

호모 사피엔스(*Homo sapiens*) zeste의 인핸서 동족체 2(조파리)(EZH2), 전사체 변이체 5, 뉴클레오타이드 서열 (진뱅크 수탁 번호 NM\_001203249.1)(서열 번호 12)

```
GACACGCTTCGCGGGGGGAACTCGGAGTAGCTTCGCTCTGACGTTTCCCCACGACGCCACCCGAAATC
CCCTGAGCTCCGGCGGTCCGCGGCTGCCCTCGCCGCTGGCTGGCTTTATGCTAAGTTTGGGGGAAGA
GTCGAGCTGCTGCTCTCATGATTGTTTCTGGAGGGCGCTCTGTTGAAATCCCACTCATGTTGT
ACATCCCTTCCTGCTCCCGCAAAAATCTGTGCCACAGGGTTACTTTTTGAAAGCGGGAGGAATCGAGAA
```

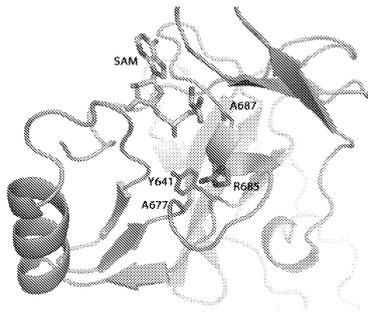
[0062]

```
GCACGATCTTTGGAAAATTTGGTGAACGCTAAATAATCATGGCCAGACTGGGAAGAAATCTGAGAAG
GGACCAGTTTGTGGCGGAAGCGTGAATAATCAGAGTACATGCAGCTGAGACAGCTCAAGAGGTTTCAGAC
GAGCTGATGAAGTAAAGAGTATGTTTAGTCCAACTCGTCAGAAAATTTGGAAAGAACGGAAATCTTAA
CCAGAAATGGAAACAGCGAAGGATACAGCCTGTGCACATCTGACTTCTTGTTCGGTGACCAGTACATG
GATTTCCACACAGTATCCCAITAAAGACTCTGAAATGTCAGTGTGCTCAGTACCCATAATGATTTCTT
GGCTCCCTACAGCAGAATTTTATGGTGAAGATGAACTGTTTTACATAACATTTCTTATATGGGAGA
TGAAGTTTAGATCAGGATGGTACTTTTATGAAGAACTAATAAAAAATATGATGGGAAAGTACACGGG
GATAGAGAAATGGGGTTTATAAATGATGAAATTTTGTGGAGTTGGTGAATGCCCTTGGTCAATATAATG
ATGATGACGATGATGATGATGGAGACGATCCTGAAGAAGAGAGAAAAGCAGAAAGATCTGGAGGATCA
CCGAGATGATAAAGAAAGCCGCCACCTCGGAAATTTCTTCTGATAAAAATTTTGAAGCCATTTCTCA
ATGTTTCAGATAAGGGCACAGCAGAAAGAACTAAGGAAAAATATAAAGAACTACCGAACAGCAGCTCC
CAGCGCACCTTCTCTGAAATGTACCCCAACATAGATGGACAAATGCTAAATCTGTTACAGAGAGAGCA
AAGCTTACACTCCTTTTATACGCTTTTCTGTAGGCGATGTTTTAAATATGACTGCTTCTACATCTTTT
CATGCAACACCCAACTTATAAGCGGAAGAAACAGAAACAGCTCTAGACAAACAACTTGTGGACCAC
AGTGTACACGACTTTGGAGGGAGCAAGAGGATTTGCTGCTGCTTCCAGCTGAGCGGATAAAGACCCC
ACCAAAAAGCTCAGGAGGCCGAGAAAGAGGACGGCTTCCCAATAACAGTAGCAGGCCAGCACCCCAAC
ATTAATGTGCTGGAATCAAGGATACAGACAGTATAGGAAAGCAGGACTGAAACGGGGGAGAGAAACA
ATGATAAAGAAAGAAAGAGAAAGAAAGATGAACTTCGAGCTCCTCTGAAGCAAAATCTCGGTGTCAAC
ACCAATAAAGATGAAGCAAAATATGAACCTCTGAGAAATGGAGTGGAGTGGTGTGAAAGCTCAATG
TTAGAGTCTCATTGGCACTTACTATGACAAATTTCTGTGCCATTGCTAGGTTAATGGGACAAAAAT
GTAGACAGGTGTAGTGTAGAGTCAAAAGATCTAGCATCATAGCTCCAGCTCCCGCTGAGGATGTGGA
TACTCTCCAAAGGAAAAGAGGAAACACCGGTTGTGGCTGCACACTGCAGAAAGATACAGCTGAAA
AAGGTTCAAAACCGCTTCCGGGATGCCCTGCAGAAAGCAGTGCACCAACCAAGCAGTCCCGCTGCTACC
TGGCTGCCAGAGTGTGACCTGACCTGTGCTTACTTGTGGAGCCGCTGACCATTTGGGACAGTAAAAA
TGTGCTCTGCAAGAACTGCAATTCAGCGGGCTCCAAAAGCATCTATTGCTGGCCACCTGACGTTG
GAGGCTGGGGATTTTATCAAAGATCTGTGCAGAAAAATGAAATCATCTCAGAAATCTGTGGAGAGA
TATTCTCAAGATGAAGTGCAGAAAGAGGAAAGTATGATAAATACATGTGCAGCTTTCTGTTCAA
CTGAAACAAATGATTTGTGGTGGATGCAACCCGCAAGGGTAAACAAAATCGTTTTGCAAAATCAITCGGTA
AATCCAAACTGTCTATGCAAAAGTATGATGGTTAACGGTATACAGGATAGGATTTTTGCCAAGAGAG
CATCCAGACTGGCGAAGAGCTGTTTTTGTATTACAGATACAGCCAGGCTGATGCCCTGAGTATGTCGG
CATCGAAAGAAATGAAATCCCTGACATCTGTACTCTCCCTCCCTCTCTGAAACAGCTGCCITTA
GCTTCAGGAACCTCGAGTACTGTGGCAATTTAGAAAAAGAACATGCAGTTTGAATTTGAATTTGCNA
AGTACTGTAAAGATAATTTAGTAAATGAGTTTAAAAATCAACTTTTTATTGCCCTCTCAGCAGCTGCAA
AGTGTTTGTACCACTGAAATTTTGCATAATGCAGTATGGTACATTTTCAACTTTGAAATAAAGAAATC
TTGAACCTGTGCTTGTGAAATC
```

[0063]

[0064]

핵 수용체 결합 SET 도메인 단백질 1(NSD1)의 A 쇠에 기반한 부분 EZH2 단백질의 구조 모델은 하기 제공되어 있다. 상기 모델은 서열 번호 1의 EZH2 서열의 아미노산 잔기 533-732에 상응한다.



[0065]

[0066]

상기 구조 모델의 상응하는 아미노산 서열은 하기에 제공되어 있다. 기질 포켓 도메인 중 잔기는 밀줄체로 표시되어 있다. SET 도메인 중 잔기는 이탤릭체로 표시되어 있다.

SCPCVIAQNFCEKFCQCSSECQNRFPGCRCKAQCNKQCPCPYLAVRECDPDLCLTCGA  
ADHWDSKNVSKNCNSIQRGSKK**HLL**LAPSDVAGWG**I**FIKDPVQKNEFISE***Y***<sup>641</sup>CGEII**SQ**DEADRRGKVYDKYMC**S**FLFNLNND**F**VV  
EADRRGKVYDKYMC**S**FLFNLNND**F**<sup>674</sup>VDA<sup>677</sup>TRKGNK**I**<sup>685</sup>EA<sup>687</sup>NHSVNPNCYAKVMMV  
NGDHR**I**GIFAKRAIQ**T**GEEL**F**FD**Y**RY**S**QAD (서열 번호 6).

[0067]

[0068]

EZH2의 촉매성 부위는 SET 도메인으로 알려져 있는, 단백질의 보존 도메인 중의 잔기인 것으로 여겨진다. EZH2의 SET 도메인의 아미노산 서열은 스위스-프룻 수탁 번호 Q15910(서열 번호 1)의 아미노산 잔기 613-726에 걸쳐 있는 하기의 부분 서열로 제공된다:

HLL**L**LAPSDVAGWG**I**FIKDPVQKNEFISE***Y***CGEII**SQ**DEADRRGKVYDKYMC**S**FLFNLNND**F**VV  
DATRKGNK**I**R**F**ANHSVNPNCYAKVMMVNGDHR**I**GIFAKRAIQ**T**GEEL**F**FD**Y** (서열 번호 7).

[0069]

[0070]

서열 번호 7 중 밀줄체로 표시되어 있는 티로신(Y) 잔기는 스위스-프룻 수탁 번호 Q15910(서열 번호 1)에서 Tyr641(Y641)이다.

[0071]

진뱅크 수탁 번호 NP\_004447(서열 번호 3)의 SET 도메인은 아미노산 잔기 618-731에 걸쳐 있고, 서열 번호 6과 동일하다. 스위스-프룻 수탁 번호 Q15910 중의, 서열 번호 7에서 밀줄체로 표시되어 있는 Y641에 상응하는 티로신 잔기는 진뱅크 수탁 번호 NP\_004447(서열 번호 3)의 Tyr646(Y646)이다.

[0072]

진뱅크 수탁 번호 NP\_694543(서열 번호 5)의 SET 도메인은 아미노산 잔기 574-687에 걸쳐 있고, 서열 번호 7과 동일하다. 스위스-프룻 수탁 번호 Q15910 중의, 서열 번호 7에서 밀줄체로 표시되어 있는 Y641에 상응하는 티로신 잔기는 진뱅크 수탁 번호 NP\_694543(서열 번호 5)의 Tyr602(Y602)이다.

[0073]

진뱅크 수탁 번호 NP\_004447의 SET 도메인을 코딩하는 뉴클레오티드 서열은

catctattgctggcaccatctgacgtggcaggctggggatttttatcaaatcctgtgcag  
aaaaatgaattcatctcagaata**act**gtggagagattatctcaagatgaagctgacagaaga  
gggaaagtgtatgataaatacatgtgcagctttctgttcaacttgaacaatgatctgtggtg  
gatgcaaccgccaaagggaacaaaattcgttttgcaaatcattcggtaaatccaaactgctat  
gcaaaagtattgatggttaacggtgatcacaggataggtatcttttgccaagagagccatccag  
actggcgaagagctgttttttgattac (서열 번호 8)

[0074]

이고,

[0075]

여기서, Y641을 코딩하는 코돈은 밀줄체로 표시되어 있다.

[0076]

본 출원의 목적을 위해, 인간 EZH2의 아미노산 잔기 Y641은 스위스-프룻 수탁 번호 Q15910 중의 Y641이거나, 또는 그에 상응하는 티로신 잔기를 지칭하는 것으로 이해하여야 한다.

<p><b>Y641 돌연변이체 EZH2의 전장의 아미노산 서열(서열 번호 9)</b></p> <p>MGQTGKKSEKGPVVCWRKRKSEYMRLRQLKFRRADEVKSMFSSNRQKILERTEILNQEW          KQRRIQPVHILTSVSSLRGTRECSVTSLDLDFPTQVIPLKTLNVAASVPMYWSWPLQQNF          MVEDETVLHNIIPYMGDEVLDQDGTFFIEELIKNYDGKVGHDRECGFINDEIFVELVNALGO          YNDDDDDDGDDPEEREKQKDLDRDDKESRPPRKFPSDKIFEAISSMFPDKGTAEEL          KEKYKELTEQQLPALPPECTPNIDGPNKASVQREQSLSHFHTLFCRRCFKYDCFLHPPH          ATPNTYKRKNITETALDNKPCGPGCYQHLEGAKEFAAALTAERIKTPPKRPGRRRGRRLPN          NGSRPSTPTINVLESKDTSDREAGTETGGENNDKEEKKDETSSSSEANSRCQTPIKM          KPNIEPPENVFWSGAEASMFVRLIGTYYDNFCAIARLIGTKTCRQVYEFVRKESSIAPA          PAEDVDTPPRKKRKHRLWAAHCRKIQLKKDSSSNHVYNYQPCDHPRQPCDSSCPCVIAQ          NFCEKFCQCSSECCQNRFPGCRCRKAQCNTKQCPCYLAVRECDPDLCLTCGAADHWDKSNVVS          CKNCSIQRGSKKHLLLAPSDVAGWGFIFIKDPVQKNEFISEXCGEIIISQDEADRRGKVYDK          YMCSEFLNLLNDFVVDATRKGNKIRFANHSVNPNCYAKVMVNGDHRIGIFAKRAIQTGE          ELFFDYRYSQADALKYVGIEREMEIP</p> <p>여기서, x는 티로신(Y) 이외의 다른 임의의 아미노산 잔기일 수 있다</p>
--

[0077]

[0078]

[0079]

[0080]

[0081]

[0082]

[0083]

[0084]

[0085]

[0086]

[0087]

[0088]

또한, 본 출원의 목적을 위해, 인간 EZH2의 Y641 돌연변이체, 및 등가적으로 EZH2의 Y641 돌연변이체는 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 아미노산 잔기가 티로신 이외의 다른 아미노산 잔기에 의해 치환된 인간 EZH2를 지칭하는 것으로 이해하여야 한다.

한 실시양태에서, EZH2의 Y641 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 티로신 이외의 다른 아미노산 잔기에 의해 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다.

한 실시양태에서, EZH2의 Y641 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 페닐알라닌(F)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641F 돌연변이체, 또는 등가적으로, Y641F로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 Y641 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 히스티딘(H)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641H 돌연변이체, 또는 등가적으로, Y641H로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 Y641 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 아스파라긴(N)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641N 돌연변이체, 또는 등가적으로, Y641N으로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 Y641 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 세린(S)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641S 돌연변이체, 또는 등가적으로, Y641S로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 Y641 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 Y641에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 시스테인(C)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 Y641 돌연변이체는 본원에서 Y641C 돌연변이체, 또는 등가적으로, Y641C로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 A677 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 A677에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 알라닌이 아닌 아미노산, 바람직하게 글리신(G)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 A677 돌연변이체는 본원에서 A677 돌연변이체, 및 바람직하게, A677G 돌연변이체, 또는 등가적으로, A677G로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 A687 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 A687에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 알라닌이 아닌 아미노산, 바람직하게 발린(V)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 A687 돌연변이체는 본원에서 A687 돌연변이체, 및 바람직하게, A687V 돌연변이체, 또는 등가적으로, A687V로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 R685 돌연변이체의 아미노산 서열은 오직 야생형 인간 EZH2의 R685에 상응하는 단일 아미노산 잔기가 아르기닌이 아닌 아미노산, 바람직하게 히스티딘(H) 또는 시스테인(C)으로 치환된 것에서만 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 A687 돌연변이체는 본원에서 R685 돌연변이체, 및 바람직하게, R685C 돌연변이체 또는 R685H 돌연변이체, 또는 등가적으로, R685H 또는 R685C로 지칭된다.

한 실시양태에서, EZH2의 돌연변이체의 아미노산 서열은 서열 번호 6에 정의된, 그의 기질 포켓 도메인 중 하나 이상의 아미노산 잔기에서 야생형 인간 EZH2의 아미노산 서열과 상이하다. 상기 실시양태에 따라 EZH2의 돌연변이

이체는 본원에서 EZH2 돌연변이체로 지칭된다.

[0089]

다른 예시적인 치환 아미노산 돌연변이는 서열 번호 1의 아미노산 위치 677, 687, 674, 685, 또는 641에 치환, 예컨대, 제한하는 것은 아니지만, 서열 번호 1의 아미노산 위치 677의 야생형 잔기 알라닌(A)의 글리신(G)으로의 치환(A677G); 서열 번호 1의 아미노산 위치 687의 야생형 잔기 알라닌(A)의 발린(V)으로의 치환(A687V); 서열 번호 1의 아미노산 위치 674의 야생형 잔기 발린(V)의 메티오닌(M)으로의 치환(V674M); 서열 번호 1의 아미노산 위치 685의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R685H); 서열 번호 1의 아미노산 위치 685의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R685C); 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 페닐알라닌(F)으로의 치환(Y641F); 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 히스티딘(H)으로의 치환(Y641H); 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 아스파라긴(N)으로의 치환(Y641N); 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 세린(S)으로의 치환(Y641S); 또는 서열 번호 1의 아미노산 위치 641의 야생형 잔기 티로신(Y)의 시스테인(C)으로의 치환(Y641C)을 포함한다.

[0090]

본 발명의 돌연변이는 또한 서열 번호 3의 아미노산 위치 322의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 세린(S)으로의 치환(N322S), 서열 번호 3의 아미노산 위치 288의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R288Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 573의 야생형 잔기 트레오닌(T)의 이소류신(I)으로의 치환(T573I), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 글루탐산(E)으로의 치환(D664E), 서열 번호 5의 아미노산 위치 458의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R458Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 249의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 리신(K)으로의 치환(E249K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 684의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R684C), 서열 번호 11의 아미노산 위치 628의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R628H), 서열 번호 5의 아미노산 위치 501의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 히스티딘(H)으로의 치환(Q501H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 192의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 아스파라긴(N)으로의 치환(D192N), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 발린(V)으로의 치환(D664V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 704의 야생형 잔기 발린(V)의 류신(L)으로의 치환(V704L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 132의 야생형 잔기 프롤린(P)의 세린(S)으로의 치환(P132S), 서열 번호 11의 아미노산 위치 669의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 리신(K)으로의 치환(E669K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 255의 야생형 잔기 알라닌(A)의 트레오닌(T)으로의 치환(A255T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 726의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 발린(V)으로의 치환(E726V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 571의 야생형 잔기 시스테인(C)의 티로신(Y)으로의 치환(C571Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 145의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 시스테인(C)으로의 치환(F145C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 트레오닌(T)으로의 치환(N693T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 145의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 세린(S)으로의 치환(F145S), 서열 번호 11의 아미노산 위치 109의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 히스티딘(H)으로의 치환(Q109H), 서열 번호 11의 아미노산 위치 622의 야생형 잔기 페닐알라닌(F)의 시스테인(C)으로의 치환(F622C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 135의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G135R), 서열 번호 5의 아미노산 위치 168의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글루타민(Q)으로의 치환(R168Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 159의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G159R), 서열 번호 5의 아미노산 위치 310의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 시스테인(C)으로의 치환(R310C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 561의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R561H), 서열 번호 11의 아미노산 위치 634의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R634H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 660의 야생형 잔기 글리신(G)의 아르기닌(R)으로의 치환(G660R), 서열 번호 3의 아미노산 위치 181의 야생형 잔기 티로신(Y)의 시스테인(C)으로의 치환(Y181C), 서열 번호 3의 아미노산 위치 297의 야생형 잔기 히스티딘(H)의 아르기닌(R)으로의 치환(H297R), 서열 번호 11의 아미노산 위치 612의 야생형 잔기 시스테인(C)의 세린(S)으로의 치환(C612S), 서열 번호 3의 아미노산 위치 694의 야생형 잔기 히스티딘(H)의 티로신(Y)으로의 치환(H694Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 664의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 알라닌(A)으로의 치환(D664A), 서열 번호 3의 아미노산 위치 150의 야생형 잔기 이소류신(I)의 트레오닌(T)으로의 치환(I150T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 264의 야생형 잔기 이소류신(I)의 아르기닌(R)으로의 치환(I264R), 서열 번호 3의 아미노산 위치 636의 야생형 잔기 프롤린(P)의 류신(L)으로의 치환(P636L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 713의 야생형 잔기 이소류신(I)의 트레오닌(T)으로의 치환(I713T), 서열 번호 5의 아미노산 위치 501의 야생형 잔기 글루타민(Q)의 프롤린(P)으로의 치환(Q501P), 서열 번호 3의 아미노산 위치 243의 야생형 잔기 리신(K)의 글루타민(Q)으로의 치환(K243Q), 서열 번호 5의 아미노산 위치 130의 야생형 잔기 글루탐산(E)의 아스파르트산(D)으로의 치환(E130D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 509의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 글리신(G)으로의 치환(R509G), 서열 번호 3의 아미노산 위치 566의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R566H), 서열 번호 3의 아미노산 위치 677의 야생

형 잔기 아스파르트산(D)의 히스티딘(H)으로의 치환(D677H), 서열 번호 5의 아미노산 위치 466의 야생형 잔기 리신(K)의 아스파라긴(N)으로의 치환(K466N), 서열 번호 3의 아미노산 위치 78의 야생형 잔기 아르기닌(R)의 히스티딘(H)으로의 치환(R78H), 서열 번호 6의 아미노산 위치 1의 야생형 잔기 리신(K)의 메티오닌(M)으로의 치환(K6M), 서열 번호 3의 아미노산 위치 538의 야생형 잔기 세린(S)의 류신(L)으로의 치환(S538L), 서열 번호 3의 아미노산 위치 149의 야생형 잔기 류신(L)의 글루탐산(Q)으로의 치환(L149Q), 서열 번호 3의 아미노산 위치 252의 야생형 잔기 류신(L)의 발린(V)으로의 치환(L252V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 674의 야생형 잔기 류신(L)의 발린(V)으로의 치환(L674V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 656의 야생형 잔기 알라닌(A)의 발린(V)으로의 치환(A656V), 서열 번호 3의 아미노산 위치 731의 야생형 잔기 알라닌(A)의 아스파르트산(D)으로의 치환(Y731D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 345의 야생형 잔기 알라닌(A)의 트레오닌(T)으로의 치환(A345T), 서열 번호 3의 아미노산 위치 244의 야생형 잔기 알라닌(A)의 아스파르트산(D)으로의 치환(Y244D), 서열 번호 3의 아미노산 위치 576의 야생형 잔기 시스테인(C)의 트립토판(W)으로의 치환(C576W), 서열 번호 3의 아미노산 위치 640의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N640K), 서열 번호 3의 아미노산 위치 675의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N675K), 서열 번호 11의 아미노산 위치 579의 야생형 잔기 아스파르트산(D)의 티로신(Y)으로의 치환(D579Y), 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 이소류신(I)으로의 치환(N693I), 및 서열 번호 3의 아미노산 위치 693의 야생형 잔기 아스파라긴(N)의 리신(K)으로의 치환(N693K)을 포함할 수 있다.

[0091] 본 발명의 돌연변이는 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 730, 391, 461, 441, 235, 254, 564, 662, 715, 405, 685, 64, 73, 656, 718, 374, 592, 505, 730, 또는 363에, 또는 서열 번호 3, 5 또는 11을 코딩하는 핵산 서열의 상응하는 뉴클레오티드 위치에 프레임쉬프트될 수 있다. EZH2의 돌연변이는 또한 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 148과 149 사이의 글루탐산(E) 삽입될 수 있다. EZH2 돌연변이의 또 다른 예는 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 148 및 149에 글루탐산(E) 및 류신(L)의 결실이다. 돌연변이체 EZH2는 서열 번호 3, 5 또는 11의 아미노산 위치 733, 25, 317, 62, 553, 328, 58, 207, 123, 63, 137, 또는 60에 넌센스 돌연변이를 추가로 포함할 수 있다.

[0092] EZH2에 대해 이형접합성인 세포는 WT 효소에 의한 H3-K27me1의 효율적인 형성, 및 이어서, 돌연변이체 효소 형태(들)에 의한 상기 선조체 종의 H3-K27me2, 및 특히 H3-K27me3으로의 효율적인 전이에 기인하여 악성 표현형을 보일 것을 예상될 것이다.

[0093] 이전 결과는 H3-K27 모노메틸화를 수행하는 효소와, 여포성 림프종 및 미만성 거대 B 세포 림프종에서 발병기전에 대한 EZH2의 특성의 돌연변이체 형태 사이의 효소적 커플링에의 의존성을 시사한다. 예를 들어, Y641 돌연변이체 EZH2를 발현하는 세포는 WT EZH2를 발현하는 세포보다 소분자 EZH2 억제제에 대하여 더욱 큰 감수성을 보일 수 있다. 구체적으로, Y641 돌연변이체 EZH2를 발현하는 세포는 EZH2 억제제 처리 후에 성장, 분할 또는 증식 감소를 보이거나, 또는 심지어는 아포토시스 또는 괴사를 겪는다. 그에 반해, WT EZH2를 발현하는 세포는 EZH2 억제제의 항증식성 효과에 대해 반응을 보이지 않는다(미국 특허 출원 번호 제61/381,684호; 상기 출원은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다).

[0094] 본 발명의 한 측면은 서열 번호 6에 정의된, 기질 포켓 도메인 중 돌연변이를 포함하는 돌연변이체 EZH2를 발현하는 피험체에게 치료적 유효량의, 본원에서 기술된 EZH2 억제제, 예컨대, 화학식 IIa의 화합물을 함께 투여하고자 하는데 적합한 또 다른 작용제와 함께 조합하여 동시에, 순차적으로 또는 교대로 투여함으로써 피험체에서 암 또는 전암성 병증의 증상을 치료하거나, 완화시키는 방법에 관한 것이다.

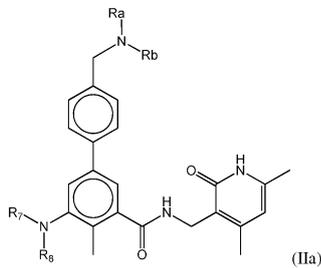
[0095] 본 발명의 또 다른 측면은 피험체에서 H3-K27을 트리메틸화된 H3-K27로의 전환을 억제시키는 방법이다. 상기 억제는 피험체에서 비메틸화된 H3-K27의 모노메틸화된 H3-K27로의 전환, 모노메틸화된 H3-K27의 디메틸화된 H3-K27로의 전환, 디메틸화된 H3-K27의 트리메틸화된 H3-K27로의 전환, 또는 그의 임의 조합, 예를 들어, 모노메틸화된 H3-K27의 디메틸화된 H3-K27로의 전환과 디메틸화된 H3-K27의 트리메틸화된 H3-K27로의 전환을 억제시키는 것을 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 비메틸화된 H3-K27이란 리신 27의 아미노기에 공유적으로 결합된 메틸기가 없는 히스톤 H3을 의미한다. 본원에서 사용되는 바, 모노메틸화된 H3-K27이란 단일 메틸기가 리신 27의 아미노기에 공유적으로 결합되어 있는 히스톤 H3을 의미한다. 모노메틸화된 H3-K27은 또한 본원에서 H3-K27me1로도 지칭된다. 본원에서 사용되는 바, 디메틸화된 H3-K27이란 2개의 메틸기가 리신 27의 아미노기에 공유적으로 결합되어 있는 히스톤 H3을 의미한다. 디메틸화된 H3-K27은 또한 본원에서 H3-K27me2로도 지칭된다. 본원에서 사용되는 바, 트리메틸화된 H3-K27이란 3개의 메틸기가 리신 27의 아미노기에 공유적으로 결합되어 있는 히스톤 H3을 의미한다. 트리메틸화된 H3-K27은 또한 본원에서 H3-K27me3으로도 지칭된다.

[0096] 히스톤 H3은 길이가 136개의 아미노산 길이인 단백질로서, 그 서열은 공지되어 있다. 예를 들어, 진뱅크 수탁 번호 CAB02546(그의 내용이 본원에서 참조로 포함된다)을 참조할 수 있다. 본원에서 추가로 개시된 바와 같이, 전장의 히스톤 H3 이외에도, 전장의 히스톤 H3의 K27에 상응하는 리신 잔기를 포함하는 히스톤 H3의 펩티드 단편을 EZH2에 대한(및 유사하게는 EZH2의 돌연변이체 형태에 대한) 기질로서 사용함으로써 H3-K27m1의 H3-K27m2로의 전환 및 H3-K27m2의 H3-K27m3으로의 전환을 평가할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 펩티드 단편은 히스톤 H3의 아미노산 잔기 21-44에 상응하는 것이다. 상기 펩티드 단편은 아미노산 서열 LATKAARKSAPATGGVKKPHRYRP(서열 번호 10)을 가진다.

[0097] 본 발명의 조성물은 화학식 IIa의 화합물 및 하나 이상의 다른 치료제, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 화학식 IIa의 화합물은 함께, 순차적으로 또는 교대로 투여하는 데 적합한 하나 이상의 다른 치료제 또는 치료 양식과 함께 하는 병용 요법의 일부로서 투여하는 데 적합하다. 본 발명의 방법에 적합한 화학식 IIa의 다른 화합물은 미국 공개 20120264734(상기 공개 문헌의 전문이 본원에서 참조로 포함된다)에 기술되어 있다.

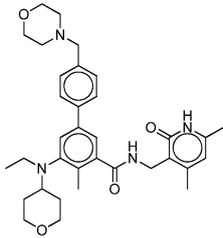
[0098] 본 발명은 하기 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염 또는 에스테르를 포함한다:

[0099] <화학식 IIa>



- [0100] 상기 식에서,
- [0101] R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>a</sub> 및 R<sub>b</sub>는 본원에 정의된 바와 같다.
- [0102] 화학식 IIa의 화합물은 하기 특징들 중 하나 이상의 것을 포함할 수 있다:
- [0103] 예를 들어, R<sub>a</sub> 및 R<sub>b</sub>는 각각 독립적으로 H, 또는 임의적으로 하나 이상의 -Q<sub>3</sub>-T<sub>3</sub>으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다.
- [0104] 예를 들어, R<sub>a</sub> 및 R<sub>b</sub> 중 하나는 H이다.
- [0105] 예를 들어, R<sub>a</sub> 및 R<sub>b</sub>는 그들이 부착되는 N 원자와 함께 N 원자에 대해 0 또는 1개의 추가 헤테로원자를 가지는 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬 고리(예컨대, 아제티디닐, 피롤리디닐, 이미다졸리디닐, 피라졸리디닐, 옥사졸리디닐, 이속사졸리디닐, 트리아졸리디닐, 피페리디닐, 1,2,3,6-테트라하이드로피리디닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 1,4-디아제파닐, 1,4-옥사제파닐, 2-옥사-5-아자비사이클로[2.2.1]헵타닐, 2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵타닐 등)를 형성하고, 고리는 임의적으로 하나 이상의 -Q<sub>3</sub>-T<sub>3</sub>으로 치환된다.
- [0106] 예를 들어, R<sub>a</sub> 및 R<sub>b</sub>는 그들이 부착되는 N 원자와 함께 아제티디닐, 피롤리디닐, 이미다졸리디닐, 피라졸리디닐, 옥사졸리디닐, 이속사졸리디닐, 트리아졸리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 피페리디닐, 1,2,3,6-테트라하이드로피리디닐, 피페라지닐, 또는 모르폴리닐을 형성하고, 고리는 임의적으로 하나 이상의 -Q<sub>3</sub>-T<sub>3</sub>으로 치환된다.
- [0107] 예를 들어, 하나 이상의 -Q<sub>3</sub>-T<sub>3</sub>은 옥소이다.
- [0108] 예를 들어, Q<sub>3</sub>는 결합 또는 비치환된 또는 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬 링커이다.
- [0109] 예를 들어, T<sub>3</sub>은 H, 할로, 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, OR<sub>d</sub>, COOR<sub>d</sub>, -S(O)<sub>2</sub>R<sub>d</sub>, 또는 -NR<sub>d</sub>R<sub>e</sub>이다.
- [0110] 예를 들어, R<sub>d</sub> 및 R<sub>e</sub>는 각각 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다
- [0111] 예를 들어, R<sub>7</sub>은 각각 임의적으로 하나 이상의 -Q<sub>5</sub>-T<sub>5</sub>로 치환된, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬 또는 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬이다.

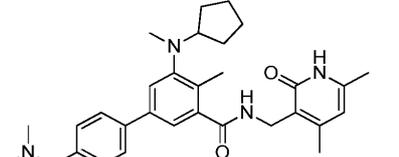
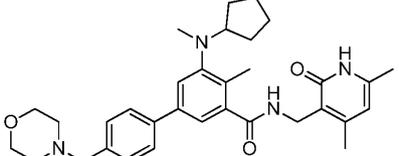
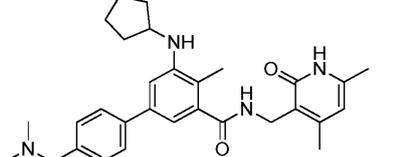
- [0113] 예를 들어, R<sub>7</sub>은 각각 임의적으로 하나 이상의 -Q<sub>5</sub>-T<sub>5</sub>로 치환된, 피페리디닐, 테트라하이드로피란, 테트라하이드로-2H-티오피라닐, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 피롤리디닐, 또는 사이클로헵틸이다.
- [0114] 예를 들어, R<sub>7</sub>은 각각 임의적으로 하나 이상의 -Q<sub>5</sub>-T<sub>5</sub>로 치환된, 사이클로펜틸, 사이클로헥실 또는 테트라하이드로-2H-티오피라닐이다.
- [0115] 예를 들어, 각각 Q<sub>5</sub>는 NHC(O)이고, T<sub>5</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시이다.
- [0116] 예를 들어, 하나 이상의 -Q<sub>5</sub>-T<sub>5</sub>는 옥소이다.
- [0117] 예를 들어, R<sub>7</sub>은 1-옥시드-테트라하이드로-2H-티오피라닐 또는 1,1-디옥시드-테트라하이드로-2H-티오피라닐이다.
- [0118] 예를 들어, Q<sub>5</sub>는 결합이고, T<sub>5</sub>는 아미노, 모노-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬아미노, 디-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬아미노이다.
- [0119] 예를 들어, Q<sub>5</sub>는 CO, S(O)<sub>2</sub>, 또는 NHC(O)이고; T<sub>5</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬, 또는 4 내지 7원 헤테로사이클로알킬이다.
- [0120] 예를 들어, R<sub>8</sub>은 H, 또는 할로, 하이드록실, COOH, C(O)O-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 시아노, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕실, 아미노, 모노-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬아미노, 및 디-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬아미노로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환기로 임의적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다.
- [0121] 예를 들어, R<sub>8</sub>은 H, 메틸, 또는 에틸이다.
- [0122] 한 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 하기 화합물 44 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염이다:



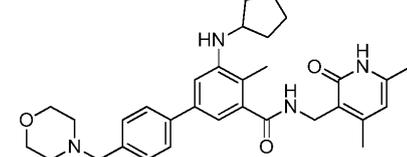
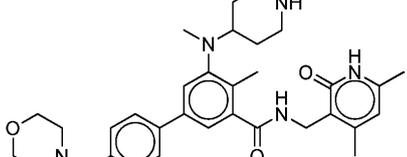
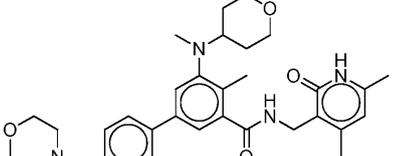
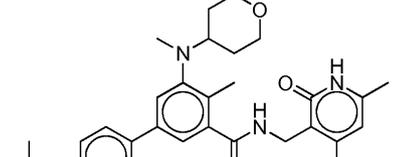
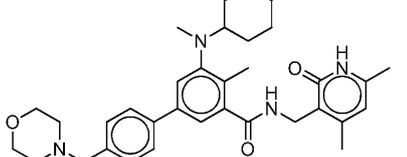
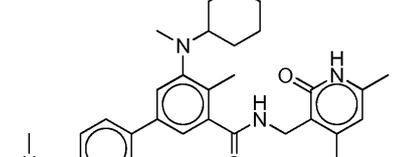
- [0123] .
- [0124] 한 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 화합물 그 자체, 즉, 유리 염기 또는 "네이키드" 분자이다. 또 다른 실시양태에서, 화합물은 그의 염, 예컨대, 네이키드 분자의 모노-HCl 또는 트리-HCl 염, 모노-HBr 또는 트리-HBr 염이다.

- [0125] 본 발명의 대표적인 화합물로는 하기 표 1에 열거되어 있는 화합물을 포함한다. 하기 표에서,  가 존재할 경우, 이는 각각  로 해석되어야 한다.

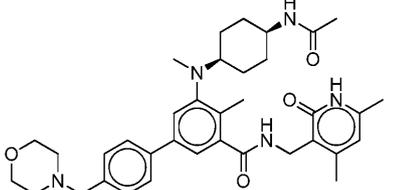
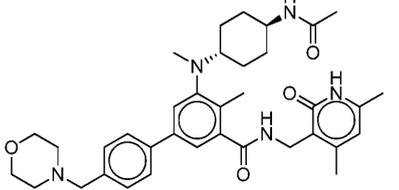
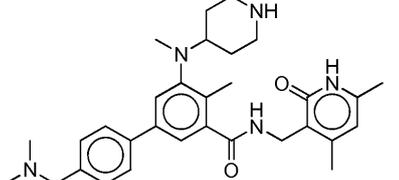
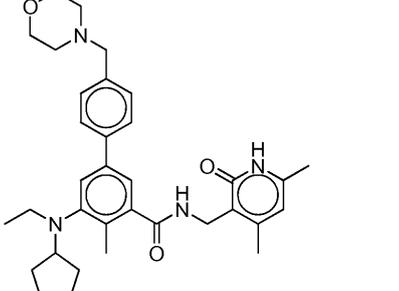
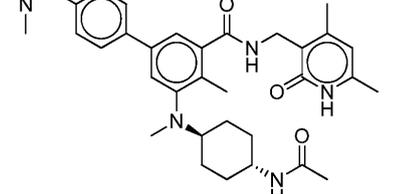
표 1

화합물 번호	구조	MS (M+) <sup>+</sup>
1		501.39
2		543.22
3		486.21

[0126]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
4		529.30
11		558.45
12		559.35
13		517.3
14		557.4
16		515.4

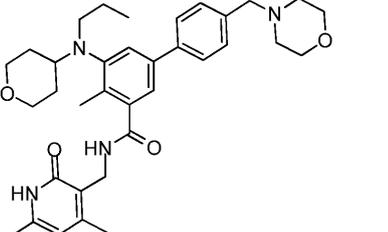
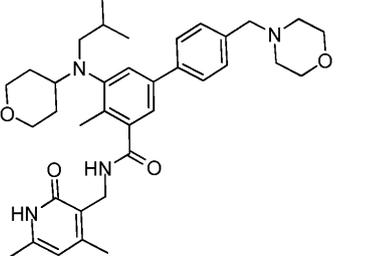
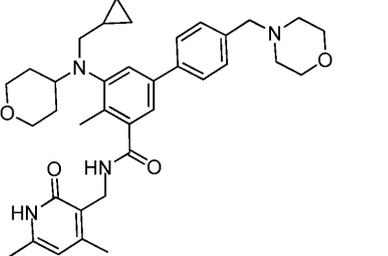
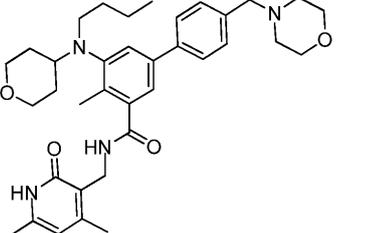
[0127]

화합물 번호	구조	MS (M+) <sup>+</sup>
20		614.4
21		614.4
27		516.35
36		557.35
39		572.35

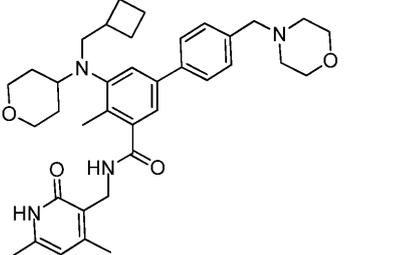
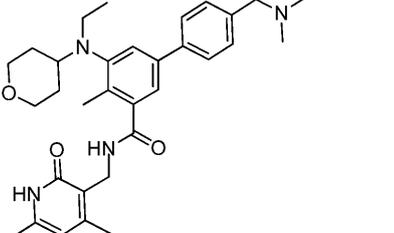
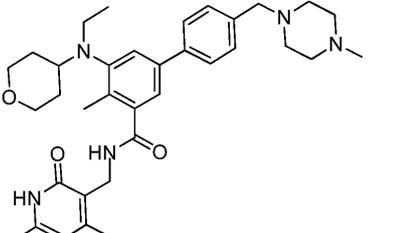
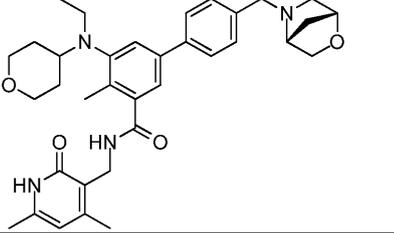
[0128]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
40		572.35
42		572.4
43		572.6
44		573.40
47		530.35

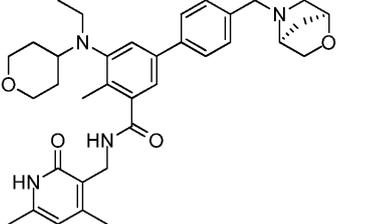
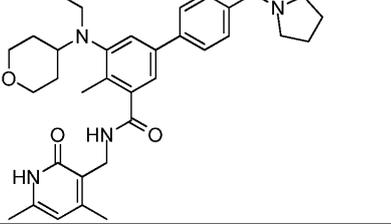
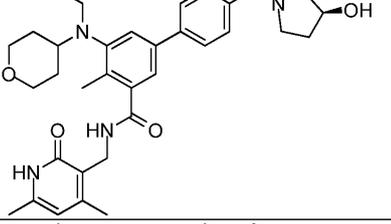
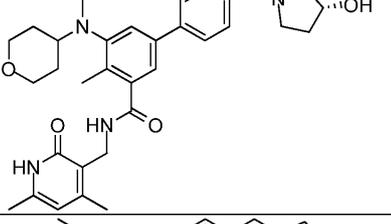
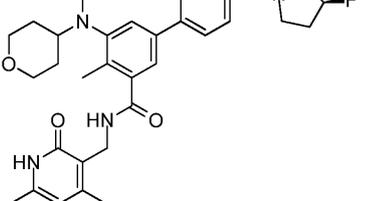
[0129]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
59		587.40
60		601.30
61		599.35
62		601.35

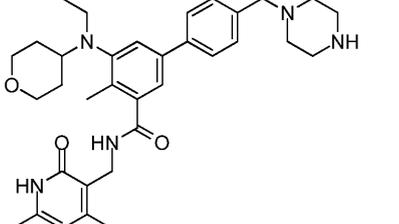
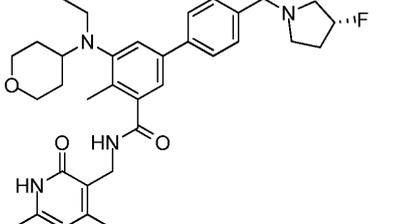
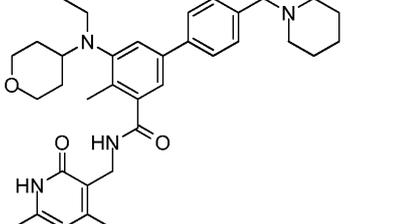
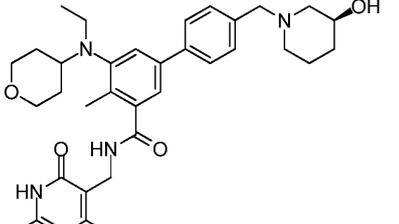
[0130]

화합물 번호	구조	MS (M+) <sup>+</sup>
63		613.35
65		531.30
66		586.40
67		585.25

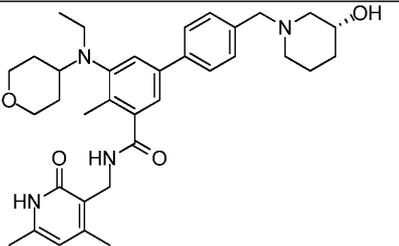
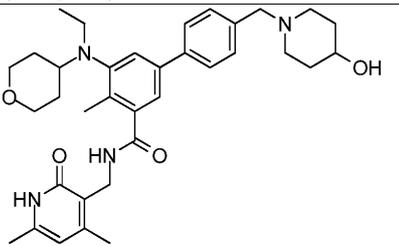
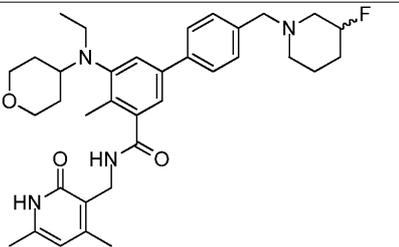
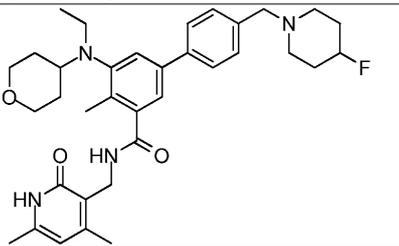
[0131]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
68		585.35
69		557.25
70		573.40
71		573.40
72		575.35

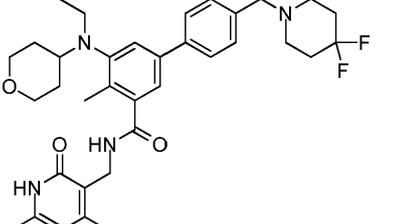
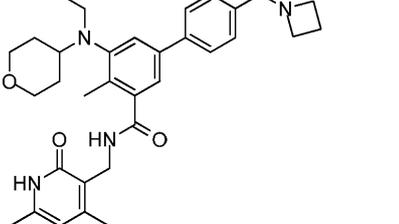
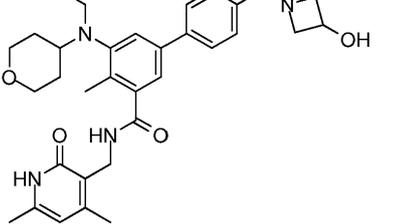
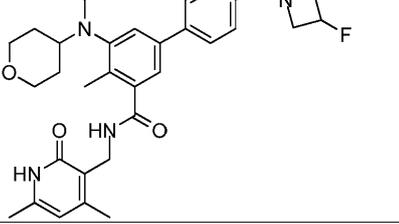
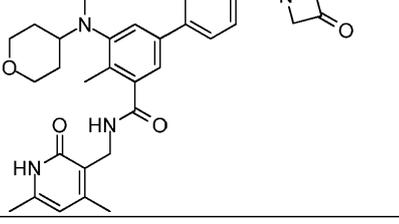
[0132]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
73		572.10
74		575.35
75		571.25
76		587.40

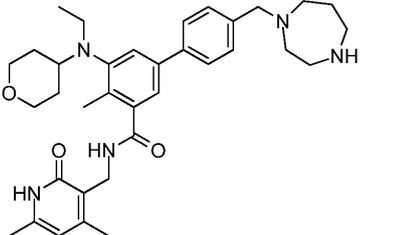
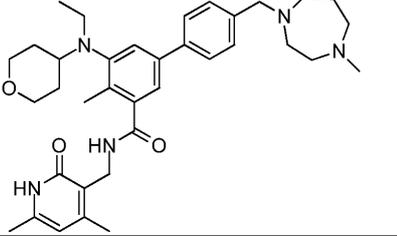
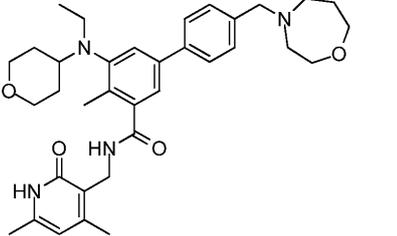
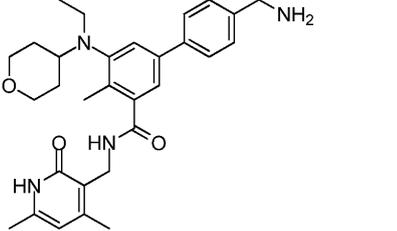
[0133]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
77		587.45
78		587.20
79		589.35
80		589.30

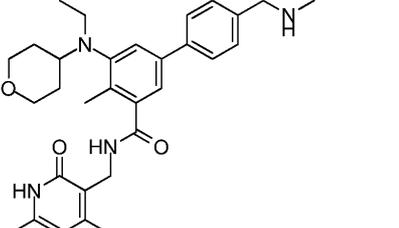
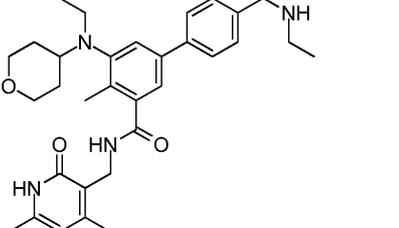
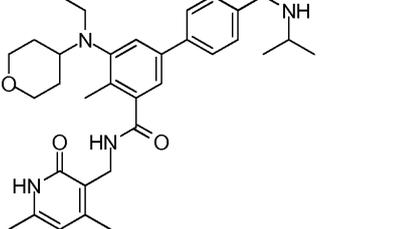
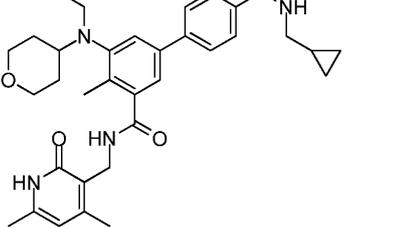
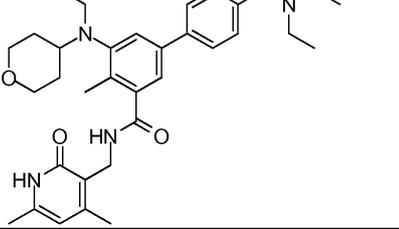
[0134]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
81		607.35
82		543.40
83		559.80
84		561.25
85		

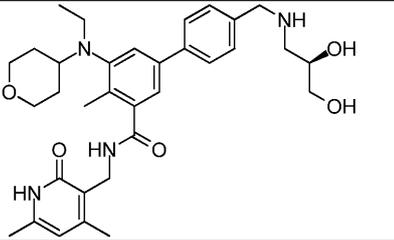
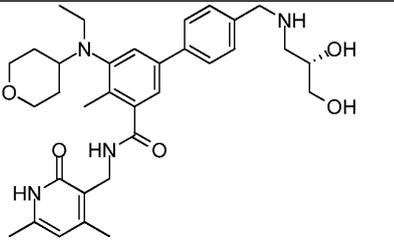
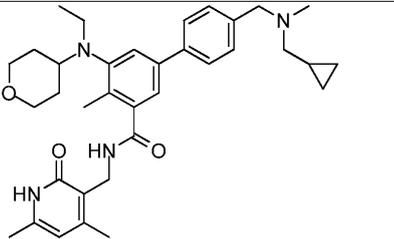
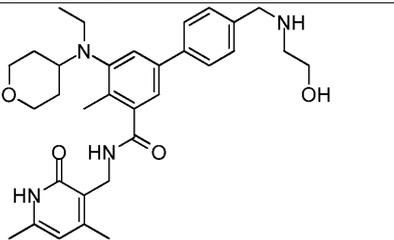
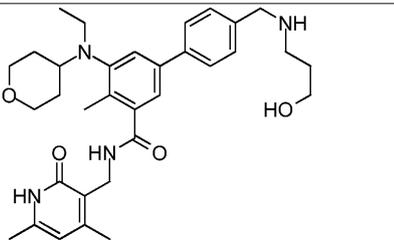
[0135]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
86		585.37
87		600.30
88		587.40
89		503.40

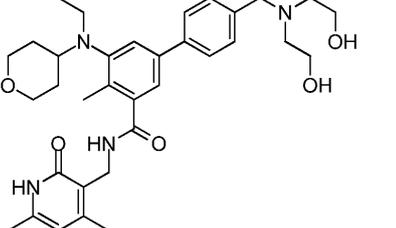
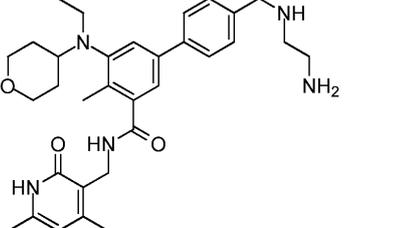
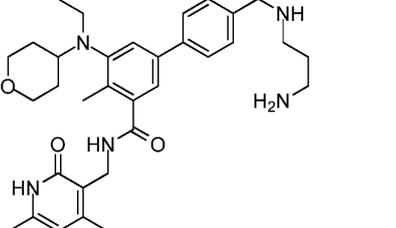
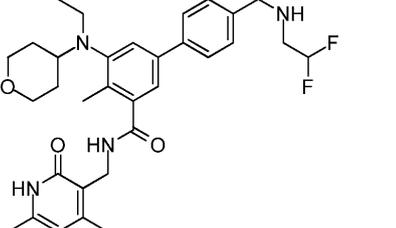
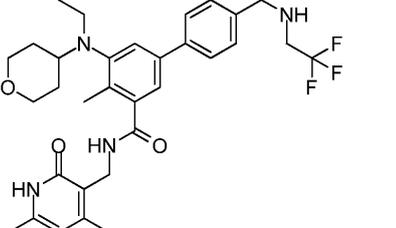
[0136]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
90		517.30
91		531.35
92		545.40
93		557.35
94		559.20

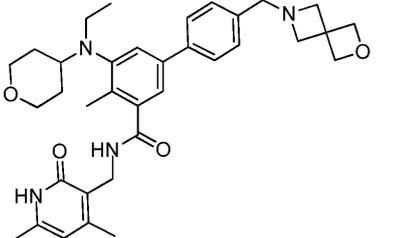
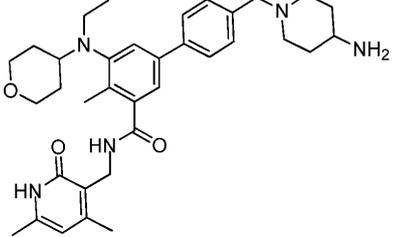
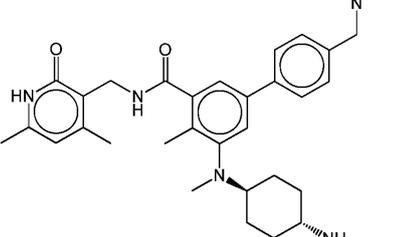
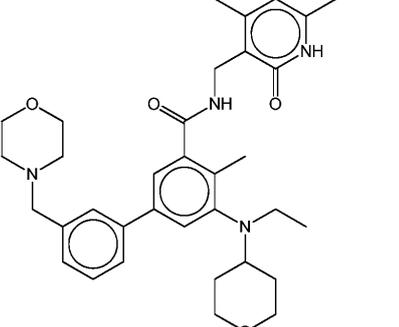
[0137]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
95		599.35 (M+Na)
96		577.25
97		571.40
98		547.35
99		561.30

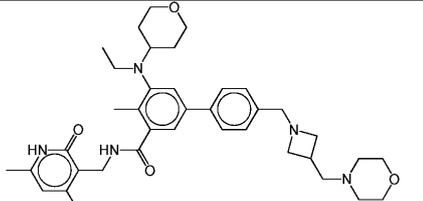
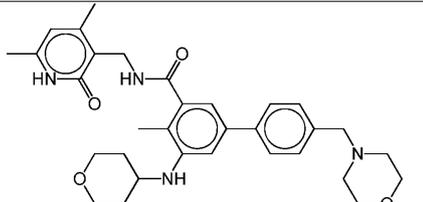
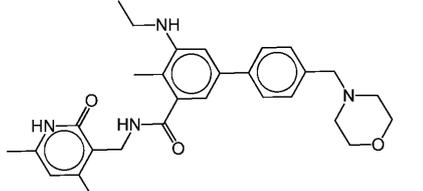
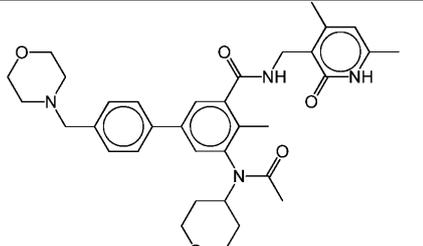
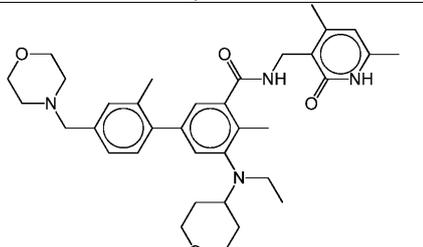
[0138]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
100		591.25
101		546.35
102		560.20
103		567.30
104		585.25

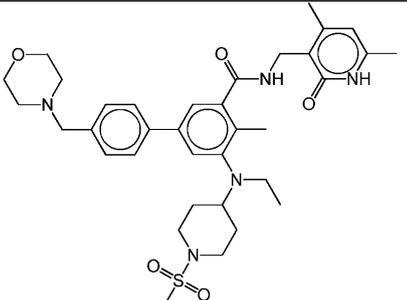
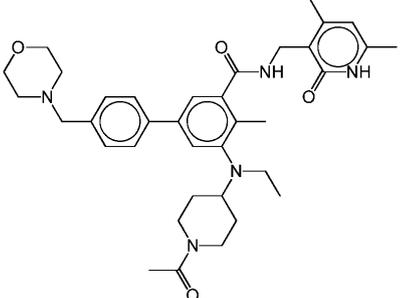
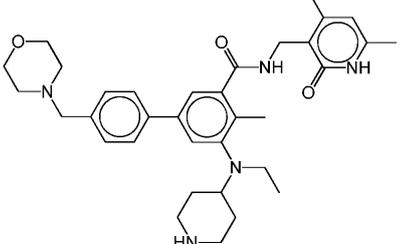
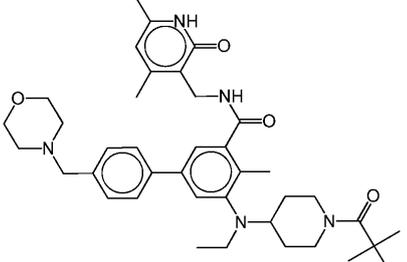
[0139]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
105		585.40
107		
108		530.35
114		573.25

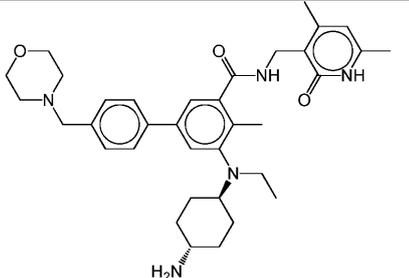
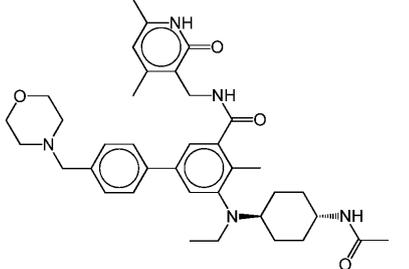
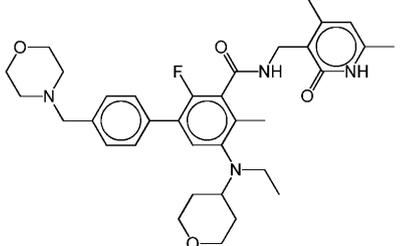
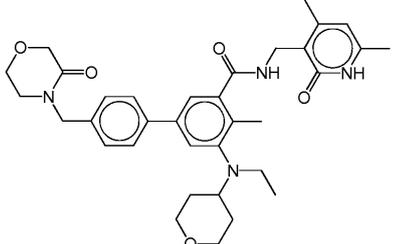
[0140]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
115		642.45
116		545.15
117		489.20
119		609.35
122		587.55

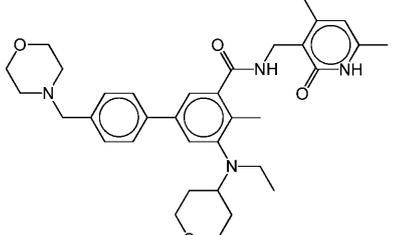
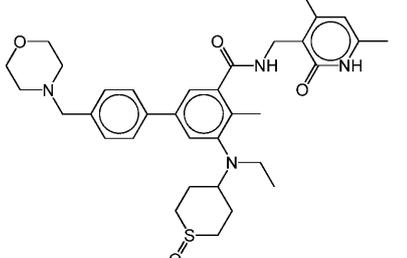
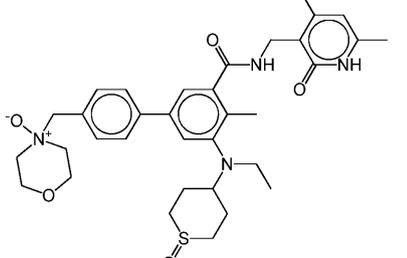
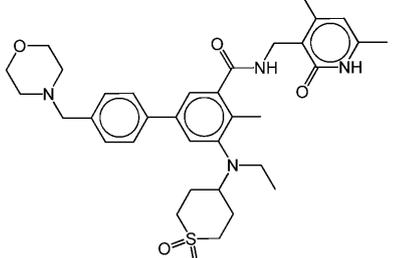
[0141]

화합물 번호	구조	MS (M+) <sup>+</sup>
124		650.85
125		614.75
126		572.35
127		656.65

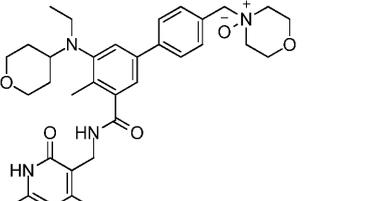
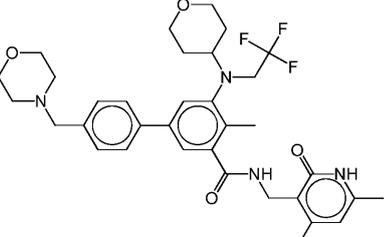
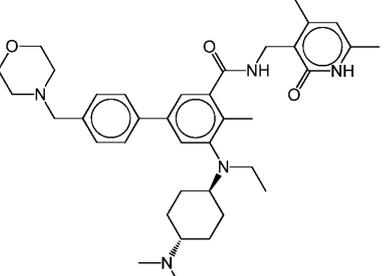
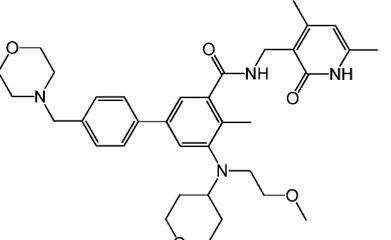
[0142]

화합물 번호	구조	MS (M+) <sup>+</sup>
128		586.45
129		628.35
130		591.2
131		587.35

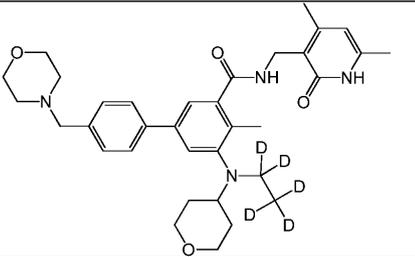
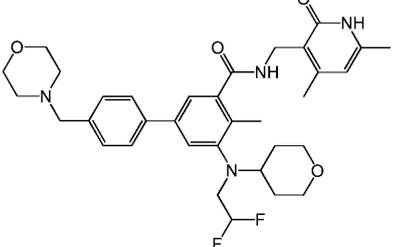
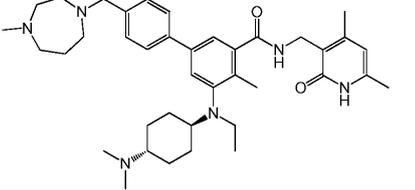
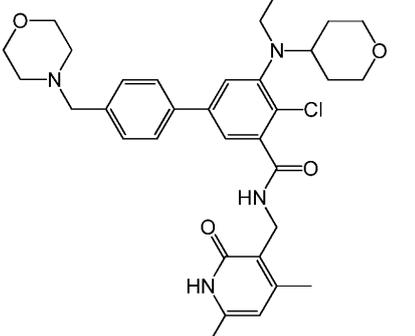
[0143]

화합물 번호	구조	MS (M+) <sup>+</sup>
132		589.25
133		605.25
135		621.40
136		621.45

[0144]

화합물 번호	구조	MS (M+) <sup>+</sup>
137		589.35
138		627.5
141		614.65
142		603.45

[0145]

화합물 번호	구조	MS (M+1) <sup>+</sup>
143		578.35
144		609.15
146		641.50
178		593.60

[0146]

[0147]

본원에서 사용되는 바, "알킬," "C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 또는 C<sub>6</sub> 알킬" 또는 "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬"이란 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 또는 C<sub>6</sub> 직쇄(선형) 포화 지방족 탄화수소 기, 및 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 또는 C<sub>6</sub> 분지쇄 포화 지방족 탄화수소 기를 포함하는 것으로 한다. 예를 들어, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬은 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 또는 C<sub>6</sub> 기를 포함하는 것으로 한다. 알킬의 예로는 1개 내지 6개의 탄소 원자를 가지는 모이어티, 예컨대, 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, s-부틸, t-부틸, n-펜틸, s-펜틸 또는 n-헥실을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0148]

특정 실시양태에서, 직쇄 또는 분지쇄 알킬은 6개 이하의 탄소 원자를 가지며(예컨대, 직쇄의 경우, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, 분지쇄의 경우, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), 또 다른 실시양태에서, 직쇄 또는 분지형 알킬은 4개 이하의 탄소 원자를 가진다.

[0149]

본원에서 사용되는 바, "사이클로알킬"이라는 용어는 3개 내지 30개의 탄소 원자(예컨대, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>)를 가지는 포화 또는 불포화 비방향족 탄화수소 단일고리 또는 다중고리(예컨대, 융합된, 가교된 또는 스피로 고리) 시스템을 의미한다. 사이클로알킬의 예로는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 사이클로헨테닐, 사이클로헥세닐, 사이클로헵테닐, 및 아다만틸을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. "헤테로사이클로알킬"이라는 용어는 달리 명시되지 않는 한, 하나 이상의 헤테로원자(예컨대, O, N, S 또는 Se)를 가지는 포화 또는 불포화 비방향족 3-8원 모노사이클릭, 7-12원 비사이클릭(융합된, 가교된, 또는 스피로 고리), 또는 11-14원 트리사이클릭 고리 시스템(융합된, 가교된, 또는 스피로 고리)을 의미한다. 헤테로사이클로알킬 기의 예로는 피페리디닐, 피페라지닐, 피롤리디닐, 디옥사닐, 테트라하이드로푸라닐, 이소인돌리닐, 인

돌리닐, 이미다졸리디닐, 피라졸리디닐, 옥사졸리디닐, 이속사졸리디닐, 트리아졸리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 옥시라닐, 아제티디닐, 옥세타닐, 티에타닐, 1,2,3,6-테트라하이드로피리디닐, 테트라하이드로피라닐, 디하이드로피라닐, 피라닐, 모르폴리닐, 1,4-디아제파닐, 1,4-옥사제파닐, 2-옥사-5-아자비사이클로[2.2.1]헵타닐, 2,5-디아자비사이클로[2.2.1]헵타닐, 2-옥사-6-아자스피로[3.3]헵타닐, 2,6-디아자스피로[3.3]헵타닐, 1,4-디옥사-8-아자스피로[4.5]데카닐 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0150] "임의적으로 치환된 알킬"이라는 용어는 비치환된 알킬, 또는 탄화수소 골격의 하나 이상의 탄소 상의 하나 이상의 수소 원자를 치환시키는 지정된 치환기를 가지는 알킬을 의미한다. 상기 치환기로는 예를 들어, 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로젠, 하이드록실, 알킬카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 알콕시카보닐옥시, 아릴옥시카보닐옥시, 카복실레이트, 알킬카보닐, 아릴카보닐, 알콕시카보닐, 아미노카보닐, 알킬아미노카보닐, 디알킬아미노카보닐, 알킬티오카보닐, 알콕실, 포스페이트, 포스포네이트, 포스포네이트, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 포함), 아미디노, 이미노, 술프하이드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카복실레이트, 술페이트, 알킬술피닐, 술포네이트, 술포모일, 술포아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 아지도, 헤테로사이클릴, 알킬아릴, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티를 포함할 수 있다.

[0151] "아릴알킬" 또는 "아르알킬" 모이어티는 아릴(예컨대, 페닐메틸(벤질))로 치환된 알킬이다. "알킬아릴" 모이어티는 알킬(예컨대, 메틸페닐)로 치환된 아릴이다.

[0152] 본원에서 사용되는 바, "알킬 링커"는 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 또는 C<sub>6</sub> 직쇄(선형) 포화된 2가 지방족 탄화수소 기 및 C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 또는 C<sub>6</sub> 분지형 포화된 지방족 탄화수소 기를 포함하는 것으로 한다. 예를 들어, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬 링커는 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> 또는 C<sub>6</sub> 알킬 링커기를 포함하는 것으로 한다. 알킬 링커의 예로는 1개 내지 6개의 탄소 원자를 가지는 모이어티, 메틸(-CH<sub>2</sub>-), 에틸(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), n-프로필(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), i-프로필(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-), n-부틸(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), s-부틸(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), i-부틸(-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), n-펜틸(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), s-펜틸(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) 또는 n-헥실(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0153] "알케닐"은 상기 기술된 알킬과 길이 및 가능한 치환 면에서 유사하나, 하나 이상의 이중 결합을 함유하는 불포화 지방족 기를 포함한다. 예를 들어, "알케닐"이라는 용어는 직쇄 알케닐 기(예컨대, 에테닐, 프로페닐, 부테닐, 펜테닐, 헥세닐, 헵테닐, 옥테닐, 노네닐, 데세닐), 및 분지형 알케닐 기를 포함한다. 특정 실시양태에서, 직쇄 또는 분지형 알케닐 기는 그의 골격에서 6개 이하의 탄소 원자를 가진다(예컨대, 직쇄의 경우, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, 분지쇄의 경우, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). "C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>"이라는 용어는 2 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 알케닐 기를 포함한다. "C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>"이라는 용어는 3 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 알케닐 기를 포함한다.

[0154] "임의적으로 치환된 알케닐"이라는 용어는 비치환된 알케닐, 또는 하나 이상의 탄화수소 골격 탄소 원자 상의 하나 이상의 수소 원자를 치환시키는 지정된 치환기를 가지는 알케닐을 의미한다. 상기 치환기로는 예를 들어, 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로젠, 하이드록실, 알킬카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 알콕시카보닐옥시, 아릴옥시카보닐옥시, 카복실레이트, 알킬카보닐, 아릴카보닐, 알콕시카보닐, 아미노카보닐, 알킬아미노카보닐, 디알킬아미노카보닐, 알킬티오카보닐, 알콕실, 포스페이트, 포스포네이트, 포스포네이트, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 포함), 아미디노, 이미노, 술프하이드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카복실레이트, 술페이트, 알킬술피닐, 술포네이트, 술포모일, 술포아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 헤테로사이클릴, 알킬아릴, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티를 포함할 수 있다.

[0155] "알키닐"은 상기 기술된 알킬과 길이 및 가능한 치환 면에서 유사하나, 하나 이상의 삼중 결합을 함유하는 불포화 지방족 기를 포함한다. 예를 들어, 예를 들어, "알키닐"은 직쇄 알키닐 기(예컨대, 에티닐, 프로피닐, 부티닐, 펜티닐, 헥시닐, 헵티닐, 옥티닐, 노니닐, 데시닐), 및 분지형 알키닐 기를 포함한다. 특정 실시양태에서, 직쇄 또는 분지형 알키닐 기는 그의 골격에서 6개 이하의 탄소 원자를 가진다(예컨대, 직쇄의 경우, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, 분지쇄의 경우, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). "C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>"이라는 용어는 2 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 알키닐 기를 포함한다. "C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>"이라는 용어는 3 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 알키닐 기를 포함한다.

[0156] "임의적으로 치환된 알키닐"이라는 용어는 비치환된 알키닐, 또는 하나 이상의 탄화수소 골격 탄소 원자 상의 하나 이상의 수소 원자를 치환시키는 지정된 치환기를 가지는 알키닐을 의미한다. 상기 치환기로는 예를 들어,

알킬, 알케닐, 알키닐, 할로젠, 하이드록실, 알킬카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 알콕시카보닐옥시, 아릴옥시카보닐옥시, 카복실레이트, 알킬카보닐, 아릴카보닐, 알콕시카보닐, 아미노카보닐, 알킬아미노카보닐, 디알킬아미노카보닐, 알킬티오카보닐, 알콕실, 포스페이트, 포스포네이트, 포스포네이트, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 포함), 아미디노, 이미노, 술폰하이드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카복실레이트, 술페이트, 알킬술폰피닐, 술폰네이트, 술폰모일, 술폰아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 아지도, 헤테로사이클릴, 알킬아릴, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티를 포함할 수 있다.

[0157] 다른 임의적으로 치환된 모이어티(예컨대, 임의적으로 치환된 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴)는 비치환된 모이어티, 및 하나 이상의 지정된 치환기를 가지는 모이어티 둘 모두를 포함한다. 예를 들어, 치환된 헤테로사이클로알킬은 하나 이상의 알킬 기, 예컨대, 2,2,6,6-테트라메틸-피페리디닐 및 2,2,6,6-테트라메틸-1,2,3,6-테트라하이드로피리디닐로 치환된 것을 포함한다.

[0158] "아릴"은 "컨쥬게이트된" 것을 비롯한, 방향성을 가지는 기, 또는 1 이상의 방향족 고리를 가지는 멀티사이클릭 시스템을 포함하고, 고리 구조에 임의의 헤테로원자를 함유하지 않는다. 예로는 페닐, 벤질, 1,2,3,4-테트라하이드로나프탈레닐 등을 포함한다.

[0159] "헤테로아릴" 기는 고리 구조에서 1 내지 4개의 헤테로원자를 가지는 것을 제외하면, 상기 정의된 바와 같은 아릴 기이고, 이는 "아릴 헤테로사이클" 또는 "헤테로방향족"으로서도 지칭될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "헤테로아릴"이라는 용어는 탄소 원자, 및 질소, 산소 및 황으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 헤테로원자, 예컨대, 1 또는 1-2 또는 1-3 또는 1-4 또는 1-5 또는 1-6개의 헤테로원자, 또는 예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 헤테로원자로 구성된 안정한 5, 6, 또는 7원 모노사이클릭 또는 7, 8, 9, 10, 11 또는 12원 비사이클릭 방향족 헤테로사이클릭 고리를 포함하는 것으로 한다. 질소 원자는 치환될 수 있거나, 비치환될 수 있다(즉, N 또는 NR, 여기서, R은 H 또는 상기 정의된 바와 같은 다른 치환기이다). 질소 및 황 헤테로원자는 임의적으로 산화될 수 있다(즉, N→O 및 S(O)<sub>p</sub>, 여기서, p = 1 또는 2). 방향족 헤테로사이클에서 S 및 O 원자의 총 개수는 1을 초과하지 않는다는 것을 인식하여야 한다.

[0160] 헤테로아릴 기의 예로는 피롤, 푸란, 티오펜, 티아졸, 이소티아졸, 이미다졸, 트리아졸, 테트라졸, 피라졸, 옥사졸, 이속사졸, 피리딘, 피라진, 피리다진, 피리미딘 등을 포함한다.

[0161] 추가로, "아릴" 및 "헤테로아릴"이라는 용어는 멀티사이클릭 아릴 및 헤테로아릴 기, 예컨대, 트리사이클릭, 비사이클릭, 예컨대, 나프탈렌, 벤즈옥사졸, 벤조디옥사졸, 벤조티아졸, 벤조이미다졸, 벤조티오펜, 메틸렌디옥시페닐, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 나프티리딘, 인돌, 벤조푸란, 퓨린, 벤조푸란, 데아자퓨린, 인돌리진을 포함한다.

[0162] 멀티사이클릭 방향족 고리인 경우, 모든 고리들이 방향족일 수 있지만(예컨대, 퀴놀린), 고리들 중 단 하나만은 방향족이어야 한다(예컨대, 2,3-디하이드로인돌). 제2 고리 또한 융합될 수 있거나 가교될 수 있다.

[0163] 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴 고리는 하나 이상의 고리 위치(예컨대, 고리 형성 탄소 또는 헤테로원자, 예컨대, N)에서 상기 기술된 치환기, 예를 들어, 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로젠, 하이드록실, 알콕시, 알킬카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 알콕시카보닐옥시, 아릴옥시카보닐옥시, 카복실레이트, 알킬카보닐, 알킬아미노카보닐, 아르알킬아미노카보닐, 알케닐아미노카보닐, 알킬카보닐, 아릴카보닐, 아르알킬카보닐, 알케닐카보닐, 알콕시카보닐, 아미노카보닐, 알킬티오카보닐, 포스페이트, 포스포네이트, 포스포네이트, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 포함), 아미디노, 이미노, 술폰하이드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카복실레이트, 술페이트, 알킬술폰피닐, 술폰네이트, 술폰모일, 술폰아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 아지도, 헤테로사이클릴, 알킬아릴, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티로 치환될 수 있다. 아릴 및 헤테로아릴 기는 또한 방향족이 아닌 알리사이클릭 또는 헤테로사이클릭 고리와 융합 또는 가교됨으로써 멀티사이클릭 시스템(예컨대, 테트라린, 메틸렌디옥시페닐)을 형성할 수 있다.

[0164] 본원에서 사용되는 바, "카보사이클" 또는 "카보사이클릭 고리"는 명시된 개수의 탄소를 포함하는 임의의 안정한 모노사이클릭, 비사이클릭 또는 트리사이클릭 고리를 포함하는 것으로 하며, 이중 임의의 것은 포화된, 불포화된, 또는 방향족인 것일 수 있다. 카보사이클은 사이클로알킬 및 아릴을 포함한다. 예를 들어, C<sub>3</sub>-C<sub>14</sub> 카보사이클은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 또는 14개의 탄소 원자를 가지는 모노사이클릭, 비사이클릭 또는 트리사이클릭 고리를 포함하는 것으로 한다. 카보사이클의 예로는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로부텐, 사이클로펜틸, 사이클로펜텐, 사이클로헥실, 사이클로헥테닐, 사이클로헥틸, 사이클로헥테닐, 아다만틸,

사이클로옥틸, 사이클로옥테닐, 사이클로옥타디에닐, 플루오레닐, 페닐, 나프틸, 인다닐, 아다만틸 및 테트라하이드로나프틸을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 가교된 고리, 예를 들어, [3.3.0]비사이클로옥탄, [4.3.0]비사이클로노난, [4.4.0]비사이클로데칸 및 [2.2.2]비사이클로옥탄 또한 카보사이클 정의에 포함된다. 가교된 고리는 하나 이상의 탄소 원자가 2개의 비인접 탄소 원자를 연결할 때 발생된다. 한 실시양태에서, 가교 고리는 1 또는 2개의 탄소 원자이다. 가교는 항상 모노사이클릭 고리를 트리사이클릭 고리로 전환시킨다는 것으로 이해된다. 고리가 가교된 경우, 이 고리에 대해 언급되는 치환기는 가교 상에 존재할 수도 있다. 융합된(예컨대, 나프틸, 테트라하이드로나프틸) 및 스피로 고리 또한 포함된다.

[0165] 본원에서 사용되는 바, "헤테로사이클" 또는 "헤테로사이클릭 기"는 1개 이상의 고리 헤테로원자(예컨대, N, O 또는 S)를 함유하는 임의의 고리 구조(포화된, 불포화된 또는 방향족)를 포함한다. 헤테로사이클은 헤테로사이클로알킬 및 헤테로아릴을 포함한다. 헤테로사이클의 예로는 모르폴린, 피롤리딘, 테트라하이드로티오펜, 피페리딘, 피페라진, 옥세탄, 피란, 테트라하이드로피란, 아제티딘, 및 테트라하이드로푸란을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0166] 헤테로사이클릭 기의 예로는 아크리디닐, 아족시닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 벤조티오프라닐, 벤조티오펜닐, 벤족사졸릴, 벤족사졸리닐, 벤즈티아졸릴, 벤즈트리아졸릴, 벤즈테트라졸릴, 벤즈이속사졸릴, 벤즈이소티아졸릴, 벤즈이미다졸리닐, 카바졸릴, 4*H*-카바졸릴, 카볼리닐, 크로마닐, 크로메닐, 신놀리닐, 데카하이드로퀴놀리닐, 2*H*,6*H*-1,5,2-디티아지닐, 디하이드로프로[2,3-*b*]테트라하이드로푸란, 푸라닐, 푸라자닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 이미다졸릴, 1*H*-인다졸릴, 인돌레닐, 인돌리닐, 인돌리지닐, 인돌릴, 3*H*-인돌릴, 이사티노일, 이소벤조푸라닐, 이소크로마닐, 이소인다졸릴, 이소인돌리닐, 이소인돌릴, 이소퀴놀리닐, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 메틸렌디옥시페닐, 모르폴리닐, 나프티리디닐, 옥타하이드로이소퀴놀리닐, 옥사디아졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,2,5-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸5(4*H*)-온, 옥사졸리디닐, 옥사졸릴, 옥스인돌릴, 피리미디닐, 페난트리디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사티닐, 페녹사지닐, 프탈라지닐, 피페라지닐, 피페리디닐, 피페리도닐, 4-피페리도닐, 피페로닐, 프테리디닐, 푸리닐, 피라닐, 피라지닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피라졸릴, 피리다지닐, 피리도옥사졸, 피리도이미다졸, 피리도티아졸, 피리디닐, 피리딜, 피리미디닐, 피롤리디닐, 피롤리닐, 2*H*-피롤릴, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 4*H*-퀴놀리지닐, 퀴녹살리닐, 퀴누클리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라졸릴, 6*H*-1,2,5-티아디아지닐, 1,2,3-티아디아졸릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 1,2,5-티아디아졸릴, 1,3,4-티아디아졸릴, 티안트레닐, 티아졸릴, 티에닐, 티에노티아졸릴, 티에노옥사졸릴, 티에노이미다졸릴, 티오펜닐, 트리아지닐, 1,2,3-트리아졸릴, 1,2,4-트리아졸릴, 1,2,5-트리아졸릴, 1,3,4-트리아졸릴 및 크산테닐을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0167] 본원에서 사용되는 바, "치환된"이라는 용어는 지정된 원자 상의 임의의 하나 이상의 수소 원자가 명시된 기들로부터 선택된 기로 치환되되, 단, 상기 지정된 원자의 정상 원자가가 초과되지 않고, 치환을 통해 안정한 화합물이 생성되는 것을 의미한다. 치환기가 옥소 또는 케토(즉, =O)인 경우, 원자 상의 2개의 수소 원자가 치환된다. 케토 치환기는 방향족 모이어티 상에 존재하지 않는다. 본원에서 사용되는 바, 고리 이중 결합은 2개의 인접한 고리 원자들 사이에 형성된 이중 결합(예컨대, C=C, C=N 또는 N=N)이다. "안정한 화합물" 및 "안정한 구조"는 유용한 순도까지 반응 혼합물로부터 단리하고 효과적인 치료제로 제제화하는 과정에서 살아남을 정도로 충분히 강력한 화합물을 나타는 것이다.

[0168] 치환기와 결합이 고리 내의 2개의 원자들을 연결하는 결합과 교차하는 것으로 표시되어 있는 경우, 이때 상기 치환기는 고리 내의 임의의 원자에 결합될 수 있다. 치환기를 주어진 화학식의 화합물의 나머지에 결합시키는 원자를 표시하지 않으면서 상기 치환기가 나열되어 있는 경우, 상기 치환기는 상기 화학식에서 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. 치환기 및/또는 가변기(variable)의 조합은 안정한 화합물을 발생시키는 경우에만 상기 조합이 허용된다.

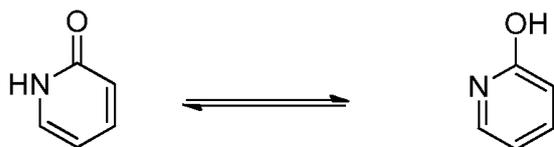
[0169] 임의의 가변기(예컨대, R<sub>1</sub>)가 화합물에 대한 임의의 구성 성분 또는 화학식에서 1회 초과 빈도로 존재하는 경우, 각각의 존재에서 그의 정의는 모든 다른 존재에서의 그의 정의와 무관하다. 따라서, 예를 들어, 기가 0-2개의 R<sub>1</sub> 모이어티로 치환되는 것으로 제시되어 있는 경우, 상기 기는 2개 이하의 R<sub>1</sub> 모이어티로 임의로 치환될 수 있고, 각각의 존재에서 R<sub>1</sub>은 R<sub>1</sub>의 정의로부터 독립적으로 선택된다. 또한, 치환기 및/또는 가변기의 조합이 안정한 화합물을 발생시키는 경우에만 상기 조합이 허용된다.

[0170] "하이드록시" 또는 "하이드록실"이라는 용어는 -OH 또는 -O-를 가지는 기를 포함한다.

- [0171] 본원에서 사용되는 바, "할로" 또는 "할로겐"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 의미한다. "과할로겐화된"은 일반적으로 모든 수소 원자들이 할로겐 원자로 치환되어 있는 모이어티를 의미한다. "할로알킬" 또는 "할로알콕실"이라는 용어는 하나 이상의 할로겐 원자로 치환된 알킬 또는 알콕실을 의미한다.
- [0172] "카보닐"이라는 용어는 이중 결합에 의해 산소 원자에 연결된 탄소를 함유하는 화합물 및 모이어티를 포함한다. 카보닐을 함유하는 모이어티의 예로는 알데하이드, 케톤, 카복실산, 아마이드, 에스테르, 무수물 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0173] "카복실"이라는 용어는 -COOH 또는 그의 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬 에스테르를 의미한다.
- [0174] "아실"은 아실 라디칼(R-C(O)-) 또는 카보닐 기를 함유하는 모이어티를 포함한다. "치환된 아실"은 하나 이상의 수소 원자가 예를 들어, 알킬 기, 알킬닐 기, 할로겐, 하이드록실, 알킬카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 알콕시카보닐옥시, 아릴옥시카보닐옥시, 카복실레이트, 알킬카보닐, 아릴카보닐, 알콕시카보닐, 아미노카보닐, 알킬아미노카보닐, 디알킬아미노카보닐, 알킬티오카보닐, 알콕실, 포스페이트, 포스포네이트, 포스포네이트, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 포함), 아마이드, 이미노, 술포하이드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카복실레이트, 술페이트, 알킬술피닐, 술포네이트, 술포모일, 술포아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 아지도, 헤테로사이클릴, 알킬아릴, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티에 의해 치환되어 있는 아실 기를 포함한다.
- [0175] "아로일"은 카보닐 기에 결합된 아릴 또는 헤테로방향족 모이어티를 가지는 모이어티를 포함한다. 아로일 기의 예로는 페닐카복시, 나프틸카복시 등을 포함한다.
- [0176] "알콕시알킬," "알킬아미노알킬," 및 "티오알콕시알킬"은 하나 이상의 탄화수소 골격 탄소 원자가 산소, 질소 또는 황 원자로 치환되어 있는, 상기 기술된 바와 같은 알킬 기를 포함한다.
- [0177] "알콕시" 또는 "알콕실"이라는 용어는 산소 원자에 공유 결합된 치환된 및 비치환된 알킬, 알케닐 및 알킬닐 기를 포함한다. 알콕시 기 또는 알콕실 라디칼의 예로는 메톡시, 에톡시, 이소프로필옥시, 프로폭시, 부톡시 및 펜톡시 기를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 치환된 알콕시 기의 예로는 할로겐화된 알콕시 기를 포함한다. 알콕시 기는 기, 예컨대, 알케닐, 알킬닐, 할로겐, 하이드록실, 알킬카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 알콕시카보닐옥시, 아릴옥시카보닐옥시, 카복실레이트, 알킬카보닐, 아릴카보닐, 알콕시카보닐, 아미노카보닐, 알킬아미노카보닐, 디알킬아미노카보닐, 알킬티오카보닐, 알콕시, 포스페이트, 포스포네이트, 포스포네이트, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노, 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 포함), 아마이드, 이미노, 술포하이드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카복실레이트, 술페이트, 알킬술피닐, 술포네이트, 술포모일, 술포아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 아지도, 헤테로사이클릴, 알킬아릴, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티로 치환될 수 있다. 로겐 치환된 알콕시 기의 예로는 플루오로메톡시, 디플루오로메톡시, 트리플루오로메톡시, 클로로메톡시, 디클로로메톡시 및 트리클로로메톡시를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0178] "에테르" 또는 "알콕시"라는 용어는 2개의 탄소 원자 또는 헤테로원자에 결합된 산소를 함유하는 화합물 또는 모이어티를 포함한다. 예를 들어, 상기 용어는 알킬 기에 공유 결합된 산소 원자에 공유 결합된 알킬, 알케닐 또는 알킬닐 기를 의미하는 "알콕시알킬"을 포함한다.
- [0179] "에스테르"라는 용어는 카보닐 기의 탄소에 결합된 산소 원자에 결합된 탄소 또는 헤테로원자를 함유하는 화합물 또는 모이어티를 포함한다. "에스테르"라는 용어는 알콕시카복시 기, 예컨대, 메톡시카보닐, 에톡시카보닐, 프로폭시카보닐, 부톡시카보닐, 펜톡시카보닐 등을 포함한다.
- [0180] "티오알킬"이라는 용어는 황 원자에 연결된 알킬 기를 함유하는 화합물 또는 모이어티를 포함한다. 티오알킬 기는 기, 예컨대, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 할로겐, 하이드록실, 알킬카보닐옥시, 아릴카보닐옥시, 알콕시카보닐옥시, 아릴옥시카보닐옥시, 카복실레이트, 카복시산, 알킬카보닐, 아릴카보닐, 알콕시카보닐, 아미노카보닐, 알킬아미노카보닐, 디알킬아미노카보닐, 알킬티오카보닐, 알콕실, 아미노(알킬아미노, 디알킬아미노, 아릴아미노, 디아릴아미노 및 알킬아릴아미노 포함), 아실아미노(알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 포함), 아마이드, 이미노, 술포하이드릴, 알킬티오, 아릴티오, 티오카복실레이트, 술페이트, 알킬술피닐, 술포네이트, 술포모일, 술포아미도, 니트로, 트리플루오로메틸, 시아노, 아지도, 헤테로사이클릴, 알킬아릴, 또는 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티로 치환될 수 있다.

- [0181] "티오카보닐" 또는 "티오카복시"라는 용어는 이중 결합을 통해 황 원자에 연결된 탄소를 함유하는 화합물 및 모이어티를 포함한다.
- [0182] "티오에테르"라는 2개의 탄소 원자 또는 헤테로원자에 결합된 황 원자를 함유하는 모이어티를 포함한다. 티오에테르의 예로는 알크티오알킬, 알크티오알케닐, 및 알크티오알키닐을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. "알크티오알킬"이라는 용어는 알킬 기에 결합된 황 원자에 결합된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 기를 가지는 모이어티를 포함한다. 유사하게, "알크티오알케닐"이라는 용어는 알케닐 기에 공유 결합된 황 원자에 결합된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 기를 가지는 모이어티를 의미하고; "알크티오알키닐"은 알키닐 기에 공유 결합된 황 원자에 결합된 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 기를 가지는 모이어티를 의미한다.
- [0183] 본원에서 사용되는 바, "아민" 또는 "아미노"는 비치환된 또는 치환된  $-NH_2$ 를 의미한다. "알킬아미노"는  $-NH_2$ 의 질소가 하나 이상의 알킬 기에 결합되어 있는 화합물의 기를 포함한다. 알킬아미노 기의 예로는 벤질아미노, 메틸아미노, 에틸아미노, 펜에틸아미노 등을 포함한다. "디알킬아미노"는  $-NH_2$ 의 질소가 2개 이상의 추가 알킬 기에 결합되어 있는 기를 포함한다. 디알킬아미노 기의 예로는 디메틸아미노 및 디에틸아미노를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. "아릴아미노" 및 "디아릴아미노"는 질소가 각각 1 또는 2개 이상의 아릴 기에 결합되어 있는 기를 포함한다. "아미노아릴" 및 "아미노아릴옥시"는 아미노로 치환된 아릴 및 아릴옥시를 의미한다. "알킬아릴아미노," "알킬아미노아릴" 또는 "아릴아미노알킬"은 1개 이상의 알킬 기 및 1개 이상의 아릴 기에 결합된 아미노 기를 의미한다. "알크아미노알킬"은 또한 알킬 기에 결합된 질소 원자에 결합된 알킬, 알케닐 또는 알키닐 기를 의미한다. "아실아미노"는 질소가 아실 기에 결합되어 있는 기를 포함한다. 아실아미노의 예로는 알킬카보닐아미노, 아릴카보닐아미노, 카바모일 및 우레이도 기를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0184] "아미드" 또는 "아미노카복시"라는 용어는 카보닐 또는 티오카보닐 기의 탄소에 결합된 질소 원자를 함유하는 화합물 또는 모이어티를 포함한다. 상기 용어는 카보닐 또는 티오카보닐 기의 탄소에 결합된 아미노 기에 결합된 알킬, 알케닐 또는 알키닐 기를 포함하는 "알크아미노카복시" 기를 포함한다. 또한, 상기 용어는 카보닐 또는 티오카보닐 기의 탄소에 결합된 아미노 기에 결합된 아릴 또는 헤테로아릴 모이어티를 포함하는 "아릴아미노카복시" 기를 포함한다. 용어 "알킬아미노카복시," "알케닐아미노카복시," "알키닐아미노카복시" 및 "아릴아미노카복시"는 알킬, 알케닐, 알키닐 및 아릴 모이어티 각각이 카보닐 기의 탄소에 결합된 질소 원자에 결합되어 있는 모이어티를 포함한다. 아미드는 치환기, 예컨대, 직쇄 알킬, 분지형 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로아릴 또는 헤테로사이클로 치환될 수 있다. 아미드 기 상의 치환기는 추가로 치환될 수 있다.
- [0185] 질소를 함유하는 본 발명의 화합물은 산화제(예컨대, 3-클로로퍼옥시벤조산(*m*CPBA) 및/또는 과산화수소)를 사용한 처리에 의해 N 옥시드로 전환되어 본 발명의 다른 화합물을 제공할 수 있다. 따라서, 원자가 및 구조에 의해 허용되는 경우, 제시되고 청구된 모든 질소 함유 화합물들은 제시된 화합물 및 그의 N 옥시드 유도체( $N \rightarrow O$  또는  $N^+-O^-$ 로서 표시될 수 있다) 둘 모두를 포함하는 것으로 간주된다. 추가로, 다른 경우, 본 발명의 화합물에서 질소는 N 하이드록시 또는 N 알콕시 화합물로 전환될 수 있다. 예를 들어, N 하이드록시 화합물은 산화제, 예컨대, *m*-CPBA에 의한 모체 아민의 산화에 의해 제조될 수 있다. 또한, 원자가 및 구조에 의해 허용되는 경우, 제시되고 청구된 모든 질소 함유 화합물은 제시된 화합물 및 그의 N 하이드록시(즉, N-OH) 및 N 알콕시(즉, N-OR, 여기서, R은 치환된 또는 비치환된  $C_1-C_6$  알킬,  $C_1-C_6$  알케닐,  $C_1-C_6$  알키닐, 3 내지 14원 카보사이클 또는 3 내지 14원 헤테로사이클) 유도체 둘 모두를 포함하는 것으로 간주된다.
- [0186] 본 명세서에서, 화합물의 구조식은 몇몇 경우 편의를 위해 일부 이성질체를 나타내지만, 본 발명은 모든 이성질체들, 예컨대, 기하이성질체, 비대칭 탄소에 기초한 광학이성질체, 입체이성질체, 호변이성질체 등을 포함하고, 모든 이성질체들이 동일한 수준의 활성을 갖지 않을 수 있다는 것이 이해된다. 추가로, 화학식으로 표시된 화합물에 대한 결정 다형성이 존재할 수 있다. 임의의 결정 형태, 결정 형태 혼합물, 또는 이들의 무수물 또는 수화물이 본 발명의 범위 내에 포함된다는 것이 인식된다. 추가로, 본 발명의 화합물의 생체내 분해에 의해 생성되는 소위 대사산물이 본 발명의 범위 내에 포함된다.
- [0187] "이성질체화"는 동일한 분자식을 갖지만, 그들의 원자의 결합 순서 또는 공간에서의 그들의 원자의 배열에서 상이한 화합물들을 의미한다. 공간에서의 그들의 원자의 배열에서 상이한 이성질체는 "입체이성질체"로 명명된다. 서로의 거울상이 아닌 입체이성질체는 "부분입체이성질체"로 명명되고, 서로의 중첩불가능한 거울상인 입체이성질체는 "거울상이성질체" 또는 종종 광학이성질체로 명명된다. 반대 키랄성의 개별 거울상이성질체 형태들을 동등한 양으로 함유하는 혼합물은 "라세미체 혼합물"로 명명된다.

- [0188] 4개의 동일하지 않은 치환기들에 결합된 탄소 원자는 "키랄 중심"으로 명명된다.
- [0189] "키랄 이성질체"는 하나 이상의 키랄 중심을 가지는 화합물을 의미한다. 하나 초과인 키랄 중심을 가지는 화합물은 개별 부분입체이성질체로서 존재할 수 있거나 "부분입체이성질체 혼합물"로 명명된 부분입체이성질체의 혼합물로서 존재할 수 있다. 1개의 키랄 중심이 존재하는 경우, 입체이성질체는 그 키랄 중심의 절대 배위(R 또는 S)를 특징으로 할 수 있다. 절대 배위는 키랄 중심에 부착된 치환기들의 공간에서의 배열을 의미한다. 고려되는 키랄 중심에 부착된 치환기들은 칸-인골드-프렐로그의 순서 규칙(*Sequence Rule of Cahn, Ingold and Prelog*)에 따라 등급이 매겨진다(문헌 [Cahn et al., *Angew. Chem. Inter. Edit.* 1966, 5, 385; errata 511]; [Cahn et al., *Angew. Chem.* 1966, 78, 413]; [Cahn and Ingold, *J. Chem. Soc.* 1951 (London), 612]; [Cahn et al., *Experientia* 1956, 12, 81]; [Cahn, *J. Chem. Educ.* 1964, 41, 116]).
- [0190] "기하이성질체"는 이중 결합 또는 사이클로알킬 연결기(예컨대, 1,3-사이클로부틸) 주위의 방해된 회전으로 인해 존재하는 부분입체이성질체를 의미한다. 이들 배위들은 기가 칸-인골드-프렐로그 규칙에 따라 분자에서 이중 결합의 동일 또는 반대 면 상에 존재한다는 것을 표시하는 접두사 시스 및 트랜스, 또는 Z 및 E에 의해 그들의 명칭에서 구별된다.
- [0191] 본 발명의 화합물은 상이한 키랄 이성질체 또는 기하이성질체로서 표시될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 화합물이 키랄 이성질체 또는 기하이성질체 형태를 가지는 경우, 모든 이성질체 형태들이 본 발명의 범위 내에 포함되고, 화합물의 명명이 임의의 이성질체 형태를 배제하지 않는다는 것도 이해되어야 하고, 모든 이성질체들이 동일한 수준의 활성을 갖지 않을 수 있다는 것이 이해되어야 한다.
- [0192] 추가로, 본 발명에서 논의된 구조 및 다른 화합물은 그의 모든 아트로픽(atropic) 이성질체를 포함하고, 모든 아트로픽 이성질체들이 동일한 수준의 활성을 갖지 않을 수 있다는 것이 이해되어야 한다. "아트로픽 이성질체"는 2종의 이성질체들의 원자들이 공간에서 상이하게 배열되어 있는 입체이성질체의 한 유형이다. 아트로픽 이성질체는 중심 결합 주위의 큰 기의 회전 방해에 의해 야기된 제한된 회전으로 인해 존재한다. 상기 아트로픽 이성질체는 전형적으로 혼합물로서 존재하지만, 크로마토그래피 기법의 최근 진보의 결과로서, 선택 경우에서 2종의 아트로픽 이성질체들의 혼합물을 분리하는 것이 가능하게 되었다.
- [0193] "호변이성질체"는 평형 상태에서 존재하고 한 이성질체 형태로부터 또 다른 이성질체 형태로 용이하게 전환되는 2종 이상의 구조이성질체들 중 하나이다. 이 전환은 인접 권유계이트된 이중 결합의 전환을 수반하는 수소 원자의 형식적 이동을 초래한다. 호변이성질체는 용액 중의 호변이성질체 세트의 혼합물로서 존재한다. 호변이성질체화가 가능한 용액에서, 호변이성질체의 화학 평형이 도달될 것이다. 호변이성질체의 정확한 비는 온도, 용매 및 pH를 포함하는 여러 인자들에 의존한다. 호변이성질체화에 의해 상호전환될 수 있는 호변이성질체의 개념은 호변이성질체로서 지칭된다.
- [0194] 가능한 호변이성질체의 다양한 유형들 중에서 2 유형이 통상적으로 관찰된다. 케토-에놀 호변이성질체화에서, 전자 및 수소 원자의 동시적인 이동이 발생한다. 고리 쉐 호변이성질체화는 당 쉐 분자의 알데하이드 기(-CHO)가 동일한 분자의 하이드록시 기(-OH)들 중 하나와 반응하여 글루코스에 의해 나타나는 사이클릭(고리형) 형태를 제공하는 결과로서 발생한다.
- [0195] 통상의 호변이성질체 쌍은 다음과 같다: 케톤-에놀, 아마이드-니트릴, 락탐-락탐, 헤테로사이클릭 고리(예컨대, 뉴클레옴기, 예컨대, 구아닌, 티민 및 사이토신)에서의 아마이드-이미드산 호변이성질체화, 이민-엔아민 및 엔아민-엔아민. 케토-에놀 평형의 한 예는 하기 나타낸 바와 같은 피리딘-2(1H)-온과 상응하는 피리딘-2-올 사이의 평형이다.



피리딘-2(1H)-온

피리딘-2-올

- [0196]
- [0197] 본 발명의 화합물이 상이한 호변이성질체로서 표시될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 화합물이 호변이성질체 형태를 가지는 경우, 모든 호변이성질체 형태들이 본 발명의 범위 내에 포함되고, 화합물의 명명이 임의의 호변

이성질체 형태를 배제하지 않는다는 것도 이해되어야 한다. 일부 호변이성질체들은 다른 호변이성질체들보다 더 높은 수준의 활성을 가질 수 있다는 것이 이해될 것이다.

- [0198] 용어 "결정 다형체," "다형체" 또는 "결정 형태"는 화합물(또는 그의 염 또는 용매화물)이 상이할 결정 팩킹 배열들(이들 모두 동일한 원소 조성을 가진다)로 결정화할 수 있는 결정 구조를 의미한다. 상이한 결정 형태들은 통상적으로 상이한 X선 회절 패턴, 적외선 스펙트럼, 융점, 밀도 경도, 결정 형태, 광학적 및 전기적 성질, 안정성 및 가용성을 가진다. 재결정화 용매, 결정화 속도, 저장 온도 및 다른 인자들은 한 결정 형태가 우세하게 할 수 있다. 화합물의 결정 다형체는 상이한 조건하에 결정화에 의해 제조될 수 있다.
- [0199] 본원에 개시된 화학식 IIa의 화합물은 화합물들 자체뿐만 아니라, 적용가능한 경우, 그의 염, 그의 에스테르, 그의 용매화물, 및 그의 프로드럭을 포함한다. 예를 들어, 염은 아릴 또는 헤테로아릴 치환된 벤젠 화합물 상의 음이온과 양으로 하전된 기(예컨대, 아미노) 사이에 형성될 수 있다. 적합한 음이온은 클로라이드, 브로미드, 요오다이드, 술페이트, 비술페이트, 술포메이트, 니트레이트, 포스페이트, 시트레이트, 메탄술포네이트, 트리플루오로아세테이트, 글루타메이트, 글루쿠로네이트, 글루타레이트, 말레이트, 말레에이트, 숙시네이트, 푸마레이트, 타르트레이트, 토실레이트, 살리실레이트, 락테이트, 나프탈렌술포네이트 및 아세테이트(예컨대, 트리플루오로아세테이트)를 포함한다. "약학적으로 허용가능한 음이온"이라는 용어는 약학적으로 허용가능한 염을 형성하는 데 적합한 음이온을 의미한다. 유사하게, 염은 아릴 또는 헤테로아릴 치환된 벤젠 화합물 상의 양이온과 음으로 하전된 기(예컨대, 카복실레이트) 사이에 형성될 수도 있다. 적합한 양이온은 나트륨 이온, 칼륨 이온, 마그네슘 이온, 칼슘 이온 및 암모늄 양이온, 예컨대, 테트라메틸암모늄 이온을 포함한다. 아릴 또는 헤테로아릴 치환된 벤젠 화합물은 4급 질소 원자를 함유하는 염도 포함한다. 염 형태에서, 염의 화합물 대 양이온 또는 음이온의 비는 1:1일 수 있거나, 또는 1:1 이외의 다른 비, 예컨대, 3:1, 2:1, 1:2, 또는 1:3일 수 있다는 것을 이해하여야 한다.
- [0200] 프로드럭의 예로는 피험체에게 투여되었을 때 활성 아릴 또는 헤테로아릴 치환된 벤젠 화합물을 제공할 수 있는 에스테르 및 다른 약학적으로 허용가능한 유도체를 포함한다.
- [0201] 추가로, 본 발명의 화합물, 예를 들어, 본 발명의 염은 수화된 또는 비수화된(무수) 형태로 존재할 수 있거나, 다른 용매 분자와 함께 용매화물로서 존재할 수 있다. 수화물의 비제한적인 예로는 일수화물, 이수화물 등을 포함한다. 용매화물의 비제한적인 예로는 에탄올 용매화물, 아세톤 용매화물 등을 포함한다.
- [0202] "용매화물"이란 화학양론적 또는 비화학양론적 양의 용매를 함유하는 용매 부가 형태를 의미한다. 몇몇 화합물들은 결정질 고체 상태에서 고정된 물 비의 용매 분자를 포획하여 용매화물을 형성하는 경향을 가진다. 용매가 물인 경우, 형성된 용매화물은 수화물이고, 용매가 알콜인 경우, 형성된 용매화물은 알콜레이트이다. 수화물은 하나 이상의 물 분자와 하나의 물질 분자의 조합에 의해 형성되고, 이때 물은 H<sub>2</sub>O로서 그의 분자 상태를 유지한다.
- [0203] 본원에서 사용되는 바, "유사체"라는 용어는 서로 구조적으로 유사하나(상이한 원소의 원자에 의한 하나의 원자의 치환, 특정 작용기의 존재, 또는 또 다른 작용기에 의한 하나의 작용기의 치환에서와 같이) 조성에서 약간 상이한 화합물을 의미한다. 따라서, 유사체는 작용 및 외관에서 기준 화합물과 유사하거나 비슷하지만, 구조 또는 기원에서는 참조 화합물과 유사하거나 비슷하지 않은 화합물이다.
- [0204] 본원에 정의된 바와 같이, "유도체"라는 용어는 공통된 모핵 구조를 갖고, 본원에 기술된 다양한 기들로 치환된 화합물을 의미한다. 예를 들어, 화학식 I로 표시되는 모든 화합물들이 아릴 또는 헤테로아릴 치환된 벤젠 화합물이고, 공통된 모핵으로서 화학식 I을 가진다.
- [0205] "생동배체(bioisostere)"라는 용어는 원자 또는 원자 군을 또 다른 대체로 유사한 원자 또는 원자 군으로 치환 시킴으로써 발생된 화합물을 의미한다. 생동배체성 치환의 목적은 모체 화합물과 유사한 생물학적 성질을 가지는 신규 화합물을 생성하는 것이다. 생동배체 치환은 물리화학 또는 위상기하학에 기초할 수 있다. 카복실산 생동배체의 예로는 아실 술폰이미드, 테트라졸, 술포네이트 및 포스포네이트를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예컨대, 문헌 [Patani and LaVoie, *Chem. Rev.* 96, 3147-3176, 1996]을 참조할 수 있다.
- [0206] 본 발명은 본 화합물에 존재하는 원자들의 모든 동위원소를 포함하는 것으로 한다. 동위원소는 동일한 원자 번호를 가지되, 상이한 질량 수를 가지는 원자를 포함한다. 제한없이, 일반적으로 예를 들어, 수소의 동위원소로는 삼중수소 및 이중수소를 포함하고, 탄소의 동위원소는 C-13 및 C-14를 포함한다.
- [0207] 본원에 기술된 바와 같이, 본 발명의 화학식 IIa의 임의의 화합물은 EZH2 억제제일 수 있다.

- [0208] 본 발명의 특정 측면에서, EZH2의 억제제는 그가 야생형 EZH2의 히스톤 메틸트랜스퍼라제 활성을 억제할 때보다 더욱 효과적으로 돌연변이체 EZH2의 히스톤 메틸트랜스퍼라제 활성을 억제시킬 경우에, 돌연변이체 EZH2의 히스톤 메틸트랜스퍼라제 활성을 "선택적으로 억제시키는 것이다." 예를 들어, 한 실시양태에서, 선택적 억제제의 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50은 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 40% 이상 더 낮다. 한 실시양태에서, 선택적 억제제의 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50은 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 50% 이상 더 낮다. 한 실시양태에서, 선택적 억제제의 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50은 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 60% 이상 더 낮다. 한 실시양태에서, 선택적 억제제의 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50은 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 70% 이상 더 낮다. 한 실시양태에서, 선택적 억제제의 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50은 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 80% 이상 더 낮다. 한 실시양태에서, 선택적 억제제의 돌연변이체 EZH2에 대한 IC50은 야생형 EZH2에 대한 IC50보다 90% 이상 더 낮다.
- [0209] 한 실시양태에서, 돌연변이체 EZH2의 선택적 억제제는 야생형 EZH2에 대하여 본질적으로는 어떤 억제 효과도 미치지 못한다.
- [0210] 본 발명의 특정 측면에서, 억제제는 H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환을 억제시킨다. 한 실시양태에서, 억제제는 H3-K27의 트리메틸화를 억제시키는 것으로 기술된다. H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환이 H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환에 선행하기 때문에, H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환의 억제제는 또한 자연적으로 H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환을 억제시키며, 즉, H3-K27의 트리메틸화를 억제시킨다. 또한, H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환을 억제시키지 않고도, H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환을 억제시킬 수도 있다. 이러한 유형의 억제는 또한 비록 H3-K27의 디메틸화를 억제시키지 않고도, H3-K27의 트리메틸화를 억제시킬 수 있을 것이다.
- [0211] 한 실시양태에서, 억제제는 H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환 및 H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환을 억제시킨다. 상기 억제제는 H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환만을 단독으로 직접 억제시킬 수 있다. 별법으로, 상기 억제제는 H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환 및 H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환, 둘 모두를 직접 억제시킬 수 있다.
- [0212] 본 발명의 특정 측면에서, 억제제 화합물은 히스톤 메틸트랜스퍼라제 활성을 억제시킨다. 히스톤 메틸트랜스퍼라제 활성 억제는 임의의 적합한 방법을 사용함으로써 검출될 수 있다. 억제는 예를 들어, 히스톤 메틸트랜스퍼라제 활성 속도로, 또는 히스톤 메틸트랜스퍼라제 활성의 생성물로서 측정될 수 있다.
- [0213] 억제제는 적합한 대조군과 비교하여 측정가능한 억제이다. 한 실시양태에서, 억제제는 적합한 대조군과 비교하여 10% 이상 억제이다. 즉, 억제제를 이용하였을 때의 효소 활성의 속도, 및 생성물의 양은 억제제를 사용하지 않았을 때의 상응하는 속도 또는 제조된 양의 90% 이하이다. 다양한 다른 실시양태에서, 억제제는 적합한 대조군과 비교하여 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 또는 95% 이상 억제이다. 한 실시양태에서, 억제제는 적합한 대조군과 비교하여 99% 이상 억제이다. 즉, 억제제를 이용하였을 때의 효소 활성의 속도, 및 생성물의 양은 억제제를 사용하지 않았을 때의 상응하는 속도 또는 제조된 양의 1% 이하이다.
- [0214] 본 발명의 조성물은 화학식 IIa의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 본 발명은 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 치료제 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염을 공동 제제 또는 별개의 제제로 투여하는 것으로서, 여기서, 제제 투여는 동시, 순차적, 또는 교대로 투여하는 것인 것을 제공한다. 특정 실시양태에서, 다른 치료제는 본 발명의 조성물에 의해 치료되는 질환 또는 병증을 치료하는 데 유용한 것으로 당업계에서 인정받은 작용제일 수 있다. 다른 실시양태에서, 다른 치료제는 본 발명의 조성물에 의해 치료되는 질환 또는 병증을 치료하는 데 유용한 것으로 당업계에서 인정받지 않은 작용제일 수 있다. 한 측면에서, 다른 치료제는 본 발명의 조성물에 대해 유익한 속성을 부가하는 작용제(예컨대, 조성물의 점도에 영향을 주는 작용제)일 수 있다. 본 발명의 조성물에 대해 유익한 속성으로는 화학식 IIa의 화합물 및 하나 이상의 다른 치료제의 조합으로부터 생성되는 약동학적 또는 약력학적 공동 작용을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예를 들어, 하나 이상의 다른 치료제는 항암제 또는 화학치료제일 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 다른 치료제는 글루코코르티코이드일 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 다른 치료제는 프레드니손, 프레드니솔론, 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 마포스파미드, 시스플라틴, AraC, 에베로리무스, 데시타빈, 텍사메타손, 또는 그의 기능성 유사체, 유도체, 프로드럭, 및 대사산물로부터 선택될 수 있다. 또 다른 측면에서, 다른 치료제는 프레드니손 또는 그의 활성 대사산물인 프레드니솔론일 수 있다.
- [0215] 하기 기술되는 치료제는 예시적인 목적을 위한 것이며, 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 발명은 하기 목록으로부터 선택되는 1종 이상의 다른 치료제를 포함한다. 본 발명은 본 발명의 조성물이 그의 의도된 기능을 수행할

수 있도록 1개 초과와 다른 치료제, 예컨대, 2, 3, 4, 또는 5개의 다른 치료제를 포함할 수 있다.

[0216] 한 실시양태에서, 다른 치료제는 항암제이다. 한 실시양태에서, 항암제는 히스톤 변형에 영향을 주는 화합물, 예컨대, HDAC 억제제이다. 특정 실시양태에서, 항암제는 화학치료제(예컨대, 2CdA, 5-FU, 6-머캅토피린, 6-TG, 아브락산(Abraxane)<sup>TM</sup>, 아큐탄(Accutane)<sup>®</sup>, 악티노마이신-D, 아드리아마이신(Adriamycin)<sup>®</sup>, 알림타(Alimta)<sup>®</sup>, 모든 트랜스 레티노산, 아메토프테린, Ara-C, 아자시티딘, BCNU, 블레녹산(Blenoxane)<sup>®</sup>, 캄프토사르(Camptosar)<sup>®</sup>, CeeNU<sup>®</sup>, Clofarabine, 클로라르(Cloolar)<sup>TM</sup>, 사이톡산(Cytosan)<sup>®</sup>, 다우노루비신 하이드로클로라이드, 다우노솜(DaunoXome)<sup>®</sup>, 다코젠(Dacogen)<sup>®</sup>, DIC, 독실(Doxil)<sup>®</sup>, 엘렌스(Ellence)<sup>®</sup>, 엘록사틴(Eloxatin)<sup>®</sup>, 엠사이트(Emcyt)<sup>®</sup>, 에토포시드 포스페이트, 플루다라(Fludara)<sup>®</sup>, FUDR<sup>®</sup>, 젱자르(Gemzar)<sup>®</sup>, 글리벡(Gleevec)<sup>®</sup>, 핵사메틸멜라민, 하이캄틴(Hycamtin)<sup>®</sup>, 하이드레아(Hydrea)<sup>®</sup>, 이다마이신(Idamycin)<sup>®</sup>, 이펙스(Ifex)<sup>®</sup>, 익사베필론, 익셈프라(Ixempra)<sup>®</sup>, L 아스파라기나제, 류케란(Leukeran)<sup>®</sup>, 리포솜 Ara-C, L-PAM, 라이소드렌, 마툴란(Matulane)<sup>®</sup>, 미트라신, 미토마이신-C, 마일레란(Myleran)<sup>®</sup>, 나벨빈(Navelbine)<sup>®</sup>, 뉴트렉신(Neutrexin)<sup>®</sup>, 닐로티닙, 니펜트(Nipent)<sup>®</sup>, 질소 머스타드, 노반트론(Novantrone)<sup>®</sup>, 온카스파르(Oncaspar)<sup>®</sup>, 팬레틴(Panretin)<sup>®</sup>, 파라플라틴(Paraplatin)<sup>®</sup>, 플라티놀(Platinol)<sup>®</sup>, 카무스틴 삽입물을 포함하는 프로리페프로스판 20(prolifeprospan 20 with carmustine implant), 산도스타틴(Sandostatatin)<sup>®</sup>, 타그레틴(Targretin)<sup>®</sup>, 타시그나(Tasigna)<sup>®</sup>, 탁소테레(Taxotere)<sup>®</sup>, 테모다르(Temodar)<sup>®</sup>, TESPА, 트리세녹스(Trisenox)<sup>®</sup>, 발스타르(Valstar)<sup>®</sup>, 벨반(Velban)<sup>®</sup>, 비다자(Vidaza)<sup>TM</sup>, 빈크리스틴 술페이트, VM 26, 젤로다(Xeloda)<sup>®</sup> 및 자노사르(Zanosar)<sup>®</sup>); 생물체제(예컨대, 알파 인터페론, 바실러스 칼메트-게린(Bacillus Calmette-Guerin), 벅사르(Bexxar)<sup>®</sup>, 캄패스(Campath)<sup>®</sup>, 에르가미솔(Ergamisol)<sup>®</sup>, 에를로티닙, 허셉틴(Herceptin)<sup>®</sup>, 인터루킨-2, 이레사(Iressa)<sup>®</sup>, 레날리도미드, 마일로타르그(Mylotarg)<sup>®</sup>, 온탁(Ontak)<sup>®</sup>, 페가시스(Pegasys)<sup>®</sup>, 레블리미드(Revlimid)<sup>®</sup>, 리투산(Rituxan)<sup>®</sup>, 타세바(Tarceva)<sup>TM</sup>, 탈로미드(Thalomid)<sup>®</sup>, 타이커브(Tykerb)<sup>®</sup>, 벨케이드(Velcade)<sup>®</sup> 및 제발린(Zevalin)<sup>TM</sup>); 코르티코스테로이드제(예컨대, 텍사메타손 인산나트륨, 델타손(DeltaSone)<sup>®</sup> 및 델타-토르테프(Delta-Cortef)<sup>®</sup>); 호르몬 요법(예컨대, 아리미덱스(Arimidex)<sup>®</sup>, 아로마신(Aromasin)<sup>®</sup>, 카소덱스(Casodex)<sup>®</sup>, 사이타드렌(Cytadren)<sup>®</sup>, 엘리가드(Eligard)<sup>®</sup>, 유렉신(Eulexin)<sup>®</sup>, 에비스타(Evista)<sup>®</sup>, 파슬로덱스(Faslodex)<sup>®</sup>, 페마라(Femara)<sup>®</sup>, 할로테스틴(Halotestin)<sup>®</sup>, 메가스(Megace)<sup>®</sup>, 닐란드론(Nilandron)<sup>®</sup>, 놀마덱스(Nolvadex)<sup>®</sup>, 플레낙시스(Plenaxis)<sup>TM</sup> 및 졸라덱스(Zoladex)<sup>®</sup>); 및 방사성의약품(예컨대, 요오도토프(Iodotope)<sup>®</sup>, 메타스트론(Metastron)<sup>®</sup>, 포스포콜(Phosphocol)<sup>®</sup> 및 사마리움(Samarium) SM-153)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0217] 또 다른 실시양태에서, 다른 치료제는 알킬화제; 항생제; 항대사산물; 해독제; 인터페론; 다중클론 또는 단일클론 항체; EGFR 억제제; HER2 억제제; 히스톤 데아세틸라제 억제제; 호르몬; 유사분열 억제제; MTOR 억제제; 다중 키나제 억제제; 세린/트레오닌키나제 억제제; 티로신키나제 억제제; VEGF/VEGFR 억제제; 탁산 또는 탁산 유도체, 아로마타제 억제제, 안트라사이클린, 미세관 표적화 약물, 토포이소머라제 독성 약물, 분자 표적 또는 효소(예컨대, 키나제 또는 단백질 메틸트랜스퍼라제) 억제제, 시티딘 유사체 약물; 또는 웹사이트([www.cancer.org/docroot/cdg/cdg\\_0.asp](http://www.cancer.org/docroot/cdg/cdg_0.asp))에 열거된 임의의 화학치료제, 항신생물체 또는 항증식제를 포함하는 군으로부터 선택되는, 화학치료제(이는 또한 항신생물체 또는 항증식제로도 지칭된다)이다.

[0218] 예시적인 알킬화제로는 사이클로포스파미드(사이톡산; 네오사르); 클로람부실(류케란); 멜팔란(알케란); 카무스틴(BiCNU); 부술판(부술렉스); 로무스틴(CeeNU); 다카바진(DTIC-Dome); 옥살리플라틴(엘록사틴); 카무스틴(글리아텔); 이포스파미드(이펙스); 메클로레타민(무스타젠); 부술판(마일레란); 카보플라틴(파라플라틴); 시스플라틴(CDDP); 플라티놀; 테모졸로미드(테모다르); 티오테파(티오플렉스); 벤다무스틴(트레안다); 또는 스트렙토조토신(자노사르)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0219] 예시적인 항생제로는 독소루비신(아드리아마이신); 독소루비신 리포솜(독실); 미토크산트론(노반트론); 블레오마이신(블레녹산); 다우노루비신(세루비딘); 다우노루비신 리포솜(다우노솜); 악티노마이신(코스메젠) 에피루비신(엘렌스); 이다루비신(이다마이신); 폴리카마이신(미트라신); 미토마이신(무타마이신); 팬토스타틴(니펜트); 또는 발루비신(발스타르)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0220] 예시적인 항대사산물로는 플루오로우라실(애드루실); 카페시타빈(젤로다); 하이드록시우레아(하이드레아); 머캅토피린(푸린티올); 페메트렉세드(알림타); 플루다라빈(플루다라); 벨라라빈(아라논); 클라드리빈(클라드리빈 노바플러스); 클로파라빈(클로라르); 시타라빈(시토사르-U); 데시타빈(다코젠); 시타라빈 리포솜(데포 Cyt(DepoCyt)); 하이드록시우레아(드록시아); 프랄라트렉세이트(폴로틴); 플록수리딘(FUDR); 젱시타빈(젱자르); 클라드리빈(류스타틴); 플루다라빈(오포르타); 메토포렉세이트(MTX; 마트렉스); 메토포렉세이트(트렉살); 티오구

아닌(타블로이드); TS-1 또는 시타라빈(타라빈 PFS)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

- [0221] 예시적인 해독제로는 아미포스틴(에티올) 또는 메스나(메스넥스)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0222] 예시적인 인터페론으로는 인터페론 알파-2b(인트론 A) 또는 인터페론 알파-2a(로페론-A)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0223] 예시적인 다중클론 또는 단일클론 항체로는 트라스투주맙(허셉틴); 오파투주맙(아제라); 베바시주맙(아바스틴); 리투시맙(리투산); 세투시맙(에르비투스); 파니투주맙(벡티빅스); 토시투모맙/요오드131 토시투모맙(벡사르) 알렘투주맙(캄페스); 이브리투모맙(제발린; In-111; Y-90 제발린); 쟈투주맙(마일로타그); 에쿨리주맙(솔리리스) 또는 데노수맙을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0224] 예시적인 EGFR 억제제 제피티닙(이레사); 라파티닙(타이커브); 세투시맙(에르비투스); 에블로티닙(타세바); 파니투주맙(벡티빅스); PKI-166; 캐너티닙(CI-1033); 마투주맙(Emd7200) 또는 EKB-569를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0225] 예시적인 HER2 억제제로는 트라스투주맙(허셉틴); 라파티닙(타이커브) 또는 AC-480을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0226] 히스톤 데아세틸라제 억제제로는 보리노스타트(졸린자)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0227] 예시적인 호르몬으로는 타목시펜(솔타목스; 놀바텍스); 랄록시펜(에비스타); 메게스트롤(메가스); 류프롤라이드(루프론; 루프론 데포; 엘리가드; 비아두르); 풀베스트란트(파슬로텍스); 레트로졸(페마라); 트립토헤린(트렐스타 LA; 트렐스타 데포); 엑세메스탄(아로마신); 고세렐린(졸라텍스); 비칼루타미드(카소텍스); 아나스트로졸(아리미텍스); 플루옥시메스테론(안드록시; 할로테스틴); 메드록시프로게스테론(프로베라; 데포-프로베라); 에스트라무스틴(엡사이트); 플라타미드(유렉신); 토레미펜(파레스톤); 데갈렐릭스(퍼마곤); 닐루타미드(닐란드론); 아바렐릭스(플레낙시스); 또는 테스토라톤(테슬락)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0228] 예시적인 유사분열 억제제로는 파클리탁셀(탁솔; 온솔; 아브락산); 독세탁셀(탁소테레); 빈크리스틴(온코빈; 빈카사르 PFS); 빈블라스틴(벨반); 에토포시드(토포사르; 에토포포스; 베페시드); 테니포시드(부몬); 익사베필론(익셉트라); 노코다졸; 에포틸론; 비노렐빈(나벨빈); 캄프토테신(CPT); 이리노테칸(캄프토사르); 토포테칸(하이캄틴); 암사크린 또는 라멜라린 D(LAM-D)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0229] 예시적인 mTOR 억제제로는 에베로리무스(아피니토르) 또는 템시롤리무스(토리셀); 라파몼, 리다포롤리무스; 또는 AP23573을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0230] 예시적인 VEGF/VEGFR 억제제로는 베바시주맙(아바스틴); 소라페닙(넥사바르); 수니티닙(수텐트); 라니비주맙; 페깅타닙; 또는 반테티닙을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0231] 예시적인 미세관 표적화 약물은 파클리탁셀, 독세탁셀, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 노코다졸, 에포틸론 및 나벨빈을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0232] 예시적인 토포이소머라제 독성 약물은 테니포사이드, 에토포사이드, 아드리아마이신, 캄프토테신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 미토크산트론, 암사크린, 에피루비신 및 이다루비신을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.
- [0233] 예시적인 탁산 또는 탁산 유도체는 파클리탁셀 및 독세탁셀을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0234] 예시적인 일반 화학치료제, 항신생물제 또는 항증식제로는 알트레타딘(헥살렌); 이소트레티노인(아큐탄; 암네스팀; 클라라비스; 소트레트(Sotret)); 트레티노인(베사노이드); 아자시티딘(비다자); 보테조밋(벨케이드); 아스파라기나제(엘스파르); 레바미술(에르가미술); 미토탄(라이소드렌); 프로카바진(마톨란); 페가스파르가제(온카스파르); 데닐류킨 디프티톡스(온탁); 포피머(포토프린; 알데스류킨(프로류킨); 레날리도미드(레블리미드); 백사로텐(타그레틴); 탈리도미드(탈로미드); 템시롤리무스(토리셀); 비소 삼산화물(트리세누스); 베테포핀(비수다인); 미모신(류세놀); (1 M 테가푸르-0.4 M 5-클로로-2,4-디하이드록시피리미딘-1 M 칼륨 옥소네이트); 또는 로바스타틴을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0235] 또 다른 측면에서, 다른 치료제는 화학치료제, 또는 사이토카인, 예컨대, G-CSF(과립구 콜로니 자극 인자)일 수 있다.
- [0236] 또 추가의 다른 측면에서, 다른 치료제는 표준 화학요법 조합, 예컨대, 제한하는 것은 아니지만, CMF(사이클로

포스파미드, 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실), CAF(사이클로포스파미드, 아드리아마이신 및 5-플루오로우라실), AC(아드리아마이신 및 사이클로포스파미드), FEC(5-플루오로우라실, 에피루비신 및 사이클로포스파미드), ACT 또는 ATC(아드리아마이신, 사이클로포스파미드 및 파클리탁셀), 리톡시맙, 젤로다(카페시타빈), 시스플라틴(CDDP), 카보플라틴, TS-1(1:0.4:1 몰비의 테가푸르, 지메스타트 및 오타스타트 칼륨), 캄프토테신-11(CPT-11, 이리노테칸 또는 캄프토사르™), CHOP(사이클로포스파미드, 하이드록시다우노루비신, 온코빈 및 프레드니손 또는 프레드니솔론), R-CHOP(리톡시맙, 사이클로포스파미드, 하이드록시다우노루비신, 온코빈, 프레드니손 또는 프레드니솔론), 또는 CMFP(사이클로포스파미드, 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실 및 프레드니손)일 수 있다.

[0237] 또 다른 측면에서, 다른 치료제는 효소, 예컨대, 수용체 또는 비수용체 키나제의 억제제일 수 있다. 수용체 및 비수용체 키나제는 예를 들어, 티로신 키나제 또는 세린/트레오닌 키나제이다. 본원에 기술된 키나제 억제제는 소분자, 폴리핵산, 폴리펩티드 또는 항체이다.

[0238] 예시적인 키나제 억제제로는 베바시주맙(표적 VEGF), BIBW 2992(표적 EGFR 및 Erb2), 세톡시맙/에르비투스(표적 Erb1), 이마티닙/글리벡(표적 Bcr-Ab1), 트라스투주맙(표적 Erb2), 제피티닙/이레사(표적 EGFR), 라니비주맙(표적 VEGF), 페깅타닙(표적 VEGF), 에를로티닙/타세바(표적 Erb1), 닐로티닙(표적 Bcr-Ab1), 라파티닙(표적 Erb1 및 Erb2/Her2), GW-572016/라파티닙 디토실레이트(표적 HER2/Erb2), 파니투무맙/벡티빅스(표적 EGFR), 반테티닙(표적 RET/VEGFR), E7080(RET 및 VEGFR을 포함하는 다수의 표적), 허셉틴(표적 HER2/Erb2), PKI-166(표적 EGFR), 캐너티닙/CI-1033(표적 EGFR), 수니티닙/SU-11464/수네프(표적 EGFR 및 FLT3), 마투주맙/Emd7200(표적 EGFR), EKB-569(표적 EGFR), Zd6474(표적 EGFR 및 VEGFR), PKC-412(표적 VEGFR 및 FLT3), 바탈라닙/Ptk787/ZK222584(표적 VEGFR), CEP-701(표적 FLT3), SU5614(표적 FLT3), MLN518(표적 FLT3), XL999(표적 FLT3), VX-322(표적 FLT3), Azd0530(표적 SRC), BMS-354825(표적 SRC), SKI-606(표적 SRC), CP-690(표적 JAK), AG-490(표적 JAK), WHI-P154(표적 JAK), WHI-P131(표적 JAK), 소라페닙/넥사바르(표적 RAF 키나제, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFR-β, KIT, FLT-3 및 RET), 다사티닙/스프라이셀(BCR/ABL 및 Src), AC-220(표적 Flt3), AC-480(표적 모든 HER 단백질들, "panHER"), 모테사닙 디포스페이트(표적 VEGF1-3, PDGFR 및 c-kit), 데노수맙(표적 RANKL, SRC를 억제), AMG888(표적 HER3) 및 AP24534(Flt3을 비롯한 다수의 표적)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0239] 예시적인 세린/트레오닌 키나제 억제제는 라파문(표적 mTOR/FRAP1), 데포롤리무스(표적 mTOR), 서티칸/에베로리무스(표적 mTOR/FRAP1), AP23573(표적 mTOR/FRAP1), 에틸/파수딜 하이드로클로라이드(표적 RHO), 플라보피리돌(표적 CDK), 셀리시클립/CYC202/로스코비트린(표적 CDK), SNS-032/BMS-387032(표적 CDK), 루복시스타우린(표적 PKC), Pkc412(표적 PKC), 브리오스타틴(표적 PKC), KAI-9803(표적 PKC), SF1126(표적 PI3K), VX-680(표적 오로라 키나제), Azd1152(표적 오로라 키나제), Arry-142886/AZD-6244(표적 MAP/MEK), SCIO-469(표적 MAP/MEK), GW681323(표적 MAP/MEK), CC-401(표적 JNK), CEP-1347(표적 JNK) 및 PD 332991(표적 CDK)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0240] 예시적인 티로신 키나제 억제제로는 에를로티닙(타세바); 제피티닙(이레사); 이마티닙(글리벡); 소라페닙(넥사바르); 수니티닙(수네프); 트라스투주맙(허셉틴); 베바시주맙(아바스틴); 리톡시맙(리톡산); 라파티닙(타이커브); 세톡시맙(에르비투스); 파니투무맙(벡티빅스); 에베로리무스(아피니토르); 알렘투주맙(캄패스); 켈투주맙(마일로타그); 템시롤리무스(토리셀); 파조파닙(보트리엔트); 다사티닙(스프라이셀); 닐로티닙(타시그나); 바탈라닙(Ptk787; ZK222584); CEP-701; SU5614; MLN518; XL999; VX-322; Azd0530; BMS-354825; SKI-606 CP-690; AG-490; WHI-P154; WHI-P131; AC-220; 또는 AMG888을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0241] 본 발명은 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물을 질환 또는 암 치료를 필요로 하는 피험체에게 투여하는 것인, 병용 요법 방법을 제공한다. 병용 요법은 또한 증식을 억제시키거나, 또는 세포 사멸을 유도하기 위해 수행될 수 있다. 한 측면에서, 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염은 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 본 발명의 조성물을 투여하기 이전에 투여된다. 한 측면에서, 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염은 하나 이상의 치료제의 투여 이전에 투여됨으로써 다른 치료제는 단일 조성물로, 또는 2개 이상의 조성물로서, 예컨대, 동시에, 순차적으로, 또는 교대로 투여될 수 있다.

[0242] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 항암제, 예컨대, CHOP(사이클로포스파미드, 하이드록시다우노루비신, 온코빈, 및 프레드니손 또는 프레드니솔론) 또는 R-CHOP(리톡시맙, 사이클로포스파미드, 하이드록시다우노루비신, 온코빈, 프레드니손 또는 프레드니

술론)를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 프레드니손 또는 프레드니솔론을 포함한다. 본 발명의 방법은 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 항암제를 투여하는 병용 요법으로서, 여기서, 항암제는 CHOP, R-CHOP, 프레드니손, 또는 프레드니솔론인 것인 병용 요법을 포함한다

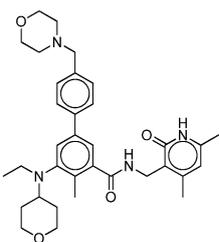
[0243] 특정 실시양태에서, "병용 요법"은 각 치료제를 상이한 시점에 투여하는 순차적인 방식으로 상기 치료제를 투여하는 것, 상기 치료제들, 또는 치료제 중 2종 이상을 동시에 투여하는 것, 또는 실질적으로 동시 방식으로 투여하는 것을 포함하는 것으로 한다. 동시 투여는 예를 들어, 각 치료제를 고정된 비로 포함하는 단일 캡슐제를 피험체에게 투여하거나, 각 치료제에 대한 단일 캡슐제들을 피험체에게 다회에 걸쳐 투여함으로써 달성될 수 있다. 각 치료제의 순차적인 또는 실질적인 동시 투여는 경구 경로, 정맥내 경로, 근육내 경로, 및 점막 조직을 통한 직접적인 흡수를 포함하나, 이에 한정되지 않는 임의의 적절한 경로에 의해 수행될 수 있다. 치료제는 동일한 경로 또는 상이한 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 선택된 병용의 제1 치료제는 정맥내 주사에 의해 투여될 수 있는 반면, 상기 병용의 다른 치료제는 경구적으로 투여될 수 있다. 별법으로, 예를 들어, 모든 치료제들은 경구적으로 투여될 수 있거나, 모든 치료제들은 정맥내 주사에 의해 투여될 수 있다. 치료제는 또한 교대로 투여될 수도 있다.

[0244] 본 발명의 특정 측면에서, 본 발명의 특징이 되는 병용 요법을 통해 질환 또는 암 치료에서 상승작용 효과를 얻을 수 있다. "상승작용 효과"란 치료제 조합의 효능이 상기 작용제 중 하나만을 단독으로 투여하였을 때의 효과의 합보다 더 큰 경우로 정의된다. 상승작용 효과는 또한 화합물 또는 다른 치료제 중 임의의 것을 단일 제제로서 투여하였을 때에는 달성될 수 없는 효과일 수 있다. 상승작용 효과로는 종양 크기를 축소시켜 암을 치료하거나, 종양 성장을 억제시키거나, 또는 피험체의 생존을 증가시키는 효과를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상승작용 효과는 또한 암 세포 생존능을 감소, 암 세포 사멸을 유도, 및 암 세포 성장을 억제 또는 지연시키는 것을 포함할 수 있다.

[0245] 본 발명의 특정 측면에서, "병용 요법"은 또한 다른 생물학적으로 활성인 성분 및 비약물 요법(예컨대, 수술 또는 방사선 치료)과 함께 추가로 조합하여 상기 기술된 치료제를 투여하는 것을 포함한다. 병용 요법이 추가로 비약물 치료를 포함하는 경우, 치료제와 비약물 치료의 병용의 공동 작용으로부터 유리한 효과가 달성되는 한, 상기 비약물 치료는 임의의 적절한 시간에 수행될 수 있다. 예를 들어, 적절한 경우, 비약물 치료가 아마도 수 일 또는 심지어 수주 동안 치료제의 투여로부터 일시적으로 제거되는 때에도 상기 유리한 효과는 여전히 달성된다.

[0246] 또 다른 측면에서, 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 유사체 또는 유도체는 방사선 요법과 함께 병용하여 투여될 수 있다. 방사선 요법은 또한 다중 작용제 요법으로서 본 발명의 조성물 및 본원에 기술된 다른 화학치료제와 함께 병용하여 투여될 수 있다.

[0247] 본 발명은 또한 본원에 기술된 질환 또는 병증을 치료 또는 예방하기 위한 용량으로 제약상 적합한 담체 또는 부형제(들)와 함께 혼합된, 본원에 개시된 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 한 측면에서, 본 발명은 또한 본원에 기술된 질환 또는 병증을 치료 또는 예방하기 위한 용량으로 제약상 적합한 담체 또는 부형제(들)와 함께 혼합된, 표 I의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 치료제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 또한 본원에 기술된 질환 또는 병증을 치료 또는 예방하기 위한 용량으로 제약상 적합한 담체 또는 부형제(들)와 함께 혼합된, 하기 화합물 44 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 치료제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 약학 조성물은 또한 다른 치료제 또는 치료 양식으로 동시에, 순차적으로 또는 교대로 투여될 수 있다:



[0248]

[0249] 본 발명의 조성물의 혼합물은 단일 혼합물로서, 또는 적합하게 제제화된 약학 조성물로서 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 한 측면은 치료적 유효량의 화학식 IIa, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 수

화물, 거울상이성질체 또는 입체이성질체인 EZH2 억제제; 하나 이상의 다른 치료제, 및 약학적으로 허용가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 약학 조성물에 관한 것이다.

- [0250] "약학 조성물"이란, 피험체에게 투여하기에 적합한 형태로 본 발명의 화합물을 함유하는 제제이다. 한 실시양태에서, 약학 조성물은 벌크 또는 단위 투여 형태로 존재한다. 상기 단위 투여 형태는 예를 들어, 캡슐제, IV 백, 정제, 에어로졸 흡입기 상의 단일 펌프 또는 바이알을 포함하는 다양한 형태들 중 임의의 것이다. 단위 용량의 조성물 중의 활성 성분(예컨대, 개시된 화합물, 또는 그의 염, 수화물, 용매화물 또는 이성질체의 제제)의 양은 유효량이고, 관련된 특정 치료에 따라 달라진다. 당업자는 종종 환자의 연령 및 상태에 따라 투여량에 대한 관용적인 변형을 수행할 필요가 있다는 것을 인식할 것이다. 상기 투여량은 투여 경로에도 의존할 것이다. 경구, 폐, 직장, 비경구, 경피, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 흡입, 협측, 설하, 흉막내, 수막공간내, 비내 등을 포함하는 다양한 경로가 고려된다. 본 발명의 화합물의 국소 또는 경피 투여를 위한 투여 형태는 산제, 분무제, 연고, 페이스트, 크림제, 로션, 젤제, 액제, 패치 및 흡입제를 포함한다. 한 실시양태에서, 활성 화합물은 멸균 조건하에 약학적으로 허용가능한 담체, 및 요구되는 임의의 보존제, 완충제 또는 추진제와 혼합된다.
- [0251] 본원에서 사용되는 바, "약학적으로 허용가능한"이라는 어구는 타당한 의학적 판단의 범위 내에서 합리적인 이익/위험 비와 균형을 이루면서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제점 또는 합병증을 야기하지 않으면서, 인간 및 동물의 조직과 접촉되어 사용되기에 적합한 화합물, 음이온, 양이온, 물질, 조성물, 담체 및 /또는 투여 형태를 의미한다.
- [0252] "약학적으로 허용가능한 부형제"는 일반적으로 안전하고 독성을 나타내지 않고, 생물학적으로 또는 다른 방식으로 바람직하지 않은 효과를 나타내지 않는, 약학 조성물의 제조에 유용한 부형제를 의미하고, 인간 제약 용도 뿐만 아니라, 수의학 용도를 위해서도 허용가능한 부형제를 포함한다. 본 명세서 및 특허청구범위에서 사용된 바와 같이, "약학적으로 허용가능한 부형제"는 1종의 상기 부형제 및 1종 초과와 상기 부형제 둘 모두를 포함한다.
- [0253] 본 발명의 약학 조성물은 그의 의도된 투여 경로에 적합하도록 제제화된다. 투여 경로의 예에는 비경구, 예를 들어, 정맥내, 피내, 피하, 경구(예컨대, 흡입), 경피(국소) 및 경점막 투여가 포함된다. 비경구, 피내 또는 피하 적용을 위해 사용되는 용액 또는 현탁액은 하기 성분들을 포함할 수 있다: 멸균 희석제, 예컨대, 주사용수, 식염수 용액, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매; 항균제, 예컨대, 벤질 알콜 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 예컨대, 아스코르브산 또는 중아황산나트륨; 킬레이팅제, 예컨대, 에틸렌디아민테트라아세트산; 완충제, 예컨대, 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트; 및 긴장성 조절제, 예컨대, 염화나트륨 또는 텍스트로스. pH는 산 또는 염기, 예컨대, 염산 또는 수산화나트륨에 의해 조절될 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기, 또는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 다회 용량 바이알 내에 봉입될 수 있다.
- [0254] 본 발명의 조성물은 화학치료학적 치료를 위해 현재 이용되는 주지된 다수의 방법으로 피험체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 암의 치료를 위해, 본 발명의 화합물은 중앙 내로 직접적으로 주사될 수 있거나, 혈류 또는 체강 내로 주사될 수 있거나, 경구 섭취될 수 있거나, 패치에 의해 피부를 통해 적용될 수 있다. 선택된 용량은 효과적인 치료를 구성하기에 충분해야 하지만 허용불가능한 부작용을 야기할 정도로 높지 않아야 한다. 질환 병증(예컨대, 암, 전암 등)의 상태 및 환자의 건강은 바람직하게는 치료 후 적당한 기간 동안 면밀히 모니터링되어야 한다.
- [0255] 본원에서 사용되는 바, "치료적 유효량"이라는 용어는 확인된 질환 또는 병증을 치료하거나, 호전시키거나, 예방하기 위한, 또는 검출가능한 치료 또는 억제 효과를 나타내기 위한 제약 제제의 양을 의미한다. 상기 효과는 당업계에 공지되어 있는 임의의 검정 방법에 의해 검출될 수 있다. 피험체를 위한 정확한 유효량은 피험체의 체중, 신장 및 건강; 병증의 성질 및 정도; 및 투여를 위해 선택된 치료제 또는 치료제의 조합에 의존할 것이다. 주어진 상황에 대한 치료적 유효량은 임상상의 기술 및 판단 내에 있는 관용적인 실험에 의해 결정될 수 있다. 바람직한 측면에서, 치료하고자 하는 질환 또는 병증은 암이다. 또 다른 측면에서, 치료하고자 하는 질환 또는 병증은 세포 증식성 장애이다.
- [0256] 특정 실시양태에서, 조합하여 사용되는 각 제약 제제의 치료적 유효량은 각 작용제를 단독으로 사용하는 단일요법과 비교하였을 때, 사용하여 사용되는 경우에 더 낮을 것이다. 상기와 같이 더 낮은 치료적 유효량을 통해 치료 요법의 독성은 더 낮아질 것이다.
- [0257] 임의의 화합물에 대한 치료적 유효량은 예를 들어, 신생물성 세포의 세포 배양 검정, 또는 동물 모델, 보통, 래

트, 마우스, 토끼, 개 또는 돼지에서 먼저 추정될 수 있다. 동물 모델을 이용하여 적절한 농도 범위 및 투여 경로도 결정될 수 있다. 이어서, 상기 정보를 이용하여 인간에게의 투여에 유용한 용량 및 경로를 결정할 수 있다. 치료/예방 효능 및 독성, 예컨대, ED<sub>50</sub>(집단의 50%에서 치료학상 효과적인 용량) 및 LD<sub>50</sub>(집단의 50%에서 치명적인 용량)을 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 제약 절차로 측정할 수 있다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 용량 비는 치료 지수이고, LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub> 비로서 표현될 수 있다. 큰 치료 지수를 나타내는 약학 조성물이 바람직하다. 투여량은 사용되는 투여 형태, 환자의 감수성 및 투여 경로에 따라 상기 범위 내에서 달라질 수 있다.

[0258] 투여량 및 투여는 충분한 수준의 활성 물질(들)을 제공하거나, 원하는 효과를 유지하도록 조절된다. 고려될 수 있는 인자는 질환 상태의 중증도, 피험체의 일반적인 건강, 피험체의 연령, 체중 및 성별, 섭식, 투여 시간 및 빈도, 약물 조합(들), 반응 감수성 및 요법에 대한 내성/반응을 포함한다. 장기간 작용하는 약학 조성물은 구체적인 제제의 반감기 및 제거율에 따라 3 내지 4일마다, 매주, 또는 매 2주마다 1회 투여될 수 있다.

[0259] 본 발명의 활성 화합물을 함유하는 약학 조성물은 일반적으로 공지되어 있는 방식으로, 예컨대, 통상적인 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 분말화, 유화, 캡슐화, 포획 또는 동결건조 공정에 의해 제조될 수 있다. 약학 조성물은 제약상 사용될 수 있는 제제로의 활성 화합물의 가공을 용이하게 하는 부형제 및/또는 보조제를 포함하는 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 사용하는 통상적인 방식으로 제조될 수 있다. 물론, 적절한 제제는 선택된 투여 경로에 의존한다.

[0260] 주사 용도로 적합한 약학 조성물은 멸균 수용액(수용성일 경우) 또는 분산액, 및 멸균 주사액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여의 경우, 적합한 담체는 생리식염수, 정균수, 크레모포르(Cremophor) EL™(BASF: 미국 뉴저지주 파시파니) 또는 포스페이트 완충처리된 염수(PBS)를 포함한다. 모든 경우, 조성물은 멸균성이어야 하고, 용이한 주사능이 존재하는 정도로 유동성이어야 한다. 상기 조성물은 제조 및 보관 조건하에 안정하여야 하고, 미생물, 예컨대, 박테리아 및 진균의 오염 작용으로부터 보존되어야 한다. 담체는 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적절한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은 예를 들어, 코팅제, 예컨대, 렉시틴의 사용, 분산액인 경우, 요구되는 입자 크기의 유지, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물의 작용 방식은 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에서, 등장화제, 예를 들어, 당, 폴리알콜, 예컨대, 만니톨 및 소르비톨, 및 염화나트륨을 조성물을 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 물질, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 달성될 수 있다.

[0261] 멸균 주사액은 요구되는 양의 활성 화합물(요구되는 경우) 상기 열거된 성분들 중 하나 또는 그 성분들의 조합물과 함께 적절한 용매 내에 도입시킨 후, 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 기초 분산 매질 및 상기 열거된 다른 성분들 중 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 활성 화합물을 도입함으로써 제조된다. 멸균 주사액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은 활성 성분 및 임의의 추가 원하는 성분으로 구성된 분말을 그의 미리 멸균 여과된 용액으로부터 생성하는 진공건조 및 동결건조이다.

[0262] 경구 조성물은 일반적으로 불활성 희석제 또는 식용가능한 약학적으로 허용가능한 담체를 포함한다. 경구 조성물은 젤라틴 캡슐제 내로 봉입될 수 있거나, 정제로 압착될 수 있다. 경구 치료제 투여를 위해, 활성 화합물은 부형제와 함께 도입될 수 있고, 정제, 트로키 또는 캡슐제의 형태로 사용될 수 있다. 경구 조성물은 또한 구강 세척제로서 사용될 유체 담체를 사용함으로써 제조될 수도 있고, 여기서, 상기 유체 담체 중의 화합물은 경구적으로 적용되고, 헹굼 후 뱉거나 삼킨다. 제약상 상용가능한 결합제 및/또는 보조제 물질이 조성물의 일부로서 포함될 수 있다. 정제, 환제, 캡슐, 트로키 등은 하기 성분들 중 임의의 성분 또는 유사한 성질의 화합물을 함유할 수 있다: 결합제, 예컨대, 미세결정질 셀룰로스, 고무 트라가칸트 또는 젤라틴; 부형제, 예컨대, 전분 또는 락토스; 붕해제, 예컨대, 알긴산, 프리모겔 또는 옥수수 전분; 윤활제, 예컨대, 마그네슘 스테아레이트 또는 스테로트; 활택제, 예컨대, 콜로이드성 이산화규소; 감미제, 예컨대, 수크로스 또는 사카린; 또는 향미제, 예컨대, 페퍼민트, 메틸 살리실레이트 또는 오렌지 향미제.

[0263] 흡입에 의한 투여의 경우, 화합물은 적절한 추진제, 예를 들어, 기체, 예컨대, 이산화탄소를 함유하는 가압된 용기 또는 분배기, 또는 분사기로부터 에어로졸 분무의 형태로 전달된다.

[0264] 전신 투여도 경점막 또는 경피 수단에 의해 달성될 수 있다. 경점막 또는 경피 투여의 경우, 투과될 차단벽에

적합한 침투제가 제제에서 사용된다. 상기 침투제는 당업계에서 일반적으로 공지되어 있고, 예를 들어, 경점막 투여의 경우, 계면활성제, 담즙산염 및 푸시드산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비강 분무 또는 좌제의 사용을 통해 달성될 수 있다. 경피 투여의 경우, 활성 화합물은 당업계에서 일반적으로 공지되어 있는 바와 같이 연고, 고약, 껌제 또는 크림제로 제제화된다.

[0265] 활성 화합물은 신체로부터의 신속한 제거로부터 화합물을 보호할 약학적으로 허용가능한 담체를 사용함으로써, 예컨대, 이식물 및 미세캡슐화된 전달 시스템을 포함하는 방출 조절형 제제로 제조될 수 있다. 생체분해가능한 생체적합성 중합체, 예컨대, 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 상기 제제들의 제조 방법은 당업자에게 자명할 것이다. 상기 물질들은 알자 코퍼레이션(Alza Corporation) 및 노바 파마슈티칼스 인코퍼레이티드(Nova Pharmaceuticals, Inc.)로부터 상업적으로 입수가능하다(바이러스 항원에 대한 단일클론 항체에 의해 감염된 세포로 표적화된 리포솜을 포함하는) 리포솜 현탁액도 약학적으로 허용가능한 담체로서 사용될 수 있다. 이들은 당업자에게 공지되어 있는 방법, 예를 들어, 미국 특허 제4,522,811호에 기재된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0266] 투여 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 경구 또는 비경구 조성물을 단위 투여 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에서 사용되는 바, 단위 투여 형태는 치료하고자 하는 피험체에 대한 단위 투여량으로서 맞추어진 물리적으로 분리된 단위를 의미하는데; 각각의 단위는 요구되는 제약 담체와 함께 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 사전 결정된 양으로 활성 화합물을 함유한다. 본 발명의 투여 단위 형태에 대한 요건은 활성 화합물의 독특한 특성 및 달성될 구체적인 치료 효과에 의해 좌우되거나 이들 특성 및 치료 효과에 직접적으로 의존한다.

[0267] 치료 적용에 있어서, 본원에 기술된 EZH2 억제제 화합물, 본원에 기술된 다른 치료제, 화학식 IIa의 화합물 및 하나 이상의 다른 치료제를 포함하는 조성물, 또는 본 발명에 따라 사용되는 약학 조성물의 투여량은 선택된 투여량에 영향을 미치는 다른 인자들 중에서 작용제, 수혜 환자의 연령, 체중 및 임상적 상태, 및 요법을 수행하는 임상 의사의 또는 의사의 경험 및 판단에 따라 달라진다. 일반적으로, 투여량은 종양의 성장을 저속화시키고, 바람직하게는 퇴행시키고, 또한 바람직하게는 암의 완전한 퇴행을 유발하기에 충분해야 한다. 투여량은 범위는 약 0.01 mg/kg/일 내지 약 5,000 mg/kg/일일 수 있다. 바람직한 측면에서, 투여량은 범위는 약 1 mg/kg/일 내지 약 1,000 mg/kg/일일 수 있다. 한 측면에서, 용량 범위는 단일, 분할 또는 연속 투여량으로 약 0.1 mg/day 내지 약 50 g/일; 약 0.1 mg/day 내지 약 25 g/일; 약 0.1 mg/day 내지 약 10 g/일; 약 0.1 mg 내지 약 3 g/일; 또는 약 0.1 mg 내지 약 1 g/일이 될 것이다(상기 용량은 환자의 체중(kg), 체표면적(m<sup>2</sup>), 및 연령(세)에 대하여 조정될 수 있다). 제약 제제의 유효량은 임상 의 또는 다른 자격을 갖춘 관찰자에 의해 인지된 객관적으로 확인 가능한 개선을 제공하는 양이다. 예를 들어, 환자 내의 종양의 퇴행은 종양의 직경과 관련하여 측정될 수 있다. 종양 직경의 감소는 퇴행을 나타낸다. 또한, 퇴행은 치료가 중단된 후 종양 재발의 실패로 제시된다. 본원에서 사용되는 바, "투여량 유효 방식"이라는 용어는 피험체 또는 세포에서 원하는 생물학적 효과를 생성하는 활성 화합물의 양을 의미한다.

[0268] 약학 조성물은 투여 설명서와 함께 용기, 팩 또는 분배기 내에 포함될 수 있다.

[0269] 본 발명의 조성물은 염을 추가로 형성할 수 있다. 본 발명의 조성물은 예컨대, 모노, 디, 트리와 같이, 분자 1 개당 1개 초과 의 염을 형성할 수 있다. 이들 형태 모두 특허청구된 본 발명의 범위 내에서 고려된다.

[0270] 본원에서 사용되는 바, "약학적으로 허용가능한 염"은 모체 화합물이 그의 산 또는 염기 염의 제조에 의해 변형되어 있는 본 발명의 화합물의 유도체를 의미한다. 약학적으로 허용가능한 염의 예로는 염기성 잔기, 예컨대, 아민의 무기산 또는 유기산 염, 산성 잔기, 예컨대, 카복실산의 알칼리 또는 유기 염 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 약학적으로 허용가능한 염은 예를 들어, 무독성 무기산 또는 유기산으로부터 형성된 모체 화합물의 통상적인 무독성 염 또는 4차 암모늄 염을 포함한다. 예를 들어, 상기 통상적인 무독성 염은 2-아세톡시벤조산, 2-하이드록시에탄술폰산, 아세트산, 아스코르브산, 벤젠술폰산, 벤조산, 중탄산, 탄산, 시트르산, 에데트산, 에탄 디술폰산, 1,2-에탄 술폰산, 푸마르산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루탐산, 글리콜산, 글리콜리 아르사닐산, 핵실레소르신산, 하이드라밤산, 브롬화수소산, 염산, 요오드화수소산, 하이드록시말레산, 하이드록시나프토산, 이세티온산, 락트산, 락토비온산, 라우릴 술폰산, 말레산, 말산, 만델산, 메탄 술폰산, 넵실산, 질산, 옥살산, 팜산, 판토텐산, 페닐아세트산, 인산, 폴리갈락투론산, 프로피온산, 살리사이클산, 스테아르산, 수바세트산, 숙신산, 술폰산, 술폰닐산, 황산, 탄닌산, 주석산, 타르타르산, 툴루엔술폰산, 및 통상적으로 발생하는 아미노산, 예컨대, 글리신, 알라닌, 페닐알라닌, 아르기닌 등으로부터 선택된 무기산 및 유기산으로부터 유도된 염들을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

- [0271] 약학적으로 허용가능한 염의 다른 예로는 핵산산, 사이클로펜탄 프로피온산, 피루브산, 말론산, 3-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 신남산, 4-클로로벤젠술포산, 2-나프탈렌술포산, 4-톨루엔술포산, 캄포르술포산, 4-메틸비사이클로-[2.2.2]-옥트-2-엔-1-카복실산, 3-페닐프로피온산, 트리메틸아세트산, 3급 부틸아세트산, 뮤콘산 등을 포함한다. 본 발명은 또한 모체 화합물에 존재하는 산성 양성자가 금속 이온, 예컨대, 알칼리 금속 이온, 알칼리토 이온 또는 알루미늄 이온으로 치환될 때 형성된 염; 또는 유기 염기, 예컨대, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민, N 메틸글루카민 등과의 배위체도 포함한다.
- [0272] 약학적으로 허용가능한 염에 대한 모든 언급은 상기 염의 본원에 정의된 용매 부가 형태(용매화물) 또는 결정 형태(다형체)를 포함한다는 것이 이해되어야 한다.
- [0273] 본 발명의 조성물은 또한 에스테르, 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 에스테르로서 제조될 수도 있다. 예를 들어, 화합물의 카복실산 작용기는 그의 상응하는 에스테르, 예를 들어, 메틸, 에틸 또는 다른 에스테르로 전환될 수 있다. 또한, 화합물의 알콜 기는 그의 상응하는 에스테르, 예를 들어, 아세테이트, 프로피오네이트 또는 다른 에스테르로 전환될 수 있다.
- [0274] 본 발명의 조성물은 프로드럭, 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 프로드럭으로서 제조될 수도 있다. "프로-드럭" 및 "프로드럭"이라는 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용되고, 생체내에서 활성 모체 약물을 방출하는 임의의 화합물을 의미한다. 프로드럭이 제약의 많은 바람직한 성질(예컨대, 가용성, 생체이용률, 제조 등)을 향상시키는 것으로 공지되어 있기 때문에, 본 발명의 화합물은 프로드럭 형태로 전달될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본원에서 특허청구된 화합물의 프로드럭, 상기를 전달하는 방법 및 상기를 함유하는 조성물을 포함한다. "프로드럭"은 이러한 프로드럭이 피험체에게 투여될 때 생체내에서 본 발명의 활성 모체 약물을 방출하는 임의의 공유 결합된 담체를 포함한다. 본 발명에서 프로드럭은 변형이 상용적인 조작에 의해 또는 생체내에서 절단되어 모체 화합물을 생성하는 방식으로 화합물에 존재하는 작용기를 변형시킴으로써 제조된다. 프로드럭은 하이드록시, 아미노, 술폰하이드릴, 카복시 또는 카보닐 기가 각각 유리 하이드록실, 유리 아미노, 유리 술폰하이드릴, 유리 카복시 또는 유리 카보닐 기를 형성하도록 생체내에서 절단될 수 있는 임의의 기에 결합되어 있는 본 발명의 화합물을 포함한다.
- [0275] 프로드럭의 예로는 본 발명의 화합물의 하이드록시 작용기의 에스테르(예컨대, 아세테이트, 디알킬아미노 아세테이트, 포르메이트, 포스페이트, 술페이트 및 벤조에이트 유도체) 및 카바메이트(예컨대, N,N-디메틸아미노카보닐), 카복실 작용기의 에스테르(예컨대, 에틸 에스테르, 모르폴리노에탄올 에스테르), 아미노 작용기의 N 아실 유도체(예컨대, N 아세틸), N 만니히(Mannich) 염기, 슈프(Schiff) 염기 및 엔아미논, 및 케톤 및 알데하이드 작용기의 옥심, 아세탈, 케탈 및 에놀 에스테르 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다(문헌 [Bundegaard, H., *Design of Prodrugs*, p1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985)] 참조).
- [0276] 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 에스테르 또는 프로드럭은 경구, 비내, 경피, 폐, 흡입, 협측, 설하, 복강내, 피하, 근육내, 정맥내, 직장, 흉막내, 수막공간내 및 비경구적으로 투여된다. 한 실시양태에서, 상기 화합물은 경구적으로 투여된다. 당업자는 특정 투여 경로들의 장점을 인식할 것이다.
- [0277] 화합물을 사용하는 투약 요법은 환자의 유형, 종, 연령, 체중, 성별 및 의학적 상태; 치료하고자 하는 병증의 중증도; 투여 경로; 환자의 신장 및 간 기능; 및 사용되는 특정 화합물 또는 그의 염을 포함하는 다양한 인자에 따라 선택된다. 숙련된 의사 또는 수의사는 병증을 예방하거나, 병증에 대항하거나 병증의 진행을 정지시키는 데에 요구되는 약물의 유효량을 용이하게 결정하여 처방할 수 있다.
- [0278] 본 발명의 개시된 화합물의 제제화 및 투여 기법은 문헌 [*Remington: the Science and Practice of Pharmacy*, 19<sup>th</sup> edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995)]에서 살펴볼 수 있다. 한 실시양태에서, 본원에 기술된 화합물, 및 그의 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 함께 제약 제제에서 사용된다. 적합한 약학적으로 허용가능한 담체는 불활성 고체 충전제 또는 희석제 및 멸균 수성 또는 유기 용액을 포함한다. 상기 화합물은 본원에 기술된 범위 내의 원하는 투여량을 제공하기에 충분한 양으로 상기 약학 조성물에 존재할 것이다.
- [0279] 달리 명시되지 않은 한, 본원에서 사용된 모든 백분율(%) 및 비는 중량을 기준으로 한 것이다. 본 발명의 다른 특징 및 장점은 다양한 실시예로부터 자명하다. 제공된 실시예는 본 발명의 실시예에 유용한 다양한 성분 및 방법을 예시한다. 실시예는 특허청구된 본 발명을 제한하지 않는다. 당업자는 본 개시내용에 기초하여 본 발명의 실시예에 유용한 다른 성분 및 방법을 확인하고 사용할 수 있다.
- [0280] 본 발명은 그의 과정은 히스톤 또는 다른 단백질의 메틸화 상태 조절에 의해 영향을 받을 수 있는 병증 및 질환

인 것이고, 여기서, 상기 메틸화 상태는 적어도 부분적으로는 EZH2의 활성화에 의해 매개되는 것인, 병증 및 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 히스톤의 메틸화 상태 조절이 결국에는 메틸화에 의해 활성화되는 표적 유전자, 및/또는 메틸화에 의해 억제되는 표적 유전자의 발현 수준에 영향을 줄 수 있다. 본 방법은 상기 치료를 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의, 본 발명의 조성물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물을 상기 치료를 필요로 하는 피험체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0281] 적어도, 비정상적인 히스톤 메틸화가 특정 암 및 전암성 병증과 관련이 있다고 밝혀진 사실에 기초하여, 피험체에서 돌연변이체 EZH2를 사용하여 암 또는 전암성 병증을 치료하는 방법은 암 또는 전암성 병증 치료를 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의, 메틸화를 억제시키는 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 피험체에서 암 또는 전암성 병증을 치료하는 방법은 암 또는 전암성 병증 치료를 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의, 비메틸화된 H3-K27의 모노메틸화된 H3-K27(H3-K27me1)로의 전환을 억제시키는 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 피험체에서 암 또는 전암성 병증을 치료하는 방법은 암 또는 전암성 병증 치료를 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의, 모노메틸화된 H3-K27(H3-K27me1)의 디메틸화된 H3-K27(H3-K27me2)로의 전환을 억제시키는 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 피험체에서 암 또는 전암성 병증을 치료하는 방법은 암 또는 전암성 병증 치료를 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의, H3-K27me2의 트리메틸화된 H3-K27(H3-K27me3)로의 전환을 억제시키는 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 피험체에서 암 또는 전암성 병증을 치료하는 방법은 암 또는 전암성 병증 치료를 필요로 하는 피험체에게 치료적 유효량의, H3-K27me1의 H3-K27me2로의 전환 및 H3-K27me2의 H3-K27me3으로의 전환, 둘 모두를 억제시키는 화합물을 투여하는 단계를 포함한다. 히스톤 또는 단백질 메틸화의 세포 수준의 전반적인 증가 없이도 중요한 게놈 유전자좌 중 크로마틴에서 질환 특이 메틸화 증가가 일어날 수 있다는 점에 주목하는 것이 중요하다. 예를 들어, 전반적인 히스톤 또는 단백질 저메틸화를 배경으로 하여 중요한 질환 관련 유전자에서의 비정상적인 과메틸화가 발생할 수 있다.

[0282] 메틸화 조절 인자는 일반적으로 세포 증식을 조절하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에서, 메틸화를 감소시키는 작용제로 과도한 증식을 감소시킬 수 있는 반면, 메틸화를 증가시키는 작용제로는, 불충분한 증식을 증가시킬 수 있다. 따라서, 치료가 가능한 질환으로는 과증식성 질환, 예컨대, 양성 세포 성장 및 악성 세포 성장(암)을 포함할 수 있다.

[0283] EZH2 매개 단백질 메틸화가 관여하는 장애는 암, 세포 증식성 장애, 또는 전암성 병증일 수 있다. 본 발명은 추가로 상기 치료를 필요로 하는 피험체에게 암 치료용으로 유용한 약제의 제조를 위한 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물의 용도를 제공한다. 치료될 수 있는 예시적인 암으로는 비호지킨 림프종, 여포성 림프종(FL) 및 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL)을 비롯한, 림프종; 흑색종; 및 CML을 비롯한, 백혈병을 포함한다. 예시적인 전암성 병증으로는 골수형성이상 증후군(MDS: 이전에는 전백혈병으로 알려져 있었던 것)을 포함한다

[0284] 일반적으로, 메틸화 조절 인자인 화합물은 일반적으로 세포 증식을 조절하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에서, 과도한 증식은 메틸화를 감소시키는 작용제로 감소시킬 수 있는 반면, 불충분한 증식은 메틸화를 증가시키는 작용제로 자극시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 화합물에 의해 치료될 수 있는 질환으로는 과증식성 질환, 예컨대, 양성 세포 성장 및 악성 세포 성장을 포함한다.

[0285] 본원에서 사용되는 바, "그를 필요로 하는 피험체"란, EZH2 매개 단백질 메틸화가 관여하는 장애를 앓는 피험체, 또는 일반 집단에 비해 상대적으로 상기 장애의 발병 위험이 증가되어 있는 피험체이다. 그를 필요로 하는 피험체는 전암성 병증을 앓는 피험체일 수 있다. 바람직하게, 그를 필요로 하는 피험체는 암을 앓는 피험체이다. "피험체"는 포유동물을 포함한다. 포유동물은 예컨대, 임의의 포유동물, 예컨대, 인간, 영장류, 조류, 마우스, 래트, 가금류, 개, 고양이, 소, 말, 염소, 낙타, 양 또는 돼지일 수 있다. 바람직하게, 포유동물은 인간이다.

[0286] 본 발명의 피험체로는 암 또는 전암성 병증 진단을 받았거나, 그 증상을 앓거나, 또는 발병 위험에 있는 임의의 인간 피험체를 포함한다. 본 발명의 피험체로는 돌연변이체 EZH2를 발현하는 임의의 인간 피험체를 포함한다. 예를 들어, 돌연변이체 EZH2는 치환, 점 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 미스센스 돌연변이, 결실, 또는 삽입인 하나 이상의 돌연변이 또는 본원에 기술된 임의의 다른 EZH2 돌연변이를 포함한다.

[0287] 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체는 불응성 또는 내성 암을 앓는 피험체일 수 있다. "불응성 또는 내성 암"이란 치료에 반응하지 않는 암을 의미한다. 암은 치료 시작시 내성일 수 있거나, 또는 치료 동안 내성이 될 수 있다. 일부 실시양태에서, 그를 필요로 하는 피험체는 가장 최근 요법시 관해 이후에 암이 재발된 피험체이

다. 일부 실시양태에서, 그를 필요로 하는 피험체는 모든 공지의 효과적인 암 치료 요법을 받고, 실패한 피험체이다. 일부 실시양태에서, 그를 필요로 하는 피험체는 1종 이상의 종래 요법을 받은 피험체이다. 특정 실시양태에서, 종래 요법은 단일요법이다. 특정 실시양태에서, 종래 요법은 병용 요법이다.

- [0288] 일부 실시양태에서, 그를 필요로 하는 피험체는 이전 요법의 결과로서 속발성 암을 앓는 피험체일 수 있다. "속발성 암"이란 이전 발암성 요법, 예컨대, 화학요법에 기인하거나, 또는 그의 결과로서 유발된 암을 의미한다.
- [0289] 피험체는 또한 EZH2 히스톤 메틸트랜스퍼라제 억제제 또는 임의의 다른 치료제에 대해 내성을 보일 수 있다.
- [0290] 본 발명은 또한 암을 앓는 피험체에 대한 병용 요법을 선택하는 방법을 특징으로 한다. 본 방법은 피험체로부터의 시료 중 본원에 기술된 하나 이상의 EZH2 돌연변이를 검출하는 단계; 및 하나 이상의 EZH2 돌연변이의 존재에 기초하여 암을 치료하기 위한 병용 요법을 선택하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 요법은 피험체에게 본 발명의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 방법은 피험체에게 치료적 유효량의 본 발명의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. EZH2 돌연변이는 당업계에서 공지된 임의의 적합한 방법을 사용함으로써 검출할 수 있다. 추가의 방법은 미국 특허 공개 US 20130040906(상기 특허는 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다)에 기술되어 있다.
- [0291] 본원에 기술된 방법 및 용도는 그를 필요로 하는 피험체에게 본 발명의 조성물(예컨대, 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 치료제를 포함하는 조성물)을 투여하기 전 및/또는 그 이후에 상기 피험체로부터의 시료 중 본원에 기술된 하나 이상의 EZH2 돌연변이를 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 테스트되는 시료 중 본원에 기술된 하나 이상의 EZH2 돌연변이의 존재한다면, 이는 피험체가 본 발명의 병용 요법에 대해 반응성이라는 것을 시사하는 것이다.
- [0292] 본 발명은 피험체에서의 본원에 기술된 하나 이상의 EZH2 돌연변이의 유전적 스크리닝에 의해 피험체에 대한 맞춤형 의학, 치료법 및/또는 암 관리법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 병용 요법에 대한 피험체의 반응성을 측정하고, 피험체가 병용 요법에 대해 반응성일 때, 피험체에게 본 발명의 조성물을 투여함으로써 그를 필요로 하는 피험체에서 암 또는 전암성 병증의 증상을 치료 또는 완화시키는 방법을 제공한다. 반응성은 피험체로부터의 시료를 수득하고, 본원에 기술된 하나 이상의 EZH2 돌연변이를 검출함으로써 측정되고, 본원에 기술된 상기 하나 이상의 EZH2 돌연변이가 존재한다면, 이는 피험체가 본 발명의 조성물에 대해 반응성이라는 것을 시사하는 것이다. 일단 피험체의 반응성이 측정되고 나면, 치료적 유효량의 조성물, 예를 들어, 화학식 IIa의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 치료제를 포함하는 조성물을 투여할 수 있다. 조성물의 치료적 유효량은 당업계의 숙련가에 의해 결정될 수 있다.
- [0293] 본원에서 사용되는 바, "반응성"이라는 용어는 "반응성인," "감수성인," 및 "감수성"이라는 용어와 상호교환적으로 사용되고, 이는 본 발명의 조성물을 투여받았을 때, 피험체가 치료학적 반응을 보인다는 것, 예컨대, 피험체의 종양 세포 또는 종양 조직이 아포프토시스 및/또는 괴사되고/거나, 성장, 분할 또는 증식 감소를 보인다는 것을 의미하는 것이다. 상기 용어는 또한 피험체가 본 발명의 조성물을 투여받았을 때, 치료학적 반응을 보일 가능성, 예컨대, 예컨대, 피험체의 종양 세포 또는 종양 조직이 아포프토시스 및/또는 괴사되고/거나, 성장, 분할 또는 증식 감소를 보일 가능성이 일반 집단에 비해 상대적으로 높을 수 있거나, 또는 높다는 것을 의미한다.
- [0294] "시료"란, 피험체로부터 유래된 임의의 생물학적 시료를 의미하며, 세포, 조직 시료, 체액(점액, 혈액, 혈장, 혈청, 뇨, 타액, 및 정액을 포함하나, 이에 한정되지 않는다), 종양 세포, 및 종양 조직을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 시료는 치료 중 또는 테스트 중이 피험체에 의해 제공받을 수 있다. 별법으로, 시료는 당업계의 통상의 관행에 따라 의사에 의해 수득될 수 있다.
- [0295] 본원에서 사용되는 바, "세포 증식성 장애"라는 용어는 비조절된 또는 비정상적인 성장, 또는 그 둘 모두로 인해 원치않는 병증 또는 질환이 발병될 수 있으며, 이는 암성일 수 있거나, 또는 암성이 아닐 수 있는 병증을 의미한다. 본 발명의 예시적인 세포 증식성 장애는 세포 분열 조절 이상인 다양한 병증을 포함한다. 세포 증식성 장애의 예로는 신생물, 양성 종양, 악성 종양, 전암성 병증, 상피내 종양, 캡슐형 종양, 전이성 종양, 액상 종양, 고형 종양, 면역학적 종양, 혈액 종양, 암, 암종, 백혈병, 림프종, 육종 및 신속하게 분열하는 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본원에서 사용되는 바, "신속하게 분열하는 세포"라는 용어는 동일한 조직 내의 인접하는 세포들 또는 나란히 놓여있는 세포들 사이에서 예측되거나, 또는 관찰되는 속도를 초과하거나, 또는 그 속도보다 더 높은 속도로 분열하는 임의의 세포로서 정의된다. 세포 증식성 장애는 전암 또는 전암성 병증을 포함한다. 세포 증식성 장애로는 암을 포함한다. 바람직하게, 본원에서 제공되는 방법은 암의 증상을 치료 또는 완화시키는 데 사용된다. "암"이라는 용어는 고형 종양 뿐만 아니라, 혈액 종양 및/또는 악성 종양도 포함한다.

"전암 세포" 또는 "전암성 세포"는 전암 또는 전암성 병증인 세포 증식성 장애의 소견을 보이는 세포이다. "암 세포" 또는 "암성 세포"는 암인 세포 증식성 장애의 소견을 보이는 세포이다. 임의의 재현가능한 측정 수단을 이용하여 암 세포 또는 전암성 세포를 확인할 수 있다. 암 세포 또는 전암성 세포는 조직 시료(예를 들어, 생검 시료)의 조직학적 분류 또는 등급화에 의해 확인될 수 있다. 암 세포 또는 전암성 세포는 적절한 분자 마커의 사용을 통해 확인될 수 있다.

[0296] 비암성 병증 또는 장애의 예로는 류마티스 관절염; 염증; 자가면역 질환; 림프증식성 병증; 말단비대증; 류마티스성 척추염; 골관절염; 통풍, 다른 관절염성 병증; 패혈증; 패혈증성 쇼크; 내독성 쇼크; 그람 음성 패혈증; 독성 쇼크 증후군; 천식; 성인 호흡 곤란 증후군; 염증성 장 질환; 크론병; 건선; 습진; 궤양성 결장염; 췌장 섬유증; 간 섬유증; 급성 및 만성 신장 질환; 과민성 장 증후군; 발열; 재협착증; 뇌 말라리아; 뇌졸중 및 허혈성 손상; 신경 외상; 알츠하이머병; 헌팅턴병; 파킨슨병; 급성 및 만성 통증; 알레르기성 비염; 알레르기성 결막염; 만성 심부전; 급성 관상동맥 증후군; 악액질; 말라리아; 나병; 리슈만편모충증; 라임병; 레이터 증후군; 급성 활막염; 근육 퇴행, 윤활낭염; 건염; 건막염; 헤르니아, 파열 또는 탈출 추간관 증후군; 골화석증; 혈전증; 재협착증; 규폐증; 폐 췌육증; 골 흡수 질환, 예컨대, 골다공증; 이식편 대 숙주 반응; 다발성 경화증; 루푸스; 섬유 근육통; AIDS 및 다른 바이러스 질환, 예컨대, 대상포진, 헤르페스 심플렉스 I 또는 II, 인플루엔자 바이러스 및 사이토메갈로바이러스; 및 당뇨병을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0297] 암의 예로는 부신피질 암종, AIDS 관련 암, AIDS 관련 림프종, 항문암, 항문직장암, 항문관암, 충수암, 소아 소뇌 성상세포종, 소아 뇌 성상세포종, 기저세포 암종, 피부암(비흑색종), 담낭암, 간외담관암, 간내담관암, 방광암, 요로방광암, 골 및 관절 암, 골육종 및 악성 섬유 조직구종, 뇌암, 뇌 종양, 뇌간 신경외교종, 소뇌 성상세포종, 뇌 성상세포종/악성 신경외교종, 뇌실막종, 수모 세포종, 천막상 원시 신경외배엽 종양, 시각 경로 및 시상하부 신경외교종, 유방암, 기관지 샘암종/카르시노이드, 카르시노이드 종양, 위장관암, 신경계암, 신경계 림프종, 중추 신경계 암, 중추 신경계 림프종, 자궁경부암, 소아암, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수증식성 장애, 결장암, 결장직장암, 피부 T 세포 림프종, 림프 신생물, 균상식육종, 세지아리(Seziary) 증후군, 자궁내막암, 식도암, 두개의 생식 세포 종양, 성선의 생식 세포 종양, 간외담관암, 안암, 안구내 흑색종, 망막아세포종, 담낭암, 위(복부)암, 위장관 카르시노이드 종양, 위장관 기질 종양(GIST), 생식 세포 종양, 난소 생식 세포 종양, 임신 영양막 종양 신경외교종, 두경부암, 간세포(간)암, 호지킨 림프종, 하인두암, 안구내 흑색종, 안구암, 췌도 세포 종양(내분비 췌장), 카포시 육종, 신장암, 신암, 신장암, 후두암, 급성 림프아구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 모발 세포 백혈병, 입술구강암, 간암, 폐암, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, AIDS 관련 림프종, 비호지킨 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 발덴스트람(Waldenstram) 거대글로불린혈증, 수모세포종, 흑색종, 안구내(안) 흑색종, 메르켈(merkel) 세포 암종, 악성 중피종, 중피종, 전이성 편평경부암, 입암, 설암, 다발성 내분비 신생물 증후군, 균상 식육종, 골수형성이상 증후군, 골수형성이상/골수증식성 질환, 만성 골수성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 다발성 골수종, 만성 골수증식성 장애, 비인두암, 신경아세포종, 구암, 구강암, 구인두암, 난소암, 난소 상피암, 난소 저악성 잠재성 종양, 췌장암, 췌도 세포 췌장암, 부비동 및 비강암, 부갑상샘암, 음경암, 인두암, 크롬친화세포종, 송과체모세포종 및 천막상 원시 신경외배엽 종양, 뇌하수체 종양, 혈장 세포 신생물/다발성 골수종, 흉막폐 아세포종, 전립샘암, 직장암, 신우 및 요관암, 전이 세포암, 망막아세포종, 횡문근 육종, 타액샘암, 유잉 육종 종양 패밀리, 카포시 육종, 연조직 육종, 자궁암, 자궁육종, 피부암(비흑색종), 피부암(흑색종), 메르켈 세포 피부 암종, 소장암, 연조직 육종, 편평 세포 암종, 복부(위)암, 천막상 원시 신경외배엽 종양, 정소암, 인후암, 흉샘종, 흉샘종 및 흉샘 암종, 갑상샘암, 신우, 요관 및 다른 뇨 기관의 전이 세포암, 임신 영양막 종양, 요도암, 자궁내막 자궁암, 자궁육종, 자궁체부암, 질암, 음문암 및 율름 종양을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0298] "혈액계의 세포 증식성 장애"는 혈액계의 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 혈액계의 세포 증식성 장애로는 림프종, 백혈병, 골수성 신생물, 비만 세포 신생물, 척수형성이상증, 양성 단일클론 감마글로불린병증, 림프종모양 육아종증, 림프종모양 구진증, 진성 적혈구증가증, 만성 골수세포성 백혈병, 원인불명 골수화생 및 본태성 혈소판혈증을 포함할 수 있다. 혈액계의 세포 증식성 장애로는 혈액계의 세포의 과다형성증, 형성이상증 및 화생을 포함할 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 조성물은 본 발명의 혈액암, 또는 본 발명의 혈액 세포 증식성 장애로 이루어진 군으로부터 선택되는 암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 혈액암은 다발성 골수종, 림프종(호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 소아 림프종, 및 림프구 및 피부 기원의 림프종 포함), 백혈병(소아 백혈병, 모발 세포 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수세포성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수세포성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 및 비만 세포 백혈병 포함), 골수성 신생물 및 비만 세포 신생물을 포함할 수 있다.

- [0299] "폐의 세포 증식성 장애"는 폐 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 폐의 세포 증식성 장애는 폐 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 폐의 세포 증식성 장애로는 폐암, 폐의 전암 또는 전암성 병증, 폐의 양성 성장물 또는 병변, 폐의 악성 성장물 또는 병변, 및 폐 이외의 다른 신체 조직 및 기관의 전이성 병변을 포함할 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 조성물은 폐암 또는 폐의 세포 증식성 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 폐암으로는 모든 형태의 폐암을 포함할 수 있다. 폐암은 악성 신생물, 상피내 암종, 정형 카르시노이드 종양, 및 비정형 카르시노이드 종양을 포함할 수 있다. 폐암으로는 소세포 폐암("SCLC"), 비소세포 폐암("NSCLC"), 편평 세포 암종, 샘암종, 소세포 암종, 대세포 암종, 샘편평 세포 암종, 및 중피종을 포함할 수 있다. 폐암은 "반흔 암종," 기관지폐포암종, 거대세포 암종, 방추세포 암종 및 대세포 신경내분비 암종을 포함할 수 있다. 폐암은 조직학적 및 초미세구조적 불균질성(예컨대, 혼합형 세포 유형)을 가지는 폐 신생물을 포함할 수 있다.
- [0300] 폐의 세포 증식성 장애는 폐 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 폐의 세포 증식성 장애는 폐암 및 폐의 전암성 병증을 포함할 수 있다. 폐의 세포 증식성 장애는 폐의 과다형성증, 화생 및 형성이상증을 포함할 수 있다. 폐의 세포 증식성 장애는 석면에 의해 유도된 과다형성증, 편평 화생 및 양성 반응성 중피 화생을 포함할 수 있다. 폐의 세포 증식성 장애는 중층 편평 상피에 의한 원주 상피의 대체 및 점막 형성이상증을 포함할 수 있다. 흡입된 손상성 환경 물질, 예컨대, 담배 연기 및 석면에 노출된 개체는 폐의 세포 증식성 장애가 발병될 위험이 증가되어 있을 수 있다. 개체가 폐의 세포 증식성 장애의 발병에 취약하게 만들 수 있는 기존 폐 질환으로는 만성 간질성 폐 질환, 괴사성 폐 질환, 공피증, 류마티스 질환, 사르코이드증, 간질성 폐렴, 결핵, 반복성 폐렴, 특발성 폐 섬유증, 육아종, 석면증, 섬유화 폐포염 및 호지킨 병을 포함할 수 있다.
- [0301] "결장의 세포 증식성 장애"는 결장의 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 바람직하게는, 결장의 세포 증식성 장애는 결장암이다. 바람직하게, 본 발명의 조성물은 결장암 또는 결장의 세포 증식성 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 결장암은 모든 형태의 결장암을 포함할 수 있다. 결장암으로는 산발성 결장암 및 유전성 결장암을 포함할 수 있다. 결장암으로는 악성 결장 신생물, 상피내 암종, 정형 카르시노이드 종양 및 비정형 카르시노이드 종양을 포함할 수 있다. 결장암은 샘암종, 편평 세포 암종, 및 샘편평 세포 암종을 포함할 수 있다. 결장암은 유전성 비용종증 결장직장암, 가족성 샘종성 용종증, 가드너(Gardner) 증후군, 포이즈-제거스(Peutz-Jeghers) 증후군, 터코트(Turcot) 증후군 및 소아 용종증으로 이루어진 군으로부터 선택된 유전성 증후군과 관련될 수 있다. 결장암은 유전성 비용종증 결장직장암, 가족성 샘종성 용종증, 가드너 증후군, 포이즈-제거스 증후군, 터코트 증후군 및 소아 용종증으로 이루어진 군으로부터 선택된 유전성 증후군에 의해 유발될 수 있다.
- [0302] 결장의 세포 증식성 장애는 결장 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 결장의 세포 증식성 장애는 결장암, 결장의 전암성 병증, 결장의 샘종성 용종 및 결장의 속발성 병변을 포함할 수 있다. 결장의 세포 증식성 장애는 샘종을 포함할 수 있다. 결장의 세포 증식성 장애는 결장의 과다형성증, 화생 및 형성이상증을 특징으로 할 수 있다. 개체가 결장의 세포 증식성 장애의 발병에 취약하게 만들 수 있는 기존 결장 질환으로는 기존 결장암을 포함할 수 있다. 개체가 결장의 세포 증식성 장애의 발병에 취약하게 만들 수 있는 현존 질환으로는 크론병 및 궤양성 결장염을 포함할 수 있다. 결장의 세포 증식성 장애로는 p53, ras, FAP 및 DCC로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자에서의 돌연변이와 관련될 수 있다. 개체는 p53, ras, FAP 및 DCC로 이루어진 군으로부터 선택된 유전자에서의 돌연변이의 존재로 인해 결장의 세포 증식성 장애가 발병될 위험이 상승이 개체일 수 있다.
- [0303] "췌장의 세포 증식성 장애"는 췌장의 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 췌장의 세포 증식성 장애는 췌장 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 췌장의 세포 증식성 장애는 췌장암, 췌장의 전암 또는 전암성 병증, 췌장의 과다형성증, 및 췌장의 형성이상증, 췌장의 양성 성장물 또는 병변, 췌장의 악성 성장물 또는 병변, 및 췌장 이외의 신체 조직 및 기관의 전이성 병변을 포함할 수 있다. 췌장암은 모든 형태의 췌장암을 포함한다. 췌장암은 관샘암종, 샘편평 암종, 다형성 거대세포 암종, 점액소 샘암종, 파골세포 유사 거대세포 암종, 점액소 낭샘 암종, 세엽 암종, 비분류된 대세포 암종, 소세포 암종, 췌장아세포종, 유두 신생물, 점액소 낭샘종, 유두 낭성 신생물 및 장액 낭샘종을 포함할 수 있다. 췌장암은 조직학적 및 초미세구조적 불균질성(예컨대, 혼합형 세포 유형)을 가지는 췌장 신생물도 포함할 수 있다.
- [0304] "전립샘의 세포 증식성 장애"는 전립샘의 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 전립샘의 세포 증식성 장애는 전립샘 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 전립샘의 세포 증식성 장애는 전립샘암, 전립샘의 전암 또는 전암성 병증, 전립샘의 양성 성장물 또는 병변, 전립샘의 악성 성장물 또는 병변, 및 전립샘 이외의 신체 조직 및 기관의 전이성 병변을 포함할 수 있다. 전립샘의 세포 증식성 장애는 전

림샘의 과다형성증, 화생 및 형성이상증을 포함할 수 있다.

- [0305] "피부의 세포 증식성 장애"는 피부의 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 피부의 세포 증식성 장애는 피부 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 피부의 세포 증식성 장애는 피부의 전암 또는 전암성 병증, 피부의 양성 성장물 또는 병변, 흑색종, 악성 흑색종 및 피부의 다른 악성 성장물 또는 병변, 및 피부 이외의 신체 조직 및 기관의 전이성 병변을 포함할 수 있다. 피부의 세포 증식성 장애는 피부의 과다형성증, 화생 및 형성이상증을 포함할 수 있다.
- [0306] "난소의 세포 증식성 장애"는 난소의 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 난소의 세포 증식성 장애는 난소 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 난소의 세포 증식성 장애는 난소의 전암 또는 전암성 병증, 난소의 양성 성장물 또는 병변, 난소의 악성 성장물 또는 병변, 및 난소 이외의 신체 조직 및 기관의 전이성 병변을 포함할 수 있다. 난소의 세포 증식성 장애는 난소의 과다형성증, 화생 및 형성이상증을 포함할 수 있다.
- [0307] "유방의 세포 증식성 장애"는 유방의 세포를 수반하는 세포 증식성 장애이다. 유방의 세포 증식성 장애는 유방 세포에 영향을 미치는 모든 형태의 세포 증식성 장애를 포함할 수 있다. 유방의 세포 증식성 장애는 유방암, 유방의 전암 또는 전암성 병증, 유방의 양성 성장물 또는 병변, 유방의 악성 성장물 또는 병변, 및 유방 이외의 신체 조직 및 기관의 전이성 병변을 포함할 수 있다. 유방의 세포 증식성 장애는 유방의 과다형성증, 화생 및 형성이상증을 포함할 수 있다.
- [0308] 유방의 세포 증식성 장애는 유방의 전암성 병증일 수 있다. 본 발명의 조성물은 유방의 전암성 병증을 치료하는 데에 사용될 수 있다. 유방의 전암성 병증은 유방의 비정형 과다형성증, 관 상피내 암종(DCIS), 관내 암종, 소엽 상피내 암종(LCIS), 소엽 신생물, 및 유방의 0기 또는 0 등급 성장물 또는 병변(예컨대, 0기 또는 0 등급 유방암 또는 상피내 암종)을 포함할 수 있다. 유방의 전암성 병증은 미국 암 연합회(AJCC)에 의해 채택된 TNM 분류 체계에 따라 병기 분류될 수 있고, 이때 원발성 종양(T)은 T0 또는 Tis기로 배정되고; 국부 림프절(N)은 N0기로 배정되고; 원위 전이(M)는 M0기로 배정되었다.
- [0309] 유방의 세포 증식성 장애는 유방암일 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 조성물은 유방암을 치료하는 데에 사용될 수 있다. 유방암은 모든 형태의 유방암을 포함한다. 유방암은 원발성 상피 유방암을 포함할 수 있다. 유방암은 유방이 다른 종양, 예컨대, 림프종, 육종 또는 흑색종에 의해 영향을 받는 암을 포함할 수 있다. 유방암은 유방의 암종, 유방의 관 암종, 유방의 소엽 암종, 유방의 미분화된 암종, 유방의 낭육종 염상, 유방의 혈관육종, 및 유방의 원발성 림프종을 포함할 수 있다. 유방암은 I, II, IIIA, IIIB, IIIC 및 IV기 유방암을 포함할 수 있다. 유방의 관 암종은 침습성 암종, 관내 성분이 우세한 침습성 상피내 암종, 염증성 유방암, 및 면포형, 점액소(콜로이드)형, 수질형, 림프구성 침윤물을 가지는 수질형, 유두형, 경화형 및 관형으로 이루어진 군으로부터 선택된 조직학적 유형을 가지는 유방의 관 암종을 포함할 수 있다. 유방의 소엽 암종은 상피내 성분이 우세한 침습성 소엽 암종, 침습성 소엽 암종 및 침윤성 소엽 암종을 포함할 수 있다. 유방암은 파제트병, 관내 암종을 가지는 파제트병, 및 침습성 관암 종을 가지는 파제트병을 포함할 수 있다. 유방암은 조직학적 및 초미세구조적 불균질성(예를 들어, 혼합형 세포 유형)을 가지는 유방 신생물을 포함할 수 있다.
- [0310] 바람직하게, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체, 또는 용매 화합물은 유방암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 가족성 유방암을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 산발성 유방암을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암이 남성 피험체에서 발생할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 여성 피험체에서 발생할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 폐경 전 여성 피험체 또는 폐경 이후 여성 피험체에서 발생할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 30세 이상의 피험체, 또는 30세 미만의 피험체에서 발생할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 50세 이상의 피험체, 또는 50세 미만의 피험체에서 발생할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 70세 이상의 피험체, 또는 70세 미만의 피험체에서 발생할 수 있다.
- [0311] 치료하고자 하는 유방암은 BRCA1, BRCA2 또는 p53에서의 가족성 또는 자연발생적 돌연변이를 확인하기 위해 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 HER2/neu 유전자 증폭을 가지는 유방암, HER2/neu를 과다발현하는 유방암, 또는 낮은, 중간 정도 또는 높은 수준의 HER2/neu 발현을 가지는 유방암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR), 인간 표피 성장인자 수용체-2, Ki-67, CA15-3, CA 27-29 및 c-Met로 이루어진 군으로부터 선택된 마커에 대해 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 ER 비공지된 유방암, ER 풍부 유방암 또는 ER 부족 유방암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 ER 음성 유방암 또는 ER 양성 유방암으로서 분류될 수 있다. 유방암의 ER 분류는 임의의 재현가능한 수단에

의해 수행될 수 있다. 유방암의 ER 분류는 문헌 [Onkologie 27: 175-179 (2004)]에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 PR 비공지된 유방암, PR 풍부 유방암 또는 PR 부족 유방암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 PR 음성 유방암 또는 PR 양성 유방암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 수용체 양성 유방암 또는 수용체 음성 유방암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 CA 15-3 또는 CA 27-29, 또는 그 둘 모두의 혈중 수준 상승과 관련이 있는 유방암으로서 분류될 수 있다.

[0312] 치료하고자 하는 유방암은 유방의 국소화된 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 음성 감시 림프절(SLN) 생검과 관련되어 있는 유방의 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 양성 감시림프절(SLN) 생검과 관련되어 있는 유방의 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 하나 이상의 양성 액와 림프절과 관련되어 있는 유방의 종양을 포함할 수 있으며, 여기서, 상기 액와 림프절은 임의의 적용가능한 방법에 의해 병기 분류되어 있다. 치료하고자 하는 유방암은 림프절 음성 상태(예컨대, 림프절 음성) 또는 림프절 양성 상태(예컨대, 림프절 양성)를 가지는 종양으로서 분류되어 있는 유방의 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 신체의 다른 위치로 전이되어 있는 유방의 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 골, 폐, 간 또는 뇌로 이루어진 군으로부터 선택된 위치로 전이되어 있는 유방암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 유방암은 전이성, 국소화, 국부화, 국소-국부화, 국소 진행, 원위 전이, 다심성, 양측성, 동측성, 반대측성, 신규 진단, 재발성 및 수술불가능성으로 이루어진 군으로부터 선택된 특징에 따라 분류될 수 있다.

[0313] 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 에스테르, 프로드릭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물은 일반 집단에 비해 상대적으로 유방암이 발병될 위험이 증가되어 있는 피험체에서 유방의 세포 증식성 장애를 치료하거나 예방하는 데에 사용될 수 있거나, 유방암을 치료하거나 예방하는 데에 사용될 수 있다. 일반 집단에 비해 상대적으로 유방암이 발병될 위험이 증가되어 있는 피험체는 유방암의 가족력 또는 개인적 병력이 있는 여성 피험체이다. 일반 집단에 비해 상대적으로 유방암이 발병될 위험이 증가되어 있는 피험체는 BRCA1 또는 BRCA2, 또는 이 둘 모두에서 배선 또는 자연발생적 돌연변이를 가지는 여성 피험체이다. 일반 집단에 비해 상대적으로 유방암이 발병될 위험이 증가되어 있는 피험체는 유방암의 가족력이 있고, BRCA1 또는 BRCA2, 또는 이 둘 모두에서 배선 또는 자연발생적 돌연변이를 가지는 여성 피험체이다. 일반 집단에 비해 상대적으로 유방암이 발병될 위험이 증가되어 있는 피험체는 연령이 30세 초과, 40세 초과, 50세 초과, 60세 초과, 70세 초과, 80세 초과 또는 90세 초과인 여성이다. 일반 집단에 비해 상대적으로 유방암이 발병될 위험이 증가되어 있는 피험체는 유방의 비정형 과다형성증, 관 상피내 암종(DCIS), 관내 암종, 소엽 상피내 암종(LCIS), 소엽 신생물, 또는 유방의 0기 성장물 또는 병변(예컨대, 0기 또는 0 등급 유방암, 또는 상피내 암종)을 앓는 피험체이다.

[0314] 치료하고자 하는 유방암은 스카프-블룸-리차드슨(Scarff-Bloom-Richardson) 체계에 따라 조직학적으로 등급이 매겨질 수 있는데, 여기서, 유방 종양은 1, 2 또는 3의 유사분열 카운트 점수; 1, 2 또는 3의 핵 다형성 점수; 1, 2 또는 3의 관 형성 점수; 및 3 내지 9의 총 스카프-블룸-리차드슨 점수를 배정받는다. 치료하고자 하는 유방암은 유방암 치료에 대한 국제 합의 위원회(International Consensus Panel on the Treatment of Breast Cancer)에 따라 1 등급, 1-2 등급, 2 등급, 2-3 등급 및 3 등급으로 구성된 군으로부터 선택된 종양 등급을 배정받을 수 있다.

[0315] 치료하고자 하는 암은 미국 암 연합회(AJCC) TNM 분류 체계에 따라 병기 분류될 수 있는데, 여기서, 종양(T)은 TX, T1, T1mic, T1a, T1b, T1c, T2, T3, T4, T4a, T4b, T4c 또는 T4d 기를 배정받고, 국부 림프절(N)은 NX, N0, N1, N2, N2a, N2b, N3, N3a, N3b 또는 N3c 기를 배정받고, 원위 전이(M)는 MX, MO 또는 M1 기를 배정받을 수 있다. 치료하고자 하는 암은 미국 암 연합회(AJCC) 분류에 따라 I 기, IIA 기, IIB 기, IIIA 기, IIIB 기, IIIC 기 또는 IV 기로서 병기분류될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 AJCC 분류에 따른 등급, 예컨대, GX 등급(예컨대, 평가될 수 없는 등급), 1 등급, 2 등급, 3 등급 또는 4 등급을 배정받을 수 있다. 치료하고자 하는 암은 pNX, pN0, pN0(I-), pN0(I+), pN0(mol-), pN0(mol+), pN1, pN1(mi), pN1a, pN1b, pN1c, pN2, pN2a, pN2b, pN3, pN3a, pN3b 또는 pN3c의 AJCC 병리학적 분류(pN)에 따라 병기분류될 수 있다.

[0316] 치료하고자 하는 암은 약 2 cm 이하의 직경을 가지는 것으로 측정된 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 암은 약 2 cm 내지 약 5 cm의 직경을 가지는 것으로 측정된 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 암은 약 3 cm 이상의 직경을 가지는 것으로 측정된 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 암은 5 cm 초과 직경을 가지는 것으로 측정된 종양을 포함할 수 있다. 치료하고자 하는 암은 현미경법에 의해 확인된 외관에 의해 잘 분화된, 적절하게 분화된, 약하게 분화된 또는 미분화된 암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 현미경관찰에 의해 확인된 외관에 의해 유사분열 카운트(예컨대, 세포 분열의 양) 또는 핵 다형성(예컨대, 세포의 변화) 면에서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 현미경법에 의해 확인된 외관에 의해 괴사 영역(예컨대, 사멸하거나 퇴행하는 세포의 영역)과 관련된 암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 비정상적인 핵형을 가지는

암, 비정상적인 염색체 수를 가지는 암, 또는 외관에서 비정상적인 하나 이상의 염색체를 가지는 암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 홀배수체, 삼배수체 또는 사배수체 암으로서 분류될 수 있거나, 변경된 배수성을 가지는 암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 염색체 전위, 전체 염색체의 결실 또는 중복, 또는 염색체의 일부의 결실, 중복 또는 증폭 영역을 가지는 암으로서 분류될 수 있다.

- [0317] 치료하고자 하는 암은 DNA 세포분석, 유세포분석 또는 영상 세포분석에 의해 평가될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 세포 분열의 합성 단계(예컨대, 세포 분열의 S 기)에서 세포의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%를 가지는 암으로서 분류될 수 있다. 치료하고자 하는 암은 낮은 S 기 분율 또는 높은 S 기 분율을 가지는 암으로서 분류될 수 있다.
- [0318] 본원에서 사용되는 바, "정상 세포"는 "세포 증식성 장애"의 일부로서 분류될 수 없는 세포이다. 정상 세포는 원치않는 병증 또는 질환의 발생을 유발할 수 있는 비조절된 또는 비정상적인 성장, 또는 이 둘 모두가 없는 상태이다. 바람직하게는, 정상 세포는 정상적으로 작용하는 세포 주기 체크포인트 제어 기전을 보유한다.
- [0319] 본원에서 사용되는 바, "세포를 접촉시키는"이라는 것은 화합물 또는 다른 물질 조성물이 세포와 직접적으로 접촉하고 있거나, 세포에서 원하는 생물학적 효과를 유도할 정도로 충분히 가깝게 있는 상태를 의미한다.
- [0320] 본원에서 사용되는 바, "후보 화합물"이란 이 화합물이 세포, 조직, 시스템, 동물 또는 인간에서 연구원 또는 임상체에 의해 추구되는 원하는 생물학적 또는 의학적 반응을 유도해 낼 가능성이 있는지를 확인하기 위해 하나 이상의 시험관내 또는 생체내 생물학적 검정법으로 테스트된, 또는 테스트될 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 에스테르, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물을 의미한다. 후보 화합물은 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 에스테르, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물이다. 상기 생물학적 또는 의학적 반응은 암의 치료일 수 있다. 상기 생물학적 또는 의학적 반응은 세포 증식성 장애의 치료 또는 예방일 수 있다. 생물학적 반응 또는 효과는 시험관내에서 또는 동물 모델에서 일어나는 세포 증식 또는 성장의 변화뿐만 아니라 시험관내에서 관찰될 수 있는 다른 생물학적 변화도 포함할 수 있다. 시험관내 또는 생체내 생물학적 검정법은 효소 활성 검정법, 전기영동에서의 이동성 변동 검정법, 리포터 유전자 검정법, 시험관내 세포 생존능 검정법 및 본원에 기술된 검정법을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0321] 본원에서 사용되는 바, "치료하는" 또는 "치료하다"라는 것은 질환, 병증, 또는 장애를 퇴치하기 위한 목적으로 환자를 관리 및 보호하는 것을 기술하며, 이는 질환, 병증, 또는 장애의 증상 또는 합병증을 완화시키기 위해, 또는 질환, 병증, 또는 장애를 제거하기 위해 본 발명의 화합물, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0322] 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물은 또한 질환, 병증, 또는 장애를 예방하는 데에도 사용될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "예방하는" 또는 "예방하다"라는 것은 질환, 병증, 또는 장애의 증상 또는 합병증의 발병을 감소 또는 제거하는 것을 기술한다.
- [0323] 본원에서 사용되는 바, "완화시키다"라는 용어는 장애의 징후 또는 증상의 중증도가 감소되는 과정을 기술하기 위한 것이다. 중요하게는, 징후 또는 증상은 제거되지 않고 완화될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물의 투여는 징후 또는 증상의 제거를 유발할 수 있으나, 제거가 요구되는 것은 아니다. 유효 투여량은 징후 또는 증상의 중증도를 감소시킬 것으로 예측되어야 한다. 예를 들어, 다수의 위치들에서 발생할 수 있는 장애, 예컨대, 암의 징후 또는 증상은 암의 중증도가 다수의 위치들 중 1 이상의 위치 내에서 감소되는 경우 완화된다.
- [0324] 본원에서 사용되는 바, "중증도"라는 용어는 전암성 또는 양성 상태에서부터 악성 상태로 형질전환되는 암의 잠재능을 기술하기 위한 것이다. 별법으로 또는 추가로, 중증도는 예를 들어, (국제 암 연맹(UICC) 및 미국 암 연합회(AJCC)에 의해 채택된) TNM 체계에 따라, 또는 당업계에서 인정된 다른 방법으로 암 병기를 기술하기 위한 것이다. 암 병기는 인자, 예컨대, 원발성 종양의 위치, 종양 크기, 종양의 수 및 림프절 관련성(림프절 내로의 암의 퍼짐)에 기초한 암의 정도 또는 중증도를 의미한다. 별법으로 또는 추가로, 중증도는 당업계에서 인정된 방법(국립 암 연구소(National Cancer Institute), [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov) 참조)으로 종양 등급을 기술하기 위한 것이다. 종양 등급은 암 세포가 현미경하에 관찰되는 외관의 비정상적인 정도 및 종양이 성장 및 퍼질 수 있는 속도와 관련하여 암 세포를 분류하는 데에 사용되는 체계이다. 종양 등급을 결정할 때, 세포의 구조 및 성장 패턴을 비롯한 많은 인자들이 고려된다. 종양 등급을 결정하는 데에 사용되는 구체적인 인자는 암의 각 유형에 따라 달라진다. 또한, 중증도는 종양 세포가 동일 조직 유형의 정상 세포와 어느 정도로 유사한지를 의미하는 것으로, 분화로도 지칭되는 조직학적 등급을 기술한다(국립 암 연구소, [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov) 참조). 추가로, 중증도는 종양

세포의 핵의 크기 및 형태, 및 분열하는 종양 세포의 비율(%)을 의미하는 핵 등급을 기술한다(국립 암 연구소, www.cancer.gov 참조).

- [0325] 본 발명의 또 다른 측면에서, 중증도는 종양이 성장 인자를 분비하거나, 세포의 기질을 분해하거나, 혈관을 형성하게 되거나, 나란히 놓여 있는 조직에의 부착을 상실하거나, 전이되는 정도를 기술할 수도 있다. 또한, 중증도는 원발성 종양이 전이되어 있는 위치의 수를 기술할 수 있다. 마지막으로, 중증도는 다양한 유형 및 위치의 종양을 치료하는 어려움을 포함할 수 있다. 예를 들어, 수술불가능한 종양, 다수의 신체체에 더 잘 접근하는 암(혈액 종양 및 면역학적 종양), 및 전통적인 치료에 대해 가장 큰 내성을 가지는 암이 가장 중증인 것으로 간주된다. 이러한 상황에서, 피험체의 기대 수명을 연장시키고/거나, 통증을 감소시키고/거나, 암 세포의 비율을 감소시키고/거나, 세포를 한 시스템에 국한시키고, 암 병기/종양 등급/조직학적 등급/핵 등급을 개선시키는 것이 암의 징후 또는 증상을 완화시키는 것으로 간주된다.
- [0326] 본원에서 사용되는 바, "증상"이라는 용어는 질환, 질병, 손상, 또는 신체 내에서 무엇인가가 알맞지 않다는 것의 표시로서 정의된다. 증상은 이 증상을 경험하는 개체에 의해 감지되거나 인식되지만, 다른 개체들에 의해 용이하게 인식될 수 없다. 상기 다른 개체들은 건강관리 비전문가로서 정의된다.
- [0327] 본원에서 사용되는 바, "징후"라는 용어는 신체 내에서 무엇인가가 알맞지 않다는 것의 표시로서 정의된다. 그러나, 징후는 의사, 간호사 또는 다른 건강관리 전문가에 의해 관찰될 수 있는 것으로서 정의된다.
- [0328] 암은 거의 임의의 징후 또는 증상을 유발할 수 있는 질환 군이다. 징후 및 증상은 암이 존재하는 위치, 암의 크기, 및 암이 근처 기관 또는 구조에 얼마나 많은 영향을 미치는지에 의존할 것이다. 암이 퍼지는(전이되는) 경우, 증상은 신체의 상이한 부분들에서 나타날 수 있다.
- [0329] EZH2 매개 단백질 메틸화가 중요한 역할을 하는 장애는 신경계 질환일 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물은 신경 질환, 예컨대, 간질, 정신분열병, 양극성 장애 또는 다른 심리적 장애 및/또는 정신 장애, 신경증, 골격근 위축증, 및 신경퇴행성 질환, 예컨대, 신경퇴행성 질환을 치료하는 데에도 사용될 수 있다. 신경퇴행성 질환의 예로는 알츠하이머병, 근위축성 측삭 경화증(ALS), 및 파킨슨병을 포함한다. 신경퇴행성 질환의 또 다른 부류로는 적어도 부분적으로 폴리글루타민의 응집에 의해 유발되는 질환을 포함한다. 이 부류의 질환은 헌팅턴병, 척수연수 근위축증(SBMA 또는 케네디병), 치아적핵담창구루이체 위축증(DRPLA), 척수소뇌 실조증 1(SCA 1), 척수소뇌 실조증 2(SCA 2), 마카도-조셉병(MJD; SCA3), 척수소뇌 실조증 6(SCA 6), 척수소뇌 실조증7(SCA 7) 및 척수소뇌 실조증 12(SCA 12)를 포함한다.
- [0330] EZH2에 의해 매개되는 후성적 메틸화가 중요한 역할을 하는 임의의 다른 질환은 본원에 기재된 조성물 및 방법을 이용하여 치료할 수 있거나 예방할 수 있다.
- [0331] 암 치료 결과, 종양 크기는 감소될 수 있다. 종양 크기는 또한 "종양 퇴행"으로도 지칭될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 종양 크기는 치료 이전의 그의 크기에 비하여 5% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 종양 크기는 10% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼 감소되고; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 및 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 종양 크기는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 크기는 종양 직경으로서 측정될 수 있다.
- [0332] 암 치료 결과, 종양 부피는 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 종양 부피는 치료 이전의 그의 크기에 비하여 5% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 종양 크기는 10% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼 감소되고; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 및 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 종양 부피 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다.
- [0333] 암 치료 결과, 종양 개수는 감소된다. 바람직하게, 치료 후, 종양 개수는 치료 이전의 그의 개수에 비하여 5% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 종양 개수는 10% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼 감소되고; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 및 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 종양 개수 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 개수는 나안으로 또는 명시된 비율로 관찰되는 종양을 계수함으로써 측정될 수 있다. 바람직하게, 명시된 비율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다.
- [0334] 암 치료 결과, 원발성 종양 부위로부터 원거리에 있는 다른 조직 또는 기관에서의 전이성 병변의 개수는 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 전이성 병변의 개수는 치료 이전의 개수에 비하여 5% 이상만큼 감소되고; 더욱

바람직하게, 전이성 병변의 개수는 10% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼 감소되고; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 및 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 전이성 병변의 개수는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 전이성 병변의 개수는 나안으로 또는 명시된 배율로 관찰되는 전이성 병변을 계수함으로써 측정될 수 있다. 바람직하게, 명시된 배율은 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 또는 50x이다.

[0335] 암 치료 결과, 담체만을 단독으로 받은 집단에 비하여 치료를 받은 피험체 집단의 평균 생존 기간은 연장될 수 있다. 바람직하게, 평균 생존 기간은 30일 초과만큼; 더욱 바람직하게, 60일 초과만큼; 더욱 바람직하게, 90일 초과만큼; 및 가장 바람직하게 120일 초과만큼 연장된다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 예를 들어, 활성 화합물을 이용한 치료 개시 이후 집단의 평균 생존 기간을 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 또한 활성 화합물을 이용한 1회차 치료 주기 완료 이후 집단의 평균 생존 기간을 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0336] 암 치료 결과, 치료를 받지 않은 집단에 비하여 치료를 받은 피험체 집단의 평균 생존 기간은 연장될 수 있다. 바람직하게, 평균 생존 기간은 30일 초과만큼; 더욱 바람직하게, 60일 초과만큼; 더욱 바람직하게, 90일 초과만큼; 및 가장 바람직하게 120일 초과만큼 연장된다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 예를 들어, 활성 화합물을 이용한 치료 개시 이후 집단의 평균 생존 기간을 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 또한 활성 화합물을 이용한 1회차 치료 주기 완료 이후 집단의 평균 생존 기간을 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0337] 암 치료 결과, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 유사체 또는 유도체가 아닌 약물로 된 단일요법을 받은 집단에 비해 치료를 받은 피험체 집단의 평균 생존 기간은 연장될 수 있다. 바람직하게, 평균 생존 기간은 30일 초과만큼; 더욱 바람직하게, 60일 초과만큼; 더욱 바람직하게, 90일 초과만큼; 및 가장 바람직하게 120일 초과만큼 연장된다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 예를 들어, 활성 화합물을 이용한 치료 개시 이후 집단의 평균 생존 기간을 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 평균 생존 기간 연장은 또한 활성 화합물을 이용한 1회차 치료 주기 완료 이후 집단의 평균 생존 기간을 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0338] 암 치료 결과, 담체만을 단독으로 받은 집단에 비하여 치료를 받은 피험체 집단의 사망률은 감소될 수 있다. 암 치료 결과, 치료를 받지 않은 집단에 비하여 치료를 받은 피험체 집단의 사망률은 감소될 수 있다. 암 치료 결과, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 유사체 또는 유도체가 아닌 약물로 된 단일요법을 받은 집단에 비해 치료를 받은 피험체 집단의 사망률은 감소될 수 있다. 바람직하게, 사망률은 2% 초과만큼; 더욱 바람직하게, 5% 초과만큼; 더욱 바람직하게, 10% 초과만큼; 및 가장 바람직하게, 25% 초과만큼 감소된다. 치료를 받은 피험체 집단의 사망률 감소는 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단의 사망률 감소는 예를 들어, 활성 화합물을 이용한 치료 개시 이후 집단의 단위 시간당 평균 질환 관련 사망수를 계산함으로써 측정될 수 있다. 집단의 사망률 감소는 또한 예를 들어, 활성 화합물을 이용한 1회차 치료 주기 완료 이후 집단의 단위 시간당 평균 질환 관련 사망수를 계산함으로써 측정될 수 있다.

[0339] 암 치료 결과, 종양 성장률은 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 종양 성장률은 치료 이전의 수치에 비하여 5% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 종양 성장률은 10% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 종양 성장률은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 성장률은 단위 시간당 종양 직경 변화에 따라 측정될 수 있다.

[0340] 암 치료 결과, 종양 재성장은 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 종양 재성장은 5% 미만이고; 더욱 바람직하게, 종양 재성장은 10% 미만이고; 더욱 바람직하게, 20% 미만; 더욱 바람직하게, 30% 미만; 더욱 바람직하게, 40% 미만; 더욱 바람직하게, 50% 미만; 더욱더 바람직하게, 50% 미만; 및 가장 바람직하게, 75% 미만이다. 종양 재성장은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 종양 재성장은 예를 들어, 치료 후에 진행된 이전 종양 수축 이후의 종양 직경의 증가를 측정함으로써 측정된다. 종양 재성장 감소는 치료 중단 후 종양의 재발 실패를 나타낸다.

[0341] 세포 증식성 장애를 치료 또는 예방하면, 세포 증식율은 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 세포 증식율은 5% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 10% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 50% 이상만큼; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼;

및 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 세포 증식율은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 세포 증식율은 예를 들어, 단위 시간당 조직 시료 중의 분열 세포수를 측정함으로써 측정된다.

[0342] 세포 증식성 장애를 치료 또는 예방하면, 증식 세포의 비율은 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 증식 세포의 비율은 5% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 10% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼; 더욱 바람직하게, 50% 이상만큼; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼; 및 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 증식 세포의 비율은 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 바람직하게, 증식 세포의 비율은 예를 들어, 조직 시료 중 비분열 세포수에 대해 상대적인 분열 세포수를 정량화함으로써 측정된다. 증식 세포의 비율은 유사분열 지수와 등가일 수 있다.

[0343] 세포 증식성 장애를 치료 또는 예방하면, 세포 증식 영역 또는 구역의 크기는 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 세포 증식 영역 또는 구역의 크기는 치료받기 이전의 그의 크기에 비하여 5% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 10% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 세포 증식 영역 또는 구역의 크기는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 세포 증식 영역 또는 구역의 크기는 세포 증식 영역 또는 구역의 직경 또는 너비로서 측정될 수 있다.

[0344] 세포 증식성 장애를 치료 또는 예방하면, 외관 또는 형태가 비정상적인 세포수 또는 그 집단이 감소될 수 있다. 바람직하게, 치료 후, 형태가 비정상적인 세포수는 치료 이전의 그의 크기에 비하여 5% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 10% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 20% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 30% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 40% 이상만큼 감소되고; 더욱 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 더욱더 바람직하게, 50% 이상만큼 감소되고; 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소된다. 비정상적인 세포 외관 또는 형태는 임의의 재현가능한 측정 수단에 의해 측정될 수 있다. 비정상적인 세포 형태는 현미경법, 예컨대, 도립 조직 배양물 현미경을 이용하여 측정될 수 있다. 비정상적인 세포 형태는 핵 다형태성 형태를 취할 수 있다.

[0345] 본원에서 사용되는 바, "선택적으로"라는 용어는 또 다른 집단에서보다 한 집단에서 더 높은 빈도로 일어나는 경향을 의미한다. 비교된 집단은 세포 집단일 수 있다. 바람직하게, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물은 암세포 또는 전암성 세포에 선택적으로 작용할 수 있지만, 정상 세포에는 작용하지 않는다. 바람직하게, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물은 한 분자 표적(예컨대, 표적 단백질 메틸트랜스퍼라제)을 선택적으로 조절하는 작용을 하지만, 또 다른 분자 표적(예컨대, 비표적 단백질 메틸트랜스퍼라제)을 유의적으로 조절하지 않는다. 본 발명은 또한 효소, 예컨대, 단백질 메틸트랜스퍼라제의 활성을 선택적으로 억제하는 방법도 제공한다. 바람직하게는, 이벤트가 집단 B에 비해 집단 A에서 2배 초과 수준으로 더 빈번하게 일어나는 경우, 상기 이벤트는 집단 B에 비해 집단 A에서 선택적으로 일어난다. 이벤트가 집단 A에서 5배 초과 수준으로 더 빈번하게 일어나는 경우, 상기 이벤트는 선택적으로 일어난다. 이벤트가 집단 B에 비해 집단 A에서 10배 초과 수준; 더욱 바람직하게는 50배 초과 수준; 더욱더 바람직하게는 100배 초과 수준; 및 가장 바람직하게는 1,000배 초과 수준으로 더 빈번하게 일어나는 경우, 상기 이벤트는 선택적으로 일어난다. 예를 들어, 세포 사멸이 정상 세포에 비해 암 세포에서 2배 초과 수준으로 빈번하게 일어나는 경우, 상기 세포 사멸은 암 세포에서 선택적으로 일어난다고 말할 수 있을 것이다.

[0346] 본 발명의 조성물, 예컨대, 화학식 IIa의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제, 예컨대, 프레드니손을 포함하는 조성물은 분자 표적(예컨대, 표적 단백질 메틸트랜스퍼라제)의 활성을 조절할 수 있다. 조절은 분자 표적의 활성을 자극시키거나, 억제시키는 것을 의미한다. 바람직하게, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물이, 상기 화합물이 존재하지 않는다는 점만을 제외하면 동일한 조건하에서의 분자 표적의 활성에 비해 상대적으로 상기 분자 표적의 활성을 2배 이상만큼 자극시키거나, 억제시킨다면, 이는 상기 분자 표적의 활성을 조절하는 것이다. 더욱 바람직하게, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물이, 상기 화합물이 존재하지 않는다는 점만을 제외하면 동일한 조건하에서의 분자 표적의 활성에 비해 상대적으로 상기 분자 표적의 활성을 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상, 100배 이상만큼 자극시키거나, 억제시킨다면, 이는 상기 분자 표적의 활성을 조절하는 것이다. 분자 표적의 활성은 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 분자 표적의 활성은 시험관내 또는 생체내에서 측정될 수 있다. 예를 들어, 분자 표적의 활성은 효소 활성 검정법 또는 DNA 결합 검정법에 의해 시험관내에서 측정될 수 있거나, 분자 표적의 활성은 리포

터 유전자의 발현의 검정법에 의해 생체내에서 측정될 수 있다.

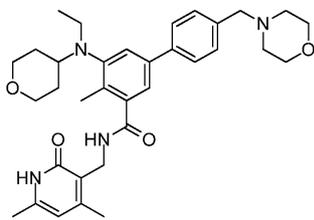
- [0347] 본 발명의 조성물이, 상기 화합물이 존재하지 않는다는 점만을 제외하면 동일한 조건하에서의 분자 표적의 활성화에 비해 상대적으로 상기 분자 표적의 활성을 10% 초과만큼 자극시키지 못하였거나, 억제시키지 못하였다면, 이는 상기 분자 표적의 활성을 유의적으로 조절하지 못하는 것이다.
- [0348] 본원에서 사용되는 바, "동종효소 선택적"이라는 용어는 효소의 제2 이소폼에 비해 효소의 제1 이소폼의 우선적인 억제 또는 자극(예컨대, 단백질 메틸트랜스퍼라제 동종효소 베타에 비해 단백질 메틸트랜스퍼라제 동종효소 알파의 우선적인 억제 또는 자극)을 의미한다. 바람직하게, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물은 생물학적 효과를 달성하는 데에 요구되는 투여량에서 최소 4배 차이, 바람직하게는 10배 차이, 더욱 바람직하게는 50배 차이를 나타낸다. 바람직하게, 본 발명의 화합물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물은 억제 범위에 걸쳐 이 차이를 나타내고, 상기 차이는 관심의 대상이 되는 분자 표적에 대한 IC<sub>50</sub>, 즉, 50% 억제로 예시된다.
- [0349] 본 발명의 조성물을 그를 필요로 하는 세포 또는 피험체에게 투여하면, 관심의 대상이 되는 단백질 메틸트랜스퍼라제의 활성을 조절(즉, 자극 또는 억제)할 수 있다.
- [0350] 본 발명의 화합물, 예컨대, 화학식 IIa의 임의의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 및 하나 이상의 다른 치료제, 예컨대, 프레드니손을 포함하는 조성물을 그를 필요로 하는 세포 또는 피험체에게 투여하면, 세포 내 표적(예컨대, 기질)의 활성을 조절(즉, 자극 또는 억제)할 수 있다. 수개의 세포내 표적은 메틸트랜스퍼라제를 포함하나, 이에 한정되지 않는, 본 발명의 화합물로 조절될 수 있다.
- [0351] 활성화는 물질 조성물(예컨대, 단백질 또는 핵산)이 원하는 생물학적 기능을 수행하기에 적합한 상태에 놓이게 하는 것을 의미한다. 활성화될 수 있는 물질 조성물은 불활성화된 상태도 가진다. 활성화된 물질 조성물은 억제 또는 자극 생물학적 기능, 또는 이 둘 모두를 가질 수 있다.
- [0352] 상승은 물질 조성물(예컨대, 단백질 또는 핵산)의 원하는 생물학적 활성의 증가를 의미한다. 상승은 물질 조성물의 농도 증가를 통해 일어날 수 있다.
- [0353] 본원에서 사용되는 바, "세포 주기 체크포인트 경로"는 세포 주기 체크포인트의 조절에 관여하는 생화학적 경로를 의미한다. 세포 주기 체크포인트 경로는 세포 주기 체크포인트를 포함하는 하나 이상의 기능에 대한 자극 또는 억제 효과, 또는 이 둘 모두를 가질 수 있다. 세포 주기 체크포인트 경로는 세포 주기 체크포인트의 조절에 기여하는 2종 이상의 물질 조성물, 바람직하게는 단백질로 구성된다. 세포 주기 체크포인트 경로는 이 세포 주기 체크포인트 경로의 하나 이상의 구성원의 활성화를 통해 활성화될 수 있다. 바람직하게는, 세포 주기 체크포인트 경로는 생화학적 신호전달 경로이다.
- [0354] 본원에서 사용되는 바, "세포 주기 체크포인트 조절제"는 적어도 부분적으로 세포 주기 체크포인트의 조절에서 작용할 수 있는 물질 조성물을 의미한다. 세포 주기 체크포인트 조절제는 세포 주기 체크포인트를 포함하는 하나 이상의 기능에 대한 자극 또는 억제 효과, 또는 이 둘 모두를 가질 수 있다. 세포 주기 체크포인트 조절제는 단백질일 수 있거나, 단백질이 아닐 수 있다.
- [0355] 암 또는 세포 증식성 장애를 치료하면, 세포는 사멸될 수 있고, 바람직하게, 세포 사멸은 집단 중 세포수는 10% 이상 감소된다. 더욱 바람직하게, 세포 사멸이란, 20% 이상 감소; 더욱 바람직하게, 30% 이상 감소; 더욱 바람직하게, 40% 이상 감소; 더욱 바람직하게, 50% 이상 감소; 가장 바람직하게, 75% 이상만큼 감소되는 것을 의미한다. 집단 중 세포수는 임의의 재현가능한 수단에 의해 측정될 수 있다. 집단 중 세포수는 형광 활성화된 세포 분류법(FACS), 면역형광 현미경법 및 광학 현미경법에 의해 측정될 수 있다. 세포 사멸을 측정하는 방법은 문헌 [Li et al., *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100(5): 2674-8, 2003]에 제시되어 있는 바와 같다. 한 측면에서, 세포 사멸은 아포토시스에 의해 일어난다.
- [0356] 바람직하게, 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물의 유효량은 정상 세포에 대해 유의한 세포독성을 나타내지 않을 것이다. 화합물을 치료적 유효량으로 투여하였을 때, 정상 세포의 10% 초과인 세포에서 세포 사멸이 유도되지 않았다면, 이는 화합물의 치료적 유효량은 정상 세포에 대해 유의한 세포독성을 나타내지 않는 것이다. 화합물을 치료적 유효량으로 투여하였을 때, 정상 세포의 10% 초과인 세포에서 세포 사멸이 유도되지 않았다면, 화합물의 치료적 유효량은 정상 세포의 생존능에 유의적으로 영향을 미치지 않는 것이다. 한 측면에서, 세포 사멸은 아포토시스에 의해 일어난다.
- [0357] 세포를 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물과

접촉시킴으로써 암 세포에서 세포 사멸을 선택적으로 유도하거나, 활성화시킬 수 있다. 그를 필요로 하는 피험 체에게 본 발명의 화합물, 또는 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물을 투여 함으로써 암 세포에서 세포 사멸을 선택적으로 유도하거나, 활성화시킬 수 있다. 세포를 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물과 접촉시킴으로써 세포 증식성 장애에 의해 이환된 하나 이상의 세포에서 세포 사멸을 선택적으로 유도할 수 있다. 바람직하게, 그를 필요로 하는 피험체에게 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물을 투여하면, 세포 증식성 장애에 의해 이환된 하나 이상의 세포에서 세포 사멸이 선택적으로 유도된다.

[0358] 본 발명은 암 치료 또는 예방을 필요로 하는 피험체에게 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물을 투여함으로써 암을 치료 또는 예방하는 방법으로서, 여기서, 본 발명의 조성물, 또는 그의 약학적으로 허용가능한 염, 프로드럭, 대사산물, 다형체 또는 용매화물의 투여를 통해 하기: 세포 주기의 하나 이상의 단계(예컨대, G1, G1/S, G2/M)에서의 세포의 축적에 의한 암 세포 증식의 예방; 세포 노화의 유도, 또는 중앙 세포 분화의 촉진; 정상 세포에서의 유의적인 양의 세포 사멸 없이 세포독성, 괴사 또는 아포토시스를 통한 암 세포에서의 세포 사멸의 촉진, 동물에서 치료 지수가 2 이상인 항종양 활성 중 하나 이상의 것이 이루어지는 것인, 암을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 본원에서 사용되는 바, "치료 지수"란 최대 허용 용량을 유효 용량으로 나눈 값이다.

[0359] 당업자는 본원에 논의되어 있는 공지된 기법들 또는 등가 기법들의 상세한 설명을 위해 일반 참조 교재들을 참조할 수 있다. 이들 교재로는 문헌 [Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc. (2005)]; [Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (3<sup>rd</sup> 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, 18<sup>th</sup> edition (1990)]을 포함한다. 또한, 상기 교재들은 물론 본 발명의 측면을 제조하거나, 사용하는 데에도 참조될 수 있다.

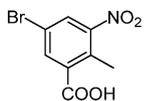
[0360] 실시예 1: N-((4,6-디메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-5-(에틸 (테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)-4-메틸-4'-(모르폴리노메틸)-[1,1'-비페닐]-3-카복사미드의 합성



화합물 44

[0361]

[0362] 단계 1: 5-브로모-2-메틸-3-니트로벤조산의 합성



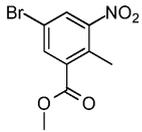
[0363]

[0364] 실온에서 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(400 mL) 중의 2-메틸-3-니트로벤조산(100 g, 552 mmol)의 교반된 용액에 1,3-디브로모-5,5-디메틸-2,4-이미다졸리딘디온(88 g, 308 mmol)을 1분량씩의 방식으로(in a portion wise manner) 첨가하고, 이어서, 반응 혼합물을 실온에서 5 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 빙냉수 상에 붓고, 침전된 고체를 여과하고, 물로 세척하고, 진공하에 건조시켜 고체로서 원하는 화합물(140 g, 98%)을 수득하였다. 단리된 화합물을 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0365]

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 8.31 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 2.43 (s, 3H).

[0366] 단계 2: 메틸 5-브로모-2-메틸-3-니트로벤조에이트 합성

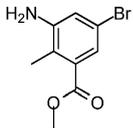


[0367]

[0368] 실온에서 DMF(2.8 L) 중 5-브로모-2-메틸-3-니트로벤조산(285 g, 1,105 mmol)의 교반된 용액에 탄산나트륨(468 g, 4,415 mmol)을 첨가한 후, 메틸 요오다이드(626.6 g, 4,415 mmol)를 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 60 °C에서 8 h 동안 가열하였다. (TLC에 의한 모니터링시) 완료된 후, 반응 혼합물을 여과하고(이로써 탄산나트륨을 제거하고), 에틸 아세테이트(1 L X 3)로 세척하였다. 혼합된 여액을 물로 세척하고 (3 L X 5), 수성 상을 에틸 아세테이트(1 L X 3)로 다시 추출하였다. 혼합된 유기층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압하에 여과 및 농축시켜 고체로서 표제 화합물(290 g, 수율 97%)을 수득하였다. 단리된 화합물을 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0369] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.17 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 2.59 (s, 3H).

[0370] 단계 3: 메틸-아미노-5-브로모-2-메틸벤조에이트

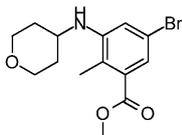


[0371]

[0372] 에탄올(1.5 L) 중 메틸 5-브로모-2-메틸-3-니트로벤조에이트(290 g, 1,058 mmol)의 교반된 용액에 수성 염화암모늄(283 g, 5,290 mmol, 1.5 L 물 중에 용해된 것)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 80 °C에서 교반한 후, 여기에 철 분말(472 g, 8,451 mmol)을 1분량씩의 방식으로 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 80 °C에서 12 h 동안 가열하였다. TLC에 의해 측정된 바 완료시, 반응 혼합물을 셀라이트® 상에서 고온 여과하고, 셀라이트 층을 메탄올(5 L)로 세척한 후, DCM 중의 30% MeOH(5 L)로 세척하였다. 혼합된 여액을 진공에서 농축하고, 수득된 잔류물을 중탄산나트륨 수용액(2 L)으로 희석시키고, 에틸 아세테이트(5 L X 3)로 추출하였다. 혼합된 유기층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압하에 여과 및 농축시켜 고체로서 표제 화합물(220 g, 85%)을 수득하였다. 화합물을 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0373] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7.37 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.80 (bs, 2H), 2.31 (s, 3H).

[0374] 단계 4: 메틸 5-브로모-2-메틸-3-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노) 벤조에이트 합성



[0375]

[0376] 디클로로에탄(300 mL) 중 메틸 3-아미노-5-브로모-2-메틸벤조에이트(15 g, 61.5 mmol) 및 디하이드로-2H-피란-4(3)-온(9.2 g, 92 mmol)의 교반된 용액에 아세트산(22 g, 369 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 15 분 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 0 °C로 냉각시키고, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드(39 g, 184 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. TLC에 의해 측정된 바, 반응 완료시, pH가 7 내지 8이 될 때까지 중탄산나트륨 수용액을 반응 혼합물에 첨가하였다. 유기상을 분리하고, 수성 상을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 혼합된 유기층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압하에 여과하고 농축시켰다. 에틸 아세테이트:헥산으로 용리되는 칼럼 크로마토그래피(100-200 메쉬 실리카겔)로 조 화합물을 정제하여 고체로서 원하는 화합물(14 g, 69%)을 수득하였다.

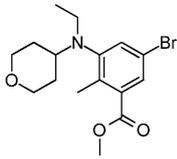
<sup>1</sup>H NMR

(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 7.01 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.00 (d, 1H, J=7.6 Hz), 3.84-3.87 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.54-3.56 (m, 1H), 3.43 (t, 2H, J=12 Hz), 2.14 (s, 3H), 1.81-1.84 (m, 2H), 1.47-1.55 (m, 2H).

[0377]

[0378]

단계 5: 메틸 5-브로모-3-(에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)-2-메틸벤조에이트 합성



[0379]

[0380]

디클로로에탄(150 mL) 중 메틸 5-브로모-2-메틸-3-((테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)벤조에이트(14 g, 42.7 mmol)의 교반된 용액에 아세트알데히드(3.75 g, 85.2 mmol) 및 아세트산(15.3 g, 256 mmol)을 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 혼합물을 0°C로 냉각시키고, 소듐 트리아세톡시보로하이드라이드(27 g, 128 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. TLC에 의해 측정된 바, 반응 완료시, pH가 7 내지 8이 될 때까지 중탄산나트륨 수용액을 반응 혼합물에 첨가하였다. 유기상을 분리하고, 수성 상을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 혼합된 유기층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압하에 여과하고 농축시켰다. 에틸 아세테이트:헥산으로 용리되는 칼럼 크로마토그래피(100-200 메쉬 실리카겔)로 조 화합물을 정제하여 점성 액체로서 원하는 화합물(14 g, 93%)을 수득하였다.

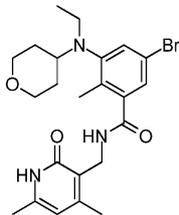
<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 7.62 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 3.80

(bs, 5H), 3.31 (t, 2H), 2.97-3.05 (m, 2H), 2.87-2.96 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 1.52-1.61 (m, 2H), 1.37-1.50 (m, 2H), 0.87 (t, 3H, J=6.8 Hz).

[0381]

[0382]

단계 6: 5-브로모-N-((4,6-디메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-3-(에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)-2-메틸벤즈아미드 합성



[0383]

[0384]

에탄올(100 mL) 중 5-브로모-3-(에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)-2-메틸벤조에이트(14 g, 39.4 mmol)의 교반된 용액에 수성 NaOH(2.36 g, 25 mL 물 중 59.2 mmol)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 60°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC에 의해 측정된 바, 반응 완료시, 감압하에 용매를 제거하고, 수득된 잔류물을, pH가 7이 될 때까지 1 N HCl로 산성화시킨 후, 이어서, pH가 5-6이 될 때까지 시트르산 수용액을 첨가하였다. 수성 층을 DCM 중의 10% MeOH(200 ml x 3)로 추출하고, 혼합된 유기층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압하에 여과 및 농축시켜 각각의 산(14 g, 100%)을 수득하였다.

[0385]

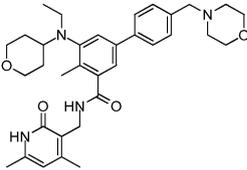
이어서, 상기 산(14 g, 40.9 mmol)을 DMSO(70 ml)에 용해시키고, 여기에 3-(아미노메틸)-4,6-디메틸피리딘-2(1H)-온(12.4 g, 81.9 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반한 후, PYBOP(31.9 g, 61.4 mmol)를 첨가하고, 실온에서 밤새도록 계속해서 교반하였다. TLC에 의해 측정된 바, 반응 완료시, 반응 혼합물을 빙냉수(700 mL)에 붓고, 30분 동안 교반하고, 여과하여 침전된 고체를 수집하였다. 물(500 mL)로 세척하고, 대기 건조시켰다. 수득된 고체를 아세트니트릴(75 mL X 2)과 함께 교반하고, 여과하고, 대기 건조시켰다. 수득된 고체를 DCM 중 5% MeOH와 함께 다시 교반하고, 여과하고, 진공에서 완전하게 건조시켜 고체로서 표제 화합물(14 g, 74%)을 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 11.47 (s, 1H), 8.23 (t, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 4.23 (d, 2H, J=4.4 Hz), 3.81 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.20-3.26 (m, 2H), 3.00-3.07 (m, 1H), 2.91-2.96 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.58-1.60 (m, 2H), 1.45-1.50 (m, 2H), 0.78 (t, 3H, J=6.8 Hz).

[0386]

[0387]

단계 7: N-((4,6-디메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일) 메틸)-5-(에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)-4-메틸-4'-(모르폴리노메틸)-[1,1'-비페닐]-3-카복스아미드 합성



[0388]

[0389]

디옥산/물 혼합물(70 mL/14 mL) 중 5-브로모-N-((4, 6-디메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-3-(에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일) 아미노)-2-메틸벤즈아미드 (14 g, 29.5 mmol)의 교반된 용액에 4-(4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)벤질) 모르폴린(13.4 g, 44.2 mmol)을 첨가한 후, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(11.2 g, 106.1 mmol)을 첨가하였다. 용액을 15분 동안 아르곤으로 퍼징한 후, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(3.40 g, 2.94 mmol)를 첨가하고, 용액을 추가로 10 min 동안 다시 아르곤으로 퍼징하였다. 반응 혼합물을 4 h 동안 100°C에서 가열하였다. (TLC에 의한 모니터링시) 완료된 후, 반응 혼합물을 물로 희석시키고, 10% MeOH/DCM으로 추출하였다. 혼합된 유기층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압하에 여과하고 농축시켰다. 메탄올:DCM으로 용리되는 칼럼 크로마토그래피(100-200 메쉬 실리카겔)로 조 화합물을 정제하여 고체로서 표제 화합물(12 g, 71%)을 수득하였다.

[0390]

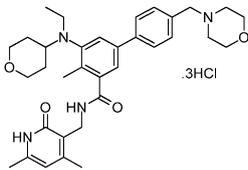
**분석 데이터:** LCMS: 573.35(M + 1)<sup>+</sup>; HPLC: 99.5%(@ 254 nm)(R<sub>t</sub>;3.999; **방법:** 칼럼: YMC ODS-A 150 mm x 4.6 mm x 5 μ; 이동상: A; 물 중 0.05% TFA/B; 아세토니트릴 중 0.05% TFA; 주입 부피: 10 μl, 칼럼 온도: 30°C; 유속: 1.4 mL/min.; 구배: 8 min 동안 5% B 내지 95% B, 1.5 min 동안 유지, 9.51-12 min 5% B);

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 11.46 (s, 1H), 8.19 (t, 1H), 7.57 (d, 2H, J=7.2 Hz), 7.36-7.39 (m, 3H), 7.21 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 4.28 (d, 2H, J=2.8 Hz), 3.82 (d, 2H, J=9.6 Hz), 3.57 (bs, 4H), 3.48 (s, 2H), 3.24 (t, 2H, J=10.8Hz), 3.07-3.09 (m, 2H), 3.01 (m, 1H), 2.36 (m, 4H), 2.24 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.64-1.67 (m, 2H), 1.51-1.53 (m, 2H), 0.83 (t, 3H, J=6.4 Hz).

[0391]

[0392]

단계 8: N-((4,6-디메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-5-(에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)-4-메틸-4'-(모르폴리노메틸)-[1,1'-비페닐]-3- 카복스아미드 트리하이드로클로라이드 합성



[0393]

[0394]

N-((4,6-디메틸-2-옥소-1,2-디하이드로피리딘-3-일)메틸)-5-(에틸(테트라하이드로-2H-피란-4-일)아미노)-4-메틸-4'-(모르폴리노메틸)-[1,1'-비페닐]-3-카복스아미드(12 g, 21.0 mmol)를 메탄올성 HCl(200 mL) 중에 용해시키고, 실온에서 3 h 동안 교반하였다. 3시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 감압하에 농축시켰다. 수득된 고체를 에테르(100 mL X 2)와 함께 교반하여 고체로서 원하는 염(11 g, 77%)을 수득하였다. **트리HCl 염의 분석 데이터:** LCMS: 573.40 (M + 1)<sup>+</sup>; HPLC: 99.1%(@ 254 nm)(R<sub>t</sub>;3.961; **방법:** 칼럼: YMC ODS-A 150 mm x 4.6 mm x 5 μ; 이동상: A; 물 중 0.05% TFA/B; 아세토니트릴 중 0.05% TFA; 주입 부피: 10 μl, 칼럼 온도: 30°C; 유속: 1.4 mL/min.; 구배: 8 min 동안 5% B 내지 95% B, 1.5 min 동안 유지, 9.51-12 min 5% B);

<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O 400 MHz) δ 7.92 (bs, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.77 (d, 2H, J=8 Hz), 7.63 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.42 (s, 2H), 4.09-4.11 (m, 4H), 3.95-3.97 (m, 2H), 3.77 (t, 3H, J=10.4 Hz), 3.44-3.47 (m, 3H), 3.24-3.32 (m, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.01 (m, 2H), 1.76 (m, 2H), 1.04 (t, 3H, J=6.8 Hz).

[0395]

[0396]

**실시예 2: 화합물 44 및 CHOP 성분의 병용 요법**

[0397]

인간 림프종 세포주 WSU-DLCL2(DSMZ; ACC 575), OCI-Ly19(DSMZ; ACC 528), RL(ATCC; CRL-2261)을 명시된 공급처로부터 입수하고, 이를, 10% 우태아 혈청 및 2 mM 글루타민으로 보충된 RPMI-1640 배지 중에서 유지시켰다. 세포를 습윤화된 인큐베이터 중 5% CO<sub>2</sub> 및 95% 공기의 대기하에 37°C에서 조직 배양 플라스크에서 배양하였다.

[0398]

화합물 44와, 각각의 개별 CHOP(사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 및 프레드니솔론) 성분과의 병용요법이 암 세포 생존능에 미치는 효과를 시험관내에서 조사하였다. 투여 스케줄은 도 1A에 도시되어 있다. 화합물 44의 농도를 증가시키면서 화합물 44로 WSU-DLCL2 인간 림프종 세포를 처리하였다. 4일 후, 농도를 증가시키면서 화합물 44 및 각 CHOP 성분의 조합을 세포에 투여하였다. 4일 후, 밀리포어 구아바 비아카운트 리에이전트(Millipore Guava ViaCount Reagent) 및 유세포 측정법 분석을 사용하여 세포 생존능을 측정하였다. 각각의 화합물 44 농도군 내에서 각 시료에 대한 생존가능한 세포의 비율(%)을 DMSO로 처리된 시료에 대한 생존가능한 세포의 비율(%)로 정규화시켰다.

[0399]

화합물 44 및 CHOP 성분 단독으로 처리된 세포는 세포 생존능 감소를 보였다. 마포스파미드(사이클로포스파미드 대사산물)(도 2A) 및 독소루비신(도 2B)과 함께 화합물 44로 처리된 세포는 마포스파미드 또는 독소루비신의 농도 증가시 세포 생존능 감소를 보이지 않았다. 화합물 44와 빈크리스틴과의 병용 요법(도 2C)은 화합물 44가 최고 농도일 때 세포 생존능 감소를 보였다. 중요하게, 화합물 44 및 프레드니솔론(프레드니손 대사산물)을 사용하는 병용 요법(도 2D)은 2개의 최고 용량의 화합물 44 및 모든 용량의 프레드니솔론에서 세포 생존능의 상승작용적 감소를 보였다.

[0400]

**실시예 3: 화합물 44 및 프레드니솔론 병용 요법의 상승작용 효과는 투여 스케줄에 의존한다.**

[0401]

화합물 44 및 프레드니솔론의 투여 시점이 세포 생존능에 미치는 역할을 조사하기 위해, WSU-DLCL2 세포를 도 1에 도시된 바와 같은, 상이한 투약 스케줄에 따라 처리하였다. 밀리포어 구아바 비아카운트 리에이전트로 염색하여 세포 생존능을 측정한 후, 유세포 측정법에 의해 분석하였다.

[0402]

화합물 44 및 프레드니솔론을 동시 투여하기 전 화합물 44를 투여하였을 때, 세포 생존능은 감소하였다(도 3A). 세포를 도 1A에 도시된 바와 같이 처리하였다. 세포 생존능을 DMSO/DMSO 시료에 대해 정규화함으로써 화합물 44 단독으로 처리하였을 때의 효과를 밝혀내었다. 화합물 44의 농도를 증가시켰을 때, 세포 성장은 감소하였다. 중요하게, 화합물 44와 조합하여 프레드니솔론의 농도를 증가시켰을 때에는 화합물 44 또는 프레드니솔론을 독립적으로 단일 제제로서 사용하여 세포를 처리하였을 때의 결과에 비해, 세포 성장은 추가로 감소된 것으로 나타났다. 그러므로, 화합물 44를 먼저 투여하는, 화합물 44 및 프레드니솔론의 병용 요법을 통해 암 세포 생존능을 감소시키는 상승작용 효과를 유발할 수 있다.

[0403]

프레드니솔론을 투여하기 전에 화합물 44를 투여하였을 때, 세포 생존능은 감소하였다(도 3B). 세포를 도 1B에 도시된 바와 같이 처리하였다. 각 화합물 44 농도군에 대한 세포 생존능을 DMSO로 처리된 시료에 대해 정규화하였다. 화합물 44를 먼저 투여한 후, 단일 제제로서 프레드니솔론을 사용하여 농도를 증가시키면서 처리하였을 때에도 또한 프레드니솔론 단독으로 처리된 세포에 비해 세포 생존능은 추가로 감소되었고, 이로써 화합물 44 및 프레드니솔론의 병용 요법의 상승작용 효과가 입증되었다.

[0404]

화합물 44 및 프레드니솔론을 동시 투여하기 전에 프레드니손을 투여하였을 때, 세포 생존능은 감소하지 않았다(도 3C). 세포를 도 1C에 도시된 바와 같이 처리하였다. 각 화합물 44 농도군에 대한 세포 생존능을 DMSO로 처리된 시료에 대해 정규화하였다. 화합물 44 및 프레드니솔론을 포함하는 조성물로 처리하기 전 프레드니솔론을 투여하는 것은 세포 생존능에 대해 상승작용 효과를 유발하지 못하였다는 것이 상기 결과를 통해 입증되었다.

[0405]

상기 데이터는 화합물 44 및 프레드니솔론의 병용 요법이 암 세포 생존능을 감소시키거나, 암 세포 사멸을 유도한다는 것을 명백하게 나타낸다. 구체적으로, 프레드니솔론, 또는 프레드니솔론 및 화합물 44의 조합으로 처리하기 전, 세포를 화합물 44로 처리하는 병용 요법 결과, 세포 생존능에 대해 상승작용 효과를 얻을 수 있으며, 여기서, 세포 생존능 감소는 단일 제제로서 프레드니솔론 또는 화합물 44로 처리하여 유도된 감소보다 더 크다.

[0406] **실시예 4: 화합물 44 및 프레드니솔론 상승작용은 EZH2 돌연변이에 의존한다.**

[0407] 상이한 EZH2 돌연변이를 보유하는 상이한 인간 림프종 암 세포주를 화합물 44 및 프레드니솔론에 대한 그의 반응성에 대하여 분석하였다. 세포를 도 1A의 투약 스케줄에 따라 처리하였으며, 여기서, 세포를 먼저 화합물 44로 처리한 후, 4일 후에 화합물 44 및 프레드니솔론의 조합으로 처리하였다. 4일 경과 후, 밀리포어 구아바 비아카운트 리에이션트 및 유세포 측정법 분석을 사용하여 세포 생존능을 측정하였다. 세포 생존능(%)을 DMSO로 처리된 시료의 비율(%)로 정규화하였다.

[0408] 야생형(WT) EZH2를 발현하는 림프종 세포인 OCTLY19 세포주는 EZH2 억제제 처리에 대해 내성을 띤다. 따라서, 농도를 증가시키면서 화합물 44로 처리하여도 세포 생존능에는 영향을 주지 못하였다. 프레드니솔론의 농도를 증가시킨 경우에도 세포 생존능에 대한 상가 효과 또는 상승작용 효과는 없었다(도 4A).

[0409] 단일 제제로서 투여되었을 때 화합물 44는 농도 증가에 따라 세포 생존능이 감소되는 것으로 입증되는 바와 같이, Y641F 돌연변이를 보유하는 WSU-DLCL2 세포는 EZH2 억제제 처리에 대해 감수성을 띤다. 또한, 프레드니솔론과 조합하여 처리되었을 때, 세포는 감소된 세포 생존능을 보였다(도 4B).

[0410] RL 세포는 Y641N 돌연변이를 보유하고, EZH2 억제제 처리에 대해 내성을 띤다. 화합물 44를 단독으로 농도를 증가시키면서 투여하였을 때, 세포 생존능 감소는 일어나지 않았다. 그러나, 화합물 44를 프레드니솔론과 함께 동시 투여하였을 때, 상승작용 효과를 얻을 수 있었고, 여기서, 세포 생존능은, 화합물 44 및 프레드니솔론을 단일 제제로서 투여하였을 때 관찰된 것보다 더 크게 감소되었다(도 4C).

[0411] 종합해 볼 때, 상기 결과는 화합물 44 및 프레드니솔론을 이용하는 병용 요법을 통해 돌연변이체 EZH2를 발현하는 세포에서 암 세포 생존능을 감소시키고, 암 세포 사멸을 증가시키는 상승작용 효과를 얻을 수 있다는 것이 제안된다. 추가로, 약물, 화합물 44 또는 프레드니솔론 중 하나에 내성을 띤 세포는 단일 제제로서 투여받았을 때, 조합 처리에 대해 감수성이 되고, 세포 생존능은 감소된다.

[0412] **실시예 5: 화합물 44 및 CHOP 성분 동시 투여의 생체내 약동학적 성질 분석**

[0413] 각각의 CHOP 성분(사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 독소루비신, 및 프레드니솔론)과 조합된 화합물 44의 약동학적 성질 분석을 수행하여 생체내 화합물 44의 흡수 및 분포를 측정하였다. 체중이 20-40 g인, 8-12주령된 수컷 BALB/c를 인 비보(생체내: 인도 벵갈루루)로부터 입수하였다. CHOP 성분 중 하나를 단일 제제로서 또는 화합물 44와의 조합으로 동물에게 투여하였다. 사이클로포스파미드를 30 mg/kg으로 복강내 주사에 의해 투여하였다. 빈크리스틴은 0.375 mg/kg으로 정맥내 주사에 의해 투여하였다. 독소루비신은 2.475 mg/kg으로 정맥내 주사에 의해 투여하였다. 프레드니솔론은 0.15 mg/kg으로 경구 투여에 의해 투여하였다. 화합물 44는 225 mg/kg으로 경구 투여에 의해 투여하였다. 투여 후 24시간 동안에 걸쳐 다양한 시점에서 혈장 시료를 채취하였다.

[0414] 혈장 연구 시료 또는 스파이킹된 혈장 보정 표준에 대한 추출 방법은 동일하였다: 연구 시료 또는 스파이킹된 보정 표준 중 하나의 시료 25  $\mu$ l를 표지화 이전의 개별 마이크로 원심분리기 튜브에 첨가하였다. 이어서, ACN 중에서 제조된 100  $\mu$ l 부피의 IS(글리피자이드(Glipizide, 500 ng/mL)를 마이크로 원심분리기 튜브에 첨가하되, 단, 예외적으로, 블랭크 시료에는 아세트니트릴을 첨가하였고, 5분 동안 와동시켰다. 시료를 4°C에서 15,000 rpm(20,600 g)의 속도로 10분 동안 원심분리시켰다. 원심분리 후, 각 원심분리기 튜브로부터 100  $\mu$ l의 상층액을 시료로 만들고, 인서트 바이알 내로 옮겨 놓았다. 상기 바이알을 LC/MS/MS 분석용 자동 시료 채취기에 로딩하였다. 190  $\mu$ l의 블랭크 마우스 혈장 중 10  $\mu$ l의 피분석물(화합물 44, 사이클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론)을 스파이킹시켜 보정 표준을 제조하였다.

[0415] WinNonlin®(버전 5.2)의 비구획적 분석 모듈을 이용하여 약동학적 파라미터를 평가하였다. 선형 사다리꼴 공식에 의해 농도 시간 곡선하 면적(AUC)을 계산하였다. 화합물 44를 CHOP의 각 성분과 함께 수행되는 병용 요법에 대한 AUC(AUC<sub>병용</sub>) 대 각 CHOP 성분 단일의 AUC(AUC<sub>단일</sub>)의 비(AUC<sub>병용</sub>/AUC<sub>단일</sub>) 및 CHOP 성분을 단독으로 또는 화합물 44와 함께 투여하였을 때와 유사한 생체이용률을 나타내었다.

[0416] **실시예 6: 마우스 이중이식 모델에서 화합물 44 및 CHOP 병용 요법의 분석**

[0417] 마우스

[0418] 암컷 폭스 체이스(Fox Chase) SCID<sup>®</sup> 마우스(CB17/Icr-Prkdc<sup>scid</sup>/IcrIcoCr1, 찰스 리버 라보라토리즈(Charles River Laboratories)) 또는 가슴샘이 없는 누드 마우스(Cr1:NU(Ncr)-Foxn1<sup>nu</sup>, 찰스 리버 라보라토리즈)는 연구

1일제 8주령된 마우스였고, 체중(BW: body-weight) 범위는 16.0-21.1 g이었다. 물(역삼투 1 ppm Cl), 및 18.0% 조 단백질, 5.0% 조 지방, 및 5.0% 조 섬유로 구성된 NIH 31 모디파이드 앤드 이레이테이티드 랩 다이어트 (Modified and Irradiated Lab Diet)<sup>®</sup>를 동물에게 무제한으로 급식시켰다. 20-22°C(68-72° F) 및 40-60% 습도에서 12시간의 명주기로 고정 미세 격리 장치내 방사선 처리된 인리치-오'코브스(Enrich-o'cobs)<sup>™</sup> 동물용 침구에서 마우스를 하우징시켰다. 모든 방법은 조치, 축산, 외과적 처치, 사료 및 체액 조절, 및 수의학적 보호와 관련해서는 실험 동물의 관리와 사용에 관한 지침(Guide for Care and Use of Laboratory Animals)의 권고 사항을 준수하였다.

[0419] 중양 세포 배양

[0420] 인간 림프종 세포주를 다른 공급원(ATCC, DSMZ)으로부터 입수하고, 피드몬트(Piedmont)에서 현탁 배양물로서 100 유닛/mL 페니실린 G 나트륨 염, 100 g/mL 스트렙토마이신, 및 25 g/mL 젠타마이신을 함유하는 RPMI-1640 배지 중에서 유지시켰다. 배지를 10% 우태아 혈청 및 2 mM 글루타민으로 보충하였다. 세포를 5% CO<sub>2</sub> 및 95% 공기의 대기하에 37°C에서 습윤화된 인큐베이터 중 조직 배양 플라스크에서 배양하였다.

[0421] 생체내 중양 이식

[0422] 중간 대수증식기 성장 동안 인간 림프종 세포주를 수거하고, 50% 매트릭셀(Matrigel)<sup>™</sup>(BD 바이오사이언시즈(BD Biosciences))를 포함하는 PBS 중에서 재현탁시켰다. 각 마우스 우측 옆구리에 피하로 1 x 10<sup>7</sup>개의 세포(0.2 mL 세포 현탁액)를 제공하였다. 캘리퍼스로 종양 2차원 치수를 측정하여 평균 부피가 원하는 범위 80-120 mm<sup>3</sup>에 도달함에 따른 성장을 모니터링하였다. 종양 크기(mm<sup>3</sup>)는 하기 식으로부터 계산하였다:

[0423] 
$$\text{종양부피} = \frac{w^2 \times l}{2}$$

[0424] 여기서, w = 종양의 너비이고, l = 길이(mm)이다. 1 mg이 종양 부피 1 mm<sup>3</sup>과 등가인 것으로 가정하여 종양 중량을 추정할 수 있었다. (사용된 세포주에 따라) 10-30일이 경과한 후, 종양 부피가 108-126 mm<sup>3</sup>인 마우스를 평균 종양 부피가 117-119 mm<sup>3</sup>인 처리군으로 분류하였다.

[0425] 테스트 물질

[0426] 화학식 IIa의 화합물을 실온에서 보관하고, 빛을 차단시켰다. 매 처리 당일날, 탈이온수 중의 0.5% 소듐 카복시 메틸셀룰로스(NaCMC) 및 0.1% 트윈(Tween)<sup>®</sup> 80에 분말을 현탁시킴으로써 신선한 화합물 제제를 제조하였다. 탈이온수 중 화합물 44 비히클, 0.5% NaCMC 및 0.1% 트윈<sup>®</sup> 80을 사용하여 같은 스케줄로 대조군을 처리하였다. 제제를 투여하기 전 4°C의 빛이 없는 곳에서 보관하였다.

[0427] 에피자임(Epizyme) 화합물과 동시에 수개의 화학치료제를 사용하였다. 멸균 염수를 이용하여 사이클로포스파미드(박스터(Baxter), 로트 번호 016591)를 20 mg/mL로 재구성하고, 4°C에 보관하였다. 염수로 희석시킴으로써 각 용량에 대한 신선한 투약액을 제조하였다. 독소루비신(독소루비신 메이지(Doxorubicin Meiji)<sup>®</sup>, 메이지 파마슈티칼 컴퍼니 리미티드(Meiji Pharmaceutical Co. Ltd.), 1 mg/mL)을 4°C에서 보관하고, 각 처리 당일날 염수로 희석시켰다. 빈크리스틴(호스피라 인코퍼레이티드(Hospira, Inc.), 1 mg/mL)을 각 처리 당일날 염수로 희석시켰다. 매 5일 투약 사이클 시작 시점에 프레드니손(베링거 인겔하임 게엠베하(Boehringer Ingelheim GmbH), 1 mg/mL)을 PBS로 희석시켰다.

[0428] 처리 계획

[0429] 다양한 기간 동안(for various amount of days) TID(매 8 h마다 1일 3회), BID(매 12 h마다 1일 2회) 또는 QD(1일 1회) 스케줄로 75 - 600 mg/kg 범위의 화합물 용량을 정맥내, 복강내 또는 피하 경로를 통한 경구 위관 영양법 또는 주사에 의해 마우스를 처리하였다. 각 용량을 0.2 mL/20 g 마우스 (10 mL/kg) 부피로 전달하고, 개별 동물의 최종 체중 기록에 대해 조정하였다. 최대 처리 기간은 28일이었다.

[0430] 종양 부피 중앙값(MTV) 및 종양 성장 억제(TGI) 분석

[0431] 처리 최종일에 처리 효능을 측정하였다. 최종일 평가가능한 동물의 마리수(n)에 대한 종양 부피 중앙값인 MTV(n)를 각 군에 대해 측정하였다. 종양 성장 억제율(%)(TGI(%))은 수개의 방식으로 정의될 수 있다. 먼저, 지정된 대조군의 MTV(n)과 약물 처리군의 MTV(n) 사이의 차이가 대조군의 MTV(n)에 대한 상대적인 비율(%로써 표

현된다:

$$TGI(\%) = \left( \frac{MTV(n)_{\text{대조군}} - MTV(n)_{\text{처리군}}}{MTV(n)_{\text{대조군}}} \right) \times 100$$

TGI(%)를 계산하는 또 다른 방식은 n이 최종 처리일임을 참작하여 1일째부터 n일째까지의 종양 크기 변화를 계산하는 것이다

$$TGI(\%) = \left( \frac{\Delta MTV_{\text{대조군}} - \Delta MTV_{\text{처리군}}}{\Delta MTV_{\text{대조군}}} \right) \times 100$$

$$\Delta MTV_{\text{대조군}} = MTV(n)_{\text{대조군}} - MTV(1)_{\text{대조군}}$$

$$\Delta MTV_{\text{처리군}} = MTV(n)_{\text{처리군}} - MTV(1)_{\text{처리군}}$$

종양 성장 지연 분석

별법으로, 종양 성장 지연 분석을 위해 마우스를 처리 최종일 이후 살아있는 상태 그대로 유지시켰다. 종양을 매주 2회에 걸쳐 캘리퍼스로 측정하고, 각 테스트 동물의 신생물의 종점 부피가 2,000 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때에든, 또는 사전 명시된 연구 최종일에든, 어느 것이든 먼저 도래하는 시점에 안락사시켰다. 종점까지의 소요 시간(TTE)을 하기 방정식으로부터 계산하였다:

$$TTE(\text{일}) = \frac{\log_{10}(\text{종점 부피}(\text{mm}^3)) - b}{m}$$

여기서, b는 로그 변환 종양 성장 데이터 세트의 선형 회귀에 의해 획득된 직선의 절편이고, m은 기울기이다. 데이터 세트는 연구 종점 부피를 초과한 제1 관찰 결과 및 종점 부피 달성 직전의 바로 앞의 연속 3개의 관찰 결과로 구성되었다. 부피 종점에 도달하지 못한 동물은 (사전 명시된) 연구 최종일의 것과 동일한 TTE 값으로 지정하였다. 처리 관련(TR) 사망으로 분류된 임의의 동물은 사망일의 것과 동일한 TTE 값으로 지정하였다. 비처리 관련(NTR) 사망으로 분류된 임의의 동물은 TTE 계산 및 모든 추가 분석에서 배제시켰다.

처리 결과를, 하기와 같이 일(days)로 표시되는 대조군과 비교된 처리군에서의 TTE 중앙값의 증가로서 정의되거나, 또는

$$TGD = T - C$$

대조군의 TTE 중앙값에 대한 상대적인 비율(%)로서 표시되는

$$TGD(\%) = \frac{T - C}{C} \times 100$$

(여기서, T = 처리군에 대한 TTE 중앙값이고,

C = 대조군에 대한 TTE 중앙값이다)

종양 성장 지연(TGD)으로부터 측정하였다.

독성

동물의 체중을 1-5일째에는 매일 측정 후, 연구 완료시까지 매주 2회에 걸쳐 측정하였다. 마우스를 문서로 기록된, 처리와 관련된 임의의 유해한 부작용의 현성 징후에 대해 자주 조사하였다. 최대 허용 용량(MTD)에 대한 허용되는 독성은 테스트 동안 균의 평균 BW 손실이 20% 미만이고, TR 사망으로 인한 사망률이 10% 이하인 것으로서 정의되었다. 사망이 임상 징후 및/또는 부검에 의해 입증된 처리 부작용에 기인할 수 있거나, 투약 기간 동안 비공지된 원인으로 인한 것인 경우 상기 사망은 TR로서 분류되었다. 사망이 처리 부작용과 관련되지 않는다는 증거가 존재하는 경우 상기 사망은 NTR로서 분류되었다. 투약 기간 동안의 NTR 사망은 전형적으로 (우연한 또는 인간 오류로 인한) NTRa 또는 (부검에 의해 확인된 침습 및/또는 전이에 의한 종양 파종으로 인한) NTRm으로서 분류되는 것으로 하였다. 투약 기간 동안 비공지된 원인으로 인해 사망하는 경구적으로 처리된 동물들은 균 성능이 TR 분류 및 부검을 뒷받침하지 않는 경우, 실현불가능한 투약 오류를 배제하기 위해 NTRu로서 분류될

수 있었다.

[0450] 시료 제조

[0451] 연구 동안 7일째마다 마우스를 사전 명시된 방식으로 시료 제조하였다. 시료 제조는 마취하지 않고 하악 정맥으로부터 비말단부 출혈(0.25 mL), 및 CO<sub>2</sub> 마취하의 말단부 심장 천자를 통한 전체 전량의 채혈을 포함하였다. 혈장을 위해 혈액 시료를 항응고제인 K<sub>2</sub>-EDTA로 프로세싱하였다. 화합물 수준에 대해 생체분석하기 이전에 혈장 시료를 -80°C에서 냉동시키고, 보관하였다.

[0452] RN아제가 없는 조건하에서 명시된 마우스로부터 종양을 수거한 후, 양분하였다. 각 종양 중 한쪽 절반부로부터 얻은 2 mm 두께의 슬라이스를 24 h 동안 포르말린으로 고정시키고, 70% 에탄올로 옮겨 놓았다. 고정시킨 종양 조직을 파라핀에 포매시켰다. 각 동물로부터의 나머지 종양 조직은 액체 N<sub>2</sub>에서 급냉시키고, 막자사발과 막자를 이용하여 분쇄하였다.

[0453] 비장, 피부, 골수, 및 수염을 비롯한 대용 조직을 위해 명시된 마우스의 시료를 제조하였다. 각 조직을 단리시키고, 고정 및/또는 급냉시켰다.

[0454] 통계 및 그래프 분석

[0455] 윈도우용 프리즘(Prism) 3.03(그래프패드(GraphPad))을 사용하여 모든 통계 및 그래픽 분석을 수행하였다. 수개의 분석 방법을 적용시켰다. 크루스칼-왈리스 검정(Kruskal-Wallis test), 및 사후 던 다중 비교 검정(post hoc Dunn's multiple comparison test)을 이용하여 D29 종양 부피 중앙값을 비교하였다. 상기 검정은 3회에 걸쳐 수행하였다.

[0456] 양측 통계 분석을  $P = 0.05$ 로 수행하였다. 프리즘은 결과를  $P > 0.05$ 에서 비유의적인(ns) 결과,  $0.01 < P < 0.05$ 에서 유의적인 결과(기호 "\*"로 표시),  $0.001 < P < 0.01$ 에서 매우 유의적인 결과("\*\*") 및  $P < 0.001$ 에서 극도로 유의적인 결과("\*\*\*")로서 보고한다.

[0457] 전체 처리 기간 과정에 걸쳐 대조군과 처리군 사이의 통계학적 유의성을 검정하기 위해, 반복 측정 ANOVA 검정에 이어서 던네트(Dunnett's) 다중 비교 사후 검정 또는 2원 ANOVA 검정을 이용하였다.

[0458] 그래프로 나타내기 위해, 각 군에 대한 개별 종양 부피 분포를 보여주기 위한 목적으로 "상자수염(box and whiskers)" 다이어그램을 작성하였다. 상자는 관찰 결과의 25번째 내지 75번째 백분위수를 나타내고, 가로선은 중앙값에 상응하고, "수염"은 최대치 및 최저치를 나타낸다. 중앙값 또는 평균( $\pm$  SEM) 종양 부피는 시간 함수로서 반로그 또는 선형 플롯으로 그래프로 작성되었다. 연구 동안의 군별 평균 BW 변화를 D1로부터의 변화율( $\%$ )  $\pm$  SEM로서 플롯팅하였다.

[0459] 군별 TTE 값을 보여주기 위해 산점도를 작성하였다. TTE 플롯은 모든 다른 그래프 분석으로부터 배제된, NTR 사망을 포함하였다. 동물이 종양 크기로 인해 연구를 종료하였을 때, 동물에 대해 기록된 최종 종양 부피에는 후속 시점에서의 부피 중앙값 계산을 위해 사용되는 데이터도 포함되어 있었다. 시간에 대한, 연구에서 남아있는 각 군의 동물의 비율( $\%$ )을 카플란-마이어 생존 플롯으로 제시하였다.

[0460] 히스톤 추출

[0461] 히스톤 단리를 위해, 60-90 mg 종양 조직을 1.5 ml의 핵 추출 완충제(10 mM 트리스-HCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 25 mM KCl, 1% 트리톤 X-100, 8.6% 수크로스 및 로슈(Roche) 프로테아제 억제제 정제 1836145) 중에서 균질화시키고, 얼음 상에서 5분 동안 인큐베이션시켰다. 4°C에서 600 g로 5분 동안 원심분리하여 핵을 수집하고, PBS로 1회 세척하였다. 상청액을 제거하고, 15분마다 와동시키면서 0.4 N의 냉 황산을 사용하여 히스톤을 1시간 동안 추출하였다. 4°C에서 10,000 g로 10분 동안 원심분리하여 추출물을 정화시키고, 10x 부피의 빙냉 아세톤을 함유하는 새로운 미세원심분리기 튜브로 옮겼다. 히스톤을 -20°C에서 2시간 내지 밤새도록 침전시키고, 10,000 g로 10분 동안 원심분리하고, 펠릿화하고, 물에 재현탁시켰다.

[0462] ELISA

[0463] 상기 기술된 바와 같이 히스톤을 종양 시료로부터 추출하였다. 히스톤을 코팅 완충제(PBS + 0.05% BSA) 중에서 증가 농도로 제조하여 0.5 ng/ul의 시료를 수득하고, 100 ul의 시료 또는 표준을 2개의 96 웰 ELISA 플레이트(써모 랩시스템스(Thermo Labsystems), 이몰론(Immulon) 4HBX #3885)에 이중으로 첨가하였다. 플레이트를 밀봉

하고 4°C에서 밤새도록 인큐베이션시켰다. 다음 날, 플레이트를 바이오텍(Bio Tek) 플레이트 세척기 상에서 300 ul/웰 PBST(PBS + 0.05% 트윈 20; 10X PBST, KPL #51-14-02)로 3x 세척하였다. 플레이트를 300 ul/웰의 희석제 (PBS + 2% BSA + 0.05% 트윈 20)로 차단하고, 실온에서 2시간 동안 인큐베이션시키고, PBST로 3x 세척하였다. 모든 항체들을 희석제 중에 희석하였다. 100 ul/웰의 항H3K27me3(CST #9733, 50% 글리세롤 스톱 1:1,000) 또는 항전체 H3(애브캄(Abcam) ab1791, 50% 글리세롤 1:10,000)을 각각의 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 RT에서 90 min 동안 인큐베이션시키고, PBST로 3x 세척하였다. 100 ul/웰의 항Rb-IgG-HRP(셀 시그널링 테크놀로지 (Cell Signaling Technology), 7074)를 H3K27me3 플레이트에 1:2,000으로 첨가하고, H3 플레이트에 1:6,000으로 첨가하고, RT에서 90 min 동안 인큐베이션시켰다. 플레이트를 PBST로 4X 세척하였다. 검출을 위해, 100 ul/웰의 TMB 기질(바이오Fx 라보라토리즈(BioFx Laboratories), #TMBS)을 첨가하고 플레이트를 암실에서 RT에서 5 min 동안 인큐베이션시켰다. 100 ul/웰의 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 반응을 중단시켰다. 스펙타맥스 M5 마이크로플레이트 (SpectraMax M5 Microplate) 판독기 상에서 450 nm에서의 흡광도를 판독하였다.

[0464] **SUDHL6 이종이식 모델에서의 효능 연구**

[0465] SUDHL6 이종이식 모델에서 화합물 44로 처리하는 것 및 CHOP와 조합하여 화합물 44로 처리하는 것이 생체내 종양 성장 억제에 미치는 효능에 대해 측정하였다. 종양 성장 및 생존을 비교를 통해, 화합물 44 및 CHOP 투여가 종양을 보유하는 마우스의 종양 성장을 억제시키거나, 지연시키고, 생존을 증가시켰다는 것이 확립되었다. 가슴 샘이 없는 누드 마우스에 1x10<sup>7</sup>개의 SUDHL6 인간 림프종 세포를 피하로 주사하였다. 화합물 44를 명시된 농도로 (75 mg/kg, 150 mg/kg, 또는 225 mg/kg) 1일 1회(QD), 1일 2회(BID), 또는 1일 3회(TID) 투여하였다. 마우스는 1 및 8일째 CHOP를 받았다. 60일 종료점에 도달할 때까지든, 또는 종양 부피가 2,000 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때까지든, 어느 것이든 먼저 도래하는 시점에 주 2회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였다.

[0466] CHOP 또는 화합물 44 단독으로 처리된 마우스와 비교하였을 때, 화합물 44 및 CHOP의 병용 요법은 처리 과정 동안에 걸쳐(28일) 종양 성장을 억제시키는 것으로 나타났다(도 6A). 유의적으로, 화합물 44 및 CHOP의 병용 요법을 받은 마우스는 종양 크기의 지속적인 퇴행을 보였다; 12마리의 마우스 중 7마리는 225 mg/kg BID 및 CHOP 병용군에서 60일째에 완전 관해를 보였다(도 6A). 연구에서 마우스의 생존을 보여주기 위해 카플란-마이어 곡선을 측정하였다. 화합물 44 및 CHOP의 병용 요법을 받은 마우스 중 57%가 주사 후 60일째까지 생존하였다(도 6B). 화합물 44를 이용한 단일 제제 효능은 28일 처리 동안 관찰되지 않았지만, 군들간의 높은 가변성이 화합물 44의 단일 제제로서의 처리 효과를 차폐시킬 수도 있었다.

[0467] **WSU-DLCL2 이종이식 모델에서의 효능 연구**

[0468] WSU-DLCL2 이종이식 모델에서 화합물 44로 처리하는 것 및 CHOP와 조합하여 화합물 44로 처리하는 것이 생체내 종양 성장 억제에 미치는 효능에 대해 측정하였다. 종양 성장 비교를 통해, 화합물 44 및 CHOP 투여가 종양을 보유하는 마우스의 종양 성장을 억제시키거나, 지연시켰다는 것이 확립되었다. SCID 마우스에 1x10<sup>7</sup>개의 WSU-DLCL2 인간 림프종 세포를 피하로 주사하였다. 화합물 44를 명시된 농도로(150 mg/kg, 225 mg/kg, 300 mg/kg, 또는 600 mg/kg) 1일 1회(QD), 1일 2회(BID), 또는 1일 3회(TID) 투여하였다. 마우스는 1 및 22일째 CHOP를 받았다(1 및 8일째 CHOP는 SCID 마우스에서 허용되지 않았다). 28일 종료점까지 주 2회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였다.

[0469] 화합물 44를 단독으로, 및 CHOP와 조합하여 수행하는 요법 결과, 종양 성장은 억제되었다(도 7A). 150 mg/kg으로 1일 3회(TID) 및 225 mg/kg으로 1일 2회(BID) 화합물 44를 단일 제제로서 투여한 결과, 대조군 비히클로 처리된 마우스와 비교하였을 때 종양 부피는 유의적으로 더 작았다(p<0.05). 또한, 화합물 44 및 CHOP의 병용 요법은 대조군 비히클로 처리된 마우스와 비교하여 종양 성장을 통계학상 유의적으로 억제시키는 것으로 나타났다(p<0.001). 반복 측정 ANOVA 검정에 이어서 던넛 사후 검정을 이용하여 통계 분석을 계산하였다. 종양 성장 억제 또한 계산하였고, 이를 통해 화합물 44를 이용하여 종양을 처리하는 것이 모든 투여량에 있어서 종양 성장 억제가 더 큰 것으로 밝혀졌다(하기 표 2). 중요하게, 화합물 44와 CHOP와의 병용 처리한 결과, 종양 성장 억제는 가장 크게 나타났다.

**표 2**

WSU-DLCL2 이종이식 모델의 종양 성장 억제(TGI)

군	1일째로부터의 TGI(%)	7일째로부터의 TGI(%)
150 mg/kg TID	73	86
225 mg/kg BID	71	80
300 mg/kg BID	57	67
600 mg/kg QD	58	70
CHOP 콤보	93	100
CHOP	45	51

[0470]

[0471]

투여된 작용제의 흡수 및 분포를 조사하기 위해, 종양을 보유하는 마우스의 혈장 중 화합물 44 농도(ng/mL)를 측정함으로써 약동학적 성질 분석을 수행하였다(도 7B). 28일째 최종 투약하기 5분 전("최저점") 및 최종 투약 후 3시간 경과하였을 때("이후") 혈장 시료를 수득하였다. 혈장 시료를 LC-MS/MS에 의해 분석하여 화합물 44의 농도(ng/mL)를 측정하였다. 최저점일 때의 시점에서, 1일 2회(BID) 225 mg/kg의 화합물 44를 단일 제제로서 받은 마우스와 CHOP와 함께 225 mg/kg의 화합물 44(BID)를 받은 마우스 사이에는 화합물 44 수준에 있어 어떤 유의적인 차이도 없었다. 그러나, 최종 용량의 투여 후 3시간 경과하였을 때, 단일 제제인 화합물 44와 비교하여, CHOP와 함께 1일 2회(BID)로 225 mg/kg의 화합물 44를 받은 마우스에서는 화합물 44 수준에 있어 유의적인 증가가 있었다.

[0472]

28일째 처리의 최종 투여 후 3시간 경과하였을 때 마우스로부터 수거된 종양 조직 중의 화합물 44 농도(ng/g)를 측정하기 위해 약동학적 성질 분석 또한 수행하였다(도 7C).

[0473]

처리 28일 경과 후, 종양내 히스톤 메틸화 상태 분석에 의해 생체내 표적 억제 효능을 측정하였다. 웨스턴 블롯 분석(도 8A) 결과, H3K27의 메틸화는 WSU-DLCL2 종양에서 모든 투여량 및 투약 스케줄의 화합물 44에 의해 억제된 것으로 나타났다. 상기 기술된 바와 같이 히스톤을 추출하였다. 산 추출된 히스톤에 대한 단백질 농도를 BCA 검정법(피어스(Pierce))에 의해 측정하였다. 400-800 ng의 각 용해물을 10-20% 트리스-글리신 겔(바이오래드(Biorad)) 상에서 분별하고, i블롯(iBlot)(프로그램 3의 경우, 7분, 니트로셀룰로스 이동 스택 사용)을 이용하여 옮겨 놓고, 오딧세이(Odyssey) 차단용 완충제 중 하기 항체로 프로빙하였다: 토끼 항H3K27me3 (CST 9733; 1:20,000 희석액) 및 마우스 항전체 H3(CST3638; 1:20,000 희석액). 1차 Ab 인큐베이션 후, 막을 IR다이(RDye) 800 CW 당나귀-항마우스 IgG(리코르(LiCOR) #926-32212) 및 알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 680 염소-항토끼 IgG(인비트로젠(Invitrogen) #A-21076) 2차 Ab로 프로빙하고, 리코르 오딧세이 시스템을 사용하여 영상화하였다. 전체 히스톤 H3 단백질로부터의 신호를 대조군으로서 사용하였다.

[0474]

ELISA에 의해 WSU-DLCL2 종양에서의 히스톤 메틸화를 분석한 결과, 히스톤의 메틸화는 모든 투여량 및 투약 스케줄의 화합물 44에 의해 억제된 것으로 확인되었다(도 8B). 비히클 또는 CHOP를 받은 마우스로부터의 종양에서는 H3K27에서의 메틸화에 대한 어떤 억제도 나타나지 않았다. 상기 기술된 바와 같이, 처리 28일 경과 후 종양으로부터 히스톤을 추출하고, ELISA에 의해 분석하였다.

[0475]

**SUDHL10 이종이식 모델에서의 효능 연구**

[0476]

SUDHL10 이종이식 모델에서 화합물 44로 처리하는 것 및 COP(사이클로포스파미드, 온코빈[빈크리스틴], 및 프레드니손)와 조합하여 화합물 44로 처리하는 것이 생체내 종양 성장 억제에 미치는 효능에 대해 측정하였다. 종양 성장 비교를 통해, 화합물 44 및 COP 투여가 종양을 보유하는 마우스의 종양 성장을 억제시키거나, 지연시켰다는 것이 확립되었다. SCID 마우스에  $1 \times 10^7$  개의 SUDHL10 인간 림프종 세포를 피하로 주사하였다. 화합물 44를 명시된 농도로(125 mg/kg, 250 mg/kg, 또는 500 mg/kg) 1일 2회(BID), 또는 1일 3회(TID) 투여하였다. 마우스는 1 및 22일째 CHOP를 받았다(1 및 8일째 CHOP는 SCID 마우스에서 허용되지 않았다). 28일 종료점까지 주 2회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였다. 코호트의 절반을 28일간의 처리 후 안락사시킨 반면, 나머지 절반은 종양 성장 지연 분석을 위해 60일 종료점까지 분석하였다.

[0477]

도 9A에는 대조군 비히클로 처리된 마우스와 비교하여, 화합물 44를 단일 제제로서 250 mg/kg 및 500 mg/kg으로 단독으로 1일 2회(BID) 전달하여 투여하였을 때, 통계학상 유의적인 종양 성장 억제가 이루어졌다는 것이 제시

되어 있다( $p < 0.001$ ). 또한, 대조군 비히클로 처리된 마우스와 비교하여 화합물 44를 250 mg/kg 1일 2회(BID)로 COP와 함께 병용 요법으로 처리한 결과, 통계학적 유의적인 종양 성장 억제가 이루어진 것으로 나타났다( $p < 0.001$ ). 반복 측정 ANOVA 검정에 이어서 던넛 사후 검정을 이용하여 통계학적 분석을 계산하였다. 15일째 500 mg/kg BID 군의 마우스 1마리는 신체 상태가 좋지 않았기 때문에 안락사시켰다. 화합물 44 및 COP 병용 요법을 받은 마우스는 25일째 8%의 체중 손실을 보였으며, 여기서, 투약을 중단하였지만, 27일째에 재개하였다. 29일째, 250 mg/kg 및 500 mg/kg 군에서 16마리 중 1마리의 마우스 및 15마리 중 2마리의 마우스에는 종양이 없었다. 놀랍게도, 29일째 화합물 44 및 COP 병용 요법을 받은 14마리의 마우스 중 10마리에는 종양이 없었다.

[0478] 종양 성장 억제를 계산하였고, 이를 통해 화합물 44를 COP와 함께, 또는 그를 사용하지 않고 단독으로 이용하여 SUDHL10 이종이식 종양을 처리한 결과, 모든 투여량에 있어서 종양 성장이 효과적으로 억제된 것으로 밝혀졌다 (하기 표 3).

**표 3**

SUDHL10 이종이식 모델에서 종양 성장 억제(TGI)

군	1일째로부터의 TGI(%)	7일째로부터의 TGI(%)
125 mg/kg BID	54	57
250 mg/kg BID	101	113
500 mg/kg BID	104	115
COP	42	43
COP 콤보	107	108

[0479]

[0480] 28일째 마우스를 안락사시키고, 종양의 중량을 측정하였다(도 9B). 125 mg/kg의 화합물 44 또는 COP를 단일 제제로서 투여받은 마우스로부터의 종양은 대조군 마우스(비히클)와 비교하였을 때, 유의적으로 더 작았다. 화합물 44 및 COP의 병용 요법을 받은 마우스로부터의 종양은 단일 제제로서 250 mg/kg 및 500 mg/kg의 투여량, 둘 모두의 화합물 44를 받은 마우스로부터의 종양보다 유의적으로 더 작았다.

[0481] 종양 성장 지연을 측정함으로써 처리 효능을 측정하기 위하여 코호트의 절반을 60일째까지 유지시켰다(도 9C). 단일 제제로서 250 mg/kg 및 500 mg/kg 용량의 화합물 44로 처리된 마우스에서의 종양 성장은 28일째 작은 종양을 보인 반면, 대조군 및 COP로 처리된 마우스는 큰 종양을 보였으며, 여기서, 종양은 28일째 이후에도 계속하여 성장하였다. 놀랍게도, 병용 요법을 받은 마우스는 모든 다른 처리군보다 더 작은 종양을 가졌을 뿐만 아니라, 유의적이고, 지속적인 종양 성장 지연을 보였다.

[0482] 도 9D에는 화합물 44 단독으로, 또는 COP와 함께 조합하여 처리된 마우스의 생존율을 도시한 카플란-마이어 곡선이 제시되어 있다. 대조군 마우스 또는 COP만으로 처리된 마우스와 비교하였을 때, 단일 제제로서 화합물 44를 125 mg/kg, 250 mg/kg, 및 500 mg/kg으로 투여한 결과, 마우스의 생존은 증가하였다. 유의적으로, 화합물 44를 COP와 병용 투여한 경우에는, 단일제제로서 투여하였을 때와 비교하여 마우스의 생존율은 개선되었다.

[0483] SUDHL10 이종이식 모델에서의 약동학적 및 약력학적 연구를 수행하였다. 도 10A에는 혈장 중 화합물 44 농도 수준(ng/mL)의 약동학적 성질 분석이 제시되어 있다. 28일째 최종 투약하기 5분 전("최저점") 및 최종 투약 후 3시간 경과하였을 때("이후") 종양을 보유하는 마우스로부터 혈장 시료를 수득하였다. LC-MS에 의해 화합물 44의 수준을 측정하였다. ELISA에 의해, 및 종양 시료 중 트리메틸화된 H3K27의 비를 측정함으로써 약력학적 분석을 수행하였다.

[0484] 대용 마우스의 정상 조직에서의 화합물 44에 의한 히스톤 메틸화 억제 효능을 보여주기 위해, 종양을 보유하는 마우스의 다른 조직, 구체적으로, 비장 및 골수에서의 약력학적 분석 또한 수행하였다(도 10B 및 10C).

[0485] **실시예 7: 화합물 44 및 항암제 병용 요법의 상승작용 효과**

[0486] **방법**

[0487] 인간 림프종 세포주 WSU-DLCL2(DSMZ; ACC 575), SU-DHL-10(DSMZ; ACC 576), 및 톨레도(Toledo)(ATCC; CRL-2631)를 명시된 공급원으로부터 입수하고, 10%-20% 열 불활성화된 우태아 혈청 및 2 mM 글루타민으로 보충된 RPMI-1640 배지 중에서 유지시켰다. 세포를 5% CO<sub>2</sub> 및 95% 공기의 대기하에 37°C에서 습윤화된 인큐베이터 중

조직 배양 플라스크에서 배양하였다. WSU-DLCL2 및 SU-DHL-10은 Y641 EZH2 돌연변이를 포함하였고, 툴레도 세포주는 WT EZH2를 포함하였다.

[0488] 하기 약물: AraC, 시스플라틴, 데시타빈, 텍사메타손, 에베로리무스, 프레드니솔론, 및 독소루비신과 화합물 44의 병용이 미치는 시험관내 항증식성 효과를 조사하였다. WSU-DLCL2, SU-DHL-10, 또는 툴레도 인간 림프종 세포를 플라스크 중 화합물의 농도를 증가시키면서 처리하였다. 처리 4일 후, WSU-DLCL2 또는 SU-DHL-10 세포를 초기 시딩 밀도로 분할하고, 각 농도의 화합물 44가 플레이트의 하나의 행에 포함되어 있는 96 웰 조직 배양 플레이트에 플레이팅하였다. 6일 후, 툴레도 세포를 초기 시딩 밀도로 분할하고, 각 농도의 화합물 44가 플레이트의 하나의 행에 포함되어 있는 96 웰 조직 배양 플레이트에 플레이팅하였다. 이어서, 약물의 용량을 증가시키면서 플레이트에 첨가하였다. 하나의 열당 하나의 용량이 화합물 44 및 약물 용량으로 이루어진 행렬을 형성한다. 추가의 3일 동안 인큐베이션시킨 후, 프로메가 셀 타이터-글로(Promega Cell Titer-Glo) 시약을 사용한 후, 이어서, 발광 검출에 의해 WSU-DLCL2 또는 SU-DHL-10의 세포 생존능을 측정하였다. 5일 후, 프로메가 셀 타이터-글로 시약을 사용한 후, 이어서, 발광 검출에 의해 툴레도 세포의 세포 생존능을 측정하였다.

[0489] **데이터 분석**

[0490] 중앙값 효과 방정식을 이용하는, 약물 병용에 대한 주-탈라레이(Chou-Talalay) 방법에 기초한 바이오소프트(Biosoft)의 소프트웨어 패키지 칼쿠신(Calcsyn)을 사용하여 상승작용을 측정하였다(문헌 [Chou 2006]). 먼저, 원시 발광 값을, 각 플레이트 상에 위치하는 최대 억제에 대한 대조군, 및 최소 억제 대조군에 대한 DMSO 처리 세포를 사용하여 계산된 억제율(%) 또는 영향을 받은 분율(Fa)로 변환시켰다. 각각의 일정 비의 화합물 병용에 대한 억제율(%) 값을 칼쿠신에 입력하여 병용 지수 값을 측정하였다. 병요 지수 값이 1 미만인 것이 상승작용이 있음을 나타내는 것이었다.

[0491] 세포 생존능을 50%만큼 억제시키지 못한 테스트 화합물의 경우, 그의 상승작용은 칼쿠신을 이용하여 측정할 수 없었다. 대신, 데이터를 화합물 44에 대한 IC50에 상대적인 IC50 변화 배수로서 기록하였다. 별법으로, 툴레도 세포에서와 같이, 화합물 44가 어떤 효과도 없는 경우, 화합물 44 대신 약물에 대한 IC50 변화 배수를 기록하였다.

[0492] **결과**

[0493] 화합물 44 및 AraC, 시스플라틴, 독소루비신, 데시타빈, 또는 에베로리무스 중 어느 하나로 WSU-DLCL2 및 SU-DHL-10 세포를 처리한 결과, 세포 생존능은 상승작용적으로 감소된 것으로 나타났다. WSU-DLCL2 및 SU-DHL-10 세포에서의 화합물 44 및 데시타빈 병용에 대한 병용 지수 값은 0.1 미만이었고, 이는 주-탈라레이 특징 규명(문헌 [Chou 2006])에 따르면 매우 강력한 상승작용이 있다는 것을 나타낸다. 화합물 44 및 에베로리무스 병용에 대한 병용 지수 값은 WSU-DLCL2 세포에서는 0.1 미만이었고, SU-DHL-10 세포에서는 0.1-0.3이었으며, 이는 각각 매우 강력한 상승작용 및 강력한 상승작용이 있다는 것을 나타낸다. WSU-DLCL2 and SU-DHL-10 세포에서 화합물 44 및 AraC, 시스플라틴, 또는 독소루비신 중 어느 하나와의 병용에 대한 병용 지수 값은 0.3-0.7이었고, 이는 상승작용이 있다는 것을 나타낸다(문헌 [Chou 2006]). 화합물 44와 프레드니솔론의 병용은 화합물 44의 효능을 프레드니솔론이 최고 용량일 때, WSU-DLCL2에서는 7배, 및 SU-DHL-10 세포에서는 3배 증진시켰다. 추가로, 화합물 44 및 텍사메타손의 병용은 화합물 44의 효능을 텍사메타손이 최고 용량일 때, WSU-DLCL2에서는 17배, 및 SU-DHL-10 세포에서는 3배 증진시켰다.

[0494] 툴레도 세포주는 화합물 44에 대해 어떤 감수성도 보이지 않았고, 화합물 44가 AraC, 시스플라틴, 독소루비신, 데시타빈, 에베로리무스, 프레드니솔론, 또는 텍사메타손과 병용된 경우에도 어떤 병용 이익도 나타내지 않았다. 따라서, 상기 실험에서 관찰된 병용 이익은 EZH2 돌연변이에 의존하는 것으로 나타났다.

표 4

화합물 및 세포주 목록	WSU	SUDHL10	틀레도
프레드니솔론	7배 증진	3배 증진	비증진
독소루비신	상승작용 CI 0.3-0.7	상승작용 CI 0.3-0.7	비증진
시스플라틴	상승작용 CI 0.3-0.7	n/a	비증진
AraC	상승작용 CI 0.3-0.7	상승작용 CI 0.3-0.7	비증진
에베로리무스	매우 강력한 상승작용 CI < 0.1	강력한 상승작용 CI 0.1-0.3	비증진
테시타빈	매우 강력한 상승작용 CI < 0.1	매우 강력한 상승작용 CI < 0.1	비증진
덱사메타손	17배 증진	3배 증진	비증진

[0495]

[0496]

참조 문헌 포함

[0497]

본원에서 인용된 모든 공개 문헌 및 특허 문서는 마치 상기 공개 문헌 또는 문서가 각각 구체적으로 및 개별적으로 본원에서 참조로 포함된다고 명시된 것처럼 본원에서 참고로 포함된다. 공개 문헌 및 특허 문서를 인용하는 것이, 상기 공개 문헌 및 특허 문서 중 임의의 것이 관련된 선행 기술이라고 인정하는 것으로 의도되지 않아야 하며, 상기 공개 문헌 및 특허 문서가 상기의 내용 또는 날짜에 관하여 인정하는 것으로 간주되는 것도 아니어야 한다. 이에 본 발명은 문서상으로 설명서로 기술되었으며, 당업자는 본 발명이 다양한 실시양태로 실시될 수 있고, 상기 설명 및 하기 실시예는 예시적인 목적을 위한 것이며, 하기 특허청구범위를 제한하는 것이 아님을 이해할 것이다.

[0498]

등가물

[0499]

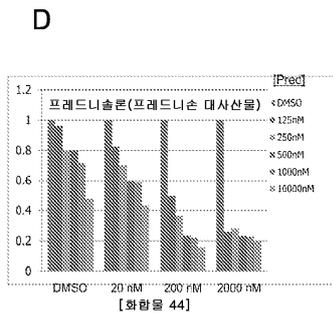
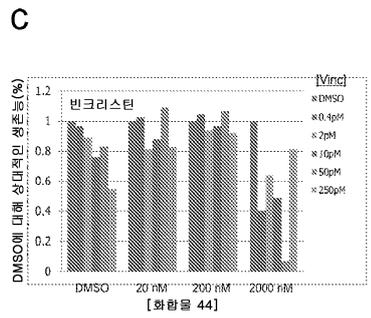
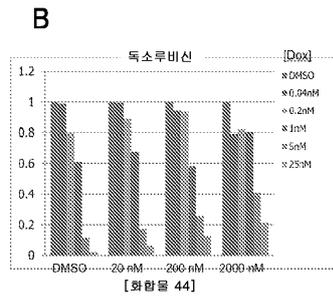
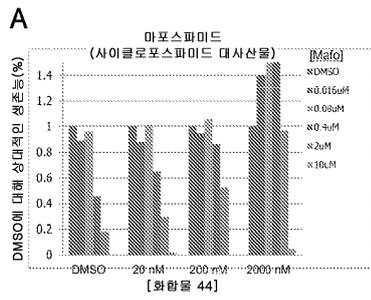
본 발명은 그의 정신 또는 본질적인 특징으로부터 벗어남 없이 다른 구체적인 형태로 구현될 수 있다. 그러므로, 상기 실시양태는 본원에 기술된 본 발명을 제한한다기보다는 모든 점에 있어서 예시적인 것으로 간주되어야 한다. 따라서, 본 발명의 범주는 상기 설명에 의한다기보다는 첨부된 특허청구범위에 의해 명시되어 지고, 특허청구범위와 등가인 의미 및 범위에 포함되는 모든 변화는 그 안에 포함되는 것으로 한다.

도면

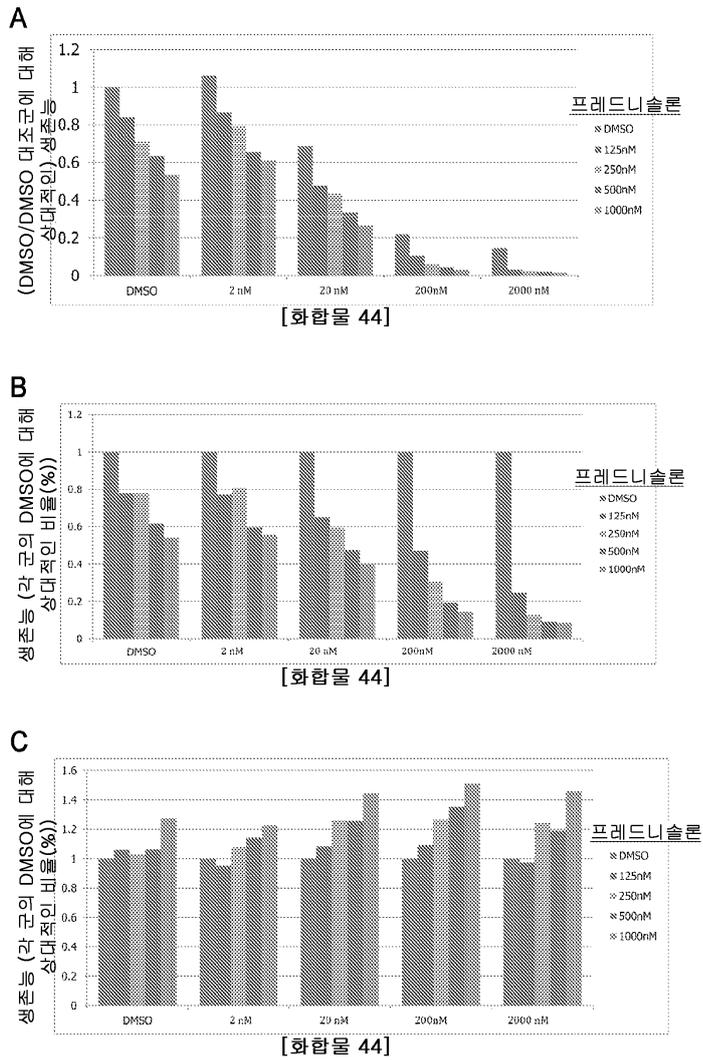
도면1



도면2



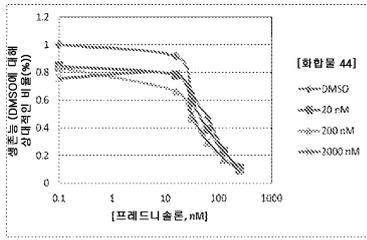
도면3



도면4

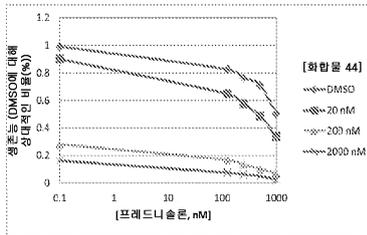
A

OCI-LY19 세포 (EZH2 WT)  
EZH2에 대해 저항성



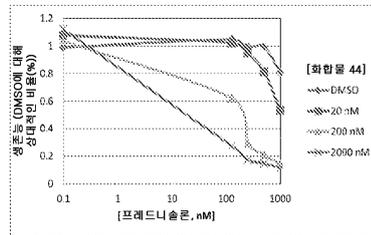
B

WSU-DLCL2 세포 (Y641F)  
EZH2에 대해 감수성



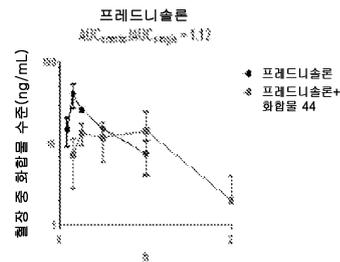
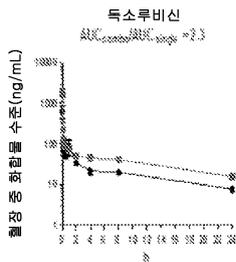
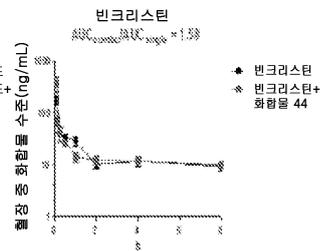
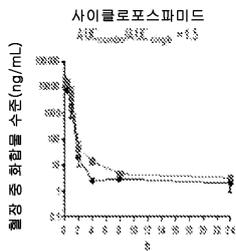
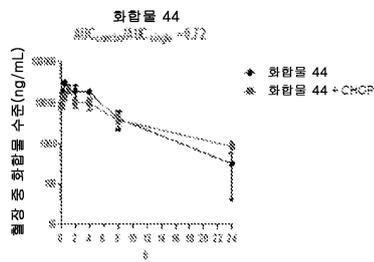
C

RL 세포 (Y641N)  
EZH2에 대해 저항성



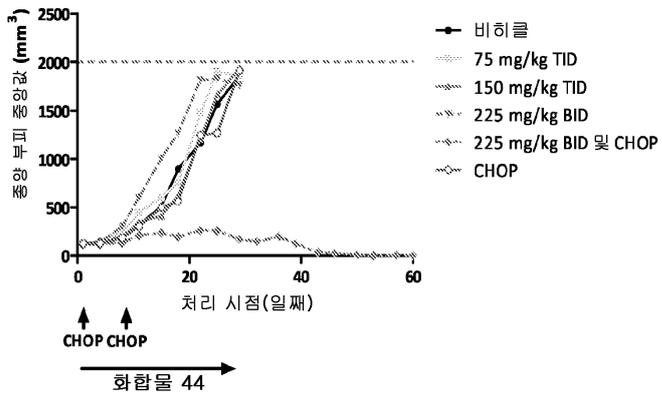
도면5

사이클로포스파이드	30 mg/kg i.p.
빈크리스틴	0.375 mg/kg i.v.
독소루비신	2.475 mg/kg i.v.
프레드니솔론	0.15 mg/kg p.o.
화합물 44	225 mg/kg p.o.

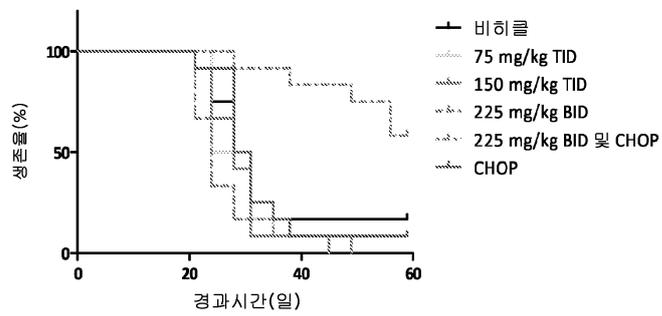


도면6

A

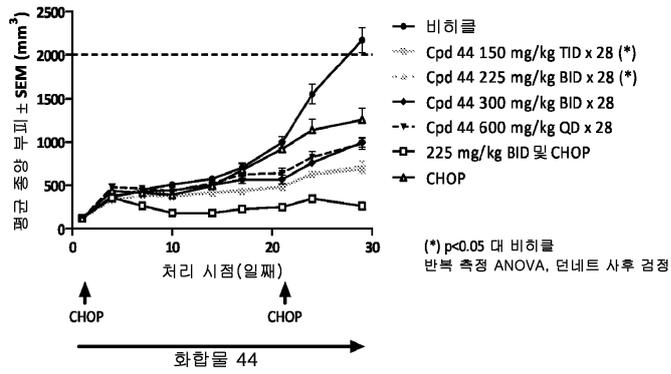


B

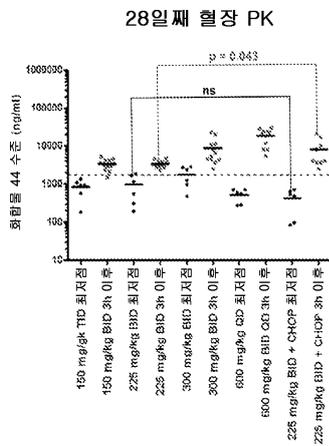


도면7

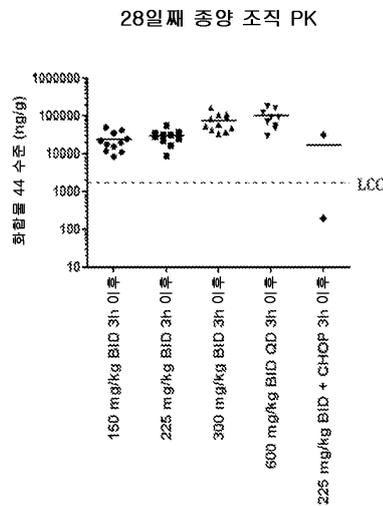
A



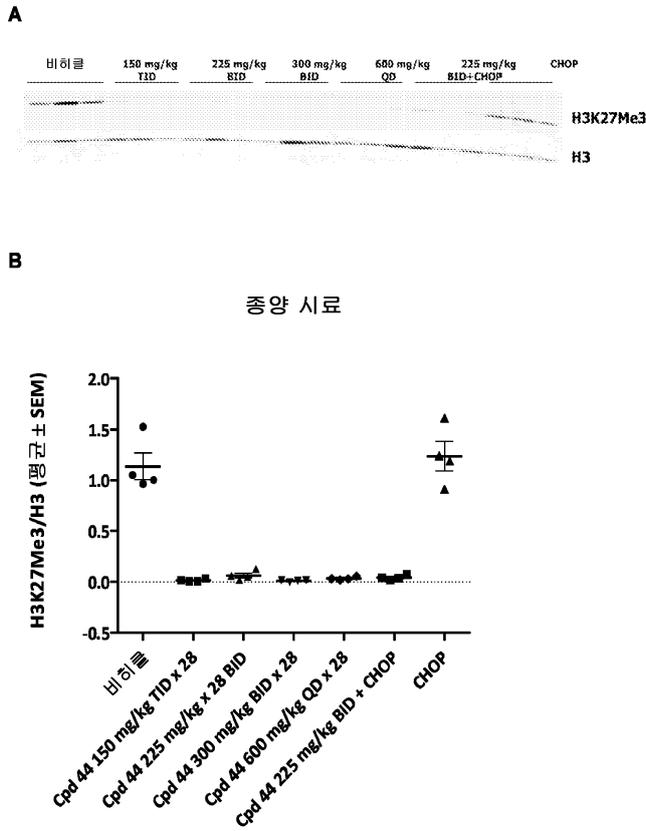
B



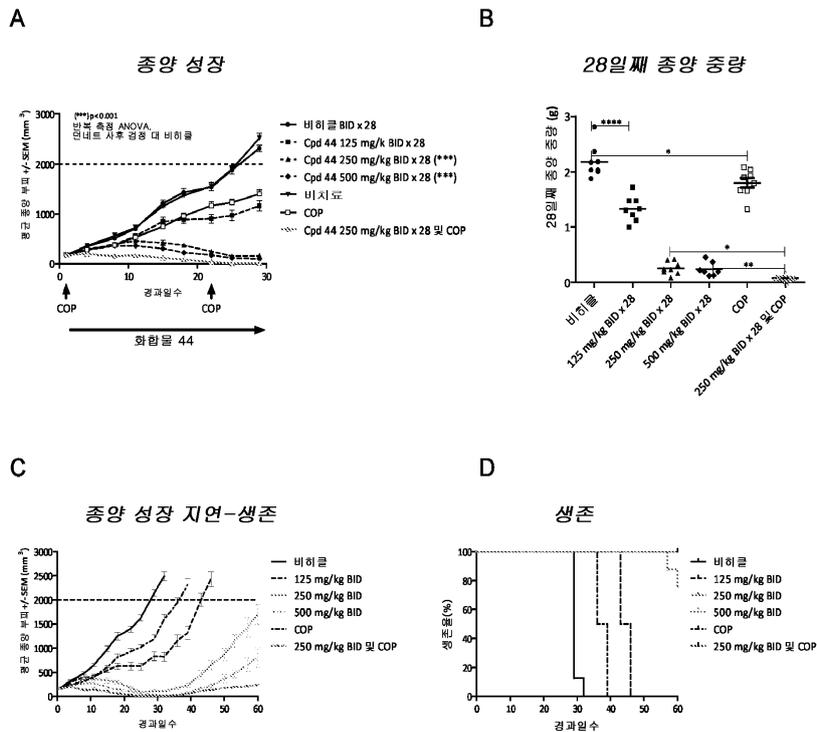
C



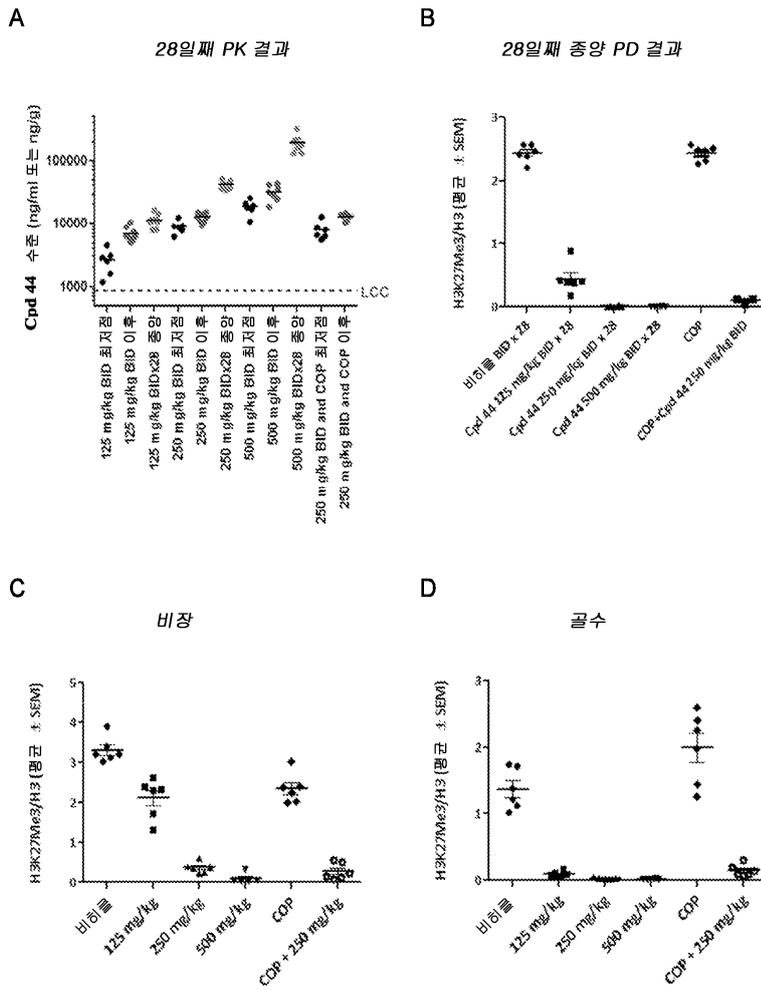
도면8



도면9



도면10



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Epizyme, Inc.
- <120> COMBINATION THERAPY FOR TREATING CANCER
- <130> EPIZ-009001W0
- <140> PCT/US13/36452
- <141> 2013-04-12
- <150> 61/785,169
- <151> 2013-03-14
- <150> 61/624,194
- <151> 2012-04-13
- <160> 12
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1

<211> 746

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gly Gln Thr Gly Lys Lys Ser Glu Lys Gly Pro Val Cys Trp Arg

1                    5                    10                    15

Lys Arg Val Lys Ser Glu Tyr Met Arg Leu Arg Gln Leu Lys Arg Phe

                  20                    25                    30

Arg Arg Ala Asp Glu Val Lys Ser Met Phe Ser Ser Asn Arg Gln Lys

                  35                    40                    45

Ile Leu Glu Arg Thr Glu Ile Leu Asn Gln Glu Trp Lys Gln Arg Arg

                  50                    55                    60

Ile Gln Pro Val His Ile Leu Thr Ser Val Ser Ser Leu Arg Gly Thr

65                    70                    75                    80

Arg Glu Cys Ser Val Thr Ser Asp Leu Asp Phe Pro Thr Gln Val Ile

                  85                    90                    95

Pro Leu Lys Thr Leu Asn Ala Val Ala Ser Val Pro Ile Met Tyr Ser

                  100                    105                    110

Trp Ser Pro Leu Gln Gln Asn Phe Met Val Glu Asp Glu Thr Val Leu

                  115                    120                    125

His Asn Ile Pro Tyr Met Gly Asp Glu Val Leu Asp Gln Asp Gly Thr

                  130                    135                    140

Phe Ile Glu Glu Leu Ile Lys Asn Tyr Asp Gly Lys Val His Gly Asp

145                    150                    155                    160

Arg Glu Cys Gly Phe Ile Asn Asp Glu Ile Phe Val Glu Leu Val Asn

                  165                    170                    175

Ala Leu Gly Gln Tyr Asn Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Gly Asp Asp

                  180                    185                    190

Pro Glu Glu Arg Glu Glu Lys Gln Lys Asp Leu Glu Asp His Arg Asp

                  195                    200                    205

Asp Lys Glu Ser Arg Pro Pro Arg Lys Phe Pro Ser Asp Lys Ile Phe



Gln Val Tyr Glu Phe Arg Val Lys Glu Ser Ser Ile Ile Ala Pro Ala  
 465                      470                      475                      480

Pro Ala Glu Asp Val Asp Thr Pro Pro Arg Lys Lys Lys Arg Lys His  
                                  485                      490                      495

Arg Leu Trp Ala Ala His Cys Arg Lys Ile Gln Leu Lys Lys Asp Gly  
                                  500                      505                      510

Ser Ser Asn His Val Tyr Asn Tyr Gln Pro Cys Asp His Pro Arg Gln  
                                  515                      520                      525

Pro Cys Asp Ser Ser Cys Pro Cys Val Ile Ala Gln Asn Phe Cys Glu  
                                  530                      535                      540

Lys Phe Cys Gln Cys Ser Ser Glu Cys Gln Asn Arg Phe Pro Gly Cys  
 545                      550                      555                      560

Arg Cys Lys Ala Gln Cys Asn Thr Lys Gln Cys Pro Cys Tyr Leu Ala  
                                  565                      570                      575

Val Arg Glu Cys Asp Pro Asp Leu Cys Leu Thr Cys Gly Ala Ala Asp  
                                  580                      585                      590

His Trp Asp Ser Lys Asn Val Ser Cys Lys Asn Cys Ser Ile Gln Arg  
                                  595                      600                      605

Gly Ser Lys Lys His Leu Leu Leu Ala Pro Ser Asp Val Ala Gly Trp  
                                  610                      615                      620

Gly Ile Phe Ile Lys Asp Pro Val Gln Lys Asn Glu Phe Ile Ser Glu  
 625                      630                      635                      640

Tyr Cys Gly Glu Ile Ile Ser Gln Asp Glu Ala Asp Arg Arg Gly Lys  
                                  645                      650                      655

Val Tyr Asp Lys Tyr Met Cys Ser Phe Leu Phe Asn Leu Asn Asn Asp  
                                  660                      665                      670

Phe Val Val Asp Ala Thr Arg Lys Gly Asn Lys Ile Arg Phe Ala Asn  
                                  675                      680                      685

His Ser Val Asn Pro Asn Cys Tyr Ala Lys Val Met Met Val Asn Gly  
                                  690                      695                      700

Asp His Arg Ile Gly Ile Phe Ala Lys Arg Ala Ile Gln Thr Gly Glu



aggccgcaga agaggacggc ttccaataa cagtagcagg cccagcaccc ccaccattaa 1320  
 tgtgctgtaa tcaaaggata cagacagtga tagggaagca gggactgaaa cggggggaga 1380  
 gaacaatgat aaagaagaag aagagaagaa agatgaaact tcgagctcct ctgaagcaaa 1440

ttctcgggtg caaacaccaa taaagatgaa gccaaatatt gaacctcctg agaatgtgga 1500  
 gtggagtggg gctgaagcct caatgttttag agtcctcatt ggcacttact atgacaattt 1560  
 ctgtgccatt gctaggttaa ttgggaccaa aacatgtaga cagggtgatg agtttagagt 1620  
 caaagaatct agcatcatag ctccagctcc cgctgaggat gtggatactc ctccaaggaa 1680  
 aaagaagagg aaacaccggt tgtgggctgc aactgcaga aagatacagc tgaanaagga 1740  
 cggctcctct aaccatgttt acaactatca accctgtgat catccacggc agccttgtga 1800  
 cagttcgtgc ccttgtgtga tagcacaaaa tttttgtgaa aagttttgtc aatgtagttc 1860

agagtgtcaa aaccgctttc cgggatgccg ctgcaaagca cagtgcaca ccaagcagtg 1920  
 cccgtgctac ctggctgtcc gagagtgtga cctgacctc tgtcttactt gtggagccgc 1980  
 tgaccattgg gacagtaaaa atgtgtcctg caagaactgc agtattcagc ggggctccaa 2040  
 aaagcatcta ttgtggcac catctgacgt ggcaggetgg gggattttta tcaaagatec 2100  
 tgtgcagaaa aatgaattca tctcagaata ctgtggagag attatttctc aagatgaagc 2160  
 tgacagaaga gggaaagtgt atgataaata catgtgcagc tttctgttca acttgaacaa 2220  
 tgattttgtg gtggatgcaa cccgcaaggg taacaaaatt cgttttgcaa atcattcggg 2280

aatccaaac tgctatgcaa aagttatgat ggtaacggt gatcacagga taggtatfff 2340  
 tgccaagaga gccatccaga ctggcgaaga gctgtttfff gattacagat acagccaggc 2400  
 tgatgcctg aagtatgtcg gcatcgaag agaaatggaa atcccttgac atctgctacc 2460  
 tcctccccc tcctctgaaa cagctgcctt agcttcagga acctcgagta ctgtgggcaa 2520  
 tttagaaaa gaacatgcag tttgaaattc tgaatttga aagtactgta agaataattt 2580  
 atagtaatga gtttaaaaat caacttttta ttgccttctc accagctgca aagtgttttg 2640  
 taccagttaa tttttgcaat aatgcagtat ggtacatfff tcaactttga ataaagaata 2700

cttgaacttg tccttgttga atc 2723

<210> 3  
 <211> 751  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 3

Met Gly Gln Thr Gly Lys Lys Ser Glu Lys Gly Pro Val Cys Trp Arg

1                    5                    10                    15  
 Lys Arg Val Lys Ser Glu Tyr Met Arg Leu Arg Gln Leu Lys Arg Phe  
                          20                    25                    30  
 Arg Arg Ala Asp Glu Val Lys Ser Met Phe Ser Ser Asn Arg Gln Lys  
                          35                    40                    45  
  
 Ile Leu Glu Arg Thr Glu Ile Leu Asn Gln Glu Trp Lys Gln Arg Arg  
                          50                    55                    60  
 Ile Gln Pro Val His Ile Leu Thr Ser Val Ser Ser Leu Arg Gly Thr  
 65                    70                    75                    80  
 Arg Glu Cys Ser Val Thr Ser Asp Leu Asp Phe Pro Thr Gln Val Ile  
                          85                    90                    95  
 Pro Leu Lys Thr Leu Asn Ala Val Ala Ser Val Pro Ile Met Tyr Ser  
                          100                    105                    110  
  
 Trp Ser Pro Leu Gln Gln Asn Phe Met Val Glu Asp Glu Thr Val Leu  
                          115                    120                    125  
 His Asn Ile Pro Tyr Met Gly Asp Glu Val Leu Asp Gln Asp Gly Thr  
                          130                    135                    140  
 Phe Ile Glu Glu Leu Ile Lys Asn Tyr Asp Gly Lys Val His Gly Asp  
 145                    150                    155                    160  
 Arg Glu Cys Gly Phe Ile Asn Asp Glu Ile Phe Val Glu Leu Val Asn  
                          165                    170                    175  
  
 Ala Leu Gly Gln Tyr Asn Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Gly Asp Asp  
                          180                    185                    190  
 Pro Glu Glu Arg Glu Glu Lys Gln Lys Asp Leu Glu Asp His Arg Asp  
                          195                    200                    205  
 Asp Lys Glu Ser Arg Pro Pro Arg Lys Phe Pro Ser Asp Lys Ile Phe  
                          210                    215                    220  
 Glu Ala Ile Ser Ser Met Phe Pro Asp Lys Gly Thr Ala Glu Glu Leu  
 225                    230                    235                    240  
  
 Lys Glu Lys Tyr Lys Glu Leu Thr Glu Gln Gln Leu Pro Gly Ala Leu  
                          245                    250                    255

Pro Pro Glu Cys Thr Pro Asn Ile Asp Gly Pro Asn Ala Lys Ser Val  
 260 265 270

Gln Arg Glu Gln Ser Leu His Ser Phe His Thr Leu Phe Cys Arg Arg  
 275 280 285

Cys Phe Lys Tyr Asp Cys Phe Leu His Arg Lys Cys Asn Tyr Ser Phe  
 290 295 300

His Ala Thr Pro Asn Thr Tyr Lys Arg Lys Asn Thr Glu Thr Ala Leu  
 305 310 315 320

Asp Asn Lys Pro Cys Gly Pro Gln Cys Tyr Gln His Leu Glu Gly Ala  
 325 330 335

Lys Glu Phe Ala Ala Ala Leu Thr Ala Glu Arg Ile Lys Thr Pro Pro  
 340 345 350

Lys Arg Pro Gly Gly Arg Arg Arg Gly Arg Leu Pro Asn Asn Ser Ser  
 355 360 365

Arg Pro Ser Thr Pro Thr Ile Asn Val Leu Glu Ser Lys Asp Thr Asp  
 370 375 380

Ser Asp Arg Glu Ala Gly Thr Glu Thr Gly Gly Glu Asn Asn Asp Lys  
 385 390 395 400

Glu Glu Glu Glu Lys Lys Asp Glu Thr Ser Ser Ser Ser Glu Ala Asn  
 405 410 415

Ser Arg Cys Gln Thr Pro Ile Lys Met Lys Pro Asn Ile Glu Pro Pro  
 420 425 430

Glu Asn Val Glu Trp Ser Gly Ala Glu Ala Ser Met Phe Arg Val Leu  
 435 440 445

Ile Gly Thr Tyr Tyr Asp Asn Phe Cys Ala Ile Ala Arg Leu Ile Gly  
 450 455 460

Thr Lys Thr Cys Arg Gln Val Tyr Glu Phe Arg Val Lys Glu Ser Ser  
 465 470 475 480

Ile Ile Ala Pro Ala Pro Ala Glu Asp Val Asp Thr Pro Pro Arg Lys  
 485 490 495

Lys Lys Arg Lys His Arg Leu Trp Ala Ala His Cys Arg Lys Ile Gln



<210> 4

<211> 2591

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

ggcggcgctt gattgggctg ggggggccaa ataaaagcga tggcgattgg gctgccgcgt 60  
 ttggcgctcg gtccggtcgc gtccgacacc cgggtgggact cagaaggcag tggagccccg 120  
 gcggcggcgg cggcggcgcg cggggggcgac gcgcgggaac aacgcgagtc ggcgcgcggg 180  
 acgaagaata atcatgggcc agactgggaa gaaatctgag aagggaccag tttgttggcg 240  
 gaagcgtgta aaatcagagt acatgcgact gagacagctc aagaggttca gacgagctga 300  
 tgaagtaaag agtatgttta gttccaatcg tcagaaaatt ttggaagaa cggaaatctt 360

aaaccaagaa tggaacacgc gaaggataca gcctgtgcac atcctgactt ctgtgagctc 420  
 attgcgcggg actagggagg tggaagatga aactgtttta cataacattc cttatatggg 480  
 agatgaagtt ttagatcagg atggfacttt cattgaagaa ctaataaaaa attatgatgg 540  
 gaaagtacac ggggatagag aatgtgggtt tataaatgat gaaatTTTTg tggagtTggT 600  
 gaatgccctt ggtcaatata atgatgatga cgatgatgat gatggagacg atcctgaaga 660  
 aagagaagaa aagcagaaaag atctggagga tcaccgagat gataaagaaa gccgcccacc 720  
 tcggaatTTT cttctgata aaatTTTTga agccattTcc tcaatgtTtc cagataaggg 780

cacagcagaa gaactaaagg aaaaatataa agaactcacc gaacagcagc tcccaggcgc 840  
 acttctctct gaatgtacc ccaacataga tggaccaaat gctaaatctg ttcagagaga 900  
 gcaaagctta cactcctttc atacgctttt ctgtaggcga tgttttaaat atgactgctt 960  
 cctacatcct tttcatgcaa cacccaacac ttataagcgg aagaacacag aaacagctct 1020  
 agacaacaaa ccttgtggac cacagtgtta ccagcatttg gagggagcaa aggagtTtgc 1080  
 tgctgtcttc accgctgagc ggataaagac cccacaaaa cgtccaggag gccgcagaag 1140  
 aggacggctt cccaataaca gtagcaggcc cagcaccccc accattaatg tgctggaatc 1200

aaaggataca gacagtgata gggaagcagg gactgaaacg gggggagaga acaatgataa 1260  
 agaagaagaa gagaagaag atgaaacttc gagctcctct gaagcaaatt ctcggtgtca 1320  
 aacaccaata aagatgaagc caaatattga acctcctgag aatgtggagt ggagtggTgc 1380  
 tgaagcctca atgtttagag tctcattgg cacttactat gacaatttct gtgccattgc 1440  
 taggttaatt gggacaaaa catgtagaca ggtgtatgag ttttagagtca aagaatctag 1500  
 catcatagct ccagctcccg ctgaggatgt ggatactcct ccaaggaaaa agaagaggaa 1560

acaccggttg tgggctgcac actgcagaaa gatacagctg aaaaaggacg gtcctctaa 1620

ccatgtttac aactatcaac cctgtgatca tccacggcag ccttgtgaca gttcgtgccc 1680

ttgtgtgata gcacaaaatt tttgtgaaaa gttttgtcaa tgtagttcag agtgtcaaaa 1740

ccgctttccg ggatgccgct gcaaagcaca gtgcaacacc aagcagtgcc cgtgctacct 1800

ggctgtccga gagtgtgacc ctgacctctg tcttacttgt ggagccgctg accattggga 1860

cagtaaaaat gtgtcctgca agaactgcag tattcagcgg ggctccaaaa agcatctatt 1920

gctggcacca tctgacgtgg caggctgggg gatttttattc aaagatcctg tgcagaaaaa 1980

tgaattcctc tcagaatact gtggagagat tattttctca gatgaagctg acagaagagg 2040

gaaagtgtat gataaataca tgtgcagctt tctgttcaac ttgaacaatg attttgtggt 2100

ggatgcaacc cgcaagggtg acaaaattcg ttttgcaaat cattcggtaa atccaaactg 2160

ctatgcaaaa gttatgatgg ttaacgggtg tcacaggata ggtatTTTTG ccaagagagc 2220

catccagact ggcaagagc tgttttttga ttacagatac agccaggctg atgccctgaa 2280

glatgtcggc atcгааagag aatggaaat cccttgacat ctgctacctc ctccccctc 2340

ctctgaaaca gctgccttag cttcaggaac ctcgagtact gtgggcaatt tagaaaaaga 2400

acatgcagtt tgaattctg aatttgcaaa gtactgtaag aataatttat agtaatgagt 2460

ttaaaaaatca actttttatt gccttctcac cagctgcaaa gtgttttgta ccagtgaatt 2520

tttgcaataa tgcagtatgg tacatttttc aactttgaat aaagaatact tgaactgtc 2580

cttgttgaat c 2591

<210> 5

<211> 707

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Gly Gln Thr Gly Lys Lys Ser Glu Lys Gly Pro Val Cys Trp Arg

1 5 10 15

Lys Arg Val Lys Ser Glu Tyr Met Arg Leu Arg Gln Leu Lys Arg Phe

20 25 30

Arg Arg Ala Asp Glu Val Lys Ser Met Phe Ser Ser Asn Arg Gln Lys

35 40 45

Ile Leu Glu Arg Thr Glu Ile Leu Asn Gln Glu Trp Lys Gln Arg Arg

50 55 60



305                    310                    315                    320  
 Asn Asn Ser Ser Arg Pro Ser Thr Pro Thr Ile Asn Val Leu Glu Ser  
                                  325                    330                    335  
 Lys Asp Thr Asp Ser Asp Arg Glu Ala Gly Thr Glu Thr Gly Gly Glu  
                                  340                    345                    350  
  
 Asn Asn Asp Lys Glu Glu Glu Glu Lys Lys Asp Glu Thr Ser Ser Ser  
                                  355                    360                    365  
 Ser Glu Ala Asn Ser Arg Cys Gln Thr Pro Ile Lys Met Lys Pro Asn  
                                  370                    375                    380  
 Ile Glu Pro Pro Glu Asn Val Glu Trp Ser Gly Ala Glu Ala Ser Met  
 385                    390                    395                    400  
 Phe Arg Val Leu Ile Gly Thr Tyr Tyr Asp Asn Phe Cys Ala Ile Ala  
                                  405                    410                    415  
  
 Arg Leu Ile Gly Thr Lys Thr Cys Arg Gln Val Tyr Glu Phe Arg Val  
                                  420                    425                    430  
 Lys Glu Ser Ser Ile Ile Ala Pro Ala Pro Ala Glu Asp Val Asp Thr  
                                  435                    440                    445  
 Pro Pro Arg Lys Lys Lys Arg Lys His Arg Leu Trp Ala Ala His Cys  
                                  450                    455                    460  
 Arg Lys Ile Gln Leu Lys Lys Asp Gly Ser Ser Asn His Val Tyr Asn  
 465                    470                    475                    480  
  
 Tyr Gln Pro Cys Asp His Pro Arg Gln Pro Cys Asp Ser Ser Cys Pro  
                                  485                    490                    495  
 Cys Val Ile Ala Gln Asn Phe Cys Glu Lys Phe Cys Gln Cys Ser Ser  
                                  500                    505                    510  
 Glu Cys Gln Asn Arg Phe Pro Gly Cys Arg Cys Lys Ala Gln Cys Asn  
                                  515                    520                    525  
 Thr Lys Gln Cys Pro Cys Tyr Leu Ala Val Arg Glu Cys Asp Pro Asp  
                                  530                    535                    540  
  
 Leu Cys Leu Thr Cys Gly Ala Ala Asp His Trp Asp Ser Lys Asn Val  
 545                    550                    555                    560

Ser Cys Lys Asn Cys Ser Ile Gln Arg Gly Ser Lys Lys His Leu Leu  
 565 570 575

Leu Ala Pro Ser Asp Val Ala Gly Trp Gly Ile Phe Ile Lys Asp Pro  
 580 585 590

Val Gln Lys Asn Glu Phe Ile Ser Glu Tyr Cys Gly Glu Ile Ile Ser  
 595 600 605

Gln Asp Glu Ala Asp Arg Arg Gly Lys Val Tyr Asp Lys Tyr Met Cys  
 610 615 620

Ser Phe Leu Phe Asn Leu Asn Asn Asp Phe Val Val Asp Ala Thr Arg  
 625 630 635 640

Lys Gly Asn Lys Ile Arg Phe Ala Asn His Ser Val Asn Pro Asn Cys  
 645 650 655

Tyr Ala Lys Val Met Met Val Asn Gly Asp His Arg Ile Gly Ile Phe  
 660 665 670

Ala Lys Arg Ala Ile Gln Thr Gly Glu Glu Leu Phe Phe Asp Tyr Arg  
 675 680 685

Tyr Ser Gln Ala Asp Ala Leu Lys Tyr Val Gly Ile Glu Arg Glu Met  
 690 695 700

Glu Ile Pro  
 705

<210> 6  
 <211> 200  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 6

Ser Cys Pro Cys Val Ile Ala Gln Asn Phe Cys Glu Lys Phe Cys Gln  
 1 5 10 15

Cys Ser Ser Glu Cys Gln Asn Arg Phe Pro Gly Cys Arg Cys Lys Ala  
 20 25 30

Gln Cys Asn Thr Lys Gln Cys Pro Cys Tyr Leu Ala Val Arg Glu Cys  
 35 40 45

Asp Pro Asp Leu Cys Leu Thr Cys Gly Ala Ala Asp His Trp Asp Ser







Cys Phe Lys Tyr Asp Cys Phe Leu His Pro Phe His Ala Thr Pro Asn  
 290 295 300  
 Thr Tyr Lys Arg Lys Asn Thr Glu Thr Ala Leu Asp Asn Lys Pro Cys  
 305 310 315 320  
 Gly Pro Gln Cys Tyr Gln His Leu Glu Gly Ala Lys Glu Phe Ala Ala  
 325 330 335  
 Ala Leu Thr Ala Glu Arg Ile Lys Thr Pro Pro Lys Arg Pro Gly Gly  
 340 345 350  
 Arg Arg Arg Gly Arg Leu Pro Asn Asn Ser Ser Arg Pro Ser Thr Pro  
 355 360 365  
 Thr Ile Asn Val Leu Glu Ser Lys Asp Thr Asp Ser Asp Arg Glu Ala  
 370 375 380  
 Gly Thr Glu Thr Gly Gly Glu Asn Asn Asp Lys Glu Glu Glu Glu Lys  
 385 390 395 400  
 Lys Asp Glu Thr Ser Ser Ser Ser Glu Ala Asn Ser Arg Cys Gln Thr  
 405 410 415  
 Pro Ile Lys Met Lys Pro Asn Ile Glu Pro Pro Glu Asn Val Glu Trp  
 420 425 430  
 Ser Gly Ala Glu Ala Ser Met Phe Arg Val Leu Ile Gly Thr Tyr Tyr  
 435 440 445  
 Asp Asn Phe Cys Ala Ile Ala Arg Leu Ile Gly Thr Lys Thr Cys Arg  
 450 455 460  
 Gln Val Tyr Glu Phe Arg Val Lys Glu Ser Ser Ile Ile Ala Pro Ala  
 465 470 475 480  
 Pro Ala Glu Asp Val Asp Thr Pro Pro Arg Lys Lys Lys Arg Lys His  
 485 490 495  
 Arg Leu Trp Ala Ala His Cys Arg Lys Ile Gln Leu Lys Lys Asp Gly  
 500 505 510  
 Ser Ser Asn His Val Tyr Asn Tyr Gln Pro Cys Asp His Pro Arg Gln  
 515 520 525  
 Pro Cys Asp Ser Ser Cys Pro Cys Val Ile Ala Gln Asn Phe Cys Glu

530                      535                      540  
 Lys Phe Cys Gln Cys Ser Ser Glu Cys Gln Asn Arg Phe Pro Gly Cys  
 545                      550                      555                      560  
 Arg Cys Lys Ala Gln Cys Asn Thr Lys Gln Cys Pro Cys Tyr Leu Ala  
                          565                      570                      575  
 Val Arg Glu Cys Asp Pro Asp Leu Cys Leu Thr Cys Gly Ala Ala Asp  
  
                          580                      585                      590  
 His Trp Asp Ser Lys Asn Val Ser Cys Lys Asn Cys Ser Ile Gln Arg  
                          595                      600                      605  
 Gly Ser Lys Lys His Leu Leu Leu Ala Pro Ser Asp Val Ala Gly Trp  
                          610                      615                      620  
 Gly Ile Phe Ile Lys Asp Pro Val Gln Lys Asn Glu Phe Ile Ser Glu  
 625                      630                      635                      640  
 Xaa Cys Gly Glu Ile Ile Ser Gln Asp Glu Ala Asp Arg Arg Gly Lys  
  
                          645                      650                      655  
 Val Tyr Asp Lys Tyr Met Cys Ser Phe Leu Phe Asn Leu Asn Asn Asp  
                          660                      665                      670  
 Phe Val Val Asp Ala Thr Arg Lys Gly Asn Lys Ile Arg Phe Ala Asn  
                          675                      680                      685  
 His Ser Val Asn Pro Asn Cys Tyr Ala Lys Val Met Met Val Asn Gly  
                          690                      695                      700  
 Asp His Arg Ile Gly Ile Phe Ala Lys Arg Ala Ile Gln Thr Gly Glu  
  
 705                      710                      715                      720  
 Glu Leu Phe Phe Asp Tyr Arg Tyr Ser Gln Ala Asp Ala Leu Lys Tyr  
                          725                      730                      735  
 Val Gly Ile Glu Arg Glu Met Glu Ile Pro  
                          740                      745  
  
 <210> 10  
 <211> 695  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 10

Met Gly Gln Thr Gly Lys Lys Ser Glu Lys Gly Pro Val Cys Trp Arg  
 1                    5                    10                    15  
 Lys Arg Val Lys Ser Glu Tyr Met Arg Leu Arg Gln Leu Lys Arg Phe  
                   20                    25                    30  
 Arg Arg Ala Asp Glu Val Lys Ser Met Phe Ser Ser Asn Arg Gln Lys  
                   35                    40                    45  
 Ile Leu Glu Arg Thr Glu Ile Leu Asn Gln Glu Trp Lys Gln Arg Arg  
                   50                    55                    60  
 Ile Gln Pro Val His Ile Leu Thr Ser Cys Ser Val Thr Ser Asp Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Asp Phe Pro Thr Gln Val Ile Pro Leu Lys Thr Leu Asn Ala Val Ala  
                   85                    90                    95  
 Ser Val Pro Ile Met Tyr Ser Trp Ser Pro Leu Gln Gln Asn Phe Met  
                   100                    105                    110  
 Val Glu Asp Glu Thr Val Leu His Asn Ile Pro Tyr Met Gly Asp Glu  
                   115                    120                    125  
 Val Leu Asp Gln Asp Gly Thr Phe Ile Glu Glu Leu Ile Lys Asn Tyr  
                   130                    135                    140  
 Asp Gly Lys Val His Gly Asp Arg Glu Cys Gly Phe Ile Asn Asp Glu  
                   145                    150                    155                    160  
 Ile Phe Val Glu Leu Val Asn Ala Leu Gly Gln Tyr Asn Asp Asp Asp  
                   165                    170                    175  
 Asp Asp Asp Asp Gly Asp Asp Pro Glu Glu Arg Glu Glu Lys Gln Lys  
                   180                    185                    190  
 Asp Leu Glu Asp His Arg Asp Asp Lys Glu Ser Arg Pro Pro Arg Lys  
                   195                    200                    205  
 Phe Pro Ser Asp Lys Ile Phe Glu Ala Ile Ser Ser Met Phe Pro Asp  
                   210                    215                    220  
 Lys Gly Thr Ala Glu Glu Leu Lys Glu Lys Tyr Lys Glu Leu Thr Glu  
 225                    230                    235                    240  
 Gln Gln Leu Pro Gly Ala Leu Pro Pro Glu Cys Thr Pro Asn Ile Asp



Ile Gln Leu Lys Lys Gly Gln Asn Arg Phe Pro Gly Cys Arg Cys Lys  
                   500                                  505                                  510  
 Ala Gln Cys Asn Thr Lys Gln Cys Pro Cys Tyr Leu Ala Val Arg Glu  
                   515                                  520                                  525  
 Cys Asp Pro Asp Leu Cys Leu Thr Cys Gly Ala Ala Asp His Trp Asp  
  
                   530                                  535                                  540  
 Ser Lys Asn Val Ser Cys Lys Asn Cys Ser Ile Gln Arg Gly Ser Lys  
 545                                  550                                  555                                  560  
 Lys His Leu Leu Leu Ala Pro Ser Asp Val Ala Gly Trp Gly Ile Phe  
                                   565                                  570                                  575  
 Ile Lys Asp Pro Val Gln Lys Asn Glu Phe Ile Ser Glu Tyr Cys Gly  
                   580                                  585                                  590  
 Glu Ile Ile Ser Gln Asp Glu Ala Asp Arg Arg Gly Lys Val Tyr Asp  
  
                   595                                  600                                  605  
 Lys Tyr Met Cys Ser Phe Leu Phe Asn Leu Asn Asn Asp Phe Val Val  
                   610                                  615                                  620  
 Asp Ala Thr Arg Lys Gly Asn Lys Ile Arg Phe Ala Asn His Ser Val  
 625                                  630                                  635                                  640  
 Asn Pro Asn Cys Tyr Ala Lys Val Met Met Val Asn Gly Asp His Arg  
                                   645                                  650                                  655  
 Ile Gly Ile Phe Ala Lys Arg Ala Ile Gln Thr Gly Glu Glu Leu Phe  
  
                   660                                  665                                  670  
 Phe Asp Tyr Arg Tyr Ser Gln Ala Asp Ala Leu Lys Tyr Val Gly Ile  
                   675                                  680                                  685  
 Glu Arg Glu Met Glu Ile Pro  
                   690                                  695  
 <210> 11  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 11  
 Leu Ala Thr Lys Ala Ala Arg Lys Ser Ala Pro Ala Thr Gly Gly Val

1                    5                    10                    15

Lys Lys Pro His Arg Tyr Arg Pro

20

<210> 12

<211> 2682

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gacgacgttc gcgcgggga actcggagta gcttcgctc tgacgtttcc ccacgacgca        60

ccccgaaatc ccctgagct ccggcggctc gggctgccc tcgccgctg gtctggcttt        120

atgctaagtt tgaggaaga gtcgagctgc tctgctctc attgattgtg tttctggagg        180

gcgtcctgtt gaattccac ttatttgtt acatcccctt ccgttcccc caaaaatctg        240

tgccacaggg ttactttttg aaagcgggag gaatcgagaa gcacgatctt ttggaaaact        300

tggatgaacgc ctaataatc atgggccaga ctgggaagaa atctgagaag ggaccagttt        360

gttggcgaa gcgtgtaaaa tcagagtaca tgcgactgag acagctcaag aggttcagac        420

gagctgatga agtaaagagt atgtttagt ccaatcgtca gaaaattttg gaaagaacgg        480

aatcttaaa ccaagaatgg aaacagcgaa ggatacagcc tgtgcacatc ctgacttctt        540

gttcggtgac cagtgacttg gatitccaa cacaagtcac ccattaaag actctgaatg        600

cagttgcttc agtaccata atgtattctt ggtctcccct acagcagaat tttatggtgg        660

aagatgaaac tgittttacat aacattcctt atatgggaga tgaagtttta gatcaggatg        720

gtactttcat tgaagaacta ataaaaaatt atgatgggaa agtacacggg gatagagaat        780

gtgggtttat aatgatgaa atttttgtgg agttggtgaa tgccttgggt caatataatg        840

atgatgacga tgatgatgat ggagacgatc ctgaagaaag agaagaaaag cagaaagatc        900

tggaggatca ccgagatgat aaagaaagcc gccacctcga gaaatttctt tctgataaaa        960

tttttgaagc catttctca atgtttccag ataaggcac agcagaagaa ctaaaggaaa        1020

aatataaaga actcaccgaa cagcagctcc caggcgact tcctctgaa tgtaccccca        1080

acatagatgg accaaatgct aaatctgttc agagagagca aagcttacac tcctttcata        1140

cgcttttctg taggcgatgt tttaaatatg actgcttctt acatcctttt catgcaacac        1200

ccaacactta taagcggag aacacagaaa cagctctaga caaaaacct tgtggaccac        1260

agtgttacca gcaattggag ggagcaaagg agtttctgc tgctctcacc getgagcgga        1320

taaagacccc accaaaactg ccaggaggcc gcagaagagg acggcttccc aataacagta        1380

gcaggcccag cacccccacc attaatgtgc tggaatcaaa ggatacagac agtgataggg 1440  
aagcaggac tgaaacgggg ggagagaaca atgataaaga agaagaagag aagaaagatg 1500  
aaacttcgag ctctctgaa gcaaattctc ggtgtcaaac accaataaag atgaagccaa 1560  
atattgaacc tcctgagaat gtggagtgga gtggtgctga agcctcaatg tttagagtcc 1620

tcattggcac ttactatgac aatttctgtg ccattgctag gttaattggg accaaaacat 1680  
gtagacaggt gtagagatt agagtcaaag aatctagcat catagctcca getcccgtg 1740  
aggatgtgga tactcctcca aggaaaaaga agaggaaaca cgggttgtgg gctgcacact 1800  
gcagaaagat acagctgaaa aagggtcaaa accgctttcc gggatgccgc tgcaaagcac 1860  
agtgcaacac caagcagtgc ccgtgctacc tggctgtccg agagtgtgac cctgacctct 1920  
gtcttacttg tggagccgct gaccattggg acagtaaaaa tgtgtcctgc aagaactgca 1980  
gtattcagcg gggctccaaa aagcatctat tgcctggcacc atctgacgtg gcaggctggg 2040

ggatTTTTat caaagatcct gtgcagaaaa atgaattcat ctcaaatac tgtggagaga 2100  
ttatttctca agatgaagct gacagaagag ggaaagtgta tgataaatc atgtgcagct 2160  
ttctgttcaa cttaacaat gattttgtgg tggatgcaac ccgcaagggt aacaaaattc 2220  
gttttgcaaa tcattcggta aatccaaact gctatgcaaa agttatgatg gttaacggtg 2280  
atcacaggat aggtattttt gccaaagagag ccatccagac tggcgaagag ctgttttttg 2340  
attacagata cagccaggct gatgcctga agtatgtcgg catcgaaaga gaaatggaaa 2400  
tccttgaca tctgctacct cctccccct cctctgaaac agctgcctta gcttcaggaa 2460

cctcgagtac tgtgggcaat ttagaaaaag aacatgcagt ttgaaattct gaatttgcaa 2520  
agtactgtaa gaataattta tagtaatgag tttaaaaatc aactttttat tgccttctca 2580  
ccagctgcaa agtgttttgt accagtgaat ttttgcaata atgcagtatg gtacattttt 2640  
caactttgaa taaagaatac ttgaacttgt ccttgttgaa tc 2682