



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111356478 A

(43)申请公布日 2020.06.30

(21)申请号 201880073705.2

(72)发明人 M·克劳斯 龚蓓蓓 T·A·保罗

(22)申请日 2018.11.09

S·夏尔马 D·韦海尔

(30)优先权数据

62/585,781 2017.11.14 US

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专  
利商标事务所 11038

62/628,314 2018.02.09 US

代理人 袁志明

62/684,832 2018.06.14 US

62/739,990 2018.10.02 US

(51)Int.Cl.

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 45/06(2006.01)

2020.05.14

A61K 31/282(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

A61K 31/357(2006.01)

PCT/IB2018/058795 2018.11.09

A61K 31/4545(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

A61K 31/4709(2006.01)

W02019/097369 EN 2019.05.23

A61K 31/496(2006.01)

(71)申请人 辉瑞大药厂

A61K 31/501(2006.01)

地址 美国纽约州

A61K 31/5377(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61K 9/00(2006.01)

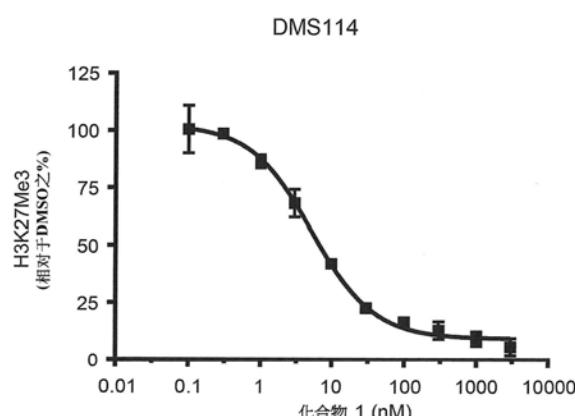
权利要求书4页 说明书39页 附图22页

(54)发明名称

EZH2抑制剂组合疗法

(57)摘要

本发明涉及包含EZH2抑制剂及化学治疗剂的组合疗法,以及相关的药物组合物、治疗方法及药物用途。



1. 一种治疗受试者的癌症的方法, 其包括对该受试者施用组合疗法, 该组合疗法包含 EZH2 抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐。

2. 根据权利要求1的治疗癌症的方法, 其中所述的受试者为人类。

3. 根据权利要求1和2中任一项的治疗癌症的方法, 其中所述的癌症为小细胞肺癌。

4. 根据权利要求3的治疗癌症的方法, 其中所述的小细胞肺癌被分类为广泛期疾病。

5. 根据权利要求1至4中任一项的治疗癌症的方法, 其中所述的受试者未接受过治疗。

6. 根据权利要求1至5中任一项的治疗癌症的方法, 其中所述的EZH2抑制剂选自由下列各项组成的组:

5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧化-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ 甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;

5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧化-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;

5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧化-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (S)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;

5-溴-8-氯-2-[ (4,6-二甲基-2-氧化-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-7-(1,4-二甲基-1H-1,2,3-三唑-5-基)-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;

5,8-二氯-7-(3,5-二甲基-1,2-恶唑-4-基)-2-[ (4,6-二甲基-2-氧化-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;

N-[ (4,6-二甲基-2-氧化-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基)联苯-3-甲酰胺;

N-[ (4,6-二甲基-2-氧化-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基)联苯-3-甲酰胺;

N-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧化-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-1-[ (1R)-1-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]乙基]-1H-吲哚-3-甲酰胺;

N-(4,6-二甲基-2-氧化-1,2-二氢吡啶-3-基甲基)-1-异丙基-3-甲基-6-[6-(4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-3-基]-1H-吲哚-4-甲酰胺; 及

N-[ (6-甲基-2-氧化-4-丙基-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-6-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-4-基]-1-(丙-2-基)-1H-吲唑-4-甲酰胺;

或其药物上可接受的盐。

7. 根据权利要求6的治疗癌症的方法, 其中EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧化-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮或其药物上可接受的盐。

8. 根据权利要求1至7中任一项的治疗癌症的方法, 其中所述的基于铂的抗肿瘤剂选自由下列各项组成的组: 顺铂和卡铂。

9. 根据权利要求8的治疗癌症的方法, 其中所述的基于铂的抗肿瘤剂为顺铂。

10. 根据权利要求8的治疗癌症的方法, 其中所述的基于铂的抗肿瘤剂为卡铂。

11. 根据权利要求1至5中任一项的治疗癌症的方法, 其中所述的EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧化-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁

烷-3-基)甲基]-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮或其药物上可接受的盐,且所述的基于铂的抗肿瘤剂为顺铂。

12.根据权利要求1至5中任一项的治疗癌症的方法,其中所述的EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮或其药物上可接受的盐,且所述的基于铂的抗肿瘤剂为卡铂。

13.根据权利要求1至12中任一项的治疗癌症的方法,该方法包括另外施用依托泊昔。

14.根据权利要求1至13中任一项的治疗癌症的方法,该方法另外包含施用选自下列的额外抗癌剂:抗肿瘤剂、抗血管生成剂、信号转导抑制剂和抗增殖剂。

15.根据权利要求14的治疗癌症的方法,其中所述的抗癌剂为选自由下列各项组成的组的抗肿瘤剂:有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢物、嵌入性抗生素、生长因子抑制剂、辐射、细胞周期抑制剂、酶、拓朴异构酶抑制剂、生物反应修饰剂、抗体、细胞毒剂、抗激素剂、雄激素剥夺疗法及抗雄激素。

16.根据权利要求14的治疗癌症的方法,其中所述的抗癌剂为选自由下列各项组成的组的抗肿瘤剂:抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体和抗CTLA-4抗体。

17.根据权利要求14的治疗癌症的方法,其中所述的抗癌剂为选自由下列各项组成的组的抗肿瘤剂:纳武单抗、帕博利珠单抗、匹利珠单抗、西普利单抗、替雷利珠单抗、mAb7、mAb15、AMP-224、AGEN-2034、司帕塔利单抗、YW243.55.S70、BMS-936559、阿特珠单抗、德瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、伊匹木单抗、曲美木单抗和AGEN-1884。

18.EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合。

19.EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合,其用于治疗癌症。

20.EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的协同性组合。

21.EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的协同性组合,其用于治疗癌症。

22.一种药物组合物,其包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐,及药物上可接受的载体。

23.一种套装产品,其包含第一容器、第二容器及包装插页,其中所述的第一容器包含至少一个剂量的EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐,该第二容器包含至少一个剂量的基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐,且所述的包装插页包含使用这些药剂以治疗受试者的癌症的用法说明。

24.权利要求18或19的组合、权利要求20或21的协同性组合、权利要求22的药物组合物或权利要求23的套装产品,其另外包含选自下列的额外抗癌剂:抗肿瘤剂、抗血管生成剂、信号转导抑制剂和抗增殖剂。

25.权利要求24的组合、协同性组合、药物组合物或套装产品,其中所述的额外抗癌剂为选自由下列各项组成的组的抗肿瘤剂:有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢物、嵌入性抗生素、生长因子抑制剂、辐射、细胞周期抑制剂、酶、拓朴异构酶抑制剂、生物反应修饰剂、抗

体、细胞毒剂、抗激素剂、雄激素剥夺疗法和抗雄激素。

26. 权利要求24的组合、协同性组合、药物组合物或套装产品，其中所述的额外抗癌剂为选自由下列各项组成的组的抗肿瘤剂：抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体和抗CTLA-4抗体。

27. 权利要求24的组合、协同性组合、药物组合物或套装产品，其中所述的额外抗癌剂为选自由下列各项组成的组的抗肿瘤剂：纳武单抗、帕博利珠单抗、匹利珠单抗、西普利单抗、替雷利珠单抗、mAb7、mAb15、AMP-224、AGEN-2034、司帕塔利单抗、YW243.55.S70、BMS-936559、阿特珠单抗、德瓦鲁单抗、阿维鲁单抗、伊匹木单抗、曲美木单抗和AGEN-1884。

28. 权利要求18、19及24至27中任一项的组合、权利要求20、21及24至27中任一项的协同性组合、权利要求22及24至27中任一项的药物组合物或权利要求23至27中任一项的套装产品，其中所述的EZH2抑制剂选自由下列各项组成的组：

5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮；

5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮；

5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (S)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮；

5-溴-8-氯-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-7-(1,4-二甲基-1H-1,2,3-三唑-5-基)-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮；

5,8-二氯-7-(3,5-二甲基-1,2-恶唑-4-基)-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮；

N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基)联苯-3-甲酰胺；

N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基)联苯-3-甲酰胺；

N-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-1-[ (1R)-1-[1-(2,2,2-三氟乙基)哌啶-4-基]乙基]-1H-吲哚-3-甲酰胺；

N-(4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基甲基)-1-异丙基-3-甲基-6-[6-(4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-3-基]-1H-吲哚-4-甲酰胺；及

N-[ (6-甲基-2-氧代-4-丙基-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-6-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-4-基]-1-(丙-2-基)-1H-吲唑-4-甲酰胺；

或其药物上可接受的盐；且

其中所述的基于铂的抗肿瘤剂选自由下列各项组成的组：顺铂和卡铂。

29. 权利要求18、19及24至27中任一项的组合、权利要求20、21及24至27中任一项的协同性组合、权利要求22及24至27中任一项的药物组合物或权利要求23至27中任一项的套装产品，其中所述的EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮或其药物上可接受的盐；且所述的基于铂的抗肿瘤剂为顺铂。

30. 权利要求18、19及24至27中任一项的组合、权利要求20、21及24至27中任一项的协同性组合、权利要求22及24至27中任一项的药物组合物或权利要求23至27中任一项的套装

产品，其中所述的EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮，或其药物上可接受的盐；且所述的基于铂的抗肿瘤剂为卡铂。

31. 权利要求30的组合、协同性组合、药物组合物或套装产品，其另外包含依托泊苷。

## EZH2抑制剂组合疗法

### 发明领域

[0001] 本发明涉及可用于治疗癌症的组合疗法。尤其，本发明涉及包含zeste增强子同源物2(EZH2)抑制剂或其药物上可接受的盐与化学治疗剂或其药物上可接受的盐的组合疗法。本发明还涉及相关的治疗方法、药物组合物及药物用途。

### [0002] 背景

[0003] 表观遗传变更在细胞过程(包括细胞增殖、细胞分化和细胞存活)的调节中扮演重要角色。肿瘤抑制基因的表观遗传静默及致癌基因的激活可通过DNA甲基化模式变更、组蛋白修饰及DNA结合染色质重塑复合体失调而发生。多梳基因为一组表观遗传效果子。EZH2(zeste增强子同源物2)为多梳抑制因子复合体2(PRC2)的催化组分，该复合体为通过令组蛋白H3上的赖氨酸27(H3K27)甲基化以抑制基因转录的保守性多亚基复合体。EZH2在调节基因表达模式中扮演关键角色，该基因表达模式调节细胞命运决定，诸如分化和自我更新。EZH2在特定癌细胞中过度表达，在此情况下它与细胞增殖、细胞侵入、化学抗性及转移有关。

[0004] 高的EZH2表达与许多癌类型的不良预后、高等级及高病期相关，该癌类型包括乳癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、胃癌、肝癌、肾癌、肺癌、黑色素癌、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌和膀胱癌。参见Crea等人的Crit.Rev.Oncol.Hematol.2012,83:184-193及其中引用的文献；亦参见Kleer等人的Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2003,100:11606-11;Mimori等人的Eur.J.Surg.Oncol.2005,31:376-80;Bachmann等人的J.Clin.Oncol.2006,24:268-273;Matsukawa等人的Cancer Sci.2006,97:484-491;Sasaki等人的Lab.Invest.2008,88:873-882;Sudo等人的Br.J.Cancer 2005,92(9):1754-1758;Breuer等人的Neoplasia 2004,6:736-43;Lu等人的Cancer Res.2007,67:1757-1768;Ougolkov等人的Clin.Cancer Res.2008,14:6790-6796;Varambally等人的Nature 2002,419:624-629;Wagener等人的Int.J.Cancer 2008,123:1545-1550；及Weikert等人的Int.J.Mol.Med.2005,16:349-353;Jones P.A.等人的Nat Rev Genet,2002,3(6):415-428；及Ezponda T.等人的Clin Cancer Res,2014,20(19):5001-5008。

[0005] 在弥漫性大型B细胞淋巴瘤(DLBCL)及滤泡性淋巴瘤(FL)中鉴定出在EZH2中的复发性体细胞突变。据报导已在至多22%的生发中心B细胞DLBCL及7%的FL中观察到改变EZH2酪氨酸641(例如Y641C、Y641F、Y641N、Y641S和Y641H)的突变。Morin等人的Nat.Genetics 2010,42(2):181-185。亦曾报导丙氨酸677(A677)及丙氨酸687(A687)的突变。McCabe等人的Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2012,109:2989-2994;Majer等人的FEBS Letters 2012,586:3448-3451。曾提出EZH2激活的突变改变底物特异性，导致三甲基化H3K27(H3K27Me3)含量升高(Sneeringer等人的Proc Natl Acad Sci USA 2010,107(49):20980-5)。

[0006] 亦称为燕麦细胞癌(oat call cancer)的小细胞肺癌(SCLC)占所有肺癌的约10至15%。肺的小细胞癌通常存在于中央气道中且侵入黏膜下层，导致支气管气道变窄。超过70%的小细胞肺癌患者有转移型疾病的存；常见的部位包括肝、肾上腺、骨和大脑。SCLC

是一种不良分化的肿瘤,其可通过其神经内分泌(NE)特性来区分(Sabari J.K.等人的Nat Rev Clin Oncol,2017,14 (9) :549–561)。在诊断后,SCLC最常被分类成有限状态疾病(LD)或广泛型疾病(ED),取决于远程转移的存在或不存在。所有SCLC患者中约三分之二被诊断为ED。尽管于后期检测出SCLC,但是观察到大多数患者对化学治疗及放射治疗良好的初步反应。可是不幸的是在此初步反应后,几乎所有的患者皆在6至12个月内以抗性疾病复发(Semenova E.A.等人的Genes Dev,2015,29 (14) :1447–1462)。小细胞肺癌以几乎一致的肿瘤抑制因子TP53(肿瘤蛋白质p53)及RB1(视网膜母细胞瘤)功能丧失为特征。与其它肺癌亚型及正常组织相比,在所有的SCLC患者中观察到EZH2的过度表达。在SCLC中的RB1丧失与增加的EZH2表达密切相关。EZH2可因此具有介导SCLC进展的角色(Poirier J.T.等人的Oncogene,2015,34 (48) :5869–5878;Gardner E.E.等人的Cancer Cell,2017,31 (2) :286–299)。

[0007] 仍对癌症治疗的改进治疗方法存在需求。据信本发明的组合具有一个或多个优点,诸如比用单独的治疗剂治疗更大的功效、降低药物与药物相互作用的可能性、能够改进给药方案的可能性、减少副作用的可能性、克服耐药性机制的可能性等等。从以下说明中明显可见本发明的这些优点及其它优点。

[0008] 概述

[0009] 本发明涉及治疗癌症的治疗方案。

[0010] 本发明涉及治疗受试者的癌症的方法,其包括对受试者施用组合疗法,该组合疗法包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐及基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐。

[0011] 本发明还涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合。

[0012] 本发明还涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合,其用于癌症治疗。

[0013] 本发明还涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的协同性组合。

[0014] 本发明还涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的协同性组合,其用于癌症治疗。

[0015] 本发明还涉及药物组合物,其包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐,及药物上可接受的载体。

[0016] 本发明还涉及套装产品,其包含第一容器、第二容器及包装插页,其中第一容器包含至少一个剂量的EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐,第二容器包含至少一个剂量的基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐,且包装插页包含使用这些药剂以治疗受试者的癌症的用法说明。

[0017] 在本发明的一个实施方案中,受试者为人类。

[0018] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌。

[0019] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为难治性小细胞肺癌。

[0020] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为复发型小细胞肺癌。

[0021] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类成广泛期疾病。

- [0022] 在本发明的一个实施方案中,受试者未接受过治疗。
- [0023] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为复发型小细胞肺癌且受试者未接受过治疗。
- [0024] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为难治性小细胞肺癌且受试者未接受过治疗。
- [0025] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为广泛期疾病小细胞肺癌且受试者未接受过治疗。
- [0026] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为难治性广泛期疾病小细胞肺癌且受试者未接受过治疗。
- [0027] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为复发型广泛期疾病小细胞肺癌且受试者未接受过治疗。
- [0028] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂选自由下列各项组成的组:
- [0029] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ 甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;
- [0030] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;
- [0031] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (S)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;
- [0032] 5-溴-8-氯-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-7-(1,4-二甲基-1H-1,2,3-三唑-5-基)-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;
- [0033] 5,8-二氯-7-(3,5-二甲基-1,2-恶唑-4-基)-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮;
- [0034] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[ 乙基(四氢-2H-吡喃-4-基) 氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基) 联苯-3-甲酰胺;
- [0035] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[ 乙基(四氢-2H-吡喃-4-基) 氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基) 联苯-3-甲酰胺;
- [0036] N-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-1-[ (1R)-1-[1-(2,2,2-三氟乙基) 味啶-4-基]乙基]-1H-吲哚-3-甲酰胺;
- [0037] N-(4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基甲基)-1-异丙基-3-甲基-6-[6-(4-甲基味嗪-1-基) 吡啶-3-基]-1H-吲哚-4-甲酰胺;
- [0038] N-[ (6-甲基-2-氧代-4-丙基-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-6-[2-(4-甲基味嗪-1-基) 吡啶-4-基]-1-(丙-2-基)-1H-吲唑-4-甲酰胺;
- [0039] 或其药物上可接受的盐。
- [0040] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮或其药物上可接受的盐。
- [0041] 在本发明的一个实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂选自由下列各项组成的组:顺铂(cisplatin) 和卡铂(carboplatin)。
- [0042] 在本发明的一个实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂为顺铂。

[0043] 在本发明的一个实施方案中，基于铂的抗肿瘤剂为卡铂。

[0044] 在本发明的一个实施方案中，EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮或其药物上可接受的盐，且基于铂的抗肿瘤剂为顺铂。

[0045] 在本发明的一个实施方案中，EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮或其药物上可接受的盐，且基于铂的抗肿瘤剂为卡铂。

[0046] 在本发明的一个实施方案中，另外施用依托泊昔(etoposide)。

[0047] 下文所述的本发明的每一实施方案可与本申请中所述的本发明的一个或多个其它实施方案组合，该其它实施方案与其所组合的实施方案不矛盾。另外，下文说明本发明的每一实施方案设想本发明化合物的药物上可接受的盐、溶剂合物、水合物及复合物，以及其盐的溶剂合物、水合物及复合物，包括其多晶型物、立体异构体及经同位素标记的形式在本发明的范围内。因此，短语“或其药物上可接受的盐”隐含在本申请中所述的所有化合物的说明中。

[0048] 附图简单说明

[0049] 图1：化合物1在DMS114 SCLC细胞中对H3K27Me3的抑制作用。将DMS114 SCLC细胞以不同浓度的化合物1处理3天且使用蛋白质印迹分析评定H3K27Me3含量。各数据点表示在给出的化合物浓度下相对于DMSO归一化的% H3K27Me3含量(平均值±SD; n=2个技术复刻)。图代表5个独立的生物学复制实验。

[0050] 图2：化合物1对DMS114 SCLC细胞的增殖抑制作用。将DMS114 SCLC细胞以不同浓度的化合物1处理19天。各数据点表示在给出的化合物浓度下相对于DMSO归一化的%活细胞(平均值±SD; n=6)。图代表6个独立的生物学复制实验。

[0051] 图3：化合物1与顺铂的组合在DMS114 SCLC细胞中展现协同效果。将细胞以化合物1预处理9天，接着与顺铂共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0052] 图4：化合物1与依托泊昔的组合在DMS114 SCLC细胞中展现协同效果。将细胞以化合物1预处理9天，接着与依托泊昔共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0053] 图5：单一剂化合物1在DMS114 SCLC异种移植模型中的抗肿瘤功效。化合物1治疗臂的DMS114肿瘤生长曲线及TGI值(几何值±SEM)。随机及治疗在植入雌性NOD/SCID小鼠后第20天开始。P值：2-尾t检验。30和100mg/kg BID治疗组显示出明显比300mg/kg BID组更少的TGI。显示了相对于第20天开始治疗的体重变化百分比(平均值±SEM)。

[0054] 图6：化合物1在DMS114 SCLC异种移植模型中对H3K27Me3及Me2的剂量依赖性抑制作用。以不同剂量的化合物1治疗的DMS114肿瘤中的(A) H3K27Me3及(B) H3K27Me2的调节作用。组蛋白自第55天收获的急速冷冻的肿瘤提取且甲基化水平使用ELISA检测法评定(平均值±SEM; \*ns P>0.05; \*P≤0.05; \*\*P≤0.01; \*\*\*P≤0.001; \*\*\*\*P≤0.0001)。

[0055] 图7：顺铂与化合物1在DMS114 SCLC异种移植模型中的组合抗肿瘤效益。A. 化合物1及顺铂治疗臂的DMS114肿瘤生长曲线及TGI值(几何平均值±SEM)。随机及治疗在植入雌性NOD/SCID小鼠后第20天开始。P值：2-尾t检验。100mg/kg BID的化合物1及顺铂单一治疗

组显示出明显比组合疗法组更少的TGI。B. 显示相对于第20天开始治疗的体重变化百分比(平均值±SEM)。C. 组合疗法组的单独肿瘤生长曲线。可在以组合疗法的小鼠中的50%观察到相对于治疗开始的肿瘤大小的肿瘤体积消退(以灰色线/空心圆显示)。

[0056] 图8:在EZH2-wt DMS114皮下SCLC异种移植模型中以顺铂与化合物1的组合治疗的小鼠的延长存活期。卡本麦尔(Kaplan Meier)存活曲线基于 $500\text{mm}^3$ 的肿瘤负荷的存活截止点。在植入雌性NOD/SCID小鼠后第20天随机。P值基于对数秩(Log-rank)检验(Mantel-Cox; Graphpad-Prism软件)。在第3次顺铂治疗后及在第55天后,在两个顺铂治疗组中的体重恢复。

[0057] 图9:在DMS114 SCLC异种移植模型中单独肿瘤生长曲线。在植入(107个细胞于具有50%的基质胶(matrigel)的0.1mL PBS中)雌性NOD/SCID小鼠后第20天随机。

[0058] 图10:化合物1对H841 SCLC细胞的增殖抑制作用。将H841 SCLC细胞以不同浓度的化合物1处理21天。各数据点表示在给出的化合物浓度下相对于DMSO归一化的%活细胞(平均值±SEM;n=3个技术复制)。图代表2个独立的生物学复制实验。

[0059] 图11:化合物1对H446 SCLC细胞的增殖抑制作用。将H446 SCLC细胞以不同浓度的化合物1处理21天。各数据点表示在给出的化合物浓度下相对于DMSO归一化的%活细胞(平均值±SEM;n=3个技术复制)。

[0060] 图12:化合物1对H69 SCLC细胞的增殖抑制作用。将H69 SCLC细胞以不同浓度的化合物1处理21天。各数据点表示在给出的化合物浓度下相对于DMSO归一化的%活细胞(平均值±SEM;n=3个技术复制)。

[0061] 图13:化合物1与顺铂的组合在H841 SCLC细胞中展现协同/加和效果。将H841细胞以化合物1预处理9天,接着与顺铂共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0062] 图14:化合物1与依托泊昔的组合在H841 SCLC细胞中展现协同/加和效果。将H841细胞以化合物1预处理9天,接着与依托泊昔共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0063] 图15:化合物1与顺铂的组合在H446 SCLC细胞中展现协同效果。将H446细胞以化合物1预处理9天,接着与顺铂共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0064] 图16:化合物1与依托泊昔的组合在H446 SCLC细胞中展现协同效果。将H446细胞以化合物1预处理9天,接着与依托泊昔共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0065] 图17:化合物1与顺铂的组合在H69 SCLC细胞细胞中展现协同效果。将H69细胞以化合物1预处理9天,接着与顺铂共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0066] 图18:化合物1与依托泊昔的组合在H69 SCLC细胞细胞中展现协同效果。将H69细胞以化合物1预处理9天,接着与依托泊昔共同处理4天。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。使用Loewe加和性组合模型分析数据。

[0067] 图19:化合物1在SCLC细胞系中诱导SLFN11表达。将SCLC细胞系以500nM化合物1处理7天且使用蛋白质印迹法检测SLFN11表达。

[0068] 图20:化合物1与顺铂的组合在H841 SCLC细胞系中诱导增加的 $\gamma$ -H2AX细胞簇(foci)。将H841细胞以化合物1预处理7天,接着与顺铂共同处理16小时。接着染色细胞的 $\gamma$ -H2AX。

[0069] 图21:COMET检测法表明化合物1与顺铂的组合在H841 SCLC细胞系中诱导增加的DNA损伤。将H841细胞以化合物1预处理7天,接着与顺铂共同处理3天。接着使用COMET检测法分析细胞的DNA损伤。

[0070] 图22:COMET检测法表明化合物1与顺铂的组合在H69 SCLC细胞系中诱导增加的DNA损伤。将H69细胞以化合物1预处理7天,接着与顺铂共同处理3天。接着使用COMET检测法分析细胞的DNA损伤。

[0071] 详细说明

[0072] 参考下列本发明优选的实施方案及其中包括的实施例的详细说明可以更轻易地理解本发明。应理解本申请中所使用的术语仅以说明特定的实施方案为目的而已,且不意欲为限制。应进一步理解本申请中所使用的术语以相关技术中已知的其传统意义给出,除非在本申请中被特别定义。

[0073] 本申请中所使用的单数形式“一(a)”、“一(an)”及“该(the)”包括复数个提及对象,除非另有说明。例如,“一(a)”取代基包括一个或多个取代基。

[0074] 当术语“约”用于修饰经数值定义的参数时(例如EZH2抑制剂的剂量、基于铂的抗肿瘤剂(诸如顺铂)的剂量、化学治疗剂(诸如依托泊苷)的剂量等等),则其意指该参数可以高于或低于该参数所陈述的数值的至多10%的变化。例如,应理解约5mg/kg的剂量意指剂量可在4.5mg/kg与5.5mg/kg之间变化。

[0075] 术语“异常细胞生长”及“过度增殖性障碍”在本申请中可交换使用。

[0076] 本申请中所使用的“异常细胞生长”是指不受正常的调节机制支配(例如丧失接触抑制作用)的细胞生长,除非另有说明。异常细胞生长可为良性(非癌)或恶性(癌)。

[0077] 术语“癌”、“癌性”、“恶性”系指或说明哺乳动物中的生理状况,其通常以失调的细胞生长为特征。本申请中所使用的“癌”系指由异常细胞生长所引起的任何恶性及/或侵入性生长或肿瘤。如本申请中所用的“癌”系指以形成肿瘤的细胞类型命名的实体瘤、血液癌、骨髓癌或淋巴系统癌。实体瘤的实例包括但不限于肉瘤及上皮组织来源的癌(carcinoma)。血液癌实例包括但不限于白血病、淋巴瘤和骨髓癌。术语“癌”包括但不限于起源于身体的特定部位的原发癌、自开始的位置扩散至身体的其它部位的转移癌、在缓解后自原来的原发癌复发及第二原发癌,其为类型上不同于以前的癌病史的人体内的新原发癌。癌的实例包括但不限于上皮组织来源的癌、淋巴瘤、白血病、母细胞瘤和肉瘤。这些癌的更特别实例包括鳞状细胞癌、骨髓瘤、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、神经胶质瘤、何杰金氏(hodgkin's)淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤(FL)、弥漫性大型B细胞淋巴瘤(DLCBCL)、急性髓细胞性白血病(AML)、多发性骨髓瘤、胃肠(道)癌、肾癌、卵巢癌、肝癌、肾脏癌、前列腺癌、去势抗性前列腺癌(CRPC)、甲状腺癌、黑色素瘤、软骨肉瘤、神经母细胞瘤、胰腺癌、多形性胶质母细胞瘤、子宫颈癌、脑癌、胃癌、膀胱癌、肝细胞癌、乳癌、结肠癌和头与颈癌。

[0078] 术语“患者”或“受试者”系指任何需要治疗或参与临床试验、流行病学研究或用作为对照的单一受试者,包括人类及哺乳动物兽医患者,诸如牛、马、狗和猫。在特定优选的实施方案中,受试者为人类。

[0079] 本申请中所使用的术语“治疗 (treat)”或“治疗 (treating)”癌症意指对患有癌症或被诊断患有癌症的受试者施用根据本发明的组合疗法以达到至少一种积极的治疗效果，诸如减少癌细胞数量、减少肿瘤大小、降低癌细胞浸润至外周组织的速度或降低肿瘤转移或肿瘤生长的速度，逆转、缓和、抑制此术语适用的障碍或病况或这些障碍或病况之一种或多种症状的进展、或预防这些障碍或病况或这些障碍或病况之一种或多种症状。本申请中所使用的术语“治疗 (treatment)”系指刚刚如上所定义的“治疗 (treating)”的治疗行为，除非另有说明。术语“治疗 (treating)”亦包括受试者的辅助性及新辅助性治疗。出于本发明的目的，有益或期望的临床结果包括但不限于下列中的一个或多个：减少(或破坏)肿瘤或癌细胞的增殖、抑制转移或肿瘤细胞、缩小或减小肿瘤的大小、缓解癌症、减少源于癌的症状、提高患有癌症的患者的生活质量、减少治疗癌症所需的其它药的剂量、延迟癌症的进展、治愈癌症、克服一种或多种癌症的抵抗机制及/或延长癌症患者的存活期。积极的癌症治疗效果可以许多方式测量(参见例如W.A.Weber, J.Nucl.Med.50:1S-10S (200))。在一些实施方案中，以本发明的组合获得的治疗为下列任一项：部分应答 (PR)、完全应答 (CR)、总应答 (OR)、无进展存活期 (PFS)、无疾病存活期 (DFS) 及总存活率 (OS)。亦称为“至肿瘤进展的时间”的PFS表示在治疗期间及治疗之后癌未生长的时间长度，且包括患者经历CR或PR的时间量，及患者经历稳定疾病 (SD) 的时间量。DFS系指在治疗期间及治疗之后患者维持无疾病的时间长度。OS系指与原态或未被治疗过的受试者或患者相比预期寿命的延长。在一些实施方案中，对本发明的组合的应答为PR、CR<PFS、DFS、OR或OS中任何一项，该应答使用实体瘤的应答评价准则 (RECIST) 1.1应答准则评定。有效治疗癌症患者的本发明的组合的治疗方案可根据以下因素变化：诸如患者的疾病状态、年龄和体重及疗法在受试者中引发抗癌应答的能力。虽然本发明的任何一方面的实施方案可能无法有效地在每一受试者中达到积极的治疗效果，但是应在统计学上显著数量的受试者中达到，如通过本技术领域中已知的任何统计学试验所确定，诸如学生氏t-检验 (Student's t-test)、卡方 (chi<sup>2</sup>) 检验、根据曼 (Mann) 与惠特尼 (Whitney) 的U-检验、克拉斯卡-瓦立斯 (Kruskal-Wallis) 检验 (H-检验)、琼克希尔-特普斯推特 (Jonckheere-Terpstrat) -检验及威尔康检验 (Wilcon on-test)。术语治疗“治疗 (treatment)”亦包含例如细胞以试剂、诊断化合物、结合化合物或另一细胞的体外或离体治疗。

[0080] 术语“治疗方案”、“给药程序”及“给药方案”可交换使用，其指施用本发明的组合中的每一治疗剂的剂量及时机。

[0081] “改善”意指与未施用本发明的方法或方案的治疗剂相比而减轻或改进一种或多种症状。“改善”亦包括缩短或减少症状的持续期间。

[0082] 本申请中所使用的药物、化合物或药物组合物的“有效剂量”或“有效量”为足以实现疾病、其并发症及在疾病发展期间呈现的中间病理表型的任何一种或多种有益或(包括)期望的生物化学、组织学及/或行为学症状的量。就治疗用途而言，“治疗有效量”系指减轻欲治疗的障碍的症状中的一种或多种至某种程度的欲施用的化合物量。关于癌症的治疗，治疗有效量系指具有以下效果的量：(1) 减少肿瘤大小，(2) 抑制(亦即，减慢至某种程度，优选为停止)肿瘤转移，(3) 抑制肿瘤生长或肿瘤侵入至某种程度(亦即，减慢至某种程度，优选为停止)，(4) 减轻与癌症相关之一种或多种征兆或症状至某种程度(或优选为消除)，(5) 减少治疗疾病所需的其它药物的剂量，及/或(6) 提高另一药物的效果，及/或延迟患者的疾

病进展。有效剂量可以一次或多次施用。出于本发明的目的，药物、化合物或药物组合物的有效剂量为足以直接或间接完成预防性或治疗性治疗的量。如在临床背景中所理解，药物、化合物或药物组合物的有效剂量可与或可不与另一药物、化合物或药物组合物一起达到。

[0083] “肿瘤”在应用于经诊断患有或怀疑患有癌症的受试者时，系指任何大小的恶性或潜在恶性肿瘤或组织块状物，且包括原发性肿瘤及继发性肿瘤。实体瘤为通常不含囊肿或液体区域的组织的异常生长或块状物。实体瘤的实例为肉瘤、上皮组织来源的癌和淋巴瘤。白血病(血液癌)通常不构成实体瘤(美国国家癌症研究所，癌症术语词典)。

[0084] 亦称为“肿瘤荷载”的“肿瘤负荷”系指分布于全身的肿瘤物质的总量。肿瘤负荷系指全身(包括淋巴结及骨髓)的癌细胞总数量或整体肿瘤大小。肿瘤负荷可以本技术领域中已知的多种方法测定，诸如使用测径器，或在体内时使用造影技术，例如超声波、骨扫描、计算机断层摄影术(CT)或磁共振造影(MRI)扫描。

[0085] 术语“肿瘤大小”系指可以肿瘤的长度及宽度量测的整体肿瘤大小。肿瘤大小可以本技术领域中已知的多种方法测定，诸如在自受试者移出时例如使用测径器测量肿瘤的尺寸，或在体内时使用造影技术，例如骨扫描、超声波、CT或MRI扫描。

[0086] 术语“加和性”被用于意指两种化合物、组分或靶向药剂的组合结果不大于单独各化合物、组分或靶向药剂的总和。

[0087] 术语“协同性”或“协同的”被用于意指两种化合物、组分或靶向药剂的组合结果大于单独各化合物、组分或靶向药剂的总和。欲治疗的疾病、病况或障碍的此改进为“协同效果”。“协同量”为导致协同效果的两种化合物、组分或靶向药剂的组合的量，“协同的”如本申请中所定义。

[0088] 测定在一种或两种组分之间的协同相互作用，就效果而言的最优范围及就效果而言的各组分的绝对剂量范围可通过对需要治疗的患者施用不同的剂量范围及/或剂量比率的组分而明确地测量。然而，体外模型或活体内模型的协同性观察可预测在人及其它物种中的效果，且本申请中所述的体外模型或活体内模型的存在以测量协同效果。亦可使用这些研究的结果预测在人类及其它物种中所需的有效剂量和血浆浓度比率范围，及绝对剂量和血浆浓度，诸如通过药物动力学/药效学方法的应用。

[0089] 本申请中所使用的“非标准的临床给药方案”系指施用物质、药剂、化合物或组合物的方案不同于典型地用于临床环境的物质、药剂、化合物或组合物的量、剂量或方案。“非标准的临床给药方案”包括“非标准的临床剂量”或“非标准的临床给药方案”。

[0090] 本申请中所使用的“低剂量方案”系指其中在方案中的物质、药剂、化合物或组合物中的一种或多种以低于该药剂典型地用于临床环境(例如当该药剂作为单药 singleton 治疗给药时)中的量或剂量给药的给药方案。

[0091] Zeste增强子同源物2

[0092] 本发明的实施方案包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐。

[0093] 本申请中所使用的术语“zeste增强子同源物2(EZH2)抑制剂”及“EZH2抑制剂”可交换使用，且应意指EZH2的野生型及/或突变体抑制剂。EZH2抑制剂可以本领域技术人员已知的方法测定，例如生物学活性可以EZH2酶检测法测定，诸如以Kung, P.P.等人的J Med Chem, 2016, 59, 8306-8325所公开。

[0094] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的实例包括在国际专利申请PCT/IB2015/054272

中所公开的那些,该申请于2015年12月23日以WO 2015/193765公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。可用作本发明的EZH2抑制剂的本申请中所公开的特定EZH2抑制剂的实例包括但不限于选自由下列各项组成的组的EZH2抑制剂:

[0095] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0096] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0097] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (S)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0098] 或其药物上可接受的盐。

[0099] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/IB2013/060682中所公开的那些,该申请于2014年6月26日以WO 2014/097041公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。可用作本发明的EZH2抑制剂的本申请中所公开的特定EZH2抑制剂的实例包括但不限于选自由下列各项组成的组的EZH2调节剂:

[0100] 5-溴-8-氯-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-7-(1,4-二甲基-1H-1,2,3-三唑-5-基)-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0101] 5,8-二氯-7-(3,5-二甲基-1,2-𫫇唑-4-基)-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0102] 或其药物上可接受的盐。

[0103] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/IB2013/058580中所公开的那些,该申请于2014年4月3日以WO 2014/049488公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。可用作本发明的EZH2抑制剂的本申请中所公开的特定EZH2抑制剂的实例包括但不限于选自由下列各项组成的组的EZH2抑制剂:

[0104] 5-[2-(二甲基氨基) 噻啶-5-基]-N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基) 苯甲酰胺;

[0105] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-5-[2-(甲基氨基) 噻啶-5-基]-3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基) 苯甲酰胺;

[0106] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3-(1,4-二甲基-1H-吡唑-5-基)-2-甲基-5-[2-(甲基氨基) 噻啶-5-基] 苯甲酰胺;

[0107] 5-(6-氨基吡啶-3-基)-N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基) 苯甲酰胺;

[0108] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3-(1,4-二甲基-1H-吡唑-5-基)-2-甲基-5-(2-吗啉-4-基噻啶-5-基) 苯甲酰胺;

[0109] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3-(1,4-二甲基-1H-吡唑-5-基)-2-甲基-5-{2-[ (1S,4S)-2-氧杂-5-氮杂双环[2.2.1]庚-5-基] 噻啶-5-基} 苯甲酰胺;

[0110] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3-(1,4-二甲基-1H-吡唑-5-基)-2-甲基-5-{2-[3-氧杂-8-氮杂双环[3.2.1]辛-8-基] 噻啶-5-基} 苯甲酰胺;

[0111] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3-(1,4-二甲基-1H-吡唑-

5-基)-5-[2-(3-氟氮杂环丁烷-1-基)嘧啶-5-基]-2-甲基苯甲酰胺；及

[0112] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-5-[6-(4-甲基哌嗪-1-基) 吡啶-3-基]-3-(1-甲基-1H-吡唑-5-基) 苯甲酰胺；

[0113] 或其药物上可接受的盐。

[0114] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2011/035336中所公开的那些，该申请于2011年11月10日以WO 2011/140324公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0115] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2011/035340中所公开的那些，该申请于2011年11月10日以WO 2011/140325公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0116] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2011/035344中所公开的那些，该申请于2012年1月12日以WO 2012/005805公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0117] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2012/058188中所公开的那些，该申请于2013年4月4日以WO 2013/049770公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0118] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2013/041115中所公开的那些，该申请于2013年11月21日以WO 2013/173441公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0119] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2011/051258中所公开的那些，该申请于2012年3月15日以WO 2012/034132公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0120] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2012/026953中所公开的那些，该申请于2012年9月7日以WO 2012/118812公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0121] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2012/033648中所公开的那些，该申请于2012年10月18日以WO 2012/142504公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。可用作本发明的EZH2抑制剂的本申请中所公开的特定EZH2抑制剂的实例包括：

[0122] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基) 联苯-3-甲酰胺；

[0123] 或其药物上可接受的盐。

[0124] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2012/033662中所公开的那些，该申请于2012年10月18日以WO 2012/142513公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0125] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2011/061740中所公开的那些，该申请于2012年5月24日以WO 2012/068589公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

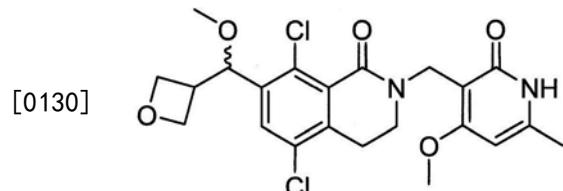
[0126] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2013/

025639中所公开的那些,该申请于2013年8月15日以WO 2013/120104公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0127] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2014/015706中所公开的那些,该申请于2014年8月14日以WO 2014/124418,通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0128] 可用于本发明的特定EZH2抑制剂的其它实例包括在国际专利申请PCT/US2013/065112中所公开的那些,该申请于2014年8月24日以WO 2014/062720公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

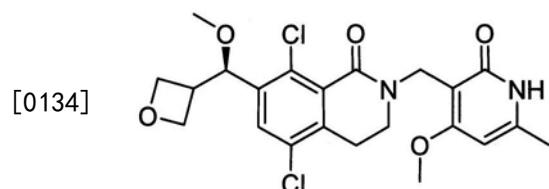
[0129] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0131] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0132] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/IB2015/054272,该申请于2015年12月23日以WO 2015/193765公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

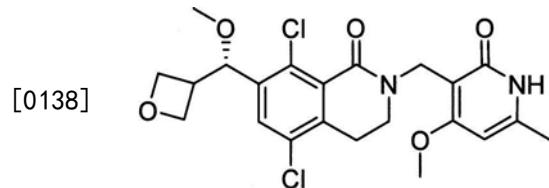
[0133] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0135] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R) -甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0136] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/IB2015/054272,该申请于2015年12月23日以WO 2015/193765公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

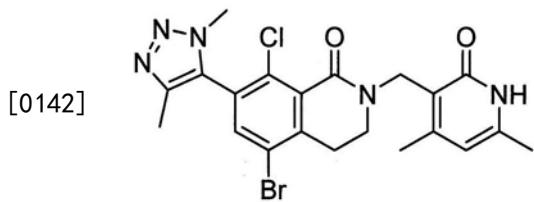
[0137] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0139] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (S) -甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0140] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/IB2015/054272,该申请于2015年12月23日以WO 2015/193765公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

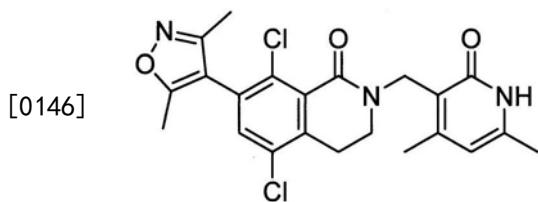
[0141] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0143] 5-溴-8-氯-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-7-(1,4-二甲基-1H-1,2,3-三唑-5-基)-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮；

[0144] 或其药物上可接受的盐，其被公开于国际专利申请PCT/IB2013/060682，该申请于2014年6月26日以WO 2014/097041公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

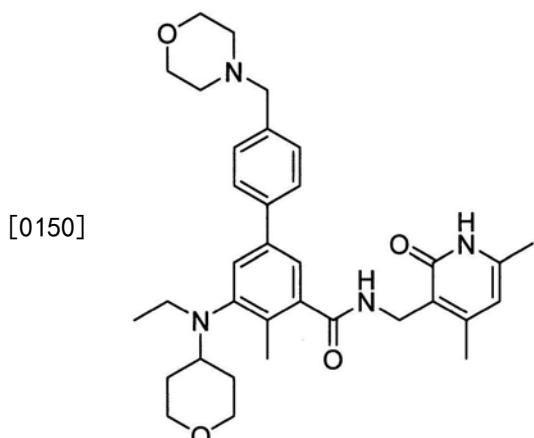
[0145] 在一个实施方案中，可用于本发明的EZH2抑制剂为：



[0147] 5,8-二氯-7-(3,5-二甲基-1,2-恶唑-4-基)-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H)-酮；

[0148] 或其药物上可接受的盐，其被公开于国际专利申请PCT/IB2013/060682，该申请于2014年6月26日以WO 2014/097041公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

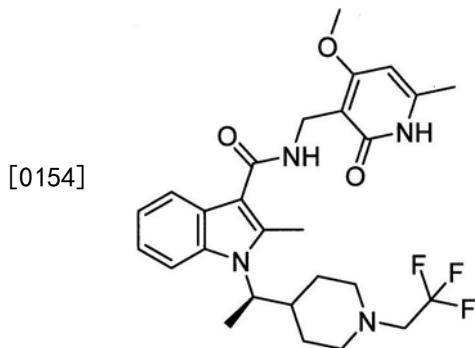
[0149] 在一个实施方案中，可用于本发明的EZH2抑制剂为：



[0151] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基)联苯-3-甲酰胺

[0152] 或其药物上可接受的盐，亦称为塔泽司他(tazemetostat)、EPZ-5687或EPZ-6438，且其被公开于国际专利申请PCT/US2012/033648，该申请于2012年10月18日以WO 2012/142504公布，通过参照将其内容包括在本说明书中。

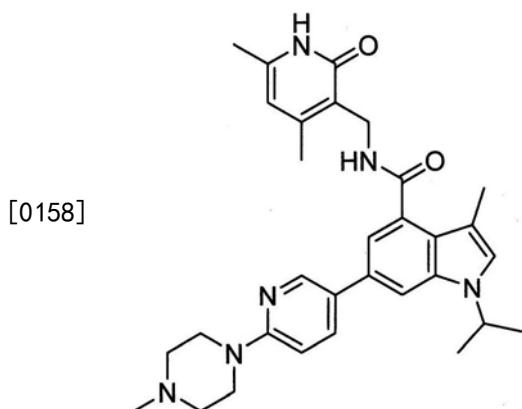
[0153] 在一个实施方案中，可用于本发明的EZH2抑制剂为：



[0155] N-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-1-[ (1R)-1-[1-(2,2,2-三氟乙基) 味啶-4-基] 乙基]-1H-吲哚-3-甲酰胺

[0156] 或其药物上可接受的盐,亦称为CPI-1205,且其被公开于国际专利申请PCT/US2013/025639,该申请于2013年8月15日以WO 2013/120104公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

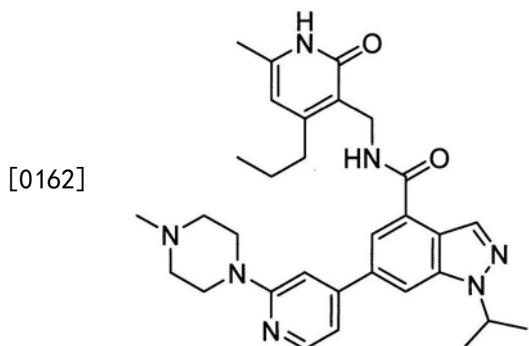
[0157] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0159] N- (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基甲基)-1-异丙基-3-甲基-6-[6-(4-甲基哌嗪-1-基) 吡啶-3-基]-1H-吲哚-4-甲酰胺

[0160] 或其药物上可接受的盐,亦称为GSK-503,且其被公开于国际专利申请PCT/US2011/035336,该申请于2011年11月10日以WO 2011/140324公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0161] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:

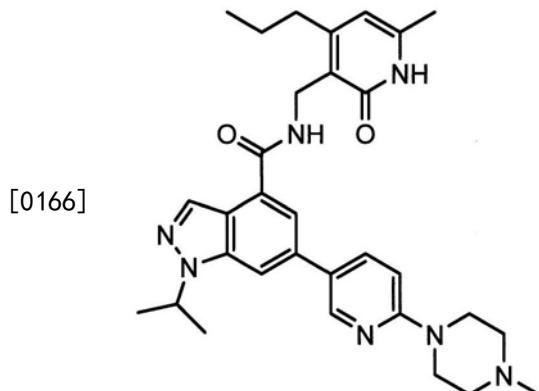


[0163] N-[ (6-甲基-2-氧代-4-丙基-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-6-[2-(4-甲基哌嗪-1-基) 吡啶-4-基]-1-(丙-2-基)-1H-吲哚-4-甲酰胺

[0164] 或其药物上可接受的盐,亦称为GSK-126,且其被公开于国际专利申请PCT/

US2011/035340, 该申请于2011年11月10日以WO 2011/140325公布, 通过参照将其内容包括在本说明书中。

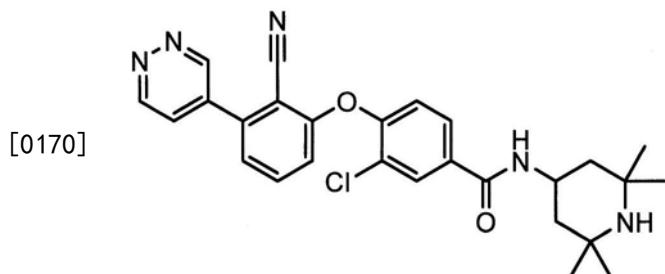
[0165] 在一个实施方案中, 可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0167] 1-异丙基-N-(6-甲基-2-氧代-4-丙基-1,2-二氢吡啶-3-基甲基)-6-[6-(4-甲基哌嗪-1-基)吡啶-3-基]-1H-吲唑-4-甲酰胺

[0168] 或其药物上可接受的盐, 其被公开于国际专利申请PCT/US2011/035340, 该申请于2011年11月10日以WO 2011/140325公布, 通过参照将其内容包括在本说明书中。

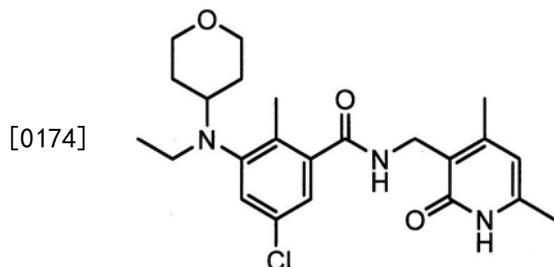
[0169] 在一个实施方案中, 可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0171] 3-氯-4-[2-氰基-3-(哒嗪-4-基)苯氧基]-N-(2,2,6,6-四甲基哌啶-4-基)苯甲酰胺

[0172] 或其药物上可接受的盐, 其被公开于国际专利申请PCT/US2011/061740, 该申请于2012年5月24日以WO 2012/068589公布, 通过参照将其内容包括在本说明书中。

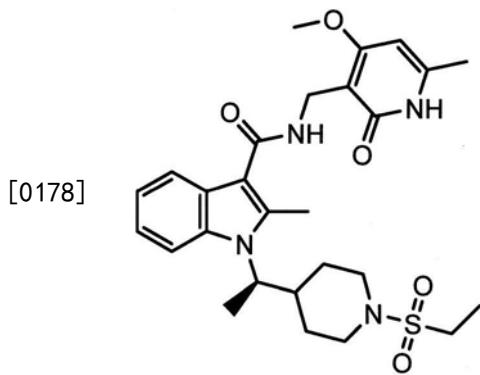
[0173] 在一个实施方案中, 可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0175] 5-氯-N-[(4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基]-3-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-2-甲基苯甲酰胺

[0176] 或其药物上可接受的盐, 其被公开于国际专利申请PCT/US2012/033662, 该申请于2012年10月18日以WO 2012/142513公布, 通过参照将其内容包括在本说明书中。

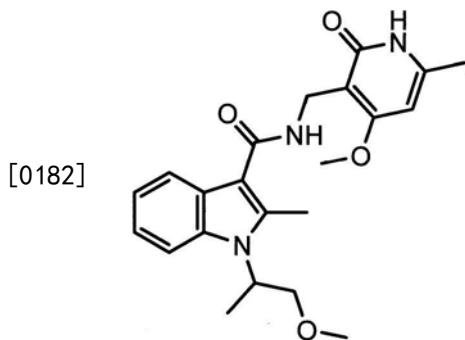
[0177] 在一个实施方案中, 可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0179] 1-[(1R)-1-[1-(乙基磺酰基)哌啶-4-基]乙基]-N-[4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基]甲基]-2-甲基-1H-吲哚-3-甲酰胺

[0180] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/US2013/025639,该申请于2013年8月15日以WO 2013/120104公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

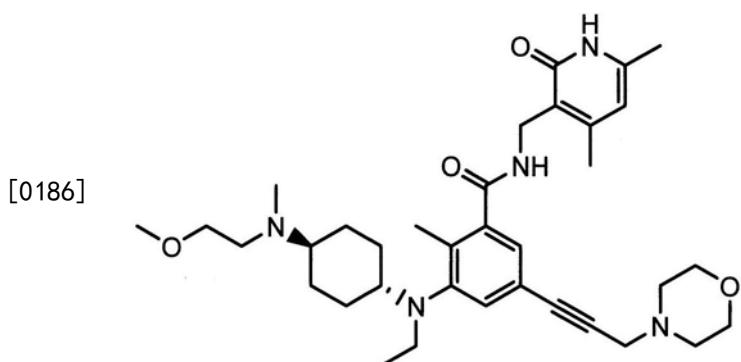
[0181] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0183] N-[4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基]甲基]-1-(1-甲氧基丙-2-基)-2-甲基-1H-吲哚-3-甲酰胺

[0184] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/US2013/025639,该申请于2013年8月15日以WO 2013/120104公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

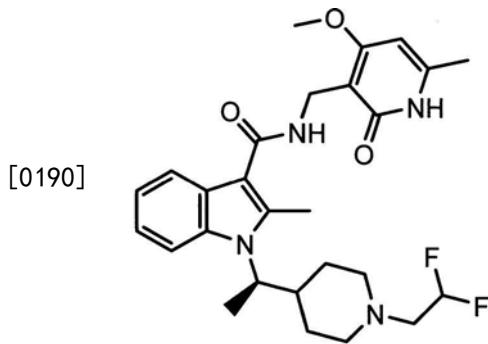
[0185] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0187] N-[4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基]甲基]-3-(乙基[反式-4-[(2-甲氧乙基)(甲基)氨基]环己基]氨基)-2-甲基-5-[3-(吗啉-4-基)丙-1-炔-1-基]苯甲酰胺

[0188] 或其药物上可接受的盐,任选地作为酒石酸盐,该化合物被公开于国际专利申请PCT/US2013/065112,该申请于2014年4月24日以WO2014/062720公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

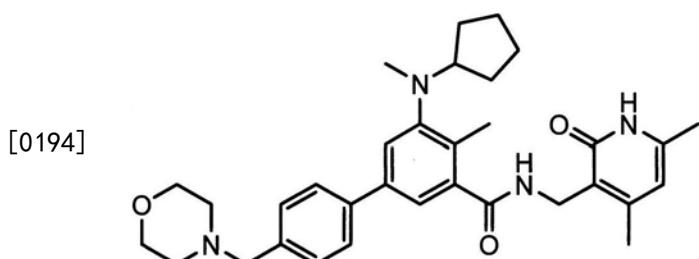
[0189] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0191] 1-[ (1R)-1-[1-(2,2-二氟乙基)哌啶-4-基]乙基]-N-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧化代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-1H-吲哚-3-甲酰胺

[0192] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/US2014/015706,该申请于2014年8月14日以W0 2014/124418公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

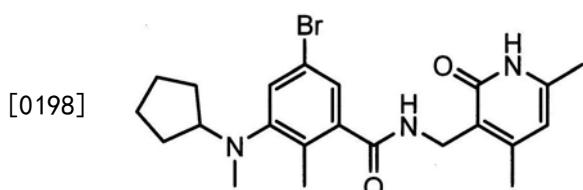
[0193] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0195] 5-[环戊基(甲基)氨基]-N-[ (4,6-二甲基-2-氧化代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-4-甲基-4' -[ (吗啉-4-基) 甲基] [1,1' -联苯基]-3-甲酰胺

[0196] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/US2012/033648,该申请于2012年10月18日以W0 2012/142504公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

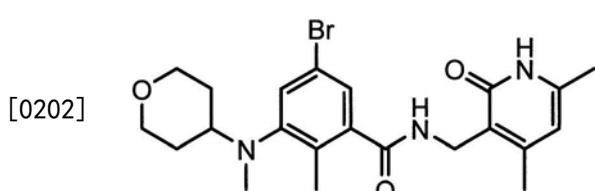
[0197] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0199] 5-溴-3-[环戊基(甲基)氨基]-N-[ (4,6-二甲基-2-氧化代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基苯甲酰胺

[0200] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/US2012/033662,该申请于2012年10月18日以W0 2012/142513公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0201] 在一个实施方案中,可用于本发明的EZH2抑制剂为:



[0203] 5-溴-N-[ (4,6-二甲基-2-氧化代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-3-[甲基(氧杂环己烷-4-基) 氨基]苯甲酰胺

[0204] 或其药物上可接受的盐,其被公开于国际专利申请PCT/US2012/033662,该申请于2012年10月18日以W0 2012/142513公布,通过参照将其内容包括在本说明书中。

[0205] 可用于本发明的优选的EZH2抑制剂选自由下列各项组成的组:

[0206] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0207] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R) -甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0208] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (S) -甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0209] 5-溴-8-氯-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-7-(1,4-二甲基-1H-1,2,3-三唑-5-基)-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0210] 5,8-二氯-7-(3,5-二甲基-1,2-𫫇唑-4-基)-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0211] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基)联苯-3-甲酰胺;

[0212] N-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-5-[乙基(四氢-2H-吡喃-4-基)氨基]-4-甲基-4'-(吗啉-4-基甲基)联苯-3-甲酰胺;

[0213] N-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-2-甲基-1-[ (1R) -1-[1-(2,2,2-三氟乙基) 味啶-4-基]乙基]-1H-吲哚-3-甲酰胺;

[0214] N-(4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基甲基)-1-异丙基-3-甲基-6-[6-(4-甲基味嗪-1-基) 吡啶-3-基]-1H-吲哚-4-甲酰胺;

[0215] N-[ (6-甲基-2-氧代-4-丙基-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-6-[2-(4-甲基味嗪-1-基) 吡啶-4-基]-1-(丙-2-基)-1H-吲唑-4-甲酰胺;

[0216] 或其药物上可接受的盐。

[0217] 可用于本发明的更优选的EZH2抑制剂选自由下列各项组成的组:

[0218] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0219] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R) -甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0220] 5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (S) -甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;及

[0221] 5-溴-8-氯-2-[ (4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基) 甲基]-7-(1,4-二甲基-1H-1,2,3-三唑-5-基)-3,4-二氢异喹啉-1 (2H) -酮;

[0222] 或其药物上可接受的盐。

[0223] 除非另有说明,否则本申请中所有提及EZH2抑制剂都包括提及其药物上可接受的盐、溶剂合物、水合物及复合物,以及其盐的溶剂合物、水合物及复合物,包括其多晶型物、立体异构体及经同位素标记的形式。

[0224] 化学治疗剂

[0225] 本发明的实施方案涉及化学治疗剂或其药物上可接受的盐。

- [0226] 在一个实施方案中,化学治疗剂为基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐。
- [0227] 在本发明的一个实施方案中,化学治疗剂为顺铂。
- [0228] 在本发明的一个实施方案中,化学治疗剂为卡铂。
- [0229] 在本发明的一个实施方案中,化学治疗剂为依托泊昔。
- [0230] 在本发明的一个实施方案中,化学治疗剂为顺铂和依托泊昔。
- [0231] 在本发明的一个实施方案中,化学治疗剂为卡铂和依托泊昔。
- [0232] 治疗方法及用途
- [0233] 本发明的方法及组合疗法可用于治疗癌症。在一些实施方案中,所提供的方法得到下列效果中的一种或多种:(1)抑制癌细胞增殖;(2)抑制癌细胞侵入;(3)诱导癌细胞凋亡;(4)抑制癌细胞转移;(5)抑制血管生成;或(6)克服一种或多种与癌症治疗有关的抵抗机制。
- [0234] 在一个实施方案中,本发明涉及治疗受试者的癌症的方法,其包括对受试者施用包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合疗法。
- [0235] 在一个实施方案中,本发明涉及治疗受试者的癌症的方法,其包括对受试者施用由EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐所组成的组合疗法。
- [0236] 在一个实施方案中,本发明涉及治疗受试者的癌症的方法,其包括对受试者施用基本上由EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐组成的组合疗法。
- [0237] 在另一方面,本发明涉及用于治疗受试者的癌症的EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐,其中EZH2抑制剂与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐组合使用。
- [0238] 在另一方面,本发明涉及用于治疗受试者的癌症的基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐,其中抗肿瘤剂与EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐组合使用。
- [0239] 在另一方面,本发明涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合。
- [0240] 在另一方面,本发明涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合,其用作药剂。
- [0241] 在另一方面,本发明涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合,其用于治疗受试者的癌症。
- [0242] 在另一方面,本发明涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐、基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的协同性组合。
- [0243] 在另一方面,本发明涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的协同性组合,其用作药剂。
- [0244] 在另一方面,本发明涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的协同性组合,其用于治疗受试者的癌症。
- [0245] 在另一方面,本发明涉及EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐及基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐在制造用于治疗受试者的癌症的药剂中的用途。
- [0246] 在另一方面,本发明涉及包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐及药物上可接受

的载体的药物组合物,其用于治疗受试者的癌症,其中包含EZH2抑制剂的药物组合物与包含基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐及药物上可接受的载体的药物组合物组合使用。

[0247] 在另一方面,本发明涉及包含基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐及药物上可接受的载体的药物组合物,其用于治疗受试者的癌症,其中包含基于铂的抗肿瘤剂的药物组合物与包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐及药物上可接受的载体的药物组合物组合使用。

[0248] 在另一方面,本发明涉及包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐及药物上可接受的载体的药物组合物,其用于治疗受试者的癌症。

[0249] 在本发明的一个实施方案中,受试者为哺乳动物。

[0250] 在本发明的一个实施方案中,受试者为人类。

[0251] 在一些实施方案中,本发明的方法及组合可用于治疗癌症,其包括但不限于下列癌症:

[0252] 循环系统,例如心(肉瘤[血管肉瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤]、黏液瘤、横纹肌瘤、纤维瘤、脂肪瘤和畸胎瘤)、纵膈与肋膜及其它胸腔内器官、血管肿瘤和肿瘤相关的血管组织;

[0253] 呼吸道,例如鼻腔和中耳、鼻副窦、喉头、气管、支气管和肺,诸如小细胞肺癌(SCLC)、非小细胞肺癌(NSCLC)、支气管癌(鳞状细胞癌、未分化小细胞癌、未分化大细胞癌、腺癌)、肺泡(小支气管)癌、支气管腺瘤、肉瘤、淋巴瘤、软骨瘤型错构瘤、间皮瘤;

[0254] 胃肠系统,例如食道(鳞状细胞癌、腺癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤)、胃(癌、淋巴瘤、平滑肌肉瘤)、胃、胰腺(导管腺癌、胰岛素瘤、胰升糖素瘤、胃泌素瘤、类癌瘤、血管活性肽瘤)、小肠(腺癌、淋巴瘤、类癌瘤、卡波西氏(Karposi's)肉瘤、平滑肌瘤、血管瘤、脂肪瘤、神经纤维瘤、纤维瘤)、大肠(腺癌、管状腺瘤、绒毛状腺瘤、错构瘤、平滑肌瘤);

[0255] 生殖泌尿道,例如肾(腺癌、威尔姆氏(Wilm's)肿瘤[肾母细胞瘤]、淋巴癌、白血病)、膀胱及与/或尿道(鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌)、前列腺(腺癌、肉瘤),睾丸(精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎性癌、畸胎上皮癌、绒毛膜癌、肉瘤、间质细胞癌、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样肿瘤、脂肪瘤);

[0256] 肝,例如肝肿瘤(肝细胞癌)、胆管癌、肝母细胞瘤、血管肉瘤、肝细胞腺瘤、血管瘤、胰腺内分泌瘤(诸如嗜铬细胞瘤、胰岛素瘤、血管活性肽瘤、胰岛细胞瘤和胰升糖素瘤);

[0257] 骨,例如骨原性肉瘤(骨肉瘤)、纤维肉瘤、恶性纤维性组织细胞瘤、软骨肉瘤、伊文氏(Ewing's)肉瘤、恶性淋巴瘤(网状细胞肉瘤)、多发性骨髓瘤、恶性巨细胞瘤脊索瘤、骨软骨瘤(骨软骨性外生骨疣)、良性软骨瘤、软骨母细胞瘤、软骨黏液纤维瘤、骨样骨瘤和巨细胞瘤;

[0258] 神经系统,例如中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、头颅癌(骨瘤、血管瘤、肉芽肿、黄瘤、畸形性骨炎)、脑膜(脑脊髓膜癌、脑脊髓膜肉瘤、神经胶质瘤病)、脑癌(星形细胞瘤、神经管母细胞瘤、神经胶质瘤、室管膜瘤、母细胞瘤[松果体瘤]、多形神经胶母细胞瘤、寡树突神经胶质瘤、神经鞘瘤、视网膜母细胞瘤、先天瘤)、脊髓神经纤维瘤、脑脊髓膜瘤、神经胶质瘤、肉瘤);

[0259] 生殖系统,例如妇科、子宫(子宫内膜癌)、子宫颈(子宫颈癌、癌前子宫颈发育不良)、卵巢(卵巢癌[浆液性囊腺癌、黏液性囊腺癌、未分类癌]、粒层细胞-鞘细胞瘤、史脱力-雷迪格细胞瘤(Sertoli-Leydig cell tumor)、无性胚胎瘤、恶性畸胎瘤)、阴唇(鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌、纤维肉瘤、黑色素瘤)、阴道(透明细胞癌、鳞状细胞癌、葡萄形肉瘤(胚胎性横纹肌肉瘤))、输卵管(输卵管癌)及与女性生殖器相关的其它部位;胎板、阴茎、前列腺、睾丸及与男性生殖器相关的其它部位;

[0260] 血液系统,例如血液(髓细胞白血病[急性和慢性]、急性淋巴母细胞白血病、慢性淋巴球性白血病、骨髓增殖性疾病、多发性骨髓瘤、骨髓发育不良综合征),何杰金氏病,非何杰金氏淋巴瘤[恶性淋巴瘤];

[0261] 口腔,例如唇、舌、齿龈、口底、颚和嘴的其它部分、腮腺及唾液腺的其它部分、扁桃腺、口咽、鼻咽、梨状窦、下咽及在唇、口腔、咽喉内的其它部位;

[0262] 皮肤,例如恶性黑色素瘤、皮肤黑色素瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、卡波西氏肉瘤、发育不良的痣、脂肪瘤、血管瘤、皮肤纤维瘤及瘢痕瘤;

[0263] 肾上腺:神经母细胞瘤;及

[0264] 其它组织,包括结缔组织和软组织、腹膜后腔和腹膜、眼、眼球内黑色素瘤、及附属器官、乳房、头或/及颈、肛门部、甲状腺、副甲状腺、肾上腺和其它内分泌腺及相关结构、淋巴结继发性和不明性恶性肿瘤、呼吸和消化系统继发性恶性肿瘤及其它部位继发性恶性肿瘤。

[0265] 又更特定言,当连同本发明一起使用时,则“癌”的实例包括选自下列的癌:肺癌(NSCLC和SCLC)、乳癌(包括三阴性乳癌、激素阳性乳癌和HER2阳性乳癌)、卵巢癌、结肠癌、直肠癌、肛门部癌、前列腺癌(包括激素敏感型前列腺癌和激素难治性前列腺癌,亦称为去势抗性前列腺癌)、肝细胞癌、弥漫性大型B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、黑色素瘤或前述癌中的一种或多种的组合。

[0266] 在本发明的一个实施方案中,所述的癌症为实体瘤。

[0267] 在一个实施方案中,所述的癌症为前列腺癌。

[0268] 在一个实施方案中,所述的癌症为激素敏感型前列腺癌。

[0269] 在一个实施方案中,所述的癌症为去势抗性前列腺癌,亦称为激素难治性前列腺癌或雄激素非依赖型前列腺癌。

[0270] 在一个实施方案中,所述的癌症为非转移型去势抗性前列腺癌。

[0271] 在一个实施方案中,所述的癌症为转移型去势抗性前列腺癌。

[0272] 在一个实施方案中,所述的癌症为乳癌。

[0273] 在一个实施方案中,所述的癌症为三阴性乳癌。

[0274] 在一个实施方案中,所述的癌症为激素阳性乳癌,包括雌激素阳性及/或孕酮阳性乳癌。

[0275] 在一个实施方案中,所述的癌症为HER2阳性乳癌。

[0276] 在一个实施方案中,所述的癌症为肝细胞癌。

[0277] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌。

[0278] 在一个实施方案中,所述的癌症为难治性小细胞肺癌。

[0279] 在一个实施方案中,所述的癌症为复发型小细胞肺癌。

- [0280] 在一个实施方案中,所述的癌症为难治性小细胞肺癌,且受试者未接受过治疗。
- [0281] 在一个实施方案中,所述的癌症为复发型小细胞肺癌,且受试者未接受过治疗。
- [0282] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为有限状态疾病。
- [0283] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为广泛期疾病。
- [0284] 在一个实施方案中,所述的癌症为广泛期疾病小细胞肺癌,且受试者未接受过治疗。
- [0285] 在一个实施方案中,所述的癌症为难治性广泛期疾病小细胞肺癌,且受试者未接受过治疗。
- [0286] 在一个实施方案中,所述的癌症为复发型广泛期疾病小细胞肺癌,且受试者未接受过治疗。
- [0287] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌以肿瘤抑制基因TP53的功能丧失为特征。
- [0288] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌以肿瘤抑制基因RB1的功能丧失为特征。
- [0289] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌以肿瘤抑制基因TP53的功能丧失及肿瘤抑制基因RB1的功能丧失为特征。
- [0290] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为有限状态疾病,且小细胞肺癌以肿瘤抑制基因TP53的功能丧失为特征。
- [0291] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为有限状态疾病,且小细胞肺癌以肿瘤抑制基因RB1的功能丧失为特征。
- [0292] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为有限状态疾病,且小细胞肺癌以肿瘤抑制基因TP53的功能丧失及肿瘤抑制基因RB1的功能丧失为特征。
- [0293] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为广泛期疾病,且小细胞肺癌以肿瘤抑制基因TP53的功能丧失为特征。
- [0294] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为广泛期疾病,且小细胞肺癌以肿瘤抑制基因RB1的功能丧失为特征。
- [0295] 在一个实施方案中,所述的癌症为小细胞肺癌,该小细胞肺癌被分类为广泛期疾病,且小细胞肺癌以肿瘤抑制基因TP53的功能丧失及肿瘤抑制基因RB1的功能丧失为特征。
- [0296] 在一个实施方案中,所述的癌症为弥漫性大型B细胞淋巴瘤。
- [0297] 在一个实施方案中,所述的癌症为滤泡性淋巴瘤。
- [0298] 在一个实施方案中,所述的癌症为黑色素瘤。
- [0299] 在一个实施方案中,所述的癌症为局部晚期型。
- [0300] 在一个实施方案中,所述的癌症为非转移型。
- [0301] 在一个实施方案中,所述的癌症为转移型。
- [0302] 在一个实施方案中,所述的癌症为难治性。
- [0303] 在一个实施方案中,所述的癌症为复发型。

[0304] 在一个实施方案中,所述的癌症无法耐受标准的治疗。

[0305] 在另一方面,本发明提供抑制受试者的癌细胞增殖的方法,其包括对受试者施用包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合疗法,其量有效抑制细胞增殖。

[0306] 在另一方面,本发明提供抑制受试者的癌细胞侵入的方法,其包括对受试者施用包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合疗法,其量有效抑制细胞侵入。

[0307] 在另一方面,本发明提供抑制受试者的癌细胞转移的方法,其包括对受试者施用包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合疗法,其量有效抑制细胞转移。

[0308] 在另一方面,本发明提供诱导受试者的癌细胞凋亡的方法,其包括对受试者施用包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐的组合疗法,其量有效诱导凋亡。

[0309] 在还一方面,本发明提供诱导受试者的细胞凋亡的方法,其包括对受试者施用包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐或其药物上可接受的盐的组合疗法。

[0310] “接触”系指使本发明中所使用的化合物或药物上可接受的盐与细胞(例如一种表达EZH2的细胞)以使化合物可直接或间接发挥其效果(例如影响EZH2活性)的方式在一起。接触可于体外(亦即,在人为环境中,诸如而不限于试管或培养基中)或于活体内(亦即,在活的生物体内,诸如而不限于小鼠、大鼠或兔)完成。

[0311] 在一些实施方案中,细胞在细胞系中,诸如癌细胞系。在其它实施方案中,细胞在组织或肿瘤中,且组织或肿瘤可以在受试者,包括人类中。

#### [0312] 剂型及方案

[0313] 本发明的方法及组合疗法的各治疗剂可根据药学实践而单独或在包含治疗剂及一种或多种药物上可接受的载体、赋形剂或稀释剂的药剂(在本申请中亦称为药物组合物)中施用。

[0314] 本申请中所使用的术语“组合疗法”系指本发明的组合疗法的各治疗剂单独或于药剂中依序、并行或同时施用。

[0315] 本申请中所使用的术语“依序的”或“依序地”系指本发明的组合疗法的各治疗剂单独或于药剂中一个接一个施用,其中各治疗剂可以任何顺序施用。当组合疗法中的治疗剂在不同的剂型中时,例如一个药剂为片剂及另一个药剂为无菌液体,及/或当根据不同的给药方案施用时,例如一个药剂每天施用及第二个药剂较不频繁施用,诸如每周,则以依序施用特别有用。

[0316] 本申请中所使用的术语“并行”系指在本发明的组合疗法中的各治疗剂系单独或于不同的药剂中施用,其中第二治疗剂在第一治疗剂后立即施用,但是治疗剂可以任何顺序施用。在优选的实施方案中,治疗剂并行施用。

[0317] 本申请中所使用的术语“同时”系指本发明的组合疗法的各治疗剂在相同的药剂中施用。

[0318] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐在施用基于铂的

抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐之前施用。

[0319] 在本发明的一个实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐在施用EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐之前施用。

[0320] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐并行施用。

[0321] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐同时施用。

[0322] 如本领域技术人员所理解,组合疗法可在受试者治疗的不同阶段期间有用地施用受试者。

[0323] 在本发明的一个实施方案中,将组合疗法施用给以前未被治疗过(亦即未经过治疗)的受试者。

[0324] 在本发明的一个实施方案中,组合疗法施用在以前以生物治疗剂或化学治疗剂治疗后无法达到持续应答(亦即经历过治疗)的受试者。

[0325] 组合疗法可在手术移除肿瘤之前或之后施用,及/或可在辐射治疗之前、期间或之后使用,及/或可在化学治疗之前、期间或之后使用。

[0326] 施用本发明的化合物可以能够递送化合物至作用部位的任何方法实现。这些方法包括经口途径、十二指肠内途径、肠胃外注射(包括静脉内、皮下、肌肉内、血管内或输注)、局部及直肠施用。

[0327] 可调整剂量方案以提供最优的所欲应答。例如,本发明的组合疗法的治疗剂可作为单次推注、作为随时间施用的数个分次剂量施用,或剂量可依治疗情况的急迫程度的指示而按比例减少或增加。可能特别有利的是配制呈容易施用及剂量均匀的单位剂型的治疗剂。本申请中所使用的单位剂型系指适合作为用于欲治疗的哺乳动物受试者的单位剂量的物理离散单位;各单位含有经计算与所需的药物载体一起产生所欲治疗效果的预定量的活性化合物。本发明的单位剂型的规格受制于及直接取决于(a)化学治疗剂的独特特征及欲达到的特定治疗性或预防性效果,及(b)在调合此种活性化合物用于处理个体敏感性的技术领域中固有的限制。

[0328] 因此,本领域技术人员基于本申请中所提供的公开内容而领会依照治疗技术领域中熟知的方法调整剂量及给药方案。亦即可轻易地确立最大耐受剂量,且亦可测定提供受试者可检测的治疗效益的有效量,同样可测定施用各药剂以提供受试者可检测的治疗效益的时间要求。据此,尽管本申请中例示特定的剂量及施用方案,但是这些实例不以任何方式限制在实施本发明时可提供受试者的剂量及施用方案。

[0329] 应注意的是剂量值可随欲缓解的病况的类型及严重性而改变,且可包括单次或多次剂量。应进一步理解用于任何特定受试者的特定剂量方案应根据受试者需求及执行或监督组合物施用的人的专业判断而随时间调整,该调整考虑以下因素:诸如障碍或病况的严重性、施用速率、化合物的处置及处方医师的斟酌。本申请中提出的剂量范围仅为例示且不意欲限制所主张的组合物的范畴或实施。例如,剂量可基于药物动力学或药效学参数而调整,这些参数可包括临床效果,诸如毒性效果及/或实验室值。因此,本发明包含如本领域技术人员所测定的患者内剂量递增。测定用于施用化学治疗剂的适当的剂量及方案为相关技术领域中所熟知,且一旦提供本申请中所公开的指导,则本领域技术人员将理解所包含的

该测定。

[0330] 在一些实施方案中,在组合疗法中的治疗剂的至少一种使用与作为单一疗法用于治疗相同的癌症时通常所使用的剂量方案相同的剂量方案(治疗的剂量、频率及持续期间)施用。在其它实施方案中,受试者接受在组合疗法中的治疗剂的至少一种的总量低于使用相同的药剂作为单一疗法时的总量,例如较低的治疗剂量、减少的给药频率及/或较短的给药持续期间。

[0331] EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐的有效剂量在每天每为千克体重约0.001至约100毫克的范围内,优选为约1至约35毫克/千克/天,以单次或分次剂量。用于70千克的人类的此剂量将达到约0.01至约7克/天,优选为约0.02至约2.5克/天。在一些情况下,低于前述范围下限的剂量水平可能绰绰有余,而在其它情况下,可使用还更大的剂量而不引起任何有害的副作用,只要将这些较大的剂量先分成数个小剂量供全天施用。

[0332] 在一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐以每天约10毫克至约7000毫克,优选为每天约20毫克至约2500毫克,及更优选为每天约50毫克至约1000毫克的日剂量施用。在一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐以每天约500毫克的日剂量施用。

[0333] 在优选的实施方案中,EZH2抑制剂为5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氧基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮或其药物上可接受的盐,其以每天约50毫克至约2000毫克、每天约50毫克、每天约100毫克、每天约150毫克、每天约200毫克、每天约250毫克、每天约300毫克、每天约350毫克、每天约400毫克、每天约450毫克、每天约500毫克、每天约550毫克、每天约600毫克、每天约650毫克、每天约700毫克、每天约750毫克、每天约800毫克、每天约850毫克、每天约900毫克、每天约950毫克、每天约1000毫克、每天约1100毫克、每天约1200毫克、每天约1300毫克、每天约1400毫克或每天约1500毫克的日剂量施用。此剂量可任选地再分成小剂量,例如每天150毫克的剂量可能以每天两次的75毫克剂量给药。

[0334] 在一个实施方案中,化学治疗剂为依托泊苷,该依托泊苷依照经批准的标签经静脉内施用,例如在第1至5天以每天一次50至100毫克/平方米的剂量;或在第1、3及5天以每天一次50至100毫克/平方米的剂量。在一个实例中,依托泊苷可在每21天周期的第1、2及3天以80至120毫克/平方米的剂量施用,经1、2、3、4、5或6个周期。在一个实施方案中,化学治疗剂(例如依托泊苷)与基于铂的抗肿瘤剂(例如顺铂或卡铂)组合使用。

[0335] 在一个实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂为顺铂,该顺铂依照经批准的标签经静脉内施用。在一个实例中,顺铂可在每21天周期的第1天以60至80毫克/平方米的剂量施用,经1、2、3、4、5或6个周期。

[0336] 在一个实施方案中,基于铂的抗肿瘤剂为卡铂,该卡铂依照经批准的标签经静脉内施用。在一个实例中,卡铂可在每21天周期的第1天施用以达到5至6毫克/毫升/分钟的初始目标AUC,经1、2、3、4、5或6个周期。在一个实例中,卡铂可在每21天周期的第1天以400毫克/平方米的剂量施用,经1、2、3、4、5或6个周期。

[0337] 可依需要进行重复的施用或给药方案,或调整施用或给药方案以达到所欲治疗。本申请中所使用的“连续给药方案”为无剂量中断的施用或给药方案,例如没有治疗休息日。在治疗周期之间无剂量中断而重复21或28天的治疗周期为连续给药方案的实例。在实

施方案中,本发明的组合的化合物可以连续的给药方案施用。

[0338] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐以一起有效治疗癌症的量给药。

[0339] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐以一起具有协同性的量给药。

[0340] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐以非标准的给药方案给药。

[0341] 在本发明的一个实施方案中,EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐以低剂量方案给药。

[0342] 药物组合物及施用途径

[0343] “药物组合物”系指作为活性成分的本申请中所述的治疗剂中的一种或多种或其药物上可接受的盐、溶剂合物、水合物或前药与至少一种药物上可接受的载体或赋形剂的混合物。在一些实施方案中,药物组合物包含二种或更多种药物上可接受的载体及/或赋形剂。

[0344] 本申请中所使用的“药物上可接受的载体”系指不对生物体造成显著的刺激且不消除活性化合物或治疗剂的生物活性及特性的载体或稀释剂。

[0345] 在一个实施方案中,本发明涉及包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐,及药物上可接受的载体的药物组合物。

[0346] 药物上可接受的载体可包含任何常规药物载体或赋形剂。载体及/或赋形剂的选择很大的程度取决于下列因素:诸如特定的施用模式、赋形剂对溶解度和稳定度的效果及剂型的本性。

[0347] 适合的药物载体包括惰性稀释剂或填充剂、水及各种有机溶剂(诸如水合物和溶剂合物)。如果需要,药物组合物可含有额外的成分,诸如调味剂、粘合剂、赋形剂等等。因此,可使用含有各种赋形剂(诸如柠檬酸)连同各种崩解剂(诸如淀粉、海藻酸和特定的复合硅酸盐)及粘合剂(诸如蔗糖、明胶和阿拉伯胶)片剂用于经口施用。赋形剂的非限制性实例包括碳酸钙、磷酸钙、各种糖和淀粉形式、纤维素衍生物、明胶、植物油及聚乙二醇。另外,常使用以压片目的润滑剂,诸如硬脂酸镁、月桂基硫酸钠和滑石。类似形式的固体组合物亦可用于软及硬填充式明胶胶囊中。材料的非限制性实例因此包括乳糖和高分子量的聚乙二醇。当要求以含水悬浮液或酏剂用于经口施用时,则其中的活性化合物可与下列物质组合:各种甜味剂或调味剂、着色物质或染料及(如果需要)乳化剂或悬浮剂,连同稀释剂(诸如水、乙醇、丙二醇、甘油)或它们的组合。

[0348] 药物组合物可例如呈适合于经口施用的形式,如片剂、胶囊、药丸、粉末、持续释放型制剂、溶液或悬浮液,适合于肠胃外注射的形式,如无菌溶液、悬浮液或乳液,适合于局部施用的形式,如软膏或乳膏,或适合于直肠施用的形式,如栓剂。

[0349] 例示性肠胃外施用形式包括活性化合物于无菌含水溶液(例如含水丙二醇或右旋糖溶液)中的溶液或悬浮液。如果需要,可将这些剂型适当地缓冲。

[0350] 药物组合物可呈适合于单次施用精确剂量的单位剂型。

[0351] 适合于递送本发明化合物的组合疗法的治疗剂的药物组合物及它们的制备方法将为本领域技术人员可轻易地明白。这些组合物及它们的制备方法可见于例如第19版

‘Remington’s Pharmaceutical Sciences’ (Mack Publishing Company, 1995) 中, 通过供参考将其公开的全部内容并入本申请。

[0352] 本发明的组合疗法的治疗剂可经口施用。经口施用可包含吞咽, 使得治疗剂进入胃肠道中, 或可使用颊内或舌下施用, 藉此使治疗剂自嘴巴直接进入血流中。

[0353] 适合于经口施用的制剂包括固体制剂, 诸如片剂, 含有微粒、液体或粉末的胶囊、锭剂(包括以液体填充)、咀嚼剂、多重颗粒剂和纳米颗粒剂、凝胶、固溶体、脂质体、薄膜(包括黏膜片)、珠粒剂、喷雾剂及液体制剂。

[0354] 液体制剂包括悬浮液、溶液、糖浆和酏剂。这些制剂可用作为软或硬胶囊中的填充剂且通常包括载体(例如水、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、甲基纤维素或适合的油)及一种或多种乳化剂及/或悬浮剂。液体制剂亦可通过重组例如来自小药囊的固体而制得。

[0355] 本发明的组合疗法的治疗剂亦可用于快速溶解、快速崩解剂型中, 诸如在Liang和Chen (2001) 的Expert Opinion in Therapeutic Patents, 11 (6), 981–986中所述的那些, 通过参考将其公开的全部内容并入本申请。

[0356] 用于片剂型的治疗剂可构成剂型的1wt%至80wt%, 更典型为剂型的5wt%至60wt%。除了活性剂以外, 片剂通常含有崩解剂。崩解剂的实例包括淀粉乙醇酸钠、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙、交联羧甲基纤维素钠、交聚维酮、聚乙烯基吡咯烷酮、甲基纤维素、微晶纤维素、经低碳烷基取代的羟丙基纤维素、淀粉、预糊化淀粉和海藻酸钠。崩解剂通常可构成剂型的1wt%至25wt%, 优选为5wt%至20wt%。

[0357] 通常使用粘合剂赋予片剂制剂的内聚特性。适合的粘合剂包括微晶纤维素、明胶、糖、聚乙二醇、天然胶和合成胶、聚乙烯基吡咯烷酮、预糊化淀粉、羟丙基纤维素和羟丙基甲基纤维素。片剂亦可含有稀释剂, 诸如乳糖(单水合物、经喷雾干燥的单水合物、无水物等等)、甘露醇、木糖醇、右旋糖、蔗糖、山梨醇、微晶纤维素、淀粉和磷酸氢钙二水合物。

[0358] 片剂亦可任选地包括表面活性剂(诸如月桂基硫酸钠和聚山梨醇酯80)及助滑剂(诸如二氧化硅和滑石)。当存在时, 表面活性剂的量通常为片剂的0.2wt%至5wt%, 且滑动剂的量通常为片剂的0.2wt%至1wt%。

[0359] 片剂通常亦含有润滑剂, 诸如硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸锌、硬脂基富马酸钠和硬脂酸镁与月桂基硫酸钠的混合物。润滑剂通常以片剂的0.25wt%至10wt%的量存在, 优选为0.5wt%至3wt%。

[0360] 其它常规成分包括抗氧化剂、着色剂、调味剂、防腐剂及味觉掩蔽剂。

[0361] 例示性片剂可含有至多约80wt%的活性剂、约10wt%至约90wt%的粘合剂、约0wt%至约85wt%的稀释剂、约2wt%至约10wt%的崩解剂及约0.25wt%至约10wt%的润滑剂。

[0362] 可将片剂掺合物直接或以滚筒压缩以形成片剂。作为另一选择, 片剂掺合物或掺合物的一部分可在压片前经湿法制粒、干法制粒或熔融法制粒、熔融冻凝或挤压。最后的制剂可包括一层或多层且可经包膜或未经包膜; 或胶囊化。

[0363] 片剂制剂详细地讨论于H. Lieberman和L. Lachman的“Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. 1”, Marcel Dekker, N.Y., N.Y., 1980 (ISBN 0-8247-6918-X) 中, 通过参考将其公开内容全文并入本申请。

[0364] 用于经口施用的固体制剂可配制成立即释放及/或调节释放。调剂释放型制剂包

括延迟释放、持续释放、脉冲释放、控制释放、靶向释放及程控化释放。

[0365] 适合的调节释放型制剂被描述于美国专利第6,106,864号中。其它适合的释放技术的细节(诸如高能量分散、及渗透和包膜粒子)可见于Verma等人的Pharmaceutical Technology On-line, 25 (2), 1-14 (2001) 中。利用口香糖达到控制释放被描述于WO 00/35298中。通过参考将这些参考文献的内容全文并入本申请。

[0366] 肠胃外施用

[0367] 本发明的组合疗法的治疗剂亦可直接施用进入血液、肌肉或内部器官中。适合于肠胃外施用的方式包括静脉内、动脉内、腹膜内、椎管内、室内、尿道内、胸骨内、颅内、肌肉内和皮下。适合于肠胃外施用的器材包括针(包括微型针)注射器、无针注射器和输注技术。

[0368] 肠胃外制剂通常为含水溶液,其可含有赋形剂,诸如盐、碳氢化合物和缓冲剂(优选为3至9的pH),但对一些应用而言,该制剂可更适合地配制成无菌非含水溶液或与适合的介质(诸如无菌的无热原水)结合使用的干燥形式。

[0369] 在无菌条件下制备肠胃外制剂(例如通过冷冻干燥)可使用本领域技术人员熟知的标准药物技术轻易地完成。

[0370] 在制备肠胃外溶液所使用的治疗剂的溶解度可通过使用适当的配制技术而增加,诸如并入溶解增强剂。

[0371] 用于肠胃外施用的制剂可配制成立即释放及/或调节释放。调节释放型制剂包括延迟释放、持续释放、脉冲释放、控制释放、靶向释放及程控化释放。因此,本发明的组合疗法的治疗剂可以潜在地被配制成以植入型储库施用的固体、半固体或触变性液体,以提供调节释放的活性化合物。这些制剂的实例包括涂药支架和PGLA微球。

[0372] 本发明的组合疗法的治疗剂亦可以潜在地经局部施用皮肤或黏膜,亦即经皮肤或透皮施用。出于此目的的典型制剂包括凝胶、水凝胶、洗剂、溶液、乳膏、软膏、撒布剂、敷料、发泡体、薄膜、皮肤贴片、薄片、植入物、海绵、纤维、绷带和微乳液。亦可使用脂质体。典型的载体包括醇、水、矿物油、液态矿脂、白凡士林、甘油、聚乙二醇和丙二醇。可并入渗透增强剂;参见例如Finnin和Morgan的J Pharm Sci, 88 (10), 955-958 (1999年10月)。其它局部施用方式包括以电穿孔、电离子透入、超声波透入、超声波导入和微型针或无针注射(例如Powderject<sup>TM</sup>、Bioject<sup>TM</sup>等)递送。通过参考将这些参考文献的内容全文并入本申请。

[0373] 用于局部施用的制剂可配制成立即释放及/或调节释放。调节释放型制剂包括延迟释放、持续释放、脉冲释放、控制释放、靶向释放及程控化释放。

[0374] 本发明的组合疗法的治疗剂亦可能地经鼻内或吸入施用,通常呈来自干粉吸入器的干粉形式(单独、成为混合物,例如与乳糖的干掺合物,或成为混合型组分粒子,例如与磷脂(诸如磷脂酰胆碱)混合),或呈来自加压容器、泵、喷雾器、雾化器(优选为使用电流体动力学产生细雾的雾化器)或气雾器的烟雾喷雾形式,其使用或未使用适合的推进剂,诸如1,1,1,2-四氟乙烷或1,1,1,2,3,3-七氟丙烷。用于鼻内的粉末可包括生物黏附剂,例如脱乙酰壳多糖或环糊精。

[0375] 加压容器、泵、喷雾器、雾化器或气雾器可含有本发明化合物的溶液或悬浮液,其包含例如乙醇、含水乙醇或适合于活性物分散、溶解或延长释放的替代剂、作为溶剂的推进剂及任选的表面活性剂,诸如三油酸山梨坦、油酸或寡乳酸。

[0376] 在以干粉或悬浮液制剂使用前,先将化合物微粉化至适合于吸入递送的大小(通

常小于5微米)。这可通过形成纳米粒子的任何适当的粉碎方法(诸如螺旋喷射研磨、流化床喷射研磨、超临界流体处理)、高压均质化或喷雾干燥而达到。

[0377] 在吸入器或吹药器中使用的胶囊(例如自明胶或HPMC制成)、泡罩及药筒可经配制以含有治疗剂、适合的粉末基质(诸如乳糖或淀粉)与性能改进剂(诸如L-亮氨酸、甘露醇或硬脂酸镁)的粉末混合物。乳糖可为无水物或呈单水合物形式,以后者优选。其它适合的赋形剂包括右旋糖酐、葡萄糖、麦芽糖、山梨醇、木糖醇、果糖、蔗糖和海藻糖。

[0378] 适合于使用电流体动力学以产生细雾的雾化器中使用的溶液制剂可以每喷含有1 $\mu\text{g}$ 至20mg治疗剂且喷出体积可为1 $\mu\text{L}$ 至100 $\mu\text{L}$ 不等。典型的制剂包括治疗剂、丙二醇、无菌水、乙醇及氯化钠。可用于代替丙二醇的可替代溶剂包括甘油和聚乙二醇。

[0379] 可将适合的调味剂(诸如薄荷醇和左旋薄荷醇)或甜味剂(诸如糖精或糖精钠)添加至意欲用于吸入/鼻内施用的那些制剂中。

[0380] 用于吸入/鼻内施用的制剂可使用例如聚(DL-乳酸-共乙醇酸)(PGLA)配制成立即释放及/或调节释放。调节释放型制剂包括延迟释放、持续释放、脉冲释放、控制释放、靶向释放及程控化释放。

[0381] 在干粉吸入器及烟雾剂的例子中,剂量单位藉助于递送计量的阀测定。通常安排依照本发明的单位以施用含有所欲量的治疗剂的计量或“喷气”。每日总剂量可以单一剂量或更常以分次剂量供全天施用。

[0382] 本发明的组合疗法的治疗剂可经直肠或阴道施用,例如呈栓剂、子宫托或灌肠剂形式。可可脂为传统的栓剂基底,但可在适当时使用各种替代物。

[0383] 用于直肠/阴道施用的制剂可配制成立即释放及/或调节释放。修饰型制剂包括延迟释放、持续释放、脉冲释放、控制释放、靶向释放及程控化释放。

[0384] 本发明的组合疗法的治疗剂亦可能地直接施用眼或耳,通常呈经pH调整的等张性无菌盐水中的微粉化悬浮液或溶液的滴剂形式。适合于眼及耳施用的其它制剂可包括软膏、生物可降解性(例如可吸收性凝胶海绵、胶原)和生物不可降解性(例如聚硅氧)植入物、薄片、镜片及微粒状或多孔状系统,诸如类脂囊泡(noisome)或脂质体。可将下列的聚合物与防腐剂(诸如苯扎氯铵)合并在一起,诸如经交联的聚丙烯酸、聚乙烯醇、透明质酸、纤维素聚合物(例如羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素或甲基纤维素)或杂多糖聚合物(例如吉兰胶)。这些制剂亦可以电离子透入法递送。

[0385] 在一个实施方案中,可用于本发明的组合疗法的药物组合物仅包含单一治疗剂,例如仅一种选自下列的单一药剂:(a) EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐;(b) 基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐;及(c) 化学治疗剂或其药物上可接受的盐。

[0386] 在一个实施方案中,可用于本发明的组合疗法的药物组合物包含二种或三种治疗剂,例如二种或三种选自下列的药剂:(a) EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐;(b) 基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐;及(c) 化学治疗剂或其药物上可接受的盐。

[0387] 在一个实施方案中,可用于本发明的组合疗法的药物组合物包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与化学治疗剂或其药物上可接受的盐二者。

[0388] 在一个实施方案中,可用于本发明的组合疗法的药物组合物包含EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐与基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐二者。

[0389] 套装产品

[0390] 本发明的组合疗法的治疗剂可合宜地组合成适合于共同施用组合物的套装产品形式。

[0391] 在一个方面,本发明涉及包含第一容器、第二容器及包装插页的套装产品,其中第一容器包含至少一个剂量的EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐,第二容器包含至少一个剂量的基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐,且包装插页包含使用这些药剂以治疗受试者的癌症的用法说明。

[0392] 在一个方面,本发明涉及包含第一容器、第二容器、第三容器及包装插页的套装产品,其中第一容器包含至少一个剂量的EZH2抑制剂或其药物上可接受的盐;第二容器包含至少一个剂量的基于铂的抗肿瘤剂或其药物上可接受的盐;第三容器包含至少一个剂量的化学治疗剂或其药物上可接受的盐;且包装插页包含使用这些药剂以治疗受试者的癌症的用法说明。在一个实施方案中,本发明的套装产品可包含在药物组合物形式中的活性剂的一种或多种,该药物组合物包含活性剂或其药物上可接受的盐及药物上可接受的载体。套装产品可含有单独保留该组合物的装置,诸如容器、分次瓶或分次箔包。此种套装产品的实例为用于包装片剂、胶囊等等的常见的泡罩包装。

[0393] 套装产品可特别适合于施用不同的剂型(例如经口和肠胃外)、以不同的剂量间隔施用单独的组合物或相互滴定单独的组合物。为有助于依从性,套装产品通常包括施用指示且可提供有记忆辅助工具。套装产品可进一步包含可用于施用药剂的其它材料,诸如稀释剂、过滤器、IV袋和线、针和注射器等等。

#### [0394] 其它治疗剂

[0395] 在另外方面,本发明的方法及组合疗法可另外包含施用其它抗癌剂,诸如抗肿瘤剂、抗血管生成剂、信号转导抑制剂和抗增殖剂,它们的量一起有效治疗所述的癌症。在一些这类实施方案中,抗肿瘤剂选自由下列各项组成的组:有丝分裂抑制剂、烷化剂、抗代谢物、嵌入性抗生素、生长因子抑制剂、辐射、细胞周期抑制剂、酶、拓朴异构酶抑制剂、生物反应修饰剂、抗体、细胞毒剂、抗激素剂、雄激素剥夺疗法和抗雄激素。在一些实施方案中,抗肿瘤剂选自抗体,例如抗PD-1抗体[例如MDX-1106(纳武单抗(nivolumab))、MK-3475(帕博利珠单抗(pembrolizumab))、CT-011(匹利珠单抗(pidilizumab))、REGN2810(西普利单抗(cemiplimab))、BGB-A317(替雷利珠单抗(tislelizumab)或BGB-A317)、mAb7(RN888或PF-06801591)、mAb15、AMP-224(B7-DC Ig)、AGEN-2034w(aka AGEN-2034)和司帕塔利单抗(spartalizumab)]、抗PD-L1抗体[例如YW243.55.S70、MDX-1105(BMS-936559)、MPDL3280A(阿特珠单抗(atezolizumab))、MEDI4736(德瓦鲁单抗(durvalumab))和MSB0010718C(阿维鲁单抗(avelumab))]及抗CTLA-4抗体[例如伊匹木单抗(ipilimumab)、曲美木单抗(tremelimumab)和AGEN-1884]。

[0396] 纳武单抗被公开于例如2006年11月16日公布的PCT公布第W02006/121168号(在2006年5月02日申请的国际专利申请第PCT/JP2006/309606号)。帕博利珠单抗被公开于例如2009年9月17日公布的PCT公布第W02009114335号(在2009年3月03日申请的国际专利申请第PCT/US2009/035825号)。匹利珠单抗被公开于例如2009年8月20日公布的PCT公布第W02009/101611号(在2009年2月11日申请的国际专利申请第PCT/IL2009/000153号)。西普利单抗被公开于例如2011年6月03日公布的PCT公布第W02011066389号(在2010年11月24日申请的国际专利申请第PCT/US2010/058007号)。BGB-A317被公开于例如2015年3月19日公

布的PCT公布第W02015035606号(在2013年9月13日申请的国际专利申请第PCT/CN2013/083467号)。mAb7(RN888或PF-06801591)被公开于例如2016年6月16日公布的PCT公布第W02016/092419号(在2015年12月02日申请的国际专利申请第PCT/IB2015/059268号)。mAb15被公开于例如在2016年6月16日公布的PCT公布第W02016/092419号(在2015年12月02日申请的国际专利申请第PCT/IB2015/059268号)。AMP-224(B7-DCIg)被公开于例如2010年3月11日公布的PCT公布第W02010/027827号(在2009年8月25日申请的国际专利申请第PCT/US2009/054969号)和2011年月6日03公布的PCT公布第W02011066342号(在2010年11月24日申请的国际专利申请第PCT/US2010/057940号)。AGEN-2034w(aka AGEN-2034)被公开于例如2017年3月09日公布的PCT公布第W02017040790号(国际专利申请第PCT/US2016/049913号)。司帕塔利单抗被公开于例如2015年7月30日公布的PCT公布第W0/2015112900号(在2015年1月23日申请的国际专利申请第PCT/US2015/012754号)。

[0397] YW243.55.S70被公开于例如2010年7月08日公布的PCT公布第W02010077634号(在2009年12月08日申请的国际专利申请第PCT/US2009/067104号)。MDX-1105(BMS-936559)被公开于例如2018年6月14日公布的PCT公布第W02018106529号(在2017年12月01日申请的国际专利申请第PCT/US2017/064207号)和2007年1月11日公布的PCT公布第W02007005874号(在2006年6月30日申请的国际专利申请第PCT/US2006/026046号)。MPDL3280A(阿特珠单抗)被公开于例如2018年6月14日公布的PCT公布第W02018106529号(在2017年12月01日申请的国际专利申请第PCT/US2017/064207号)。MEDI4736(德瓦鲁单抗)被公开于例如2011年6月30日公布的PCT公布第W02011066389号(在2010年11月24日申请的国际专利申请第PCT/US2010/058007号)和2018年6月14日公布的PCT公布第W02018106529号(在2017年12月01日申请的国际专利申请第PCT/US2017/064207号)。MSB0010718C(阿维鲁单抗)被公开于例如2013年6月06日公布的PCT公布第W013079174号(在2012年11月21日申请的国际专利申请第PCT/EP2012/004822号)。伊匹木单抗作为抗体10D1公开于例如2001年3月01日公布的PCT公布第W001/14424号(在2000年8月24日申请的国际专利申请第PCT/US00/23356号)以及2015年10月08日发表的美国专利申请公布第20150283234号(在2015年4月20日申请的美国专利申请第14/437,029号)。曲美木单抗作为抗体11.2.1公开于例如2004年1月27日授予的美国专利第6,682,736号(在1999年12月23日申请的美国专利申请第09/472,087号)。AGEN-1884被公开于例如2016年12月08日公布的PCT公布第W02016196237号的实施例1(在2016年5月27日申请的国际专利申请第PCT/US2016/034508号)。

[0398] 在本发明的方法及组合疗法的一个实施方案中,所述的方案亦包括其它活性剂,其中该其它活性剂为依托泊昔。

[0399] 从本申请中包含的教导将明显可见本发明的这些方面及其它方面,包括下文列出的示例性特定实施方案。

## 实施例

[0400] 化合物1为国际专利申请PCT/IB2015/054272中所公开的5,8-二氯-2-[ (4-甲氧基-6-甲基-2-氧代-1,2-二氢-吡啶-3-基) 甲基]-7-[ (R)-甲氨基(氧杂环丁烷-3-基) 甲基]-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮,该申请于2015年12月23日以WO 2015/193765被公布。

[0401] 化合物2为专利申请PCT/IB2013/060682中所公开的5,8-二氯-7-(3,5-二甲基-1,

2-恶唑-4-基)-2-[4,6-二甲基-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-基)甲基]-3,4-二氢异喹啉-1(2H)-酮,该申请于2014年6月26日以WO 2014/097041被公布。

[0402] 除非另有其它具体说明,否则化合物1和化合物2于DMSO中制备成储备溶液,根据需要进一步稀释。

[0403] 在本申请中使用下列缩写:

[0404] ANCOVA-协方差分析

[0405] BID-每天两次

[0406] BW-体重

[0407] BWL-体重减轻

[0408] CR-完全应答

[0409] DMSO-二甲亚砜

[0410] IP-腹膜内,

[0411] N或n-受试者数量

[0412] NOD/SCID-非肥胖性糖尿病/重症联合免疫缺陷

[0413] NS-不显著

[0414] NSG-NOD scid  $\gamma$

[0415] PCR-聚合酶链反应

[0416] PO-经嘴

[0417] QD-每天一次

[0418] qRT-定量实时

[0419] RT-逆转录

[0420] SD-标准偏差

[0421] SEM-平均值的标准误差

[0422] TGI-肿瘤生长抑制

[0423] WT-野生型。

[0424] 实施例1至实施例9的方法及程序

[0425] 细胞培养: SCLC细胞系DMS114自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC CRL-2066)获得且在加入了10%胎牛血清(FBS) (Gibco/Life Technologies, 目录号10082-147) 及1%Pen/Strep的威冒斯氏(Waymouth's) 培养基MB 752/1(Gibco/Life Technologies, 目录号11220-035) 中培养。COR-L88(92031917) 细胞系购自ECACC。H841 (CRL-5845)、H446 (HTB-171)、NCI-H889 (CRL-5817)、DMS79 (CRL2049) 及H69 (HTB-119) 购自美国典型培养物保藏中心且在建议的培养基(H841:以5%的FBS补充的HITES培养基; H446、COR-L88、NCI-H889、DMS79及H69: RPMI-1640培养基+10%的FBS) 中培养。RPMI1640购自Invitrogen(目录号11875-093; 批号1694256)。根据美国典型培养物保藏中心的说明以下列组分的混合物补充的DMEM:F12培养基(Invitrogen, 目录号11320-033; 批号1677218)的基本培养基制备了HITES培养基:0.005mg/ml的胰岛素和0.01mg/ml的转铁蛋白、30nM亚硒酸钠(ITS-X, Invitrogen, 目录号51500-056, 批号1582940)、10nM氯化可的松(Sigma, 目录号H0888-1G, 批号061M1142V)、10nM $\beta$ -雌二醇(Sigma, 目录号E2257-1mg, 批号107K8630)、用于4.5mM的最终浓度的额外2mM L-谷氨酰胺(Invitrogen, 目录号25030-

081, 批号1552995)、5%的胎牛血清(Invitrogen, 目录号10099-141, 批号1565565)。所有的细胞皆维持在37°C与5%的二氧化碳(CO<sub>2</sub>)的加湿培养箱中。

[0426] 细胞内蛋白质印迹程序:将细胞以每一孔1,500个细胞平铺在黑色、平坦、透明底部的96孔板(Falcon, BD-353219)中。第二天, 将化合物以3倍稀释添加至孔中, 具有3μM至0.1nM的最终浓度范围, 留下一些空孔用于对照物: “仅DMSO(第1和第2抗体)”及“仅DMSO(仅第2抗体)”。在72小时后, 移出培养基且添加在磷酸盐缓冲的盐水(PBS, Gibco Life Technologies, 目录号10010-023)中的3.7%的甲醛, 在通风橱中经20分钟固定。接着移出甲醛且添加150ul冰冷的甲醇(MeOH), 使细胞渗透。包裹板且冷冻过夜。第二天, 移出MeOH, 添加Odyssey阻断缓冲液(150μl), 且将板保持在旋转振荡器(VWR)上2小时。移出阻断缓冲液且添加事先在50ul Odyssey缓冲液(LiCor#927-40000)中以1:800稀释的H3K27Me3抗体(Cell Signaling 9733)。然后将板放置在冷却室中的旋转振荡器(VWR)上且在4°C培育过夜。第二天, 移出一级抗体, 使细胞以1x PBS+0.1%的吐温20(PBST)共清洗5次, 每次5分钟。将二级抗体(Cell Signaling 5151抗兔)在Odyssey缓冲液(50μl)中以1:800稀释且与用于归一化的于Odyssey缓冲液中以1:10,000(5mM)稀释的DRAQ5试剂(Cell Signalling#4084)一起添加至各孔中。在2小时后, 移出二级抗体, 将板再以PBST清洗5次, 每次5分钟, 且在Odyssey LiCoR仪器(焦距3mm; 使用800nm(用于二级)连同700nm过滤器(用于DRAQ5))上检测荧光信号。IC<sub>50</sub>值使用四参数拟合与7.02版GraphPad Prism计算, 且计算所有生物学复制的算术平均值。

[0427] DMS114 SCLC细胞的细胞生长抑制检测法:将DMS114 SCLC细胞以10,000个细胞/孔的密度平铺在透明、平坦底部的12孔聚苯乙烯组织培养板(Falcon, 目录号353225)中的上述完全细胞培养基(1毫升/孔)中。将板在37°C及5%的CO<sub>2</sub>下经过夜培育16小时。接着用从3μM的最高浓度开始10点、3倍连续稀释的化合物1将细胞处理3天。在3天后, 将来自每个单独剂量处理的细胞以胰蛋白酶-EDTA(0.25%) (Gibco/LifeTechnologies, 目录号25200-056)分离, 再悬浮于新鲜培养基中且使用Vi-Cell细胞计数器及细胞活力分析仪(Beckman Coulter, 目录号383556)计数。然后将来自每个单独剂量处理的细胞以500个细胞/孔的密度再平铺于96孔超低吸附(ULA)板(Corning Inc, 目录号7007)中的如上所述的完全细胞培养基(100μL/孔)中。将细胞在37°C及5%的CO<sub>2</sub>下再经过夜培育16小时。第二天, 添加上文提出的各自剂量的化合物1, 使用从3μM的最高浓度开始10点、3倍连续稀释的化合物1。然后将板在37°C及5%的CO<sub>2</sub>下再培育14至18天, 每3天根据上文所述的给药方案补给新鲜培养基及药物。将细胞与化合物共处理17至21天。在培育期结束时, 将19μL AlamarBlue(ThermoFisher, 目录号DAL102)添加至各孔中且将板在37°C培育16小时。接着在使用540nm至570nm荧光激发波长(激发峰为570nm)及在580nm至610nm发射(发射峰为585nm)的Infinite M200 Pro微量板读取机(Tecan, 目录号396235)中读取板。使用7.02版GraphPad Prism中的非线性回归剂量反应曲线拟合计算了IC<sub>50</sub>值。

[0428] H841、H446及H69 SCLC细胞的细胞生长抑制检测法:将H841、H446及H69细胞以每一孔100,000个细胞的密度平铺在一式三份用于各细胞系的12孔板中的上述它们推荐的完全培养基(1毫升/孔)中。将板在37°C及5%的CO<sub>2</sub>下培育过夜。在DMSO中制备50mM化合物1储备液且分配成数个一次性使用的等分试样及在-20°C贮存。将用于制备化合物板的化合物1在DMSO中稀释成3mM且接着在DMSO进行3倍连续稀释(总共10个剂量)。在细胞平铺后24小

时,将1μl药物稀释液与DMSO对照物一起添加至含有在1ml培养基中的细胞(1000×稀释)的12孔板的适当孔中。在各孔中的所有稀释后,药物的最终浓度为3、1、0.333、0.111、0.037、0.012、0.004、0.001、0.0005、0.0002μM。将DMSO添加至3个复制的对照孔中。以手摇动板而将药物适当地混合。然后将细胞维持在37℃的培养箱中。在3或4天后,分割细胞1:2或1:3,取决于细胞生长速率。关于悬浮细胞,使用1ml吸管将细胞彻底混合且接着移出500μl(1:2分割)或667μl(1:3分割)细胞。关于附着细胞,将细胞胰蛋白酶化且以1:2或1:3分割。将相同体积的新鲜培养基添加至各孔中,使体积达到1ml。如果细胞半附着,则一起收集上清液中的悬浮细胞与胰蛋白酶化的附着细胞。将新鲜药物添加至此前所说明的各孔中。分割细胞且每3至4天类似重复培养基/药物补给,直到第21天。在第21天,在显微镜下观察细胞形态且记录在化合物处理时的任何形态改变。关于悬浮细胞,接着通过移液将细胞重复混合,自一式三份孔吸出且转移至15mL试管中。关于附着细胞,移出上清液且将500μl胰蛋白酶添加至各孔中。在细胞自底部分离后,将1ml完全培养基添加至各孔中。将细胞破碎成单细胞悬浮液,转移至15mL试管中且以1000rpm离心5分钟。移出上清液且基于沉淀物大小而将来自一式三份孔的细胞再悬浮于1000至3000μl培养基中。将50至100μl体积自细胞+培养基孔转移至底部平坦的黑色96孔CTG板(Corning,目录号CLS3904)中且添加等体积的CTG试剂(来自Promega,目录号G7571,批号0000089186)。调整细胞悬浮液的体积以确保信号在CTG检定的线性范围内(使细胞不太多且也不太少)。然后将细胞在暗处摇动5分钟。使用根据制造商的说明测量了细胞活力。

[0429] 为了评价组合EZH2抑制剂与监护化学治疗剂标准(顺铂和依托泊苷,其可作为化学治疗的监护标准单独或组合使用)的协同抗增殖效果,将上文所述的每个细胞系以限定剂量的化合物1在培养烧瓶中预处理9天,接着在96孔板中与顺铂或依托泊苷共同处理4天。依照本申请中所述的方法使用CellTiter-Glo细胞增殖检测法评价了对细胞增殖的效果,且使用Chalice Bioinfomatics软件(Horizon Discovery,1.6版)分析结果及计算协同性分数。数据相对于未处理的DMSO/DMSO样品归一化且以未处理的样品的%表示。数据使用Loewe加和性组合模型分析且使用过度属性评价所观察的数据的量值,其超过以Loewe模型预测的各剂量的加和效果。

[0430] SLFN11蛋白质印迹程序:将SCLC细胞以DMSO中的500nM化合物1处理7天且接着使用蛋白质印迹评价SLFN11蛋白质含量的变化。在药物处理后,将细胞胰蛋白酶化(附着型细胞),通过在室温以2000rpm离心而收获,以PBS清洗,接着以离心收集细胞沉淀物。将细胞沉淀物再悬浮于适当体积的RIPA缓冲液(Sigma;目录号R0278;每5至10x105细胞100μl)中,在冰上培育10至15分钟,以12,000g及4℃离心10分钟且接着收集上清液。将15ug总蛋白质溶解物在4至12%的NuPAGE™ Bis-Tris蛋白质凝胶(NP0336Box)上以1xNuPAGE™ MOPSSDS电泳缓冲液(NP0001)运作。将凝胶在冰上于80V下20分钟,然后于150V下操作60分钟。根据制造商的说明以iBlot2干式印迹系统(目录号:IB21001)与iBlot2常规硝化纤维素转移积层(Regular Nitrocellulose Transfer Stack)(目录号:IB23001)一起用于蛋白质转移。组装iBlot2常规硝化纤维素转移积层且放入iBlot2干式印迹系统中。使用根据制造商说明的模板方法P3在20V的恒电压下运作转移7分钟。在完成转移后,在RT于5%的无脂肪乳中以摇动1小时阻断硝化纤维素薄膜。以在5%的脱脂乳阻断缓冲液中以1:100稀释的SLFN11抗体(E-4)(目录号:sc374339)制得一级抗体溶液。将薄膜在4℃以摇动培育过夜。第二天,将薄

膜在摇动器上以室内制备的1x Tris缓冲的盐水、0.1%的Tween-20 (TBS-T) 清洗三次,每次10分钟。将薄膜在5%的脱脂乳阻断缓冲液中以1:2,000稀释的二级抗小鼠IgG HRP链接Ab (目录号:CST7076S) 中培育1小时且接着在摇动器上以1x TBST经10分钟清洗三次。使用ECL系统(Thermo-34078及-34096) 检测了信号且在ImageQuant LAS400影像器上成像。

[0431] COMET检测法: 将悬浮或附着型SCLC细胞系以50000个细胞/毫升的密度接种在T75烧瓶中且在37℃及5%的CO<sub>2</sub>下在含有于DMSO中的0.3μM最终浓度的化合物1或DMSO对照物(0.01%)完全细胞培养基中培养7天。每3至4天补给新鲜生长培养基及药物。在处理7天后,以与不同剂量的顺铂(Sigma-Aldrich, 目录号P4394)组合的0.3μM化合物1或DMSO对照物处理细胞3天。以离心收获细胞,且将细胞沉淀物再悬浮于冰冷1xPBS(不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>)中的1×10<sup>5</sup>细胞/毫升的单细胞悬浮液中且在室温贮存备用。将LM琼脂糖(Trevigen 4250-050-02)经5分钟熔融于烧杯的沸水中且然后将琼脂糖瓶放入37℃培养箱中冷却。将与LM琼脂糖以1:10(v/v)的比组合的1×10<sup>5</sup>个/毫升(在37℃)细胞立即移液(50μl)至CometSlide™(TREVIGEN 4250-050-03)上,确保完全覆盖样品区域。将载玻片平放在4℃的暗处10至20分钟,且浸入冷的溶解溶液(Trevigen 4250-050-01)中且在4℃培育过夜。在溶解溶液中培育后,将载玻片沥干且在4℃于暗处浸入新制备的碱性解螺旋溶液(20mM NaOH、1mM EDTA pH>13)中1小时。将载玻片在TREVIGEN CometAssay ES系统(Trevigen 4250-050-ES)中于21V下经受以新鲜制备的碱性电泳溶液(20mM NaOH、1mM EDTA pH>13)电泳30分钟。在电泳后,将载玻片沥干过量电泳溶液且轻轻浸入H<sub>2</sub>O中两次,每次5分钟,接着浸入70%的乙醇中5分钟。将载玻片于暗处风干过夜且在室温贮存。将干燥的载玻片以100μl稀释的SYBR Gold(Invitrogen, 目录号S11494, 以1:10000于TE缓冲液中)于暗处染色几分钟。以Nikon荧光显微镜将染色的载玻片成像(在496nm/522nm下最大激发/发射)。

[0432] γ-H2AX染色: 将无菌SLIP-RITE盖玻片(ThermoScience 22x22#1.5, 目录号152222)放在6孔板上。将6×10<sup>4</sup>个细胞接种在各个盖玻片上且在37℃及5%的CO<sub>2</sub>下在含有于DMSO中的0.3μM化合物1或DMSO对照物(0.01%)的2ml完全细胞培养基中培养7天,每3至4天补给新鲜生长培养基及药物。在处理7天后,以与不同剂量的顺铂(Sigma-Aldrich, 目录号P4394)组合的DMSO中的0.3μM化合物1或DMSO对照物处理细胞过夜(16hr)。在组合处理结束时,将细胞以1x磷酸盐缓冲的盐水(PBS)(不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>)清洗3次,在1ml 4%的三聚甲醛(Electron Microscopy Sciences, 目录号15710)中固定且在4℃贮存过夜。在固定后,将细胞在1x PBS中清洗3次且通过在室温在含有0.25%的Triton X-100(Sigma, 目录号T8787)的1ml PBS中培育10分钟而渗透。在渗透后,将细胞以1xPBS清洗3次且在室温以10%的驴血清(Sigma-Aldrich, 目录号D9663, 在PBS中以1:10稀释)培育1小时以阻断抗体的非特异性结合。在阻断后,将细胞在4℃以小鼠抗磷酸-组蛋白H2A.X(Ser139)抗体(Millipore, 目录号05-636, 在1%的BSA中以1:1000稀释)培育过夜。第二天,将细胞在1xPBS中清洗3次且在室温以Alexa Fluor™ 488驴抗小鼠IgG抗体(Invitrogen, 目录号A21202, 在1%的BSA中以1:2000稀释)中培育1小时。然后将细胞以1x PBS清洗3次,然后计数。将具有细胞的盖玻片以具有DAPI的Fluoromount-G™(Invitrogen, 目录号004959-52)放置及架设在COLORFROST PLUS显微镜载玻片(ThermoSciences, 目录号9991004)上。在Nikon A1R共聚焦显微镜上使架设的载玻片成像。

[0433] EZH2-WT DMS114 SCLC活体内异种移植研究:

[0434] (i) 化合物配制: 将化合物1配制成湿法研磨的纳米悬浮液(在2.5% w/v的聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)、0.5% w/v的含水聚乙二醇15羟基硬脂酸酯(Kolliphor HS15)中研磨24小时, 具有<1μm粒径分布(PSD; ~650nm中位直径(d50)), 用于经口管喂施用。

[0435] (ii) 细胞植入、化合物给药及组织收集: 在非肥胖性糖尿病背景下具有严重复合型免疫缺陷(SCID)突变的免疫缺陷雌性小鼠(NOD SCID; 6至8周龄; 来自Charles River实验室的NOD.CB17-Prkdcscid/NCrCr1)接受以 $7.5 \times 10^6$ 个DMS114细胞(以1:1于基质胶(Trevigen, Cultrex BME PathClear®, 目录号: 30625F14)中, 总体积200μl)经皮下(SC)植入至右侧腹中。每周测量两次肿瘤体积及体重。在植入后第20天, 64只小鼠基于几何平均值约160mm<sup>3</sup>的肿瘤大小而随机分成对应于剂量的6组(表1)。将化合物以10ml/kg分别经口管喂(化合物1; BID(7/17小时间隔))或经腹膜内注射(顺铂)施用。顺铂给药方案为每周一次历经3周(Q7Dx3)且在以化合物1随机及开始治疗后7天开始。

[0436] 表1. 研究臂、顺铂和化合物1剂量、给药方案和途径的定义

组#	药物	n	剂量 (mg/kg/剂量)	日剂量 (mg/kg/天)	制剂	给药途径	方案
1	介质	8 (10) <sup>a</sup>	0	0	湿法研磨的纳米混悬液	PO	BID (7/17 小时间隔)
2	化合物 1	9 (10) <sup>a</sup>	30	60	湿法研磨的纳米混悬液	PO	BID (7/17 小时间隔)
3	化合物 1	10	100	200	湿法研磨的纳米混悬液	PO	BID (7/17 小时间隔)
4	化合物 1	10	300	600	湿法研磨的纳米混悬液	PO	BID (7/17 小时间隔)
5	顺铂	12	4	4	盐水	IP	Q7D x3
6	顺铂 化合物 1	12	4 100	4 200	盐水 湿法研磨的纳米混悬液	IP PO	Q7D x3 BID (7/17 小时)

[0437] [0438] BID=每天两次; IP=腹膜内; n=样品数量; PO=经口; Q7D x 3=一周一次3周。

[0439] a. 研究开始时组中小鼠的数量。Some animals介质组(n=2)和化合物1 30mg/kg组(n=1)中一些动物在研究结束之前被处死。因此, 从下文显示的TGI和统计分析以及55天作图中排除了来自这些动物的数据。

[0440] 在第55天, 终止研究组1、2、3和4(表1)。在最后一次剂量后4小时收集肿瘤(急速冷冻)样品用于药效学(PD)分析。保持两个顺铂治疗组(5和6)的研究, 直至随机化后第81天, 以监测肿瘤消退及再生长。在最后一次剂量后3小时收集来自第5和6组的肿瘤样品, 取决于可用的肿瘤大小。对这些动物进行的所有程序均符合法规及建立的指南, 且由辉瑞公司的机构动物护理及使用委员会(Pfizer's Institutional Animal Care and Use Committee)审查和批准。

[0441] (iii) 数据解释: 对于每个实验, 分别以Microsoft Excel及7.02版GraphPad Prism进行计算及图形创建。肿瘤体积以 $0.5 \times \text{长度} \times \text{宽度}^2$ 计算。肿瘤生长抑制(TGI)由以下公式测定: % TGI =  $[1 - (V_{tx} - V_{t0}) / (V_{cx} - V_{c0})] \times 100$ , 其中V<sub>c</sub>、V<sub>t</sub>为对照组及治疗组的几何平均值。X=研究的第X天及0=给药开始天。

[0442] ELISA检测法:

[0443] (i) 组蛋白提取:组蛋白提取使用EpiQuick组蛋白提取试剂盒(Epigentek OP0006)进行。将冷冻的肿瘤样品使用冷研钵及研杵在干冰上切割且均质化。将均质化混合物转移至1.5mL毫升体外的含有苯基甲基磺酰氟(PMSF)的1X预溶解缓冲液(200mg/ml)中。将样品温和地混合,在冰上培育15分钟且在4℃以3,000rpm旋转5分钟。将组织沉淀物再悬浮于来自组蛋白提取试剂盒的3倍体积(每100mg组织约200μL)的溶解缓冲液中,在冰上培育30分钟且在4℃以12,000rpm旋转5分钟。平衡-DTT缓冲液通过将DTT溶液以1:500的比添加至平衡缓冲液而制得。将上清液(含有酸可溶性蛋白质)转移至新的1.5mL试管中且将来自组蛋白提取试剂盒的0.3倍体积的平衡-二硫苏糖醇(DTT)缓冲液立即添加至各样品中。将肿瘤溶解物使用Bioruptor Plus (Diagenode#B01020001)以高强度短暂地声波处理4次循环(开启30秒及关闭30秒)。将提取物等分且储存在-20℃(短期)或-80℃(长期)。使用Coomassie Plus (Bradford)检定试剂盒(Thermo#23236)定量蛋白质浓度。

[0444] (ii) H3K27Me3及Me2ELISA检测法:将组蛋白提取物在含有0.05%的胎牛血清白蛋白(BSA)的100μL包被缓冲液(磷酸盐缓冲的盐水(PBS))中稀释至400ng(或800ng)最终浓度。在96孔检定微量板(Corning Costar)中以一式两份于每一孔添加四百(400)ng(或800ng)各样品,紧紧密封且在4℃培育过夜。第二天,将各板中的孔以300μl清洗缓冲液(PBS、0.05%的吐温20)清洗3次且接着在室温以300μL阻断缓冲液(PBS、0.05%的吐温20、2%的BSA)经2小时阻断。在另一轮以清洗缓冲液(PBS、0.05%的吐温20)清洗后,将100μL检測抗体(在阻断缓冲液中以1:2000稀释的Cell Signaling#9733H3K27Me3;在阻断缓冲液中以1:2000稀释的Cell Signaling#9728H3K27Me2;在阻断缓冲液中以1:5000稀释的Cell ABCAM ab1791总组蛋白H3)添加至各个板的各孔中且在室温培育1.5小时。在另一轮以清洗缓冲液(PBS、0.05%的吐温20)清洗后,将以1:2000稀释(H3K27Me3及Me2)或以1:10,000稀释(总H3)的100μL二级抗体(抗Rb-IgG-HRP,Cell Signaling 7074)添加至各孔中且将板在室温培育1.5小时。在另一轮以清洗缓冲液(PBS、0.05%的吐温20)清洗后,如下进行检测:将100μL TMB底物(Thermo Scientific,N301)添加至各孔中,将板培育10分钟,将100μL停止溶液(0.16M硫酸,新鲜制备或自Thermo Scientific N600购得)添加至各孔中,轻轻地振荡,且在450nm读取吸收值。使用7.02版GraphPad Prism分析数据。使用单因素ANOVA(杜凯氏(Tukey's)多重比较检验)测定P值。

[0445] 实施例1-化合物1在DMS114 SCLC细胞中的抗增殖效果

[0446] 在含有野生型EZH2的DMS114 SCLC细胞中评价了化合物1对抗EZH2的活性。通过测量细胞H3K27Me3水平的相对量于细胞中测定了EZH2抑制剂活性。将DMS114细胞以指定浓度的化合物1处理3天且使用上文所述的细胞内蛋白质印迹检测法测量了H3K27Me3含量。结果显示于表2和图1中。图1代表5个独立的生物学复制实验。在以3μM至0.1nM的浓度范围处理3天后,化合物1显示剂量依赖性H3K27Me3抑制作用,具有9.48nM的细胞平均IC<sub>50</sub>。

[0447] 亦使用上文所述用于DMS114 SCLC细胞的细胞增殖检测法评价了化合物1抑制EZH2-WT DMS114 SCLC细胞的细胞增殖的活性。将DMS114细胞使用具有3μM至0.1nM的10点剂量曲线(1:3稀释)的不同浓度的化合物1处理17至21天,然后评价了细胞活力。结果显示于表2和图2中。图2代表6个独立的生物学复制实验。结果表明化合物1在DMS114细胞中显示强力剂量依赖性细胞增殖抑制作用,具有18.8nM的平均IC<sub>50</sub>。

[0448] 表2.化合物1在DMS114细胞中抑制H3K27Me3和细胞增殖的细胞效力

[0449]	细胞系	癌症类型	H3K27Me3	增殖
			IC50 ± SD (nM) (n)	IC50 ± SD (nM) (n)
	DMS114	SCLC	9.48 ± 5.34 (5)	18.8 ± 13.2 (6)

[0450] IC50=半数最大抑制浓度;SD=标准偏差

[0451] 实施例2-化合物1+SCLC监护标准药剂顺铂或依托泊昔组合抗增殖协同性评价

[0452] 鉴于以化合物1所观察到对抑制SCLC DMS114细胞系生长的强功效,研究了化合物1与目前护理标准化学治疗剂的组合。依照上文所述的方法使用对DMS114 SCLC细胞进行的细胞生长抑制检测法进行了实验,且结果显示于图3和4中。图3显示单独给药及与顺铂组合给药的化合物1的IC<sub>50</sub>曲线。图4显示单独给药及与依托泊昔组合给药的化合物1的IC<sub>50</sub>曲线。这些实验显示先以化合物1处理强力地增加了顺铂或依托泊昔二者或各自在DMS114细胞中的抗增殖效果。图3和4还显示了使用如上所述的Loewe加和性(ADD)模型的组合数据的进一步分析的结果。此分析显示以大于两种化合物的IC<sub>50</sub>的剂量所达到的生长抑制水平比在两种化合物效果加和的条件下所预期的生长抑制水平更强。

[0453] 实施例3-在DMS114 SCLC异种移植模型中单一药剂化合物1体内抑制肿瘤生长

[0454] 使用上文所述的活体内异种移植研究程序在DMS114 SCLC异种移植模型中在活体内测试了化合物1的抗肿瘤功效。研究臂、给药方案和施用途径的定义总结于表1中。结果显示于图5中。化合物1以每天两次(BID)300mg/kg显示剂量依赖性功效反应,具有69%至79%的最大肿瘤生长抑制(TGI)。在肿瘤细胞植入后第20天,基于肿瘤大小将小鼠随机分入治疗组。在各组中随机化时肿瘤大小的几何平均值为约160mm<sup>3</sup>。自图5中所示的结果可以看出,相对于以介质给药的对照组,以100mg/kg BID及300mg/kg BID二者给药的化合物1显示显著的抗肿瘤效益。相对于30mg/kg BID及100mg/kg BID治疗,最高300mg/kg BID剂量有显著的TGI效益(第55天;2-尾t检验),显示剂量依赖性功效。在化合物1单一治疗臂中未观察到完全肿瘤消退。化合物1具有良好耐受性,体重减轻有限。

[0455] 实施例4-单一药剂化合物1在DMS114 SCLC异种移植模型中显示体内H3K27Me3及Me2的剂量依赖性生物标志物抑制作用

[0456] 使用来自以上实施例3中所述的研究在第55天收获的肿瘤组织样品以ELISA通过测量细胞H3K27Me3及Me2水平的相对量测定了在DMS114 SCLC异种移植模型中化合物1对抗EZH2的体内活性。结果显示于图6中。化合物1展现对肿瘤样品中的H3K27Me3及Me2的剂量依赖性抑制作用,以300mg/kg BID对H3K27Me3及Me2的最大抑制分别为96%及82%。

[0457] 实施例5-化合物1在DMS114 SCLC异种移植模型中显示与顺铂组合抗肿瘤活性效益

[0458] 使用上文所述的体内异种移植研究程序,在EZH2-WT DMS114SCLC异种移植模型中体内测试了化合物1与顺铂组合的抗肿瘤功效。研究臂、给药方案和施用途径的定义总结于表1中。结果显示于图7中。在第55天,在顺铂及化合物1单一治疗组中,所有肿瘤进展且大于治疗开始时,尽管在顺铂施用后观察到间歇性肿瘤缩小。相比而言,在组合组中,与开始时肿瘤负荷相比,12个肿瘤中有6个消退。到第55天组合治疗得到95%的TGI且显著比以顺铂(51%的TGI;P=0.019相对于顺铂)或以化合物1(50%的TGI;P=0.016相对于100mg/kg的化合物1)的单一疗法更有效。在单一药剂及组合臂二者中在第三个剂量后停止了顺铂治

疗,因为其引起小鼠的体重减轻(图7)。化合物1单一药剂治疗具有良好的耐受性(图7),而化合物1+顺铂组合显示比顺铂单一疗法治疗组显著更明显的体重减轻(在第27天及之后所有测量P<0.05;2-尾t检验)。

[0459] 为了评价EZH2抑制对应答持久性的效果,在第55天后保持顺铂单一疗法组及组合疗法组的研究。在两个这些治疗臂中,在第42天给予最后一次顺铂治疗。在组合臂中,仅继续单一疗法化合物1的给药作为维持疗法持续另外3周(没有顺铂给药)。结果显示于图7中。在组合臂中,化合物1的维持剂量使肿瘤消退持续顺铂中止后另外34天,但是在没有接受进一步治疗的顺铂单一疗法臂中所有肿瘤皆进展。在组合臂中及在顺铂治疗停止后,在以化合物1维持给药期间体重完全恢复,表明由化合物1维持剂量引起的毒性最小(图7)。

[0460] 再者,从图8和9中所示的数据可以看出,与介质或化合物1或顺铂单一疗法相比,顺铂与化合物1组合提供了显著的存活效益。对于存活读数值,最大肿瘤负荷设定在500mm<sup>3</sup>。相比于介质对照组,100mg/kg BID化合物1组及顺铂单一疗法组以对数秩(Mantel-Cox)检验未达到P<0.05显著性水平。相比于介质组中的34天、100mg/kg BID化合物1中的39天及顺铂组中的37.5天,组合中的中位存活期增加至74.5天。

[0461] 总之,化合物1在DMS114 SCLC异种移植模型中显示体内对肿瘤生长的剂量依赖性抑制作用。该剂量依赖性抑制作用亦与H3K27Me3及Me2生物标志物的强效抑制作用相关联。基于所观察到的最小体重变化,得出了如下结论:以化合物1给药在小鼠中耐受。当与导致显著存活效益的顺铂单一治疗相比时,以化合物1与第一线护理标准顺铂的组合给药显著地增加了抗肿瘤功效及抗肿瘤应答持久性二者。再者,本申请中所述的非临床研究证实,通过H3K27Me3及Me2抑制作用测量,化合物1体内抑制EZH2催化活性,在此DMS114 SCLC异种移植模型中作为单一药剂及与顺铂组合二者诱导了肿瘤生长的强力抑制作用。

[0462] 实施例6-化合物1在另外SCLC细胞系中的抗增殖效果

[0463] 基于以化合物1在DMS114细胞中观察到的强大活性(参见上文实施例1),还使用上文所述的细胞增殖检测法在3种另外的SCLC细胞系(亦即,H841、H446和H69)中测试了化合物1的抗增殖活性。使用具有3μM至0.1nM的10点剂量曲线(在DMSO中以1:3稀释)的不同浓度的化合物1处理各细胞系21天,然后评价细胞活力。结果显示于图10(H841)、图11(H446)和图12(H69)中。在处理21天后,化合物1显示强大剂量依赖性细胞增殖抑制作用,平均IC<sub>50</sub>在H841细胞系中为73.15nM;在H446细胞系中为108.6nM;以及在H69细胞系中为224.1nM。

[0464] 实施例7-化合物1+SCLC护理标准药剂顺铂或依托泊昔的组合在H841、H446和H69细胞系中抗增殖协同性的评价

[0465] 鉴于以化合物1所观察到抑制SCLC H841、H446和H69细胞系生长的强大功效,研究了化合物1与目前护理标准化学治疗剂顺铂或依托泊昔的组合。依照上文所述的方法,使用对H841、H446或H69 SCLC细胞的细胞生长抑制检测法进行了实验,且结果显示于图13和14(H841细胞系)、图15和16(H446细胞系)及图17和18(H69细胞系)中。图13、15和17显示了单独给药及与顺铂组合给药的化合物1的IC<sub>50</sub>曲线。图14、16和18显示了单独给药及与依托泊昔组合给药的化合物1的IC<sub>50</sub>曲线。如同DMS114,这些实验显示先以化合物1治疗强力地增加顺铂或依托泊昔各自或二者在H841、H446和H69细胞系中的抗增殖效果。

[0466] 图13至18还显示了使用如上所述的Loewe加和性(ADD)模型的组合数据的进一步分析的结果。此分析显示以大于两种化合物的IC<sub>50</sub>的剂量所达到的生长抑制水平与在两种

化合物效果加和的条件下所预期的生长抑制水平至少一样强或比其更强。

[0467] 实施例8-化合物1诱导SLFN11在SCLC细胞系中的表达

[0468] 为了了解产生以化学治疗剂观察到的EZH2i协同作用的潜在机制,我们评价了化合物1治疗对SLFN11表达(对DNA损伤剂的致敏物)的效果。将几个SCLC细胞系以500nM化合物1处理7天且根据上文所述的方法使用蛋白质印迹法评价了SLFN11蛋白质水平的变化。结果显示于图19中。这些结果表明,在以化合物1处理时在几个SCLC细胞系中观察到了强力诱导SLFN11表达。

[0469] 实施例9-化合物1+SCLC护理标准药剂顺铂的组合在SCLC细胞系中诱导DNA损伤增加

[0470] 根据上文所述的方法,使用DNA损伤标志物 $\gamma$ -H2AX染色或以COMET检测法评价DNA损伤,评价了化合物1与化学治疗剂顺铂的组合对DNA损伤的效果。将SCLC细胞系H841或H69以化合物1预处理7天,接着与顺铂共同处理16小时( $\gamma$ -H2AX)或3天(COMET检测法)。结果显示于图20至22中。在图20中,来自H841细胞系的结果表明,当与任一单一疗法处理所观察到的结果相比时,在以所述组合处理的细胞中观察到了 $\gamma$ -H2AX细胞簇形成的强力增加。在图21中,来自H841细胞系的结果表明,当与任一单一疗法处理所观察到的结果相比时,在以所述组合处理的细胞中观察到了DNA损伤的强力增加(COMET检测法)。在H69细胞系COMET检测法中获得了类似结果(参见图22)。

[0471] 通过引用将本说明书中所引用的所有出版物及专利/专利申请以它们的全文并入本申请。尽管前述发明已通过举例说明及实施例的方式在一些细节上进行了说明,但是本领域普通技术人员按照本发明的教导将轻易地明白可以在不脱离所附权利要求的精神或范围内对本发明进行某些改变及修饰。

DMS114

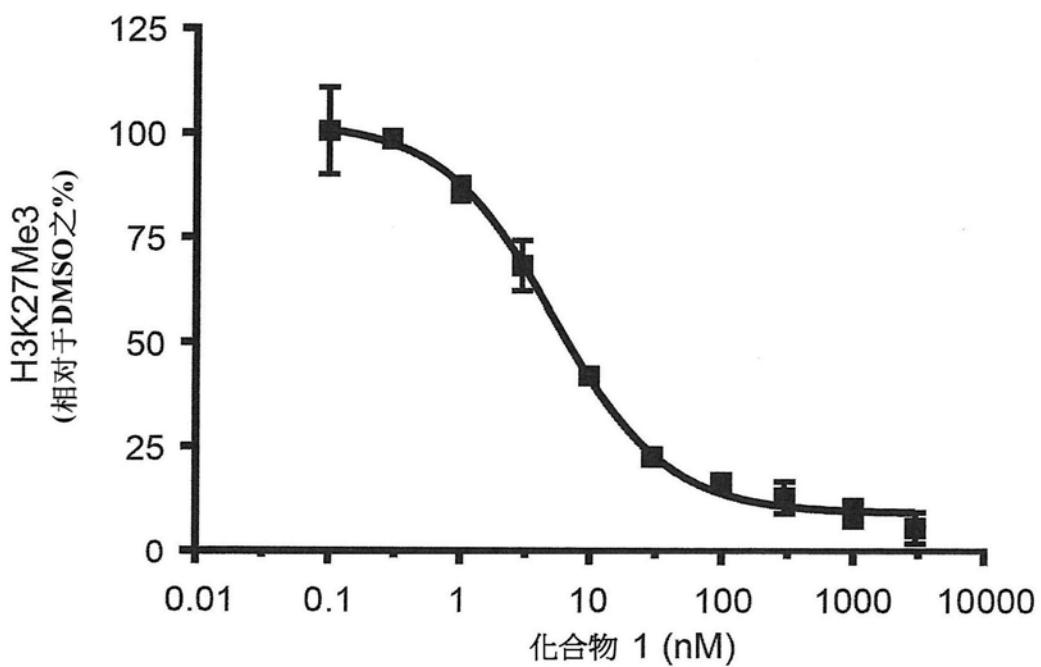


图1

DMS114

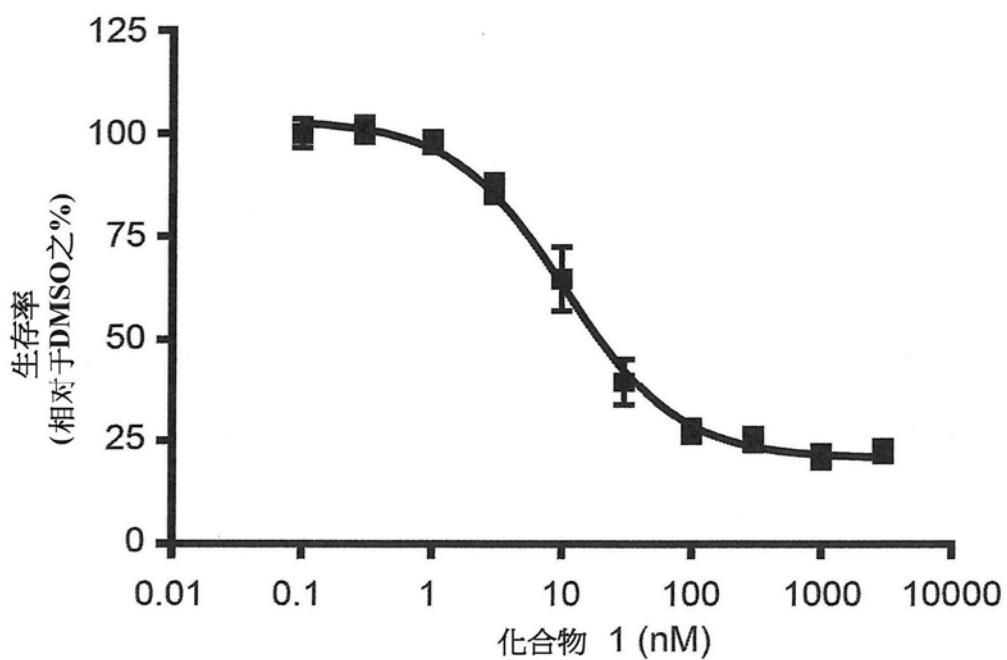


图2

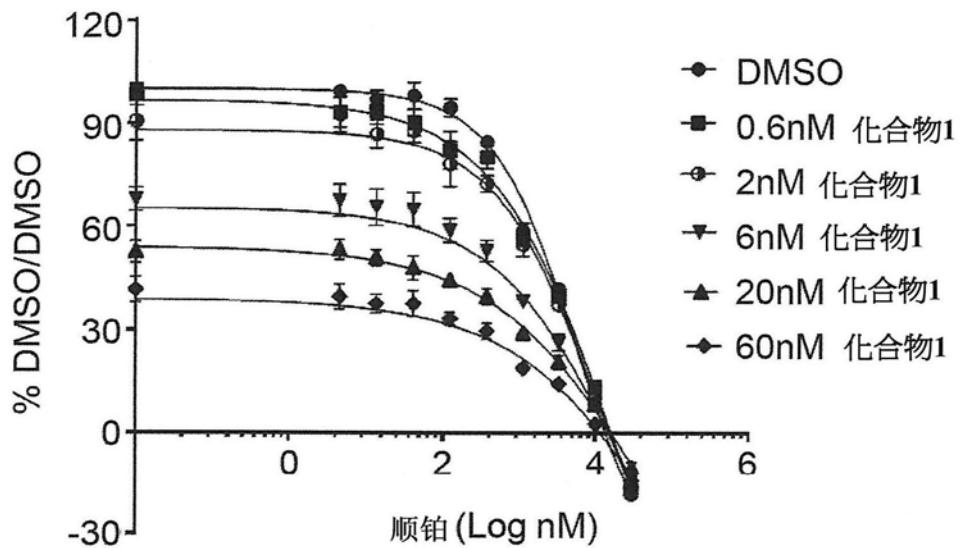


图3

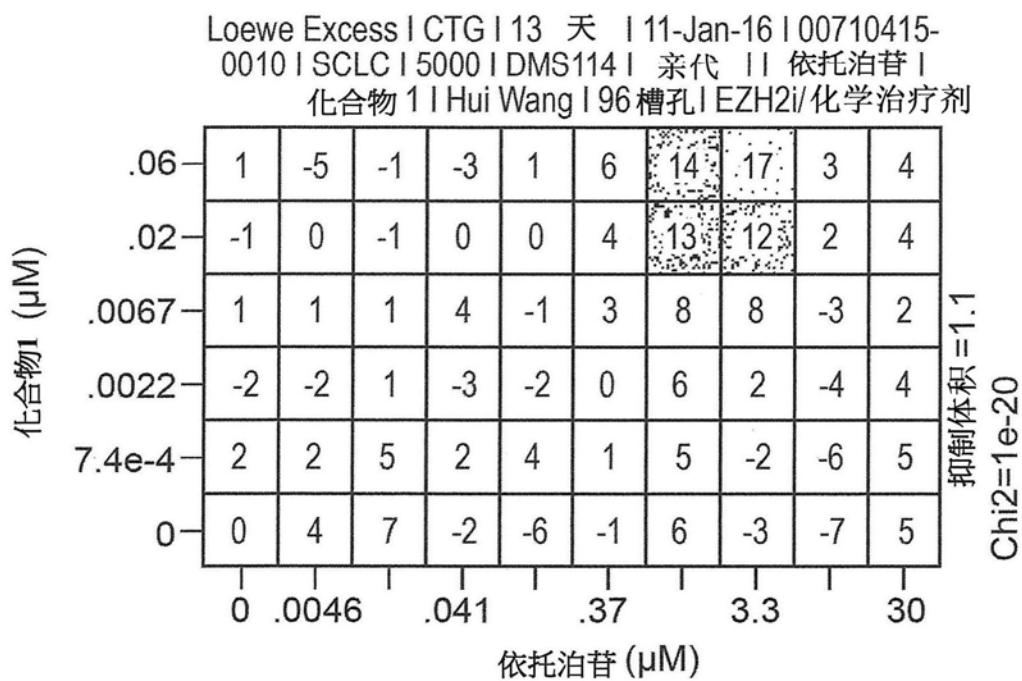
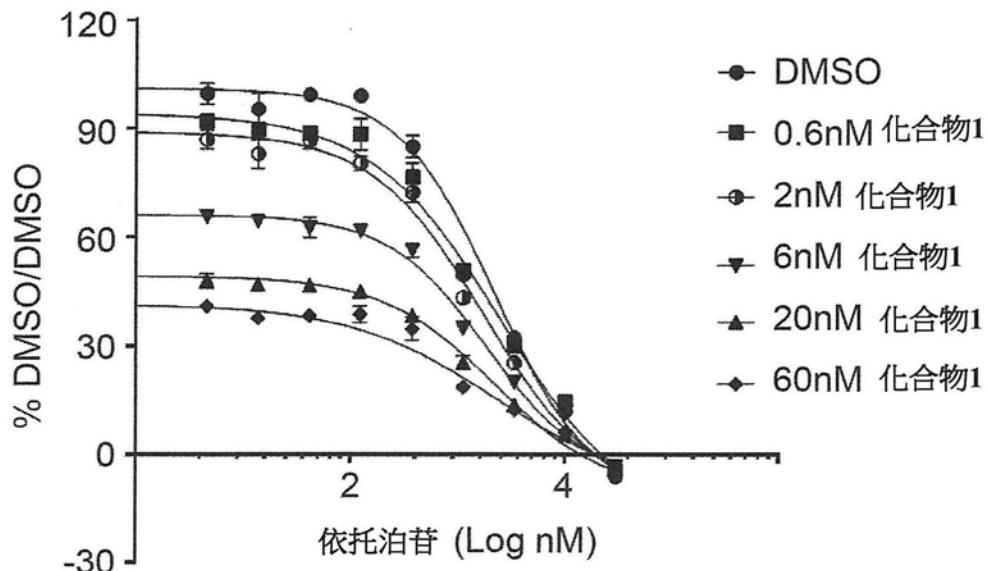


图4

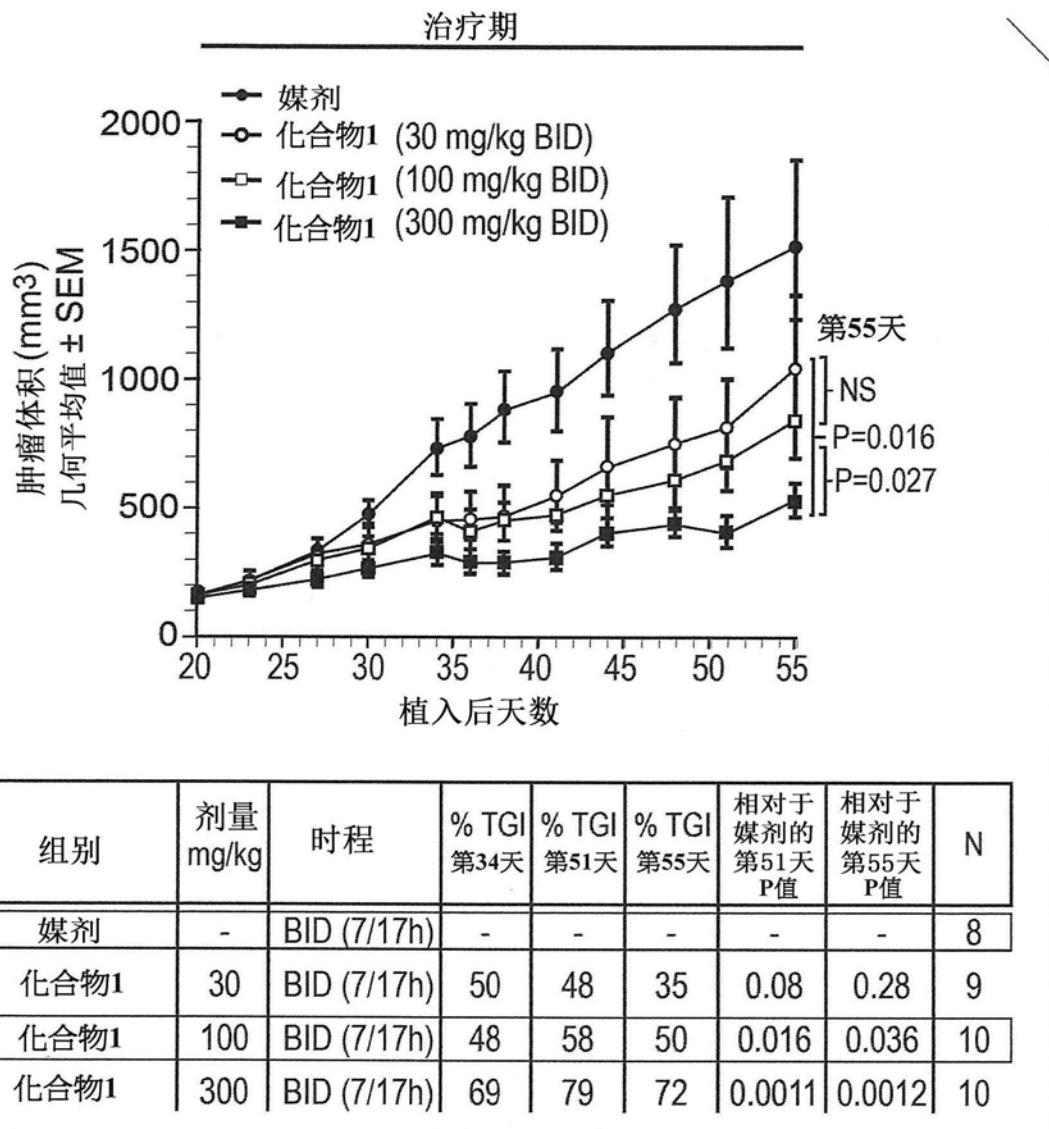


图5A

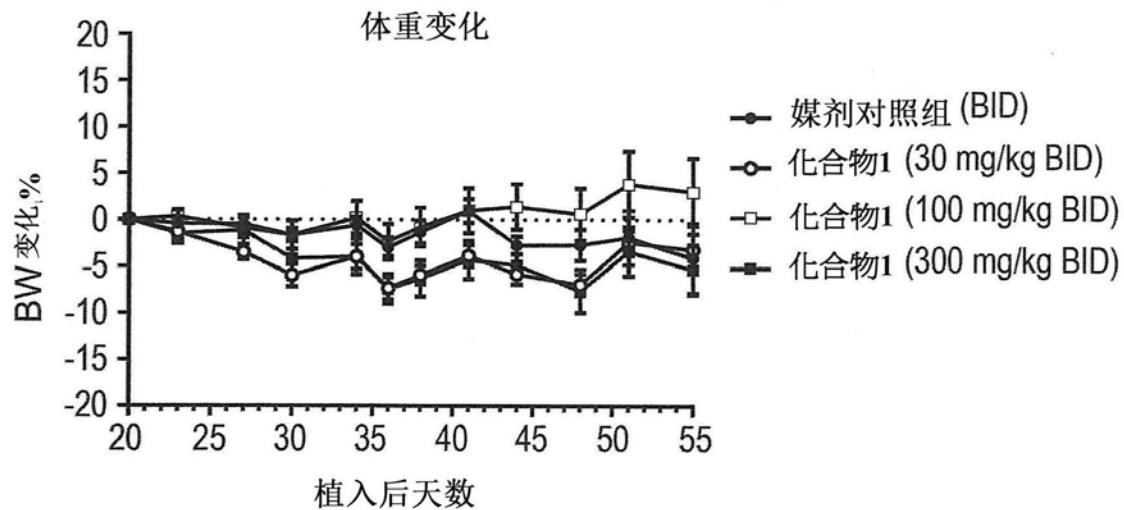


图5B

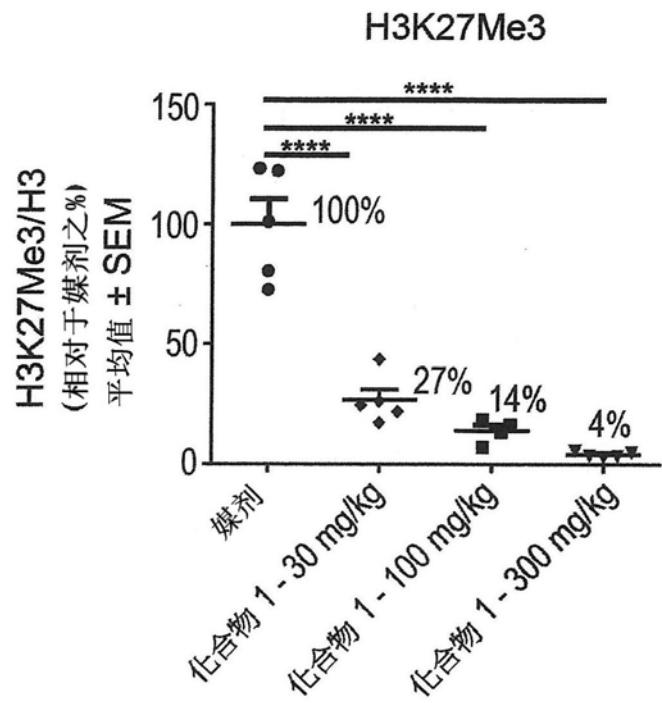


图6A

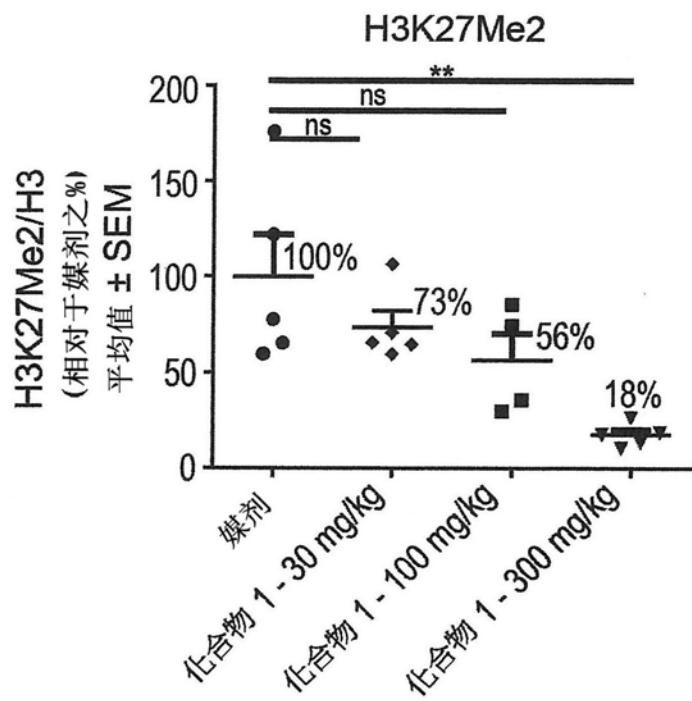
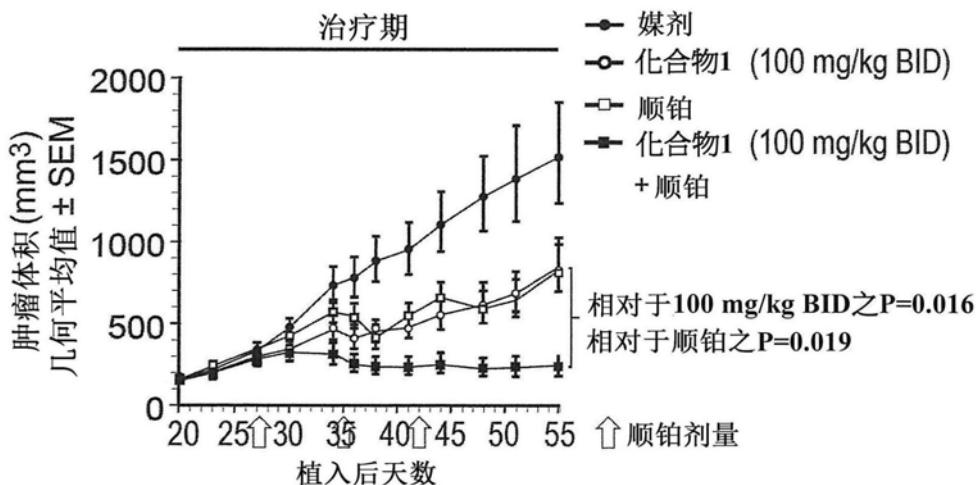


图6B



组别	剂量 $\text{mg}/\text{kg}$	时程	% TGI 第34天	% TGI 第51天	% TGI 第55天	相对于 媒剂的 第51天 $P$ 值	相对于 媒剂的 第55天 $P$ 值	N
媒剂	-	BID (7/17h)	-	-	-	-	-	8
化合物1	100	BID (7/17h)	48	58	50	0.016	0.036	10
顺铂	4	Q7Dx3	29	61	51	0.011	0.033	12
化合物1 顺铂	100 4	BID (7/17h) Q7Dx3	75	95	95	0.0003	0.0006	12

图7A

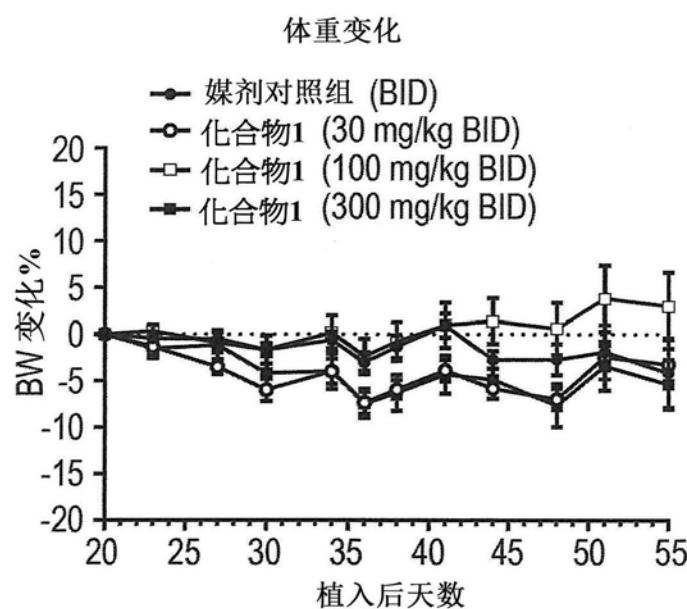


图7B

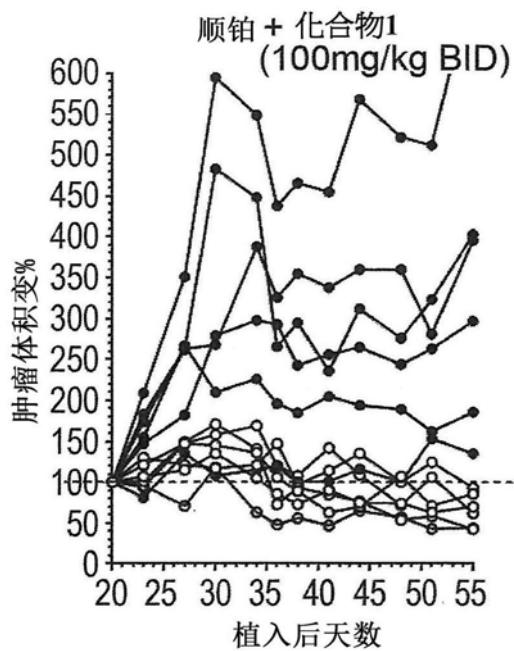


图7C

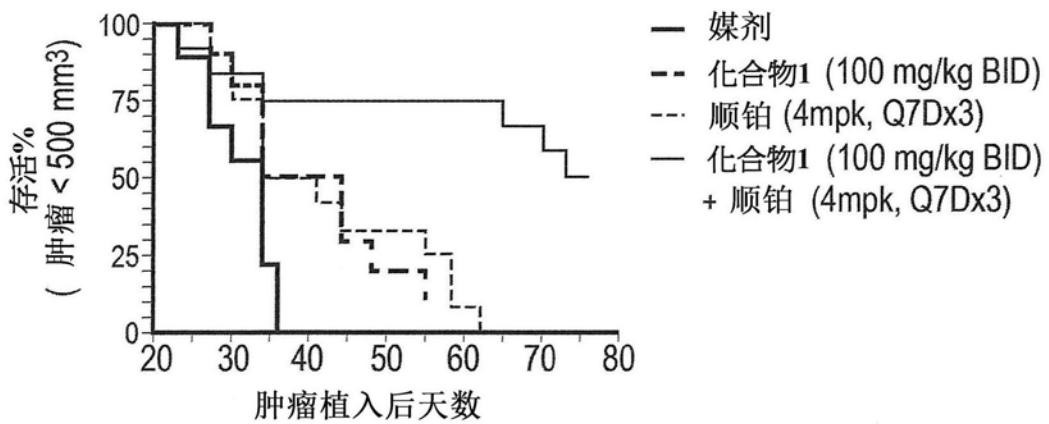


图8A

	媒剂	顺铂 (Q3Dx3)	化合物1 (100 mg/kg BID)	组合	
中位存活期	34	37.5	39	74.5	天

P-值 对数秩	媒剂	顺铂 (Q3Dx3)	化合物1 (100 mg/kg BID)	组合
媒剂		0.073	0.055	0.0054
顺铂 (Q3Dx3)			0.069	0.0008
化合物1 (100 mg/kg BID)				0.0085
组合				

图8B

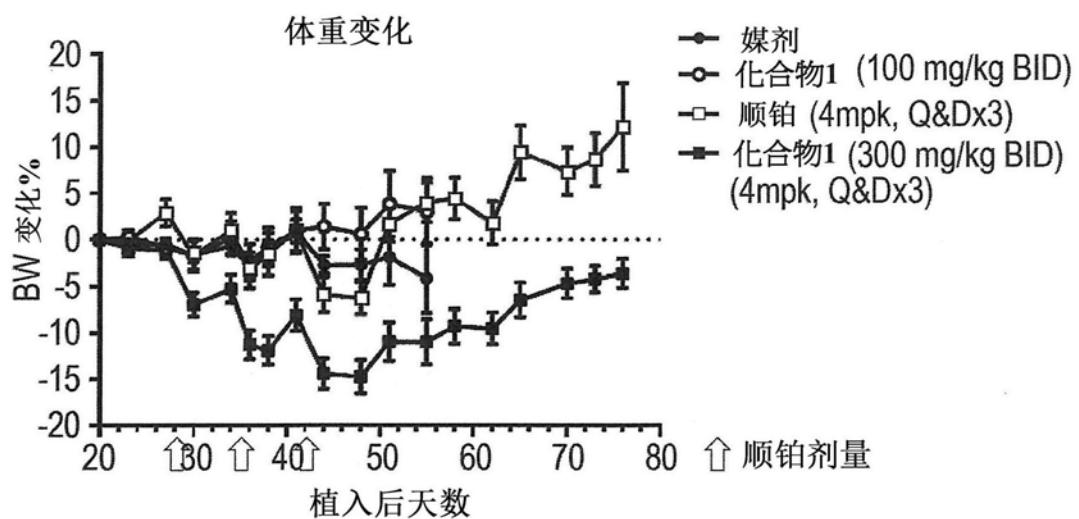


图8C

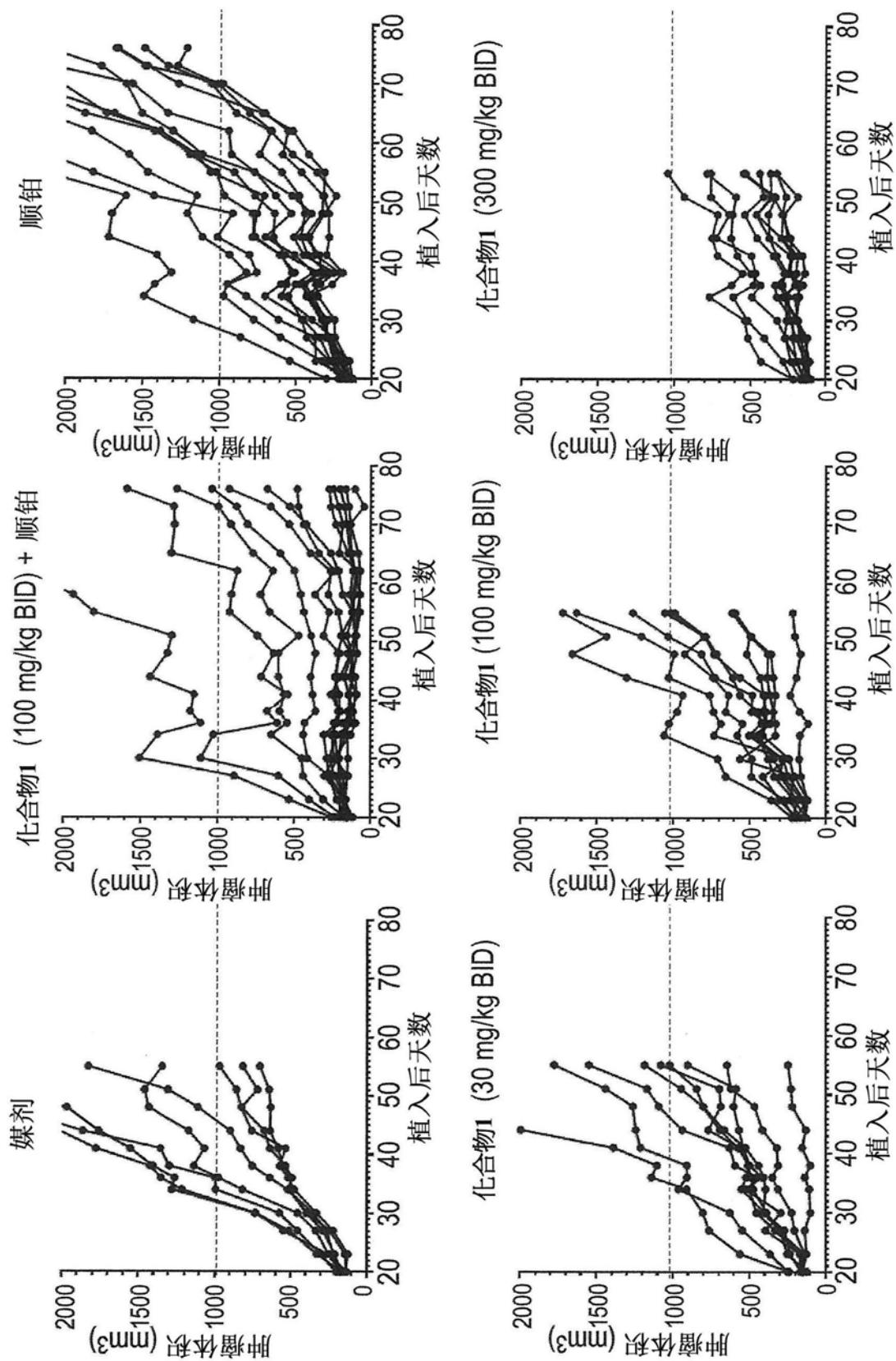


图9

NCI-H841

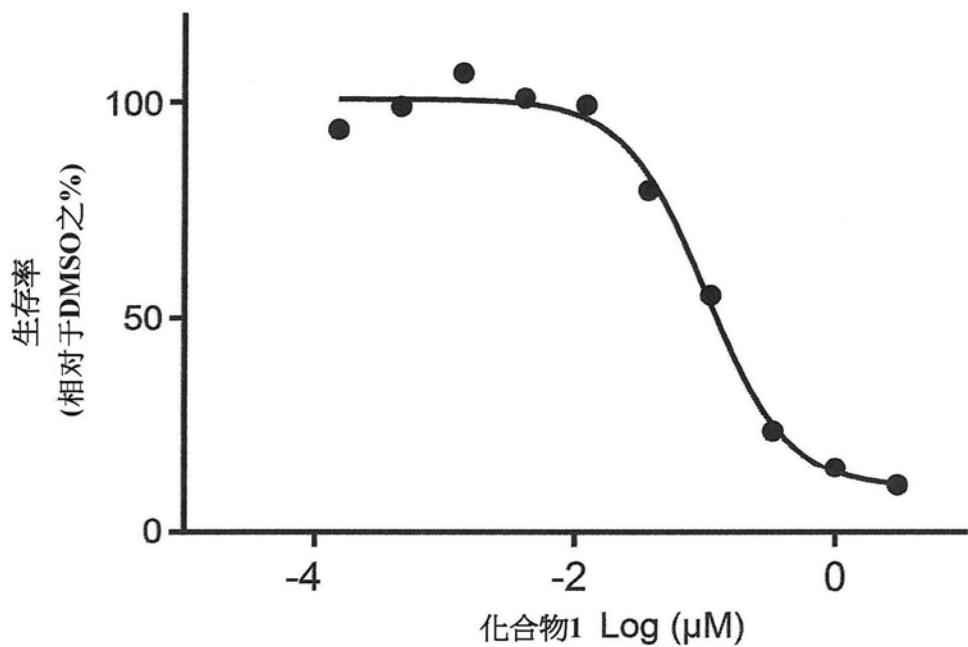


图10

NCI-H446

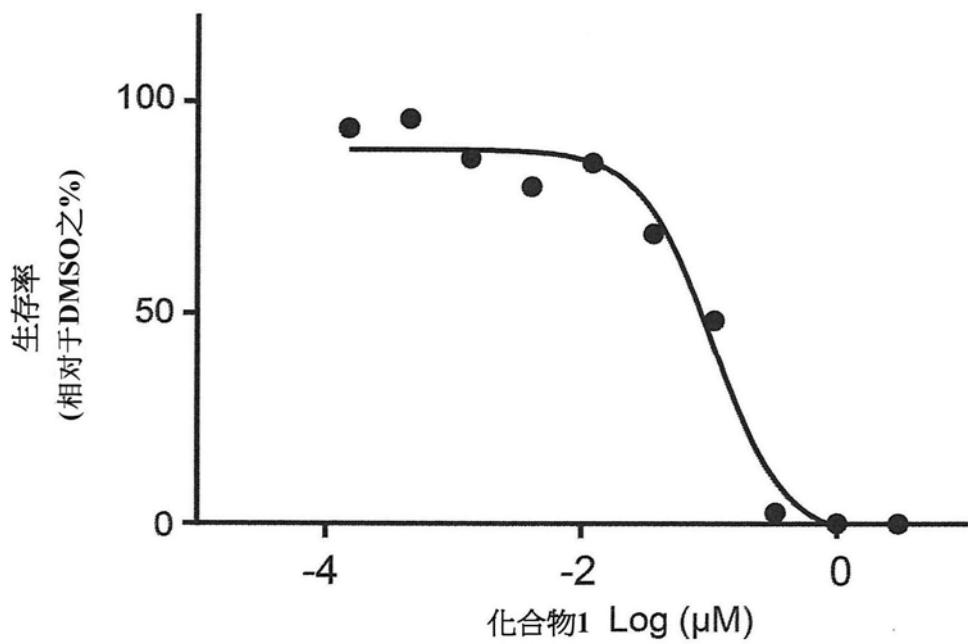


图11

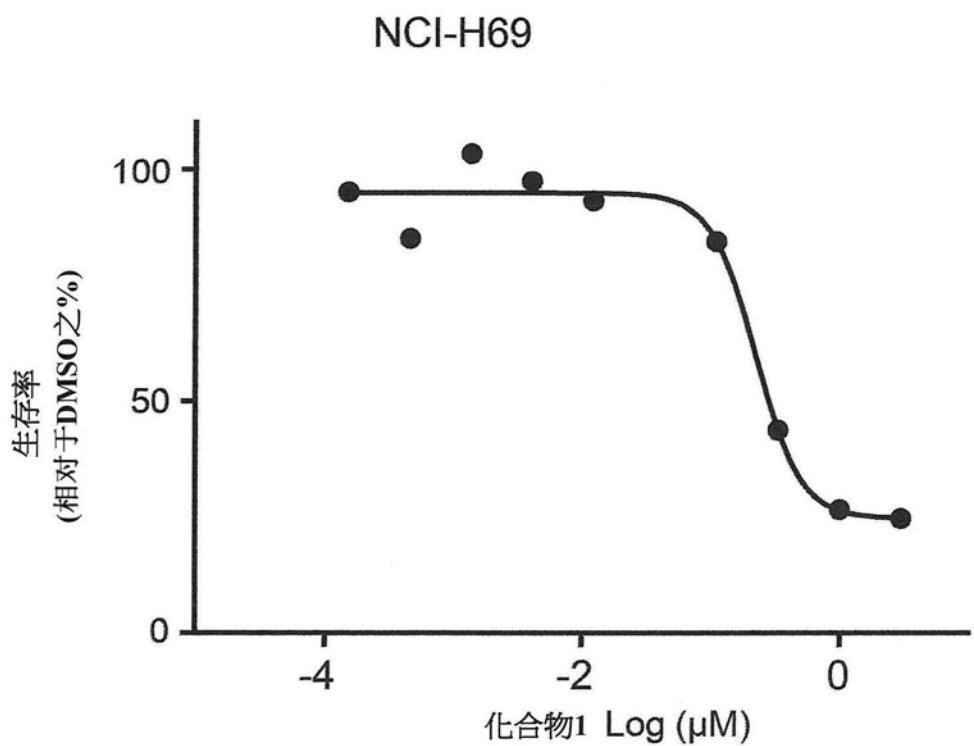


图12

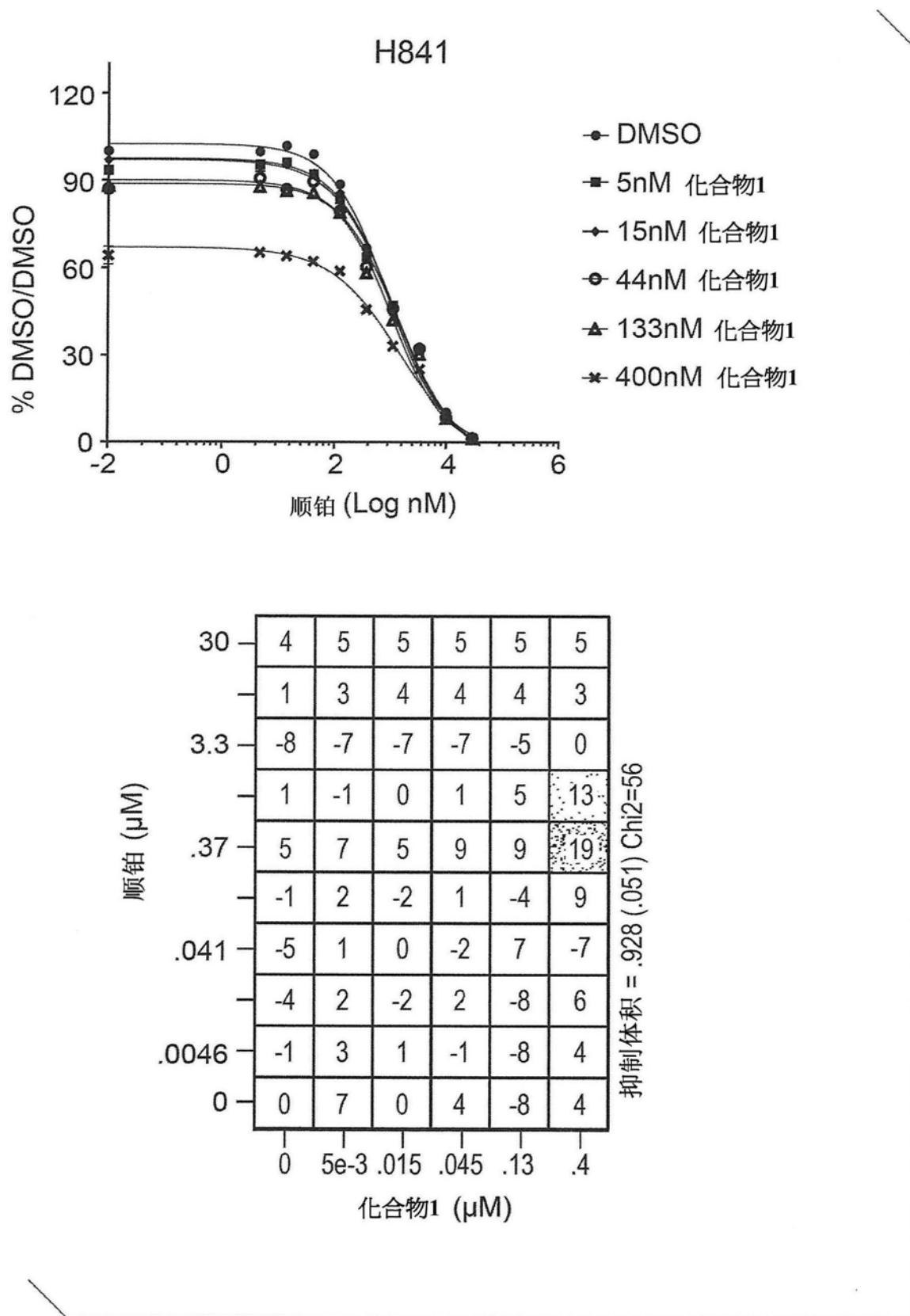


图13

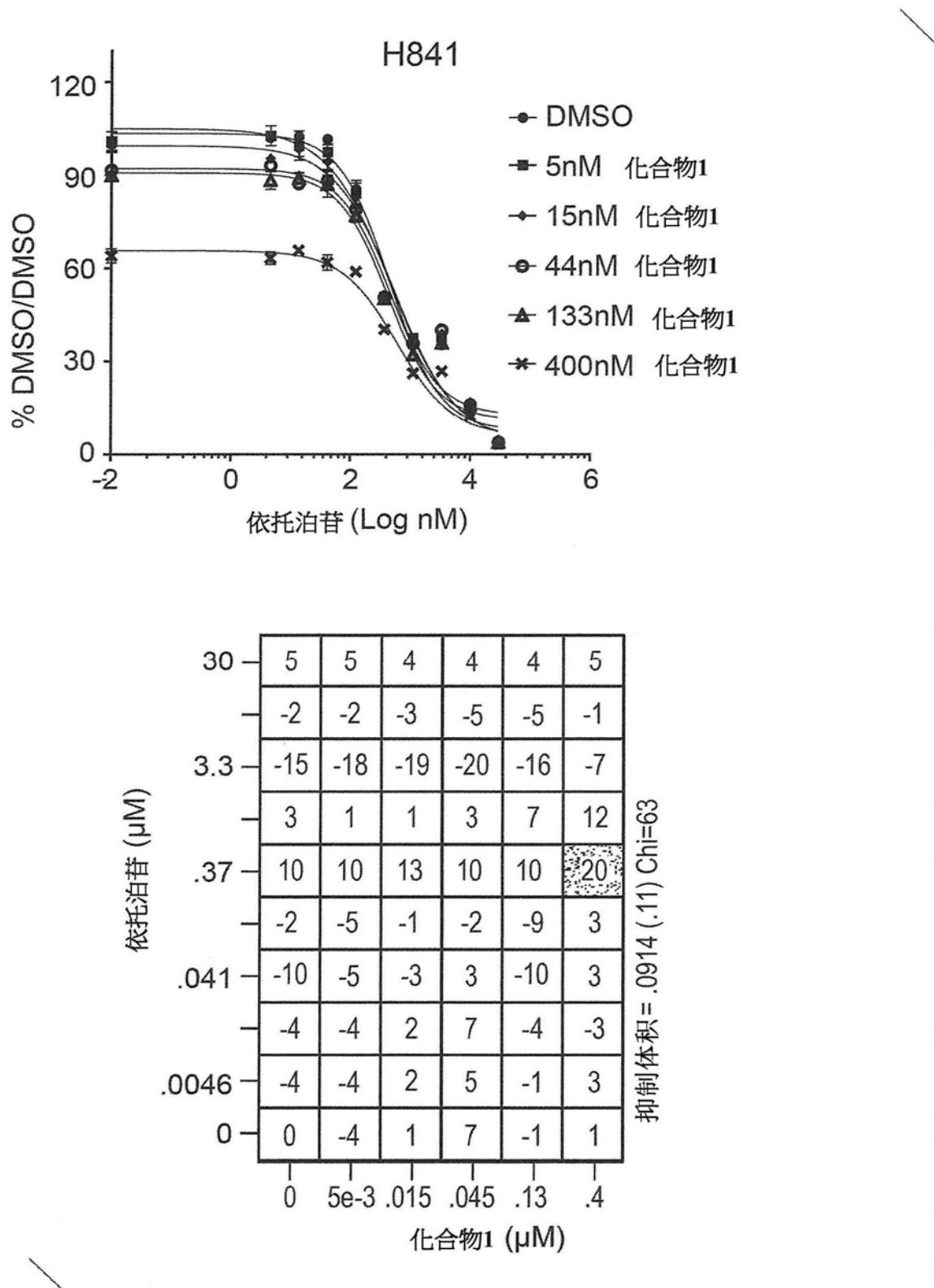


图14

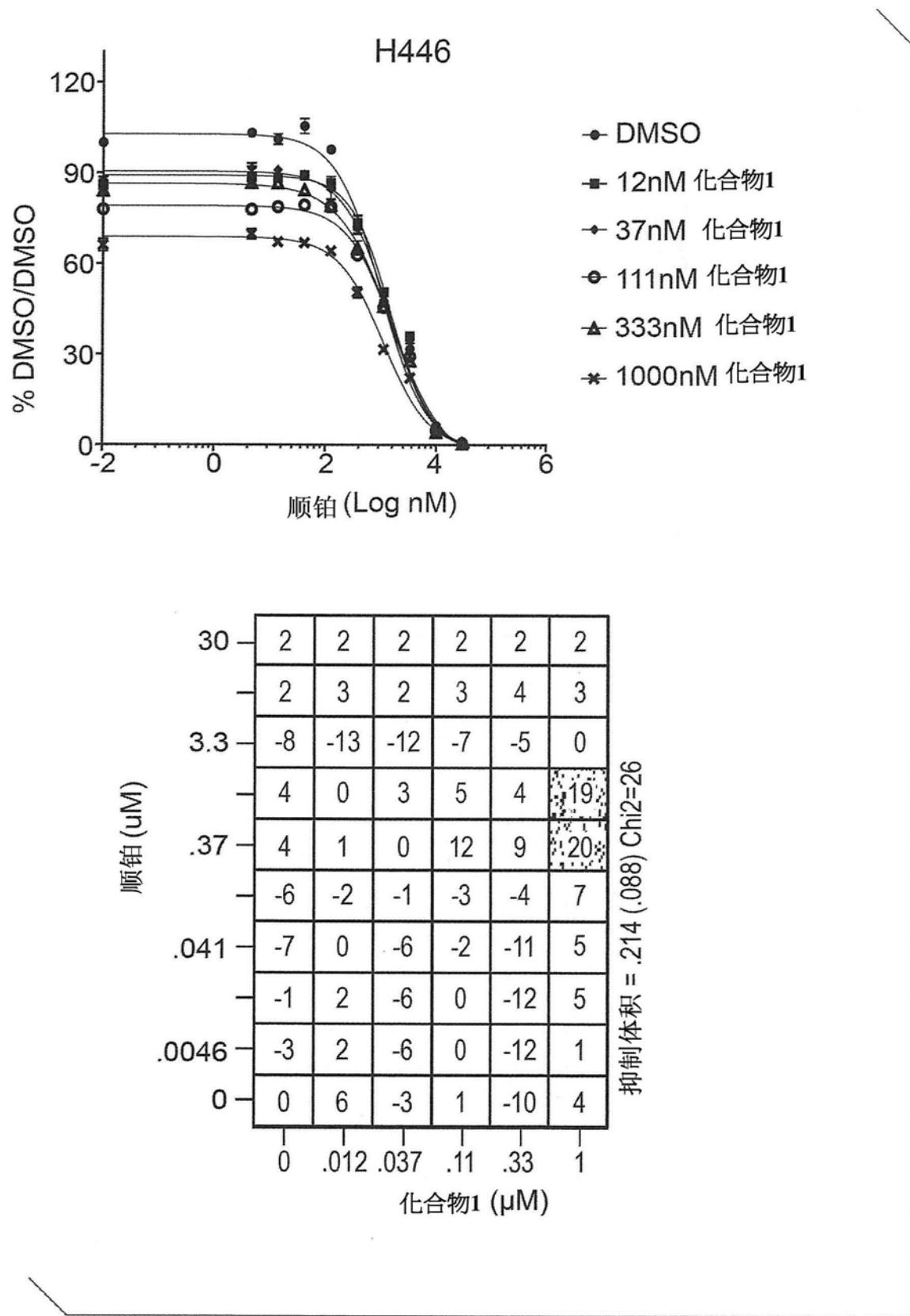


图15

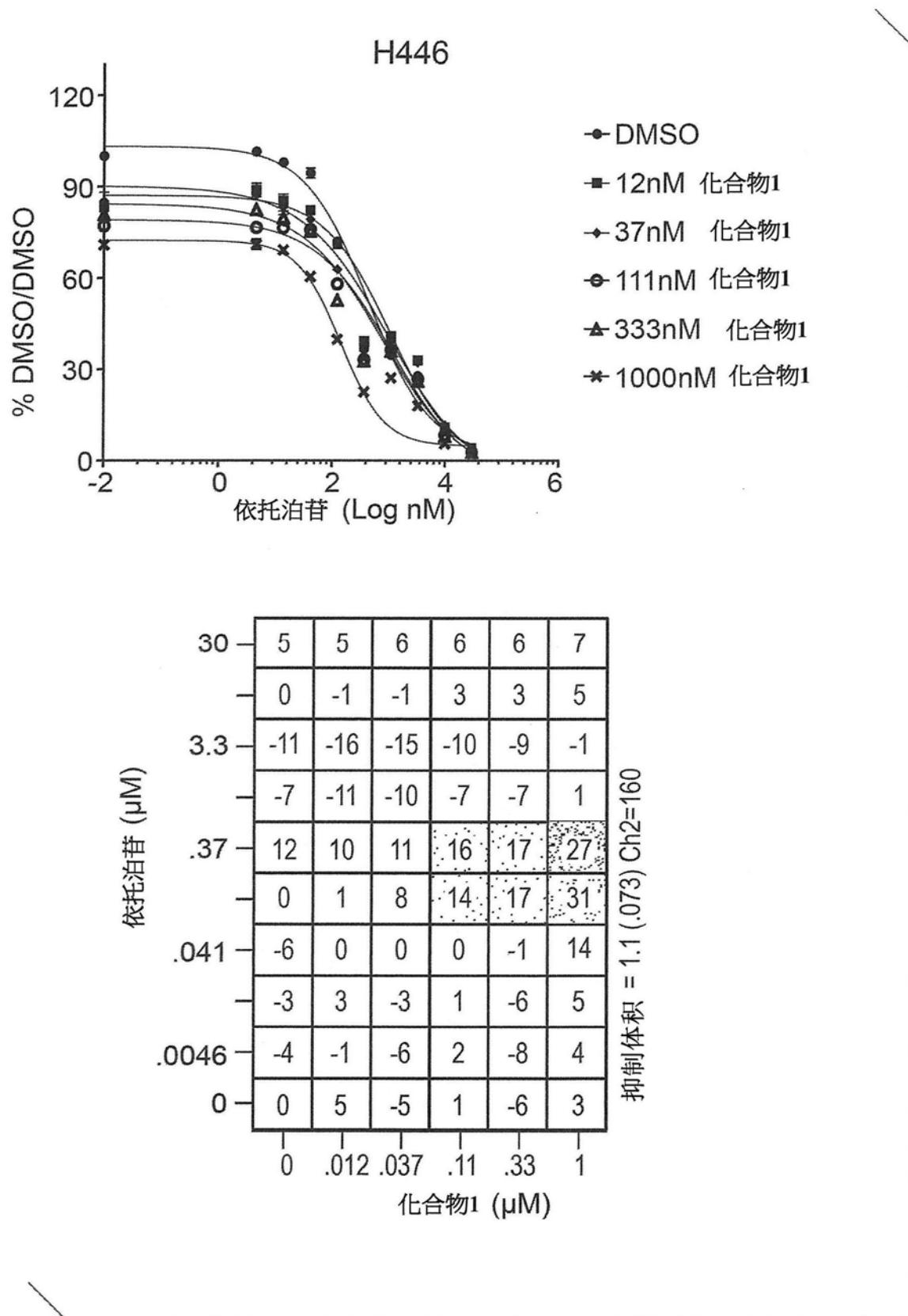


图16

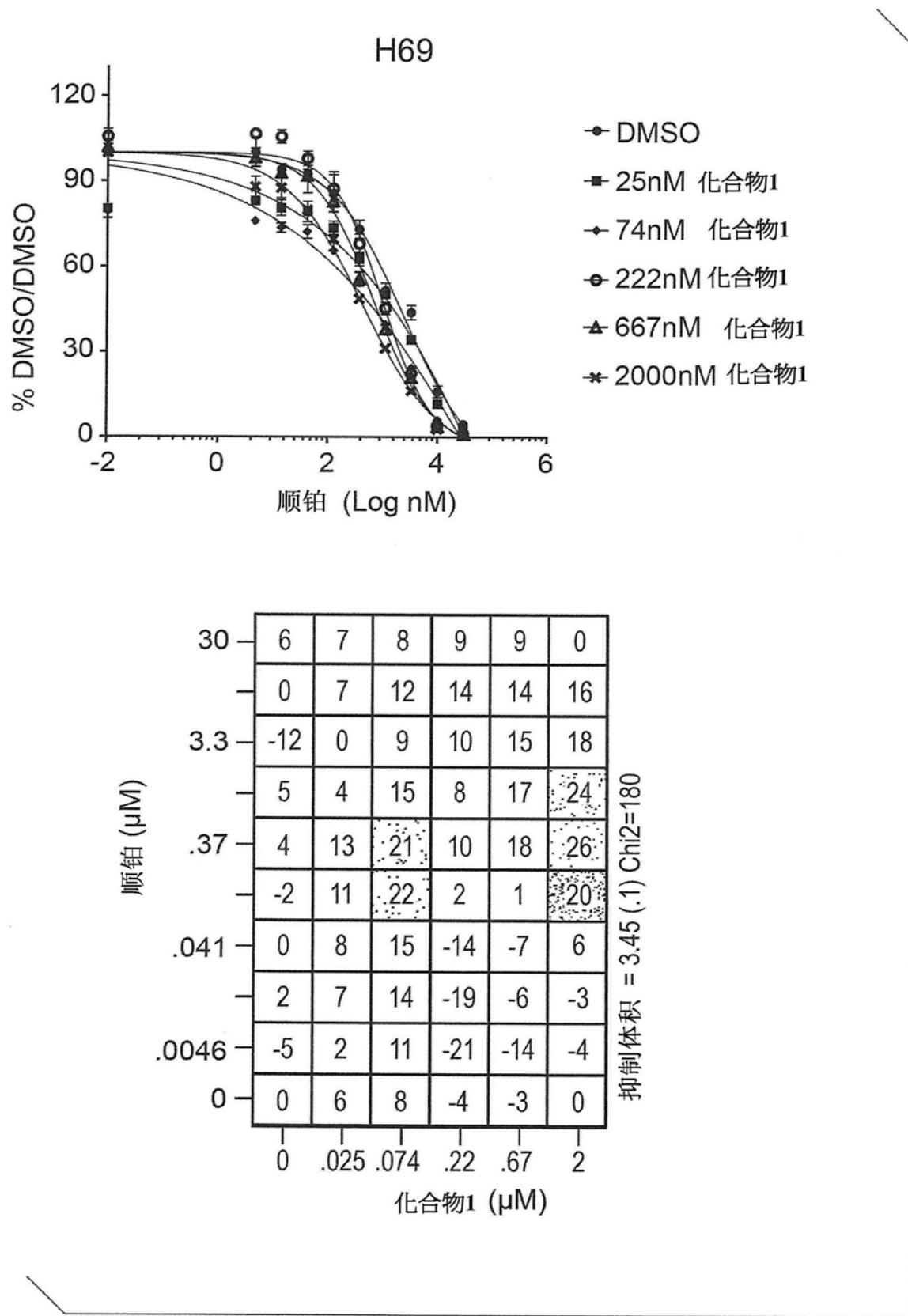


图17

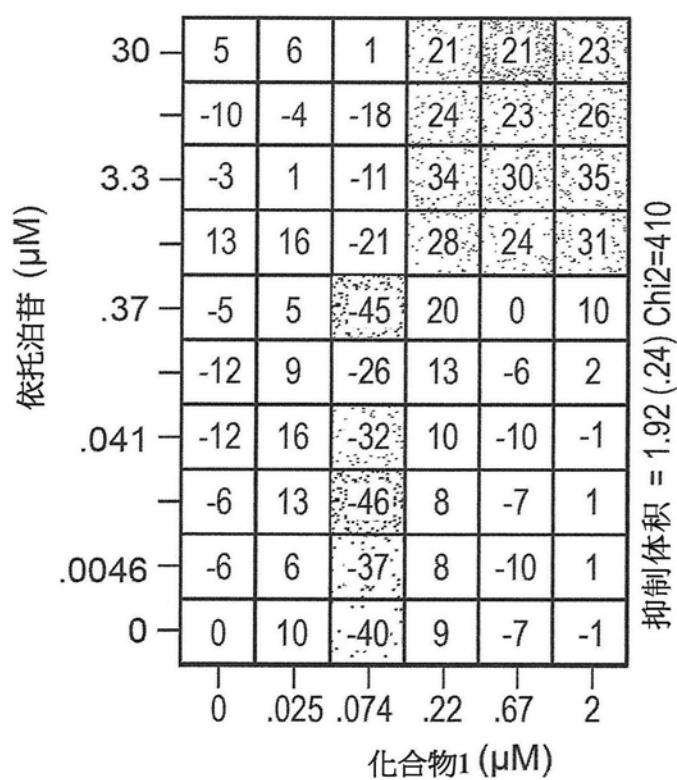
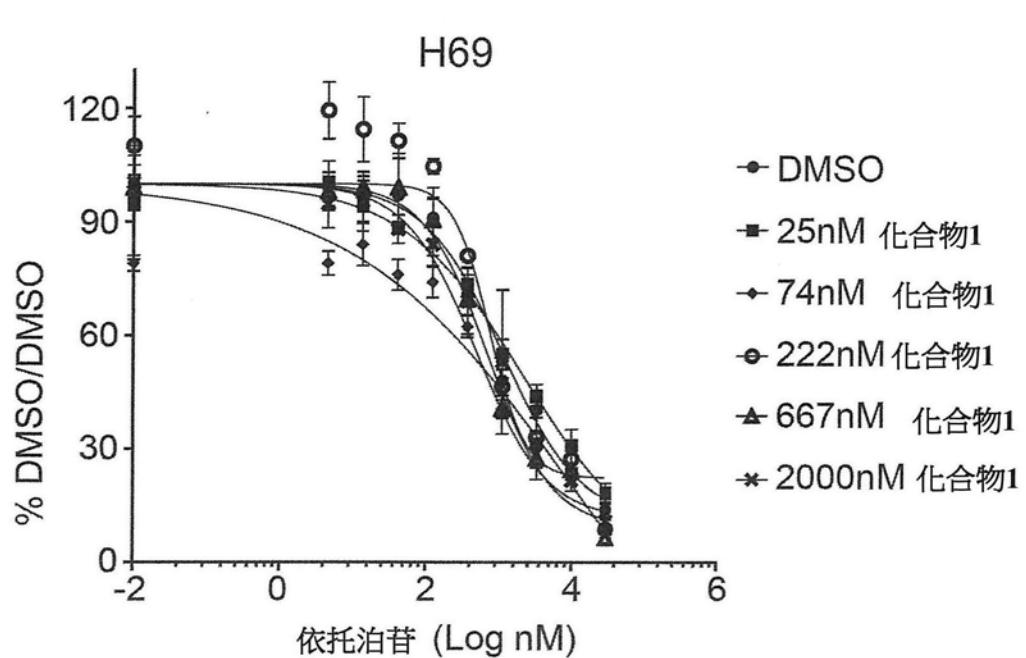


图18

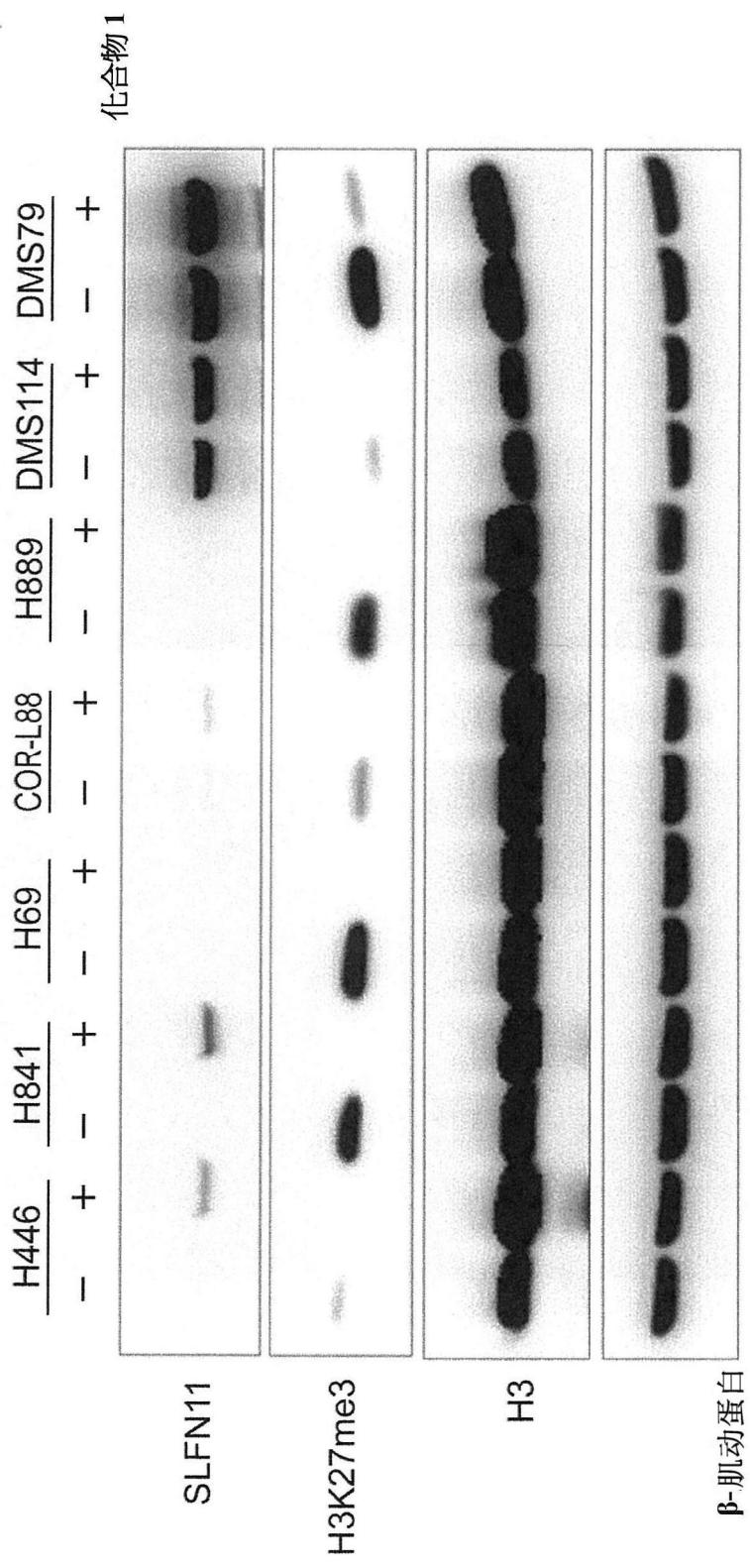


图19

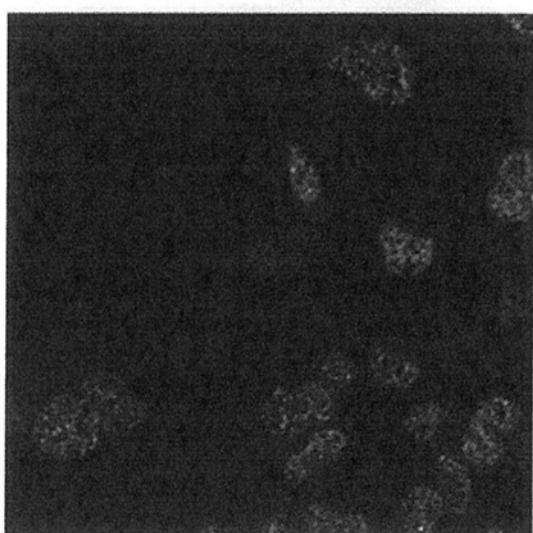
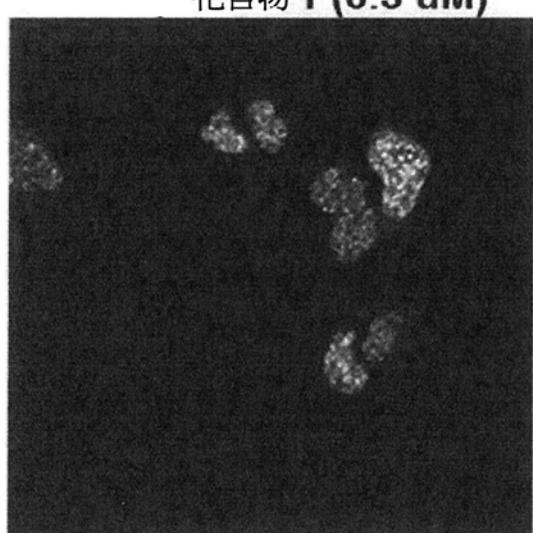
**DMSO****化合物 1 (0.3 uM)****顺铂(0.5 uM)****顺铂(0.5 uM) +  
化合物 1 (0.3 uM)**

图20

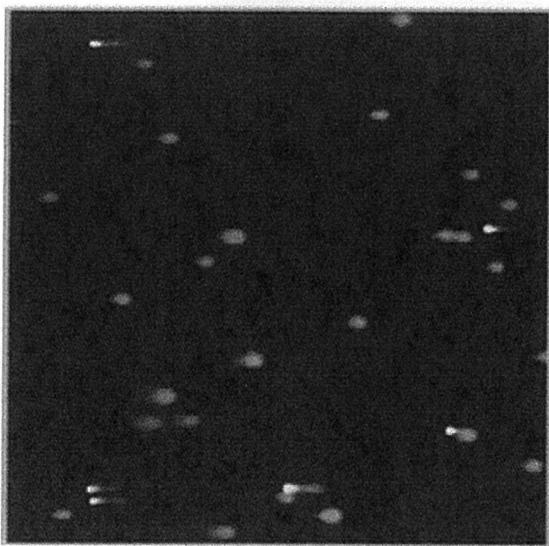
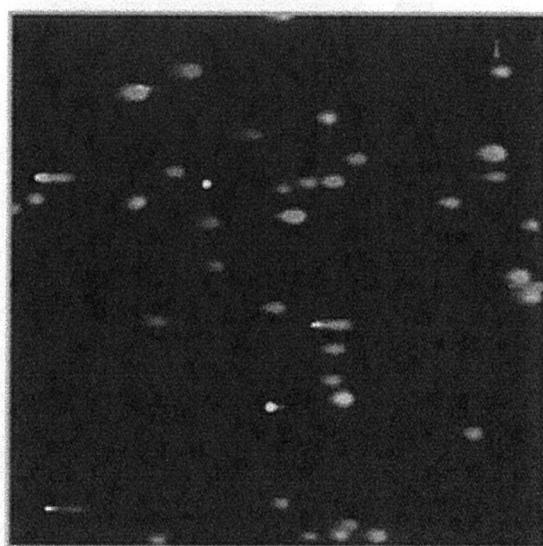
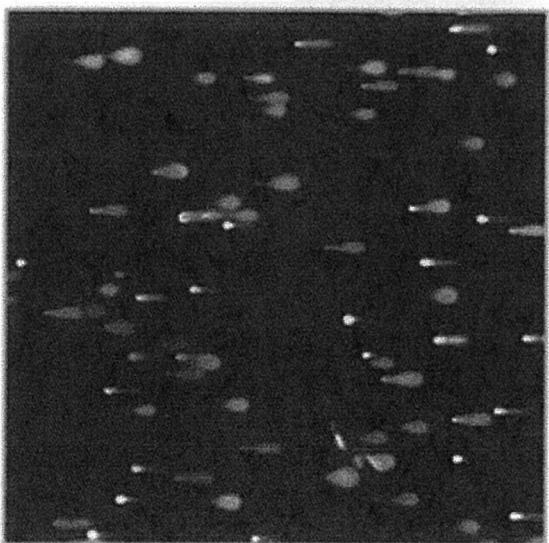
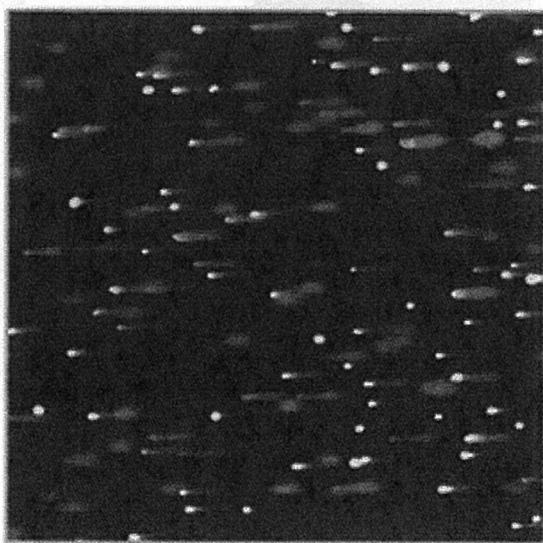
**DMSO****化合物 1 (0.3 uM)****顺铂 (0.5 uM)****顺铂 (0.5 uM) +  
化合物 1 (0.3 uM)**

图21

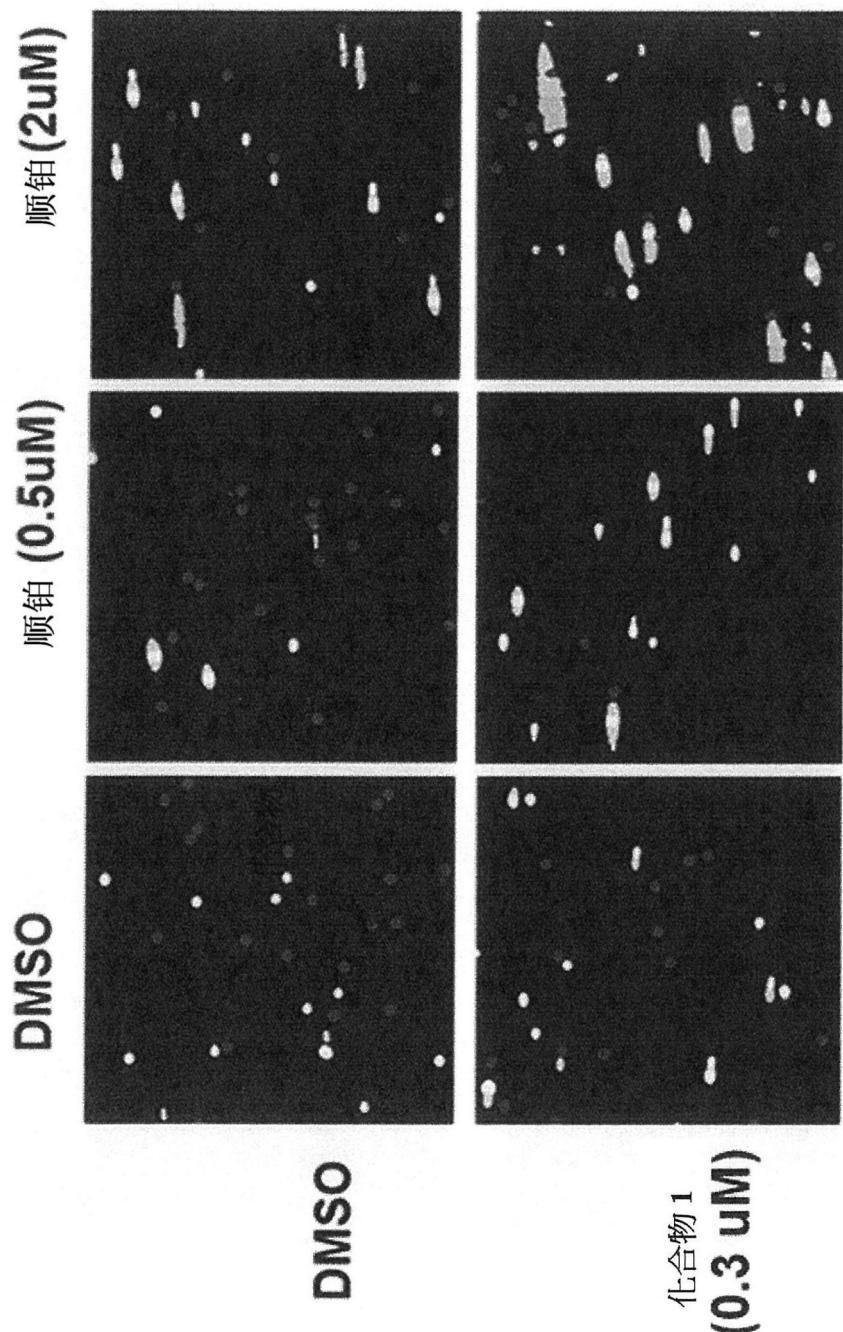


图22