

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 948 442**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/5377** (2006.01)

**A61K 31/4412** (2006.01)

**A61K 31/444** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.06.2015 PCT/US2015/036310**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2015 WO15195848**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2015 E 15809540 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.05.2023 EP 3157527**

54 Título: **Inhibidores de EZH2 para el tratamiento de linfoma**

30 Prioridad:

**17.06.2014 US 201462013522 P**

**12.08.2014 US 201462036265 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.09.2023**

73 Titular/es:

**EPIZYME, INC. (50.0%)**

**400 Technology Square, 4th Floor**

**Cambridge, MA 02139, US y**

**EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KEILHACK, HEIKE;**

**OTTESEN, LONE;**

**REYDERMAN, LARISA;**

**JOHNSTON, L. DANIELLE y**

**KNUTSON, SARAH K.**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 948 442 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Inhibidores de EZH2 para el tratamiento de linfoma

5 Antecedentes de la invención

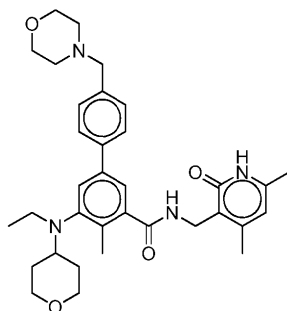
EZH2, una histona metiltransferasa, se ha asociado con varios tipos de cánceres. Específicamente, se encuentran mutaciones y/o hiperactividad de EZH2 en una variedad de cánceres, tales como linfomas, leucemias y cáncer de mama. Existe una necesidad constante de nuevos agentes como inhibidores de EZH2 para su uso en el tratamiento contra el cáncer.

El documento US 2013/0303555 A1 describe la determinación de la presencia de la mutación del gen EZH2 en una muestra de un sujeto y la inhibición de ciertas formas mutantes y de tipo silvestre de la histona metiltransferasa humana EZH2.

15 Sumario de la invención

La presente invención está definida por las reivindicaciones.

20 En un aspecto, la invención proporciona un inhibidor de EZH2 para usar en el tratamiento de un linfoma no Hodgkin (NHL) en el que el NHL es un linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) y en el que el inhibidor de EZH2 es EPZ-6438 que tiene la siguiente fórmula:



25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente descripción presenta un método para el tratamiento o la prevención del linfoma no Hodgkin (NHL) en un sujeto que lo necesite. El método incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de EZH2 a dicho sujeto.

En una realización, el NHL se selecciona de linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), un linfoma germinal derivado del centro, un linfoma derivado del centro no germinal o linfoma mediastínico primario de células B grandes (PMBCL).

35 En una realización, el NHL es un linfoma derivado del centro germinal.

En una realización, el NHL es un linfoma derivado del centro no germinal.

40 En una realización, el NHL es PMBCL.

En una realización, el NHL es un linfoma de células B de tipo silvestre con EZH2, por ejemplo, las células NHL tienen proteína EZH2 de tipo silvestre no mutada.

45 En una realización, el NHL es un linfoma de células B con EZH2 mutada, por ejemplo, las células de NHL que tienen proteína EZH2 mutante.

En ciertas realizaciones, los linfomas derivados del centro no germinal son linfomas de células B activadas (ABC).

50 En una realización, el linfoma de células B del centro no germinal es un linfoma de células B de tipo silvestre con EZH2, por ejemplo, las células de linfoma que tienen proteína EZH2 de tipo silvestre no mutada.

En otra realización, el linfoma de células B del centro no germinal es un linfoma de células B con EZH2 mutante, por ejemplo, las células de linfoma que tienen proteína EZH2 mutante.

55

En una realización, el linfoma derivado del centro germinal es un linfoma de células B de tipo silvestre con EZH2, por ejemplo, las células de linfoma que tienen proteína EZH2 de tipo silvestre no mutada.

En otra realización, el linfoma derivado del centro germinal es un linfoma de células B con EZH2 mutada, por ejemplo, las células de linfoma que tienen proteína EZH2 mutante.

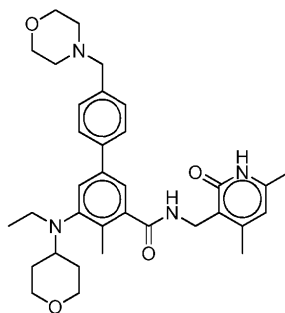
En una realización, el linfoma de células B grandes del mediastino primario (PMBCL) es un linfoma de células B de centro germinal de tipo silvestre con EZH2, por ejemplo, las células de linfoma de células B de centro germinal que tienen proteína EZH2 de tipo silvestre no mutada.

En otra realización, el linfoma de células B grandes del mediastino primario (PMBCL) es un linfoma de células B del centro germinal con EZH2 mutante, por ejemplo, las células de linfoma de células B del centro germinal tienen proteína EZH2 mutante.

En una realización, el inhibidor de EZH2 se administra por vía oral.

En una realización, el sujeto es un ser humano.

El inhibidor de EZH2 es EPZ-6438 (Tazemetostat), que tiene la siguiente fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el inhibidor de EZH2 se administra al sujeto a una dosis de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 3200 mg al día.

En una realización, el inhibidor de EZH2 se administra al sujeto a una dosis de aproximadamente 100 mg dos veces al día a aproximadamente 1600 mg dos veces al día.

En una realización, el inhibidor de EZH2 se administra al sujeto a una dosis de aproximadamente 100 mg dos veces al día, 200 mg dos veces al día, 400 mg dos veces al día, 800 mg dos veces al día o 1600 mg dos veces al día.

Cualquiera de los aspectos y realizaciones anteriores se puede combinar con cualquier otro aspecto o realización.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entienden comúnmente los expertos en la técnica a la que pertenece esta invención. En la memoria descriptiva, las formas singulares también incluyen el plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente invención, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. Las referencias citadas en el presente documento no se admiten como estado de la técnica de la invención reivindicada. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

Las características anteriores y otras se apreciarán más claramente a partir de la siguiente descripción detallada cuando se toma junto con los dibujos adjuntos.

La Figura 1 muestra el resumen del primer ensayo de fase 1 en humanos con Tazemetostat (EPZ-6438) E7438-G000-001 (NCT01897571).

La Figura 2 muestra los tipos de tumores de los pacientes.

La Figura 3 muestra los datos demográficos de los pacientes con NHL.

La Figura 4 muestra la farmacocinética de Tazemetostat (EPZ-6438).

La Figura 5 muestra la PK-PD: inhibición de EZH2 en tejido sustituto.

La Figura 6 muestra los eventos adversos del ensayo.

La Figura 7 muestra las mejores respuestas generales en pacientes con NHL.

5 La Figura 8 muestra la actividad de la lesión diana.

La Figura 9 muestra la CR (respuesta completa) en el linfoma primario de células B del mediastino.

La Figura 10 muestra la CR en linfoma folicular con EZH2 de tipo silvestre.

La Figura 11 muestra la respuesta en DLBCL con linfoma con EZH2 mutante (Y646H).

## 10 Descripción detallada de la invención

EZH2 es una histona metiltransferasa que es la subunidad catalítica del complejo PRC2 que cataliza la monometilación a trimetilación de lisina 27 en la histona H3 (H3-K27). La trimetilación de la histona H3-K27 es un mecanismo para suprimir la transcripción de genes específicos próximos al sitio de modificación de la histona. Se sabe que esta trimetilación es un marcador de cáncer con expresión alterada en cáncer, tal como el cáncer de próstata (véase, por ejemplo, la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos n.º 2003/0175736). Otros estudios proporcionaron evidencia de un vínculo funcional entre la expresión desregulada de EZH2, la represión transcripcional y la transformación neoplásica. Varambally et al. (2002) *Nature* 419(6907):624-9. Kleer et al. (2003) *Proc Natl Acad Sci USA* 100(20):11606-11.

La actividad de metilación de EZH2 juega un papel importante en la regulación y activación de las células B del centro germinal. Los niveles de proteína EZH2 aumentan después de la activación de las células B. Después de la activación, las células B se instalan en el centro germinal de los órganos linfoides, en donde se produce una hipermutación somática, un proceso asociado con la represión de genes antiapoptóticos y reguladores de puntos de control. Los eventos de metilación de EZH2 se dirigen a genes que están involucrados en la proliferación, diferenciación y maduración de células B, incluidos CDKN1A (juega un papel en la proliferación celular), PRDM1 (juega un papel en la diferenciación de células B) e IRF4 (juega un papel en la diferenciación de células B).

Después de la maduración y salida de las células B del centro germinal, hay una reducción de los niveles de EZH2 dentro de las células B. Sin embargo, la presencia y actividad de EZH2 después de la maduración de las células B está asociada con varios tipos de linfomas, incluido el linfoma de células B del centro germinal, entre otros.

La activación aberrante o mala regulación de EZH2 se encuentra en muchos subtipos comunes de linfoma no Hodgkin (NHL): linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma difuso de células B grandes similar a las células B del centro germinal (DLBCL GCB), linfoma difuso de células B grandes similar a las células B del centro no germinal, incluido el linfoma de células B activadas (DLBCL ABC), linfoma de Burkitt y otros subtipos de linfoma no Hodgkin. La activación aberrante o la mala regulación de EZH2 también se encuentra en el linfoma folicular (FL), el linfoma de células B grandes del mediastino primario (PMBCL) y el linfoma de la zona marginal (MZL).

Las alteraciones genéticas dentro del gen EZH2 están asociadas con patrones de metilación de histonas alterados. Las mutaciones de EZH2 que conducen a la conversión del aminoácido Y641 (equivalente a Y646, dominio catalítico) en F, N, H, S o C dan como resultado la hipertrimetilación de H3K27 e impulsan la linfomagénesis. Las alteraciones genéticas adicionales que afectan la metilación de H3K27 incluyen mutaciones en el dominio SET de EZH2, sobreexpresión de EZH2, sobreexpresión de otras subunidades de PRC2, mutaciones de pérdida de función de histona acetiltransferasas (HAT) y pérdida de función de MLL2. Las células que son heterocigotas para las mutaciones Y646 de EZH2 dan como resultado una hipertrimetilación de H3K27 en relación con las células que son homocigotas de tipo silvestre (WT) para la proteína EZH2 o con las células que son homocigotas para la mutación Y646.

Un aspecto de la presente invención se refiere al tratamiento o alivio de un síntoma de un NHL en un sujeto que lo necesite mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de EZH2. Un aspecto de la presente invención se refiere al tratamiento o alivio de un síntoma de NHL en un sujeto que lo necesite mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de EZH2. Otro aspecto de la presente invención se refiere al tratamiento o alivio de un síntoma de DLBCL GCB en un sujeto que lo necesite mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de EZH2. En otro aspecto más, la presente invención se refiere al tratamiento o alivio de un síntoma de PMBCL en un sujeto que lo necesita mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de EZH2. El sujeto adecuado para el tratamiento descrito en el presente documento puede expresar un EZH2 mutante o un EZH2 de tipo silvestre o tiene una mutación en el gen EZH2 o tiene un gen EZH2 de tipo silvestre.

Como se describe en el presente documento, la inhibición de la actividad de EZH2 anula significativamente la división de las células malignas.

En una realización, el inhibidor de EZH2 se administra por vía oral.

En una realización, el sujeto es un ser humano.

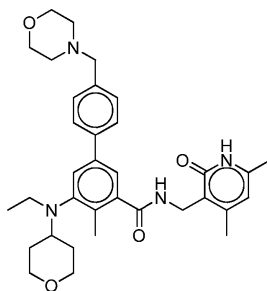
La divulgación también se refiere a métodos para detectar niveles de metilación de histonas, por ejemplo, trimetilación de H3K27, en una biopsia de piel. La metilación de histonas se detecta antes del inicio del tratamiento, mientras el sujeto está recibiendo tratamiento y/o después de que ha concluido el tratamiento.

La EZH2 mutante descrita en el presente documento se refiere a un polipéptido EZH2 mutante o una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido EZH2 mutante. En ciertas realizaciones, la EZH2 mutante comprende una o más mutaciones en su dominio de bolsillo de sustrato. Por ejemplo, la mutación puede ser una sustitución, una mutación puntual, una mutación sin sentido, una mutación sin sentido, una eliminación o una inserción. Los métodos para detectar mutaciones de EZH2 se han descrito en los documentos PCT/US11/051258, PCT/US13/030565 y US20150099747.

Para los fines de esta solicitud, un mutante Y641 de EZH2 humana y, de manera equivalente, un mutante Y641 de EZH2, debe entenderse que se refiere a una EZH2 humana en la que el residuo de aminoácido correspondiente a Y641 de EZH2 humana de tipo silvestre se sustituye por un residuo de aminoácido que no sea tirosina.

Los compuestos adecuados para los métodos divulgados en el presente documento se describen en las publicaciones estadounidenses 20120264734 y 20140107122. Los compuestos son adecuados para la administración como parte de una terapia de combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos o modalidad de tratamiento, adecuados para administrarse juntos, secuencialmente o alternativamente.

Un compuesto adecuado para los métodos divulgados en el presente documento es EPZ-6438 (Tazemetostat):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

EPZ-6438 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en el presente documento, es potente para dirigirse tanto a EZH2 mutante como a WT. EPZ-6438 está biodisponible por vía oral y tiene una alta selectividad para EZH2 en comparación con otras histonas metiltransferasas (es decir, >20,000 veces la selectividad por Ki). Es importante destacar que EPZ-6438 tiene una inhibición de la marca de metilo objetivo que resulta en la destrucción *in vitro* de células cancerosas definidas genéticamente. Los modelos animales también han mostrado una eficacia sostenida *in vivo* después de la inhibición de la marca de metilo objetivo. Los resultados de los ensayos clínicos descritos en el presente documento también demuestran la seguridad y eficacia de EPZ-6438.

En una realización, EPZ-6438 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se administra al sujeto a una dosis de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 3200 mg al día, tal como aproximadamente 100 mg dos veces al día a aproximadamente 1600 mg dos veces al día (por ejemplo, 100 mg dos veces al día, 200 mg dos veces al día, 400 mg dos veces al día, 800 mg dos veces al día o 1600 mg dos veces al día), para tratar un NHL. En una realización, la dosis es de 800 mg dos veces al día.

En una realización, el compuesto divulgado en el presente documento es el propio compuesto, es decir, la base libre o molécula "desnuda". En otra realización, el compuesto es una de sus sales, por ejemplo, una sal mono-HCl o tri-HCl, una sal mono-HBr o tri-HBr de la molécula desnuda.

Los compuestos divulgados en el presente documento que contienen nitrógeno se pueden convertir en N-óxidos mediante el tratamiento con un agente oxidante (p. ej., ácido 3-cloroperoxibenzoico (mCPBA) y/o peróxidos de hidrógeno) para producir otros compuestos adecuados para cualquiera de los métodos divulgados en el presente documento. Por lo tanto, se considera que todos los compuestos que contienen nitrógeno mostrados y reivindicados, cuando lo permiten la valencia y la estructura, incluyen tanto el compuesto como se muestra y su derivado de N-óxido (que puede designarse como N→O o N<sup>+</sup>-O<sup>-</sup>). Además, en otros casos, los nitrógenos en los compuestos divulgados en el presente documento se pueden convertir en compuestos N-hidroxi o N-alcoxi. Por ejemplo, los compuestos N-hidroxi pueden prepararse por oxidación de la amina original con un agente oxidante tal como m-CPBA. Todos los compuestos que contienen nitrógeno mostrados y reivindicados también se consideran, cuando lo permiten la valencia y la estructura, que cubren tanto el compuesto como se muestra como sus derivados N-hidroxi (es decir, N-OH) y N-alcoxi (es decir, N-OR, en el que R es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, carbociclo de 3-14 miembros o heterociclo de 3-14 miembros sustituido o no sustituido).

"Isomerismo" significa compuestos que tienen fórmulas moleculares idénticas pero difieren en la secuencia de enlace de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros". Los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí se denominan "diastereoisómeros", y los estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí se denominan "enantiómeros" o, a veces, isómeros ópticos. Una mezcla que contiene cantidades iguales de formas enantioméricas individuales de quiralidad opuesta se denomina "mezcla racémica".

Un átomo de carbono unido a cuatro sustituyentes no idénticos se denomina "centro quiral".

"Isómero quiral" significa un compuesto con al menos un centro quiral. Los compuestos con más de un centro quiral pueden existir como un diastereoisómero individual o como una mezcla de diastereoisómeros, denominada "mezcla de diastereoisómeros". Cuando está presente un centro quiral, un estereoisómero puede caracterizarse por la configuración absoluta (R o S) de ese centro quiral. La configuración absoluta se refiere a la disposición en el espacio de los sustituyentes unidos al centro quiral. Los sustituyentes unidos al centro quiral en consideración se clasifican de acuerdo con la regla de secuencia de Cahn, Ingold y Prelog. (Cahn et al., Angew. Chem. Inter. Edit. 1966, 5, 385; fe de erratas 511; Cahn et al., Angew. Chem. 1966, 78, 413; Cahn e Ingold, J. Chem. Soc. 1951 ( London), 612; Cahn et al., Experientia 1956, 12, 81; Cahn, J. Chem. Educ. 1964, 41, 116).

"Isómero geométrico" significa los diastereómeros que deben su existencia a la rotación impedida alrededor de los dobles enlaces o un enlazador de cicloalquilo (p. ej., 1,3-ciclobutilo). Estas configuraciones se diferencian en sus nombres por los prefijos cis y trans, o Z y E, que indican que los grupos están en el mismo lado o en el lado opuesto del doble enlace en la molécula según las reglas de Cahn-Ingold-Prelog.

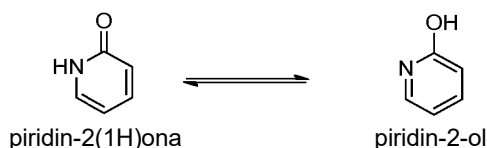
Debe entenderse que los compuestos divulgados en el presente documento pueden representarse como diferentes isómeros quirales o isómeros geométricos. También debe entenderse que cuando los compuestos tienen formas quirales isoméricas o isoméricas geométricas, se pretende que todas las formas isoméricas estén incluidas en el alcance de la divulgación, y la denominación de los compuestos no excluye ninguna forma isomérica.

Además, las estructuras y otros compuestos discutidos en esta invención incluyen todos sus isómeros atropicos. Los "isómeros atropicos" son un tipo de estereoisómero en el que los átomos de dos isómeros están dispuestos de manera diferente en el espacio. Los isómeros atropicos deben su existencia a una rotación restringida provocada por el impedimento de la rotación de grandes grupos alrededor de un enlace central. Dichos isómeros atropicos existen típicamente como una mezcla; sin embargo, como resultado de los avances recientes en las técnicas de cromatografía, ha sido posible separar mezclas de dos isómeros atropicos en casos seleccionados.

El "tautómero" es uno de dos o más isómeros estructurales que existen en equilibrio y se convierte fácilmente de una forma isomérica a otra. Esta conversión da como resultado la migración formal de un átomo de hidrógeno acompañada de un cambio de dobles enlaces conjugados adyacentes. Los tautómeros existen como una mezcla de un conjunto tautomérico en solución. En soluciones donde es posible la tautomerización, se alcanzará un equilibrio químico de los tautómeros. La proporción exacta de los tautómeros depende de varios factores, incluidos la temperatura, el disolvente y el pH. El concepto de tautómeros que son interconvertibles por tautomerizaciones se llama tautomerismo.

De los diversos tipos de tautomerismo que son posibles, se observan comúnmente dos. En el tautomerismo de ceto-enol se produce un desplazamiento simultáneo de electrones y un átomo de hidrógeno. El tautomerismo de la cadena en anillo surge como resultado del grupo aldehído (-CHO) en una molécula de cadena de azúcar que reacciona con uno de los grupos hidroxilo (-OH) en la misma molécula para darle una forma cíclica (en forma de anillo) como la que exhibe la glucosa.

Los pares tautoméricos comunes son: cetona-enol, amida-nitrilo, lactama-lactima, tautomerismo de amida-ácido imídico en anillos heterocíclicos (p. ej., en nucleobases tales como guanina, timina y citosina), imina-enamina y enamina-enamina. Un ejemplo de equilibrio de ceto-enol es entre piridin-2(1H)-onas y los correspondientes piridin-2-oles, como se muestra a continuación.



Debe entenderse que los compuestos divulgados en el presente documento pueden representarse como diferentes tautómeros. También debe entenderse que cuando los compuestos tienen formas tautoméricas, se pretende que todas las formas tautoméricas se incluyan en el alcance de la divulgación, y la denominación de los compuestos no excluye ninguna forma tautómera.

Los compuestos divulgados en el presente documento incluyen los propios compuestos, así como sus sales y sus solvatos, si procede. Se puede formar una sal, por ejemplo, entre un anión y un grupo cargado positivamente (por ejemplo, amino) en un compuesto de benceno sustituido con arilo o heteroarilo. Los aniones adecuados incluyen cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, bisulfato, sulfamato, nitrato, fosfato, citrato, metanosulfonato, trifluoroacetato, glutamato, glucuronato, glutarato, malato, maleato, succinato, fumarato, tartrato, tosilato, salicilato, lactato, naftalenosulfonato y acetato (por ejemplo, trifluoroacetato). El término "anión farmacéuticamente aceptable" se refiere a un anión adecuado para formar una sal farmacéuticamente aceptable. Del mismo modo, también se puede formar una sal entre un catión y un grupo cargado negativamente (p. ej., carboxilato) en un compuesto de benceno sustituido con arilo o heteroarilo. Los cationes adecuados incluyen ion de sodio, ion de potasio, ion de magnesio, ion de calcio y un catión de amonio tal como ion de tetrametilamonio. Los compuestos de benceno sustituidos con arilo o heteroarilo también incluyen aquellas sales que contienen átomos de nitrógeno cuaternario. En forma de sal, se entiende que la proporción del compuesto con respecto al catión o anión de la sal puede ser 1:1, o cualquier proporción distinta de 1:1, p. ej., 3:1, 2:1, 1:2, o 1:3.

Además, los compuestos divulgados en el presente documento, por ejemplo, las sales de los compuestos, pueden existir en forma hidratada o sin hidratar (la anhidra) o como solvatos con otras moléculas de disolvente. Los ejemplos no limitantes de hidratos incluyen monohidratos, dihidratos, etc. Los ejemplos no limitantes de solvatos incluyen solvatos de etanol, solvatos de acetona, etc.

"Solvato" significa formas de adición de disolvente que contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de disolvente. Algunos compuestos tienen tendencia a atrapar una proporción molar fija de moléculas de disolvente en estado sólido cristalino, formando así un solvato. Si el disolvente es agua, el solvato formado es un hidrato; y si el disolvente es alcohol, el solvato formado es un alcoholato. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una molécula de la sustancia en la que el agua conserva su estado molecular como H<sub>2</sub>O.

Como se usa en el presente documento, el término "análogo" se refiere a un compuesto químico que es estructuralmente similar a otro pero difiere ligeramente en composición (como en el reemplazo de un átomo por un átomo de un elemento diferente o en presencia de un grupo funcional particular, o el reemplazo de un grupo funcional por otro grupo funcional). Por lo tanto, un análogo es un compuesto que es similar o comparable en función y apariencia, pero no en estructura u origen al compuesto de referencia.

Como se define en el presente documento, el término "derivado" se refiere a compuestos que tienen una estructura de núcleo común y están sustituidos con varios grupos como se describe en el presente documento. Por ejemplo, todos los compuestos representados por la fórmula (I) son compuestos de benceno sustituidos con arilo o heteroarilo y tienen la fórmula (I) como núcleo común.

El término "bioisótero" se refiere a un compuesto resultante del intercambio de un átomo o de un grupo de átomos con otro átomo o grupo de átomos, ampliamente similar. El objetivo de un reemplazo bioisotérico es crear un nuevo compuesto con propiedades biológicas similares al compuesto original. El reemplazo bioisotérico puede tener una base fisicoquímica o topológica. Los ejemplos de bioisóteros de ácido carboxílico incluyen, pero no se limitan a, sulfonimidas de acilo, tetrazoles, sulfonatos y fosfonatos. Véase, por ejemplo, Patani y LaVoie, Chem. Rev. 96, 3147-3176, 1996.

Se pretende que la presente invención incluya todos los isótopos de átomos que se encuentran en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente número de masa. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio, y los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

En ciertos aspectos, la "terapia de combinación" también abarca la administración de los agentes terapéuticos como se describió anteriormente en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (p. ej., cirugía o tratamiento con radiación). Cuando la terapia de combinación comprende además un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico se puede realizar en cualquier momento adecuado siempre que se logre un efecto beneficioso de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso aún se logra cuando el tratamiento no farmacológico se elimina temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizás por días o incluso semanas.

En otro aspecto, una composición divulgada en el presente documento, o una de sus sales, solvatos, análogos o derivados farmacéuticamente aceptables, puede administrarse en combinación con radioterapia. La radioterapia también se puede administrar en combinación con una composición divulgada en el presente documento y otro agente quimioterapéutico descrito en el presente documento como parte de una terapia con múltiples agentes.

Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene un compuesto en una forma adecuada para la administración a un sujeto. Un compuesto divulgado en el presente documento y uno o más agentes terapéuticos descritos en el presente documento pueden formularse individualmente o en múltiples composiciones farmacéuticas en cualquier combinación de los ingredientes activos. En consecuencia, se pueden elegir adecuadamente una o más

vías de administración en función de la forma de dosificación de cada composición farmacéutica. Alternativamente, un compuesto divulgado en el presente documento y uno o más agentes terapéuticos descritos en el presente documento pueden formularse como una composición farmacéutica.

En una realización, la composición farmacéutica está a granel o en forma de dosificación unitaria. La forma de dosificación unitaria es cualquiera de una variedad de formas, incluyendo, por ejemplo, una cápsula, una bolsa IV, una tableta, una sola bomba en un inhalador de aerosol o un vial. La cantidad de ingrediente activo (p. ej., una formulación del compuesto divulgado o sal, hidrato, solvato o isómero del mismo) en una dosis unitaria de composición es una cantidad efectiva y varía según el tratamiento particular implicado. Un experto en la técnica apreciará que a veces es necesario realizar variaciones de rutina en la dosificación dependiendo de la edad y el estado del paciente. La dosificación también dependerá de la vía de administración. Se contempla una variedad de vías, que incluyen oral, pulmonar, rectal, parenteral, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, por inhalación, bucal, sublingual, intrapleural, intratecal, intranasal y similares. Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, aerosoles, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. En una realización, el compuesto activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tampón o propulsor que se requiera.

Como se usa en el presente documento, la frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, aniones, cationes, materiales, composiciones, vehículos y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y no indeseable biológicamente ni de otro modo, e incluye excipiente que es aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones incluye tanto uno como más de uno de dichos excipientes.

Una composición farmacéutica divulgada en el presente documento se formula para que sea compatible con su vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (tópica) y transmucosa. Las soluciones o suspensiones utilizadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral se puede encerrar en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico.

Una composición divulgada en el presente documento se puede administrar a un sujeto en muchos de los métodos bien conocidos que se usan actualmente para el tratamiento quimioterapéutico. Por ejemplo, para el tratamiento de cánceres, un compuesto divulgado en el presente documento puede inyectarse directamente en los tumores, inyectarse en el torrente sanguíneo o en las cavidades corporales o tomarse por vía oral o aplicarse a través de la piel con parches. La dosis elegida debe ser suficiente para constituir un tratamiento efectivo pero no tan alta como para causar efectos secundarios inaceptables. Preferiblemente, el estado de la enfermedad (p. ej., cáncer, precáncer y similares) y la salud del paciente deben controlarse de cerca durante y por un período razonable después del tratamiento.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de un agente farmacéutico para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección identificada, o para exhibir un efecto inhibidor o terapéutico detectable. El efecto puede detectarse mediante cualquier método de ensayo conocido en la técnica. La cantidad efectiva precisa para un sujeto dependerá del peso corporal, el tamaño y la salud del sujeto; la naturaleza y grado de la afección; y la terapia o combinación de terapias seleccionadas para la administración. Por ejemplo, la cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de EZH2 puede ser diferente para un paciente que tiene un linfoma de células B del centro germinal de tipo silvestre con EZH2 que para un paciente que tiene un linfoma de células B de centro germinal con EZH2 mutante. Las cantidades terapéuticamente efectivas para una situación dada pueden determinarse mediante experimentación de rutina que esté dentro de la habilidad y el juicio del médico.

En determinadas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de cada agente farmacéutico usado en combinación será menor cuando se use en combinación en comparación con la monoterapia con cada agente solo. Dicha cantidad terapéuticamente eficaz más baja podría proporcionar una toxicidad más baja del régimen terapéutico.

Para cualquier compuesto, la cantidad terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente en ensayos de cultivo celular, por ejemplo, de células neoplásicas, o en modelos animales, normalmente ratas, ratones, conejos, perros o



cerdos. El modelo animal también se puede utilizar para determinar el intervalo de concentración y la vía de administración apropiados. A continuación, dicha información se puede utilizar para determinar dosis y vías útiles para la administración en seres humanos. La eficacia y la toxicidad terapéutica/profiláctica pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, ED<sub>50</sub> (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población) y LD<sub>50</sub> (la dosis letal para el 50 % de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>. Se prefieren las composiciones farmacéuticas que muestran grandes índices terapéuticos. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada, la sensibilidad del paciente y la vía de administración.

La dosificación y la administración se ajustan para proporcionar niveles suficientes del agente o agentes activos o para mantener el efecto deseado. Los factores que se pueden tener en cuenta incluyen la gravedad del estado de la enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el sexo del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración, la combinación o combinaciones de fármacos, la sensibilidad a la reacción y la tolerancia/respuesta a la terapia. Las composiciones farmacéuticas de acción prolongada se pueden administrar cada 3 o 4 días, cada semana o una vez cada dos semanas, dependiendo de la vida media y la tasa de eliminación de la formulación particular.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos activos divulgados en el presente documento se pueden fabricar de una manera que se conoce generalmente, por ejemplo, mediante procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de manera convencional usando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables que comprenden excipientes y/o auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. Por supuesto, la formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL<sup>MC</sup> (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que se pueda administrar con jeringa fácilmente. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe ser preservada contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares) y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol y sorbitol, y cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede conseguir incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los demás ingredientes requeridos entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación son el secado al vacío y la liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución filtrada previamente estéril del mismo.

Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo farmacéuticamente aceptable comestible. Pueden encerrarse en cápsulas de gelatina o comprimirse en tabletas. Para fines de administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de tabletas, trociscos o cápsulas. Las composiciones orales también se pueden preparar utilizando un vehículo fluido para usar como enjuague bucal, en el que el compuesto en el vehículo fluido se aplica por vía oral y se enjuaga y se expectora o se traga. Los agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles y/o los materiales adyuvantes pueden incluirse como parte de la composición. Las tabletas, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido alginico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo o saborizante de naranja.

Para la administración por inhalación, los compuestos se administran en forma de aerosol desde un recipiente o dispensador a presión, que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas como dióxido de carbono o un nebulizador.

La administración sistémica también puede ser por medios transmucosos o transdérmicos. Para la administración transmucosa o transdérmica, en la formulación se utilizan penetrantes apropiados para la barrera a permear. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados del ácido fusídico. La administración transmucosa se puede lograr mediante el uso de aerosoles nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en ungüentos, bálsamos, geles o cremas como se conoce generalmente en la técnica.

Los compuestos activos se pueden preparar con vehículos farmacéuticamente aceptables que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden utilizar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de vinil etileno, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales también se pueden obtener comercialmente a través de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensiones liposomales (incluidos los liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales contra antígenos virales) también se pueden usar como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la patente de los Estados Unidos n.º 4,522,811.

Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para el sujeto a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La memoria descriptiva para las formas unitarias de dosificación divulgadas en el presente documento está dictada y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se desea lograr.

En aplicaciones terapéuticas, las dosis de los compuestos inhibidores de EZH2 descritos en el presente documento, o las composiciones farmacéuticas utilizadas de acuerdo con la invención varían dependiendo del agente, la edad, el peso y la afección clínica del paciente receptor, y la experiencia y criterio del médico o practicante que administra la terapia, entre otros factores que afectan la dosis seleccionada. En general, la dosis debería ser suficiente para dar como resultado una ralentización y, preferiblemente, una regresión del crecimiento de los tumores y también, preferiblemente, causar una regresión completa del cáncer. Las dosis pueden oscilar entre aproximadamente 0.01 mg/kg por día y aproximadamente 5000 mg/kg por día. En aspectos preferidos, las dosis pueden oscilar entre aproximadamente 1 mg/kg por día y aproximadamente 1000 mg/kg por día. En un aspecto, la dosis estará en el intervalo de aproximadamente 0.1 mg/día a aproximadamente 50 g/día; aproximadamente 0.1 mg/día a aproximadamente 25 g/día; aproximadamente 0.1 mg/día a aproximadamente 10 g/día; aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 3 g/día; o aproximadamente 0.1 mg a aproximadamente 1 g/día, en dosis únicas, divididas o continuas (cuya dosis puede ajustarse al peso del paciente en kg, área de superficie corporal en m<sup>2</sup> y edad en años). Una cantidad eficaz de un agente farmacéutico es aquella que proporciona una mejora objetivamente identificable según lo observado por el médico u otro observador calificado. Por ejemplo, la regresión de un tumor en un paciente puede medirse con referencia al diámetro de un tumor. La disminución del diámetro de un tumor indica regresión. La regresión también está indicada por la imposibilidad de que los tumores vuelvan a aparecer después de que se ha detenido el tratamiento. Como se usa en el presente documento, el término "modo de dosificación eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto activo para producir el efecto biológico deseado en un sujeto o célula.

Las composiciones farmacéuticas se pueden incluir en un recipiente, empaque o dispensador junto con las instrucciones de administración.

La composición divulgada en el presente documento es capaz de formar sales adicionales. La composición divulgada en el presente documento es capaz de formar más de una sal por molécula, por ejemplo, mono-, di-, tri-. Todas estas formas también se contemplan dentro del alcance de la invención reivindicada.

Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos divulgados en el presente documento en los que el compuesto original se modifica haciendo sales ácidas o básicas del mismo. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas, sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales no tóxicas convencionales incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de ácidos inorgánicos u orgánicos seleccionados de ácido 2-acetoxibenzoico, 2-hidroxietano sulfónico, acético, ascórbico, benceno sulfónico, benzoico, bicarbónico, carbónico, cítrico, edético, etano disulfónico, 1,2-etano sulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, glicolilarsanílico, hexilresorcínico,

hidrabámico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, hidroximaleico, hidroxinaftoico, isetiónico, láctico, lactobiónico, lauril sulfónico, maleico, málico, mandélico, metano sulfónico, napsílico, nítrico, oxálico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, poligalacturónico, propiónico, salicílico, esteárico, subacético, succínico, sulfámico, sulfanílico, sulfúrico, tánico, tartárico, tolueno sulfónico y los aminoácidos comunes, por ejemplo, glicina, alanina, fenilalanina, arginina, etc.

Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido pirúvico, ácido malónico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido 4-clorobenzenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo-[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido terciario butilacético, ácido mucónico y similares. La presente invención también abarca las sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto principal se reemplaza por un ión metálico, por ejemplo, un ión de metal alcalino, un ión alcalinotérreo o un ión de aluminio; o se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina y similares.

Debe entenderse que todas las referencias a sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de disolventes (solvatos) de la misma sal.

La composición divulgada en el presente documento también se puede preparar como ésteres, por ejemplo, ésteres farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, un grupo funcional de ácido carboxílico en un compuesto se puede convertir en su éster correspondiente, por ejemplo, un éster metílico, etílico u otro. Además, un grupo alcohol en un compuesto se puede convertir en su éster correspondiente, por ejemplo, acetato, propionato u otro éster.

La composición, o sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, se administran por vía oral, nasal, transdérmica, pulmonar, por inhalación, bucal, sublingual, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intravenosa, rectal, intrapleural, intratecal y parenteral. En una realización, el compuesto se administra por vía oral. Un experto en la materia reconocerá las ventajas de ciertas vías de administración.

El régimen de dosificación que utiliza los compuestos se selecciona de acuerdo con una variedad de factores que incluyen tipo, especie, edad, peso, sexo y afección médica del paciente; la gravedad de la afección a tratar; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente; y el compuesto particular o sal del mismo empleado. Un médico o veterinario con experiencia ordinaria puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz del fármaco necesaria para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección.

Las técnicas para la formulación y administración de los compuestos divulgados se pueden encontrar en Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19ª edición, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). En una realización, los compuestos descritos en el presente documento y sus sales farmacéuticamente aceptables se usan en preparaciones farmacéuticas en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen rellenos sólidos inertes o diluyentes y soluciones acuosas u orgánicas estériles. Los compuestos estarán presentes en dichas composiciones farmacéuticas en cantidades suficientes para proporcionar la cantidad de dosificación deseada en el intervalo descrito en el presente documento.

Todos los porcentajes y proporciones utilizados en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, son en peso. Otras características y ventajas de la presente divulgación son evidentes a partir de los diferentes ejemplos. Los ejemplos proporcionados ilustran diferentes componentes y metodología útiles en la práctica de la presente invención. Los ejemplos no limitan la invención reivindicada. Basándose en la presente divulgación, el experto en la materia puede identificar y emplear otros componentes y metodologías útiles para poner en práctica la presente invención.

Como se usa en el presente documento, un "sujeto que lo necesita" es un sujeto que tiene un NHL o un sujeto que tiene un mayor riesgo de desarrollar dicho trastorno en relación con la población en general. Un sujeto que lo necesita puede tener una afección precancerosa. Un "sujeto" incluye un mamífero. El mamífero puede ser, por ejemplo, cualquier mamífero, por ejemplo, un ser humano, un primate, un ave, un ratón, una rata, un ave de corral, un perro, un gato, una vaca, un caballo, una cabra, un camello, una oveja o un cerdo. Preferiblemente, el mamífero es un ser humano.

El sujeto incluye cualquier sujeto humano que haya sido diagnosticado, tenga síntomas o esté en riesgo de desarrollar NHL, incluidos DLBCL, GCB, DLBCL del centro no germinal, incluidos DLBCL ABC, FL, PMBCL y MZL. El sujeto divulgado en el presente documento incluye cualquier sujeto humano que exprese un EZH2 mutante o EZH2 de tipo silvestre o tenga una mutación en el gen EZH2 o tenga un gen EZH2 de tipo silvestre. Por ejemplo, un EZH2 mutante comprende una o más mutaciones, en las que la mutación es una sustitución, una mutación puntual, una mutación sin sentido, una mutación de sentido erróneo, una eliminación o una inserción o cualquier otra mutación de EZH2 descrita en el presente documento.

Un sujeto que lo necesite puede tener un cáncer refractario o resistente. "Cáncer refractario o resistente" significa cáncer que no responde al tratamiento. El cáncer puede ser resistente al comienzo del tratamiento o puede volverse resistente durante el tratamiento. En algunas realizaciones, el sujeto que lo necesita tiene recurrencia del cáncer después de la remisión en la terapia más reciente. En algunas realizaciones, el sujeto que lo necesitaba recibió y

fracasó en todas las terapias eficaces conocidas para el tratamiento del cáncer. En algunas realizaciones, el sujeto que lo necesitaba recibió al menos una terapia previa. En determinadas realizaciones, la terapia previa es monoterapia. En determinadas realizaciones, la terapia previa es una terapia de combinación.

5 En algunas realizaciones, un sujeto que lo necesite puede tener un cáncer secundario como resultado de una terapia previa. "Cáncer secundario" significa cáncer que surge debido o como resultado de terapias cancerígenas previas, como la quimioterapia.

10 El sujeto también puede mostrar resistencia a los inhibidores de la histona metiltransferasa EZH2 o a cualquier otro agente terapéutico.

La divulgación también presenta un método para seleccionar una terapia para un sujeto que tiene un linfoma que incluye DLBCL, DLBCL GCB, DLBCL de centro no germinal, DLBCL ABC, FL, PMBCL y MZL.

15 El método incluye las etapas de: detectar la presencia o ausencia de una o más mutaciones de EZH2 descritas en el presente documento en una muestra del sujeto; y seleccionar, con base en la presencia o ausencia de una o más mutaciones de EZH2, una terapia para tratar el linfoma. La terapia puede incluir la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de EZH2 descrito en el presente documento. Se puede detectar una mutación de EZH2 o la ausencia de la misma utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica.

20 Los métodos y usos descritos en el presente documento pueden incluir etapas para detectar la presencia o ausencia de una o más mutaciones de EZH2 descritas en el presente documento en una muestra de un sujeto que lo necesite antes y/o después de la administración de una composición divulgada en el presente documento (p. ej., una composición que comprende un compuesto divulgado en el presente documento o sus sales farmacéuticamente aceptables, solo o en combinación con uno o más segundos agentes terapéuticos) al sujeto.

25 La presente divulgación proporciona medicina personalizada, tratamiento y/o manejo del cáncer para un sujeto que tiene o está en riesgo de tener un linfoma derivado del centro germinal, mediante la detección genética de una o más mutaciones de EZH2 descritas en el presente documento en el sujeto. Por ejemplo, la presente divulgación proporciona métodos para tratar o aliviar un síntoma de un linfoma derivado del centro germinal en un sujeto que lo necesite determinando la capacidad de respuesta del sujeto a una terapia y cuando el sujeto responde a la terapia, administrar al sujeto una composición divulgada en el presente documento. Una vez que se determina la capacidad de respuesta de un sujeto, se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición, por ejemplo, una composición que comprende un compuesto divulgado en el presente documento o sus sales farmacéuticamente aceptables, solo o en combinación con uno o más segundos agentes terapéuticos. La cantidad terapéuticamente eficaz de una composición puede ser determinada por un experto en la materia.

30 Tal como se usa en el presente documento, el término "capacidad de respuesta" es intercambiable con los términos "que responde", "sensible" y "sensibilidad", y significa que un sujeto muestra respuestas terapéuticas cuando se le administra una composición divulgada en el presente documento, p. ej., las células o tejidos tumorales del sujeto experimentan apoptosis y/o necrosis, y/o muestran crecimiento, división o proliferación reducidos. Este término también significa que un sujeto mostrará o tiene una mayor probabilidad, en relación con la población en general, de mostrar respuestas terapéuticas cuando se le administre una composición divulgada en el presente documento, por ejemplo, las células tumorales o los tejidos tumorales del sujeto experimentan apoptosis y/o necrosis y/o muestran crecimiento, división o proliferación reducidos.

35 Por "muestra" se entiende cualquier muestra biológica derivada del sujeto, que incluye, pero no se limita a, células, muestras de tejidos, fluidos corporales (incluidos, pero sin limitarse a, moco, sangre, plasma, suero, orina, saliva y semen), células tumorales y tejidos tumorales. Preferiblemente, la muestra se selecciona de médula ósea, células de sangre periférica, sangre, plasma y suero. Las muestras pueden ser proporcionadas por el sujeto bajo tratamiento o prueba. Alternativamente, el médico puede obtener muestras de acuerdo con la práctica habitual en la técnica.

40 Como se usa en el presente documento, "compuesto candidato" se refiere a un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, que ha sido o será probado en uno o más ensayos biológicos *in vitro* o *in vivo*, para determinar si es probable que ese compuesto provoque una respuesta biológica o médica deseada en una célula, tejido, sistema, animal o ser humano que busca un investigador o médico. Un compuesto candidato es un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables. La respuesta biológica o médica puede ser el tratamiento del cáncer. La respuesta biológica o médica puede ser el tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular. Los ensayos biológicos *in vitro* o *in vivo* pueden incluir, entre otros, ensayos de actividad enzimática, ensayos de cambio de movilidad electroforética, ensayos de genes informadores, ensayos de viabilidad celular *in vitro* y los ensayos descritos en el presente documento.

45 Como se usa en el presente documento, "tratamiento" o "tratar" describe el manejo y cuidado de un paciente con el fin de combatir una enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración de un compuesto divulgado en el

presente documento, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, para aliviar los síntomas o complicaciones de una enfermedad, afección o trastorno, o para eliminar la enfermedad, afección o trastorno.

Una composición divulgada en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, también puede usarse para prevenir una enfermedad, afección o trastorno. Como se usa en el presente documento, "que previene" o "prevenir" describe reducir o eliminar la aparición de los síntomas o complicaciones de la enfermedad, afección o trastorno.

Como se usa en el presente documento, el término "aliviar" pretende describir un proceso mediante el cual se reduce la gravedad de un signo o síntoma de un trastorno. Es importante destacar que un signo o síntoma puede aliviarse sin eliminarse. En una realización preferida, la administración de las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento conduce a la eliminación de un signo o síntoma; sin embargo, no se requiere la eliminación. Se espera que las dosis efectivas reduzcan la gravedad de un signo o síntoma. Por ejemplo, un signo o síntoma de un trastorno como el cáncer, que puede ocurrir en múltiples ubicaciones, se alivia si la gravedad del cáncer disminuye en al menos una de las múltiples ubicaciones.

Como se usa en el presente documento, el término "gravedad" pretende describir el potencial del cáncer para transformarse de un estado precanceroso o benigno a un estado maligno. Alternativamente, o además, la gravedad pretende describir una etapa del cáncer, por ejemplo, de acuerdo con el sistema TNM (aceptado por la Unión Internacional contra el Cáncer (UICC) y el Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer (AJCC)) o por otros métodos reconocidos en la técnica. El estadio del cáncer se refiere a la extensión o gravedad del cáncer, según factores como la ubicación del tumor primario, el tamaño del tumor, la cantidad de tumores y la afectación de los ganglios linfáticos (propagación del cáncer a los ganglios linfáticos). Alternativamente, o además, se pretende que la gravedad describa el grado del tumor mediante métodos reconocidos en la técnica (véase, Instituto Nacional del Cáncer, [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov)). El grado del tumor es un sistema que se usa para clasificar las células cancerosas en términos de qué tan anormales se ven bajo un microscopio y qué tan rápido es probable que el tumor crezca y se propague. Se consideran muchos factores al determinar el grado del tumor, incluida la estructura y el patrón de crecimiento de las células. Los factores específicos usados para determinar el grado del tumor varían con cada tipo de cáncer. La gravedad también describe un grado histológico, también llamado diferenciación, que se refiere a cuánto se parecen las células tumorales a las células normales del mismo tipo de tejido (véase Instituto Nacional del Cáncer, [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov)). Además, la gravedad describe un grado nuclear, que se refiere al tamaño y la forma del núcleo en las células tumorales y el porcentaje de células tumorales que se están dividiendo (véase, Instituto Nacional del Cáncer, [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov)).

En otro aspecto, la gravedad describe el grado en que un tumor ha secretado factores de crecimiento, ha degradado la matriz extracelular, se ha vascularizado, ha perdido la adhesión a tejidos yuxtapuestos o ha hecho metástasis. Además, la gravedad describe el número de ubicaciones a las que ha hecho metástasis un tumor primario. Finalmente, la gravedad incluye la dificultad de tratar tumores de diferentes tipos y ubicaciones. Por ejemplo, los tumores inoperables, aquellos cánceres que tienen mayor acceso a múltiples sistemas del cuerpo (tumores hematológicos e inmunológicos) y aquellos que son más resistentes a los tratamientos tradicionales se consideran más graves. En estas situaciones, prolongar la esperanza de vida del sujeto y/o reducir el dolor, disminuir la proporción de células cancerosas o restringir las células a un sistema y mejorar el estadio del cáncer/grado tumoral/grado histológico/grado nuclear se considera que alivia un signo o síntoma del cáncer.

Como se usa en el presente documento, el término "síntoma" se define como una indicación de enfermedad, dolencia, lesión, o que algo no está bien en el cuerpo. Los síntomas son sentidos o notados por el individuo que experimenta el síntoma, pero es posible que otros no los noten fácilmente. Otros se definen como profesionales no sanitarios.

Como se usa en el presente documento, el término "signo" también se define como una indicación de que algo no está bien en el cuerpo. Pero los signos se definen como cosas que pueden ser vistas por un médico, una enfermera u otro profesional de la salud.

El cáncer es un grupo de enfermedades que pueden causar casi cualquier signo o síntoma. Los signos y síntomas dependerán de la ubicación del cáncer, el tamaño del cáncer y cuánto afecta a los órganos o estructuras cercanos. Si un cáncer se propaga (hace metástasis), los síntomas pueden aparecer en diferentes partes del cuerpo.

El tratamiento del cáncer puede dar como resultado una reducción del tamaño de un tumor. Una reducción del tamaño de un tumor también puede denominarse "regresión tumoral". Preferiblemente, después del tratamiento, el tamaño del tumor se reduce en un 5% o más con respecto a su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, el tamaño del tumor se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75% o más. El tamaño de un tumor puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. El tamaño de un tumor se puede medir como el diámetro del tumor.

El tratamiento del cáncer puede dar como resultado una reducción en el volumen del tumor. Preferiblemente, después del tratamiento, el volumen del tumor se reduce en un 5% o más con respecto a su tamaño antes del tratamiento; más

preferiblemente, el volumen del tumor se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75% o más. El volumen del tumor puede medirse por cualquier medio de medición reproducible.

- 5 El tratamiento del cáncer da como resultado una disminución en el número de tumores. Preferiblemente, después del tratamiento, el número de tumores se reduce en un 5% o más en relación con el número antes del tratamiento; más preferiblemente, el número de tumores se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75%. El número de tumores puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. El número de tumores puede medirse contando los tumores visibles a simple vista o con un aumento especificado. Preferiblemente, el aumento especificado es 2X, 3X, 4X, 5X, 10X o 50X.
- 10
- 15 El tratamiento del cáncer puede dar como resultado una disminución en el número de lesiones metastásicas en otros tejidos u órganos distantes del sitio del tumor primario. Preferiblemente, después del tratamiento, el número de lesiones metastásicas se reduce en un 5% o más en relación con el número antes del tratamiento; más preferiblemente, el número de lesiones metastásicas se reduce en un 10% o más; más preferiblemente, se reduce en un 20% o más; más preferiblemente, se reduce en un 30% o más; más preferiblemente, se reduce en un 40% o más; aún más preferiblemente, se reduce en un 50% o más; y lo más preferiblemente, se reduce en más del 75%. El número de lesiones metastásicas puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. El número de lesiones metastásicas puede medirse contando las lesiones metastásicas visibles a simple vista o con un aumento especificado. Preferiblemente, el aumento especificado es 2X, 3X, 4X, 5X, 10X o 50X.
- 20
- 25 El tratamiento del cáncer puede dar como resultado un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe el portador solo. Preferiblemente, el tiempo medio de supervivencia se incrementa en más de 30 días; más preferiblemente, en más de 60 días; más preferiblemente, en más de 90 días; y lo más preferiblemente, en más de 120 días. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Puede medirse un
- 30 aumento en el tiempo promedio de supervivencia de una población, por ejemplo, calculando para una población el tiempo promedio de supervivencia tras el inicio del tratamiento con un compuesto activo. También puede medirse un aumento en el tiempo promedio de supervivencia de una población, por ejemplo, calculando para una población el tiempo promedio de supervivencia tras la finalización de una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.
- 35 El tratamiento del cáncer puede dar como resultado un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población de sujetos tratados en comparación con una población de sujetos no tratados. Preferiblemente, el tiempo promedio de supervivencia se incrementa en más de 30 días; más preferiblemente, en más de 60 días; más preferiblemente, en más de 90 días; y lo más preferiblemente, en más de 120 días. Un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Puede medirse un
- 40 aumento en el tiempo promedio de supervivencia de una población, por ejemplo, calculando para una población el tiempo promedio de supervivencia tras el inicio del tratamiento con un compuesto activo. También puede medirse un aumento en el tiempo promedio de supervivencia de una población, por ejemplo, calculando para una población el tiempo promedio de supervivencia tras la finalización de una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.
- 45 El tratamiento del cáncer puede resultar en un aumento en el tiempo de supervivencia promedio de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe monoterapia con un fármaco que no es un compuesto divulgado en el presente documento, o una sal, solvato, análogo o derivado farmacéuticamente aceptable del mismo. Preferiblemente, el tiempo promedio de supervivencia se incrementa en más de 30 días; más preferiblemente, en más de 60 días; más preferiblemente, en más de 90 días; y lo más preferiblemente, en más de 120 días. Un aumento en
- 50 el tiempo de supervivencia promedio de una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Puede medirse un aumento en el tiempo promedio de supervivencia de una población, por ejemplo, calculando para una población el tiempo promedio de supervivencia tras el inicio del tratamiento con un compuesto activo. También puede medirse un aumento en el tiempo promedio de supervivencia de una población, por ejemplo, calculando para una población el tiempo promedio de supervivencia tras la finalización de una primera ronda de tratamiento con un
- 55 compuesto activo.
- El tratamiento del cáncer puede dar como resultado una disminución en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe el portador solo. El tratamiento del cáncer puede resultar en una disminución de la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados en comparación con una
- 60 población no tratada. El tratamiento del cáncer puede dar como resultado una disminución en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados en comparación con una población que recibe monoterapia con un fármaco que no es un compuesto divulgado en el presente documento, o una sal, solvato, análogo o derivado del mismo farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, la tasa de mortalidad se reduce en más del 2%; más preferiblemente, en más del 5%; más preferiblemente, en más del 10%; y lo más preferiblemente, en más del 25%. Una disminución
- 65 en la tasa de mortalidad de una población de sujetos tratados puede medirse por cualquier medio reproducible. Puede medirse una disminución en la tasa de mortalidad de una población, por ejemplo, calculando para una población el

número promedio de muertes relacionadas con enfermedades por unidad de tiempo tras el inicio del tratamiento con un compuesto activo. También se puede medir una disminución en la tasa de mortalidad de una población, por ejemplo, calculando para una población el número promedio de muertes relacionadas con enfermedades por unidad de tiempo después de completar una primera ronda de tratamiento con un compuesto activo.

5 El tratamiento del cáncer puede dar como resultado una disminución en la tasa de crecimiento del tumor. Preferiblemente, después del tratamiento, la tasa de crecimiento del tumor se reduce en al menos un 5% con respecto al número antes del tratamiento; más preferiblemente, la tasa de crecimiento del tumor se reduce en al menos un 10%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 20%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 30%; más  
10 preferiblemente, se reduce en al menos un 40%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 50%; aún más preferiblemente, se reduce en al menos un 50%; y lo más preferiblemente, se reduce en al menos un 75%. La tasa de crecimiento tumoral puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. La tasa de crecimiento del tumor se puede medir según un cambio en el diámetro del tumor por unidad de tiempo.

15 El tratamiento del cáncer puede dar como resultado una disminución en el nuevo crecimiento del tumor. Preferiblemente, después del tratamiento, el nuevo crecimiento del tumor es inferior al 5%; más preferiblemente, el nuevo crecimiento del tumor es inferior al 10%; más preferiblemente, menos del 20%; más preferiblemente, menos del 30%; más preferiblemente, menos del 40%; más preferiblemente, menos del 50%; aún más preferiblemente, menos del 50%; y lo más preferiblemente, menos del 75%. El nuevo crecimiento del tumor se puede medir por  
20 cualquier medio de medición reproducible. El nuevo crecimiento tumoral se mide, por ejemplo, midiendo un aumento en el diámetro de un tumor después de una reducción tumoral previa que siguió al tratamiento. Una disminución en el nuevo crecimiento del tumor está indicada por la imposibilidad de que los tumores vuelvan a aparecer después de que se ha detenido el tratamiento.

25 El tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular puede dar como resultado una reducción en la tasa de proliferación celular. Preferiblemente, después del tratamiento, la tasa de proliferación celular se reduce en al menos un 5%; más preferiblemente, en al menos un 10%; más preferiblemente, en al menos un 20%; más preferiblemente, en al menos un 30%; más preferiblemente, en al menos un 40%; más preferiblemente, en al menos un 50%; aún más preferiblemente, en al menos un 50%; y lo más preferiblemente, en al menos un 75%. La tasa de  
30 proliferación celular puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. La tasa de proliferación celular se mide, por ejemplo, midiendo el número de células en división en una muestra de tejido por unidad de tiempo.

El tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular puede dar como resultado una reducción en la proporción de células en proliferación. Preferiblemente, después del tratamiento, la proporción de células en  
35 proliferación se reduce en al menos un 5%; más preferiblemente, en al menos un 10%; más preferiblemente, en al menos un 20%; más preferiblemente, en al menos un 30%; más preferiblemente, en al menos un 40%; más preferiblemente, en al menos un 50%; aún más preferiblemente, en al menos un 50%; y lo más preferiblemente, en al menos un 75%. La proporción de células en proliferación puede medirse por cualquier medio de medición reproducible. Preferiblemente, la proporción de células en proliferación se mide, por ejemplo, cuantificando el número de células en  
40 división con respecto al número de células que no se dividen en una muestra de tejido. La proporción de células en proliferación puede ser equivalente al índice mitótico.

El tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular puede dar como resultado una disminución del tamaño de un área o zona de proliferación celular. Preferiblemente, después del tratamiento, el tamaño de un área o  
45 zona de proliferación celular se reduce en al menos un 5% con respecto a su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, se reduce en al menos un 10%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 20%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 30%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 40%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 50%; aún más preferiblemente, se reduce en al menos un 50%; y lo más preferiblemente, se reduce en al menos un 75%. El tamaño de un área o zona de proliferación celular puede medirse  
50 mediante cualquier medio de medición reproducible. El tamaño de un área o zona de proliferación celular puede medirse como un diámetro o ancho de un área o zona de proliferación celular.

El tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular puede dar como resultado una disminución en el número o la proporción de células que tienen una apariencia o morfología anormal. Preferiblemente, después del  
55 tratamiento, el número de células que tienen una morfología anormal se reduce en al menos un 5% con respecto a su tamaño antes del tratamiento; más preferiblemente, se reduce en al menos un 10%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 20%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 30%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 40%; más preferiblemente, se reduce en al menos un 50%; aún más preferiblemente, se reduce en al menos un 50%; y lo más preferiblemente, se reduce en al menos un 75%. Una apariencia o morfología celular anormal puede  
60 medirse por cualquier medio de medición reproducible. Una morfología celular anormal puede medirse mediante microscopía, por ejemplo, usando un microscopio invertido de cultivo de tejidos. Una morfología celular anormal puede tomar la forma de pleiomorfismo nuclear.

65 Como se usa en el presente documento, el término "selectivamente" significa que tiende a ocurrir con mayor frecuencia en una población que en otra población. Las poblaciones comparadas pueden ser poblaciones celulares. Preferiblemente, un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente

aceptables, actúa selectivamente sobre una célula cancerosa o precancerosa pero no sobre una célula normal. Preferiblemente, un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, actúa selectivamente para modular una diana molecular (p. ej., una proteína metiltransferasa diana) pero no modula significativamente otra diana molecular (p. ej., una proteína metiltransferasa no diana). La divulgación también proporciona un método para inhibir selectivamente la actividad de una enzima, tal como una proteína metiltransferasa. Preferiblemente, un evento ocurre selectivamente en la población A en relación con la población B si ocurre con una frecuencia dos veces mayor en la población A en comparación con la población B. Un evento ocurre selectivamente si ocurre con una frecuencia cinco veces mayor en la población A. Un evento ocurre selectivamente si ocurre más de diez veces más frecuentemente en la población A; más preferiblemente, más de cincuenta veces; aún más preferiblemente, más de 100 veces; y lo más preferiblemente, más de 1000 veces más frecuente en la población A en comparación con la población B. Por ejemplo, se diría que la muerte celular ocurre selectivamente en las células cancerosas si ocurriera con más del doble de frecuencia en las células cancerosas en comparación con las células normales.

Una composición divulgada en el presente documento, por ejemplo, una composición que comprende cualquier compuesto divulgado en el presente documento o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, puede modular la actividad de una diana molecular (p. ej., una proteína metiltransferasa diana). La modulación se refiere a estimular o inhibir una actividad de una diana molecular. Preferiblemente, un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, modula la actividad de una diana molecular si estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en al menos 2 veces en relación con la actividad de la diana molecular bajo las mismas condiciones pero careciendo únicamente de la presencia de dicho compuesto. Más preferiblemente, un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, modula la actividad de una diana molecular si estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces con respecto a la actividad de la diana molecular en las mismas condiciones pero careciendo únicamente de la presencia de dicho compuesto. La actividad de una diana molecular puede medirse por cualquier medio reproducible. La actividad de una diana molecular puede medirse *in vitro* o *in vivo*. Por ejemplo, la actividad de una diana molecular puede medirse *in vitro* mediante un ensayo de actividad enzimática o un ensayo de unión al ADN, o la actividad de una diana molecular puede medirse *in vivo* analizando la expresión de un gen informador.

Una composición divulgada en el presente documento no modula significativamente la actividad de una diana molecular si la adición del compuesto no estimula o inhibe la actividad de la diana molecular en más del 10% en relación con la actividad de la diana molecular bajo las mismas condiciones pero careciendo únicamente de la presencia de dicho compuesto.

Como se usa en el presente documento, el término "selectivo de isoenzimas" significa inhibición o estimulación preferencial de una primera isoforma de una enzima en comparación con una segunda isoforma de una enzima (p. ej., inhibición o estimulación preferencial de una proteína metiltransferasa isoenzima alfa en comparación con una proteína metiltransferasa isoenzima beta). Preferiblemente, un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, demuestra una diferencia mínima de cuatro veces, preferiblemente una diferencia de diez veces, más preferiblemente una diferencia de cincuenta veces, en la dosificación requerida para lograr un efecto biológico. Preferiblemente, un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, demuestra esta diferencia a través del intervalo de inhibición, y la diferencia se ejemplifica en la  $IC_{50}$ , es decir, una inhibición del 50 %, para una diana molecular de interés.

La administración de una composición divulgada en el presente documento a una célula o un sujeto que la necesite puede dar como resultado la modulación (es decir, estimulación o inhibición) de una actividad de una proteína metiltransferasa de interés.

La administración de un compuesto divulgado en el presente documento, p. ej., una composición que comprende cualquier compuesto divulgado en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más agentes terapéuticos diferentes tales como prednisona, a una célula o a un sujeto que lo necesite da como resultado la modulación (es decir, estimulación o inhibición) de la actividad de una diana intracelular (p. ej., sustrato). Se pueden modular varias dianas intracelulares con los compuestos divulgados en el presente documento, que incluyen, pero sin limitarse a, proteína metiltransferasa.

Activar se refiere a colocar una composición de materia (p. ej., proteína o ácido nucleico) en un estado adecuado para llevar a cabo una función biológica deseada. Una composición de materia capaz de activarse también tiene un estado inactivo. Una composición de materia activada puede tener una función biológica inhibitoria o estimulante, o ambas.

La elevación se refiere a un aumento en una actividad biológica deseada de una composición de materia (p. ej., una proteína o un ácido nucleico). La elevación puede ocurrir a través de un aumento en la concentración de una composición de materia.



El tratamiento del cáncer o un trastorno de proliferación celular puede dar como resultado la muerte celular y, preferiblemente, la muerte celular da como resultado una disminución de al menos un 10 % en el número de células en una población. Más preferiblemente, muerte celular significa una disminución de al menos un 20 %; más preferiblemente, una disminución de al menos el 30%; más preferiblemente, una disminución de al menos el 40%; más preferiblemente, una disminución de al menos el 50%; lo más preferiblemente, una disminución de al menos el 75%. El número de células en una población puede medirse por cualquier medio reproducible. Se puede medir un número de células en una población mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), microscopía de inmunofluorescencia y microscopía óptica. Los métodos para medir la muerte celular se muestran en Li et al., Proc Natl Acad Sci USA. 100(5): 2674-8, 2003. En un aspecto, la muerte celular se produce por apoptosis.

Preferiblemente, una cantidad eficaz de una composición divulgada en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, no es significativamente citotóxica para las células normales. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto no es significativamente citotóxica para las células normales si la administración del compuesto en una cantidad terapéuticamente eficaz no induce la muerte celular en más del 10% de las células normales. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto no afecta significativamente a la viabilidad de las células normales si la administración del compuesto en una cantidad terapéuticamente eficaz no induce la muerte celular en más del 10% de las células normales. En un aspecto, la muerte celular se produce por apoptosis.

Poner en contacto una célula con una composición divulgada en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, puede inducir o activar selectivamente la muerte celular en células cancerosas. Administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto divulgado en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, puede inducir o activar selectivamente la muerte celular en células cancerosas. Poner en contacto una célula con una composición divulgada en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, puede inducir selectivamente la muerte celular en una o más células afectadas por un trastorno de proliferación celular. Preferiblemente, la administración a un sujeto que lo necesita de una composición divulgada en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, induce la muerte celular selectivamente en una o más células afectadas por un trastorno de proliferación celular.

La presente divulgación se refiere a un método para tratar o prevenir el cáncer mediante la administración de una composición divulgada en el presente documento, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite, donde la administración de la composición divulgada en el presente documento, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, da como resultado uno o más de los siguientes: prevención de la proliferación de células cancerosas mediante la acumulación de células en una o más fases del ciclo celular (p. ej., G1, G1/S, G2/M), o inducción de la senescencia celular, o promoción de la diferenciación de células tumorales; promoción de la muerte celular en células cancerosas a través de citotoxicidad, necrosis o apoptosis, sin una cantidad significativa de muerte celular en células normales, actividad antitumoral en animales con un índice terapéutico de al menos 2. Como se usa en el presente documento, "índice terapéutico" es la dosis máxima tolerada dividida por la dosis eficaz.

Un experto en la técnica puede consultar los textos de referencia general para obtener descripciones detalladas de técnicas conocidas discutidas en el presente documento o técnicas equivalentes. Estos textos incluyen Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3ª edición), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, Nueva 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, 18ª edición (1990). Por supuesto, también se puede hacer referencia a estos textos al hacer o usar un aspecto de la invención.

Ejemplo 1:

Estudio clínico de EPZ-6438

El ensayo de fase 1 inscribió a pacientes con tumores sólidos recidivantes/refractarios y linfoma de células B. El estudio empleó un diseño de escalada de dosis estándar de 3+3 con dos cohortes de expansión de dosis planificadas y subestudios de farmacología clínica. El criterio de valoración principal fue la determinación de una dosis de fase 2 recomendada o MTD con criterios de valoración secundarios estándar.

Los pacientes enrolados incluyeron 19 pacientes con NHL de los cuales 13 pacientes tienen DLBCL. Las pruebas de células de origen estaban destinadas a todos los pacientes con NHL; sin embargo, 3 pacientes con DLBCL tenían tejido insuficiente para permitir la determinación del estado del centro germinal frente al estado del centro no germinal. La prueba de mutación de EZH2 se realizó de forma centralizada para 14 pacientes con NHL mediante la prueba cobas® (Roche). Un paciente con linfoma cuyo tumor ha sido tratado hasta la fecha tiene una mutación de EZH2. Para los pacientes con tumores sólidos, se ha prestado atención al reclutamiento de pacientes con tumores deficientes en INI1 debido al papel oncogénico de EZH2 en estos tumores.

Los pacientes con NHL en el estudio recibieron un pretratamiento intenso, habiendo recibido el 85 % tres o más terapias sistémicas previas y casi la mitad recibió cuatro o más regímenes previos. El 37 % eran refractarios a su régimen anterior más reciente y cinco pacientes tenían un trasplante previo.

La farmacocinética de EPZ-6438 se caracteriza por una absorción rápida y una vida media terminal de 3 a 5 horas (Figura 4). El fármaco muestra una PK lineal proporcional a la dosis en estado estacionario en todo el intervalo de dosificación. Si bien se observó una disminución en el AUC entre la primera dosis y el día 15, no hubo una reducción adicional en la exposición sistémica más allá de ese tiempo, como lo demuestran los niveles de  $C_{min}$  previos a la dosis en el panel derecho.

La Figura 5 muestra que se recogieron las biopsias de piel antes y después de la dosis para evaluar la farmacodinámica en un tejido sustituto a través de la medición de los niveles de trimetil H3K27 por inmunohistoquímica. Anteriormente se demostró una reducción dependiente de la dosis de los niveles de trimetil H3K27 en todo el grosor de la piel, como se muestra en el panel superior derecho. Con una cuantificación más refinada mediante el uso de análisis de imágenes para evaluar la señal de H3K27 en diferentes capas de la piel; se observó una reducción mucho mayor de la señal de tri-metil H3K27 en la capa espinosa frente a la capa basal que no cambia apreciablemente.

Estas diferencias en la respuesta farmacodinámica entre las diferentes capas de la piel resaltan el potencial de variabilidad en la cinética del recambio de tri-metil H3K27, incluso en células del mismo tejido.

EPZ-6438 es bien tolerado, siendo los eventos adversos más comunes astenia, anorexia, anemia, disnea y náuseas en toda la población (Figura 6).

- Se observaron eventos adversos de grado 3 o mayores en menos de un tercio de los pacientes.
- Se observaron eventos adversos relacionados con el tratamiento de grado 3 o superior en solo 5 pacientes.
- La única DLT observada fue trombocitopenia que ocurrió con 1600 mg.
- Un paciente requirió una reducción de la dosis por trombocitopenia. Un paciente suspendió el fármaco por neutropenia de grado 4. Ambos pacientes fueron tratados en la cohorte de expansión de 800 mg.
- Siete pacientes tuvieron interrupciones de la dosis. De estos, 6 se debieron a una toxicidad reversible y se reanudó el agente del estudio a la dosis anterior sin más problemas.

La Figura 7 muestra que de 15 pacientes con NHL evaluables, 9 han tenido una respuesta objetiva.

- En DLBCL, se observaron respuestas objetivas en 5 de 9 pacientes. De estos, un paciente permaneció en estudio durante más de 18 meses y otro paciente con una mutación de EZH2 permaneció en estudio durante 6 meses.
- En el linfoma folicular, 3 de 5 pacientes lograron respuestas objetivas con dos pacientes en estudio a los 12 meses.
- Un paciente con linfoma nodular de la zona marginal permaneció en el estudio con una respuesta parcial que mejoraba gradualmente y se acercaba al año de terapia.

Una característica de la actividad antitumoral de EPZ-6438 en NHL es una reducción gradual, pero prolongada, de la masa tumoral. Esto da como resultado una evolución de la respuesta objetiva que puede ocurrir a lo largo de 10 meses de estudio. Los pacientes pueden tener un período prolongado de SD con reducción gradual del tumor antes de convertirse en PR. Y lo mismo puede verse antes de que un PR se convierta en un CR. Este patrón de respuesta se observó en todos los subtipos de NHL estudiados hasta la fecha.

La Figura 9 muestra un hombre de 23 años con linfoma primario de células B del mediastino que se convirtió en CR en la semana 40 con una PET negativa, a pesar de ser refractario a múltiples regímenes intensivos de rituximab+ quimioterapia. Permaneció en CR en la semana 78.

La Figura 10 muestra un varón con linfoma folicular refractario múltiple como otro ejemplo de evolución de la respuesta. Su tumor periorbitario alcanzó los criterios para PR en la semana 16 y luego CR en la semana 32. Permaneció en CR en la semana 60.

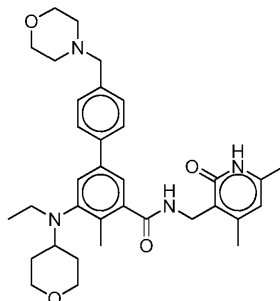
La Figura 11 muestra un paciente con un tumor que presenta una mutación de EZH2. Tiene un DLBCL agresivo y recibió un tratamiento previo muy intenso con seis regímenes previos y sin una respuesta objetiva durante los últimos 3 años. Sus exploraciones revelaron una respuesta espectacular al Tazemetostat con una reducción del 52 % de una masa abdominal muy grande en la semana 16. Permaneció en PR durante las 24 semanas del estudio.

La cita de publicaciones y documentos de patente no pretende ser una admisión de que alguno es un estado de la técnica pertinente, ni constituye ninguna admisión en cuanto al contenido o la fecha de los mismos. Una vez que se ha descrito la invención a modo de descripción escrita, los expertos en la materia reconocerán que la invención se puede practicar en una variedad de realizaciones y que la descripción anterior y los ejemplos a continuación tienen fines ilustrativos y no limitativos de las reivindicaciones que siguen.

La invención puede realizarse de otras formas específicas sin apartarse de las características esenciales de la misma. Por lo tanto, las realizaciones anteriores deben considerarse en todos los aspectos ilustrativas en lugar de limitantes de la invención descrita en el presente documento. Por lo tanto, el alcance de la invención está indicado por las reivindicaciones adjuntas en lugar de por la descripción anterior.

## REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor de EZH2 para usar en el tratamiento de un linfoma no Hodgkin (NHL) en el que el NHL es un linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) y en el que el inhibidor de EZH2 es EPZ-6438 que tiene la siguiente fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El inhibidor de EZH2 para el uso de la reivindicación 1, en el que el NHL es un NHL con EZH2 de tipo silvestre.

3. El inhibidor de EZH2 para el uso de la reivindicación 1, en el que el NHL es un NHL con EZH2 mutante.

4. El inhibidor de EZH2 para el uso de la reivindicación 1, en el que el NHL es un linfoma derivado del centro germinal.

5. El inhibidor de EZH2 para el uso de la reivindicación 1, en el que el NHL es un linfoma derivado del centro no germinal.

6. El inhibidor de EZH2 para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el inhibidor de EZH2 se administra por vía oral.

7. El inhibidor de EZH2 para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el inhibidor de EZH2 se administra al sujeto a una dosis de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 3200 mg por día.

8. El inhibidor de EZH2 para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el inhibidor de EZH2 se administra al sujeto a una dosis de aproximadamente 100 mg BID a aproximadamente 1600 mg BID.

9. El inhibidor de EZH2 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el inhibidor de EZH2 se administra al sujeto a una dosis de aproximadamente 100 mg BID, 200 mg BID, 400 mg BID, 800 mg BID o aproximadamente 1600 mg BID.

10. El inhibidor de EZH2 para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el inhibidor de EZH2 se administra al sujeto a una dosis de 800 mg BID.

11. El inhibidor de EZH2 para el uso de la reivindicación 1, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz del inhibidor de EZH2 a un sujeto que lo necesita.

12. El inhibidor de EZH2 para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el inhibidor de EZH2 se administra como parte de una terapia de combinación con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas, por ejemplo, cirugía o radiación.

13. El inhibidor de EZH2 para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en combinación con (i) uno o más agentes terapéuticos; o (ii) radioterapia.

14. El inhibidor de EZH2 para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que el sujeto expresa un EZH2 mutante o un EZH2 de tipo silvestre; o en el que el sujeto tiene una mutación en el gen EZH2 o tiene un gen EZH2 de tipo silvestre.

15. El inhibidor de EZH2 para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en el que el sujeto es un ser humano.

Fig. 1

**Primer ensayo en Fase 1 en humanos**

- EPZ-6438 (Tazemetostat): dosificación oral de 100 mg a 1600 mg dos veces al día
- Población: linfoma de células B recidivante o refractario o tumores sólidos
- Diseño de estudio: escala de dosis 3 + 3
  - Cohortes de expansión con 800 mg (n = 6 planeadas) y 1600 mg (n = 6 planeadas)
  - Subestudio del efecto de los alimentos con 400 mg (n = 12 planeados)
- Criterio de valoración principal: determinación de RP2D/MTD
- Criterios de valoración secundarios: seguridad, PK, PD y respuesta tumoral (cada 8 semanas)
- Corte de datos: 8 de junio de 2015

Dosis (mg dos veces al día)	Pacientes (n=45)	Tumores sólidos (n=26)	NHL de células B (n=19)
100*	6	5	1
200	3	1	2
400	3	2	1
800	14	6	8
1600	12	8	4
Efecto del Alimento	7	4	3

\* 2 formulaciones

Fig. 2

Tipos de Tumores del Paciente

NHL recidivante o refractario		n=19 *
Linfoma difuso de células B grandes (DLBCL)	GCB	4
	no GCB	6
	indeterminado	3
Linfoma folicular (FL)		5
Linfoma de zona marginal(MZL)		1
<b>Tumor sólido recidivante o refractario</b>		<b>n=26</b>
Tumor deficiente en INI-1		10
Malignidad GI		7
Malignidad GU		5
Sarcoma		3
Tumor del SNC		1

\* 14 pacientes con NHL analizados hasta la fecha: Prueba de mutación de EZH2 de 13 WT + 1 mutante por **cobas**®  
(en desarrollo, Roche Molecular Systems, Inc.)

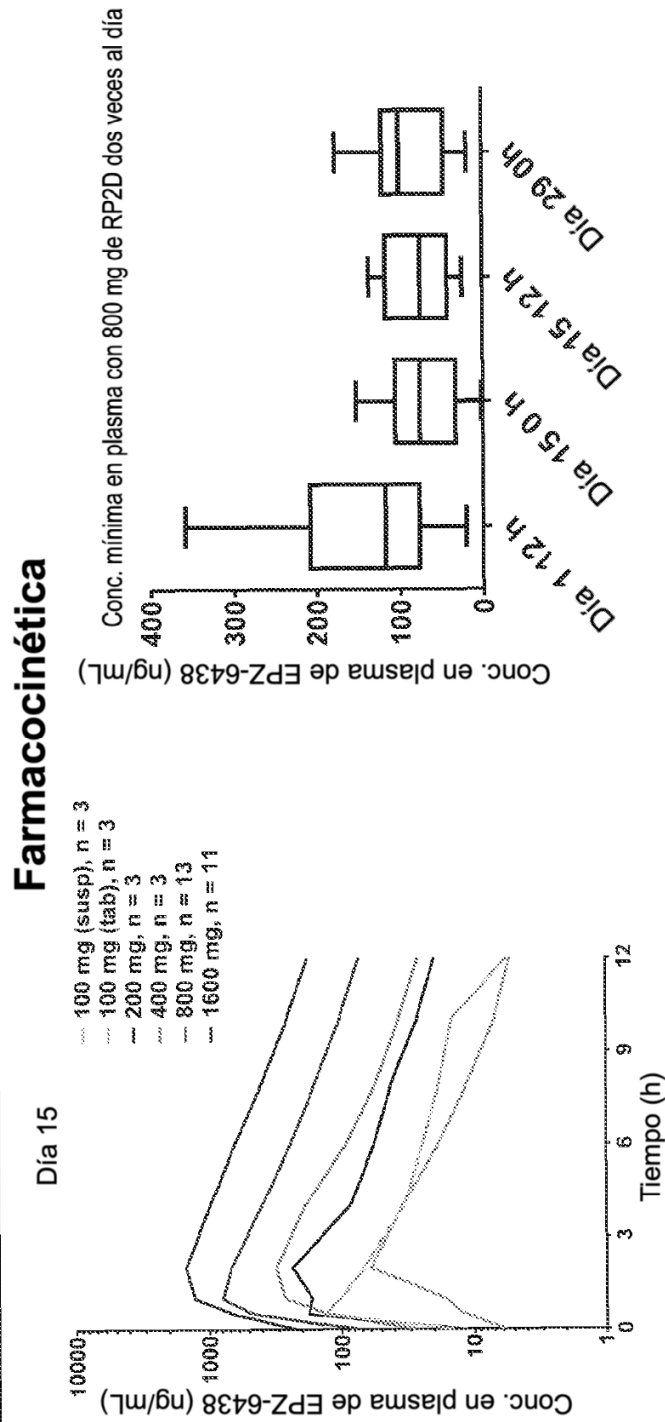


Fig. 3

## Datos demográficos del paciente con NHL

Característica		Pacientes (n=19) n (%)
Edad media, años (intervalo)		61 (24 - 84)
Sexo (M / F)		14 (74) / 5 (26)
# de regímenes terapéuticos previos	1	2 (10)
	2	1 (5)
	3	7 (37)
	4	2 (10)
	≥5	7 (37)
Refractaria al último regimen previo		7 (37)
Transplante previo de células hematopoyéticas autólogas		5 (26)

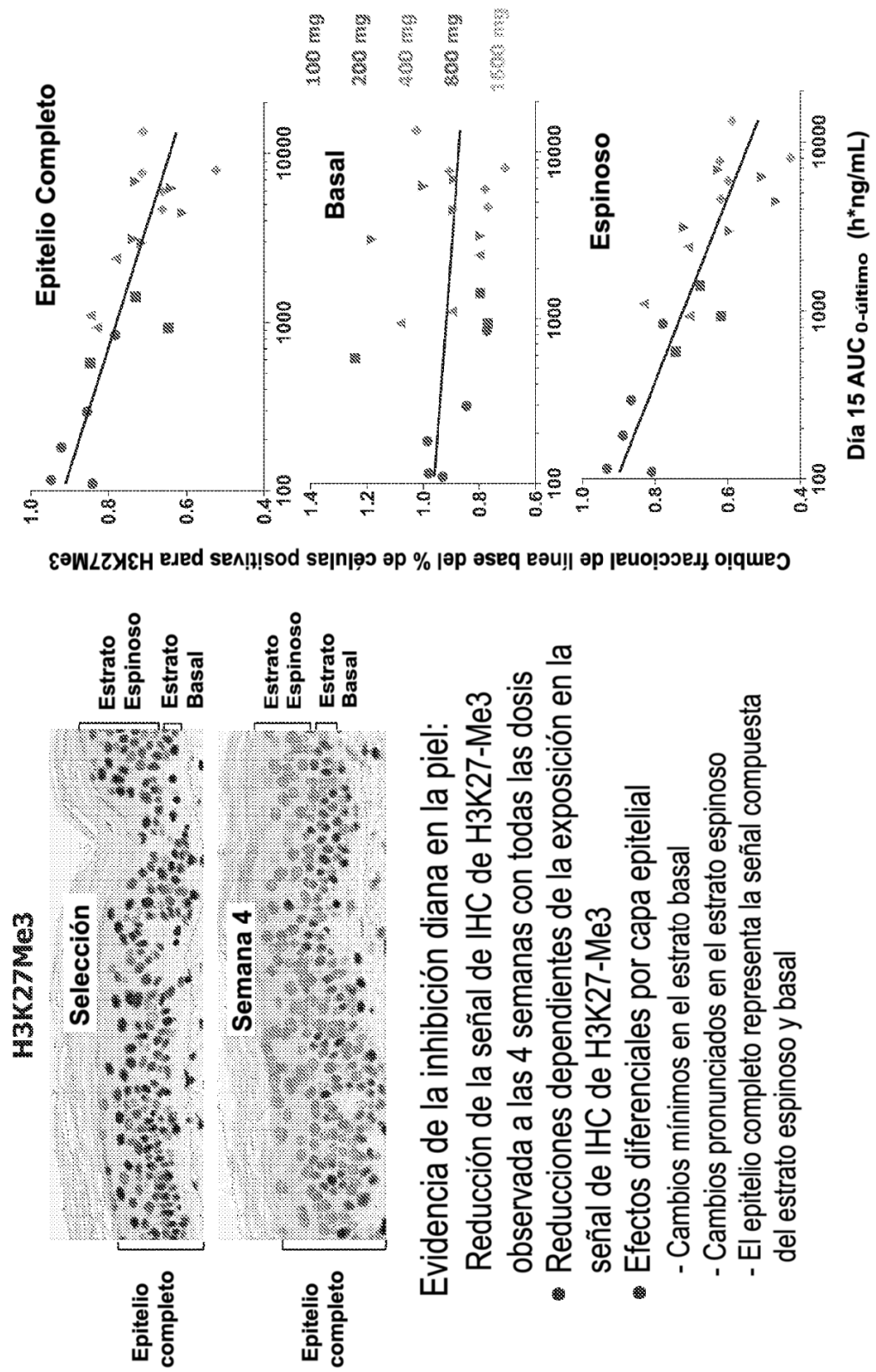
Fig. 4



- Absorción rápida ( $t_{\max} = 1-2$  h) con un  $t_{1/2}$  terminal medio = 3-5 h
- $C_{\max}$  proporcional a la dosis y  $AUC_{0-12\text{ h}}$  en estado estable (día 15) hasta 1600 mg dos veces al día
- Disminución en exposición sistémica entre el día 1 y el día 15 sin reducción adicional posterior
  - disminución del 42 % en  $AUC_{0-12\text{ h}}$  el día 15 frente al día 1 con 800 mg dos veces al día
  - los niveles de  $C_{\min}$  alcanzan un estado estable el día 15



Fig. 5



### Evidencia de la inhibición diana en la piel:

Reducción de la señal de IHC de H3K27-Me3

observada a las 4 semanas con todas las dosis

- Reducciones dependientes de la exposición en la señal de IHC de H3K27-Me3
- Efectos diferenciales por capa epitelial
  - Cambios mínimos en el estrato basal
  - Cambios pronunciados en el estrato espinoso
  - El epitelio completo representa la señal compuesta del estrato espinoso y basal

Fig. 6

	n = 45			
	Todos los Eventos		Relacionado con el tratamiento	
	Todos los Grados *	Grado $\geq 3$	Todos los Grados	Grado $\geq 3$ †
<b>Cualquier paciente con AE</b>	42	13	29	5
Astenia	23	1	10	0
Anorexia	11	2	4	1
Anemia	9	1	4	0
Disnea	9	0	0	0
Nausea	8	0	6	0
Constipación	7	0	2	0
Vómito	6	0	3	0
Trombocitopenia	6	2	4	1
Dispepsia	5	0	5	0
Espasmo muscular	5	0	2	0
Hipertensión	4	1	2	1
Neutropenia	2	1	2	1
Transaminasa ↑	2	1	1	1

Pacientes con:

Reducción de dosis = 1

Descontinuación del fármaco = 1

Interrupción de la dosis = 7

\* >10 % de los pacientes

† todos los pacientes

Fig. 7

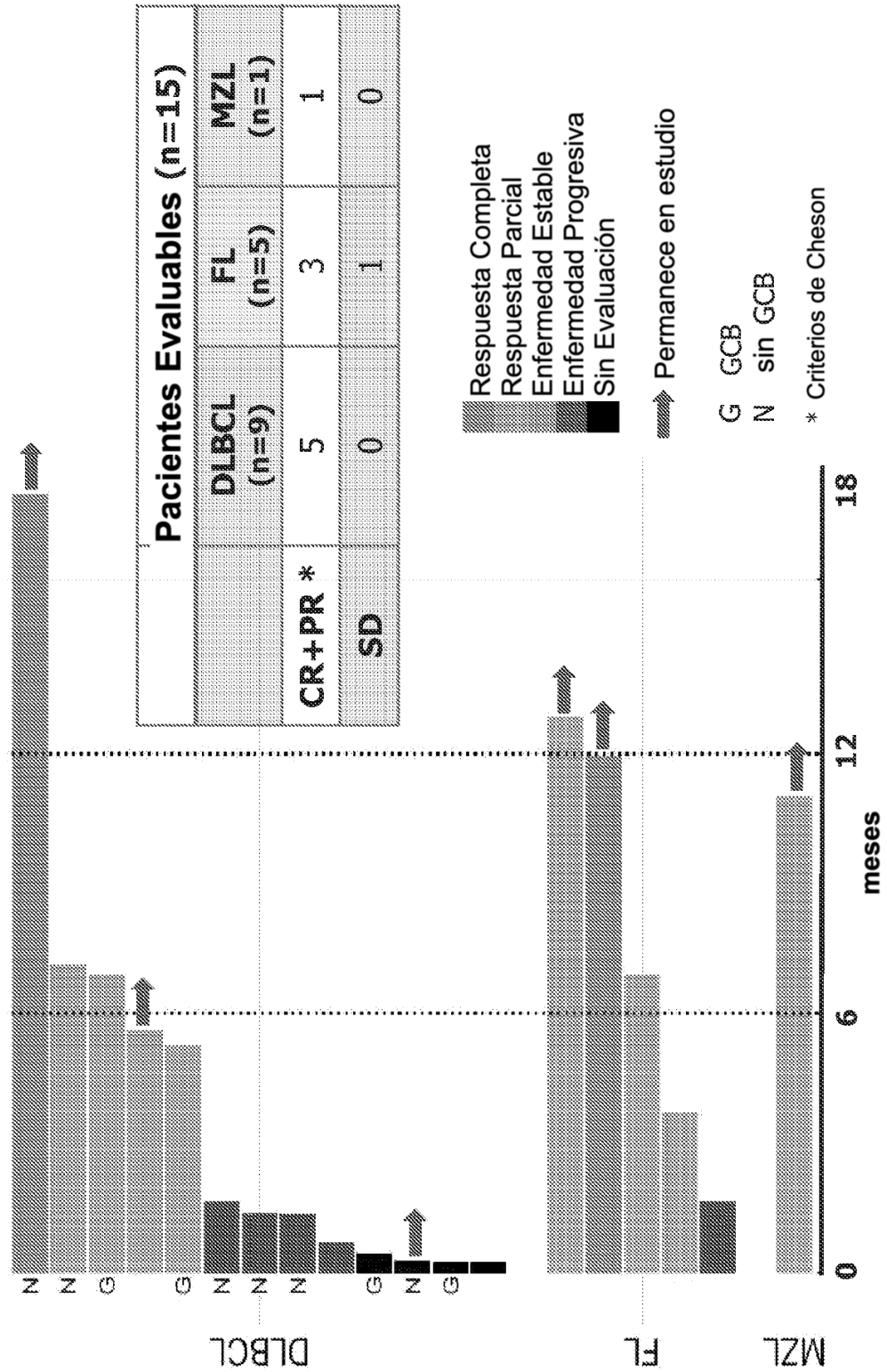
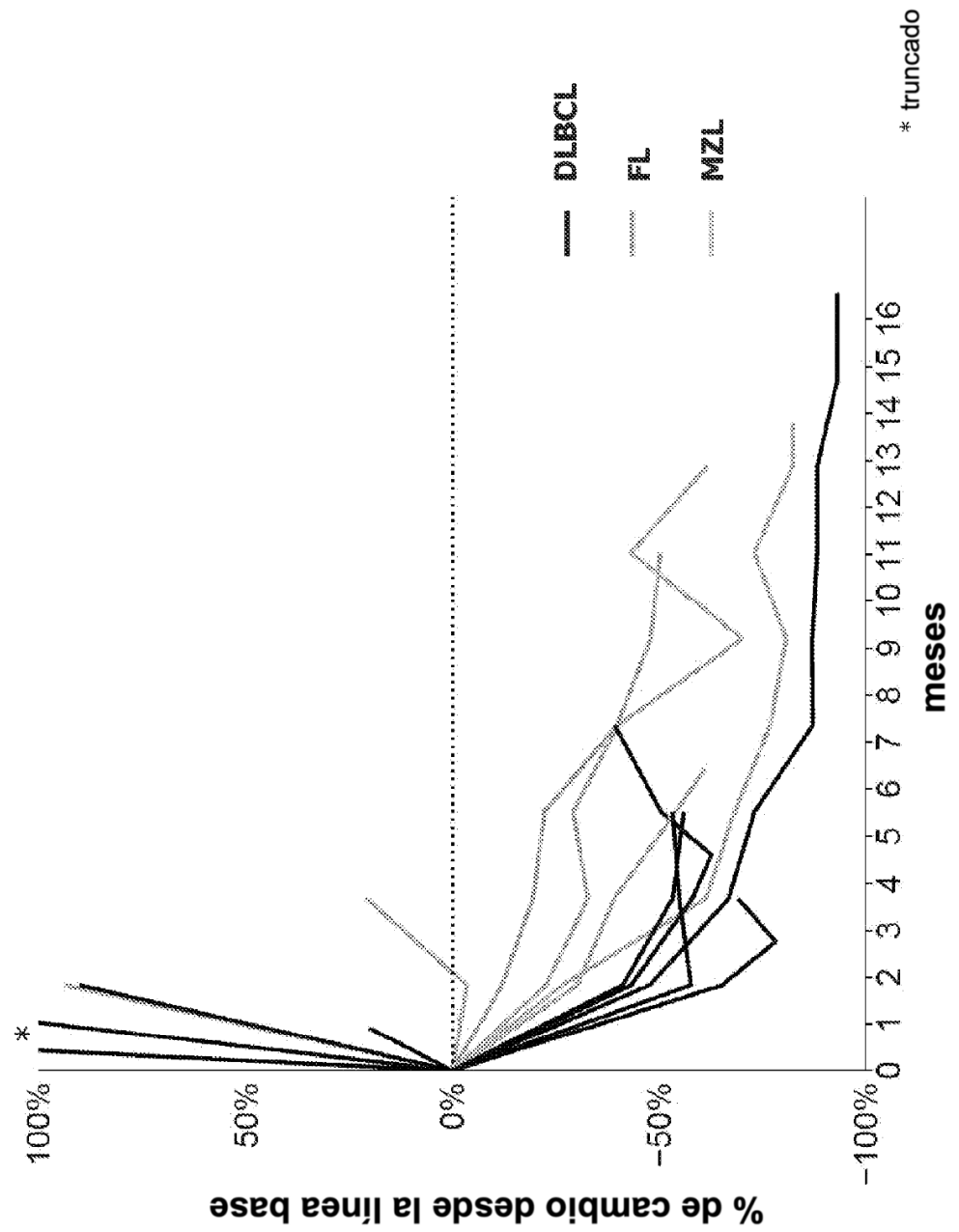


Fig. 8



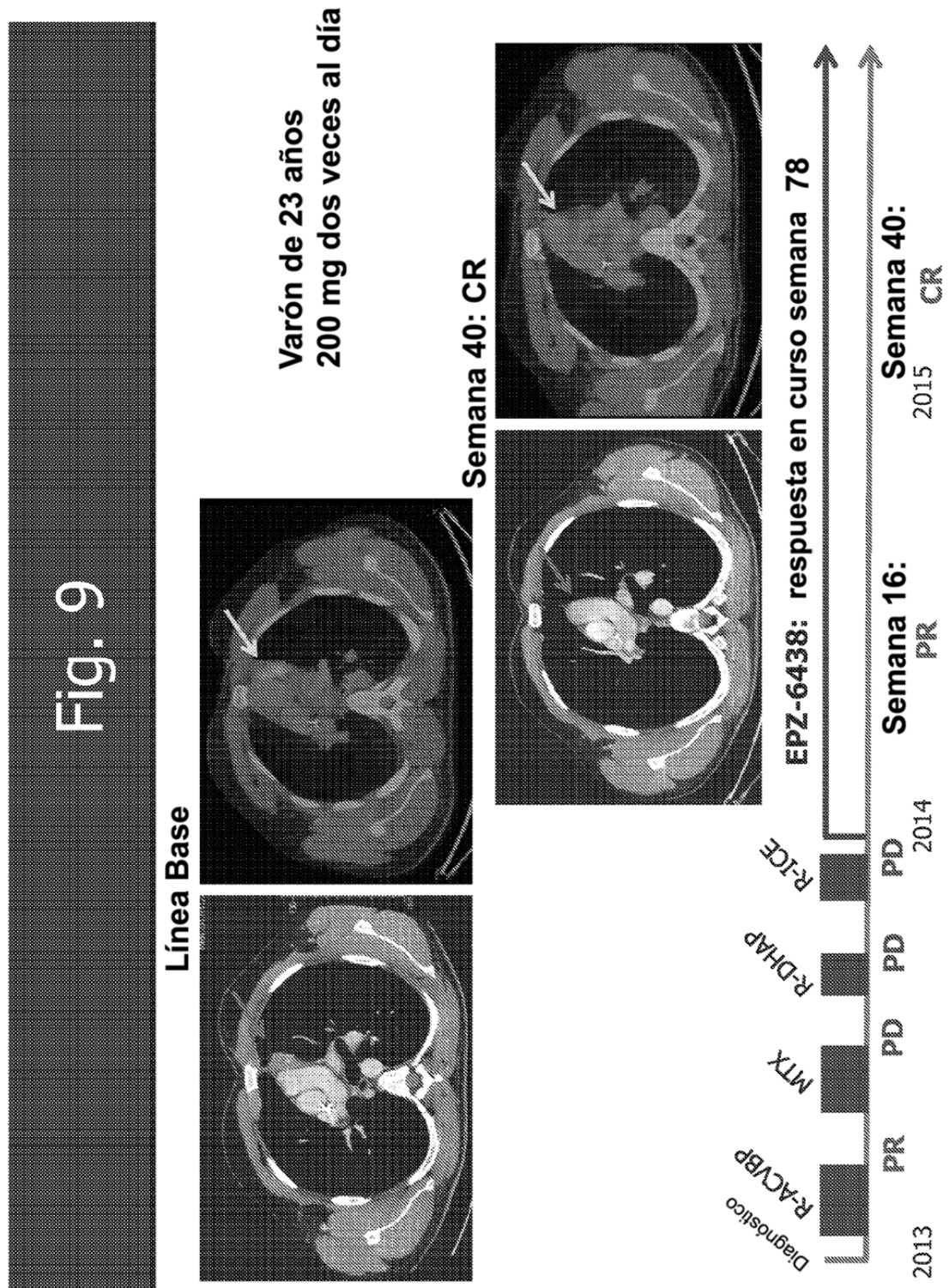




Fig. 10

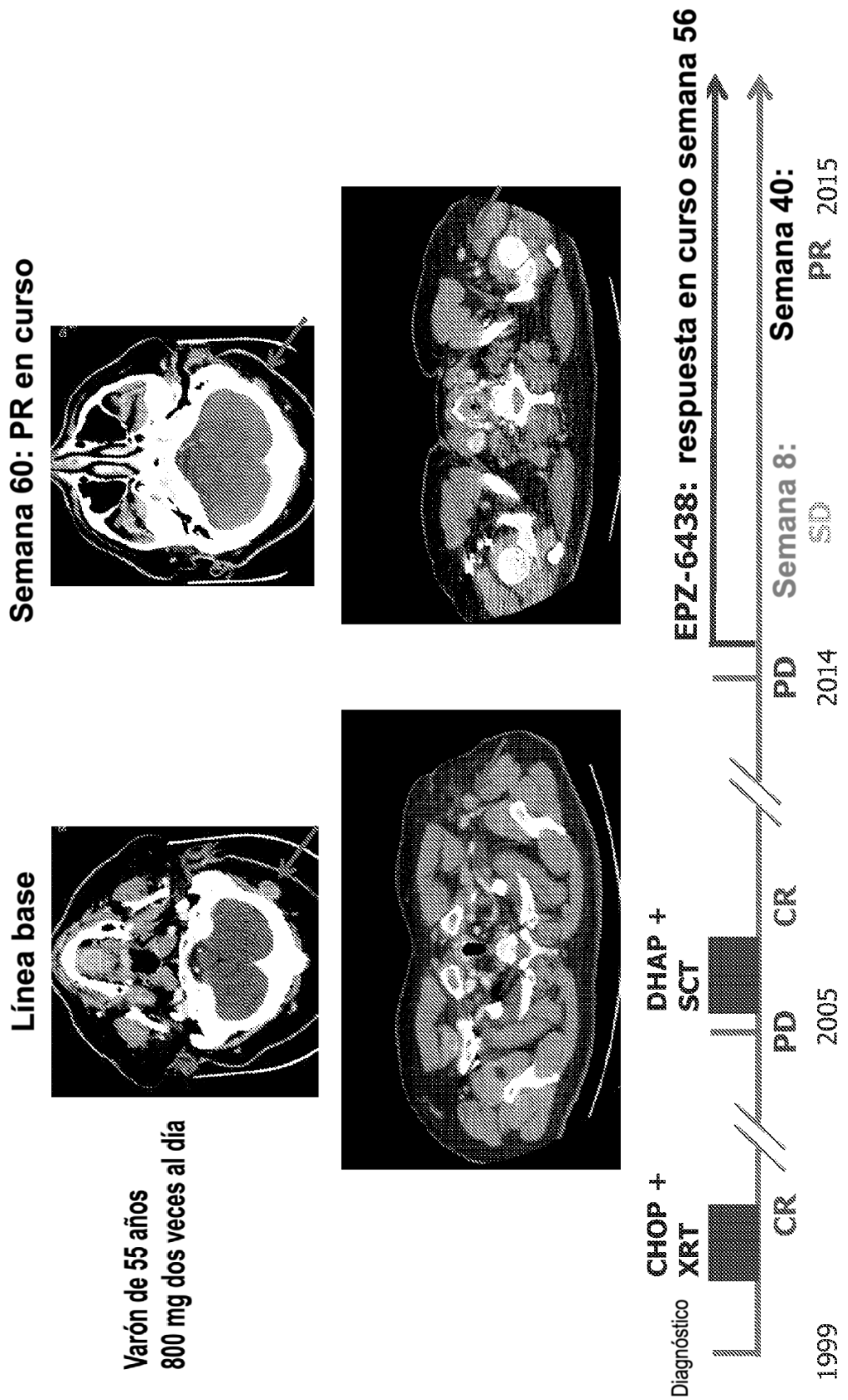


Fig. 11

