

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 253**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2010 E 10715447 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015 EP 2421536**

54 Título: **Métodos para el tratamiento de tumores sólidos**

30 Prioridad:

20.04.2009 US 171047 P

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

15.10.2015

73 Titular/es:

**GILEAD CALISTOGA LLC (100.0%)
333 Lakeside Drive
Foster City. CA 94404, US**

72 Inventor/es:

**PURI, KAMAL D.;
EVARTS, JERRY B.;
LANNUTTI, BRIAN y
GIESE, NEILL A.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 548 253 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

Métodos para el tratamiento de tumores sólidos

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente provisional en Estados Unidos N° 61/171.047 presentada el 20 de abril de 2009.

10 **Campo técnico**

La invención se sitúa en el campo de los agentes terapéuticos y la química médica. En particular, la invención concierne a métodos para el tratamiento de determinados tumores sólidos que incluyen la administración de determinados derivados de quinazolinona.

15

Técnica anterior

La señalización celular por medio de fosfoinositidas 3'-fosforiladas se ha implicado en varios procesos celulares, por ejemplo, la transformación maligna, la señalización del factor de crecimiento, la inflamación, y la inmunidad. La enzima responsable de generar estos productos de señalización fosforilados, la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3-quinasa; PI3K), se identificó originalmente como una actividad asociada a oncoproteínas virales y a tirosina quinasa receptoras del factor de crecimiento que fosforila el fosfatidilinositol (PI) y sus derivados fosforilados en el 3'-hidroxilo del anillo de inositol.

20

La activación de la PI3-quinasa, se cree que está implicada en una serie de respuestas celulares que incluyen el crecimiento, la diferenciación y la apoptosis celular. La Figura 1 muestra algunas vías celulares mediante las cuales la PI3K (representada por p110 y p85) participa en la activación de los tumores sólidos.

25

La purificación inicial y la clonación molecular de la PI3-quinasa revelaron que era un heterodímero que consiste en las subunidades p85 y p110. Se han identificado cuatro PI3K de Clase I distintas, designadas como PI3K α , β , δ , y γ , consistiendo cada una en una subunidad catalítica p110 distinta y una subunidad reguladora. Más específicamente, tres de las subunidades catalíticas, es decir, la p110 α , la p110 β y la p110 δ , interactúan cada una con la misma subunidad reguladora, la p85; mientras que la p110 γ interactúa con una subunidad reguladora distinta, la p101. Los patrones de expresión de cada una de estas PI3K en células y tejidos humanos son también distintos.

30

La identificación de la isoforma p110 δ de la PI3-quinasa se describe en Chantry et al., *J. Biol. Chem.*, 272:19236-41 (1997). Se observó que la isoforma p110 δ humana se expresa en un modo restringido al tejido. Se expresa a elevados niveles en linfocitos y tejidos linfoides, sugiriendo que la proteína podría desempeñar un papel en la señalización mediada por la PI3-quinasa en el sistema inmune. La isoforma p110 β de la PI3K puede desempeñar un papel en la señalización mediada por la PI3K en ciertos cánceres. La Figura 2 ilustra las cantidades relativas de estas isoformas de la p110 en una serie de diferentes líneas celulares cancerosas. Algunos tumores sólidos exhiben muy poco o nada de la p110 α , y muchos tienen bajos niveles de la p110 δ , pero todos los ensayos mostraban niveles significativos de la p110 β .

35

Existe la necesidad de un tratamiento de los trastornos mediados por la PI3K relacionados con cánceres, enfermedades inflamatorias, y enfermedades autoinmunes. Se han descrito compuestos de quinazolinona como generalmente útiles para el tratamiento de cánceres principalmente hematológicos que expresan niveles relativamente elevados de la p110 δ , ya que las quinazolinonas son más activas como inhibidores de la p110 δ . Otros inhibidores de la PI3K están en desarrollo para el tratamiento de tumores sólidos, pero parece que son inhibidores no selectivos de varias isoformas de la p110, o inhibidores principalmente de la p110 α . Por ejemplo, el XL-147 inhibe la p110 α y la p110 δ y la p110 γ con similares CI50 de acuerdo con Exelixis, y tiene un actividad 10 veces menor sobre la p110 β ; el BEZ235 se describe como un inhibidor de la pan-PI3K que también actúa sobre la mTOR; y el GDC-0941 se describe como un inhibidor de la p110 α . Los inhibidores con menor selectividad, o con mayores niveles de actividad p110 α , cabría esperar que tuvieran actividades inespecíficas; la p110 α , por ejemplo, está implicada en la regulación de la glucosa y los niveles de insulina. La presente invención proporciona un isómero específico de un compuesto de quinazolinona que es particularmente útil para el tratamiento de tumores sólidos. Aunque es más activo sobre la p110 δ que sobre las otras isoformas de la PI3K, la capacidad de este compuesto para tratar tumores sólidos se cree que se debe a su actividad relativamente elevada como inhibidor de la p110 β combinada con un alto nivel de biodisponibilidad oral, y exhibe niveles relativamente bajos de actividad funcional frente a la p110 α .

40

45

50

55

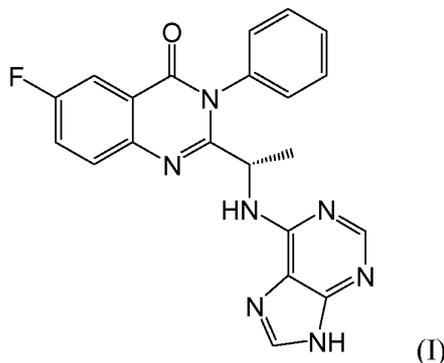
60

Sumario

La invención proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en nuevos métodos para tratar determinados tumores sólidos. En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula I ópticamente activo para su uso en un método para el tratamiento del cáncer en un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto un compuesto

65

de fórmula I ópticamente activo:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El compuesto ópticamente activo es predominantemente el isómero S mostrado en el presente documento, si bien puede contener como componente minoritario cierta proporción del enantiómero R. Preferentemente el compuesto para su uso en los métodos de la invención consiste fundamentalmente en el isómero S como se discutirá más adelante en el presente documento.

10 El compuesto para su uso en los métodos de la invención se puede administrar mediante diversas vías de administración, si bien, preferentemente, el compuesto se administra por vía oral.

El sujeto puede ser cualquier mamífero; en realizaciones preferidas el sujeto es un humano.

15 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la actividad antitumoral de este compuesto se cree que resulta de su inhibición de la p110 β más que de la inhibición de la p110 δ o la p110 α . Exhibió actividad en varias líneas celulares cancerosas que expresaban muy poco la p110 δ , y algunas que no expresaban cantidades significativas de la p110 α ; pero todas las líneas celulares ensayadas expresaban la p110 β .

20 Asimismo, el Compuesto I exhibió una actividad funcional comparativamente baja sobre la p110 α en un sistema de transformación celular diseñado para medir la actividad funcional de estas quinasas, si bien es un potente inhibidor tanto de la p110 β como de la p110 δ en ese ensayo. Véase el ejemplo 1. Se ha comunicado que este sistema de transformación de fibroblastos de embrión de pollo (FEP) es un modo útil para evaluar la actividad funcional de la vía de señalización de la PI3K. Denley, et al., "Oncogenic signaling of class I PI3K isoforms," *Oncogene*, vol. 27(18), 2561-74 (2008). La transformación de las células FEP en el ensayo depende de la actividad quinasas funcional.

25 Kang, et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. EE.UU.*, vol. 103(5), 1289-94 (2006). Análogamente en otros ensayos funcionales basados en células, el Compuesto I es el más activo sobre la p110 δ y la p110 β , con una actividad relativamente menor frente a la p110 α .

30 Tal y como ilustra la Figura 4, el Compuesto I a una concentración 10 micromolar inhibe la fosforilación de la Akt, que es un mediador corriente abajo de la activación de la PI3K (Véase la Figura 1), en dos líneas celulares cancerosas, la T47D (cáncer de mama) y la OVCAR-3 (cáncer de ovario). Es significativo también que la T47D tiene una mutación que activa la p110 α , aunque no reduce significativamente el efecto del Compuesto I frente a esta línea celular, sugiriendo además que la actividad antitumoral de este compuesto debe residir en su efecto sobre otras isoformas más que sobre la p110 α . Esto distingue al Compuesto I de otros inhibidores conocidos de la PI3K en desarrollo para el tratamiento de tumores sólidos, que se cree actúa fundamentalmente sobre la isoforma p110 α o sobre la p110 α más otras isoformas, o incluso sobre todas las PI3K más la mTOR.

35

40 El Compuesto I es útil para tratar determinados cánceres. En algunas realizaciones el cáncer es un cáncer no hematopoyético. En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido seleccionado de entre el cáncer pancreático; el cáncer de vejiga; el cáncer colorrectal; el cáncer de mama; el cáncer de próstata; el cáncer renal; el cáncer hepatocelular; el cáncer de pulmón; el cáncer de ovario; el cáncer de cuello uterino; el cáncer gástrico; el cáncer de esófago; el cáncer de cabeza y cuello; el melanoma; cánceres neuroendocrinos; cánceres del SNC; tumores cerebrales; el cáncer óseo; y el sarcoma de los tejidos blandos. En algunas realizaciones es el cáncer de pulmón (el carcinoma no microcítico de pulmón, el carcinoma microcítico de pulmón), el cáncer de colon, el cáncer del SNC, el melanoma, el cáncer de ovario, el cáncer renal, el cáncer de próstata o el cáncer de mama.

45

50 En algunas realizaciones, el método comprende administrar una cantidad eficaz del Compuesto I o una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto I, a un sujeto aquejado de uno de estos cánceres. En realizaciones preferidas, el compuesto se administra por vía oral. El compuesto se puede administrar solo o en forma de una composición farmacéutica que comprende el Compuesto I mezclado con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En realizaciones particulares, el cáncer es el cáncer de mama, el cáncer de pulmón, el cáncer de próstata, el cáncer renal, o el cáncer de ovario. En una realización particular, el método comprende administrar al paciente que va a ser

tratado, además de un compuesto de fórmula I, una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico adicional y/o un procedimiento terapéutico adicional seleccionado para tratar el cáncer.

5 La invención proporciona, por tanto, un compuesto de fórmula I ópticamente activo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I ópticamente activo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método para el tratamiento de un tumor sólido en un sujeto, comprendiendo el método administrar a dicho sujeto dicho compuesto de fórmula I ópticamente activo o dicha sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o dicha composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I ópticamente activo o dicha sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que la
10 cantidad del compuesto de fórmula I o una sal del mismo es una cantidad eficaz para tratar el tumor sólido.

En determinadas realizaciones, el tumor sólido se selecciona de entre el grupo que consiste en el cáncer pancreático; el cáncer de vejiga; el cáncer colorrectal; el cáncer de mama; el cáncer de próstata; el cáncer renal; el cáncer hepatocelular; el cáncer de pulmón; el cáncer de ovario; el cáncer de cuello uterino; el cáncer gástrico; el
15 cáncer de esófago; el cáncer de cabeza y cuello; el melanoma; cánceres neuroendocrinos; cánceres del SNC; tumores cerebrales; el cáncer óseo; y el sarcoma de los tejidos blandos. En algunas realizaciones, el tumor sólido se selecciona de entre el carcinoma no microcítico de pulmón, el carcinoma microcítico de pulmón, el cáncer de colon, el cáncer del SNC, el melanoma, el cáncer de ovario, el cáncer renal, el cáncer de próstata y el cáncer de mama.

20 El Compuesto I para su uso en los métodos de la invención, es ópticamente activo. Preferentemente, el enantiómero S predomina sobre el enantiómero R en una relación de al menos aproximadamente 9:1. En realizaciones específicas, el enantiómero S predomina sobre el enantiómero R en una relación de al menos aproximadamente 19:1.

25 En realizaciones preferidas, el Compuesto I se administra por vía oral. Normalmente, se administra en forma sólida, y se mezcla normalmente con un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable.

El compuesto para su uso en un método de tratamiento se puede aplicar al tratamiento de varios tipos de tumores. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario, renal, de mama, de pulmón, de colon o de próstata.
30

El sujeto es un mamífero, y es normalmente un humano. En algunas realizaciones, el sujeto no responde al tratamiento de quimioterapia, o sufre una recaída tras el tratamiento de quimioterapia. Los métodos de la invención son útiles también para reducir el nivel de actividad p110 β en el sujeto.

35 El compuesto de fórmula I se puede administrar a una dosis de 20-500 mg/día. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I se administra al menos dos veces al día. En realizaciones específicas, se administra a una dosis de 50-250 mg/día. En algunas realizaciones, se administra a una dosis de 50-150 mg dos veces al día.

40 En algunas realizaciones, la dosis del Compuesto I se selecciona para proporcionar una concentración del Compuesto I en la sangre que alcance un punto entre 40 y 10.000 ng/ml durante un periodo de 12 horas desde el momento de la administración. En algunas realizaciones, la dosificación proporciona una concentración del Compuesto I en la sangre que está entre aproximadamente 100 ng/ml y 6000 ng/ml en el sujeto tratado. En algunas realizaciones, la dosificación se selecciona para producir una C_{max} (nivel máximo en el plasma) del Compuesto I entre 1.000 ng/ml y 8.000 ng/ml.
45

El Compuesto I se puede administrar por vía oral, por vía transdérmica, o mediante inyección o inhalación. En algunas realizaciones, se administra por vía oral.

50 En otro aspecto, la invención proporciona una terapia de combinación para el tratamiento del cáncer, que comprende administrar el Compuesto I a un sujeto que está recibiendo simultáneamente tratamiento con un agente terapéutico adicional, o una terapia contra el cáncer adicional.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional que se va a usar con el Compuesto I se selecciona de entre el grupo siguiente que consiste en docetaxel, mitoxantrona, prednisona, estramustina, antraciclinas, (doxorubicina (Adriamycin), epirubicina (Ellence), y doxorubicina liposómica (Doxil)), taxanos (docetaxel (Taxotere), paclitaxel (Taxol), y paclitaxel unido a proteínas (Abraxane)), ciclofosfamida (Cytosan), capecitabina (Xeloda) y 5 fluorouracilo (5 FU), gemcitabina (Gemzar), metotrexato, vinorelbina (Navelbine), un inhibidor del RFCE tal como erlotinib, trastuzumab, Herceptin, Avastin, platinos (cisplatino, carboplatino), temazolamida, interferón alfa, y IL-2. En algunas realizaciones, se selecciona de entre el grupo que consiste en un inhibidor del RFCE, un inhibidor de la
60 mTOR, un platino, y un taxano.

En algunas realizaciones, el procedimiento terapéutico que se va a usar con el Compuesto I se selecciona de entre el grupo que consiste en el trasplante de células madre de sangre periférica, el trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas, el trasplante autólogo de médula ósea, la terapia con anticuerpos, la terapia biológica, la terapia con inhibidores de enzimas, la irradiación total del cuerpo, la infusión de células madre, la ablación de la médula ósea con apoyo de células madre, el trasplante de células madre de sangre periférica tratadas *in vitro*, el trasplante
65

de sangre de cordón umbilical, la técnica inmunoenzimática, el método de la tinción inmunohistoquímica, el estudio farmacológico, la terapia de rayos gamma con cobalto 60 de baja TLE, la bleomicina, la cirugía convencional, la radioterapia, la quimioterapia de dosis alta y el trasplante alogénico no mieloablativo de células madre hematopoyéticas.

5 En algunas realizaciones, los métodos de la invención comprenden además obtener una muestra biológica de dicho paciente; y analizar la muestra biológica con un procedimiento analítico seleccionado de entre el grupo que consiste en el análisis químico de la sangre, el análisis de translocaciones cromosómicas, la biopsia con aguja, la hibridación fluorescente *in situ*, el análisis con biomarcadores de laboratorio, el método de la tinción inmunohistoquímica, la citometría de flujo o una combinación de los mismos. El análisis proporciona información que se puede usar para determinar si se ajusta la dosis del Compuesto I hacia arriba o hacia abajo, o para terminar el tratamiento con el Compuesto I, o para añadir un agente terapéutico adicional o un procedimiento terapéutico a los métodos de tratamiento que usan el Compuesto I.

15 En algunas realizaciones, el Compuesto I se administra dos veces al día durante aproximadamente 28 días, y después se deja de administrar durante al menos 7 días.

La descripción detallada siguiente es para ayudar a la comprensión y el empleo de los métodos de la invención.

20 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra parte de la vía de señalización de la PI3k asociada a la activación de los tumores sólidos.

La Figura 2 muestra los niveles relativos de las isoformas alfa, beta, delta y gamma de la p110 en seis diferentes líneas celulares cancerosas, junto con los niveles de la Akt y la pAkt.

25 La Figura 3 muestra la lectura de un ensayo de transformación de FEP funcional para la actividad relativa de varias isoformas de la p110y

La Figura 4 muestra cómo el Compuesto I, a concentraciones desde 0,01 μ M hasta 10 μ M, afecta a la fosforilación de la Akt, la GSK β , y la S6 en dos líneas celulares cancerosas, comparado con cómo afecta el GDC-0941, el cual se describe como un inhibidor de la p110alfa, a las mismas fosforilaciones.

30 La Figura 5 ilustra un esquema de reacción para la síntesis del Compuesto I.

La Figura 6 muestra los niveles en plasma del Compuesto I en ratones que recibieron una dosis oral única del compuesto, comparados con los niveles en plasma de otro compuesto de quinazolinona (Compuesto B) con una estructura similar, para ilustrar la alta biodisponibilidad oral proporcionada por el Compuesto I.

35 La Figura 7 muestra la inhibición dependiente de la dosis del crecimiento de cultivos de células tumorales para dos diferentes líneas tumorales.

La Figura 8 muestra que el Compuesto I a 30 mg/kg dos veces al día inhibía completamente el crecimiento de un xenoinjerto de tumor durante un periodo de cinco semanas, mientras que los correspondientes xenoinjertos en animales de control sin tratar aumentaban más del doble en volumen durante el mismo periodo de tiempo.

40 La Figura 9 muestra que el Compuesto I a 30 mg/kg dos veces al día inhibía significativamente el crecimiento de un xenoinjerto de tumor durante un periodo de tres semanas, mientras que los correspondientes xenoinjertos en animales de control sin tratar se expandían mucho más rápidamente durante el mismo periodo de tiempo.

La Figura 10 muestra el perfil de concentración plasmática para el Compuesto I en los ratones que portaban un xenoinjerto de las Figuras 8 y 9, cuando se administra como una dosis única de 30 mg/kg.

45 La Figura 11 muestra los perfiles de concentración plasmática en los primeros y los últimos días del ensayo de múltiples días del Compuesto I en ratones sanos que recibieron 60 mg/kg, 120 mg/kg, o 240 mg/kg al día. La dosis de 60 mg/kg fue bien tolerada, demostrando que la dosis de tratamiento (30 mg/kg dos veces al día) no solo es tolerada sino también eficaz en ratones.

50 Modos de llevar a cabo la invención

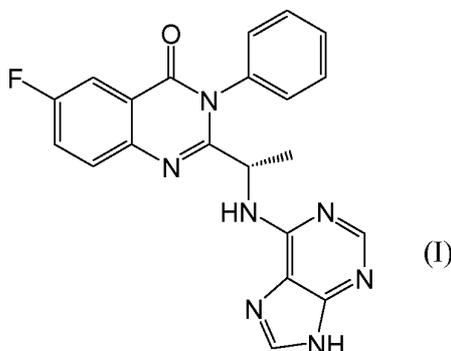
A menos que se defina de otro modo, todos los términos de la técnica, notaciones y otros términos o terminología científica usados en el presente documento se pretende que tengan los significados entendidos normalmente por los expertos en la técnica a la cual pertenece la presente invención. En algunos casos, los términos con significados entendidos normalmente se definen en el presente documento a efectos de claridad y/o para una referencia fácil, y la inclusión de tales definiciones en el presente documento no deben interpretarse necesariamente como que representan una diferencia sustancial con respecto a lo que se entiende generalmente en la técnica. Muchas de las técnicas y procedimientos descritos o referenciados en el presente documento son bien comprendidos y son empleados normalmente usando metodología convencional por los expertos en la técnica. Cuando proceda, los procedimientos que implican el uso de kits y reactivos disponibles en el mercado generalmente se llevan a cabo de acuerdo con los parámetros y/o protocolos definidos por el fabricante, a menos que se indique lo contrario.

La discusión de los métodos generales dados en el presente documento se pretende solo para fines ilustrativos. Otros métodos y realizaciones alternativos serán evidentes para los expertos en la técnica tras la revisión de esta memoria descriptiva.

65 Un grupo de puntos unidos con la conjunción "o" no debe interpretarse como que requiere una exclusividad mutua

en ese grupo, sino que más bien debe interpretarse como "y/o" a menos que se indique lo contrario. Si bien los puntos, elementos, o componentes de la invención se pueden describir o reivindicar en singular, se contempla que el plural esté dentro del alcance de la misma a menos que se indique explícitamente la limitación al singular.

- 5 La invención proporciona un compuesto de fórmula I para su uso en un método para el tratamiento del cáncer y, particularmente, de tumores sólidos. La invención comprende administrar a dicho sujeto un compuesto de fórmula I:



- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente mezclado con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 El Compuesto I para su uso en los métodos descritos en el presente documento es ópticamente activo, lo que significa que consiste predominantemente en uno de los dos enantiómeros. El compuesto tiene un único centro quiral, en el grupo de unión no cíclico entre el resto quinazolinona y el resto purina. El centro quiral del enantiómero preferido del compuesto de fórmula (I) es el isómero S representado más arriba. El compuesto se usa en una forma ópticamente activa, la cual contiene predominantemente el enantiómero S. Este compuesto se puede sintetizar en una forma ópticamente activa, o se puede preparar en forma racémica (conteniendo cantidades iguales de los isómeros R y S), y después se pueden separar los isómeros. En el presente documento se representa una síntesis quiral del Compuesto I que proporciona el enantiómero S con una pureza óptica muy elevada. Véase la Figura 5. Aunque es preferible excluir sustancialmente el isómero enantiomérico R del compuesto de fórmula (I) para los fines de la invención, los métodos se pueden llevar a la práctica con mezclas de los isómeros R y S, con la condición de que el isómero S sea el componente principal de la mezcla. Normalmente tal mezcla contendrá no más de 25 aproximadamente un 10 % del isómero R, lo que significa que la proporción del isómero S con respecto al R es de al menos aproximadamente 9:1, y preferentemente menos del 5 % del isómero R, lo que significa que la proporción del isómero S con respecto al R es de al menos aproximadamente 19:1. En algunas realizaciones el compuesto usado tiene menos del 2 % de enantiómero R, lo que significa que tiene un exceso enantiomérico de al menos aproximadamente un 96 %.

30 Los compuestos de la invención utilizan una forma ópticamente activa del Compuesto I (el compuesto de fórmula I), lo que significa que, en cada caso, el compuesto es ópticamente activo y contiene predominantemente el enantiómero S, aunque puede contener el enantiómero R del Compuesto I como componente minoritario. A efectos de claridad, cuando una dosificación de un compuesto de fórmula I, o una dosificación del Compuesto I se describe en el presente documento, la dosificación se refiere al peso del compuesto de fórmula I, incluyendo cada 35 enantiómero que está presente. Por tanto, una dosificación de 100 mg del Compuesto I tal y como se usa en el presente documento, por ejemplo, se refiere al peso de la mezcla de enantiómeros más que al peso del enantiómero S específicamente. Se podría referir, por ejemplo, a 100 mg de una mezcla 9:1 de enantiómeros S y R, la cual contendría aproximadamente 90 mg del enantiómero S, o a 100 mg de una mezcla 19:1 de enantiómeros S y R, la cual contendría aproximadamente 95 mg del enantiómero S.

45 Los compuestos de la invención son útiles para tratar cánceres, particularmente tumores sólidos. En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido seleccionado de entre el cáncer pancreático; el cáncer colorrectal y de vejiga; el cáncer de mama; el cáncer de próstata; el cáncer renal; el cáncer hepatocelular; el cáncer de pulmón; el cáncer de ovario; el cáncer de cuello uterino; el cáncer gástrico; el cáncer de esófago; el cáncer de cabeza y cuello; el melanoma; cánceres neuroendocrinos; cánceres del SNC; tumores cerebrales; el cáncer óseo; y el sarcoma de los tejidos blandos. En algunas realizaciones es el cáncer de pulmón (el carcinoma no microcítico de pulmón, el carcinoma microcítico de pulmón), el cáncer de colon, el cáncer del SNC, el melanoma, el cáncer de ovario, el 50 cáncer renal, el cáncer de próstata o el cáncer de mama.

La eficacia del Compuesto I se cree que resulta de su inhibición *in vivo* de la actividad p110 β fundamentalmente, aunque inhibe también la actividad p110 δ . El Compuesto I es selectivo para la inhibición de la p110 β y la p110 δ respecto a la p110 α , y es selectivo para estas dos quinasas respecto a otras quinasas frente a las que se ha ensayado. Su selectividad se ilustra mediante su actividad en un ensayo celular de actividad funcional, en el que

inhibió la p110β con una CE-50 de aproximadamente 150 nM, y la p110δ con una CE-50 de aproximadamente 15 nM, mientras que mostraba mucha menos actividad sobre la p110α (la CE-50 era superior a 2000 nM). Incluso si su actividad frente a la p110β es inferior a su actividad sobre la p110δ, ya que la p110β es la isoforma dominante de la p110 que se observa en tumores sólidos, se cree que la actividad sobre la isoforma delta es menos importante para su actividad en tumores sólidos que su actividad sobre la p110β. Esto también es consistente con la observación de que el Compuesto I exhibe actividad frente a tumores que expresan muy poco o nada de la p110δ (sugiriendo que no dependen de esto), y frente a las líneas celulares tumorales en las que la p110α está activada (véase la discusión anterior sobre la T47D), sugiriendo que unos elevados niveles de la isoforma alfa no reducen la sensibilidad al Compuesto I.

La selectividad con respecto a la p110α es importante para el perfil de seguridad del Compuesto I: la p110α desempeña un papel esencial en la señalización de la insulina y el metabolismo de la glucosa. Los inhibidores no selectivos de la PI3K que también inhiben la actividad p110α se espera que causen efectos secundarios o efectos adversos inespecíficos al afectar a la señalización de la insulina y/o el metabolismo de la glucosa, lo cual no parece que ocurra con el Compuesto I. Se cree que contribuye a la reducción de los efectos inespecíficos para el Compuesto I.

El Compuesto I también es selectivo para estas isoformas de la PI3K respecto a otras quinasas lipídicas, que incluyen otras quinasas PIK3, DNA-PK (otra serina-treonina quinasa), y mTOR. Esta tabla proporciona las CI50 para la inhibición de la actividad quinasa de estas otras quinasas lipídicas:

PIKC3	2500 nM
DNA-PK	13.000 nM
mTOR	100.000 nM

Asimismo, el Compuesto I tiene una actividad comparativamente baja sobre la p110α en un sistema de transformación celular diseñado para medir la actividad funcional de estas quinasas, si bien es un potente inhibidor tanto de la p110β como de la p110δ en ese ensayo. Véase el ejemplo 1. Se ha comunicado que este sistema de transformación de fibroblastos de embrión de pollo (FEP) es un modo útil para evaluar la actividad funcional de la vía de señalización de la PI3K. Denley, et al., "Oncogenic signaling of class I PI3K isoforms," *Oncogene*, vol. 27(18), 2561-74 (2008). La transformación de las células FEP en el ensayo depende de la actividad quinasa funcional. Kang, et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. EE.UU.*, vol. 103(5), 1289-94 (2006). La lectura de este ensayo se basa en la frecuencia de la transformación de las células FEP expuestas a vectores virales que portan una isoforma p110 específica de interés. Véase la Figura 3.

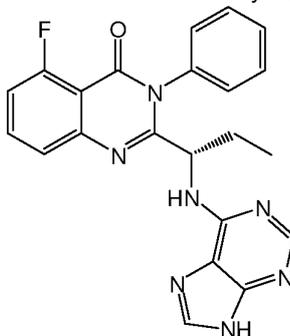
En este sistema, no se alcanzó una CE-50 para la actividad funcional de la p110α a la concentración más alta del Compuesto I ensayado (2000 nM); la CE-50 para la inhibición de la actividad funcional de la p110β por el Compuesto I fue de aproximadamente 150 nM; y la CE-50 para la inhibición de la actividad funcional de la p110δ por el Compuesto I fue de aproximadamente 15 nM.

Análogamente, otros ensayos funcionales de la inhibición de isoformas específicas ensayos basados en células muestran que el Compuesto I tenía una actividad mayor sobre las isoformas delta y beta de la p110 que sobre la p110α. El ensayo de la p110α usó células SW3T3 estimuladas por el FCDP, y la actividad quinasa p110 se midió mediante la fosforilación de la Akt. La actividad p110β se midió mediante estimulación con ácido lisofosfatídico de la fosforilación de la Akt en fibroblastos de embriones de ratón. La actividad p110δ se midió mediante la estimulación cruzada con anticuerpos anti-FcεR1 del movimiento del CD63 a la superficie de los basófilos. Finalmente, la actividad p110γ se midió mediante la estimulación con fMLP del movimiento del antígeno CD63 a la superficie celular de los basófilos. De nuevo, el Compuesto I mostraba poca inhibición de la isoforma alfa, y fue el más activo sobre las isoformas delta y beta.

Ensayo basado en células CE-50 (nM)	p110α	> 20.000
	p110β	1.200
	p110δ	FB/WB 8,4/19
	p110γ	3.000/5.400

Tal y como ilustra la Figura 4, el Compuesto I a una concentración 10 micromolar inhibe la fosforilación de la Akt, que es un mediador corriente abajo de la activación de la PI3K (Véase la Figura 1), en dos líneas celulares cancerosas, la T47D (cáncer de mama) y la OVCAR-3 (cáncer de ovario). Es significativo destacar que la T47D tiene una mutación que activa la p110α, aunque el Compuesto I proporciona buena actividad frente a esta línea celular, demostrando además que la actividad antitumoral de este compuesto lo más probable es que resida en su efecto sobre otras isoformas más que sobre la p110α.

La biodisponibilidad del Compuesto I tras su administración oral es especialmente buena, incluso comparada con la de otras quinazolinonas de estructuras similares. Por ejemplo, la Figura 6 ilustra que el Compuesto I produce concentraciones mayores en plasma del fármaco que otro compuesto de quinazolinona que tiene una estructura similar (Compuesto B). Nótese que el Compuesto I se administró por vía oral a ratones a la mitad de la dosificación del Compuesto B, pero produjo un mayor nivel máximo en el plasma. El grado de diferencia en la biodisponibilidad oral entre el Compuesto I y el compuesto B observado en este ensayo es sorprendente.



10 Compuesto B

Los tratamientos de la invención normalmente suponen la administración del Compuesto I a un sujeto con necesidad de tratamiento diariamente durante al menos una semana o más de una semana, con frecuencia durante 2-4 semanas, y a veces durante 1-3 meses o más. La semivida del Compuesto I *in vivo* en ratones y ratas es de varias horas - véase la Figura 6. Por tanto, a veces es deseable administrar el Compuesto I en dosis múltiples cada día, a fin de mantener los niveles eficaces en plasma durante un periodo de tiempo prolongado. La administración se puede efectuar en dos dosis al día, o tres dosis al día, o en algunas realizaciones, cuatro dosis al día o más, particularmente cuando el Compuesto I se administra por vía oral. De modo alternativo, el Compuesto I se puede administrar por vía intravenosa a una velocidad que mantiene un nivel eficaz en plasma durante un periodo de tiempo prolongado. De modo adecuado, se administraría a una velocidad para alcanzar un nivel en plasma de al menos aproximadamente 1 micromolar, o al menos 3 micromolar, o al menos 5 micromolar. La Figura 6 muestra que los niveles en plasma de aproximadamente 500 ng/ml (sobre 1 micromolar) se pueden mantener durante varias horas después de una dosis oral única de 20 mg/kg del Compuesto I; esto demuestra que niveles elevados en plasma del Compuesto I, por ejemplo, concentraciones consistentes con los niveles que se han mostrado eficaces en los ensayos funcionales, se pueden conseguir con dosis toleradas del Compuesto I.

El Compuesto I ha mostrado que induce la apoptosis de varias células tumorales sólidas. La Figura 7 muestra esta inhibición dependiente de la dosis del crecimiento de un cultivo de células tumorales, medida mediante la densidad óptica at 459 nm, para una línea celular de cáncer de mama (T47D) y una línea celular de cáncer de ovario (OVCAR-3). Esto demuestra que la exposición a niveles de 5-10 micromolar del Compuesto I proporciona una fuerte inhibición del crecimiento en cultivos de células.

La Figura 8 muestra una inhibición dependiente de la dosis del crecimiento de un xenoinjerto de tumor de cáncer de ovario, tal y como se juzga midiendo el volumen del tumor, tras el tratamiento con el Compuesto I. El volumen del tumor disminuyó realmente durante un tratamiento que duró 30 días en animales tratados que recibieron 30 mg/kg del Compuesto I, dos veces al día, mientras que el volumen del tumor creció más del doble en los animales de control sin tratar durante el mismo periodo de tiempo. Esto demuestra que el Compuesto I es eficaz para tratar un tumor sólido *in vivo*.

Análogamente, la Figura 9 muestra la eficacia del Compuesto I para el tratamiento de otro xenoinjerto de tumor sólido (A498, una línea celular de cáncer renal humano). Tal y como muestra la figura, el tratamiento de ratones que portaban tumores A498 con el Compuesto I a 30 mg/kg dos veces al día durante 20 días produjo una eficaz actividad antitumoral *in vivo*. Aunque el volumen del tumor creció aproximadamente el doble durante este periodo en los animales tratados, aumentó más de 5 veces en los animales sin tratar. De nuevo, esto muestra que el Compuesto I es eficaz para tratar un tumor sólido *in vivo*.

La Figura 10 muestra concentraciones plasmáticas del Compuesto I en los ratones que portaban cada uno de los xenoinjertos de tumor usados para las Figuras 8 y 9, después de una dosis oral única del Compuesto I a 30 mg/kg. En este intervalo, que fue la dosificación eficaz usada en los ensayos mostrada en las Figuras 8 y 9, la concentración plasmática del Compuesto I alcanza aproximadamente 5000-7000 ng/ml.

La Figura 11 muestra los perfiles de concentración plasmática en los primeros y los últimos días del ensayo de múltiples días del Compuesto I en ratones sanos que recibieron 60 mg/kg, 120 mg/kg, o 240 mg/kg al día. La dosis de 60 mg/kg fue bien tolerada, demostrando que la dosis de tratamiento (30 mg/kg dos veces al día) no solo es tolerada sino también eficaz en ratones.

5 El Compuesto I se ha ensayado también en una batería de ensayos de células tumorales conocida como el panel NCI. Este demostró una inhibición sustancial del crecimiento de la mayoría de las líneas celulares cancerosas en el panel, y fue generalmente más activa sobre estas líneas celulares cancerosas que el Compuesto B, el cual se incluyó a efectos de comparación. La tabla siguiente muestra la IG-50 (la concentración que proporciona un 50 % de inhibición del crecimiento, en μM) para cada compuesto en estos ensayos de cultivos celulares.

Tipo de tumor	Línea celular	IG-50 (μM) Compuesto B	IG-50 (μM) Compuesto I
Carcinoma no microcítico de pulmón	A549	50,4	20,7
	EKVX	28,2	16,7
	HOP-62	39,7	14,8
	HOP-92	34,8	0,3
	NCI-H226	100	100
	NCI-H23	100	100
	NCI-H322M	32,2	10,5
	NCI-H460	34,7	25,7
	NCI-H522	52,7	51,8
Cáncer de colon	COLO 205	30,1	33,8
	HCC-2998	53,3	32,4
	HCT-116	54,3	37,9
	HCT-15	48,4	30,3
	HT29	39,1	16,5
	KM12	54,1	2
	SW-620	86,4	69,3
Cáncer del SNC	SF-268	29,8	1,89
	SF-295	8,18	1,81
	SF-539	28,6	15,9
	SNB-19	54,8	19,3
	SNB-75	2,96	0,0594
	U251	70,4	59,6
Melanoma	LOX IMVI	31,1	36,1
	MALME-3M	31,6	4,58
	M14	58,4	88,9
	SK-MEL-2	100	100
	SK-MEL-28	38,6	12,8
	SK-MEL-5	32,9	31,3
	UACC-257	33,5	17,4
	UACC-62	4,2	1,43
Ovario	IGROV1	3,54	2,7
	OVCAR-3	15,5	0,316
	OVCAR-4	100	100
	OVCAR-5	40,1	27,7

	OVCAR-8	96	44,6
	SK-OV-3	13,8	4,02
Renal	786-0	5,48	1,99
	A498	2,38	0,615
	ACHN	24,4	10,7
	CAKI-1	13,4	1,01
	RXF 393	74,2	1,14
	SN12C	11	22,5
	TK-10	31,7	1,24
	UO-31	5,32	2,01
	Próstata	PC-3	12
DU-145		43,8	1,35
Cáncer de mama	MCF7	7,08	2,54
	ADR-RES	77,9	58,6
	MDA-MB-231	100	100
	HS 578T	6,91	2,24
	MDA-MB-435	16,4	43,1
	BT-549	14,3	0,538
	T-47D	3,18	0,571
	MDA-MB-468	13,6	

Como medio de comparación de la actividad global de estas dos compuestos sobre diversos tipos de células de tumor sólido, se determinaron para cada compuesto los números de líneas celulares que tenían valores de IG-50 de 2 micromolar o menos; estas líneas celulares se consideraron particularmente sensibles. Usando esta medida, un 1,8 % de las líneas celulares eran particularmente sensibles al Compuesto B a este nivel, mientras que el 39 % eran particularmente sensibles al Compuesto 1 a la misma concentración. A pesar de la similitud estructural con el Compuesto B, es evidente que el Compuesto I es mucho más activo sobre tumores sólidos que el Compuesto B.

5

A continuación se da una tabla del número de líneas celulares para cada tipo de tumor que se encontró que tenía valores de IG-50 de menos de 2 micromolar para el Compuesto 1.

10

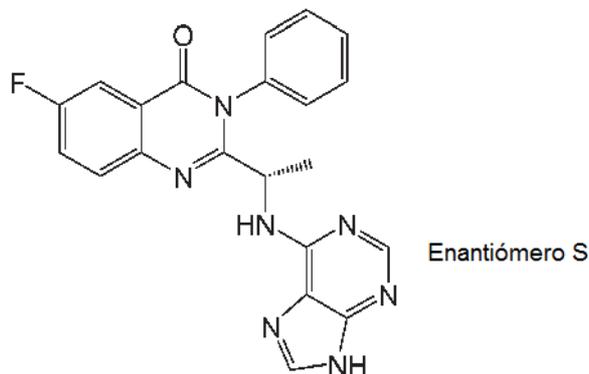
Tipo de tumor	Número de líneas celulares	% CE-50 < 2 µM
CNMP	1/9	11 %
Colon	1/7	14 %
SNC	3/6	50 %
Melanoma	1/8	12 %
Ovario	2/6	33 %
Próstata	2/2	100 %
Renal	6/8	75 %
Mama	5/8	62 %

En una realización particular, el cáncer es un tumor sólido tal como el cáncer de pulmón (el carcinoma no microcítico de pulmón, el carcinoma microcítico de pulmón), el cáncer de colon, el cáncer del SNC, el melanoma, el cáncer de ovario, el cáncer renal, el cáncer de próstata o el cáncer de mama. Tal y como indica la anterior tabla, los cánceres de mama, renal, de próstata y del SNC son particularmente sensibles al Compuesto I, de modo que, en algunas realizaciones, el método se usa para tratar un sujeto que tiene cualquiera de estos cánceres.

15

- En una realización particular, el cáncer no es un cáncer hematológico, por ejemplo, no es un linfoma o una leucemia o un mieloma múltiple. Tumores sólidos ilustrativos que se pueden tratar mediante los métodos divulgados en el presente documento incluyen el cáncer de mama, de pulmón, de colon, de ovario, renal y de próstata.
- 5 En una realización particular, se administra un compuesto de fórmula I en una cantidad terapéuticamente eficaz, a un sujeto diagnosticado con al menos un cáncer divulgado como que se puede tratar mediante los compuestos del presente documento.
- 10 La cantidad terapéuticamente eficaz que puede ser determinada por el experto habitual en la materia basándose en la dolencia, el peso, la edad y el estado de salud del sujeto. En algunas realizaciones, la cantidad se normaliza con respecto al peso corporal del sujeto. Por ejemplo, una dosificación se puede expresar como el número de miligramos del Compuesto I por kilogramo de peso corporal del sujeto (mg/kg). Dosificaciones de entre aproximadamente 0,1 y 100 mg/kg son con frecuencia apropiadas y, en algunas realizaciones, se usa una dosificación de entre 0,5 y 15 60 mg/kg. La normalización de acuerdo con el peso corporal del sujeto es particularmente útil cuando se ajustan dosificaciones entre sujetos de tamaños ampliamente dispares, tal como cuando se convierte una dosificación eficaz en un perro a una dosificación adecuada para un sujeto humano.
- En otras realizaciones, la dosificación diaria se puede describir como la cantidad total del Compuesto I administrada por dosis o por día. La dosificación diaria del Compuesto I es normalmente entre aproximadamente 10 mg y 20 1000 mg. Cuando se administra por vía oral, la dosificación diaria total para un sujeto humano es normalmente entre aproximadamente 50 mg y 750 mg.
- En una realización particular, se administra un compuesto de fórmula I a una dosis de 20-500 mg/día.
- 25 En una realización particular, se administra un compuesto de fórmula I a una dosis de 50-250 mg/día.
- En una realización particular, se administra un compuesto de fórmula I a una dosis de 25 a 150 mg por dosis, y se administran de dos a cuatro dosis al día (por ejemplo, una dosificación de dos veces al día con dosis de 25 a 150 30 mg, o una dosificación de tres veces al día con dosis de entre 25 y 150 mg, o una dosificación de cuatro veces al día con dosis de entre 25 y 150 mg). En una realización preferida, un sujeto se trata con dosis de 50 mg a 100 mg del Compuesto I dos veces al día, o dosis de 50-100 mg tres veces al día, o dosis de 50-100 mg cuatro veces al día.
- El tratamiento con los compuestos de la invención se continúa frecuentemente durante un número de días; por 35 ejemplo, normalmente el tratamiento continuaría durante al menos 7 días, aproximadamente 14 días, o aproximadamente 28 días, para un ciclo de tratamiento. Los ciclos de tratamiento son bien conocidos en la quimioterapia del cáncer, y se alternan con frecuencia con periodos de descanso de 1-28 días, normalmente 7 días o 14 días, entre ciclos.
- 40 En una realización particular, el método comprende administrar a dicho paciente una dosis diaria inicial de 20-500 mg de un compuesto de fórmula I y aumentar dicha dosis por incrementos hasta que se consigue la eficacia clínica. Se pueden usar incrementos de aproximadamente 25, 50, o 100 mg para aumentar la dosis. La dosificación se puede aumentar diariamente, cada dos días, dos veces a la semana, o una vez a la semana.
- 45 En una realización particular, este método comprende continuar tratando a dicho paciente mediante la administración del compuesto de fórmula I a una dosificación en la que se consigue la eficacia clínica durante una semana o más, o reduciendo dicha dosis por incrementos a un nivel al cual la eficacia se pueda mantener. La eficacia se puede monitorizar mediante métodos convencionales tales como evaluando el tamaño o la extensión del tumor (metástasis).
- 50 En una realización particular, el método comprende administrar a dicho paciente una dosis diaria inicial de 20-500 mg de un compuesto de fórmula I y aumentar dicha dosis hasta una dosificación total de 50-400 mg al día a lo largo de al menos 6 días. Opcionalmente, la dosificación se puede aumentar adicionalmente hasta aproximadamente 750 mg/día.
- 55 En una realización particular, se administra un compuesto de fórmula I al menos dos veces al día. En algunas realizaciones el compuesto se administra tres veces al día. En algunas realizaciones el compuesto se administra cuatro veces al día, o más de cuatro veces al día.
- 60 En una realización particular, el método comprende reducir el nivel de la actividad PI3K β en el paciente.
- En una realización particular, el sujeto es un sujeto humano. Normalmente el sujeto es un humano al que se le ha diagnosticado un cáncer divulgado en el presente documento como que se puede tratar mediante el Compuesto I.
- 65 En una realización particular, el compuesto se administra a una velocidad seleccionada para producir una concentración del compuesto en la sangre de entre aproximadamente 40 ng/ml y 3.000 ng/ml, y manteniendo tal

- concentración durante un periodo de 4-12 horas tras su administración. En otra realización particular, el tamaño y la frecuencia de la dosis se seleccionan para alcanzar una concentración del compuesto en la sangre que esté entre 75-2.000 ng/ml y mantener esa concentración durante un periodo de 4-12 horas desde el momento de la administración. En algunas realizaciones, el tamaño y la frecuencia de la dosis se seleccionan para alcanzar una concentración del compuesto en la sangre que está entre 100-1.000 ng/ml tras su administración. En algunas realizaciones, el tamaño y la frecuencia de la dosis se seleccionan para alcanzar una concentración del compuesto en la sangre que esté entre 100-500 ng/ml durante un periodo de 12 horas desde el momento de la administración. De modo deseable, el tamaño y la frecuencia de la dosis se seleccionan para alcanzar una C_{max} , un nivel en plasma del Compuesto I que sea al menos de aproximadamente 500 ng/ml y no supere aproximadamente 10.000 ng/ml.
- En determinadas realizaciones, el Compuesto I se administra por vía oral, por vía intravenosa, por vía transdérmica, o mediante inhalación. Preferentemente, el compuesto se administra por vía oral. En algunas realizaciones, se administra por vía oral en una dosis de aproximadamente 25 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 75 mg, o 100 mg, 125 mg, 150 mg, o 200 mg por dosis, y la dosis se puede administrar a una frecuencia de una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, o cuatro veces al día.
- En una realización particular, el método comprende administrar además de un compuesto de fórmula I a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico adicional y/o un procedimiento terapéutico seleccionado para tratar dicho cáncer o enfermedad autoinmune en dicho paciente.
- En una realización particular, dicho agente terapéutico se selecciona de entre el grupo siguiente que consiste en docetaxel, mitoxantrona, prednisona, estramustina, antraciclina, (doxorubicina (Adriamycin), epirubicina (Ellence), y doxorubicina liposómica (Doxil)), taxanos (docetaxel (Taxotere), paclitaxel (Taxol), y paclitaxel unido a proteínas (Abraxane)), ciclofosfamida (Cytosan), capecitabina (Xeloda) y 5 fluorouracilo (5 FU), gemcitabina (Gemzar), metotrexato, vinorelbina (Navelbine), un inhibidor del RFCE tal como erlotinib, trastuzumab (Herceptin, este fármaco es solo para usar en mujeres cuyos cánceres de mama tienen el gen HER-2), Avastin, platinos (cisplatino, carboplatino), temazolamida, interferón alfa, y IL-2.
- En una realización particular, dicho agente terapéutico se selecciona de entre el grupo que consiste en un inhibidor del RFCE, un inhibidor de la mTOR, y un taxano.
- En una realización particular, el procedimiento terapéutico se selecciona de entre el grupo que consiste en el trasplante de células madre de sangre periférica, el trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas, el trasplante autólogo de médula ósea, la terapia con anticuerpos, la terapia biológica, la terapia con inhibidores de enzimas, la irradiación total del cuerpo, la infusión de células madre, la ablación de la médula ósea con apoyo de células madre, el trasplante de células madre de sangre periférica tratadas *in vitro*, el trasplante de sangre de cordón umbilical, la técnica inmunoenzimática, el método de la tinción inmunohistoquímica, el estudio farmacológico, la terapia de rayos gamma con cobalto 60 de baja TLE, la bleomicina, la cirugía convencional, la radioterapia, la quimioterapia de dosis alta y el trasplante alogénico no mieloablativo de células madre hematopoyéticas.
- En una realización particular, el método comprende además obtener una muestra biológica de dicho paciente; y analizar dicha muestra biológica con un procedimiento analítico seleccionado de entre el grupo que consiste en el análisis químico de la sangre, el análisis de translocaciones cromosómicas, la biopsia con aguja, la hibridación fluorescente *in situ*, el análisis con biomarcadores de laboratorio, el método de la tinción inmunohistoquímica, la citometría de flujo o una combinación de los mismos. El análisis proporciona información sobre la progresión del tumor o del tratamiento, y es útil para determinar las dosificaciones que se han de administrar, para ajustar las dosificaciones durante un ciclo de tratamiento, y para decidir si continuar o interrumpir los tratamientos de la invención.
- En determinadas realizaciones, el compuesto ópticamente activo para su uso en los métodos descritos en el presente documento se enriquece con el enantiómero S mostrado en el presente documento, y preferentemente es al menos un 90 % el enantiómero S, conteniendo no más de aproximadamente un 10 % del isómero enantiomérico R:



En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I para su uso en los métodos descritos en el presente documento es al menos un 80 % el enantiómero S, conteniendo menos del 20 % de su isómero enantiomérico R. En algunas realizaciones el compuesto tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de al menos un 90 % o al menos un 95 % que favorece al isómero S.

En determinadas realizaciones, el compuesto está compuesto fundamentalmente por el enantiómero S, en el que el isómero comprende al menos un 66-95 %, o aproximadamente un 85-99 % del isómero S, en exceso con respecto a cualquier enantiómero R presente. En determinadas realizaciones, el compuesto comprende al menos un 95 % del enantiómero S. En los experimentos con células y con pacientes proporcionados en la sección de ejemplos, la muestra del Compuesto I usada fue más del 99 % el enantiómero S, con menos del 1 % del enantiómero R.

La expresión "inhibidor selectivo de la PI3K δ " o "inhibidor selectivo de la PI3K β ", etc., tal y como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que inhibe la isoenzima PI3K δ o la PI3K β , respectivamente, de un modo más eficaz que al menos otra isoenzima de la familia de la PI3K. El inhibidor selectivo puede inhibir también otras isoenzimas de la PI3K, pero requiere concentraciones mayores para alcanzar el mismo grado de inhibición de las otras isoenzimas. "Selectivo" se puede usar también para describir un compuesto que inhibe una PI3-quinasa particular más que un compuesto comparable. Un compuesto "inhibidor selectivo de la PI3K δ " se entiende que es más selectivo para la PI3K δ que compuestos convencional y genéricamente designados como inhibidores de la PI3K, por ejemplo, la wortmanina o el LY294002, los cuales se consideran inhibidores no selectivos de la PI3K.

"Tratar" tal y como se usa en el presente documento se refiere a inhibir un trastorno, es decir, detener su desarrollo; aliviar el trastorno, es decir, provocar su regresión; o mejorar el trastorno, es decir, reducir la gravedad de al menos uno de los síntomas asociados al trastorno. En algunas realizaciones, "tratar" se refiere a prevenir que aparezca un trastorno en un animal que está predispuesto al trastorno, pero que aún no se le ha diagnosticado que lo padece. "Trastorno" se pretende que englobe trastornos médicos, enfermedades, dolencias, síndromes, y similares, sin limitación.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un compuesto para su uso en métodos para tratar un tumor sólido, normalmente un carcinoma no hematopoyético. En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido seleccionado de entre el cáncer pancreático; el cáncer de vejiga; el cáncer colorrectal; el cáncer de mama; el cáncer de próstata; el cáncer renal; el cáncer hepatocelular; el cáncer de pulmón; el cáncer de ovario; el cáncer de cuello uterino; el cáncer gástrico; el cáncer de esófago; el cáncer de cabeza y cuello; el melanoma; cánceres neuroendocrinos; cánceres del SNC; tumores cerebrales; el cáncer óseo; y el sarcoma de los tejidos blandos. En algunas realizaciones es el cáncer de pulmón (el carcinoma no microcítico de pulmón, el carcinoma microcítico de pulmón), el cáncer de colon, el cáncer del SNC, el melanoma, el cáncer de ovario, el cáncer renal, el cáncer de próstata o el cáncer de mama. En algunas realizaciones, el cáncer es el cáncer de mama, de pulmón, de colon, renal, de ovario o de próstata.

En determinadas realizaciones, la invención proporciona un compuesto para su uso en métodos para tratar un tumor sólido que está asociado a una actividad de señalización celular anormal o indeseada mediada por la PI3K β . En determinadas realizaciones, el tumor sólido se selecciona de entre el grupo que consiste en el cáncer pancreático; el cáncer de vejiga; el cáncer colorrectal; el cáncer de mama, que incluye el cáncer de mama metastásico; el cáncer de próstata, que incluye el cáncer de próstata dependiente de andrógenos y el no dependiente de andrógenos; el cáncer renal, que incluye, por ejemplo, el carcinoma de células renales metastásico; el cáncer hepatocelular; el cáncer de pulmón, que incluye, por ejemplo, el carcinoma no microcítico de pulmón (CNMP), el carcinoma bronquioalveolar (CBA), y el adenocarcinoma del pulmón; el cáncer de ovario, que incluye, por ejemplo, el cáncer peritoneal primario o epitelial progresivo; el cáncer de cuello uterino; el cáncer gástrico; el cáncer de esófago; el cáncer de cabeza y cuello, que incluye, por ejemplo, el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello; el melanoma; el cáncer neuroendocrino, que incluye los tumores neuroendocrinos metastásicos; los tumores cerebrales, que incluyen, por ejemplo, el glioma, el oligodendroglioma anaplásico, el glioblastoma multiforme en

adultos, y el astrocitoma anaplásico en adultos; el cáncer óseo; y el sarcoma de los tejidos blandos.

En una realización, el cáncer que se va a tratar con el compuesto descrito en el presente documento es un tumor sólido que exhibe una pérdida funcional de actividad de la PTEN (fosfatasa y homólogo de tensina, una fosfatasa que actúa como supresor de tumores). La pérdida de actividad de la PTEN ocurre con frecuencia en los cánceres, y mejora la sensibilidad de un tumor a los inhibidores de la PI3K. El panel NCI contiene un número de líneas celulares conocidas por tener mutaciones en la PTEN, y un 70 % de estas líneas celulares fueron inhibidas por el Compuesto I, y dos de las que no eran sensibles al Compuesto I demostraron no tener pérdida funcional de actividad de la PTEN. La tabla siguiente resume las líneas celulares que se encontraron que eran sensibles al Compuesto I y las mutaciones conocidas en estas líneas celulares. De estas mutaciones, solo la PTEN se encontró que estaba significativamente correlacionada con la eficacia del Compuesto I ($p < 0,036$).

Tipo de tumor	CDKN2	TP53	PTEN	PI3KCA	BRAF	HRAS	SMAD4	BRCA1
Hop-92	X	X						
KM12		X	X					X
SF-268	X	X						
SF-295		X	X					
SNB-75		X						
UACC-62	X		X		X			
IGROV-1		X	X				X	X
OVCAR-3		X						
786-0	X	X	X					
A498	X							
CAK1-1	X							
RXF-393	X	X	X					
TK-10		X						
UO-31	X							
PC-3		X	X					
DU-145 (RB1)	X	X						
MCF7	X			E545K				
HS-578T		X				X		
BT-549 (RB1)		X						
T47D		X		H1047R				
	50 %	75 %	35 %	10 %	5 %	5 %	5 %	10 %

En consecuencia, los tumores sólidos con actividad fosfatasa de la PTEN significativamente reducida son particularmente adecuados para el tratamiento con el Compuesto I. El Instituto Wellcome Trust Sangrer recientemente publicó información sobre la incidencia de mutaciones de la PTEN en tejidos tumorales primarios, indicando que los tumores de mama, del SNC, de cuello uterino, endometriales, renales, de ovario, de próstata, de piel, de testículos, y de tracto urinario incluyen frecuentemente mutaciones de la PTEN. En consecuencia, en algunas realizaciones, los métodos de la invención se usan para tratar un sujeto aquejado de uno o más de estos cánceres particulares, o de un cáncer deficiente en PTEN seleccionado de entre los tumores de mama, del SNC, de cuello uterino, endometriales, renales, de ovario, de próstata, de piel, de testículos, y de tracto urinario.

En determinadas realizaciones, el compuesto descrito en el presente documento es útil en dirigirse a células que median la fosforilación de la Akt, ya que el Compuesto I inhibe la fosforilación de la Akt, tal y como se ilustra en la Figura 4.

Para el tratamiento de un tumor sólido, es ventajoso que el compuesto de fórmula I exhiba una buena actividad frente a la p110 β , ya que los tumores sólidos utilizan con frecuencia esta isoenzima bastante más o más que la p110 δ . Por tanto, en algunas realizaciones, el tumor sólido es aquel que expresa la p110 β a un nivel mayor que su

nivel de expresión de la p110δ. En algunas realizaciones, el tumor sólido es aquel con un bajo nivel de actividad p110δ, tal como aquel que expresa menos de aproximadamente el 20 % tanto de la p110δ como de la p110β.

En algunas realizaciones, el sujeto para los tratamientos descritos en el presente documento es aquel que ha sido diagnosticado con al menos uno de los cánceres descritos en el presente documento que se pueden tratar mediante el uso de un compuesto de fórmula I. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido diagnosticado con un cáncer nombrado en el presente documento, y se ha demostrado que no responde al tratamiento con al menos un agente quimioterapéutico convencional. Por tanto en una realización, los tratamientos de la invención se dirigen a pacientes que han recibido uno o más de uno de tales tratamientos y siguen necesitando un tratamiento más eficaz.

En una realización, el método comprende administrar a un sujeto un compuesto de fórmula I descrito en el presente documento, en combinación con una terapia usada para tratar el cáncer. La "terapia" usada para tratar el cáncer, tal y como se usa en el presente documento, es cualquier forma de tratamiento bien conocido o experimental usado para tratar el cáncer que no incluye el uso de un compuesto de fórmula I. En determinadas realizaciones, la combinación de un compuesto de fórmula I con una terapia experimental o convencional usada para tratar el cáncer proporciona resultados de tratamiento beneficiosos y/o deseables superiores a los resultados obtenidos mediante el tratamiento sin la combinación. En determinadas realizaciones, dichas terapias usadas para tratar el cáncer son bien conocidas para una persona con experiencia habitual en la técnica y se describen en la literatura. Las terapias incluyen, si bien no se limitan a los mismos, la quimioterapia, combinaciones de quimioterapia, terapias biológicas, la inmunoterapia, la radioinmunoterapia, y el uso de anticuerpos monoclonales y vacunas. En determinadas realizaciones, el método de combinación proporciona un compuesto de fórmula I administrado simultáneamente o durante el periodo de administración de la terapia. En determinadas realizaciones, el método de combinación proporciona un compuesto de fórmula I administrado antes de o después de la administración de la terapia. Los detalles exactos relativos a la administración de la combinación se pueden determinar experimentalmente. El ajuste de la secuencia y la elección del momento de administración de un compuesto de fórmula I con una terapia seleccionada se adaptarán al sujeto individual, la naturaleza de la dolencia que se va a tratar en el sujeto, y en general, el juicio del médico encargado.

Los agentes terapéuticos adicionales para combinaciones con el Compuesto I incluyen aquellos usados rutinariamente en el tratamiento de tumores sólidos, particularmente docetaxel, mitoxantrona, prednisona, estramustina, antraciclinas, (doxorubicina (Adriamycin), epirubicina (Ellence), y doxorubicina liposómica (Doxil)), taxanos (docetaxel (Taxotere), paclitaxel (Taxol), y paclitaxel unido a proteínas (Abraxane)), ciclofosfamida (Cytosan), capecitabina (Xeloda) y 5 fluorouracilo (5 FU), gemcitabina (Gemzar), metotrexato, vinorelbina (Navelbine), un inhibidor del RFCE tal como erlotinib, trastuzumab (Herceptin, este fármaco es solo para usar en mujeres cuyos cánceres de mama tienen el gen HER-2), Avastin, platinos (cisplatino, carboplatino), temazolamida, interferón alfa, y IL-2.

En determinadas realizaciones, el método comprende administrar a dicho paciente, además de una cantidad eficaz del Compuesto I, al menos un agente terapéutico y/o un procedimiento terapéutico seleccionado para tratar dicho cáncer en dicho paciente. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar además de un compuesto de I a dicho paciente, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéutico adicional seleccionado de entre docetaxel, mitoxantrona, prednisona, estramustina, antraciclinas, (doxorubicina (Adriamycin), epirubicina (Ellence), y doxorubicina liposómica (Doxil)), taxanos (docetaxel (Taxotere), paclitaxel (Taxol), y paclitaxel unido a proteínas (Abraxane)), ciclofosfamida (Cytosan), capecitabina (Xeloda) y 5 fluorouracilo (5 FU), gemcitabina (Gemzar), metotrexato, vinorelbina (Navelbine), un inhibidor del RFCE tal como erlotinib, trastuzumab (Herceptin, este fármaco es solo para usar en mujeres cuyos cánceres de mama tienen el gen HER-2), Avastin, platinos (cisplatino, carboplatino), temazolamida, interferón alfa, y IL-2.

Los compuestos de la invención se pueden formular para la administración a un sujeto animal usando técnicas de formulación normalmente entendidas bien conocidas en la técnica. Las formulaciones que son adecuadas para modos particulares de administración y para los compuestos de fórmula I se pueden encontrar en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, última edición, Mack Publishing Company, Easton, PA.

Se puede administrar un compuesto de la presente invención en forma de compuesto puro, pero normalmente se prefiere administrar el compuesto en forma de una composición farmacéutica o formulación. En consecuencia, la presente invención proporciona también composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I y un vehículo, adyuvante o portador farmacéutico biocompatible. La composición puede incluir el agente como el único ingrediente activo o en combinación con otros agentes, tales como oligonucleótidos o polinucleótidos, oligopéptidos o polipéptidos, fármacos, u hormonas mezclados con un excipiente o excipientes u otros vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos y otros ingredientes pueden considerarse farmacéuticamente aceptables en la medida en que son compatibles con otros ingredientes de la formulación y no son perjudiciales para el receptor de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas se formulan para contener vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados, y pueden comprender opcionalmente excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. La modalidad de administración determinará en general

la naturaleza del vehículo. Por ejemplo, las formulaciones para administración parenteral pueden comprender soluciones acuosas de los compuestos activos en una forma soluble en agua. Los vehículos adecuados para administración parenteral se pueden seleccionar de entre solución salina, solución salina tamponada, dextrosa, agua, y otras soluciones fisiológicamente compatibles. Los vehículos preferidos para administración parenteral son tampones fisiológicamente compatibles tales como la solución de Hank, la solución de Ringer, o la solución salina tamponada fisiológicamente. Para administración celular o a tejidos, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera particular que se ha de permear. Tales penetrantes son conocidos en general en la técnica. Para preparaciones que comprenden proteínas, la formulación puede incluir materiales estabilizantes, tales como polioles (por ejemplo, sacarosa) y/o tensioactivos (por ejemplo, tensioactivos no iónicos), y similares.

De modo alternativo, las formulaciones para uso parenteral pueden comprender dispersiones o suspensiones de los compuestos activos preparados como suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos, tales como el aceite de sésamo, y ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como el oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones de inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como la carboximetilcelulosa sódica, el sorbitol, o el dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizantes adecuados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas. También se pueden usar polímeros acuosos que proporcionan una solubilización sensible al pH y/o la liberación sostenida del agente activo como recubrimientos o estructuras de matriz, por ejemplo, polímeros metacrílicos, tal como la serie EUDRAGIT® comercializada por Rohm America Inc. (Piscataway, N.J.). También se pueden usar emulsiones, por ejemplo, las dispersiones de aceite en agua y de agua en aceite, opcionalmente estabilizadas mediante un agente emulsionante o un dispersante (materiales de superficie activa; tensioactivos). Las suspensiones pueden contener agentes de suspensión tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar, goma tragacanto, y mezclas de los mismos.

Los liposomas que contienen el agente activo se pueden emplear también para administración parenteral. Los liposomas en general se derivan de los fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Las composiciones en forma de liposomas pueden contener también otros ingredientes, tales como estabilizantes, conservantes, excipientes, y similares. Los lípidos preferidos incluyen los fosfolípidos y las fosfatidil colinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Los métodos de formación de los liposomas son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Prescott (Ed.), *METHODS IN CELL BIOLOGY*, Vol. XIV, p. 33, Academic Press, Nueva York (1976).

Las composiciones farmacéuticas que comprenden el agente en dosificaciones adecuadas para administración oral se pueden formular usando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Las preparaciones formuladas para administración oral pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, cápsulas, obleas, grageas, pastillas para chupar, líquidos, geles, jarabes, pastas, elixires, suspensiones, o polvos. A modo de ilustración, las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener combinando los compuestos activos con un excipiente sólido, moliendo opcionalmente la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, tras la adición de auxiliares adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Las formulaciones orales pueden emplear vehículos líquidos similares en tipo a aquellos descritos para uso parenteral, por ejemplo, soluciones acuosas tamponadas, suspensiones, y similares.

Las formulaciones orales preferidas incluyen comprimidos, grageas, y cápsulas de gelatina. Estas preparaciones pueden contener uno o varios excipientes, que incluyen, sin limitación:

- a) diluyentes, tales como azúcares, que incluyen la lactosa, la dextrosa, la sacarosa, el manitol, o el sorbitol;
- b) aglutinantes, tales como el silicato de aluminio y magnesio, el almidón de maíz, trigo, arroz, patata, etc.;
- c) materiales de celulosa, tales como la metilcelulosa, la hidroxipropilmetil celulosa, y la carboximetilcelulosa sódica, la polivinilpirrolidona, gomas, tales como la goma arábiga y la goma tragacanto, y proteínas, tales como la gelatina y el colágeno;
- d) agentes disgregantes o solubilizantes tales como la polivinilpirrolidona reticulada, almidones, el agar, el ácido algínico o una sal del mismo, tal como el alginato sódico, o composiciones efervescentes;
- e) lubricantes, tales como la sílice, el talco, el ácido esteárico o sus sales de calcio o magnesio, y el polietilenglicol;
- f) aromatizantes y edulcorantes;
- g) colorantes o pigmentos, por ejemplo, para identificar el producto o para caracterizar la cantidad (dosificación) del compuesto activo; y
- h) otros ingredientes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes expansores, agentes emulsionantes, promotores de disolución, sales para la regulación de la presión osmótica, y tampones.

En algunas formulaciones orales preferidas, la composición farmacéutica comprende al menos uno de los materiales del grupo (a) anterior, o al menos un material del grupo (b) anterior, o al menos un material del grupo (c) anterior, o al menos un material del grupo (d) anterior, o al menos un material del grupo (e) anterior. Preferentemente, la composición comprende al menos un material de cada uno de dos grupos seleccionados de entre los grupos (a)-(e) anteriores.

Las cápsulas de gelatina incluyen cápsulas de ajuste a presión hechas de gelatina, así como cápsulas selladas blandas hechas de gelatina y un recubrimiento tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste a presión pueden contener el ingrediente o ingredientes activos mezclados con cargas, aglutinantes, lubricantes, y/o estabilizantes, etc. En las cápsulas blandas, los compuestos activos se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicol líquido con o sin estabilizantes.

Los núcleos de grageas se pueden proporcionar con recubrimientos adecuados tales como soluciones azucaradas concentradas, que pueden contener también goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de laca, y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes.

La composición farmacéutica se puede proporcionar en forma de una sal del agente activo. Las sales tienden a ser más solubles en disolventes acuosos u otros disolventes protónicos que las correspondientes formas de base o ácido libre. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Los compuestos que contienen restos ácidos pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con cationes adecuados. Los cationes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, por ejemplo, cationes de metales alcalinos (por ejemplo, sodio o potasio) y alcalino-térreos (por ejemplo, calcio o magnesio).

Los compuestos de fórmula estructural (I) que contienen restos básicos pueden formar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables con los ácidos adecuados. Por ejemplo, Berge, et al., describe sales farmacéuticamente aceptables con detalle en *J. Pharm. Sci.*, 66:1 (1977). Las sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos de la invención o separadamente haciendo reaccionar una función base libre con un ácido adecuado.

Las sales de adición de ácidos representativas incluyen, si bien no se limitan a las mismas, acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, canforato, canforolsulfonato, digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato (isotionato), lactato, maleato, metanosulfonato o sulfato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, fosfato o hidrógeno fosfato, glutamato, bicarbonato, p-toluenosulfonato, y undecanoato. Ejemplos de ácidos que se pueden emplear para formar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, ácidos inorgánicos tales como el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, y el ácido fosfórico, y ácidos orgánicos tales como el ácido oxálico, el ácido maleico, el ácido succínico, el ácido cítrico.

Los grupos que contienen nitrógeno básico se pueden cuaternizar con agentes tales como haluros de alquilo inferior tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo, y butilo; sulfatos de dialquilo como sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo, y diamilo; haluros de alquilo de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo; haluros de arilalquilo tales como bromuros de bencilo y fenetilo; y otros. Se obtienen de este modo productos que tienen una solubilidad o dispersabilidad modificada.

Las composiciones que comprenden un compuesto de la invención formuladas en un vehículo farmacéuticamente aceptable se pueden preparar, disponer en un recipiente apropiado, y etiquetar para el tratamiento de una dolencia indicada. En consecuencia, se contempla también un artículo de fabricación, tal como un recipiente que comprende una forma de dosificación de un compuesto de la invención y una etiqueta que contiene instrucciones para el uso del compuesto. Se contemplan también kits en la invención. Por ejemplo, el kit puede comprender una forma de dosificación de una composición farmacéutica y un prospecto que contiene instrucciones para el uso de la composición en el tratamiento de una dolencia médica. En ambos casos, las dolencias indicadas en la etiqueta pueden incluir el tratamiento de trastornos inflamatorios, cáncer, etc.

Métodos de administración

Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I se pueden administrar al sujeto mediante cualquier método convencional, que incluye las técnicas parenteral y entérica. Las modalidades de administración parenteral incluyen aquellas en las que la composición se administra mediante una vía distinta a la vía a lo largo del tracto gastrointestinal, por ejemplo, inyecciones intravenosas, intraarteriales, intraperitoneales, intramedulares, intramusculares, intraarticulares, intratecales, e intraventriculares. Las modalidades de administración entérica incluyen, por ejemplo, la administración oral (que incluye la bucal y la sublingual) y la rectal. Las modalidades de administración transepitelial incluyen, por ejemplo, la administración transmucosa y la administración transdérmica. La administración transmucosa incluye, por ejemplo, la administración entérica así como la administración nasal, mediante inhalación y la administración pulmonar profunda; la administración vaginal; y la administración rectal. La administración transdérmica incluye las modalidades transcutáneas o transdérmicas activas o pasivas, que incluyen, por ejemplo, parches y dispositivos de iontoforesis, así como la aplicación tópica de pastas, bálsamos, o ungüentos. La administración parenteral se puede efectuar usando una técnica de presión alta, por ejemplo, POWDERJECT®.

Las técnicas quirúrgicas incluyen la implantación de composiciones de depósito (reservorio), bombas osmóticas, y similares. Una vía de administración preferida para el tratamiento de la inflamación puede ser la administración local

o tópica para trastornos localizados tales como la artritis, o la administración sistémica para trastornos distribuidos, por ejemplo, la administración intravenosa para lesiones por reperfusión o para dolencias sistémicas tal como la septicemia. Para otras enfermedades, que incluyen aquellas que afectan al tracto respiratorio, por ejemplo, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el asma, y el enfisema, la administración se puede efectuar mediante inhalación o la administración pulmonar profunda de pulverizaciones, aerosoles, polvos, y similares.

El compuesto de fórmula I se puede administrar antes, durante, o después de la administración de la quimioterapia, la radioterapia, y/o la cirugía. La formulación y la vía de administración elegidas se adaptarán al sujeto individual, la naturaleza de la dolencia que se va a tratar en el sujeto, y en general, el juicio del médico encargado.

El índice terapéutico del compuesto de fórmula I puede potenciarse modificando o derivatizando los compuestos para una administración dirigida a las células cancerosas que expresan un marcador que identifica las células como tales. Por ejemplo, los compuestos se pueden unir a un anticuerpo que reconoce un marcador que es selectivo o específico para las células cancerosas, de modo que los compuestos se llevan a las proximidades de las células para que ejerzan sus efectos localmente, tal y como se ha descrito previamente (véase por ejemplo, Pietersz, et al., *Immunol. Rev.*, 129:57 (1992); Trail et al., *Science*, 261:212 (1993); y Rowlinson-Busza, et al., *Curr. Opin. Oncol.*, 4:1142 (1992)). La administración dirigida al tumor de estos compuestos mejora el beneficio terapéutico entre otros, minimizando las toxicidades no específicas potenciales que pueden derivarse del tratamiento de radiación o de la quimioterapia. En otro aspecto, el compuesto de fórmula I y radioisótopos o agentes quimioterapéuticos se pueden conjugar al mismo anticuerpo anti-tumoral.

Las características del agente por sí mismo y la formulación del agente pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la velocidad de liberación *in vivo*, y la velocidad de eliminación *in vivo* del agente administrado. Tal información farmacocinética y farmacodinámica puede ser recogida mediante estudios preclínicos *in vitro* e *in vivo*, confirmada posteriormente en humanos durante el curso de los ensayos clínicos. Por tanto, para cualquier compuesto usado en el método de la invención, se puede estimar inicialmente una dosis terapéuticamente eficaz a partir de ensayos bioquímicos y/o basados en células.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales compuestos se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos de células o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL₅₀ (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DE₅₀ (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población). La relación de dosis entre los efectos terapéuticos y los tóxicos es el "índice terapéutico," que normalmente se expresa como la relación DL₅₀/DE₅₀. Se prefieren los compuestos que exhiben índices terapéuticos elevados, es decir, con una dosis tóxica sustancialmente mayor que la dosis eficaz. Los datos obtenidos a partir de tales ensayos de cultivos celulares y estudios adicionales en animales se pueden usar en la formulación de una serie de dosificación para uso humano. La dosificación de tales compuestos está dentro, preferentemente, de una serie de concentraciones circulantes que incluyen la DE₅₀ con muy poca o nada de toxicidad.

Para los compuestos de la invención, se puede usar cualquier régimen de administración eficaz que regule la elección del momento y la secuencia de las dosis. Las dosis del agente incluyen preferentemente unidades de dosificación farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz del agente. Tal y como se usa en el presente documento, "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para modular la expresión o la actividad PI3Kbeta y/o derivar un cambio medible en un parámetro fisiológico del sujeto mediante la administración de una o más de las unidades de dosificación farmacéuticas. "Cantidad eficaz" puede referirse también a la cantidad requerida para mejorar una enfermedad o un trastorno en un sujeto.

Los intervalos de dosificación adecuados para los compuestos de fórmula I varían de acuerdo con estas consideraciones pero, en general, los compuestos se administran en el intervalo de 10,0 µg/kg-15 mg/kg de peso corporal; 1,0 mg/kg-10 mg/kg de peso corporal, o 0,5 mg/kg-5 mg/kg de peso corporal. Para un sujeto humano de 70 kg normal, por tanto, el intervalo de dosificación es de 700 µg-1050 mg; 70 µg-700 mg; o 35 mg-350 mg por dosis, y se pueden administrar dos o más dosis al día. Las dosificaciones pueden ser mayores cuando los compuestos se administran por vía oral o por vía transdérmica si se comparan, por ejemplo, con la administración i.v. En determinadas realizaciones, el tratamiento de cánceres comprende la administración oral de hasta 750 mg/día del Compuesto I. La toxicidad reducida de este compuesto permite la administración terapéutica de dosis relativamente elevadas. Para el tratamiento de muchos tumores sólidos, una dosificación de aproximadamente 50-100 mg por dosis, administrada por vía oral una vez o, preferentemente, al menos dos veces al día, con frecuencia es adecuada. En algunas realizaciones, el Compuesto I se administra por vía oral, en de tres a cinco dosis al día, usando 20-150 mg por dosis para una dosis diaria total de entre aproximadamente 60 y 750 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria total es de entre 100 y 500 mg, y en algunas realizaciones la dosificación diaria normalizada (ajustada al peso corporal del sujeto) es de hasta aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal del sujeto tratado.

Los compuestos se pueden administrar como una única dosis de bolo, una dosis a lo largo del tiempo, como en la administración i.v. o la transdérmica, o en múltiples dosificaciones. Para la administración i.v. o la transdérmica, se puede administrar una dosificación durante un periodo de tiempo prolongado, y se puede seleccionar o ajustar para producir un nivel en plasma del compuesto activo deseado. En algunas realizaciones, el nivel deseado será de al menos aproximadamente 1 micromolar, o de al menos aproximadamente 10 micromolar.

Cuando el compuesto se administra por vía oral, se administra preferentemente en dos o más dosis al día. En algunas realizaciones, se administran tres dosis al día. En algunas realizaciones se administran cuatro dosis al día.

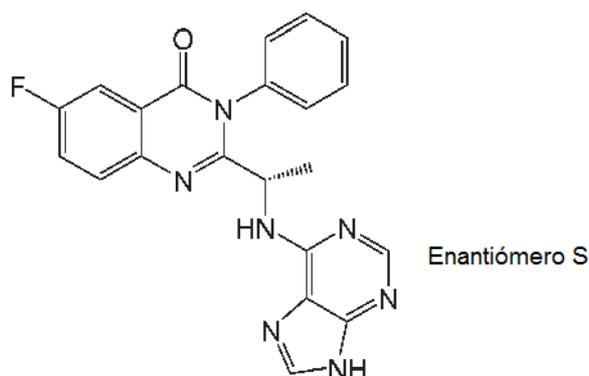
La dosificación puede continuar durante un día o durante múltiples días, tal como aproximadamente 7 días. En algunas realizaciones, la dosificación diaria se continúa durante aproximadamente 14 días o aproximadamente 28 días. En algunas realizaciones, la dosificación se continúa durante aproximadamente 28 días y se interrumpe después durante aproximadamente 7 días; la eficacia del tratamiento puede ser evaluada durante la interrupción, cuando el tratamiento con el Compuesto I se ha detenido, y si la evaluación muestra que el tratamiento está consiguiendo el efecto deseado, se puede iniciar otro ciclo de tratamiento de 7-28 días con el Compuesto I.

Dependiendo de la vía de administración, se puede calcular una dosis adecuada de acuerdo con el peso corporal, el área de la superficie corporal, o el tamaño del órgano. El régimen de dosificación final será determinado por el médico encargado en vista de la buena práctica médica, considerando diversos factores que modifican la acción de los fármacos, por ejemplo, la actividad específica del agente, la identidad y la gravedad del estado de la enfermedad, el grado de reacción del paciente, la edad, la dolencia, el peso corporal, el sexo, y la dieta del paciente, y la gravedad de cualquier infección. Factores adicionales que se pueden tener en cuenta incluyen el tiempo y la frecuencia de la administración, las combinaciones de fármacos, las sensibilidades de reacción, y la tolerancia/respuesta a la terapia. El ajuste adicional de la dosificación apropiada para el tratamiento que implica cualquiera de las formulaciones mencionadas en el presente documento es efectuado de modo rutinario por el médico experto sin una experimentación excesiva, especialmente a la luz de la información y ensayos divulgados sobre dosificación, así como los datos farmacocinéticos observados en ensayos clínicos en humanos. Las dosificaciones apropiadas se pueden determinar mediante el uso de ensayos establecidos para determinar la concentración del agente en un líquido corporal u otra muestra junto con los datos de respuesta a la dosis.

La frecuencia de la dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos del agente y la vía de administración. La dosificación y la administración se ajustan para proporcionar niveles suficientes del ingrediente activo o para mantener el efecto deseado. En consecuencia, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar en una dosis única, una dosis discreta múltiple, mediante infusión continua, mediante depósitos de liberación sostenida, o combinaciones de los mismos, según se requiera para mantener el nivel mínimo deseado del agente. Las composiciones farmacéuticas de acción corta (es decir, de corta semivida) se pueden administrar una vez al día o más de una vez al día (por ejemplo, dos, tres, o cuatro veces al día). Las composiciones farmacéuticas de acción larga se pueden administrar cada 3 o 4 días, cada semana, o una vez cada dos semanas. Las bombas, tal como las bombas subcutáneas, las intraperitoneales o las subdurales, pueden ser preferidas para la infusión continua.

Los sujetos que responderán favorablemente al método de la invención incluyen sujetos médicos y veterinarios en general, que incluyen pacientes humanos. Entre otros sujetos para los cuales los métodos de la invención son útiles están los gatos, los perros, animales grandes, aves tales como pollos, y similares. En general, cualquier sujeto que se beneficiaría de un compuesto de fórmula I es apropiado para la administración del método de la invención.

Los datos biológicos divulgados en el presente documento se produjeron usando una muestra del Compuesto I que contenía menos del 1 % del isómero R y > 99 % del enantiómero S, tal y como será determinado mediante HPLC quiral usando una columna Chiralcel OD-H de 4,6 x 250 mm operada a 40 °C, usando una velocidad de flujo de 1 ml/min de hexanos / etanol 90:10. Este material se preparó tal y como se resume en la Figura 9. El material se caracterizó mediante HPLC y fue más de un 99 % puro (de acuerdo con la detección UV tanto a 214 nm como a 254 nm), y se caracterizó también mediante RMN y espectroscopía de masas por electropulverización. Era un polvo blanco.



El material usado en los ejemplos tenía las siguientes características:

Ensayo	Resultados del ensayo
--------	-----------------------

Aspecto	Polvo blanco
RMN ¹ H	Consistente con la estructura
Ensayo de HPLC	99+ %
Pureza quiral (HPLC)	99,2 % e.e. (relación de isómeros S:R 99,6:0,4)

Ejemplo 1

Ensayo de transformación de fibroblastos de embrión de pollo

5 Los fibroblastos de embrión de pollo (FEP) se transdujeron con reservas virales con versiones de los genes humanos para las isoformas individuales de la PI3K p110 α , p110 β , p110 δ y p110 γ . Estas líneas de FEP transducidas se disponen en placas en un medio de crecimiento donde las células transformadas oncogénicamente forman focos que después se pueden teñir y contar. El Compuesto 1 inhibió la formación de focos transformados en
10 las células FEP que se habían transducido con la p110 β con una CE-50 de 150 nM. Por el contrario, el Compuesto 1 no inhibió las células FEP transducidas con la p110 α significativamente a la concentración más alta ensayada (2000 nM). Denley A, Kang S, Karst U y Vogt PK, "Oncogenic signaling of class 1 PI3K isoforms", *Oncogene* (2008) 27: 2561-2574. La Figura 3 ilustra la lectura de este ensayo.

Ejemplo 2

Preparación del Compuesto I

20 El Compuesto I se sintetizó mediante la ruta representada en la Figura 5, usando métodos conocidos en la técnica que incluyen adaptaciones de los métodos descritos en Zhichkin, et al., *Organic Letters*, vol. 9(7), 1415-18 (2007), y la patente de Estados Unidos N° 6.800.620.

Ejemplo 3

Efecto del Compuesto I sobre xenoinjertos en células de cáncer de ovario

30 Ratones nu/nu hembra que portaban xenoinjertos OVCAR-3 (células de cáncer de ovario humanas) se mantuvieron hasta que el volumen del tumor midió aproximadamente 100 mm³. En ese momento, el tratamiento comenzó con el Compuesto I a una velocidad de 30 mg/kg administrado dos veces al día. Los resultados de las mediciones del volumen del tumor a lo largo de un periodo de 36 días se muestran en la Figura 8, y demuestran que no solo inhibió el crecimiento del tumor, si no que el tamaño del tumor existente se redujo realmente mediante el tratamiento con el Compuesto I.

Ejemplo 4

Efecto del Compuesto I sobre xenoinjertos de cáncer renal

40 Ratones nu/nu hembra que portaban xenoinjertos A498 (células de cáncer renal humanas) se mantuvieron hasta que el volumen del tumor midió aproximadamente 100 mm³. En ese momento, el tratamiento comenzó con el Compuesto I a una velocidad de 30 mg/kg administrado dos veces al día. Los resultados de las mediciones del volumen del tumor a lo largo de un periodo de 20 días se muestran en la Figura 9, la cual demuestra que este nivel de dosificación proporciona una reducción significativa del crecimiento del tumor *in vivo*.

Ejemplo 5

Niveles en plasma del Compuesto I en ratones que portan xenoinjertos de tumor

50 Se observaron los niveles en plasma del Compuesto I en ratones nu/nu hembra que portaban uno de los xenoinjertos de células cancerosas usado en los dos ejemplos anteriores. El Compuesto I se administró en una dosis única a una velocidad de 30 mg/kg a cada sujeto de ensayo, y los niveles en plasma se monitorizaron durante 12 horas después de ello. Los niveles en plasma del Compuesto I alcanzaron un máximo alrededor de 2-4 horas después de la administración en cada caso, y volvieron esencialmente a cero 8 horas después de la dosis única a esa velocidad, tal y como se muestra en la Figura 10. La concentración plasmática máxima para esos sujetos, después de una única inyección a la dosis que se demostró que era eficaz para inhibir el crecimiento tumoral de
55 cada xenoinjerto (véanse los ejemplos anteriores, y las Figuras 8-9) fueron en general inferiores a aproximadamente 7000 ng/ml.

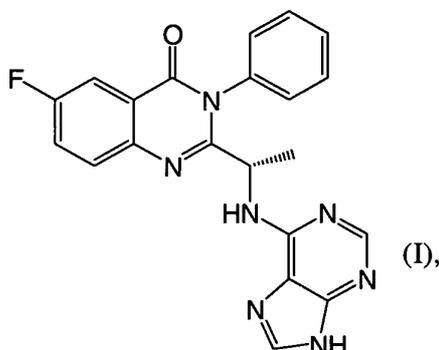
Ejemplo 6

Farmacocinética y toxicocinética del Compuesto I en ratas

5 El Compuesto I se dosificó a 60, 120, o 240 mg/kg/día administrado como una dosis única durante un periodo de hasta 14 días en ratas sanas. La Figura 11 muestra los niveles sanguíneos medidos del Compuesto I durante un periodo de 24 horas para cada sujeto de ensayo durante el primer día del tratamiento (líneas discontinuas) y el último día del tratamiento (líneas continuas) para la dosis tolerada. La concentración máxima del Compuesto I (C_{max}) y el área bajo la curva (AUC) para la dosis tolerada fueron mayores que las observadas con dosis eficaces del Compuesto I en los tumores del modelo de xenoinjerto en ratones. Por ejemplo, la dosificación de 60 mg/kg al día produjo una C_{max} de 7300 ng/ml, mientras que la C_{max} para la dosis antitumoral eficaz en el ensayo de 10 xenoinjerto fueron de 2800 y 5600 ng/ml. Análogamente, la AUC para la dosificación de 60 mg/kg/día en este estudio fue de 58.000 ng-h/ml, mientras que las correspondientes AUC en los ratones que portaban el xenoinjerto que recibieron dosis de tratamiento eficaces fueron de 15.000 y 18.000 ng-h/ml.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I ópticamente activo



5

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto ópticamente activo de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; para uso en un método de tratamiento de un tumor sólido en un sujeto.

10

2. El compuesto para uso de la reivindicación 1, en donde el tumor sólido se selecciona de entre el grupo que consiste en cáncer pancreático; cáncer de vejiga; cáncer colorrectal; cáncer de mama; cáncer de próstata; cáncer renal; cáncer hepatocelular; cáncer de pulmón; cáncer de ovario; cáncer de cuello uterino; cáncer gástrico; cáncer de esófago; cáncer de cabeza y cuello; melanoma; cánceres neuroendocrinos; cánceres del SNC; tumores cerebrales; cáncer óseo; y sarcoma de los tejidos blandos, o en donde el tumor sólido se selecciona de entre cáncer no microcítico de pulmón, cáncer microcítico de pulmón, cáncer de colon, cáncer del SNC, melanoma, cáncer de ovario, cáncer renal, cáncer de próstata y cáncer de mama.

15

3. El compuesto para uso de la reivindicación 1, en el que el enantiómero S predomina sobre el enantiómero R en una relación de al menos aproximadamente 9:1 y preferentemente en el que el enantiómero S predomina sobre el enantiómero R en una relación de al menos aproximadamente 19:1.

20

4. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el compuesto es para administración al sujeto por vía oral, por vía intravenosa o mediante inhalación, y preferentemente en donde el compuesto es para administración al sujeto en forma sólida.

25

5. El compuesto para uso de la reivindicación 4, en el que la forma sólida comprende el compuesto de fórmula I ópticamente activo mezclado con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30

6. El compuesto para uso de la reivindicación 5, en donde el tumor sólido es cáncer de ovario, renal, de mama, de pulmón, de colon o de próstata.

7. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el sujeto no responde al tratamiento de quimioterapia o sufre una recaída tras el tratamiento de quimioterapia.

35

8. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el compuesto de fórmula I es para su administración a una dosis de 20-500 mg/día, o preferentemente a una dosis de 50-250 mg/día, o más preferentemente a una dosis de 50-150 mg dos veces al día.

40

9. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde un compuesto de fórmula I es para administración al menos dos veces al día.

10. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el sujeto es un sujeto humano.

45

11. El compuesto para uso de la reivindicación 10, en donde la concentración del compuesto en la sangre es entre 40-3000 ng/ml durante un periodo de 12 horas desde el momento de la administración.

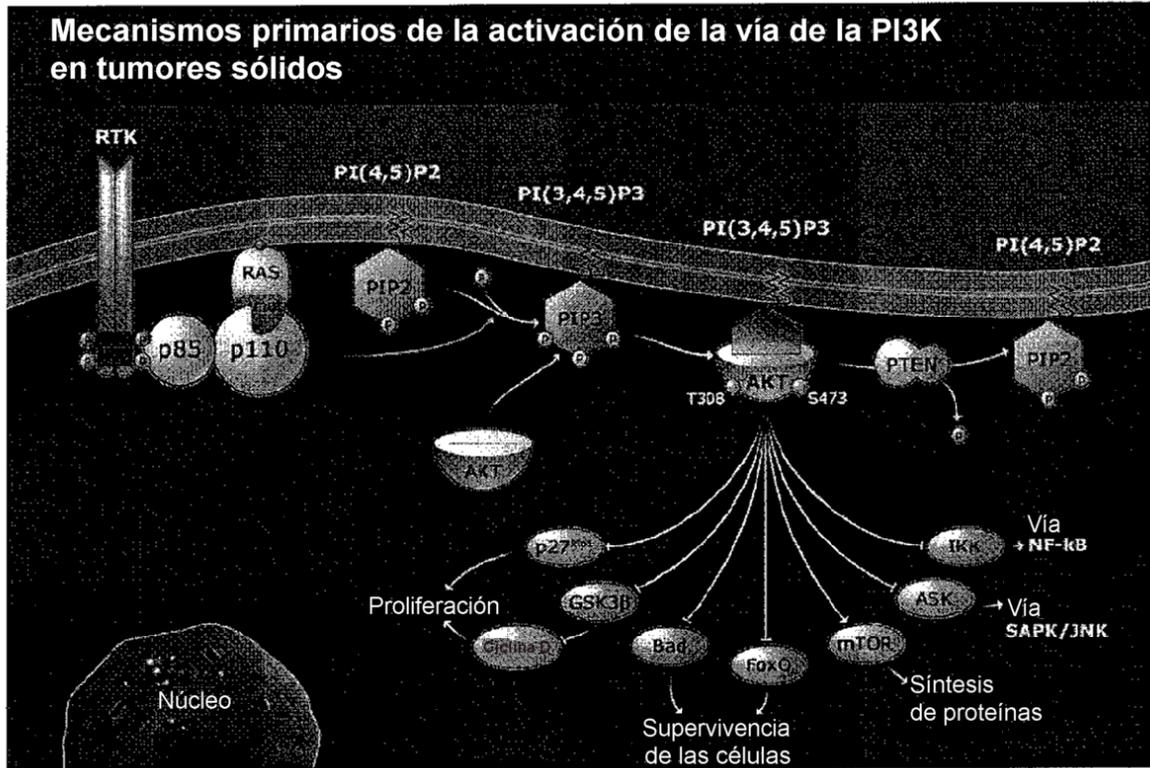
12. El compuesto para uso de la reivindicación 10, en donde la concentración del compuesto en la sangre es entre aproximadamente 100 nM y 2000 nM en el sujeto tratado.

50

13. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el método de tratamiento comprende adicionalmente administrar además de un compuesto de fórmula I a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico y/o un procedimiento terapéutico seleccionado para tratar dicho cáncer en dicho paciente, y en donde dicho agente terapéutico se selecciona preferentemente de entre el grupo siguiente que

- consiste en docetaxel, mitoxantrona, prednisona, estramustina, antraciclinas, (doxorubicina (Adriamycin), epirubicina (Ellence), y doxorubicina liposómica (Doxil), taxanos (docetaxel (Taxotere), paclitaxel (Taxol), y paclitaxel unido a proteínas (Abraxane), ciclofosfamida (Cytoxan), capecitabina (Xeloda) y 5 fluorouracilo (5 FU), gemcitabina (Gemzar), metotrexato, vinorelbina (Navelbine), un inhibidor del RFCE tal como erlotinib, trastuzumab, Herceptin,
- 5 Avastin, platinos (cisplatino, carboplatino), temazolamida, interferón alfa, e IL-2, o en donde dicho agente terapéutico se selecciona de entre el grupo que consiste en un inhibidor del RFCE, un inhibidor de la mTOR, un platino y un taxano.
14. El compuesto para uso de la reivindicación 13, en donde dicho procedimiento terapéutico se selecciona de entre
- 10 el grupo que consiste en trasplante de células madre de sangre periférica, trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas, trasplante autólogo de médula ósea, terapia con anticuerpos, terapia biológica, terapia con inhibidores de enzimas, irradiación total del cuerpo, infusión de células madre, ablación de médula ósea con apoyo de células madre, trasplante de células madre de sangre periférica tratadas *in vitro*, trasplante de sangre de cordón umbilical, técnica inmunoenzimática, compuesto de tinción inmunohistoquímica, estudio farmacológico, terapia de
- 15 rayos gamma con cobalto 60 de baja TLE, bleomicina, cirugía convencional, radioterapia, quimioterapia de dosis alta y trasplante alogénico no mieloablativo de células madre hematopoyéticas.
15. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende además obtener una muestra biológica de dicho sujeto; y analizar dicha muestra biológica con un procedimiento analítico seleccionado de entre el
- 20 grupo que consiste en análisis químico de la sangre, análisis de translocaciones cromosómicas, biopsia con aguja, hibridación fluorescente *in situ*, análisis con biomarcadores de laboratorio, compuesto de tinción inmunohistoquímica, citometría de flujo o una combinación de los mismos, en donde el compuesto es preferentemente para su administración a dicho sujeto dos veces al día durante aproximadamente 28 días y después se deja de administrar durante al menos 7 días.
- 25

Figura 1



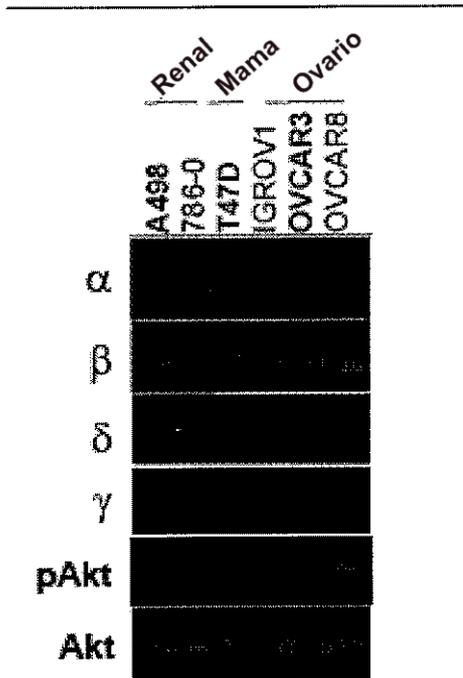


Figura 2

Figura 3

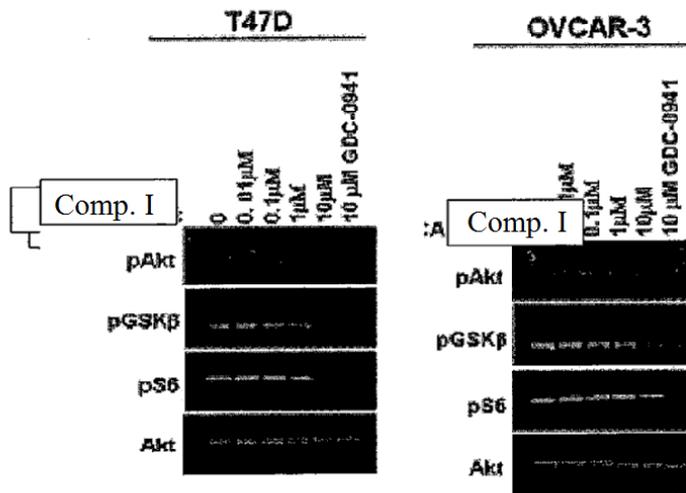
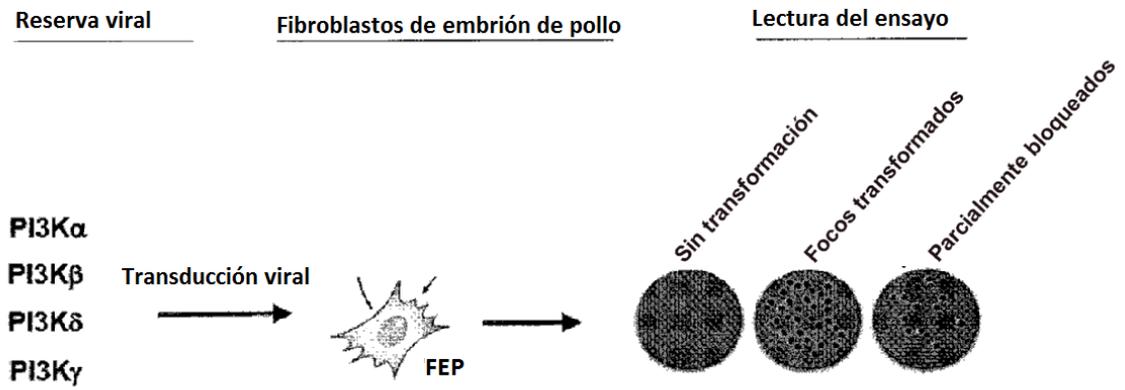
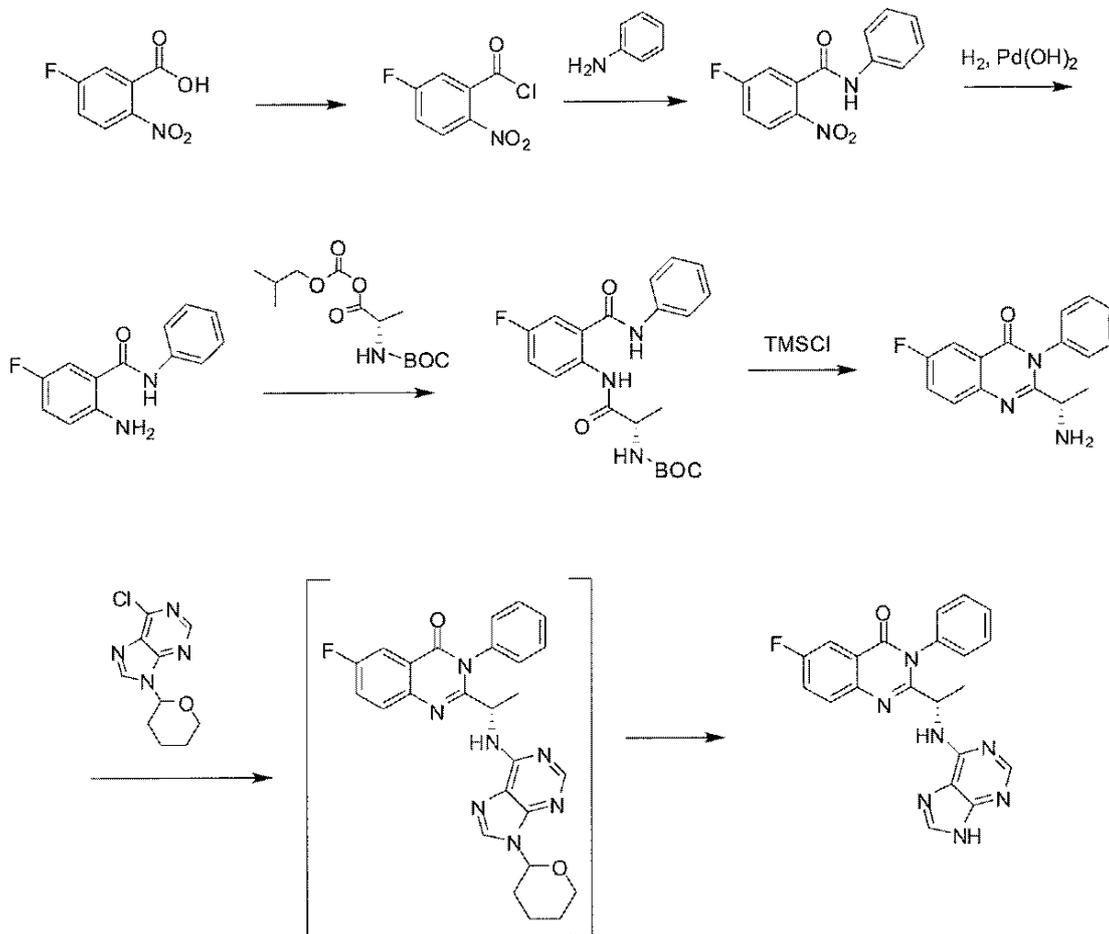


Figura 4

Figura 5



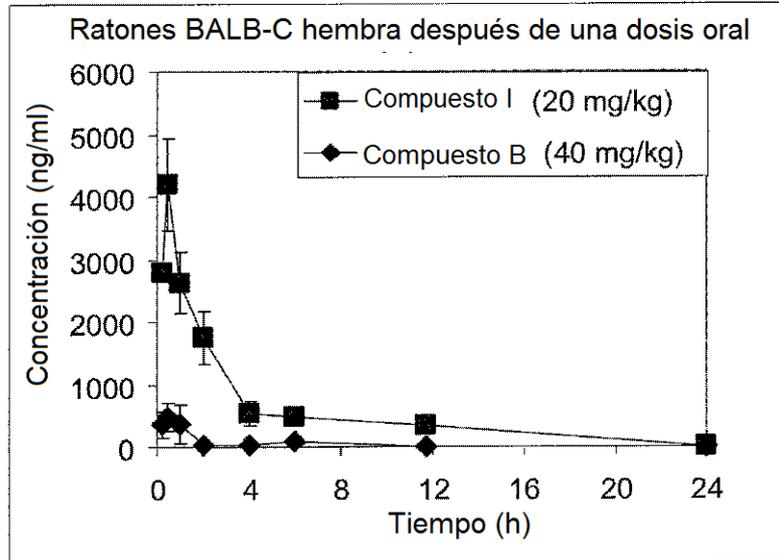


Figura 6

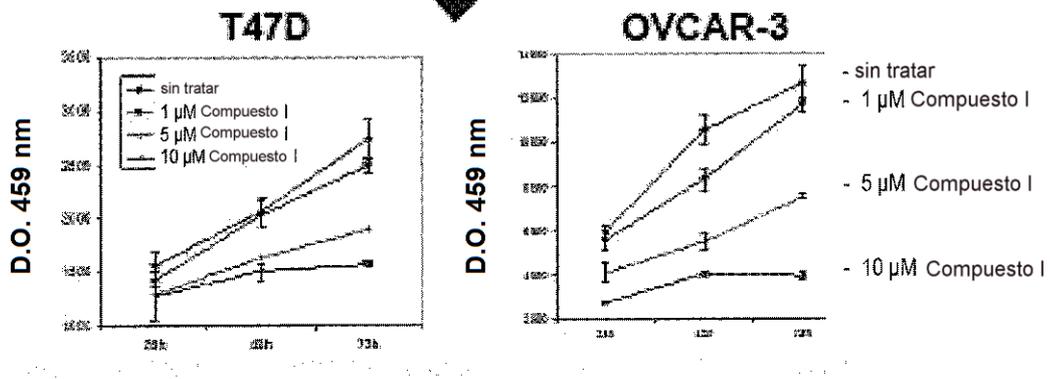


Figura 7

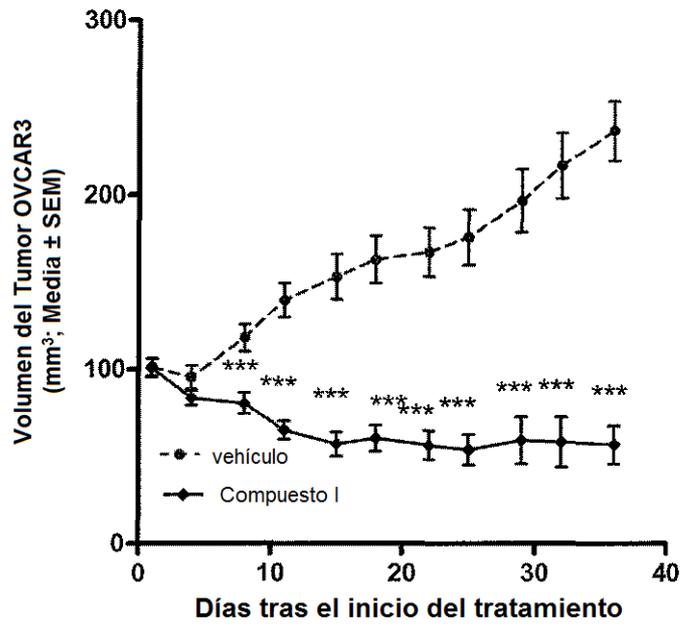


Figura 8

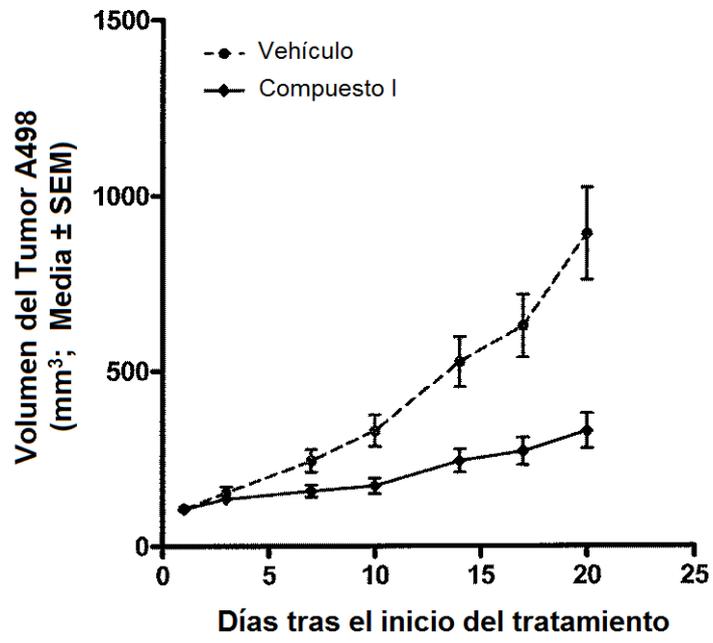


Figura 9

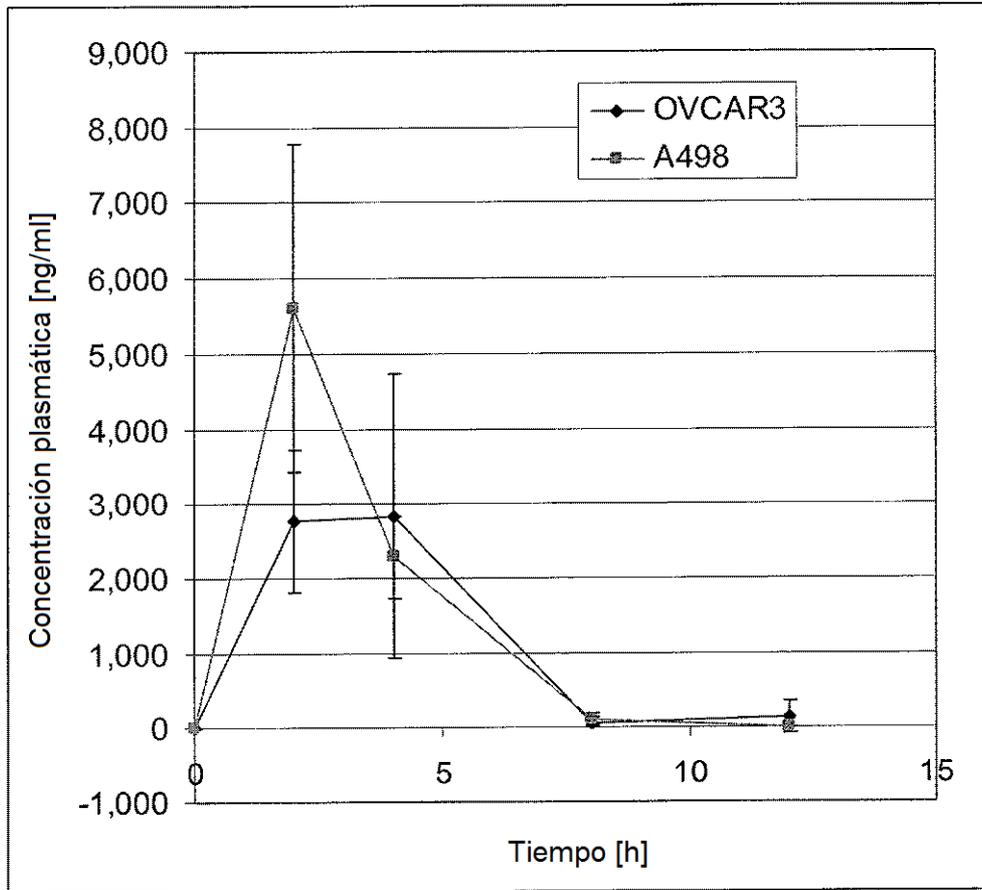


Figura 10

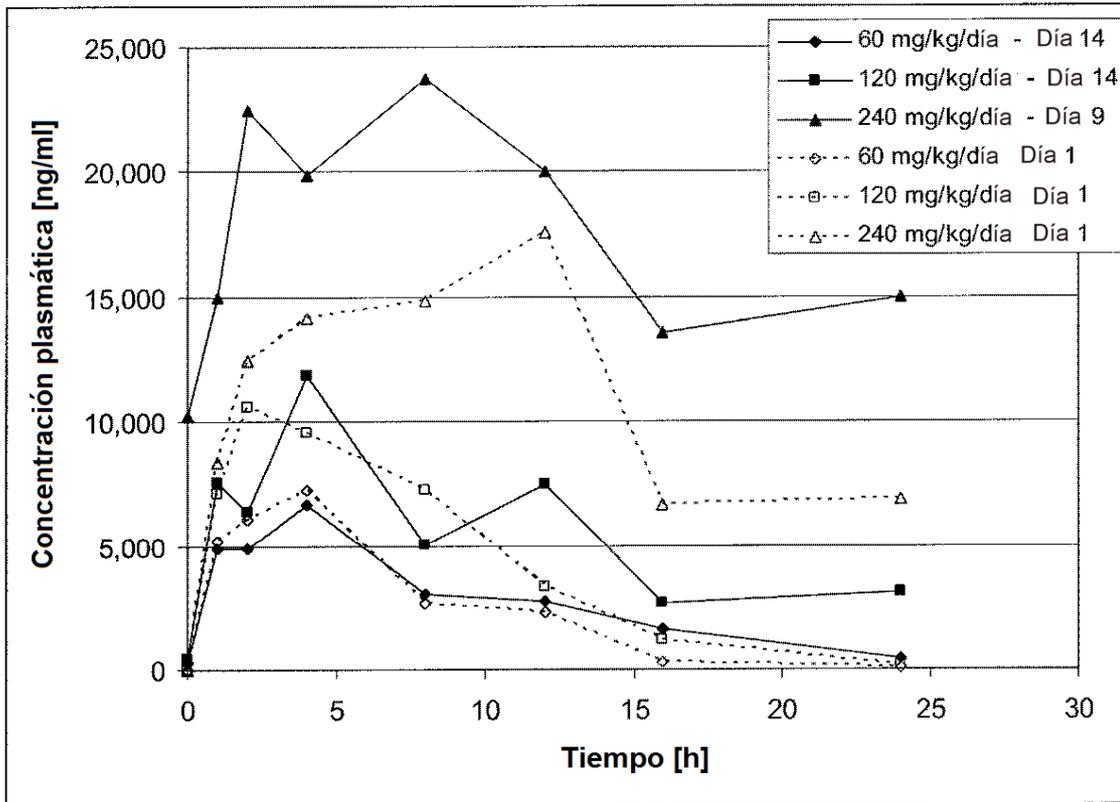


Figura 11