

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 332**

51 Int. Cl.:

A61K 31/495 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.03.2012 E 12710836 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.12.2015 EP 2683384**

54 Título: **Métodos para tratar el cáncer usando 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona**

30 Prioridad:

11.03.2011 US 201161451995 P

28.04.2011 US 201161480272 P

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

03.03.2016

73 Titular/es:

CELGENE CORPORATION (100.0%)

86 Morris Avenue

Summit, NJ 07901, US

72 Inventor/es:

MULLER, GEORGE W.;

SCHAFFER, PETER H.;

MAN, HON-WAH;

ZHANG, LING-HUA;

GANDHI, ANITA y

CHOPRA, RAJESH

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 562 332 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 tratar el cáncer usando 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de EE.UU. nº 61/451.995, presentada el 11 de marzo, 2011, y la solicitud de patente provisional de EE.UU. nº 61/480.272, presentada el 28 de abril, 2011.

5 **1. Campo de la invención**

Se proporcionan en la presente memoria composiciones para el tratamiento, prevención y/o atención integral del cáncer, que comprenden 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables.

10 **2. Antecedentes de la invención**

2.1. Patobiología del cáncer

15 El cáncer se caracteriza principalmente por un aumento del número de células anómalas derivadas de un tejido normal dado, invasión de tejidos adyacentes por estas células anómalas, o propagación linfática o por la sangre de células malignas a ganglios linfáticos regionales y a sitios distantes (metástasis). Datos clínicos y estudios biológicos moleculares indican que el cáncer es un proceso de múltiples etapas que empieza con cambios preneoplásicos pequeños, que en determinadas condiciones pueden progresar a la neoplasia. La lesión neoplásica puede evolucionar de forma clonal y desarrollar una capacidad creciente de invasión, crecimiento, metástasis y heterogeneidad, en especial en condiciones en las que las células neoplásicas escapan de la vigilancia inmunitaria del hospedante. Roitt, I., Brostoff, J y Kale., *Immunology*. 17.1-17.12 (3ª ed.. Mosby, St. Louis. Mo.. 1993).

20 Hay una gran variedad de cánceres que se describen con detalle en la bibliografía médica. Los ejemplos incluyen cáncer de pulmón, colon, recto, próstata, mama, cerebro e intestino. La incidencia del cáncer continua aumentando a medida que envejece la población, se desarrollan nuevos cánceres y crecen las poblaciones susceptibles (p. ej., personas infectadas con SIDA o excesivamente expuestas a la luz solar). Por lo tanto, existe una gran demanda de nuevos métodos y composiciones que se pueden usar para tratar pacientes con cáncer.

25 Muchos tipos de cánceres están asociados con la formación de nuevos vasos sanguíneos, un proceso conocido como angiogénesis. Se han elucidado varios mecanismos implicados en la angiogénesis inducida por tumor. El más directo de estos mecanismos es la secreción por las células tumorales de citoquinas con propiedades angiogénicas. Los ejemplos de estas citoquinas incluyen factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico (a,b-FGF), angiogenina, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y TNF- α . Alternativamente, las células tumorales pueden liberar péptidos angiogénicos a través de la producción de proteasas y la posterior rotura de la matriz extracelular donde son almacenadas algunas citoquinas (p. ej., b-FGF). La angiogénesis también puede ser inducida indirectamente por el reclutamiento de células inflamatorias (en particular macrófagos) y su posterior liberación de citoquinas angiogénicas (p. ej., TNF- α , b-FGF).

35 Linfoma se refiere a cánceres que se originan en el sistema linfático. El linfoma se caracteriza por neoplasmas malignos de linfocitos, linfocitos B y linfocitos T (es decir, células B y células T). El linfoma en general empieza en los ganglios linfáticos o colecciones de tejido linfático en órganos, incluyendo, pero no limitado, a estómago o intestinos. El linfoma puede implicar la médula y la sangre en algunos casos. El linfoma puede extenderse desde un sitio a otras partes del cuerpo.

40 Se describe el tratamiento de diferentes formas de linfomas, por ejemplo, en la patente de EE.UU. nº 7.468.363, la totalidad de la cual se incorpora en su totalidad en la presente memoria por referencia. Dichos linfomas incluyen, pero no se limitan a linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de células B, linfoma de células B activadas, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de células de manto (LCM), linfoma centro folicular, linfoma transformado, linfoma linfocítico de diferenciación intermedia, linfoma linfocítico intermedio (ILL), linfoma linfocítico difuso mal diferenciado (PDL), linfoma centrocítico, linfoma difuso de células pequeñas hendidas (DSCCL),

45 linfomas de células T periféricas (PTCL), linfoma cutáneo de células T y linfoma de la zona del manto y linfoma folicular de bajo grado.

El linfoma no hodgkiniano (NHL) es el quinto cáncer más común tanto para hombres como para mujeres en Estados Unidos, con 63.190 casos nuevos estimados cada año y 18.660 muertes en 2007. Jemal A, et al., *CA Cancer J Clin* 2007; 57(1):43-66. La probabilidad de desarrollar NHL aumenta con la edad y la incidencia del NHL en personas mayores ha aumentado constantemente en la pasada década, causando preocupación por la tendencia al envejecimiento de la población de EE.UU. *Ibidem*, Clarke C A, et al., *Cancer* 2002; 94(7):2015-2023.

55 El linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) da cuenta de aproximadamente una tercera parte de los linfomas no hodgkinianos. Aunque algunos pacientes con DLBCL se curan con quimioterapia tradicional, el resto mueren de la enfermedad. Los fármacos anticancerígenos producen una reducción rápida y persistente de linfocitos, posiblemente por inducción directa de apoptosis en células T y B maduras. Véase, K. Stahnke et al., *Blood* 2001, 98:3066-3073.

Se ha mostrado que el recuento absoluto de linfocitos (ALC) es un factor pronóstico en el linfoma folicular no hodgkiniano y resultados recientes han sugerido que el ALC en el diagnóstico es un factor pronóstico importante en el linfoma difuso de células B grandes. Véase, D. Kim et al., *Journal of Clinical Oncology*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007: 8082.

5 La leucemia se refiere a neoplasmas malignos de tejidos formadores de sangre. Se han descrito varios tipos de leucemias, por ejemplo, en la patente de EE.UU. n° 7.393.862 y solicitud de patente provisional de EE.UU. n° 60/380.842, presentada el 17 de mayo, 2002, la totalidad de las cuales se incorpora en la presente memoria por referencia. Aunque se ha descrito que los virus producen varias formas de leucemia en animales, las causas de la leucemia en seres humanos son en gran medida desconocidas. *The Merck Manual*, 944-952 (17ª ed. 1999). La transformación en tumor maligno normalmente ocurre en una sola célula mediante una o más etapas con la posterior proliferación y expansión clonal. En algunas leucemias, se han identificado translocaciones cromosómicas específicas con morfología de células leucémicas y características clínicas especiales consistentes (p. ej., translocaciones de 9 y 22 en la leucemia mielocítica crónica, y de 15 y 17 en la leucemia promielocítica aguda). Las leucemias agudas son predominantemente poblaciones de células indiferenciadas y las leucemias crónicas formas de células más maduras.

10 Las leucemias agudas se dividen en tipos linfoblástico (ALL) y no linfoblástico (ANLL). *The Merck Manual*, 946-949 (17ª ed. 1999). Se pueden subdividir además por su aspecto morfológico y citológico de acuerdo con la clasificación franco-anglo-estadounidense (FAB) o de acuerdo con su tipo y grado de diferenciación. El uso de anticuerpos monoclonales contra células B y T específicas y antígenos mieloides, es lo más útil para la clasificación. La ALL es una enfermedad predominantemente de la infancia, que se establece mediante resultados de laboratorio y examen de la médula ósea. La ANLL, también conocida como leucemia mielógena aguda o leucemia mieloblástica aguda (AML), ocurre en todas las edades y es la leucemia aguda más común entre los adultos; es la forma asociada normalmente con irradiación como agente causante.

20 Las leucemias crónicas se describen como linfocíticas (CLL) o mielocíticas (CML). *The Merck Manual*, 949-952 (17ª ed. 1999). La CLL se caracteriza por la aparición de linfocitos maduros en la sangre, médula ósea y órganos linfoides. La característica distintiva de la CLL es la linfocitosis absoluta sostenida ($> 5.000/\mu\text{l}$) y un aumento de linfocitos en la médula ósea. La mayoría de los pacientes con CLL tienen expansión clonal de linfocitos con características de células B. La CLL es una enfermedad de la mediana edad o edad avanzada. En la CML, la propiedad característica es el predominio de células granulocíticas de todos los estadios de diferenciación en la sangre, médula ósea, hígado, bazo y otros órganos. En el paciente sintomático, en el diagnóstico el recuento total de glóbulos blancos de la sangre (WBC) normalmente es aproximadamente $200.000/\mu\text{l}$, pero puede alcanzar $1.000.000/\mu\text{l}$. La CML es relativamente fácil de diagnosticar por la presencia del cromosoma Filadelfia.

25 Además de la clasificación en agudas y crónicas, las neoplasias también se clasifican basándose en las células que dan lugar a dicho trastorno, en precursoras o periféricas. Véase, p. ej., la publicación de patente de EE.UU. n° 2008/0051379, cuya descripción se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad. Las neoplasias precursoras incluyen ALL y linfomas linfoblásticos y ocurren en linfocitos antes de haberse diferenciado en una célula T o B. Las neoplasias periféricas son las que ocurren en linfocitos que se han diferenciado en células T o B. Dichas neoplasias periféricas incluyen, pero no se limitan a CLL de células B, leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmácito, linfoma de célula de manto, linfoma folicular, linfoma extranodal de zona marginal de células B de tejido de tipo linfático relacionado con la mucosa, linfoma nodal de zona marginal, linfoma esplénico de zona marginal, leucemia de células pilosas, plasmacitoma, linfoma de células B grandes difuso y linfoma de Burkitt. En alrededor de 95 por ciento de casos de CLL, la expansión clonal es un linaje de células B. Véase, *Cancer: Principles & Practice of Oncology* (3ª edición) (1989) (pág. 1843-1847). En menos de 5 por ciento de los casos de CLL, las células tumorales tienen un fenotipo de células T. Sin embargo, a pesar de estas clasificaciones, el deterioro patológico de la hematopoyesis normal es la característica destacada de todas las leucemias.

30 El mieloma múltiple (MM) es un cáncer de células plasmáticas en la médula ósea. Normalmente, las células plasmáticas producen anticuerpos y tienen una función clave en la función inmunitaria. Sin embargo, el crecimiento no controlado de estas células conduce al dolor óseo y fracturas, anemia, infecciones y otras complicaciones. El mieloma múltiple es el segundo tumor maligno hematológico más común, aunque la causa exacta del mieloma múltiple sigue siendo desconocida. El mieloma múltiple produce niveles altos de proteínas en la sangre, orina y órganos, incluyendo, pero no limitado a proteína M y otras inmunoglobulinas (anticuerpos), albúmina y beta-2-microglobulina. La proteína M, abreviatura de proteína monoclonal, también conocida como paraproteína, es una proteína particularmente anómala producida por las células plasmáticas del mieloma y se puede encontrar en la sangre o la orina de prácticamente todos los pacientes con mieloma múltiple.

50 Los síntomas esqueléticos, incluyendo el dolor óseo, están entre los síntomas clínicamente más significativos del mieloma múltiple. Las células plasmáticas malignas liberan factores estimuladores de osteoclastos (incluyendo IL-1, IL-6 y TNF) que hacen que el calcio lixivie de los huesos produciendo lesiones líticas; la hipercalcemia es otro síntoma. Los factores estimuladores de osteoclastos, también denominados citoquinas, pueden prevenir la apoptosis, o muerte de células de mieloma. El 50 por ciento de los pacientes tienen lesiones esqueléticas relacionadas con el mieloma, detectables por radiología, en el diagnóstico. Otros síntomas clínicos comunes para el mieloma múltiple incluyen la polineruopatía, anemia, hiperviscosidad, infecciones e insuficiencia renal.

Los tumores sólidos son masas anómalas de tejido que pueden contener, pero normalmente no contienen, quistes o zonas líquidas. Los tumores sólidos pueden ser benignos (no canceroso) o maligno (cáncer). Los diferentes tipos de tumores sólidos se nombran por el tipo de células que los forman. Los ejemplos de tipos de tumores sólidos incluyen, pero no se limitan a melanoma maligno, carcinoma suprarrenal, carcinoma de mama, cáncer de células renales, carcinoma de páncreas, carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y carcinoma de sitio primario desconocido. Los fármacos administrados habitualmente a pacientes con diferentes tipos de tumores sólidos, o en diferentes estadios, incluyen, pero no se limitan a celebrex, etopósido, ciclofosfamida, docetaxel, apécitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF, o una combinación de los mismos.

Aunque los pacientes que logran una remisión completa después de la terapia inicial tienen una buena probabilidad de cura, menos de 10% de los que no responden o recaen, logran una cura o una respuesta que dura más de 3 años. Véase, Cerny T, et al., *Ann Oncol* 2002; 13 Suppl 4:211-216.

Se sabe que el rituximab reduce las células B normales del hospedante. Véase, Aklilu et al., *Annals of Oncology* 15:1109-1114, 2004. Los efectos inmunológicos a largo plazo de la reducción de células B con rituximab y las características del conjunto de células B que se reconstituyen en los pacientes con linfoma no están bien definidos, a pesar del uso extendido de esta terapia. Véase, Jennifer H. Anolik et al., *Clinical Immunology*, vol. 122, issue 2, febrero de 2007, páginas 139-145.

El procedimiento para pacientes con enfermedad recidivante o refractaria se basa en gran medida en tratamientos experimentales seguidos de trasplante de citoblastos, que puede no ser adecuado para pacientes con mal estado general o edad avanzada. Por lo tanto, hay una gran demanda de nuevos métodos que se pueden usar para tratar pacientes con NHL.

Se ha establecido la conexión entre el cáncer y el metabolismo celular alterado. Véase, Cairns, R. A., et al. *Nature Rev.*, 2011, 11:85-95. La comprensión del metabolismo celular de los tumores y los cambios genéticos asociados puede conducir a la identificación de métodos mejorados para el tratamiento del cáncer. *Ibidem*. Por ejemplo, la supervivencia y proliferación de células tumorales por el mayor metabolismo de la glucosa se ha conectado con la ruta de PI3K, por la cual mutaciones en genes supresores tumorales tales como PTEN activan el metabolismo de las células tumorales. *Ibidem*. AKT1 (también conocido como PKB) estimula el metabolismo de la glucosa asociado con el crecimiento de células tumorales por varias interacciones con PFKFB3, ENTPD5, mTOR y TSC2 (también conocido como tuberina). *Ibidem*.

Los factores de transcripción HIF1 y HIF2 son en gran medida responsables de la respuesta celular a las condiciones de oxígeno bajas a menudo asociadas con tumores. *Ibidem*. Una vez activado, el HIF1 promueve la capacidad de las células tumorales para llevar a cabo la glucólisis. *Ibidem*. Por lo tanto, la inhibición de HIF1 puede ralentizar o invertir el metabolismo de las células tumorales. La activación del HIF1 se ha conectado con PI3K, proteínas supresoras de tumores tales como VHL, succinato deshidrogenasa (SDH) y fumarato hidratasa. *Ibidem*. El factor de transcripción oncogénico MYC también se ha conectado con el metabolismo de células tumorales, específicamente la glucólisis. *Ibidem*. El MYC promueve la proliferación celular por rutas metabólicas de la glutamina. *Ibidem*.

La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) funciona como un punto de control metabólico que tienen que superar las células tumorales con el fin de proliferar. *Ibidem*. Se han identificado varias mutaciones que suprimen la señalización de la AMPK en células tumorales. Véase, Shackelford, D. B. y Shaw, R. J., *Nature Rev. Cancer*, 2009, 9: 563-575. STK11 se ha identificado como un gen supresor tumoral relacionado con la función de la AMPK. Véase Cairns, R. A., et al. *Nature Rev.*, 2011, 11:85-95.

El factor de transcripción p53, un supresor tumoral, también tiene una función importante en la regulación del metabolismo celular. *Ibidem*. La pérdida de p53 en células tumorales puede ser un contribuyente importante de los cambios en el metabolismo de las células tumorales a las rutas glucolíticas. *Ibidem*. El factor de transcripción OCT1, otra diana potencial para los productos quimioterapéuticos, puede cooperar con p53 en la regulación del metabolismo de las células tumorales. *Ibidem*.

La piruvato quinasa M2 (PKM2) promueve cambios en el metabolismo celular que confieren ventajas metabólicas a las células de cáncer, respaldando la proliferación celular. *Ibidem*. Por ejemplo, las células de cáncer de pulmón que expresan PKM2 frente a PKM1 se ha encontrado que tienen dicha ventaja. *Ibidem*. En clínica, se ha identificado que PKM2 es expresada en exceso en una serie de tipos de cáncer. Por lo tanto PKM2 puede ser un biomarcador útil para la detección temprana de tumores.

Las mutaciones en las isocitrato deshidrogenasas IDH1 e IDH2, se han conectado con la oncogénesis, específicamente, en el glioblastoma y la leucemia mieloide aguda. Véase, Mardis, E. R. et al., *N. Engl. J. Med.*, 2009, 361: 1058-1066; Parsons, D. W. et al., *Science*, 2008, 321: 1807-1812.

La incidencia del cáncer continua aumentando a medida que envejece la población general, se desarrollan nuevos cánceres y crecen las poblaciones susceptibles (p. ej., personas infectadas con SIDA o excesivamente expuestas a la luz solar). Hay una gran demanda de nuevos métodos, tratamientos y composiciones que se puedan usar para

tratar pacientes con cáncer incluyendo, pero no limitado a aquellos con linfoma, NHL, mieloma múltiple, AML, leucemias y tumores sólidos.

5 Por consiguiente, los compuestos que pueden controlar y/o inhibir la angiogénesis no deseada o inhibir la producción de determinadas citoquinas, incluyendo TNF- α , pueden ser útiles en el tratamiento y prevención de diferentes formas de cáncer.

2.2. Métodos de tratamiento del cáncer

10 La terapia actual del cáncer puede implicar cirugía, quimioterapia, terapia hormonal y/o tratamiento con radiación para erradicar las células neoplásicas en un paciente (véase, por ejemplo, Stockdale, 1998, *Medicine*, vol. 3, Rubenstein y Federman, eds., capítulo 12, sección IV). Recientemente, la terapia para el cáncer también podía implicar terapia biológica o inmunoterapia. Todos estos procedimientos pueden presentar inconvenientes importantes para el paciente. La cirugía, por ejemplo, puede estar contraindicada debido a la salud de un paciente o puede ser inaceptable para el paciente. Además, la cirugía puede no eliminar completamente el tejido neoplásico. La terapia de radiación solo es eficaz cuando el tejido neoplásico presenta una mayor sensibilidad a la radiación que el tejido normal. La terapia de radiación a menudo también puede producir efectos secundarios graves. La terapia hormonal raramente se da como un solo agente. Aunque la terapia hormonal puede ser eficaz, a menudo se usa para prevenir o retrasar la reaparición del cáncer después de que otros tratamientos hayan eliminado la mayoría de las células de cáncer. Algunas terapias biológicas y otras terapias son limitadas en número y pueden producir efectos secundarios tales como erupción o hinchamientos, síntomas de tipo gripe, incluyendo fiebre, escalofríos y fatiga, problemas del tracto digestivo o reacciones alérgicas.

15 20 Con respecto a la quimioterapia, hay una variedad de agentes quimioterapéuticos disponibles para el tratamiento del cáncer. Una serie de agentes quimioterapéuticos para el cáncer actúan inhibiendo la síntesis de ADN, sea directa o indirectamente inhibiendo la biosíntesis de precursores de desoxirribonucleótido trifosfato, para prevenir la replicación del ADN y la división celular concomitante. Gilman et al., *Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10ª edición (McGraw Hill, New York).

25 A pesar de la disponibilidad de una variedad de agentes quimioterapéuticos, la quimioterapia tiene muchos inconvenientes. Stockdale, *Medicine*, vol. 3, Rubenstein and Federman, eds., cap. 12, sec. 10, 1998. Prácticamente todos los agentes quimioterapéuticos son tóxicos y la quimioterapia produce efectos secundarios importantes y a menudo peligrosos, que incluyen náuseas graves, depresión de la médula ósea e inmunosupresión. Además, incluso con la administración de combinaciones de agentes quimioterapéuticos, muchas células tumorales son resistentes o desarrollan resistencia a los agentes quimioterapéuticos. De hecho, las células resistentes a los agentes quimioterapéuticos particulares usados en el protocolo de tratamiento, a menudo demuestran ser resistentes a otros fármacos, incluso si estos agentes actúan por diferente mecanismo del de los fármacos usados en el tratamiento específico. Este fenómeno se denomina multiresistencia. Debido a la resistencia a fármacos, muchos cánceres demuestran ser refractarios a protocolos de tratamiento quimioterapéutico convencionales.

30 35 Existe una necesidad importante de métodos seguros y eficaces de tratamiento, prevención y atención integral del cáncer, en particular para cánceres que son refractarios a los tratamientos convencionales, tales como la cirugía, terapia de radiación, quimioterapia y terapia hormonal, a la vez que reduzcan o eviten toxicidades y/o efectos secundarios asociados con las terapias convencionales.

2.3. Cereblon

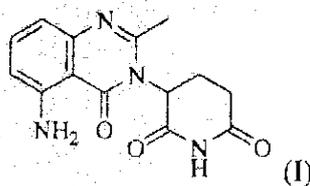
40 La proteína cereblon (CRBN) es una proteína de 442 aminoácidos conservada de planta a ser humano. En los seres humanos, el gen de CRBN se ha identificado como un gen candidato de un retardo mental no sindrómico autosómico recesivo (ARNSMR). Véase, Higgins, J. J. et al., *Neurology*, 2004, 63:1927-1931. CRBN se caracterizó inicialmente como una proteína nueva que contenía RGS que interaccionaba con una proteína del canal de potasio activada por calcio (SLO1) en el cerebro de rata, y más tarde se mostró que interaccionaba con un canal de cloruro regulado por voltaje (CIC-2) en la retina con AMPK7 y DDB1. Véase, Jo, S. et al., *J. Neurochem*, 2005, 94:1212-1224; Hohberger B. et al., *FEBS Lett*, 2009, 583:633-637; Angers S. et al., *Nature*, 2006, 443:590-593. DDB1 se identificó originalmente como una proteína de reparación de la escisión de nucleótidos que se asocia con la proteína 2 de unión al ADN dañado (DDB2). Su actividad defectuosa produce defecto en la reparación en pacientes con xerodermia pigmentosa del grupo de complementación E (XPE). También parece que DDB1 funciona como un componente de numerosos complejos distintos de ubiquitina-proteína ligasa E3 DCX (DDB1-CUL4-X-box) que median la ubiquitinación y posterior degradación proteosómica de proteínas diana. El CRBN también se ha identificado como un diana para el desarrollo de agentes terapéuticos para enfermedades de la corteza cerebral. Véase el documento WO 2010/137547 A1.

55 El cereblon recientemente se ha identificado como una diana molecular clave que se une a la talidomida para causar defectos de nacimiento. Véase, Ito, T. et al., *Science*, 2010, 327:1345-1350. Se encontró que DDB1 interaccionaba con el CRBN y, por lo tanto, estaba indirectamente asociado con la talidomida. Además, la talidomida podía inhibir la autoubiquitinación del CRBN in vitro, sugiriendo que la talidomida es un inhibidor de la ubiquitina-ligasa E3. Hay que destacar que esta actividad era inhibida por la talidomida en células de tipo natural, pero no en células con sitios de

unión a CRBN mutados que evitan la unión de la talidomida. El sitio de unión de la talidomida se cartografió en una región de 104 aminoácidos C-terminales altamente conservada en el CRBN. Los mutantes con mutaciones puntuales individuales en el CRBN, Y384A y W386A eran ambos defectuosos para la unión de la talidomida, teniendo el mutante de doble mutación puntual la menor actividad de unión a la talidomida. Se confirmó una conexión entre el CRBN y el efecto teratogénico de la talidomida en modelos animales de pez zebra y embriones de pollo. La comprensión de la talidomida y otros fármacos, permitirá la definición de los mecanismos moleculares de eficacia y/o toxicidad y puede conducir a fármacos con perfiles de eficacia y toxicidad mejorados.

3. Resumen de la invención

La invención proporciona composiciones para usar en el tratamiento y prevención del cáncer, incluyendo cáncer primario y metastásico, así como cáncer que es refractario o resistente a la quimioterapia convencional, que comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento o prevención, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, que tiene la estructura de fórmula I:



o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos de los mismos, como un solo agente o como parte de una terapia de combinación.

También se proporcionan en la presente memoria métodos de atención integral del cáncer (p. ej., prevenir su reaparición, o prolongar el tiempo de remisión), que comprende administrar a un paciente que necesite dicha atención integral, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos de los mismos.

Se proporcionan además en la presente invención métodos de tratamiento, prevención o atención integral del cáncer, que comprenden administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento, prevención o atención integral, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos de los mismos; en combinación con una terapia usada convencionalmente para el tratamiento, prevención o atención integral del cáncer. Los ejemplos de dichas terapias convencionales incluyen, pero no se limitan a cirugía, quimioterapia, terapia de radiación, terapia hormonal, terapia biológica e inmunoterapia.

Se proporciona en la presente invención un método de tratamiento, prevención o atención integral del cáncer, que comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento, prevención o atención integral, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos de los mismos, en una cantidad que es suficiente para proporcionar una concentración plasmática del compuesto en equilibrio, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 μM . En otra realización, la cantidad es suficiente para proporcionar una concentración plasmática máxima del compuesto en equilibrio, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 μM . En otra realización, la cantidad es suficiente para proporcionar una concentración plasmática mínima del compuesto en equilibrio, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 μM . En otra realización, la cantidad es suficiente para proporcionar un área bajo la curva (AUC) del compuesto, en el intervalo de 100 a aproximadamente 100.000 ng.h/ml.

En algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para el tratamiento o la atención integral de linfoma, mieloma múltiple, leucemia y tumores sólidos.

En algunas realizaciones, el linfoma se selecciona del grupo que consiste en linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfomas relacionados con el SIDA, linfoma anaplásico de células grandes, linfoma angioinmunoblástico, linfoma blástico de células NK, linfoma de Burkitt, linfoma tipo Burkitt (linfoma de células pequeñas no hendidas, linfoma linfocítico pequeño, linfoma cutáneo de células T, linfoma difuso de células B grandes, linfoma de células T de tipo enteropático, linfoma linfoblástico, linfoma de células de manto, linfoma de la zona marginal, linfoma de células T nasal, linfoma pediátrico, linfomas periféricos de células T, linfoma del sistema nervioso central primario, linfomas transformados, linfomas de células T relacionados con el tratamiento y macroglobulinemia de Waldenstrom.

En algunas realizaciones, la leucemia se selecciona del grupo que consiste en leucemia mieloide aguda (AML), leucemia de células T, leucemia mieloide crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL) y leucemia linfoblástica

aguda (ALL).

En algunas realizaciones, el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en melanoma, tumores de cabeza y cuello, carcinoma de mama, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de ovario, carcinoma pancreático, carcinoma de próstata, carcinoma colorrectal y carcinoma hepatocelular.

- 5 En algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para el tratamiento o atención integral de linfomas no hodgkinianos, incluyendo, pero no limitado a linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) usando factores pronósticos.

10 En algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para usar biomarcadores génicos y de proteínas como un factor pronóstico de la sensibilidad clínica al linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML y/o tumores sólidos, y la respuesta del paciente al tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos de los mismos.

15 Los métodos proporcionados en la presente memoria abarcan métodos para seleccionar o identificar pacientes con cáncer, p. ej., pacientes con linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML y tumor sólido, para el tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos de los mismos. En particular, se proporcionan en la presente memoria métodos para seleccionar pacientes que tienen una tasa de respuesta mayor a la terapia con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

20 En una realización, se proporciona en la presente memoria un método de predicción de la respuesta tumoral al tratamiento en un paciente con linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o tumor sólido, comprendiendo el método obtener tejido tumoral del paciente, purificar la proteína o ARN del tumor y medir la presencia o ausencia de un biomarcador, p. ej., por análisis de expresión de proteínas o genes. La expresión controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína.

25 En algunas realizaciones, el biomarcador es un gen asociado con un fenotipo de células B activadas del DLBCL. Los genes se seleccionan del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1. En una realización el biomarcador es NF-κB.

30 En una realización, el ARNm o proteína se purifica del tumor y se mide la presencia o ausencia de un biomarcador por el análisis de expresión del gen o proteína. En algunas realizaciones, la presencia o ausencia de un biomarcador se mide por PCR en tiempo real cuantitativa (QRT-PCR), micromatrices, citometría de flujo o inmunofluorescencia. En otras realizaciones, la presencia o ausencia de un biomarcador se mide por metodologías basadas en ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) u otros métodos similares conocidos en la técnica.

35 En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método para predecir la respuesta tumoral al tratamiento en un paciente con linfoma no hodgkiniano, comprendiendo el método obtener células tumorales del paciente, cultivar las células en presencia o ausencia de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, purificar la proteína o ARN de las células cultivadas, y medir la presencia o ausencia de un biomarcador, p. ej., por el análisis de la expresión de la proteína o gen. La expresión controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína.

40 En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método de control de la respuesta tumoral al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un paciente con linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o tumor sólido. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, medir la expresión de un biomarcador en la muestra biológica, administrar 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona al paciente, después obtener una segunda muestra biológica del paciente, medir la expresión del biomarcador en la segunda muestra biológica, y comparar los niveles de expresión, donde un nivel mayor de expresión del biomarcador después del tratamiento indica la probabilidad de respuesta tumoral eficaz. En una realización, un nivel menor de expresión del biomarcador después de tratamiento indica la probabilidad de una respuesta tumoral eficaz. La expresión del biomarcador controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, por ejemplo, en aproximadamente 1,5X, 2,0X, 3X, 5X o más.

50 En otra realización más, se proporciona un método para controlar la observancia del paciente con el protocolo de tratamiento con el fármaco. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, medir el nivel de expresión de al menos un biomarcador en la muestra, y determinar si el nivel de expresión es mayor o menor en la muestra del paciente comparado con el nivel de expresión en una muestra de control no tratada, en donde un aumento o disminución de la expresión indica la observancia del paciente con el protocolo de tratamiento del fármaco. En una realización, aumenta la expresión de uno o más biomarcadores. La expresión del biomarcador controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, por ejemplo, en aproximadamente 1,5X, 2,0X, 3X, 5X o más.

En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método para predecir la sensibilidad al tratamiento

5 con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un paciente con linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o tumor sólido. En una realización, el paciente es un paciente con un linfoma no hodgkiniano, específicamente, un paciente de DLBCL. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, opcionalmente aislar o purificar el ARNm de la muestra biológica, amplificar los transcritos de ARNm, p. ej., por RT-PCR, donde un nivel base mayor de un biomarcador específico indica una probabilidad mayor de que el cáncer sea sensible al tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, el biomarcador es un gen asociado con un fenotipo de células B activadas. Los genes se seleccionan del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.

10 También se proporcionan en la presente memoria métodos para el tratamiento o atención integral del cáncer con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona usando CRBN como un factor predictivo o pronóstico. En algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para seleccionar o identificar pacientes con cáncer para el tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona usando los niveles de CRBN como un factor predictivo o pronóstico. En algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para seleccionar pacientes que tienen una tasa de respuesta mayor a la terapia con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona usando los niveles de CRBN como factor predictivo o pronóstico.

15 En una realización, se proporciona en la presente memoria un método para predecir la respuesta del paciente al tratamiento del cáncer con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, comprendiendo el método obtener material biológico del paciente, y medir la presencia o ausencia de CRBN.

20 En una realización, el método comprende obtener células de cáncer del paciente, cultivar las células en la presencia o ausencia de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, purificar la proteína o ARN de las células cultivadas y medir la presencia o ausencia de un biomarcador, p. ej., por análisis de expresión de la proteína o gen. La expresión controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. En una realización, el cáncer es linfoma, leucemia, mieloma múltiple, tumor sólido, linfoma no hodgkiniano o melanoma.

25 En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método para controlar la respuesta tumoral al tratamiento con fármaco en un paciente con cáncer. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, medir la expresión de un biomarcador en la muestra biológica, administrar uno o más fármacos al paciente, después obtener una segunda muestra biológica del paciente, medir la expresión del biomarcador en la segunda muestra biológica, y comparar los niveles de expresión, donde un nivel mayor de expresión del biomarcador después de tratamiento indica la probabilidad de una respuesta tumoral eficaz. En una realización, el paciente con cáncer es un paciente con linfoma, leucemia, mieloma múltiple, tumor sólido, linfoma no hodgkiniano o melanoma.

30 En una realización, un nivel menor de expresión de un biomarcador después de tratamiento indica la probabilidad de respuesta tumoral eficaz. La expresión del biomarcador controlado puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, por ejemplo, en aproximadamente 1,5X, 2,0X, 3X, 5X o más. En una realización, el tumor es un linfoma, leucemia, mieloma múltiple, tumor sólido, linfoma no hodgkiniano o melanoma.

35 En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método para predecir la sensibilidad al tratamiento con fármaco en un paciente con cáncer, específicamente, un paciente con mieloma múltiple o con linfoma no hodgkiniano. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, opcionalmente aislar o purificar el ARNm de la muestra biológica, amplificar los transcritos de ARNm, p. ej., por RT-PCR, donde un nivel base mayor de un biomarcador específico indica una probabilidad mayor de que el cáncer sea sensible al tratamiento con un fármaco. En algunas realizaciones, el biomarcador es un gen o proteína asociada con el mieloma múltiple o linfoma no hodgkiniano. En una realización, los genes son los asociados con el CRBN y se seleccionan del grupo que consiste en DDB1, DDB2, GSK3B, CUL4A, CUL4B, XBP-1, FAS1, RANBP6, DUS3L, PHGDH, AMPK, IRF4 y NFκB. En otra realización, los genes se seleccionan del grupo que consiste en DDB1, DDB2, IRF4 y NFκB.

40 En una realización, se identifica un paciente que tiene linfoma, leucemia, mieloma múltiple, un tumor sólido, linfoma no hodgkiniano, linfoma difuso de células B grandes o melanoma sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona; se identifica un gen o proteína asociada con el CRBN, en donde la presencia del gen o proteína asociada con el CRBN es indicativa de linfoma, leucemia, mieloma múltiple, un tumor sólido, linfoma no hodgkiniano, linfoma difuso de células B grandes o melanoma, sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En una realización, el gen o proteína asociado con el CRBN se selecciona del grupo que consiste en DDB1, DDB2, IRF4 y NFκB.

45 En una realización, se identifica un paciente que tiene linfoma, leucemia, mieloma múltiple, un tumor sólido, linfoma no hodgkiniano o melanoma sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, comprende medir el nivel de actividad del CRBN en el paciente. En otra realización, medir el nivel de actividad del CRBN en el paciente comprende medir DDB1, DDB2, IRF4 y/o NFκB en células obtenidas del paciente.

55 En una realización, se proporciona en la presente memoria un método para el tratamiento o atención integral del linfoma no hodgkiniano, que comprende:

(i) identificar un paciente que tiene linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o un tumor sólido sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona; y

(ii) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o una de sus sales o solvatos (p. ej., hidrato) farmacéuticamente aceptable.

5 En una realización, el paciente tiene linfoma no hodgkiniano. En una realización, el linfoma no hodgkiniano es linfoma difuso de células B grandes. En otra realización, el linfoma no hodgkiniano es del fenotipo de células B activadas.

10 En una realización, identificar un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, comprende identificar un gen asociado con el fenotipo de células B activadas. En una realización, el gen asociado con el fenotipo de células B activadas se selecciona del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.

15 En una realización, identificar un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, comprende medir el nivel de actividad de NFκB en el paciente. En otra realización, medir el nivel de actividad de NFκB en el paciente comprende medir el nivel de actividad base del NFκB en células tumorales obtenidas del paciente.

20 También se proporcionan en la presente memoria kits útiles para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz de linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o tumor sólido, o para controlar la eficacia de un tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. El kit comprende un soporte sólido, y un medio para detectar la expresión de proteína de al menos un biomarcador en una muestra biológica. Dicho kit puede usar, por ejemplo, una tira reactiva, una membrana, un chip, un disco, una tira de ensayo, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa de multipocillos, o una fibra óptica. El soporte sólido del kit puede ser, por ejemplo, un plástico, silicio, un metal, una resina, vidrio, una membrana, una partícula, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, un cultivo celular, una línea celular, un tejido, un tejido oral, tejido gastrointestinal, un órgano, un orgánulo, un fluido biológico, una muestra de sangre, una muestra de orina o una muestra de piel. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, una biopsia de ganglios linfáticos, una biopsia de médula ósea, o una muestra de células tumorales de sangre periférica.

30 En una realización adicional, se proporciona en la presente memoria un kit útil para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz o para controlar la eficacia de un tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. El kit comprende un soporte sólido, ácidos nucleicos en contacto con el soporte, donde los ácidos nucleicos son complementarios de al menos 20, 50, 100, 200, 350 o más bases de ARNm, y un medio para detectar la expresión del ARNm en una muestra biológica.

35 En otra realización, se proporciona en la presente memoria un kit útil para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz o para controlar la eficacia de un tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. El kit comprende un soporte sólido, al menos un ácido nucleico en contacto con el soporte, donde el ácido nucleico es complementario de al menos 20, 50, 100, 200, 350, 500 o más bases de ARNm, y un medio para detectar la expresión del ARNm en una muestra biológica.

40 En algunas realizaciones, los kits proporcionados en la presente memoria usan medios para detectar la expresión de un biomarcador por PCR en tiempo real cuantitativa (QRT-PCR), micromatrices, citometría de flujo o inmunofluorescencia. En otras realizaciones, la expresión del biomarcador se mide por metodologías basadas en ELISA u otros métodos similares conocidos en la técnica.

45 También se proporcionan en la presente memoria composiciones farmacéuticas que comprenden de aproximadamente 1 a 1.000 mg de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables.

50 Se proporcionan además en la presente memoria composiciones farmacéuticas que comprenden de aproximadamente 1 a 1.000 mg de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y uno o más principios activos adicionales. En algunas realizaciones, el uno o más principios activos adicionales se seleccionan de oblimersen, melfalán, G-CSF, GM-CSF, EPO, un inhibidor de cox-2, topotecán, pentoxifilina, ciprofloxacina, taxotere, iritotecán, dexametasona, doxorubicina, vincristina, IL-2, IFN, dacarbazina, Ara-C, vinorelbina e isotretinoína.

55 También se proporcionan en la presente memoria kits útiles para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz del linfoma, leucemia, mieloma múltiple, un tumor sólido, linfoma no hodgkiniano, linfoma difuso de células B grandes o melanoma, o para controlar la eficacia de un tratamiento con uno o más fármacos, p. ej., la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. El kit comprende un soporte sólido, y un medio para detectar la expresión de proteína de al menos un biomarcador en una muestra biológica. Dicho kit puede usar, por ejemplo, una

5 tira reactiva, una membrana, un chip, un disco, una tira de ensayo, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa de multipocillos, o una fibra óptica. El soporte sólido del kit puede ser, por ejemplo, un plástico, silicio, un metal, una resina, vidrio, una membrana, una partícula, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, un cultivo celular, una línea celular, un tejido, un tejido oral, tejido gastrointestinal, un órgano, un orgánulo, un fluido biológico, una muestra de sangre, una muestra de orina o una muestra de piel. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, una biopsia de ganglios linfáticos, una biopsia de médula ósea, o una muestra de células tumorales de sangre periférica.

10 En otra realización, el kit comprende un soporte sólido, ácidos nucleicos en contacto con el soporte, donde los ácidos nucleicos son complementarios de al menos 20, 50, 100, 200, 350 o más bases de ARNm, y un medio para detectar la expresión del ARNm en una muestra biológica.

15 En algunas realizaciones, los kits proporcionados en la presente memoria usan medios para detectar la expresión de un biomarcador por PCR en tiempo real cuantitativa (QRT-PCR), micromatrices, citometría de flujo o inmunofluorescencia. En otras realizaciones, la expresión del biomarcador se mide por metodologías basadas en ELISA u otros métodos similares conocidos en la técnica.

20 También se proporciona en la presente memoria, un kit que comprende (i) una composición farmacéutica que comprende 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y (ii) una composición farmacéutica que comprende factor de crecimiento hematopoyético, citoquina, agente antineoplásico, antibiótico, un inhibidor de cox-2, agente inmunomodulador, agente inmunosupresor, corticosteroide, o un mutante farmacológicamente activo o derivados de los mismos, o una combinación de los mismos.

25 En una realización, se proporciona en la presente memoria un kit que comprende (i) una composición farmacéutica que comprende 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y (ii) una composición farmacéutica que comprende oblimersen, melfalán, G-CSF, GM-CSF, EPO, un inhibidor de cox-2, toptecán, pentoxifilina, taxotere, iritotecán, ciprofloxacina, dexametasona, doxorubicina, vincristina, IL-2, IFN, dacarbazina, Ara-C, vinorelbina e isotretinoína.

30 En otra realización, se proporciona en la presente memoria un kit que comprende (i) una composición farmacéutica que comprende 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y (ii) preparación de sangre de cordón umbilical, sangre de placenta, citoblastos de sangre periférica, citoblastos hematopoyéticos, o médula ósea.

4. Breve descripción de los dibujos

35 Figuras 1A a 1D: Efecto inhibitorio de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (compuesto de fórmula I) en la actividad del NFκB en células de DLBCL.

Figura 2: Efecto antiproliferativo de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (compuesto de fórmula I) en un ensayo basado en células de DLBCL in vitro.

40 Figura 3: La 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (compuesto de fórmula I) coestimula las células T y potencia la producción de citoquinas.

Figura 4: Efecto antiangiogénico de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un ensayo in vitro de expansión de células umbilicales.

Figuras 5A y 5B: Efecto antiproliferativo de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un ensayo in vitro basado en células de mieloma múltiple (MM).

45 Figura 6: Inhibición tumoral in vitro del efecto antiproliferativo de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un modelo de xanoinjerto N929.

Figuras 7A-7C: la expresión de cereblon modula los efectos de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en líneas celulares de ABC-DLBCL.

50 Figura 8: La inactivación génica de CRBN anula la detención en G1 inducida por la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

Figura 9: La inactivación génica de CRBN anula el efecto de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en la fosforilación de pRb e IRF-4 en células H929.

Figura 10: La actividad antiproliferativa de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona es

inhibida en células de mieloma sensibles al CRBN.

Figura 11: La expresión de cereblon modula la actividad anti-invasora de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

5 Figuras 12A-12I: La 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona inhibe la expresión de HIF1- α inducida por hipoxia en líneas celulares de tumores sólidos.

Figuras 13A y 13B: La 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona inhibe la formación de colonias de células de cáncer de mama.

Figura 14: La 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona inhibe el crecimiento de células tumorales de glioblastoma U87.

10 5. Descripción detallada de la invención

Se proporcionan en la presente memoria métodos para el tratamiento, atención integral o prevención del cáncer, que comprenden administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento, atención integral o prevención, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, como un agente individual o como parte de una terapia de combinación.

En algunas realizaciones, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con uno o más fármacos adicionales (o "segundos agentes activos") para usar en el tratamiento, atención integral o prevención del cáncer. Los segundos agentes activos incluyen moléculas pequeñas y moléculas grandes (p. ej., proteínas y anticuerpos), algunos de cuyos ejemplos se proporcionan en la presente memoria, así como citoblastos. Los métodos o terapias que se pueden usar en combinación con la administración del compuesto proporcionado en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a cirugía, transfusiones de sangre, inmunoterapia, terapia biológica, terapia de radiación y otras terapias no basadas en fármacos usadas actualmente para el tratamiento, prevención o atención integral del cáncer. En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en la presente memoria se puede usar como un adyuvante de vacuna.

En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en la presente memoria se basan, en parte, en el descubrimiento de que la expresión de determinados genes o proteínas asociados con determinadas células de cáncer, se pueden usar como biomarcadores para indicar la eficacia o el progreso de un tratamiento de la enfermedad. Dichos cánceres incluyen, pero no se limitan a linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, leucemia mieloide aguda (AML), y tumores sólidos. En algunas realizaciones, el cáncer es del fenotipo de células B activadas en linfoma no hodgkiniano. En particular, estos biomarcadores se pueden usar para predecir, evaluar y hacer el seguimiento de la eficacia del tratamiento del paciente con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en la presente memoria se basan, en parte, en el descubrimiento de que el cereblon (CRBN) está asociado con las actividades antiproliferativas de determinados fármacos, tales como la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, el CRBN se puede usar como un biomarcador para indicar la eficacia o el progreso del tratamiento de una enfermedad con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Sin estar ligados por una teoría particular, la unión del CRBN puede contribuir o incluso puede ser necesaria para la actividad antiproliferativa y otras actividades de determinados compuestos, tales como la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

45 Sin estar ligados por una teoría particular, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona puede mediar la inhibición del crecimiento, apoptosis e inhibición de factores angiogénicos en determinados tipos de cáncer tales como el linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML, y tumores sólidos. Después de examinar la expresión de varios genes relacionados con el cáncer en varios tipos de células antes y después del tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, se descubrió que se pueden usar los niveles de expresión de varios genes o proteínas relacionados con el cáncer, como biomarcadores para predecir y controlar los tratamientos de cáncer.

50 También se descubrió que el nivel de actividad del NF- κ B es elevado en células del fenotipo de células B activadas en el linfoma no hodgkiniano con respecto a otros tipos de células de linfoma, y que dichas células pueden ser sensibles al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. Esto sugiere que la actividad base de la actividad del NF- κ B en células de linfoma, puede ser un biomarcador predictivo para el tratamiento en pacientes con linfoma no hodgkiniano.

55 Por lo tanto, en algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para predecir la respuesta tumoral al tratamiento en un paciente con un linfoma no hodgkiniano. En una realización, se proporciona en la

presente memoria un método para predecir la respuesta tumoral al tratamiento en un paciente con linfoma no hodgkiniano, comprendiendo el método obtener tejido tumoral del paciente, purificar la proteína o ARN del tumor, y medir la presencia o ausencia de un biomarcador, p. ej., por análisis de la expresión de la proteína o gen. La expresión controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. En algunas realizaciones el biomarcador es un gen asociado con un fenotipo de células B activadas del DLBCL. Los genes se seleccionan del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1. En una realización, el biomarcador es el NF- κ B.

En otra realización, el método comprende obtener células tumorales del paciente, cultivar las células en presencia o ausencia de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, purificar el ARN o proteína de las células cultivadas, y medir la presencia o ausencia de un biomarcador, p. ej., por análisis de la expresión de la proteína o gen.

En algunas realizaciones, la presencia o ausencia de un biomarcador se mide por PCR en tiempo real cuantitativa (QRT-PCR), micromatrices, citometría de flujo o inmunofluorescencia. En otras realizaciones, la presencia o ausencia de un biomarcador se mide por metodologías basadas en ELISA u otros métodos similares conocidos en la técnica.

Los métodos proporcionados en la presente memoria abarcan métodos para seleccionar o identificar pacientes con cáncer, p. ej., pacientes con linfoma no hodgkiniano, para el tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En particular, se proporcionan en la presente memoria métodos para seleccionar pacientes que tienen, o que es probable que tengan una tasa de respuesta mayor a una terapia con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

En una realización, el método comprende identificar pacientes que es probable que respondan a la terapia, obteniendo células tumorales del paciente, cultivando las células en presencia o ausencia de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, purificando el ARN o proteína de las células cultivadas y midiendo la presencia o ausencia de un biomarcador específico. La expresión controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, o en algunos casos disminuir, por ejemplo, en aproximadamente 1,5X, 2,0X, 3X, 5X o más. En algunas realizaciones, el biomarcador es un gen asociado con un fenotipo de células B activadas. Los genes se seleccionan del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1. En una realización, el biomarcador es NF- κ B. Los niveles base de expresión de estos genes pueden ser predictivos de la sensibilidad de un cáncer al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

En una realización, la expresión de IRF4/MUM1 en células de cáncer, p. ej., linfoma de subtipo ABC, se puede disminuir con el tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, la regulación por disminución de IRF4 por la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, puede ser un potencial biomarcador farmacodinámico.

En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método de control de la respuesta tumoral al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un paciente con linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o un tumor sólido. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, medir la expresión de uno o más biomarcadores en la muestra biológica, administrar la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona al paciente, después obtener una segunda muestra biológica del paciente, medir la expresión del biomarcador en la segunda muestra biológica y comparar los niveles de expresión del biomarcador, donde un nivel mayor de expresión del biomarcador después del tratamiento indica la probabilidad de una respuesta tumoral eficaz. En una realización, un nivel menor de expresión del biomarcador después del tratamiento indica la probabilidad de respuesta tumoral eficaz. En algunas realizaciones, el biomarcador es un gen asociado con un fenotipo de células B activadas de linfoma no hodgkiniano. Los genes se seleccionan del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1. En una realización, el biomarcador es NF- κ B.

En algunas realizaciones, el método comprende medir la expresión de uno o más genes biomarcadores asociados con un fenotipo de células B activadas. Los genes se seleccionan del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1. La expresión controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, por ejemplo, en aproximadamente 1,5X, 2,0X, 3X, 5X o más.

En otra realización más, se proporciona un método para controlar la observancia del paciente con el protocolo de tratamiento con el fármaco. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, medir el nivel de expresión de al menos un biomarcador en la muestra, y determinar si el nivel de expresión es mayor o menor en la muestra del paciente comparado con el nivel de expresión en una muestra de control no tratada, en donde un aumento o disminución de la expresión indica la observancia del paciente con el protocolo de tratamiento con el fármaco. En una realización, aumenta la expresión de uno o más biomarcadores. La expresión del biomarcador controlada puede ser, por ejemplo, expresión de ARNm o expresión de proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, por ejemplo, en aproximadamente 1,5X, 2,0X, 3X, 5X o más. En algunas realizaciones, el

biomarcador es un gen asociado con un fenotipo de células B activadas. Los genes se seleccionan del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1. En una realización, el biomarcador es NF-κB.

5 En otra realización, se proporciona un método de predicción de la sensibilidad al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un paciente con linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o un tumor sólido. En una realización, el paciente es un paciente con linfoma no hodgkiniano, específicamente un paciente con DLBCL. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente, opcionalmente aislar o purificar el ARNm de la muestra biológica, amplificar los transcritos de ARNm, p. ej., por RT-PCR, donde un nivel base mayor de uno o más biomarcadores específicos indica una probabilidad mayor de que el
10 cáncer sea sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En una realización, el biomarcador es un gen asociado con un fenotipo de células B activadas seleccionado del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.

15 En otra realización, el método de predicción de la sensibilidad al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un paciente con NHL, p. ej., con DLBCL, comprende obtener una muestra tumoral del paciente, insertar la muestra de tumor en un bloque insertado en parafina, fijado en formalina, y teñir la muestra con anticuerpos contra CD20, CD10, bcl-6, IRF4/MUM1, bcl-2, ciclina D2, y/o FOXP1, como se describe en Hans et al., *Blood*, 2004, 103: 275-282, que se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad. En una realización, la tinción de CD10, bcl-6, y IRF4/MUM-1 se puede usar para dividir el DLBCL en subgrupos GCB y no GCB para predecir un resultado.

20 En una realización, se proporciona en la presente memoria un método para predecir la respuesta tumoral al tratamiento en un paciente con un linfoma no hodgkiniano, que comprende:

(i) obtener una muestra biológica del paciente;

(ii) medir la actividad de la ruta de NF-κB en la muestra biológica; y

(iii) comparar el nivel de actividad del NF-κB en la muestra biológica con el de una muestra biológica de un subtipo de linfoma de células B no activadas;

25 en donde un nivel mayor de actividad de NF-κB con respecto a células de linfoma del subtipo de células B no activadas, indica una probabilidad de una respuesta tumoral eficaz en el paciente al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

En una realización, medir la actividad de la ruta de NF-κB en la muestra biológica comprende medir el nivel de NF-κB en la muestra biológica.

30 En una realización, se proporciona en la presente memoria un método de control de la respuesta tumoral al tratamiento en un paciente con linfoma no hodgkiniano, que comprende:

(i) obtener una muestra biológica del paciente;

(ii) medir el nivel de actividad del NF-κB en la muestra biológica;

35 (iii) administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o una de sus sales, solvatos o hidratos, al paciente;

(iv) obtener una segunda muestra biológica del paciente;

(v) medir el nivel de actividad del NF-κB en la segunda muestra biológica; y

(vi) comparar el nivel de actividad del NF-κB en la primera muestra biológica con el de la segunda muestra biológica;

40 en donde un nivel menor de actividad del NF-κB en la segunda muestra biológica con respecto a la primera muestra biológica, indica una probabilidad de una respuesta tumoral eficaz en el paciente.

En una realización, se proporciona en la presente memoria un método para controlar la observancia del paciente con un protocolo de tratamiento con fármaco en un paciente con un linfoma no hodgkiniano, que comprende:

(i) obtener una muestra biológica del paciente;

(ii) medir el nivel de actividad del NF-κB en la muestra biológica; y

45 (iii) comparar el nivel de actividad del NF-κB en la muestra biológica con el de una muestra de control no tratada;

en donde un nivel menor de actividad del NF-κB en la muestra biológica con respecto al control indica la observancia del paciente con el protocolo de tratamiento con fármaco.

En una realización, el linfoma no hodgkiniano es linfoma difuso de células B grandes.

En otra realización, el nivel de actividad del NF-κB se mide por inmunoensayo de absorción ligado a enzimas.

En una realización, se proporciona en la presente memoria un método para predecir la respuesta tumoral al tratamiento en un paciente con linfoma no hodgkiniano, que comprende:

(i) obtener una muestra biológica del paciente;

5 (ii) cultivar células de la muestra biológica;

(iii) purificar ARN de las células cultivadas; y

(iv) identificar la mayor expresión de un gen asociado con el fenotipo de células B activadas del linfoma no hodgkiniano con respecto al fenotipo de células B no activadas de linfoma no hodgkiniano;

10 en donde la expresión mayor de un gen asociado con el fenotipo de células B activadas del linfoma no hodgkiniano indica una probabilidad de una respuesta tumoral eficaz en el paciente a la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.

En una realización, la expresión mayor es un aumento de aproximadamente 1,5X, 2,0X, 3X, 5X o más.

En una realización, el gen asociado con el fenotipo de células B activadas se selecciona del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.

15 En una realización, la identificación de la expresión de un gen asociado con el fenotipo de células B activadas del linfoma no hodgkiniano se lleva a cabo por PCR en tiempo real cuantitativa.

También se proporciona en la presente memoria un método para el tratamiento o atención integral del linfoma no hodgkiniano, que comprende:

20 (i) identificar un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona; y

(ii) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o una de sus sales, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables.

En una realización, el linfoma no hodgkiniano es linfoma difuso de células B grandes.

En otra realización, el linfoma no hodgkiniano es del fenotipo de células B activadas.

25 En otra realización, el linfoma difuso de células B grandes se caracteriza por la expresión de uno o más biomarcadores expresados en exceso en líneas celulares RIVA, U2932, TMD8, OCI-Ly3 o OCI-Ly10.

En otra realización, el linfoma difuso de células B grandes se caracteriza por la expresión de uno o más biomarcadores expresados en exceso en líneas celulares RIVA, U2932, TMD8 o OCI-Ly10.

30 En una realización, la identificación de un paciente que tiene linfoma sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona comprende la caracterización del fenotipo del linfoma del paciente.

En una realización, el fenotipo del linfoma se caracteriza como un subtipo de células B activadas.

En una realización, el fenotipo del linfoma se caracteriza como un subtipo de células B activadas del linfoma difuso de células B grandes.

35 En algunas realizaciones, la identificación del fenotipo del linfoma comprende obtener una muestra biológica de un paciente que tiene linfoma. En una realización, la muestra biológica es un cultivo celular o muestra tisular. En una realización, la muestra biológica es una muestra de células tumorales. En otra realización, la muestra biológica es una biopsia de ganglios linfáticos, una biopsia de médula ósea, o una muestra de células tumorales de sangre periférica. En una realización, la muestra biológica es una muestra de sangre.

40 En una realización, la identificación de un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, comprende identificar un gen asociado con un fenotipo de células B activadas. En una realización, el gen asociado con el fenotipo de células B activadas se selecciona del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.

45 En una realización, la identificación de un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, comprende medir el nivel de actividad del NF-κB en el paciente. En otra realización, medir el nivel de actividad del NF-κB en un paciente comprende medir el nivel base de actividad del NF-κB en células tumorales obtenidas del paciente.

En otra realización, el linfoma difuso de células B grandes se caracteriza por uno o más de los siguientes:

(i) exceso de expresión de SPIB, un factor de transcripción de la familia Ets específico hematopoyético necesario para la supervivencia de células de subtipo células B activadas;

(ii) mayor expresión constitutiva de IRF4/MUM1 que células de subtipo GCB;

(iii) mayor expresión constitutiva de FOXP1 regulada por aumento por trisomía 3;

5 (iv) mayor expresión constitutiva de Blimp1, es decir, PRDM1; y

(v) mayor expresión constitutiva del gen de CARD11; y

(vi) un mayor nivel de actividad del NF- κ B con respecto a células de DLBCL de subtipo de células B no activadas.

Factores pronósticos adicionales que se pueden usar simultáneamente con los proporcionados en la presente memoria son factores pronósticos de carga de la enfermedad (tumoral), recuento absoluto de linfocitos (ALC),
10 tiempo desde la última terapia con rituximab para linfomas, o todos los anteriores.

También se proporciona en la presente memoria un método de selección de un grupo de pacientes con cáncer, basado en el nivel de expresión de CRBN, o los niveles de expresión de DDB1, DDB2, IRF4 o NF- κ B dentro del cáncer, con el fin de predecir la respuesta clínica, controlar la respuesta clínica, o controlar la observancia del paciente con la administración de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, un estereoisómero de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; en donde los pacientes con cáncer es seleccionan de pacientes con mieloma múltiple, linfoma no hodgkiniano, linfoma difuso de células B grandes, melanoma y tumores sólidos. Los niveles base de expresión de estos genes pueden ser predictivos de la sensibilidad de un cáncer al tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona.
15

20 En una realización, la expresión de IRF4/MUM1 en células de cáncer, p. ej., linfoma subtipo ABC, se puede disminuir con el tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, la regulación por disminución de IRF4 por la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona puede ser un potencial biomarcador farmacodinámico.

En una realización, los pacientes de cáncer son pacientes con mieloma múltiple.

25 En una realización, los pacientes de cáncer son pacientes con linfoma no hodgkiniano.

En una realización, el método de selección de un grupo de pacientes de cáncer se basa en el nivel de expresión de DDB1 dentro del cáncer.

En una realización, el método de selección de un grupo de pacientes de cáncer se basa en el nivel de expresión de DDB2 dentro del cáncer.

30 En una realización, el método de selección de un grupo de pacientes de cáncer se basa en el nivel de expresión de IRF4 dentro del cáncer.

En una realización, el método de selección de un grupo de pacientes de cáncer se basa en el nivel de expresión de NF κ B dentro del cáncer.

35 En otra realización, el método comprende seleccionar un grupo de pacientes de cáncer sensibles al tratamiento con la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, un estereoisómero de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; basándose en el nivel de expresión de CRBN, o los niveles de expresión de DDB1, DDB2, IRF4 o NF κ B en las células T, células B o células plasmáticas del paciente, con el fin de predecir la respuesta clínica, respuesta clínica de control, o control de la observancia del paciente con la administración de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, un estereoisómero de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables.
40

En una realización, los pacientes de cáncer se seleccionan de pacientes con mieloma múltiple, linfoma no hodgkiniano, linfoma difuso de células B grandes, melanoma y tumores sólidos.

45 También se proporcionan en la presente memoria, métodos de tratamiento del cáncer, p. ej., del linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, leucemia miloide aguda (AML), y tumores sólidos, que dan como resultado la mejora en la supervivencia general del paciente. En algunas realizaciones, la mejora en la supervivencia general del paciente se observa en una población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, la población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se caracteriza por uno o más biomarcadores proporcionados en la presente memoria.
50

5 En otras realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para tratar el cáncer, p. ej., linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, leucemia mieloide aguda (AML), y tumores sólidos, que dan como resultado la supervivencia sin enfermedad del paciente. En algunas realizaciones, la supervivencia sin enfermedad del paciente se observa en una población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, la población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se caracteriza por uno o más biomarcadores proporcionados en la presente memoria.

10 En otras realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos de tratamiento del cáncer, p. ej., linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, leucemia mieloide aguda (AML), y tumores sólidos, que dan como resultado una mejora en la tasa de respuesta objetiva en la población de pacientes. En algunas realizaciones, la población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, la población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se caracteriza por uno o más biomarcadores proporcionados en la presente memoria.

15 En otras realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos de tratamiento del cáncer, p. ej., linfoma, non-linfoma, Hodgkin's linfoma, mieloma múltiple, leucemia, leucemia mieloide aguda (AML), y tumores sólidos, que dan como resultado una mejora en el tiempo del progreso o la supervivencia sin progreso del paciente. En algunas realizaciones, la mejora en el tiempo del progreso o la supervivencia sin progreso del paciente se observa en una población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. En algunas realizaciones, la población de pacientes sensible al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se caracteriza por uno o más biomarcadores proporcionados en la presente memoria.

25 También se proporcionan en la presente memoria kits útiles para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz del linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o tumor sólido, o para controlar la eficacia de un tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. El kit comprende un soporte sólido, y un medio para detectar la expresión de un biomarcador en una muestra biológica. Dicho kit puede usar, por ejemplo, una tira reactiva, una membrana, un chip, un disco, una tira de ensayo, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa de multipocillos, o una fibra óptica. El soporte sólido del kit puede ser, por ejemplo, un plástico, silicio, un metal, una resina, vidrio, una membrana, una partícula, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, un cultivo celular, una línea celular, un tejido, un tejido oral, tejido gastrointestinal, un órgano, un orgánulo, un fluido biológico, una muestra de sangre, una muestra de orina o una muestra de piel. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, una biopsia de ganglios linfáticos, una biopsia de médula ósea, o una muestra de células tumorales de sangre periférica.

35 En una realización, el kit comprende un soporte sólido, ácidos nucleicos en contacto con el soporte, donde los ácidos nucleicos son complementarios de al menos 20, 50, 100, 200, 350 o más bases de ARNm de un gen asociado con un fenotipo de células B activadas en un NHL, y un medio para detectar la expresión del ARNm en una muestra biológica. En una realización, el gen asociado con el fenotipo de células B activadas se selecciona del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.

40 En una realización, se proporciona un kit útil para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz del linfoma, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, leucemia, AML o tumor sólido, o para controlar la eficacia de un tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona. El kit comprende un soporte sólido y un medio para detectar la expresión de NF- κ B en una muestra biológica. En una realización, la muestra biológica es un cultivo celular o muestra tisular. En una realización, la muestra biológica es una muestra de células tumorales. En otra realización, la muestra biológica es una biopsia de ganglios linfáticos, una biopsia de médula ósea, o una muestra de células tumorales de sangre periférica. En una realización, la muestra biológica es una muestra de sangre. En una realización, el NHL es DLBCL.

50 En algunas realizaciones, los kits proporcionados en la presente memoria usan medios para detectar la expresión de un biomarcador por PCR en tiempo real cuantitativa (QT-PCR), micromatrices, citometría de flujo o inmunofluorescencia. En otras realizaciones, la expresión del biomarcador se mide por metodologías basadas en ELISA u otros métodos similares conocidos en la técnica. Se pueden usar técnicas de expresión de ARNm y proteínas en relación con los métodos y kits proporcionados en la presente memoria, p. ej., hibridación de ADNc y métodos de citometría de matrices de perlas.

55 En una realización, se proporciona en la presente memoria un kit para predecir la respuesta tumoral al tratamiento con 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un paciente con linfoma no hodgkiniano, que comprende:

(i) un soporte sólido; y

(ii) un medio para detectar la expresión de un biomarcador de un fenotipo de células B activadas de linfoma no

hodgkiniano en una muestra biológica.

En una realización, el biomarcador es NF-κB.

En una realización, el biomarcador es un gen asociado con el fenotipo de células B activadas y se selecciona del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.

5 En métodos particulares de la invención, se administra una 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en combinación con una terapia usada convencionalmente para el tratamiento, prevención o atención integral del cáncer. Los ejemplos de dichas terapias convencionales incluyen, pero no se limitan a cirugía, quimioterapia, terapia de radiación, terapia hormonal, terapia biológica e inmunoterapia.

10 También se proporcionan en la presente memoria composiciones farmacéuticas, formas farmacéuticas unitarias individuales, regímenes de administración y kits que comprenden 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o una de sus sales, solvatos, hidratos, estereoisómeros, clatratos o profármacos farmacéuticamente aceptables, y un agente activo segundo o adicional. Los segundos agentes activos incluyen combinaciones específicas o "cócteles" de fármacos.

15 En algunas realizaciones, los métodos para el tratamiento, prevención y/o atención integral de linfomas proporcionados en la presente memoria, se pueden usar en pacientes que no han respondido al tratamiento convencional. En una realización, el linfoma es recidivante, refractario o resistente a la terapia convencional.

En otras realizaciones, los métodos para el tratamiento, prevención y/o atención integral de linfomas proporcionados en la presente memoria, se pueden usar en el tratamiento de pacientes que no han recibido anteriormente tratamiento, es decir, pacientes que todavía no han recibido tratamiento.

20 En algunas realizaciones, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación o de forma alternada con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes activos adicionales. Los segundos agentes activos incluyen moléculas pequeñas y moléculas grandes (p. ej., proteínas y anticuerpos), ejemplos de los cuales se proporcionan
25 en la presente memoria, así como citoblastos. Los métodos o terapias que se pueden usar en combinación con la administración del compuesto proporcionado en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a cirugía, transfusiones de sangre, inmunoterapia, terapia biológica, terapia de radiación, y otras terapias no basadas en fármacos usadas actualmente para el tratamiento, prevención y/o atención integral de enfermedades y afecciones asociadas con o caracterizadas por angiogénesis indeseada.

30 En una realización, el agente activo adicional se selecciona del grupo que consiste en un agente alquilante, un análogo de adenosina, un glucocorticoide, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de SYK, un inhibidor de PDE3, un inhibidor de PDE7, doxorubicina, clorambucilo, vincristina, bendamustina, forskolina, rituximab, o una combinación de los mismos.

En una realización, el agente activo adicional es rituximab.

35 En una realización, el glucocorticoide es hidrocortisona o dexametasona.

En una realización, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se administra en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg al día.

En una realización, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se administra en una cantidad de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 mg al día.

40 En otra realización, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se administra en una cantidad de aproximadamente 5, 10, 15, 25, 30 o 50 mg al día.

En otra realización, se administran 10 o 25 mg de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona al día.

45 En una realización, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se administra dos veces al día.

Se proporcionan en la presente memoria composiciones farmacéuticas (p. ej., formas farmacéuticas unitarias individuales) que se pueden usar en métodos descritos en la presente memoria. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, y un segundo agente activo.
50

En una realización, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se administra por vía oral.

En una realización, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se administra en una cápsula o comprimido.

En una realización, la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4*H*-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona se administra durante 21 días seguido de 7 días de descanso en un ciclo de 28 días.

5 5.1 Definiciones

Para facilitar la comprensión de la descripción expuesta en la presente memoria, se definen a continuación una serie de términos.

10 El término “sujeto” o “paciente” se refiere a un animal, incluyendo, pero no limitado a un mamífero, incluyendo un primate (p. ej., ser humano), vaca, oveja, cabra, caballo, perro, gato, conejo, rata o ratón. Los términos “sujeto” y “paciente” se usan de forma intercambiable en la presente memoria en referencia, por ejemplo, a un sujeto mamífero, tal como un sujeto humano.

15 Como se usa en la presente memoria, y salvo que se especifique de otra forma, los términos “trata”, “tratar” y “tratamiento” se refieren a la erradicación o mejora de una enfermedad o trastorno, o de uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno. En algunas realizaciones, los términos se refieren a minimizar la propagación o empeoramiento de la enfermedad o trastorno como resultado de la administración de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos a un paciente, con dicha enfermedad o trastorno. En algunas realizaciones, los términos se refieren a la administración de un compuesto proporcionado en la presente memoria, con o sin otro agente adicional activo, después del inicio de los síntomas de la enfermedad particular.

20 Como se usa en la presente memoria, y salvo que se especifique otra cosa, los términos “previene”, “prevenir” y “prevención” se refieren a la prevención del inicio, reaparición o propagación de una enfermedad o trastorno, o de uno o más síntomas del mismo. En algunas realizaciones, los términos se refieren al tratamiento con o administración de un compuesto proporcionado en la presente memoria, con o sin otro compuesto activo adicional, antes del inicio de los síntomas, en particular a pacientes con riesgo de las enfermedades o trastornos proporcionados en la presente memoria. Los términos abarcan la inhibición o reducción de un síntoma de la enfermedad particular. Los pacientes con antecedentes familiares de una enfermedad en particular son candidatos para los regímenes de prevención en algunas realizaciones. Además, los pacientes que tienen antecedentes de síntomas recurrentes también son potenciales candidatos para la prevención. En relación con esto, el término “prevención” se puede usar de forma intercambiable con la expresión “tratamiento profiláctico”.

30 Como se usa en la presente memoria, las expresiones “atiende de forma integral”, “atender de forma integral” y “atención integral” se refieren a prevenir o ralentizar el progreso, propagación o empeoramiento de una enfermedad o trastorno, o de uno o más de sus síntomas. A menudo, los efectos beneficiosos que un paciente obtiene de un agente profiláctico y/o terapéutico no producen una cura de la enfermedad o trastorno. En relación con esto, la expresión “atención integral” abarca tratar a un paciente que ha padecido la enfermedad particular en un intento de prevenir o minimizar la recurrencia de la enfermedad, o alargar el tiempo durante el cual se mantiene en remisión.

35 Como se usa en la presente memoria, y salvo que se especifique otra cosa, una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o atención integral de una enfermedad o trastorno, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o atención integral de la enfermedad o trastorno. La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” puede abarcar una cantidad que mejora la terapia general, reduce o evita síntomas o causas de la enfermedad o trastorno, o potencia la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

45 Como se usa en la presente memoria, y salvo que se especifique otra cosa, una “cantidad profilácticamente eficaz” de un compuesto es una cantidad suficiente para prevenir una enfermedad o trastorno, o prevenir su reaparición. Una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otros agentes, que proporciona un beneficio profiláctico en la prevención de la enfermedad. La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” puede abarcar una cantidad que mejora la profilaxis general o potencia la eficacia profiláctica de otro agente profiláctico.

50 La expresión “vehículo farmacéuticamente aceptable”, “excipiente farmacéuticamente aceptable”, “vehículo fisiológicamente aceptable” o “excipiente fisiológicamente aceptable” se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación. En una realización, cada componente es “farmacéuticamente aceptable” en el sentido de ser compatible con otros ingredientes de una formulación farmacéutica, y adecuados para usar en contacto con el tejido u órgano de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad, u otros problemas o complicaciones, en proporción con una relación beneficio/riesgo razonable. Véase, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21^a edición; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5^a edición; Rowe et al., Eds., The Pharmaceutical Press and the American

Pharmaceutical Association: 2005; y *Handbook of Pharmaceutical Additives*, 3ª edición; Ash and Ash Eds., Gower Publishing Company: 2007; *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*, Gibson Ed., CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2004).

- 5 “Tumor” como se usa en la presente memoria, se refiere a todo crecimiento y proliferación de células neoplásicas, sean malignas o benignas, y todos los tejidos y células precancerosas y cancerosas. “Neoplásico” como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier forma de crecimiento celular desregulado o no regulado, sea maligno o benigno, que produce el crecimiento de tejido anómalo. Por lo tanto, las “células neoplásicas” incluyen células malignas y benignas que tienen crecimiento celular desregulado o no regulado.
- 10 El término “recidivante” se refiere a una situación donde un sujeto o un mamífero que ha tenido una remisión del cáncer después de terapia vuelve a tener células de cáncer.
- 15 Como se usa en la presente memoria, una “respuesta tumoral eficaz en el paciente” se refiere a cualquier aumento en el beneficio terapéutico al paciente. Una “respuesta tumoral eficaz en el paciente” puede ser, por ejemplo, una disminución de 5%, 10%, 25%, 50% o 100% en la tasa de progreso del tumor. Una “respuesta tumoral eficaz en el paciente” puede ser, por ejemplo, una disminución de 5%, 10%, 25%, 50% o 100% en los síntomas físicos de un cáncer. Una “respuesta tumoral eficaz en el paciente” también puede ser, por ejemplo, un aumento de 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200% o más de la respuesta en el paciente, medida por cualquier medio adecuado, tal como la expresión génica, recuentos de células, resultados de ensayos, etc.
- 20 El término “probable” en general se refiere a un aumento de la probabilidad de un suceso. El término “probable” cuando se usa en referencia a la eficacia de una respuesta tumoral en el paciente, contempla una mayor probabilidad de que la tasa de progreso del tumor o de crecimiento de células tumorales, disminuya. El término “probable” cuando se usa en referencia a la eficacia de una respuesta tumoral en el paciente, también puede significar en general el aumento de indicadores tales como la expresión de ARNm o proteína, que pueden demostrar un aumento en el progreso del tratamiento del tumor.
- 25 El término “predecir” en general significa determinar o decir con antelación. Cuando se usa para “predecir” la eficacia de un tratamiento de cáncer, por ejemplo, el término “predecir” puede significar que se puede determinar la probabilidad del resultado del tratamiento del cáncer al comienzo, antes de que haya empezado el tratamiento, o antes de que el periodo de tratamiento haya avanzado sustancialmente.
- 30 El término “controlar”, como se usa en la presente memoria, se usa en general para referirse a la inspección, supervisión, regulación, observación, seguimiento o vigilancia de una actividad. Por ejemplo, la expresión “controlar la eficacia de un compuesto” se refiere al seguimiento de la eficacia en el tratamiento de un cáncer en un paciente o en un cultivo de células tumorales. De forma similar, el “control” cuando se usa en relación con la observancia del paciente, sea individualmente o en un ensayo clínico, se refiere al seguimiento o confirmación de que el paciente está realmente tomando el compuesto inmunomodulador que se ensaya como se ha prescrito. El control se puede realizar, por ejemplo, siguiendo la expresión del ARNm o biomarcadores proteínicos.
- 35 Una mejora en el cáncer o enfermedad relacionada con el cáncer se puede caracterizar como una respuesta completa o parcial. La “respuesta completa” se refiere a una ausencia de enfermedad clínicamente detectable con la normalización de cualquier estudio previamente anómalo radiográfico, de médula ósea y de líquido cefalorraquídeo (LCR) o mediciones anómalas de proteínas monoclonales. La “respuesta parcial” se refiere a una disminución de al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% en toda la carga tumoral medible (es decir, el número de células malignas presentes en el sujeto, o el volumen medido de masas tumorales o la cantidad de proteína monoclonal anómala) en ausencia de lesiones nuevas. El término “tratamiento” contempla tanto una respuesta completa como una parcial.
- 40 La expresión “refractario o resistente” se refiere a una circunstancia donde un sujeto o un mamífero, incluso después de tratamiento intenso, tiene células de cáncer residuales en su cuerpo.
- 45 La expresión “resistencia al fármaco” se refiere al estado cuando una enfermedad no responde al tratamiento con un fármaco o fármacos. La resistencia al fármaco puede ser intrínseca, que significa que la enfermedad no ha respondido nunca al fármaco o fármacos, o puede ser adquirida, que significa que la enfermedad deja de responder a un fármaco o fármacos a los que la enfermedad previamente había respondido. En algunas realizaciones, la resistencia al fármaco es intrínseca. En algunas realizaciones, la resistencia al fármaco es adquirida.
- 50 El término “sensibilidad” y “sensible” cuando se usa en referencia al tratamiento con compuesto es un término relativo que se refiere al grado de eficacia del compuesto en la reducción o disminución del progreso de un tumor o la enfermedad que se está tratando. Por ejemplo, la expresión “mayor sensibilidad” cuando se usa en referencia al tratamiento de una célula o tumor en relación con un compuesto, se refiere a un aumento, de al menos un 5% o más, en la eficacia del tratamiento del tumor.
- 55 El término “expresado” o “expresión” como se usa en la presente memoria, se refiere a la transcripción de un gen para dar una molécula de ácido nucleico ARN al menos complementaria en parte con una región de una de las dos cadenas de ácido nucleico del gen. El término “expresado” o “expresión” como se usa en la presente memoria, se

refiere también a la traducción de la molécula de ARN para dar una proteína, un polipéptido o una parte del mismo.

Una ARNm que es “regulado por aumento” en general aumenta después de un tratamiento dado o afección. Una ARNm que es “regulado por disminución” en general se refiere a una disminución del nivel de expresión del ARNm en respuesta a un tratamiento dado o afección. En algunas situaciones, el nivel de ARNm puede permanecer sin cambiar tras un tratamiento dado o afección.

5 Un ARNm de una muestra de paciente puede ser “regulado por aumento” cuando se trata con un compuesto inmunomodulador, comparado con un control no tratado. Esta regulación por aumento puede ser, por ejemplo, un aumento de aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 90%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1.000%, 5.000% o más, del nivel comparativo del ARNm de control.

10 Alternativamente, un ARNm puede ser “regulado por disminución”, o expresado en un nivel inferior, en respuesta a la administración de determinados compuestos inmunomoduladores u otros agentes. Un ARNm regulado por disminución puede, por ejemplo, estar presente en un nivel de aproximadamente 99%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 1% o menos del nivel comparativo del ARNm de control.

15 Igualmente, el nivel de un biomarcador polipéptido o proteína de una muestra del paciente puede ser mayor cuando se trata con un compuesto inmunomodulador, comparado con un control no tratado. Este aumento puede ser de aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 90%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1.000%, 5.000% o más del nivel comparativo de la proteína de control.

20 Alternativamente, el nivel de un biomarcador proteína puede disminuir en respuesta a la administración de determinados compuestos inmunomoduladores u otros agentes. Esta disminución puede estar presente, por ejemplo, en un nivel de aproximadamente 99%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 1% o menos del nivel comparativo de la proteína de control.

25 Los términos “determinar”, “medir”, “evaluar”, “valorar” y “ensayar”, como se usan en la presente memoria, se refieren en general a cualquier forma de medición, e incluyen determinar si un elemento está o no presente. Estos términos incluyen tanto determinaciones cuantitativas como/o cualitativas. La valoración puede ser relativa o absoluta. “Valorar la presencia de” puede incluir determinar la cantidad de algo presente, así como determinar si está presente o ausente.

30 Como se usa en la presente memoria y salvo que se indique otra cosa, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” abarca sales de adición de ácido y base no tóxicas del compuesto al que se refiere el término. Las sales de adición de ácido no tóxicas, aceptables, incluyen las derivadas de ácidos o bases orgánicos o inorgánicos conocidos en la técnica, que incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido acético, ácido tartárico, ácido láctico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido málico, ácido maleico, ácido sórbico, ácido aconítico, ácido salicílico, ácido ftálico, ácido embólico, ácido enántico, y similares.

35 Los compuestos que son de naturaleza ácida son capaces de formar sales con diferentes bases farmacéuticamente aceptables. Las bases que se pueden usar para preparar sales de adición de base farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos ácidos, son las que forman sales de adición de base no tóxicas, es decir, sales que contienen cationes farmacológicamente aceptables tales como, pero no limitado a sales de metal alcalino o metal alcalino térreo y las sales de calcio, magnesio, sodio o potasio en particular. Las bases orgánicas adecuadas incluyen, pero no se limitan a N,N-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina), lisina y procaína.

40 Como se usa en la presente memoria y salvo que se indique otra cosa, el término “solvato” significa un compuesto proporcionado en la presente memoria o una de sus sales, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de disolvente unido por fuerzas intermoleculares no covalentes. Cuando el disolvente es agua, el solvato es un hidrato.

45 Como se usa en la presente memoria y salvo que se indique otra cosa, el término “profármaco” significa un derivado de un compuesto que se puede hidrolizar, oxidar o hacer reaccionar de otra forma en condiciones biológicas (in vitro o in vivo) para proporcionar el compuesto. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a derivados del compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria, que comprenden restos biohidrolizables tales como análogos de amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables y fosfatos biohidrolizables. Otros ejemplos de profármacos incluyen derivados del compuesto de fórmula I proporcionados en la presente memoria, que comprenden restos -NO, -NO₂, -ONO, o -ONO₂. Los profármacos se pueden preparar usando métodos tales como los descritos en *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5ª ed. 1995), y *Design of Prodrugs* (H. Bundgaard ed., Elsevier, New York 1985).

55 Como se usa en la presente memoria y salvo que se indique otra cosa, las expresiones “amida biohidrolizable”, “éster biohidrolizable”, “carbamato biohidrolizable”, “carbonato biohidrolizable”, “ureido biohidrolizable” y “fosfato biohidrolizable”, significan una amida, éster, carbamato, carbonato, ureido o fosfato, respectivamente, de un

compuesto que: 1) no interfiere con la actividad biológica del compuesto pero puede conferir al compuesto propiedades ventajosas in vivo, tales como absorción, duración de la acción o inicio de la acción; o 2) es biológicamente inactivo pero se convierte en el compuesto biológicamente activo in vivo. Los ejemplos de ésteres biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a ésteres de alquilo inferior, ésteres de aciloxialquilo inferior (tales como ésteres de acetoximetilo, acetoxietilo, aminocarboniloximetilo, pivaloiloximetilo, y pivaloiloxietil), ésteres de lactonilo (tales como ésteres de ftalidilo y tioftalidilo), ésteres de alcoxiaciloxialquilo inferiores (tales como ésteres de metoxicarbonil-oximetilo, etoxicarboniloxietilo e isopropoxicarboniloxietilo), ésteres de alcóxialquilo, ésteres de colina, y ésteres de acilaminoalquilo (tales como ésteres de acetamidometilo). Los ejemplos de amidas biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a alquilamidas inferiores, amidas de α -aminoácidos, alcoxiacilamidas, y alquilaminoalquilcarbonilamidas. Los ejemplos de carbamatos biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a alquilaminas inferiores, etilendiaminas sustituidas, aminoácidos, hidroxialquilaminas, aminas heterocíclicas y heteroaromáticas, y polieteraminas.

Como se usa en la presente memoria y salvo que se indique otra cosa, la expresión “estereoisoméricamente puro” significa una composición que comprende un estereoisómero de un compuesto y carece sustancialmente de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, una composición estereoisoméricamente pura de un compuesto que tiene un centro quiral, carecerá sustancialmente del enantiómero opuesto del compuesto. Una composición estereoisoméricamente pura de un compuesto que tiene dos centros quirales carecerá sustancialmente de los otros diastereoisómeros del compuesto. En algunas realizaciones, un compuesto estereoisoméricamente puro comprende más de aproximadamente 80% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 20% en peso de otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente 90% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 10% en peso de otros estereoisómeros del compuesto, más de aproximadamente 95% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 5% en peso de otros estereoisómeros del compuesto, o más de aproximadamente 97% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 3% en peso de otros estereoisómeros del compuesto. Como se usa en la presente memoria y salvo que se indique otra cosa, la expresión “estereoisoméricamente enriquecido” significa una composición que comprende más de aproximadamente 60% en peso de un estereoisómero de un compuesto, más de aproximadamente 70% en peso o más de aproximadamente 80% en peso de un estereoisómero de un compuesto. Como se usa en la presente memoria y salvo que se indique otra cosa, la expresión “enantioméricamente pura” significa una composición estereoisoméricamente pura de un compuesto que tiene un centro quiral. De forma similar, la expresión “estereoisoméricamente enriquecida” significa una composición estereoisoméricamente enriquecida de un compuesto que tiene un centro quiral.

El término “aproximadamente” significa un error aceptable para un valor particular determinado por el experto en la técnica, que depende en parte de cómo se mide o determina el valor. En algunas realizaciones, el término “aproximadamente” significa dentro de 1, 2, 3 o 4 desviaciones estándar. En algunas realizaciones, el término “aproximadamente” significa dentro de 50%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, o 0,05% de un valor o intervalo dado.

5.2. Criterios de valoración de ensayos clínicos para la aprobación para el cáncer

La “supervivencia global” se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la muerte por cualquier causa, y se mide en la población de análisis por intención de tratar. La supervivencia global debe evaluarse en estudios controlados aleatorizados. La demostración de una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia global se puede considerar que es clínicamente significativa si el perfil de toxicidad es aceptable, y ha respaldado a menudo la aprobación de nuevos fármacos.

Varios criterios de valoración se basan en evaluaciones tumorales. Estos criterios de valoración incluyen supervivencia sin enfermedad (SSE), tiempo de evolución de la enfermedad (TEE), supervivencia sin progresión (SSP), y tiempo hasta el fallo del tratamiento (TFT). La recogida y análisis de datos de estos criterios de valoración dependientes del tiempo se basan en valoraciones indirectas, cálculos y estimaciones (p. ej., mediciones tumorales).

En general, la “supervivencia sin enfermedad” (SSE) se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la recidiva del tumor o muerte por cualquier causa. Aunque la supervivencia global es un criterio de valoración convencional para la mayoría de los ámbitos complementarios, la SSE puede ser un criterio de valoración importante en situaciones donde se puede prolongar la supervivencia, haciendo que sea impracticable un criterio de valoración de supervivencia. La SSE puede ser un criterio indirecto de valoración del beneficio clínico o puede proporcionar prueba directa del beneficio clínico. Esta determinación se basa en la magnitud del efecto, su relación riesgo-beneficio, y el ámbito de la enfermedad. La definición de la SSE puede ser complicada, en particular cuando se registran muertes sin documentación de progreso previo del tumor. Estos sucesos se pueden clasificar como recidivas de la enfermedad o como sucesos censurados. Aunque todos los métodos para el análisis estadístico de muertes tienen algunas limitaciones, la consideración de todas las muertes (muertes de todas las causas) como recidivas se puede minimizar el sesgo. La SSE se puede sobreestimar usando esta definición, en especial en pacientes que mueren después de un periodo largo sin observación. Se puede introducir el sesgo si la frecuencia de las visitas de seguimiento a largo plazo es distinta entre los grupos del estudio o si los abandonos no son aleatorios debido a la toxicidad.

La "tasa de respuesta objetiva" (TRO) se define como la proporción de pacientes con reducción del tamaño tumoral de una cantidad predefinida para un periodo de tiempo mínimo. La duración de la respuesta normalmente se mide desde el tiempo de la respuesta inicial hasta el progreso del tumor documentado. En general, la FDA ha definido la TRO como la suma de respuestas parciales más respuestas completas. Cuando se define de esta forma, la TRO es una medida directa de la actividad antitumoral del fármaco, que se puede evaluar en un estudio de un solo grupo. Si están disponibles, deben usarse criterios estandarizados para determinar la respuesta. Se han considerado adecuados una variedad de criterios de respuesta (p. ej., criterios RECIST) (Therasse et al., (2000) *J. Natl. Cancer Inst.*, 92: 205-16). La importancia de la TRO se valora por su magnitud y duración, y el porcentaje de respuestas completas (señales de tumor no detectables).

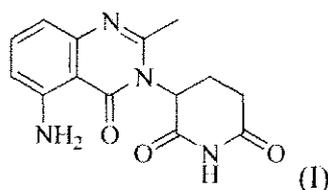
El "tiempo de evolución de la enfermedad" (TEE) y "supervivencia sin progresión" (SSP) han servido como criterios de valoración principales para la aprobación de fármaco. El TEE se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la evolución tumoral objetiva; el TEE no incluye muertes. La SSP se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la evolución tumoral objetiva o muerte. Comparado con el TEE, la SSP es el criterio de valoración regulador preferido. La SSP incluye muertes, y por lo tanto se puede correlacionar mejor con la supervivencia global. La SSP supone que las muertes de pacientes están relacionadas aleatoriamente con la evolución tumoral. Sin embargo, en situaciones donde la mayoría de las muertes no están relacionadas con el cáncer, el TEE puede ser un criterio de valoración aceptable.

Como un criterio de valoración para respaldar la aprobación del fármaco, la SSP puede reflejar el crecimiento tumoral y ser valorada antes de la determinación de un beneficio de supervivencia. Su determinación no se confunde por la posterior terapia. Para una muestra de tamaño dado, la magnitud del efecto en la SSP puede ser mayor que el efecto en la supervivencia global. Sin embargo, la validación formal de la SSP como un criterio indirecto de valoración de la supervivencia para los muchos tumores malignos que existen, puede ser difícil. Los datos a veces son insuficientes para permitir una evaluación consistente de la correlación entre los efectos en la supervivencia y la SSP. Los ensayos del cáncer a menudo son pequeños y los beneficios de supervivencia demostrados de fármacos existentes a menudo son modestos. La función de la SSP como un criterio de valoración para respaldar la aprobación de concesión de licencia varía en diferentes ámbitos del cáncer. El que una mejora en la SSP represente un beneficio clínico directo o un criterio indirecto de valoración para el beneficio clínico depende de la magnitud del efecto y del riesgo-beneficio del nuevo tratamiento comparado con terapias disponibles.

El "tiempo hasta el fallo del tratamiento" (TFT) se define como un criterio de valoración compuesto que mide el tiempo desde la aleatorización hasta la interrupción del tratamiento por cualquier razón, incluyendo la evolución de la enfermedad, toxicidad del tratamiento y muerte. El TFT no se recomienda como un criterio de valoración regulador para la aprobación del fármaco. El TFT no distingue adecuadamente la eficacia de estas variables adicionales. Un criterio de valoración regulador debe distinguir claramente la eficacia del fármaco de la toxicidad, retirada del paciente o por el médico o intolerancia del paciente.

5.3. El compuesto

El compuesto adecuado para usar en los métodos proporcionados en la presente memoria es la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, que tiene la estructura de fórmula I:



o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables.

El compuesto de fórmula I se puede preparar de acuerdo con los métodos descritos en los ejemplos proporcionados en la presente memoria o como se describe en la patente de EE.UU. nº 7.635.700, cuya descripción se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad. El compuesto también se puede sintetizar de acuerdo con otros métodos evidentes para el experto en la técnica, basándose en la enseñanza de la presente memoria.

El compuesto de fórmula I inhibe notablemente el TNF- α , IL-1 β y otras citoquinas inflamatorias en CMSPh estimuladas por LPS y sangre entera humana. El TNF- α es una citoquina inflamatoria producida por macrófagos y monocitos durante la inflamación aguda. El TNF- α es responsable de una variedad diversa de sucesos de señalización dentro de las células. El TNF- α puede tener una función patológica en el cáncer. Sin querer estar limitados por la teoría, uno de los efectos biológicos ejercidos por el compuesto inmunomodulador de fórmula I es la reducción de la síntesis de TNF- α . El compuesto inmunomodulador de fórmula I potencia la degradación del ARNm del TNF- α . El compuesto de fórmula I también inhibe potencialmente la IL-1 β y estimula la IL-10 en estas condiciones.

Además, sin querer estar limitados por la teoría, el compuesto de fórmula I es un potente coestimulador de células T y aumenta la proliferación celular de una forma dependiente de la dosis en las condiciones adecuadas.

En algunas realizaciones, sin querer estar limitados por la teoría, los efectos biológicos ejercidos por el compuesto de fórmula I inmunomodulador incluyen, pero no se limitan a efectos antiangiogénicos e inmunomoduladores.

5 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es un sólido. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I está hidratado. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I está solvatado. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es anhídrido. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I no es higroscópico.

10 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I sólido es amorfo. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I sólido es cristalino. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I sólido está en una forma cristalina descrita en la solicitud de patente provisional de EE.UU. n° 61/451.806, presentada el 11 de marzo de 2011, que se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad.

15 Las formas sólidas del compuesto de fórmula I se pueden preparar de acuerdo con métodos descritos en la descripción de la solicitud de patente provisional de EE.UU. n° 61/451.806. Las formas sólidas también se pueden preparar de acuerdo con otros métodos evidentes para los expertos en la técnica.

20 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I es una sal de hidrocloreto de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma; o uno de sus solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, la sal de hidrocloreto es un sólido. En algunas realizaciones, la sal de hidrocloreto es anhídrida. En algunas realizaciones, la sal de hidrocloreto no es higroscópica. En algunas realizaciones, la sal de hidrocloreto es cristalina. En algunas realizaciones, la sal de hidrocloreto está en forma cristalina A.

25 La sal de hidrocloreto del compuesto de fórmula I y sus formas sólidas, se pueden preparar de acuerdo con métodos descritos en la solicitud de patente provisional de EE.UU. n° 61/451.806. La sal de hidrocloreto, sus formas sólidas, también se pueden preparar por otros métodos evidentes para los expertos en la técnica.

30 El compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria contiene un centro quiral, y puede existir como una mezcla de enantiómeros, p. ej., una mezcla racémica. Esta descripción abarca el uso de formas estereoisoméricamente puras de dicho compuesto, así como el uso de mezclas de esas formas. Por ejemplo, se pueden usar mezclas que comprenden cantidades iguales o distintas de los enantiómeros del compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria, en métodos y composiciones descritas en la presente memoria. Estos isómeros se pueden sintetizar de forma asimétrica o se pueden resolver usando técnicas convencionales tales como columnas quirales o agentes de resolución quirales. Véase, p. ej., Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); y Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, Ind., 1972).

35 Debe indicarse que si hay una discrepancia entre una estructura representada y un nombre dado a esa estructura, la estructura representada tiene más peso. Además, si la estereoquímica de una estructura o una parte de la estructura no está indicada, por ejemplo, con negrilla o líneas de trazos, la estructura o parte de la estructura debe interpretarse como que abarca todos los estereoisómeros de la estructura.

40 5.4. Segundos agentes activos

45 Un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se puede combinar con uno o más de otros compuestos farmacológicamente activos ("segundos agentes activos") en métodos y composiciones proporcionados en la presente memoria. Se cree que algunas combinaciones trabajan de forma sinérgica en el tratamiento de tipos particulares de cáncer, y algunas enfermedades y afecciones asociadas o caracterizadas por la angiogénesis indeseada. El compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria también puede funcionar para aliviar efectos adversos asociados con algunos segundos agentes activos, y algunos segundos agentes activos se pueden usar para aliviar los efectos adversos asociados con el compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria.

50 Uno o más segundos ingredientes o agentes activos se pueden usar en los métodos y composiciones proporcionados en la presente memoria con el compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria. Los segundos agentes activos pueden ser moléculas grandes (p. ej., proteínas) o moléculas pequeñas (p. ej., moléculas inorgánicas, organometálicas u orgánicas sintéticas).

55 Los ejemplos de agentes activos que son moléculas grandes incluyen, pero no se limitan a factores de crecimiento hematopoyético, citoquinas, y anticuerpos monoclonales y policlonales. En algunas realizaciones, los agentes activos moléculas grandes son moléculas biológicas, tales como proteínas naturales o hechas artificialmente. Las

5 proteínas que son particularmente útiles en esta descripción incluyen proteínas que estimulan la supervivencia y/o proliferación de células precursoras hematopoyéticas y células poyéticas inmunológicamente activas, in vitro o in vivo. Otras estimulan la división y diferenciación de progenitores eritroides comprometidos en células in vitro o in vivo. Las proteínas particulares incluyen, pero no se limitan a: interleuquinas, tales como IL-2 (incluyendo IL-II recombinante ("rIL2") y IL-2 de viruela de canario), IL-10, IL-12, e IL-18; interferones tales como interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón alfa-n1, interferón alfa-n3, interferón beta-I a, e interferón gamma-I b; GM-CSF y GM-CSF; y EPO.

10 Las proteínas particulares que se pueden usar en los métodos y composiciones de la descripción incluyen, pero no se limitan a: filgrastim, que se vende en Estados Unidos con el nombre comercial NEUPOGEN®. (Amgen, Thousand Oaks, CA); sargramostim, que se vende en Estados Unidos con el nombre comercial LEUKINE® (Immunex, Seattle, WA); y EPO recombinante, que se vende en Estados Unidos con el nombre comercial EPGEN® (Amgen, Thousand Oaks, CA).

15 Los inhibidores de receptores de ActRII o inhibidores de activina-ActRII se pueden usar en los métodos y composiciones proporcionados en la presente memoria. Los receptores de ActRII incluyen inhibidores de ActRIIA e inhibidores de ActRIIB. Los inhibidores de los receptores de ActRII pueden ser polipéptidos que comprenden dominios de unión a activina de ActRII. En algunas realizaciones, los polipéptidos que comprenden dominio de unión a activina se conectan a una parte Fc de un anticuerpo (es decir, se genera un conjugado que comprende un polipéptido que comprende dominio de unión a activina de un receptor de ActRII y una parte Fc de un anticuerpo). En algunas realizaciones, el dominio de unión a activina se une a una parte Fc de un anticuerpo mediante un conector, p. ej., un conector peptídico. Ejemplos de dichas proteínas que no son anticuerpos seleccionadas para la unión a activina o ActRII y métodos para el diseño y selección de los mismos se encuentran en los documentos WO/2002/088171, WO/2006/055689, WO/2002/032925, WO/2005/037989, US 2003/0133939, y US 2005/0238646, cada uno de los cuales se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad.

25 Se pueden preparar formas recombinantes y mutadas de GM-CSF como se describe en las patentes de EE.UU. n° 5.391.485; 5.393.870; y 5.229.496; la descripción de cada una de las cuales se incorpora por referencia en la presente memoria en su totalidad. Se pueden preparar formas recombinantes y mutadas de G-CSF como se describe en las patentes de EE.UU. n° 4.810.643; 4.999.291; 5.528.823; y 5.580.755; la descripción de cada una de las cuales se incorpora por referencia en la presente memoria en su totalidad.

30 Esta descripción abarca el uso de proteínas sin modificación genética, naturales y recombinantes. La descripción abarca además mutantes y derivados (p. ej., formas modificadas) de proteínas naturales, que presentan, in vivo, al menos alguna de las actividades farmacológicas de las proteínas en las cuales se basan. Los ejemplos de mutantes incluyen, pero no se limitan a proteínas que tienen uno o más restos de aminoácidos que difieren de los correspondientes restos en las formas naturales de las proteínas. También están abarcados por el término "mutantes" proteínas que carecen de restos de hidratos de carbono normalmente presentes en sus formas naturales (p. ej., formas no glucosiladas). Los ejemplos de derivados incluyen, pero no se limitan a derivados pegilados y proteínas de fusión, tales como las proteínas formadas por fusión de IgG1 o IgG3 con la proteína o parte activa de la proteína de interés. Véase, p. ej., Penichet, M. L. y Morrison, S. L., *J. Immunol. Methods* 248:91-101 (2001).

40 Los anticuerpos que se pueden usar en combinación con el compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria incluyen anticuerpos monoclonales y policlonales. Los ejemplos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a trastuzumab (HERCEPTIN®), rituximab (RITUXAN®), bevacizumab (AVASTIN™), pertuzumab (OMNITARG™), tositumomab (BEXXAR®), edrecolomab (PANOREX®), panitumumab y G250. El compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria se puede combinar también con o usar en combinación con anticuerpos anti-TNF-α.

45 Los agentes activos moléculas grandes se pueden administrar en forma de vacunas anti-cáncer. Por ejemplo, se pueden usar vacunas que segregan o producen la secreción de citoquinas tales como IL-2, SCF, CXCL4 (factor de plaquetas 4), G-CSF, y GM-CSF en los métodos, composiciones farmacéuticas y kits de la descripción. Véase, p. ej., Emens, L. A., et al., *Curr. Opinion Mol. Ther.* 3(1):77-84 (2001).

50 Los segundos agentes activos que son moléculas pequeñas también se pueden usar para aliviar efectos adversos asociados con la administración del compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria. Sin embargo, como algunas moléculas grandes, se cree que muchos son capaces de proporcionar un efecto sinérgico cuando se administran con (p. ej., antes, después o simultáneamente) el compuesto de fórmula I. Los ejemplos de agentes activos segundos moléculas pequeñas incluyen, pero no se limitan a agentes antineoplásicos, antibióticos, agentes inmunosupresores y esteroides.

55 Los ejemplos de agentes antineoplásicos incluyen, pero no se limitan a: abraxano; ace-11; acivicina; aclarubicina; hidrocloreto de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleukina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; amrubicina; amsacrina; anastrozol; antramincina; asparaginasa; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; hidrocloreto de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar de sodio; bropirimina; busulfano; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetimer; carboplatino; carmustina; hidrocloreto de carubicina; carzelesina; cedefingol; celecoxib (inhibidor de COX-2);

5 clorambucilo; cirolemicina; cisplatino; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; dactinomicina; hidroclicloruro de daunorubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquona; docetaxel; doxorubicina; hidroclicloruro de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; hidroclicloruro de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato;

10 epipropidina; hidroclicloruro de epirubicina; erbulozol; hidroclicloruro de esorubicina; estramustina; estramustina fosfato sódico; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; hidroclicloruro de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; fluorocitabina; fosquidona; fostriecina de sodio; gemcitabina; hidroclicloruro de gemcitabina; herceptina; hidroxuurea; hidroclicloruro de idarubicina; ifosfamida; ilmofosina; ioprolatino; irinotecán; hidroclicloruro de irinotecán; acetato de lanreotida; lapatinib; letrozol; acetato de leuprolida; hidroclicloruro de

15 liarozol; lometrexol de sodio; lomustina; hidroclicloruro de losoxantrona; masoprocol; maitansina; hidroclicloruro de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato de sodio; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; hidroclicloruro de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ormaplatino; oxisurán; paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfomicina; pipobromán; pipsulfano; hidroclicloruro de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porflimer de sodio; porfiromicina; prednimustina; hidroclicloruro de procarbazona; puomicina; hidroclicloruro de puomicina; pirazofurina; riboprina; romidepsina; safingol; hidroclicloruro de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato sódico; esparsomicina; hidroclicloruro de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; tratamientos con citoblastos tales como PDA-001; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalán sódico; taxotere; tegafur; hidroclicloruro de

20 teloxantrona; temoporfina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazoferina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; hidroclicloruro de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; e hidroclicloruro de zorubicina.

Otros fármacos antineoplásicos incluyen, pero no se limitan a: 20-epi-1,25-dihidroxivitamina D3; 5-etniluracilo; abiraterona; aclarubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleukina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografolida; inhibidores de angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína morfogenética 1

30 antiodorsal; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplastón; oligonucleótidos de sentido contrario; glicinato de afidicolina; moduladores de genes de apoptosis; reguladores de apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina deaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrón; azatuxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilestaurosoprina; derivados de beta-lactama; beta-aletina; betaclamina B; ácido betulínico;

35 inhibidor de b-FGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilespermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C; derivados de camptotecina; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor de derivado de cartilago; carzelesina; inhibidores de caseína quinasa (ICOS); castanoespermina; cecropina B; cetorelix; clorinas; cloroquinoxalina sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol;

40 criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatam; cipemicina; ocfosfina de citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; deshidrodidemina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamilo; diaziquona; didemina B; didox; dietilnoespermina; dihidro-5-azacitidina; dihidrotaxol, 9-; dioxamicina; difenil-espiromustina; docetaxel; docosanol; dolasetrón; doxifluridina; doxorubicina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebselena; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina;

45 elemeno; emitefur; epirubicina; episterida; análogo de estramustina; análogo de estrógeno; antagonistas de estrógeno; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; hidroclicloruro de fluorodaunorubicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina de gadolinio; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatión; hepsulfam; heregulina; hexametileno-bisacetamida; hipericina; ácido

50 ibandrónico; idarubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofosina; ilomastat; imatinib (p. ej., GLEEVEC®), imiquimod; péptidos inmunoestimulantes; inhibidor del receptor del factor de crecimiento 1 similar a insulina; agonistas de interferones; interferones; interleuquinas; iobenguano; iododoxorubicina; ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetrón; jasplakinolida; kahalalida F; triacetato de lamelarina-N; lanreotida; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinina; leptostatina; letrozol; factor inhibidor de leucemia; interferón alfa de leucocitos; leuprolida+estrógeno+progesterona; leuprorelina; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal;

55 disacárido-péptido lipófilo; compuestos de platino lipófilos; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; loxoribina; lurtotecán; texafirina de lutecio; lisofilina; péptidos líticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilisina; inhibidores de metaloproteasas de la matriz; menogaril; merbarona; meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; factor de crecimiento de fibroblastos mitotóxica-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; Erbitux, gonadotropina coriónica humana; monofosforil-lípido A+pared celular de miobacteria sk; mopidamol; agente antineoplásico tipo mostaza; micaperóxido B; extracto de pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetildinalina; benzamidas N-sustituidas;

60 nafarelina; nagrestip; naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorubicina; ácido

neridrónico; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante nitróxido; nitrulina; oblimersen (GENASENSE[®]); O⁶-bencilguanina; octreotida; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetrón; ondansetrón; oracina; inductor de citoquina oral; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; paclitaxel; análogos de paclitaxel; derivados de paclitaxel; palauamina; palmitoilrhizoxina; ácido pamidrónico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina; pentosán-polisulfato sódico; pentostatina; pentozol; perflubron; perfosfamida; alcohol perilílico; fenazinomicina; fenilacetato; inhibidores de fosfatasa; picibanil; hidrocloreuro de pilocarpina; pirarubicina; piritrexim; placetin A; placetin B; inhibidor del activado de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfimer sódico; porfiromicina; prednisona; propil-bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores de proteasoma; inmunomodulador basado en proteína A; inhibidor de proteína quinasa C; inhibidores de proteína quinasa C, microalgal; inhibidores de proteína tirosina fosfatasa; inhibidores de nucleósido purina fosforilasa; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de hemoglobina piridoxilada y polioxi-etileno; antagonistas de raf; raltitrexed; ramosetron; inhibidores de proteína farnesil transferasa ras; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; reteliptina desmetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; retinamida RII; rohituquina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxil; safingol; saintopina; SarCNU; sarcositol A; sargramostima; miméticos de Sdi 1; semustina; inhibidor 1 derivado de células senescentes; oligonucleótidos homosentido; inhibidores de la transducción de señales; sizofurán; sobuzoxano; borocaptato sódico; fenilacetato sódico; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina; ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongiastatina 1; escualamina; estipiamida; inhibidores de estromelisia; sulfinosina; antagonista de péptido intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramina; swainsonina; talimustina; metyoduro de tamoxifeno; tauromustina; tazaroteno; tecogalán sódico; tegafur; telurapirilio; inhibidores de telomerasa; temporfina; tenipósido; tetraclorodecaóxido; tetrazolina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; mimético de trombopoyetina; timalfasina; agonista de receptor de timopoyetina; timotrinano; hormona estimuladora de tiroides; etiopurpurina de etilo de estaño; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron; turosterida; inhibidores de tirosina quinasa; tirfostinas; inhibidores de UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital; antagonistas del receptor de uroquinasa; vapreotida; variolina B; velaesol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; y zinostatina estimalamero.

Los segundos agentes activos específicos incluyen, pero no se limitan a oblimersen (GENASENSE[®]), remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona (DECADRON[®]), ssteroidss, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecán, metotrexato, ARISA[®], taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, CPT-11, interferón alfa, interferón alfa pegilado (p. ej., PEG INTRON-A), capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorubicina liposomal, citarabina, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biastina, busulfán, prednisona, bisfosfonato, trióxido de arsénico, vincristina, doxorubicina (DOXIL[®]), paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato sódico de estramustina) (EMCYT[®]), sulindac, y etopósido.

5.5. Biomarcadores

Se proporcionan en la presente memoria métodos relacionados con el uso de ARNm o proteínas como biomarcadores para determinar la eficacia de la terapia del cáncer. Los niveles de ARNm o proteína se pueden usar para determinar si es probable que un agente particular tenga éxito en el tratamiento de un tipo de cáncer específico, p. ej., linfoma no hodgkiniano.

Un marcador biológico o "biomarcador" es una sustancia cuya detección indica un estado biológico particular, tal como, por ejemplo, la presencia de cáncer. En algunas realizaciones, los biomarcadores se pueden determinar individualmente, o se pueden medir simultáneamente varios biomarcadores.

En algunas realizaciones, un "biomarcador" indica un cambio en el nivel de expresión del ARNm que se puede correlacionar con el riesgo o el progreso de una enfermedad, o con la susceptibilidad de la enfermedad a un tratamiento dado. En algunas realizaciones, el biomarcador es un ácido nucleico, tal como un ARNm o ADNc.

En algunas realizaciones, un "biomarcador" indica un cambio en el nivel de expresión de polipéptidos o proteínas que se puede correlacionar con el riesgo, susceptibilidad al tratamiento o el progreso de una enfermedad. En algunas realizaciones, el biomarcador puede ser un polipéptido o proteína o un fragmento de los mismos. El nivel relativo de proteínas específicas se puede determinar por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, métodos basados en anticuerpos, tales como un inmunotransferencia, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) u otros métodos.

5.6. Métodos de tratamiento y prevención

En una realización, se proporciona en la presente memoria un método de tratamiento y prevención del cáncer, que comprende administrar a un paciente un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método de atención integral del cáncer, que

comprende administrar a un paciente un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables. Se proporcionan en la presente memoria métodos de tratamiento o atención integral del linfoma, en particular del linfoma no hodgkiniano. En algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria métodos para el tratamiento o atención integral del linfoma no hodgkiniano (NHL), incluyendo, pero no limitado a linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), usando factores pronósticos.

También se proporcionan en la presente memoria métodos de tratamiento de pacientes que se han tratado previamente para el cáncer pero no responden a las terapias convencionales, así como aquellos que no han sido tratados previamente. La invención también abarca métodos de tratamiento de pacientes independientemente de la edad del paciente, aunque algunas enfermedades o trastornos son más comunes en algunos grupos de edad. La invención abarca además métodos de tratamiento de pacientes que se han sometido a cirugía para intentar tratar la enfermedad o afección en cuestión, así como aquellos que no lo han hecho. Debido a que los pacientes con cáncer tienen manifestaciones clínicas heterogéneas y resultados clínicos que varían, el tratamiento dado a un paciente puede variar, dependiendo de su pronóstico. El médico experto podrá determinar fácilmente sin excesiva experimentación, agentes secundarios específicos, tipos de cirugía, y tipos de terapias convencionales no basadas en fármacos que se pueden usar eficazmente para tratar un paciente individual con cáncer.

Como se usa en la presente memoria, el término "cáncer" incluye, pero no se limita a tumores sólidos y tumores transmitidos por la sangre. El término "cáncer" se refiere a la enfermedad de tejidos de la piel, órganos, sangre y vasos, incluyendo, pero no limitado a cánceres de vejiga, hueso, sangre, cerebro, mama, cuello del útero, pecho, colon, endometrio, esófago, ojos, cabeza, riñón, hígado, ganglios linfáticos, pulmón, boca, cuello, ovarios, páncreas, próstata, recto, estómago, testículos, garganta y útero. Los cánceres específicos incluyen, pero no se limitan a, tumor maligno avanzado, amiloidosis, neuroblastoma, meningioma, hemangiopericitoma, metástasis cerebrales múltiples, glioblastoma multiforme, glioblastoma, glioma del tronco encefálico, tumor cerebral maligno de pronóstico malo, glioma maligno, glioma maligno recurrente, astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico, tumor neuroendocrino, adenocarcinoma rectal, cáncer colorrectal de Dukes C y D, carcinoma colorrectal no resecable, carcinoma metastásico hepatocelular, sarcoma de Kaposi, cariotipo de leucemia mieloblástica aguda, linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de células T, linfoma cutáneo de células B, linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular de bajo grado, melanoma maligno, mesotelioma maligno, síndrome de mesotelioma de derrame pleural maligno, carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilar, sarcoma ginecológico, sarcoma de tejidos blandos, esclerodermia, vasculitis cutánea, histiocitosis de células de Langerhans, leiomiomasarcoma, fibrodisplasia osificante progresiva, cáncer de próstata refractario a hormonas, sarcoma de tejido blando de alto riesgo resecado, carcinoma hepatocelular no resecable, macroglobulinemia de Waldenström, mieloma latente, mieloma indolente, cáncer de trompas de Falopio, cáncer de próstata independiente de andrógenos, cáncer de próstata no metastásico en fase IV dependiente de andrógenos, cáncer de próstata insensible a hormonas, cáncer de próstata insensible a quimioterapia, carcinoma papilar de tiroides, carcinoma folicular de tiroides, carcinoma medular de tiroides, y leiomioma.

En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor transmitido por la sangre. En algunas realizaciones, el tumor transmitido por la sangre es metastásico. En algunas realizaciones, el tumor transmitido por la sangre es resistente a fármacos. En algunas realizaciones, el cáncer es mieloma o linfoma.

En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido. En algunas realizaciones, el tumor sólido es metastásico. En algunas realizaciones, el tumor sólido es resistente a fármacos. En algunas realizaciones, el tumor sólido es carcinoma hepatocelular, cáncer de próstata, cáncer de ovario o glioblastoma.

En algunas realizaciones, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del compuesto es de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1.000 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 250 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25 mg al día, o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg al día.

En algunas realizaciones, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz es de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1.000 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 250 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25 mg al día, o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg cada dos días.

5 En algunas realizaciones, la cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz es aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 5, aproximadamente 10, aproximadamente 15, aproximadamente 20, aproximadamente 25, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 45, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90, aproximadamente 100, o aproximadamente 150 mg al día.

10 En una realización, la dosis diaria recomendada del compuesto de fórmula I para las afecciones descritas en la presente memoria está en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 50 mg al día, preferiblemente dada como una sola dosis una vez al día, o en dosis divididas a lo largo de un día. En algunas realizaciones, la dosis está en el intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg al día. En otras realizaciones, la dosis está en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg al día. Las dosis diarias específicas incluyen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 mg al día.

15 En una realización específica, la dosis inicial recomendada puede ser 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 o 50 mg al día. En otra realización, la dosis inicial recomendada puede ser 0,5, 1, 2, 3, 4, o 5 mg al día. La dosis se puede aumentar a 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 mg/día. En una realización específica, el compuesto se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 25 mg/día a pacientes con NHL (p. ej., DLBCL). En una realización particular, el compuesto se puede administrar en una cantidad aproximadamente 10 mg/día a pacientes con NHL (p. ej., DLBCL).

20 En algunas realizaciones, la cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 9 mg/kg/día, de 0,01 a aproximadamente 8 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 7 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 6 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 4 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 3 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 2 mg/kg/día, o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 mg/kg/día.

25 La dosis administrada también se puede expresar en unidades distintas de los mg/kg/día. Por ejemplo, las dosis para la administración parenteral se pueden expresar como mg/m²/día. Un experto en la técnica sabrá fácilmente cómo convertir las dosis de mg/kg/día a mg/m²/día dada la altura o peso de un sujeto o ambos (véase, www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Por ejemplo, una dosis de 1 mg/kg/día para un ser humano de 65 kg es aproximadamente igual a 38 mg/m²/día.

30 En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto administrada es suficiente para proporcionar una concentración plasmática del compuesto en el equilibrio, en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 500 µM, aproximadamente 0,002 a aproximadamente 200 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25 µM, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 µM, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 µM.

35 En otras realizaciones, la cantidad del compuesto administrada es suficiente para proporcionar una concentración plasmática del compuesto en el equilibrio, en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 nM, de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 nM, de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 nM, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 nM o de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 nM.

40 Como se usa en la presente memoria, la expresión "concentración plasmática en el equilibrio" es la concentración que se alcanza después de un periodo de administración de un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables. Una vez que se alcanza el equilibrio, hay máximos y mínimos poco importantes en la curva dependiente del tiempo de la concentración plasmática del compuesto.

45 En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto administrada es suficiente para proporcionar una concentración plasmática máxima (concentración máxima) del compuesto, en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 500 µM, de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 200 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25 µM, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 µM, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 µM.

50 En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto administrada es suficiente para proporcionar una concentración plasmática mínima (concentración mínima) del compuesto, en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 500 µM, de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 200 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 1 a

aproximadamente 50 μM , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 μM , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 μM , de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 20 μM , de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 20 μM , o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 μM .

5 En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto administrada es suficiente para proporcionar un área bajo la curva (AUC) del compuesto, en el intervalo de de aproximadamente 100 a aproximadamente 100.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{ml}$, de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 50.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{ml}$, de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 25.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{ml}$, o de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 10.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{ml}$.

10 En algunas realizaciones, el paciente que se va a tratar con uno de los métodos proporcionados en la presente memoria no ha sido tratado con terapia antineoplásica antes de la administración del compuesto de fórmula I. En algunas realizaciones, el paciente que se va a tratar con uno de los métodos proporcionados en la presente memoria se ha tratado con terapia antineoplásica antes de la administración del compuesto de fórmula I. En algunas realizaciones, el paciente que se va a tratar con uno de los métodos proporcionados en la presente memoria ha desarrollado resistencia a fármacos de la terapia antineoplásica.

15 Los métodos proporcionados en la presente memoria abarcan tratar un paciente independientemente de la edad del paciente, aunque algunas enfermedades o trastornos son más comunes en algunos grupos de edad. Se proporciona además en la presente memoria un método para tratar un paciente que se ha sometido a cirugía para intentar tratar la enfermedad o afección en cuestión, así como uno en el que no se ha hecho. Debido a que los sujetos con cáncer tienen manifestaciones clínicas heterogéneas y resultados clínicos que varían, el tratamiento dado a un sujeto particular puede variar, dependiendo de su pronóstico. El médico experto podrá determinar fácilmente sin excesiva experimentación, agentes secundarios específicos, tipos de cirugía, y tipos de terapias convencionales no basadas en fármacos que se pueden usar eficazmente para tratar un paciente individual con cáncer.

20 Dependiendo de la enfermedad que se va a tratar y la afección del paciente, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se puede administrar por vías de administración oral, parenteral (p. ej., inyección o infusión intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, CIV, intracisternal, inyección subcutánea o implante), inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual, o tópica (p. ej., transdérmica o local). El compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se puede formular solo o en unidad de dosificación adecuada junto con excipientes, soportes, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables, adecuados para cada vía de administración.

25 En una realización, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra por vía oral. En otra realización, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra por vía parenteral. En otra realización más, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra por vía intravenosa.

30 El compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se puede suministrar como una sola dosis tal como, p. ej., inyección de un solo bolo, o comprimidos o píldoras orales; o a lo largo del tiempo, tal como, p. ej., por infusión continua a lo largo del tiempo o dosis de bolo divididas a lo largo del tiempo. El compuesto se puede administrar repetidamente, si es necesario, por ejemplo, hasta que el paciente experimenta enfermedad estable o retroceso, o hasta que el paciente experimenta progreso de la enfermedad o toxicidad inaceptable. Por ejemplo, para tumores sólidos la enfermedad estable significa que el diámetro perpendicular de las lesiones medibles no ha aumentado en 25% o más desde la última medición. "Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) Guidelines" (Criterios de evaluación de respuesta para tumores sólidos), *Journal of the National Cancer Institute* 92(3): 205-216 (2000). La enfermedad estable o la falta de la misma se determina por métodos conocidos en la técnica, tales como la evaluación de síntomas de pacientes, examen físico, visualización del tumor del que se han generado imágenes usando rayos X, CAT, PET, o MRI, y otras modalidades de evaluación normalmente aceptadas.

35 El compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se puede administrar una vez al día (q.d.), o dividido en múltiples dosis diarias tal como dos veces al día (b.i.d.), tres veces al día (t.i.d.) y cuatro veces al día (q.i.d.). Además, la administración puede ser continua (es decir, diaria durante días consecutivos o en días alternos), intermitente, p. ej., en ciclos (es decir, incluyendo días, semanas o meses de descanso sin fármaco). Como se usa en la presente memoria, el término "diario" se pretende que signifique que un compuesto terapéutico, tal como el compuesto de fórmula I, se administra una o más de una vez cada día, por ejemplo, durante un periodo de tiempo. El término "continuo" se pretende que signifique que un compuesto terapéutico, tal como el compuesto de fórmula I, se administra diariamente durante un periodo de tiempo sin interrupción de al menos 10 días a 52 semanas. El término "intermitente" o "de forma intermitente" como se usa en la presente memoria, se pretende que

signifique detener y comenzar a intervalos regulares o irregulares. Por ejemplo, la administración intermitente del compuesto de fórmula I es la administración durante 1 a 6 días por semana, administración en ciclos (p. ej., administración diaria durante 2 a 8 semanas consecutivas, después un periodo de descanso sin administración de hasta una semana), o administración en días alternos. El término "cíclico" como se usa en la presente memoria se pretende que signifique que un compuesto terapéutico, tal como el compuesto de fórmula I, se administra diariamente o de forma continua pero con un periodo de descanso.

En algunas realizaciones, la frecuencia de administración está en el intervalo de aproximadamente una dosis diaria a aproximadamente una dosis mensual. En algunas realizaciones, la administración es una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día, una vez en días alternos, dos veces por semana, una vez cada semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, o una vez cada cuatro semanas. En una realización, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra una vez al día. En otra realización, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra dos veces al día. En otra realización más, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra tres veces al día. En otra realización todavía, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra cuatro veces al día.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra una vez al día durante 1 día a 6 meses, de 1 semana a 3 meses, de 1 semana a 4 semanas, de 1 semana a 3 semanas, o de 1 semana a 2 semanas. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, se administra una vez al día durante 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, o 4 semanas. En una realización, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra una vez al día durante 1 semana. En otra realización, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra una vez al día durante 2 semanas. En otra realización más, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra una vez al día durante 3 semanas. En otra realización todavía, el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra una vez al día durante 4 semanas.

5.6.1. Tratamiento de combinación con un segundo agente activo

El compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, también se puede combinar o usar en combinación con otros agente terapéuticos útiles en el tratamiento y/o prevención del cáncer descritos en la presente memoria.

En una realización, se proporciona en la presente memoria un método para el tratamiento, prevención o atención integral del cáncer, que comprende administrar a un paciente 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma; o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; en combinación con uno o más segundos agentes activos, y opcionalmente en combinación con terapia de radiación, transfusiones de sangre o cirugía. Se describen ejemplos de segundos agentes activos en la presente memoria (véase, p. ej., sección 5.3).

Como se usa en la presente memoria, la expresión "en combinación" incluye el uso de más de una terapia (p. ej., uno o más agentes profilácticos y/o terapéuticos). Sin embargo, el uso de la expresión "en combinación" no restringe el orden en el que se administran las terapias (p. ej., agentes profilácticos y/o terapéuticos) a un paciente con una enfermedad o trastorno. Se puede administrar una primera terapia (p. ej., un agente profiláctico o terapéutico tal como un compuesto proporcionado en la presente memoria, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables), antes de (p. ej., 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, o 12 semanas antes), simultáneamente con o posteriormente a (p. ej., 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, o 12 semanas después) la administración de una segunda terapia (p. ej., agente profiláctico y/o terapéutico) al sujeto. También está contemplado en la presente memoria la terapia triple.

La administración del compuesto de fórmula I y uno o más segundos agentes activos a un paciente, se puede producir de forma simultánea o secuencial por la misma o por diferentes vías de administración. La idoneidad de una

vía de administración particular usada para un agente activo particular dependerá del propio agente activo (p. ej., si se puede administrar por vía oral sin descomponerse antes de entrar en el torrente sanguíneo) y el cáncer que se esté tratando.

5 La vía de administración del compuesto de fórmula I es independiente de la vía de administración de una segunda terapia. En una realización, el compuesto de fórmula I se administra por vía oral. En otra realización, el compuesto de fórmula I se administra por vía intravenosa. Por lo tanto, de acuerdo con estas realizaciones, el compuesto de fórmula I se administra por vía oral o intravenosa, y la segunda terapia se puede administrar por vía oral, parenteral, intraperitoneal, intravenosa, intraarterial, transdérmica, sublingual, intramuscular, rectal, transbucal, intranasal, liposomal, vía inhalación, vaginal, intraocular, vía local suministrado mediante catéter o stent, subcutáneo, 10 intraadiposo, intraarticular, intratecal, o en una forma farmacéutica de liberación lenta. En una realización, el compuesto de fórmula I y una segunda terapia se administran por el mismo modo de administración, por vía oral o por vía IV. En otra realización, el compuesto de fórmula I se administra por un modo de administración, p. ej., por vía IV, mientras que el segundo agente (un agente antineoplásico) se administra por otro modo de administración, p. ej., vía oral.

15 En una realización, el segundo agente activo se administra por vía intravenosa o subcutánea y una o dos veces al día, en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg, de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 10 a aproximadamente 350 mg, o de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg. La cantidad específica del segundo agente activo dependerá del agente específico usado, el tipo de enfermedad que se esté tratando o atendiendo integralmente, la gravedad y el estadio de la enfermedad, y la cantidad del compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria y cualesquiera agentes 20 activos adicionales opcionales administrados simultáneamente al paciente. En algunas realizaciones, el segundo agente activo es oblimersen (GENASENSE[®]), GM-CSF, G-CSF, SCF, EPO, taxotere, irinotecán, dacarbazina, ácido transretinoico, topotecán, pentoxifilina, ciprofloxacina, dexametasona, vincristina, doxorubicina, inhibidor de COX-2, IL2, IL8, IL18, IFN, Ara-C, vinorelbina, o una combinación de los mismos.

25 En algunas realizaciones, el GM-CSF, G-CSF, SCF o EPO se administra por vía subcutánea durante aproximadamente 5 días, en un ciclo de 4 o 6 semanas, en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 750 mg/m²/día, de aproximadamente 25 a aproximadamente 500 mg/m²/día, de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 mg/m²/día, o de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg/m²/día. En algunas realizaciones, el GM-CSF se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 60 a aproximadamente 500 30 mcg/m² por vía intravenosa a lo largo de 2 horas o de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 mcg/m²/día por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el G-CSF se puede administrar por vía subcutánea en una cantidad de aproximadamente 1 mcg/kg/día inicialmente y se puede ajustar dependiendo el aumento del recuento total de granulocitos. La dosis de mantenimiento del G-CSF se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 300 (en pacientes más pequeños) o 480 mcg por vía subcutánea. En algunas realizaciones, la EPO se puede administrar 35 por vía subcutánea en una cantidad de 10.000 unidades 3 veces por semana.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con melfalán y dexametasona a pacientes con 40 amiloidosis. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, y esteroides, se pueden administrar a un paciente con amiloidosis.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con gemcitabina y cisplatino a pacientes con 45 cáncer de células transicionales de la vejiga metastásico o localmente avanzado.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con un segundo principio activo 50 como sigue: temozolomida a pacientes pediátricos con tumores cerebrales recidivantes o progresivos o neuroblastoma recurrente; celecoxib, etopósido y ciclofosfamida para cáncer del SNC recidivante o progresivo; temodar para pacientes con meningioma recidivante o progresivo, meningioma maligno, hemangiopericitoma, metástasis cerebrales múltiples, tumores cerebrales recidivantes, o glioblastoma multiforme de diagnóstico nuevo; irinotecán para pacientes con glioblastoma recurrente; carboplatino para pacientes pediátricos con glioma del tronco 55 encefálico; procarbazina para pacientes pediátricos con gliomas malignos progresivos; ciclofosfamida para pacientes con tumores cerebrales malignos de pronóstico malo, glioblastoma multiforme de diagnóstico nuevo o recurrente; Gliadel[®] para gliomas malignos recurrente de grado alto; temozolomida y tamoxifeno para astrocitoma anaplásico; o topotecán para gliomas, glioblastoma, astrocitoma anaplásico u oligodendroglioma anaplásico.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, 60

clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con metotrexato, ciclofosfamida, taxano, abraxano, lapatinib, herceptina, inhibidores de aromataasa, moduladores selectivos de estrógenos, antagonistas de receptores de estrógenos, y/o PLX3397 (Plexxikon) a pacientes con cáncer de mama metastásico.

5 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con temozolomida a pacientes con tumores neuroendocrinos.

10 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con gemcitabina a pacientes con cáncer de cabeza o cuello recurrente o metastásico.

15 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con gemcitabina a pacientes con cáncer pancreático.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con cáncer de colon en combinación con ARISA[®], avastatina, taxol, y/o taxotere.

20 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con capecitabina y/o PLX4032 (Plexxikon) a pacientes con cáncer colorrectal refractario o pacientes que fracasan en el tratamiento de primera línea o tienen un rendimiento malo en el adenocarcinoma de colon o rectal.

25 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con fluorouracila, leucovorina, e irinotecán a pacientes con cáncer colorrectal de Dukes C y D o a pacientes que han sido tratados previamente para el cáncer colorrectal metastásico.

30 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con cáncer colorrectal refractario en combinación con capecitabina, xeloda, y/o CPT-11.

35 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con capecitabina e irinotecán a pacientes con cáncer colorrectal refractario o a pacientes con cáncer colorrectal no resecable o metastásico.

40 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra solo o en combinación con interferón alfa o capecitabina a pacientes con cáncer hepatocelular no resecable o metastásico; o con cisplatino y tiotepá a pacientes con cáncer de hígado primario o metastásico.

45 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con interferón alfa pegilado a pacientes con sarcoma de Kaposi.

50 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con fludarabina, carboplatino, y/o topotecán a pacientes con leucemia mieloide aguda refractaria o recidivante o de alto riesgo.

En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con daunorubicina liposomal, topotecán y/o citarabina a pacientes con leucemia mieloblástica aguda de cariotipo desfavorable.

- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con gemcitabina, abraxano, erlotinib, gefitinib, y/o irinotecán a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- 5 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con carboplatino e irinotecán a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- 10 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra con doxetaxol a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas que han sido tratados previamente con carbo/VP 16 y radioterapia.
- 15 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con carboplatino y/o taxotere, o en combinación con carboplatino, paclitaxel y/o radioterapia torácica, a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- 20 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con taxotere a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas en estadio IIIB o IV.
- 25 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con oblimersen (Genasense[®]) a pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con ABT-737 (Abbott Laboratories) y/o obatoclastax (GX15-070) a pacientes con linfoma y otros cánceres de la sangre.
- 30 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra solo o en combinación con un segundo principio activo tal como vinblastina o fludarabina a pacientes con diferentes tipos de linfoma, incluyendo, pero no limitado a linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de células T, linfoma cutáneo de células B, linfoma difuso de células B grandes o linfoma folicular de grado bajo recidivante o refractario.
- 35 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con taxotere, IL-2, IFN, GM-CSF, PLX4032 (Plexxikon) y/o dacarbazina a pacientes con diferentes tipos o estadios de melanoma.
- 40 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra solo o en combinación con vinorelbina a pacientes con mesotelioma maligno, o cáncer de pulmón de células no pequeñas en estadio IIIB con implantes pleurales o síndrome de mesotelioma de derrame pleural maligno.
- 45 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con varios tipos o estadios de mieloma múltiple en combinación con dexametasona, ácido zoledrónico, palmitronato, GM-CSF, biacina, vinblastina, melfalán, busulfán, ciclofosfamida, IFN, palmidronato, prednisona, bisfosfonato, celecoxib, trióxido de arsénico, PEG
- 50 INTRON-A, vincristina, o una combinación de los mismos.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con mieloma múltiple recidivante o refractario en combinación con doxorubicina (Doxil[®]), vincristina y/o dexametasona (Decadron[®]).
- 55 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales,

clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con diferentes tipos o estadios de cáncer de ovario tales como carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilar, cáncer de ovario refractario o cáncer de ovario recurrente, en combinación con taxol, carboplatino, doxorubicina, gemcitabina, cisplatino, xeloda, paclitaxel, dexametasona, o una combinación de los mismos.

5 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con diferentes tipos o estadios de cáncer de próstata, en combinación con xeloda, 5 FU/LV, gemcitabina, irinotecán más gemcitabina, ciclofosfamida, vincristina, dexametasona, GM-CSF, celecoxib, taxotere, ganciclovir, paclitaxel, adriamicina, docetaxel, estramustina, Emcyt, denderon o una combinación de los mismos.

10 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con diferentes tipos o estadios de cáncer de células renales, en combinación con capecitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF, Celebrex[®], o una combinación de los mismos.

15 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con diferentes tipos o estadios de cáncer ginecológico, de útero o sarcoma de tejido blando, en combinación con IFN, un inhibidor de COX-2 tal como Celebrex[®], y/o sulindac.

20 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con diferentes tipos o estadios de tumores sólidos en combinación con celebrex, etopósido, ciclofosfamida, docetaxel, apicitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF, o una combinación de los mismos.

25 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con escleroderma o vasculitis cutánea en combinación con celebrex, etopósido, ciclofosfamida, docetaxel, apicitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF, o una combinación de los mismos.

30 La presente memoria también abarca un método para aumentar la dosificación de un fármaco o agente antineoplásico que se puede administrar de forma segura y eficaz al paciente, que comprende administrar al paciente (p. ej., un ser humano) o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables. Los pacientes que pueden beneficiarse de esta método son aquellos que es probable que sufran un efecto adverso asociado con los fármacos antineoplásicos para el tratamiento de un cáncer específico de piel, tejido subcutáneo, ganglios linfáticos, cerebro, pulmón, hígado, hueso, intestino, colon, corazón, páncreas, suprarrenal, riñón, próstata, mama, colorrectal, o combinaciones de los mismos. La administración de un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, alivia o reduce los efectos adversos que son de tal gravedad que de lo contrario limitarían la cantidad de fármaco antineoplásico.

35 En una realización, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra por vía oral y diariamente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 25 mg, antes, durante o después de la aparición del efecto adverso asociado con la administración de un fármaco antineoplásico a un paciente. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra en combinación con agente específicos tales como heparina, aspirina, cumadina, o G-CSF, para evitar efectos adversos que están asociados con fármacos antineoplásicos, tales como, pero no limitado a neutropenia o trombocitopenia.

45 En una realización, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra a pacientes con enfermedades o trastornos asociados con o caracterizados por la angiogénesis indeseada, en combinación con principios activos adicionales, que incluyen, pero no se limitan a fármacos antineoplásicos, antiinflamatorios, antihistaminas, antibióticos y esteroides.

55 En otra realización, la presente memoria abarca un método de tratamiento, prevención y/o atención integral del

5 cáncer, que comprende administrar el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, junto con (p. ej., antes, durante o después) de terapia convencional que incluyen, pero no se limita a cirugía, inmunoterapia, terapia biológica, terapia de radiación, u otra terapia no basada en fármacos, usado actualmente para el tratamiento, prevención o atención integral del cáncer. El uso combinado del compuesto proporcionado en la presente memoria y terapia convencional, puede proporcionar un régimen de tratamiento único que es inesperadamente eficaz en algunos pacientes. Sin estar limitados por la teoría, se cree que el compuesto de fórmula I puede proporcionar efectos aditivos o sinérgicos cuando se da simultáneamente con terapia convencional.

10 Como se discute en la presente memoria en otra parte, la presente memoria abarca un método para reducir, tratar y/o prevenir efectos adversos o no deseados asociados con la terapia convencional que incluyen, pero no se limita a cirugía, quimioterapia, terapia de radiación, terapia hormonal, terapia biológica e inmunoterapia. Un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, y otro principio activo, se pueden administrar a un paciente antes, durante o después de la aparición del efecto adverso asociado con la terapia convencional.

15 En una realización, el compuesto de fórmula I se puede administrar en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 mg, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 mg por vía oral y diariamente, solo o en combinación con un segundo agente activo descrito en la presente memoria (véase, p. ej., sección 4.3), antes, durante o después del uso de terapia convencional.

20 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, y doxetaxol se administran a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas que se habían tratado previamente con carbo/VP 16 y radioterapia.

25 5.6.2. Uso con terapia de trasplante

El compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria se puede usar para reducir el riesgo de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH). Por lo tanto, la presente memoria abarca un método para el tratamiento, prevención y/o atención integral del cáncer, que comprende administrar el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, junto con terapia de trasplante.

30 Como saben los expertos en la técnica, el tratamiento del cáncer a menudo se basa en los estadios y el mecanismo de la enfermedad. Por ejemplo, puesto que la inevitable transformación leucémica se desarrolla en determinados estadios del cáncer, puede ser necesario el trasplante de citoblastos de sangre periférica, preparación de citoblastos hematopoyéticos o de médula ósea. El uso combinado del compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria y la terapia de trasplante proporciona una sinergia única e inesperada. En particular, el compuesto de fórmula I presenta actividad inmunomoduladora que puede proporcionar efectos aditivos o sinérgicos cuando se administra simultáneamente con la terapia de trasplante en pacientes con cáncer.

35 El compuesto de fórmula I puede trabajar en combinación con la terapia de trasplante reduciendo las complicaciones asociadas con el procedimiento invasivo del trasplante y el riesgo de EICH. La presente memoria abarca un método de tratamiento, prevención y/o atención integral del cáncer que comprende administrar a un paciente (p. ej., un ser humano) el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, antes, durante o después del trasplante de sangre de cordón umbilical, sangre de placenta, citoblastos de sangre periférica, preparación de citoblastos hematopoyéticos o de médula ósea. Se describen algunos ejemplos de citoblastos adecuados para usar en los métodos proporcionados en la presente memoria, en la patente de EE.UU. n° 7.498.171, cuya descripción se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad.

40 En una realización, el compuesto de fórmula I se administra a pacientes con mieloma múltiple antes, durante o después de trasplante de células progenitoras de sangre periférica autólogas.

45 En otra realización, el compuesto de fórmula I se administra a pacientes con mieloma múltiple recidivante después del trasplante de citoblastos.

50 En otra realización más, el compuesto de fórmula I y la prednisona se administran como terapia de mantenimiento a pacientes con mieloma múltiple después del trasplante de citoblastos autólogos.

55 En otra realización más, el compuesto de fórmula I y la dexametasona se administran como tratamiento de último recurso para el postrasplante de bajo riesgo a pacientes con mieloma múltiple.

En otra realización más, el compuesto de fórmula I y la dexametasona se administran como terapia de mantenimiento a pacientes con mieloma múltiple después de trasplante de médula ósea autóloga.

En otra realización más, el compuesto de fórmula I se administra después de la administración de una dosis alta de melfalán y el trasplante de citoblastos autólogos a pacientes con mieloma múltiple que responde a la quimioterapia.

En otra realización más, el compuesto de fórmula I y PEG INTRO-A se administran como terapia de mantenimiento a pacientes con mieloma múltiple después de trasplante de citoblastos periféricos seleccionados CD34 autólogos.

- 5 En otra realización más, el compuesto de fórmula I se administra con quimioterapia de consolidación de trasplante a pacientes con mieloma múltiple de diagnóstico nuevo para evaluar la antiangiogénesis.

En otra realización más, el compuesto de fórmula I y la dexametasona se administran como terapia de mantenimiento después de consolidación de DCEP, después del tratamiento con dosis alta de melfalán y el trasplante de citoblastos de sangre periférica a pacientes de 65 años o mayores con mieloma múltiple.

- 10 En una realización, el compuesto de fórmula I se administra a pacientes con NHL (p. ej., DLBCL) antes, durante o después del trasplante de células progenitoras de sangre periférica autólogas.

En otra realización, el compuesto de fórmula I se administra a pacientes con NHL (p. ej., DLBCL) después de trasplante de citoblastos.

5.6.3. Terapia cíclica

- 15 En algunas realizaciones, los agentes profilácticos o terapéuticos proporcionados en la presente memoria se administran a un paciente de forma cíclica. La terapia cíclica implica la administración de un agente activo durante un periodo de tiempo, seguido de un descanso durante un periodo de tiempo y la repetición de esta administración secuencial. La terapia cíclica puede reducir el desarrollo de resistencia a una o más de las terapias, evitar o reducir los efectos secundarios de una de las terapias y/o mejorar la eficacia del tratamiento.

- 20 Por consiguiente, en algunas realizaciones, el compuesto de fórmula I proporcionado en la presente memoria se administra diariamente en una sola dosis o en dosis divididas, en un ciclo de 4 a 6 semanas con un periodo de descanso de aproximadamente 1 semana o 2 semanas. El método cíclico permite además aumentar la frecuencia, número y duración de los ciclos de administración. Por lo tanto, la presente memoria abarca en algunas realizaciones la administración de un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, durante más ciclos de los que son típicos cuando se administra solo. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, se administra durante un número mayor de ciclos que típicamente produciría toxicidad limitante de la dosis en un paciente al que no se le administrara también un segundo principio activo.

En una realización, el compuesto de fórmula I se administra diariamente y continuamente durante 3 o 4 semanas con una dosis de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 150 mg/d seguido de una interrupción de 1 o 2 semanas.

- 35 En otra realización, el compuesto de fórmula I y un segundo principio activo se administran por vía oral, teniendo lugar la administración del compuesto de fórmula I de 30 a 60 minutos antes del segundo principio activo, durante un ciclo de 4 a 6 semanas. En algunas realizaciones, la combinación del compuesto de fórmula I y un segundo principio activo, se administra por infusión intravenosa a lo largo de aproximadamente 90 minutos cada ciclo. En algunas realizaciones, un ciclo comprende la administración de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 150 mg/día del compuesto de fórmula I y de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg/m²/día de un segundo principio activo diariamente durante 3 a 4 semanas y después 1 o 2 semanas de descanso. En algunas realizaciones, el número de ciclos durante el cual se administra el tratamiento combinatorio a un paciente, está en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 24 ciclos, de aproximadamente 2 a aproximadamente 16 ciclos o de aproximadamente 4 a aproximadamente 3 ciclos.

- 45 5.7. Composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas

En una realización, en la presente memoria se proporcionan composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas que comprenden el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables. En otra realización, las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas comprenden además uno o más excipientes.

- 50 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria también comprenden uno o más principios activos adicionales. Por consiguientes, las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria comprenden el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, y un segundo agente activo. Los ejemplos de principios activos segundos opcionales, o adicionales, se describen en la presente memoria (véase, p. ej., sección 4.3).

- 55

Las formas farmacéuticas unitarias individuales proporcionadas en la presente memoria son adecuadas para la administración oral, a través de mucosa (p. ej., nasal, sublingual, vaginal, bucal, o rectal), parenteral (p. ej., subcutánea, intravenosa, inyección de bolo, intramuscular, o intraarterial), tópica (p. ej., gotas oculares u otras preparaciones oftálmicas), transdérmica o transcutánea, a un paciente. Los ejemplos de formas farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a: comprimidos; comprimidos oblongos; cápsulas, tales como cápsulas de gelatina elástica blandas; sellos; pastillas para chupar; pastillas; dispersiones; supositorios; polvos; aerosoles (p. ej., pulverizadores nasales o inhaladores); geles; formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración oral o a través de mucosa, a un paciente, incluyendo suspensiones (p. ej., suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua, o emulsiones líquidas de agua en aceite), soluciones y elixires; formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente; gotas oculares u otras preparaciones oftálmicas adecuadas para la administración tópica; y sólidos estériles (p. ej., sólidos cristalinos o amorfos) que se pueden reconstituir para proporcionar formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente.

La composición, forma y tipo de formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden variar dependiendo de su uso. Por ejemplo, una forma farmacéutica usada en el tratamiento agudo de una enfermedad puede contener mayores cantidades de uno o más de los principios activos que una forma farmacéutica usada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. Igualmente, una forma farmacéutica parenteral puede contener menores cantidades de uno o más de los principios activos que una forma farmacéutica oral usada para tratar la misma enfermedad. Véase, p. ej., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed., Mack Publishing, Easton Pa. (1990).

El que un excipiente particular sea adecuado para la incorporación en una composición farmacéutica o forma farmacéutica proporcionada en la presente memoria, depende de una variedad de factores incluyendo, pero no limitado a la vía de administración. Por ejemplo, las formas farmacéuticas orales tales como comprimidos, pueden contener excipientes no adecuados para usar en formas farmacéuticas parenterales. La idoneidad de un excipiente particular también puede depender de los principios activos específicos en la forma farmacéutica. Por ejemplo, la descomposición de algunos principios activos se puede acelerar por algunos excipientes tales como lactosa, o cuando se exponen al agua. Los principios activos que comprenden aminas primarias o secundarias son particularmente susceptibles a dicha descomposición acelerada. Por consiguiente, la presente memoria abarca composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas que contienen poca lactosa, si es que contienen. Como se usa en la presente memoria, la expresión "exento de lactosa" significa que la cantidad de lactosa presente, si hay algo, es insuficiente para aumentar sustancialmente la velocidad de degradación de un principio activo.

Las composiciones exentas de lactosa proporcionadas en la presente memoria pueden comprender excipientes que se citan, por ejemplo en la Farmacopea de EE.UU. (USP) 25-NF20 (2002). En algunas realizaciones, las composiciones exentas de lactosa comprenden principios activos, un aglutinante/carga, y un lubricante en cantidades farmacéuticamente compatibles y farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, las formas farmacéuticas exentas de lactosa comprenden principios activos, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado, y estearato magnésico.

La presente memoria abarca además composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas anhidras que comprenden principios activos, puesto que el agua puede facilitar la degradación de algunos compuestos. Por ejemplo, la adición de agua (p. ej., 5%) es ampliamente aceptada en la técnica farmacéutica como un medio para simular el almacenamiento a largo plazo con el fin de determinar características tales como la semivida o la estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Véase, p. ej., Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2ª Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pág. 379-80. En efecto, el agua y el calor aceleran la descomposición de algunos compuestos. Por lo tanto, el efecto del agua en una formulación puede tener una gran importancia puesto que la humedad se encuentra habitualmente durante la fabricación, manipulación, envasado, almacenamiento, transporte y uso de las formulaciones.

Las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas anhidras proporcionadas en la presente memoria se pueden preparar usando ingredientes anhidros o con bajo contenido de humedad y condiciones de humedad baja. Las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas que comprenden lactosa y al menos un principio activo que comprende una amina primaria o secundaria, preferiblemente son anhidras si se espera un contacto sustancial con humedad durante la fabricación, envasado y/o almacenamiento.

Una composición farmacéutica anhidra debe prepararse y almacenarse de modo que se mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, en algunas realizaciones, se proporcionan en la presente memoria composiciones anhidras envasadas usando materiales para prevenir la exposición al agua, de modo que se puedan incluir en kits farmacéuticos adecuados. Los ejemplos de envasado adecuado incluyen, pero no se limitan a láminas, plásticos, envases de dosis unitarias (p. ej., viales), envases blíster y envase en tiras herméticamente cerrados.

La presente memoria abarca composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos que reducen la velocidad con la que se descompondrá el principio activo. Dichos compuestos, a los que se denomina en la presente memoria "estabilizantes", incluyen, pero no se limitan a antioxidantes tales como ácido ascórbico, tampones de pH o tampones salinos.

Al igual que las cantidades y tipos de excipientes, las cantidades y tipos específicos de principios activos en una forma farmacéutica pueden diferir dependiendo de factores tales como, pero no limitados a la vía por la que se van a administrar a los pacientes. En algunas realizaciones, las formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria comprenden el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 1000 mg, de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 50 mg. En algunas realizaciones, las formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria comprenden el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, en una cantidad de aproximadamente 0,1, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 5, aproximadamente 7.5, aproximadamente 10, aproximadamente 12,5, aproximadamente 15, aproximadamente 17,5, aproximadamente 20, aproximadamente 25, aproximadamente 50, aproximadamente 100, aproximadamente 150, o aproximadamente 200 mg.

5.7.1. Formas farmacéuticas orales

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria que son adecuadas para la administración oral, se formulan como formas farmacéuticas discretas, ejemplos de las cuales incluyen, pero no se limitan a comprimidos (p. ej., comprimidos masticables), comprimidos oblongos, cápsulas y líquidos (p. ej., jarabes aromatizados). Dichas formas farmacéuticas contienen cantidades predeterminadas de los principios activos y se pueden preparar por algunos métodos conocidos de farmacia. Véase, en general, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

En algunas realizaciones, las formas farmacéuticas orales proporcionadas en la presente memoria se preparan combinando los principios activos en una mezcla íntima con al menos un excipiente de acuerdo con técnicas de composición farmacéuticas convencionales. Los excipientes pueden tener una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Por ejemplo, los excipientes adecuados para usar en formas farmacéuticas orales líquidas o en aerosol incluyen, pero no se limitan a agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes, conservantes y agentes colorantes. Los ejemplos de excipientes adecuados para usar en las formas farmacéuticas sólidas orales (p. ej., polvos, comprimidos, cápsulas y comprimidos oblongos) incluyen, pero no se limitan a almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes y agentes disgregantes.

Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan las formas farmacéuticas unitarias orales más ventajosas, en cuyo caso se usan excipientes sólidos. Si se desea, los comprimidos se pueden recubrir por técnicas acuosas y no acuosas convencionales. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar por algunos métodos conocidos de farmacia. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas se preparan mediante mezcla uniforme e íntima de los principios activos con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después dando forma al producto en la presentación deseada si es necesario.

En algunas realizaciones, un comprimido se prepara por compresión o moldeo. En algunas realizaciones, los comprimidos por compresión se preparan comprimiendo en una máquina adecuada los principios activos en una forma fluida, p. e., polvo o gránulos, mezclados opcionalmente con un excipiente. En algunas realizaciones, los comprimidos moldeados se hacen por moldeo en una máquina adecuada de una mezcla de un compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Los ejemplos de excipientes que se pueden usar en formas farmacéuticas orales proporcionadas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a aglutinantes, cargas, disgregantes y lubricantes. Los aglutinantes adecuados para usar en las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a almidón de maíz, almidón de patata, u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, alginato sódico, ácido alginico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (p. ej., etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa de sodio), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmetilcelulosa (p. ej., nº 2208, 2906, 2910), celulosa microcristalina y mezclas de los mismos.

Las formas adecuadas de celulosa microcristalina incluyen, pero no se limitan a AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA), y mezclas de las mismas. Un aglutinante específico es una mezcla de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica (p. ej., AVICEL RC-581). Los excipientes o aditivos anhidros o con bajo contenido de humedad adecuados incluyen AVICEL-PH-103TM y almidón 1500 LM.

Los ejemplos de cargas adecuadas para usar en las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a talco, carbonato cálcico (p.ej., gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el aglutinante o carga en las composiciones

farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria, está presente de aproximadamente 50 a aproximadamente 99 por ciento en peso de la composición farmacéutica o forma farmacéutica.

5 Los disgregantes se usan en las composiciones proporcionadas en la presente memoria para proporcionar a los comprimidos la capacidad de disgregarse cuando se exponen a un entorno acuoso. Los comprimidos que contienen demasiado disgregante se pueden disgregar en el almacenamiento, mientras que los que contienen demasiado poco pueden no disgregarse a una velocidad deseada o en las condiciones deseadas. Por lo tanto, debe usarse una cantidad suficiente de disgregante que no sea ni demasiada ni demasiado poca para alterar perjudicialmente a la liberación de los principios activos, para formar las formas farmacéuticas sólidas orales proporcionadas en la presente memoria. La cantidad usada de disgregante varía basándose en el tipo de formulación. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria comprenden de 10 aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15 por ciento en peso, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso de disgregante.

15 Los disgregantes que son adecuados para usar en las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a agar-agar, ácido algínico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, polacrilina de potasio, glicolato sódico de almidón, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, otros almidones, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas y mezclas de los mismos.

20 Los lubricantes que son adecuados para usar en las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, laurilsulfato sódico, talco, aceite vegetal hidrogenado (p. ej., aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de cinc, oleato de etilo, laurato de etilo, agar y mezclas de los mismos. Lubricantes adicionales adecuados incluyen, pero no se limitan a un gel de sílice Syloid (AEROSIL200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD), un aerosol coagulado de sílice sintética (Degussa Co. de Plano, TX), CAB-O-SIL (un dióxido de silicio pirogénico, Cabot Co. de Boston, MA), y mezclas de 25 los mismos. En algunas realizaciones, los lubricantes, si se usan, se usan en una cantidad menor de aproximadamente 1 por ciento en peso de las composiciones farmacéuticas o formas farmacéuticas en las que están incorporados.

30 En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una forma farmacéutica sólida oral, que comprende el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y uno o más excipientes seleccionados de lactosa anhidra, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, ácido esteárico, sílice coloidal anhidra y gelatina.

35 En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una forma farmacéutica sólida oral, que comprende el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y lactosa anhidra, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, ácido esteárico, sílice coloidal anhidra y gelatina.

40 En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una forma farmacéutica sólida oral, que comprende una sal de hidrocioruro del compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o uno de sus solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y uno o más excipientes seleccionados de lactosa anhidra, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, ácido esteárico, sílice coloidal anhidra y gelatina.

45 En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una forma farmacéutica sólida oral, que comprende una sal de hidrocioruro del compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o uno de sus solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables; y lactosa anhidra, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, ácido esteárico, sílice coloidal anhidra y gelatina.

5.7.2. Formas farmacéuticas de liberación retardada

50 En algunas realizaciones, los principios activos proporcionados en la presente memoria se administran por medios de liberación controlada o por dispositivos de liberación. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a los descritos en las patentes de EE.UU. n°: 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; 4.008.719, 5.674.533, 5.059.595, 5.591.767, 5.120.548, 5.073.543, 5.639.476, 5.354.556, y 5.733.566, cada una de las cuales se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, dichas formas farmacéuticas se usan para proporcionar la liberación lenta o controlada de uno o más principios activos usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, otras matrices de polímeros, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, 55 recubrimientos de múltiples capas, micropartículas, liposomas, microesferas, o una combinación de los mismos, para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. La presente memoria abarca formas farmacéuticas unitarias individuales adecuadas para la administración oral, incluyendo, pero no limitado a

comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel, y comprimidos oblongos, que están adaptados para la liberación controlada.

5 Todos los productos farmacéuticos de liberación controlada tienen un objetivo común de mejora del tratamiento con el fármaco frente al logrado mediante sus homólogos no controlados. Idealmente, el uso de una preparación de liberación controlada de diseño óptimo en el tratamiento médico, se caracteriza por el uso de una cantidad mínima de fármaco para curar o controlar la afección en una cantidad de tiempo mínima. Las ventajas de las formulaciones de liberación controlada incluyen la actividad prolongada del fármaco, menor frecuencia de administración, y mayor observancia del paciente. Además las formulaciones de liberación controlada se pueden usar para afectar al tiempo de inicio de la acción u otras características, tales como los niveles del fármaco en la sangre, y por lo tanto, pueden 10 afectar a la aparición de efectos secundarios (p. ej., adversos).

15 La mayoría de las formulaciones de liberación controlada están diseñadas para liberar inicialmente una cantidad de fármaco (principio activo) que produce inmediatamente el efecto terapéutico deseado, y libera de forma gradual y continua otras cantidades del fármaco para mantener este nivel de efecto terapéutico o profiláctico a lo largo de un periodo de tiempo prolongado. Con el fin de mantener este nivel constante de fármaco en el cuerpo, el fármaco debe ser liberado de la forma farmacéutica a una velocidad que sustituya la cantidad de fármaco que está siendo metabolizada y excretada del cuerpo. La liberación controlada de un principio activo se puede estimular mediante diferentes condiciones que incluyen, pero no se limitan a pH, temperatura, enzimas, agua y otras condiciones fisiológicas o compuestos.

5.7.3. Formas farmacéuticas parenterales

20 Las formas farmacéuticas parenterales se pueden administrar a los pacientes mediante diferentes vías incluyendo, pero no limitado a la vía subcutánea, intravenosa (incluyendo inyección de bolo), intramuscular e intraarterial. Debido a que su administración típicamente evita las defensas naturales del paciente contra contaminantes, las formas farmacéuticas parenterales preferiblemente son estériles o pueden ser esterilizadas antes de la administración a un paciente. Los ejemplos de formas farmacéuticas parenterales incluyen, pero no se limitan a soluciones listas para 25 inyección, productos secos listos para ser disueltos o suspendidos en un vehículo para inyección farmacéuticamente aceptable, suspensiones listas para inyección y emulsiones.

30 Algunos vehículos que se pueden usar para proporcionar las formas farmacéuticas parenterales proporcionados en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a: agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero no limitado a inyección cloruro sódico, inyección Ringer, inyección dextrosa, inyección dextrosa y cloruro sódico, inyección Ringer lactato; vehículos miscibles con agua tales como, pero no limitados a alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; vehículos no acuosos tales como, pero no limitados a aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

35 Los compuestos que aumentan la solubilidad de uno o más de los principios activos descritos en la presente memoria también se pueden incorporar en formas farmacéuticas parenterales proporcionadas en la presente memoria. Por ejemplo, se puede usar ciclodextrina y sus derivados para aumentar la solubilidad de un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables. Véase, p. ej., la patente de EE.UU. n° 5.134.127, cuya descripción se incorpora en la presente memoria por referencia en su totalidad.

40 5.7.4. Formas farmacéuticas tópicas y a través de mucosa

45 Las formas farmacéuticas tópicas y a través de mucosa proporcionadas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a pulverizadores, aerosoles, soluciones, emulsiones, suspensiones, gotas oculares u otras preparaciones oftálmicas, u otras formas conocidas para el experto en la técnica. Véase, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª y 18ª eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 y 1990); e *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4ª ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985). Las formas farmacéuticas adecuadas para tratar los tejidos de la mucosa dentro de la cavidad oral se pueden formular como lavados bucales o como geles orales.

50 Los excipientes adecuados (p. ej., vehículos y diluyentes) y otros materiales que se pueden usar para proporcionar las formas farmacéuticas tópicas y a través de mucosa que abarca la presente memoria, dependen del tejido particular al que se aplique una composición farmacéutica o forma farmacéutica dada. Teniendo esto en cuenta, en algunas realizaciones, los excipientes incluyen, pero no se limitan a agua, acetona, etanol, etilenglicol, propilenglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral, y mezclas de los mismos, para formar soluciones, emulsiones o geles, que no son tóxicos y son farmacéuticamente aceptables. También se pueden añadir humectantes o hidratantes a las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas si se desea. Se pueden encontrar ejemplos adicionales de dichos ingredientes p. ej., en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16ª y 18ª 55 eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 y 1990).

El pH de una composición farmacéutica o forma farmacéutica también se puede ajustar para mejorar el suministro de uno o más principios activos. Igualmente, se pueden ajustar la polaridad de un vehículo disolvente, su fuerza

iónica o tonicidad para mejorar el suministro. Los compuestos tales como estearatos también se pueden añadir a las composiciones farmacéuticas o formas farmacéuticas para alterar ventajosamente la hidrofiliidad o lipofiliidad de uno o más principios activos para así mejorar el suministro. En relación con esto, los estearatos pueden servir como un vehículo lipídico para la formulación, como un agente emulsionante o tensioactivo y como un agente potenciador del suministro o potenciador de la penetración. Se pueden usar diferentes sales, hidratos o solvatos de los principios activos para ajustar más las propiedades de la composición resultante.

5.7.5. Kits

En algunas realizaciones, los principios activos proporcionados en la presente memoria no se administran a un paciente al mismo tiempo o por la misma vía de administración. Por lo tanto, la presente memoria abarca kits que, cuando los usa el médico, pueden simplificar la administración de cantidades adecuadas de los principios activos al paciente.

En algunas realizaciones, un kit proporcionado en la presente memoria comprende una forma farmacéutica de un compuesto proporcionado en la presente memoria, p. ej., el compuesto de fórmula I, o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrystalos, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el kit proporcionado en la presente memoria comprende además principios activos adicionales, tales como oblimersen (GÉNAESESE®), melfalán, G-CSF, GM-CSF, EPO, topotecán, dacarbazina, irinotecán, taxotere, IFN, inhibidor de COX-2, pentoxifilina, ciprofloxacina, dexametasona, IL2, IL8, IL18, Ara-C, vinorelbina, isotretinoína, ácido 13-cis-retinoico, o un mutante o derivado de los mismos farmacológicamente activo, o una combinación de los mismos. Los ejemplos de los principios activos adicionales incluyen, pero no se limitan a los descritos en la presente memoria (véase, p. ej., sección 4.3).

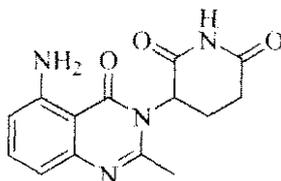
En algunas realizaciones, el kit proporcionado en la presente memoria comprende un dispositivo que se usa para administrar los principios activos. Los ejemplos de dichos dispositivos incluyen, pero no se limitan a jeringas, bolsas de goteo, parches e inhaladores.

En algunas realizaciones, el kit proporcionado en la presente memoria comprende además células o sangre para trasplante, así como vehículos farmacéuticamente aceptables que se pueden usar para administrar uno o más principios activos. Por ejemplo, si un principio activo se proporciona en una forma sólida, debe reconstituirse para la administración parenteral, el kit puede comprender un envase sellado de un vehículo adecuado en el que se puede disolver el principio activo para formar una solución estéril sin partículas que es adecuada para la administración parenteral. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a: agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero no limitado a inyección cloruro sódico, inyección Ringer, inyección dextrosa, inyección dextrosa y cloruro sódico, inyección Ringer lactato; vehículos miscibles con agua tales como, pero no limitados a alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como, pero no limitados a aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

35 6. Ejemplos

Algunas realizaciones de la invención se ilustran mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

6.1 Preparación de 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona



Etapa 1: A una solución de hidróxido potásico (16,1 g, 286 mmol) en agua (500 ml), se añadió 3-nitroftalimida (25,0 g, 130 mmol) en una porción a 0°C. La suspensión se agitó a 0°C durante 3 h y después se calentó a 30°C durante 3 h. A la solución se añadió HCl (100 ml, 6 N). La suspensión resultante se enfrió a 0°C durante 1 h. La suspensión se filtró y se lavó con agua fría (2 x10 ml) para dar el ácido 3-nitro-ftalámico en forma de un sólido blanco (24,6 g, 90% de rendimiento): RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 7,69 (s ancho, 1H, NHH), 7,74 (t, J=8 Hz, 1H, Ar), 7,92 (dd, J=1, 8 Hz, 1H, Ar), 8,13 (dd, J=1, 8 Hz, 1H, Ar), 8,15 (s ancho, 1H, NHH), 13,59 (s, 1H, OH); RMN ¹³C (DMSO-d₆) δ 125,33, 129,15, 130,25, 132,54, 136,72, 147,03, 165,90, 167,31.

Etapa 2: A una mezcla de ácido 3-nitro-ftalámico (24,6 g, 117 mmol) e hidróxido potásico (6,56 g, 117 mmol) en agua (118 ml), se añadió una mezcla de bromo (6 ml), hidróxido potásico (13,2 g, 234 mmol) en agua (240 ml) a 0°C, seguido de la adición de hidróxido potásico (19,8 g, 351 mmol) en agua (350 ml). Después de 5 min a 0°C, la mezcla se calentó en un baño de aceite a 100°C durante 1 h. La solución de la reacción se enfrió a temperatura ambiente y después en un baño de hielo-agua durante 30 min. A la mezcla se añadió gota a gota una solución de HCl (240 ml, 2

N) a 0°C, y la mezcla resultante se mantuvo durante 1 h. La suspensión se filtró y se lavó con agua (5 ml) para dar el ácido 2-amino-6-nitro-benzoico en forma de un sólido amarillo (15,6 g, 73% de rendimiento): HPLC: Waters Symmetry C₁₈, 5 µm, 3,9 x150 mm, 1 ml/min, 240 nm, CH₃CN/H₃PO₄ al 0,1%, gradiente de 5% a 95% en 5 min, 5,83 min (85%); RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 6,90 (dd, J=1, 8 Hz, 1H, Ar), 7,01 (dd, J=1, 9 Hz, 1H, Ar), 7,31 (t, J=8 Hz, 1H, Ar), 8,5-9,5 (s ancho, 3H, OH, NH₂); RMN ¹³C (DMSO-d₆) δ 105,58, 110,14, 120,07, 131,74, 149,80, 151,36, 166,30; LCMS: MH=183.

Etapa 3: Una mezcla de ácido 2-amino-6-nitro-benzoico (1,5 g, 8,2 mmol) en anhídrido acético (15 ml) se calentó a 200°C durante 30 minutos en un horno microondas. La mezcla se filtró y se lavó con acetato de etilo (20 ml). El filtrado se concentró a vacío. El sólido se agitó con éter (20 ml) durante 2 h. La suspensión se filtró y se lavó con éter (20 ml) para dar la 2-metil-5-nitro-benzo[d][1,3]oxazin-4-ona en forma de un sólido marrón claro (1,4 g, 85% de rendimiento): HPLC: Waters Symmetry C₁₈, 5 µm, 3,9 x150 mm, 1 ml/min, 240 nm, CH₃CN/H₃PO₄ al 0,1%, gradiente de 5% a 95% en 5 min, 5,36 min (92%); RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 2,42 (s, 3H, CH.sub,3), 7,79 (dd, J=1, 8 Hz, 1H, Ar), 7,93 (dd, J=1, 8 Hz, 1H, Ar), 8,06 (t, J=8 Hz, 1H, Ar); RMN ¹³C (DMSO-d₆) δ 20,87, 107,79, 121,54, 128,87, 137,19, 147,12, 148,46, 155,18, 161,78; LCMS: MH=207.

Etapa 4: Dos viales, cada uno con una suspensión de 5-nitro-2-metil-benzo[d][1,3]oxazin-4-ona (0,60 g, 2,91 mmol) y 3-amino-piperidina-2,6-diona - cloruro de hidrógeno (0,48 g, 2,91 mmol) en piridina (15 ml) se calentaron a 170°C durante 10 minutos en un horno de microondas. La suspensión se filtró y se lavó con piridina (5 ml). El filtrado se concentró a vacío. La mezcla resultante se agitó en HCl (30 ml, 1 N), acetato de etilo (15 ml) y éter (15 ml) durante 2 h. La suspensión se filtró y se lavó con agua (30 ml) y acetato de etilo (30 ml) para dar un sólido marrón oscuro, que se agitó con metanol (50 ml) a temperatura ambiente durante la noche. La suspensión se filtró y se lavó con metanol para dar la 3-(2-metil-5-nitro-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en forma de un sólido negro (490 mg, 27% de rendimiento). El sólido se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

Etapa 5: Una mezcla de 3-(2-metil-5-nitro-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona (250 mg) y Pd(OH)₂ en carbón (110 mg) en DMF (40 ml) se agitó en atmósfera de hidrógeno (3,5 kg/cm² (50 psi)) durante 12 h. La suspensión se filtró a través de una almohadilla de Celite y se lavó con DMF (10 ml). El filtrado se concentró a vacío y el aceite resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, metanol/cloruro de metileno) para dar la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en forma de un sólido blanco (156 mg, 69% de rendimiento): HPLC: Waters Symmetry C₁₈, 5 µm, 3,9 x150 mm, 1 ml/min, 240 nm, CH₃CN/H₃PO₄ al 0,1%, 10/90, 3,52 min (99,9%); P.f.: 293-295°C; RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 2,10-2,17 (m, 1H, CHH), 2,53 (s, 3H, CH₃), 2,59-2,69 (m, 2H, CH₂), 2,76-2,89 (m, 1H, CHH), 5,14 (dd, J=6, 11 Hz, 1H, NCH), 6,56 (d, J=8 Hz, 1H, Ar), 6,59 (d, J=8 Hz, 1H, Ar), 7,02 (s, 2H, NH₂), 7,36 (t, J=8 Hz, 1H, Ar), 10,98 (s, 1H, NH); RMN ¹³C (DMSO-d₆) δ 20,98, 23,14, 30,52, 55,92, 104,15, 110,48, 111,37, 134,92, 148,17, 150,55, 153,62, 162,59, 169,65, 172,57; LCMS: MH=287; Anal. Calc. para C₁₄H₁₄N₄O₃+0,3H₂O: C, 57,65; H, 5,05; N, 19,21. Encontrado: C, 57,50; H, 4,73; N, 19,00.

6.2. Ensayos

6.2.1. Ensayo de inhibición de TNFα en CMSP

Se obtienen células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de donantes normales mediante centrifugación por densidad con Ficoll Hypaque (Pharmacia, Piscataway, NJ, EE.UU.). Las células se cultivaron en RPMI 1640 (Life Technologies, Grand Island, NY, EE.UU.) complementado con suero humano AB+ al 10% (Gemini Bio-products, Woodland, CA, EE.UU.), L-glutamina 2 mM, penicilina 100 U/ml, y estreptomycin 100 µg/ml (Life Technologies).

Las CMSP (2 x 10⁵ células) se sembraron en placas de cultivo tisular Costar de fondo plano de 96 pocillos (Corning, NY, EE.UU.) por triplicado. Las células se estimularon con LPS (de *Salmonella abortus equi*, Sigma nº de cat. L-1887, St. Louis, MO, EE.UU.) con 1 ng/ml final en ausencia o presencia de los compuestos a ensayar. Los compuestos se disolvieron en DMSO (Sigma) y se hicieron diluciones adicionales en medio de cultivo inmediatamente antes de usar. La concentración final de DMSO en todos los ensayos era aproximadamente 0,25%. Los compuestos se añadieron a las células 1 h antes de la estimulación con LPS. Las células después se incubaron durante 18-20 h a 37°C en CO₂ al 5% y después se recogieron los líquidos sobrenadantes, se diluyeron con medio de cultivo y se ensayaron los niveles de TNFα por ELISA (Endogen, Boston, MA, EE.UU.). Los valores de la CI₅₀ se calcularon usando regresión no lineal, dosis-respuesta sigmoidea, ajustando por arriba a 100% y por abajo a 0%, permitiendo pendiente variable (GraphPad Prism v3.02).

6.2.2. Inhibición de la proliferación de células de MM

La capacidad de los compuestos para realizar la proliferación de líneas celulares de MM se investigó en un estudio in vitro. Se midió la absorción de [³H]-timidina por células de MM H929 y la absorción de 7-AAD en varias líneas celulares de MM (H929, U266B1, Anbl-6, KMS-34, OPM-2, DF-15, DF15/R, CAG, MM1.S y LP-1) como un indicador de la proliferación celular. Las células se incubaron en presencia de compuestos durante 72 horas (la [³H]-timidina se incluyó durante las últimas 6 horas del periodo de incubación) o 5 días seguido de la absorción de 7-AAD para medir y contar células viables.

6.2.3. Producción de citoquinas por células T

Se aislaron células T de la capa leucocitaria por selección negativa usando el cóctel de enriquecimiento de células T RosetteSep[®]. Se siguieron los procedimientos del fabricante. Todas las placas de 96 pocillos se recubrieron previamente con anticuerpo anti-CD3 humano 3 µg/ml en 100 µl de 1X PBS durante 4 h a 37°C. Las placas se lavaron 3 veces con medio completo RPMI-1640 antes del ensayo de células T. Después las células T se sembraron en placas previamente recubiertas con CD3 con una densidad de $2,5 \times 10^5$ células/pocillo en 180 µl de medio completo RPMI-1640. Las células se trataron con 20 µl de 10X compuestos valorados a 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 0,0001 y 0,00001 µM. La concentración final de DMSO era 0,25%. Las placas se incubaron durante 48 horas a 37°C, 5% de CO₂. Después de 48 horas, se recogieron los líquidos sobrenadantes y se ensayaron mediante ensayo multiplexado de citometría de matriz de perlas (CBA), las siguientes citoquinas/quimioquinas: IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17a, GM-CSF, G-SCF, IFN-γ, TNF-α y RANTES. Las placas de CBA se analizaron en el instrumento Luminex IS100.

Los niveles de citoquina se normalizaron a la cantidad producida en presencia de la cantidad de un compuesto ensayado, y se calcularon los valores de CE₅₀ usando regresión no lineal, dosis-respuesta sigmoidea, ajustando por arriba a 100% y por abajo a 0%, permitiendo pendiente variable (GraphPad Prism v3.02).

15 Ensayo de células T humanas estimuladas con anticuerpo anti-CD3

Todas las placas de 96 pocillos se recubrieron previamente con anticuerpo anti-CD3 humano 3 µg/ml en 100 µl de 1X PBS durante 4 h a 37°C. Las placas se lavaron 3 veces con medio completo RPMI-1640 antes del ensayo de células T. Después las células T se sembraron en placas previamente recubiertas con anticuerpo anti-CD3 con una densidad de $2,5 \times 10^5$ células/pocillo en 180 µl de medio completo RPMI-1640. Las células se trataron con 20 µl de 10X compuestos Celgene valorados a 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 0,0001 y 0,00001 µM por duplicado. La concentración final de DMSO era 0,25%. Las placas se incubaron durante 48 horas a 37°C, 5% de CO₂. Después de 48 horas, se recogieron los líquidos sobrenadantes y se ensayaron mediante ensayo multiplexado de citometría de matriz de perlas (CBA), las siguientes citoquinas/quimioquinas: IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17a, GM-CSF, G-SCF, IFN-γ, TNF-α y RANTES. Las placas de CBA se analizaron en el instrumento Luminex IS100.

25 6.2.4. Ensayo de citotoxicidad

Las líneas celulares Farage, DOHH2 y Rec-1 se obtuvieron de la American Type Culture Collection (Manassas, VA, EE.UU.). Los ensayos de citotoxicidad se midieron en ensayos de producción de ATP de 3 días como sigue:

Las células se sembraron en placas TC de 96 pocillos de fondo negro/transparente (BD Falcon, n° cat. 353948) con 3000 células/75 µl (para células DoHH-2 y Farage) o 6000 células/75 µl (para células Rec-1). Se prepararon soluciones madre (40X) de los compuestos en DMSO y se prepararon soluciones 4X diluyendo las soluciones madre 40X 1:10 con DMSO al 1% en medio de cultivo. En cada pocillo de la placa de ensayo, se añadieron 25 µl del compuesto de fórmula I en DMSO al 1% a las células por triplicado, de modo que el volumen final era 100 µl y la [DMSO] final era 0,25%. Después las placas sellaron con películas de sellado transpirables (ISC BioExpress, n° cat T-2421-50) y se pusieron en un incubador humidificado a 37°C, 5% de CO₂ durante 72 horas. Además, se sembraron células en una placa separada de la misma forma que antes, se añadieron 25 µl de medio en DMSO al 1% a cada pocillo. Esta placa se analizó inmediatamente en el ensayo de viabilidad celular CellTiter-Glo Luminescent (Promega, n° cat. G7572) como tiempo de medición 0, y los resultados se usaron para calcular la CI₅₀ en los experimentos de células Farage y DOHH-2.

Después de 72 horas de incubación, se añadieron 100 µl de reactivo CellTiter-Glo a cada pocillo y se incubaron a temperatura ambiente con agitación suave durante 30 min. Después se analizó la luminiscencia de las placas en un lector TopCount NXT Reader (Packard). Cada pocillo se contó durante 1 segundo. Se promediaron los valores para los pocillos por duplicado y después se compararon con el control de DMSO en el tiempo de medición 0 (0% de inhibición) para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento celular. Los valores medios de CI₅₀ de DOHH-2 y valores de CI₅₀ de Farage se calcularon a partir de 3 experimentos. Los valores de CI₅₀ de Rec-1 se calcularon a partir de dos experimentos.

6.2.5. Análisis del ciclo celular

Las células se trataron con DMSO o una cantidad de un compuesto proporcionado en la presente memoria durante 48 h. Se llevó a cabo la tinción con yoduro de propidio para el ciclo celular usando CycleTEST PLUS (Becton Dickinson) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de tinción, las células se analizaron por un citómetro de flujo FACSCalibur usando el programa ModFit LT (Becton Dickinson).

6.2.6. Análisis de la apoptosis

Las células se trataron con DMSO o una cantidad de un compuesto proporcionado en la presente memoria en diferentes puntos de medición, después se lavaron con tampón de anexina-V (BD Biosciences). Las células se incubaron con proteína de unión anexina-V y yoduro de propidio (BD Biosciences) durante 10 min. Las muestras se analizaron usando citometría de flujo.

6.2.7. Análisis de células NK

5 Placas de fondo plano de 96 pocillos se recubrieron con IgG humana 100 µg/ml (Sigma) durante la noche a 4°C. Al día siguiente, la IgG no unida se separó por lavado con 1X PBS frío. Después se sembraron células NK en las placas de 96 pocillos recubiertas con IgG con 2×10^5 células por pocillo en 180 µl de medio RPMI-1640 y se añadieron 10 ng/ml de rIL-2 (R & D Systems, MN). Los compuestos de ensayo se añadieron en un volumen de 20 µl de DMSO. Las concentraciones finales de los compuestos de ensayo eran 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 1, o 10 µM. Las concentraciones finales de DMSO eran 0,25%. Después de 48 horas, los líquidos sobrenadantes se recogieron y se analizó la producción de IFN-γ por ELISA.

6.2.8. Resultados

10 Las actividades biológicas del compuesto de fórmula I se resumen en las tablas 1 a 5. En el ensayo de células T humanas estimuladas con anticuerpo anti-CD3 descrito antes, el compuesto de fórmula I potenciaba la producción de IL-2, IL-3, IL-5, IL-10, IL-15, GM-CSF, INF-γ, RANTES, y TNF-α en concentraciones de 0,01 a 10 µM. La potenciación de IL-2, IL-3, IL-13, GM-CSF, TNF-α, y RANTES por el compuesto dependía de la concentración. Con una concentración 0,1 µM del compuesto de fórmula I, la producción de IL-2 e IL-13 se potenció en niveles 14x y 7x los de las células de control, respectivamente. Con una concentración 1 µM del compuesto de fórmula I, la producción de IL-2 e IL-13 se potenció en niveles 17x y 8x los de las células de control, respectivamente. El compuesto potenció la producción de IL-10 2 veces en concentraciones bajas ($\leq 0,01$ µM) pero inhibió la producción de IL-10 en concentraciones 1 y 10 µM. El compuesto aumentó la producción de IL-5 3 y 4 veces en concentraciones 0,01 y 0,1 µM, respectivamente, mostrando menos potenciación tanto a las concentraciones más bajas como las más altas.

20 Además, se observó que en un ensayo de arteria umbilical humana, el compuesto de fórmula I era un potente agente antiangiogénico con una CI_{50} de 9,4 nM; y el compuesto de fórmula I no inhibía la proliferación de HUVEC.

En un ensayo de angiogénesis en ratón Matrigel™, se observó que el compuesto de fórmula I inhibía significativamente el crecimiento de vasos sanguíneos a 30 mg/kg y presentaba una inhibición de la angiogénesis dependiente de la dosis.

25 Se observó que el compuesto de fórmula I inducía la detención en G1 en DoHH2 y WSU-DLCL2. También se observó que, en ensayos de proliferación, el compuesto de fórmula I actuaba de forma sinérgica con Rituxan, calculado usando el método de Chou-Talalay.

30 En un modelo de xenoinjerto de DoHH2, se observó que el compuesto de fórmula I inhibía el crecimiento tumoral y que la combinación del compuesto de fórmula I con Rituxan retrasaba significativamente el tiempo para el criterio de valoración tumoral (63%) con dosis de 30 mg/kg. Se observó inhibición del crecimiento tumoral con 3 y 30 mg/kg del compuesto de fórmula I en combinación con Rituxan (1 mg/kg), de 45% y 55% el día 12, respectivamente. También se observó que el compuesto de fórmula I inhibía significativamente los recuentos de vasos sanguíneos en el tumor.

35 En un modelo de xenoinjerto de WSU-DLCL2, la combinación del compuesto de fórmula I con Rituxan (2 mg/kg iv 1 vez por semana) dio regresiones completas de 60% y 90% (volumen tumoral $<25 \text{ mm}^3$) con 3 y 30 mg, respectivamente.

En un modelo de xenoinjerto de NCI-H929 MM, el compuesto de fórmula I inhibía el crecimiento tumoral de H929 de una forma dependiente de la dosis. El día 19, el compuesto mostraba 93% de inhibición del crecimiento tumoral con 30 mg/kg, 73% de inhibición del crecimiento tumoral con 3 mg/kg, y 59% de inhibición del crecimiento tumoral con 0,3 mg/kg.

40 En un modelo de xenoinjerto de U87 GB, se observó inhibición del volumen tumoral dependiente de la dosis. El compuesto de fórmula I inhibía significativamente el crecimiento tumoral de U87 con 3 y 30 mg/kg 1 vez por semana.

Tabla 1. Actividades in vitro

Ensayo	CI_{50} o CE_{50} (µM)
PBMC TNFα	0,063 ^a
WB TNFα	0,164 ^a
TNFα inducido por LPS	0,017 ^a
células T IL-2	0,012-0,014 ^c
REC1 (MCL)	0,47 ^a
DoHH2 (FL)	0,61 ^b
Farage (GCB-DLBCL)	0,70 ^d
Angiogénesis humana	0,0094 ^a
células NK IFNγ	0,0015 ^c
Proliferación de células B	0,015 ^c
células B IgG	0,061 ^a
Colonias de MK inmaduras	$>10^a$
Colonias de MK intermedias	$>10^a$

a = CI₅₀, b = GIC₅₀, c = CE₅₀

Tabla 2. Actividades in vitro (Ensayo de incorporación de ³H-timidina de 5 días)

		CI ₅₀ (µM)
Subtipo ABC	OCI-Ly10	0,0085
	U2932	0,11-0,12
	TMD8	0,44
	RIVA	4,3
PMBL	Karpas-1106P	0,58 - 0,71
Subtipo GCB	WSU-DLCL2	0,79 - 2,1
	SUDHL4	>10
	OCI-Ly19	>10

Tabla 3. Actividad del compuesto de fórmula I contra líneas celulares resistentes a la lenalidomida (CI₅₀ (µM))

	H929	D1	1051	1052	1053	1054
Lenalidomida (n=3)	12,64	No CI ₅₀				
Comp. de fórmula I (n=3)	0,1539	0,3092	2,974	4,238	2,099	6,593

5

Tabla 4. Efecto del compuesto de fórmula I en la expresión de la proteína HIF-1α en células de tumores sólidos

Líneas de células de cáncer		% de inhibición con (1 µM)
Cáncer de mama	MCF-7	74,82%
Cáncer colorrectal	HCT116	74,60%
	HT29	78,54%
	HCT15	69,26%
Cáncer de ovario	Skov-3	100,00%
	Ovcar-3	63,39%
Cáncer de próstata	DU145	66,01%
Cáncer pancreático	Miapaca-3	33,72%
Cáncer renal	786-0	41,70%
Cáncer cerebral	U87	73,81%

Tabla 5. Actividad antiproliferativa del compuesto de fórmula I en líneas de células de DLBCL

Compuesto de fórmula I	Correlación con la actividad antiproliferativa (100 nM)	Análisis estadístico	
Puntuaciones ABC Oncomine™ ABC	Correlacionado	P < 0,05	r ² = 0,48
Puntuaciones NFκB Oncomine™	No correlacionado	P > 0,05	r ² = 0,35
Actividad base de subunidad p50 de NFκB	Correlacionado	P < 0,005	r ² = 0,60
Actividad base de subunidad p65 de NFκB	Correlacionado	P < 0,01	r ² = 0,65
Expresión base del gen de IRF4	Correlacionado	P < 0,05	r ² = 0,47
Expresión base del gen de SPIB	No correlacionado	P > 0,05	r ² = 0,027
Expresión base del gen de ciclina D1	No correlacionado	P > 0,05	r ² = 0,21
Expresión base del gen de A20	No correlacionado	P > 0,05	r ² = 0,044
Expresión base del gen de CARD 11	Correlacionado	P < 0,05	r ² = 0,54
Expresión base del gen de CRBN	Correlacionado	P < 0,05	r ² = 0,45

10 6.3. Farmacocinética

Se observó que el compuesto de fórmula I tenía un t_{1/2} de 230 min en el plasma humano. Los parámetros farmacocinéticos orales en ratón, rata y mono se resumen en las tablas 5 a 7. Las exposiciones (AUC₍₀₋₁₎) del compuesto de fórmula I aumentaron de una forma proporcional a la dosis hasta 30 mg/kg en ratones SCID, rata CD-IDS, y mono macho. El compuesto de fórmula I no inhibía ninguna de las células progenitoras de megacariocitos con concentración 10 µM.

15

Tabla 6. Farmacocinética oral

	Ratón SCID	Rata SD	Mono cyno.
Dosis (mg/kg)	3 vía oral	30 vía oral	3 vía oral
C _{máx} (ng/ml (µM))	2900 (10)	4800 (17)	3300 (11)
AUC (ng-h/ml (µM-h))	7100 (25)	25000 (87)	12000 (43)
T _{1/2} (h)		2,7	5,8
CLp (ml/min/kg)		11	1,2
F (%)		53	32

Tabla 7. Perfiles PK en monos macho

Dosis (mg/kg)	C _{máx} (ng/ml)	AUC _{0-t} (ng*h/ml)
0,3	100 (0,36 µM)	1300 (4,5 µM-h)
3	1100 (3,8 µM)	14000 (49 µM-h)
10	3100 (11 µM)	38000 (130 µM-h)
30	7700 (27 µM)	99000 (350 µM-h)

Tabla 8. Farmacocinética en monos el día 1

Dosis (mg/kg)	T _{máx} (h)	C _{máx} (ng/ml)	AUC ₀₋₂₄ (ng*h/ml)
0,15	2 a 4 (m ^a)	36 (m)	430 (m)
	2 (h ^b)	63 (h)	450 (h)
1,5	2 a 4 (m)	510 (m)	4600 (m)
	2 (h)	680 (h)	4100 (h)
15	4 (m)	4100 (m)	51000 (m)
	2 a 4 (h)	4200 (h)	38000 (h)

5 a. m: macho; b. h: hembra.

Tabla 9. Farmacocinética en monos el día 27

Dosis (mg/kg)	T _{máx} (h)	C _{máx} (ng/ml)	AUC ₀₋₂₄ (ng*h/ml)
0,15	4 (m ^a)	53 (m)	570 (m)
	2 a 4 (h ^b)	57 (h)	450 (h)
1,5	2 (m)	560 (m)	5700 (m)
	0,5 a 2 (h)	590 (h)	4200 (h)
15	2 a 4 (m)	5800 (m)	72000 (m)
	4 (h)	7000 (h)	75000 (h)

a. m: macho; b. h: hembra.

10 La administración oral del compuesto de fórmula I de 100, 300 y 10000 mg/kg/día durante 7 días consecutivos en el modelo de rata CD-IGS en general produjo aumentos de exposición casi proporcionales a la dosis. Se determinó que el NOAEL era 1000 mg/kg/día.

6.4. Ensayo de incorporación de timidina en células de DLBCL in vitro

15 Se ensayó en un panel de líneas de células de DLBCL de diferentes características citogenéticas, su sensibilidad a la actividad antiproliferativa del compuesto de fórmula I (figura 2). Las células se trataron con el compuesto de fórmula I durante 5 días a 37°C; la proliferación de las células se determinó usando el método de incorporación de ³H-timidina. Los resultados de 3 experimentos independientes (media ± DE) se muestran en la figura 2. El compuesto empezando con 0,1 - 1 µM inhibía significativamente (p<0,05) la proliferación de varias líneas de células de DLBCL, en particular células de subtipo ABC tales como células Riva, U2932, TMD8, OCI-Ly3 y OCI-Ly10. Las células de subtipo ABC aparecen más sensibles al efecto antiproliferativo que otros subtipos de células incluyendo células GCB-DLBCL y PMBL.

20 6.5. Efecto inhibitor en la actividad de NFκB en células de DLBCL

25 Células de DLBCL se trataron con el compuesto de fórmula I o un inhibidor doble IKK1/2 (usado como un control inhibitor positivo) durante 2 días. Se examinó la actividad del NFκB con ensayo de factor de transcripción Active Motif usando extractos nucleares de las células después del tratamiento. Los resultados se muestran en la figura 1 (media ± DE). El compuesto de fórmula I inhibe significativamente la actividad de p65 y p50 del NFκB con concentraciones 0,1 µM, 1 µM y 10 µM. Se encontró que el compuesto de fórmula I inhibía la actividad de NFκB en algunas líneas de DLBCL del subtipo ABC, tales como células U2932 y OCI-Ly10. Estos resultados sugieren que puede estar implicado un efecto en la transducción de señales de NFκB en la actividad antiproliferativa del compuesto de fórmula I contra células ABC-DLBCL, y que la actividad base del NFκB puede ser un biomarcador predictivo de la respuesta tumoral del linfoma a la terapia con el compuesto.

6.6. Modelo de xenoinjerto de ratón in vivo para el subtipo de células OCI-Ly10

La eficacia del compuesto de fórmula I contra el subtipo de células OCI-Ly10 se investiga en un modelo de xenoinjerto de ratón in vivo. Se inyectaron en ratones SCID CB17 hembra de 6 a 12 semanas de edad aproximadamente 0,2 ml/ratón de células tumorales OCI-Ly10 1×10^7 en Matrigel 100%, subcutáneo en el constado. El tratamiento con el compuesto de fórmula I empieza una vez que el tumor alcanza un tamaño medio de 100 a 150 mg. El peso corporal se mide 5/2 y después cada 2 semanas hasta el final del estudio. La medición con calibre del tumor se realiza cada dos semanas. El criterio de valoración del estudio es el retraso del crecimiento tumoral (TGD). Se calcula el porcentaje de TGD. Los animales se controlan individualmente. El criterio de valoración del estudio es un volumen tumoral de aproximadamente 1000 m³ o 60 días, lo que llegue primero. Los que responden al tratamiento se pueden seguir durante más tiempo.

Recogida de tumor: los tumores se recogen en entorno exento de ARNasa (dividido en 3 partes). La parte 1 se conserva mediante congelación instantánea en forma de polvo para el futuro análisis de proteínas, condiciones de transporte -80°C. La parte 2 se conserva en ARN, después se realiza la congelación instantánea, condiciones de transporte -80°C La parte 3 se conserva en formalina durante 24 horas, después etanol al 70%, se transporta a temperatura ambiente a PAI para la inserción en parafina. El plan de tratamiento se muestra a continuación.

Grupo	N	Agente	mg/kg	Vía	Régimen
1	10	vehículo 1	-	oral	1 vez al día x 28
2	10	Compuesto de fórmula I	3	oral	1 vez al día x 28
3	10	Compuesto de fórmula I	10	oral	1 vez al día x 28
4	10	Compuesto de fórmula I	30	oral	1 vez al día x 28
5	10	Vincristina	1	intravenosa	1 vez cada 4 días x 28

6.7. Modelos de mieloma múltiple

Se evaluó la capacidad de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona para inhibir el crecimiento de células de cáncer en una serie de líneas de células de mieloma múltiple (MM) usando métodos in vitro e in vivo (figuras 5A y 5B). Se mostró que la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona inhibía la proliferación de células de MM en una serie de líneas celulares (figuras 5A, 5B y 6). Por ejemplo, se demostró el efecto antiproliferativo de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona en un modelo de xenoinjerto N929 (fig. 6).

6.8. Modelos de cereblon en células de ABC-DLBCL, mieloma múltiple y cáncer colorrectal

Se estudió el efecto de la proteína cereblon (CRBN) en la eficacia del compuesto de fórmula I para inhibir la proliferación, el avance del ciclo celular y/o la invasión de células de varias líneas de cáncer. Se encontró que el compuesto de fórmula I interacciona con el CRBN del mieloma endógeno y de una forma dependiente de la dosis. El compuesto de fórmula I también interacciona con CRBN de HepG2 HCC de una forma dependiente de la dosis. Además, se encontró que el compuesto de fórmula I inhibía la ubiquitinación del CRBN con una CI₅₀ de 208,7 μM.

Modelo de células de ABC-DLBCL

Se encontró que la expresión de cereblon modulaba la eficacia del compuesto de fórmula I contra la proliferación de líneas celulares de ABC-DLBCL (fig. 7A-7C). El cereblon era necesario para la inhibición de cada uno de: expresión de IRF4, actividad de NFκB y proliferación celular.

Modelos de células de mieloma

Se evaluó el efecto de cereblon en las células de mieloma H929. Las células H929 se transfectaron con ARNip de control simulado, negativo, y CRBN-ARNip-7 durante 24, 48, 72 y 96 horas. Las células se trataron 24 h después de transfección con DMSO (0,1%) o el compuesto de fórmula I durante 1, 2, 3 días y se investigó el efecto en el ciclo celular y la proliferación. El compuesto de fórmula I inducía un retraso en el avance del ciclo celular, medido como la disminución del número de células en fase S, en células transfectadas con ARNip simulado de control y de control negativo, después de 72 h de tratamiento (fig. 8). La inactivación génica de CRBN anuló notablemente el retraso inducido por el fármaco en el avance del ciclo celular en células H929 de 65 a 22% para el compuesto de fórmula I.

Se usaron la RT-PCR y análisis de transferencia Western para medir los niveles de los reguladores clave del ciclo celular y apoptóticos, con el fin de investigar más los efectos del CRBN en la detención del ciclo celular inducida por el compuesto de fórmula I. En células H929, la detención del ciclo celular en la fase G1 por el compuesto de fórmula I coincide con una reducción del supresor tumoral, pRB, fosforilación y el factor de supervivencia de oncogén y mieloma IRF4. El análisis de transferencia Western mostró que el compuesto de fórmula I disminuía la fosforilación de pRB (fig. 9A y 9B) y el nivel total de la proteína IRF4 (fig. 9C y 9D). El efecto se redujo por la inactivación génica del CRBN sugiriendo que la inhibición del avance del ciclo celular por los fármacos requiere la proteína CRBN.

Se encontró que el compuesto de fórmula I inhibía la proliferación de las líneas celulares de MM sensibles a CRBN

U266, 100-1 y 1K-2 (Fig. 10).

Modelo de células colorrectales

5 La expresión de cereblon también modula la actividad anti-invasora del compuesto de fórmula I en células de cáncer colorrectal HCT-15 (fig. 11). La capacidad del compuesto de fórmula I para inhibir la invasión de células HCT-15 se redujo mediante siCRBN.

6.9. Modelos de tumores sólidos

10 Se evaluó el efecto del compuesto de fórmula I en líneas celulares de tumores sólidos de una variedad de histologías (p. ej., de mama, ovario, colorrectal, HCC). El compuesto de fórmula I inhibe la expresión de HIF1- α inducida por hipoxia en muchas líneas celulares de tumores sólidos (figuras 12A-12I). Además, el compuesto de fórmula I inhibe la invasión de células de tumores sólidos en diferentes grados (tabla 10) y la formación de colonias de células (tabla 11). La inhibición de la formación de colonias de células de tumores sólidos se estudió mediante el tratamiento de una sola concentración alta del compuesto de fórmula I (10 μ M) el día 1, seguido del control de la formación de colonias de células en el transcurso de 10 a 20 días (tabla 11, figuras 13A y 13B).

15 El compuesto de fórmula I inhibe el crecimiento de células tumorales de glioblastoma U87 con 3 y 30 mg/kg una vez al día en un modelo de xenoinjerto (fig. 14).

Tabla 10. Efectos del compuesto de fórmula I en la invasión de células de tumores sólidos

Tipo de célula tumoral	Línea celular (estimulación)	Invasión (CI ₅₀) Compuesto de fórmula I
hepatocelular	HepG2 (VEGF)	<0,001
	SK-HEP-1 (VEGF)	0,0061
glioblastoma	SNB-19 (PDGF)	0,16
	SF-539 (PDGF)	0,025
	U251 (PDGF)	3,7
	SF-295 (PDGF)	0,24
	U87 (PDGF)	0,08
colorrectal	HCT15 (bFGF)	0,0072

Tabla 11. Efectos del compuesto de fórmula I en la formación de colonias de células de tumores sólidos

Tipo de célula tumoral	Línea celular	% de Inhibición de la formación de colonias ^a
hepatocelular	HCT15	3
	HCT116	13**
	Colo-205	17**
ovario	OVCAR-3	18*
HCC	SK-HEP-1	6
	HEP-G2	6,9
glioblastoma	SF268	0,6
	SF295	12,9
	U251	-6
	U87	2
mama	MDA-MB-453	-7
	MC1-7	1,4
	ZR-75-1	90**
próstata	PC-3	14,8

a: compuesto de fórmula I 10 μ M.

20 *: p<0,5; **: p<0,001 (frente a DMSO)

6.10. Caracterización de citoquinas de CMSP

25 Se seleccionó el compuesto de fórmula I para la caracterización de la actividad de once (11) citoquinas y quimioquinas, es decir, interleuquina (IL)-1 β , IL-6, IL-8, factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), quimioquina derivada de macrófagos (MDC), proteína inflamatoria de macrófagos-1alfa (MIP-1 α), proteína inflamatoria de macrófagos-1beta (MIP-1 β), factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), IL-10, proteína 1 quimiotáctica de macrófagos (MCP-1), y RANTES (quimioquina secretada y expresada por linfocitos T normales regulada por activación) usando células mononucleares de sangre periférica humanas (CMSPH) estimuladas con lipopolisacárido, obtenidas de 2-6 donantes.

El compuesto de fórmula I inhibía la producción de (en orden de potencia) TNF- α (CI₅₀=0,034 μ M), > IL-1 β

($CI_{50}=0,054 \mu M$) > IL-6 ($CI_{50}=0,060 \mu M$) > MDC ($CI_{50}=0,062 \mu M$) > MIP-1 α ($CI_{50}=0,30 \mu M$) > GM-CSF ($CI_{50}=0,95 \mu M$) > IL-8 ($CI_{50}>10 \mu M$) > MIP-1 β ($CI_{50}>10 \mu M$) (tabla 12). El compuesto de fórmula I también potenciaba la producción de IL-10, MCP-1 y RANTES con porcentaje medio de los valores de control de 480%, 236%, y 131%, respectivamente, con la concentración 0,1 μM .

5 Tabla 12: Resumen de las características inhibitoras de citoquinas del compuesto de fórmula I

	IL-6	IL-8	IL-1 β	GM-CSF	MDC	MIP-1 α	MIP-1 β	TNF- α
CI_{50}	0,060	>10	0,054	0,95	0,062	0,30	>10	0,034

6.11. Formación de tubos, migración e invasión de HUVEC inducido por VEGF, bFGF y HGF

El compuesto de fórmula I demostró una potente actividad inhibitora en un ensayo in vitro de invasión de células endoteliales vasculares umbilicales humanas (HUVEC). El compuesto de fórmula I inhibía fuertemente la invasión inducida por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) y factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), inhibía débilmente la formación de tubos y migración de HUVEC inducidas por VEGF y bFGF, y no potenciaba o no inhibía la proliferación de HUVEC inducida por factores de crecimiento. El valor de CI_{50} para la inhibición de la invasión de HUVEC inducida por VEGF era 0,29 nM. El valor de CI_{50} para la inhibición de la invasión de HUVEC inducida por bFGF era 5,5 nM. El valor de CI_{50} para la inhibición de la invasión de HUVEC inducida por HGF era 110 nM. El compuesto de fórmula I inhibía la migración inducida por VEGF y bFGF en 38% y 28%, respectivamente, con una concentración 1 μM .

6.12. Protocolo clínico

Se proporciona un ensayo clínico en fase 1a/1b, para determinar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética y eficacia del compuesto de fórmula I cuando se administraba por vía oral a sujetos con tumores sólidos avanzados, linfoma no hodgkiniano o mieloma múltiple. Deben definirse en el estudio la dosis no tolerada (DNT), la dosis máxima tolerada (DMT) y la dosis recomendada para la fase 2 (DRF2). Se evaluará el efecto del compuesto en los biomarcadores de angiogénesis en biopsias de tumores antes y durante el tratamiento.

Diseño del estudio

El estudio se diseña como un estudio de fase 1a/1b que consiste en dos partes: aumento escalonado de la dosis (Parte A) y ampliación de la dosis (Parte B). En la parte A, los sujetos recibirán dosis crecientes individuales y múltiples del compuesto de fórmula I para medir la farmacocinética (PK) e identificar la dosis máxima tolerada (DMT) y la dosis recomendada para la fase 2 (DRF2). Se usará un diseño de aumento escalonado de la dosis habitual (3+3) (Simon et al., 1997) para identificar la toxicidad inicial. En cohortes iniciales de 3 sujetos se administrará el compuesto de fórmula I (0,5 mg una vez al día) con incrementos de la dosis de 100% hasta el primer caso de toxicidad de grado 3 o mayor que se sospeche que está relacionada con el fármaco en el primer ciclo, momento en que la cohorte particular se ampliará a un total de 6 sujetos. Este programa de aumento escalonado habitual se iniciará con el fin de establecer la dosis no tolerada (DNT) y la DMT. También se pueden evaluar incrementos más pequeños y sujetos adicionales dentro de una cohorte de dosis para la seguridad. Se tratarán aproximadamente de 20 a 40 sujetos y se evaluarán en la parte A; sin embargo, el número total de sujetos en la parte A depende del número de cohortes de dosis necesarias para establecer la DMT. Una dosis se considerará la DNT cuando 2 o más de los 6 sujetos evaluables en una cohorte experimentan toxicidad limitante de la dosis (TLD) relacionada con el fármaco durante el ciclo 1. Cuando se establece la DNT, se detiene el aumento escalonado de la dosis. La DMT se define como el último nivel de dosis inferior a la DNT con 0 o 1 de los 6 sujetos evaluables que experimenta TLD durante el ciclo 1. Puede ser necesaria una dosis intermedia (es decir, una entre la DNT y el último nivel de dosis antes de la DNT) o sujetos adicionales dentro de cualquier cohorte de dosis, para determinar de forma más precisa la DMT y la DRF2.

En la parte B, los sujetos pueden iniciar la administración de dosis con la DMT y/o un nivel de dosis inferior basándose en los datos de seguridad, PK y/o PD de la parte A. Aproximadamente 100 sujetos (hasta 20 por cohorte) estratificados por el tipo de tumor, se tratarán y se evaluará la seguridad y actividad antitumoral después de cada dos ciclos de terapia. También se determinarán la dosis, las dosis o el régimen adecuado. Durante la parte B, se revisarán regularmente los datos de seguridad en relación con la continuación del estudio, según sea adecuado.

Población del estudio

Hombres y mujeres, de 18 años o mayores, con tumores sólidos (ST) avanzados, linfoma no hodgkiniano (NHL), mieloma múltiple (MM), o tumores sólidos avanzados no resecables, incluyendo sujetos que han progresado (o no han podido tolerar) en la terapia convencional o para los que no existe terapia antineoplásica convencional. Los tipos de tumor seleccionados incluyen cáncer de mama metastásico (mBC), glioblastoma multiforme (GBM), carcinoma hepatocelular (HCC), linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), y mieloma múltiple (MM).

Administración y duración del estudio

5 Durante el primer ciclo, solo en la parte A, se administrará a cada sujeto una sola dosis diaria del compuesto de fórmula I el día 1, seguido de un periodo de observación y toma de muestra PK de 48 horas, seguido el día 1 por la administración ininterrumpida diaria durante 28 días (Ciclo 1 = 30 días). En los ciclos posteriores de la parte A, los sujetos se tratan en ciclos de 28 días con administración continua desde el día 1 al 28. El compuesto de fórmula I se dará una o dos veces al día con una dosis de 0,1, 0,5, 1, 2, 4, 5, 7,5, 10, 20, 25 o 50 mg en una dosis inicial. La dosis puede ser de 0,1, 0,5, 1, 2, 4, 5, 7,5, 10 mg dada una vez al día. La dosis puede ser de 50, 25, o 10 mg dada dos veces al día. La dosis se puede ajustar por arriba o por abajo, a partir de la dosis inicial durante el tratamiento. Como se ha descrito antes, si es necesario, el fármaco se puede dar de una forma cíclica.

10 En la parte B, los sujetos reciben administración continua durante 28 días desde el principio, no hay un periodo de recolección de PK de 48 h posterior a una sola dosis inicial.

La terapia se interrumpirá si hay evidencias de progreso de la enfermedad, toxicidad inaceptable o decisión del sujeto/médico de parar. Los sujetos pueden continuar recibiendo el compuesto sin interrupción durante tanto tiempo como el investigador considere que obtienen beneficio.

15 Se espera que el reclutamiento se produzca a lo largo de aproximadamente 24 meses. Se espera que completar el tratamiento activo y el seguimiento del sujeto tarde 3-6 meses adicionales.

Tratamientos del estudio

Celgene Corporation suministrará el compuesto de fórmula I (HCl) en cápsulas de 0,1 mg, 0,5 mg, 1 mg y 3 mg para administración oral. El compuesto se envasará en botellas dentro de cajas que contienen fármaco para 28 días.

20 En la parte A (la fase de aumento escalonado de la dosis), el nivel de dosis empezará en 0,5 mg una vez al día después de la dosis de PK inicial. Después de que se haya administrado la primera dosis al último sujeto en cualquiera de las cohortes, se observa a los sujetos durante al menos 30 días antes de que pueda empezar la siguiente cohorte de dosis mayor especificada por el protocolo. No está permitido el aumento escalonado de la dosis en un mismo sujeto, salvo que lo apruebe el Comité de revisión de seguridad (CRS), que consistirá en el investigador principal y el supervisor médico de Celgene.

25 En la parte B, los sujetos pueden recibir el compuesto de fórmula I con la DMT y/o un nivel de dosis inferior, basándose en evaluaciones de seguridad, PK y PD de la parte A. Se evaluará en aproximadamente 100 sujetos (tipos de tumor preseleccionados en grupos de hasta 20) la seguridad y los efectos antitumorales.

Análisis de evaluaciones de eficacia

30 Se evaluará la eficacia en los sujetos después de cada 2 ciclos. La variable de eficacia primaria es la respuesta. La respuesta del tumor se basará en los Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST 1.1), Criterios del grupo internacional de trabajo (IWC) para el NHL, Criterios de respuesta uniforme internacionales para el mieloma múltiple (IURC) (Apéndice A, Sección 18,1), o Valoración de respuestas para neuro-oncología (RANO) Grupo de trabajo para el GBM.

35 Los criterios de valoración secundarios/exploratorios incluyen mediciones de biomarcadores en la sangre y el tumor, la respuesta histopatológica y correlaciones con descubrimientos farmacogenómicos. También se examinarán variables de eficacia complementarias (p. ej., estado funcional por la escala ECOG, resultados PET); además, se medirán los cambios de hipovascularización por la constante de transferencia del volumen (Ktrans) y el AUC inicial (IAUC) usando DCE-MRI.

Análisis de evaluaciones de seguridad

40 Las variables de seguridad para este estudio son sucesos adversos, variables clínicas de laboratorio, ECG de 12 derivaciones (revisado centralmente), evaluación de la FEVI, exámenes físicos y signos vitales.

Análisis de evaluaciones farmacocinéticas

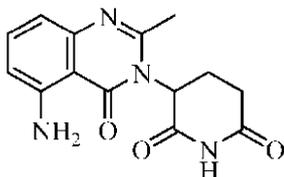
45 Los perfiles PK del compuesto de fórmula I y sus metabolitos se determinarán a partir de la recogida en serie de sangre y orina durante el primer ciclo de tratamiento. Estos se correlacionarán con los resultados farmacodinámicos (PD) cuando sea posible.

Los ejemplos expuestos antes se proporcionan para dar a los expertos en la técnica una descripción completa y descripción de cómo hacer y usar las realizaciones reivindicadas, y no se pretende que limiten el alcance de los que se describe en la presente memoria. Las modificaciones que son obvias para los expertos en la técnica se pretende que estén dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

50

REIVINDICACIONES

- 1.- Un compuesto para usar en un método de tratamiento o atención integral del cáncer, en donde dicho método comprende administrar dicho compuesto a un paciente que necesite dicho tratamiento o atención integral, donde dicho compuesto es la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, que tiene la siguiente estructura:



o un enantiómero o mezcla de enantiómeros del mismo, o una de sus sales, solvatos, hidratos, cocrisales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables.

2.- El compuesto para usar de la reivindicación 1, en donde dicho cáncer es:

- (i) tumor maligno avanzado, amiloidosis, neuroblastoma, meningioma, hemangiopericitoma, metástasis cerebrales múltiples, glioblastoma multiforme, glioblastoma, glioma del tronco encefálico, tumor cerebral maligno de pronóstico malo, glioma maligno, astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico, tumor neuroendocrino, adenocarcinoma rectal, cáncer colorrectal de Dukes C y D, carcinoma colorrectal no reseccable, carcinoma metastásico hepatocelular, sarcoma de Kaposi, leucemia mieloblástica de cariotipo aguda, linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de células T, linfoma cutáneo de células B, linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular de bajo grado, melanoma maligno, mesotelioma maligno, síndrome de mesotelioma de derrame pleural maligno, carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilar, sarcoma ginecológico, sarcoma de tejidos blandos, esclerodermia, vasculitis cutánea, histiocitosis de células de Langerhans, leiomioma, fibrodisplasia osificante progresiva, cáncer de próstata refractario a hormonas, sarcoma de tejido blando de alto riesgo reseccado, carcinoma hepatocelular no reseccable, macroglobulinemia de Waldenström, mieloma latente, mieloma indolente, cáncer de trompas de Falopio, cáncer de próstata independiente de andrógenos, cáncer de próstata no metastásico en fase IV dependiente de andrógenos, cáncer de próstata insensible a hormonas, cáncer de próstata insensible a quimioterapia, carcinoma papilar de tiroides, carcinoma folicular de tiroides, carcinoma medular de tiroides, o leiomioma;
- (ii) un tumor transmitido por la sangre;
- (iii) mieloma o linfoma;
- (iv) un tumor sólido;
- (v) cáncer de mama, colorrectal, ovárico, prostático, pancreático o renal; o
- (vi) carcinoma hepatocelular, cáncer de próstata, cáncer ovárico o glioblastoma.
3. El compuesto para usar de la reivindicación 1 o 2, en donde el cáncer es recidivante o refractario; o resistente a fármacos.
4. El compuesto para usar de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho cáncer es linfoma no hodgkiniano.
5. El compuesto para usar de la reivindicación 4, en donde el método comprende además:
- (i) identificar un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con dicho compuesto.
6. El compuesto para usar de la reivindicación 4 o 5, en donde dicho linfoma no hodgkiniano es:
- (i) linfoma difuso de células B grandes; o
- (ii) fenotipo de células B activadas; o
- (iii) linfoma difuso de células B grandes de fenotipo de células B activadas, caracterizado preferiblemente por la expresión de uno o más biomarcadores expresados en exceso en las líneas celulares RIVA, U2932, TMD8 o OCI-Ly10.
7. El compuesto para usar de la reivindicación 5, en donde dicha identificación de un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con dicho compuesto, comprende la caracterización del fenotipo del linfoma no hodgkiniano del paciente como un subtipo de células B activadas.

8. El compuesto para usar de la reivindicación 7, en donde el fenotipo del linfoma no hodgkiniano se caracteriza:
- (i) como un subtipo de células B activadas del linfoma difuso de células B grandes; o
 - (ii) por la expresión de uno o más biomarcadores expresados en exceso en líneas celulares RIVA, U2932, TMD8 o OCI-Ly10.
- 5 9. El compuesto para usar de la reivindicación 5, en donde dicha identificación del fenotipo del linfoma no hodgkiniano comprende usar una muestra biológica de un paciente que tiene linfoma, en donde la muestra biológica preferiblemente es una biopsia de ganglio linfático, una biopsia de médula ósea o una muestra de células tumorales de sangre periférica.
- 10 10. El compuesto para usar de la reivindicación 5 o 9, en donde dicha identificación de un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con dicho compuesto, comprende la identificación de un gen asociado con el fenotipo de células B activadas, en donde dicho gen preferiblemente se selecciona del grupo que consiste en IRF4/MUM1, FOXP1, SPIB, CARD11 y BLIMP/PDRM1.
- 15 11. El compuesto para usar de la reivindicación 5 o 9, en donde dicha identificación de un paciente que tiene linfoma no hodgkiniano sensible al tratamiento con dicho compuesto, comprende medir el nivel de actividad de NF- κ B en una muestra biológica obtenida del paciente.
12. El compuesto para usar de la reivindicación 7, en donde dicha caracterización del fenotipo del linfoma no hodgkiniano del paciente como un subtipo de células B activadas comprende medir uno o más de lo siguiente:
- (i) exceso de expresión de SPIB, un factor de transcripción de la familia Ets específico hematopoyético necesario para la supervivencia de células de subtipo células B activadas;
 - 20 (ii) mayor expresión constitutiva de IRF4/MUM1 que en células de subtipo GCB;
 - (iii) mayor expresión constitutiva de FOXP1 regulada por aumento por trisomía 3;
 - (iv) mayor expresión constitutiva de Blimp1, es decir, PRDM1; y
 - (v) mayor expresión constitutiva del gen de CARD11; y
 - (vi) un mayor nivel de actividad del NF- κ B con respecto a células de DLBCL de subtipo células B no activadas.
- 25 13. El compuesto para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el compuesto es el hidrocloreuro de la 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidina-2,6-diona, o una de sus sales, solvatos o hidratos.
- 30 14. El compuesto para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde el método comprende además la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes activos adicionales, en donde dicho agente activo adicional se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en un agente alquilante, un análogo de adenosina, un glucocorticoide, un inhibidor de quinasa, un inhibidor de SYK, un inhibidor de PDE3, un inhibidor de PDE7, doxorubicina, clorambucilo, vincristina, bendamustina, forskolina, rituximab.
15. El compuesto para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde dicho compuesto se administra en una cantidad de:
- 35 (i) de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg al día;
 - (ii) de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg al día; o
 - (iii) aproximadamente 0,5, 1, 2, 4, 5, 10, 15, 20, 25 o 50 mg al día.
- 40 16. El compuesto para usar de la reivindicación 15, en donde dicho método comprende la administración oral de dicho compuesto, preferiblemente en una cápsula o comprimido; en donde dicho método comprende preferiblemente la administración del compuesto en 10 o 25 mg en una cápsula.
17. El compuesto para usar de una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde dicho método comprende la administración de dicho compuesto durante 21 días seguido de 7 días de descanso en un ciclo de 28 días.

Efecto de la actividad de p65 de NFκB en células U2932 (n=2)

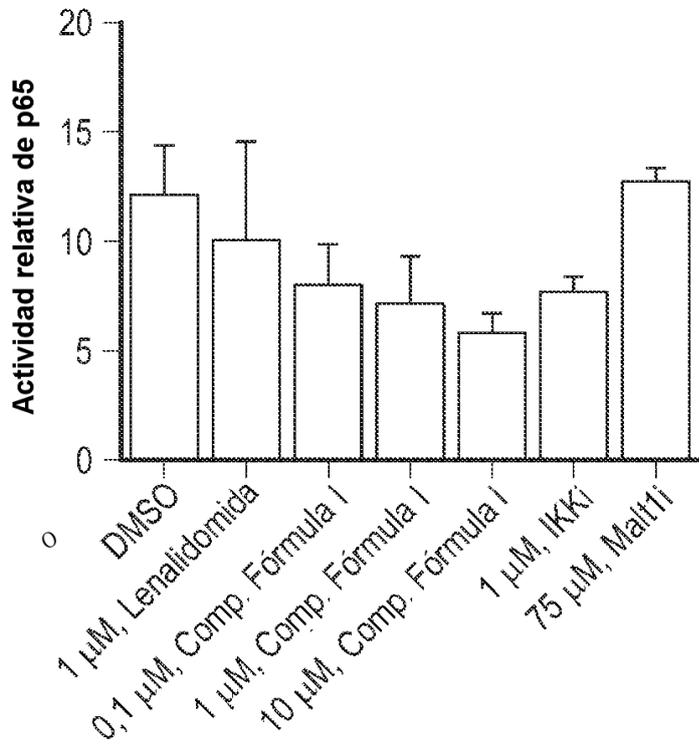


FIG. 1A

Efecto de la actividad de p50 de NFκB en células U2932 (n=2)

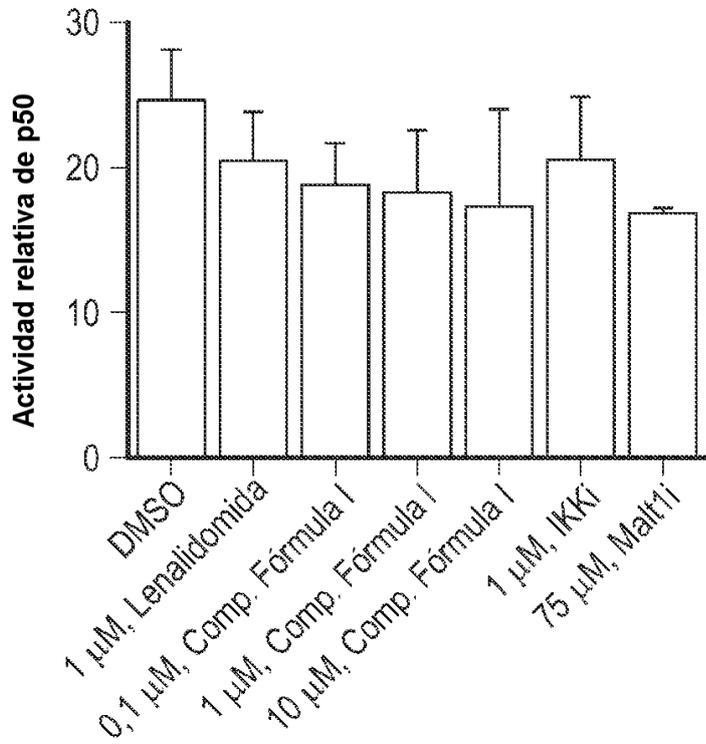


FIG. 1B

Efecto de la actividad de p65 de NFκB en células NCI-Ly10 (n=2)

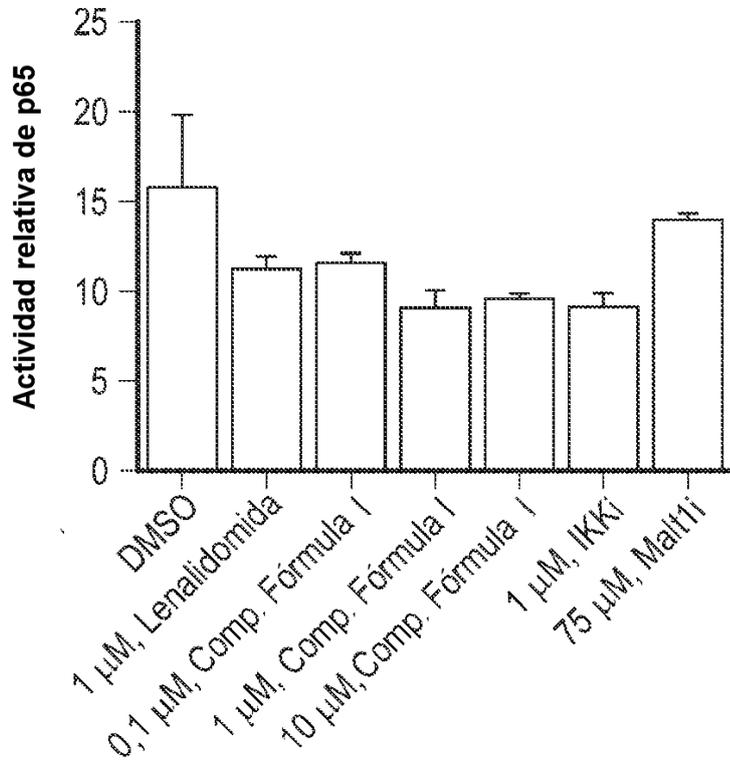


FIG. 1C

Efecto de la actividad de p50 de NFκB en células NCI-Ly10 (n=2)

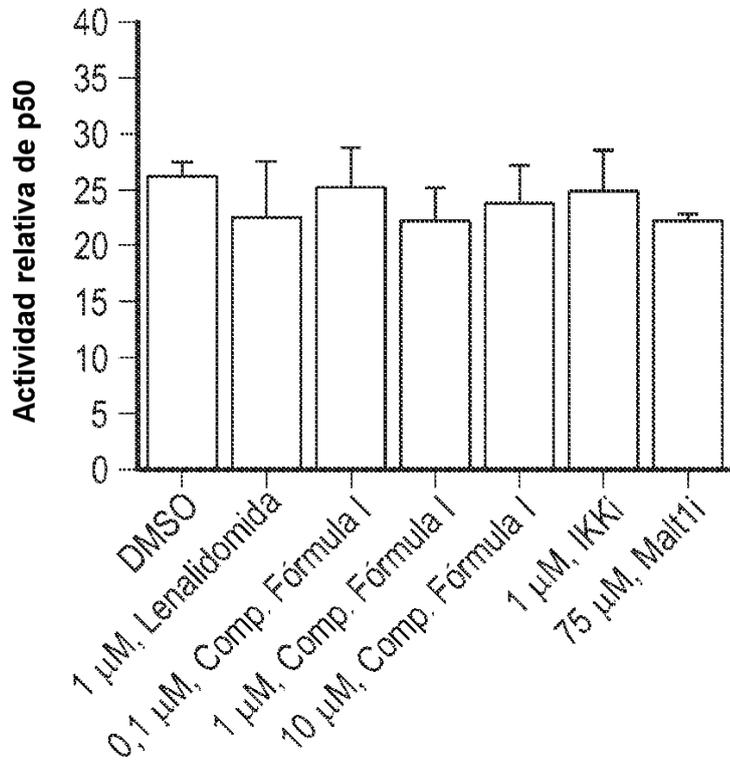
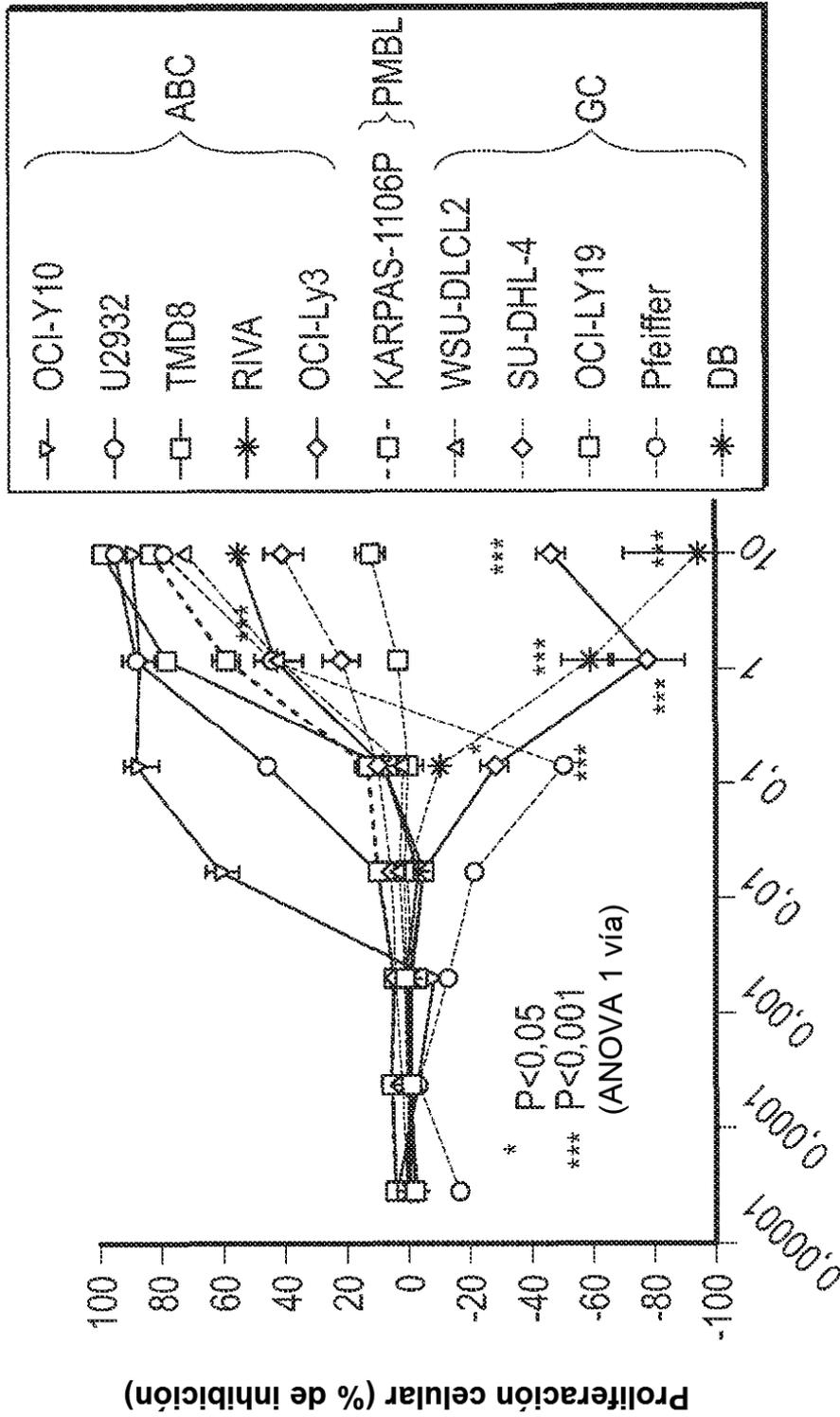


FIG. 1D



Compuesto de fórmula I (mM)

FIG. 2

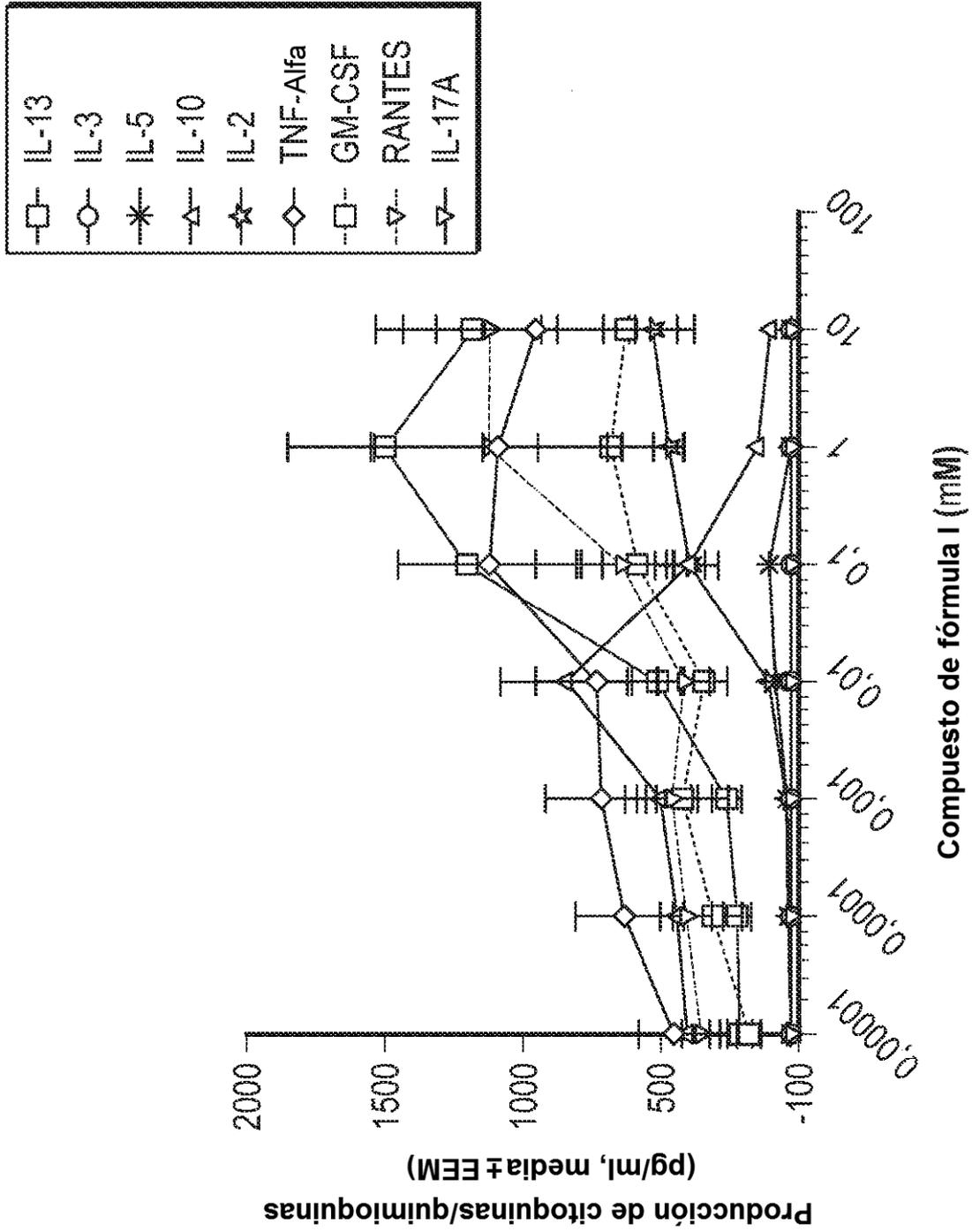


FIG. 3

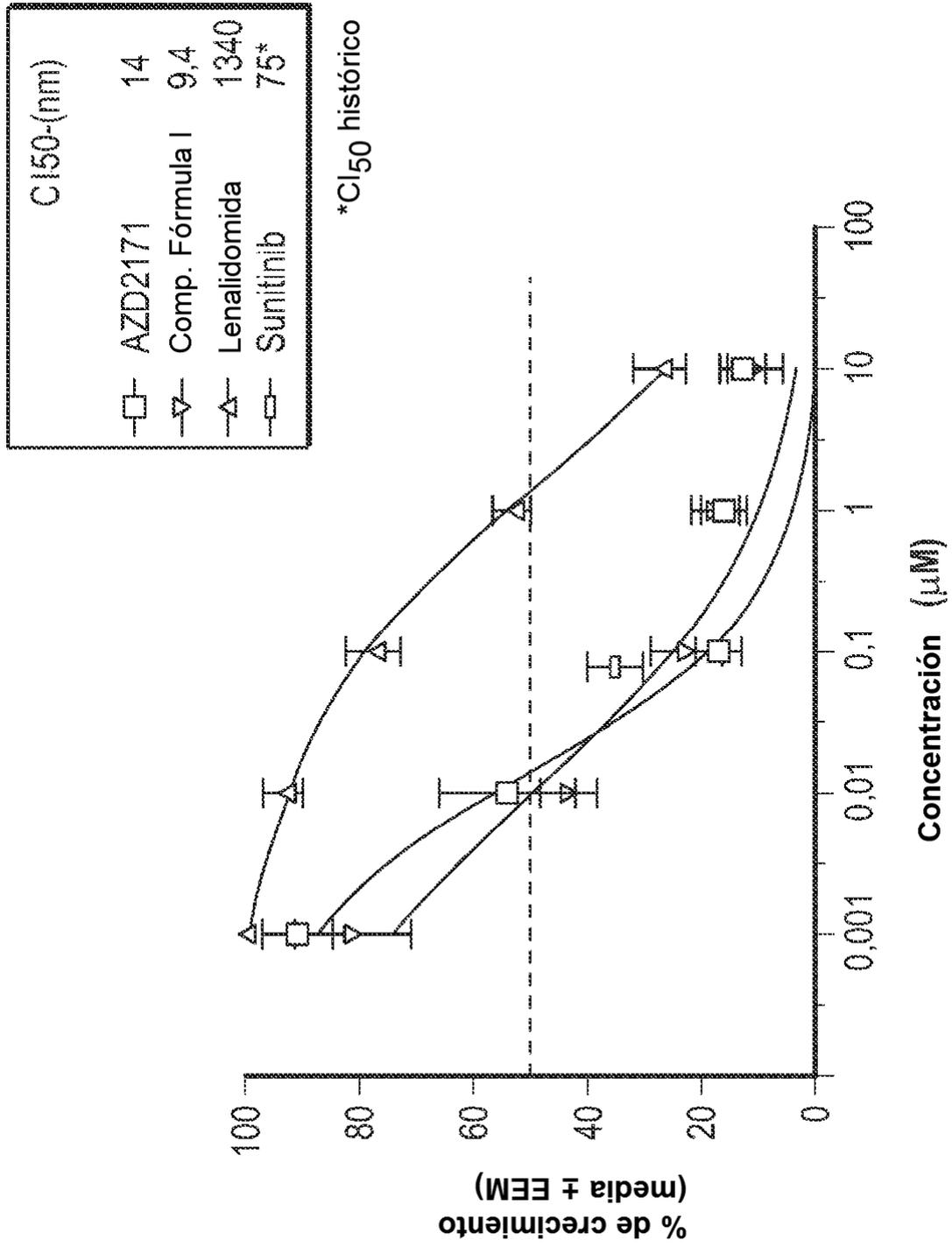


FIG. 4

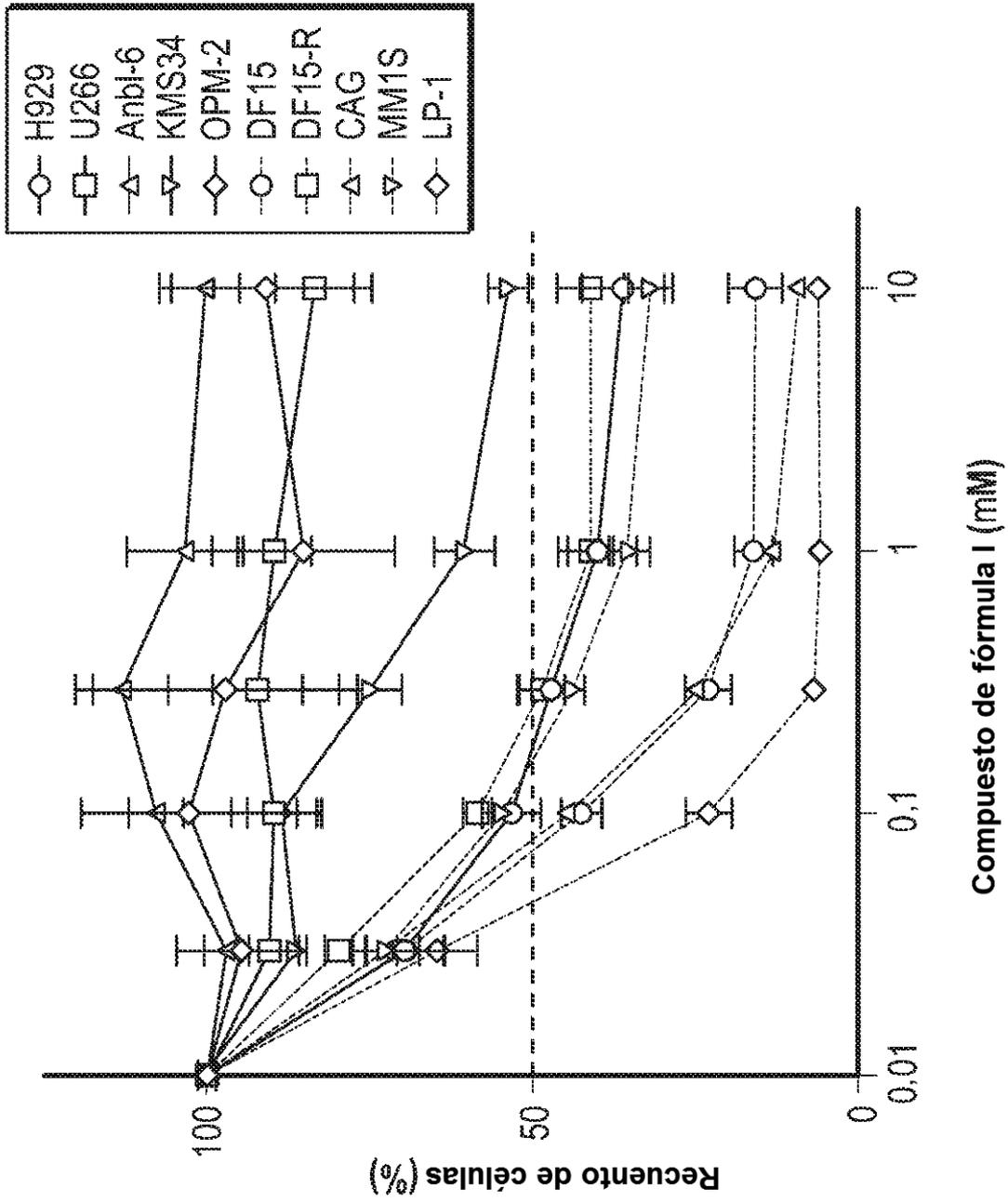
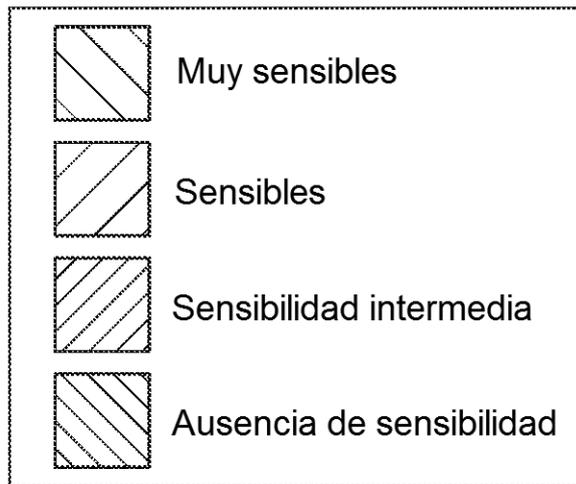


FIG. 5A



Proliferación	CC-122	CC-5013
OPM2 (n=2)	0,04	0,3
H929 (n=3)	0,07	10,5
CAG (n=3)	0,085	12,2
MM1.S (n=3)	0,3	8,6
DF15 (n=3)	0,4	19,23
U266 (n=3)	0,4	12,6
KMS34 (n=3)	9,7	>10
LP-1 (n=3)	>10	>10
DF15R (n=3)	>10	>10
Anbl-6 (n=4)	>10	>10

FIG. 5B

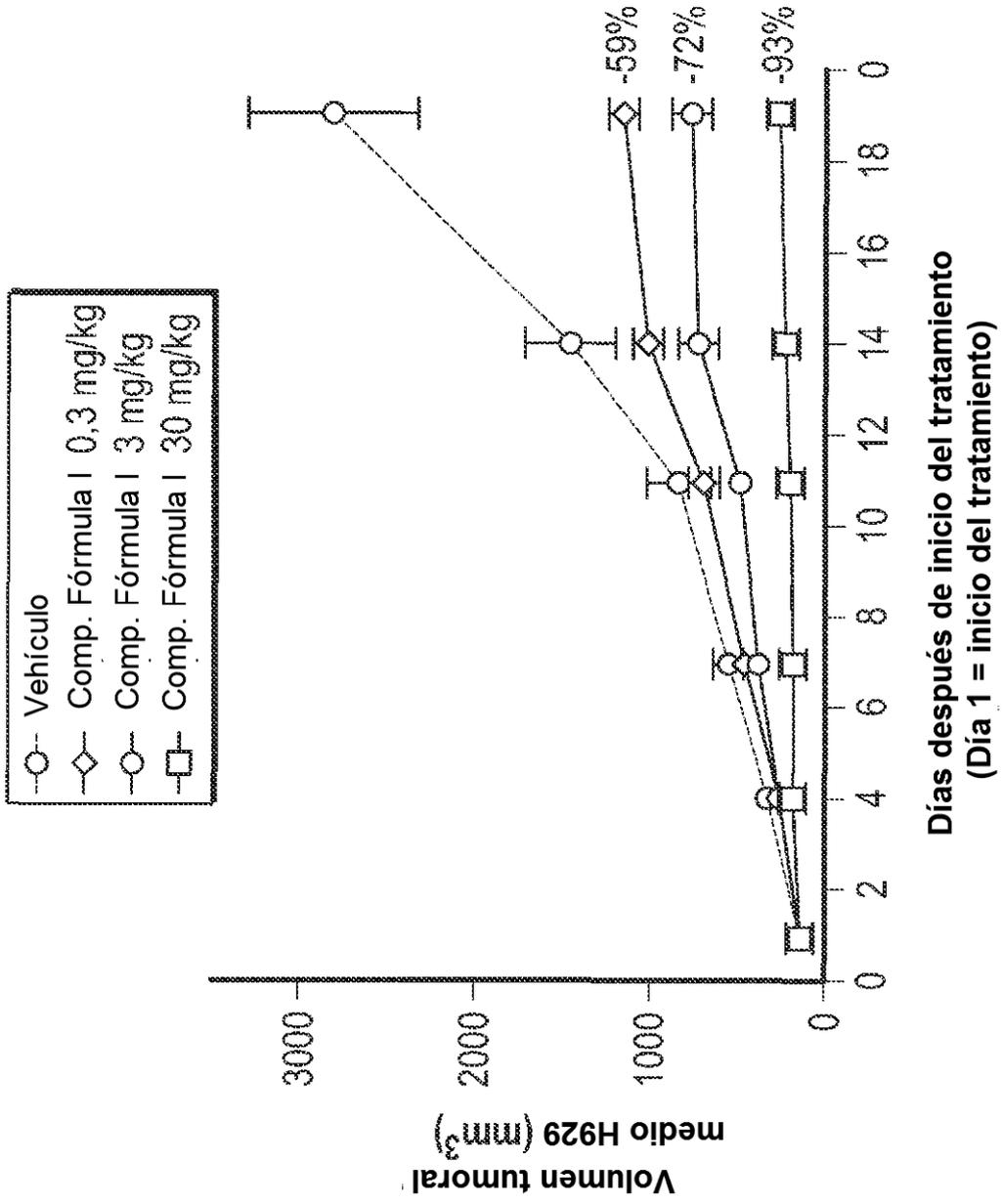
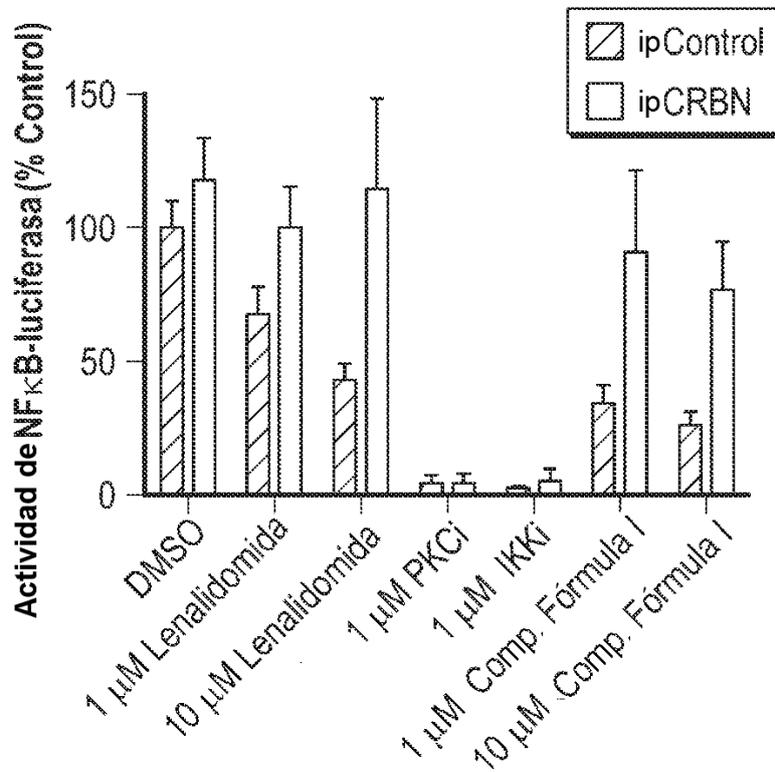
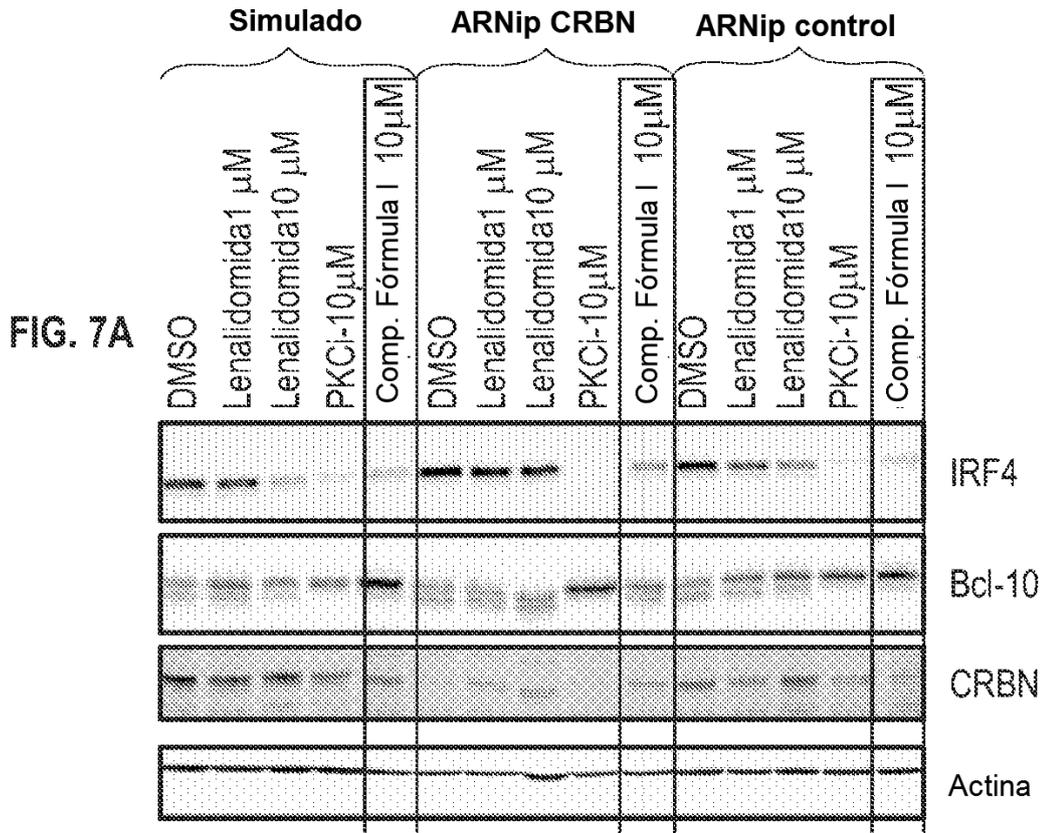


FIG. 6



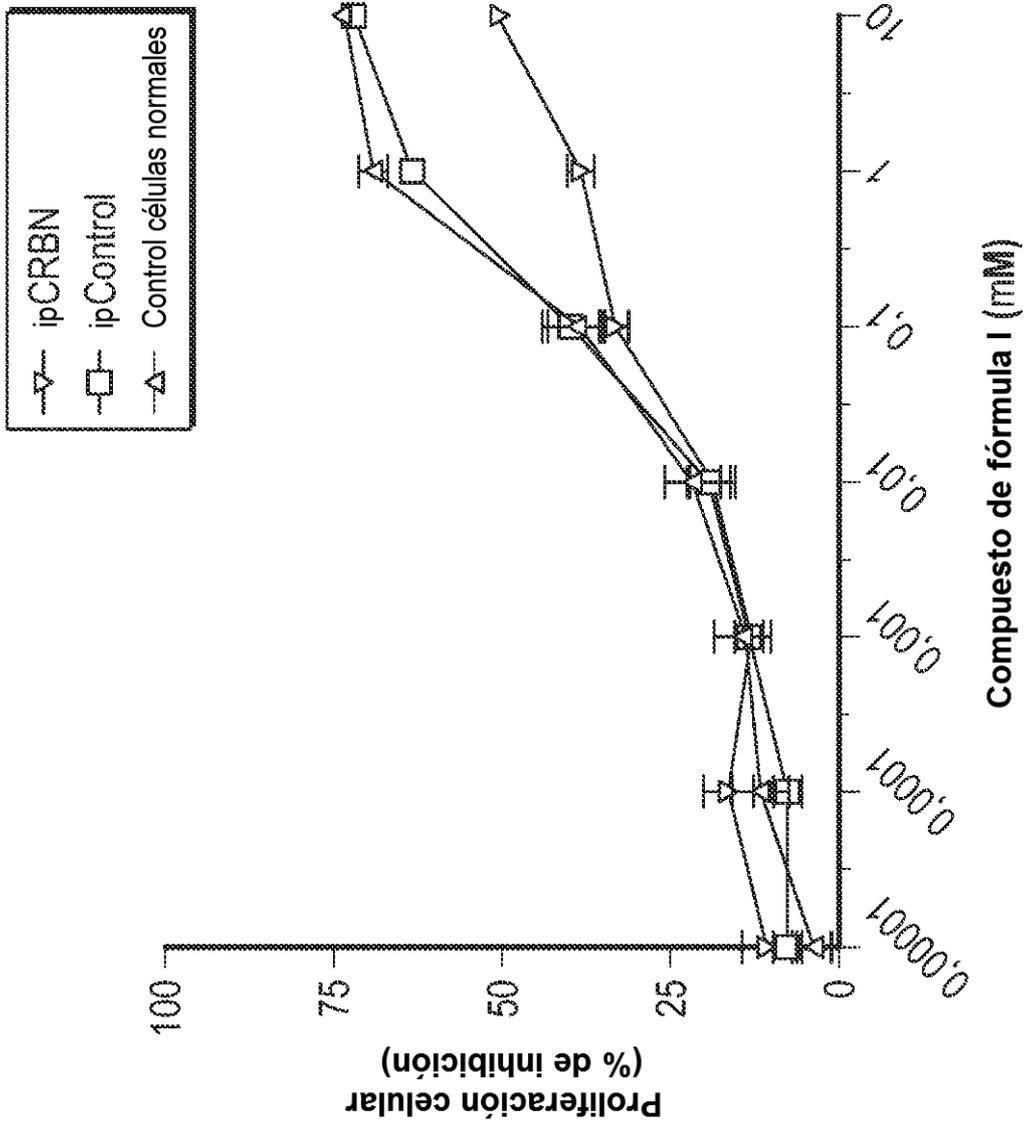


FIG. 7C

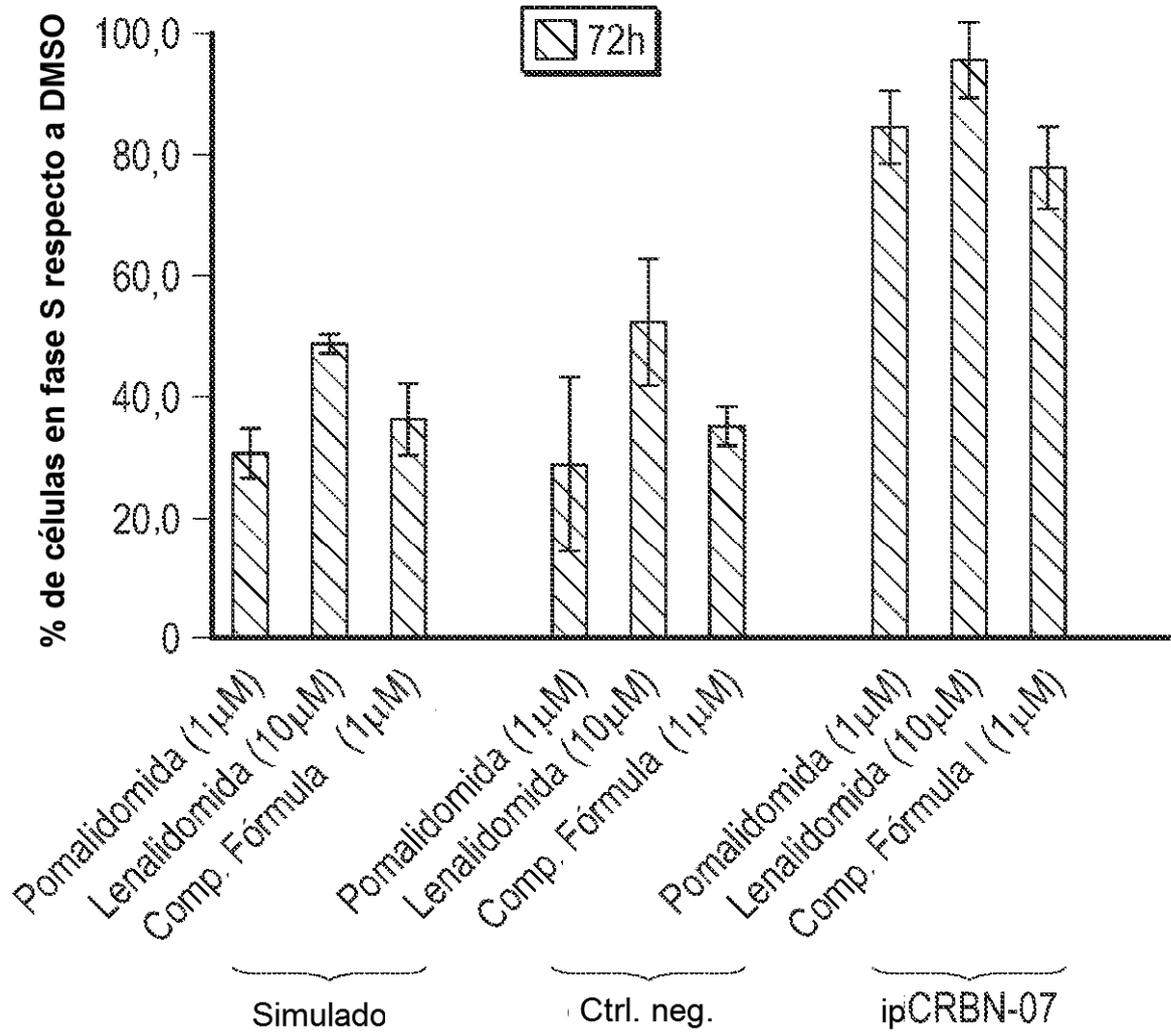


FIG. 8

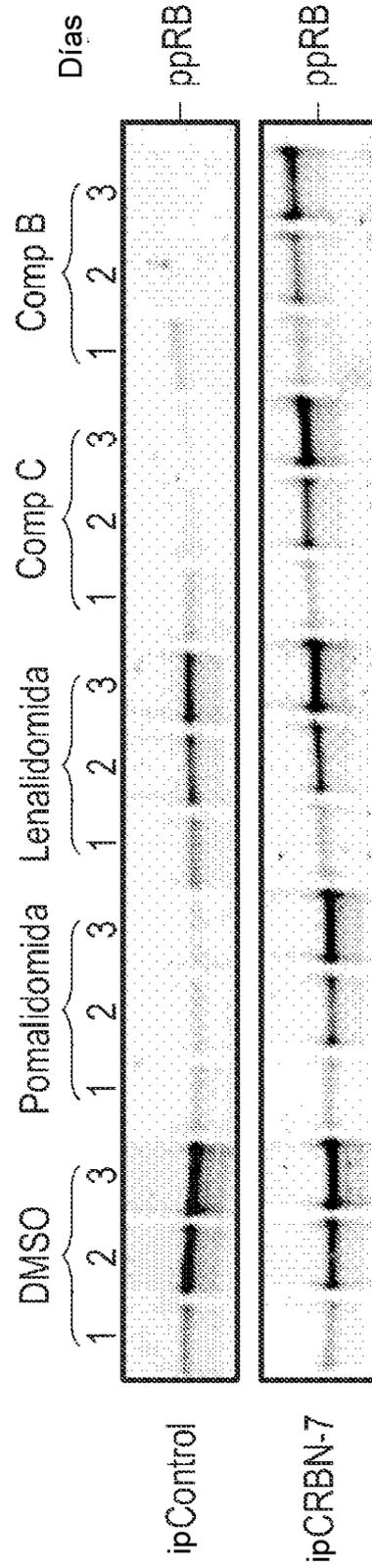


FIG. 9A

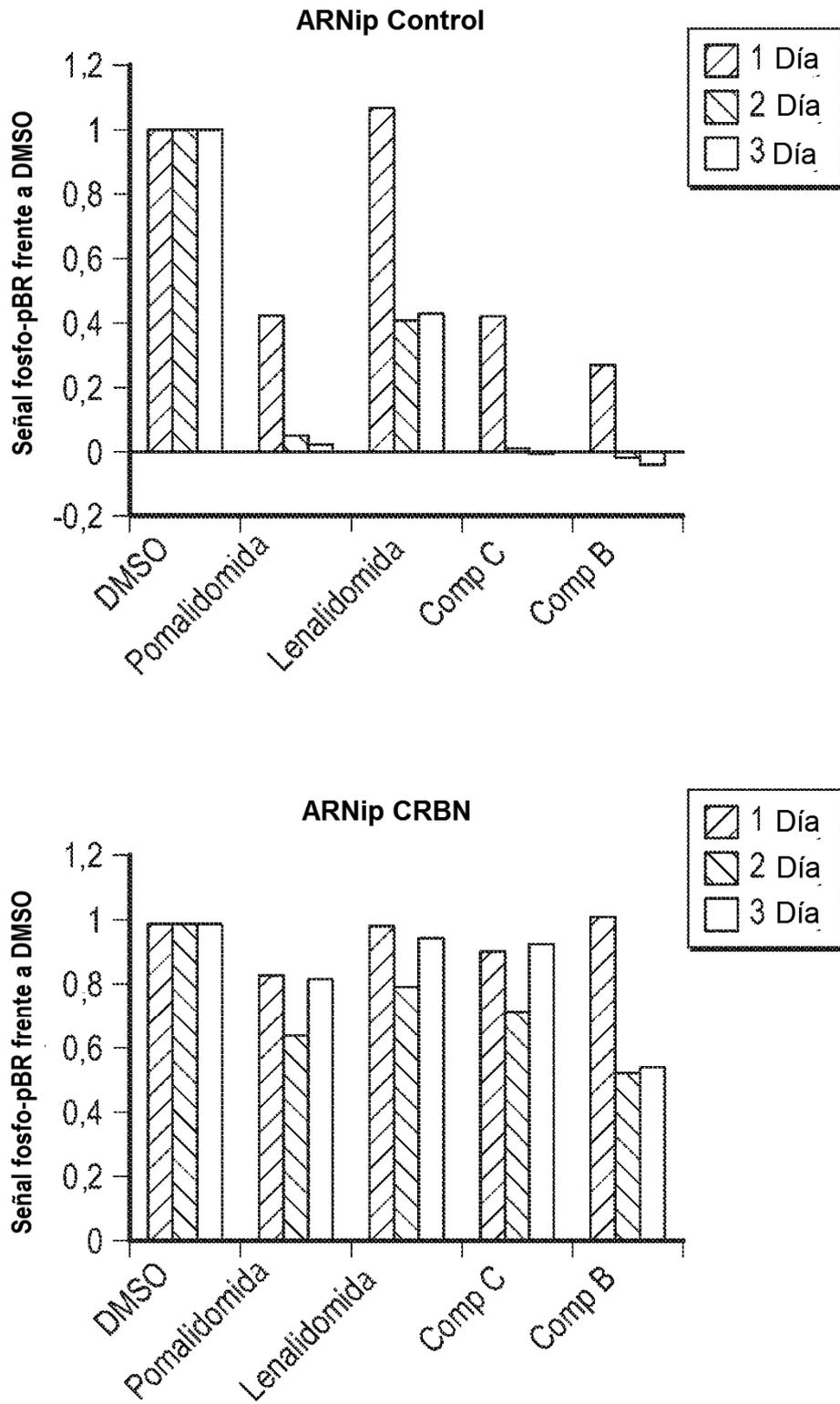


FIG. 9B

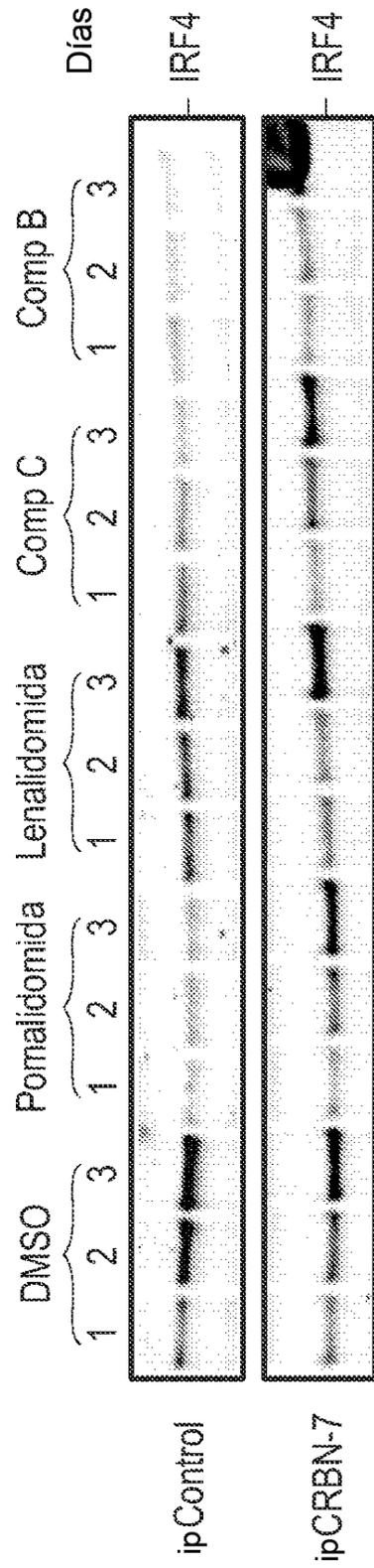


FIG. 9C

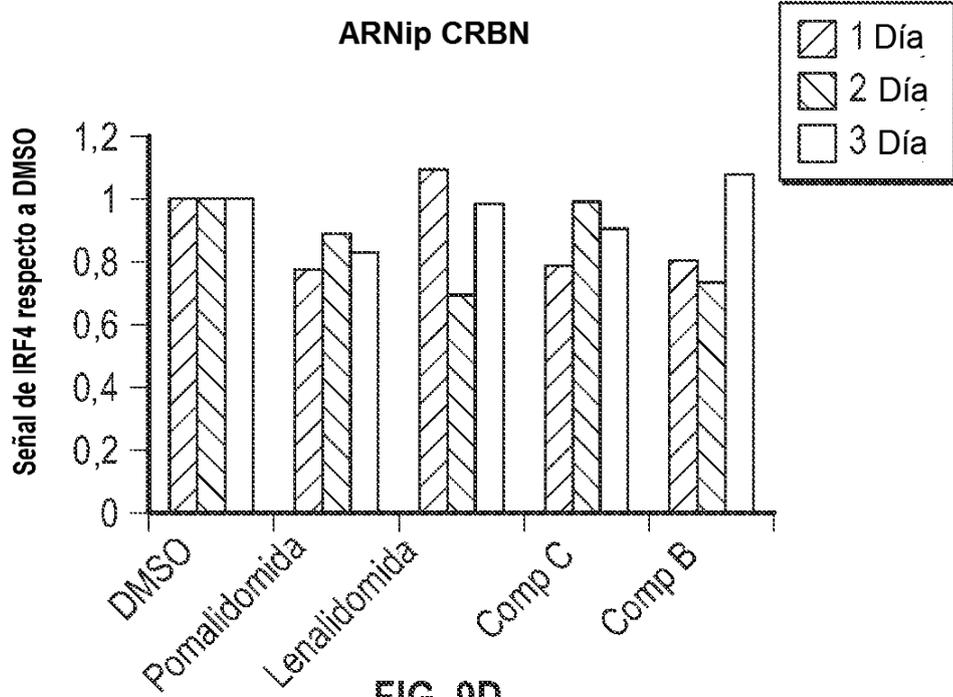
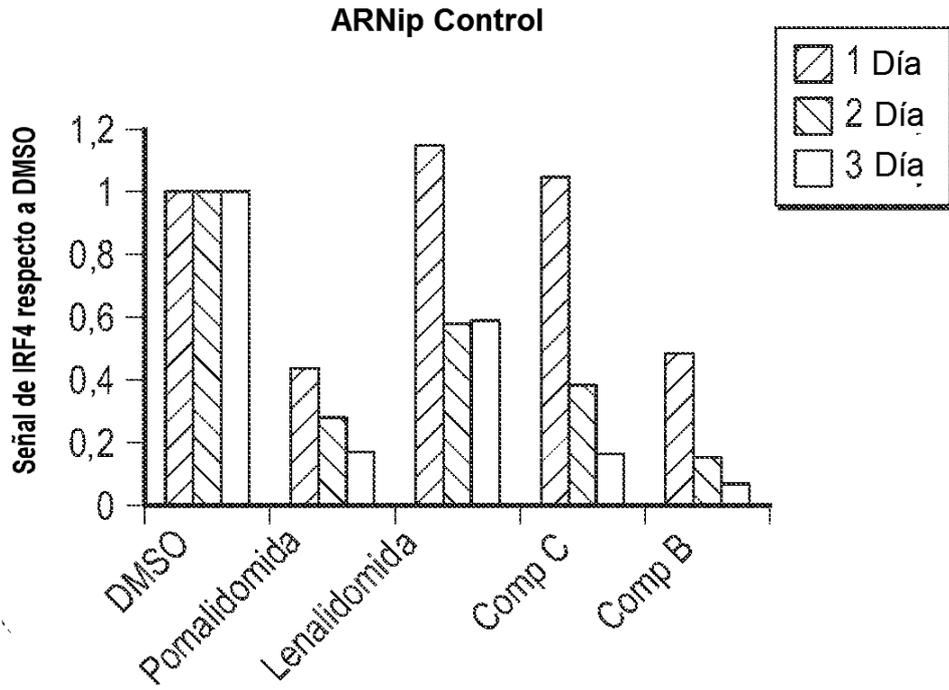


FIG. 9D

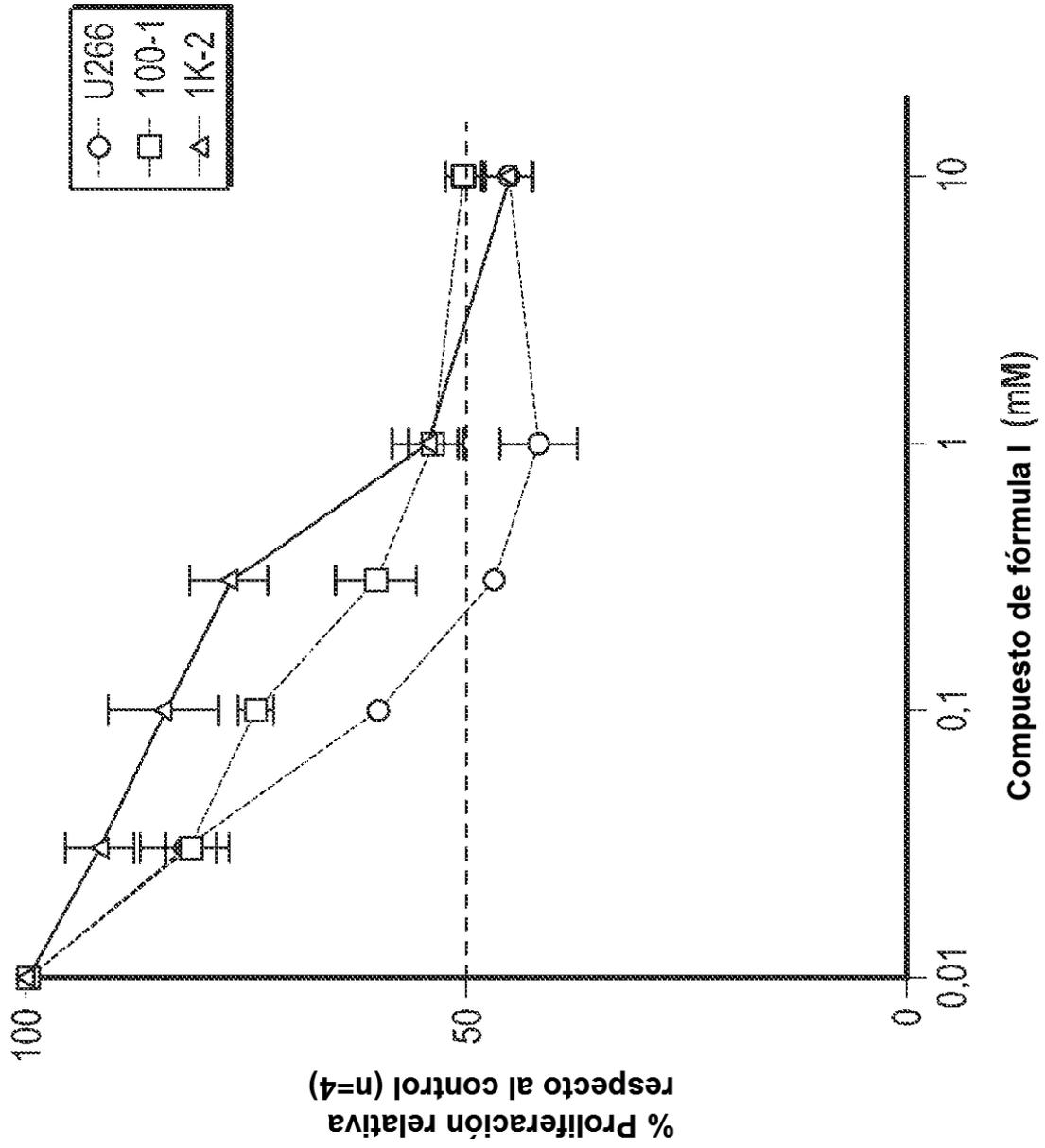


FIG. 10

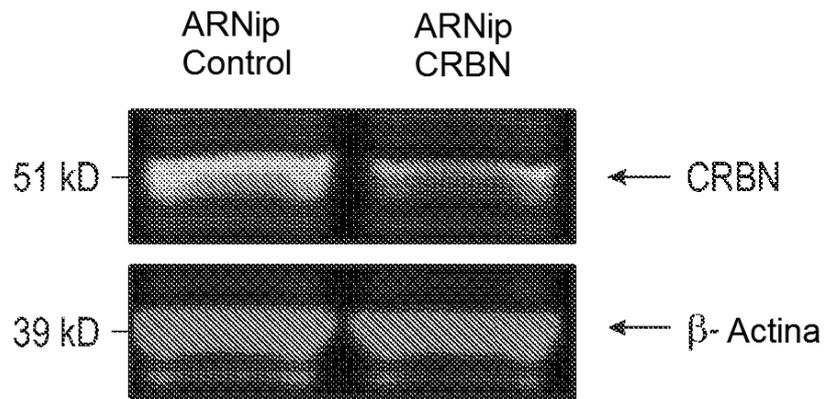
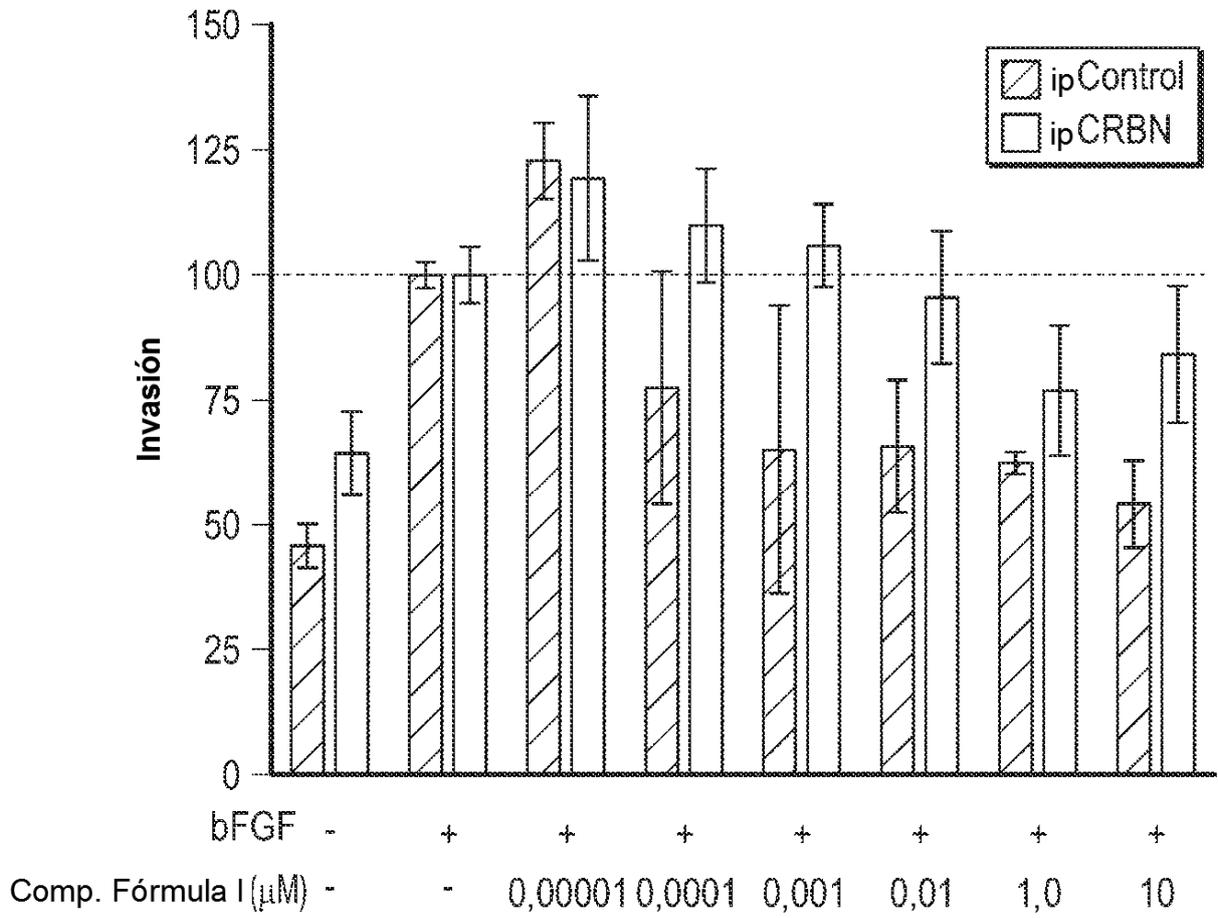


FIG. 11

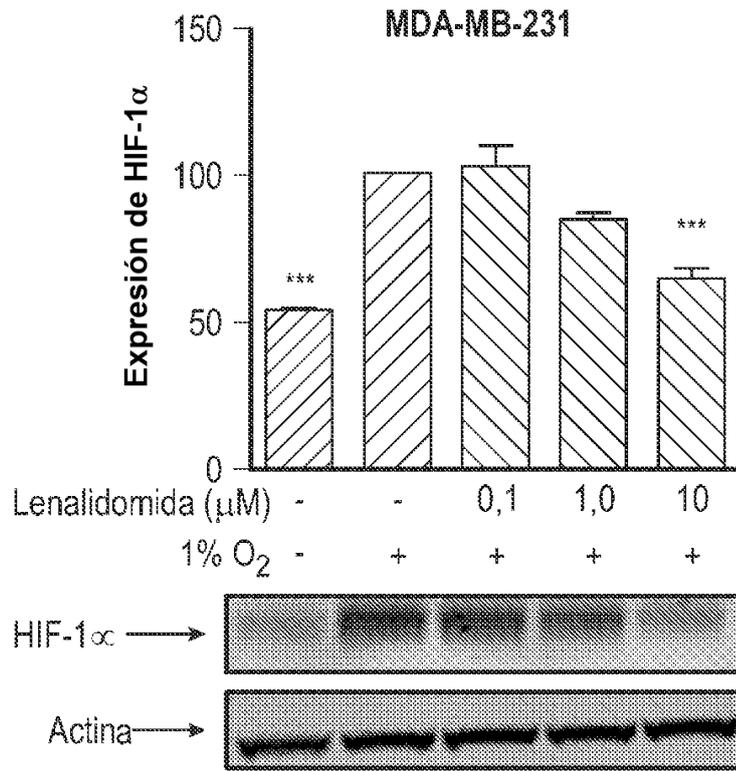


FIG. 12A

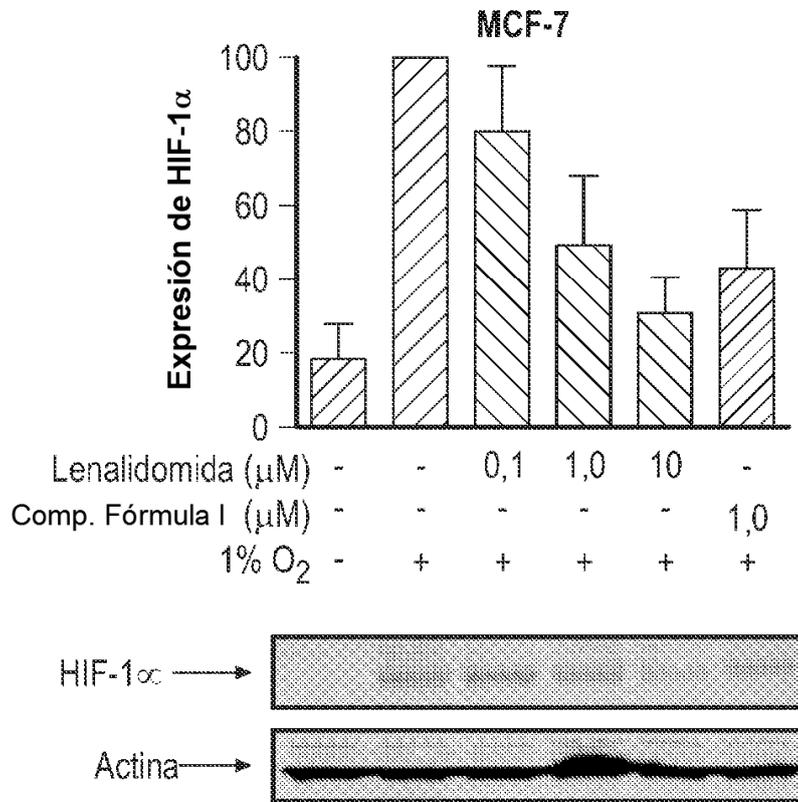


FIG. 12B

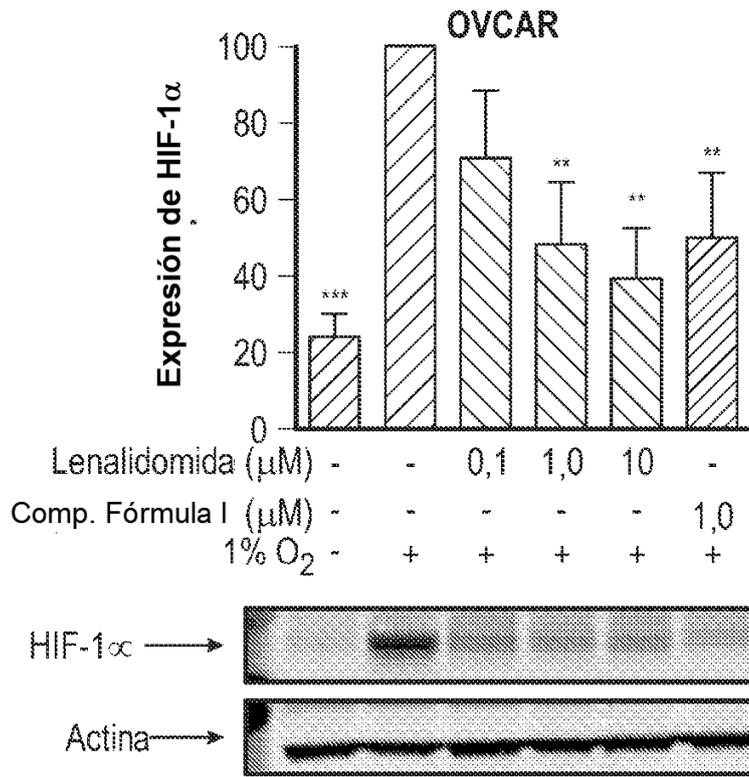


FIG. 12C

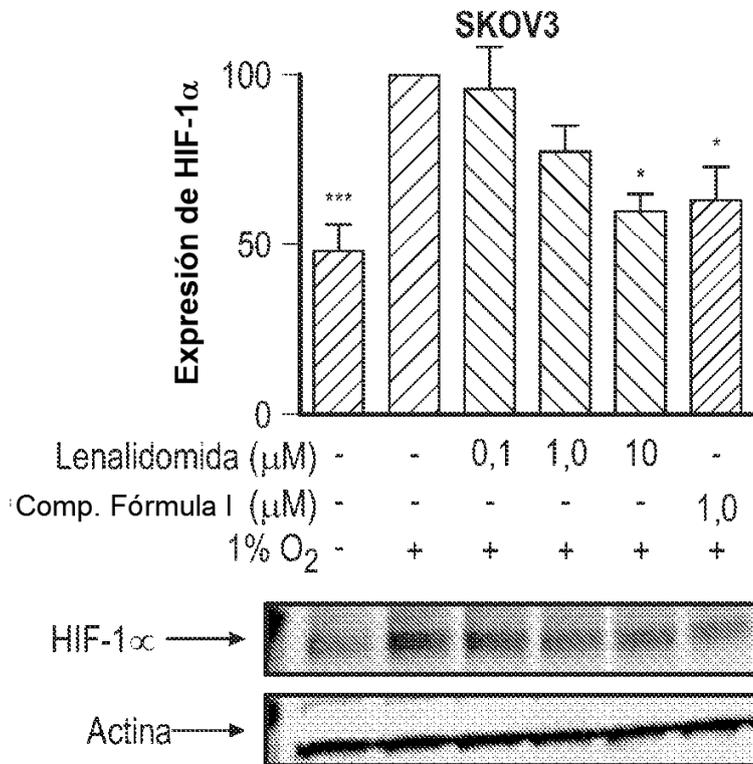


FIG. 12D

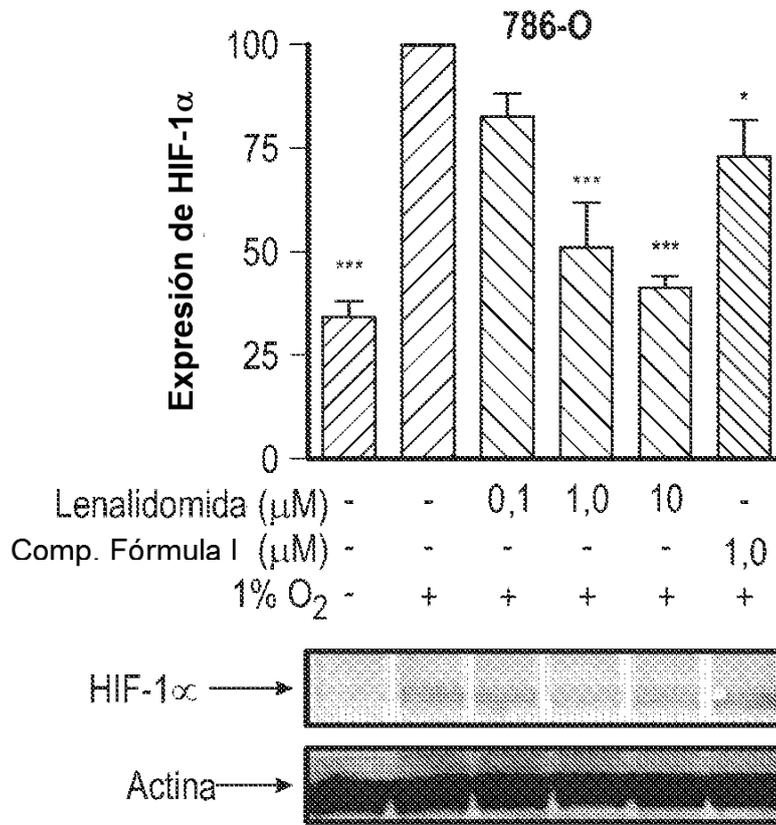


FIG. 12E

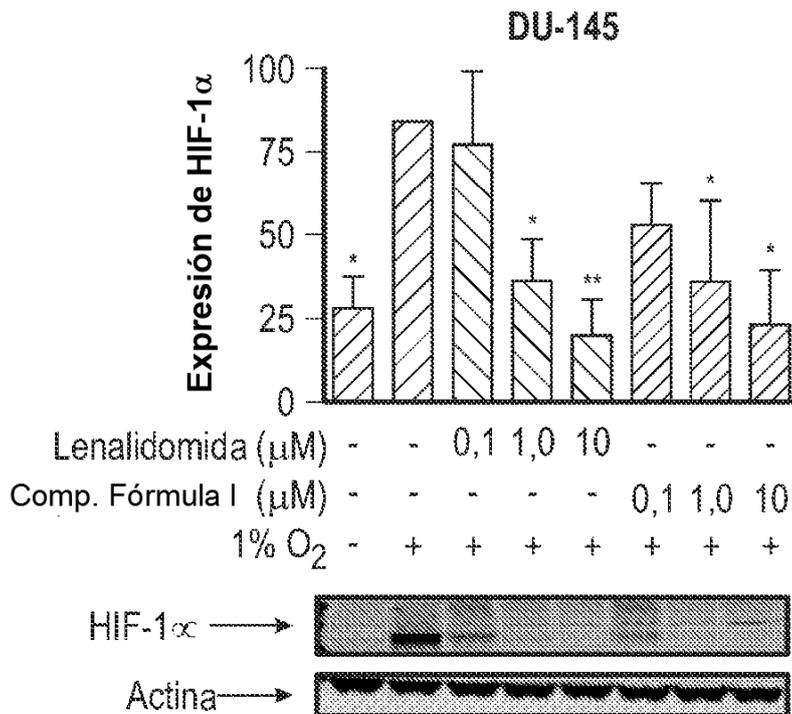


FIG. 12F

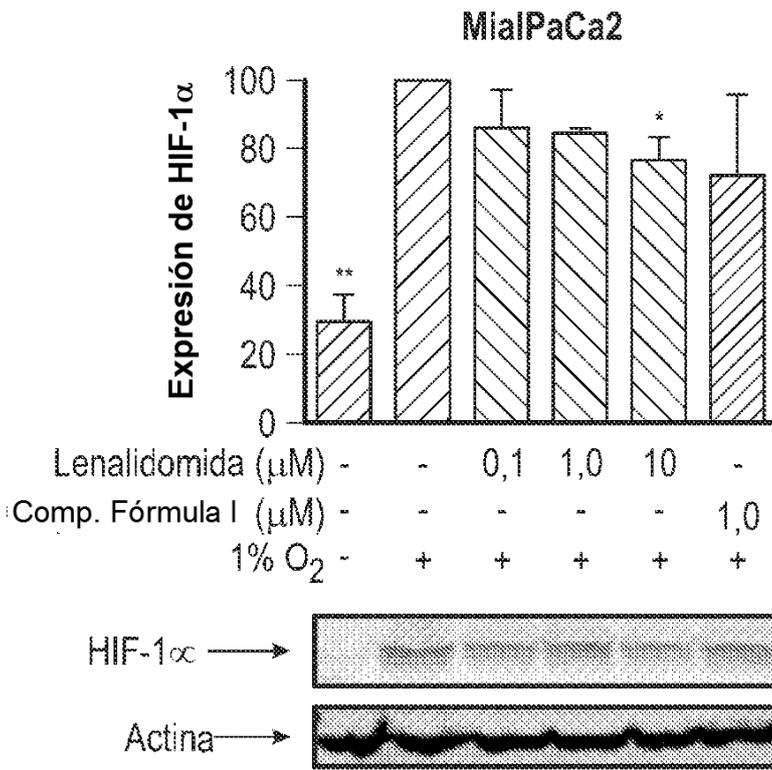


FIG. 12G

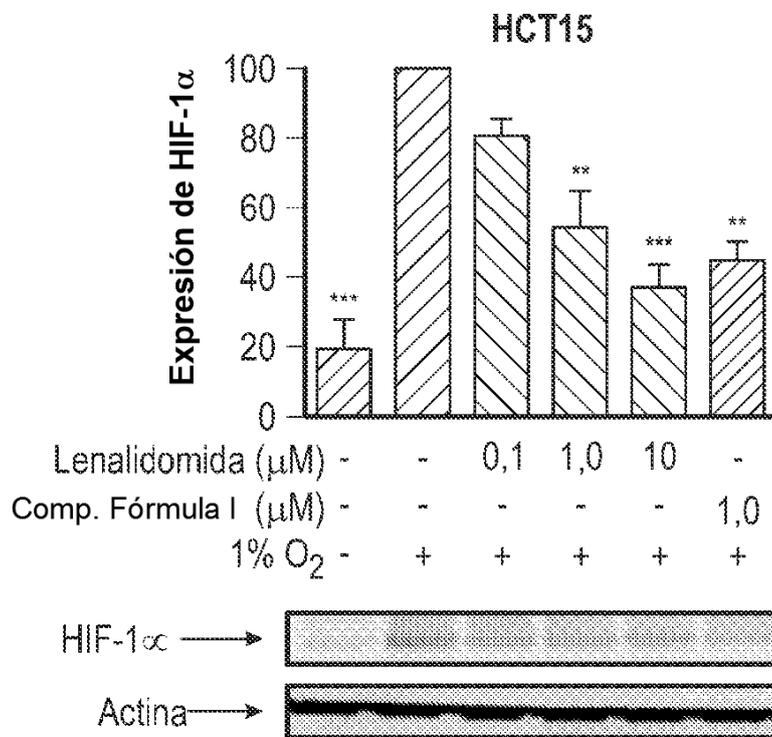


FIG. 12H

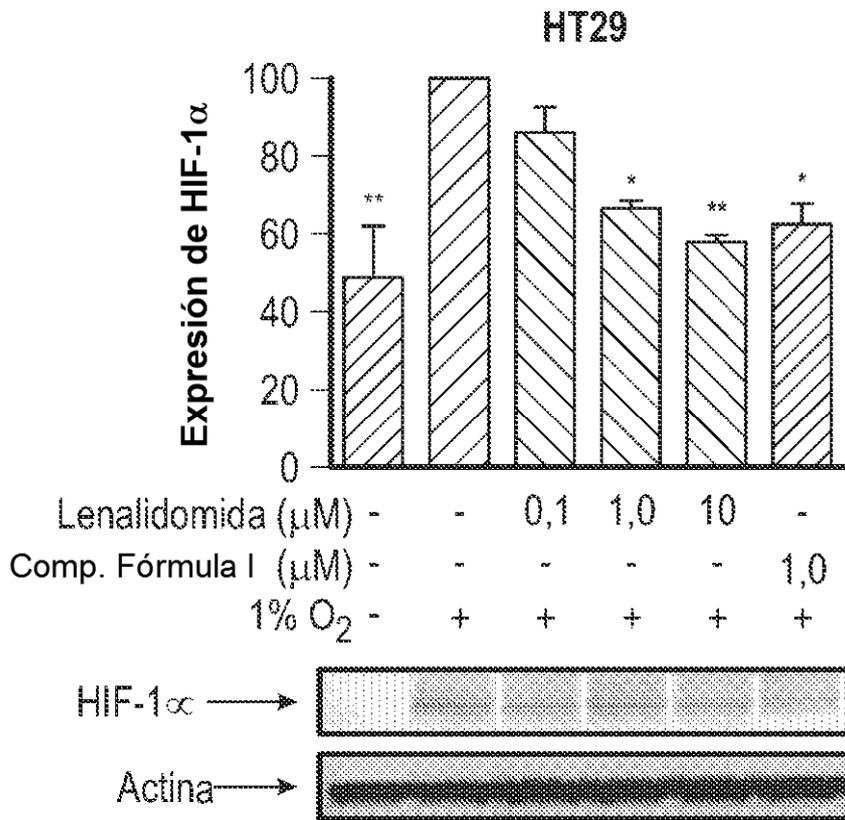


FIG. 12I

Células de mama ZR-75-1

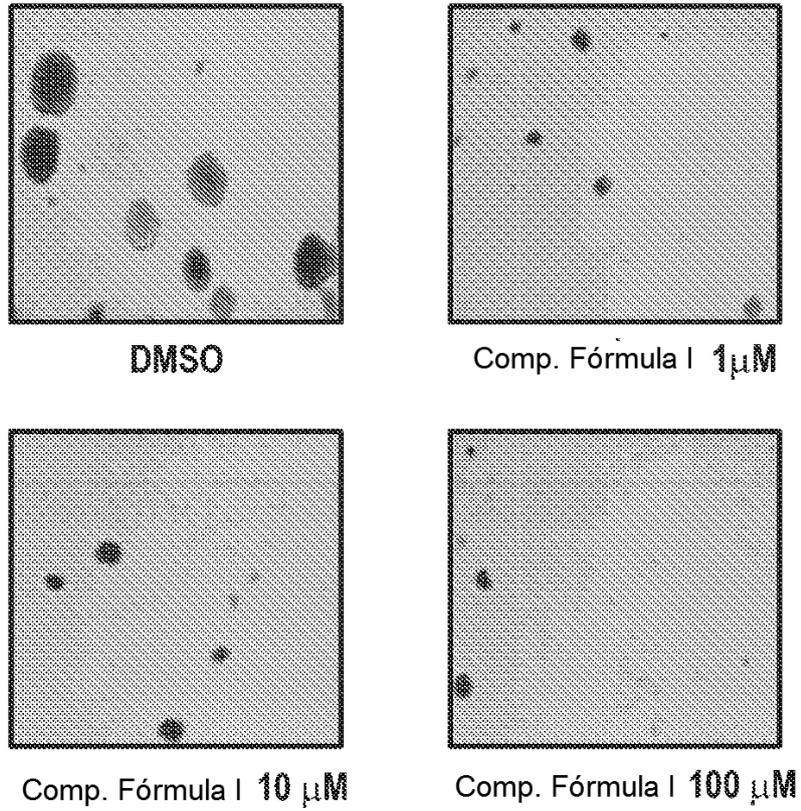


FIG. 13A

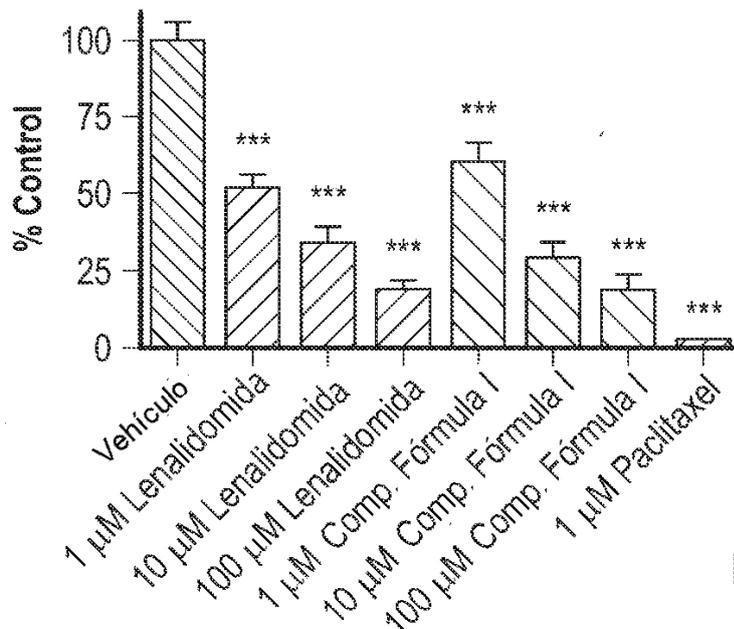


FIG. 13B

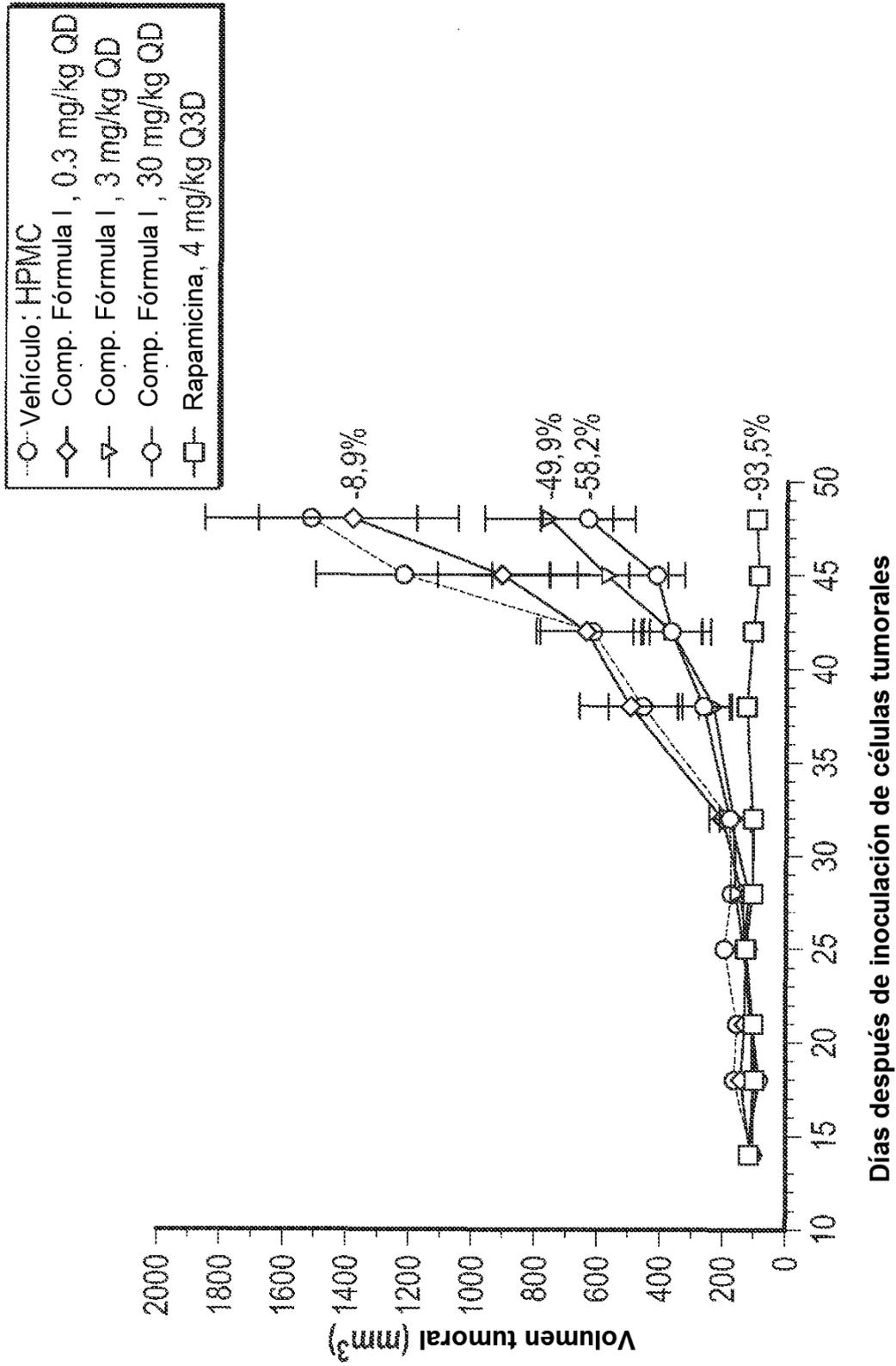


FIG. 14