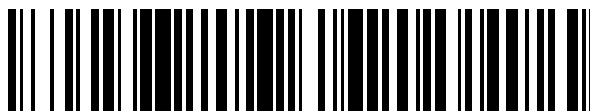


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 742**

51 Int. Cl.:

**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61K 31/00** (2006.01)  
**A61K 31/52** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 35/02** (2006.01)  
**G01N 33/574** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.11.2013 PCT/US2013/067929**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.05.2014 WO14071109**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2013 E 13792144 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.05.2018 EP 2914296**

54 Título: **Tratamiento de cánceres utilizando moduladores de isoformas de PI3 cinasa**

30 Prioridad:

**01.11.2012 US 201261721432 P**  
**05.12.2012 US 201261733852 P**  
**21.02.2013 US 201361767606 P**  
**15.03.2013 US 201313840822**  
**30.05.2013 US 201361829168 P**  
**17.06.2013 US 201361836088 P**  
**07.08.2013 US 201361863365 P**  
**08.10.2013 US 201361888454 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.11.2018**

73 Titular/es:

**INFINITY PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
**780 Memorial Drive**  
**Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**STERN, HOWARD M. y**  
**KUTOK, JEFFERY L.**

74 Agente/Representante:

**SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro**

ES 2 691 742 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

Tratamiento de cánceres utilizando moduladores de isoformas de PI3 cinasa

5 **Antecedentes**

La actividad de las células puede regularse mediante señales externas que estimulan o inhiben acontecimientos intracelulares. El procedimiento mediante el cual se transmiten señales estimuladoras o inhibitoras hacia el interior y dentro de una célula, suscitando una respuesta intracelular, se denomina transducción de señal. Durante las últimas décadas, se han esclarecido cascadas de acontecimientos de transducción de señales y se ha descubierto que desempeñan una función principal en una diversidad de respuestas biológicas. Se ha descubierto que los defectos en los diversos componentes de rutas de transducción de señales representan una inmensa mayoría de enfermedades, incluyendo numerosas formas de cánceres, trastornos inflamatorios y metabólicos, y enfermedades vasculares y neuronales (Gaestel *et al.* Current Medicinal Chemistry (2007) 14: 2214-2234).

Las cinasas representan una clase de moléculas de señalización importantes. Generalmente, las cinasas pueden clasificarse en proteína cinasas y lípido cinasas, y determinadas cinasas presentan doble especificidades. Las proteína cinasas son enzimas que fosforilan a otras proteínas y/o a ellas mismas (es decir, autofosforilación). Las proteína cinasas pueden clasificarse generalmente en tres grupos principales en función del uso de su sustrato: tirosina cinasas que fosforilan predominantemente sustratos en restos de tirosina (por ejemplo, erb2, receptor de PDGF, receptor de EGF, receptor de VEGF, src, abl), serina/treonina cinasas que fosforilan predominantemente sustratos en restos de serina y/o treonina (por ejemplo, mTorC1, mTorC2, ATM, ATR, DNA-PK, Akt) y cinasas de doble especificidad que fosforilan sustratos en restos de tirosina, serina y/o treonina.

Las lípido cinasas son enzimas que catalizan la fosforilación de lípidos. Estas enzimas, y los lípidos fosforilados resultantes así como las moléculas orgánicas biológicamente activas derivadas de los lípidos, desempeñan un papel en muchos procesos fisiológicos diferentes, incluyendo la proliferación, migración, adhesión y diferenciación celular. Determinadas lípido cinasas están asociadas a la membrana y catalizan la fosforilación de los lípidos contenidos en, o asociados con, membranas celulares. Como ejemplos de dichas enzimas se incluyen las fosfoinositida cinasas (por ejemplo, PI3-cinasas, PI4-cinasas), las diacilglicerol cinasas y las esfingosina cinasas.

La ruta de señalización de las fosfoinositida 3 cinasas (PI3K) es uno de los sistemas más altamente mutados en cánceres humanos. La señalización de PI3K es también un factor clave en muchas otras enfermedades en seres humanos. La señalización de PI3K está implicada en muchas patologías incluyendo dermatitis por contacto alérgico, artritis reumatoide, artrosis, enfermedades intestinales inflamatorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, psoriasis, esclerosis múltiple, asma, trastornos relacionados con complicaciones diabéticas y complicaciones inflamatorias del sistema cardiovascular tal como síndrome coronario agudo.

Las PI3K son miembros de una familia exclusiva y conservada de lípido cinasas intracelulares que fosforilan el grupo OH (hidroxilo) en la posición 3' en los fosfatidilinositoles o fosfoinositidas. La familia PI3K comprende 15 cinasas con distintas especificidades por el sustrato, patrones de expresión y modos de regulación. Las PI3K de la clase I (p110 $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110 $\delta$  y p100 $\gamma$ ) están típicamente activadas por tirosina cinasas o receptores acoplados a proteína G para generar PIP3, que se acopla cadena abajo con efectores tales como los de la ruta de Akt/PDK1, mTOR, las cinasas de la familia Tec, y las GTPasas de la familia Rho. Las PI3K de clase II y III desempeñan un papel clave en el transporte intracelular a través de la síntesis de PI(3)P y PI(3,4)P2. Las PI3K son proteína cinasas que controlan el crecimiento celular (mTORC1) o supervisan la integridad genómica (ATM, ATR, DNA-PK y hSmg-1).

Existen 4 isoformas de PI3K de clase I de mamíferos: PI3K- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  (las PI3K de clase Ia) y PI3K- $\gamma$  (una PI3K de clase Ib). Estas enzimas catabolizan la producción de fosfatidilinositol (3,4,5)-trisfosfato (PIP3), lo que conduce a la activación de rutas efectoras cadena abajo importantes para la supervivencia, diferenciación y función celular. La PI3K- $\alpha$  y PI3K- $\beta$  están muy expresadas y son mediadores de señalización importantes de receptores de superficie celular. PI3K- $\alpha$  es la isoforma que más frecuentemente se encuentra mutada en cánceres y tiene un papel en la señalización de insulina y en la homeostasis de la glucosa (Knight *et al.* Cell (2006) 125(4): 733-47; Vanhaesebroeck *et al.* Current Topic Microbiol. Immunol. (2010) 347: 1-19). La PI3K- $\beta$  se activa en cánceres en los que el gen homólogo de la fosfatasa y tensina (PTEN) está delecionado. Ambas isoformas son dianas de agentes terapéuticos de molécula pequeña en el desarrollo del cáncer.

PI3K- $\delta$  y - $\gamma$  se expresan preferentemente en leucocitos y son importantes en la función leucocitaria. Estas isoformas también contribuyen al desarrollo y al mantenimiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias y de neoplasias malignas hemáticas (Vanhaesebroeck *et al.* Current Topic Microbiol. Immunol. (2010) 347: 1-19; Clayton *et al.* J Exp Med. (2002) 196(6): 753-63; Fung-Leung Cell Signal. (2011) 23(4): 603-8; Okkenhaug *et al.* Science (2002) 297(5583):1031-34). PI3K- $\delta$  está activada por receptores celulares (por ejemplo, tirosina cinasas receptoras) a través de la interacción con los dominios de homología Sarc 2 (SH2) de la subunidad reguladora de PI3K (p85), o a través de la interacción directa con RAS.

PI3K- $\gamma$  está asociada con receptores acoplados a proteína G (GPCR), es responsable de la inducción muy rápida de PIP3 en respuesta a los GPCR y también puede activarse por RAS cadena abajo de otros receptores. PIP3 producida por PI3K activa rutas efectoras cadena abajo a través de la interacción con enzimas que contienen el dominio de homología de pleckstrina (PH) (por ejemplo, PDK-1 y AKT [PKB]).

Se ha observado que las dos isoformas de PI3K- $\delta$  y - $\gamma$  son importantes en muchos aspectos de la biología de los leucocitos. Las funciones reguladoras principales de cualquiera de ellas o de ambas enzimas, se ha demostrado en linfocitos B (Vanhaesebroeck *et al.* *Current Topic Microbiol. Immunol.* (2010) 347: 1-19; Clayton *et al.* *J Exp Med.* (2002) 196(6): 753-63; Fung-Leung *Cell Signal.* (2011) 23(4): 603-8; Al-Alwan *et al.* *J Immunol.* (2007) 178(4): 2328-35; Bilancio *et al.* *Blood* (2006) 107(2): 642-50; Dil *et al.* *Mol Immunol.* (2009) 46(10): 1970-78; Durand *et al.* *J Immunol.* (2009) 183(9): 5673-84; Srinivasan *et al.* *Cell* (2009) 139(3): 573-86; Zhang *et al.* *J. Allergy & Clin. Immunol.* (2008) 122(4): 811-9.e2), T cells (Vanhaesebroeck *et al.* *Current Topic Microbiol. Immunol.* (2010) 347: 1-19; Garcon *et al.* *Blood* (2008) 111(3): 1464-71; Haylock-Jacobs *et al.* *J Autoimmun.* (2011) 36(3-4): 278-87; Jarmin *et al.* *J. Clin. Invest.* (2008) 118(3): 1154-64; Ji *et al.* *Blood* (2007) 110(8): 2940-47; Liu *et al.* *J Immunol.* (2010) 184(6): 3098-105; Okkenhaug *et al.* *J. Immunol.* (2006) 177(8): 5122-28; Reif *et al.* *J. Immunol.* (2004) 173(4): 2236-40; Soond *et al.* *Blood* (2010) 115(11): 2203-13; Webb *et al.* *J. Immunol.* (2005) 175(5): 2783-87), neutrófilos (Schmid *et al.* *Cancer Cell* (2011) 19(6): 715-27), macrófagos/monocitos (Schmid *et al.* *Cancer Cell* (2011) 19(6): 715-27, Konrad *et al.* *J. Biol. Chem.* (2008) 283(48): 33296-303; Marwick *et al.* *Am J Respir Crit Care Med.* (2009) 179(7): 542-48; Randis *et al.* *Eur J Immunol.* (2008) 38(5): 1215-24), mastocitos (Ali *et al.* *Nature* (2004) 431(7011): 1007-11; Kim *et al.* *Trends Immunol.* (2008) 29(10): 493-501; Lee *et al.* *FASEB J.* (2006) 20(3): 455-65), y células NK (Guo *et al.* *J Exp Med.* (2008) 205(10): 2419-35; Kim *et al.* *Blood* (2007) 110(9): 3202-08; Saudemont *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA.* (2009) 106(14): 5795-800; Tassi *et al.* *Immunity.* (2007) 27(2): 214-27).

Se piensa que tanto PI3K- $\delta$  y como PI3K- $\gamma$  son importantes para el desarrollo y persistencia de enfermedades autoinmunitarias y neoplasias malignas hemáticas.

El documento WO2012/121953 desvela métodos para el tratamiento, prevención o mejoría de los efectos de una neoplasia maligna linfóide, tales como los asociados con un gen homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) mutado, o con leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T (LLA-T), que incluyen la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un inhibidor de fosfoinositida 3-cinasa-delta (PIK3 $\delta$ ) y un inhibidor de fosfoinositida 3-cinasa-gamma (PI3K $\gamma$ ).

El documento US2012/184568 desvela formas polimórficas de compuestos químicos que modulan la actividad cinasa, incluyendo actividad PI3 cinasa y compuestos, composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento de enfermedades y afecciones asociadas con actividad cinasa, incluyendo la actividad PI3 cinasa.

El documento WO2011/008302 desvela entidades químicas que modulan la actividad PI3K cinasa, composiciones farmacéuticas que contienen las entidades químicas y métodos de uso de estas entidades químicas para el tratamiento de enfermedades y afecciones asociadas con la actividad fosfatidil inositol 3-cinasa (PI3K).

El documento WO2009/088986 desvela entidades químicas que modulan la actividad PI3K cinasa, composiciones farmacéuticas que contienen las entidades químicas y métodos de uso de estas entidades químicas para el tratamiento de enfermedades y afecciones asociadas con la actividad PI3 cinasa.

Sigue habiendo una necesidad significativa de una terapia mejorada para cánceres tales como neoplasias malignas hemáticas.

## Sumario

Por lo tanto, de acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto para su uso como se reivindica en la reivindicación 1 más adelante, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática en un sujeto, en el que el compuesto se formula para su administración de 25 mg DVD a 75 mg DVD.

En algunas realizaciones, la neoplasia maligna hemática tiene una expresión alta de una o más isoformas de PI3K, por ejemplo, PI3K- $\delta$  y/o PI3K- $\gamma$ .

En algunas realizaciones, el compuesto puede formularse para su administración en una cantidad suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto a un nivel mayor que la  $CI_{90}$  para PI3K- $\delta$  y a un nivel mayor que la  $CI_{50}$  para PI3K- $\gamma$ .

El compuesto puede administrarse a una dosis suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario de aproximadamente 300 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, de aproximadamente 350 ng/ml a aproximadamente 450 ng/ml o de aproximadamente 380 ng/ml a aproximadamente 420 ng/ml.

La neoplasia maligna hemática puede ser leucemia linfocítica crónica (LLC) o linfoma no Hodgkin indolente.

La neoplasia maligna hemática puede ser linfoma linfocítico pequeño (LLP), linfoma folicular o linfoma de la zona marginal (LZM).

5 En algunas realizaciones, la neoplasia maligna hemática puede ser un trastorno mielóide, una enfermedad linfoidea, leucemia, linfoma, síndrome mielodisplásico, una enfermedad mieloproliferativa, un trastorno de mastocitos, mieloma, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia aguda de linfocitos T, leucemia aguda, leucemia aguda de linfocitos B, leucemia mielóide aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia mielógena crónica en fase blástica, LLC/LLP, LLC en fase blástica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma no Hodgkin de linfocitos B, linfoma no Hodgkin de linfocitos T, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma no Hodgkin de linfocitos B agresivo, linfoma de linfocitos B, síndrome de Richter, linfoma de linfocitos T, neoplasia maligna periférica de linfocitos T, linfoma periférico de linfocitos T, neoplasia maligna cutánea de linfocitos T, linfoma cutáneo de linfocitos T, micosis fungoide transformada, síndrome de Sézary, linfoma anaplásico de células grandes, macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma linfoplasmacítico, linfoma de Burkitt, mieloma múltiple, amiloidosis, trombocitosis esencial, mielofibrosis, policitemia vera, leucemia mielomonocítica crónica, síndrome mielodisplásico de alto riesgo o síndrome mielodisplásico de bajo riesgo.

20 La neoplasia maligna hemática puede ser recidivante o refractaria, en el que opcionalmente la neoplasia maligna hemática es una neoplasia maligna refractaria de linfocitos B o linfocitos T o una neoplasia recidivante de linfocitos B o linfocitos T, y opcionalmente en el que la neoplasia maligna hemática es refractaria a terapia con rituximab, quimioterapia y/o radioinmunoterapia.

25 En algunas realizaciones, el sujeto puede identificarse por tener un cambio en la concentración en suero con el tiempo o con respecto a un nivel de referencia o control de un biomarcador seleccionado entre MP-9, CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22 o TNF- $\alpha$ , o una combinación de los mismos.

30 El sujeto puede ser un mamífero, en el que opcionalmente el mamífero es un ser humano.

El compuesto puede formularse para su administración en combinación con un segundo agente activo seleccionado entre un inhibidor de BCL-2, un inhibidor de BTK, un inhibidor de HDAC, un inhibidor de MEK, un inhibidor de EZH2, un inhibidor de PLK-1, un anticuerpo anti-CD37, un anticuerpo anti-CD20 o un anticuerpo anti-CD52, y opcionalmente el anticuerpo anti-CD20 también puede seleccionarse entre rituximab, tositumomab, ibritumomab, obinutuzumab y ofatumumab.

35 El compuesto puede formularse para su administración en combinación con un segundo agente activo seleccionado entre:

- 40 (i) un inhibidor de HDAC seleccionado entre belinostat, vorinostat, panobinostat, ACY-1215 y romidepsina;  
 (ii) un inhibidor de MEK seleccionado entre tametinib/GSK1120212, selumetinob, pimasertib/AS703026/MSK1935369, XL-518/GDC-0973, refametinib/BAY869766/RDEA119, PD-0325901, TAK733, MEK162/ARRY438162, RO5126766, WX-554, RO4987655/CH4987655 y AZD8330;  
 45 (iii) un inhibidor de EZH2 seleccionado entre EPZ-6438, GSK-126, GSK-343, EI1 y 3-deazanoplanocina A (DNNep); y  
 (iv) un inhibidor de PLK-1 seleccionado entre volasertib (BI6727), BI2536, ZK-Tiazolidona, TAK-960, MLN0905, GSK461364, rigosertib (ON-01910) y HMN-214.

50 El compuesto también puede formularse para su administración en combinación con un segundo agente activo, y:

- (i) si la neoplasia maligna hemática es LNHi, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o lenalidomida o una combinación de los mismos;  
 (ii) si la neoplasia maligna hemática es LLC, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o lenalidomida o una combinación de los mismos;  
 55 (iii) si la neoplasia maligna hemática es LDLBG, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina, R-GDP o ibrutinib o una combinación de los mismos;  
 (iv) si la neoplasia maligna hemática es LDLBG, el segundo agente activo es ACY-1215;  
 (v) si la neoplasia maligna hemática es linfoma de linfocitos T, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o romidepsina o una combinación de los mismos;  
 60 (vi) si la neoplasia maligna hemática es linfoma de células del manto, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o ibrutinib o una combinación de los mismos; y  
 (vii) si la neoplasia maligna hemática es LLA-T, y el sujeto tiene una carencia de PTEN, el segundo agente activo es doxorubicina y/o vincristina.

65 El compuesto puede estar presente en una composición farmacéutica.

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto para su uso como se reivindica en la reivindicación 25 más adelante, para su uso en un sujeto en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática recidivante o refractaria.

5 De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto para su uso como se reivindica en la reivindicación 26 más adelante, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática en un sujeto, en combinación un inhibidor de BTK.

10 En algunas realizaciones, el inhibidor de BTK puede seleccionarse entre ibrutinib, GDC-0834, CGI-560, CGI-1746, HM-71224, AVL-292, ONO-4059, CNX-774 o LFM-A13.

De acuerdo con un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto para su uso como se reivindica en la reivindicación 28 más adelante, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática en un sujeto, en combinación un inhibidor de BCL-2.

15 En algunas realizaciones, el inhibidor de BCL-2 puede seleccionarse entre ABT-199, ABT-737, ABT-263, GX15-070 (mesilato de obatoclax) o G3139 (Oblimersen).

La neoplasia maligna hemática puede ser recidivante o refractaria.

20 El compuesto puede utilizarse tal cual.

La forma farmacéuticamente aceptable puede ser un hidrato.

25 En el presente documento, el compuesto para su uso con los diferentes aspectos de la invención descritos anteriormente se recibe el nombre de "Compuesto 292".

En algunas realizaciones, el compuesto puede ser una forma polimórfica C del Compuesto 292.

30 En algunas realizaciones, el compuesto puede inhibir o reducir la actividad de una PI3K de clase I. En determinadas realizaciones, la PI3K de clase I es p110  $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110  $\gamma$  o p110  $\delta$ .

En algunas realizaciones, el compuesto puede una o más isoformas PI3K de clase I, seleccionada entre PI3 cinasa- $\alpha$ , PI3 cinasa- $\beta$ , PI3 cinasa- $\gamma$  y PI3 cinasa- $\delta$ .

35 En algunas realizaciones, el compuesto puede inhibir selectivamente una isoforma PI3 cinasa- $\delta$  de clase I, en comparación con otras isoformas de PI3 cinasa de clase I. En algunas realizaciones, el compuesto puede inhibir selectivamente una isoforma PI3 cinasa- $\gamma$  de clase I, en comparación con otras isoformas PI3 cinasa de clase I. En algunas realizaciones, el compuesto puede inhibir selectivamente una isoforma PI3 cinasa- $\delta$  y una isoforma PI3 cinasa- $\gamma$  de clase I, en comparación con otras isoformas PI3 cinasa de clase I.

40 En algunas realizaciones se utiliza una composición farmacéutica, en la que composición comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y el compuesto de la invención para su uso. En algunas realizaciones, la composición es una forma líquida, sólida, semisólida, es un gel o un aerosol.

45 En una realización, el sujeto tratado es un mamífero, por ejemplo, un primate, típicamente un ser humano (por ejemplo, un paciente que tiene o está en riesgo de tener, cáncer o un trastorno hemático, tal como neoplasia maligna hemática como se describe en el presente documento). En algunas realizaciones, el sujeto tratado requiere la inhibición PI3 cinasa (por ejemplo, se ha evaluado que muestra niveles elevados o alteraciones de PI3K en otro componente de la ruta PI3K). En una realización, el sujeto recibió anteriormente otro tratamiento (por ejemplo, un tratamiento para el cáncer o un tratamiento para un trastorno hemático).

50 En algunas realizaciones, el compuesto se administra como una composición farmacéutica que comprende el compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

55 En determinadas realizaciones, el compuesto se administra o está presente en la composición, por ejemplo, la composición farmacéutica.

60 Para su uso en la invención, el compuesto puede administrarse al sujeto por vía sistémica (por ejemplo, por vía oral, parenteral, subcutánea, intravenosa, rectal, intramuscular, intraperitoneal, intranasal, transdérmica o por inhalación o por instilación intracavitaria). Típicamente, el compuesto se administra por vía oral.

El compuesto, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, pueden administrarse por vía oral. En el presente documento también se proporcionan otras vías de administración.

65

Para su uso en la invención, el compuesto proporcionado en el presente documento puede, opcionalmente, utilizarse en combinación con otras terapias (por ejemplo, uno o más agentes, procedimientos quirúrgicos, o procedimientos de radiación). Puede utilizarse cualquier combinación del compuesto y uno o más agentes o terapias distintos. El compuesto y otras terapias pueden administrarse antes del tratamiento, simultáneamente con el tratamiento o después del tratamiento o durante la remisión de la enfermedad. En una realización, un segundo agente se administra de manera simultánea o secuencial con el compuesto.

En otra realización, en el presente documento se proporciona una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que incluye el compuesto para su uso de acuerdo con la invención y uno o más agentes (por ejemplo, un segundo agente activo como se desvela en el presente documento). Adicionalmente la composición puede incluir un transportador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

### Breve descripción de los dibujos

La **Fig. 1** representa la relación FC/FD de la concentración media en plasma del fármaco y la reducción del % medio de la dosis previa para la activación de basófilos a lo largo del tiempo, después de la administración de una dosis única del Compuesto 292 en seres humanos.

La **Fig. 2** representa la relación FC/FD de la concentración media en plasma del fármaco y la reducción del % medio de la dosis previa para la activación de basófilos a lo largo del tiempo, después de la administración de dosis múltiples del Compuesto 292 en seres humanos.

La **Fig. 3** representa la respuesta farmacodinámica frente a la concentración del Compuesto 292 en seres humanos.

La **Fig. 4** representa las concentraciones plasmáticas en estado estacionario (C<sub>2D1</sub>) a lo largo del tiempo después de la administración del Compuesto 292 en seres humanos.

La **Fig. 5** representa la fosforilación de AKT en células de LLC/LLP del Compuesto 292.

La **Fig. 6** representa cambios en el tamaño del tumor después de la administración del Compuesto 292 en seres humanos.

La **Fig. 7** representa la aparición rápida de la actividad clínica del Compuesto 292 en pacientes con LLC/LLP.

La **Fig. 8** representa la actividad clínica del Compuesto 292 en pacientes con linfoma de linfocitos T.

La **Fig. 9** representa la actividad clínica del Compuesto 292 en un paciente con linfoma de linfocitos T.

La **Fig. 10** representa los cambios porcentuales en la enfermedad medible en pacientes con linfoma periférico de linfocitos T (LPLT) y linfoma cutáneo de linfocitos T.

La **Fig. 11** representa los cambios porcentuales en la enfermedad medible en pacientes con LNH agresivo (LNHa), linfoma de Hodgkin y linfoma de células del manto (LCM).

La **Fig. 12** representa los cambios porcentuales en la enfermedad medible en pacientes con LNH indolente (LNHi). Los pacientes con LNHi incluyeron pacientes con linfoma folicular, macroglobulinemia de Waldenstrom (linfoma linfoplasmaítico) y linfoma de la zona marginal (LZM).

La **Fig. 13** representa meses de estudio por sujeto y diagnóstico para pacientes tratados con el Compuesto 292.

La **Fig. 14** representa que el Compuesto 292 inhibe la producción de TNF- $\alpha$  e IL-10 de sangre entera diluida estimulada con LPS.

La **Fig. 15** representa los efectos del tratamiento con el Compuesto 292 sobre la concentración en suero de CXCL13 en pacientes con LLC/LLP y LNHi/LCM/LF.

La **Fig. 16** representa los efectos del tratamiento con el Compuesto 292 sobre la concentración en suero de CCL4 en pacientes con LLC/LLP y LNHi/LCM/LF.

La **Fig. 17** representa los efectos del tratamiento con el Compuesto 292 sobre la concentración en suero de CCL17 en pacientes con LLC/LLP y LNHi/LCM/LF.

La **Fig. 18** representa los efectos del tratamiento con el Compuesto 292 sobre la concentración en suero de CCL22 en pacientes LLC/LLP y LNHi/LCM/LF.

La **Fig. 19** representa los efectos del tratamiento con el Compuesto 292 sobre la concentración en suero de TNF- $\alpha$  en pacientes con LLC/LLP y LNHi/LCM/LF.

La **Fig. 20** representa los efectos del tratamiento con el Compuesto 292 sobre la concentración en suero de MMP9 en algunos pacientes sin LLC/LNHi.

La **Fig. 21** representa un posible mecanismo de acciones para ciertas quimiocinas en pacientes con neoplasias malignas hemáticas.

La **Fig. 22** representa concentraciones plasmáticas en estado estacionario del Compuesto 292 en el ciclo 2, día 1 de ciclos de 28 días, 25 mg y 75 mg de administración DVD (dos veces al día).

La **Fig. 23** representa la disminución en los niveles de biomarcadores de LLC en el suero en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 24** representa la disminución en los niveles de biomarcadores de LLC en el suero en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg o 75 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 25** representa la mediana del Recuento Absoluto de Linfocitos (RAL) a diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD en pacientes con RAL inicial mayor de  $10 \times 10^3/\mu\text{l}$  (línea más oscura) y RAL inicial menor de  $10 \times 10^3/\mu\text{l}$  (línea más clara).

La **Fig. 26** representa la mediana del RAL a diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD y cambios en la medición del tumor.

La **Fig. 27A** representa la disminución en los niveles de biomarcadores de linfoma en suero en diversos

momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 27B** representa la disminución en los niveles de biomarcadores de LNHi en el suero en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 28** representa la disminución en los niveles de biomarcadores de linfoma de linfocitos T en suero en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 29** representa la disminución en los niveles de biomarcadores de LNHi en suero en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg o 75 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 30A** representa el número de células de Sézary por microlitro de sangre periférica en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 30B** representa la respuesta de ciclo de umbral, CT, mostrada en términos de Suma de Diámetros de Producto (SDP) en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 30C** representa la puntuación mSWAT en diversos momentos después de ciclos de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292.

La **Fig. 31** representa la correlación entre la inhibición del crecimiento y la respuesta farmacodinámica en las líneas celulares LDLBG, DHL-6, DHL-4, Ri-1 y U2932, evaluada mediante transferencia de western de diversas proteínas.

La **Fig. 32** representa la sensibilidad de la línea celular Loucy de LLA a diferentes inhibidores de las isoformas de PI3K.

La **Fig. 33** representa la disminución en el nivel de pPRAS40 después del tratamiento con el Compuesto 292, en comparación con la administración de GS-1101, y que el nivel de pERK1/2 es mucho más bajo en las células HH que en las células MJ o HuT78.

La **Fig. 34** representa el aumento de las células de LLC positivas a Ki-67/pAKT a los 30 minutos, 4 horas, 24 horas y 72 horas después del tratamiento con un cóctel de citocinas que consiste en CD40L, IL-2 e IL-10.

La **Fig. 35** representa la reducción de las células de LLC positivas a Ki-67/pAKT tratadas con cóctel de citocinas después del tratamiento con el Compuesto 292 100 nM.

La **Fig. 36** representa el porcentaje de inhibición de la proliferación de células LLC por el Compuesto 292 en comparación con CAL-101.

La **Fig. 37A** representa recuentos absolutos de linfocitos en pacientes con LLC tratados con 25 mg del Compuesto 292 DVD.

La **Fig. 37B** representa la reducción en células LLC circulantes CD38 positivas en pacientes con LLC tratados con 25 mg del Compuesto 292 DVD.

La **Fig. 37C** representa la reducción en células LLC circulantes CD69 positivas en pacientes con LLC tratados con 25 mg del Compuesto 292 DVD.

La **Fig. 37D** representa la reducción en células LLC circulantes CD38/CD69 doble positivas en pacientes con LLC tratados con 25 mg del Compuesto 292 DVD.

La **Fig. 38** describe los efectos de la combinación del Compuesto 292/ibrutinib sobre la viabilidad de células de LDLBG en comparación con la monoterapia.

#### Descripción detallada

Aunque se han analizado realizaciones específicas, la memoria descriptiva es solo ilustrativa y no restrictiva. Tras la revisión descriptiva del presente documento, muchas variaciones de esta divulgación serán obvias para los expertos en la materia.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que normalmente entiende un experto en la materia.

Tal como usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las formas en singular “un”, “uno(a)”, “el” y “la”, incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

Tal como se usa en el presente documento y salvo que se indique otra cosa, el término “aproximadamente” o “alrededor de” significa un error aceptable para un valor concreto, determinado por un experto habitual en la materia, que depende en parte de cómo se mide o determina el valor. En determinadas realizaciones, el término “aproximadamente” o “alrededor de” significa dentro de 1, 2, 3 o 4 desviaciones estándar. En determinadas realizaciones, el término “aproximadamente” o “alrededor de” 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 determinado.

Tal como se usa en el presente documento, el término “paciente” o “sujeto” se refiere a un animal, típicamente un ser humano (por ejemplo, un hombre o una mujer de cualquier grupo de edad, por ejemplo, un paciente infantil (por ejemplo, lactante, niño, adolescente) o un paciente adulto (por ejemplo, adulto joven, adulto de mediana edad o adulto mayor) u otro mamífero, tal como un primate (por ejemplo, mono cinomolgo, mono rhesus); otros mamíferos tales como roedores (ratones, ratas), ganado, cerdos, caballos, ovejas, cabras, gatos, perros; y/o aves, que serán o han sido objeto de tratamiento, observación y/o experimento. Cuando el término se utiliza junto con la administración de un compuesto o fármaco, entonces el paciente ha sido objeto de tratamiento, observación y/o administración del compuesto o fármaco.

Un “efecto terapéutico”, tal como se utiliza esta expresión en el presente documento, incluye un beneficio terapéutico y/o beneficio profiláctico como se describe en el presente documento. Un efecto profiláctico incluye retrasar o eliminar la aparición de una enfermedad o afección, retrasar o eliminar la aparición de síntomas de una enfermedad o afección, ralentizar, detener o invertir el avance de una enfermedad o afección, o cualquier combinación de los mismos.

La expresión “cantidad eficaz” se refiere a aquella cantidad de un compuesto o composición farmacéutica, descrita en el presente documento, que es suficiente para efectuar la aplicación prevista, que incluye, pero sin limitación, tratamiento de la enfermedad, como se ilustra a continuación. Una cantidad eficaz puede variar dependiendo de la aplicación (*in vitro* o *in vivo*), prevista, o del sujeto y de la patología que vaya a tratarse, por ejemplo, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la patología, la forma de administración y similares, que puede determinar fácilmente un experto familiarizado con la técnica. La expresión también se aplica a una dosis que inducirá una respuesta concreta en las células diana. La dosis específica variará dependiendo, por ejemplo, de los compuestos particulares elegidos, del régimen de dosificación a seguir, de si se administra en combinación con otros agentes, del tiempo de administración, del tejido al cual se administra y del sistema de suministro físico en el que se realiza.

Como se usa en el presente documento, los términos “tratamiento”, “tratar”, “paliar” y “mejorar”, se utilizan indistintamente en el presente documento. Estos términos se refieren a una estrategia para obtener resultados beneficiosos o deseados que incluyen, pero sin limitación, beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Por beneficio terapéutico se entiende la erradicación o la mejoría del trastorno subyacente que se está tratando. Además, se consigue un beneficio terapéutico con la erradicación o la mejoría de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados al trastorno subyacente, de modo que se observa una mejora en el paciente, a pesar de que el paciente todavía puede estar afectado por el trastorno subyacente. Para el beneficio profiláctico, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un paciente con riesgo de desarrollar una enfermedad particular, o un paciente que refiere uno o más de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, incluso aunque no se haya realizado un diagnóstico de esta enfermedad. En una realización, estos términos también se refieren a inhibir o reducir parcial o completamente la afección que padece el sujeto. En una realización, estos términos se refieren a una acción que se produce cuando un paciente padece una afección, o está diagnosticado con la afección, lo que reduce la gravedad de la afección o retrasa o ralentiza la progresión de la afección. El tratamiento no da como resultado necesariamente una cura completa de la afección; la medición parcial o la reducción de la afección están incluidas en este término. El tratamiento pretende incluir prevención o profilaxis.

“Cantidad terapéuticamente eficaz”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad o concentración mínima de un compuesto, tal como un modulador de PI3K, que, cuando se administra solo o en combinación, es suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento de la afección, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la afección. La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” puede incluir una cantidad que mejore la terapia global, reduzca o impida los síntomas o causas de la afección o potencie la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico. La cantidad terapéutica no necesita dar como resultado una cura completa de la afección; la inhibición parcial o la reducción de la afección están incluidas en este término. La cantidad terapéuticamente eficaz también puede incluir una cantidad profilácticamente eficaz.

Como se usa en el presente documento, a menos que se especifique otra cosa, los términos “prevenir”, “impedir”, y “prevención”, se refieren a una acción que se produce antes de que el sujeto comience a padecer la afección, o recaída de la afección. La prevención no necesita dar como resultado la prevención completa de la afección; la prevención parcial o la reducción de la afección o de un síntoma de la afección, o la reducción del riesgo de desarrollar la enfermedad, están incluidas en este término.

Como se usa en el presente documento, a menos que se especifique otra cosa, una “cantidad profilácticamente eficaz” de un compuesto, tal como un modulador de PI3K, que, cuando se administra solo o en combinación, previene o reduce el riesgo de desarrollar la afección o uno o más síntomas asociados con la afección, o impide su recurrencia. La expresión “cantidad profilácticamente eficaz”, puede incluir una cantidad que mejore la profilaxis global o potencie la eficacia profiláctica de otro agente profiláctico. La cantidad profiláctica no necesita dar como resultado una prevención completa de la afección; la prevención parcial o la reducción de la afección están incluidas en esta expresión.

Como se usa en el presente documento, “disminuir”, “mejorar”, “reducir”, “tratar” (o similar) una afección o síntomas asociados con la afección, incluyen reducir la gravedad y/o frecuencia de los síntomas de la afección, así como prevenir la afección y/o los síntomas de la afección (por ejemplo, reduciendo la gravedad y/o la frecuencia de crisis de los síntomas). En algunas realizaciones, el síntoma se reduce en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 % o al menos 95 % en relación con un nivel de control. El nivel de control incluye cualquier control apropiado como se sabe en la materia. Por ejemplo, el nivel de control puede ser el nivel de tratamiento previo en la muestra o sujeto tratado, o puede ser el nivel en una población de control (por ejemplo, el nivel en sujetos que no tienen la afección o el nivel en muestras procedentes de sujetos que no tienen la afección). En algunas realizaciones, la disminución es estadísticamente significativa, por ejemplo, evaluada utilizando una comparación estadística paramétrica o no paramétrica apropiada.



Como se usa en el presente documento, “agente” o “agente biológicamente activo” o “segundo agente activo”, se refieren a un compuesto biológico, farmacéutico o químico u otro grupo. Los ejemplos no limitantes incluyen moléculas orgánicas o inorgánicas simples o complejas, un péptido, una proteína, un oligonucleótido, un anticuerpo, un derivado de anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una vitamina, un derivado de vitamina, un hidrato de carbono, una toxina o compuesto quimioterapéutico y metabolitos de los mismos. Se pueden sintetizar diversos compuestos, por ejemplo, moléculas pequeñas y oligómeros (por ejemplo, oligopéptidos y oligonucleótidos) y compuestos orgánicos sintéticos basados en diversas estructuras núcleo. Además, diversas fuentes naturales pueden proporcionar compuestos para la exploración, tales como extractos de plantas o animales y similares. Un experto en la materia puede reconocer fácilmente que no existe un límite en cuanto a la naturaleza estructural de los agentes de la presente divulgación.

El término “agonista”, como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto o agente que tiene la capacidad de iniciar o potenciar una función biológica de una proteína o polipéptido diana, tal como aumentar la actividad o expresión de la proteína o polipéptido diana. Por consiguiente, el término “agonista” se define en el contexto del papel biológico de la proteína o polipéptido diana. Aunque algunos agonistas del presente documento interaccionan específicamente con la diana, (por ejemplo, se unen a la diana), los compuestos y/o agentes que inician o potencian una actividad biológica de la proteína o polipéptido diana, interaccionando con otros miembros de la ruta de transducción de señales, de la cual el polipéptido diana es un miembro, también se incluyen específicamente en esta definición.

Los términos “antagonista” e “inhibidor” se utilizan indistintamente, y se refieren a un compuesto o a un agente que tiene la capacidad de inhibir una función biológica de una proteína o polipéptido diana, tal como inhibiendo la actividad o expresión de la proteína o polipéptido diana. Por consiguiente, los términos “antagonista” e “inhibidor” se definen en el contexto del papel biológico de la proteína o polipéptido diana. Aunque algunos agonistas del presente documento interaccionan específicamente con la diana, (por ejemplo, se unen a la diana), los compuestos que inhiben una actividad biológica de la proteína o polipéptido diana interaccionando con otros miembros de la ruta de transducción de señales de la cual el polipéptido diana es un miembro, también se incluyen específicamente en esta definición. Los ejemplos no limitantes de actividad biológica inhibida por un antagonista incluyen los asociados con el desarrollo, crecimiento o propagación de un tumor, o con una respuesta inmunitaria no deseada tal como se manifiesta en una enfermedad autoinmunitaria.

Un “agente anticanceroso”, agente antitumoral” o “agente quimioterapéutico” se refieren a cualquier agente útil en el tratamiento de una afección neoplásica. Una clase de agentes anticancerosos comprende agentes quimioterapéuticos. “Quimioterapia” significa la administración a un paciente con cáncer de uno o más fármacos quimioterapéuticos y/u otros agentes mediante diversos métodos, incluyendo la administración intravenosa, oral, intramuscular, intraperitoneal, intravesical, subcutánea, transdérmica o bucal, o por inhalación o en forma de un supositorio.

La expresión “proliferación celular” se refiere a un fenómeno por el cual el número de células ha cambiado como resultado de la división. Esta expresión también incluye el crecimiento celular por el cual la morfología celular ha cambiado (por ejemplo, ha aumentado de tamaño) en consonancia con una señal proliferativa.

La expresión “co-administración”, “administrada en combinación con” y sus equivalentes gramaticales, tal como se usa en el presente documento, incluye la administración de dos o más agentes a un sujeto de modo que ambos agentes y/o sus metabolitos estén presentes en el sujeto al mismo tiempo. La coadministración incluye la administración simultánea en composiciones distintas, la administración en diferentes momentos en composiciones distintas o la administración en una composición en la que ambos agentes están presentes.

Como se usa en el presente documento, a menos que se especifique otra cosa, un “modulador de fosfoinositida 3-cinasa (PI3K)” o “modulador de PI3K, se refiere a un modulador de una PI3K, incluyendo un inhibidor de PI3K. Las PI3K son miembros de una familia exclusiva y conservada de lípido cinasas intracelulares que fosforilan el grupo OH en la posición 3' en los fosfatidilinositoles o fosfoinositidas. La familia PI3K incluye cinasas con distintas especificidades de sustrato y distintos patrones de expresión y modos de regulación (véase, por ejemplo, Katso *et al.*, 2001, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 615 -675; Foster, F.M. *et al.*, 2003, *J Cell Sci* 116, 3037-3040). Las PI3K de clase I (por ejemplo, p110 $\alpha$ , p110  $\beta$ , p110  $\gamma$  y p110  $\delta$ ) se activan típicamente por tirosina cinasas o por receptores acoplados a proteína G para generar PIP<sub>3</sub>, lo que implica mediadores cadena abajo tales como los de la ruta de Akt/PDK1, mTOR, las cinasas de la familia Tec y las GTPasas de la familia Rho. Las PI3K de clase II (por ejemplo, PI3K-C2 $\alpha$ , PI3K-C2 $\beta$ , PI3K-C2 $\gamma$ ) y las PI3K de clase III (por ejemplo, Vps34) juegan un papel clave en el transporte intracelular a través de la síntesis de PI(3)P y PI(3,4)P<sub>2</sub>. En el presente documento se desvelan ejemplos específicos de moduladores e inhibidores de PI3K.

Las PI3K de clase I comprenden una subunidad catalítica p110 y una subunidad reguladora adaptadora. Véase, por ejemplo, Cantrell, D.A. (2001) *Journal of Cell Science* 114: 1439-1445. Cuatro isoformas de la subunidad p110 (que incluyen las isoformas PI3K- $\alpha$  (alfa), PI3K- $\beta$  (beta), PI3K- $\gamma$  (gamma) y PI3K- $\delta$  (delta)) han sido implicadas en diversas funciones biológicas. La PI3K- $\alpha$  de clase I está implicada, por ejemplo, en la señalización de la insulina, y se ha encontrado que está mutada en tumores sólidos. La PI3K- $\beta$  de clase I, está implicada, por ejemplo, en la

activación plaquetaria y en la señalización de la insulina. La PI3K- $\gamma$  de clase I desempeña un papel en la activación de mastocitos, la función inmunitaria innata y transporte de células inmunitarias (quimiocinas). La PI3K- $\delta$  de clase I, está implicada, por ejemplo, en la activación y función de linfocitos B y T y en la señalización de receptor de Fc en mastocitos. En algunas realizaciones proporcionadas en el presente documento, el compuesto es un modulador de PI3K de clase I (por ejemplo, un inhibidor). En algunas de dichas realizaciones, el compuesto inhibe o reduce la actividad de una isoforma de una PI3K- $\alpha$  (alfa), una PI3K- $\beta$  (beta), una PI3K- $\gamma$  (gamma) o una PI3K- $\delta$  (delta), o una combinación de las mismas.

Los mediadores cadena debajo de la transducción de señal de PI3K incluyen Akt y la diana de rapamicina en mamíferos (mTOR, *mammalian Target of Rapamycin*). La Akt posee un dominio de homología de pleckstrina (PH) que se une a PIP3, lo que conduce a la activación de Akt cinasa. La Akt fosforila muchos sustratos y es un efector principal cadena debajo de PI3K para diversas respuestas celulares. Una función de Akt es aumentar la actividad de mTOR, a través de la fosforilación de TSC2 y otros mecanismos. mTOR es una serina-treonina cinasa relacionada con las lípido cinasas de la familia PI3K.

La “transducción de señal” es un proceso durante el cual las señales estimuladoras o inhibitoras se transmiten hacia el interior y dentro de una célula para suscitar una respuesta intracelular. Un “modulador” de una ruta de transducción de señal se refiere a un compuesto que modula la actividad de una o más proteínas celulares mapeadas en la misma ruta de transducción de señal específica. Un modulador puede aumentar (agonista) o suprimir (antagonista) la actividad de una molécula de señalización.

A menos que se especifique otra cosa, la expresión “inhibición selectiva” o “inhibir selectivamente” o “selectivo hacia”, aplicada a un agente biológicamente activo, se refiere a la capacidad del agente para reducir selectivamente la actividad de señalización diana en comparación con la actividad de señalización inespecífica, mediante interacción directa o indirecta con la diana. Por ejemplo, un compuesto que inhibe selectivamente una isoforma de PI3K sobre otra isoforma de PI3K tiene una actividad de al menos el doble (2X) contra a una primera isoforma con respecto a la actividad del compuesto contra la segunda isoforma (por ejemplo, al menos aproximadamente 3X, 5X, 10X, 20X, 50X, 100X, 200X, 500X o 1000X).

La expresión “*in vivo*” se refiere a un acontecimiento que tiene lugar en el cuerpo de un sujeto.

La expresión “*in vitro*” se refiere a un acontecimiento que tiene lugar fuera del cuerpo de un sujeto. Por ejemplo, un ensayo *in vitro* incluye cualquier ensayo realizado fuera del cuerpo de un sujeto. Los ensayos *in vitro* incluyen ensayos basados en células en los que se emplean células vivas o muertas. Los ensayos *in vitro* también incluyen un ensayo acelular en el que no se emplean células intactas.

“Radioterapia” significa exponer a un paciente, utilizando métodos y composiciones habituales conocidos por el profesional, a emisores de radiación, tales como, pero sin limitación, radionúclidos que emiten partículas alfa (por ejemplo, radionúclidos de actino y torio), emisores de radiación con bala transferencia lineal de energía (TLE) (por ejemplo, emisores beta), emisores de electrones de conversión (por ejemplo, estroncio-89 y samario-153-EDTMP), o radiación de alta energía, incluyendo, sin limitación, rayos x, rayos gamma y neutrones.

Un “vehículo farmacéuticamente aceptable” o “excipiente farmacéuticamente aceptable”, incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos y similares. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es muy conocido en la materia. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas como se desvela en el presente documento. Los principios activos complementarios también se pueden incorporar en las composiciones farmacéuticas.

Como se usa en el presente documento, una “forma farmacéuticamente aceptable” de un compuesto descrito incluye, pero sin limitación, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos, farmacéuticamente aceptables, de los compuestos desvelados. En una realización, una “forma farmacéuticamente aceptable” incluye, pero sin limitación, sales, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos, farmacéuticamente aceptables, de los compuestos desvelados.

En determinadas realizaciones, la forma farmacéuticamente aceptable es una sal farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que son, dentro del ámbito de un buen criterio médico, adecuadas, para su uso en contacto con los tejidos de sujetos sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y que están en consonancia con una relación beneficio/riesgo razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables son muy conocidas en la materia. Por ejemplo, Berge *et al.* describen con detalle sales farmacéuticamente aceptables en *Pharmaceutical Sciences* (1977) 66: 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos proporcionados en el presente documento incluyen las derivadas de bases y ácidos inorgánicos y orgánicos adecuados. Como ejemplos de sales de adición de ácido no tóxicas, farmacéuticamente aceptables, se incluyen las sales de un grupo amino formado con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido

acético, oxálico, maleico, tartárico, cítrico, succínico o malónico o utilizando otros métodos utilizados en la materia tales como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, besilato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, camforato, camforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. En algunas realizaciones, los ácidos orgánicos de los que se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares.

Las sales farmacéuticamente aceptables derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos, de metales alcalinotérreos, de amonio y de  $N^+(C_{1-4}alquilo)_4$ . Las sales representativas de metales alcalinos o alcalinotérreos incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen, cuando sea apropiado, cationes de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicos formados utilizando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo. Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio iónico básicas y similares, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina y etanolamina. En algunas realizaciones, la sal de adición de bases farmacéuticamente aceptable se selecciona entre las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

En determinadas realizaciones, la forma farmacéuticamente aceptable es un solvato (por ejemplo, un hidrato). Como se usa en el presente documento, el término "solvato" se refiere a compuestos que incluyen además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de disolvente unido por fuerzas intermoleculares no covalentes. El solvato puede ser de un compuesto desvelado o de una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. Cuando el disolvente es agua, el solvato es un "hidrato". Los solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables son complejos que, por ejemplo, pueden incluir de 1 a aproximadamente 100, o de 1 a aproximadamente 10, o de uno a aproximadamente 2, aproximadamente 3 o aproximadamente 3 moléculas de disolvente o agua. Se entenderá que el término "compuesto", como se usa en el presente documento, incluye el compuesto y solvatos del compuesto, así como sus mezclas.

A menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también pretenden incluir compuestos que difieren sólo en presencia de uno o más átomos enriquecidos con isótopos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las estructuras presentes a excepción del reemplazo o enriquecimiento de un hidrógeno por deuterio o tritio, o el reemplazo o enriquecimiento de un carbono por  $^{13}C$  o  $^{14}C$ , se incluyen en el ámbito de esta divulgación.

La divulgación también abarca compuestos marcados con isótopos que son idénticos a los citados en el presente documento, excepto que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa que se encuentra habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos desvelados incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro, tales como, por ejemplo,  $^2H$ ,  $^3H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{14}C$ ,  $^{15}N$ ,  $^{18}O$ ,  $^{17}O$ ,  $^{31}P$ ,  $^{32}P$ ,  $^{35}S$ ,  $^{18}F$  y  $^{36}Cl$ , respectivamente. Determinados compuestos desvelados marcados con isótopos (por ejemplo, los marcados con  $^3H$  y/o  $^{14}C$ ) son útiles en ensayos de distribución tisular de compuestos y/o sustratos. Los isótopos tritados (es decir,  $^3H$ ) y carbono 14 (es decir,  $^{14}C$ ) pueden facilitar la preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tal como el deuterio (es decir,  $^2H$ ) puede ofrecer determinadas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, aumentando *in vivo* la semivida o reduciendo los requisitos de dosificación). Los compuestos desvelados marcados con isótopos pueden prepararse generalmente sustituyendo un reactivo marcado con isótopo por un reactivo no marcado con isótopo. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan compuestos que también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más átomos que constituyen dichos compuestos. Todas las variaciones isotópicas de los compuestos como se describe en el presente documento, ya sean radioactivos o no, están incluidos dentro del ámbito de la presente divulgación.

Cuando en el presente documento se utilizan intervalos de propiedades físicas, tales como peso molecular, o propiedades químicas, tales como fórmulas químicas, todas las combinaciones y subcombinaciones de intervalos y realizaciones específicas en ellas están destinadas a ser incluidas. El término "aproximadamente", cuando se refiere a un número o a un intervalo numérico, significa que el número o el intervalo numérico referido es una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o está incluido en el error experimental estadístico), y por lo tanto el número o intervalo numérico puede variar, por ejemplo, entre el 1 % y el 15 % del número o intervalo numérico indicado. Cuando se enumera un intervalo de valores, se pretende incluir cada valor y sub-intervalo dentro del intervalo.

Las definiciones de grupos funcionales específicos y términos químicos se describen con más detalle a continuación. Los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Manual de Química y Física 75ª ed., cubierta interior y los grupos funcionales específicos generalmente se definen como se describe en ese documento. Además, los principios generales de química orgánica, así como los grupos funcionales

5 específicos y la reactividad, se describen en *Organic Chemistry*, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; *Smith y March March's Advanced Organic Chemistry*, 5ª ed., John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2001; *Larock, Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers, Inc., New York, 1989; y *Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis*, 3ª ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1987.

10 Las abreviaturas utilizadas en el presente documento tienen su significado convencional dentro del campo de la química y biología. Las siguientes abreviaturas y términos tienen los significados indicados en todo momento: PI3K = fosfoinositida 3-cinasa; PI = fosfatidilinositol; PDK = cinasa dependiente de fosfoinositida; ADN-PK = proteína cinasa dependiente de ácido desoxirribonucleico; PTEN = homólogo de fosfatasa y tensina delecionado en el cromosoma

15 10; PIKK = cinasa similar a fosfoinositida cinasa; SIDA = Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida; VIH = Virus de la Inmunodeficiencia Humana; MeI = Yoduro de Metilo;  $\text{POCl}_3$  = Oxicloruro de Fósforo; KCNS = Isotiocianato de Potasio; TLC = Cromatografía de Capa Final; MeOH = Metanol; y  $\text{CHCl}_3$  = Cloroformo.

20 Un "grupo o átomo saliente" es cualquier grupo o átomo que, en las condiciones de reacción, saldrá del material de partida, promoviendo así la reacción en un sitio específico. A menos que se especifique otra cosa, son ejemplos adecuados de dichos grupos, los átomos de halógeno, los grupos mesiloxi, p-nitrobencenosulfoniloxi y tosiloxi.

25 Un "grupo protector" tiene el significado convencionalmente asociado con él en la síntesis orgánica, es decir, un grupo que bloquea selectivamente uno o más sitios reactivos en un compuesto multifuncional, de tal manera que una reacción química puede llevarse a cabo selectivamente en otro sitio reactivo desprotegido y de tal manera que el grupo puede eliminarse fácilmente después de que se complete la reacción selectiva. Se desvela una variedad de productos protectores, por ejemplo, en T.H. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999). Por ejemplo, una forma protegida con hidroxilo es cuando al menos uno de los grupos hidroxilo presentes en un compuesto está protegido con un grupo protector hidroxilo. Del mismo modo, las aminas y otros grupos reactivos se pueden proteger de manera similar.

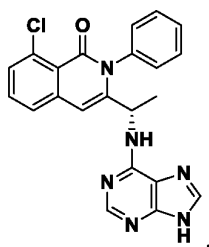
30 "Solvato" se refiere a un compuesto (por ejemplo, el compuesto para el uso de la invención o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable) en asociación física con una o más moléculas de un disolvente farmacéuticamente aceptable. Se entenderá que el compuesto para el uso de la invención incluye el compuesto y solvatos del compuesto, así como mezclas de los mismos.

35 El compuesto para el uso de la invención también incluye formas cristalinas y amorfas del compuesto, incluyendo, por ejemplo, formas polimórficas, pseudopolimórficas, solvatos, hidratos, formas polimórficas no solvatadas (incluyendo anhidratos), formas polimórficas conformacionales y formas amorfas del compuesto, así como mezclas de los mismos.

40 Como se usa en el presente documento, y a menos que se especifique otra cosa, la expresión "forma polimórfica" puede utilizarse en el presente documento para describir un material cristalino, por ejemplo, una forma cristalina. En determinadas realizaciones, "forma polimórfica", como se usa en el presente documento, también pretende incluir todas las formas cristalinas y amorfas de un compuesto o de una sal del mismo, incluyendo, por ejemplo, formas cristalinas, polimórficas, pseudopolimórficas, solvatos, hidratos, co-cristales, formas polimórficas no solvatadas (incluyendo anhidratos), formas polimórficas conformacionales y formas tautoméricas, formas cristalinas desordenadas y formas amorfas, así como sus mezclas, a menos que se haga referencia a una forma amorfa o cristalina particular. El compuesto de la presente divulgación incluye formas cristalinas y amorfas del compuesto, incluyendo, por ejemplo, formas cristalinas, formas polimórficas, formas pseudopolimórficas, solvatos, hidratos, cocrystalos, formas polimórficas no solvatadas (incluyendo anhidratos), formas polimórficas conformacionales y formas tautoméricas, formas cristalinas desordenadas y formas amorfas del compuesto o una de sus sales, así como sus mezclas.

### Compuesto 292

55 El compuesto de la invención tiene por tanto la siguiente estructura:



que en el presente documento también recibe el nombre de “Compuesto 292”.

En algunas realizaciones se utiliza una forma polimórfica del compuesto desvelado en el presente documento. En el documento US2012/0184568A (“publicación ‘568’”) se desvelan ejemplos de formas polimórficas.

En una realización, el compuesto es la Forma A del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización, el compuesto es la Forma B del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización adicional, el compuesto es la Forma C del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización más, el compuesto es la Forma D del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización más, el compuesto es la Forma E del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización más, el compuesto es la Forma F del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización más, el compuesto es la Forma G del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización más, el compuesto es la Forma H del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización más, el compuesto es la Forma I del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568. En otra realización más, el compuesto es la Forma J del Compuesto 292, como se describe en la publicación ‘568.

En realizaciones específicas, en el presente documento se proporciona un monohidrato cristalino de la base libre del Compuesto 292, como se describe, por ejemplo, en la solicitud ‘568. En realizaciones específicas, en el presente documento se proporciona una forma farmacéuticamente aceptable del Compuesto 292, que es un monohidrato cristalino de la base libre del Compuesto 292, como se describe, por ejemplo, en la solicitud ‘568.

El compuesto desvelado en el presente documento puede estar en forma de sales, hidratos, solvatos, cocrystalos, clatratos, formas polimórficas, derivados marcados con isótopos, o mezclas de los mismos, farmacéuticamente aceptables.

Las entidades químicas descritas en el presente documento pueden sintetizarse de acuerdo con los métodos ejemplares desvelados en los documentos US 2009/0312319, WO 2011/008302A1 y US2012/0184568, según métodos conocidos en la materia.

### **Composiciones farmacéuticas**

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto como se desvela en el presente documento o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos y derivados marcados con isótopos farmacéuticamente aceptables) y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, incluyendo diluyentes sólidos inertes y cargas, solución acuosa estéril y diversos disolventes orgánicos, potenciadores de infiltración, solubilizantes y adyuvantes. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica descrita en el presente documento incluye un segundo agente activo, tal como un agente terapéutico adicional (por ejemplo, un agente quimioterapéutico).

### **1. Formulaciones**

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse especialmente para la administración en forma sólida o líquida, incluidas las adaptadas para lo siguiente: administración oral, por ejemplo, inmersiones (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos (por ejemplo, los destinados a la absorción bucal, sublingual y sistémica), cápsulas, bolos, polvos, gránulos, pastas para la aplicación en la lengua y vías intraduodenales; administración parenteral, que incluye la administración intravenosa, intraarterial, subcutánea, intramuscular, intravascular, intraperitoneal o infusión, tal como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril o una formulación de liberación sostenida; una aplicación tópica, por ejemplo, tal como crema, pomada, o un parche o aerosol de liberación controlada aplicado en la piel; administración intravaginal o intrarrectal, por ejemplo, como un pesario, una crema, un *stent* o una espuma; administración sublingual; ocular; pulmonar; suministro local mediante catéter o *stent*; intratecal o nasal.

Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tal como el oleato de etilo. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, utilizando materiales de revestimiento, tales como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y utilizando tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes, dispersantes, lubricantes y/o antioxidantes. La prevención de la acción de los microorganismos sobre el compuesto descrito en el presente documento, se puede garantizar incluyendo diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir en las composiciones agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede lograrse incluyendo agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de asociar el compuesto descrito en el presente documento y/o el agente quimioterapéutico, con el vehículo y, opcionalmente, con uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima, un compuesto como se desvela en el presente documento con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si fuese necesario, dando forma al producto.

Las preparaciones para dichas composiciones farmacéuticas son muy conocidas en la materia. Véase, por ejemplo, Anderson, Philip O.; Knoben, James E.; Troutman, William G, eds., Handbook of Clinical Drug Data, 10ª edición, McGraw-Hill, 2002; Pratt y Taylor, eds., Principles of Drug Action, 3ª edición, Churchill Livingstone, Nueva York, 1990; Katzung, ed., Basic and Clinical Pharmacology, 12ª edición, McGraw Hill, 2011; Goodman y Gilman, eds., The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10ª edición, McGraw Hill, 2001; Remingtons Pharmaceutical Sciences, 20ª Ed., Lippincott Williams & Wilkins., 2000; Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 32ª edición (The Pharmaceutical Press, Londres, 1999). Excepto en la medida en la que cualquier medio de excipiente convencional sea incompatible con el compuesto proporcionado en el presente documento, tal como produciendo cualquier efecto biológico indeseable o, de otra manera, interactuando de una manera perjudicial con cualquier otro componente (o componentes) de la composición farmacéuticamente aceptable, se contempla que el uso de excipientes esté dentro del ámbito de esta divulgación.

En algunas realizaciones, la concentración del compuesto proporcionado en las composiciones farmacéuticas desveladas es igual a o menor que aproximadamente 100 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 19 %, aproximadamente 18 %, aproximadamente 17 %, aproximadamente 16 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 14 %, aproximadamente 13 %, aproximadamente 12 %, aproximadamente 11 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 9 %, aproximadamente 8 %, aproximadamente 7 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 1 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 0,4 %, aproximadamente 0,3 %, aproximadamente 0,2 %, aproximadamente 0,1 %, aproximadamente 0,09 %, aproximadamente 0,08 %, aproximadamente 0,07 %, aproximadamente 0,06 %, aproximadamente 0,05 %, aproximadamente 0,04 %, aproximadamente 0,03 %, aproximadamente 0,02 %, aproximadamente 0,01 %, aproximadamente 0,009 %, aproximadamente 0,008 %, aproximadamente 0,007 %, aproximadamente 0,006 %, aproximadamente 0,005 %, aproximadamente 0,004 %, aproximadamente 0,003 %, aproximadamente 0,002 %, aproximadamente 0,001 %, aproximadamente 0,0009 %, aproximadamente 0,0008 %, aproximadamente 0,0007 %, aproximadamente 0,0006 %, aproximadamente 0,0005 %, aproximadamente 0,0004 %, aproximadamente 0,0003 %, aproximadamente 0,0002 %, o aproximadamente 0,0001 % p/p, p/v o v/v.

En algunas realizaciones, la concentración del compuesto como se desvela en el presente documento es mayor que aproximadamente 90 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 19,75 %, aproximadamente 19,50 %, aproximadamente 19,25 %, aproximadamente 19 %, aproximadamente 18,75 %, aproximadamente 18,50 %, aproximadamente 18,25 %, aproximadamente 18 %, aproximadamente 17,75 %, aproximadamente 17,50 %, aproximadamente 17,25 %, aproximadamente 17 %, aproximadamente 16,75 %, aproximadamente 16,50 %, aproximadamente 16,25 %, aproximadamente 16 %, aproximadamente 15,75 %, aproximadamente 15,50 %, aproximadamente 15,25 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 14,75 %, aproximadamente 14,50 %, aproximadamente 14,25 %, aproximadamente 14 %, aproximadamente 13,75 %, aproximadamente 13,50 %, aproximadamente 13,25 %, aproximadamente 13 %, aproximadamente 12,75 %, aproximadamente 12,50 %, aproximadamente 12,25 %, aproximadamente 12 %, aproximadamente 11,75 %, aproximadamente 11,50 %, aproximadamente 11,25 %, aproximadamente 11 %, aproximadamente 10,75 %, aproximadamente 10,50 %, aproximadamente 10,25 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 9,75 %, aproximadamente 9,50 %, aproximadamente 9,25 %, aproximadamente 9 %, aproximadamente 8,75 %, aproximadamente 8,50 %, aproximadamente 8,25 %, aproximadamente 8 %, aproximadamente 7,75 %, aproximadamente 7,50 %, aproximadamente 7,25 %, aproximadamente 7 %, aproximadamente 6,75 %, aproximadamente 6,50 %, aproximadamente 6,25 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 5,75 %, aproximadamente 5,50 %, aproximadamente 5,25 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 4,75 %, aproximadamente 4,50 %, aproximadamente 4,25 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 3,75 %, aproximadamente 3,50 %, aproximadamente 3,25 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 2,75 %, aproximadamente 2,50 %, aproximadamente 2,25 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 1,75 %, aproximadamente 1,50 %, aproximadamente 1,25 %, aproximadamente 1 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 0,4 %, aproximadamente 0,3 %, aproximadamente 0,2 %, aproximadamente 0,1 %, aproximadamente 0,09 %, aproximadamente 0,08 %, aproximadamente 0,07 %, aproximadamente 0,06 %, aproximadamente 0,05 %, aproximadamente 0,04 %, aproximadamente 0,03 %, aproximadamente 0,02 %, aproximadamente 0,01 %, aproximadamente 0,009 %, aproximadamente 0,008 %, aproximadamente 0,007 %, aproximadamente 0,006 %, aproximadamente 0,005 %, aproximadamente 0,004 %, aproximadamente 0,003 %, aproximadamente 0,002 %, aproximadamente 0,001 %, aproximadamente 0,0009 %, aproximadamente 0,0008 %, aproximadamente 0,0007 %, aproximadamente 0,0006 %, aproximadamente 0,0005 %, aproximadamente 0,0004 %, aproximadamente 0,0003 %, aproximadamente 0,0002 %, o

aproximadamente 0,0001 %, p/p, p/v o v/v.

En algunas realizaciones, la concentración del compuesto como se desvela en el presente documento está en el intervalo de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 40 %, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 29 %, de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 28 %, de aproximadamente 0,04 % a aproximadamente 27 %, de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 26 %, de aproximadamente 0,06 % a aproximadamente 25 %, de aproximadamente 0,07 % a aproximadamente 24 %, de aproximadamente 0,08 % a aproximadamente 23 %, de aproximadamente 0,09 % a aproximadamente 22 %, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 21 %, de aproximadamente 0,2 % a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 0,3 % a aproximadamente 19 %, de aproximadamente 0,4 % a aproximadamente 18 %, de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 17 %, de aproximadamente 0,6 % a aproximadamente 16 %, de aproximadamente 0,7 % a aproximadamente 15 %, de aproximadamente 0,8 % a aproximadamente 14 %, de aproximadamente 0,9 % a aproximadamente 12 %, o de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 %, p/p, p/v o v/v.

En algunas realizaciones, la concentración del compuesto como se desvela en el presente documento está en el intervalo de aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 4,5 %, de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 4 %, de aproximadamente 0,04 % a aproximadamente 3,5 %, de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 3 %, de aproximadamente 0,06 % a aproximadamente 2,5 %, de aproximadamente 0,07 % a aproximadamente 2 %, de aproximadamente 0,08 % a aproximadamente 1,5 %, de aproximadamente 0,09 % a aproximadamente 1 %, o de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 0,9 %, p/p, p/v o v/v.

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto como se desvela en el presente documento es igual a o menor que aproximadamente 10 g, aproximadamente 9,5 g, aproximadamente 9,0 g, aproximadamente 8,5 g, aproximadamente 8,0 g, aproximadamente 7,5 g, aproximadamente 7,0 g, aproximadamente 6,5 g, aproximadamente 6,0 g, aproximadamente 5,5 g, aproximadamente 5,0 g, aproximadamente 4,5 g, aproximadamente 4,0 g, aproximadamente 3,5 g, aproximadamente 3,0 g, aproximadamente 2,5 g, aproximadamente 2,0 g, aproximadamente 1,5 g, aproximadamente 1,0 g, aproximadamente 0,95 g, aproximadamente 0,9 g, aproximadamente 0,85 g, aproximadamente 0,8 g, aproximadamente 0,75 g, aproximadamente 0,7 g, aproximadamente 0,65 g, aproximadamente 0,6 g, aproximadamente 0,55 g, aproximadamente 0,5 g, aproximadamente 0,45 g, aproximadamente 0,4 g, aproximadamente 0,35 g, aproximadamente 0,3 g, aproximadamente 0,25 g, aproximadamente 0,2 g, aproximadamente 0,15 g, aproximadamente 0,1 g, aproximadamente 0,09 g, aproximadamente 0,08 g, aproximadamente 0,07 g, aproximadamente 0,06 g, aproximadamente 0,05 g, aproximadamente 0,04 g, aproximadamente 0,03 g, aproximadamente 0,02 g, aproximadamente 0,01 g, aproximadamente 0,009 g, aproximadamente 0,008 g, aproximadamente 0,007 g, aproximadamente 0,006 g, aproximadamente 0,005 g, aproximadamente 0,004 g, aproximadamente 0,003 g, aproximadamente 0,002 g, aproximadamente 0,001 g, aproximadamente 0,0009 g, aproximadamente 0,0008 g, aproximadamente 0,0007 g, aproximadamente 0,0006 g, aproximadamente 0,0005 g, aproximadamente 0,0004 g, aproximadamente 0,0003 g, aproximadamente 0,0002 g, o aproximadamente 0,0001 g.

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto como se desvela en el presente documento es más de aproximadamente 0,0001 g, aproximadamente 0,0002 g, aproximadamente 0,0003 g, aproximadamente 0,0004 g, aproximadamente 0,0005 g, aproximadamente 0,0006 g, aproximadamente 0,0007 g, aproximadamente 0,0008 g, aproximadamente 0,0009 g, aproximadamente 0,001 g, aproximadamente 0,0015 g, aproximadamente 0,002 g, aproximadamente 0,0025 g, aproximadamente 0,003 g, aproximadamente 0,0035 g, aproximadamente 0,004 g, aproximadamente 0,0045 g, aproximadamente 0,005 g, aproximadamente 0,0055 g, aproximadamente 0,006 g, aproximadamente 0,0065 g, aproximadamente 0,007 g, aproximadamente 0,0075 g, aproximadamente 0,008 g, aproximadamente 0,0085 g, aproximadamente 0,009 g, aproximadamente 0,0095 g, aproximadamente 0,01 g, aproximadamente 0,015 g, aproximadamente 0,02 g, aproximadamente 0,025 g, aproximadamente 0,03 g, aproximadamente 0,035 g, aproximadamente 0,04 g, aproximadamente 0,045 g, aproximadamente 0,05 g, aproximadamente 0,055 g, aproximadamente 0,06 g, aproximadamente 0,065 g, aproximadamente 0,07 g, aproximadamente 0,075 g, aproximadamente 0,08 g, aproximadamente 0,085 g, aproximadamente 0,09 g, aproximadamente 0,095 g, aproximadamente 0,1 g, aproximadamente 0,15 g, aproximadamente 0,2 g, aproximadamente 0,25 g, aproximadamente 0,3 g, aproximadamente 0,35 g, aproximadamente 0,4 g, aproximadamente 0,45 g, aproximadamente 0,5 g, aproximadamente 0,55 g, aproximadamente 0,6 g, aproximadamente 0,65 g, aproximadamente 0,7 g, aproximadamente 0,75 g, aproximadamente 0,8 g, aproximadamente 0,85 g, aproximadamente 0,9 g, aproximadamente 0,95 g, aproximadamente 1 g, aproximadamente 1,5 g, aproximadamente 2 g, aproximadamente 2,5 g, aproximadamente 3 g, aproximadamente 3,5 g, aproximadamente 4 g, aproximadamente 4,5 g, aproximadamente 5 g, aproximadamente 5,5 g, aproximadamente 6 g, aproximadamente 6,5 g, aproximadamente 7 g, aproximadamente 7,5 g, aproximadamente 8 g, aproximadamente 8,5 g, aproximadamente 9 g, aproximadamente 9,5 g, o aproximadamente 10 g.

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto como se desvela en el presente documento está en el intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 10 g, de aproximadamente 0,0005 a aproximadamente 5 g, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 1 g, de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 0,5 g, de 0,005 a

aproximadamente 0,5 g, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 g, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05 g, o de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,1 g.

#### 1A. Formulaciones para administración oral

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para administración oral que contienen el compuesto como se desvela en el presente documento y un excipiente farmacéutico, adecuado para administración oral. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para administración oral que contienen: (i) una cantidad eficaz del compuesto desvelado; opcionalmente (ii) una cantidad eficaz de uno o más segundos agentes; y (iii) uno o más excipientes farmacéuticos adecuados para la administración oral. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica contiene además: (iv) una cantidad eficaz de un tercer agente.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica líquida adecuada para el consumo oral. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden presentarse como formas de dosificación distintas, tales como cápsulas, sellos o comprimidos o pulverizaciones líquidas o aerosoles que contienen cada una de ellas una cantidad predeterminada de un principio activo, tal como un polvo o en gránulos, una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, una emulsión de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. Dichas formas de dosificación se pueden preparar mediante cualquier de los métodos de farmacia, pero todos los métodos incluyen la etapa de poner el principio activo en asociación con el vehículo, que constituye uno o más ingredientes. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan mezclando de manera uniforme e íntima el principio activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después, si fuera necesario, dando forma al producto en la preparación deseada. Por ejemplo, un comprimido puede prepararse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más principios auxiliares. Los comprimidos preparados por compresión se pueden preparar comprimiendo en una compresora adecuada el principio activo en una forma de flujo libre, tal como un polvo o gránulos, mezclando opcionalmente con un excipiente tal como, pero sin limitación, un aglutinante, un lubricante, un diluyente inerte y/o un tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo, humedecida con un diluyente líquido inerte.

La presente divulgación incluye además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden un principio activo, ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos compuestos. Por ejemplo, en las técnicas farmacéuticas, se puede añadir agua (por ejemplo, aproximadamente 5%), como un medio para simular el almacenamiento prolongado con el fin de determinar características tales como la vida útil o la estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Utilizando principios anhidros, o que contengan poca humedad y en condiciones de baja hidratación o humedad, pueden prepararse composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que contienen lactosa pueden hacerse anhidras si durante la fabricación, el envasado y/o el almacenamiento, se espera un contacto sustancial con la humedad. Se puede preparar y almacenar una composición farmacéutica anhidra de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. En consecuencia, las composiciones farmacéuticas anhidras se pueden envasar utilizando materiales que se sabe que impiden la exposición al agua de manera que se pueden incluir en kits farmacéuticos adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, pero sin limitación, láminas, plásticos o materiales similares, recipientes monodosis, envases alveolados y en tiras, herméticamente sellados.

Se puede combinar un principio activo en una mezcla íntima con un vehículo farmacéutico según las técnicas de preparaciones farmacéuticas convencionales. El vehículo puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Al preparar las composiciones farmacéuticas para una forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como vehículos, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares, en el caso de preparaciones líquidas orales (tales como suspensiones, soluciones y elixires) o aerosoles; o en algunas realizaciones, en el caso de preparaciones sólidas orales pueden utilizarse vehículos, tales como, almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes y agentes disgregantes, sin tener que utilizar lactosa. Por ejemplo, los vehículos adecuados con las preparaciones orales sólidas, incluyen polvos, cápsulas y comprimidos. En algunas realizaciones, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas acuosas o no acuosas convencionales.

Los aglutinantes adecuados para su uso en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero sin limitación, almidón de maíz, almidón de patata u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, alginato de sodio, ácido alginico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetil celulosa de calcio, carboximetil celulosa de sodio), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmetil celulosa, celulosa microcristalina y mezclas de los mismos.

Los ejemplos de cargas adecuadas para su uso en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación desveladas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, talco, carbonato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvos), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón,



almidón pregelatinizado y mezclas de los mismos.

En las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento pueden utilizarse disgregantes para proporcionar comprimidos que se disgregan cuando se exponen a un entorno acuoso. Demasiado disgregante puede producir comprimidos que se pueden disgregar en el frasco. Demasiado poco disgregante puede ser insuficiente para que se produzca la disgregación y por lo tanto puede alterar la velocidad y el grado de liberación del (de los) principio(s) activo(s) de la forma de dosificación. Por lo tanto, se puede utilizar una cantidad suficiente de disgregante para que no sea ni demasiado pequeña ni demasiado grande para alterar perjudicialmente la liberación del (de los) principios(s) activo(s) para constituir las formas de dosificación del compuesto desvelado en el presente documento. La cantidad de disgregante utilizada puede variar en función del tipo de formulación y modo de administración, y puede ser fácilmente discernible para los expertos en la materia. En la composición farmacéutica puede utilizarse de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de disgregante, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso de disgregante. Los disgregantes pueden utilizarse para formar composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero sin limitación, agar, ácido alginico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, polacrilina potásica, glicolato sódico de almidón, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidón pregelatinizado, otros almidones, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas o mezclas de los mismos.

Los lubricantes que pueden utilizarse para formar las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero sin limitación, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, lauril sulfato sódico, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, 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 o mezclas de los mismos. Como lubricantes adicionales se incluyen, por ejemplo, un gel de sílice xiloideo, un aerosol coagulado de sílice sintético o mezclas de los mismos. Opcionalmente, se puede añadir un lubricante en una cantidad de menos de aproximadamente 1 por ciento en peso de la composición farmacéutica.

Cuando se desean suspensiones acuosas y/o elixires para la administración oral, el principio activo en el mismo puede combinarse con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materia colorante o pigmentos y, por ejemplo, agentes emulsionantes y/o de suspensión, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diversas combinaciones de los mismos.

Los comprimidos pueden recubrirse, o no, mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y la absorción en el tubo gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un periodo más prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material retardador tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en la que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo se mezcla con agua o con un medio oleaginoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

El tensioactivo que puede utilizarse para formar las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero sin limitación, tensioactivos hidrófilos, tensioactivos lipófilos y mezclas de los mismos. Es decir, puede emplearse una mezcla de tensioactivos hidrófilos, una mezcla de tensioactivos lipófilos, una mezcla de al menos un tensioactivo hidrófilo y al menos un tensioactivo lipófilo.

Un tensioactivo hidrófilo adecuado generalmente puede tener un valor de HLB (acrónimo inglés de *Hydrophilic-Lipophilic Balance*) de al menos aproximadamente 10, mientras que los tensioactivos lipófilos adecuados pueden tener generalmente un valor de HLB de 10 o menor que aproximadamente 10. Un parámetro empírico utilizado para caracterizar la hidrofiliidad e hidrofobicidad relativas de los compuestos anfífilos no iónicos es el equilibrio hidrófilo-lipófilo (valor "HLB"). Las tensiones con valores de HLB más bajos son más lipófilos o hidrófobos, y tienen mayor solubilidad en aceites, mientras que los tensioactivos con valores de HLB más altos son más hidrófilos y tienen mayor solubilidad en soluciones acuosas. Generalmente, se considera que los tensioactivos hidrófilos son aquellos compuestos que tienen un valor de HLB mayor que aproximadamente 10, así como los compuestos aniónicos, catiónicos o zwitteriónicos para los cuales la escala de HLB no es generalmente aplicable. Del mismo modo, los tensioactivos lipófilos (es decir, hidrófobos) son compuestos que tienen un valor de HLB igual a, o menor que, aproximadamente 10. Sin embargo, el valor de HLB de un tensioactivo es simplemente una orientación aproximada generalmente utilizada para permitir la formulación de emulsiones industriales, farmacéuticas y cosméticas.

Los tensioactivos hidrófilos pueden ser iónicos o no iónicos. Los tensioactivos iónicos adecuados incluyen, pero sin limitación, sales de alquilamonio; sales de ácido fusídico; derivados de ácidos grasos de aminoácidos, oligopéptidos y polipéptidos; derivados de glicéridos de aminoácidos, oligopéptidos y polipéptidos; lecitinas y lecitinas hidrogenadas; lisolecitinas y lisolecitinas hidrogenadas; fosfolípidos y derivados de los mismos; lisofosfolípidos y sus derivados; sales de ésteres de ácidos grasos de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; acilactilatos; ésteres de ácido tartárico mono- y diacetilados de mono- y diglicéridos; mono- y di-glicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y di-glicéridos; y mezclas de los mismos.

Dentro del grupo mencionado anteriormente, los tensioactivos iónicos incluyen, como ejemplo: lecitinas, lisolecitina, fosfolípidos, lisofosfolípidos y derivados de los mismos; sales de ésteres de ácidos grasos de carnitina; sales de alquilsulfatos; sales de ácidos grasos; docusato de sodio; acilactilatos; ésteres de ácido tartárico mono- y diacetilados de mono- y diglicéridos; mono- y diglicéridos succinilados; ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos; y mezclas de los mismos.

Los tensioactivos iónicos pueden ser las formas ionizadas de lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidil etanolamina, lisofosfatidilglicerol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidil serina, PEG-fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina, ésteres lácticos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato, estearoil lactilato, monoglicéridos succinilados, ésteres mono/diacetilados de ácido tartárico de mono/diglicéridos, ésteres de ácido cítrico de mono/diglicéridos, colilsarcosina, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, oleato, ricinoleato, linoleato, linolenato, estearato, lauril sulfato, teracecil sulfato, docusato, lauroil carnitina, palmitoil carnitina, miristoil carnitina y sales y mezclas de los mismos.

Los tensioactivos no iónicos hidrófilos pueden incluir, pero sin limitación, alquilglucósidos; alquilmaltósidos; alquiltioglucoídos; macroglicéridos de laurilo, éteres de polioxialquilen alquilo, tales como éteres de polietilenglicol alquilo; polioxialquilen alquilfenoles tales como polietilenglicol alquil fenoles; ésteres de ácidos grasos de polioxialquilen alquilfenol tales como monoésteres de ácidos grasos de polietilenglicol y diésteres de ácidos grasos de polietilenglicol; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol glicerol; ésteres de ácidos grasos de poliglicerol; ésteres de ácidos grasos de polioxialquilen sorbitán, tales como ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán; productos de transesterificación hidrófilos de un poliol con al menos un miembro de glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides; esteroides de polioxietileno, derivados y análogos de los mismos; vitaminas polioxietiladas y sus derivados; copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno y mezclas de los mismos; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán y productos de transesterificación hidrófilos de un poliol con al menos un miembro de triglicéridos, aceites vegetales y aceites vegetales hidrogenados. El poliol puede ser glicerol, etilenglicol, polietilenglicol, sorbitol, propilenglicol, pentaeritritol o un sacárido.

Otros tensioactivos no iónicos hidrófilos incluyen, sin limitación, laurato de PEG-10, laurato de PEG-12, laurato de PEG-20, laurato de PEG-32, dilaurato de PEG-32, oleato de PEG-12, oleato de PEG-15, oleato de PEG-20, dioleato de PEG-20, oleato de PEG-32, oleato de PEG-200, oleato de PEG-400, estearato de PEG-15, diestearato de PEG-32, estearato de PEG-40, estearato de PEG-100, dilaurato de PEG-20, gliceril trioleato de PEG-25, dioleato de PEG-32, gliceril laurato de PEG-20 gliceril laurato de PEG-30, estearato de glicerilo de PEG-20, oleato de glicerilo de PEG-20, oleato de glicerilo de PEG-30, gliceril laurato de PEG-30, gliceril laurato de PEG-40, aceite de palmiste de PEG-40, aceite de ricino hidrogenado de PEG-50, aceite de ricino de PEG-40, aceite de ricino de PEG-35, aceite de ricino de PEG-60, aceite de ricino hidrogenado de PEG-40, aceite de ricino hidrogenado de PEG-60, aceite de maíz de PEG-60, glicéridos de caprato/caprilato de PEG-6, glicéridos de caprato/caprilato de PEG-8, poligliceril-10 laurato, colesterol de PEG-30, fitosterol de PEG-25, esteroil de soja de PEG-30, trioleato de PEG-20, oleato de sorbitán de PEG-40, laurato de sorbitán de PEG-80, polisorbato 20, polisorbato 80, lauril éter de POE-9, lauril éter de POE-23, oleil éter de POE-10, oleil éter de POE-20, esteroil éter de POE-20, tocoferil succinato de PEG-100, colesterol PEG-24, poligliceril-10 oleato, Tween 40, Tween 60, monoestearato de sacarosa, monolaurato de sacarosa, monopalmítico de sacarosa, serie PEG 10-100 nonil fenol, serie PEG 15-100 octil fenol y poloxámeros.

Los tensioactivos lipófilos adecuados incluyen, solo como ejemplo: alcoholes grasos; ésteres de ácidos grasos de glicerol; ésteres de ácidos grasos de glicerol acetilados; ésteres de ácidos grasos de alcoholes inferiores; ésteres de ácidos grasos de propilenglicol; ésteres de ácidos grasos de sorbitán; ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol sorbitán; esteroides y derivados de esteroil; esteroides polioxietilados y derivados de esteroil; éteres de alquilo de polietilenglicol; ésteres de azúcar; éteres de azúcar; derivados de ácido láctico de mono y di-glicéridos; productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro de glicéridos, aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados, ácidos grasos y esteroides; vitaminas/derivados de vitaminas hidrosolubles; y mezclas de los mismos. Dentro de este grupo, como ejemplos no limitantes de tensioactivos lipófilos se incluyen ésteres de ácidos grasos de glicerol, ésteres de ácidos grasos de propilenglicol y mezclas de los mismos, o productos de transesterificación hidrófobos de un poliol con al menos un miembro de aceites vegetales, aceites vegetales hidrogenados y triglicéridos.

En una realización, la composición farmacéutica puede incluir un solubilizante para garantizar una buena solubilización y/o disolución del compuesto como se proporciona en el presente documento y para minimizar la precipitación del compuesto. Esto puede ser especialmente importante en composiciones farmacéuticas para su uso no oral, por ejemplo, composiciones farmacéuticas para inyección. También se puede añadir un solubilizante para aumentar la solubilidad del fármaco hidrófilo y/u otros componentes, tales como tensioactivos, o para mantener la composición farmacéutica como una solución o dispersión estable u homogénea.

Los ejemplos de solubilizantes adecuados incluyen, pero sin limitación, los siguientes: alcoholes y polioles, tales como etanol, isopropanol, butanol, alcohol bencílico, etilenglicol, propilenglicol, butanodiolos e isómeros de los mismos, glicerol, pentaeritritol, sorbitol, manitol, transcitol, dimetil isosórbido, polietilenglicol, polipropilenglicol,

5 poli(alcohol vinílico), hidroxipropil metilcelulosa y otros derivados de celulosa, ciclodextrinas y derivados de ciclodextrina; éteres de polietilenglicoles que tienen un peso molecular promedio de aproximadamente 200 a aproximadamente 6000, tal como éter de alcohol tetrahidrofurfurilo de PEG (glicofurol) o metoxi PEG; amidas y otros compuestos que contienen nitrógeno tales como 2-pirrolidona, 2-piperidona,  $\epsilon$ -caprolactama, N-alquilpirrolidona, N-hidroxialquilpirrolidona, N-alquilpiperidona, N-alquilcaprolactama, dimetilacetamida y polivinilpirrolidona; ésteres tales como propionato de etilo, citrato de tributilo, citrato de acetil trietilo, citrato de acetil tributilo, citrato de trietilo, oleato de etilo, caprilato de etilo, butirato de etilo, triacetina, monoacetato de propilenglicol, diacetato de propilenglicol,  $\epsilon$ -caprolactona e isómeros de los mismos,  $\delta$ -valerolactona e isómeros de los mismos,  $\beta$ -butirolactona e isómeros de los mismos; u otros solubilizantes conocidos en la materia, tales como dimetil acetamida, dimetil isosórbido, N-metil pirrolidonas, monoctanoína, monoetil éter de dietilenglicol y agua.

15 También pueden utilizarse mezclas de solubilizantes. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, triacetina, citrato de trietilo, etil oleato, etil caprilato, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, N-hidroxietilpirrolidona, polivinilpirrolidona, hidroxipropil metilcelulosa, hidroxipropil ciclodextrinas, etanol, polietilenglicol 200-100, glicofurol, transcutool, propilenglicol y dimetil isosórbido. En algunas realizaciones, los solubilizantes incluyen sorbitol, glicerol, triacetina, alcohol etílico, PEG-400, glicofurol y propilenglicol.

20 La cantidad de solubilizante que puede incluirse no está particularmente limitada. La cantidad de solubilizante dada puede limitarse a una cantidad bioaceptable, que un experto en la materia puede determinar fácilmente. En algunas circunstancias, puede ser ventajoso incluir cantidades solubilizantes muy superiores a las cantidades bioestables, por ejemplo, para maximizar la concentración del fármaco, eliminándose el exceso de solubilizante antes de proporcionar la composición farmacéutica a un sujeto utilizando técnicas convencionales, tales como destilación o evaporación. Por tanto, si está presente, el solubilizante puede estar en una relación en peso de aproximadamente 10 %, 25 %, 50 %, 100 % o hasta aproximadamente 200 % en peso, basándose en el peso combinado del fármaco y en otros excipientes. Si se desea, también pueden utilizarse cantidades muy pequeñas de solubilizante, tales como de aproximadamente 5 %, 2 %, 1 % o incluso menores. Típicamente, el solubilizante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 1 % a aproximadamente 100 %, más típicamente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 % en peso.

30 Adicionalmente, la composición farmacéutica puede incluir uno o más aditivos y excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichos aditivos y excipientes incluyen, sin limitación, antiadherentes, agentes antiespumantes, agentes tamponantes, polímeros, antioxidantes, conservantes, agentes quelantes, viscomoduladores, tonificadores, aromatizantes, colorantes, aceites, odorizantes, opacificantes, agentes de suspensión, aglutinantes, rellenos, plastificantes, lubricantes y mezclas de los mismos.

35 Como ejemplos de conservantes se pueden incluir antioxidantes, agentes quelantes, conservantes antimicrobianos, conservantes antifúngicos, conservantes alcohólicos, conservantes ácidos y otros conservantes. Como ejemplos de antioxidantes se incluyen, pero sin limitación, alfa tocoferol, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, monotioglicerol, metabisulfito de potasio, ácido propiónico, propil galato, ascorbato de sodio, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio y sulfito de sodio. Como ejemplos de agentes quelantes se incluyen ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cítrico monohidrato, edetato disódico, edetato dipotásico, ácido edético, ácido fumárico, ácido málico, ácido fosfórico, edetato sódico, ácido tartárico y edetato trisódico. Como ejemplos de conservantes antimicrobianos se incluyen, pero sin limitación, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, bronopol, cetrimida, cloruro de cetilpirinidio, clorhexidina, clorobutanol, clorocresol, cloroxilenol, cresol, alcohol etílico, glicerina, hexetidina, imidurea, fenol, fenoxietanol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico, propilenglicol y timerosal. Como ejemplos de conservantes antifúngicos se incluyen, pero sin limitación, butil parabeno, metil parabeno, etil parabeno, propil parabeno, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, benzoato de potasio, sorbato de potasio, benzoato de sodio, propionato de sodio y ácido sórbico. Ejemplos de conservantes de alcohol incluyen, pero sin limitación, etanol, polietilenglicol, fenol, compuestos fenólicos, bisfenol, clorobutanol, hidroxibenzoato y alcohol feniletílico. Como ejemplos de conservantes ácidos se incluyen, pero sin limitación, vitamina A, vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, ácido cítrico, ácido acético, ácido deshidroacético, ácido ascórbico, ácido sórbico y ácido fítico. Otros conservantes incluyen, pero sin limitación, tocoferol, acetato de tocoferol, mesilato de deteroxima, cetrimida, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), etilendiamina, lauril sulfato de sodio (SLS), lauril éter sulfato de sodio (SLES), bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de potasio, metabisulfito de potasio, Glydant Plus, Fenonip, metilparabeno, Germall 115, Germaben II, Neolone, Kathon y Euxyl. En determinadas realizaciones, el conservante es un anti-oxidante. En otras realizaciones, el conservante es un agente quelante.

60 Como ejemplos de aceites se incluyen, pero sin limitación, aceites de almendra, albaricoque, aguacate, babasú, bergamota, semilla de raíz negra, borraja, enebro, manzanilla, canola, alcaravea, carnauba, ricino, canela, manteca de cacao, coco, hígado de bacalao, café, maíz, semilla de algodón, emú, eucalipto, onagra, pescado, semilla de lino, geraniol, calabaza, semilla de uva, avellana, hisopo, miristato de isopropilo, jojoba, nuez de kukui, lavandina, lavanda, limón, *Litsea cubeba*, nuez de macadamiza, malva, semilla de mango, semilla de hierba de la pradera, visón, nuez moscada, aceituna, naranja, reloj anaranjado, palma, palmiste, nuez de melocotón, cacahuete, semilla de amapola, semilla de calabaza, colza, salvado de arroz, romero, cárcamo, sándalo, sasquana, sasquana, espinosa cerval, sésamo, manteca de karité, silicona, soja, girasol, árbol de té, cardo, camelia, vetiver, nuez y germen de trigo.

Los ejemplos de aceite también incluyen, pero sin limitación, estearato de butilo, triglicérido caprílico, triglicérido cáprico, ciclometicona, sebacato de dietilo, dimeticona 360, miristato de isopropilo, aceite mineral, octildodecanol, alcohol oleílico, aceite de silicona y combinaciones de los mismos.

5 Además, en la composición farmacéutica puede incorporarse un ácido o una base para facilitar el procesamiento, mejorar la estabilidad o por otras razones. Como ejemplos de bases farmacéuticamente aceptables se incluyen aminoácidos, ésteres de aminoácidos, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, hidrogeno  
10 carbonato de sodio, hidróxido de aluminio, carbonato de calcio, hidróxido de magnesio, silicato de aluminio y magnesio, silicato de aluminio sintético, hidrocalcita sintética, hidróxido de magnesio y aluminio, diisopropiletilamina, etanolamina, etilendiamina, trietanolamina, triisopropanolamina, trimetilamina, tris(hidroximetil)-aminometano (TRIS) y similares. También son adecuadas las bases que son sales de un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como  
15 ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido alginico, ácido alcanosulfónico, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido cítrico, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidrocinosulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido para-bromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico, ácido úrico y similares. También  
20 pueden utilizarse sales de ácidos polipróticos, tales como fosfato de sodio, hidrogeno fosfato de disodio y dihidrogeno fosfato de sodio. Cuando la base es una sal, el catión puede ser cualquier catión conveniente y farmacéuticamente aceptable, tal como amonio, metales alcalinos, metales alcalinotérreos y similares. Los ejemplos pueden incluir, entre otros, sodio, potasio, litio, magnesio, calcio y amonio.

Los ácidos adecuados son ácidos orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente adecuados. Los ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácido hidrociorhídrico, ácido bromhídrico, ácido hidriódico, ácido sulfúrico, ácido  
25 nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico y similares. Los ejemplos de ácidos orgánicos adecuados incluyen ácido acético, ácido acrílico, ácido adípico, ácido alginico, ácidos alcanosulfónicos, aminoácidos, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido bórico, ácido butírico, ácido carbónico, ácido cítricos, ácidos grasos, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido hidrocinosulfónico, ácido isoascórbico, ácido láctico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido para-bromofenilsulfónico, ácido propiónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tánico, ácido tartárico, ácido tioglicólico, ácido toluenosulfónico, ácido úrico y similares.

#### 30 *1B. Formulaciones para administración parenteral*

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para la  
35 administración parenteral que contienen el compuesto que se desvela en el presente documento, y un excipiente farmacéutico adecuado para la administración parenteral. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para administración parenteral que contienen: (i) una cantidad eficaz del compuesto; opcionalmente (ii) una cantidad eficaz de uno o más segundos agentes; y (iii) uno o más excipientes farmacéuticos adecuados para administración parenteral. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica contiene además: (iv) una cantidad eficaz de un tercer agente.

40 Las formas en las que las composiciones farmacéuticas desveladas pueden incorporarse para su administración mediante inyección incluyen suspensiones o emulsiones acuosas u oleaginosas, con aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón o aceite de cacahuete, así como elixires, manitol, dextrosa o una solución estéril acuosa y vehículos farmacéuticos similares.

45 Las soluciones acuosas en solución salina también pueden utilizarse convencionalmente para inyección. También puede emplearse etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido y similares (y mezclas adecuadas de los mismos), derivados de ciclodextrina y aceites vegetales.

50 Las soluciones acuosas en solución salina también pueden utilizarse convencionalmente para inyección. También puede emplearse etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido y similares (y mezclas adecuadas de los mismos), derivados de ciclodextrina y aceites vegetales. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, utilizando un recubrimiento, tal como lecitina, para mantener el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y utilizando tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede llevarse a cabo con  
55 diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y similares.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el compuesto como se desvela en el presente documento en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con diversos otros ingredientes como los  
60 enumerados anteriormente, según sea apropiado, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diversos principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes apropiados de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, determinados métodos de preparación son técnicas de secado por congelación y secado al vacío que producen un polvo del principio activo  
65 además de cualquier principio adicional de una solución previamente filtrada en condiciones estériles.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, filtrando a través de un filtro de retención bacteriana, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso. Las composiciones inyectables pueden contener de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 % p/p de un compuesto como se desvela en el presente documento.

### 1C. Formulaciones para administración tópica

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para uso tópico (por ejemplo, transdérmico), que contiene el compuesto como se desvela en el presente documento, y un excipiente farmacéutico adecuado para la administración tópica. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para administración tópica que contienen: (i) una cantidad eficaz del compuesto desvelado; opcionalmente (ii) una cantidad eficaz de uno o más segundos agentes; y (iii) uno o más excipientes farmacéuticos adecuados para administración tópica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica contiene además: (iv) una cantidad eficaz de un tercer agente.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento pueden formularse en preparaciones en formas sólidas, semisólidas o líquidas, adecuadas para la administración local o tópica, tales como geles, gelatinas hidrosolubles, cremas, lociones, suspensiones, espumas, polvos, suspensiones, pomadas, soluciones, aceites, pastas, supositorios, aerosoles, emulsiones, soluciones salinas, soluciones basadas en dimetilsulfóxido (DMSO). En general, los vehículos con densidades más altas son capaces de proporcionar una zona con una exposición prolongada de los principios activos. Por el contrario, una formulación de solución puede proporcionar una exposición más inmediata del principio activo en la zona elegida.

Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender vehículos o excipientes adecuados en fase sólida o de gel, que son compuestos que permiten aumentar la penetración, o ayudan a suministrar moléculas terapéuticas a través de la barrera de permeabilidad del estrato córneo de la piel. Existen muchas de estas moléculas potenciadoras de la penetración conocidas por los expertos en la materia de formulación tópica. Los ejemplos de dichos vehículos y excipientes incluyen, pero sin limitación, humectantes (por ejemplo, urea), glicoles (por ejemplo, propilenglicol), alcoholes (por ejemplo, etanol), ácidos grasos (por ejemplo, ácido oleico), tensioactivos (por ejemplo, miristato de isopropilo y lauril sulfato sódico), pirrolidonas, glicerol monolaurato, sulfóxidos, terpenos (por ejemplo, mentol), aminas, amidas, alcanos, alcanoles, agua, carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

Otra formulación ejemplar para el uso en los métodos desvelados emplea dispositivos de suministro transdérmico ("parches"). Dichos parches transdérmicos se pueden utilizar para proporcionar una infusión continua o discontinua de un compuesto como se proporciona en el presente documento en cantidades controladas, con o sin otro agente.

La construcción y el uso de parches transdérmicos para el suministro de agentes farmacéuticos es muy conocida en la materia. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos N.º 5.023.252, 4.992.445 y 5.001.139. Dichos parches pueden construirse para el suministro continuado, pulsátil o a demanda, de los agentes farmacéuticos.

Los dispositivos adecuados para su uso en el suministro de composiciones intradérmicas farmacéuticamente aceptables, descritos en el presente documento, incluyen dispositivos de aguja pequeña, tales como los descritos en las Patentes de Estados Unidos 4.886.499; 5.190.521; 5.328.483; 5.527.288; 4.270.537; 5.015.235; 5.141.496; y 5.417.662. Las composiciones intradérmicas se pueden administrar mediante dispositivos que limitan la longitud eficaz de penetración de una aguja en la piel, tales como los descritos en la publicación PCT WO 99/34850 y equivalentes funcionales de los mismos. Son adecuados los dispositivos de inyección de tipo chorro que suministran vacunas líquidas a la dermis a través de un inyector de chorro líquido y/o a través de una aguja que perfora el estrato córneo y produce un chorro que alcanza la dermis. Los dispositivos de inyección de tipo chorro se describen por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos 5.480.381; 5.599.302; 5.334.144; 5.993.412; 5.649.912; 5.569.189; 5.704.911; 5.383.851; 5.893.397; 5.466.220; 5.339.163; 5.312.335; 5.503.627; 5.064.413; 5.520.639; 4.596.556; 4.790.824; 4.941.880; 4.940.460; y en las publicaciones PCT WO 97/37705 y WO 97/13537. Son adecuados los dispositivos de suministro de partículas/polvo balístico que utilizan gas comprimido para acelerar la vacuna en forma de polvo a través de las capas externas de la piel hacia la dermis. Como alternativa o adicionalmente, pueden utilizarse jeringas convencionales en el método clásico de la prueba de la tuberculina (Mantoux) de administración intradérmica.

Las formulaciones que pueden administrarse por vía tópica pueden comprender, por ejemplo, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % (p/p) del compuesto proporcionado en el presente documento con relación al peso total de la formulación, aunque en la formulación, la concentración del compuesto proporcionado en el presente documento, puede ser tan alta como el límite de solubilidad del compuesto en el disolvente. En algunas realizaciones, las formulaciones administrables por vía tópica pueden comprender, por ejemplo, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 9 % (p/p) de un compuesto proporcionado en el presente documento, tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 8 % (p/p), más aún tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 7 % (p/p), más aún tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 6 % (p/p), más aún tal

como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 5 % (p/p), más aún tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 4 % (p/p), más aún tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 % (p/p), más aún tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 2 % (p/p) de un compuesto proporcionado en el presente documento. Las formulaciones para administración tópica pueden comprender además uno o más de los excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales descritos en el presente documento.

#### 1D. Formulaciones para la administración por inhalación

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para administración por inhalación que contienen el compuesto como se desvela en el presente documento, y un excipiente farmacéutico adecuado para administración tópica. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para administración por inhalación que contienen: (i) una cantidad eficaz de un compuesto desvelado; opcionalmente (ii) una cantidad eficaz de uno o más segundos agentes; y (iii) uno o más excipientes farmacéuticos adecuados para administración por inhalación. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica contiene además: (iv) una cantidad eficaz de un tercer agente.

Las composiciones farmacéuticas para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones farmacéuticas líquidas o sólidas pueden contener excipientes adecuados, farmacéuticamente aceptables, como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se administran por vía respiratoria, oral o nasal, para obtener un efecto local o sistémico. Las composiciones farmacéuticas en disolventes farmacéuticamente aceptables se pueden nebulizar utilizando gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden inhalar directamente desde el dispositivo de nebulizador o dicho dispositivo se puede conectar a una máscara facial, o a un aparato de respiración de presión positiva intermitente. Se pueden administrar composiciones farmacéuticas en solución, suspensión o en polvo, por ejemplo, por vía oral o nasal, desde dispositivos que suministran la formulación de manera apropiada.

#### 1E. Formulaciones para la administración ocular

En algunas realizaciones, la divulgación proporciona una composición farmacéutica para tratar trastornos oftálmicos. La composición farmacéutica puede contener una cantidad eficaz de un compuesto como se desvela en el presente documento y un excipiente farmacéutico adecuado para administración ocular. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración ocular pueden presentarse como formas de dosificación distintas, tales como gotas o pulverizadores, que contienen cada una de ellas una cantidad predeterminada de una solución, o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, una emulsión de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite, de principio activo. Otras formas de administración incluyen inyección intraocular, inyección intravítrea, tópica, o la utilización de un dispositivo de elución de fármacos, microcápsulas, implantes o dispositivos microfluidicos. En algunos casos, el compuesto como se describe en el presente documento se administra con un vehículo o excipiente que aumenta la penetración intraocular del compuesto, tal como una emulsión de aceite y agua con partículas coloidales que tienen un núcleo oleaginoso rodeado por una película interfacial. Se contempla que pueden utilizarse todas las vías locales para el ojo, incluida la administración tópica, subconjuntival, periocular, retrobulbar, subtenoniana, intracamerar, intravítrea, intraocular, subretiniana, yuxtaescleral y supracoroidea. La administración sistémica o parenteral puede ser factible, incluyendo, pero sin limitación, el suministro intravenoso, subcutáneo y oral. Un método ejemplar de administración será la inyección intravítrea o subtenoniana de soluciones o suspensiones, o la colocación intravítrea o subtenoniana de dispositivos bioerosionables o no bioerosionables o mediante la administración ocular tópica de soluciones o suspensiones, o la administración posterior yuxtaescleral de una formulación de gel o crema.

Los colirios pueden prepararse disolviendo el principio activo en una solución acuosa estéril, tal como solución salina fisiológica, solución tampón, etc., o combinando composiciones en polvo para disolver antes de su uso. Se pueden seleccionar otros vehículos, como se sabe en la materia, que incluyen entre otros: solución salina equilibrada, solución salina, poliéteres hidrosolubles tales como polietilenglicol, polivinilos, tales como alcohol polivinílico y povidona, derivados de celulosa, tales como metilcelulosa e hidroxipropil metilcelulosa, derivados de petróleo tales como aceite mineral y vaselina blanca, grasas animales tales como lanolina, polímeros de ácido acrílico tales como gel de carboxipolimetileno, grasas vegetales tales como aceite de cacahuete y polisacáridos tales como dextranos y glucosaminoglucanos tales como hialuronato de sodio. En algunas realizaciones, se pueden añadir aditivos utilizados habitualmente en los colirios. Dichos aditivos incluyen isotonzantes (por ejemplo, cloruro de sodio, etc.), agente tampón (por ejemplo, ácido bórico, monohidrógeno fosfato de sodio, dihidrógeno fosfato de sodio, etc.), conservantes (por ejemplo, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, clorobutanol, etc.), espesantes (por ejemplo, sacárido tal como lactosa, manitol, maltosa, etc.; por ejemplo, ácido hialurónico o su sal tal como hialuronato de sodio, hialuronato de potasio, etc.; por ejemplo, mucopolisacáridos tales como sulfato de condroitina, etc.; por ejemplo, poliácido de sodio, polímero de carboxivinilo, poliácido reticulado, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa u otros agentes conocidos por los expertos en la materia).

En algunos casos, las partículas coloidales incluyen al menos un agente catiónico y al menos un tensioactivo no iónico, tal como un poloxámero, tiloxapol, un polisorbato, un derivado de aceite de ricino polioxietileno, un éster de sorbitán, o un estearato de polioxilo. En algunos casos, el agente catiónico es una alquilamina, una alquilamina terciaria, un compuesto de amonio cuaternario, un lípido catiónico, un amino alcohol, una sal de biguanidina, un compuesto catiónico o una mezcla de los mismos. En algunos casos, el agente catiónico es una sal de biguanidina tal como clorhexidina, poliaminopropil biguanidina, fenformina, alquilbiguanidina o una mezcla de las mismas. En algunos casos, el compuesto de amonio cuaternario es un haluro de benzalconio, haluro de lauralconio, cetrimida, haluro de hexadeciltrimetilamonio, haluro de tetradeciltrimetilamonio, haluro de dodeciltrimetilamonio, haluro de cetrimonio, haluro de benzetonio, haluro de behenalconio, haluro de cetalconio, haluro de cetildimonio, haluro de cetilpiridinio, haluro de benzododecinio, haluro de cloralil metenammina, haluro de miristilalconio, haluro de estearalconio o una mezcla de dos o más de los mismos. En algunos casos, el agente catiónico es un cloruro de benzalconio, cloruro de lauralconio, bromuro de benzododecinio, cloruro de bencetonio, bromuro de hexadeciltrimetilamonio, bromuro de tetradeciltrimetilamonio, bromuro de dodeciltrimetilamonio o una mezcla de dos o más de los mismos. En algunos casos, la fase oleaginosa es aceite mineral y aceite mineral ligero, triglicéridos de cadena media (TCM), aceite de coco; aceites hidrogenados que comprenden aceite de semilla de algodón hidrogenado, aceite de palma hidrogenado, aceite de ricino hidrogenado o aceite de soja hidrogenado; derivados de aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno que comprenden aceite de ricino hidrogenado polioxil-40, aceite de ricino hidrogenado polioxil-60 o aceite de ricino hidrogenado polioxil-100.

#### 20 IF. Formulaciones para la administración por liberación controlada

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para administración por liberación controlada que contienen un compuesto como se describe en el presente documento, y un excipiente farmacéutico adecuado para la administración por liberación controlada. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas para la administración por liberación controlada que contienen: (i) una cantidad eficaz de un compuesto descrito; opcionalmente (ii) una cantidad eficaz de uno o más segundos agentes; y (iii) uno o más excipientes farmacéuticos adecuados para la administración por liberación controlada. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica contiene además: (iv) una cantidad eficaz de un tercer agente.

Los agentes activos, tales como el compuesto proporcionado en el presente documento, pueden administrarse mediante liberación controlada o dispositivos de suministro que son muy conocidos por los expertos en la materia. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, los descritos en las patentes de Estados Unidos N.º: 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; y 4.008.719; 5.674.533; 5.059.595; 5.591.767; 5.120.548; 5.073.543; 5.639.476; 5.354.556; 5.639.480; 5.733.566; 5.739.108; 5.891.474; 5.922.356; 5.972.891; 5.980.945; 5.993.855; 6.045.830; 6.087.324; 6.113.943; 6.197.350; 6.248.363; 6.264.970; 6.267.981; 6.376.461; 6.419.961; 6.589.548; 6.613.358; 6.699.500. Dichas formas de dosificación pueden utilizarse para proporcionar la liberación lenta o controlada de uno o más agentes activos utilizando, por ejemplo, hidropropilmetil celulosa, otras matrices poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos multicapa, micropartículas, liposomas, microesferas o una combinación de estos para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. Las formulaciones de liberación controlada, adecuadas, conocidas por los expertos en la materia, que incluyen las descritas en el presente documento, pueden seleccionarse fácilmente para su uso con los agentes activos proporcionados en el presente documento. De este modo, las composiciones farmacéuticas proporcionadas incluyen formas de dosificación unitaria individuales adecuadas para administración oral, tales como, pero sin limitación, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gelatina y comprimidos oblongos que están adaptados para la liberación controlada.

Todos los productos farmacéuticos de liberación controlada tienen un objetivo común de mejorar el tratamiento farmacológico en comparación con el obtenido por sus homólogos no controlados. En algunas realizaciones, el uso de una preparación de liberación controlada en el tratamiento médico se caracteriza por un mínimo de sustancia farmacológica que se emplea para curar o controlar la enfermedad, el trastorno o la afección en una cantidad de tiempo mínima. Las ventajas de las formulaciones de liberación controlada incluyen una actividad prolongada del fármaco, una frecuencia de dosificación reducida y un mayor cumplimiento por parte del sujeto. Además, las formulaciones de liberación controlada pueden utilizarse para influir sobre el momento del inicio de la acción u otras características, tales como los niveles sanguíneos del fármaco y así pueden influir en la aparición de efectos adversos (por ejemplo, secundarios).

En algunas realizaciones, las formulaciones de liberación controlada se diseñan para liberar inicialmente una cantidad de un compuesto como se desvela en el presente documento que produce rápidamente el efecto terapéutico deseado, y libera gradual y continuamente otras cantidades del compuesto para mantener ese nivel de efecto terapéutico o profiláctico durante un período de tiempo prolongado. Para mantener este nivel constante del compuesto en el cuerpo, el compuesto debe liberarse de la forma de dosificación a una velocidad que reemplace la cantidad de fármaco que el cuerpo va a metabolizar y excretar. La liberación controlada de un agente activo se puede estimular mediante diversas condiciones que incluyen, pero sin limitación, pH, temperatura, enzimas, agua y otras condiciones fisiológicas o compuestos.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica puede administrarse utilizando infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas u otros modos de administración. En una realización, puede utilizarse una bomba (véase, Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201 (1987); Buchwald *et al.*, Surgery 88: 507 (1980); Saudek *et al.*, N. Engl. J. Med. 321: 574 (1989)). En otra realización, se pueden utilizar materiales poliméricos. En otra realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada en un sujeto en un lugar apropiado determinado por un médico especialista, por ejemplo, que solo requiere una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, Medical Applications of Controlled Release, 115-138 (vol. 2, 1984). Otros sistemas de liberación controlada se analizan en la revisión de Langer, Science 249: 1527-1533 (1990). El uno o más agentes activos pueden dispersarse en una matriz interna sólida, por ejemplo, metacrilato de polimetilo, metacrilato de polibutilo, cloruro de polivinilo plastificado o no plastificado, nailon plastificado, ftalato de polietileno plastificado, caucho natural, poliisopreno, poliisobutileno, polibutadieno, polietileno, copolímeros de etileno y acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicona, polímeros hidrófilos tales como hidrogeles de ésteres de ácido acrílico y metacrílico, colágeno, alcohol polivinílico reticulado y acetato de polivinilo parcialmente hidrolizado reticulado, que está rodeada por una membrana polimérica externa, por ejemplo, polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetil siloxanos, caucho de neopreno, polietileno clorado, cloruro de polivinilo, copolímeros de cloruro de vinilo con acetato de vinilo, cloruro de vinilideno, etileno y propileno, ionómero de tereftalato de polietileno, caucho de butilo, cauchos de epiclorhidrina, copolímero de etileno/alcohol vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/alcohol vinílico, y copolímero de etileno/viniloxietanol, que es insoluble en los fluidos corporales. El uno o más agentes activos se difunden después a través de la membrana polimérica externa en una etapa de control de velocidad de liberación. El porcentaje de agente activo en dichas composiciones parenterales depende en gran medida de la naturaleza específica de las mismas, así como de las necesidades del sujeto.

## 25 **2. Dosificaciones**

Para su uso de acuerdo con la invención, el compuesto puede suministrarse en forma de composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto descrito en el presente documento y/o uno o más agentes terapéuticos adicionales, tal como un agente quimioterapéutico, formulado junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunos casos, el compuesto y el agente terapéutico adicional se administran en composiciones farmacéuticas distintas y pueden (por ejemplo, debido a diferentes características físicas y/o químicas) administrarse por diferentes vías (por ejemplo, un agente terapéutico se administra por vía oral, mientras que el otro se administra por vía intravenosa). En otros casos, el compuesto y el agente terapéutico adicional se pueden administrar por separado, pero a través de la misma vía (por ejemplo, los dos por vía oral o los dos por vía intravenosa). En otros casos más, el compuesto y el agente terapéutico adicional se pueden administrar en la misma composición farmacéutica.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de diversos factores que incluyen, por ejemplo, la actividad del compuesto, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción o metabolismo del compuesto, la velocidad y el grado de absorción, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto, la edad, el sexo, el peso, la afección, la salud general y el historial médico previo del paciente que se está tratando, y factores similares bien conocidos en la materia médica.

En general, una dosis diaria adecuada del compuesto para utilizar de acuerdo con los diferentes aspectos de la invención descritos en el presente documento y/o un agente quimioterapéutico, será aquella cantidad del compuesto que, en algunas realizaciones, puede ser la dosis eficaz más baja para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis eficaz generalmente dependerá de los factores descritos en el presente documento. Generalmente, cuando las dosis del compuesto de acuerdo con el segundo, tercero o cuarto aspecto, como se describe en el presente documento para un paciente, se utilizan para los efectos indicados, pueden variar de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg por día, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg por día, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg al día, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg al día, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 200 mg al día, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 200 mg al día, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 200 mg al día, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg al día, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 40 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 25 mg, o de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 20 mg al día. Una dosis ejemplar es de aproximadamente 0,1 a 100 mg al día. Los niveles de dosificación reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, pueden modificarse para obtener una cantidad del principio activo que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración concretos, sin que sea tóxico para el paciente. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado anteriormente, pueden ser más adecuados, mientras que en



otros casos se pueden emplear dosis aún mayores sin causar ningún efecto secundario dañino, por ejemplo, dividiendo dichas dosis más grandes en varias dosis pequeñas para su administración a lo largo del día.

5 En algunas realizaciones, el compuesto puede administrarse diariamente. El programa de dosificación puede incluir un “descanso farmacológico”, por ejemplo, el fármaco puede administrarse durante dos semanas con una semana de descanso, o durante tres semanas con una semana de descanso o durante cuatro semanas con una semana de descanso, etc., o de manera ininterrumpida sin descanso farmacológico. El compuesto puede administrarse por vía oral, intravenosa, intraperitoneal, tópica, transdérmica, intramuscular, subcutánea, intranasal, sublingual, o por cualquier otra vía.

10 En algunas realizaciones, el compuesto, como se proporciona en el presente documento, se administra en dosis múltiples. La dosificación puede realizarse una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, o más de seis, veces al día. La dosificación puede realizarse aproximadamente una vez al mes, aproximadamente una vez cada dos semanas, aproximadamente una vez a la semana, o aproximadamente una vez cada dos días. En otra realización, un compuesto como se desvela en el presente documento y otro agente se administran juntos entre aproximadamente 15 una vez al día y aproximadamente 6 veces al día. En otra realización, la administración del compuesto como se proporciona en el presente documento y un agente continúa durante menos de aproximadamente 7 días. En otra realización más, la administración continúa durante más de aproximadamente 6 días, aproximadamente 10 días, aproximadamente 14 días, aproximadamente 28 días, aproximadamente dos meses, aproximadamente seis meses o aproximadamente un año. En algunos casos, se realiza una dosificación continua y se mantiene siempre y cuando sea necesario.

20 La administración de las composiciones farmacéuticas como se desvela en el presente documento puede continuar siempre y cuando sea necesario. En algunas realizaciones, un agente como se desvela en el presente documento se administra durante más de aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 14, aproximadamente 21 o aproximadamente 28 días. En algunas realizaciones, un agente como se desvela en el presente documento se administra durante menos de aproximadamente 28, aproximadamente 21, aproximadamente 14, aproximadamente 7, aproximadamente 6, aproximadamente 5, aproximadamente 4, aproximadamente 3, aproximadamente 2 o aproximadamente 1 día. En algunas realizaciones, un agente como se describe en el presente documento se administra durante aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 14, aproximadamente 21 o aproximadamente 28 días. En algunas realizaciones, un agente como se desvela en el presente documento se administra regularmente de manera repetida, por ejemplo, para el tratamiento de efectos crónicos.

35 Dado que el compuesto puede administrarse en combinación con otros tratamientos (tales como quimioterapia adicional, radiación o cirugía adicional), las dosis de cada agente o terapia pueden ser más bajas que la dosis correspondiente para terapias con un agente único. La dosis para la terapia con un agente único puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 200 mg, o de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg al día.

40 Cuando el compuesto se administra en una composición farmacéutica que comprende uno o más agentes, y el agente tiene una semivida más corta que la del compuesto proporcionado en el presente documento, las formas de dosis unitaria del agente y el compuesto proporcionado en el presente documento pueden ajustarse en consecuencia.

45 En realizaciones específicas, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica (por ejemplo, un comprimido o una cápsula) que comprende el Compuesto 292, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el compuesto está en la cantidad de aproximadamente 0,5 mg, aproximadamente 1 mg, aproximadamente 2 mg, aproximadamente 3 mg, aproximadamente 4 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 6 mg, aproximadamente 7 mg, aproximadamente 8 mg, aproximadamente 9 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 80 mg o aproximadamente 100 mg. En realizaciones ejemplares, una composición farmacéutica (por ejemplo, un comprimido o una cápsula) que comprende el Compuesto 292, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra una vez al día. En realizaciones ejemplares, una composición farmacéutica (por ejemplo, un comprimido o una cápsula) que comprende el Compuesto 292, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra dos veces al día. En realizaciones ejemplares, una composición farmacéutica (por ejemplo, un comprimido o una cápsula) que comprende el Compuesto 292, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en un ciclo de 28 días.

50 La dosificación de la composición para su uso de acuerdo con el primer aspecto de la invención es de 25 mg DVD a 75 mg DVD.

En realizaciones específicas, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica (por ejemplo, un comprimido o una cápsula) que comprende el Compuesto 292, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, que se prepara para suministro por vía oral.

5 En realizaciones específicas, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica (por ejemplo, un comprimido o una cápsula) que comprende el Compuesto 292, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En realizaciones ejemplares, el excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable en la composición es uno o más de celulosa microcristalina (por ejemplo, celulosa microcristalina silicificada), crospovidona y/o estearato de magnesio.

### Métodos de tratamiento y prevención

15 Sin limitarse a ninguna teoría en particular, las PI3K son reguladoras de la transducción de señales que actúan como mediadoras en la proliferación, diferenciación, supervivencia y migración celular. Las PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  se expresan en células hematopoyéticas y desempeñan funciones en neoplasias malignas hemáticas. Por ejemplo, las PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  tienen funciones en el establecimiento y mantenimiento del microambiente tumoral. Las PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  se expresan a altos niveles en el compartimento hemo y pueden ser útiles en el tratamiento de cánceres hemáticos. Las PI3K de Clase I, incluyendo las isoformas PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ , también están asociadas con cánceres (revisado, por ejemplo, en Vogt, PK *et al.* (2010) *Curr Top Microbiol Immunol.* 347: 79-104; Fresno Vara, JA *et al.* (2004) *Cancer Treat Rev.* 30(2): 193-204; Zhao, L y Vogt, PK. (2008) *Oncogene* 27(41): 5486-96). Se ha demostrado que los inhibidores de PI3K, por ejemplo, PI3K- $\delta$  y/o PI3K- $\gamma$ , tienen actividad anticancerosa (por ejemplo, Courtney, KD *et al.* (2010) *J Clin Oncol.* 28(6): 1075-1083; Markman, B *et al.* (2010) *Ann Oncol.* 21(4): 683-91; Kong, D y Yamori, T (2009) *Curr Med Chem.* 16(22): 2839-54; Jimeno, A *et al.* (2009) *J Clin Oncol.* 27: 156s (suppl; abstr 3542); Flinn, IW *et al.* (2009) *J Clin Oncol.* 27: 156s (suppl; abstr 3543); Shapiro, G *et al.* (2009) *J Clin Oncol.* 27: 146s (suppl; abstr 3500); Wagner, AJ *et al.* (2009) *J Clin Oncol.* 27: 146s (suppl; abstr 3501); Vogt, PK *et al.* (2006) *Virology* 344(1): 131-8; Ward, S *et al.* (2003) *Chem Biol.* 10(3): 207-13; y en los documentos WO 2011/041399; US 2010/0029693; US 2010/0305096; US 2010/0305084). Las PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  se expresan en algunos tumores sólidos, incluidos los de próstata, mama y glioblastomas (Chen J.S. *et al.* (2008) *Mol Cancer Ther.* 7(4): 841-50; Ikeda H. *et al.* (2010) *Blood* 116(9): 1460-8). Sin limitarse a ninguna teoría en particular, la inhibición de PI3K puede tener un efecto sobre la inflamación y progresión tumoral.

35 Sin limitarse a ninguna teoría en particular, en una realización, como se usa en el presente documento, y salvo que se indique otra cosa, la expresión alta de una isoforma de PI3K particular puede ser un número de copias de ADN incrementado de la isoforma PI3K o un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K, una expresión alta de ARN de la isoforma de PI3K o un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K, una expresión alta de la proteína de la isoforma de PI3K o un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K, amplificación de la isoforma de PI3K o un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K, delección de un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K, regulación negativa de un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K, mutación de la isoforma de PI3K o un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K, y/o activación de la ruta de la isoforma de PI3K o un receptor o diana relacionado con la isoforma de PI3K.

45 El nivel de expresión de una o más de una isoforma de PI3K particular en un cáncer o una enfermedad, o en un paciente o grupo de pacientes, puede determinarse detectando el nivel de expresión de una proteína de isoforma de PI3K particular, o ARN de una isoforma de PI3K particular, o el número de copias de ADN incrementado de una isoforma de PI3K particular, por ejemplo, utilizando un método desvelado en el presente documento o un método conocido en la materia. El nivel de expresión de una o más de una isoforma de PI3K particular en un cáncer o una enfermedad, o en un paciente o grupo de pacientes, puede determinarse midiendo un biomarcador proporcionado en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador de la ruta de señalización, un biomarcador de mutación de proteínas, un biomarcador de expresión de proteínas, un biomarcador de mutación génica, un biomarcador de expresión génica, un biomarcador de citocinas, un biomarcador de quimiocina, un biomarcador de metaloproteinasas de matriz o un biomarcador para células cancerosas particulares, entre otros). El nivel de expresión de una o más de una isoforma de PI3K particular en un cáncer o una enfermedad, o en un paciente o en un grupo de pacientes, puede determinarse basándose en información conocida en la materia o en estudios anteriores sobre el cáncer o enfermedad, o en pruebas previas del paciente o grupo de pacientes.

60 La selectividad de un modulador de PI3K (por ejemplo, el compuesto para su uso de acuerdo con la presente invención) hacia una o más isoformas de PI3K sobre otras isoformas de PI3K, puede determinarse midiendo la actividad del modulador de PI3K hacia las isoformas de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\alpha$ , PI3K- $\beta$ , PI3K- $\delta$  y/o PI3K- $\gamma$ ), por ejemplo, utilizando un método desvelado en el presente documento o un método conocido en la materia.

65 La PI3K- $\gamma$  es una PI3K de Clase 1B que se asocia con las proteínas adaptadoras p101 y p84 (p87PIKAP) y señala de modo canónico a través de los receptores acoplados a la proteína G, GPCR. Puede producirse la activación no canónica a través de receptores de tirosina cinasa y RAS. La PI3K- $\gamma$  activada conduce a la producción de PIP3, que sirve como un lugar de acoplamiento para proteínas efectoras cadena abajo, incluyendo AKT y BTK, llevando a estas enzimas a la membrana celular donde pueden activarse. Se ha propuesto una función estructural para la PI3K-

y y puede contribuir a la activación de la ruta RAS/MEK/ERK. La interacción con la ruta RAS explica actividades atribuidas a la PI3K- $\gamma$  destruida por cinasas en células o en animales. La PI3K- $\gamma$  es esencial para la función de una diversidad de células inmunitarias y rutas. La producción de quimiocinas que atraen la migración de neutrófilos o células monocíticas está mediada por PI3K- $\gamma$  sobre estimulantes inflamatorios (incluidos IL8, fMLP y C5a) (HIRSCH *et al.*, “Central Role for G Protein-Coupled Phosphoinositide 3-Kinase  $\gamma$  in Inflammation”, *Science* 287: 1049-1053 (2000); SASAKI *et al.*, “Function of PI3K $\gamma$  in Thymocyte Development, T Cell Activation, and Neutrophil Migration”, *Science* 287: 1040-1046 (2000); LI *et al.*, “Roles of PLC- $\beta$ 2 and - $\beta$ 3 and PI3K $\gamma$  in Chemoattractant-Mediated Signal Transduction”, *Science* 287: 1046-1049 (2000)). El requisito para la migración de neutrófilos dependiente de PI3K- $\gamma$  se demuestra por el desarrollo fracaso del desarrollo de la artritis en el modelo de artritis por transferencia sérica de K/BXN en ratones PI3K- $\gamma$  nuligénicos (*knockout*) (Randis *et al.*, *Eur. J. Immunol.*, 2008, 38(5), 1215-24). De manera similar, los ratones no desarrollan inflamación celular e hiperreactividad de las vías respiratorias en el modelo de asma inducido por ovoalbúmina (Takeda *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009; 123, 805-12). Los ratones carentes de PI3K- $\gamma$  también tienen defectos en la función de linfocitos T auxiliares. La producción y proliferación de citocinas de linfocitos T en respuesta a la activación se reduce, y la eliminación vírica dependiente de linfocitos T auxiliares es defectuosa (Sasaki *et al.*, *Science*, 2000, 287, 1040-46). Los modelos de enfermedad inflamatoria dependiente de linfocitos T, incluida la EAE, tampoco se desarrollan en ratones carentes de PI3K- $\gamma$ , y tanto el defecto de la activación de linfocitos T como los defectos de migración celular, pueden contribuir a la eficacia en este modelo (Comerford, *PLOS One*, 2012, 7, e45095). El modelo de psoriasis inducida con imiquimod también se ha utilizado para demostrar la importancia de PI3K- $\gamma$  en la respuesta inflamatoria. En este modelo, utilizando ratones carentes de PI3K- $\gamma$ , se bloquea la acumulación de linfocitos T  $\gamma\delta$  en la piel, así como la maduración y migración de células dendríticas (ROLLER *et al.*, “Blockade of Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) $\delta$  or PI3K $\gamma$  Reduces IL-17 and Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Dermatitis”, *J. Immunol.* 189: 4612-4620 (2012)). El papel de PI3K- $\gamma$  en el transporte celular también puede demostrarse en modelos oncológicos donde la inflamación tumoral es importante para el crecimiento y la metástasis de cánceres. En el modelo de Carcinoma de Pulmón de Lewis, la activación, migración y diferenciación de monocitos en tumores son defectuosas. Este defecto produce una reducción en el crecimiento tumoral y prolonga la supervivencia en ratones carentes de PI3K- $\gamma$  (Schmid *et al.*, *Cancer Cell*, 2011, 19, 715-27) o después del tratamiento con inhibidores que se dirigen a PI3K- $\gamma$ . En el cáncer de páncreas, PI3K- $\gamma$  puede expresarse inapropiadamente, y en este cáncer de tumor sólido u otros en los que PI3K- $\gamma$  desempeña un papel funcional, la inhibición de PI3K- $\gamma$  puede ser beneficiosa. La inhibición de PI3K- $\gamma$  parece ser prometedora para el tratamiento de neoplasias malignas hemáticas. En un modelo de LLA-T que emplea un nuligénico de PTEN, dirigido a linfocitos T, tanto la PI3K- $\delta$  como la PI3K- $\gamma$  son esenciales para el desarrollo apropiado de la enfermedad, como se demuestra con la delección genética de ambos genes (Subramaniam *et al.* *Cancer Cell* 21, 459-472, 2012). Además, en este modelo de LLA-T, el tratamiento con un inhibidor de molécula pequeña de ambas cinasas conduce a una supervivencia prolongada de estos ratones. En la LLC, las redes de quimiocinas soportan un microambiente pseudofolicular que incluye células de tipo Sertoli, células estromales y linfocitos T auxiliares. Los papeles de PI3K- $\gamma$  en la señalización normal de quimiocinas y en la biología de linfocitos T, sugieren el valor de inhibir esta diana en la LLC (BURGER, “Inhibiting B-Cell Receptor Signaling Pathways in Chronic Lymphocytic Leukemia”, *Curr. Mematol. Malig. Rep.* 7: 26-33 (2012)). De acuerdo con esto, los inhibidores de PI3K- $\gamma$  son interesantes desde el punto de vista terapéutico para enfermedades del sistema inmunitario donde el transporte celular y la función de linfocitos T o células mieloides son importantes. En oncología, los tumores sólidos que dependen de la inflamación del tumor, o tumores con altos niveles de expresión de PI3K- $\gamma$  pueden ser la diana. Para los cánceres hemáticos, un papel esencial para las isoformas PI3K- $\gamma$  y PI3K- $\delta$  en la LLA-T y posiblemente en la LLC, sugiere que podría haber beneficioso para dirigirse a estas PI3K en estas enfermedades.

El papel de la ruta de PI3K- $\gamma$  en la promoción del transporte de células mieloides a tumores y el papel del bloqueo de p110 $\gamma$  en la supresión de la inflamación y el crecimiento tumoral en cáncer de mama, cáncer de páncreas y cáncer de pulmón, se comunica en el documento de Schmid *et al.* (2011) *Cancer Cell* 19, 715-727.

Las isoformas PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  se expresan preferentemente en leucocitos, donde tienen funciones distintas y no superpuestas en el desarrollo y la función de células inmunitarias. Véase, por ejemplo, PURI y GOLD, “Selective inhibitors of phosphoinositide 3-kinase delta: modulators of B-cell function with potential for treating autoimmune inflammatory disease and B-cell malignancies”, *Front. Immunol.* 3: 256 (2012); BUITENHUIS *et al.*, “The role of the PI3k-PKB signaling module in regulation of hematopoiesis”, *Cell Cycle* 8(4): 560-566 (2009); HOELLENRIEGEL Y BURGER, “Phosphoinositide 3'-kinase delta: turning off BCR signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia”, *Oncotarget* 2(10):737-738 (2011); HIRSCH *et al.*, “Central Role for G Protein-Coupled Phosphoinositide 3-Kinase  $\gamma$  in Inflammation”, *Science* 287: 1049-1053 (2000); LI *et al.*, “Roles of PLC- $\beta$ 2 and - $\beta$ 3 and PI3K $\gamma$  in Chemoattractant-Mediated Signal Transduction,” *Science* 287: 1046-1049 (2000); SASAKI *et al.*, “Function of PI3K $\gamma$  in Thymocyte Development, T Cell Activation, and Neutrophil Migration”, *Science* 287:1040-1046 (2000); CUSHING *et al.*, “PI3K $\delta$  and PI3K $\gamma$  as Targets for Autoimmune and Inflammatory Diseases”, *J. Med. Chem.* 55: 8559-8581 (2012); MAXWELL *et al.*, “Attenuation of phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  signaling restrains autoimmune disease”, *J. Autoimmun.* 38: 381-391 (2012); HAYLOCK-JACOBS *et al.*, “PI3K $\delta$  drives the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting effector T cell apoptosis and promoting Th17 differentiation”, *J. Autoimmun.* 36: 278-287 (2011); SOOND *et al.*, “PI3K p110 $\delta$  regulates T-cell cytokine production during primary and secondary immune responses in mice and humans”, *Blood* 115(11): 2203-2213 (2010); ROLLER *et al.*, “Blockade of Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) $\delta$  or PI3K $\gamma$  Reduces IL-17 and Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Dermatitis”, *J. Immunol.* 189: 4612-4620 (2012); CAMPS *et al.*, “Blockade of PI3K $\gamma$  suppresses joint inflammation

and damage in mouse models of rheumatoid arthritis”, *Nat. Med.* 11(9): 936-943 (2005). Como enzimas clave en la señalización de leucocitos, PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  facilitan las funciones normales de los linfocitos B, linfocitos T y células mieloides, incluida la diferenciación, la activación y la migración. Véase, por ejemplo, HOELLENRIEGEL y BURGER, “Phosphoinositide 3'-kinase delta: turning off BCR signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia”, *Oncotarget* 2(10): 737-738 (2011); CUSHING *et al.*, “PI3K $\delta$  and PI3K $\gamma$  as Targets for Autoimmune and Inflammatory Diseases” *J. Med. Chem.* 55: 8559-8581 (2012). La actividad de PI3K- $\delta$  o PI3K- $\gamma$  es crítica para los modelos preclínicos de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias. Véase, por ejemplo, HIRSCH *et al.*, “Central Role for G Protein-Coupled Phosphoinositide 3-Kinase  $\gamma$  in Inflammation”, *Science* 287: 1049-1053 (2000); LI *et al.*, “Roles of PLC- $\beta$ 2 and - $\beta$ 3 and PI3K $\gamma$  in Chemoattractant-Mediated Signal Transduction”, *Science* 287: 1046-1049 (2000); SASAKI *et al.*, “Function of PI3K $\gamma$  in Thymocyte Development, T Cell Activation, and Neutrophil Migration”, *Science* 287: 1040-1046 (2000); CUSHING *et al.*, “PI3K $\delta$  and PI3K $\gamma$  as Targets for Autoimmune and Inflammatory Diseases”, *J. Med. Chem.* 55: 8559-8581 (2012); MAXWELL *et al.*, “Attenuation of phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  signaling restrains autoimmune disease”, *J. Autoimmun.* 38: 381-391 (2012); HAYLOCK-JACOBS *et al.*, “PI3K $\delta$  drives the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting effector T cell apoptosis and promoting Th17 differentiation”, *J. Autoimmun.* 36: 278-287 (2011); SOOND *et al.*, “PI3K p110 $\delta$  regulates T-cell cytokine production during primary and secondary immune responses in mice and humans”, *Blood* 115(11):2203-2213 (2010); ROLLER *et al.*, “Blockade of Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) $\delta$  or PI3K $\gamma$  Reduces IL-17 and Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Dermatitis”, *J. Immunol.* 189: 4612-4620 (2012); CAMPS *et al.*, “Blockade of PI3K $\gamma$  suppresses joint inflammation and damage in mouse models of rheumatoid arthritis”, *Nat. Med.* 11(9): 936-943 (2005). Dado el papel clave de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  en la función inmunitaria, los inhibidores de PI3K- $\delta$  y/o  $\gamma$  tienen potencial terapéutico en enfermedades inflamatorias o neoplásicas relacionadas con el sistema inmunitario.

Las isoformas PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ , son fundamentales para el crecimiento y la supervivencia de las neoplasias de linfocitos B y T y la inhibición de estas isoformas puede limitar de un modo eficaz estas enfermedades. Véase, por ejemplo, SUBRAMANIAM *et al.*, “Targeting Nonclassical Oncogenes for Therapy in T-ALL”, *Cancer Cell* 21: 459-472 (2012); LANNUTTI *et al.*, “CAL-101 a p110 $\delta$  selective phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor for the treatment of B-cell malignancies, inhibits PI3K signaling and cellular viability”, *Blood* 117(2): 591-594 (2011). PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  sustentan el crecimiento y la supervivencia de determinadas neoplasias de linfocitos B a través de la mediación de la señalización del receptor de linfocitos B, BCR, intracelular y las interacciones entre las células tumorales y su microambiente. Véase, por ejemplo, PURI y GOLD, “Selective inhibitors of phosphoinositide 3-kinase delta: modulators of B-cell function with potential for treating autoimmune inflammatory disease and B-cell malignancies”, *Front. Immunol.* 3: 256 (2012); HOELLENRIEGEL *et al.*, “The phosphoinositide 3'-kinase delta inhibitor, CAL-101, inhibits B-cell receptor signaling and chemokine networks in chronic lymphocytic leukemia”, *Blood* 118(13): 3603-3612 (2011); BURGER, “Inhibiting B-Cell Receptor Signaling Pathways in Chronic Lymphocytic Leukemia”, *Curr. Mematol. Malig. Rep.* 7: 26-33 (2012). El aumento de la señalización del BCR es un mecanismo patológico fundamental de neoplasias malignas de linfocitos B y la activación de PI3K es una consecuencia directa de la activación de la ruta del BCR. Véase, por ejemplo, BURGER, “Inhibiting B-Cell Receptor Signaling Pathways in Chronic Lymphocytic Leukemia”, *Curr. Mematol. Malig. Rep.* 7: 26-33 (2012); HERISHANU *et al.*, “The lymph node microenvironment promotes B-cell receptor signaling, NF- $\kappa$ B activation, and tumor proliferation in chronic lymphocytic leukemia”, *Blood* 117(2): 563-574 (2011); DAVIS *et al.*, “Chronic active B-cell-receptor signaling in diffuse large B-cell lymphoma”, *Nature* 463: 88-92 (2010); PIGHI *et al.*, “Phospho-proteomic analysis of mantle cell lymphoma cells suggests a pro-survival role of B-cell receptor signaling”, *Cell Oncol. (Dordr)* 34(2): 141-153 (2011); RIZZATTI *et al.*, “Gene expression profiling of mantle cell lymphoma cells reveals aberrant expression of genes from the PI3K-AKT, WNT and TGF $\beta$  signaling pathways”, *Brit. J. Haematol.* 130: 516-526 (2005); MARTINEZ *et al.*, “The Molecular Signature of Mantle Cell Lymphoma Reveals Multiple Signals Favoring Cell Survival”, *Cancer Res.* 63: 8226-8232 (2003). Las interacciones entre los linfocitos B malignos y las células de soporte (p. ej., células estromales, células de tipo Sertoli) en el microambiente tumoral, son importantes para la supervivencia, proliferación, localización y retención tisular de las células tumorales. Véase, por ejemplo, BURGER, “Inhibiting B-Cell Receptor Signaling Pathways in Chronic Lymphocytic Leukemia”, *Curr. Mematol. Malig. Rep.* 7: 26-33 (2012); HERISHANU *et al.*, “The lymph node microenvironment promotes B-cell receptor signaling, NF- $\kappa$ B activation, and tumor proliferation in chronic lymphocytic leukemia”, *Blood* 117(2): 563-574 (2011); KURTOVA *et al.*, “Diverse marrow stromal cells protect CLL cells from spontaneous and drug-induced apoptosis: development of a reliable and reproducible system to assess stromal cell adhesion-mediated drug resistance”, *Blood* 114(20): 4441-4450 (2009); BURGER *et al.*, “High-level expression of the T-cell chemokines CCL3 and CCL4 by chronic lymphocytic leukemia B cells in nurselike cell cocultures and after BCR stimulation”, *Blood* 113(13) 3050-3058 (2009); QUIROGA *et al.*, “B-cell antigen receptor signaling enhances chronic lymphocytic leukemia cell migration and survival: specific targeting with a novel spleen tyrosine kinase inhibitor, R406”, *Blood* 114(5): 1029-1037 (2009). La inhibición de PI3K- $\delta$ ,  $\gamma$ , con un inhibidor en determinados linfocitos B neoplásicos, puede bloquear la supervivencia intracelular mediada por el BCR y señales de proliferación, así como interacciones clave con su microambiente que son críticas para su crecimiento.

Las isoformas PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ , también desempeñan un papel directo en la supervivencia y proliferación de determinadas neoplasias de linfocitos T. Véase, por ejemplo, SUBRAMANIAM *et al.*, “Targeting Nonclassical Oncogenes for Therapy in T-ALL”, *Cancer Cell* 21: 459-472 (2012). La actividad aberrante de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  proporciona las señales necesarias para el desarrollo y crecimiento de determinadas neoplasias de linfocitos T. Aunque la BTK se expresa en linfocitos T, no lo hace en linfocitos T y, por lo tanto, BTK no es una diana viable para el tratamiento de neoplasias malignas de linfocitos T. Véase, por ejemplo, NISITANI *et al.*, “Posttranscriptional

regulation of Bruton's tyrosine kinase expression in antigen receptor-stimulated splenic B cells", PNAS 97(6): 2737-2742 (2000); DE WEERS *et al.*, "The Bruton's tyrosine kinase gene is expressed throughout B cell differentiation, from early precursor B cell stages preceding immunoglobulin gene rearrangement up to mature B cell stages", Eur. J. Immunol. 23: 3109-3114 (1993); SMITH *et al.*, "Expression of Bruton's Agammaglobulinemia Tyrosine Kinase Gene, BTK, Is Selectively Down-Regulated in T Lymphocytes and Plasma Cells", J. Immunol. 152: 557-565 (1994). Los inhibidores de PI3K- $\delta$  y/o  $\gamma$  pueden tener un potencial terapéutico exclusivo en las neoplasias malignas de linfocitos T.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, la inhibición selectiva de las isoformas  $\delta$ / $\gamma$  utilizando el compuesto para el uso de la invención, puede proporcionar un régimen de tratamiento donde los efectos adversos asociados con la administración de un inhibidor no selectivo de PI3K se minimizan o se reducen. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se cree que los efectos adversos pueden reducirse evitando la inhibición de otras isoformas (por ejemplo,  $\alpha$  o  $\beta$ ) de PI3K.

En una realización, el efecto adverso es hiperglucemia. En otra realización, el efecto adverso es erupción. En otra realización, el efecto adverso es la alteración de la fertilidad masculina que puede resultar de la inhibición de la isoforma  $\beta$  de PI3K (véase, por ejemplo, Ciralo *et al.*, Molecular Biology of the Cell, 21: 704-711 (2010)). En otra realización, el efecto adverso es la toxicidad testicular que puede resultar de la inhibición de PI3K- $\beta$  (véase, por ejemplo, Wisler *et al.*, Amgen SOT, Abstract ID n.º 2334 (2012)). En otra realización, el efecto adverso es letalidad embrionaria (véase, por ejemplo, Bi *et al.*, J Biol Chem, 274: 10963-10968 (1999)). En otra realización, el efecto adverso es la agregación plaquetaria defectuosa (véase, por ejemplo, Kulkarni *et al.*, Science, 287: 1049-1053 (2000)). En otra realización, el efecto adverso es neutrófilos funcionalmente defectuosos (*id.*).

El compuesto para el uso de la presente invención, puede utilizarse para tratar o prevenir una neoplasia hemática, que tiene un alto nivel expresión de una o más isoformas de PI3K. El nivel de expresión de una o más isoformas de PI3K en la neoplasia maligna hemática se puede medir determinando el nivel de expresión proteica de las isoformas de PI3K, ARN; y/o número de copias de ADN, o midiendo uno o más biomarcadores proporcionados en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador de la ruta de señalización, un biomarcador de mutación de proteína, un biomarcador de expresión de proteína, en biomarcador de mutación génica, un biomarcador de expresión génica, un biomarcador de citocina, un biomarcador de quimiocina, un biomarcador de metaloproteínasa de matriz o un biomarcador para células cancerosas particulares, entre otros). El nivel de expresión de una o más isoformas de PI3K en el cáncer o la enfermedad puede determinarse basándose en información conocida en la materia o en información obtenida en estudios previos sobre el cáncer o enfermedades.

Determinado cáncer o trastorno, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, puede mostrar heterogeneidad en la expresión de la isoforma de PI3K entre las poblaciones de pacientes. El nivel de expresión de una o más isoformas de PI3K en un paciente o grupo de pacientes puede medirse determinando el nivel de expresión proteica de las isoformas de PI3K, ARN y/o número de copias de ADN del paciente o grupo de pacientes; o midiendo uno o más biomarcadores proporcionados en el presente documento en el paciente o grupo de pacientes (por ejemplo, un biomarcador de la ruta de señalización, un biomarcador de mutación de proteína, un biomarcador de expresión de proteína, un biomarcador de mutación génica, un biomarcador de expresión génica, un biomarcador de citocina, un biomarcador de quimiocina, un biomarcador de metaloproteínasa de matriz o un biomarcador para células cancerosas concretas, entre otros). El nivel de expresión de una o más isoformas de PI3K en el paciente o grupo de pacientes, puede determinarse basándose en información conocida en la materia o en información obtenida en pruebas previas del paciente o grupo de pacientes.

El compuesto para su uso de acuerdo con la invención, se puede administrar a un sujeto, por ejemplo, a un sujeto mamífero, por ejemplo, un ser humano, solo o en combinación con uno o más agentes o modalidades terapéuticas distintas; donde el compuesto es selectivo para una o más isoformas de PI3K sobre las otras isoformas de PI3K (por ejemplo, selectivo para PI3K- $\delta$ , selectivo para PI3K- $\gamma$ , o selectivo tanto para PI3K- $\delta$  como para PI3K- $\gamma$ ); y el sujeto que se está tratando tiene un alto nivel de expresión de la isoforma o isoformas de PI3K en concreto (por ejemplo, alta expresión de PI3K- $\delta$ , alta expresión de PI3K- $\gamma$ , o alta expresión tanto de PI3K- $\delta$  como de PI3K- $\gamma$ ).

Un método para determinar si un sujeto que tiene un cáncer o una neoplasia maligna hemática, es más o menos probable que responda a un tratamiento con un modulador de PI3K que reduce selectivamente la actividad de una o más isoformas de PI3K sobre otras isoformas de PI3K, comprende (1) administrar el compuesto al sujeto; y (2) determinar la respuesta del sujeto al tratamiento después de aproximadamente 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 o 70 días, o aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 meses después del primer tratamiento con el compuesto.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, como se proporciona en el presente documento, el tratamiento de una neoplasia maligna hemática, o de un subtipo específico de neoplasia maligna hemática, o de un paciente específico que tiene una neoplasia maligna hemática, que tiene una alta expresión de una isoforma de PI3K concreta, con un inhibidor de PI3K que inhibe selectivamente esa isoforma de PI3K particular, permite el uso de una dosis más baja del agente terapéutico y/o reducir el efecto inespecífico (por ejemplo, efectos sobre otras isoformas de PI3K), minimizando así la posibilidad de que se produzcan efectos adversos. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, los métodos desvelados en el presente documento pueden proporcionar efectos secundarios reducidos y/o una eficacia

mejorada. Dichos efectos adversos pueden incluir, entre otros, náuseas, diarrea, estreñimiento, fatiga, pirexia, escalofríos, vómitos, disminución del apetito, erupción, elevación de ASL, elevación de ALT, aumento de urea en sangre, aumento de alanina aminotransferasa, aumento de aspartato aminotransferasa, aumento de fosfatasa alcalina en sangre, neutropenia, trombocitopenia, anemia, hiperglucemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperfosfatemia, hipomagnesemia, dolor, lumbalgia, mialgia, tos y disnea. El término "reducción" de uno o más efectos adversos significa una disminución de la aparición y/o gravedad de uno o más de los efectos adversos proporcionados en el presente documento o conocidos en la materia que típicamente están asociados con la administración de un inhibidor de PI3K, por ejemplo, en aproximadamente 10 %, en aproximadamente 20 %, en aproximadamente 30 %, en aproximadamente 40 %, en aproximadamente 50 %, en aproximadamente 60 %, en aproximadamente 70 %, en aproximadamente 80 %, en aproximadamente 90 %, en aproximadamente 95 %, en aproximadamente 100 % en comparación con el tratamiento con otro inhibidor de PI3K (por ejemplo, un inhibidor no selectivo o menos selectivo). Los ejemplos de neoplasia maligna hemática que pueden tratarse o prevenirse con el compuesto, incluyen: por ejemplo, leucemia, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica (por ejemplo, Salmena, L *et al.* (2008) *Cell* 133: 403-414; Chapuis, N *et al.* (2010) *Clin Cancer Res.* 16(22):5424-35; Khwaja, A (2010) *Curr Top Microbiol Immunol.* 347: 169-88); linfoma, por ejemplo, linfoma no Hodgkin (por ejemplo, Salmena, L *et al.* (2008) *Cell* 133: 403-414). En algunas realizaciones, el compuesto puede utilizarse para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda.

La composición para su uso en la invención puede utilizarse para tratar o prevenir una neoplasia maligna hemática (o un tipo específico o un subtipo específico de neoplasia maligna hemática proporcionado en el presente documento), que incluye, pero sin limitación, un trastorno mieloide, leucemia, linfoma, síndrome mielodisplásico (SMD), enfermedad mieloproliferativa (EMP), trastorno de mastocitos y mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), entre otros. En una realización, la neoplasia maligna hemática incluye, pero sin limitación, leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA de linfocitos T (LLA-T), LLA de linfocitos B (LLA-B), leucemia aguda de linfocitos T, leucemia aguda de linfocitos B, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia mielógena crónica (LMC), LMC en fase blástica, linfoma linfocítico pequeño (LLP), LLC/LLP, LLC en fase blástica, linfoma de Hodgkin (LH), linfoma no Hodgkin (LNH), LNH de linfocitos B, LNH de linfocitos T, LNH indolente (LNHi), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBGB), linfoma de células del manto (LCM), LNH agresivo de linfocitos B, linfoma de linfocitos B (LLB), síndrome de Richter (SR), linfoma de linfocitos T (LLT), linfoma periférico de linfocitos T (LPLT), linfoma cutáneo de linfocitos T (LCLT), micosis fungoide transformada, síndrome de Sézary, linfoma anaplásico de células grandes (LACG), linfoma folicular, macroglobulinemia de Waldenstrom (MW), linfoma linfoplasmacítico, linfoma de Burkitt, mieloma múltiple (MM), amiloidosis, EMP, trombocitosis esencial (TE), mielofibrosis (MF), policitemia vera (PV), leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), SMD, SMD de alto riesgo y SMD de bajo riesgo.

En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LLC. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LLC/LLP. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LLC en fase blástica. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LLP.

En realizaciones adicionales, la neoplasia maligna hemática es LLC y el compuesto proporcionado en el presente documento promueve la apoptosis de células de LLC. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que el tratamiento con el compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292) sensibiliza a las células de LLC. En algunos casos, sin limitarse a ninguna teoría en particular, los efectos protectores inducidos por el entrecruzamiento con anticuerpos anti-IgM o células estromales, pueden mitigarse con el compuesto proporcionado en el presente documento. Un método para promover la apoptosis de células de LLC puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser el Compuesto 292. Un método para mitigar los efectos protectores sobre células de LLC inducidos por el entrecruzamiento con anticuerpos anti-IgM puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser el Compuesto 292. Un método para mitigar los efectos protectores sobre células de LLC inducidos por células estromales puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado (por ejemplo, sal o solvato) del mismo farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser el Compuesto 292.

Un método para inhibir la proliferación de células de LLC en los ganglios linfáticos puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser el Compuesto 292. Un método de producción de una aparición de respuesta rápida en pacientes con LLC puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser el Compuesto 292.

La neoplasia maligna hemática puede ser LNHi. La neoplasia maligna hemática puede ser DLBGB. La neoplasia maligna hemática puede ser LNH de linfocitos B (por ejemplo, LNH agresivo de linfocitos B). La neoplasia maligna

hemática puede ser LCM. La neoplasia maligna hemática puede ser SR. La neoplasia maligna hemática puede ser LMA. La neoplasia maligna hemática puede ser MM. La neoplasia maligna hemática puede ser LLA. La neoplasia maligna hemática puede ser LLA-T. La neoplasia maligna hemática puede ser LLA-B. La neoplasia maligna hemática puede ser LLT. La neoplasia maligna hemática puede ser LACG. La neoplasia maligna hemática puede ser leucemia. La neoplasia maligna hemática puede ser linfoma. La neoplasia maligna hemática puede ser linfoma de linfocitos T. La neoplasia maligna hemática puede ser SMD (por ejemplo, SMD de grado bajo). La neoplasia maligna hemática puede ser EMP. La neoplasia maligna hemática puede ser un trastorno de mastocitos. La neoplasia maligna hemática puede ser linfoma de Hodgkin (LH). La neoplasia maligna hemática puede ser linfoma no Hodgkin. La neoplasia maligna hemática puede ser LPLT. La neoplasia maligna hemática puede ser LCLT (por ejemplo, micosis fungoide o síndrome de Sézary). La neoplasia maligna hemática puede ser MW. La neoplasia maligna hemática puede ser LMC. La neoplasia maligna hemática puede ser LF. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es micosis fungoide transformada. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es síndrome de Sézary. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es leucemia aguda de linfocitos T. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es leucemia aguda de linfocitos B. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es linfoma de Burkitt. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es neoplasia mieloproliferativa. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es linfoma esplénico de zona marginal. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es linfoma marginal ganglionar. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es linfoma extraganglionar de zona marginal.

En una realización, la neoplasia maligna hemática es linfoma de linfocitos B. Un método de tratamiento o gestión de un linfoma de linfocitos B puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser el Compuesto 292. Un método para tratar o atenuar uno o más de los síntomas asociados con un linfoma de linfocitos B puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En una realización, el linfoma de linfocitos B es LNHi. En otra realización, el linfoma de linfocitos B es linfoma folicular. En otra realización, el linfoma de linfocitos B es macroglobulinemia de Waldenstrom (linfoma linfoplasmacítico). En otra realización, el linfoma de linfocitos B es linfoma de zona marginal (LZM). En otra realización, el linfoma de linfocitos B es LCM. En otra realización, el linfoma de linfocitos B es LH. En otra realización, el linfoma de linfocitos B es LNHa. En otra realización, el linfoma de linfocitos B es LDLBG. En otra realización, el linfoma de linfocitos B es linfoma de Richter.

En una realización, la neoplasia maligna hemática es un linfoma de linfocitos T. Un método de tratamiento o gestión de un linfoma de linfocitos T puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser el Compuesto 292. Un método para tratar o atenuar uno o más de los síntomas asociados con un linfoma de linfocitos T puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En una realización, el linfoma de linfocitos T es linfoma periférico de linfocitos T (LPLT). En una realización, el linfoma de linfocitos T es linfoma cutáneo de linfocitos T (LCLT).

En una realización, la neoplasia maligna hemática es síndrome de Sézary. Un método de tratamiento o gestión del síndrome de Sézary puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto para su uso de acuerdo con la invención, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En una realización, el compuesto es el Compuesto 292. Un método para tratar o atenuar uno o más de los síntomas asociados con el síndrome de Sézary puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. Los síntomas asociados con el síndrome de Sézary incluyen, pero sin limitación, epidermotropismo por linfocitos CD4+ neoplásicos, microabscesos de Pautrier, eritrodermia, linfadenopatía, linfocitos T atípicos en la sangre periférica y hepatoesplenomegalia. En una realización, el compuesto es el Compuesto 292. En una realización, la cantidad terapéuticamente eficaz para tratar o gestionar el síndrome de Sézary es de aproximadamente 25 mg a 75 mg, administrados dos veces al día. En otras realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 75 mg, de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 65 mg, de aproximadamente 45 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 50 mg o de aproximadamente 55 mg a aproximadamente 65 mg, administrándose cada una de estas dos veces al día. En una realización, la cantidad eficaz es de aproximadamente 60 mg., administrada dos veces al día.

En una realización, la neoplasia maligna hemática es recidivante. En una realización, la neoplasia maligna hemática es refractaria. En determinadas realizaciones, la neoplasia maligna hemática que se trata o se previene es un subtipo específico de neoplasia maligna hemática descrito en el presente documento. En la materia se conocen determinadas clasificaciones de tipo o subtipo de una neoplasia maligna hemática proporcionada en el presente documento. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se cree que muchos de los cánceres que se vuelven recidivantes o refractarios desarrollan resistencia a la terapia previa particular administrada para tratar los cánceres.

De este modo, Sin limitarse a ninguna teoría en particular, un compuesto proporcionado en el presente documento puede proporcionar una terapia de segunda línea proporcionando un mecanismo alternativo para tratar cánceres diferentes de aquellos mecanismos utilizados por determinadas terapias previas. En el presente documento se desvela un método para tratar o gestionar una neoplasia maligna hemática que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en el que la neoplasia maligna hemática es recidivante o refractaria a una terapia previa.

En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LNHi refractario. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LLC refractaria. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LLP refractario. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es refractaria a terapia con rituximab. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es refractaria a quimioterapia. En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es refractaria a radioinmunoterapia (RIT). En realizaciones ejemplares, la neoplasia maligna hemática es LNHi, LF, linfoma esplénico de zona marginal, linfoma ganglionar de zona marginal, linfoma extraganglionar de zona marginal, o LLP, la neoplasia maligna hemática es refractaria a terapia con rituximab, a quimioterapia y/o a RIT.

En otra realización ejemplar, la neoplasia maligna hemática es linfoma y el cáncer es recidivante o refractario al tratamiento con un inhibidor de BTK tal como, pero sin limitación, ibrutinib. En otra realización ejemplar, la neoplasia maligna hemática es LLC, y el cáncer es recidivante o refractario al tratamiento con un inhibidor de BTK tal como, pero sin limitación, ibrutinib y AVL-292.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que los pacientes que desarrollaban resistencia a un tratamiento con un inhibidor de BTK, a menudo tenían una mutación de cisteína por serina en el resto 481 de BTK (C481S) o una mutación de cisteína por fenilalanina en el resto 481 de BTK (C481F). En el presente documento se desvela un método para tratar o gestionar una neoplasia maligna hemática que comprende administrar a un paciente que tiene una mutación de cisteína por serina o de cisteína por fenilalanina en el resto 481 de BTK, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en el que la neoplasia maligna hemática es recidivante o refractaria a una terapia previa. En el presente documento se desvela un método para tratar o gestionar una neoplasia maligna hemática que comprende: (1) identificar a un paciente que tiene una mutación de cisteína por serina o de cisteína por fenilalanina en el resto 481 de BTK; y (2) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En una realización, el paciente es un paciente con LLC. En otra realización, el paciente es un paciente con LLC resistente a ibrutinib.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que los pacientes que desarrollaban resistencia a un tratamiento con un inhibidor de BTK, también podían tener una mutación de tirosina por triptófano en el resto 665 del gen *PLCGamma2* (R665W). En el presente documento se desvela un método para tratar o gestionar neoplasias hemáticas que comprende administrar a un paciente que tiene una mutación de tirosina por triptófano en el resto 665 del gen *PLCGamma2*, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en el que la neoplasia maligna hemática es recidivante o refractaria a una terapia previa. En el presente documento se desvela un método para tratar o gestionar una neoplasia maligna hemática que comprende: (1) identificar a un paciente que tenga una mutación de tirosina por triptófano en el resto 655 del gen *PLCGamma2*; y (2) administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En una realización, el paciente es un paciente con LLC. En otra realización, el paciente es un paciente con LLC resistente a ibrutinib.

En el presente documento se desvela un método para tratar o gestionar una neoplasia maligna hemática que comprende: administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de BTK COMO SE DESVELA. Los ejemplos de inhibidores de BTK incluyen, pero sin limitación, ibrutinib (1-[(3R)-3-[4-amino-3-(4-fenoxifenil)pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona), GDC-0834 ([R-N-(3-(6-(4-(1,4-dimetil-3-oxopiperazin-2-il)fenilamino)-4-metil-5-oxo-4,5-dihidropirazin-2-il)-2-metilfenil)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofene-2-carboxamida]), CGI-560 (4-(*terc*-butil)-N-(3-(8-(fenilamino)imidazo[1,2-a]pirazin-6-il)fenil)benzamida), CGI-1746 (4-(*terc*-butil)-N-[2-metil-3-[4-metil-6-[4-(morfolina-4-carbonil)anilino]-5-oxopirazin-2-il]fenil]benzamida), HM-71224, AVL-292 (CC-292) (N-(3-((5-fluoro-2-((4-(2-metoxietoxi)fenil)amino)pirimidin-4-il)amino)fenil)acrilamida), ONO-4059, CNX-774 (4-(4-((4-((3-acrilamidofenil)amino)-5-fluoropirimidin-2-il)amino)fenoxi)-N-metilpicolinamida), y LFM-A13 (2-ciano-N-(2,5-dibromofenil)-3-hidroxi-2-butenamida) y los inhibidores de BTK desvelados en Akinleye *et al.*, Journal of Hematology & Oncology, 2013, 6: 59. En una realización el compuesto es el Compuesto 292 y el inhibidor de BTK se selecciona entre ibrutinib y AVL-292. En algunas realizaciones, el cáncer es un linfoma o una leucemia. En una realización, el linfoma es linfoma no Hodgkin. En una realización, la leucemia es leucemia linfocítica crónica de linfocitos B.

En determinadas realizaciones, sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que determinados subtipos de un cáncer particular eran más susceptibles al tratamiento con un compuesto proporcionado en el presente



documento que con otros. Por ejemplo, aunque se descubrió que en el LDLBG existía sensibilidad en los subtipos ABC y GCB, se descubrió que las células con señalización dependiente del BCR, tenían mayor sensibilidad a un compuesto proporcionado en el presente documento en comparación con las que no lo tenían. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, otros factores, tales como dependencias en otras vías de señalización, características anti-apoptóticas (por ejemplo, Bcl-2, HRK) y/o el estado de mutaciones (por ejemplo, IgH-BCL2, CD79b, MYD-88), pueden contribuir a las sensibilidades diferenciales presentadas por diversos subtipos. En el presente documento se desvela un método para tratar un subtipo particular de un cáncer con un compuesto proporcionado en el presente documento, en el que el subtipo comprende células que tienen señalización dependiente del receptor de linfocitos B (BCR). En una realización, el subtipo es Ri-1, WSU-DLCL2, Toledo, OCI-LY8, SU-DHL-4 o SU-DHL-6. En otra realización, el subtipo es Ri-1, SU-DHL-4 o SU-DHL-6.

Un método para reducir un síntoma asociado a un cáncer o a un trastorno, tal como una neoplasia maligna hemática, en una muestra biológica, puede comprender poner en contacto la muestra biológica con el compuesto o con una sal, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable), en una cantidad suficiente para reducir el síntoma. El método puede llevarse a cabo *in vivo*, por ejemplo, en un sujeto mamífero, por ejemplo, en un modelo animal o como parte del protocolo terapéutico. El compuesto puede utilizarse como un agente único o en combinación con otro agente o modalidad terapéutica.

Como se usa en el presente documento, y a menos que se especifique otra cosa, la "puesta en contacto" puede ser directa (por ejemplo, mediante aplicación directa del compuesto proporcionado en el presente documento a una muestra biológica, por ejemplo, *in vitro*) o indirecta (por ejemplo, administrando el compuesto proporcionado en el presente documento a un sujeto (por ejemplo, por cualquier vía de administración conocida, por ejemplo, por vía oral), de modo que el compuesto proporcionado en el presente documento alcance una muestra biológica afectada dentro del cuerpo.

Como se usa en el presente documento, y a menos que se especifique otra cosa, una "muestra biológica" incluye, por ejemplo, una célula o un grupo de células (por ejemplo, CMNSP o células dendríticas plasmacitoides), un tejido o un fluido (por ejemplo, sangre entera o suero) que entra en contacto con un compuesto proporcionado en el presente documento, por ejemplo, un modulador de PI3K, lo que da como resultado una disminución o inhibición de la neoplasia maligna hemática o de sus síntomas asociados. En algunas realizaciones, la muestra biológica está presente en, o procede de, un sujeto que tiene una neoplasia maligna hemática, o procede de un sujeto que está en riesgo de desarrollar cáncer o neoplasia maligna hemática. En algunas realizaciones, la muestra biológica puede ponerse en contacto con el compuesto proporcionado en el presente documento fuera del cuerpo y después introducirse en el cuerpo de un sujeto (por ejemplo, en el cuerpo del sujeto de quien se obtuvo la muestra biológica o en el cuerpo de un sujeto diferente). En algunas realizaciones, la muestra biológica incluye células que expresan una o más isoformas de PI3K.

Un método para tratar, prevenir y/o gestionar neoplasias malignas hemáticas en un sujeto, puede comprender administrar, a un sujeto que lo necesite, una cantidad eficaz del compuesto, o una sal, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede administrarse como un agente único. El compuesto puede administrarse en combinación con otro agente o modalidad terapéutica.

Como se usa en el presente documento, y a menos que se especifique otra cosa, la neoplasia maligna hemática o un síntoma asociado con esta, incluye todos los tipos de manifestación de neoplasia maligna hemática como se describe en el presente documento o como se conoce en la materia. Como se usa en el presente documento, y a menos que se especifique otra cosa, el cáncer o un síntoma asociado con cáncer, incluye todos los tipos de manifestación de cáncer como se desvela en el presente documento o como se conoce en la materia. Los síntomas pueden evaluarse utilizando ensayos y escalas que se desvelan y/o ilustran con ejemplos en el presente documento y/o como se conoce en la materia.

El síntoma puede reducirse en al menos aproximadamente 2 %, al menos aproximadamente 5 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 15 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 % o al menos aproximadamente 95 %, con respecto a un nivel de control. El nivel de control incluye cualquier control apropiado conocido en la materia. Por ejemplo, el nivel de control puede ser el nivel de tratamiento previo en la muestra o sujeto tratado, o puede ser el nivel en una población de control (por ejemplo, el nivel en sujetos que no tienen cáncer o neoplasia maligna hemática o el nivel en muestras procedentes de sujetos que no tienen cáncer o neoplasia maligna hemática). La disminución puede ser estadísticamente significativa, por ejemplo, evaluada utilizando una comparación estadística paramétrica o no paramétrica que sea apropiada.

El sujeto puede ser un mamífero. El sujeto puede ser un ser humano.

El sujeto puede ser un modelo animal de cáncer o neoplasia maligna hemática, un ser humano con cáncer o neoplasia maligna hemática o un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que esté en riesgo de desarrollar cáncer o

- neoplasia maligna hemática. El sujeto puede ser un ser humano con antecedentes familiares de cáncer o neoplasia maligna hemática, que lleva un gen asociado con cáncer o neoplasia maligna hemática, que es positivo para un biomarcador asociado con cáncer o neoplasia maligna hemática (por ejemplo, un biomarcador proporcionado en el presente documento), o una combinación de los mismos. Al sujeto se le puede haber diagnosticado cáncer o neoplasia maligna hemática. El sujeto puede tener uno o más signos o síntomas asociados con cáncer o neoplasia maligna hemática. El sujeto puede estar en riesgo de desarrollar cáncer o neoplasia maligna hemática (por ejemplo, el sujeto lleva un gen que, individualmente, o en combinación con otros genes o factores ambientales, está asociado con el desarrollo de cáncer o neoplasia maligna hemática).
- El sujeto puede presentar un nivel elevado de una o más isoformas de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$  y/o PI3K- $\gamma$ ), lo cual puede indicar una mayor probabilidad de respuesta a, o una mayor eficacia de, un tratamiento o agente terapéutico particular, en comparación con otro sujeto con un nivel más bajo de la isoforma (o isoformas) de PI3K. Los niveles de las isoformas de PI3K pueden evaluarse utilizando métodos conocidos en la materia.
- En algunas realizaciones, el sujeto presenta uno o más biomarcadores proporcionados en el presente documento, lo cual puede indicar una mayor probabilidad de respuesta a, o una mayor eficacia de, un tratamiento o un agente terapéutico particular.
- En algunas realizaciones, el sujeto tiene una mutación (por ejemplo, un SNP (*single-nucleotide polymorphism*, polimorfismo mononucleotídico)), en un gen asociado con cáncer o neoplasia hemática. En una realización, el gen se selecciona entre CXCR4, IGH7, KRAS, NRAS, A20, CARD11, CD79B, TP53, CARD11, MYD88, GNA13, MEF2B, TNFRSF14, MLL2, BTG1, EZH2, NOTCH1, JAK1, JAK2, PTEN, FBW7, PHF6, IDH1, IDH2, TET2, FLT3, KIT, NPM1, CEBPA, DNMT3A, BAALC, RUNX1, ASXL1, IRF8, POU2F2, WIF1, ARID1A, MEF2B, TNFAIP3, PIK3R1, MTOR, PIK3CA, PI3K $\delta$ , y/o PI3K $\gamma$  o una combinación de los mismos. En una realización, el trastorno a tratar, prevenir y/o gestionar es MW y el sujeto tiene una carencia de PTEN.
- En algunas realizaciones, el sujeto presenta actividad excesiva o anómala de PI3K (por ejemplo, actividad excesiva o reducida) de uno o más componentes de la ruta de señalización de PI3K (por ejemplo, Akt(PKB), mTOR, una Tec cinasa (por ejemplo, Btk, Itk, Tec), fosfolipasa C, PDK1, PKC, NFkB, Rac GEF (por ejemplo, Vav-1) o Rac).
- El método para tratar o gestionar una neoplasia maligna hemática puede comprender administrar a un paciente que tiene una o más mutaciones seleccionadas de mutaciones MYD88 (L265P), CXCR4, ARID1A, MUC16, TRAF2, TRRAP y MYBBP1A, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. El paciente puede tener una mutación (L265P) en el gen *MYD88* y/o *CXCR4* en el dominio N terminal. La neoplasia maligna hemática puede ser macroglobulinemia de Waldenström (MW). La neoplasia maligna hemática puede ser LDLBG. La neoplasia maligna hemática puede ser LLC. En una realización, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.
- Un método para tratar o gestionar la MW puede comprender administrar a un paciente que tiene la mutación del gen *CXCR4* una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, sal o solvato). La mutación de *CXCR4* puede producirse en el dominio N terminal de *CXCR4*. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.
- Un método de tratamiento o gestión de LDLBG puede comprender administrar a un paciente que tiene la mutación de *CXCR4* una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. La mutación de *CXCR4* puede producirse en el dominio N terminal de *CXCR4*. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.
- Un método para tratar o gestionar la LLC puede comprender administrar a un paciente que tiene la mutación de *CXCR4* una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. La mutación de *CXCR4* puede producirse en el dominio N terminal de *CXCR4*. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.
- Un método para tratar o gestionar la LLC puede comprender administrar a un paciente que tiene células cancerosas CD38 positivas, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento

(por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.

Un método para tratar o gestionar la LLC puede comprender administrar a un paciente que tiene células cancerosas CD69 positivas, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.

Un método para tratar o gestionar la LLC puede comprender administrar a un paciente que tiene células cancerosas CD38/CD69 doblemente positivas, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.

Un método para tratar o gestionar la LLC puede comprender administrar a un paciente que tiene células cancerosas Ki67 positivas, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.

Un método para tratar o gestionar la LLC puede comprender administrar a un paciente que tiene células cancerosas pAKT positivas, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.

Un método para tratar o gestionar la LLC puede comprender administrar a un paciente que tiene células cancerosas Ki67/pAKT doblemente positivas, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede utilizarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos distintos descritos a continuación en el presente documento.

En algunas realizaciones, es posible que el sujeto haya sido tratado previamente por cáncer o neoplasia maligna hemática. En algunas realizaciones, es posible que el sujeto haya sido tratado previamente por cáncer o neoplasia maligna hemática, pero no responde a las terapias estándar. Un método para tratar, prevenir y/o gestionar un cáncer o neoplasia maligna hemática en un sujeto, puede comprender administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocristal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, en el que al sujeto se le ha administrado previamente una terapia para cáncer o neoplasia maligna hemática.

Es posible que al sujeto se la haya administrado previamente una terapia para el cáncer o neoplasia maligna hemática al menos 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, 12 semanas, o 16 semanas antes de administrar el compuesto. Es posible que al sujeto se le haya administrado anteriormente una terapia para el cáncer o neoplasia maligna hemática al menos 1 semana, 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses o 4 meses antes de administrar el compuesto.

Es posible que al sujeto se la haya administrado una dosis estable de una terapia para el cáncer o neoplasia maligna hemática antes de administrar el compuesto. Es posible que al sujeto se la haya administrado una dosis estable de una terapia para el cáncer o neoplasia maligna hemática durante al menos 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 8 semanas, 12 semanas, o 16 semanas antes de administrar el compuesto. Es posible que al sujeto se la haya administrado una dosis estable de una terapia para el cáncer o neoplasia maligna hemática durante al menos 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas,

8 semanas, 12 semanas, o 16 semanas antes de administrar el compuesto.

Es posible que al sujeto se la haya administrado una terapia para el cáncer o neoplasia maligna hemática al menos 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, 12 semanas, o 16 semanas antes de administrar el compuesto, y es posible que al sujeto se la haya administrado una dosis estable de la misma terapia para el cáncer o neoplasia maligna hemática durante al menos 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 12 semanas o 16 semanas antes de administrar el compuesto.

La dosis estable de la terapia administrada previamente puede ser una dosis semanal de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1.000 mg., de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg., de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 250 mg., de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg., de aproximadamente 2 a aproximadamente 75 mg., de aproximadamente 3 a aproximadamente 50 mg., de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg., de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 25 mg., de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 mg., de aproximadamente 12,5 a aproximadamente 25 mg., de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 mg. o de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 mg. La dosis semanal total puede administrarse una vez o administrarse en dosis divididas.

Es posible que el sujeto no haya sido tratado previamente por cáncer o neoplasia maligna hemática.

Una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del compuesto puede ser una dosis diaria de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1.000 mg., de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg., de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 250 mg., de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg., de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg., de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg., de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg., de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg., de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg., de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg., de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg., de aproximadamente 2 a aproximadamente 25 mg. o de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mg.

La cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del compuesto puede ser una dosis diaria de aproximadamente 0,1, aproximadamente 0,2, aproximadamente 0,5, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 5, aproximadamente 10, aproximadamente 15, aproximadamente 20, aproximadamente 25, aproximadamente 30, aproximadamente 35, aproximadamente 40, aproximadamente 45, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90, aproximadamente 100, o aproximadamente 150 mg.

El intervalo de dosis diaria recomendado del compuesto, para las afecciones descritas en el presente documento, puede estar dentro del intervalo de aproximadamente 0,5 mg. a aproximadamente 100 mg. al día, o de aproximadamente 0,5 mg. a aproximadamente 50 mg. al día, preferentemente administrado como una dosis única una vez al día, o en dosis divididas a lo largo del día. La dosificación puede variar de aproximadamente 1 mg. a aproximadamente 50 mg. al día. La dosificación puede variar de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 25 mg. al día. Las dosis diarias específicas pueden incluir 0,1, 0,2, 0,5, 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, 50 o 100 mg al día.

La dosificación inicial recomendada puede ser de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 50 o 100 mg/día. La dosis inicial recomendada puede ser de 0,5, 1, 2, 3, 4 o 5 mg/día. La dosis se puede aumentar gradualmente a 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75 o 100 mg/día.

La cantidad terapéutica profilácticamente eficaz puede ser 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, 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.

La dosis administrada también puede expresarse en unidades distintas de mg/kg/día. Por ejemplo, las dosis para administración parenteral pueden expresarse como mg/m<sup>2</sup>/día. Un experto habitual en la materia sabrá cómo convertir fácilmente dosis de mg/kg/día a mg/m<sup>2</sup>/día en función de la altura o el peso de un sujeto o ambas cosas (véase, [www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm](http://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/m<sup>2</sup>/día.

En una realización, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en

plasma del compuesto en estado estacionario, que varía de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,5  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,5  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2  $\mu\text{M}$ , o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1  $\mu\text{M}$ . En una realización, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100  $\mu\text{M}$ . En otra realización, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,5  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma en estado estacionario, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1  $\mu\text{M}$ .

Como se explica con más detalle a continuación, después de la administración de 25 mg. o 75 mg. DVD del Compuesto 292, se descubrió que dicho compuesto se absorbía rápidamente, observándose generalmente concentraciones plasmáticas máximas de aproximadamente 1 hora después de la dosificación. También se descubrió que el área bajo la curva, ABC, aumentaba proporcionalmente con dosis de hasta 75 mg. DVD, pero que la semivida de eliminación (de aproximadamente 4-5 horas tanto para 25 mg. como para 75 mg. DVD) era independiente de la dosis. La concentración en plasma media en estado estacionario antes de la dosis después de 25 mg. DVD, fue de aproximadamente 390 ng/ml, lo que indica supresión completa de PI3K- $\delta$  ( $\text{CI}_{90}$  = 361 ng/ml) con inhibición de PI3K- $\gamma$  ( $\text{CI}_{50}$  = 429 ng/ml) durante todo el intervalo de dosificación.

En otra realización, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario a un nivel más alto que la  $\text{CI}_{50}$  para una isoforma de PI3K particular. En otra realización, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario a un nivel más alto que la  $\text{CI}_{90}$  para una isoforma de PI3K particular. En una realización, la isoforma de PI3K es PI3K- $\delta$  cuya  $\text{CI}_{90}$  tiene un valor de aproximadamente 361 mg/ml. En otra realización, la isoforma de PI3K es PI3K- $\gamma$  cuya  $\text{CI}_{50}$  tiene un valor de aproximadamente 429 ng/ml.

En una realización, el compuesto es el Compuesto 292, y la isoforma de PI3K es PI3K- $\delta$ . En otra realización, el compuesto es el Compuesto 292, y la isoforma de PI3K es PI3K- $\gamma$ . En otra realización en la que el compuesto es el Compuesto 292, la cantidad administrada de Compuesto 292 es suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario de aproximadamente 300 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml, de aproximadamente 350 ng/ml a aproximadamente 450 ng/ml o de aproximadamente 380 ng/ml a aproximadamente 420 ng/ml. En otra realización, en la que el compuesto es el Compuesto 292, la cantidad administrada de Compuesto 292 es suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario de aproximadamente 390 ng/ml. Como se usa en el presente documento, la expresión "concentración en plasma en estado estacionario" es la concentración que se alcanza después de un período de administración de un compuesto. Una vez que se alcanza el estado estacionario, hay pequeños picos y valles en la curva dependiente del tiempo de la concentración en plasma del compuesto.

En una realización, la cantidad administrada es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima (concentración pico) del compuesto, que varía de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,5  $\mu\text{M}$ , de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2  $\mu\text{M}$ , o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1  $\mu\text{M}$ . En una realización, la cantidad del compuesto administrado es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100  $\mu\text{M}$ . En otra realización la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,5  $\mu\text{M}$ . En otra realización más, la cantidad administrada del

compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 µM. En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma máxima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 µM.

5 En una realización, la cantidad administrada es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima (concentración valle) del compuesto, que varía de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 10 µM, desde de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,5 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 µM, o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 µM, cuando se administran más de una dosis. En una realización, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM. En otra realización, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 10 µM. En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 µM. En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 µM. En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1 µM. En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,5 µM. En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 µM. En otra realización más, la cantidad administrada del compuesto es suficiente para proporcionar una concentración en plasma mínima del compuesto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 µM.

En una realización, la cantidad administrada es suficiente para proporcionar un área bajo la curva (ABC) del compuesto, que varía de aproximadamente 50 a aproximadamente 10.000 ng\*h/ml, de aproximadamente 100 a aproximadamente 50.000 ng\*h/ml, de aproximadamente 100 a 25.000 ng\*h/ml, o de aproximadamente 10.000 a 25.000 ng\*h/ml.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que la administración de un compuesto proporcionado en el presente documento, a un paciente con cáncer o neoplasia maligna hemática, daba como resultado una aparición rápida de respuesta en los pacientes. En el presente documento se desvela un método para obtener una aparición rápida de respuesta en pacientes con cáncer o neoplasia maligna hemática que comprende administrar al paciente un compuesto proporcionado en el presente documento, o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la aparición rápida de respuesta se obtiene al cabo de aproximadamente 4 meses, 3 meses, 2 meses o 1 mes desde la fecha de la primera administración de un compuesto proporcionado en el presente documento. En una realización, el compuesto es el Compuesto 292, o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable. En una realización en la que el compuesto es el Compuesto 292, o un derivado del mismo, farmacéuticamente aceptable, la neoplasia maligna hemática es un linfoma de linfocitos T y la aparición rápida de respuesta se obtiene al cabo de aproximadamente 2 meses de la primera administración del compuesto. En otra realización en la que el compuesto es el Compuesto 292, o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable, la neoplasia maligna hemática es un linfoma de linfocitos T y la aparición rápida de respuesta se obtiene al cabo de aproximadamente 1,9 meses desde la primera administración del compuesto. En una realización en la que el compuesto es el Compuesto 292, o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable, la neoplasia maligna hemática es un linfoma de linfocitos B y la aparición rápida de respuesta se obtiene al cabo de aproximadamente 2 meses de la primera administración del compuesto. En otra realización en la que el compuesto es el Compuesto 292, o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable, la neoplasia maligna hemática es un linfoma de linfocitos B y la aparición rápida de respuesta se obtiene al cabo de aproximadamente 1,8 meses de la primera administración del compuesto.

El compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, se puede administrar por vía oral, parenteral (por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, CIV, inyección o infusión intracisternal, inyección subcutánea o implante), inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica (por ejemplo, transdérmica o local). En una realización, el compuesto se administra por vía oral. En otra realización, el compuesto se administra por vía parenteral. En otra realización más, el compuesto se administra por vía intravenosa.

Un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, un compuesto de Fórmula I (por ejemplo, el Compuesto 292), o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable) se puede administrar una vez cada día (CD), o dividirse en dosis diarias múltiples, tal como dos veces al día (DVD), tres veces al día (TVD) y cuatro veces al día (CVD). Además, la administración puede ser continua (es decir diariamente durante días consecutivos o a diario), intermitente, por ejemplo, en ciclos (es decir, incluyendo días, semanas o meses de descanso farmacológico). Como se usa en el presente documento, el término

“diariamente” pretende significar que un compuesto terapéutico, tal como un compuesto de Fórmula I, se administra una o más de una vez al día, por ejemplo, durante un período de tiempo. El término “continua” pretende significar que un compuesto terapéutico, tal como un compuesto de Fórmula I, se administra diariamente durante un período ininterrumpido de al menos 10 días a 52 semanas. El término “intermitente” o “de manera intermitentemente”, como se usa en el presente documento, pretende significar detenerse y comenzar a intervalos regulares o irregulares. Por ejemplo, la administración intermitente de un compuesto de Fórmula I es la administración durante uno a seis días a la semana, la administración en ciclos (por ejemplo, administración diaria durante dos a ocho semanas consecutivas, después un período de descanso sin administración durante hasta una semana) o administración en días alternos. La expresión “en ciclos” como se usa en el presente documento, pretende significar que un compuesto terapéutico, tal como un compuesto de Fórmula I, se administra diariamente o de manera continua, pero con un período de descanso (por ejemplo, después de una dosificación durante 7, 14, 21 o 28 días).

En algunas realizaciones, la frecuencia de administración está en el intervalo de aproximadamente una dosis diaria a aproximadamente una dosis mensual. En determinadas realizaciones, la administración es una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día, una vez cada dos días, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas. En una realización, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra una vez al día. En otra realización, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra dos veces al día. En otra realización más, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra tres veces al día. En otra realización más, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra cuatro veces al día.

El compuesto (Compuesto 292, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable), se administra a una dosis de aproximadamente 0,1, 0,2, 0,25, 0,5, 1, 2, 2,5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 mg o 75 mg 2VD. El compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable, puede administrarse a una dosis de aproximadamente 0,5 mg DVD. El compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable, puede administrarse a una dosis de aproximadamente 1 mg DVD. El compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, puede administrarse a una dosis de aproximadamente 5 mg DVD. El compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable puede administrarse a una dosis de aproximadamente 8 mg DVD. El compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, puede administrarse a una dosis de aproximadamente 15 mg DVD. El compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, puede administrarse a una dosis de aproximadamente 25 mg DVD. El compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, puede administrarse a una dosis de aproximadamente 35 mg DVD. En otra realización, el compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, se administra a una dosis de aproximadamente 50 mg DVD. En otra realización, el compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, se administra a una dosis de aproximadamente 75 mg DVD.

En determinadas realizaciones, el compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, se administra una vez al día desde un día a seis meses, desde una semana a tres meses, desde una semana a cuatro semanas, desde una semana a tres semanas, o desde una semana a dos semanas. En determinadas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra una vez al día durante una semana, dos semanas, tres semanas o cuatro semanas. En una realización, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra una vez al día durante una semana. En otra realización, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra una vez al día durante dos semanas. En otra realización más, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra una vez al día durante tres semanas. En otra realización adicional, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra una vez al día durante cuatro semanas. En otra realización adicional, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra una vez al día durante más de cuatro semanas.

En determinadas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, un compuesto de Fórmula I (por ejemplo, el Compuesto 292, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable) se administra dos veces al día desde un día a seis meses, desde una semana a tres meses, desde una semana a cuatro semanas, desde una semana a tres semanas, o desde una a dos semanas. En determinadas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra dos veces al día durante una semana, dos semanas, tres semanas o cuatro semanas. En una realización, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra dos veces al día durante una semana. En otra realización, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra dos veces al día durante dos semanas. En otra realización más, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra dos veces al día durante tres semanas. En otra realización más, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra dos veces al día durante cuatro semanas. En otra realización más, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra dos veces al día durante más de cuatro semanas.

El compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, un compuesto de Fórmula I (por ejemplo,

Compuesto 292), o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable) puede suministrarse como una dosis única tal como, por ejemplo, una sola inyección en embolada, o comprimidos o pastillas orales; o a lo largo del tiempo, tal como, por ejemplo, infusión continua a lo largo del tiempo o dosis en embolada divididas a lo largo del tiempo. El compuesto puede administrarse repetidamente si fuera necesario, por ejemplo, hasta que el paciente experimente una enfermedad o regresión estable, o hasta que el paciente experimente una progresión de la enfermedad o una toxicidad inaceptable.

### Terapia de combinación

En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra en combinación con una o más terapias distintas. En el presente documento se desvelan métodos de terapias de combinación en las que se utiliza un agente que se sabe que modula otras rutas u otros componentes de la misma ruta, o incluso conjuntos solapantes de enzimas diana, en combinación con un compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos) del mismo, farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, dicha terapia incluye, pero sin limitación, la combinación del compuesto en cuestión, con agentes quimioterapéuticos, anticuerpos terapéuticos y/o con un tratamiento de radiación, para proporcionar un efecto terapéutico sinérgico o aditivo.

La expresión “en combinación con”, no pretende implicar que la otra terapia y el modulador de PI3K deban administrarse al mismo tiempo y/o formularse para el suministro conjunto, aunque estos métodos de suministro están dentro del alcance de esta divulgación. El compuesto proporcionado en el presente documento puede administrarse simultáneamente con, antes de (por ejemplo, 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, 12 semanas o 16 semanas antes), o después de (por ejemplo, 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, 12 semanas o 16 semanas después), una o más terapias distintas (por ejemplo, uno o más agentes adicionales distintos). En general, cada agente terapéutico se administrará a una dosis y/o a un horario determinado para ese agente particular. El otro agente terapéutico puede administrarse con el compuesto proporcionado en el presente documento en una sola composición o por separado en una composición diferente. En el presente documento también se contempla la triple terapia.

En general, se espera que los agentes terapéuticos adicionales empleados en combinación se utilicen a niveles que no superen los niveles a los cuales se utilizan individualmente. En algunas realizaciones, los niveles utilizados en combinación serán menores que los utilizados individualmente.

En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento es un tratamiento de primera línea para el cáncer o neoplasia maligna hemática, es decir, se utiliza en un sujeto al cual no se le ha administrado anteriormente otro fármaco o terapia cuya finalidad sea tratar un cáncer o una neoplasia maligna hemática o uno o más de sus síntomas.

En otras realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento es un tratamiento de segunda línea para el cáncer o neoplasia maligna hemática, es decir, se utiliza en un sujeto al cual se le ha administrado anteriormente otro fármaco o terapia cuya finalidad sea tratar un cáncer o una neoplasia maligna hemática o uno o más de sus síntomas.

En otras realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento es un tratamiento de tercera o cuarta línea para el cáncer o neoplasia maligna hemática, es decir, se utiliza en un sujeto al cual se le ha administrado anteriormente dos o tres fármacos distintos o terapias cuya finalidad sea tratar un cáncer o una neoplasia maligna hemática o uno o más de sus síntomas.

En realizaciones en las que se administran dos agentes, estos pueden administrarse en cualquier orden. Por ejemplo, los dos agentes pueden administrarse simultáneamente (es decir, esencialmente al mismo tiempo, o dentro del mismo tratamiento) o secuencialmente (es decir, uno inmediatamente después del otro, o alternativamente, con un espacio entre la administración de los dos). En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento se administra secuencialmente (es decir, después del primer agente terapéutico).

En una realización, en el presente documento se proporciona una terapia de combinación para inhibir el crecimiento celular anómalo en un sujeto, que comprende administrar un compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados isotópicamente marcados farmacéuticamente aceptables) en combinación con una cantidad de un agente anticanceroso (por ejemplo, un agente quimioterapéutico). Actualmente, en la materia se conocen muchos agentes quimioterapéuticos y pueden utilizarse en combinación con un compuesto proporcionado en el presente documento.

En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico se selecciona entre inhibidores mitóticos, agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos intercalantes, inhibidores del factor de crecimiento, inhibidores del ciclo celular, enzimas,



inhibidores de topoisomerasa, modificadores de respuestas biológicas, antihormonas, inhibidores de la angiogénesis y antiandrógenos. Son ejemplos no limitantes agentes quimioterapéuticos, agentes citotóxicos y moléculas pequeñas no peptídicas, tales como Gleevec® (mesilato de imatinib), Velcade® (bortezomib), Casodex™ (bicalutamida), Iressa® (gefitinib), Tarceva® (erlotinib) y Adriamycin® (doxorubicina), así como una multitud de agentes quimioterapéuticos. Como ejemplos no limitantes de agentes quimioterapéuticos se incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN™); alquilsulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocuoona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, incluidas la altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenotiofosforamida y trimetilomelamina; inhibidores de BTK tales como ibrutinib (PCI-32765), AVL-292, Dasatinib, LFM-AI3, ONO-WG-307 y GDC-0834; inhibidores de HDAC tales como vorinostat, romidepsina, panobinostat, ácido valproico, belinostat, mocetinostat, abrexinostat, entinostat, SB939, resminostat, givinostat, CUDC-101, AR-42, CHR-2845, CHR-3996, 4SC-202, CG200745, ACY -1215 y kevetrin; inhibidores de EZH2 tales como, pero sin limitación, EPZ-6438 (N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il) metil)-5-(etil (tetrahydro-2H-piran-4-il)amino)-4-metil-4'-(morfolinometil)-[1,1'-bifenil]-3-carboxamida), GSK-126 ((S)-1-(sec-butil)-N-((4,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-3-metil-6-(6-(piperazin-1-il)piridin-3-il)-1H-indol-4-carboxamida), GSK-343 (1-isopropil-N-((6-metil-2-oxo-4-propil-1,2-dihidropiridin-3-il)metil)-6-(2-(4-metilpiperazin-1-il)piridin-4-il)-1H-indazol-4-carboxamida), EI1, 3-deazaneplanocina A (DNNep, 5R-(4-amino-1H-imidazo[4,5-c]piridin-1-il)-3-(hidroximetil)-3-ciclopenteno-1S, 2R-diol), dúplex de ARN interferente pequeño (ARNip) dirigidos contra EZH2 (S.M. Elbashir *et al.*, Nature 411: 494-498 (2001)), isoliquiritigenina, y los proporcionados, por ejemplo, en las publicaciones de Estados Unidos n.º. 2009/0012031, 2009/0203010, 2010/0222420, 2011/0251216, 2011/0286990, 2012/0014962, 2012/0071418, 2013/0040906 y 2013/0195843; inhibidores de JAK/STAT tales como lestaurinib, tofacitinib, ruxolitinib, pacritinib, CYT387, baricitinib, GLPG0636, TG101348, INCB16562, CP-690550 y AZD1480; inhibidores de PKC-β tal como Enzastaurin; inhibidores de SYK tales como, pero sin limitación, GS-9973, R788 (fostamatinib), PRT 062607, R406, (S)-2-(2-((3,5-dimetilfenil)amino)pirimidin-4-ilo)-N-(1-hidroxiopropan-2-il)-4-metiltiazol-5-carboxamida, R112, GSK143, BAY61-3606, PP2, PRT 060318, R348 y los proporcionados, por ejemplo, en las publicaciones de Estados Unidos n.º 2003/0113828, 2003/0158195, 2003/0229090, 2005/0075306, 2005/0232969, 2005/0267059, 2006/0205731, 2006/0247262, 2007/0219152, 2007/0219195, 2008/0114024, 2009/0171089, 2009/0306214, 2010/0048567, 2010/0152159, 2010/0152182, 2010/0316649, 2011/0053897, 2011/0112098, 2011/0245205, 2011/0275655, 2012/0027834, 2012/0093913, 2012/0101275, 2012/0130073, 2012/0142671, 2012/0184526, 2012/0220582, 2012/0277192, 2012/0309735, 2013/0040984, 2013/0090309, 2013/0116260 y 2013/0165431; inhibidor doble de SYK/JAK, tal como, PRT2070; mostazas nitrogenadas, tales como, bendamustina, clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenestirina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas, tales como, carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos, tales como, aclacinomicinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcellomicina, mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pralatrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitiofanol, mepitiostano, testolactona; antiadrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico, tal como, ácido folínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatrexato; desfosfamida; desmocolcina; diaziouona; elfomitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinán; lonidamina; mitoguaazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentoestatina; fenamet; pirarrubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK.R™, razoxano; sizofirán; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromato; gacitosina; arabinósido (Ara-C); ciclofosfamida; tiotepa; taxanos, por ejemplo, paclitaxel (por ejemplo, TAXOL™) y docetaxel (por ejemplo, TAXOTERE™) y ABRAXANE® (partículas unidas a proteína de paclitaxel), ácido retinoico, esperamicinas, capecitabina y formas farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos, farmacéuticamente aceptables) de cualquiera de los anteriores. También se incluyen como acondicionadores celulares quimioterapéuticos adecuados los agentes anti-hormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción de hormonas en tumores tales como antiestrógenos incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (Nolvadex™), raloxifeno, 4(5)-imidazoles inhibidores de aromatasa, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY 117018, onapristona y toremifeno (Fareston); y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; camptotecina-11 (CPT-11); inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO). Cuando se desee, el compuesto o la composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento, se puede utilizar en combinación con fármacos anticancerosos comúnmente recetados tales como Herceptin®, Avastin®, Erbitux®, Rituxan®, Taxol®, Arimidex®, Taxotere®, ABVD, AVICINE, abagovomab, acridina carboxamida, adecatumumab, 17-N-alilamino-17-demetoxi-geldanamicina, alfaradina, alvocidib, 3-aminopiridina-2-carboxaldehído tiosemicarbazona, amonafida, antracenediona, inmunotoxinas anti-

CD22, antineoplásicos, hierbas antitumorales, apazicuona, atiprimod, azatioprina, belotecán, bendamustina, BIBW 2992, biricodar, brostalicina, briostatina, butionina sulfoximina, CBV (quimioterapia), calculina, crizotinib, agentes antineoplásicos inespecíficos del ciclo celular, ácido dicloroacético, discodermolida, elsamitrucina, enocitabina, epotilona, eribulina, everolimus, exatecán, exisulind, ferruginol, forodesina, fosfestrol, régimen de quimioterapia ICE, IT-101, imexón, imiquimod, indolocarbazol, irofulven, laniquidar, larotaxel, lenalidomida, lucantona, lurtotecán, mafosfamida, mitozolomida, nafoxidina, nedaplatino, olaparib, ortataxel, PAC-1, papaya, pixantrona, inhibidor del proteasoma, rebecamicina, resiquimod, rubitecán, SN-38, salinosporamida A, sapacitabina, Stanford V, swainsonina, talaporfina, tariquidar, tegafur-uracilo, temodar, tesetaxel, tetranitrato de triplatino, tris(2-cloroetil)amina, troxacitabina, uramustina, vadimezán, vinflunina, ZD6126 y zosuquidar.

En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico se selecciona entre inhibidores de hedgehog incluyendo, pero sin limitación, IPI-926 (véase la patente de Estados Unidos 7.812.164). Otros inhibidores de hedgehog adecuados incluyen, por ejemplo, los descritos y desvelados en la patente de Estados Unidos 7.230.004, en la publicación de solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 2008/0293754, en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2008/0287420 y en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2008/0293755. Los ejemplos de otros inhibidores de hedgehog adecuados incluyen los descritos en las publicaciones de solicitud de patente de Estados Unidos n.º US 2002/0006931, US 2007/0021493 y US 2007/0060546, y en las Publicaciones de Solicitud Internacional n.º WO 2001/19800, WO 2001/26644, WO 2001/27135, WO 2001/49279, WO 2001/74344, WO 2003/011219, WO 2003/088970, WO 2004/020599, WO 2005/013800, WO 2005/033288, WO 2005/032343, WO 2005/042700, WO 2006/028958, WO 2006/050351, WO 2006/078283, WO 2007/054623, WO 2007/059157, WO 2007/120827, WO 2007/131201, WO 2008/070357, WO 2008/110611, WO 2008/112913 y WO 2008/131354. Otros ejemplos de inhibidores de hedgehog incluyen, pero sin limitación, GDC-0449 (también conocido como RG3616 o vismodegib) descrito, por ejemplo, en Von Hoff D. *et al.*, N. Engl. J. Med. 2009; 361 (12): 1164-72; Robarge K. D. *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2009; 19 (19): 5576-81; Yauch, R. L. *et al.* (2009) Science 326: 572-574; Sciencexpress: 1-3 (10.1126/science.1179386); Rudin, C. *et al.* (2009) New England J of Medicine 361-366 (10.1056/nejma0902903); BMS-833923 (también conocido como XL139) descrito, por ejemplo, en Siu L. *et al.*, J. Clin. Oncol. 2010; 28: 15s (suppl, abstr 2501); y en el National Institute of Health Clinical, identificador de ensayo clínico n.º NCT006701891; LDE-225 descrito, por ejemplo, en Pan S. *et al.*, ACS Med. Chem. Lett., 2010; 1 (3): 130-134; LEQ-506 descrito, por ejemplo, en el National Institute of Health, identificador de ensayo clínico n.º NCT01106508; PF-04449913 descrito, por ejemplo, en el National Institute of Health Clinical Trial, identificador de ensayo clínico n.º NCT00953758; antagonistas de la ruta de hedgehog desvelados en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2010/0286114; SMOi2-17 descrito, por ejemplo, en la Publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2010/0093625; SANT-1 y SANT-2 descritos, por ejemplo, en Rominger C. M. *et al.*, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2009; 329 (3): 995-1005; 1-piperazinil-4-arilftalazinas o análogos de las mismas, descritos en Lucas B. S. *et al.*, Bioorg. Medicina. Chem. Lett. 2010; 20 (12): 3618-22.

Otros agente de terapia hormonal y quimioterapéuticos incluyen, pero sin limitación, antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno y acetato de megestrol), agonistas de LHRH (por ejemplo, goserelina y leuprolida), antiandrógenos (por ejemplo flutamida y bicalutamida), terapias fotodinámicas (por ejemplo, vertoporfina (BPD-MA), ftalocianina, fotosensibilizador Pc4 y demetoxi-hipocrelina A (2BA-2-DMHA)), mostazas nitrogenadas (por ejemplo, ciclofosfamida, ifosfamida, trofosfamida, clorambucilo, estramustina y melfalán), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina (BCNU) y lomustina (CCNU)), alquilsulfonatos (por ejemplo, busulfán y treosulfán), triazenos (por ejemplo, dacarbazina, temozolomida), compuestos que contienen platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino, oxalplatino), alcaloides de la vinca (por ejemplo, vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina), taxoides o taxanos (por ejemplo, paclitaxel o un equivalente de paclitaxel tal como paclitaxel unido a nanopartículas de albúmina (Abraxano), paclitaxel unido a ácido docosahexaenoico (DHA-paclitaxel, Taxoprexin), paclitaxel unido a poliglutamato (PG-paclitaxel, paclitaxel poliglumex, CT-2103, XYOTAX), el profármaco activado por tumor (PAT) ANG1005 (Angiopep-2 unido a tres moléculas de paclitaxel), paclitaxel-EC-1 (paclitaxel unido al péptido EC-1 que reconoce a erbB2) y paclitaxel conjugado con glucosa, por ejemplo, 2'-paclitaxel metil 2-glucopiranosil succinato; docetaxel, taxol), epipodofilinas (por ejemplo, etopósido, fosfato de etopósido, tenipósido, topotecán, 9-aminocampotecina, camptoirinotecán, irinotecán, crisanol, mitomicina C), antimetabolitos, inhibidores de DHFR (por ejemplo metotrexato, diclorometotrexato, trimetrexato, edatrexato), inhibidores de IMP deshidrogenasa (por ejemplo, ácido micofenólico, tiazofurina, ribavirina y EICAR), inhibidores de ribonucleótido reductasa (por ejemplo hidroxurea y desferoxamina), análogos de uracilo (por ejemplo 5-fluorouracilo (5-FU), floxuridina, doxifluridina, raltitrexed, tegafur-uracilo, capecitabina), análogos de citosina (por ejemplo, citarabina (ara C, arabinósido de citosina) y fludarabina), análogos de purina (por ejemplo, mercaptopurina y tioguanina), análogos de vitamina D3 (por ejemplo, EB 1089, CB 1093 y KH 1060), inhibidores de isoprenilación (por ejemplo lovastatina), neurotoxinas dopaminérgicas (por ejemplo, canal iónico de 1-metil-4-fenilpiridinio), inhibidores del ciclo celular (por ejemplo, estaurosporina), actinomicina (por ejemplo, actinomicina D, dactinomicina), bleomicina (por ejemplo, bleomicina A2, bleomicina B2, peplomicina) antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina, doxorubicina, doxorubicina liposómica pegilada, idarrubicina, epirubicina, pirarrubicina, zorrubicina, mitoxantrona), inhibidores de MDR (por ejemplo, verapamil), inhibidores de Ca<sup>2+</sup> ATPasa (por ejemplo, taspigargin), talidomida, lenalidomida (REVLIMID®), inhibidores de tirosina cinasa (por ejemplo, axitinib (AG013736), bosutinib (SKI-606), cediranib (RECENTINTM, AZD2171), dasatinib (SPRYCEL®, BMS-354825), erlotinib (TARCEVA®), gefitinib (IRESSA®), imatinib (Gleevec®), CGP57148B, STI-571), lapatinib (TYKERB®, TYVERB®), lestaurtinib (CEP-701), neratinib (HKI-272), nilotinib (TASIGNA®), semaxanib (semaxinib, SU5416), sunitinib (SUTENT®, SU11248), toceranib (PALLADIA®),

vandetanib (ZACTIMA®, ZD6474), vatalanib (PTK787, PTK/ZK), trastuzumab (HERCEPTIN®), bevacizumab (AVASTIN®), rituximab (RITUXAN®), cetuximab (ERBITUX®), panitumumab (VECTIBIX®), ranibizumab (Lucentis®), sorafenib (NEXAVAR®), everolimus (AFINITOR®), alemtuzumab (CAMPATH®), gemtuzumab ozogamicina (MYLOTARGO), temsirolimus (TORISEL®), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, lactato de dovitinib (TKI258, CHIR-258), BIBW 2992 (TOVOKTM), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, ABT-869, MP470, BIBF 1120 (VARGATEF®), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS-690154, C EP-11981, tivozanib (AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647 y/o XL228, inhibidores del proteasoma (por ejemplo, bortezomib (Velcade)), inhibidores de mTOR (por ejemplo, rapamicina, temsirolimus (CCI-779), everolimus (RAD-001), ridaforolimus, AP23573 (Ariad), AZD8055 (AstraZeneca), BEZ235 (Novartis), BGT226 (Novartis), XL765 (Sanofi Aventis), PF-4691502 (Pfizer), GDC0980 (Genetech), SF1126 (Semafoe) y OSI-027 (OSI)), oblimersen, gemcitabina, carminomicina, leucovorina, pemetrexed, ciclofosfamida, dacarbazina, procarbazona, prednisolona, dexametasona, camptotecina, plicamicina, asparaginasa, aminopterina, metopterina, porfomicina, melfalán, leurosina, leurosina, clorambucilo, trabectedina, procarbazona, discodermolida, carminomicina, aminopterina y hexametil melamina.

Los ejemplos de agentes bioterapéuticos incluyen, pero sin limitación, interferones, citocinas (por ejemplo, factor de necrosis tumoral, interferón  $\alpha$ , interferón  $\gamma$ ), vacunas, factores de crecimiento hematopoyéticos, seroterapia monoclonal, inmunostimuladores y/o agentes inmunomoduladores (por ejemplo, IL-1, 2, 4, 6 o 12), factores de crecimiento de células inmunitarias (por ejemplo, GM-CSF) y anticuerpos (por ejemplo, Herceptin (trastuzumab), T-DM1, AVASTIN (bevacizumab), ERBITUX (cetuximab), Vectibix (panitumumab), Rituxán (rituximab), Bexxar (tositumomab) o Perjeta (pertuzumab)).

En una realización el agente bioterapéutico es un anticuerpo anti-CD37 tal como, pero sin limitación, IMGN529, K7153A y TRU-016. En otra realización, el agente bioterapéutico es un anticuerpo anti-CD20 tal como, pero sin limitación, <sup>131</sup>I tositumomab, <sup>90</sup>Y ibritumomab, <sup>111</sup>I ibritumomab, obinutuzumab y ofatumumab. En otra realización, el agente bioterapéutico es un anticuerpo anti-CD52 tal como, pero sin limitación, alemtuzumab.

En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico se selecciona entre inhibidores de HSP90. El inhibidor de HSP90 puede ser un derivado de geldanamicina, por ejemplo, un inhibidor de HSP90 de benzoquinona o igroquinona ansamicina (por ejemplo, IPI-493 y/o IPI-504). Los ejemplos no limitantes de inhibidores de HSP90 incluyen IPI-493, IPI-504, 17-AAG (también conocido como tanespimicina o CNF-1010), BIIB-021 (CNF-2024), BIIB-028, AUY-922 (también conocido como VER-49009), SNX-5422, STA-9090, AT-13387, XL-888, MPC-3100, CU-0305, 17-DMAG, CNF-1010, Macbecin (por ejemplo, Macbecin I, Macbecin II), CCT-018159, CCT-129397, PU-H71 o PF-04928473 (SNX-2112).

En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico se selecciona entre inhibidores de PI3K (por ejemplo, incluyendo aquellos inhibidores de PI3K proporcionados en el presente documento y aquellos inhibidores de PI3K no proporcionados en el presente documento). En alguna realización, el inhibidor de PI3K es un inhibidor de las isoformas delta y gamma de PI3K. En alguna realización, el inhibidor de PI3K es un inhibidor de la isoforma delta de PI3K. En alguna realización, el inhibidor de PI3K es un inhibidor de la isoforma gamma de PI3K. En algunas realizaciones, el inhibidor de PI3K es un inhibidor de la isoforma alfa de PI3K. En otras realizaciones, el inhibidor de PI3K es un inhibidor de una o más isoformas alfa, beta, delta y gamma de PI3K. Se describen ejemplos de inhibidores de PI3K que pueden utilizarse en combinación, por ejemplo, en los documentos WO 09/088990, WO 09/088086, WO 2011/008302, WO 2010/036380, WO 2010/006086, WO 09/114870, WO 05/113556; US 2009/0312310 y US 2011/0046165. Otros inhibidores de PI3K que pueden utilizarse en combinación con las composiciones farmacéuticas, incluyen, pero sin limitación AMG-319, GSK 2.126.458, GDC-0980, GDC-0941, Sanofi XL147, XL499, XL756, XL147, PF-4691502, BKM 120, GA-101 (obinutuzumab), CAL-101 (GS-1101), CAL 263, SF1126, PX-886 y un inhibidor doble de PI3K (por ejemplo, Novartis BEZ235). En una realización, el inhibidor de PI3K es una isoquinolinona.

En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico se selecciona entre inhibidores de tipo polo-cinasa 1 (PLK1) tales como, pero sin limitación, volasertib (BI6727; *N*-((1*S*, 4*S*)-4-(4-(ciclopropilmetilo)piperazin-1-il)ciclohexil)-4-(((*R*)-7-etil-8-iso-propil-5-metil-6-oxo-5,6,7,8-tetrahydropteridin-2-il)amino)-3-metoxibenzamida), BI2536 ((*R*)-4-[(8-ciclopentil-7-etil-5,6,7,8-tetrahydro-5-metil-6-oxo-2-pteridinil)amino]-3-metoxi-*N*-(1-metil-4-piperidinil)benzamida), ZK-Tiazolidona (ácido (2-imidazol-1-il-1-oxanil-1-fosfonoetil)fosfónico), TAK-960 (4-((9-ciclopentil-7,7-difluoro-5-metil-6-oxo-6,7,8,9-tetrahydro-5H-pirimido[4,5-*b*][1,4]diazepin-2-il)amino)-2-fluoro-5-metoxi-*N*-(1-metilpiperidin-4-il)benzamida), MLN0905 (2-((5-(3-(dimetilamino)propil)-2-metilpiridina-3-il)amino)-9-(trifluorometil)-5H-benzo[*b*]pirimido[4,5-*d*]azepina-6(7*H*)-tiona), GSK461364 ((*R*)-5-(6-((4-metilpiperazin-1-il)metil)-1H-benzo[*d*]imidazol-1-il)-3-(1-(2-(trifluorometil)fenil)etoxi)tiofeno-2-carboxamida), rigosertib (ON-01910; sodio (E)-2-((2-metoxi-5-(((2,4,6-trimetoxiestiril)sulfonil)metil)fenil)amino)acetato y HMN-214 ((E)-4-(2-)(*N*-((4-metoxifenil)sulfonil)acetamido)estiril)piridin 1-óxido).

En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico se selecciona entre inhibidores de IRAK. Los inhibidores de la familia de proteínas cinasas IRAK se refieren a compuestos que inhiben la función de las proteínas cinasas IRAK y, más preferentemente, a compuestos que inhiben la función de IRAK-4 y/o IRAK-1. Los ejemplos de inhibidores de IRAK incluyen, pero sin limitación inhibidores de IRAK4, tales como, ND-2110 y ND-2158; los inhibidores de IRAK

desvelados en los documentos WO2003/030902, WO2004/041285, WO2008/030579 y en Buckley *et al.* (IRAK-4 inhibitors. Parte 1: una serie de amidas. En *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2008, 18 (11): 3211-3214; inhibidores de IRAK-4. Parte II: a structure-based assessment of imidazo[1,2-a]pyridine binding. In *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2008, 18(11): 3291-3295; IRAK-4 inhibitors. Parte III: una serie de imidazo[1,2-a]piridinas En *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 2008, 18(11): 3656-3660); RO6245, RO0884, N-acil 2-aminobenzimidazoles 1-(2-(4-morfolinil)etil)-2-(3-nitrobenzoilamino)benzimidazol, y/o N-(2-morfoliniletíl)-2-(3-nitrobenzoilamido)-benzimidazol.

En el presente documento se desvela un método para el uso del compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos farmacéuticamente aceptables) o una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento, en combinación con radioterapia inhibiendo el crecimiento celular anómalo o tratando el trastorno hiperproliferativo en el sujeto. En la materia se conocen técnicas para la administración de radioterapia y estas técnicas pueden utilizarse en la terapia de combinación descrita en el presente documento. La administración de un compuesto proporcionado en el presente documento en esta terapia de combinación puede determinarse como se describe en el presente documento.

La radioterapia puede administrarse a través de uno de varios métodos, o una combinación de métodos, que incluyen, entre otros, terapia de haz externo, radioterapia interna, radiación de implante, radiocirugía estereotáctica, radioterapia sistémica, radioterapia y braquiterapia intersticial permanente o temporal. El término "braquiterapia", como se usa en el presente documento, se refiere a la radioterapia suministrada por un material radioactivo confinado espacialmente, insertado en el cuerpo en o cerca de un tumor u otro sitio de enfermedad tisular proliferativa. El término pretende incluir, sin limitación, la exposición a isótopos radioactivos (por ejemplo, At-211, 1-131, 1-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32, e isótopos radiactivos de Lu). Las fuentes de radiación adecuadas para su uso como un acondicionador celular, como se proporciona en el presente documento, incluyen tanto sólidos como líquidos. Como ejemplo no limitativo, la fuente de radiación puede ser un radionúclido, tal como 1-125, 1-131, Yb-169, Ir-192, como fuente sólida, 1-125 como fuente sólida u otros radionúclidos que emiten fotones, partículas beta, radiación gamma u otros rayos terapéuticos. El material radioactivo también puede ser un fluido fabricado a partir de cualquier solución de uno o más radionúclidos, por ejemplo, se puede producir una solución de 1-125 o 1-131, o un fluido radioactivo utilizando una suspensión de un fluido adecuado que contiene pequeñas partículas de radionúclidos sólidos, tales como Au-198, Y-90. Por otra parte, uno o más radionúclidos pueden incorporarse en un gel o en microesferas radioactivas.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, un compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos, farmacéuticamente aceptables) o una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento puede hacer que las células anómalas sean más sensibles al tratamiento con radiación con objeto de destruir y/o inhibir el crecimiento de dichas células. Por consiguiente, un método para sensibilizar células anómalas en un sujeto en tratamiento con radiación, puede comprender administrar a un sujeto una cantidad del compuesto para su uso de acuerdo con la presente invención, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos, farmacéuticamente aceptables), cuya cantidad es eficaz para sensibilizar a células anómalas al tratamiento con radiación. La cantidad del compuesto utilizada en este método puede determinarse de acuerdo con los medios para averiguar las cantidades eficaces de dichos compuestos descritos en el presente documento.

En el presente documento se desvela un método para utilizar el compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos, y derivados marcados con isótopos farmacéuticamente aceptables), o una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento, en combinación con terapia hormonal para inhibir el crecimiento celular anómalo o tratar el trastorno hiperproliferativo en el sujeto.

En el presente documento se desvela un método para utilizar el compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos farmacéuticamente aceptables), o una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento, en combinación con cirugía para inhibir el crecimiento celular anómalo o tratar el trastorno hiperproliferativo en el sujeto.

En una realización, un compuesto como se proporciona en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros, profármacos y derivados marcados con isótopos farmacéuticamente aceptables) o una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento, puede utilizarse en combinación con una cantidad de una o más sustancias seleccionadas entre agentes antiangiogénesis, inhibidores de señales de transducción y agentes antiproliferativos, inhibidores de la glucólisis o inhibidores de la autofagia.

Otros agentes terapéuticos, tales como inhibidores de MMP-2 (metaloproteinasa de la matriz 2), inhibidores de MMP-9 (metaloproteinasa de la matriz 9) e inhibidores de COX-11 (ciclooxigenasa 11), pueden utilizarse junto con

un compuesto proporcionado en el presente documento o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable o una composición farmacéutica descrita en el presente documento. Dichos agentes terapéuticos incluyen, por ejemplo, rapamicina, temsirolimus (CCI-779), everolimus (RAD001), sorafenib, sunitinib y bevacizumab. Los ejemplos de inhibidores de COX-II útiles incluyen CELEBREX™ (alecoxib), valdecoxib y rofecoxib. Se describen ejemplos de inhibidores útiles de metaloproteinasas de la matriz en los documentos WO 96/33172 (publicado el 24 de octubre de 1996), WO 96/27583 (publicado el 7 de marzo de 1996), la Solicitud de Patente Europea n.º 97304971.1 (presentada el 8 de julio de 1997), Solicitud de Patente Europea n.º 99308617.2 (presentada el 29 de octubre de 1999), WO 98/07697 (publicado el 26 de febrero de 1998), WO 98/03516 (publicado el 29 de enero de 1998), WO 98/34918 (publicado el 13 de agosto de 1998), WO 98/34915 (publicado el 13 de agosto de 1998), WO 98/33768 (publicado el 6 de agosto de 1998), WO 98/30566 (publicado el 16 de julio de 1998), Publicación de Patente Europea 606.046 (publicada el 13 de julio de 1994), Publicación de Patente Europea 931, 788 (publicada el 28 de julio de 1999), WO 90/05719 (publicado el 31 de mayo de 1990), WO 99/52910 (publicado el 21 de octubre de 1999), WO 99/52889 (publicado el 21 de octubre de 1999), WO 99/29667 (publicado el 17 de junio de 1999), Solicitud Internacional PCT n.º PCT/IB98/01113 (presentada el 21 de julio de 1998), Solicitud de Patente Europea n.º 99302232.1 (presentada el 25 de marzo de 1999), Solicitud de Patente de Gran Bretaña n.º 9 912961.1 (presentada el 3 de junio de 1999), Solicitud Provisional de Estados Unidos n.º 60/148.464 (presentada el 12 de agosto de 1999), Patente de Estados Unidos 5.863.949 (expedida el 26 de enero de 1999), Patente de Estados Unidos 5.861.510 (expedida el 19 de enero de 1999) y Publicación de Patente Europea 780.386 (publicada el 25 de junio de 1997). En algunas realizaciones, los inhibidores de MMP-2 y MMP-9 son aquellos que tienen poca o ninguna actividad inhibiendo a MMP-1. Otras realizaciones incluyen aquellas que inhiben selectivamente MMP-2 y/o AMP-9 en relación con las otras metaloproteinasas de la matriz (por ejemplo, MAP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 y MMP-13). Algunos ejemplos no limitantes de inhibidores de MMP son AG-3340, RO 32-3555 y RS 13-0830.

Los inhibidores de autofagia incluyen, pero sin limitación, cloroquina, 3-metiladenina, hidroxicloroquina (Plaquenil™), bafilomicina A1, ribósido de 5-amino-4-imidazol carboxamida (AICAR), ácido okadaico, toxinas de algas supresoras de autofagia que inhiben proteínas fosfatasa de tipo 2A o de tipo 1, análogos de AMPc y fármacos que elevan los niveles de AMPc tales como adenosina, LY204002, ribósido de N6-mercaptopurina y vinblastina. Además, también pueden utilizarse ARNip antisentido o ARNip que inhiben la expresión de proteínas que incluyen, pero sin limitación, ATG5 (implicada en la autofagia).

Otros agentes terapéuticos ejemplares útiles para una terapia de combinación incluyen, pero sin limitación, agentes como los descritos anteriormente, radioterapia, antagonistas de hormonas, hormonas y sus factores de liberación, fármacos tiroideos y antitiroideos, estrógenos y progestinas, andrógenos, hormona adrenocorticotrópica; esteroides adrenocorticales y sus análogos sintéticos; inhibidores de la síntesis y acción de las hormonas adrenocorticales, insulina, hipoglucemiantes orales y la farmacología del páncreas endocrino, agentes que afectan a la calcificación y a la renovación ósea: calcio, fosfato, hormona paratiroidea, vitamina D, calcitonina, vitaminas tales como vitaminas hidrosolubles, complejo de vitamina B, ácido ascórbico, vitaminas liposolubles, vitaminas A, K y E, factores de crecimiento, citocinas, quimiocinas, agonistas y antagonistas del receptor muscarínico, agentes anticolinesterásicos; agentes que actúan en la unión neuromuscular y/o ganglios autónomos; catecolaminas, fármacos simpaticomiméticos y agonistas o antagonistas de receptores adrenérgicos; y agonistas y antagonistas de receptores de 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina).

Los agentes terapéuticos también pueden incluir agentes para el dolor y la inflamación, tales como antagonistas de histamina e histamina, antagonistas de bradiquinina y bradiquinina, 5-hidroxitriptamina (serotonina), sustancias lipídicas que se generan por la biotransformación de los productos de la hidrólisis selectiva de fosfolípidos de membrana, eicosanoides, prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, aspirina, agentes antiinflamatorios no esteroides, agentes analgésicos antipiréticos, agentes que inhiben la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, inhibidores selectivos de ciclooxigenasa inducible, inhibidores selectivos de ciclooxigenasa 2 inducible, autacoides, hormonas paracrinas, somatostatina, gastrina, citocinas que median en interacciones involucradas en respuestas inmunitarias humorales y celulares, autacoides derivados de lípidos, eicosanoides, agonistas β-adrenérgicos, ipratropio, glucocorticoides, metilxantinas, bloqueadores de canales de sodio, agonistas de receptores opioides, bloqueadores de canales de calcio, estabilizadores de membrana e inhibidores de leucotrieno.

Los ejemplos de anticuerpos terapéuticos que pueden combinarse con un compuesto proporcionado en el presente documento, incluyen pero sin limitación, anticuerpos anti tirosina cinasas receptoras (cetuximab, panitumumab, trastuzumab), anticuerpos anti CD20 (rituximab, tositumomab), y otros anticuerpos tales como alemtuzumab, bevacizumab y gemtuzumab.

Por otra parte, en los métodos del presente documento se contemplan agentes terapéuticos utilizados para inmunomodulación, tales como inmunomoduladores, inmunosupresores, tolerógenos e inmunoestimuladores. Además, en los métodos del presente documento también se contemplan agentes terapéuticos que actúan en la sangre y en los órganos formadores de sangre, agentes hematopoyéticos, factores de crecimiento, minerales y vitaminas, fármacos anticoagulantes, trombolíticos y antiplaquetarios.

En realizaciones ejemplares, para el tratamiento del carcinoma renal, un compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sales, hidratos, solvatos, isómeros,

profármacos y derivados marcados con isótopos farmacéuticamente aceptables), o una composición farmacéutica como se proporciona en la presente memoria, puede combinarse con sorafenib y/o avastin. Para el tratamiento de un trastorno endometrial, un compuesto proporcionado en el presente documento puede combinarse con doxorubicina, taxotere (taxol) y/o cisplatino (carboplatino). Para el tratamiento del cáncer de ovario, un compuesto proporcionado en el presente documento puede combinarse con cisplatino, carboplatino, docetaxel, doxorubicina, topotecán y/o tamoxifeno. Para el tratamiento del cáncer de mama, un compuesto proporcionado en el presente documento puede combinarse con paclitaxel o docetaxel, gemcitabina, capecitabina, tamoxifeno, letrozol, erlotinib, lapatinib, PD0325901, bevacizumab, trastuzumab, OSI-906 y/u OSI-930. Para el tratamiento del cáncer de pulmón, un compuesto como se proporciona en el presente documento puede combinarse con paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, cisplatino, pemetrexed, erlotinib, PD0325901 y/o bevacizumab.

En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar, prevenir y/o gestionar es un cáncer hemático, por ejemplo, linfoma (por ejemplo, linfoma de linfocitos T; LNH), mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple) y leucemia (por ejemplo, LLC) y un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) se utiliza en combinación con: inhibidores de HDAC tales como vorinostat, romidepsina y ACY-1215; inhibidores de mTOR tales como everolimus; anti-folatos tales como pralatrexato; mostaza nitrogenada tal como bendamustina; gemcitabina, opcionalmente en combinación adicional con oxaliplatino; combinación de rituximab-ciclofosfamida; inhibidores de PI3K tales como GS-1101, XL 499, GDC-0941 y AMG-319; inhibidores de angiogénesis tales como pomalidomida o inhibidores de BTK tales como ibrutinib, AVL-292, Dasatinib, LFM-AI3, ONO-WG-307 y GDC-0834.

En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar, prevenir y/o gestionar es LDLBG, y un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sal o solvato), se utiliza en combinación con inhibidores de HDAC proporcionados en el presente documento. En una realización particular, el inhibidor de HDAC es ACY-1215.

En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar, prevenir y/o gestionar es LDLBG, y un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, el Compuesto 292) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sal o solvato), se utiliza en combinación con inhibidores de BTK proporcionados en el presente documento. En una realización particular, el inhibidor de BTK es ibrutinib. En una realización, el inhibidor de BTK es AVL-292.

En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar, prevenir y/o gestionar es LDLBG y un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sal o solvato), se utiliza en combinación con inhibidores de IRAK proporcionados en el presente documento. En una realización particular, el inhibidor de IRAK4 es ND-2110 o ND-2158.

En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar, prevenir y/o gestionar es MW, y un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sal o solvato), se utiliza en combinación con inhibidores de BTK proporcionados en el presente documento. En una realización particular, el inhibidor de BTK es ibrutinib. En una realización, el inhibidor de BTK es AVL-292.

En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar, prevenir y/o gestionar es MW y un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sal o solvato), se utiliza en combinación con inhibidores de IRAK4 proporcionados en el presente documento. En una realización particular, el inhibidor de IRAK4 es ND-2110 o ND-2158.

En algunas realizaciones, el trastorno que se va a tratar, prevenir y/o gestionar es LLA-T, el sujeto/paciente tiene una carencia de PTEN y un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sal o solvato), se utiliza en combinación con doxorubicina y/o vincristina.

En Goodman y Gilman's "The Pharmacological Basis of Therapeutics" Décima Edición editada por Hardman, Limbird y Gilman o en el Physician's Desk Reference, pueden encontrarse otros agentes terapéuticos que pueden combinarse con un compuesto proporcionado en el presente documento.

En una realización, dependiendo de la afección que vaya a tratarse, el compuesto descrito en el presente documento puede utilizarse en combinación con los agentes proporcionados en el presente documento o con otros adecuados. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento, (o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, se co-administrará con otros agentes como se describe anteriormente. Cuando se utiliza en terapia de combinación, un compuesto descrito en el presente documento, o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, puede administrarse con un segundo agente de manera simultánea o individual. Esta administración en combinación puede incluir la administración simultánea de los dos agentes en la misma forma de dosificación, la administración simultánea en formas de dosificación individuales y la administración

- individual. Esto es, un compuesto descrito en el presente documento y cualquiera de los agentes descritos anteriormente, pueden formularse conjuntamente en la misma forma de dosificación y administrarse simultáneamente. Como alternativa, un compuesto proporcionado en el presente documento y cualquiera de los agentes descritos anteriormente, puede administrarse simultáneamente, en el que ambos agentes se presentan en formulaciones individuales. En otra alternativa, un compuesto proporcionado en el presente documento puede administrarse justo después de cualquiera de los agentes descritos anteriormente o viceversa. En el protocolo de administración individual, un compuesto proporcionado en el presente documento y cualquiera de los agentes descritos anteriormente, pueden administrarse con pocos minutos, horas o días de diferencia.
- La administración de un compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable, puede efectuarse mediante cualquier método que permita realizar el suministro del compuesto en el lugar donde va a producirse la acción. Una cantidad eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable, puede administrarse en dosis únicas o múltiples mediante cualquiera de los modos de administración de agentes aceptados que tienen utilidades similares, que incluyen, la vía rectal, bucal, intranasal y transdérmica, inyección intraarterial, intravenosa, intraperitoneal, parenteral, intramuscular, subcutánea, vía oral, tópica, como un inhalante o mediante un dispositivo impregnado o recubierto tal como un *stent*, por ejemplo, o un polímero cilíndrico insertado en la arteria.
- Cuando un compuesto proporcionado en el presente documento, o una forma del mismo farmacéuticamente aceptable, se administra en una composición farmacéutica que comprende uno o más agentes, y el agente tiene una semivida más corta que la del compuesto proporcionado en el presente documento, pueden ajustarse formas de dosis unitarias del agente y del compuesto como se proporciona en el presente documento en consecuencia.
- En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento y el segundo agente se administran como composiciones individuales, por ejemplo, composiciones farmacéuticas. En algunas realizaciones, el compuesto y el segundo agente se administran individualmente pero a través de la misma vía (por ejemplo, tanto por vía oral como por vía intravenosa). En otras realizaciones, el compuesto y el segundo agente se administran en la misma composición, por ejemplo, composición farmacéutica.
- En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un inhibidor de HDAC, tal como, por ejemplo, belinostat, vorinostat, panobinostat, ACY-1215, o romidepsina.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un inhibidor de mTOR, tal como, por ejemplo, everolimus (RAD 001).
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un inhibidor de proteasoma, tal como, por ejemplo, bortezomib o carfilzomib.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un inhibidor de PKC- $\beta$ , tal como, por ejemplo, Enzastaurin (LY317615).
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un inhibidor de JAK/STAT, tal como, por ejemplo, INCB16562 o AZD1480.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un anti-folato, tal como, por ejemplo, pralatrexato.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un inhibidor de farnesil transferasa, tal como, por ejemplo, tipifarnib.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con bendamustina y un agente activo adicional. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con rituximab y un agente activo adicional. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi.
- En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con

bendamustina y rituximab. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi.

5 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con fludarabina, ciclofosfamida y rituximab. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LLC.

10 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con anticuerpo o un agente biológico, tal como, por ejemplo, alemtuzumab, rituximab, ofatumumab o brentuximab vedotina (SGN-035). En una realización, el segundo agente es rituximab y la terapia de combinación es para tratar, prevenir y/o gestionar LNHi, LF, linfoma esplénico de zona marginal, linfoma ganglionar de zona marginal, linfoma extraganglionar de zona marginal y/o LLP.

15 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un conjugado de anticuerpo-fármaco, tal como, por ejemplo, inotuzumab ozogamicina o brentuximab vedotina.

20 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un agente citotóxico, tal como, por ejemplo, bendamustina, gemcitabina, oxaliplatino, ciclofosfamida, vincristina, vinblastina, antraciclina (por ejemplo, daunorrubicina o daunomicina, doxorubicina), actinomicina, dactinomicina, bleomicina, clofarabina, nelarabina, cladribina, asparaginasa, metotrexato o pralatrexato.

25 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con uno o más agentes anticancerosos o agentes quimioterapéuticos distintos, tales como, por ejemplo, fludarabina, ibrutinib, fostamatinib, lenalidomida, talidomida, rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona o R-CHOP (Rituximab, Ciclofosfamida, Doxorubicina o Hidroxidaunomicina, Vincristina u Oncovina, Prednisona).

30 En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un anticuerpo contra una citocina (por ejemplo, un anticuerpo de IL-15, un anticuerpo de IL-21, un anticuerpo de IL-4, un anticuerpo de IL-7, un anticuerpo de IL-2, un anticuerpo de IL-9). En algunas realizaciones, el segundo agente es un inhibidor de JAK1, un inhibidor de JAK3, un inhibidor de pan-JAK, un inhibidor de BTK, un inhibidor de SYK o un inhibidor de PI3K delta. En algunas realizaciones, el segundo agente es un anticuerpo contra una quimiocina.

35 Sin limitarse a ninguna teoría en particular, una terapia de combinación dirigida descrita en el presente documento tiene un efecto secundario reducido y/o una eficacia potenciada. Por ejemplo, una realización proporcionada en el presente documento es una terapia de combinación para tratar la LLC con un compuesto descrito en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, y un segundo agente activo (por ejemplo, anticuerpos de IL-15, anticuerpos de IL-21, anticuerpos de IL-4, anticuerpos de IL-7, anticuerpos de IL-2, anticuerpos de IL-9, inhibidores de JAK1, inhibidores de JAK3, inhibidores de pan-JAK, inhibidores de BTK, inhibidores de SYK y/o inhibidores de PI3K delta).

45 Asimismo, sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) no afectaba a la ruta de BKT o MEK. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede administrarse en combinación con un inhibidor de BTK. En una realización, el inhibidor de BTK es ibrutinib. En una realización, el inhibidor de BTK es AVL-292. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LDLBG. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LLC.

55 En otras realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, puede administrarse en combinación con un inhibidor de MEK. En una realización, el inhibidor de MEK es tametinib/GSK1120212 (*N*-(3-{3-Ciclopropil-5-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-6,8-dimetil-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-1(2H)-il}fenil)acetamida), selumetinob (6-(4-bromo-2-cloroanilino)-7-fluoro-N-(2-hidroxi-etoxi)-3-metilbenzimidazol-5-carboxamida), pimasertib/AS703026/MSK1935369 ((S)-N-(2,3-dihidroxi-propil)-3-((2-fluoro-4-yodofenil)amino)isonicotinamida), XL-518/GDC-0973 (1-({3,4-difluoro-2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]fenil}carbonil)-3-[(2S)-piperidin-2-il]azetidín-3-ol), refametinib/BAI869766/RDEA119 (N-(3,4-difluoro-2-(2-fluoro-4-yodofenilamino)-6-metoxifenil)-1-(2,3-dihidroxi-propil)ciclopropano-1-sulfonamida), PD-0325901 (N-[(2R)-2,3-Dihidroxi-propoxi]-3,4-difluoro-2-[(2-fluoro-4-iodofenil)amino]-benzamida), TAK733 ((R)-3-(2,3-Dihidroxi-propil)-6-fluoro-5-(2-fluoro-4-yodofenilamino)-8-metilpirido[2,3-d]pirimidin-4,7(3H,8H)-diona), MEK162/ARRI438162 (5-[[4-Bromo-2-fluorofenil]amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxamida), RO5126766 (3-[[3-Fluoro-2-(metilsulfamoi)lamino]-4-piridil]metil]-4-metil-7-pirimidin-2-iloxicromen-2-ona), WX-554, RO4987655/CH4987655 (3,4-difluoro-2-((2-fluoro-4-yodofenil)amino)-N-(2-hidroxi-etoxi)-5-((3-oxo-1,2-oxazinan-2-il)metil)benzamida), o AZD8330 (2-((2-fluoro-4-



yodofenil)amino)-N-(2-hidroxi)etoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridina-3-carboxamida). En una realización, la neoplasia maligna hemática es LDLBG. La neoplasia maligna hemática puede ser LLA. La neoplasia maligna hemática puede ser LCLT.

5 Un método para tratar o gestionar un cáncer o neoplasia maligna hemática, comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con un inhibidor de EZH2. En una realización, el inhibidor de EZH2 es EPZ-6438, GSK-126, GSK-343, E11 o 3-deazaneplanocina A (DNNep). En una realización, la neoplasia maligna hemática es LDLBG. En otra  
10 realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LLA. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LCLT.

Un método para tratar o gestionar un cáncer o neoplasia maligna hemática, puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por  
15 ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con un inhibidor de bcl-2. En una realización, el inhibidor de BCL2 es ABT-199 (4-[4-[[2-(4-Clorofenil)-4,4-dimetilciclohex-1-en-1-il]metil]piperazin-1-il]-N-[[3-nitro-4-[[tetrahydro-2H- piran-4-il]metil]amino]fenil]sulfonil]-2-[(1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il)oxi]benzamida), ABT-737 (4-[4-[[2-(4-clorofenil)fenil]metil]piperazin-1-il]-N-[4-[[2R)-4-(dimetilamino)-1-fenilsulfanilbutan-2-il]amino]-3-nitrofenil]sulfonilbenzamida), ABT-263 ((R)-4-(4-((4'-cloro-4,4-dimetil-  
20 3,4,5,6-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-il)metil]piperazin-1-il)-N-((4-((4-morfolino-1-(feniltio)butan-2-il)amino)-3((trifluorometil)sulfonil)fenil)sulfonil)benzamida), GX15-070 (mesilato de obatoclax, (2Z)-2-[(5Z)-5-[(3,5-dimetil-1H-pirrol-2-il)metilideno]-4-metoxipirrol-2-ilideno]indol; ácido metanosulfónico)), o G3139 (Oblimersen). En una realización, la neoplasia maligna hemática es LDLBG. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LLA. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es  
25 LCLT.

Un método para tratar o gestionar LNHi puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab. El paciente puede ser un paciente de edad avanzada. En otra realización, el LNHi es recidivante o refractario.  
30

Un método para tratar o gestionar LNHi puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con bendamustina. En una  
35 realización, el LNHi es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar LNHi puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab, y en combinación adicional con bendamustina. En una realización, el LNHi es recidivante o refractario.  
40

Un método para tratar o gestionar LNHi puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con lenalidomida. En una  
45 realización, el LNHi es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar LLC puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab. En una realización el paciente es un paciente se edad avanzada. En otra realización, la LLC es recidivante o refractaria.  
50

Un método para tratar o gestionar LLC puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con bendamustina. En una  
55 realización, la LLC es recidivante o refractaria.

Un método para tratar o gestionar LLC puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab y en combinación adicional con bendamustina. En una realización, la LLC es recidivante o refractaria.  
60

Un método para tratar o gestionar LLC puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con lenalidomida. En una  
65 realización, la LLC es recidivante o refractaria.

Un método para tratar o gestionar LDLBG puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab. En una realización, el paciente es un paciente de edad avanzada. En otra realización, el LDLBG es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar LDLBG puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con bendamustina. En una realización, el LDLBG es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar LDLBG puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab y en combinación adicional con bendamustina. En una realización, el LDLBG es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar LDLBG puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con R-GDP (rituximab, ciclofosfamida, vincristina y prednisona). En una realización, el LDLBG es recidivante o refractario. El tratamiento puede realizarse después del tratamiento con R-CHOP.

Un método para tratar o gestionar LDLBG puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con ibrutinib. En una realización, el LDLBG es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de linfocitos T (LPLT o LCLT) puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab. En una realización, el linfoma de linfocitos T es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de linfocitos T (LPLT o LCLT) puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con bendamustina. En una realización, el linfoma de linfocitos T es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de linfocitos T (PTCL o CTLC) puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab y en combinación adicional con bendamustina. En una realización, el linfoma de linfocitos T es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de linfocitos T (PTCL o CTLC) puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con romidepsina. En una realización, el linfoma de linfocitos T es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de células del manto puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, sal o solvato), en combinación con rituximab. En una realización, el linfoma de células del manto es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de células del manto puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con bendamustina. En una realización, el linfoma de células del manto es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de células del manto puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con rituximab y en combinación adicional con bendamustina. En una realización, el linfoma de células del manto es recidivante o refractario.

Un método para tratar o gestionar un linfoma de células del manto puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto

292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con ibrutinib. En una realización, el linfoma de células del manto es recidivante o refractario.

Asimismo, sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que las células cancerosas muestran perfiles de sensibilidad diferenciales a la doxorubicina y al compuesto proporcionado en el presente documento. Un método para tratar o gestionar un cáncer o neoplasia maligna hemática, puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con doxorubicina. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LLA.

Un método para tratar o gestionar un cáncer o neoplasia maligna hemática, puede comprender administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292), o un derivado del mismo (por ejemplo, sal o solvato) farmacéuticamente aceptable, en combinación con AraC. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LMA.

En realizaciones específicas, el Compuesto 292 o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo, se utiliza en combinación con uno o más segundos agentes o segunda terapia proporcionados en el presente documento.

### **Biomarcadores y métodos de detección**

En el presente documento se desvela un biomarcador (por ejemplo, un biomarcador de diagnóstico, un biomarcador predictivo o un biomarcador de pronóstico) para su uso en el tratamiento o la prevención de una neoplasia maligna hemática. El biomarcador desvelado en el presente documento incluye, pero sin limitación: un biomarcador diana, un biomarcador de rutas de señalización, un biomarcador de mutación de proteínas, un biomarcador de expresión de proteínas, un biomarcador de mutación génica, un biomarcador de número de copias de ADN, un biomarcador de expresión génica, un biomarcador de citocina, un biomarcador de quimiocina, un biomarcador de metaloproteinasas de matriz o un biomarcador para células cancerosas concretas. El biomarcador puede utilizarse para evaluar el pronóstico y/o la sensibilidad a un agente de tratamiento, de un tipo concreto de cáncer o enfermedad, o de un paciente o grupo de pacientes concreto.

El biomarcador desvelado en el presente documento es un biomarcador diana, tal como, por ejemplo, un biomarcador para determinar la expresión de proteínas y/o ARN de una o más isoformas concretas de PI3K; por ejemplo, un biomarcador para determinar expresión de PI3K- $\alpha$ , la expresión de PI3K- $\beta$ , la expresión de PI3K- $\delta$  o la expresión de PI3K- $\gamma$ , o sus combinaciones. El biomarcador diana puede ser para detectar una alteración del ADN (por ejemplo, mutación, variaciones en el número de copias o modificación epigenética) de una o más isoformas concretas de PI3L. El biomarcador puede implicar IHQ de una diana proteica concreta. El biomarcador puede implicar el ARN (por ejemplo, ARNm) (por ejemplo, HIS de ARNm) de una diana proteica concreta. El biomarcador puede implicar el ADN de una diana proteica concreta que incluye la alteración genética, tal como mutación somática, alteraciones en el número de copias, tales como amplificación o delección y traslocación cromosómica, así como alteración epigenética, tal como metilación y modificación de histonas. El biomarcador puede implicar miARN que regula la expresión de una diana proteica concreta.

El biomarcador proporcionado en el presente documento, puede ser un biomarcador de rutas de señalización, tal como, por ejemplo, un biomarcador de la ruta de PTEN y/o un biomarcador de la activación de rutas de señalización tales como pAKT, pS6 y/o pPRAS40 (por ejemplo, un biomarcador de IHQ, un biomarcador de alteración de ADN, un biomarcador de delección de ADN, un biomarcador de número de copias de ADN o un biomarcador de mutación de ADN). El biomarcador proporcionado en el presente documento, puede ser un biomarcador de mutación, tal como un biomarcador de mutación de proteínas o un biomarcador de mutaciones de genes, para evaluar la mutación de una o más dianas, tales como, por ejemplo, CXCR4, IGH7, KRAS, NRAS, A20, CARD11, CD79B, TP53, CARD11, MYD88, GNA13, MEF2B, TNFRSF14, MLL2, BTG1, EZH2, NOTCH1, JAK1, JAK2, PTEN, FBW7, PHF6, IDH1, IDH2, TET2, FLT3, KIT, NPM1, CEBPA, DNMT3A, BAALC, RUNX1, ASXL1, IRF8, POU2F2, WIF1, ARIDIA, MEF2B, TNFAIP3, PIK3R1, MTOR, PIK3CA, PI3K $\delta$  y/o PI3K $\gamma$ . El biomarcador proporcionado en el presente documento, puede ser un biomarcador de expresión, tal como, un biomarcador de expresión de proteínas, un biomarcador de expresión de genes, para evaluar la expresión de una o más dianas o la regulación positiva o negativa de una ruta, tal como, por ejemplo, un biomarcador de IHQ de pERK o un biomarcador de expresión de pERK, por ejemplo, para evaluar la activación de la ruta de RAS o PI3K.

El biomarcador proporcionado en el presente documento, puede ser un biomarcador de citocinas, entre las que se incluyen, aunque sin limitación, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12 (p40), IL-15, IL-16, IL-21, TNF $\alpha$  y TGF $\alpha$ . El biomarcador proporcionado en el presente documento puede ser un biomarcador de quimiocinas, entre las que se incluyen, aunque sin limitación, CCL1, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CCL2 y CCL3. El biomarcador proporcionado en el presente documento puede ser un biomarcador de citocinas en suero. El biomarcador proporcionado en el presente documento puede ser un biomarcador de quimiocinas en suero. El biomarcador proporcionado en el presente documento puede relacionarse con patrones de expresión génica de una o más citocinas, receptores de citocinas, quimiocinas y/o receptores de quimiocinas. El biomarcador proporcionado en el presente documento puede ser CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22, GM-CSF o TNF- $\alpha$  o una de sus combinaciones. El biomarcador

proporcionado en el presente documento puede ser una metaloproteinasa de matriz. La metaloproteinasa de matriz puede ser MMP-9. La metaloproteinasa de matriz puede ser MMP-12.

5 Los biomarcadores proporcionados en el presente documento pueden utilizarse para identificar, diagnosticar, predecir la eficacia, predecir el resultado clínico a largo plazo, predecir el pronóstico y/o seleccionar pacientes para un tratamiento descrito en el presente documento. Los biomarcadores proporcionados en el presente documento pueden utilizarse para subconjuntos de pacientes con diferentes factores de pronóstico, tales como, por ejemplo, estadio de Rai,  $\beta$ 2-microglobulina, diversas características citogenéticas incluyendo trisomía 12, del13q, 17p, PTEN y mutaciones o deleciones en 11q, estado ZAP-70, estado CD38, estado CD49d y/o mutaciones del gen de *IgHV*. El biomarcador puede ser la deleción de 11q. El biomarcador puede ser la deleción de PTEN y/o la expresión de PTEN disminuida. El biomarcador puede ser la deleción de 17p. Se desvela un método para determinar una susceptibilidad de un sujeto al tratamiento que puede comprender detectar la presencia de un biomarcador en una muestra del sujeto. La presencia de uno o más estadios de Rai,  $\beta$ 2-microglobulina, diversas características citogenéticas incluyendo trisomía 12, del 13q, 17p, PTEN y mutaciones o deleciones en 11q, estado ZAP-70, estado CD38, estado CD49d y/o mutaciones del gen de *IgHV* puede indicar que el sujeto tiene una mayor susceptibilidad al tratamiento con un inhibidor de PI3K. La presencia de la deleción 11q puede indicar que el sujeto tiene una mayor susceptibilidad al tratamiento con un inhibidor de PI3K. La presencia de la deleción 17p puede indicar que el sujeto tiene una mayor susceptibilidad al tratamiento con un inhibidor de PI3K. La presencia de la deleción de PTEN y/o disminución de la expresión de PTEN puede indicar que el sujeto tiene una mayor susceptibilidad al tratamiento con un inhibidor de PI3K. La presencia de pS6 puede indicar que el sujeto tiene una susceptibilidad disminuida al tratamiento con un inhibidor de PI3K. El método puede comprender además administrar un inhibidor de PI3K a un sujeto identificado como que tiene una mayor susceptibilidad al tratamiento. El inhibidor de PI3K es el compuesto 292. El método puede comprender además el uso de la información para clasificar en estratos a los sujetos que tienen una mayor probabilidad de respuesta a un tratamiento en comparación con los que tienen una menor probabilidad de respuesta a un tratamiento.

Se desvela un método para predecir la probabilidad de que un sujeto responda terapéuticamente a un método para tratar el cáncer, comprendiendo dicho método administrar un inhibidor de PI3K (por ejemplo, el compuesto 292), comprendiendo dicho método: (a) medir el nivel de expresión de un biomarcador en una muestra biológica de cáncer de dicho sujeto; (b) determinar la presencia, o el nivel, de dicho biomarcador en dicha muestra de cáncer con respecto a un nivel predeterminado de dicho biomarcador; (c) clasificar a dicho sujeto como que tiene mayor o menor probabilidad de responder terapéuticamente a dicho método de tratamiento de cáncer si dicho paciente tiene un biomarcador y (d) administrar un inhibidor de PI3K a dicho paciente clasificado como que tiene una mayor probabilidad de respuesta. Por ejemplo, la detección de uno o más estadios de Rai,  $\beta$ 2-microglobulina, diversas características citogenéticas, incluyendo trisomía 12, del13q, 17p, PTEN y mutaciones o deleciones en 11q, estado ZAP-70, estado CD38, estado CD49d y/o mutaciones del gen de *IgHV*, pueden clasificarse como que tienen una mayor probabilidad de respuesta. Por ejemplo, la detección de uno de más de pS6 puede clasificarse como que tiene una menor probabilidad de respuesta. La detección de la deleción 11q puede clasificarse como que tiene una mayor probabilidad de respuesta. La detección de la deleción 17p puede clasificarse como que tiene una mayor probabilidad de respuesta. En otra realización, la detección de la deleción de PTEN y/o la disminución de la expresión de PTEN, puede clasificarse como que tiene una mayor probabilidad de respuesta.

Una vez que el tratamiento comienza con pacientes con una mayor probabilidad de respuesta (por ejemplo, pacientes identificados según la detección de), la eficacia real del tratamiento también puede comprobarse evaluando la modulación de un segundo conjunto de biomarcadores tales como pAKT, c-MYC, NOTCH1, CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, IL-16, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1, CXCL10, MMP-12, y sus combinaciones.

En el presente documento, para comprobar la eficacia del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) en un paciente con cáncer que tiene la deleción 11q, se desvela un método que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del paciente; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es pAKT, c-MYC, NOTCH1, CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, IL-16, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1, CXCL10, MMP-12, o una de sus combinaciones; (c) administrar al paciente el compuesto de tratamiento; (d) obtener después una segunda muestra biológica del paciente; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del paciente está disminuido en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del paciente, el paciente es sensible al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) en un paciente con cáncer que tiene deleción 17p que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del paciente; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es pAKT, c-MYC, NOTCH1, CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, IL-16, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1, CXCL10, MMP-12, o una de sus combinaciones; (c) administrar al paciente el compuesto de tratamiento; (d) obtener después una segunda muestra biológica del paciente; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda

muestra biológica del paciente está disminuido en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del paciente, el paciente es sensible al tratamiento.

5 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) en un paciente con cáncer que tiene delección de PTEN y/o expresión PTEN disminuida, que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del paciente; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es pAKT, c-MYC, NOTCH1, CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, IL-16, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1, CXCL10, MMP-12, o una de sus combinaciones; (c) administrar al paciente el compuesto de tratamiento; (d) obtener después una segunda muestra biológica del paciente; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del paciente está disminuido en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del paciente, el paciente es sensible al tratamiento.

15 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) en un paciente con cáncer que tiene delección en 13q, que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del paciente; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es pAKT, c-MYC, NOTCH1, CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, IL-16, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1, CXCL10, MMP-12, o una de sus combinaciones; (c) administrar al paciente el compuesto de tratamiento; (d) obtener después una segunda muestra biológica del paciente; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del paciente está disminuido en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del paciente, el paciente es sensible al tratamiento.

25 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) en un paciente con cáncer que tiene trisomía por delección en el cromosoma 12, que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del paciente; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es pAKT, c-MYC, NOTCH1, CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, IL-16, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1, CXCL10, MMP-12, o una de sus combinaciones; (c) administrar al paciente el compuesto de tratamiento; (d) obtener después una segunda muestra biológica del paciente; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del paciente está disminuido en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del paciente, el paciente es sensible al tratamiento.

35 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia del compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) en un paciente con cáncer que tiene una mutación del gen *IgHV*, que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del paciente; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es pAKT, c-MYC, NOTCH1, CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, IL-16, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1, CXCL10, MMP-12, o una de sus combinaciones; (c) administrar al paciente el compuesto de tratamiento; (d) obtener después una segunda muestra biológica del paciente; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del paciente está disminuido en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del paciente, el paciente es sensible al tratamiento.

50 El biomarcador proporcionado en el presente documento puede ser un biomarcador de células cancerosas (por ejemplo, una línea celular concreta de cáncer, un tipo concreto de célula cancerosa, un perfil concreto de ciclo celular).

El biomarcador proporcionado en el presente documento puede estar relacionado con el perfil de expresión génica de un paciente o grupo de pacientes, por ejemplo, como un biomarcador predictivo de la activación de la ruta PI3K $\delta$  y/o PI3K $\gamma$ , o como un biomarcador predictivo de la respuesta a un tratamiento descrito en el presente documento. En realizaciones ejemplares, el biomarcador proporcionado en el presente documento se refiere a un clasificador de expresión génica, por ejemplo, como un biomarcador predictivo de expresión o activación de PI3K $\delta$  y/o PI3K $\gamma$  (por ejemplo, expresión o activación diferencial en ABC, GCB, fosforilación oxidativa (Fos Ox), receptor de linfocitos B/proliferación (BCR) o subtipos de respuesta del hospedador (RH) de LDLBG).

60 En el presente documento se desvelan métodos relacionados con el uso de ARNm o proteínas como biomarcadores para determinar la eficacia de una terapia. Los niveles de ARNm o proteínas pueden utilizarse para determinar si es probable que un agente concreto tenga éxito en el tratamiento de un cáncer o una neoplasia maligna hemática concretos.

65 Como se usa en el presente documento, y salvo que se especifique de otra manera, un marcador biológico o biomarcador es una sustancia cuya detección indica un estado biológico concreto, tal como, por ejemplo, la

presencia de cáncer o neoplasia maligna hemática. En algunas realizaciones, los biomarcadores pueden determinarse individualmente o pueden medirse varios marcadores simultáneamente.

5 Un biomarcador puede indicar un cambio en el nivel de expresión de ARNm, lo cual puede correlacionarse con el riesgo o avance una enfermedad, o con la susceptibilidad de la enfermedad a un tratamiento determinado. El biomarcador puede ser un ácido nucleico, tal como un ARNm, miARN o ADNc.

10 Un biomarcador puede indicar un cambio en el nivel de expresión de un polipéptido o una proteína, que puede correlacionarse con el riesgo, la susceptibilidad al tratamiento, o avance de una enfermedad. El biomarcador puede ser un polipéptido o una proteína, o un fragmento de los mismos. El nivel relativo de proteínas específicas puede determinarse por métodos conocidos en la materia. Por ejemplo, pueden utilizarse métodos basados en anticuerpos, tales como un inmunoensayo o un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) u otros métodos.

15 Los métodos desvelados en el presente documento pueden abarcar métodos para seleccionar o identificar pacientes que tienen cáncer o neoplasias malignas hemáticas, para el tratamiento con el compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable. El método puede comprender obtener una muestra biológica en un sujeto y medir el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, donde un nivel de referencia anómalo (por ejemplo, mayor o menor que el nivel en un grupo de control) del biomarcador, indica una mayor probabilidad de que el sujeto tenga un cáncer o una neoplasia maligna hemática que se pueda tratar con el compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable. El método comprende opcionalmente aislar o purificar ARNm de la muestra biológica, amplificándose las transcripciones de ARNm (por ejemplo, mediante RT-PCR). En una realización, el nivel de un biomarcador es el nivel de un ARNm o de una proteína.

25 En el presente documento se desvelan métodos para predecir la sensibilidad al tratamiento con el compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable, en un paciente que tiene cáncer o una neoplasia maligna hemática. El método comprende obtener una muestra biológica del paciente y medir el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que un nivel de referencia anómalo (por ejemplo, mayor o menor que el nivel de un grupo de control) del biomarcador, indica una mayor probabilidad de que el paciente sea sensible al tratamiento con el compuesto proporcionado en el presente documento o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable. El método puede comprender opcionalmente aislar o purificar ARNm de la muestra biológica, amplificándose las transcripciones de ARNm (por ejemplo, mediante RT-PCR). El nivel de un biomarcador puede ser el nivel de un ARNm o de una proteína.

35 En el presente documento se desvela un método para tratar o gestionar un cáncer o una neoplasia maligna hemática en un paciente que comprende: (i) obtener una muestra biológica del paciente y medir el nivel de un biomarcador en la muestra biológica; y (ii) administrar al paciente, con un nivel de referencia anómalo de al menos un biomarcador (por ejemplo, mayor o menor que el nivel de un grupo de control), una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la etapa (i) comprende opcionalmente aislar o purificar ARNm de la muestra biológica, amplificando las transcripciones de ARNm (por ejemplo, por RT-PCR). El nivel de un biomarcador puede ser el nivel de un ARNm o de una proteína.

45 En el presente documento se desvela un método para comprobar la respuesta al tratamiento con el compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, en un paciente que tiene cáncer o neoplasia maligna hemática. El método puede comprender obtener una respuesta biológica del paciente, medir el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, administrar al paciente el compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, obteniendo después una segunda muestra biológica del paciente, midiendo el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica, y comparando los dos niveles de biomarcador, en el que la alteración (por ejemplo, aumento o disminución) del nivel del biomarcador después del tratamiento indica la probabilidad de una respuesta tumoral eficaz. En una realización, un nivel disminuido del biomarcador después del tratamiento indica la probabilidad de una respuesta tumoral eficaz. En otra realización, un nivel aumentado del biomarcador después del tratamiento indica la probabilidad de una respuesta tumoral eficaz. El nivel del biomarcador puede ser, por ejemplo, el nivel de un ARNm o de una proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, por ejemplo, aproximadamente 1,5, 2,0, 3, 5 veces o más.

60 Se desvela un método para comprobar el cumplimiento del paciente con un protocolo de tratamiento farmacológico. El método puede comprender obtener una muestra biológica del paciente, medir el nivel de al menos un biomarcador en la muestra y determinar si el nivel aumenta o disminuye en la muestra del paciente en comparación con el nivel en una muestra de control sin tratar, donde un aumento o disminución del nivel indica el cumplimiento del paciente con el protocolo de tratamiento farmacológico. En una realización, el nivel de al menos un biomarcador está aumentado. El nivel de biomarcador comprobado, puede ser, por ejemplo, un nivel de ARNm o de proteína. La expresión en la muestra tratada puede aumentar, por ejemplo, aproximadamente 1,5, 2,0, 3, 5 veces o más.

65

También puede evaluarse una firma de expresión génica característica de un tipo concreto de cáncer o neoplasia maligna hemática. La firma de expresión génica puede incluir el análisis del nivel (por ejemplo, expresión) de uno o más genes implicados en el cáncer o neoplasia maligna hemática.

5 También puede evaluarse una firma de metilación genética característica de un tipo concreto de cáncer o neoplasia maligna hemática. La firma de metilación genética puede incluir el análisis del nivel (por ejemplo, expresión) de uno o más genes implicados en el cáncer o neoplasia maligna hemática.

10 Para evaluar a un sujeto puede utilizarse cualquier combinación de los biomarcadores proporcionados en el presente documento.

15 En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento, es el nivel de expresión de PI3K- $\delta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento, es el nivel de expresión de PI3K- $\gamma$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento, es el nivel de expresión de PI3K- $\beta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión de PI3K- $\alpha$ .

20 En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento, es el nivel de expresión de ARNm de PI3K- $\delta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión de ARNm de PI3K- $\gamma$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión de ARNm de PI3K- $\beta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión de ARNm de PI3K- $\alpha$ . En algunas realizaciones, el nivel de expresión de ARNm para una isoforma de PI3K se determina a partir de una muestra de sangre entera del sujeto. En una realización, el nivel de expresión de ARNm para una isoforma de PI3K se determina mediante técnicas conocidas en la materia (por ejemplo, expresión de ARN).

30 En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento, es el nivel de expresión de la proteína PI3K- $\delta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión de la proteína PI3K- $\gamma$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión de la proteína PI3K- $\beta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión de la proteína PI3K- $\alpha$ .

35 En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento, es el nivel de expresión alto, el aumento de amplificación de ADN y/o la detección de una mutación génica de PI3K- $\delta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión alto, el aumento de amplificación de ADN y/o la detección de una mutación génica de PI3K- $\gamma$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión alto, el aumento de amplificación de ADN y/o la detección de una mutación génica de PI3K- $\beta$ . En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es el nivel de expresión alto, el aumento de amplificación de ADN y/o la detección de la mutación genética de PI3K- $\alpha$ .

45 En determinadas realizaciones, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es la detección del nivel de expresión normal de una isoforma de PI3K en determinados tipos de células. En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es la detección del nivel de expresión normal de PI3K- $\gamma$  y/o PI3K- $\delta$  en células inmunitarias normales.

50 En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es un SNP de línea germinal que se ha relacionado previamente con susceptibilidad a cáncer o a neoplasia maligna hemática.

55 En una realización, el biomarcador utilizado en los métodos proporcionados en el presente documento es un SNP de línea germinal que se ha relacionado previamente con rutas del metabolismo o transporte de fármacos (por ejemplo, enzimas de la familia de CYP3A y/u otras enzimas metabolizantes de fármacos que se han asociado con el metabolismo de un compuesto proporcionado en el presente documento).

60 En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente responda al tratamiento de un cáncer o una enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una combinación de los mismos)); y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia del biomarcador; en el que si el nivel de biomarcador en la muestra biológica del sujeto se altera (por ejemplo, aumenta o disminuye) en comparación con el nivel de referencia del biomarcador, es probable que el sujeto responda al tratamiento.

65

En el presente documento se desvela un método para predecir la probabilidad de que un sujeto responda terapéuticamente a un método de tratamiento de un cáncer que comprende administrar un inhibidor de PI3K (por ejemplo, compuesto 292), comprendiendo dicho método: (a) administrar el inhibidor de PI3K, (b) medir el nivel de expresión de un biomarcador en una muestra biológica de cáncer de dicho sujeto 8 días después de la administración de dicho inhibidor de PI3K; (c) determinar el nivel de dicho biomarcador en dicha muestra de cáncer con respecto a nivel predeterminado de dicho biomarcador, (d) clasificar a dicho sujeto como que tiene una mayor probabilidad de responder terapéuticamente a dicho método de tratamiento del cáncer si dicho paciente tiene un nivel disminuido de dicho biomarcador después de la administración de dicho inhibidor de PI3K, y (e) administrar un inhibidor de PI3K a dicho paciente clasificado como que tiene una mayor probabilidad de respuesta. Por ejemplo, en un sujeto con LLC, la detección de la disminución en uno o más de CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, MMP-9, CCL17, CCL22 y CCL1, después del tratamiento puede clasificarse como que tiene mayor probabilidad de respuesta al tratamiento. Por ejemplo, en un sujeto con LNH<sub>i</sub>, la detección de la disminución en uno o más de CXCL13, MMP-9, TNF $\alpha$ , CCL22, CCL1, CCL17 y MMP-12 después del tratamiento puede clasificarse como que tiene mayor probabilidad de respuesta al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente responda al tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); (b) determinar el nivel del biomarcador en una muestra de control; y (c) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto con el nivel del biomarcador en la muestra de control; en el que es probable que si el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto se altera (por ejemplo, aumenta o disminuye) en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control, el sujeto responda al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente responda al tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); y (c) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia del biomarcador en el que es probable que si el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto se altera (por ejemplo, aumenta o disminuye) en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control, el sujeto responda al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente responda al tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); (c) determinar el nivel del biomarcador en una muestra de control; y (d) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia del biomarcador en el que es probable que si el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto se altera (por ejemplo, aumenta o disminuye) en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control, el sujeto responda al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); y (b) compara el nivel del biomarcador en la muestra de control con un nivel de referencia del biomarcador; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de referencia del biomarcador (por ejemplo, más alto o más bajo) se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); (b) determinar el nivel del biomarcador con una muestra de control y (c) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto con el nivel del biomarcador en la muestra de control, en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de biomarcador en la muestra de control (por ejemplo, más alto o más bajo) se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.



En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); y (c) comparar el nivel del biomarcador en una muestra biológica con el nivel de referencia del biomarcador; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de referencia del biomarcador (por ejemplo, más alto o más bajo) se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); (c) determinar el nivel del biomarcador en una muestra de control y (d) comparar el nivel del biomarcador en una muestra biológica del sujeto con el nivel del biomarcador en la muestra de control; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel del biomarcador en la muestra de control (por ejemplo, más alto o más bajo) se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia de un tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, en un sujeto tratado con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); (c) administrar el compuesto de tratamiento al sujeto; (d) obtener después una segunda muestra biológica del sujeto; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y la segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del sujeto se altera (por ejemplo, aumenta o disminuye) en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del sujeto, el sujeto responde al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para comprobar el cumplimiento de un sujeto con el tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$  o PI3K- $\beta$  o una de sus combinaciones)); y (c) comparar el nivel del biomarcador con el nivel del biomarcador en una muestra de control del sujeto; en el que el cambio en el nivel del biomarcador en la muestra biológica en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control (por ejemplo, alto o bajo) indica el cumplimiento del sujeto con el tratamiento.

Para los métodos desvelados en el presente documento, un cambio en el nivel de un biomarcador proporcionado en el presente documento durante un periodo de tiempo, es indicativo de un efecto dirigido, tal como, pero sin limitación, la probabilidad de que un sujeto responda a un tratamiento, la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento, la eficacia de un tratamiento y el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento, de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática. En una realización, el cambio en el nivel de un biomarcador es una disminución en el nivel del biomarcador. En una realización, el cambio en el nivel de un biomarcador es una disminución en la concentración en suero del biomarcador. En una realización, el cambio en el nivel de un biomarcador es una disminución en la concentración en suero de un biomarcador de citocina/quimiocina. En una realización, el biomarcador de citocina/quimiocina es CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22 o TNF- $\alpha$ , o una combinación de los mismos. En una realización, el cambio en el nivel de un biomarcador es una disminución en la concentración en suero de una metaloproteinasa de la matriz. En una realización la metaloproteinasa de la matriz es MMP-9.

En una realización, el período de tiempo es de 180 días, 90 días, 50 días, 40 días, 35 días, 30 días, 28 días, 24 días, 20 días, 16 días, 14 días, 12 días, 8 días, 4 días, 3 días, 2 días, 1 día, 18 horas, 12 horas, 6 horas, 3 horas o 1 hora, después de un momento inicial (por ejemplo, administración a un sujeto de un compuesto proporcionado en el presente documento). En una realización, el periodo de tiempo es de 28 días después de la administración de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) a un sujeto. En otra realización, el periodo de tiempo es de 14 días después de la administración de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) a un sujeto. En otra realización más, el periodo de tiempo es de 8 días después de la administración de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) a un sujeto.

Para los métodos desvelados en el presente documento, una disminución en la concentración en suero de CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22, TNF- $\alpha$  o MMP-9, o una de sus combinaciones, durante 28 días después de la administración de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) a un sujeto, es indicativa de un efecto dirigido, tal como, pero sin limitación, la probabilidad de que un sujeto responda a un tratamiento, la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento, la eficacia de un tratamiento y el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática. Para los métodos desvelados en el presente documento, una disminución en la concentración en suero de CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22, TNF- $\alpha$  o MMP-9, o una de sus combinaciones, durante 8 días después de la administración de un compuesto proporcionado en el presente documento (por ejemplo, Compuesto 292) a un sujeto, es indicativa de un efecto dirigido, tal como, pero sin limitación, la probabilidad de que un sujeto responda a un tratamiento, la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento, la eficacia de un tratamiento y el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento, de un cáncer o enfermedad, por ejemplo, una neoplasia maligna hemática.

En una realización, la neoplasia maligna hemática es una leucemia o un linfoma. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es un linfoma de linfocitos B o de linfocitos T. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es una neoplasia maligna de linfocitos B que incluye, pero sin limitación, neoplasia de linfocitos B precursores (por ejemplo, leucemia linfoblástica/linfoma de linfocitos B precursores y leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B precursores) y neoplasia de linfocitos B (periféricos) maduros (por ejemplo, leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico pequeño (LLC/LLP) de linfocitos B, leucemia prolinfocítica de linfocitos B, linfoma linfoplasmacítico (LLP), linfoma esplénico de linfocitos B de la zona marginal (con/sin linfocitos vellosos), tricoleucemia, mieloma de células plasmáticas/plasmacitoma, linfoma extraganglionar de linfocitos B de la zona marginal de tipo MALT (MALT), linfoma ganglionar de linfocitos B de la zona marginal (LZM) (con/sin linfocitos B monocitoides), linfoma folicular (LF), linfoma de células del manto (LCM), linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) o linfoma de Burkitt/leucemia de células de Burkitt (LB)). En otra realización, la neoplasia maligna hemática es una neoplasia de linfocitos T/células NK que incluye, pero sin limitación, neoplasia de linfocitos T precursores (por ejemplo, linfoma/leucemia linfoblástica de linfocitos T precursores y leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T precursores), y neoplasias de linfocitos T (periféricos) maduros (por ejemplo, leucemia prolinfocítica de linfocitos T, leucemia linfocítica granular de linfocitos L grandes, linfoma/leucemia de células NK (LNK), linfoma/leucemia de linfocitos T adultos (HTLV-1 positivo), linfoma extraganglionar de células NK/linfocitos T de tipo nasal, linfoma de linfocitos T de tipo enteropatía, linfoma hepatoesplénico de linfocitos T gamma-delta, linfoma de linfocitos T de tipo paniculitis subcutánea, micosis fungoide/síndrome de Sezary, linfoma anaplásico de células grandes/de linfocitos T y célula nula de tipo cutáneo primario, linfoma periférico de linfocitos T (LPT) no caracterizado de otra manera, linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T o linfoma anaplásico de linfocitos T grandes/célula nula de tipo sistémico primario)). En otra realización, la neoplasia maligna hemática es linfoma no Hodgkin (LNH) que incluye, pero sin limitación, LNH de linfocitos B (por ejemplo, linfoma de Burkitt leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico pequeño (LLC/LLP), linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular, linfoma inmunoblástico de células grandes, linfoma linfoblástico de linfocitos B precursores o linfoma de células del manto) y LNH de linfocitos T (por ejemplo, micosis fungoide, linfoma anaplásico de células grandes o linfoma linfoblástico de células T precursoras). Un LNH también puede dividirse en los tipos agresivo (de crecimiento rápido) e indolente (de crecimiento lento) (LNHi).

En una realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi, LCM o LF. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es un linfoma de linfocitos T. En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LLC o LLP.

En una realización la neoplasia maligna hemática es LLC o LLP y el biomarcador es CCL1, IL-10, CXCL13, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22, TNF $\alpha$ , IL-12 (p40), CXCL10, MMP-9, o una de sus combinaciones. En una realización, la neoplasia maligna hemática es LLC o LLP y el biomarcador es CCL1, IL-10, CXCL13, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22, TNF $\alpha$ , IL-12 (p40), CXCL10, MMP-9, o una de sus combinaciones, adicionalmente en combinación con otros biomarcadores conocidos para LLC tales como pAKT y Ki-67.

En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente sea sensible a un tratamiento de LLC o LLP con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL1, IL-10, CXCL13, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22, TNF $\alpha$ , IL-12 (p40), CXCL10, MMP-9, o una de sus combinaciones; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que es probable que el sujeto responda al tratamiento si el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel de referencia o control del biomarcador.

En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de LLC o LLP con un compuesto de tratamiento que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL1, IL-10, CXCL13, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22, TNF $\alpha$ , IL-12 (p40), CXCL10, MMP-9, o una de sus combinaciones; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de referencia o control del biomarcador se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

5 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia de un tratamiento de LLC o LLP en un sujeto tratado con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL1, IL-10, CXCL13, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22, TNF $\alpha$ , IL-12 (p40), CXCL10, MMP-9, o una de sus combinaciones; (c) administrar el compuesto del tratamiento a un sujeto; (d) obtener después una segunda muestra biológica del sujeto; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del sujeto está disminuido en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del sujeto, el sujeto es sensible al tratamiento.

15 En el presente documento se desvela un método para comprobar el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento de LLC o LLP con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL1, IL-10, CXCL13, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22, TNF $\alpha$ , IL-12 (p40), CXCL10, MMP-9, o una de sus combinaciones; (c) comparar el nivel del biomarcador con el nivel del biomarcador en una muestra biológica del sujeto; en el que la disminución en el nivel del biomarcador en la muestra biológica en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control indica el cumplimiento del sujeto con el tratamiento.

20 En otra realización, la neoplasia maligna hemática es linfoma, y el biomarcador es CXCL13, CCL17, MMP-9, o una combinación de los mismos.

25 En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente sea sensible al tratamiento del linfoma, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto en el que el biomarcador es CXCL13, CCL17, MMP-9, o una de sus combinaciones; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que es probable que el sujeto responda al tratamiento si el nivel del biomarcador en la muestra biológica disminuye en comparación con el nivel de referencia o control del biomarcador.

35 En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento del linfoma, con un compuesto de tratamiento que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CXCL13, CCL17, MMP-9, o una de sus combinaciones; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de referencia o control del biomarcador se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

40 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia de un tratamiento de linfoma en sujeto tratado con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es CXCL13, CCL17, MMP-9, o una de sus combinaciones; (c) administrar al compuesto de tratamiento al sujeto; (d) obtener después una segunda muestra biológica del sujeto; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y segunda muestras biológicas; en el que si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del sujeto, el sujeto es sensible al tratamiento.

50 En el presente documento se desvela un método para comprobar el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento de linfoma con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto, (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador es CXCL13, CCL17, MMP-9, o una de sus combinaciones; y (c) comparar el nivel del biomarcador con un nivel del biomarcador en la muestra de control del sujeto, en el que la disminución en el nivel del biomarcador en la muestra biológica en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control indica el cumplimiento del sujeto con el tratamiento.

55 En otra realización, la neoplasia maligna hemática es LNHi, y el biomarcador es CCL1, CCL17, CCL22, CXCL13, IL-12 (p40), MMP-12, MMP-9, TNF $\alpha$ , IL-16, o una de sus combinaciones.

60 En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que es probable que responda a un tratamiento de LNHi, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL1, CCL17, CCL22, CXCL13, IL-12 (p40), MMP-12, MMP-9, TNF $\alpha$ , IL-16, o una de sus combinaciones; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o de control del biomarcador; en el que si el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel de referencia o control del biomarcador, es probable que el sujeto responda al tratamiento.

5 En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de LNHi con un compuesto de tratamiento que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL1, CCL17, CCL22, CXCL13, IL-12 (p40), MMP-12, MMP-9, TNF $\alpha$ , IL-16, o una de sus combinaciones; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de referencia o control del biomarcador se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

10 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia de un tratamiento de LNHi en sujeto tratado con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL1, CCL17, CCL22, CXCL13, IL-12 (p40), MMP-12, MMP-9, TNF $\alpha$ , IL-16, o una de sus combinaciones; (c) administrar el compuesto de tratamiento al sujeto; (d) obtener después una segunda muestra biológica del sujeto; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y la segunda muestra biológica; en el que el sujeto es sensible al tratamiento si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica de un sujeto.

20 En el presente documento se desvela un método para comprobar el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento de LNHi con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento) que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto, (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL1, CCL17, CCL22, CXCL13, IL-12 (p40), MMP-12, MMP-9, TNF $\alpha$ , IL-16, o una de sus combinaciones; y (c) comparar el nivel del biomarcador con el nivel del biomarcador en una muestra de control del sujeto; en el que la disminución en el nivel del biomarcador en la muestra biológica en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control indica el cumplimiento del sujeto con el tratamiento.

25 En una realización, la neoplasia maligna hemática es LCM, y el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, o una combinación de los mismos.

30 En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente sea sensible a un tratamiento para LCM, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, o una combinación de los mismos; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que es probable que el sujeto responda al tratamiento si el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel de referencia o control del biomarcador.

35 En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento para la LCM con un compuesto de tratamiento que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, o una combinación de los mismos; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de referencia o control del biomarcador se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

40 En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia de un tratamiento de LCM en un sujeto tratado con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, o una combinación de los mismos; (c) administrar el compuesto de tratamiento al sujeto; (d) a partir de entonces obtener una segunda muestra biológica del sujeto; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y la segunda muestras biológicas; en el que el sujeto es sensible al tratamiento si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del sujeto.

45 En el presente documento se desvela un método para comprobar el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento para la LCM con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, o una combinación de los mismos; y (c) comparar el nivel del biomarcador con el nivel del biomarcador en una muestra de control del sujeto; en el que la disminución en el nivel del biomarcador en la muestra biológica en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control indica el cumplimiento del sujeto con el tratamiento.

60 En otra realización, la neoplasia maligna hemática es linfoma de células T (por ejemplo, CTCL) y el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, GM-CSF, IL-12 (p40), TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ , una ERK (cinasa regulada por

señal extracelular), PRAS40, pS6, o una combinación de los mismos.

En el presente documento se desvela un método para identificar a un sujeto que probablemente sea sensible a un tratamiento de linfoma de linfocitos T, con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, GM-CSF, IL-12 (p40), TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ , una ERK, PRAS40, pS6, o una combinación de los mismos; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que es probable que el sujeto responda al tratamiento si el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel de referencia o control del biomarcador.

En el presente documento se desvela un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de linfoma de linfocitos T con un compuesto de tratamiento que comprende: (a) determinar el nivel de un biomarcador en una muestra biológica del sujeto, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, GM-CSF, IL-12 (p40), TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ , una ERK, PRAS40, pS6, o una combinación de los mismos; y (b) comparar el nivel del biomarcador en la muestra biológica con un nivel de referencia o control del biomarcador; en el que la diferencia entre el nivel del biomarcador en la muestra biológica del sujeto y el nivel de referencia o control del biomarcador se correlaciona con la capacidad de respuesta del sujeto al tratamiento.

En el presente documento se desvela un método para comprobar la eficacia de un tratamiento de linfoma de linfocitos T en un sujeto tratado con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una primera muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, GM-CSF, IL-12 (p40), TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ , una ERK, PRAS40, pS6, o una combinación de los mismos; (c) administrar el compuesto de tratamiento al sujeto; (d) a partir de entonces obtener una segunda muestra biológica del sujeto; (e) determinar el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica; y (f) comparar los niveles del biomarcador en la primera y la segunda muestras biológicas; en el que el sujeto es sensible al tratamiento si el nivel del biomarcador en la segunda muestra biológica del sujeto disminuye en comparación con el nivel del biomarcador en la primera muestra biológica del sujeto.

En el presente documento se desvela un método para comprobar el cumplimiento de un sujeto con un tratamiento de linfoma de linfocitos T con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento), que comprende: (a) obtener una muestra biológica del sujeto; (b) determinar el nivel de un biomarcador en la muestra biológica, en el que el biomarcador es CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, GM-CSF, IL-12 (p40), TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ , una ERK, PRAS40, pS6, o una combinación de los mismos; y (c) comparar el nivel del biomarcador con el nivel del biomarcador en una muestra de control del sujeto; en el que la disminución en el nivel del biomarcador en la muestra biológica en comparación con el nivel del biomarcador en la muestra de control indica la conformidad del sujeto con el tratamiento.

En una realización, el cambio en el nivel de un biomarcador durante un período de tiempo se determina comparando los niveles del biomarcador al comienzo del período de tiempo y al final del período de tiempo. En una realización, el cambio en el nivel de un biomarcador durante un período de tiempo se determina comparando los niveles del biomarcador en múltiples puntos de tiempo dentro del período de tiempo (inclusive). En otra realización, el cambio en el nivel de un biomarcador durante un período de tiempo incluye uno o más cambios de nivel de biomarcador dentro del período de tiempo. En otra realización más, el cambio en el nivel de un biomarcador durante un período de tiempo se determina comparando el nivel del biomarcador con el nivel o niveles de referencia estándar.

Los métodos desvelados en el presente documento pueden comprender además una etapa de ajuste de la dosis del tratamiento (por ejemplo, el tratamiento con el Compuesto 292) en función del cambio en el nivel de un biomarcador durante un período de tiempo.

En una realización, en el presente documento, para determinar el nivel de un biomarcador en una muestra, se proporciona una sonda que se hibrida con un polinucleótido del biomarcador, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$ , o PI3K- $\beta$ , o una combinación de los mismos)). En ciertas realizaciones, el nivel del biomarcador se utiliza para seleccionar un sujeto para un tratamiento con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento); para predecir o comprobar la capacidad de respuesta de un sujeto al tratamiento; o comprobar el cumplimiento de un sujeto con el tratamiento. En ciertas realizaciones, la sonda es una que hibrida con una unión de corte y empalme de un polinucleótido del biomarcador. En realizaciones específicas, la sonda es específica para detectar o cuantificar una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$ , o PI3K- $\beta$ , o una combinación de los mismos).

En una realización, en el presente documento, para determinar el nivel de un biomarcador en una muestra, se proporciona una sonda que se hibrida con un ARNm del biomarcador, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$ , o PI3K- $\beta$ , o una combinación de los mismos)). En ciertas realizaciones, el nivel del biomarcador se utiliza para

seleccionar un sujeto para un tratamiento con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento); para predecir o comprobar la capacidad de respuesta de un sujeto al tratamiento; o comprobar el cumplimiento de un sujeto con el tratamiento. En ciertas realizaciones, la sonda es una que hibrida con una unión de corte y empalme de un ARNm del biomarcador. En realizaciones específicas, la sonda es específica para detectar o cuantificar una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$ , o PI3K- $\beta$ , o una combinación de los mismos).

En una realización, en el presente documento, para determinar el nivel de un biomarcador en una muestra, se proporciona un anticuerpo, en el que el biomarcador se describe en el presente documento (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$ , o PI3K- $\beta$ , o una combinación de los mismos)). En ciertas realizaciones, el nivel del biomarcador se utiliza para seleccionar un sujeto para un tratamiento con un compuesto de tratamiento (por ejemplo, un compuesto proporcionado en el presente documento); para predecir o comprobar la capacidad de respuesta de un sujeto al tratamiento; o comprobar el cumplimiento de un sujeto con el tratamiento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es uno que se une a una unión de empalme del biomarcador (por ejemplo, un biomarcador para una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$ , o PI3K- $\beta$ , o una combinación de los mismos)). En realizaciones específicas, el anticuerpo es específico para detectar o cuantificar una isoforma de PI3K (por ejemplo, PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\alpha$ , o PI3K- $\beta$ , o una combinación de los mismos).

En una realización, los niveles de los ARNm de los biomarcadores se pueden detectar o cuantificar mediante un método conocido en la materia. Los ejemplos de métodos de detección o cuantificación incluyen, pero sin limitación, ensayos de transferencias de Northern, de protección con ribonucleasa y métodos basados en PCR. Cuando el biomarcador es una molécula de ARNm, la secuencia de ARNm o un fragmento de la misma, se puede utilizar para preparar una sonda que sea al menos parcialmente complementaria. La sonda se puede utilizar después para detectar la secuencia de ARNm en una muestra, utilizando un método conocido en la materia, que incluye, sin limitación, métodos basados en PCR, transferencia de Northern, o un ensayo de tira reactiva.

En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es un ensayo de transferencia de Northern, de protección con ribonucleasa, o un método basado en PCR. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es una transferencia de Northern. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es un ensayo de protección con ribonucleasa. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es un método basado en PCR. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es qRT-PCR.

En una realización, puede utilizarse cualquier plataforma de ensayo adecuada para determinar la presencia del ARNm en una muestra. Por ejemplo, un ensayo puede estar en forma de tira reactiva, membrana, micromatriz, disco, tira de ensayo, filtro, microesfera, portaobjetos, placa multipocillo o fibra óptica. Un sistema de ensayo puede tener un soporte sólido sobre el que se une un ácido nucleico correspondiente al ARNm. El soporte sólido puede comprender, por ejemplo, un plástico, silicio, un metal, una resina, vidrio, una membrana, una película, un precipitado, un gel, un polímero, una lámina, una esfera, un polisacárido, un capilar, una película, una placa o un portaobjetos. Los componentes del ensayo se pueden preparar y envasar juntos como un kit para detectar un ARNm.

Los ARNm pueden marcarse, si se desea, para formar una población de ARNm marcados. En general, una muestra puede marcarse utilizando métodos que son conocidos en la materia (por ejemplo, utilizando una ARN ligasa o transferasa terminal, o marcando la cadena principal de ARN). Véase, por ejemplo, Ausubel et al., *Short Protocols in Molecular Biology*, 3ª ed., Wiley y Sons 1995 y Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª edición, 2001 Cold Spring Harbor, N.Y. En ciertas realizaciones, la muestra se marca con un marcador fluorescente. Como ejemplos de colorantes fluorescentes se incluyen, pero sin limitación, colorantes de xanteno, colorantes de fluoresceína, colorantes de rodamina, isotiocianato de fluoresceína (FITC), 6-carboxifluoresceína (FAM), 6-carboxi-2',4',7',4',7-hexaclorofluoresceína (HEX), 6-carboxi-4',5'-dicloro-2',7'-dimetoxifluoresceína (JOE o J), *N,N,N',N'*-tetrametil-6-carboxirrodamina (TAMRA o T), 6-carboxi-X-rodamina (ROX o R), 5-carboxirrodamina 6G (R6G5 o G5), 6-carboxirrodamina 6G (R6G6 o G6), rodamina 110, colorantes de cianina (por ejemplo, colorantes Cy3, Cy5 y Cy7), colorantes Alexa (por ejemplo, Alexa-flúor-555), cumarina, dietilaminocumarina, umbeliferona; colorantes de bencimida (por ejemplo, Hoechst 33258), colorantes de fenantridina (por ejemplo, rojo de Tejas), colorantes de etidio, colorantes de acridina, colorantes de carbazol, colorantes de fenoxazina, colorantes de porfirina, colorantes de polimetina, colorantes BODIPY, colorantes de quinolina, pireno, clorotriazinilo de fluoresceína, R110, Eosina, JOE, R6G, tetrametilrodamina, lisamina, ROX y naftofluoresceína.

En ciertas realizaciones, las sondas de ácido nucleico pueden estar presentes en ubicaciones específicas, localizables en un soporte sólido; correspondiéndose cada una de ellas al menos con una parte de las secuencias de ARNm de un biomarcador.

En ciertas realizaciones, un ensayo de ARNm comprende los pasos de 1) obtener sondas unidas a la superficie para uno o más biomarcadores; 2) hibridar una población de ARNm con las sondas unidas a la superficie en condiciones suficientes para proporcionar una unión específica; 3) eliminar los ácidos nucleicos no unidos en la etapa de hibridación; y 4) detectar los ARNm hibridados.

La hibridación se puede llevar a cabo en condiciones de hibridación adecuadas, cuya rigurosidad puede modificarse según se desee. Las condiciones típicas son suficientes para producir complejos de sonda / diana en una superficie sólida entre los miembros de unión complementarios, es decir, entre las sondas unidas a la superficie y los ARNm complementarios en una muestra.

5 En ciertas realizaciones, se utilizan condiciones de hibridación rigurosas. En Kallioniemi et al., Science 258: 818 - 821 (1992)) y en el documento WO 93/18186, se describen técnicas de hibridación estándar (por ejemplo, en condiciones suficientes para proporcionar la unión específica de los ARNm diana en la muestra con las sondas). Se dispone de diversas guías de técnicas generales, por ejemplo, Tijssen, Hybridization with Nucleic Acid Probes, partes I y II (Elsevier, Ámsterdam 1993). Para descripciones de técnicas adecuadas para hibridaciones *in situ* véase Gall et al. Meth. Enzymol., 21: 470 - 480 (1981); y Angerer et al. en Genetic Engineering: Principles and Methods (Setlow y Hollaender, Eds.) vol. 7, páginas 43-65 (Plenum Press, Nueva York 1985). La selección de condiciones apropiadas, que incluyen temperatura, concentración de sal, concentración de polinucleótidos, tiempo de hibridación y rigurosidad de las condiciones de lavado, depende del diseño experimental, incluida la fuente de la muestra, la identidad de los agentes de captura, el grado de complementariedad esperado, etc.

Después del procedimiento de hibridación de ARNm, los polinucleótidos unidos a la superficie se lavan para eliminar los ácidos nucleicos no unidos. El lavado puede realizarse utilizando cualquier protocolo de lavado conveniente. En ciertas realizaciones, las condiciones de lavado son rigurosas. La hibridación de los ARNm diana con las sondas se detecta después utilizando técnicas estándar.

En ciertas realizaciones, el nivel de ARNm de un biomarcador se determina utilizando un método basado en PCR. Se pueden encontrar ejemplos de ensayos de PCR en la patente de Estados Unidos No. 6.927.024. Se pueden encontrar ejemplos de métodos de RT-PCR en la patente de Estados Unidos No. 7.122.799. Se pueden encontrar ejemplos de métodos de PCR con fluorescencia *in situ* en la patente de Estados Unidos No. 7.186.507.

En ciertas realizaciones, la PCR con transcripción inversa en tiempo real (qRT-PCR) se utiliza tanto para la detección como para la cuantificación de los ARNm (Bustin et al., Clin. Sci., 2005, 109, 365-379) Los resultados cuantitativos obtenidos por qRT-PCR son generalmente más informativos que los datos cualitativos. Se pueden encontrar ejemplos de métodos basados en qRT-PCR en la patente de Estados Unidos No. 7.101.663.

A diferencia de la PCR con transcripción inversa regular y el análisis con geles de agarosa, la PCR en tiempo real proporciona resultados cuantitativos. Una ventaja adicional de la PCR en tiempo real es la relativa facilidad y conveniencia de uso. En el comercio se dispone de equipos, tales como Applied Biosystems 7500, para realizar la PCR en tiempo real. En el comercio también se dispone de reactivos, tales como la química TaqMan de detección de secuencias, para realizar la PCR en tiempo real.

Para determinar el número de ciclos en el que la señal de fluorescencia, asociada a una acumulación concreta de amplicón, cruza el umbral (denominado CT), los datos pueden analizarse, por ejemplo, utilizando un programa informático de detección de secuencias de sistema de PCR en tiempo real 7500 v1.3, utilizando el método de cálculo comparativo de cuantificación relativa de CT. Utilizando este método, el resultado se expresa como un factor de cambio de los niveles de expresión. En algunas realizaciones, el nivel de umbral puede seleccionarse para que el programa informático lo determine automáticamente. En algunas realizaciones, el nivel de umbral se establece para que esté por encima del valor inicial, pero para que sea lo suficientemente bajo como para que esté dentro de la región de crecimiento exponencial de una curva de amplificación.

Los niveles de los biomarcadores de proteínas proporcionados en el presente documento pueden detectarse o cuantificarse mediante cualquier método conocido en la materia. En ciertas realizaciones, se utilizan métodos basados en anticuerpos. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es inmunotransferencia (transferencia Western), un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunohistoquímica, citometría de flujo, una matriz de perlas citométricas o espectroscopía de masas.

En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es inmunotransferencia (transferencia Western). En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es un ELISA directo. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es un ELISA indirecto. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es un ELISA de tipo sándwich. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es inmunohistoquímica. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es citometría de flujo. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es una matriz de perlas citométricas. En ciertas realizaciones, el método de detección o cuantificación es espectroscopía de masas.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que los pacientes que tenían un recuento absoluto de linfocitos (RAL) inicial mayor que  $10 \times 10^3/\mu\text{l}$  mostraban una tendencia en el RAL después del inicio a lo largo del tiempo en comparación con los que tenían un RAL menor que  $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ . Por ejemplo, la tendencia demostró que los pacientes con un RAL inicial más alto presentaban una aparición rápida de actividad clínica en LLC después de la administración del compuesto 292, a una dosis de 25 mg DVD, y por lo tanto era más probable que respondiesen al

tratamiento.

Por consiguiente, en otra realización, en el presente documento se proporciona un método para predecir la capacidad de respuesta de un sujeto a un tratamiento de cáncer con un compuesto de tratamiento que comprende: (1) obtener una muestra de sangre del paciente; y (2) determinar el Recuento Absoluto de Linfocitos (RAL) en la muestra antes de la administración del compuesto de tratamiento, en el que es probable que el paciente responda si el RAL es mayor que aproximadamente  $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ . En otra realización, el compuesto es el Compuesto 292. En el presente documento se desvela un método para tratar cáncer que comprende administrar a un paciente que se ha identificado como un probable respondedor, determinado basándose en el método descrito anteriormente, un compuesto proporcionado en el presente documento.

Sin limitarse a ninguna teoría en particular, se descubrió que un cóctel de citocinas que consistía en CD40L, IL-2 e IL-10, podía imitar señales proliferativas microambientales e inducir la señalización y proliferación de PI3K en células de LLC. En consecuencia, dicho cóctel puede proporcionar una valiosa herramienta para estudiar *in vitro* el comportamiento del cáncer y la detección de compuestos contra el cáncer.

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona un método para inducir la señalización de PI3K en una célula cancerosa *in vitro* que comprende poner en contacto la célula cancerosa con un cóctel de citocinas que consiste en CD40L, IL-2 e IL-10. En otras realizaciones, en el presente documento se proporciona un método para inducir la proliferación de una célula cancerosa *in vitro* que comprende poner en contacto la célula cancerosa con un cóctel de citocinas que consiste en CD40L, IL-2 e IL-10.

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona un método para determinar la actividad anticancerosa de un compuesto de ensayo, que comprende: (a) poner en contacto una célula cancerosa con un cóctel de citocinas que consiste en CD40L, IL-2 e IL-10; (b) determinar el grado de señalización de PI3K y/o proliferación celular; (c) poner en contacto la célula cancerosa tratada con cóctel de citocinas con el compuesto de ensayo; y (d) determinar la señalización de PI3K y/o la proliferación celular, donde la reducción en la señalización de PI3K y/o la proliferación celular determinada en la etapa (d), en comparación con la misma determinada en la etapa (b), es indicativa de la actividad anticancerosa del compuesto de ensayo.

### Kits

En el presente documento también se proporcionan kits útiles para predecir la probabilidad de un tratamiento eficaz contra el cáncer o neoplasia maligna hemática o para comprobar la eficacia de un tratamiento con el compuesto, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, proporcionado en el presente documento.

En una realización, el kit comprende un soporte sólido y un medio para detectar la expresión proteica de al menos un biomarcador en una muestra biológica. Dicho kit puede emplear, por ejemplo, una tira reactiva, una membrana, una microplaca, un disco, una tira de ensayo, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa multipocillo 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 bucal, un tejido gastrointestinal, un órgano, un órgano, 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 ganglio linfático, una biopsia de médula ósea o una muestra de células tumorales de sangre periférica.

En una realización, el kit comprende un soporte sólido, al menos un ácido nucleico puesto en contacto con el soporte, en el que los ácidos nucleicos son complementarios a al menos 20, 50, 100, 200, 350 bases o más de ARNm del biomarcador, y medios para detectar la expresión del ARNm en una muestra biológica.

En ciertas realizaciones, los kits proporcionados en el presente documento emplean medios para detectar la expresión de un biomarcador mediante PCR cuantitativa en tiempo real (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 materia.

En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporciona un kit para detectar los niveles de ARNm de uno o más biomarcadores. En ciertas realizaciones, el kit comprende una o más sondas que se unen específicamente a los ARNm del uno o más biomarcadores. En ciertas realizaciones, el kit comprende además una solución de lavado. En ciertas realizaciones, el kit comprende además reactivos para realizar un ensayo de hibridación, medios de aislamiento o purificación de ARNm, medios de detección, así como controles positivos y negativos. En ciertas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para utilizar el kit. El kit puede adaptarse para utilizarse en el domicilio, en medicina o investigación.

En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporciona un kit para detectar el nivel de proteína de uno o más biomarcadores. En ciertas realizaciones, los kits comprenden una tira reactiva recubierta con un anticuerpo que



reconoce el biomarcador de proteínas, soluciones de lavado, reactivos para realizar el ensayo, medios de aislamiento o purificación de proteínas, medios de detección, así como controles positivos y negativos. En ciertas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para utilizar el kit. El kit puede adaptarse para utilizarse en el domicilio, en medicina o investigación.

Dicho kit puede emplear, por ejemplo, una tira reactiva, una membrana, una microplaca, un disco, una tira de ensayo, un filtro, una microesfera, un portaobjetos, una placa multipocillo 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, un disco o un portaobjetos. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, un cultivo celular, una línea celular, un tejido, un tejido bucal, tejido gastrointestinal, un órgano, un orgánulo, un fluido biológico, una muestra de sangre, una muestra de orina o una muestra de piel.

En el presente documento también se proporcionan kits de dosificación. Los kits incluyen el compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, o una composición del mismo, en un envase adecuado y documentación por escrito. La documentación por escrito puede incluir cualquiera de la siguiente información: instrucciones de uso, comentarios de estudios clínicos, listado de efectos secundarios, referencias de bibliografía científica, el prospecto del envase, resultados de ensayos clínicos y/o resúmenes de estos y otros. La documentación por escrito puede indicar o establecer las actividades y/o ventajas de la composición y/o describir la dosificación, la administración, los efectos secundarios, las interacciones farmacológicas u otra información útil para el personal sanitario. Dicha información puede basarse en los resultados de varios estudios, por ejemplo, estudios que utilizan animales experimentales que implican modelos *in vivo* y/o estudios basados en ensayos clínicos con seres humanos. El kit puede contener además otra terapia (por ejemplo, otro agente) y/o documentación por escrito, tal como la descrita anteriormente, que sirve para proporcionar información sobre la otra terapia (por ejemplo, el otro agente). En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, y el agente, se proporcionan como composiciones individuales en recipientes individuales dentro del kit. En algunas realizaciones, el compuesto proporcionado en el presente documento y el agente, se proporcionan como una sola composición dentro de un recipiente en el kit. En la materia se conocen artículos de envasado y adicionales para su uso (por ejemplo, una taza para medir preparaciones líquidas, una envoltura de papel de aluminio para minimizar la exposición al aire, y artículos similares) y pueden incluirse en el kit. Los kits descritos en el presente documento pueden proporcionarse, comercializarse y/o promocionarse a proveedores de servicios sanitarios, incluidos médicos, personal de enfermería, farmacéuticos, funcionarios de vademécum y similares. En algunas realizaciones, los kits también pueden comercializarse directamente para el consumidor.

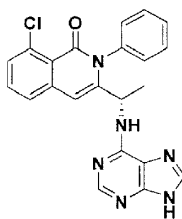
## Ejemplos

### Ejemplo 1: Valores de $CI_{50}$ (concentración inhibidora media) del Compuesto 292

Se determinaron los valores de  $CI_{50}$  del compuesto seleccionado y se proporcionan a continuación. Estos datos demuestran que el compuesto puede servir como un inhibidor de PI3K- $\delta$  y/o PI3K- $\gamma$ .  
Datos de  $CI_{50}$  *in Vitro* del compuesto 292:

- El valor de  $CI_{50}$  (nM) del compuesto 292 para la inhibición de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  fue inferior a 100 nM.
- El valor de  $CI_{50}$  (nM) del compuesto 292 para la inhibición de PI3K- $\alpha$  fue inferior a 10 micromolar.
- El valor de  $CI_{50}$  (nM) del compuesto 292 para la inhibición de PI3K- $\beta$  fue inferior a 1 micromolar.
- El valor de  $CE_{50}$  (concentración eficaz media) del compuesto 292 para la proliferación de linfocitos B fue inferior a 100 nM.

### Estructura



## Compuesto 292

**Ejemplo 2: Ensayos de expresión e inhibición de p110 $\alpha$ /p85 $\alpha$ , p110 $\beta$ /p85 $\alpha$ , p110 $\delta$ /p85 $\alpha$  y p110 $\gamma$** 

5 Las PI3K de clase I pueden adquirirse (p110 $\alpha$ /p85 $\alpha$ , p110 $\beta$ /p85 $\alpha$ , p110 $\delta$ /p85 $\alpha$  en Upstate y p110 $\gamma$  en Sigma) o expresarse como se describió anteriormente (Knight et al., 2004). Los valores de IC<sub>50</sub> se midieron utilizando un ensayo de TLC (por las siglas *thin-layer-chromatography*, cromatografía en capa fina) estándar para determinar actividad de la cinasa lipídica (descrito a continuación) o un ensayo de captura de membrana de alto rendimiento. Las reacciones de cinasa se realizaron preparando una mezcla de reacción que contenía cinasa, un compuesto proporcionado en el presente documento (concentración final de DMSO al 2 %), tampón (HEPES 25 mM, pH 7,4, MgCl<sub>2</sub> 10 mM), y fosfatidilinositol reciente sometido a ultrasonidos (100  $\mu$ g/ml). Las reacciones comenzaron mediante la adición de ATP que contenía 10  $\mu$ Ci de  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-ATP a una concentración final de 10 o 100  $\mu$ M y se dejaron proseguir durante 5 minutos a temperatura ambiente. Después, para el análisis de TLC, las reacciones finalizaron mediante la adición de 105  $\mu$ l de HCl IN seguido de 160  $\mu$ l de CHCl<sub>3</sub>: MeOH (1: 1). La mezcla bifásica se agitó en vórtex, se centrifugó brevemente y la fase orgánica se transfirió a un nuevo tubo utilizando una punta de pipeta de carga de gel recubierta previamente con CHCl<sub>3</sub>. Este extracto se aplicó en placas de TLC y se reveló durante 3 - 4 horas en una solución 65:35 de n-propanol: ácido acético 1M. Las placas de TLC se secaron a continuación, se expusieron a una pantalla de fosforimager (Storm, Amersham) y se cuantificaron. Para cada compuesto, la actividad cinasa se midió a 10-12 concentraciones de compuesto que representan diluciones duplicadas a partir de la concentración más alta ensayada (típicamente, 200  $\mu$ M). Para los compuestos que muestran actividad significativa, las determinaciones de CI<sub>50</sub> se repitieron de dos a cuatro veces, y el valor comunicado fue el promedio de estas mediciones independientes.

Se dispone de otros kits o sistemas comerciales para analizar las actividades de P13K. Los kits o sistemas disponibles en el comercio pueden utilizarse para detectar moduladores, por ejemplo, inhibidores y/o agonistas, de PI3K que incluyen, pero sin limitación, las PI3-cinasas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\gamma$ . Un sistema ejemplar es el ensayo de HTRF™ (ser humano) de Upstate para PI3-cinasas. El ensayo puede llevarse a cabo de acuerdo con los procedimientos sugeridos por el fabricante. Resumiendo, el ensayo es un ensayo FRET resuelto en el tiempo que mide indirectamente el producto PIP3 formado por la actividad de una PI3K. La reacción de cinasa se realiza en una placa de microtitulación (por ejemplo, una placa de microtitulación de 384 pocillos). El volumen de reacción total es de aproximadamente 20  $\mu$ l por pocillo. En la primera etapa, cada pocillo recibe 2  $\mu$ l de compuesto de ensayo en dimetilsulfóxido al 20%, dando como resultado una concentración final de DMSO del 2 %. A continuación, a cada pocillo se le añaden aproximadamente 14,5  $\mu$ l de una mezcla de cinasa/PIP2 (diluida en tampón de reacción IX) para dar una concentración final de 0,25-0,3  $\mu$ g/ml de cinasa y 10  $\mu$ M de PIP2. La placa se sella y se incuba durante 15 minutos a temperatura ambiente. Para comenzar la reacción, a cada pocillo se le añade 3,5  $\mu$ l de ATP (diluido en tampón de reacción IX) para dar una concentración final de 10  $\mu$ M de ATP. La placa se sella y se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se detiene al añadir a cada pocillo 5  $\mu$ l de solución de parada y después a cada pocillo se le añaden 5  $\mu$ l de mezcla de detección. La placa se sella, se incuba durante 1 hora a temperatura ambiente, y después se lee en un lector de placas apropiado. Los datos se analizan y los valores de CI<sub>50</sub> se generan utilizando el programa GraphPad Prism® 5.

**Ejemplo 3: el compuesto 292 inhibe las isoformas PI3K- $\delta$ , PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\beta$  y PI3K- $\alpha$ .**

La actividad inhibidora de PI3K del Compuesto 292 se ensayó en varios ensayos descritos en el presente documento. Los resultados se muestran en la Tabla 5 a continuación, en la que se indica que el Compuesto 292 es un fuerte inhibidor de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ . En estos ensayos, el Compuesto 292 inhibe la actividad de PI3K- $\delta$  a dosis más bajas en comparación con otras PI3K (por ejemplo, al menos una dosis 10 veces menor en comparación con PI3K- $\gamma$ , PI3K- $\beta$  o PI3K- $\alpha$ ).

50 **Tabla 5: Datos de actividad bioquímica y celular del Compuesto 292**

Compuesto 292	PI3K- $\alpha$	PI3K- $\beta$	PI3K- $\delta$	PI3K- $\gamma$
K <sub>i</sub>	> 10.000 pM	1.000 – 10.000 pM	<100 pM	100 – 1.000 pM
CI <sub>50</sub> TLC	1.000 – 10.000 nM	10 - 1000 nM	<10 nM	10 – 1.000 nM
CI <sub>50</sub> celular	1.000 – 10.000 nM	10 - 1000 nM	<10 nM	10 – 1.000 nM

**Ejemplo 4: actividad celular funcional del compuesto 292**

Se evaluaron las actividades celulares funcionales del Compuesto 292. Los resultados se muestran en la Tabla 6 a continuación. El compuesto 292 suprimió la proliferación de linfocitos B murinos y la proliferación de linfocitos B humanos a concentraciones subnanomolares, con una CE<sub>50</sub> de 0,5 nM. El compuesto 292 suprimió la proliferación de linfocitos T humanos a concentraciones nanomolares, con una CE<sub>50</sub> de 9,5 nM.

Para determinar la actividad de la isoforma de PI3K- $\delta$  *in vitro*, el Compuesto 292 se evaluó en ensayos basados en células selectivas de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ . Para evaluar la capacidad de inhibir la isoforma PI3K- $\delta$ , la fosforilación de AKT (T308) se midió mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en células RAJI estimuladas con

anticuerpos anti-IgM, una línea celular de linfoma de Burkitt humano, en presencia o ausencia del Compuesto 292. El Compuesto 292 inhibió con fuerza la fosforilación de AKT con un valor  $CI_{50}$  de 2,0 nM. Para evaluar la capacidad para inhibir la isoforma PI3K- $\gamma$ , la línea celular similar a macrófagos murinos, RAW 264.7, se estimuló con C5a, y se midió el nivel de fosforilación de AKT (T308) mediante ensayo ELISA. El compuesto 292 inhibió a PI3K- $\gamma$  en células RAW 264.7 activadas con C5a con un valor  $CI_{50}$  de 44,0 nM. El compuesto 292 es un fuerte inhibidor tanto de PI3K- $\delta$  como de PI3K- $\gamma$  en ensayos basados en células selectivas de isoforma.

**Tabla 6: Actividad celular funcional del compuesto 292**

Actividad Celular Funcional	$CE_{50}$
Proliferación de linfocitos B murinos	<5 nM
Proliferación de linfocitos B humanos	<5 nM
Proliferación de linfocitos T humanos	5 - 10 nM
Ensayo selectivo de PI3K- $\delta$ (células RAJI, línea celular de linfoma humano)	<5 nM
Ensayo selectivo de PI3K- $\gamma$ (RAW 264.7, línea celular similar a macrófagos murinos)	10 - 100 nM
Anti- Fc $\epsilon$ R1 BAT (delta)	10 - 100 nM

En un ensayo ejemplar analizado, el Compuesto 292 inhibió con fuerza la activación de basófilos específicos de PI3K- $\delta$  en sangre entera humana con una  $CI_{50}$  de 78 nM.

#### **Ejemplo 5: Estudios de Farmacología de Seguridad del Compuesto 292**

##### **15 Ensayo de hERG *in vitro***

Los efectos *in vitro* del Compuesto 292 en la corriente del canal de hERG fueron examinados como un sustituto para  $I_{Kr}$ , la corriente de potasio cardíaca rectificadora de activación rápida y retardada. El compuesto 292 inhibió la corriente de hERG en un 11,9 % a 10  $\mu$ M, 33,2 % a 30  $\mu$ M, 71,1 % a 100  $\mu$ M y 92,8 % a 300  $\mu$ M en comparación con el 0,9 % en el control del vehículo. El valor de  $CI_{50}$  para el efecto inhibitor del Compuesto 292 sobre la corriente de potasio de hERG fue de 49,8  $\mu$ M (coeficiente de Hill = 1,3).

El compuesto 292 estaba muy unido *in vitro* a los componentes del plasma de todas las especies analizadas, incluidas la rata, el mono y el ser humano. En plasma de rata, mono y ser humano, el Compuesto 292 se unió a un 85,8, 76,8 y 85,9 % de proteína, respectivamente, a 100  $\mu$ M (41700 ng/ml). El ensayo de hERG se realizó en una solución sin proteínas. Por lo tanto, basándose en las fracciones libres, el valor de  $CI_{50}$  de 49,8  $\mu$ M (20800 ng/ml) para el Compuesto 292 no unido, equivaldría a concentraciones plasmáticas totales de 351  $\mu$ M (14 6200 ng/ml), 215  $\mu$ M (89 500 ng/ml) y 353  $\mu$ M (147 200 ng/ml) en rata, mono y ser humano, respectivamente. Estas altas concentraciones sugieren un potencial muy bajo para la prolongación del intervalo QT en seres humanos.

##### **Estudio neurofuncional en ratas Sprague-Dawley**

Este estudio se realizó para evaluar los posibles efectos del Compuesto 292 sobre el sistema nervioso central después de una sola administración oral en ratas macho. Durante este estudio, se realizó una prueba de Batería de Observación Funcional (BOF) y una evaluación de la actividad motora previa a la dosis y 2, 6 y 24 h después de la administración del Compuesto 292.

El compuesto 292, administrado a ratas macho como una sola dosis oral de hasta 350 mg/kg, no provocó cambios en los parámetros BOF cualitativos o cuantitativos hasta 24 horas después de la dosis. Se observaron disminuciones significativas en la actividad locomotora en animales evaluados 2 h después de una dosis de 350 mg/kg. Sin embargo, dado que no se observaron efectos simultáneos sobre la actividad locomotora o la activación neurológica en el ámbito BOF en el mismo período de tiempo, no se pudo confirmar un efecto definitivo del Compuesto 292 en estos intervalos de evaluación. A niveles de dosis  $\leq$ 50 mg/kg no se observaron efectos sobre el sistema nervioso central.

##### **Estudio respiratorio en ratas Sprague-Dawley**

Este estudio se realizó para evaluar los posibles efectos del Compuesto 292 sobre el sistema respiratorio después de una sola administración oral en ratas macho. Durante este estudio, los animales se colocaron en pletismógrafos con la "cabeza afuera" y los parámetros respiratorios (volumen corriente, frecuencia respiratoria y volumen respiratorio por minuto derivado) se midieron durante un período de aproximadamente 30 minutos antes de la dosis, de forma continua de 1 a 3 horas después de la dosis y durante intervalos de 30 minutos a las 6 y 24 h después de la dosis.

Una sola administración oral del Compuesto 292 a niveles de dosis de hasta 350 mg/kg, no produjo efectos relacionados con el Compuesto 292 en parámetros respiratorios, entre los que se incluyen la frecuencia respiratoria, el volumen corriente y el volumen respiratorio por minuto.

**Estudio cardiovascular en mono cinomolgo conectado a un instrumento**

5 Este estudio se realizó para evaluar los posibles efectos del Compuesto 292 sobre los parámetros hemodinámicos y electrocardiográficos después de una sola administración oral a monos cinomolgos a través de telemetría. Durante la realización de este estudio, se utilizaron cuatro monos macho, no vírgenes, que llevaban implantado un transmisor radiotelemétrico.

10 No se observaron efectos relacionados con el Compuesto 292 sobre los parámetros hemodinámicos o electrocardiográficos (presión arterial (sistólica, diastólica, media y presión de pulso), frecuencia cardíaca e intervalos electrocardiográficos cuantitativos (PR, QRS, QT y QTc)) después de una sola dosis oral de 5, 30 y 150 mg/kg en monos cinomolgo macho. Además, no se observaron anomalías en la forma de onda o arritmias relacionadas con la administración del Compuesto 292 hasta 150 mg/kg.

**Ejemplo 6: farmacocinética del compuesto 292 en animales**

15 La absorción y la farmacocinética del Compuesto 292 se investigaron en estudios de biodisponibilidad absoluta en ratones, ratas, perros y monos. Los resultados de estos estudios de biodisponibilidad se resumen en la Tabla 7. Los datos demuestran que cuando el Compuesto 292 se administró como una formulación en suspensión con valores de biodisponibilidad oral de 57%, 40%, 40% y 7% en ratas, monos, perros y ratones, respectivamente, se absorbió  
20 fácilmente en la mayoría de las especies de ensayo no clínicas. La semivida del Compuesto 292 fue de 5 horas en monos, 2 horas en perros y menor de 2 horas en ratas y ratones. El compuesto 292 alcanzó un alto volumen de distribución y mostró un aclaramiento de bajo a moderado en mono y rata. La unión del Compuesto 292 a proteínas plasmáticas resultó ser dependiente de la concentración y de la especie. El porcentaje del compuesto 292 libre en plasma de rata y mono fue sistemáticamente más alto que en el plasma humano a todas las concentraciones  
25 ensayadas. La distribución del Compuesto 292 en tejidos de rata fue rápida y extensa debido a que la proporción de sangre con respecto a tejido era mayor que 1 para la mayoría de los tejidos. La eliminación del compuesto 292 radiomarcado de los tejidos, también fue rápida con una mayoría de tejidos sin niveles cuantificables de radioactividad a las 24 horas.

**Tabla 7: Parámetros farmacocinéticos del compuesto 292 en ratones BALB/c, ratas Sprague-Dawley, perros Beagle y monos cinomolgo, después de administración por vía intravenosa (IV) y vía oral (VO)**

Especie (Número de informe)	Cantidad de animales/sexo	Vía	Dosis (mg/kg)	C <sub>máx</sub> (ng/ml)	T <sub>máx</sub> (h)	ABC <sub>0-último</sub> (ng <sup>h</sup> /ml)	ABC <sub>0-inf.</sub> (ng <sup>h</sup> /ml)	T <sub>1/2</sub> (h)	Cl (l/h/kg)	V <sub>ss</sub> (l/kg)	F <sub>oral</sub> (%)
Ratón	27/M	IVc	10	5563	0,08 3	1900	1903	0,2 2	5,25	1,14	---
	27/M	VOd	10	390	0,08 3	136,8	NC	NC	---	---	7i
Rata	3/M	IVc	2	1519	0,08 3	1153	1157	0,7 3	1,83	1,66	---
	3/M	VOd	10	785	1,2	2929	3298	2,4	---	---	57
Perro	3/M	IVe	0,5	4413 a	NC	11738 b	11921	2	0,051	0,13	---
	3/M	VOF	5	9597	3,00	10506 8b	10706 2	3,9	---	---	97g <sup>i</sup>
Perro	3/M	IVe	1	1804 a	NC	5875b	6268	1,8 3	0,194	0,49 3	---
	3/M	VOF	5	2367	1,33	10942 b	13805	3,1 5	---	---	40h i
Macaco	4/(2M, 2H)	IVc	1	1545	0,08 3	2357	2379	5,0	0,43	1,27	---
	4/(2M, 2H)	VOd	5	1327	1,5	4596	4685	5,4	---	---	40

--- = no aplicable  
 NC = no calculado  
 a. El valor comunicado es C<sub>0</sub>  
 b. ABC<sub>0-24</sub>  
 c. Formulación IV (ratón, rata, mono) = NMP 5 %, Solutol® HS 15 10 %, PEG400 30 %, agua 55 % con dextrosa 3 %  
 d. Formulación VO (ratón, rata, mono) = CMC de baja viscosidad 0,5 % (p/v) y TWEEN® 80 0,05 % (v/v) en agua ultrapura  
 e. Formulación IV (perro) = HCl 0,1 N 5 %, PEG400 5 % en (2-hidroxi)propil-β-ciclodextrina 10 % o IN HCl 2,5 %, PEG400 20 % en PBS  
 f. Formulación VO (perro) = NMP 5 %, PEG400 60 % y solución acuosa 35 % (ADME-11-008) o NMP 5 % y suspensión acuosa 95 % (ADME-11-009)  
 g. F<sub>oral</sub> calculada utilizando como referencia una dosis IV de 0,5 mg/kg  
 h. F<sub>oral</sub> calculada utilizando como referencia una dosis IV de 1 mg/kg  
 i. F<sub>oral</sub> calculada utilizando el ABC<sub>0-último</sub>

Utilizando monocapas de células Caco-2 se evaluó la permeabilidad de la membrana y la interacción del Compuesto 292 con la glucoproteína-P humana *in vitro*. Se determinó que el Compuesto 292 tenía permeabilidad moderada de la membrana celular, que era un sustrato de gp-P y que tenía el potencial de inhibir el transporte activo de otros sustratos de gp-P.

5

#### Ejemplo 7: Toxicología del Compuesto 292 en animales

Se realizó un estudio de toxicidad de una sola dosis para determinar la dosis máxima tolerada (DMT) después de una dosis oral única y la posible toxicidad después de dosis orales repetidas de 7 días del Compuesto 292 en monos. Se determinó que la DMT después de una dosis oral única del Compuesto 292 en monos era de 500 mg/kg.

10

Se llevaron a cabo estudios de seguridad no clínicos de dosis repetidas de 4 y 13 semanas, en los que las ratas y los monos cinomolgo recibieron dosis diarias del Compuesto 292 por sonda oral. El nivel de concentración sin efecto adverso observado (NOAEL, por las siglas del inglés *non-observed adverse effect level*) en el estudio de 13 semanas en ratas fue de 25 mg/kg/día (150 mg/m<sup>2</sup>/día) y el NOAEL en el estudio de 13 semanas en monos fue de 5 mg/kg/día (60 mg/m<sup>2</sup>/día). El día 91, los valores promedio del ABC<sub>0-24</sub> para los sexos combinados en los NOAEL fueron 14150 ng\*h/ml en la rata y 4015 ng\*h/ml en el mono. En función de los datos farmacocinéticos del estudio clínico en sujetos sanos, la exposición en seres humanos después de dosis orales repetidas de 5 mg DVD del Compuesto 292 (promedio del ABC<sub>0-24</sub>horas = 2582 ng\*h/ml después de 14 días de dosificación por vía oral) es menor que la exposición en el NOAEL de rata o de mono.

15

20

No hubo toxicidad genética asociada con el Compuesto 292 en los estudios de toxicidad genética realizados *in vitro*, y el Compuesto 292 no tuvo ningún efecto adverso directo en el ensayo de micronúcleos de rata realizado *in vivo*. Se evaluó la toxicidad para la reproducción del Compuesto 292 en estudios de toxicidad para el desarrollo embrionario/fetal en ratas y conejas. Los NOAEL maternos y fetales del Compuesto 292 en la rata y la coneja fueron de 35 mg/kg/día (210 mg/m<sup>2</sup>/día) y 75 mg/kg/día (900 mg/m<sup>2</sup>/día), respectivamente. El último día de administración, los valores promedio del ABC<sub>0-24</sub>horas en los NOAEL fueron 62200 ng\*h/ml y 66200 ng\*h/ml para las ratas y las conejas preñadas, respectivamente.

25

#### Ejemplo 8: Estudios clínicos en seres humanos

Se realizó un estudio clínico, aleatorizado, con doble ocultación, controlado con placebo, en sujetos adultos sanos con el Compuesto 292. Se inscribieron ciento seis (106) sujetos en total, que incluyeron 36 sujetos en la parte de dosis única ascendente (DUA) (24 con tratamiento activo; 12 con placebo), 48 sujetos en la parte de dosis múltiple ascendente (DMA) (36 con tratamiento activo, 12 con placebo), 6 sujetos en la parte de efecto de la alimentación (EA) (que consiste en la dosificación del Compuesto 292 con partes de alimentación y ayuno secuenciales), y 16 sujetos en la parte IFF (que consiste en períodos de dosificación del Compuesto 292 con y sin ketoconazol). La exposición de todos los sujetos al Compuesto 292 se resume en la Tabla 8.

35

40 **Tabla 8: exposición de los sujetos al compuesto 292 en estudios clínicos de seguridad**

PARTE	Exposición al tratamiento	Duración del tratamiento	Exposición total por sujeto (mg)	Cantidad total de sujetos expuestos
DUA	Placebo DU	1 día	0	12
	1 mg de Compuesto 292 DU	1 día	1	4
	2 mg Compuesto 292 DU	1 día	2	4
	5 mg Compuesto 292 DU	1 día	5	4
	10 mg Compuesto 292 DU	1 día	10	4
	20 mg Compuesto 292 DU	1 día	20	4
	30 mg Compuesto 292 DU	1 día	30	4
DMA	Placebo C12h o C24h	14 días	0	12
	1 mg de Compuesto 292 C12h*	14 días	26	9
	2 mg de Compuesto 292 C12 h*	14 días	52	9
	5 mg de Compuesto 292 C12 h*	14 días	130	9
	10 mg de Compuesto 292 C24h	14 días	140	9
EA	25 mg de Compuesto 292 ayuno-alimento	2 días	50	3
	25 mg de Compuesto 292 ayuno-alimento	2 días	50	3
IFF	10 mg de Compuesto 292 DU	2 días	20	16

DU = dosis única; C12h = una vez cada 12 horas; C24h = una vez cada 24 horas; DUA = dosis única ascendente; DMA = dosis múltiple ascendente; EA = efecto del alimento; IFF = interacción fármaco-fármaco. \*incluye dosificación CD los días 1 y 14.

El compuesto 292 se toleró bien a las dosis evaluadas. No hubo muertes ni acontecimientos adversos graves (AAG). No pareció haber un aumento relacionado con la dosis de AA en el intervalo de dosis única de 1 a 30 mg o en el intervalo de dosis múltiple de 2 a 10 mg al día del Compuesto 292. No se observaron anomalías clínicamente significativas de laboratorio de seguridad o electrocardiograma (ECG) en ningún momento durante el estudio.

Las evaluaciones farmacocinéticas demostraron que el Compuesto 292 se absorbió rápidamente después de la administración oral de dosis únicas y múltiples, observándose la concentración en plasma máxima típicamente 1 hora después de la dosificación. A través de los intervalos de las dosis evaluadas, la exposición al compuesto 292 aumentó proporcionalmente a la dosis. La semivida de eliminación media varió de 6,5 a 11,7 horas después de la dosificación repetida y no dependió del nivel de dosis administrado. La acumulación del compuesto 292 fue menor del doble después de 14 días de administración oral C12 h. En la Tabla 9 a continuación se proporciona un resumen de los parámetros farmacocinéticos del Compuesto 292 de la parte de dosis única. En la Tabla 10 a continuación se proporciona un resumen de los parámetros farmacocinéticos del Compuesto 292 de la parte de dosis múltiple.

**Tabla 9: Resumen de los parámetros FC del Compuesto 292 después de la administración de dosis única (Media, % CV)**

Dosis del Compuesto 292	C <sub>máx.</sub> (ng/ml)	T <sub>máx.</sub> (h)*	ABC <sub>(0-t)</sub> (ng*h/ml)	ABC <sub>(0-24)</sub> (ng*h/ml)	ABC <sub>(0-inf)</sub> (ng*h/ml)	CL/F l/h	Vz/F (l)	T <sub>1/2</sub> (h)
1 mg	43,4 (31)	1,00 (1,00-1,00)	148 (68)	149 (67)	151 (68)	8,39 (42)	38,8 (28)	3,52 (29)
2 mg	78,8 (16)	1,00 (0,50-2,00)	291 (45)	289 (43)	296 (44)	7,69 (37)	57,9 (38)	5,43 (25)
5 mg	246 (16)	1,00 (0,50-1,50)	735 (5)	733 (5)	743 (5)	6,74 (5)	53,0 (15)	5,43 (10)
10 mg	454 (40)	0,50 (0,50-1,50)	905 (15)	891 (14)	914 (14)	11,1 (15)	147 (29)	9,47 (38)
20 mg	997 (32)	1,00 (1,00-1,00)	2243 (16)	2193 (16)	2250 (16)	9,09 (18)	99,1 (46)	7,79 (51)
30 mg	1140 (38)	1,00 (0,50-1,00)	3384 (38)	3263 (38)	3395 (38)	9,73 (33)	113 (31)	8,12 (18)

mediana (intervalo); h = horas

**Tabla 10: Resumen de los parámetros FC del Compuesto 292 después de la administración de dosis múltiples (Media, % CV)**

Régimen de dosis del Compuesto 292	Día	C <sub>máx.</sub> (ng/ml)	T <sub>máx.</sub> (h)*	ABC <sub>(0-tau)</sub> (ng*h/ml)	T <sub>1/2</sub> (h)	lac
1 mg C12h	1	49,1 (26)	0,52 (0,50-1,00)	124 (40)	3,46 (39)	--
	14	66,8 (36)	1,00 (0,50-1,50)	199 (39)	6,46 (20)	1,65 (19)
2 mg C12h	1	101 (31)	1,00 (0,50-2,00)	290 (49)	6,34 (35)	--
	14	140 (36)	1,00 (0,50-2,00)	524 (47)	9,75 (37)	1,83 (22)
5 mg C12h	1	257 (38)	1,00 (0,50-1,50)	774 (41)	5,76 (11)	--
	14	355 (37)	1,00 (0,50-2,02)	1291 (38)	8,32 (35)	1,71 (15)
10 mg C24h	1	553 (27)	0,52 (0,50-1,52)	1527 (37)	6,00 (13)	--
	14	605 (16)	1,00 (0,50-1,55)	2232 (25)	11,7 (82)	1,54 (18)

h = horas, CV = coeficiente de variación, lac = índice de acumulación, \* Mediana (intervalo)

Los datos de la parte del efecto de la alimentación indican que el alimento no altera significativamente la exposición sistémica al Compuesto 292. Cuando se administra en presencia de una comida rica en grasas, la concentración del Compuesto 292 disminuyó aproximadamente un 10 % y la T<sub>máx.</sub> mediana se retrasó de 1 hora (en ayunas) a 3 horas (con alimento). La exposición total, evaluada por el ABC<sub>(0-último)</sub> y ABC<sub>(0-inf)</sub>, aumentó aproximadamente un 9 % en

presencia de una comida rica en grasas.

Los datos de la parte IFF indicaron que la administración concomitante de 200 mg de ketoconazol c12h aumentaba la exposición al Compuesto 292. En promedio, la  $C_{m\acute{a}x}$ , el  $ABC_{0-último}$  y el  $ABC_{0-inf}$  aumentaron aproximadamente un 66 %, 285 % y 295 %, respectivamente, en presencia de ketoconazol en comparación con el Compuesto 292 administrado solo.

Después de las dosis individuales y múltiples del Compuesto 292, se observó una reducción dependiente de la dosis de la activación de los basófilos en todos los niveles de dosis, con una reducción máxima al cabo de 1 hora después de la dosis; no se observó ningún cambio notable después del tratamiento con placebo. El resumen de FC/EP después de la administración de dosis única se muestra en la FIG, 1-3, lo que demuestra que la respuesta de enfermedad progresiva, EP, fue rápida y que se alcanzó la respuesta máxima con una dosis de 5 mg. Se observó una relación entre la reducción de la activación de basófilos y las concentraciones plasmáticas del Compuesto 292, con saturación del efecto a concentraciones plasmáticas del Compuesto 292 superiores.

Se realizaron ECG en serie en múltiples puntos de tiempo después de la dosificación en todos los grupos de estudio. Ningún sujeto tuvo un QTcF mayor de 500 ms en ninguna evaluación, y el cambio más grande desde el valor inicial en QTcF fue de 37 ms.

En general, el Compuesto 292 se toleró bien en sujetos sanos con dosis únicas de hasta 30 mg (dosis más alta ensayada) y de hasta 10 mg de dosis diaria total (dosis más alta ensayada, 5 mg DVD o 10 mg CD) durante 14 días. En sujetos sanos, el perfil FC del Compuesto 292 se caracteriza por una absorción rápida (concentraciones plasmáticas máximas alcanzadas en 0,5-1 hora), eliminación moderadamente rápida (semivida de 3,5 a 9,5 horas después de una dosis única y de 6,5 a 11,7 horas después de una dosificación repetida) y aumentos proporcionales de la dosis en la exposición sistémica ( $C_{m\acute{a}x}$  y ABC). Se observó una acumulación mínima después de la administración de dosis múltiples (índice de acumulación de 1,65-1,83 para la dosificación de DVD y de 1,54 para la dosificación CD). Tras la administración de una sola dosis oral, el aclaramiento varió de 6,7 l/h a 11,1 l/h y el volumen de distribución varió de 38,8 l a 147 l. La excreción del Compuesto 292 sin modificar en la orina fue <2 % de la dosis administrada, lo que indica una eliminación renal mínima del medicamento original. La expresión de CD63 en la superficie de basófilos CCR3+ activados, se redujo de una manera dependiente de la dosis en todos los niveles de dosis únicos y múltiples, con una reducción máxima 1 hora después de la dosis, correspondiente al tiempo máximo de concentraciones plasmáticas del Compuesto 292. La inhibición de la activación de basófilos reflejaba el perfil de concentración-tiempo del Compuesto 292, y la expresión de CD63 volvía a los niveles iniciales a medida que disminuían las concentraciones plasmáticas. La administración de 5 mg DVD mantuvo la inhibición de PI3K- $\delta$  ( $EC_{50}$  = 48 ng/ml) durante todo el intervalo de dosificación de 12 horas. La administración concomitante de una comida rica en grasas y en calorías disminuyó la  $C_{m\acute{a}x}$  aproximadamente un 10 %, cambió la  $T_{m\acute{a}xima}$  mediana de 1 a 3 horas y aumento de la exposición global (ABC) aproximadamente un 8-9 %. Estos datos sugieren que el Compuesto 292 puede administrarse con independencia de las comidas.

Por lo tanto, el Compuesto 292 se absorbió rápidamente después de la administración de dosis únicas y múltiples. La exposición sistémica media ( $C_{m\acute{a}x}$  y ABC) aumentó la dosis proporcionalmente, lo que indica una FC lineal. La semivida ( $t_{1/2}$ ) media de eliminación terminal aparente después de 14 días de la dosificación del Compuesto 292, varió de 6,5 a 11,7 horas. El índice de acumulación (proporción media del ABC del día 14/día 1) fue de 1,54 para la dosificación CD, de 1,65 a 1,83 durante el intervalo de dosis DVD. Después de la administración con una comida rica en grasas y en calorías, el  $ABC_{0-inf}$  aumentó en un 9 %, la  $C_{m\acute{a}x}$  disminuyó en un 10 % y la  $T_{m\acute{a}x}$  mediana cambió de 1 a 3 horas. En función de la magnitud de estos cambios, el Compuesto 292 puede administrarse con independencia de las comidas. Además, se observó una respuesta rápida, evaluada como una reducción en la expresión de CD63+ en basófilos CCR3+ en un ensayo de activación anti-Fc $\epsilon$ R1 *ex vivo* (Figuras 1-3). La respuesta máxima se observó en el momento de las concentraciones plasmáticas máximas, una hora después de la administración de dosis únicas y múltiples. La expresión de CD63+ regresaba al valor inicial a medida que disminuían las concentraciones de fármaco en plasma. Además, el Compuesto 292 fue bien tolerado en todas las dosis estudiadas: dosis únicas de hasta 30 mg y dosis múltiples de hasta 10 mg al día durante 14 días. En sujetos que recibieron dosis múltiples de Compuesto 292 (n = 36) (PLB n = 12) durante 2 semanas, los acontecimientos adversos (AA) más comunes se relacionaron con extracciones de sangre y procedimientos asociados al protocolo. Los AE no procedimentales más comunes que se presentaron en  $\geq 2$  sujetos fueron cefalea (8 % frente a 25 % con PLB), migraña (6 % frente a 8 % con PLB) y nasofaringitis (6 % frente a 0 % con PLB). No se observaron tendencias relacionadas con la dosis en los AA. No se observaron hallazgos clínicos significativos en estudios de laboratorio de seguridad de los ECG. No se observaron aumentos en la IgE relacionados con el Compuesto 292,

#### 60 **Ejemplo 9: Estudios clínicos en neoplasias malignas hemáticas avanzadas**

Se diseñó un estudio de aumento escalonado de la dosis en Fase 1 para evaluar la seguridad, la farmacocinética (FC) y la actividad del Compuesto 292 administrado por vía oral en pacientes con neoplasias malignas hemáticas avanzadas, incluidos linfomas/leucemias de linfocitos T. Las cohortes secuenciales de pacientes se incluyeron en niveles de dosis progresivamente más altos con cohortes de ampliación de pacientes con neoplasias malignas hemáticas seleccionadas. El compuesto 292 se administró por vía oral 2 veces al día (DVD) de manera continuada



en ciclos de 28 días. La respuesta tumoral se evaluó según los criterios estándar específicos de la enfermedad.

En el estudio se inscribió a 20 (o más) pacientes; 5 pacientes con leucemia linfocítica crónica (LLC)/linfoma linfocítico pequeño (LLP), 4 con linfoma no Hodgkin indolente (LNHi), 3 con LNH agresivo de linfocitos B [incluido el linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) n = 2; y síndrome de Richter n = 1], 3 con mieloma múltiple (MM), 2 con linfoma de Hodgkin (LH), 2 con linfoma de linfocitos T [linfoma anaplásico de células grandes (LACG) n = 2] y 1 con linfoma de células del manto (LCM) ) De estos pacientes, 11 eran hombres y 9 mujeres, con una mediana [intervalo] de edad de 63 años [30-81], con un 36 % <6 meses de la terapia sistémica anterior más reciente. La mediana [intervalo] del número de terapias previas fue de 3 [1-8].

Las dosis del compuesto 292 administradas incluyen 8 mg DVD (n = 1), 15 mg DVD (n = 6), 25 mg DVD (n = 7), 35 mg DVD (n = 3) y 50 mg DVD (n = 3). La mediana [intervalo] del número de ciclos de tratamiento fue de 2 [1-8], y 12 (60 %) pacientes continuaron el tratamiento. Se produjeron acontecimientos adversos (AA) en 13 (65 %) pacientes, incluidos 7 (35%) pacientes con AA de Grado > 3. Los AA relacionados con el tratamiento se produjeron en 11 pacientes (55 %) con Grado > 3 en 5 pacientes (25 %). La neutropenia de grado 4 fue la única toxicidad limitante de dosis observada hasta el momento fecha (cohorte de dosis de 15 mg). Las anomalías hemáticas de laboratorio de Nuevo Grado > 3 incluyen neutropenia [n = 6 (30 %)] y trombocitopenia [n = 1 (5 %)]. Se produjeron elevaciones de ALT/AST de grado 3 en 1 (5 %) paciente con MM, apareciendo 6 semanas después del inicio de la dosificación del Compuesto 292.

La FC indicó aumentos proporcionales a la dosis en la  $C_{m\acute{a}x}$  plasmática y el ABC en el intervalo de dosis estudiado. Además, los datos FC y farmacodinámicos (FD) iniciales de las tres primeras cohortes (8 y 25 mg DVD) predijeron supresión continua de la ruta PI3K- $\delta$  con un aumento de la inhibición de la ruta PI3K- $\gamma$  con una dosis de 25 mg o superior administrada DVD.

En los pacientes evaluables (n = 11), se observaron respuestas a los niveles de dosis DVD de 8, 15 y 25 mg, incluidos 2/3 en LLC/LLP (RC 0/RP 2/EE 1), 1/2 en LNHi (RC 1/RP 0/EE 1) y 1/1 en LCM (RP 1). Todos los pacientes con enfermedad estable, EE, al menos después de 2 ciclos (n = 6) permanecieron en tratamiento, incluido el primer paciente dosificado.

Los marcadores FC y FD se evaluaron después de la primera dosis (por ejemplo, 8 mg DVD) y en el estado estacionario. La actividad FD (inhibición de PI3K) en sangre entera se evaluó utilizando un ensayo de activación de basófilos que midió la reducción en la expresión de CD63 en la superficie de los basófilos después de la estimulación *ex vivo*.

Los datos demostraron una rápida absorción del fármaco y una FC proporcional a la dosis. Al igual que ocurría en sujetos sanos, se observó una inhibición máxima de la activación de basófilos 1 hora después de la dosis. Antes de la administración de la dosis al comienzo del Ciclo 2 (es decir, después de 28 días de dosificación DVD), la expresión de CD63 se redujo en un 45 % o más con relación al inicio del tratamiento. Las concentraciones valle medias en estado estacionario se mantuvieron por encima de niveles suficientes para la inhibición de PI3K- $\delta$  después de dosis  $\geq 15$  mg DVD. Se observaron respuestas clínicas.

Por lo tanto, en ambos estudios (en sujetos sanos y en neoplasias malignas hemáticas avanzadas), la absorción del fármaco del Compuesto 292 fue rápida y la exposición fue proporcional a la dosis. La expresión de CD63 en la superficie de basófilos activados se redujo en presencia del Compuesto 292 en sujetos sanos y oncológicos, una observación conforme con la inhibición de PI3K- $\delta$ . Fue evidente una relación entre exposición y respuesta, sugiriendo una respuesta farmacológica dependiente de la concentración al Compuesto 292. Los datos FC/FD del estudio de oncología demostraron la inhibición de la actividad de PI3K- $\delta$  y las dosis más altas sugeridas suprimen progresivamente la actividad de PI3K- $\gamma$ .

En función de la FC/FD y de la actividad observada en pacientes con LLC (por ejemplo, LLC/LLP), LNHi y LCM, una cohorte de ampliación para evaluar adicionalmente la seguridad y la actividad preliminar del Compuesto 292 estaba inscribiendo pacientes en estas enfermedades hemáticas seleccionadas administradas a una dosis de 25 mg DVD. El aumento escalonado de la dosis continuó con un enfoque en pacientes con neoplasias malignas de linfocitos T y LDLBG, donde el aumento de la supresión de la isoforma PI3K- $\gamma$  puede mejorar el perfil de eficacia.

Para definir mejor la actividad específica de la enfermedad, pueden abrirse cohortes de ampliación adicionales en el linfoma de linfocitos T, LDLBG, neoplasias mieloproliferativas, leucemias agudas, LNH de linfocitos T/agresivo y LLC/LNHi/LCM.

Por lo tanto, el Compuesto 292, un fuerte inhibidor o modulador de PI3K- $\delta$ , es bien tolerado a dosis que varían de 8 mg DVD a 50 mg DVD y ha mostrado actividad clínica en pacientes con LNHi, LCM y LLC. Una dosis de 25 mg dos veces al día inhibe eficazmente la PI3K- $\delta$ , lo que proporciona una justificación para la ampliación en LLC/LNHi/LCM.

**Ejemplo 10: Estudios clínicos en neoplasias malignas hemáticas: datos adicionales**

5 Tanto PI3K- $\delta$  como PI3K- $\gamma$  participan en la señalización de leucocitos y en la función de linfocitos B, linfocitos T y células mieloides, incluida la diferenciación, activación, proliferación y migración. PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  dan soporte al crecimiento y supervivencia de ciertas neoplasias malignas de linfocitos B y T. Como se ilustra en el presente documento, (por ejemplo, en la Tabla 11), el Compuesto 292 es un fuerte inhibidor oral de las isoformas PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ .

**Tabla 11: Resumen de las Actividades del Compuesto 292 In Vitro**

Isoformas de PI3K *	PI3K- $\delta$	PI3K- $\gamma$	PI3K- $\alpha$	PI3K- $\beta$
Expresión	Principalmente en leucocitos	Principalmente en leucocitos	Ubicua	Ubicua
Papel	Activación y función de linfocitos B Activación y función de linfocitos T	Función inmunitaria innata Transporte de células inmunitarias	Activación de plaquetas Señalización de insulina	Señalización de insulina Angiogénesis
Ensayo de inhibición celular específico de isoforma pAKT (CI <sub>50</sub> )	1 nM	43 nM	171 nM	1547 nM
Actividad bioquímica (K <sub>D</sub> )	23 pM	243 pM	1564 pM	25900 pM
Ensayo de sangre completa (CI50) (Donantes Sanos)	Anti-Fc $\epsilon$ K1 69 nM	fMLP 1200 nM	plaquetas 4700 nM	-
* PI3K- $\alpha$ y PI3K- $\beta$ (expresión ubicua) no mostradas.				

10 En un estudio en Fase I realizado con sujetos sanos, dosis únicas y múltiples de Compuesto 292 fueron bien toleradas con una farmacocinética proporcional a la dosis con 5 mg dos veces al día y una t<sub>1/2</sub> de 6,5 a 11,7 horas y una respuesta farmacodinámica (anti-Fc $\epsilon$ R1) reflejada en concentraciones plasmáticas, con efectos máximos observados en el momento de las concentraciones plasmáticas máximas (por ejemplo, Figuras 1-3),

15 **Diseño del estudio:** Un estudio clínico del Compuesto 292 es un estudio abierto en fase I, en el que se inscriben de 1 a 6 pacientes adultos por nivel de dosis con neoplasias malignas hemáticas a niveles de dosis progresivamente más altos. La dosificación fue por vía oral, dos veces al día (DVD), en un ciclo de 28 días. Los objetivos principales fueron determinar la seguridad y la DMT del Compuesto 292. Los criterios de valoración incluyeron seguridad, eficacia, farmacocinética (FC) y farmacodinámica (FD). Las cohortes de ampliación de neoplasias malignas hemáticas seleccionadas se permiten a  $\leq$  DMT en función de la FC/FD/actividad clínica para la inhibición de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ .  
 20 Los criterios de inclusión clave incluyeron: (1) el avance durante la terapia, ser refractario, intolerantes o inelegibles para la terapia establecida, o tener una enfermedad sin terapia establecida; (2) función hepática y renal adecuada ( $\leq$  Grado 1); (3) función hematopoyética adecuada (fase de aumento escalonado solamente) con una CAN (cifra absoluta de neutrófilos) inicial  $\geq$  750 células/ $\mu$ l, plaquetas  $\geq$ 75K/ $\mu$ l y hemoglobina  $>$  8,0 g/dl; (4) sin tratamiento previo con un inhibidor de PI3K (fase de aumento escalonado) o a las 4 semanas de la primera dosis de Compuesto 292 (fase de ampliación). El estudio de aumento escalonado de la dosis incluyó las siguientes dosis: 8 mg dos veces al día, 15 mg dos veces al día, 25 mg dos veces al día, 35 mg dos veces al día, 50 mg dos veces al día, 60 mg DVD, 75 mg DVD y 100 mg DVD (inscripción). Las ampliaciones de cohortes a  $\leq$  DMT se realizan en neoplasias malignas hemáticas tales como linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfomas de linfocitos T, leucemia linfocítica aguda, neoplasias mieloproliferativas, LLC / LLP, LNHi y LCM (por ejemplo, se realizó una ampliación de 25 mg DVD, en LLC / LLP, LNHi y LCM). Las toxicidades limitantes de la dosis (TLD) durante el Ciclo 1, utilizadas para determinar la DMT, incluyen (1) muerte; (2) toxicidad hemática de Grado  $\geq$  4 que dura  $>$  de 7 días, o neutropenia febril de Grado 3, trombocitopenia de Grado 3 con hemorragia de Grado  $\geq$  2 o trombocitopenia de Grado 4 de cualquier duración que requiera transfusión; (3) diarrea de Grado 3 o náuseas que duren  $\geq$  24 horas, a pesar del tratamiento médico, o cualquier otra toxicidad no hemática de Grado 3 de cualquier duración,  
 35

En las Tablas 12 y 13 se resumen los datos demográficos y la disposición de los pacientes. Después del aumento escalonado de la dosis a 75 mg DVD, aún no se había alcanzado la DMT y el aumento escalonado de la dosis continuaba. Hubo tres interrupciones debido a acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento: (1) neumonía de Grado 3 (15 mg DVD); (2) elevación de ALT de Grado 4 (25 mg DVD); (3) el Grado de AA y la etiología no comunicada en datos de valor de corte (25 mg DVD).,  
 40

**Tabla 12: Datos demográficos de los pacientes**

Pacientes evaluables (seguridad), n	55 (28 aumento escalonado, 27 ampliación a 25 mg DVD)
Pacientes evaluables (eficacia), n	41 (24 aumento escalonado, 17 ampliación a 25 mg DVD)
Mediana de edad, años (intervalo)	67 (30-86)

Mujeres, n (%)	19 (35%)	
Diagnóstico*	17 LNHi	4 LCM
	16 LLC / LLP	3 MM
	7 Linfoma de linfocitos T	3 LH
	5 linfoma no Hodgkin agresivo (LNHa) de linfocitos B	
Puntuación ECOG 0-1 (%)	51 (93%)	
Linfoma de riesgo malo/alto (IPI / FLIPI / MIPI), n (%)	13 de 24 (54%)	
Terapias sistémicas previas, mediana (intervalo)	4 (1-13)	
Pacientes con ≥ 3 terapias sistémicas previas	39 (72%)	
Meses desde la última terapia hasta la primera dosis del Compuesto 292, n (%)	<6 meses	≥ 6 meses
	30 (58%)	22 (42%)

\* LNHi (linfoma no Hodgkin indolente), LCM (linfoma de células del manto), LLC / LLP (leucemia linfocítica crónica / linfoma linfocítico pequeño), MM (mieloma múltiple), LH (linfoma de Hodgkin)

**Tabla 13: Disposición de los pacientes**

Dosis del Compuesto 292	Pacientes (n)	Disposición
8 mg DVD	1	1 en estudio
15 mg DVD	6	2 en estudio / 4 fuera del estudio (3 EP / 1 AA)
25 mg DVD	7	5 en estudio / 2 fuera del estudio (EP)
25 mg DVD (ampliación)	27	21 en estudio / 6 fuera de estudio (3 EP, 2 AA, 1 inadmisible)
35 mg BID	3	3 fuera del estudio (2 EP, 1 retiró el consentimiento)
50 mg DVD	3	1 en estudio / 2 fuera del estudio (1 EP / 1 RC → autotrasplante)
60 mg DVD	3	3 en estudio
75 mg DVD	5	4 en estudio / 1 fuera de estudio (EP)
Total*	55	37 en estudio / 18 fuera de estudio (12 EP)

5 En las Figuras 4 y 5 se resumen los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos. El compuesto 292 se absorbió rápidamente con un perfil FC lineal hasta 50 mg DVD (la  $t_{1/2}$  de eliminación fue de 6 a 10 horas). Los datos mostraron que la inhibición completa de PI3K- $\delta$  puede lograrse con dosis de 15 mg o mayores, administradas DVD; y las dosis de 25 mg o mayores administradas DVD suprimen progresivamente la PI3K- $\gamma$  (Figura 4). Además, se observó una inhibición rápida y sostenida de la fosforilación de AKT por el Compuesto 292 en células de pacientes con LLC/LLP mediante citometría de flujo después de una dosis (25 mg) (Figura 5). Estos resultados FC/FD  
10 respaldaron una cohorte de ampliación a 25 mg DVD para evaluar la tolerabilidad y actividad del Compuesto 292 en neoplasias malignas hemáticas seleccionadas.

15 Los datos de eficacia clínica del Compuesto 292 en neoplasias malignas de linfocitos B y T se resumen en la Tabla 14 y el cambio máximo en cuanto al tamaño del tumor en el tratamiento con el Compuesto 292 se muestra en la Figura 6. Se observó reducción en la masa tumoral en todas las indicaciones y en todos los niveles de las dosis evaluadas. En la Figura 6 se muestran los pacientes con enfermedad medible mediante tomografía computarizada y con ≥ 1 evaluación de la TC durante el tratamiento, incluidos los pacientes (n = 2) que no han tenido una evaluación de respuesta. Los pacientes fuera de estudio con EP antes de la primera evaluación por tomografía computarizada (n = 2) o enfermedad no evaluada por TC (n = 4) no se muestran en la figura,  
20

**Tabla 14: Respuesta clínica en neoplasias malignas hemáticas de linfocitos B y T**

Población	Pacientes (n)		Mejor respuesta observada (n) <sup>a</sup>				Tiempo medio de respuesta en meses (intervalo)
	Tratados	Evaluables <sup>b</sup>	RC	PP	EE	EP	
LNHi	17	13	1	7	4	1	1,8 (1,7, 2,8)
LLC / LLP	16	11	0	6	4 <sup>c</sup>	1	2,9 (1,8, 5,6)
Linfoma de linfocitos T	7	6	1	1	1	3	2,4 (1,8, 3,1)
LNHa	5	3	0	0	1	2	N / A
LCM	4	3	0	2	0	1	1,9 (1,9, 1,9)
MM	3	3	0	0	1	2	N / A
LH	3	2	1	0	0	1	1,7 (1,7, 1,7)

a. Respuestas: Respuesta Completa (RC), Respuesta Parcial (RP), Enfermedad Estable (EE), Enfermedad Progresiva (EP).  
b. Al menos una evaluación de respuesta o enfermedad progresiva (EP).  
c. Cuatro respuestas ganglionares

25 Se observó un inicio rápido de la actividad clínica del Compuesto 292 en LLC / LLP (Figura 7). Se observó actividad clínica del Compuesto 292 en linfoma de linfocitos T (Figura 8), con evaluación de primera respuesta después de 2 ciclos de terapia con el Compuesto 292: 1 respuesta completa (RC), 1 respuesta parcial (RP), 1 enfermedad estable

(EE), 3 enfermedad progresiva (EP) (y 1 estado desconocido). Cuatro pacientes permanecieron en el estudio. Además, un paciente de 72 años con linfoma de linfocitos T asociado a enteropatía, demostró resolución completa de metástasis pulmonar (flechas blancas), como se muestra mediante tomografía por emisión de positrones (TEP)/Tomografía computarizada (TC), después de 2 ciclos de Compuesto 292 (60 mg DVD) (Figura 9).

Asimismo, entre los sujetos que tenían linfoma de linfocitos T, se encontró que el Compuesto 292 tenía eficacia en el tratamiento del linfoma periférico de linfocitos T (LPLT) y del linfoma cutáneo de linfocitos T (LCLT), como se muestra en la Tabla 15 a continuación:

**Tabla 15: Respuestas clínicas en LLT**

Población	Pacientes (n) T / E *	Mejor respuesta observada (n)				Tiempo medio de respuesta en meses (intervalo)
		RC	RP	EE	EP	
LLC total	17/9	1	2	2	4	1,9 (1,7-2,7)
LPLT	7/5	1	1	0	3	2,3 (1,9-2,7)
LCLT	10/4	0	1	2	1	1,7 (--)

\* Tratado/evaluado (evaluado = al menos 1 evaluación de la respuesta o EP antes de la evaluación de la respuesta a C3D1)  
 Respuesta Completa (RC), Respuesta Parcial (RP), Enfermedad Estable (EE), Enfermedad Progresiva (EP).

Los cambios porcentuales en la enfermedad medible evaluados por tomografías computarizadas después de la administración del Compuesto 292 a las dosis especificadas (todas administradas dos veces al día, DVD) se ilustran en la Figura 10. Como se muestra en la figura, el 33% de los pacientes (2 LPLT y 1 LCLT) mostraron una respuesta tumoral de al menos 50 %.

Las respuestas clínicas observadas en diversos pacientes con linfoma de linfocitos B se resumen en la Tabla 16 a continuación:

**Tabla 16: Respuestas clínicas en LLB**

Población	Pacientes (n) T / E *	Mejor respuesta observada, n (%)						Tiempo medio de Respuesta en meses (intervalo)
		Global	RC	RP	RM	EE	EP	
LNHi	26/19	13 (68)	3 (16)	10 (53)	1 (5)	3 (16)	2 (11)	1,8 (1,7-4,1)
LCM	9/6	4 (67)	1 (17)	3 (50)	N / A	1 (17)	1 (17)	1,8 (1,6-1,9)
LH	3/3	1 (33)	1 (33)	0	N / A	1 (33)	1 (33)	1,7
LNHa	13/10	0	0	0	N / A	4 (40)	6 (60)	N / A

\* Tratado / Evaluado  
 RC = Respuesta Completa; RP = Respuesta Parcial; MR = Respuesta Minoritaria para macroglobulinemia de Waldenstrom; EE = Enfermedad Estable; EP = Enfermedad Progresiva  
 El LNHi incluyó 11 linfomas foliculares, 2 macroglobulinemias de Waldenstrom, 1 linfoma de zona marginal (LZM) y 12 LNHi

Como puede observarse en líneas anteriores, se observaron respuestas (incluyendo RC) en linfomas indolentes, del manto y de Hodgkin. Las respuestas se produjeron temprano en 16 de los 18 pacientes respondedores (89 %) en la primera evaluación, en aproximadamente 2 meses. Los cambios porcentuales en la enfermedad medible evaluada por tomografías computarizadas para pacientes con LCM, LH y LNH se proporcionan en la Figura 11, y los de pacientes con LNHi (incluido el linfoma folicular, macroglobulinemia de Waldenstrom y LZM) se proporcionan en la Figura 12,

Los datos de seguridad clínica para el Compuesto 292 se resumen en las Tablas 17 y 18. No se observaron tendencias relacionadas con la dosis en AA de Grado 3 o Grado 4 relacionados. Las toxicidades limitantes de la dosis, TLD, incluyeron neutropenia de Grado 4 (15 mg DVD) y celulitis de Grado 3 (infección de heridas, 75 mg DVD).

**Tabla 17: Seguridad del Compuesto 292,**

Resultados de seguridad del sujeto	25 mg DVD (n = 34)	Población de seguridad (n = 55)
Muertes en estudio, n (%) *	0 (0%)	3 (5 %)
AA que conduce a la interrupción, n (%)	2 (6 %)	3 (5 %)

Resultados de seguridad del sujeto	25 mg DVD (n = 34)	Población de seguridad (n = 55)
AAG, n (%)	4 (12 %)	11 (20 %)
AAG relacionado, n (%)	1 (3 %)	4 (7 %)
Todos los AAG infecciosos, n (%)	1 (3 %)	3 (5 %)
Cualquier AE	27 (79 %)	46 (84 %)
Grado 3/4 (% /%)	7 / 5 (21 % / 15 %)	18/8 (33 % / 15 %)
AA relacionado	18 (53 %)	31 (56 %)
Grado relacionado 3/4 (% /%)	4 / 4 (12 % / 12 %)	14 / 6 (25 % / 11 %)
CAN Nuevo Grado 3/4 (% /%)	2 / 4 (6 % / 12 %)	10 / 5 (18 % / 9 %)
Dosis reducida, n (%)	2 (6%)	5 (9 %)
ALT Nuevo Grado 3/4 (% /%)	3 / 1 (9 % / 3 %)	5 / 2 (9 % / 4 %)
Dosis reducida, n (%)	3 (9 %)	6 (11 %)

\* Causa de la muerte: todas debidas a la progresión de la enfermedad,

**Tabla 18: Seguridad del Compuesto 292,**

Grado 3 y 4 AA relacionados	Compuesto 292 Dosis DVD (n)						
	8 mg (n = 1)	15 mg (n = 6)	25 mg (n = 34)	35 mg (n = 3)	50 mg (n = 3)	60 mg (n = 3)	75 mg (n = 5)
Neutropenia	1	3	3	1	0	0	0
Neutropenia febril	1	0	0	0	0	0	0
Anemia	0	1	0	0	0	0	0
Trombocitopenia	0	1	0	0	0	0	0
Aumento de ALT/AST	0	1	3	0	0	1	1
Erupción (general)	0	0	0	0	1	0	1
Celulitis	0	0	0	0	0	0	1
Neumonía	0	1	0	0	0	0	0
Lisis tumoral/Hiperpotasiemia	0	0	1	0	0	0	0
Náuseas	0	1	0	0	0	0	0
Deshidratación	0	0	1	0	0	0	0
Inflamación de la mucosa	0	0	1	0	0	0	0
Hipofosfatemia	0	0	1	0	0	0	0

5 La figura 13 muestra los meses de estudio por sujeto y el diagnóstico. Un análisis temprano del tiempo de estudio (mediana de 2,2 meses) mostró que el 67 % de todos los pacientes permanecieron en el estudio. El 90 % (n = 26) de los pacientes sin EP (enfermedad progresiva) después de 2 ciclos de tratamiento con el compuesto 292 permaneció en el estudio.

10 En resumen, el Compuesto 292 es un fuerte inhibidor oral de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  y es bien tolerado y clínicamente activo en pacientes con neoplasias malignas hemáticas avanzadas. Se examinaron dosis de hasta 75 mg DVD; se investigó el aumento escalonado de la dosis del agente único compuesto 292. El perfil FC que indicó inhibición completa de PI3K- $\delta$  puede lograrse con  $\geq 15$  mg DVD para el Compuesto 292 y dosis  $\geq 25$  mg DVD suprimen progresivamente la PI3K- $\gamma$ . Las cohortes de ampliación en neoplasias malignas seleccionadas se llevan a cabo en o por debajo de la DMT. Los AAG estaban en consonancia con las comorbilidades observadas en pacientes con oncológica hemática avanzada. Los AA más comunes relacionados con el Grado 3 o Grado 4 fueron citopenias y elevaciones de ALT/AST. En general, estos AA no se relacionaron con la dosis y se comprobaron interrumpiendo y reduciendo las dosis. Los resultados indicaron que se observó actividad clínica en todas las dosis. Las respuestas se observaron en LNHi, LLC / LLP y LCM a  $\leq 50$  mg DVD. Se observaron respuestas en el linfoma de células T y el linfoma de Hodgkin a  $\geq 50$  mg DVD, lo que demuestra que las neoplasias malignas de linfocitos B y T son sensibles a la inhibición de PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$ .

#### Ejemplo 11: Estudios clínicos en neoplasias malignas hemáticas: producción de citocinas/quimiocinas en suero

25 Se ha observado que el tratamiento previo de sangre entera diluida (1: 1) con el Compuesto 292 durante 24 horas conduce a la inhibición de la producción de citocinas (por ejemplo, TNF- $\alpha$  e IL-10) estimulada con 100  $\mu$ g / ml de LPS (Figura 14). Para investigar adicionalmente el efecto del Compuesto 292 sobre la producción de citoquinas/quimiocinas, se recogieron muestras de suero de sujetos humanos que participaron en los estudios clínicos del Compuesto 292 para neoplasias malignas hemáticas. Las concentraciones en suero de un panel de citoquinas/quimiocinas humanas se determinaron mediante inmunoensayo Milliplex de 96 pocillos como se describe a

continuación.

Recogida y conservación de muestras: la sangre se dejó coagular durante al menos 30 minutos antes de la centrifugación durante 10 minutos a 1000xg. Se eliminó el suero y se analizó inmediatamente o se dividió en alícuotas y se conservó a  $\leq -20$  °C. Para eliminar las partículas, cuando se utilizan muestras congeladas, se recomienda descongelar las muestras por completo, mezclarlas bien con agitación vorticial y centrifugarlas antes de utilizarlas en el ensayo.

Preparación de la matriz sérica: Se añadió 1,0 ml de agua desionizada al frasco que contenía la matriz sérica liofilizada (número de catálogo MX HSM de MILLIPLEX® Map), y se dejó mezclar durante al menos 10 minutos para la reconstitución completa,

Procedimiento de ensayo: Se añadieron 200  $\mu$ l de tampón de lavado a cada pocillo de la placa. La placa se selló y se mezcló en un agitador de placas durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C). El tampón de lavado se decantó y la cantidad residual se eliminó de todos los pocillos invirtiendo la placa y golpeándola con cuidado sobre toallitas absorbentes varias veces. Se añadieron 25  $\mu$ l de cada patrón o control en los pocillos apropiados. El tampón de ensayo se utilizó para 0 pg/ml patrón (referencia). Se añadieron 25  $\mu$ l de tampón de ensayo a los pocillos de muestra. Se añadieron 25  $\mu$ l de solución de matriz apropiada a los pocillos de referencia, patrón y control. Se añadieron 25  $\mu$ l de muestra de suero en los pocillos apropiados. A cada pocillo se añadieron 25  $\mu$ l de las perlas mezcladas o premezcladas para las citoquinas/quimiocinas ensayadas. La placa se selló con un sellador de placas, se envolvió con papel de aluminio y se incubó con agitación en un agitador de placas durante la noche a 4 °C o durante 2 horas a temperatura ambiente (20-25°C). Una incubación durante una noche (16-18 h) puede mejorar la sensibilidad del ensayo de algunos analitos. El contenido del pocillo se eliminó cuidadosamente y la placa se lavó dos veces. Se añadieron 25  $\mu$ l de anticuerpos de detección en cada pocillo. Después, la placa se selló, se cubrió con papel de aluminio y se incubó con agitación en un agitador de placas durante 1 hora a temperatura ambiente (20-25 °C), Se añadieron 25  $\mu$ l de Estreptavidina-Ficoeritrina a cada pocillo que contenía los 25  $\mu$ l de anticuerpos de detección. La placa se selló después, se cubrió con papel de aluminio y se incubó con agitación en un agitador de placas durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C), El contenido del pocillo se eliminó cuidadosamente y la placa se lavó dos veces. Se añadieron 150  $\mu$ l de líquido de revestimiento (o de accionamiento si se utiliza MAGPIX®) a todos los pocillos. Las perlas se resuspendieron en un agitador de placas durante 5 minutos.

Análisis de los datos: La placa se procesó en Luminex 200™, HTS, FLEXMAP 3D™ o MAGPIX® con el programa informático xPONENT. Los datos de la mediana de intensidad de fluorescencia (MIF) se guardaron y se analizaron utilizando un método de ajuste de curva logística o del trazador (*spline*) de 5 parámetros para calcular las concentraciones de citocina/quimiocina en las muestras.

Resultados: Los analitos séricos examinados incluyeron: (1) citocinas/quimiocinas humanas (EGF, CCL11, FGF-2, ligando Flt-3, CX3CL1, G-CSF, GM-CSF, CXCL1, CXCL10, IFN $\alpha$ 2, IFN $\gamma$ , IL- $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-2R $\alpha$ , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, IL-1ra, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, CCL2, CCL7, CCL22, CCL3, CCL4, PDGF-AA, PDGF-AB / BB, CCL5, sCD40L, sIL-2R $\alpha$ , TGF $\alpha$ , TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , VEGF, CCL21, CXCL13, CCL27, CXCL5, CCL24, CCL26, CCL1, IL-16, IL-20, IL-21, IL-23, IL-28, IL-33, LIF, CCL8, CCL13, CCL15, SCF, CXCL12, CCL17, TPO, TRAIL y TSLP); y (2) metaloproteinasas de matriz (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-10, MMP-12, MMP-13, TIMP-1 y TIMP-2). El cambio en la concentración en suero de un analito se determinó comparando las muestras de suero antes y después del tratamiento.

En un estudio ejemplar, se recogieron muestras de suero de pacientes con neoplasias malignas hemáticas en el Ciclo 1 Día 1 (C1D1), Ciclo 1 Día 8 (C1D8 o Día 8), Ciclo 2 Día 1 (C2D1 o Día 28) y Ciclo 3 Día 1 (C3D1). CXCL13 (Figura 15), CCL4 (Figura 16), CCL17 (Figura 17), CCL22 (Figura 18) y TNF- $\alpha$  (Figura 19), mostraron concentraciones en suero disminuidas con el tratamiento con el Compuesto 292 en pacientes con LLC/LLP y con LNH/LCM/LF. En algunas indicaciones que no eran LLC/LNH (Figura 20), se observó una tendencia hacia la disminución de la concentración en suero de MMP9 con el tratamiento con el Compuesto 292. Estos datos demuestran que la concentración en suero reducida de CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22, TNF- $\alpha$ , y/o MMP9 el día 28 en comparación con la línea de referencia en pacientes, indica la eficacia del tratamiento con el compuesto 292 de linfomas de linfocitos B y T y leucemias. Se observó un aumento de la concentración en suero de CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22, TNF- $\alpha$  y/o MMP9 en C3D1 en ciertos pacientes que se retiraron del tratamiento con el Compuesto 292 durante el Ciclo 2, lo que demostró además que la concentración en suero de CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22, TNF- $\alpha$ , y/o MMP9 es ciertamente indicativa del efecto farmacodinámico del Compuesto 292. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, en la FIG. 21 se representa un posible mecanismo de acción para estas quimiocinas en pacientes con neoplasias malignas hemáticas.

#### **Ejemplo 12: expresión de ARNm de isoformas de PI3K en trastornos hemáticos**

Se analizó la expresión de ARNm de las isoformas de PI3K (PI3K- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y/o  $\gamma$ ) en neoplasias malignas hemáticas (por ejemplo, líneas celulares, tipos de células o muestras de tejido de neoplasias malignas hemáticas).

Aislamiento de ARN y PCR cuantitativa en tiempo real: El ARN se aisló de sedimentos celulares utilizando el kit RNAqueous®-4PCR (Ambion) o material FFPE utilizando el kit Rneasy FFPE (Qiagen). Se añadieron cincuenta ng de ARN a cada reacción de 25 µl en una mezcla maestra de una sola etapa (Life technologies n. ° 4392938) y se procesaron en el ciclador 7300RT (Applied Biosystems) durante 40 ciclos. Todos los conjuntos de cebador y sonda para evaluar la expresión de isoformas se adquirieron en Applied Biosystems: PIK3CG humana (Hs00907957\_m1), PIK3CB humana (Hs00927728\_m1), PIK3CD humana (Hs00192399\_m1), PIK3CG humana (Hs00277090\_m1) y GAPDH humana (4310884E). Todos los genes analizados se normalizaron a GAPDH. La fórmula,  $2^{-\Delta\Delta CT}$ , donde CT se refiere al ciclo del umbral, se aplicó para calcular el factor de cambio de la expresión génica.

10 Detección *in situ* de ARN de PIK3CG y PIK3CD en tejidos embebidos en parafina y fijados en formalina: Los kits de ensayo RNAscope™ FFPE para PIK3CG y PIK3CD se desarrollaron y adquirieron en Advanced Cell Diagnostics, Inc (ACD). Cada kit tiene como objetivo una región de ~1Kb, y la molécula de ARN está dirigida por 20 pares de sondas, cada uno de ~ 50 nucleótidos (nt) de longitud. La cobertura de la sonda de transcritos y regiones de PIK3CG y PIK3CD se enumera en la Tabla 19. Todos los tejidos analizados se fijaron durante 24 horas en formalina tamponada neutra (NBF) al 10 %, se procesaron, se embebieron en parafina y se cortaron en secciones de 5 µM en portaobjetos cargados. Antes de la tinción, todos los portaobjetos se colocaron en una estufa a 60 °C y se calentaron durante 1 hora. Las secciones se desparafinaron en xileno (2x5 min) y se rehidrataron a través de una serie graduada de etanoles (100 %, 95 %) durante 3 minutos cada una. Los portaobjetos se dejaron secar al aire durante 5 minutos. El protocolo estándar del kit recomendado por ACD para las etapas de pretratamiento 1-2 y Amplificación 1-6 se siguió como se describió previamente (Fay Wang, et al., "RNAscope: una nueva plataforma de análisis de ARN *in situ* para tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina", The Journal of Molecular Diagnostics, 2012, 14 (1): 22-29). Según el tipo de muestra analizado, se determinaron las siguientes diluciones óptimas para el pretratamiento n. ° 3: tejido linfocitoide 1: 5, tejido de linfoma 1:10 y sedimentos celulares 1:15. Para visualizar la tinción, los portaobjetos se revelaron con sustrato cromógeno DAB y se tiñeron con colorante de contraste hematoxilina I. Al mismo tiempo, los portaobjetos se tiñeron con el gen constitutivo endógeno, PPIB, para garantizar una buena calidad del tejido.

**Tabla 19: Cobertura de la sonda de transcritos y regiones de PIK3CG y PIK3CD**

Sonda	Transcrito cubierto	Región cubierta	Ubicación de la región
IK3CG	NM_002649	2748-3708	región codificante de ARNm
PIK3CD	NM_005026	3714-5303	3'UTR

Expresión de ARNm de isoformas de PI3K en trastornos hemáticos

30 En un estudio, se analizó la expresión de ARNm en líneas celulares de LLA-B, LCM, LLC, linfoma de linfocitos B, LCLT, LMA, LDLBG, linfoma de Burkitt, LLA-T, LCM (fase blástica), linfoma de Hodgkin, LMC, mieloma (*por ejemplo*, mieloma múltiple) y LACG. Se determinó que el LLC tenía una expresión de delta relativamente alta y una expresión de gamma relativamente baja. El LDLBG y el LLA-B tenían expresión de gamma alta. El mieloma tenía expresión de delta baja y un amplio intervalo de expresión de gamma. El LMA y el LCM tenían una expresión de beta relativamente alta.

40 En otro estudio, se analizó la expresión de ARNm en leucemia humana en LLA-B en niños, LLA-B en adultos, LMC, linfoma de Burkitt, LLA-B infantil, LLC, SMD, LMA y LLA-T, y en médula ósea sin leucemia/sana. Se determinó que no había mucha variabilidad en la expresión de delta entre los tipos de leucemia (a diferencia de las líneas celulares). La LLC y la LLA-T tuvieron una expresión de gamma relativamente baja. La LLA-B tuvo una expresión de gamma relativamente alta, la LMA y la LMC tuvieron una expresión de beta relativamente alta. El SMD tuvo una expresión beta relativamente alta.

45 En otro estudio, se analizó la expresión de ARNm en LDLBG, LF y LCLT, que incluyó el análisis de la expresión de ARNm en linfocitos B de memoria, linfocitos B vírgenes, centrocitos del centro germinal, CG, centroblastos del CG, líneas celulares linfoblastoides, linfoma folicular (LF), y LDLBG. Se determinó que el LDLBG y el LF tenían una expresión de gamma amplia que se extendía al extremo superior del espectro. El LCLC tuvo una expresión de gamma relativamente baja, posiblemente debido a factores tales como el contenido tumoral.

### 50 **Ejemplo 13: Concentraciones plasmáticas en estado estacionario del Compuesto 292**

55 Después de un ciclo de 28 días, administración de 25 mg o 75 mg DVD del Compuesto 292, se determinaron las concentraciones en estado estacionario del Compuesto 292 en el Ciclo 2, Día 1 (C2D1) utilizando procedimientos sustancialmente similares a los descritos anteriormente en el Ejemplo 8. Como se muestra en la Figura 22, se descubrió que el Compuesto 292 se absorbe rápidamente, observándose la concentración en plasma máxima típicamente a aproximadamente 1 hora después de la dosificación en ambos regímenes de 25 mg y 75 mg. También se descubrió que el ABC aumenta proporcionalmente con dosis de hasta 75 mg DVD, pero la semivida de eliminación es independiente de la dosis. Se determinó que la concentración en plasma media previa a la dosis en

estado estacionario después de 25 mg DVD era de 390 ng/ml, lo que indica una supresión completa de PI3K- $\delta$  ( $CI_{90}$  = 361 ng/ml) con inhibición de PI3K- $\gamma$  ( $CI_{50}$  = 429 ng/ml) el intervalo de dosificación.

#### **Ejemplo 14: niveles reducidos de biomarcadores en suero en pacientes con LLC**

Después de un ciclo de 28 días, administración de 25 mg DVD del compuesto 292 a pacientes con LLC, se determinaron los niveles de diversas citocinas/quimiocinas en suero utilizando la plataforma Milliplex basándose en procedimientos sustancialmente similares a los descritos anteriormente en el Ejemplo 11. Como se muestra en la Figura 23, tanto en el ciclo 1, día 8 (C1D8) como en el ciclo 2, día 1 (C2D1), los niveles de CXCL13, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22, TNF $\alpha$  e IL-12 (p40) se redujeron sustancialmente en comparación con los niveles previos a la dosificación el ciclo 1, día 1 (C1D1). Se sabe que estas citocinas/quimiocinas son críticas en el transporte de linfocitos y la función presentada. Además, también se descubrió que CCL1 e IL-10 mostraban una reducción similar después de un ciclo de 28 días de administración de 25 mg o 75 mg DVD de Compuesto 292.

Cuando se combinaron analitos de diversas dosis de Compuesto 292 en pacientes con LLC (n = 1 a 8 mg DVD, 2 a 15 mg DVD, 15 a 25 mg DVD y 13 a 75 mg DVD) y se evaluaron para un cambio constante (reducción o aumento) en niveles séricos en C1D8 y/o C2D1 en comparación con el nivel inicial (nivel previo a la dosis), 10 de 72 analitos disminuyeron después del tratamiento con el compuesto 292 en comparación con el nivel inicial, mientras que ninguno aumentó significativamente. Los analitos que disminuyeron después del tratamiento con el Compuesto 292 incluyen CXCL13, CCL3, CCL4, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-12p40, MMP-9, CCL17, CCL22, CCL1 y CXCL10 (Figura 24). La mediana de los niveles séricos de estos analitos disminuyó en C1D8, oscilando entre 16 % y 59 % del nivel inicial. Curiosamente, muchos de los analitos que disminuyen con el tratamiento con el Compuesto 292 están implicados en la comunicación entre linfocitos B neoplásicos y el microambiente. CCL3, CCL4, CCL17 y CCL22 son expresados por linfocitos B neoplásicos y pueden desempeñar un papel en el reclutamiento de linfocitos T para interactuar con las linfocitos B neoplásicos. Las células estromales secretan CXCL13 y reclutan linfocitos B neoplásicos en los ganglios linfáticos. Además, la IL-10 es producida por muchos tipos de células inmunitarias normales así como por linfocitos B neoplásicos. Se sabe que IL-10 es un factor de crecimiento autocrino para líneas celulares de linfoma de linfocitos B.

Los resultados demuestran que la administración del Compuesto 292 causa la reducción en los niveles de estas citocinas / quimiocinas y respaldan el uso de estas citocinas/quimiocinas como biomarcadores para el compuesto proporcionado en el presente documento en pacientes con LLC.

#### **Ejemplo 15: Respuesta de la linfocitosis en función del recuento absoluto de linfocitos inicial**

El recuento absoluto de linfocitos (RAL) inicial previo a la dosis se determinó en un grupo de pacientes con LLC. Dependiendo del RAL inicial, los pacientes se agruparon en dos categorías: (1) los que tenían un RAL inicial igual a, o mayor que,  $10 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ; y (2) los que tenían un RAL inicial inferior a  $10 \times 10^3 / \mu\text{l}$ . Tras iniciar la administración del Compuesto 292 (ciclo de 28 días, 25 mg DVD), se extrajeron muestras de sangre de los pacientes en ciclos como se indica en la Figura 25, y la mediana del RAL de cada uno de los dos grupos se determinó por separado del otro grupo. Como se muestra en la Figura 25, los pacientes con un RAL inicial más alto demostraron una tendencia diferente en el RAL después del inicio a lo largo del tiempo que los que tenían un RAL inicial más bajo. Los datos sugieren que los pacientes con un RAL inicial más alto tienen posiblemente un inicio mucho más rápido después de la administración del Compuesto 292, seguido de una disminución estable en la mediana del RAL, lo que indica que los pacientes con un RAL inicial más alto son más receptivos al tratamiento con un compuesto proporcionado en el presente documento que aquellos con un RAL inicial más bajo. Como se muestra en la Figura 26, la linfocitosis rápida (es decir, de inicio rápido) similar al perfil presentado por pacientes con un RAL inicial más alto, se corresponde bien con la reducción rápida en la medición del tumor.

#### **Ejemplo 16: niveles reducidos de biomarcadores en suero en pacientes con linfoma**

Después de un ciclo de 28 días, administración de 25 mg DVD del Compuesto 292 a pacientes con linfoma, se determinaron los niveles de CXCL13, CCL17 y MMP-9 en suero utilizando la plataforma Milliplex basándose en procedimientos sustancialmente similares a los descritos anteriormente en el Ejemplo 11. Como se muestra en Figura 27A, tanto en el ciclo 1, día 8 (C1D8) como en el ciclo 2, día 1 (C2D1), los niveles de CXCL13, CCL17 y MMP-9 se redujeron sustancialmente en comparación con los niveles de predosificación de ciclo 1, día 1 (C1D1).

Además, como se muestra en la Figura 27B, CXCL13, CCL17, CCL22 y TNF $\alpha$  mostraron una reducción significativa en los niveles después del ciclo de 28 días, 25 mg de administración DVD del Compuesto 292 en pacientes con LNHi. También se descubrió que CCL1, CCL17, CXCL13, IL-12 (p40), MMP-12, MMP-9 y TNF $\alpha$  mostraron una reducción similar después del ciclo de 28 días, administración de 25 mg o 75 mg DVD del Compuesto 292 en pacientes con LNHi. Además, CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13 y MMP-9 mostraron una reducción similar después del ciclo de 28 días, administración de 25 mg o 75 mg DVD del Compuesto 292 en pacientes con LMC, y CCL17, CCL22, CXCL10, CXCL13, MMP-9, CM-CSF e IL-12 (p40) mostraron una reducción similar después de un ciclo de 28 días de administración de 25 mg o 75 mg DVD del Compuesto 292 en pacientes con linfoma de linfocitos T. Además, también en pacientes con linfoma de linfocitos T, se demostró que CXCL13, IL-12 (p40), MMP-9, CCL17,



CCL22, TNF $\alpha$  y TGF $\alpha$  muestran una tendencia similar después de un ciclo de 28 días. (Figura 28).

5 Cuando se combinaron analitos de diversas dosis de Compuesto 292 en pacientes con LNHi (n = 1 a 15 mg DVD , 12 a 25 mg DVD , 1 a 50 mg DVD y 5 a 75 mg DVD ) y se evaluaron para un cambio constante (reducción o aumento) en niveles séricos en C1D8 y/o C2D1 en comparación con el nivel inicial (nivel previo a la dosis), los niveles séricos medios de 7 analitos disminuyeron en C1D8 (oscilando entre 32 % y 70 % del valor inicial), mientras que ninguno aumentó significativamente. Los 7 analitos que disminuyeron en sujetos con LNHi fueron CXCL13, MMP-9, TNF $\alpha$ , CCL22, CCL1, CCL17 y MMP-12 (Figura 29).

10 Los resultados demuestran que la administración del Compuesto 292 causa la reducción en los niveles de las citocinas/quimiocinas mencionadas anteriormente y respalda el uso de estas moléculas como biomarcadores para el compuesto proporcionado en el presente documento en pacientes con linfoma.

#### 15 **Ejemplo 17: actividad clínica del compuesto 292 en el síndrome de Sézary**

Después de un ciclo de 28 días, administración de 60 mg DVD del Compuesto 292, a pacientes con síndrome de Sézary, se investigaron los siguientes criterios para evaluar la eficacia clínica del Compuesto 292 en el tratamiento de dicho síndrome: (1) número de células de Sézary en sangre periférica; (2) respuesta CT; y puntuaciones mSWAT (herramienta de evaluación ponderada de gravedad modificada). El número de células de Sézary se determinó siguiendo procedimientos convencionales utilizando citometría de flujo. Como se muestra en la Figura 30A, se observó una reducción sustancial en el número de células de Sézary durante el progreso de los ciclos de administración. La respuesta CT se evaluó en términos de suma de diámetros de producto (SDP). Como se muestra en la Figura 30B, también se observó una reducción en la SDP a lo largo de los ciclos de administración. Finalmente, las puntuaciones mSWAT se determinaron utilizando procedimientos convencionales muy conocidos en la materia (véase, por ejemplo, Olsen et al., Journal of Clinical Oncology, disponible en <http://jco.ascopubs.org/cgi/doi/10.1200.JCO.2010.32.0630> (2011)). Como se muestra en la Figura 30C, se observó una reducción espontánea en las puntuaciones mSWAT a lo largo de los ciclos de administración. Estos resultados sugieren claramente que el compuesto proporcionado en el presente documento puede ser eficaz en el tratamiento del síndrome de Sézary.

#### 30 **Ejemplo 18: Estudios de biomarcadores para tratar la LLC con un compuesto selectivo de isoformas de PI3K**

35 La PI3K $\delta$  está sobreexpresada en varias neoplasias malignas de linfocitos B, incluida la leucemia linfocítica crónica (LLC), mientras que la PI3K $\gamma$  se expresa en forma elevada en tumores sólidos y desempeña un papel en el transporte de células inmunitarias. Los linfocitos B de LLC están regulados por las rutas de PI3K y en interacción con otras células inmunitarias, un compuesto, tal como el Compuesto 292, puede tener un impacto sobre la regulación de la supervivencia de los linfocitos B de LLC. La manipulación de posibles dianas asociadas con la ruta de PI3K y la secreción de quimiocinas utilizando un compuesto, tal como el Compuesto 292, pueden potenciar la apoptosis en linfocitos B de LLC.

40 Respuesta terapéutica (respuesta a la dosis y al tiempo) del Compuesto 292 en LLC con lesiones genéticas recurrentes y pronóstico adverso: células de leucemia LLC recién obtenidas de pacientes con LLC se trataron con una amplia gama de concentraciones del Compuesto 292 y la sensibilización de las células de LLC al Compuesto 292 se midió mediante el ensayo con anexina/PI y el ensayo con MTS. La incubación de las células de leucemia a diversos períodos de tiempo puede producir la dosis óptima y el tiempo óptimo en el que el Compuesto 292 induce citotoxicidad en las células primarias de LLC. La apoptosis, la permeabilización mitocondrial de la membrana externa, el ensayo con MTS y la escisión de la proteína PARP se analizaron y cuantificaron utilizando métodos establecidos, por ejemplo, Balakrishnan et al., 2010, "Influence of bone marrow stromal microenvironment on forodesine-induced responses in CLL primary cells," Blood 116, 1083-91; Balakrishnan et al., 2009, "AT-101 induces apoptosis in CLL B cells and overcomes stromal cell-mediated Mcl-1 induction and drug resistance," Blood 113, 149-53. Con el fin de obtener la relación funcional entre la respuesta terapéutica al Compuesto 292 y las características clínicas de los pacientes con LLC, en el estudio se incluyeron subconjuntos de pacientes con diferentes factores pronósticos, tales como estadios Rai,  $\beta$ 2-microglobulina así como diversas citogenéticas que incluyen trisomía 12, mutaciones del 13q, 17p y 11q, estado ZAP-70, estado CD38, estado CD49d y mutaciones del gen IgHV. Las mismas cohortes de muestras se trataron en paralelo con otros inhibidores de PI3K para comparar la selectividad y la sensibilidad de los inhibidores de cinasas individuales.

60 Supervivencia de células de LLC mediadas por estroma: PI3K y sus dianas cadena abajo se activan en respuesta al microambiente tumoral. Un compuesto como el Compuesto 292 puede alterar las interacciones leucemia-estroma en LLC. Células primarias de LLC se cultivaron conjuntamente con o sin células estromales (células estromales de médula ósea, células NKTert y células de tipo Sertoli de microambiente de ganglios linfáticos) [Balakrishnan et al., 2010, "Influence of bone marrow stromal microenvironment on forodesine-induced responses in CLL primary cells," Blood 116, 1083-91; Burger et al., 2000, "Blood-derived nurse-like cells protect chronic lymphocytic leukemia B cells from spontaneous apoptosis through stromal cell-derived factor-1," Blood 96, 2655-63.] en presencia o en ausencia de inhibidor de PI3K y se midió la apoptosis, la permeabilización mitocondrial de la membrana externa, el ensayo con MTS y la escisión de la proteína PARP [Balakrishnan et al., 2010, *supra*; Balakrishnan et al., 2009, *supra*]. Para

evaluar el papel del microambiente, se utilizó el sistema del modelo de cocultivo LLC-estromal [Balakrishnan *et al.*, 2010, *supra*.], que se había establecido y probado con LLC [Balakrishnan *et al.*, 2009, *supra*.]. Estos resultados se utilizan para estudiar la base de la ventaja de supervivencia para las células de LLC por diversos microambientes y la anulación de esta protección por el inhibidor de PI3K.

Mecanismo molecular implicado en la actividad del Compuesto 292 en células primarias de LLC: La PI3K es responsable de la señalización del BCR cadena abajo, que es una diana terapéutica principal en LLC. La activación de PI3K puede afectar a dianas cadena abajo como las cinasas Akt o Erk y los sustratos diana. Para evaluar los acontecimientos moleculares regulados durante el tratamiento con inhibidores de PI3K, las modificaciones postraduccionales de proteínas diana como Akt y Erk se evalúan mediante sondeos con anticuerpos que pueden detectar la fosforilación de Akt en Ser473 y Erk en Thr202 / Tyr204 junto con mediadores cadena abajo como fosfo-PRAS y S6. Además, los niveles de expresión de las isoformas de PI3K (por ejemplo, gamma y delta) se perfilan a partir de cada muestra analizada, y los niveles relativos se correlacionan con la respuesta celular al inhibidor. El compuesto 292 puede manipular las células en asociación con el sistema inmunitario y de ese modo la producción de quimiocinas. Se midieron los niveles de quimiocinas C-X y C-C, tales como CXCL12, CXCL13, CCL2 y CCL3 que se ha demostrado que desempeñan un papel en la patogénesis de LLC (Sivina *et al.*, 2011, 2011, "CCL3 (MIP1alpha) plasma levels and the risk for disease progression in chronic lymphocytic leukemia," *Blood* 117, 1662-69). También se analizan tanto el lisado como los medios acondicionados de estos estudios de otros posibles factores.

#### **Ejemplo 19: correlación entre inhibición del crecimiento y las respuestas FD en líneas celulares de DLBCL**

Se analizaron diversas líneas celulares de DLBCL para determinar la sensibilidad al tratamiento con el Compuesto 292 utilizando un ensayo de CTG de 72 horas. Se descubrió que las células Ri-1 (subtipo ABC) y DHL-4 y DHL-6 (ambas subtipo GCB) eran más sensibles que otras líneas celulares DLBCL (datos no mostrados). Estas tres líneas celulares sensibles y la línea celular U2932 (que no es sensible al Compuesto 292) se trataron con DMSO (control) y el Compuesto 292 a concentraciones de 0,001, 0,01, 0,1 y 1  $\mu\text{M}$ . Una hora después del tratamiento, se evaluaron los niveles de diversas proteínas mediante transferencia western, cuyos resultados se muestran en la Figura 31. Como se muestra en la Figura 31, en todas las líneas celulares sensibles (SU-DHL-6, SU-DHL-4 y Ri-1), se mostró que los niveles de pAKT, pPRAS40 y pS6 disminuían con el tratamiento con el Compuesto 292 de una manera dependiente de la dosis, aunque las respuestas para pPRAS40 y pS6 no eran tan contundentes. Es importante destacar que, aunque las células DHL 4 tenían buenos niveles iniciales de pBTK, se demostró que el nivel de pBTK no estaba modulado por la administración del Compuesto 292. Además, se demostró que pERK estaba algo modulado en las líneas celulares sensibles, pero el grado de modulación se mostró algo menos significativo que otras proteínas bien moduladas. Estos resultados sugieren que el Compuesto 292 puede no funcionar a través de la ruta BTK o MEK, y por lo tanto, proporciona una justificación para las terapias que utilizan inhibidores de BTK o MEK en combinación con un compuesto proporcionado en el presente documento.

#### **Ejemplo 20: efecto sinérgico de combinar el Compuesto 292 y un inhibidor de BTK**

La activación de la ruta PI3K es un componente importante de la señalización normal del receptor de linfocitos B (BCR) y se ha implicado en la patogénesis de DLBCL. Para explorar más el papel de la señalización de PI3K en líneas celulares DLBCL de perfiles moleculares variables, se trató un panel de más de 10 líneas celulares DLBCL con el compuesto 292. Se descubrió que PI3K- $\delta$  y PI3K- $\gamma$  se expresaron a varios niveles a través del panel de la línea celular DLBCL, sin evidencia de una correlación con el subtipo molecular. En un ensayo de inhibición del crecimiento celular, 3 líneas celulares incluyendo 2 subtipos de GCB (SU-DHL-4, SU-DHL-6) y 1 subtipo de ABC (Ri-1) fueron sensibles al tratamiento con el compuesto 292 en el intervalo nanomolar (nM), y otras 2 líneas celulares GCB (OCI-LY-8 y WSU-DLCL-2) fueron moderadamente sensibles con valores de  $CI_{50}$  en el intervalo micromolar bajo ( $\mu\text{M}$ ). Varias líneas celulares (OCI-LY3, Pfeiffer, Toledo y U2932) eran insensibles al compuesto 292 ( $CI_{50} > 50 \mu\text{M}$ ). No hubo evidencia de una correlación entre la sensibilidad del compuesto 292 y el perfil molecular de COO (célula de origen) o CC (agrupación consenso) en este panel. La sensibilidad del compuesto 292 se correlacionó con la evidencia de la inhibición de la ruta de PI3K medida por la reducción de fosfo-AKT. Para caracterizar mejor la cinética de la modulación de la ruta, se examinó la fosforilación de AKT, PRAS40 y S6 siguiendo un curso temporal del tratamiento con el Compuesto 292 en líneas celulares seleccionadas. Hubo una rápida modulación de fosfo-AKT y fosfo-PRAS40 en 30 minutos, mientras que la modulación de fosfo-S6 no se detectó hasta después de 8 horas. Tras la estimulación con el BCR mediante entrecruzamiento inducido por anticuerpos, algunas líneas celulares presentaron una fosforilación de AKT mejorada, que podría inhibirse con el Compuesto 292. La línea celular GCB OCI-LY-8 era moderadamente sensible al Compuesto 292 sin entrecruzamiento de BCR (intervalo bajo  $\mu\text{M}$ ) y presentó sensibilidad mejorada al compuesto 292 con entrecruzamiento del BCR (intervalo nM). Estos resultados sugieren que la señalización intacta de la ruta del BCR contribuye a la sensibilidad del compuesto 292 en las líneas celulares DLBCL, independientemente del subtipo COO o CC.

La actividad del compuesto 292 también se exploró en combinación con ibrutinib, un inhibidor irreversible de la tirosina cinasa de Bruton (BTK) causante de la agammaglobulinemia. Curiosamente, en el contexto del entrecruzamiento del BCR, las células OCI-LY-8 presentaron un aumento contundente de fosfo-AKT que se inhibió completamente con el compuesto 292 pero solo se inhibió parcialmente con ibrutinib. En otras líneas celulares,

como SU-DHL-4, se observó una inhibición contundente de fosfo-BTK con el tratamiento con ibrutinib pero no con el compuesto 292. Estos hallazgos bioquímicos indican una lógica mecanicista para la combinación de la inhibición de PI3K- $\delta,\gamma$  y BTK. Además, se observó un efecto de combinación significativo en un ensayo de inhibición del crecimiento celular con el Compuesto 292 más ibrutinib en la línea celular SU-DHL-4 y en la línea celular OCI-LY-8 con entrecruzamiento del BCR.

En otro estudio ejemplar, varias líneas celulares de LDLBG se sembraron en placas de 96 pocillos por triplicado, y se añadieron los compuestos de ensayo (combinación de Compuesto 292 e ibrutinib) 4-6 horas después de la siembra. Después de 72 horas de tratamiento con fármaco, las células se incubaron con reactivo Cell Titer Glo (Promega). Para determinar el índice de combinación (IC), se utilizó una relación fija de fármacos y los valores de IC se calcularon utilizando CalcuSyn, Los resultados se enumeran en la Tabla 20 a continuación.

**Tabla 20: efectos sinérgicos de la combinación del compuesto 292 e ibrutinib**

Línea celular	Relación fija (Compuesto 292 / Ibrutinib)	Índice de combinación *
OCI-Ly8	1	0,06
OCI-Ly7	1,3	0,15
SU-DHL-4	1	0,34
SU-DHL-10	0,2	0,46
SU-DHL-6	0,5	0,76

\* aditivo:  $0,5 < IC < 1,0$ ; IC; sinérgico  $IC \leq 0,5$ ,

#### 15 Ejemplo 21: Sensibilidad de las líneas celulares de delección de PTEN al compuesto 292

Se trataron ciento cuarenta y cinco (145) subconjuntos de líneas celulares de delección de PTEN con el Compuesto 292, y se determinó la sensibilidad al Compuesto 292 de estos subconjuntos. Se descubrió que las líneas celulares ensayadas son diferencialmente susceptibles al tratamiento con el Compuesto 292. Es importante destacar que se descubrió que las células PTEN de tipo silvestre no son sensibles al Compuesto 292, lo que implica que la mutación de PTEN puede desempeñar un papel en hacer que las células sean susceptibles al tratamiento con el Compuesto 292.

#### 25 Ejemplo 22: Sensibilidad de linfocitos T de LLA a diferentes inhibidores de PI3K y doxorrubicina

Varias líneas celulares humanas y marinas de LLA que incluyen líneas celulares carentes de PTEN (Loucy, Molt-4 luc, CCRF-CEM, p12 Ichikawa, Karpas-45 y CEM / C2) y líneas celulares de PTEN de tipo silvestre (Molt-13 y Molt-16), se trataron con el Compuesto 292, y se evaluó la inhibición del crecimiento. El tratamiento produjo grados variables de inhibición del crecimiento, demostrando la línea celular Loucy carente de PTEN, la mayor sensibilidad con un valor de  $CI_{50}$  de 245 nM. En las líneas celulares ensayadas, la inhibición del crecimiento con el Compuesto 292 solo se observó en líneas celulares carentes de PTEN, mientras que todas las líneas celulares de tipo silvestre PTEN eran resistentes al Compuesto 292 (datos no mostrados). Además, se encontró que las líneas celulares murinas de LLA-T, procedentes de un modelo transgénico carente de PTEN (es decir, LPN049 y LPN236), eran sensibles al tratamiento con el Compuesto 292 medido por el ensayo de MTT.

Para explorar adicionalmente las contribuciones individuales de las distintas isoformas de PI3K sobre el crecimiento de linfocitos T de LLA, células de Loucy de LLA se trataron con doxorrubicina y diversos inhibidores de PI3K como se muestra en la Figura 32 a diversas concentraciones como se indica en la figura. Como se muestra en la Figura 32, los inhibidores de la isoforma PI3K  $\delta$  o  $\gamma$  mostraron un aumento gradual en el porcentaje de inhibición de las células de Loucy a medida que aumentaban las dosis. Sin embargo, el inhibidor de PI3K  $\beta$  demostró ser menos eficaz en la inhibición de las células de Loucy que los inhibidores de otras isoformas. Los resultados sugieren que la sensibilidad al Compuesto 292 (y a otros inhibidores de PI3K  $\delta$  y/o  $\gamma$ ) probablemente se deba a la inhibición de las isoformas  $\delta$  y/o  $\gamma$  de PI3K, pero probablemente no esté relacionada con la isoforma  $\beta$ .

Además, en la Figura 32 también se muestra que la sensibilidad de las células de Loucy a la doxorrubicina presenta un patrón diferente al de los inhibidores de PI3K. Dichos perfiles de sensibilidad diferencial pueden respaldar la justificación para combinar doxorrubicina con un compuesto proporcionado en el presente documento.

#### 50 Ejemplo 23: Sensibilidad de las células de LCLT al compuesto 292

La sensibilidad de las líneas celulares de LCLT al tratamiento con el Compuesto 292, se evaluó utilizando las siguientes líneas celulares: células HH derivadas de síndrome de Sézary; células HuT78 derivadas de síndrome de Sézary y células MJ derivadas de micosis fungoide. Las células MJ y HuT78 se cultivaron en FBS al 20 % con IMDM y las células HH se cultivaron en FBS 10 % con RPMI. Para el estudio de citotoxicidad, las células se incubaron con el Compuesto 292 durante 72 horas. Después de la incubación con o sin el Compuesto 292 durante 1 o 2 horas, las células se sometieron a análisis de proteínas mediante transferencia de western según el siguiente procedimiento general.

Las células se lavaron con medio reciente y se sometieron a lisis añadiendo 1x tampón de muestra SDS, seguido de ultrasonido. Después de calentar la muestra a 95-100 °C durante 5 minutos y enfriar en hielo, la muestra se microcentrifugó y se procesó en SDS-PAGE. Las muestras resultantes se electrotransfirieron a una membrana de nitrocelulosa o PVDF. Después del lavado, la membrana se incubó en tampón de bloqueo durante 1 hora a temperatura ambiente, seguido de lavado con TBS/T. La membrana y los anticuerpos primarios se incubaron después durante una noche a 4 °C. La membrana se lavó de nuevo con TBS/T, y se incubó con anticuerpos secundarios apropiados conjugados con HRP. Para los anticuerpos primarios biotinilados, la membrana se incubó en leche con HRP-estreptavidina. Una vez terminada la incubación, la membrana se lavó con TBS/T y se sometió a detección utilizando LumiGLO®

Como se muestra en la Figura 33, se observó que en las células sometidas a ensayo, el compuesto 292 reduce el nivel de pPRAS40 de forma dependiente de la dosis. Además, el estudio de citotoxicidad reveló que las células HH son más sensibles al tratamiento con el Compuesto 292 que las células MJ o HuT78. De hecho, las células MJ fueron resistentes al tratamiento con el Compuesto 292 o GS-1101, y las células HuT78 mostraron sensibilidad media. Se observó que el nivel de pERK1 / 2 era el más bajo en las células HH en comparación con las células MJ o HuT78, lo que sugiere que un alto nivel de ERK puede ser un marcador de insensibilidad al tratamiento con el Compuesto 292. Además, se encontró que pS6 no está modulado en células MJ resistentes, lo que indica que la modulación de pS6 por el compuesto proporcionado en el presente documento puede ser importante en la eficacia para destruir células cancerosas. Estos resultados también sugieren que la modulación de pS6 también puede ser un biomarcador para predecir la eficacia del tratamiento por el compuesto proporcionado en el presente documento.

#### **Ejemplo 24: El Compuesto 292 inhibe la proliferación de células de LLC en los ganglios linfáticos**

Para imitar el efecto proliferativo de los pseudofolículos en los ganglios linfáticos, se estimularon células de LLC para proliferar con CD40L / IL-2 / IL-10 y se midió el efecto del compuesto 292. En general, células de LLC se sembraron e incubaron con cóctel de proliferación (que contenía sCD40L, rH-IL10 y rH-IL2) en medios. Después, se realizó un análisis FACS con cuatro colores utilizando anticuerpos contra pAKT, Ki-67, CD19 y CD5,

Como se muestra en la Figura 34, se descubrió que el cóctel de citocinas de CD40L/IL-2/IL-10 aumentaba significativamente el porcentaje de población de células positivas a pAKT/Ki 67. Esto indica que el cóctel de citocinas puede imitar señales proliferativas microambientales e inducir la proliferación y señalización de PI3K en células de LLC.

La expresión tanto de pAKT como de Ki-67, se inhibió notablemente en células de LLC primarias a concentraciones de Compuesto 292 en el intervalo nanomolar bajo ( $CE_{50} < 10$  nM; n = 2), lo que indica un fuerte efecto antiproliferativo del compuesto 292 sobre las células de LLC en el entorno ganglionar. (Figuras 35 y 36). En consecuencia, los resultados indican que el compuesto 292 puede inhibir la proliferación de células de LLC en los ganglios linfáticos. Además, este efecto inhibitorio directo sobre las células de LLC en los ganglios linfáticos podría conducir a respuestas rápidas y prolongadas en pacientes con cáncer. Por lo tanto, los resultados también indican que el compuesto 292 tiene la capacidad de producir una aparición de respuesta rápida en pacientes con LLC. Dado el papel significativo del quimioatrayente, SDF-1 (CXCL13), en la migración dirigida de linfocitos B, un ensayo de quimiotaxis demostró una reducción en la migración de células de LLC con el compuesto 292 (% de reducción del control - mediana del 23 %; intervalo 2-42 %; n = 8). Además, el tratamiento con el compuesto 292 potenció la producción de especies reactivas de oxígeno (n = 6).

#### **Ejemplo 25: Reducción selectiva de células positivas a CD38/CD69 mediante el compuesto 292 en pacientes con LLC**

Utilizando citometría de flujo específica de fósforo, se evaluaron los efectos del Compuesto 292 en el número de células de LLC asociadas con enfermedad de alto riesgo (células de LLC positivas a CD38 / CD69). Resumiendo, ocho (8) pacientes con LLC se trataron con el Compuesto 292 a una dosis de 25 mg DVD, y las muestras se recogieron al cabo de 1, 2, 4 y 24 horas después del tratamiento el Día 1 del Ciclo 1 y el Día 1 del Ciclo 2 (28 días después del Ciclo 1), el Día 1 del Ciclo 3 (56 días después del Ciclo 1) y el Día 1 del Ciclo 4 (84 días después del Ciclo 1). Con el fin de caracterizar el fenotipo de la superficie de las células presentes en pacientes con LLC, en el panel se incluyeron, entre otros, anticuerpos contra CD38 y CD69 y las muestras se sometieron a citometría de flujo específica de fósforo.

Los resultados de la citometría de flujo específica de fósforo se representaron gráficamente y se muestran en la Figura 37. Como se muestra en dicha figura, después del tratamiento con el Compuesto 29, se descubrió que hubo reducciones significativas en células de LLC circulantes positivas a CD38, células de LLC circulantes positivas a CD69, células de LLC circulantes positivas dobles a CD38/CD69. El resultado indica que el Compuesto 292 puede disminuir selectivamente las células de LLC asociadas con la enfermedad de alto riesgo.

#### **Ejemplo 26: Efectos del Compuesto 292 en combinación con Ibrutinib en células de LDLBG**

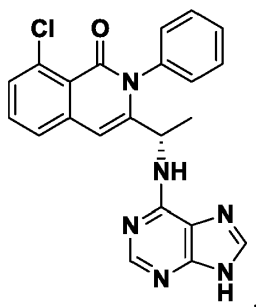
La línea celular SU-DHL-4 GCB de LDLBG se trató con una cantidad variable de Compuesto 292 o ibrutinib solo, o

5 con el Compuesto 292 (cantidad variable) en combinación con ibrutinib 11 nM o 33 nM. Después de 72 horas, se midió la viabilidad celular utilizando CellTiter Glo®, y los resultados se muestran en la Figura 38. Como se muestra en la figura, tanto la monoterapia como la terapia de combinación inhibieron la viabilidad de las células de LDLBG de una manera dependiente de la dosis. Además, concretamente, la combinación con ibrutinib 33 nM, mostró una eficacia aumentada en comparación con las monoterapias.

10 Aunque en el presente documento se han mostrado y desvelado realizaciones ejemplares de la presente divulgación, será obvio para los expertos en la materia que dichas realizaciones se proporcionan únicamente a modo de ejemplo.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



5

o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática en un sujeto, en el que el compuesto se formula para administrarse a partir de 25 mg 2VD a 75 mg 2VD.

10

2. El compuesto para el uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto se formula para administrarse en una cantidad suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario a un nivel superior a la  $CI_{90}$  para PI3K- $\delta$  y a un nivel superior a la  $CI_{50}$  para PI3K- $\gamma$ .

15

3. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el compuesto se administra a una dosis suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario de aproximadamente 300 ng/ml a aproximadamente 500 ng/ml.

20

4. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto se administra a una dosis suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario de aproximadamente 350 ng/ml a aproximadamente 450 ng/ml.

25

5. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el compuesto se administra a una dosis suficiente para proporcionar una concentración en plasma del compuesto en estado estacionario de aproximadamente 380 ng/ml a aproximadamente 420 ng/ml.

30

6. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la neoplasia maligna hemática es leucemia linfocítica crónica (LLC) o linfoma no Hodgkin indolente.

35

7. El compuesto para el uso según la reivindicación 6, en el que la neoplasia maligna hemática es linfoma linfocítico pequeño (LLP), linfoma folicular o linfoma de zona marginal (LZM).

8. El compuesto para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la neoplasia maligna hemática es un trastorno mielóide, un trastorno linfóide, leucemia, linfoma, síndrome mielodisplásico, una enfermedad mieloproliferativa, un trastorno por activación de mastocitos, mieloma, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia aguda de linfocitos T, leucemia aguda, leucemia aguda de linfocitos B, leucemia mielóide aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia mielógena crónica en fase blástica, LLC/LLP, LLC en fase blástica, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma no Hodgkin de linfocitos B, linfoma no Hodgkin de linfocitos T, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma de células del manto, linfoma no Hodgkin agresivo de linfocitos B, linfoma de linfocitos B, síndrome de Richter, linfoma de linfocitos T, neoplasia maligna periférica de linfocitos B, linfoma periférico de linfocitos T, neoplasia maligna cutánea de linfocitos T, linfoma cutáneo de linfocitos T, micosis fungoide transformada, síndrome de Sézary, linfoma anaplásico de células grandes, macroglobulinemia de Waldenstrom, linfoma linfoplasmacítico, linfoma de Burkitt, mieloma múltiple, amiloidosis, trombocitosis esencial, mielofibrosis, policitemia vera, leucemia mielomonocítica crónica, síndrome mielodisplásico de alto riesgo o síndrome mielodisplásico de bajo riesgo.

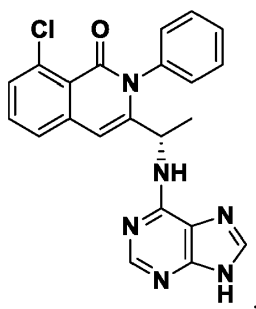
50

9. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la neoplasia maligna hemática es recidivante o refractaria, en el que opcionalmente la neoplasia maligna hemática es una neoplasia maligna refractaria de linfocitos T o B o una neoplasia maligna recidivante de linfocitos T o B, y opcionalmente en el que la neoplasia maligna hemática es refractaria a la terapia con rituximab, a la quimioterapia y/o a la radioinmunoterapia.

55

10. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se identifica que el sujeto tiene un cambio en la concentración de suero a lo largo del tiempo o con respecto a un nivel de referencia o control de un biomarcador seleccionado de MMP-9, CXCL13, CCL4, CCL17, CCL22 o TNF- $\alpha$ , o una combinación de los mismos.

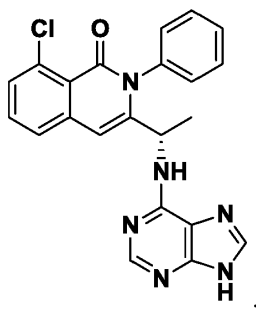
11. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sujeto es un mamífero, y en el que opcionalmente el mamífero es un ser humano.
- 5 12. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo elegido entre un inhibidor de BCL-2, un inhibidor de BTK, un inhibidor de HDAC, un inhibidor de MEK, un inhibidor de EZH2, un inhibidor de PLK-1, un anticuerpo anti-CD37, un anticuerpo anti-CD20 o un anticuerpo anti-CD52, y en el que el anticuerpo anti-CD20 se selecciona opcionalmente entre rituximab, tositumomab, ibritumomab, obinutuzumab y ofatumumab.
- 10 13. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo; en el que el segundo agente activo es un inhibidor de HDAC seleccionado entre belinostat, vorinostat, panobinostat, ACY-1215 y romidepsina.
- 15 14. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo; en el que el segundo agente activo es un inhibidor de MEK seleccionado entre tametinib/GSK1120212, selumetinob, pimasertib/AS703026/MSK1935369, XL-518/GDC-0973, refametinib/BAY869766/RDEA119, PD-0325901, TAK733, MEK162 / ARRY438162, RO5126766, WX-554, RO4987655/CH4987655 y AZD8330.
- 20 15. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo en el que el segundo agente activo es un inhibidor de EZH2 seleccionado entre EPZ-6438, GSK-126, GSK-343, Ell y 3-deazaneplanocina A (DNNep).
- 25 16. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo en el que el segundo agente activo es un inhibidor de PLK-1 seleccionado entre volasertib (BI6727), BI2536, ZK-tiazolidona, TAK-960, MLN0905, GSK461364, rigosertib (ON-01910) y HMN-214.
- 30 17. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo, y si la neoplasia maligna hemática es LNHi, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o lenalidomida, o una combinación de los mismos.
- 35 18. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo, y si la neoplasia maligna hemática es LLC, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o lenalidomida, o una combinación de los mismos,
- 40 19. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo, y si la neoplasia maligna hemática es LDLBG, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina, R-GDP o ibrutinib, o una combinación de los mismos.
- 45 20. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo, y si la neoplasia maligna hemática es LDLBG, el segundo agente activo es ACY-1215.
- 50 21. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo, y si la neoplasia maligna hemática es linfoma de linfocitos T, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o romidepsina, o una combinación de los mismos.
- 55 22. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo, y si la neoplasia maligna hemática es linfoma de células de manto, el segundo agente activo es rituximab, bendamustina o ibrutinib, o una combinación de los mismos.
- 60 23. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el compuesto se formula para administrarse en combinación con un segundo agente activo, y si la neoplasia maligna hemática es LLA-T, y el sujeto tiene una carencia de PTEN, el segundo agente activo es doxorubicina y/o vincristina.
24. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto está presente en una composición farmacéutica.
25. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática recidivante o refractaria en un sujeto.

5

26. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



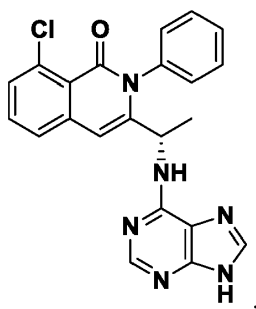
o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática en un sujeto, en combinación con un inhibidor de BTK.

10

27. El compuesto para el uso según la reivindicación 26, en el que el inhibidor de BTK se selecciona entre ibrutinib, GDC-0834, CGI-560, CGI-1746, HM-71224, AVL-292, ONO-4059, CNX-774 o LFM-A13.

15

28. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



o una sal, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o forma polimórfica del mismo, farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de una neoplasia maligna hemática en un sujeto, en combinación con un inhibidor de BCL-2.

20

29. El compuesto para el uso según la reivindicación 28, en el que el inhibidor de BCL-2 se selecciona entre ABT-199, ABT-737, ABT-263, GX15-070 (mesilato de obatoclax) o G3139 (Oblimersen).

25

30. El compuesto para el uso según cualquiera las reivindicaciones 26 a 29, en el que la neoplasia maligna hemática es recidivante o refractaria.

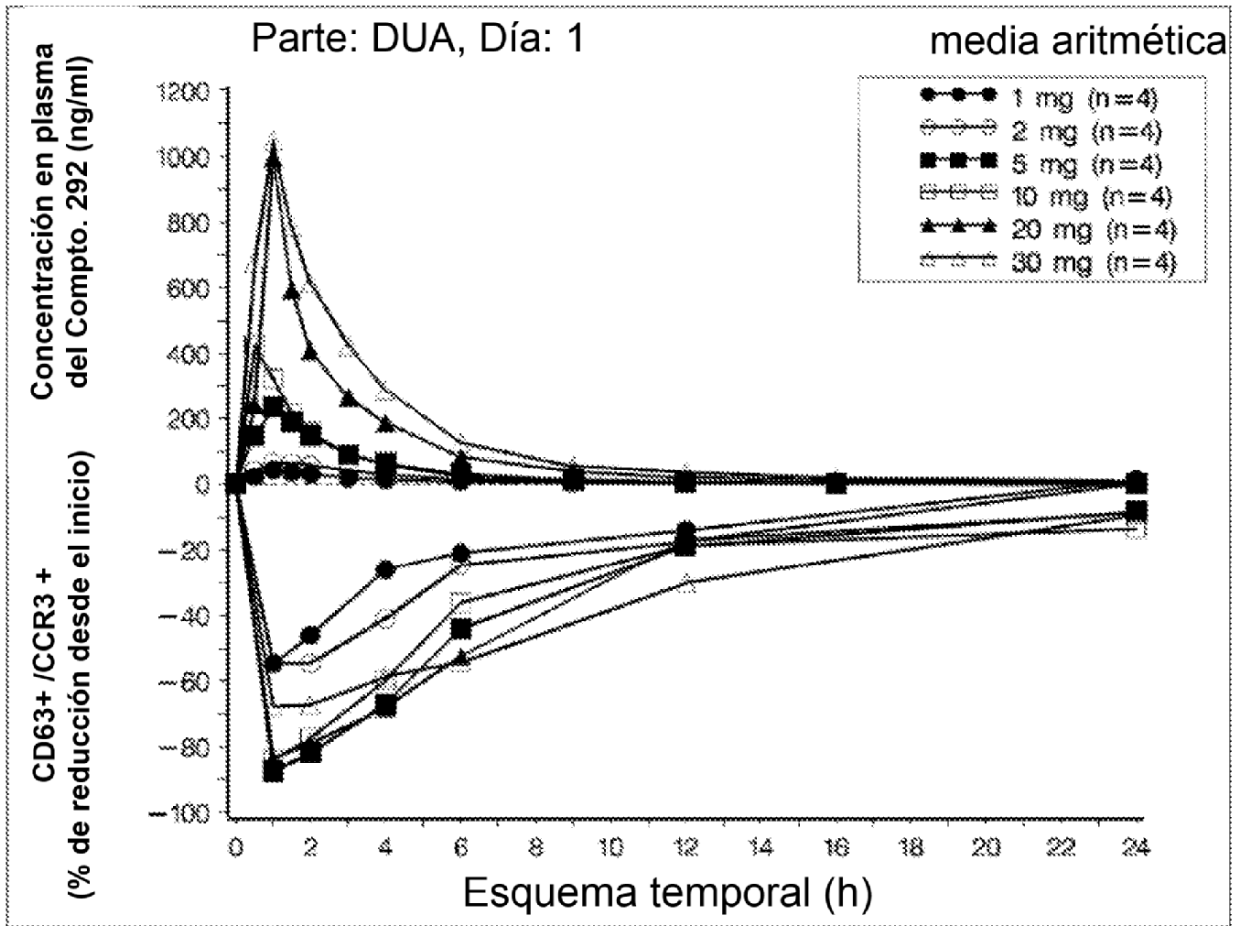
30

31. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto se utiliza tal cual.

32. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 30, en el que la forma farmacéuticamente aceptable es un hidrato.

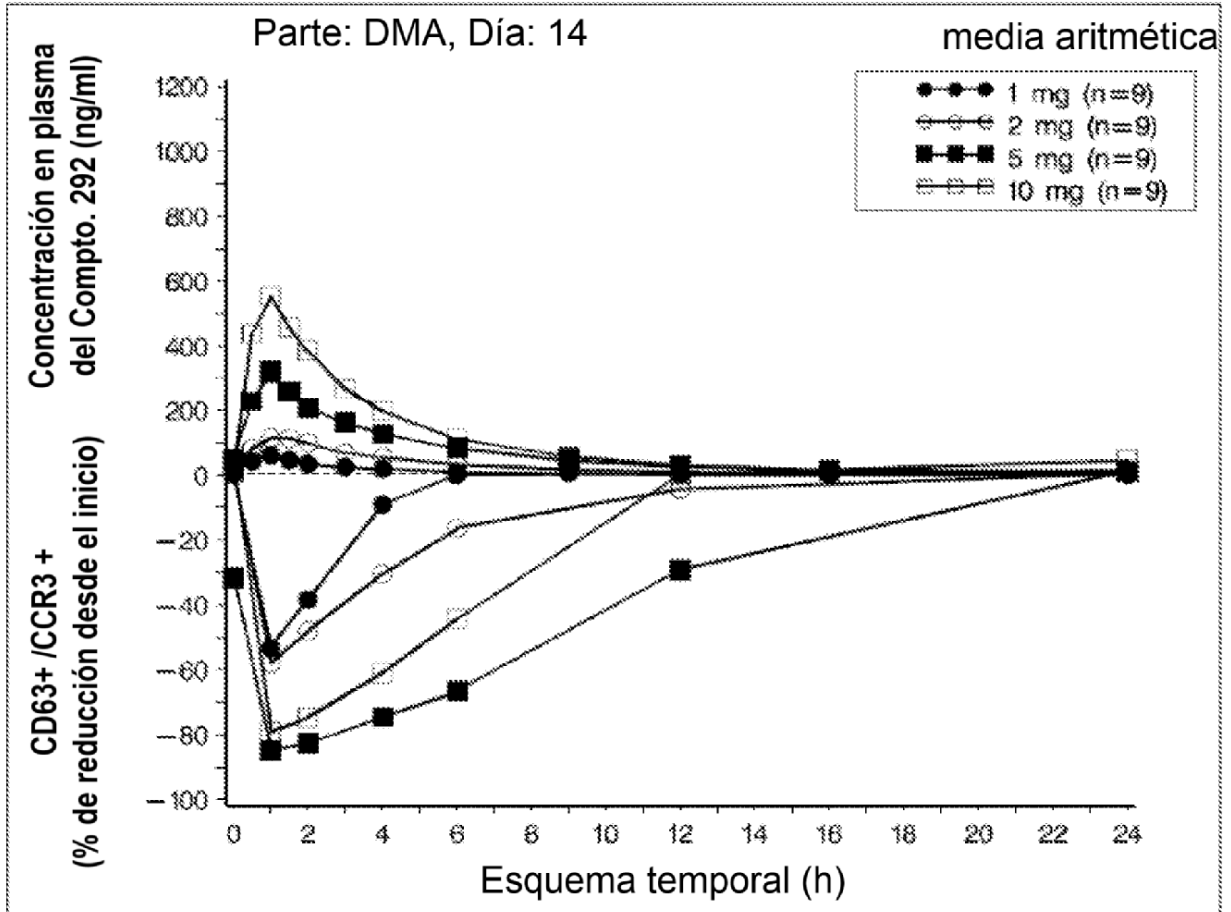


FIGURA 1



Parte DUA, dosis única CD

FIGURA 2



Parte de DMA, dosis múltiple, DVD (1, 2, 5 mg) o CD (10 mg)

FIGURA 3

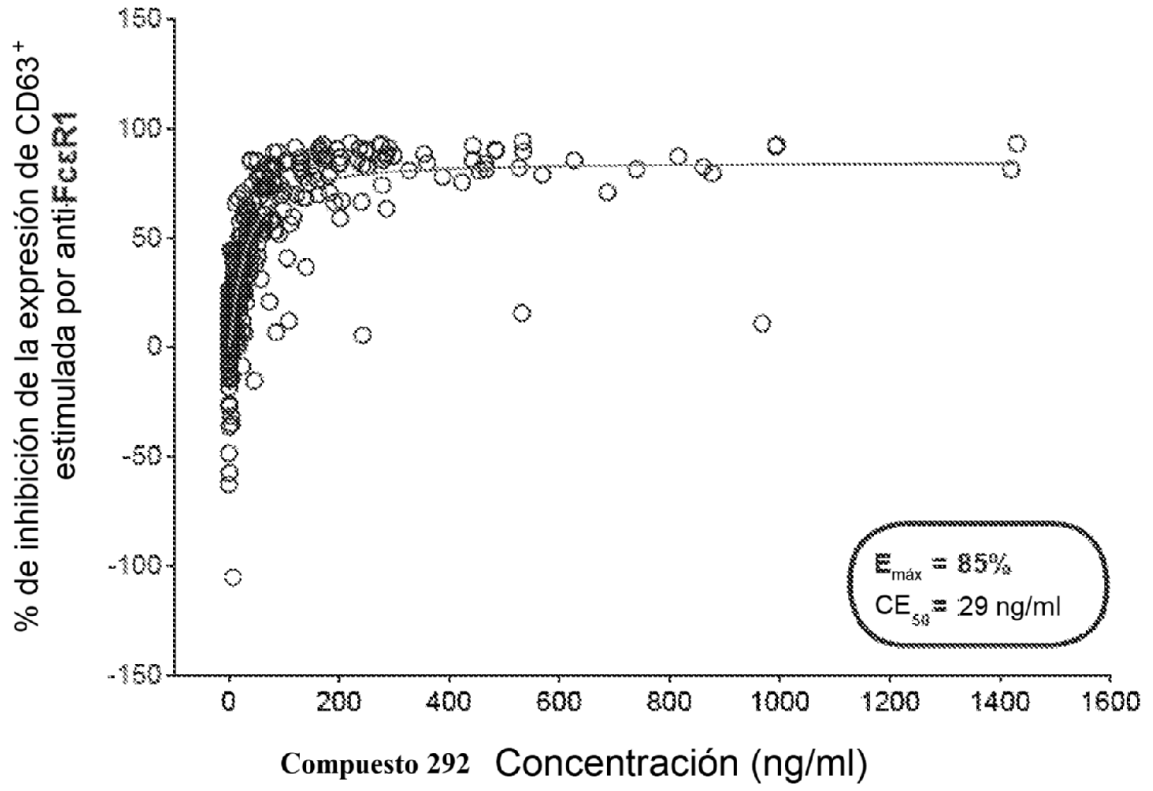


FIGURA 4

Concentraciones en plasma en estado estacionario (C2D1)

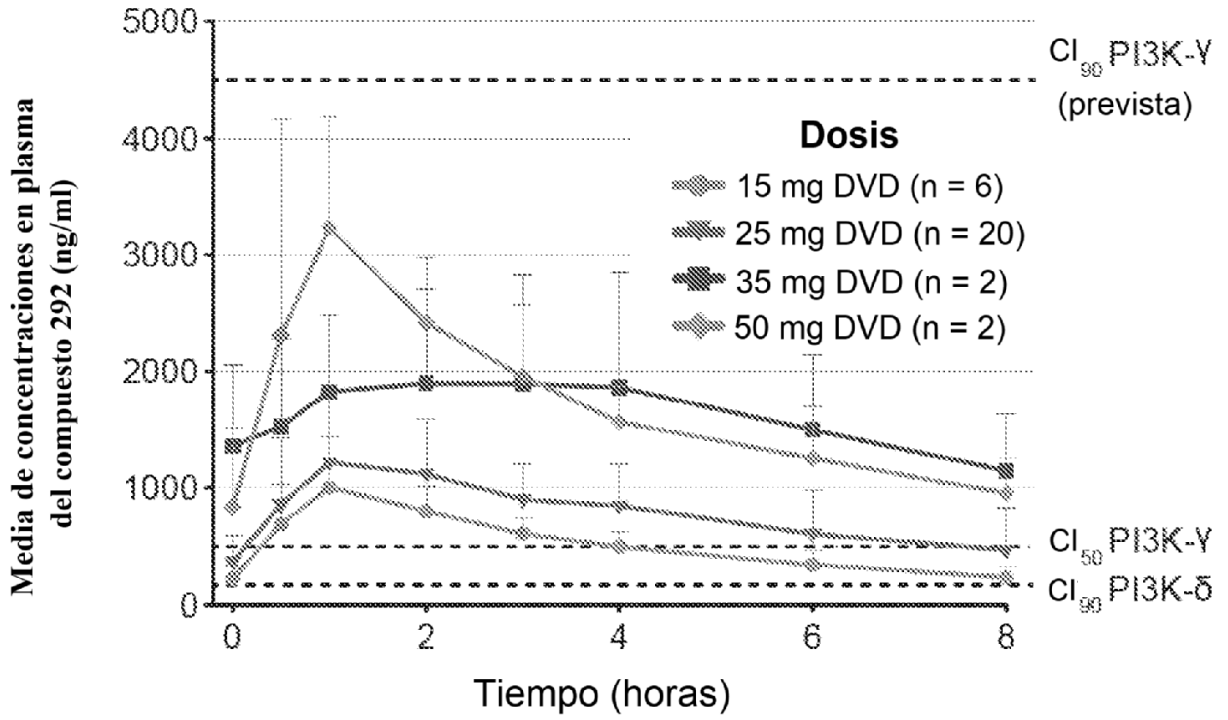


FIGURA 5

**Fosforilación de AKT en células de pacientes con LLC (pacientes individuales a 25 mg DVD)**

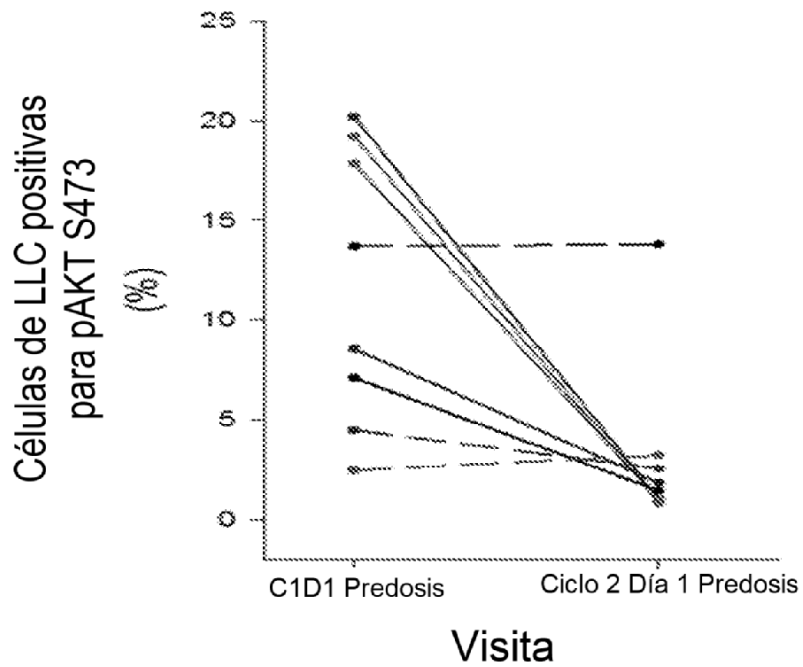
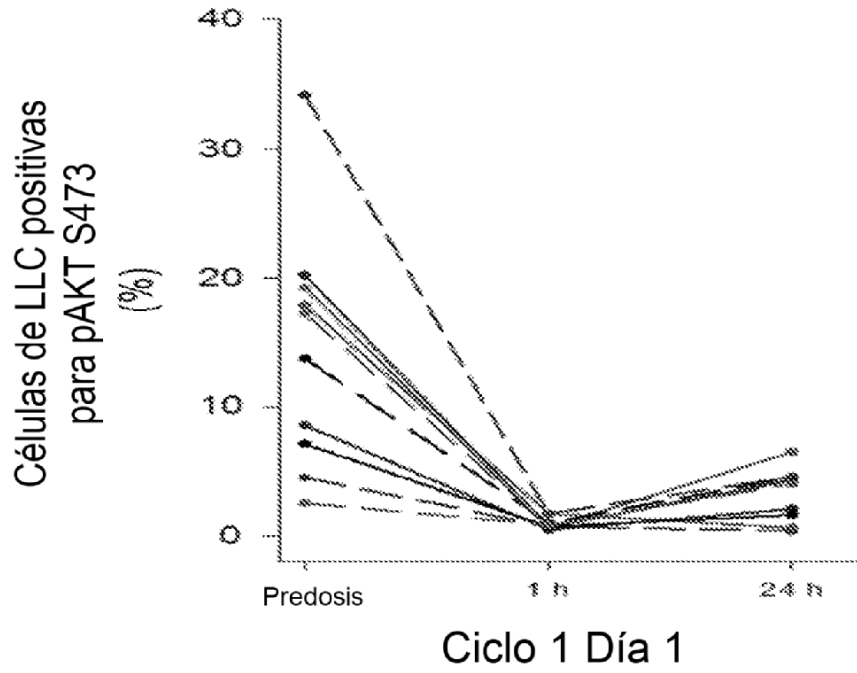




FIGURA 7

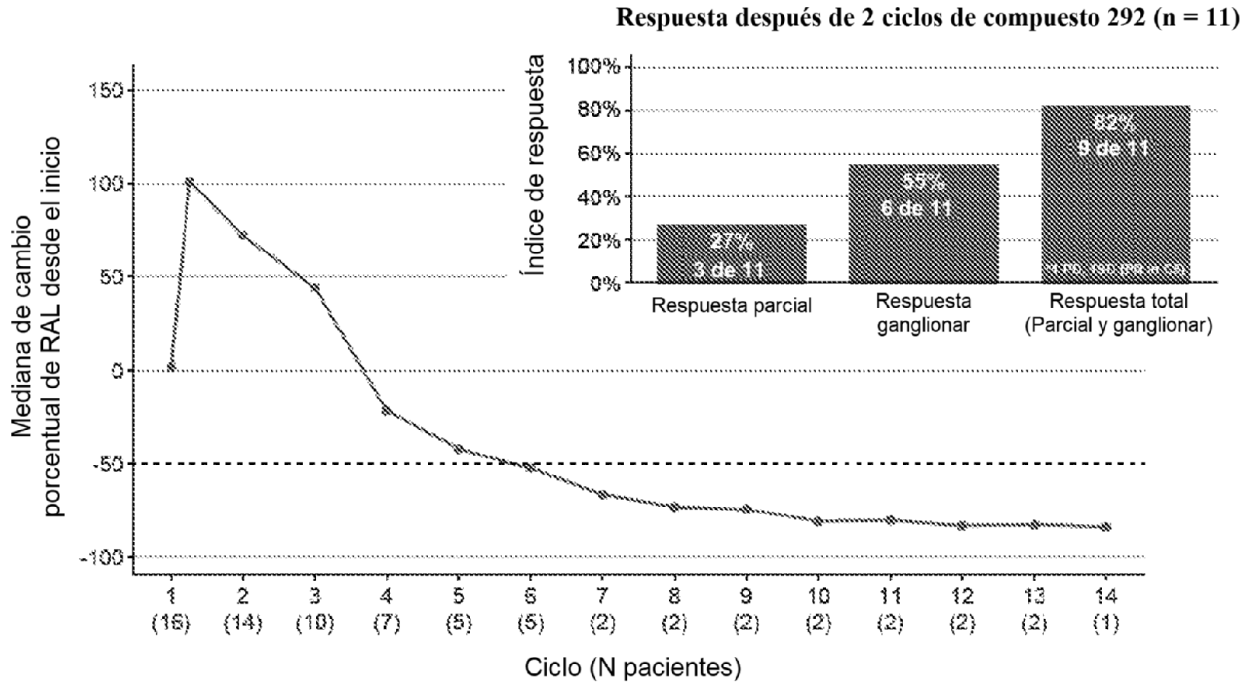
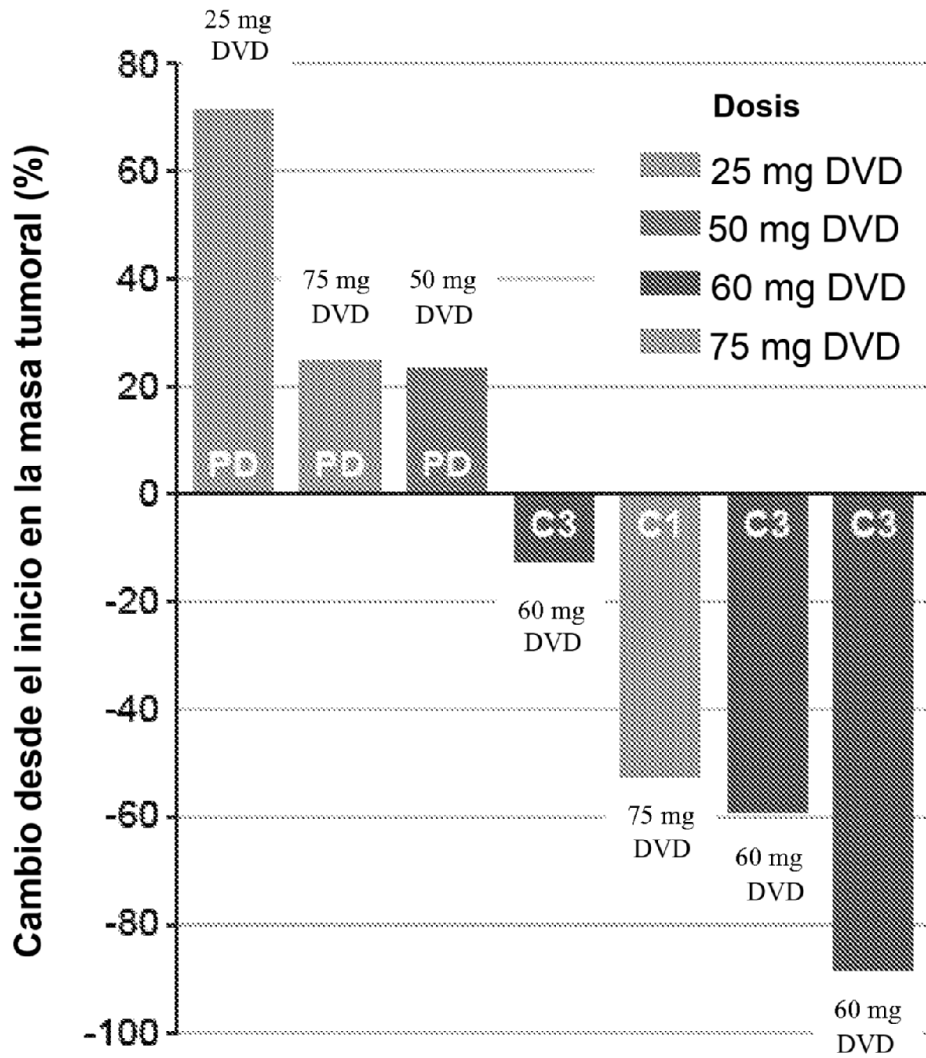
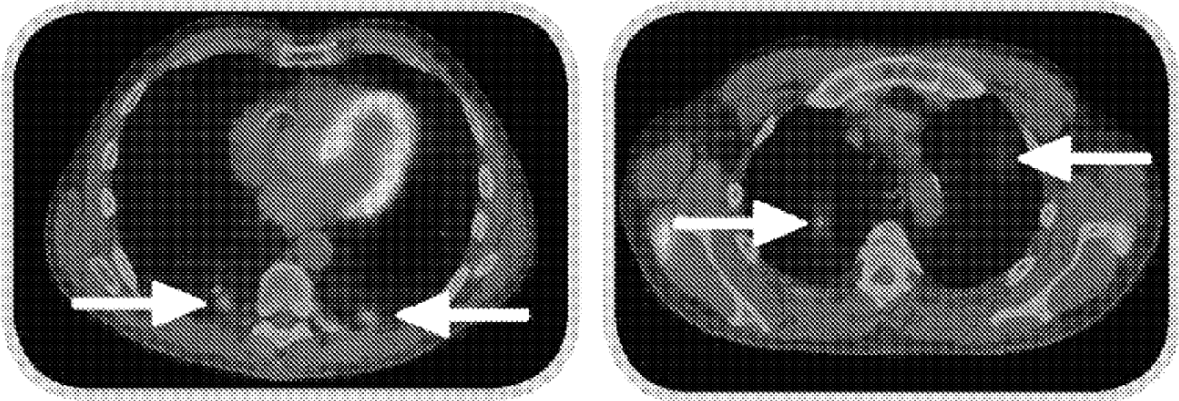


FIGURA 8

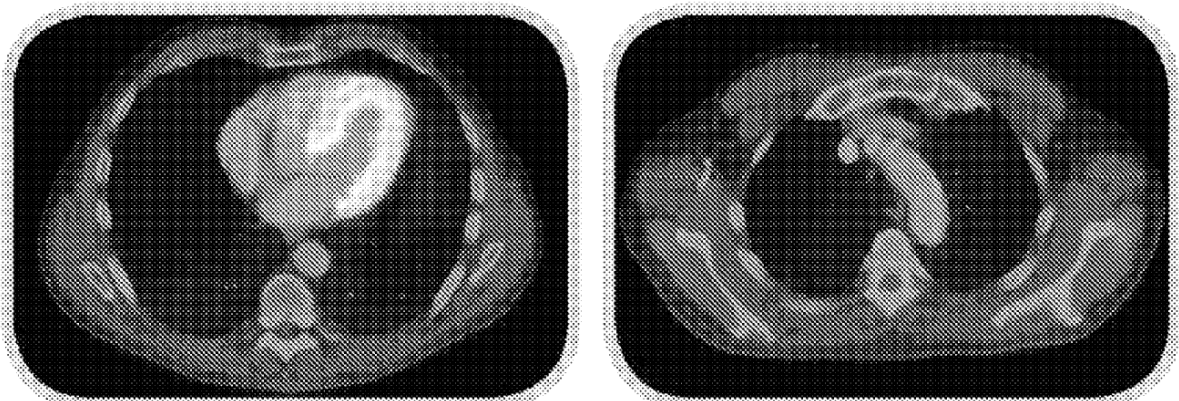




**FIGURA 9**



**TEP/TC Antes del tratamiento con el compuesto 292**



**TEP/TC después de 2 ciclos de tratamiento con el compuesto 292**

FIGURA 10

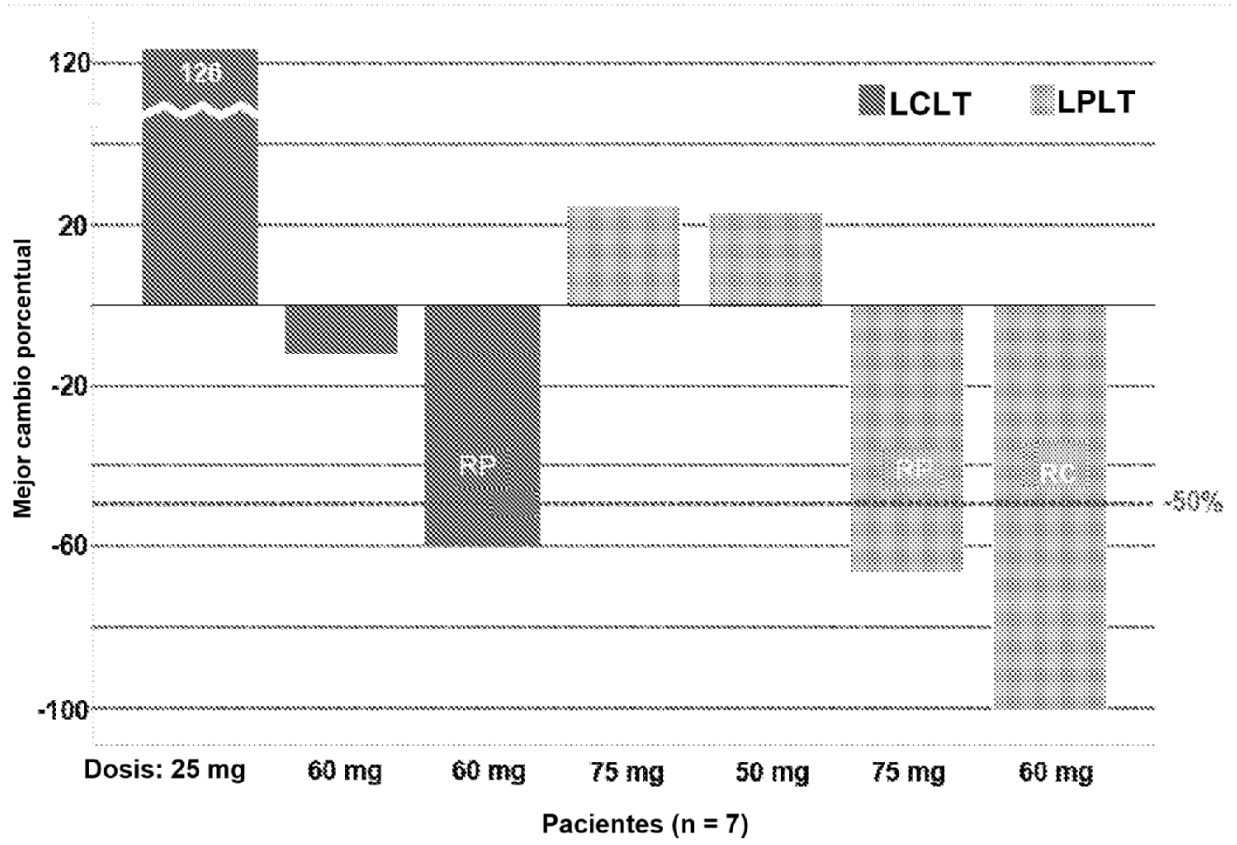


FIGURA 11

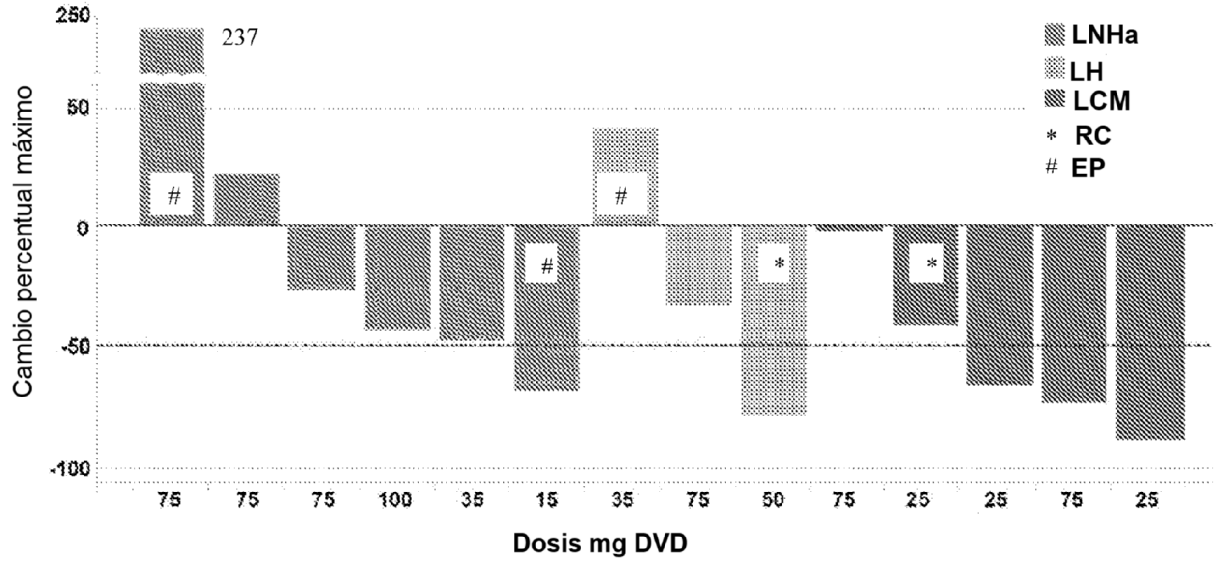
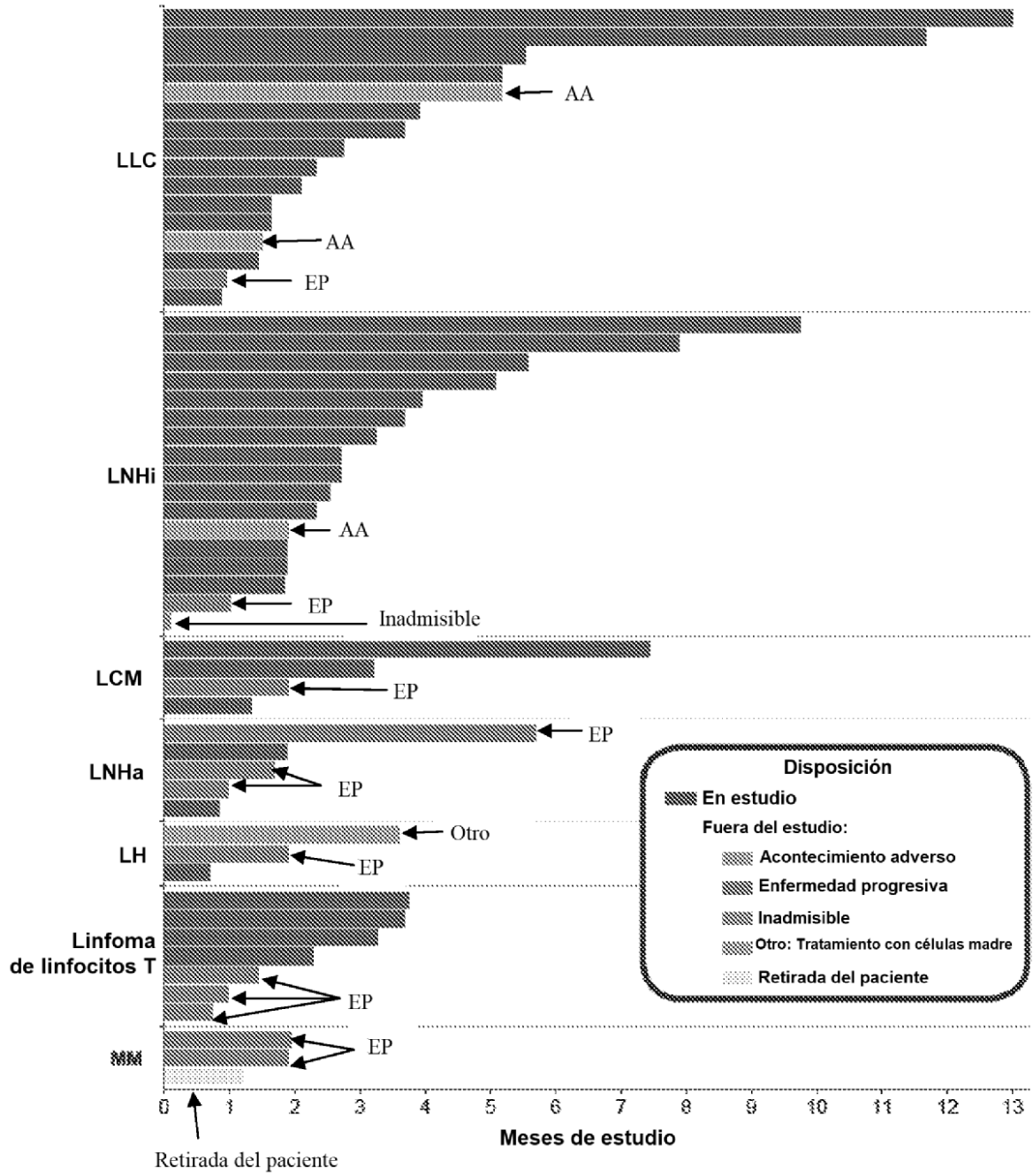


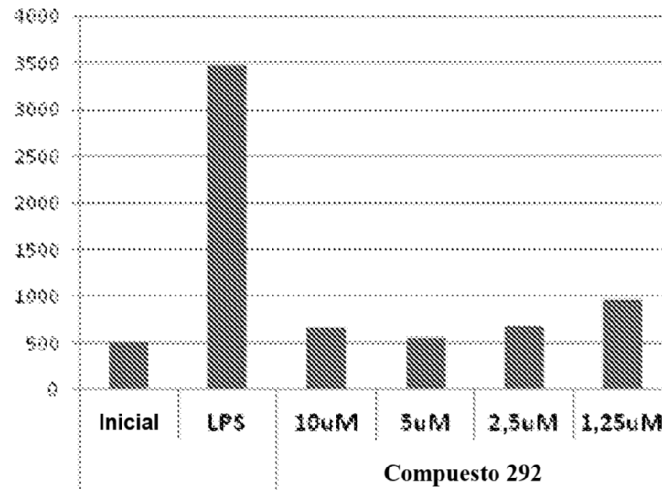


FIGURA 13



**FIGURA 14**

**TNF $\alpha$**



**IL-10**

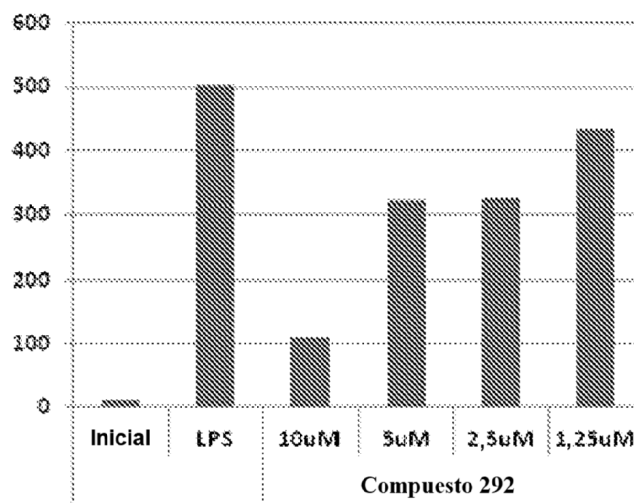


FIGURA 15

**CXCL13 en suero**

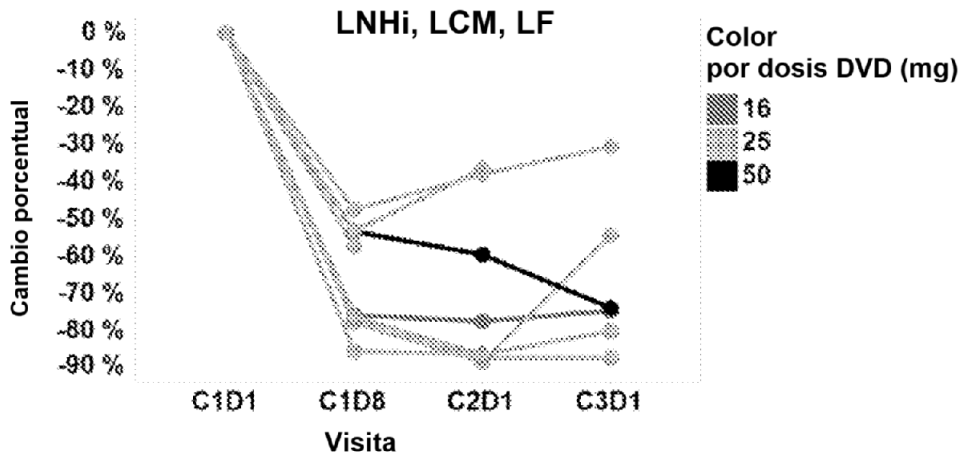
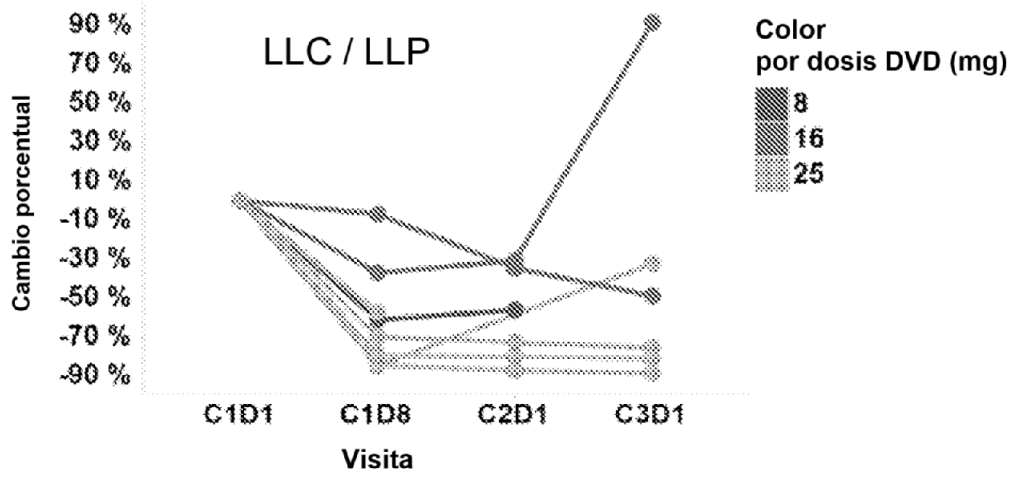


FIGURA 16

**CCL4 en suero**

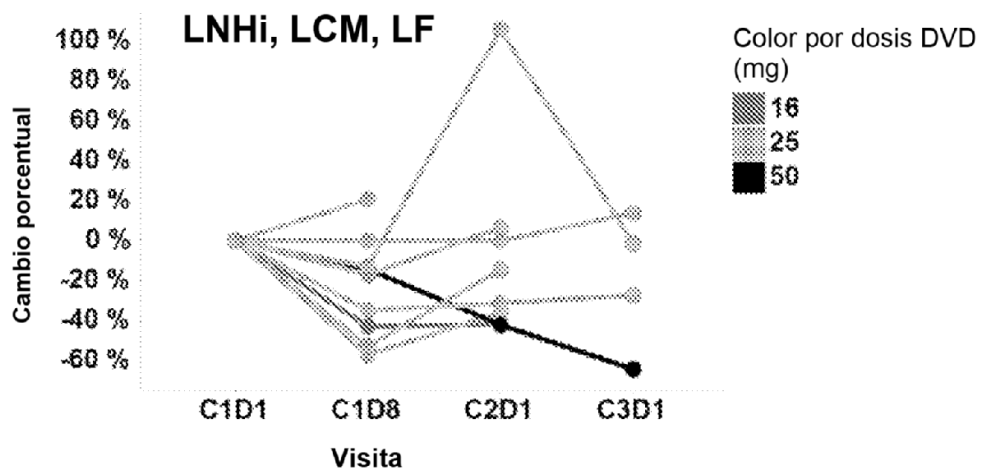
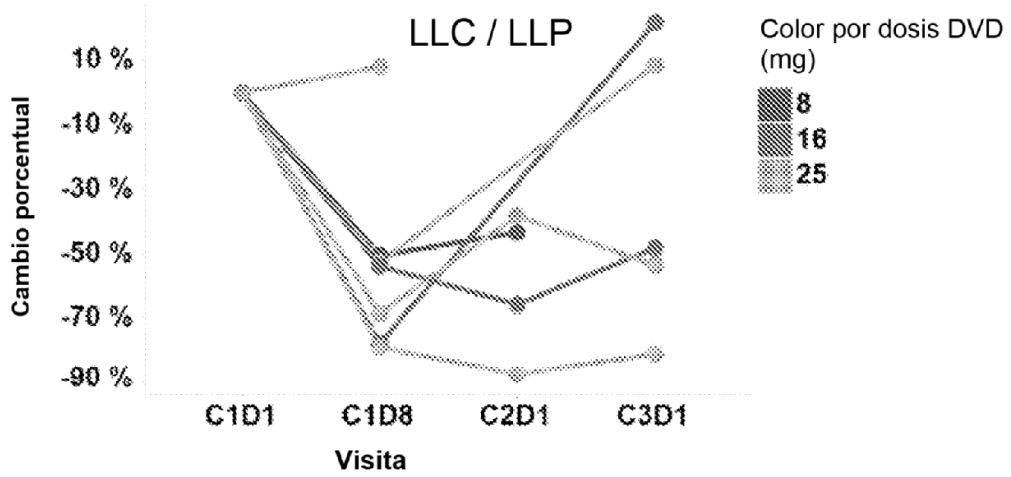




FIGURA 17

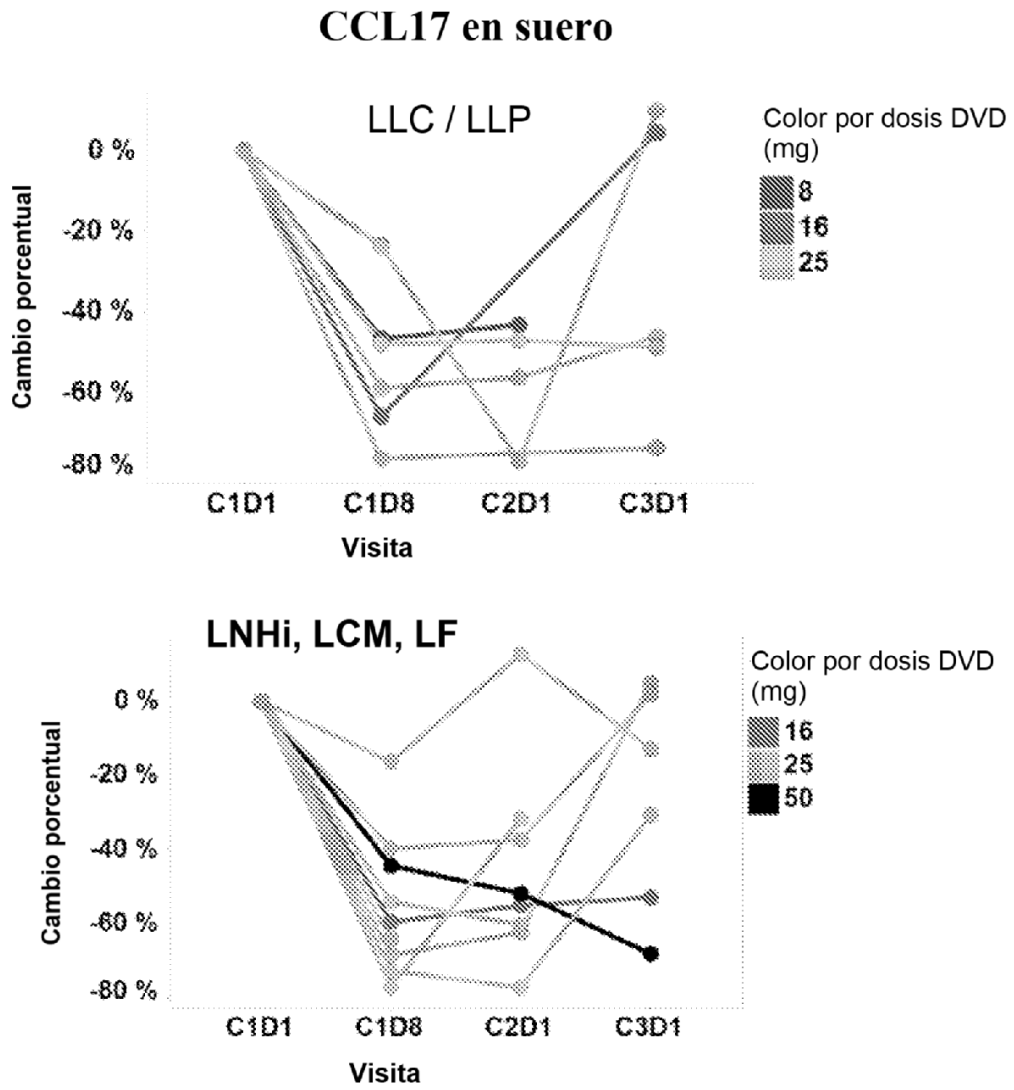


FIGURA 18

**CCL22 en suero**

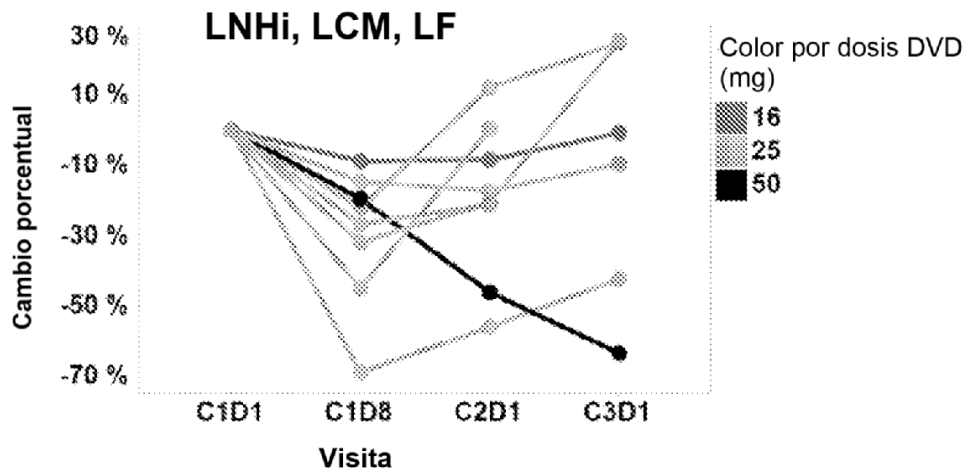
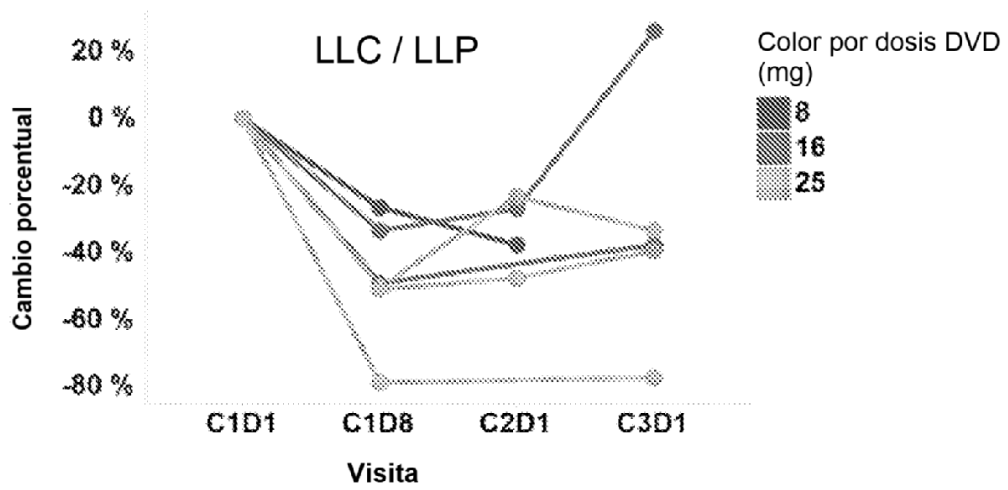


FIGURA 19

**TNF- $\alpha$  en suero**

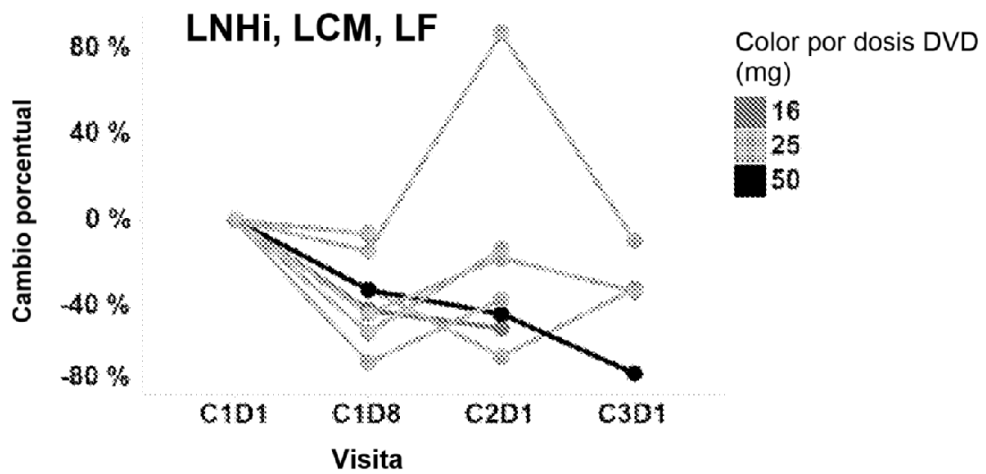
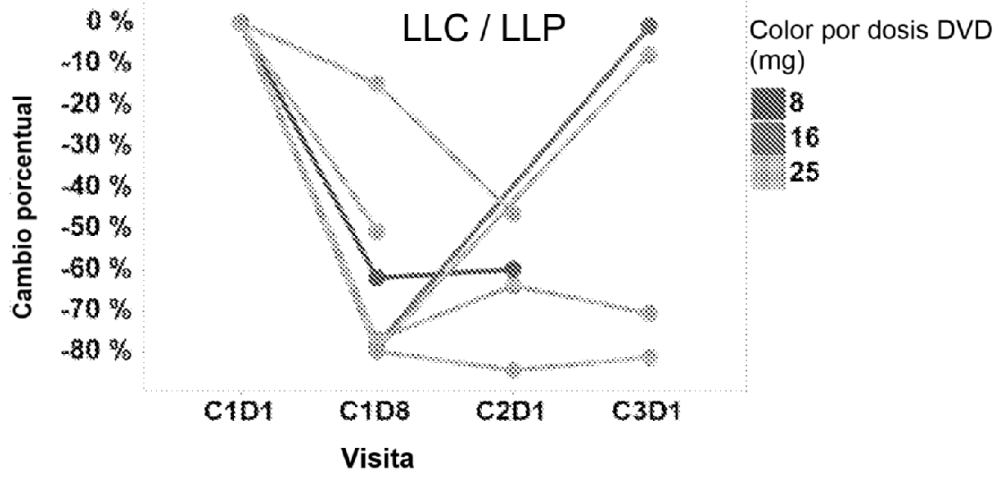


FIGURA 20

**MMP9 en suero**

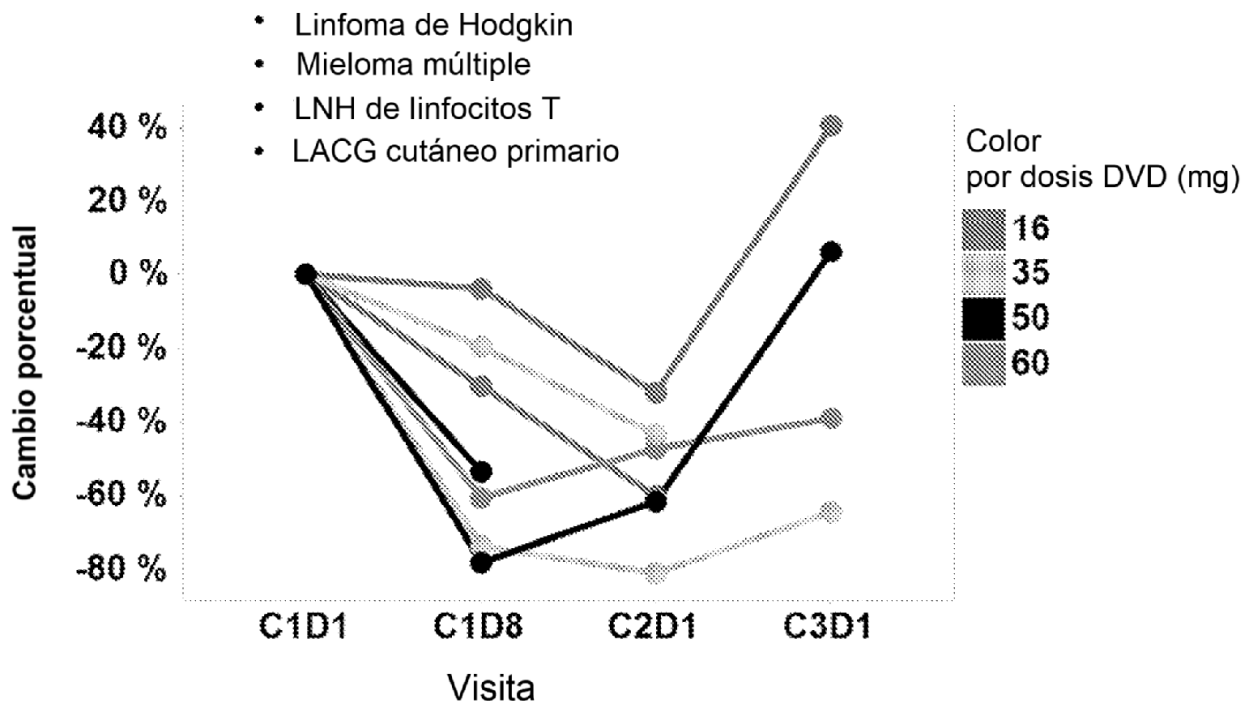


FIGURA 21

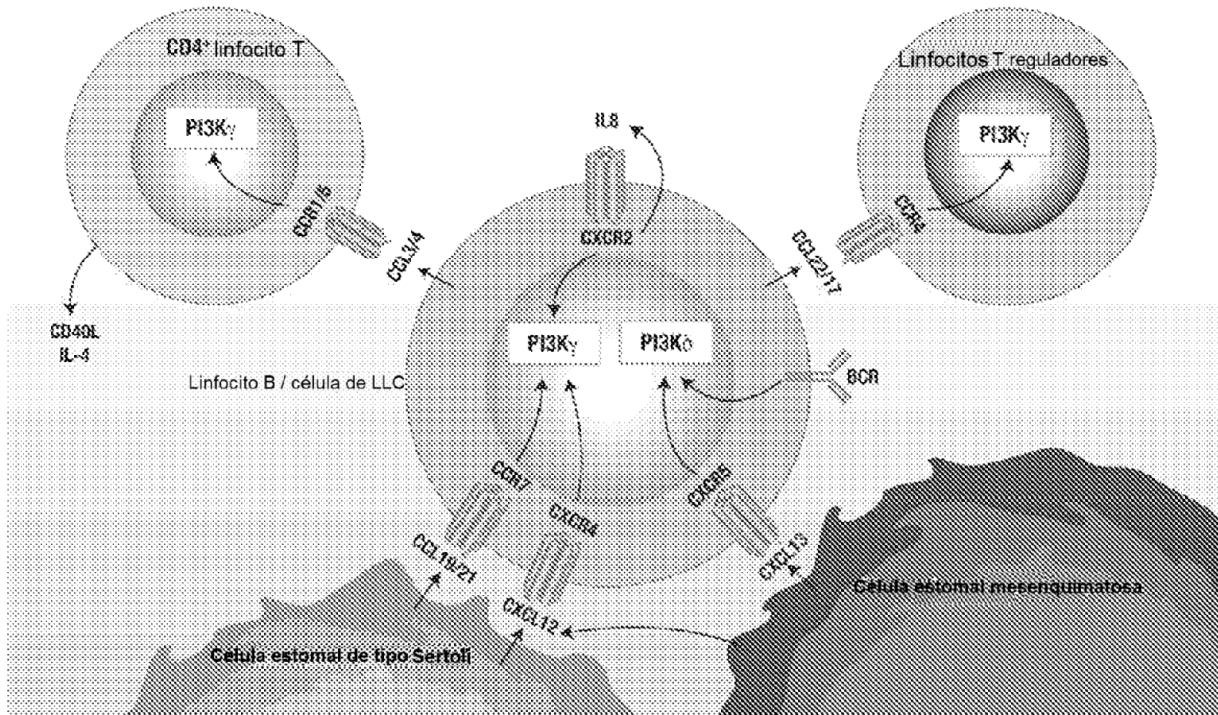


FIGURA 22

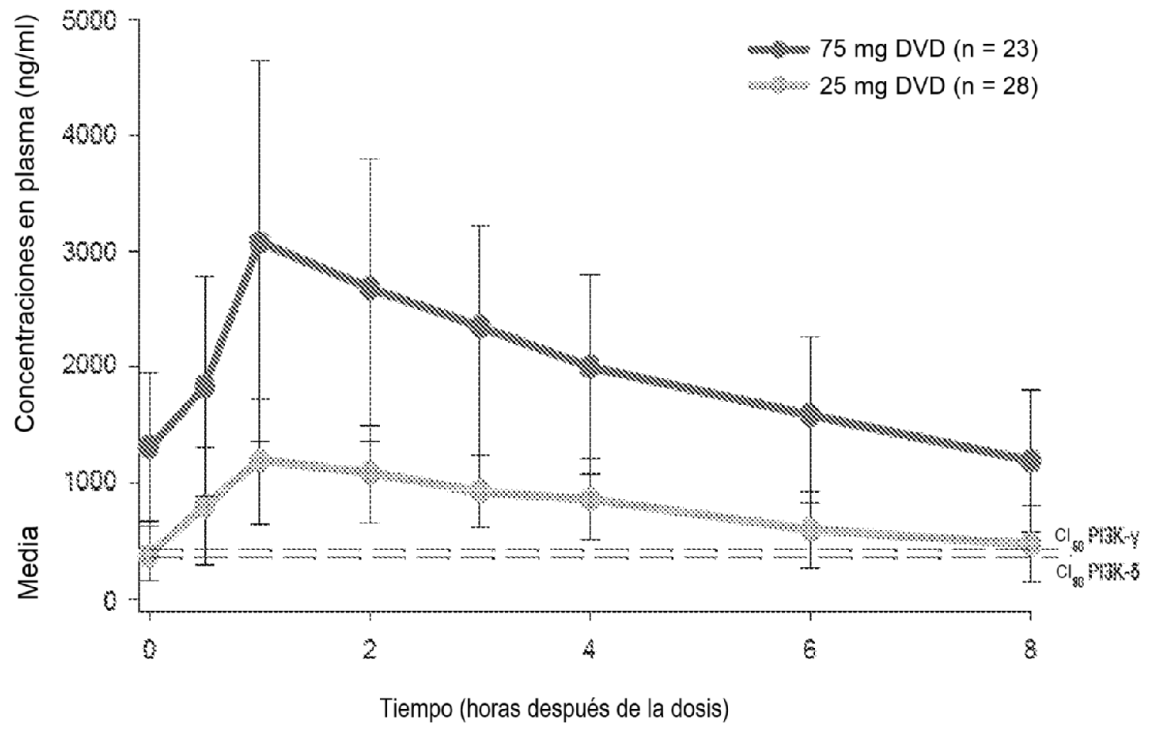


FIGURA 23

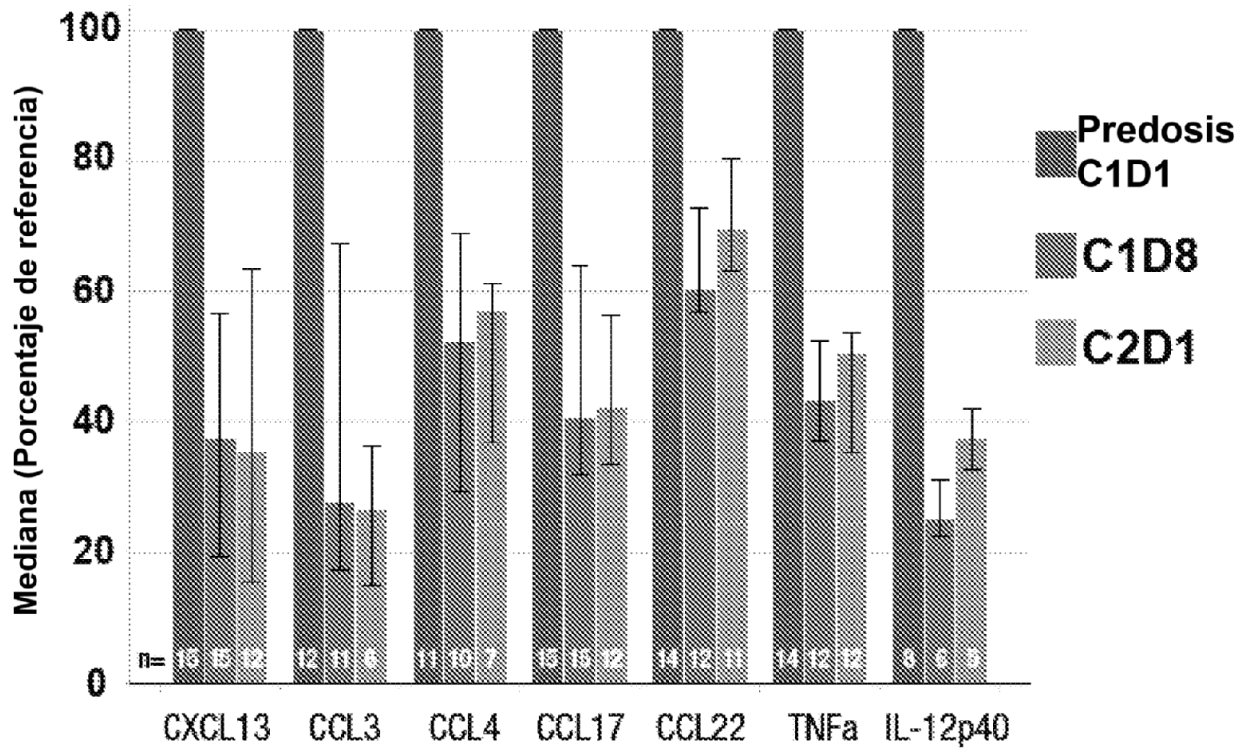


FIGURA 24

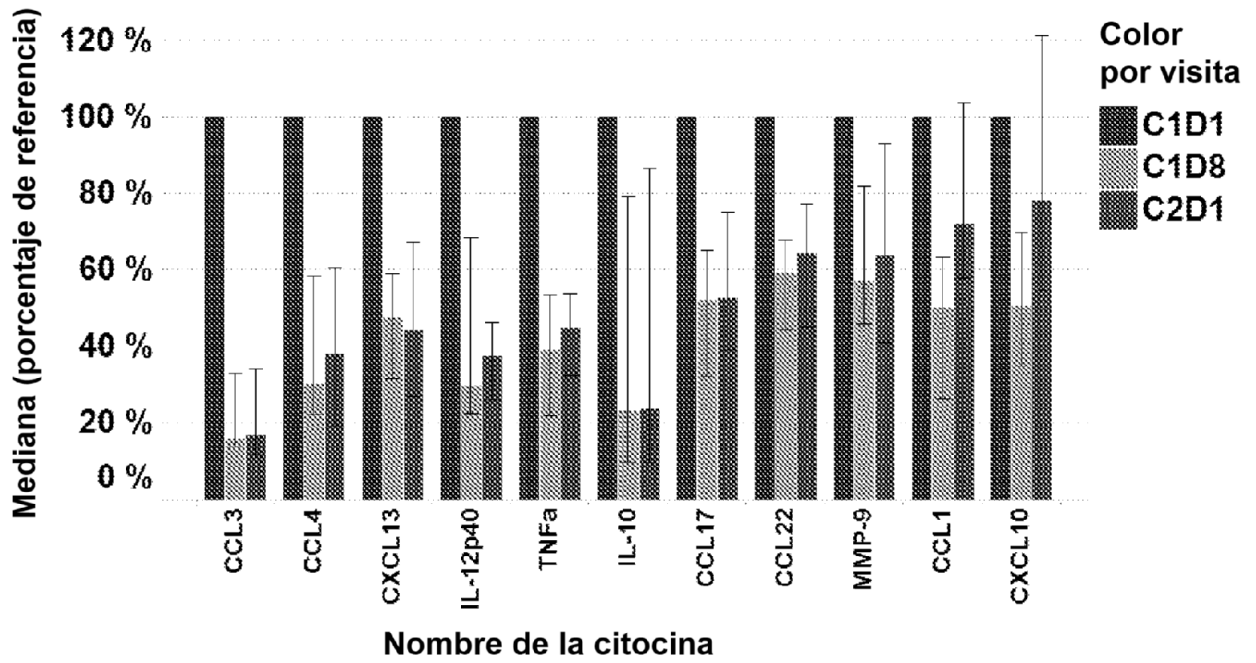




FIGURA 25

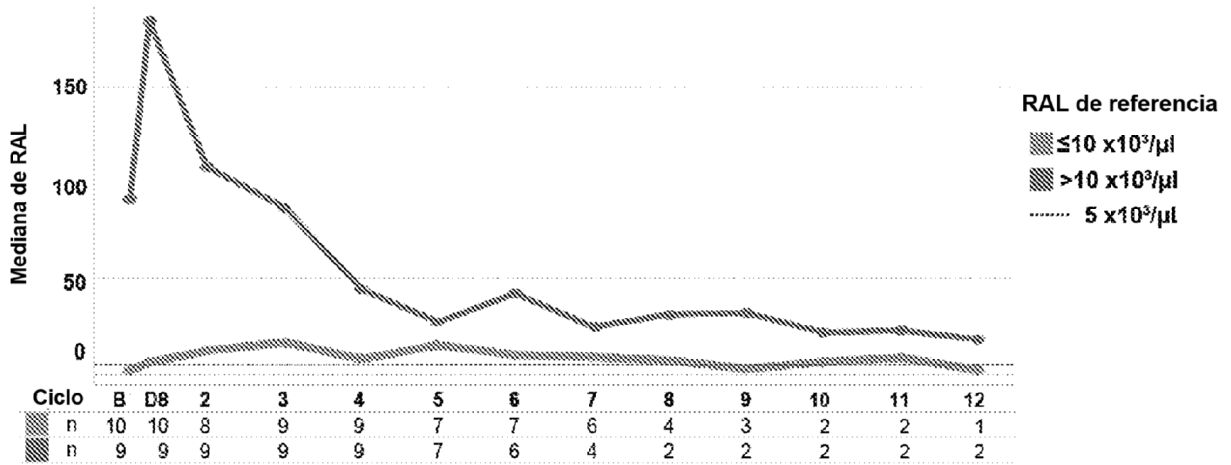


FIGURA 26

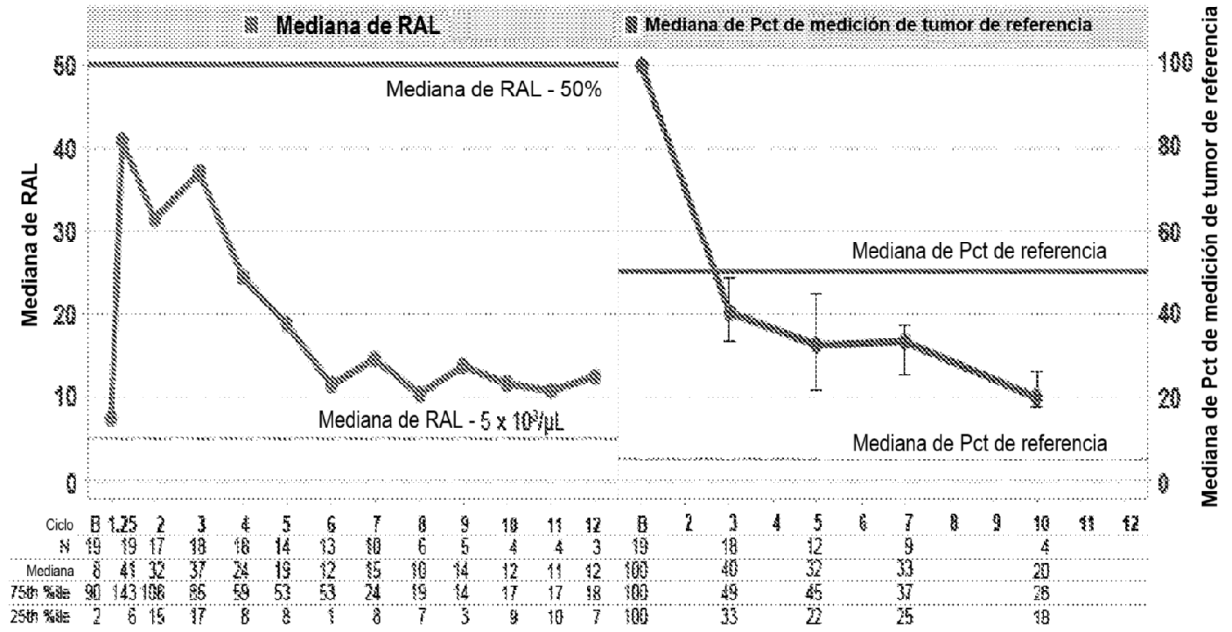


FIGURA 27

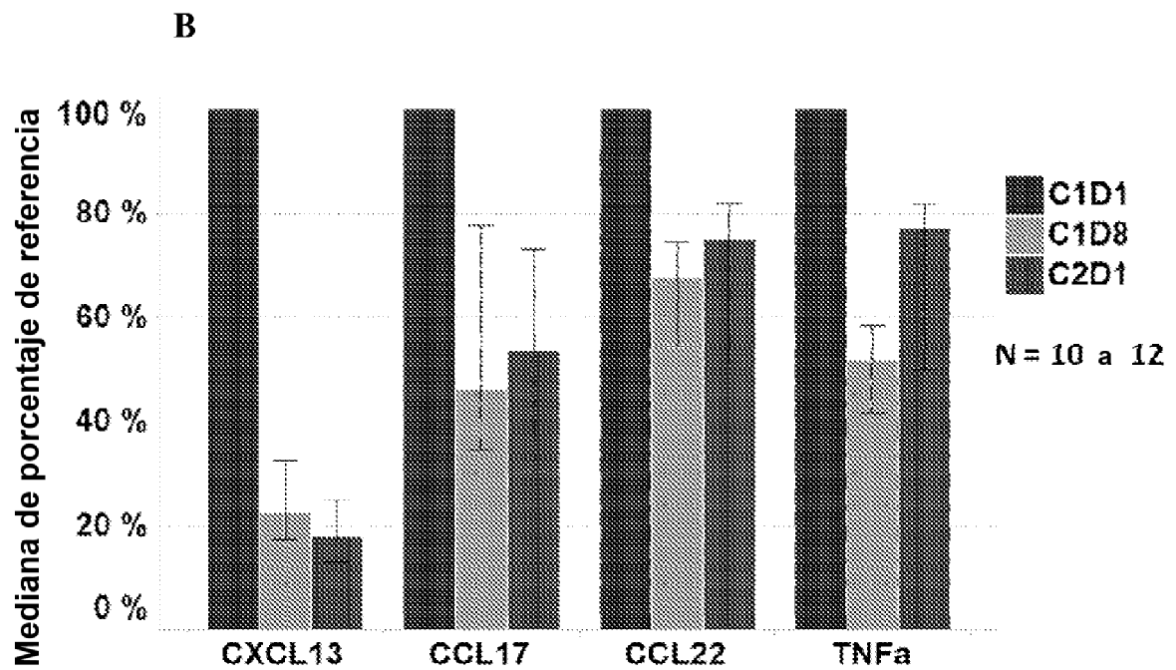
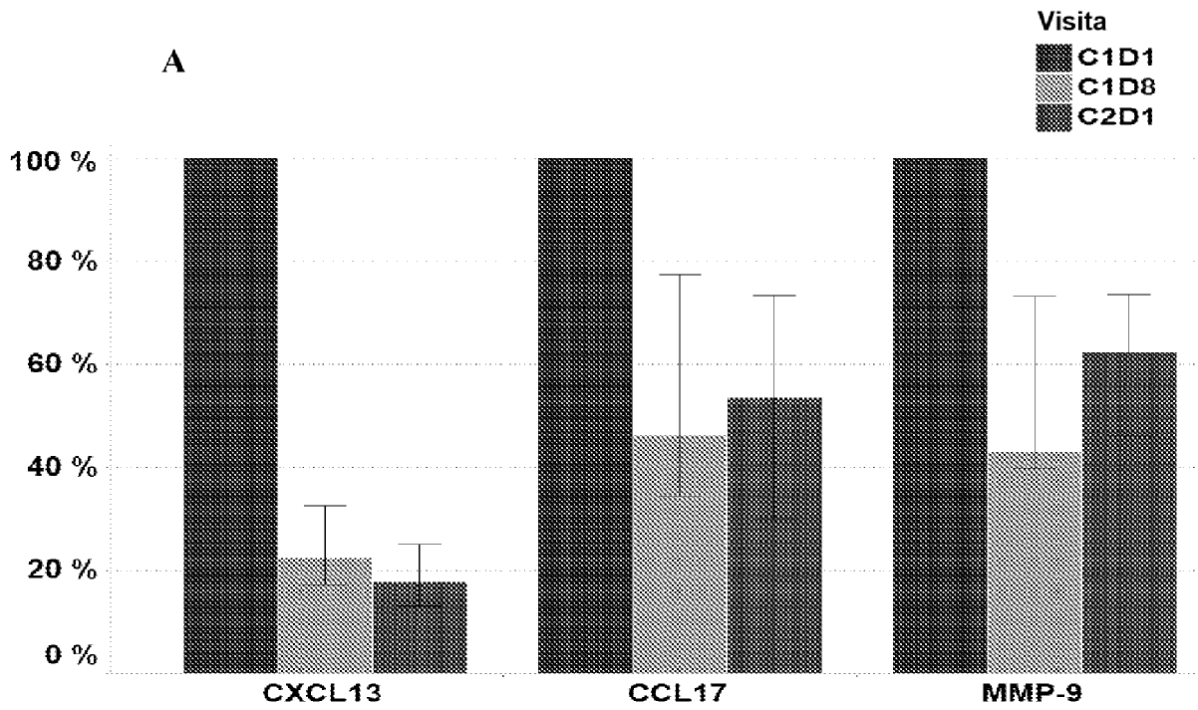


FIGURA 28

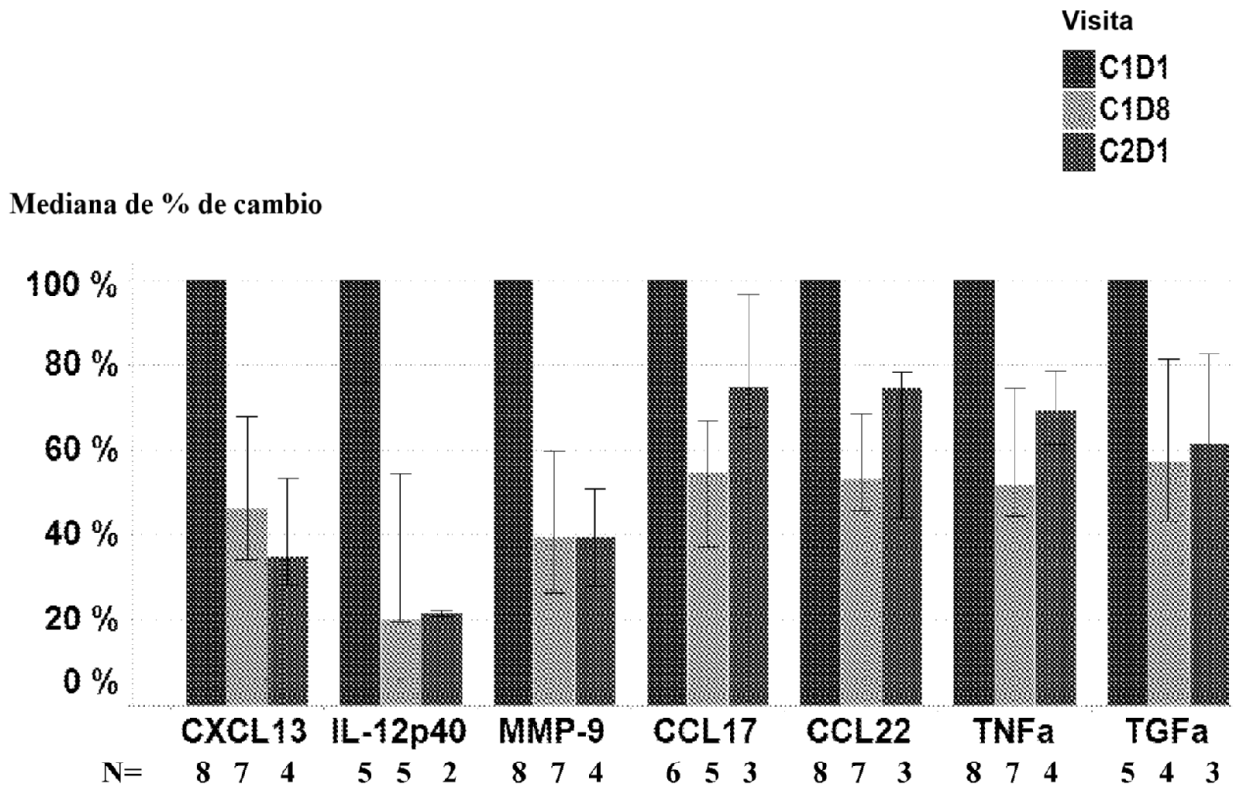


FIGURA 29

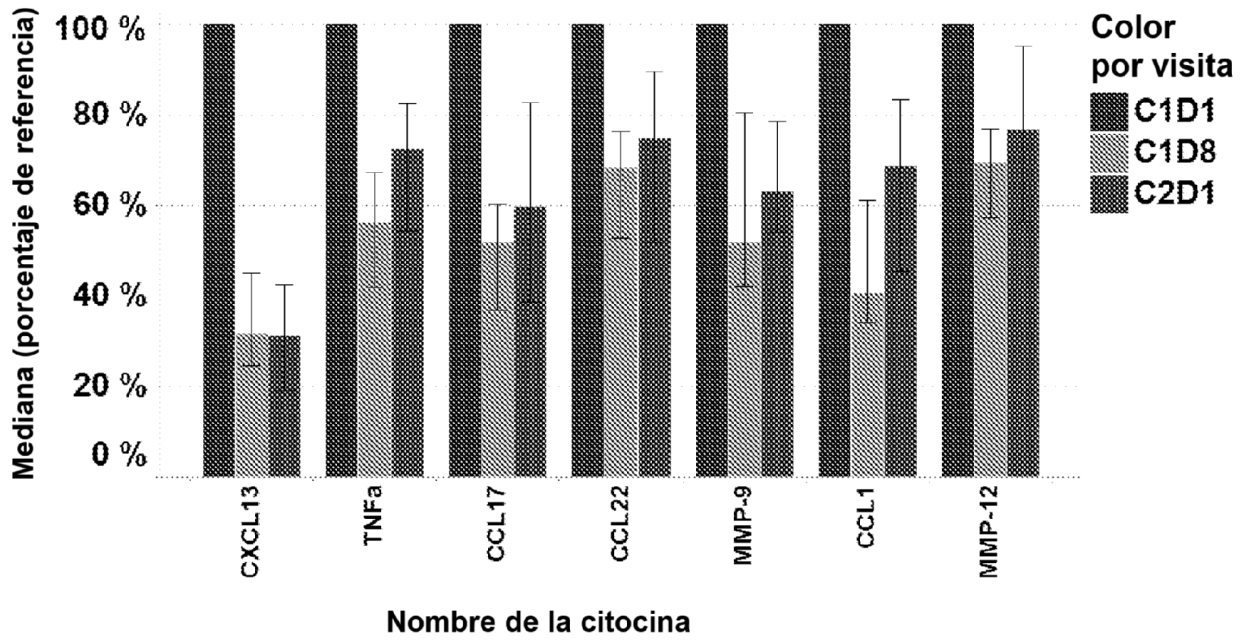


FIGURA 30

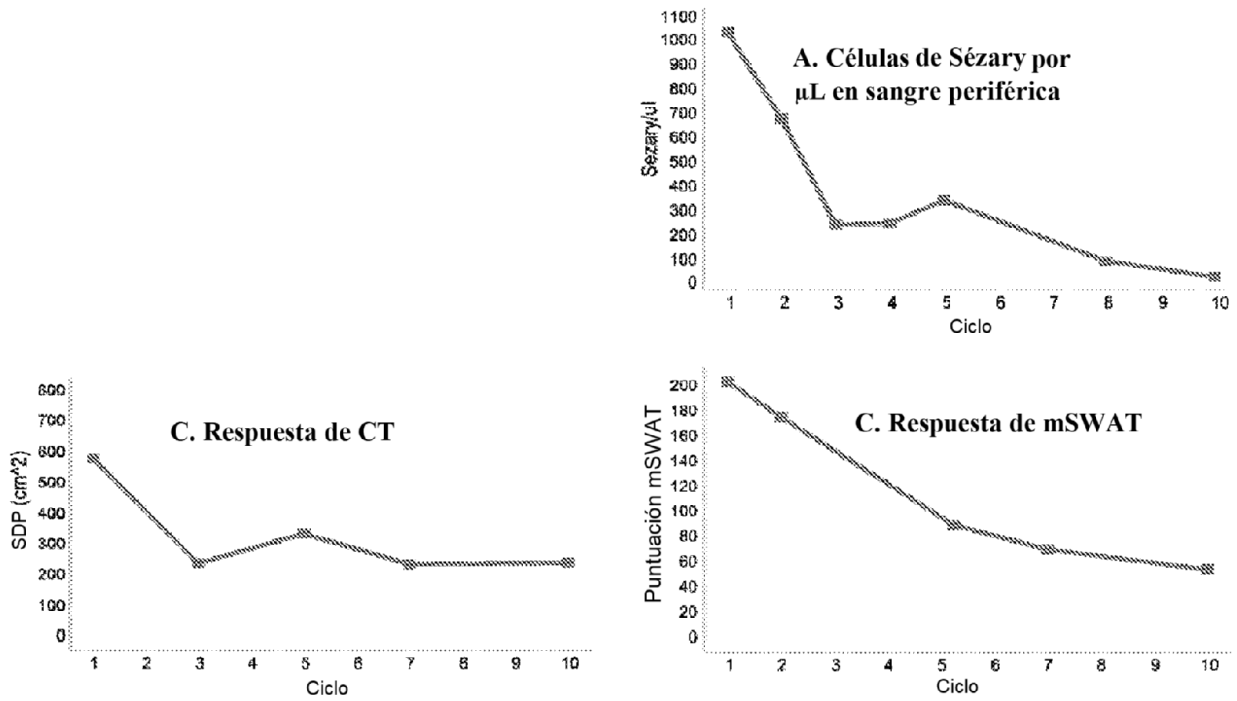


FIGURA 31

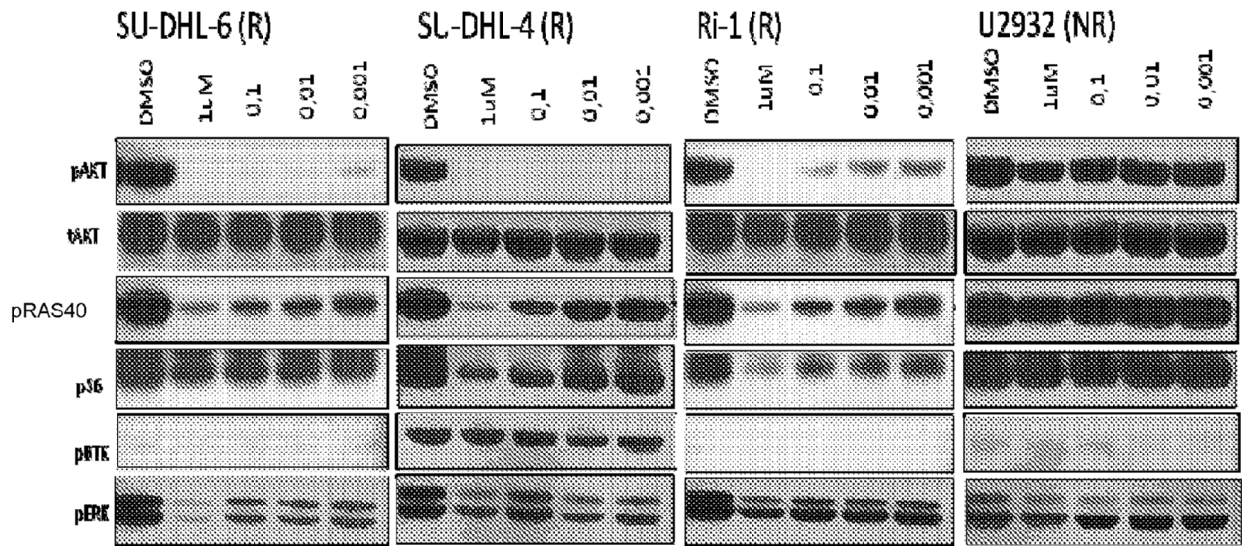
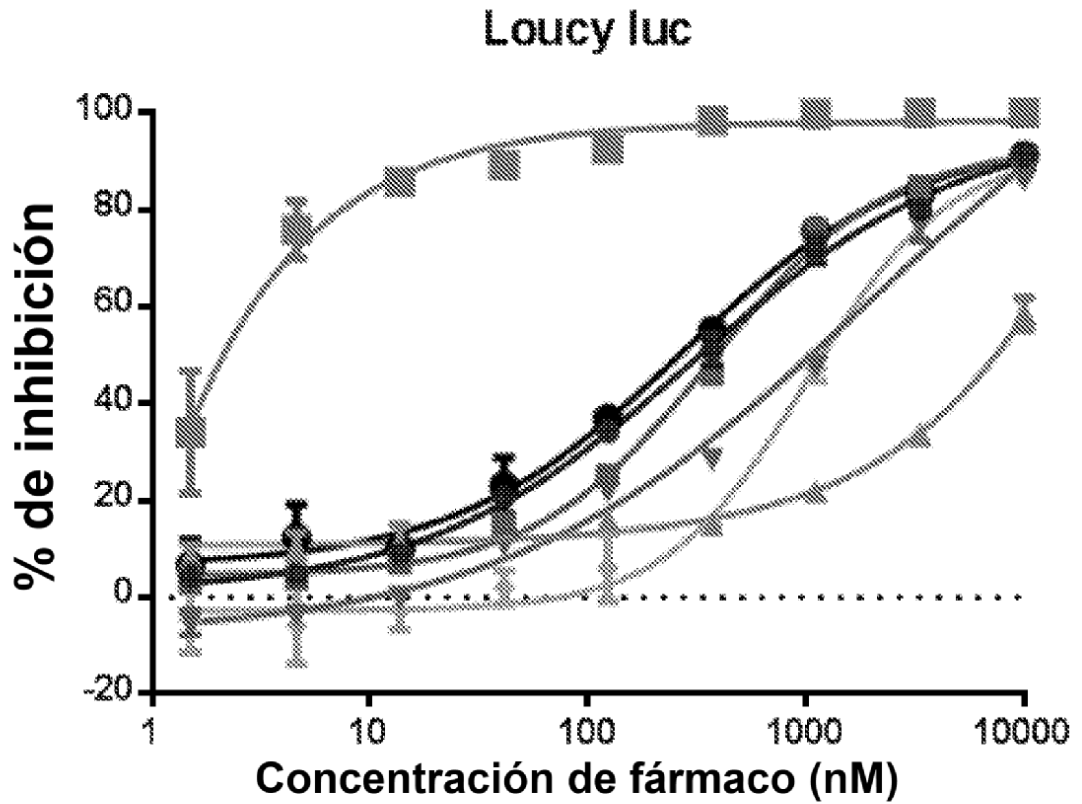


FIGURA 32



CI<sub>50</sub>

◆	Compuesto 292	311 nM
■	Inhibidor selectivo de $\delta/\gamma$	366 nM
▲	Inhibidor selectivo de B	
▼	Inhibidor selectivo de $\gamma$	1877 nM
◇	Inhibidor selectivo de $\delta$	1013 nM
●	Inhibidor selectivo de $\delta/\gamma$	272 nM
■	Doxorrubicina	



FIGURA 33

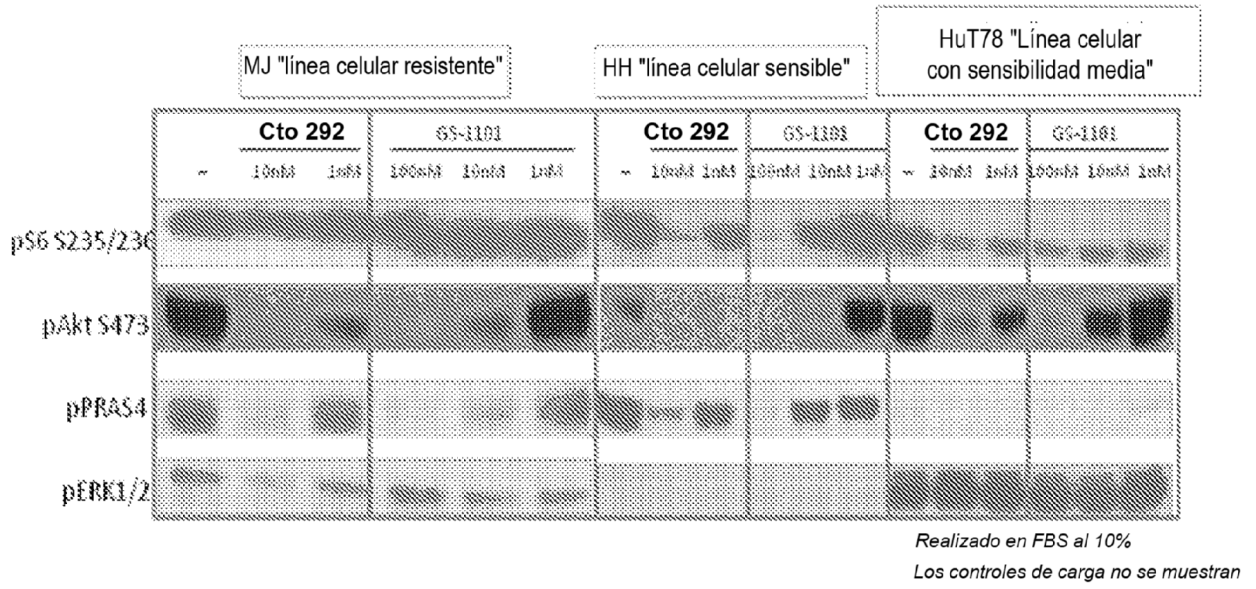


FIGURA 34

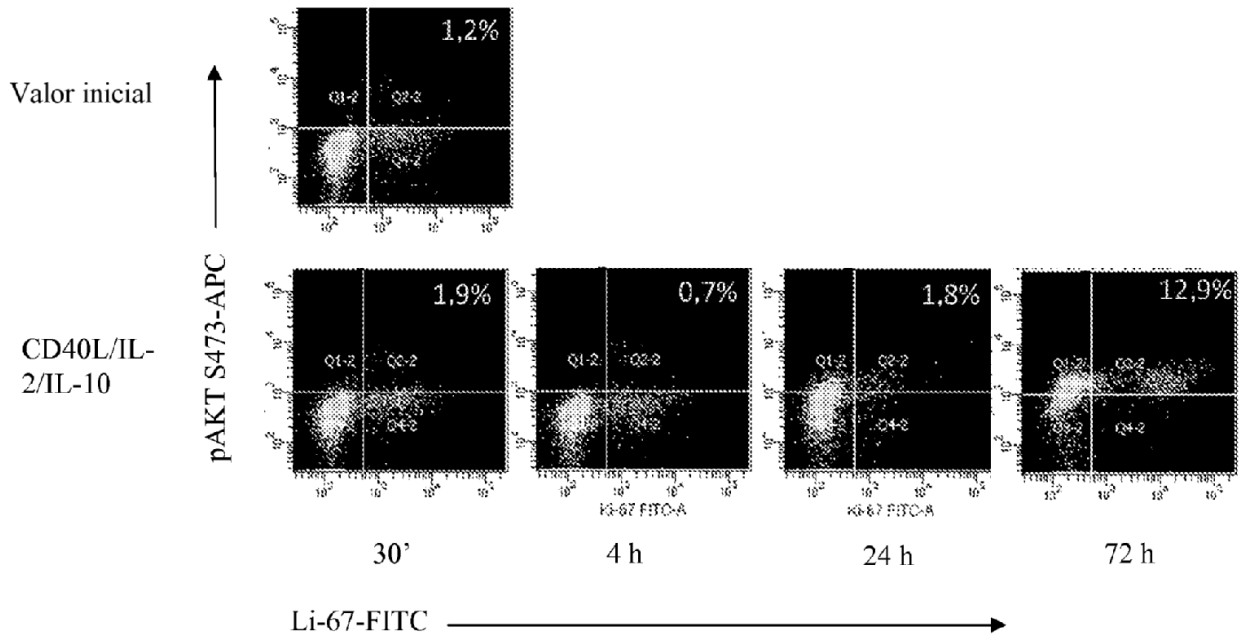


FIGURA 35

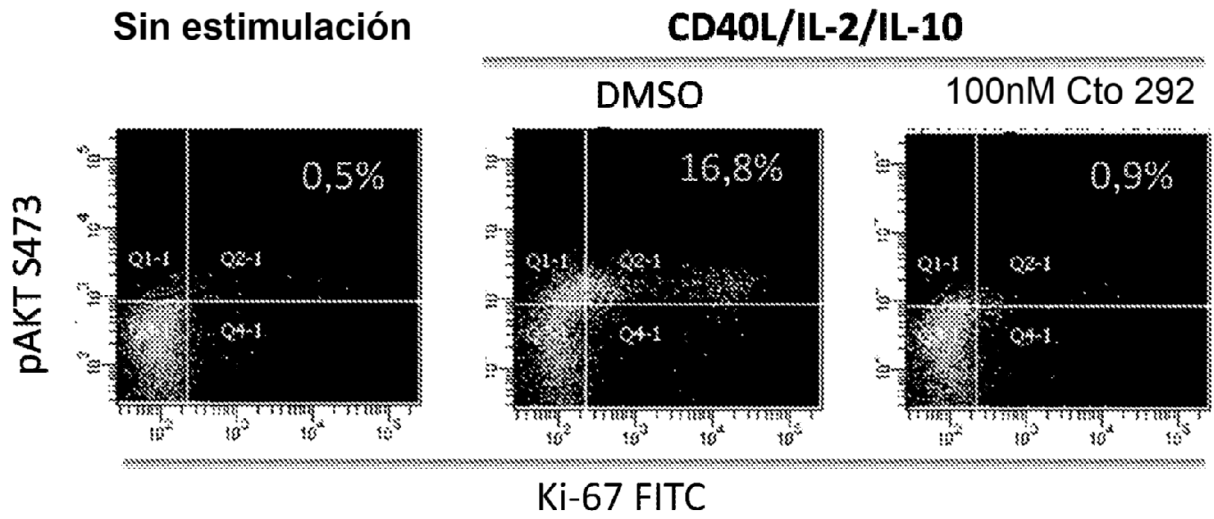
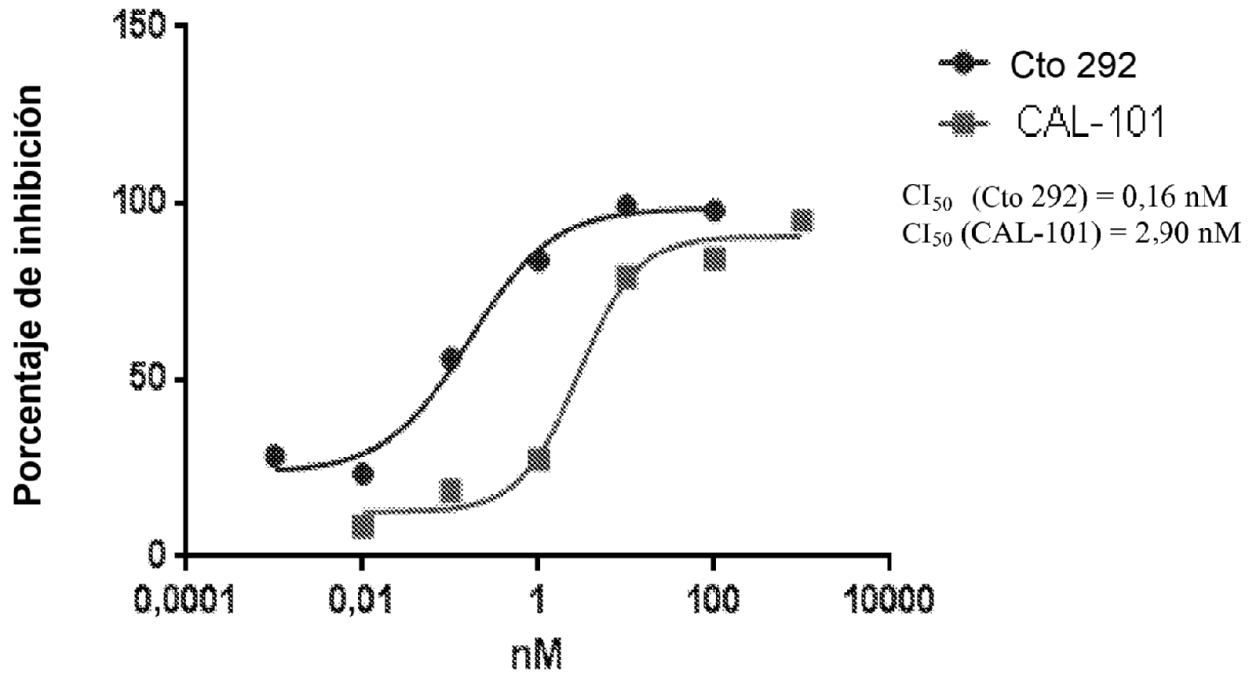


FIGURA 36



**Figura 37**

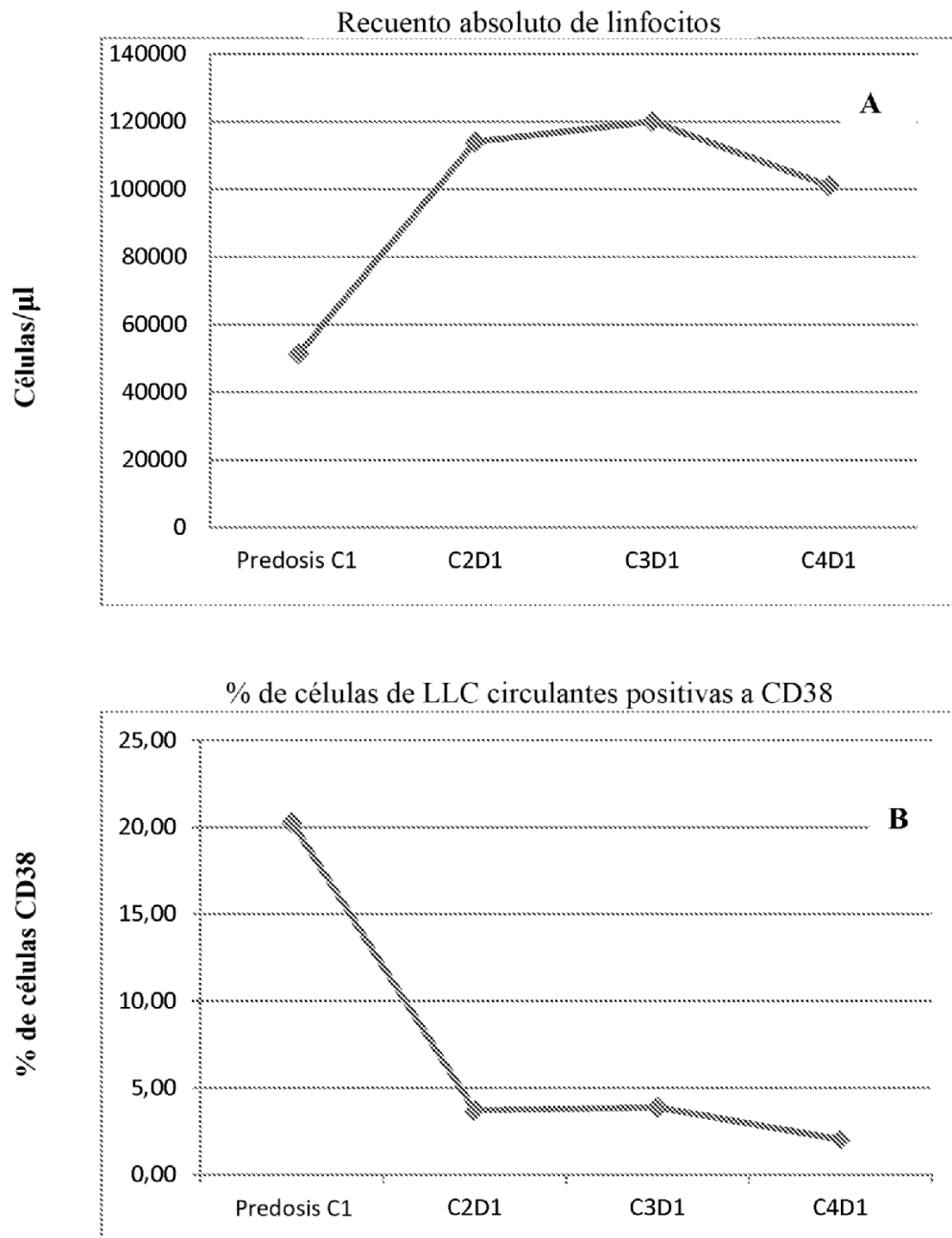


Figura 37 (Cont.)

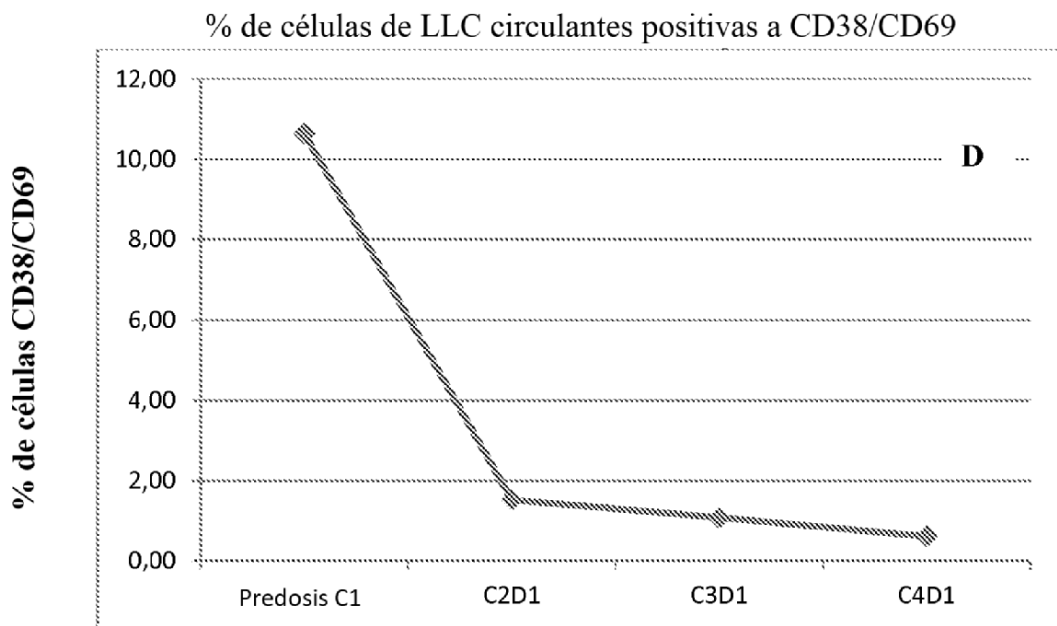
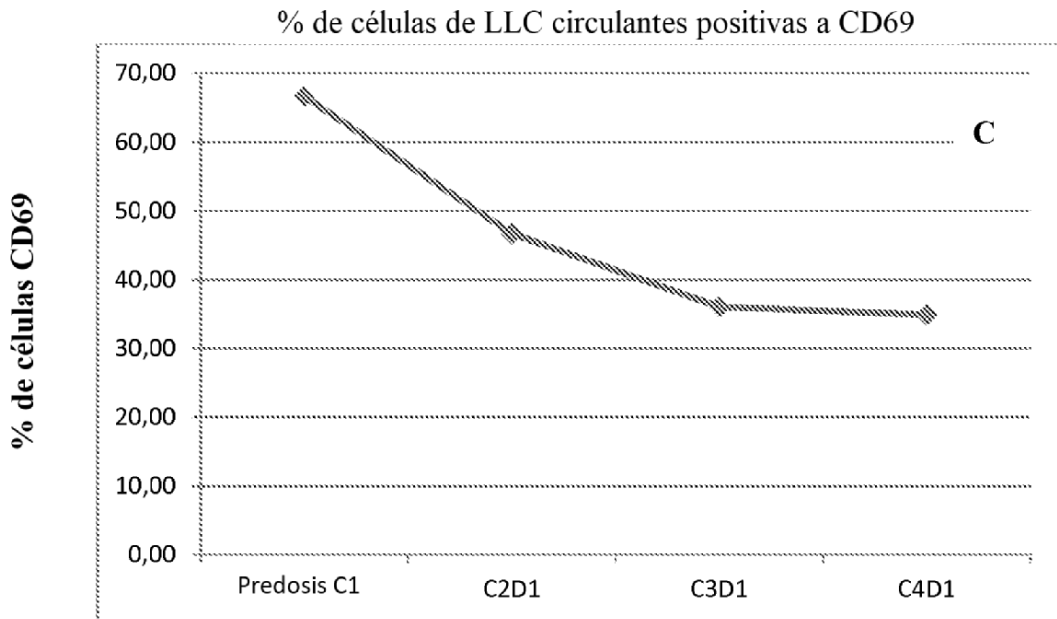


Figura 38

