



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112015026247-3 B1



(22) Data do Depósito: 16/04/2014

(45) Data de Concessão: 23/08/2022

(54) Título: USO DE COMPOSTOS EM COMBINAÇÃO COM UM ANÁLOGO DE CITIDINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE OS COMPREENDE, E KIT

(51) Int.Cl.: A61K 45/06; A61K 31/4985; A61P 35/00; A61P 35/02; A61K 31/706; (...).

(30) Prioridade Unionista: 17/04/2013 US 61/813,053.

(73) Titular(es): SIGNAL PHARMACEUTICALS, LLC.

(72) Inventor(es): HEATHER RAYMON.

(86) Pedido PCT: PCT US2014034317 de 16/04/2014

(87) Publicação PCT: WO 2014/172432 de 23/10/2014

(85) Data do Início da Fase Nacional: 15/10/2015

(57) Resumo: COMPOSTO EM COMBINAÇÃO COM UM ANÁLOGO DE CITIDINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE OS COMPREENDE, USO DOS MESMOS E KIT. São aqui fornecidos métodos para o tratamento ou prevenção de um câncer, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR e uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer.

**USO DE COMPOSTOS EM COMBINAÇÃO COM UM ANÁLOGO DE CITIDINA,
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE OS COMPREENDE, E KIT**

[001] Este pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório US nº. 61/813.053, depositado em 17 de Abril de 2013, todo o conteúdo do qual é aqui incorporado por referência.

1. CAMPO

[002] São fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento ou prevenção de um câncer, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR e uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer.

2. ANTECEDENTES

[003] A conexão entre a fosforilação de proteínas anormais e a causa ou consequência de doenças é conhecida há mais de 20 anos. Assim, proteínas cinases tornaram-se um grupo muito importante de alvos de fármacos. Ver Cohen, *Nature*, 1: 309-315 (2002). Vários inibidores de proteína-cinase têm sido usados clinicamente no tratamento de uma ampla variedade de doenças, tais como câncer e doenças inflamatórias crônicas, incluindo acidente vascular cerebral e diabetes. Veja Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001), *Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise e the Problems*, Handbook of Experimental Pharmacology, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005).

[004] As proteínas cinases são uma família grande e diversa de enzimas que catalisam a fosforilação de proteínas e desempenham um papel crucial na sinalização celular. As proteínas cinases podem exercer efeitos reguladores positivos ou negativos, dependendo da sua proteína alvo. As proteínas cinases são envolvidas em vias de sinalização específicas que regulam as funções celulares tais como, mas não se limitando a, o metabolismo, a progressão do

ciclo celular, a adesão celular, a função vascular, apoptose, e angiogênese. O mau funcionamento da sinalização celular têm sido associado com muitas doenças, as mais bem caracterizadas destas incluem câncer e diabetes. A regulação da transdução de sinal por citocinas e a associação de moléculas de sinal com protooncogenes e genes supressores tumorais têm sido bem documentadas. Da mesma forma, a relação entre a diabetes e patologias relacionadas, e os níveis de proteínas cinases desreguladas, foi demonstrada. Ver, por exemplo, Sridhar *et al. Pharmaceutical Research*, 17(11):1345-1353 (2000). As infecções virais e as condições relacionadas com as mesmas também têm sido associadas com a regulação das proteínas cinases. Park *et al. Cell* 101 (7): 777-787 (2000).

[005] Uma vez que as proteínas cinases regulam quase todos os processos celulares, incluindo metabolismo, a proliferação celular, diferenciação celular, e a sobrevivência das células, elas são alvos atraentes para uma intervenção terapêutica para vários estados de doença. Por exemplo, o controle do ciclo celular e a angiogênese, no qual as proteínas cinases desempenham um papel crucial, são processos celulares associados com numerosas condições de doença, tais como, mas não se limitando a câncer, doenças inflamatórias, angiogênese anormal e doenças relacionadas com as mesmas, aterosclerose, degeneração macular, a diabetes, obesidade, e dor.

[006] As proteínas cinases tornaram-se alvos atraentes para o tratamento de cânceres. Fabbro *et al., Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002). Foi proposto que o envolvimento de proteínas cinases no desenvolvimento de malignidades humanas pode ocorrer por: (1) rearranjos genômicos (por exemplo, BCR-ABL em leucemia mielogênica crônica), (2) mutações que conduzem a atividade de cinase constitutivamente ativa, tal como leucemia mielogênica aguda e tumores gastrointestinais, (3) a desregulação da atividade

de cinase através da ativação de oncogenes ou perda das funções supressoras de tumor, tais como nos cânceres com RAS oncogênicos, (4) a desregulação da atividade da cinase por superexpressão, como é o caso de EGFR e (5) a expressão ectópica de fatores de crescimento que podem contribuir para o desenvolvimento e manutenção do fenótipo neoplásico. Fabbro *et al.*, *Pharmacology & Therapeutics* 93:79-98 (2002).

[007] A elucidação da complexidade das vias da proteína cinase e a complexidade da relação e interação dentre e entre as várias proteínas cinases e vias cinase destaca a importância do desenvolvimento de agentes farmacêuticos capazes de atuar como moduladores, reguladores ou inibidores de proteína cinase, que têm atividade benéfica sobre várias cinases ou múltiplas vias de cinase. Como consequência, continua a haver uma necessidade de novos moduladores de cinase.

[008] A proteína chamada mTOR (alvo da rapamicina em mamíferos), a qual é também chamada de FRAP, RAFTI ou RAPT1), é uma proteína cinase Ser/Thr do aminoácido 2549, que tem mostrado ser uma das proteínas mais críticas na via de mTOR/PI3K/Akt que regula o crescimento celular e proliferação. Georgakis e Younes *Expert Rev. Anticancer Ther.* 6(1):131-140 (2006). mTOR existe dentro de dois complexos, mTORC1 e mTORC2. Embora mTORC1 seja sensível à análogos de rapamicina (tais como temsirolimus ou everolimus), mTORC2 é em grande parte insensível à rapamicina. Notavelmente, a rapamicina não é um inibidor da cinase TOR. Vários inibidores de mTOR têm sido ou estão sendo avaliados em ensaios clínicos para o tratamento de câncer. Temsirolimus foi aprovado para uso em carcinoma de células renais em 2007 e sirolimus foi aprovado em 1999 para a profilaxia da rejeição do transplante renal. Everolimus foi aprovado em 2009 para pacientes com carcinoma de células renais que progrediram em inibidores do receptor do fator de crescimento do endotélio

vascular, em 2010, para astrocitoma subependimal de células gigantes (SEGA) associado à esclerose tuberosa (TS) em pacientes que necessitam de terapia, mas não são candidatos à ressecção cirúrgica e, em 2011 para tumores neuroendócrinos progressivos de origem pancreática (PNET) em pacientes com doença irresssecável, localmente avançada ou metastática. Continua a existir uma necessidade de inibidores de cinase TOR que inibem ambos os complexos mTORC1 e mTORC2.

[009] A proteína cinase dependente de DNA de (PK-DNA) é uma serina/treonina cinase envolvida na reparação de rupturas de filamentos duplos (DSBs) de DNA. Os DSBs são considerados como sendo a lesão de DNA mais letal e ocorrem endogenamente ou em resposta à radiação e agentes quimioterapêuticos (para revisão ver Jackson, S. P., Bartek, J. The DNA-damage response in human biology e disease. *Nature Rev* 2009; 461:1071-1078). Se deixadas desemparelhadas, as DSBs levarão a parada do ciclo celular e/ou morte celular (Hoeijmakers, J. H. J. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001; 411: 366-374; van Gent, D. C., Hoeijmakers, J. H., Kanaar, R. Chromosomal stability e the DNA double-stranded break connection. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 196-206). Em resposta ao insulto, as células desenvolveram mecanismos complexos para reparar tais rupturas, e estes mecanismos podem formar a base de resistência terapêutica. Existem duas vias principais usadas para reparar DSBs, união da extremidade não homóloga (NHEJ) e recombinação homóloga (HR). NHEJ traz extremidades quebradas de DNA juntos e os une novamente, sem referência a um segundo modelo (Collis, S. J., DeWeese, T. L., Jeggo P. A., Parker, A.R. The life e death of DNA-PK. *Oncogene* 2005; 24: 949-961). Em contraste, a HR é dependente da proximidade das cromátides irmãs que fornecem um modelo para mediar a reparação fiel (Takata, M., Sasaki, M. S., Sonoda, E., Morrison, C., Hashimoto, M., Utsumi, H., et al. Homologous

recombination e non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. *EMBO J* 1998; 17: 5497-5508; Haber, J. E. Partners e pathways repairing a double-strand break. *Trends Genet* 2000; 16: 259-264). NHEJ repara a maioria das DSBs. Em NHEJ, DSBs são reconhecidas pela proteína Ku que se liga e então ativa a subunidade catalítica de DNA-PK. Isto leva ao recrutamento e ativação de enzimas de processamento de finais, polimerases e DNA ligase IV (Collis, S. J., DeWeese, T. L., Jeggo P. A., Parker, A.R. The life e death of DNA-PK. *Oncogene* 2005; 24: 949-961) NHEJ é controlada principalmente por inibição de DNA-PK e, assim, de DNA-PK é uma abordagem atrativa para a modulação da resposta de reparação de DSBs induzidas exogenamente. As células deficientes em componentes da via NHEJ são deficientes na reparação de DSB e altamente sensíveis à radiação ionizante e venenos de topoisomerase (revisto por Smith, G. C. M., Jackson, S.P. The DNA-dependent protein kinase. *Genes Dev* 1999; 13: 916-934; Jeggo, P.A., Caldecott, K., Pidsley, S., Banks, G.R. Sensitivity of Chinese hamster ovary mutants defective in DNA double strand break repair to topoisomerase II inhibitors. *Cancer Res* 1989; 49: 7057-7063). Um inibidor de DNA-PK tem sido relatado como tendo o mesmo efeito de sensibilização de células cancerosas para DSBs terapeuticamente induzidas (Smith, G. C. M., Jackson, S.P. The DNA-dependent protein kinase. *Genes Dev* 1999; 13: 916-934).

[010] A citação ou identificação de qualquer referência na seção 2 do presente pedido não deve ser interpretada como uma admissão de que a referência é técnica anterior do presente pedido.

3. SUMÁRIO

[011] São fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento ou prevenção de um câncer, compreendendo a administração de uma quantidade

eficaz de um inibidor de cinase TOR e uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer.

[012] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de um Critérios de Avaliação da Resposta em tumores sólidos (por exemplo, RECIST 1.1) de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com um tumor sólido, que compreende administrar uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma definição de resposta do Grupo de Workshop Patrocinado pelo Instituto Nacional do Câncer sobre Leucemia Linfocítica Crônica (NCI-WT CLL) sobre resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com leucemia, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de um Critério de Grupo de Trabalho 2 de Câncer de Próstata (PCWG2) sobre resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com câncer da próstata, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para obtenção de um Critério de Workshop Internacional (IWC) para o linfoma não-Hodgkin de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com linfoma não-Hodgkin, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de um Critério de Resposta Uniforme Internacional (IURC) para o mieloma múltiplo de resposta completa,

resposta parcial ou doença estável em um paciente com mieloma múltiplo, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma Avaliação de Respostas para Grupo de Trabalho de Neuro-Oncologia (RANO) para o glioblastoma multiforme de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com glioblastoma multiforme, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente.

[013] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para aumentar a sobrevivência sem progressão do tumor de um paciente tendo um câncer, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina ao referido paciente.

[014] Em certas modalidades, o inibidor de cinase TOR é um composto tal como aqui descrito.

[015] As presentes modalidades podem ser compreendidas mais completamente por referência à descrição detalhada e exemplos, que se destinam a exemplificar modalidades não limitativas.

4. BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[016] A FIG. 1 ilustra os efeitos do Composto 1 sobre a formação de colônias de HepG2. As células HepG2 foram semeadas em ágar e incubadas com Composto 1 durante 8 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de controle em relação às células tratadas com DMSO apenas= 100% de controle. Cada ponto de dados representa a média de n = 3 experimentos em triplicata. *** p <0,001 vs DMSO de controle por ANOVA de uma via seguido pelo teste pós Dunnett.

[017] A FIG. 2 representa os efeitos de 5-AZA na formação de colônias de HepG2. As células HepG2 foram semeadas em ágar e incubadas com o composto durante 8 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de controle em relação às células tratadas com DMSO somente = 100% de controle. Cada ponto de dados representa a média de $n = 3$ experimentos em triplicata. *** $p < 0,001$.

[018] A FIG. 3 representa os efeitos do Composto 1 na formação de colônias de SK-Hep-1. As células de SK-HEP-1 foram plaqueadas em ágar e incubadas com Composto 1 durante 8-10 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de controle em relação às células tratadas com DMSO somente = 100% de controle. Cada ponto de dados representa a média de $n = 3$ experimentos em triplicata. *** $p < 0,001$ vs DMSO de controle por ANOVA de uma via seguido pelo pós-teste de Dunnett.

[019] A FIG. 4 representa os efeitos de 5-AZA na formação de colônias de SK-Hep-1. As células SK-HEP-1 foram plaqueadas em ágar e incubadas com o composto durante 8 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de controle em relação às células tratadas com DMSO somente = 100% de controle. Cada ponto de dados representa a média de $n = 3$ experimentos em triplicata. *** $p < 0,001$.

[020] A FIG. 5 representa os efeitos do Composto 1 mais 5-AZA na formação de colônias de HepG2. As células HepG2 foram semeadas em ágar e incubadas com o composto durante 8 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de controle em relação às células tratadas com DMSO somente = 100% de controle. Cada ponto de dados representa a média de $n = 3$ experimentos em triplicata. *** $p < 0,001$ vs aditividade teórica pelo teste t não pareado.

[021] A FIG. 6 ilustra os efeitos do Composto 1 mais 5-AZA na formação de colônias de SK-Hep-1. As células SK-Hep-1 foram semeadas em ágar e incubadas com o composto durante 8 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de controle em relação às células tratadas com DMSO somente = 100% de controle. Cada ponto de dados representa a média de n = 3 experimentos em triplicata. * p < 0,05 vs aditividade teórica pelo teste t não pareado.

5. DESCRIÇÃO DETALHADA

5.1 DEFINIÇÕES

[022] Um grupo “alquil” é um hidrocarboneto não cíclico de cadeia linear ou ramificada saturado, parcialmente saturado, ou insaturado tendo de 1 a 10 átomos de carbono, tipicamente de 1 a 8 carbonos ou, em algumas modalidades, de 1 a 6, 1 a 4, ou 2 a 6 ou átomos de carbono. Grupos alquil representativos incluem -metil, -etil, -n-propil, -n-butil, -n-pentil e n hexil; enquanto as alquilas insaturadas incluem -isopropil, -sec-butil, -isobutil, -tert-butil, -isopentil, 2-metilpentil, 3 metilpentil, 4-metilpentil, 2,3-dimetilbutil e similares. Exemplos de grupos alquil insaturados incluem, mas não se limitam a, vinil, alil, $-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$, $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$ e $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, entre outros. Um grupo alquil pode ser substituído e não substituído. Em certas modalidades, quando os grupos alquil descritos aqui são ditos serem “substituídos”, eles podem ser substituídos com qualquer substituinte ou substituintes como aqueles encontrados nos compostos exemplificadores e modalidades aqui divulgadas, bem como halogênio (cloro, iodo, bromo, ou flúor); hidroxil; alcóxi; alcóxi alquil; amino; alquilamino; carbóxi; nitro; ciano; tiol; tioéter; imina; imida; amidina; guanidina; enamina; aminocarbonil; acilamino; fosfonato; fosfina; tiocarbonil; sulfonil;

sulfona; sulfonamida; cetona; aldeído; éster; ureia; uretano; oxima; hidroxilamina; alcoxiamina; aralcoxiamina; N-óxido; hidrazina; hidrazida; hidrazona; azida; isocianato; isotiocianato; cianato; tiocianato; $B(OH)_2$, ou $O(\text{alquil})\text{aminocarbonil}$.

[023] Um grupo “alquenil” é um hidrocarboneto não cíclico de cadeia linear ou ramificada tendo de 2 a 10 átomos de carbono, tipicamente de 2 a 8 átomos de carbono, e incluindo pelo menos uma ligação dupla de carbono-carbono. Alquenilas (C_2-C_8) representativas de cadeia linear ou ramificada incluem -vinil, -alil, -1-butenil, -2-butenil, -isobutilenil, -1-pentenil, 2-pentenil, -3-metil-1-butenil, -2-metil-2-butenil, -2,3-dimetil-2-butenil, -1-hexenil, 2-hexenil, -3-hexenil, -1-heptenil, -2-heptenil, -3-heptenil, -1-octenil, -2-octenil, 3-octenil e similares. A ligação dupla de um grupo alquenil pode ser não conjugada ou conjugada a outro grupo insaturado. Um grupo alquenil pode ser não substituído ou substituído.

[024] Um grupo “cicloalquil” é um grupo alquil cíclico saturado, ou parcialmente saturado de 3 a 10 átomos de carbono tendo um único anel cíclico ou múltiplos anéis condensados ou em ponte que podem ser opcionalmente substituídos com 1 a 3 grupos alquil. Em algumas modalidades, o grupo cicloalquil tem 3 a 8 membros do anel, ao passo que em outras modalidades o número de átomos de carbono do anel varia de 3 a 5, 3 a 6, ou 3 a 7. Tais grupos cicloalquil incluem, a título de exemplo, estruturas de anel únicas tais como ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclo-hexil, ciclo-heptil, ciclo-octil, 1-metilciclopropil, 2-metilciclopentil, 2-metilciclo-octil, e similares, ou múltiplas estruturas ou estruturas em ponte tais como adamantil e similares. Exemplos de grupos cicloalquil insaturados incluem ciclo-hexenil, ciclopentenil, ciclo-hexadienil, butadienil, pentadienil, hexadienil, entre outros. Um grupo

cicloalquil pode ser substituído e não substituído. Tais grupos cicloalquil substituídos incluem, a título de exemplo, ciclo-hexanona e similares.

[025] Um grupo “aril” é um grupo carbocíclico aromático de 6 a 14 átomos de carbono tendo um único anel (por exemplo, fenil) ou múltiplos anéis condensados (por exemplo, naftil ou antril). Em algumas modalidades, os grupos aril contêm 6-14 carbonos, e em outros de 6 a 12 ou mesmo 6 a 10 átomos de carbono nas porções de anel dos grupos. Arilas particulares incluem fenil, bifenil, naftil e similares. Um grupo aril pode ser substituído e não substituído. A frase “grupos aril” também inclui grupos contendo anéis fundidos, tais como sistemas de anéis aromáticos-alifáticos fundidos (por exemplo, indanil, tetra-hidronaftil, e similares).

[026] Um grupo “heteroaril” é um sistema de anel aril tendo um a quatro heteroátomos como átomos de anel em um sistema de anel heteroaromático, em que o restante dos átomos são átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos heteroaril contêm de 5 a 6 átomos do anel, e em outros de 6 a 9 ou mesmo 6 a 10 átomos nas porções de anel dos grupos. Heteroátomos adequados incluem oxigênio, enxofre e nitrogênio. Em certas modalidades, o sistema de anel heteroaril é monocíclico ou bicíclico. Exemplos não limitadores, incluem, mas não se limitam a, grupos tais como grupos pirrolil, pirazolil, imidazolil, triazolil, tetrazolil, oxazolil, isoxazolil, tiazolil, pirolil, piridil, piridazinil, pirimidinil, pirazinil, tiofenil, benzotiofenil, furanil, benzofuranil (por exemplo, isobenzofuran-1,3-di-imina), indolil, azaindolil (por exemplo, pirrolopiridil ou 1H-pirrolo[2,3-b]piridil), indazolil, benzimidazolil (por exemplo, 1H-benzo[d]imidazolil), imidazopiridil (por exemplo, azabenzimidazolil, 3H-imidazo[4,5-b]piridil ou 1H-imidazo[4,5-b]piridil), pirazolopiridil, triazolopiridil, benzotriazolil, benzoxazolil, benzotiazolil, benzotiadiazolil, isoxazolopiridil,

tianaftalenil, purinil, xantinil, adeninil, guaninil, quinolinil, isoquinolinil, tetra-hidroquinolinil, quinoxalinil, e quinazolinil.

[027] Um grupo “heterociclil” é um cicloalquil aromático (também chamado de heteroaril) ou não aromático em que um a quatro dos átomos de carbono do anel são independentemente substituídos com um heteroátomo a partir do grupo que consiste em O, S e N. Em algumas modalidades, os grupos heterociclil incluem 3 a 10 membros do anel, ao passo que outros destes grupos têm 3 a 5, 3 a 6, ou 3 a 8 membros do anel. Heterociclicas podem ser ligadas a outros grupos em qualquer átomo do anel (isto é, em qualquer átomo de carbono ou heteroátomo do anel heterocíclico). Um grupo heterocicliclalquil pode ser substituído e não substituído. Os grupos Heterociclil abrangem sistema de anéis insaturados, parcialmente saturados e saturados, tais como, por exemplo, grupos imidazolil, imidazolinil e imidazolidinil. A frase heterociclil inclui espécies de anéis fundidos, incluindo as que compreendem grupos aromáticos e não aromáticos fundidos, tais como, por exemplo, benzotriazolil, 2,3-dihidrobenzo[1,4]dioxinil, e benzo[1,3]dioxolil. A frase também inclui sistema de anéis policíclicos em ponte contendo um heteroátomo tais como, mas não se limitando a, quinuclidil. Exemplos representativos de um grupo heterociclil incluem, mas não se limitam a, grupos aziridinil, azetidil, pirrolidil, imidazolidinil, pirazolidinil, tiazolidinil, tetra-hidrotiofenil, tetra-hidrofuranil, dioxolil, furanil, tiofenil, pirrolil, pirrolinil, imidazolil, imidazolinil, pirazolil, pirazolinil, triazolil, tetrazolil, oxazolil, isoxazolil, tiazolil, tiazolinil, isotiazolil, tiadiazolil, oxadiazolil, piperidil, piperazinil, morfolinil, tiomorfolinil, tetra-hidropiranil (por exemplo, tetra-hidro-2H-piranil), tetra-hidrotiopiranil, oxatiano, dioxil, ditianil, piranil, piridil, pirimidinil, piridazinil, pirazinil, triazinil, di-hidropiridil, di-hidroditianil, di-hidroditionil, homopiperazinil, quinuclidil, indolil, indolinil, isoindolil, azaindolil (pirrolopiridil), indazolil, indolizinil,

benzotriazolil, benzimidazolil, benzofuranil, benzotiofenil, benzotiazolil, benzoxadiazolil, benzoxazinil, benzoditi-inil, benzoxati-inil, benzotiazinil, benzoxazolil, benzotiazolil, benzotiadiazolil, benzo[1,3]dioxolil, pirazolopiridil, imidazopiridil (azabenzimidazolil; por exemplo, 1H-imidazo[4,5-b]piridil, ou 1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-onil), triazolopiridil, isoxazolopiridil, purinil, xantinil, adeninil, guaninil, quinolinil, isoquinolinil, quinolizinil, quinoxalinil, quinazolinil, cinnolinil, ftalazinil, naftiridinil, pteridinil, tianaftalenil, di-hidrobenzotiazinil, di-hidrobenzofuranil, di-hidroindolil, di-hidrobenzodioxinil, tetra-hidroindolil, tetra-hidroindazolil, tetra-hidrobenzimidazolil, tetra-hidrobenzotriazolil, tetra-hidropirrolpiridil, tetra-hidropirazolopiridil, tetra-hidroimidazopiridil, tetra-hidrotriazolopiridil, e tetra-hidroquinolinil. Grupos heterocíclicos representativos substituídos podem ser mono- substituídos ou substituído mais de uma vez, tais como, mas não se limitando a, grupos piridil ou morfolinil, que são 2-, 3-, 4-, 5-, ou 6-substituídos, ou dissustituídos com vários substituintes como os listados abaixo.

[028] Um grupo “cicloalquilalquil” é um radical de fórmula: -alquil-cicloalquil, em que alquil e cicloalquil são definidos acima. Os grupos cicloalquilalquil substituídos podem ser substituídos no alquil, no cicloalquil, ou ambas as porções do grupo alquil e do cicloalquil. Grupos representativos de cicloalquilalquil incluem, mas não se limitam a grupos ciclopentilmetil, ciclopentiletil, ciclo-hexilmetil, ciclo-hexiletil, e ciclo-hexilpropil. Cicloalquilalquil representativo substituído pode ser mono- substituído ou substituído mais de uma vez.

[029] Um grupo “aralquil” é um radical de fórmula: -alquil-aril, em que alquil e aril são definidos acima. Grupos aralquil substituídos podem ser substituídos nas porções de alquil, de aril, ou ambos o alquil e o aril do grupo.

Grupos representativos de aralquil incluem, mas não se limitam a grupos benzil e fenetil e grupos (cicloalquilaril)alquil fundidos tais como 4-etil-indanil.

[030] Um grupo “heterociclilalquil” é um radical de fórmula: -alquil-heterociclil, em que alquil e heterociclil são definidos acima. Grupos heterociclilalquil substituídos podem ser substituídos nas porções do alquil, do heterociclil, ou ambos o alquil e o heterociclil do grupo. Grupos representativos de heterociclilalquil incluem, mas não se limitam a, 4-etil-morfolinil, 4-propilmorfolinil, furan-2-il metil, furan-3-il metil, pirdine-3-il metil, (tetra-hidro-2H-piran-4-il)metil, (tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil, tetra-hidrofuran-2-il metil, tetra-hidrofuran-2-il etil, e indol-2-il propil.

[031] Um “halogênio” é cloro, iodo, bromo, ou flúor.

[032] Um grupo “hidróxi-alquil” é um grupo alquil como descrito acima substituído com um ou mais grupos hidróxi.

[033] Um grupo “alcóxi ” é O (alquil), em que alquil é definido acima.

[034] Um grupo “alcóxi alquil” é (alquil) O (alquil), em que alquil é definido acima.

[035] Um grupo “amina” é um radical de fórmula: NH_2 .

[036] Um grupo “hidroxilamina” é um radical de fórmula: $-\text{N}(\text{R}^\#)\text{OH}$ ou $-\text{NHOH}$, em que $\text{R}^\#$ é um grupo alquil, cicloalquil, cicloalquilalquil, aril, aralquil, heterociclil ou heterociclilalquil substituído ou não substituído como definido acima.

[037] Um grupo “alcoxiamina” é um radical de fórmula: $\text{N}(\text{R}^\#)\text{O}$ -alquil ou NHO alquil, em que $\text{R}^\#$ é como definido acima.

[038] Um grupo “aralcoxiamina” é um radical de fórmula: $\text{N}(\text{R}^\#)\text{O}$ -aril ou NHO aril, em que $\text{R}^\#$ é como definido acima.

[039] Um grupo “alquilamina” é um radical de fórmula: NH alquil ou $\text{N}(\text{alquil})_2$, em que cada alquil é independentemente como definido acima.

[040] Um grupo “aminocarbonil” é um radical de fórmula: $-C(=O)N(R^{\#})_2$, $-C(=O)NH(R^{\#})$ ou $-C(=O)NH_2$, em que cada $R^{\#}$ é como definido acima.

[041] Um grupo “acilamino” é um radical de fórmula: $-NHC(=O)(R^{\#})$ ou $-N(alkyl)C(=O)(R^{\#})$, em que cada alquil e $R^{\#}$ são independentemente como definidos acima.

[042] Um grupo “O(alquil)aminocarbonil” é um radical de fórmula: $-O(alkyl)C(=O)N(R^{\#})_2$, $-O(alkyl)C(=O)NH(R^{\#})$ ou $-O(alkyl)C(=O)NH_2$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[043] Um grupo “N-óxido” é um radical de fórmula: $-N^+-O^-$.

[044] Um grupo “carbóxi” é um radical de fórmula: $C(=O)OH$.

[045] Um grupo “cetona” é um radical de fórmula: $C(=O)(R^{\#})$, em que $R^{\#}$ é como definido acima.

[046] Um grupo “aldeído” é um radical de fórmula: $-CH(=O)$.

[047] Um grupo “éster” é um radical de fórmula: $C(=O)O(R^{\#})$ ou OC

[048] Um grupo “ureia” é um radical de fórmula: $-N(alkyl)C(=O)N(R^{\#})_2$, $-N(alkyl)C(=O)NH(R^{\#})$, $-N(alkyl)C(=O)NH_2$, $-NHC(=O)N(R^{\#})_2$, $-NHC(=O)NH(R^{\#})$, or $-NHC(=O)NH_2^{\#}$, em que cada alquil e $R^{\#}$ são independentemente como definidos acima.

[049] Um grupo “imina” é um radical de fórmula: $-N=C(R^{\#})_2$ or $-C(R^{\#})=N(R^{\#})$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[050] Um “imida” grupo é um radical de fórmula: $-C(=O)N(R^{\#})C(=O)(R^{\#})$ or $-N((C=O)(R^{\#}))_2$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[051] Um grupo “uretano” é um radical de fórmula: $-OC(=O)N(R^{\#})_2$, $-OC(=O)NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})C(=O)O(R^{\#})$, ou $-NHC(=O)O(R^{\#})$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[052] Um grupo “amidina” é um radical de fórmula: - $C(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-C(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-C(=N(R^{\#}))NH_2$, $-C(=NH)N(R^{\#})_2$, $-C(=NH)NH(R^{\#})$, $-C(=NH)NH_2$, $-N=C(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-N=C(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-N=C(R^{\#})NH_2$, $-N(R^{\#})C(R^{\#})=N(R^{\#})$, $-NHC(R^{\#})=N(R^{\#})$, $-N(R^{\#})C(R^{\#})=NH$, ou $-NHC(R^{\#})=NH$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[053] Um grupo “guanidina” é um radical de fórmula: - $N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-NHC(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})C(=NH)N(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))NH_2$, $-NHC(=NH)N(R^{\#})_2$, $-NHC(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-NHC(=N(R^{\#}))NH_2$, $-NHC(=NH)NH(R^{\#})$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-N=C(N(R^{\#})_2)_2$, $-N=C(NH(R^{\#}))_2$, ou $-N=C(NH_2)_2$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[054] Um grupo “enamina” é um radical de fórmula: - $N(R^{\#})C(R^{\#})=C(R^{\#})_2$, $-NHC(R^{\#})=C(R^{\#})_2$, $-C(N(R^{\#})_2)=C(R^{\#})_2$, $-C(NH(R^{\#}))=C(R^{\#})_2$, $-C(NH_2)=C(R^{\#})_2$, $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(N(R^{\#})_2)$, $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(NH(R^{\#}))$ ou $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(NH_2)$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[055] Um grupo “oxima” é um radical de fórmula: $C(=NO(R^{\#}))(R^{\#})$, $-C(=NOH)(R^{\#})$, $-CH(=NO(R^{\#}))$, ou $-CH(=NOH)$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[056] Um grupo “hidrazida” é um radical de fórmula: - $C(=O)N(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-C(=O)NHN(R^{\#})_2$, $-C(=O)N(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-C(=O)N(R^{\#})NH_2$, $-C(=O)NHNH(R^{\#})_2$, ou $-C(=O)NHNH_2$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[057] Um grupo “hidrazina” é um radical de fórmula: : - $N(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-NHN(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})NH_2$, $-NHNH(R^{\#})_2$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[058] Um grupo “hidrazona” é um radical de fórmula: $-C(=N-N(R^{\#})_2)(R^{\#})_2$, $-C(=N-NH(R^{\#}))(R^{\#})_2$, $-C(=N-NH_2)(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})(N=C(R^{\#})_2)$, ou $-NH(N=C(R^{\#})_2)$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[059] Um grupo “azida” é um radical de fórmula: $-N_3$.

[060] Um grupo “isocianato” é um radical de fórmula: $N=C=O$.

[061] Um grupo “isotiocianato” é um radical de fórmula: $N=C=S$.

[062] Um grupo “cianato” é um radical de fórmula: $-OCN$.

[063] Um grupo “tiocianato” é um radical de fórmula: $-SCN$.

[064] Um grupo “tioéter” é um radical de fórmula: $-S(R^{\#})$, em que $R^{\#}$ é como definido acima.

[065] Um grupo “tiocarbonil” é um radical de fórmula: $-C(=S)(R^{\#})$, em que $R^{\#}$ é como definido acima.

[066] Um grupo “sulfinil” é um radical de fórmula: $-S(=O)(R^{\#})$, em que $R^{\#}$ é como definido acima.

[067] Um grupo “sulfona” é um radical de fórmula: $-S(=O)_2(R^{\#})$, em que $R^{\#}$ é como definido acima.

[068] Um grupo “sulfonilamino” é um radical de fórmula: $-NHSO_2(R^{\#})$ ou $-N(alkyl)SO_2(R^{\#})$, em que cada alquil e $R^{\#}$ são definidos acima.

[069] Um grupo “sulfonamida” é um radical de fórmula: $-S(=O)_2N(R^{\#})_2$, ou $-S(=O)_2NH(R^{\#})$, ou $-S(=O)_2NH_2$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[070] Um grupo “fosfonato” é um radical de fórmula: $-P(=O)(O(R^{\#}))_2$, $-P(=O)(OH)_2$, $-OP(=O)(O(R^{\#}))(R^{\#})$, ou $-OP(=O)(OH)(R^{\#})$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[071] Um grupo “fosfina” é um radical de fórmula: $-P(R^{\#})_2$, em que cada $R^{\#}$ é independentemente como definido acima.

[072] Quando os grupos descritos aqui, com a exceção do grupo alquil são ditos serem “substituídos,” eles podem ser substituídos com qualquer substituinte ou substituintes adequados. Exemplos ilustrativos de substituintes são aqueles encontrados nos exemplos de compostos e modalidades aqui divulgados, bem como halogênio (cloro, iodo, bromo, ou flúor); alquil; hidroxil; alcóxi; alcóxi alquil; amino; alquilamino; carbóxi; nitro; ciano; tiol; tioéter; imina; imida; amidina; guanidina; enamina; aminocarbonil; acilamino; fosfonato; fosfina; tiocarbonil; sulfinil; sulfona; sulfonamida; cetona; aldeído; éster; ureia; uretano; oxima; hidroxilamina; alcoxiamina; aralcoxiamina; N-óxido; hidrazina; hidrazida; hidrazona; azida; isocianato; isotiocianato; cianato; tiocianato; oxigênio ($=O$); $B(OH)_2$, $O(\text{alquil})\text{aminocarbonil}$; cicloalquil, que podem ser monocíclicos ou policíclicos fundidos e não fundidos (por exemplo, ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ou ciclo-hexil), ou um heterociclil, que podem ser monocíclicos ou policíclicos fundidos e não fundidos (por exemplo, pirrolidil, piperidil, piperazinil, morfolinil, ou tiazinil); aril ou heteroaril monocíclicos ou policíclicos fundidos e não fundidos (por exemplo, fenil, naftil, pirrolil, indolil, furanil, tiofenil, imidazolil, oxazolil, isoxazolil, tiazolil, triazolil, tetrazolil, pirazolil, piridinil, quinolinil, isoquinolinil, acridinil, pirazinil, piridazinil, pirimidinil, benzimidazolil, benzotiofenil, ou benzofuranil) arilóxi; aralquilóxi; heterociclilóxi; e heterociclil alcóxi.

[073] Como usado na presente invenção, o termo "sal(is) farmaceuticamente aceitável" refere-se a um sal preparado a partir de um ácido ou base não tóxica farmaceuticamente aceitável, incluindo um ácido e uma base inorgânica e um ácido e uma base orgânica. Os sais de adição de base farmaceuticamente aceitáveis adequados dos inibidores da cinase TOR incluem, mas não se limitam a, sais metálicos produzidos a partir de alumínio, cálcio, lítio, magnésio, potássio, sódio e zinco ou sais orgânicos produzidos a partir de lisina,

N,N'-dibenziletlenodiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilenodiamina, meglumina (N-metilglucamina) e procaína. Ácidos não tóxicos adequados incluem, mas não se limitam a, ácidos inorgânicos e ácidos orgânicos tais como ácidos acético, algínico, antranílico, benzenossulfônico, benzóico, canforsulfônico, cítrico, etenossulfônico, fórmico, fumárico, furóico, galacturônico, glucônico, glucurônico, glutâmico, ácido glicólico, ácido bromídrico, clorídrico, isetiônico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanossulfônico, mícico, nítrico, pamóico, pantotênico, fenilacético, fosfórico, propiônico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, ácido sulfúrico, ácido tartárico, e ácido p-toluenossulfônico. Ácidos não tóxicos específicos incluem o ácido clorídrico, bromídrico, fosfórico, sulfúrico, e metanossulfônico. Exemplos de sais específicos incluem assim sais de cloridrato e mesilato. Outros são bem conhecidos na técnica, ver, por exemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18^o eds., Mack Publishing, Easton PA (1990) or *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19^o eds., Mack Publishing, Easton PA (1995).

[074] Como usado na presente invenção e a menos que indicado de outra forma, o termo "clatrato" significa um inibidor de cinase TOR, ou um sal da mesma, sob a forma de uma estrutura cristalina que contém espaços (por exemplo, canais) que têm uma molécula hospedeira (por exemplo, um solvente ou água) aprisionada dentro ou uma rede de cristal em que um inibidor da cinase TOR é uma molécula hospedeira.

[075] Como usado na presente invenção e a menos que indicado de outra forma, o termo "solvato" significa um inibidor de cinase TOR, ou um sal da mesma, que inclui ainda uma quantidade estequiométrica ou não estequiométrica de um solvente ligado por forças intermoleculares não covalentes. Em uma modalidade, o solvato é um hidrato.

[076] Como usado na presente invenção e a menos que indicado de outra forma, o termo "hidrato" significa um inibidor de cinase TOR, ou um sal da mesma, que inclui ainda uma quantidade estequiométrica ou não estequiométrica de água ligada por forças intermoleculares não covalentes.

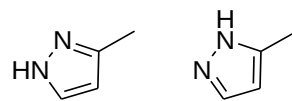
[077] Como usado na presente invenção e a menos que indicado de outra forma, o termo "pró-fármaco" significa um derivado de inibidor de cinase TOR que pode hidrolisar, oxidar, ou de outro modo, reagir sob condições biológicas (*in vitro* ou *in vivo*) para fornecer um composto ativo, particularmente um inibidor de cinase TOR. Exemplos de pró-fármacos incluem, mas não estão limitados a, derivados e metabolitos de um inibidor de cinase TOR que inclui porções bio-hidrolisáveis tais como amidas bio-hidrolisáveis, ésteres bio-hidrolisáveis, carbamatos bio-hidrolisáveis, carbonatos bio-hidrolisáveis, ureídas bio-hidrolisáveis, e análogos de fosfato bio-hidrolisáveis. Em certas modalidades, os pró-fármacos de compostos com grupos funcionais carboxil são os ésteres de alquila inferior de ácido carboxílico. Os ésteres de carboxilato são convenientemente formados por esterificação de qualquer um dos radicais de ácidos carboxílicos presentes na molécula. Os pró-fármacos podem geralmente ser preparados com o uso de métodos bem conhecidos, tais como aqueles descritos por *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery* 6^o ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley) and *Design and Application of Prodrugs* (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers Gmfh).

[078] Como usado na presente invenção e a menos que indicado de outra forma, o termo "estereoisômero" ou "estereomericamente puro" significa um estereoisômero de um inibidor de cinase TOR que é substancialmente isento de outros estereoisômeros desse composto. Por exemplo, um composto estereomericamente puro tendo um centro quiral estará substancialmente isento do enantiômero oposto do composto. Um composto

estereomericamente puro tendo dois centros quirais estará substancialmente isento de outros diastereômeros do composto. Um composto estereomericamente puro típico compreende mais do que cerca de 80% por peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 20% em peso de outros estereoisômeros do composto, mais do que cerca de 90% por peso de um estereoisômero do composto e é menor do que cerca de 10% em peso dos outros estereoisômeros do composto, mais do que cerca de 95% por peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 5% em peso dos outros estereoisômeros do composto, ou mais do que cerca de 97% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 3% em peso dos outros estereoisômeros do composto. Os inibidores da cinase TOR podem ter centros quirais e podem ocorrer como racematos, enantiômeros ou diastereômeros individuais, e suas misturas. Todas essas formas isoméricas estão incluídas dentro das modalidades aqui descritas, incluindo as suas misturas. O uso de formas estereoisomericamente puras de tais inibidores da cinase TOR, bem como o uso de misturas dessas formas estão englobados pelas modalidades aqui divulgadas. Por exemplo, as misturas que compreendem quantidades iguais ou desiguais de enantiômeros de um determinado inibidor de cinase TOR podem ser usadas em métodos e composições aqui divulgados. Estes isômeros podem ser sintetizados ou resolvidos assimetricamente com o uso de técnicas convencionais, tais como colunas quirais ou agentes de resolução quirais. Ver, por exemplo, Jacques, J., *et al.*, *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, New York, 1981); Wilen, S. H., *et al.*, *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); and Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

[079] Deve-se notar também que os inibidores de cinase TOR podem incluir isômeros E e Z, ou uma mistura dos mesmos, e isômeros cis e trans ou uma mistura dos mesmos. Em certas modalidades, os inibidores de cinase TOR são isolados quer como cis ou trans. Em outras modalidades, os inibidores de cinase TOR são uma mistura dos isômeros cis e trans.

[080] "Tautômeros" refere-se a formas isoméricas de um composto que estão em equilíbrio um com o outro. As concentrações das formas isoméricas dependerão do ambiente que o composto é encontrado e podem ser diferentes, dependendo, por exemplo, se o composto é um sólido ou está em uma solução orgânica ou aquosa. Por exemplo, em solução aquosa, os pirazóis podem apresentar as seguintes formas isoméricas, as quais são referidas como tautômeros uma da outra:



[081] Tal como é prontamente entendido por um versado na técnica, uma ampla variedade de grupos funcionais e de outras estruturas podem exibir tautomerismo e todos os tautômeros dos inibidores de cinase TOR estão dentro do escopo da presente invenção.

[082] Deve-se notar também que os inibidores da cinase TOR podem conter proporções não naturais de isótopos atômicos em um ou mais dos átomos. Por exemplo, os compostos podem ser radiomarcados com isótopos radioativos, tais como por exemplo trítio (^3H), iodo-125 (^{125}I), enxofre 35 (^{35}S), ou carbono-14 (^{14}C), ou pode ser isotopicamente enriquecido, tal como com deutério (^2H), carbono-13 (^{13}C), ou nitrogênio-15 (^{15}N). Como usado na presente invenção, um "isotopólogo" é um composto isotopicamente enriquecido. O termo "isotopicamente enriquecido" refere-se a um átomo tendo uma composição isotópica diferente da composição isotópica natural do átomo.

"Isotopicamente enriquecido" pode também referir-se a um composto contendo pelo menos um átomo que tem uma composição isotópica diferente da composição isotópica natural do átomo. O termo "composição isotópica" refere-se à quantidade de cada isótopo presente em um determinado átomo. Compostos radiomarcados e isotopicamente enriquecidos são úteis como agentes terapêuticos, por exemplo, agentes terapêuticos de câncer e inflamação, reagentes de pesquisa, por exemplo, reagentes para o ensaio de ligação, ou agentes de diagnóstico, por exemplo, agentes de imagiologia, *in vivo*. Todas as variações isotópicas dos inibidores de cinase TOR como aqui descritas, quer radioativas ou não, se destinam a ser englobadas dentro do escopo das modalidades aqui fornecidas. Em algumas modalidades, são fornecidos isotopólogos dos inibidores de cinase TOR, por exemplo, os isotopólogos são inibidores de cinase TOR enriquecidos com deutério, carbono-13, ou nitrogênio-15.

[083] Deve-se notar que, se existe uma discrepância entre uma estrutura representada e um nome para essa estrutura, a estrutura descrita deve ser considerada de mais peso.

[084] "Tratar", como usado na presente invenção, significa um alívio, no todo ou em parte, de um câncer ou um sintoma associado com um câncer, ou retardamento, ou interrupção da progressão adicional ou agravamento desses sintomas.

[085] "Prevenir", como usado na presente invenção, significa a prevenção do início, recorrência ou propagação, no todo ou em parte, de um câncer, ou de um sintoma do mesmo.

[086] O termo "quantidade eficaz" em relação a um inibidor da cinase TOR ou um análogo de citidina, significa uma quantidade isolada ou em combinação capaz de aliviar, no todo ou em parte, um sintoma associado com um câncer, ou

retardar ou interromper a progressão adicional ou agravamento desses sintomas, ou tratamento ou prevenção de um câncer em um sujeito com, ou em risco de ter um câncer. A quantidade eficaz do inibidor de cinase TOR ou um análogo de citidina, por exemplo, em uma composição farmacêutica, pode estar a um nível que irá exercer o efeito desejado; por exemplo, cerca de 0,005 mg/kg de peso corporal de um sujeito a cerca de 100 mg/kg de peso corporal de um paciente, em dosagem unitária para administração tanto oral quanto parentérica.

[087] O termo "câncer" refere-se a qualquer de várias neoplasias malignas caracterizadas pela proliferação de células que podem invadir o tecido circundante e metastizar para novos locais do corpo. Ambos os tumores benignos e malignos são classificados de acordo com o tipo de tecido em que eles são encontrados. Por exemplo, os fibromas são neoplasias de tecido conjuntivo fibroso, e melanomas são crescimentos anormais de células de pigmento (melanina). Os tumores malignos originários de tecido epitelial, por exemplo, na pele, brônquios e estômago, são denominados carcinomas. Malignidades de tecido epitelial glandular, tal como são encontradas na mama, próstata e cólon, são conhecidas como adenocarcinomas. Os tumores malignos do tecido conjuntivo, por exemplo, músculo, cartilagem, tecido linfático, e osso, são chamados sarcomas. Os linfomas e leucemias são malignidades originadas entre as células brancas do sangue. Através do processo de metástase, a migração de células tumorais para outras áreas do corpo estabelece neoplasmas em áreas distantes do local de aparecimento inicial. Os tecidos ósseos são um dos locais mais favorecidos de metástases de tumores malignos, ocorrendo em cerca de 30% de todos os casos de câncer. Entre os tumores malignos, os cânceres do pulmão, da mama, da próstata ou outros semelhantes são conhecidos por serem particularmente suscetíveis a metastizar para o osso.

[088] No contexto de neoplasia, câncer, crescimento tumoral ou crescimento de células tumorais, a inibição pode ser avaliada pelo aparecimento retardado de tumores primários ou secundários, desenvolvimento reduzido de tumores primários ou secundários, diminuição da ocorrência de tumores primários ou secundários, gravidade reduzida ou diminuída dos efeitos secundários da doença, crescimento do tumor interrompido e regressão de tumores, entre outros. No extremo, uma inibição completa é referida neste documento como a prevenção ou quimioprevenção. Neste contexto, o termo "prevenção" inclui quer a prevenção do início de neoplasia clinicamente evidente completamente ou prevenção do início de um estágio pré-clinicamente evidente de neoplasia em sujeitos em risco. Também é destinada a ser englobada por esta definição a prevenção da transformação em células malignas ou interrupção ou reversão da progressão de células pré-malignas para células malignas. Isto inclui o tratamento profilático daqueles que estão em risco de desenvolver a neoplasia.

[089] Como usado na presente invenção, e a menos que especificado de outra forma, o termo "em combinação com" inclui a administração de dois ou mais agentes terapêuticos, simultaneamente, concomitantemente, sequencialmente ou dentro de limites de tempo específicos a menos que indicado de outra forma. Em uma modalidade, um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina. Em uma modalidade, os agentes estão presentes na célula ou no corpo do sujeito ao mesmo tempo ou exercem o seu efeito biológico ou terapêutico ao mesmo tempo. Em uma modalidade, os agentes terapêuticos estão na mesma forma de dosagem ou unidade de composição. Em outras modalidades, os agentes terapêuticos estão em composições separadas ou formas de dosagem unitária. Em certas modalidades, um primeiro agente pode ser administrado antes de (por exemplo,

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, ou 12 semanas antes), essencialmente simultaneamente com, ou subsequente a (por exemplo, 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, ou 12 semanas depois) a administração de um segundo agente terapêutico, ou qualquer combinação dos mesmos. Por exemplo, em uma modalidade, o primeiro agente pode ser administrado antes do segundo agente terapêutico, por exemplo 1 semana. Em uma outra, o primeiro agente pode ser administrado antes de (por exemplo, 1 dia antes) e, em seguida, simultaneamente com o segundo agente terapêutico.

[090] Os termos "paciente" e "sujeito" como usados na presente invenção incluem um animal, incluindo, mas não limitado a, um animal tal como uma vaca, macaco, cavalo, ovelha, porco, galinha, peru, codorniz, gato, cão, camundongo, rato, coelho ou porquinho da índia, em uma modalidade de um mamífero, em uma outra modalidade um humano. Em uma modalidade, um "paciente" ou "sujeito" é um ser humano com um câncer.

[091] No contexto de um câncer, a inibição pode ser avaliada por inibição da progressão da doença, a inibição do crescimento do tumor, redução do tumor primário, alívio de sintomas relacionados com o tumor, inibição de fatores secretados por tumor (incluindo hormônios secretados por tumor, tais como aqueles que contribuem para a síndrome de carcinóide), o aparecimento retardado de tumores primários ou secundários, desenvolvimento retardado de tumores primários ou secundários, diminuição da ocorrência de tumores primários ou secundários, retardo ou diminuição da gravidade dos efeitos secundários da doença, interrupção do crescimento do tumor e a regressão de

tumores, aumento do Tempo para Progressão (TTP), o aumento da Sobrevida Isento de Progressão (PFS), o aumento da Sobrevida Global (OS), entre outros. A OS, como usado na presente invenção, significa o tempo desde a randomização até à morte devido a qualquer causa, e é medida na população destinada a tratamento. O TTP como usado na presente invenção, significa o tempo desde a randomização até à progressão tumoral objetiva; O TTP não inclui mortes. Como usado na presente invenção, o PFS, significa o tempo desde a randomização até à progressão ou morte tumoral objetiva. Em uma modalidade, as taxas de PFS serão calculadas com base nas estimativas de Kaplan-Meier. No extremo, uma inibição completa é chamada neste documento de prevenção ou quimioprevenção. Neste contexto, o termo "prevenção" inclui quer a prevenção do início de câncer avançado clinicamente evidente completamente ou prevenção do início de um estágio pré-clinicamente evidente de um câncer. Também se destina a ser englobada por esta definição a prevenção da transformação em células malignas ou interrupção ou reversão da progressão de células pré-malignas para células malignas. Isto inclui o tratamento profilático daqueles que estão em risco de desenvolver um câncer.

[092] Em certas modalidades, o tratamento de linfoma pode ser avaliado pelos critérios do Workshop Internacional (IWC) para linfoma não-Hodgkin (NHL) (veja Cheson BD, Pfistner B, Juweid, ME, et. al. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. J. Clin. Oncol: 2007: (25) 579-586), usando as definições de resposta e de ponto final mostradas abaixo:

Resposta	Definição	Massas nodais	Baço, fígado	Medula óssea
CR	Desaparecimento de toda a evidência de doença	(a) FDG- ávido ou PET positivo antes da terapia; massa de qualquer tamanho permitido se PET negativo (b) Variabilidade de FDG- ávido ou PET negativo; regressão ao tamanho normal na TC	Nódulos não palpáveis desaparecidos	Infiltração apurada na biópsia de repetição; Se indeterminado por morfologia, imuno-histoquímica deve ser negativo
PR	Regressão da doença mensurável e nenhum novo sítio	≥50% de diminuição no SPD de até 6 massas dominantes maiores; nenhum aumento de tamanho de outros nódulos (a) FDG- ávido ou PET positivo antes da terapia; um ou mais PET positivo no local anteriormente envolvido (b) Variabilidade de FDG- ávido ou PET negativo; regressão na CT	≥50% de diminuição no SPD de nódulos (para nódulo único no maior diâmetro transversal); nenhum aumento no tamanho do fígado ou baço	Irrelevante se positivo antes da terapia; tipo de célula deve ser especificado

Resposta	Definição	Massas nodais	Baço, fígado	Medula óssea
SD	Não foi possível atingir CR/PR ou PD	(a) FDG-PET ávido ou positivo antes da terapia; PET positivo nos locais anteriores de doença e não há novos sites na CT ou PET (b) Variabilidade de FDG- ávido ou PET negativo; nenhuma alteração no tamanho das lesões anteriores na CT		
PD ou Doença recorrente	Qualquer nova lesão ou aumento por $\geq 50\%$ de sítios anteriormente envolvidos de nadir	Aparecimento de uma nova lesão(s) $\geq 1,5$ cm de qualquer eixo, $\geq 50\%$ de aumento em SPD de mais do que um nódulo, ou $\geq 50\%$ de aumento no diâmetro maior de um nódulo anteriormente identificado ≥ 1 cm no eixo curto Lesões PET positivas se linfoma FDG-ávido ou PET positivo antes da terapia	$\geq 50\%$ de aumento de nadir no SPD de quaisquer lesões anteriores	Envolvimento recorrente ou novo

[093] Abreviaturas: CR, remissão completa; FDG [^{18}F] fluorodesóxiglicose; PET, tomografia por emissão de pósitrons; CT, tomografia computadorizada; PR,

remissão parcial; SPD, soma do produto dos diâmetros; SD, doença estável; PD, doença progressiva.

Ponto final	Pacientes	Definições	Medido a partir de
Primário			
Sobrevida global	Todos	Morte como resultado de qualquer causa	Entrada no estudo
Sobrevida isenta de progressão	Todos	Progressão da doença ou morte como resultado de qualquer causa	Entrada no estudo
Secondário			
Sobrevida isenta de eventos	Todos	Falha do tratamento ou morte como resultado de qualquer causa	Entrada no estudo
Tempo para progressão	Todos	Tempo para progressão ou morte como um resultado de linfoma	Entrada no estudo
Sobrevida isenta de doença	Em CR	Tempo para recorrência ou morte como um resultado de linfoma ou toxicidade aguda do tratamento	Documentação da resposta
Duração da resposta	Em CR ou PR	Tempo para recorrência ou progressão	Documentação da resposta
Sobrevida específica de linfoma	Todos	Tempo para morte como resultado de linfoma	Entrada no estudo
Tempo para próximo tratamento	Todos	Tempo para novo tratamento	Fim do tratamento primário

Abreviaturas: CR: remissão completa; PR: remissão parcial.

[094] Em uma modalidade, o ponto final para o linfoma é evidência de benefício clínico. Benefício clínico pode refletir a melhoria na qualidade de vida,

ou redução nos sintomas do paciente, necessidade de transfusão, infecções frequentes, ou outros parâmetros. Tempo para reaparecimento ou progressão dos sintomas relacionados com linfoma também pode ser usado no presente ponto final.

[095] Em certas modalidades, o tratamento da CLL pode ser avaliado pelas Diretrizes de Workshop Internacional para CLL (*veja* Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*, 2008; (111) 12: 5446-5456), usando as definições de resposta e de ponto final mostradas nela e em particular:

Parâmetro	CR	PR	PD
Grupo A			
Linfadenopatia [†]	Nenhum > 1,5 cm	Diminuição ≥ 50%	Aumento ≥ 50%
Hepatomegalia	Nenhum	Diminuição ≥ 50%	Aumento ≥ 50%
Esplenomegalia	Nenhum	Diminuição ≥ 50%	Aumento ≥ 50%
Linfócitos do sangue	< 4000/ μ L	Diminuição ≥ 50% da linha de base	Aumento ≥ 50% diante da linha de base
Medula [‡]	Normocelular, < 30% linfócitos, sem nódulos de linfóide B. Medula hipocelular define CRi (5.1.6).	50% redução da infiltração da medula, ou Nódulos de células B	
Grupo B			
Contagem de plaquetas	> 100 000/ μ L	> 100 000/ μ L ou aumento ≥ 50% diante da linha de base	Diminuição de ≥ 50% da linha de base secundária para CLL

Parâmetro	CR	PR	PD
Hemoglobina	> 11,0 g/dL	> 11 g/dL ou aumento $\geq$ 50% diante da linha de base	Diminuição de > 2 g/dL da linha de base secundária para CLL
Neutrófilos [†]	> 1500/ μ L	> 1500/ μ L ou > 50% de melhoria diante da linha de base	

[096] Os critérios Grupo A definem a carga de tumor; os Critérios do Grupo B definem a função do sistema hematopoiético (ou medula). CR (remissão completa): todos os critérios têm de ser satisfeitos, e os pacientes têm que carecer de sintomas constitucionais relacionados com a doença; PR (remissão parcial): pelo menos dois dos critérios do grupo A mais um dos critérios do grupo B têm de ser satisfeitos; SD é ausência de doença progressiva (PD) e impossibilidade de atingir, pelo menos, um PR; PD; pelo menos um dos critérios acima referidos do grupo A ou grupo B tem de ser satisfeito. Soma dos produtos de múltiplos linfonodos (como avaliados por tomografias computadorizadas em ensaios clínicos, quer através de exame físico na prática geral). Estes parâmetros são irrelevantes para algumas categorias de resposta.

[097] Em certas modalidades, o tratamento do mieloma múltiplo pode ser avaliado pelos Critérios de Resposta Uniforme Internacionais para o Mieloma Múltiplo (IURC) (veja Durie BGM, Harousseau J-L, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006; (10) 10:1-7), usando as definições de resposta e de ponto final mostradas abaixo:

Subcategoria de resposta	Critérios de Respostas ^a
sCR	CR, tal como definido abaixo, mais Razão de FLC normal e Ausência de células clonais na medula óssea ^b por imuno-histoquímica ou

Subcategoria de resposta	Critérios de Respostas ^a
	imunofluorescência ^c
CR	Imunofixação negativa no soro e na urina e Desaparecimento de quaisquer plasmacitomas de tecidos moles e <5% de células de plasma na medula óssea^b
VGPR	Proteína-M da urina Soro detectável por imunofixação mas não em eletroforese ou 90% ou maior redução no nível de proteína-M no soro mais proteína-M na urina <100 mg por 24 h
PR	≥ 50% de redução de proteína-M no soro e a redução em 24 h de proteína-M urinária por ≥90% ou <200 mg por 24 h Se o soro e a proteína-M na urina são incomensuráveis, ^d uma diminuição ≥50% na diferença entre os níveis de FLC envolvidos e não envolvidos, é necessária, em lugar dos critérios de proteína-M Se a proteína-M do soro e urina são incomensuráveis, e ensaio de cadeia leve sem soro também é imensurável, a redução ≥50% em células plasmáticas é necessária no lugar da proteína-M, desde que a porcentagem de células plasmáticas da medula óssea da linha de base foi ≥30% Além dos critérios enumerados acima, se estiver presente na linha de base, é também necessária uma redução ≥50% no tamanho dos plasmacitomas dos tecidos moles

Subcategoria de resposta	Critérios de Respostas ^a
SD (não é recomendado para o uso como um indicador de resposta; estabilidade da doença é melhor descrita através do fornecimento do tempo para estimativas de progressão)	Não satisfazem os critérios de CR, VGPR, PR ou doença progressiva

[098] Abreviaturas: CR, resposta completa; FLC, cadeia leve livre; PR, resposta parcial; SD, doença estável; sCR, resposta completa rigorosa; VGPR, resposta parcial muito boa; ^aTodas as categorias de respostas exigem duas avaliações consecutivas feitas a qualquer momento antes da instituição de qualquer nova terapia; todas as categorias também não exigem nenhuma evidência conhecida de lesões ósseas progressivas ou novos estudos radiográficos foram realizados. Os estudos radiográficos não são obrigados a satisfazer estes requisitos de resposta; ^bConfirmação com biópsia de medula óssea de repetição não é necessária; ^cPresença/ausência de células clonais é baseada na razão de κ/λ . Uma razão de κ/λ anormal por imuno-histoquímica e/ou imunofluorescência requer um mínimo de 100 células de plasma para análise. Uma razão anormal refletindo a presença de um clone anormal é κ/λ de $>4:1$ ou $<1:2$. ^dDoença mensurável definida por, pelo menos, uma das seguintes medições: Células plasmáticas da medula óssea $\geq 30\%$; Proteína-M do soro ≥ 1 g/dl (≥ 10 gm/l) [10 g/l]; Proteína-M da urina ≥ 200 mg/24 h; Ensaio de FLC do soro: Nível de FLC envolvido ≥ 10 mg/dl (≥ 100 mg/l); Razão de FLC de soro fornecida é anormal.

[099] Em certas modalidades, o tratamento de um câncer pode ser avaliado por critérios de avaliação da resposta em tumores sólidos (*veja* Thereasse P., et al. New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. J. of the National Cancer Institute; 2000; (92) 205-216 and

Eisenhauer E.A., Therasse P., Bogaerts J., et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *European J. Cancer*; 2009; (45) 228–247). As respostas globais para todas as combinações possíveis de respostas tumorais em lesões alvos e não alvos com ou sem o aparecimento de novas lesões são como segue:

Lesões alvos	Lesões não alvos	Novas lesões	Resposta Global
CR	CR	No	CR
CR	Resposta Incompleta/SD	Não	PR
PR	Sem-PD	Não	PR
SD	Sem-PD	Não	SD
PD	Qualquer	Sim ou Não	PD
Any	PD	Sim ou Não	PD
Any	Any	Yes	PD

CR = resposta completa; PR = resposta parcial; DP = doença estável; e PD = doença progressiva.

[100] Com respeito à avaliação de lesões alvos, a resposta completa (CR) é o desaparecimento de todas as lesões alvos, a resposta parcial (PR) é a com pelo menos uma diminuição de 30% na soma do diâmetro maior das lesões alvos, tomando como referência o diâmetro maior da soma da linha de base, a doença progressiva (PD) é de pelo menos um aumento de 20% na soma do diâmetro maior de lesões alvos, tomando como referência a menor soma do maior diâmetro registrado desde o início do tratamento ou aparecimento de uma ou mais lesões novas e a doença estável (SD) não é nem uma redução suficiente

para qualificar a resposta parcial nem um aumento suficiente para qualificar a doença progressiva, tomando como referência a menor soma do diâmetro maior desde o início do tratamento.

[101] Com respeito à avaliação de lesões não alvos, a resposta completa (CR) é o desaparecimento de todas as lesões não alvos e a normalização do nível de marcador tumoral; a resposta incompleta/doença estável (SD) é a persistência de uma ou mais lesões não alvos e/ou a manutenção do nível de marcação tumoral acima dos limites normais, e doença progressiva (PD) é o aparecimento de uma ou mais novas lesões e/ou progressão inequívocas de lesões não alvos existentes.

[102] Os procedimentos, convenções e definições descritos a seguir fornecem orientações para a implementação das recomendações da Avaliação de Resposta para Critérios de Resposta sobre o Grupo de Trabalho para Neuro-Oncologia (RANO) para gliomas de alto grau (Wen P., Macdonald, DR., Reardon, DA., et al. Updated response assessment criteria for highgrade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. J Clin Oncol 2010; 28: 1963-1972). As modificações principais para os critérios de RANO para Critérios de Respostas de Ponto de Tempo (TPR) podem incluir a adição de convenções operacionais para a definição de alterações na dose de glicocorticóide, e a remoção do componente de deterioração clínica dos sujeitos para se concentrar em avaliações radiológicas objetivas. A varredura de MRI de linha de base é definida como a avaliação realizada no final do período de descanso de pós-cirurgia, antes do tratamento com composto de reinicialização. A MRI é usada como a referência de linha de base para a avaliação de resposta completa (CR) e uma resposta parcial (PR). Assim, a menor SPD (soma dos produtos de diâmetros perpendiculares) obtida quer na linha de base ou nas avaliações subsequentes será designada a avaliação de nadir e usada como referência para a

determinação da progressão. Para os 5 dias que antecedem qualquer varredura de MRI (ressonância magnética) definida pelo protocolo, os sujeitos não recebem nenhum glicocorticóide ou estão com uma dose estável de glicocorticóides. Uma dose estável é definida como a mesma dose diária durante os 5 dias consecutivos antes da varredura de MRI (ressonância magnética). Se a dose de glicocorticóide prescrita é alterada nos 5 dias antes da varredura da linha de base, uma nova varredura da linha de base é necessária com uso de glicocorticóide satisfazendo os critérios acima descritos. As seguintes definições serão usadas.

[103] Lesões Mensuráveis: lesões mensuráveis são lesões de aumento de contraste que podem ser medidas bidimensionalmente. A medição é feita do diâmetro do tumor de intensificação máxima (também conhecido como o maior diâmetro, LD). O maior diâmetro perpendicular é medido na mesma imagem. Os retículos de medições bidimensionais devem cruzar e o produto destes diâmetros será calculado.

[104] Diâmetro Mínimo: Imagem ponderada em T1 em que as seções são de 5 mm, com 1 mm de pular. O LD mínimo de uma lesão mensurável é definido como 5 mm por 5 mm. Diâmetros maiores podem ser necessários para a inclusão e/ou designação como lesões alvos. Depois da linha de base, as lesões alvos que se tornam menores do que o requisito mínimo para a medição ou se tornam não passíveis de mensuração bidimensional serão registradas com o valor padrão de 5 mm para cada diâmetro inferior a 5 mm. As lesões que desaparecem serão registradas como 0 mm por 0 mm.

[105] Lesões Multicêntricas: Lesões que são consideradas multicêntricas (em oposição a contínua) são lesões onde é normal intervir no tecido cerebral entre duas (ou mais) lesões. Para lesões multicêntricas que são focos discretos de intensificação, a abordagem é medir separadamente cada lesão de

intensificação que atenda aos critérios de inclusão. Se não houver um tecido normal do cérebro entre as duas (ou mais) lesões, elas vão ser consideradas a mesma lesão.

[106] Lesões não mensuráveis: Todas as lesões que não satisfazem os critérios para a doença mensurável como acima definidos serão consideradas lesões não mensuráveis, bem como todas as lesões sem intensificação ou outras lesões verdadeiramente não mensuráveis. Lesões não mensuráveis incluem focos de intensificação que são menores do que o menor diâmetro especificado (isto é, menos de 5 mm por 5 mm), lesões sem intensificação (por exemplo, como visto em imagens pós-contraste ponderadas em T1, ponderadas em T2, ou de recuperação de inversão atenuada de Fluidos (FLAIR)), lesões hemorrágicas ou predominantemente císticas ou necróticas, e tumor leptomeningeal. As lesões hemorrágicas têm frequentemente hiperintensidade ponderada em T1 intrínseca que pode ser interpretada como a intensificação do tumor, e por esta razão, a imagem pré-contraste ponderada em T1 pode ser examinada para excluir a hemorragia subaguda do intervalo ou linha de base.

[107] No início do estudo, as lesões serão classificadas da seguinte forma: lesões alvos: até 5 lesões mensuráveis podem ser selecionadas como lesões alvos com cada uma medindo pelo menos 10 mm por 5 mm, representativa da doença do sujeito; Lesões não alvos: Todas as outras lesões, incluindo todas as lesões não mensuráveis (incluindo os efeitos de massa e resultados de T2/FLAIR) e qualquer lesão mensurável não selecionada como uma lesão alvo. Na linha de base, as lesões alvos devem ser medidas, tal como descrito na definição de lesões mensuráveis e o SPD de todas as lesões alvos deve ser determinado. A presença de todas as outras lesões deve ser documentada. Em todas as avaliações pós-tratamento, a classificação inicial de lesões como lesões alvos e não alvos serão mantidas e as lesões serão documentadas e descritas de uma

forma consistente ao longo do tempo (por exemplo, registradas na mesma ordem em documentos de origem e eCRFs). Todas as lesões mensuráveis e não mensuráveis devem ser avaliadas usando a mesma técnica que na linha de base (por exemplo, os sujeitos devem ser imageados no mesmo equipamento scanner de MRI ou, pelo menos com a mesma resistência a ímã) para a duração do estudo, para reduzir as dificuldades na interpretação das alterações. Em cada avaliação, as lesões alvos serão medidas e o SPD calculado. As lesões não alvos serão avaliadas qualitativamente e novas lesões, se houver, serão documentadas separadamente. Em cada avaliação, uma resposta de ponto de tempo será determinada por lesões alvos, lesões não alvos, e nova lesão. A progressão do tumor pode ser estabelecida, mesmo se apenas um subconjunto das lesões é avaliado. No entanto, a menos que a progressão seja observada, o estado objetivo (doença estável, PR ou CR) pode apenas ser determinado quando todas as lesões são avaliadas.

[108] As avaliações de confirmação para respostas pontuais no tempo total de CR e PR serão realizadas na próxima avaliação programada, mas a confirmação não pode ocorrer se as verificações tiverem um intervalo de < 28 dias. A melhor resposta, que inclua os requisitos de confirmação, irá ser derivada a partir de uma série de pontos de tempo.

[109] Em certas modalidades, o tratamento de um câncer pode ser avaliado pela inibição da fosforilação de S6RP, 4E-BP1, AKT e/ou DNA-PK em células sanguíneas e/ou tumorais em circulação, e/ou biópsias da pele ou biópsias de tumores/aspirados, antes, durante e/ou após o tratamento com um inibidor da cinase TOR. Por exemplo, a inibição da fosforilação de S6RP, 4E-BP1, AKT e/ou DNA-PK é avaliada em células B, células T e/ou monócitos. Em outras modalidades, o tratamento de um câncer pode ser avaliado por meio da atividade de inibição de proteína cinase dependente de DNA (DNA-PK) em

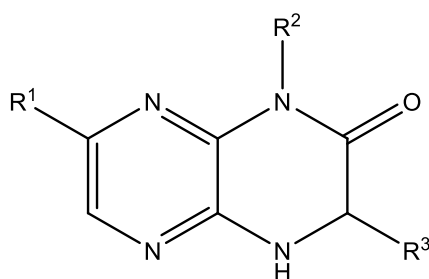
amostras de pele e/ou biopsias tumorais/aspirados, tal como pela avaliação da quantidade de pDNA-PK S2056 como um biomarcador para vias de danos de DNA, antes, durante e/ou após o tratamento com inibidor da cinase TOR. Em uma modalidade, a amostra de pele é irradiada por luz UV.

[110] No extremo, uma inibição completa é referida neste documento como a prevenção ou quimioprevenção. Neste contexto, o termo "prevenção" inclui tanto a prevenção do início de câncer clinicamente evidente completamente ou prevenção do início de um estágio pré-clinicamente evidente de um câncer. Também se destina a ser englobada por esta definição a prevenção da transformação em células malignas ou interrupção ou reversão da progressão de células pré-malignas para células malignas. Isto inclui o tratamento profilático daqueles que estão em risco de desenvolver um câncer.

INIBIDORES DE CINASE TOR

[111] Os compostos aqui fornecidos são geralmente referidos como "inibidor(es) de cinase TOR". Em um aspecto, os inibidores de cinase TOR não incluem rapamicina ou análogos de rapamicina (rapálogos).

[112] Em uma modalidade, os inibidores de cinase TOR incluem compostos tendo a seguinte fórmula (I):



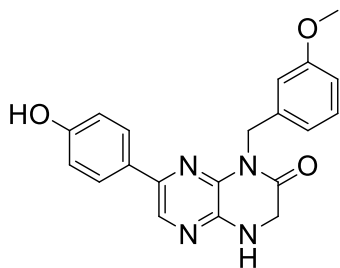
(I)

e sais, claratos, solvatos, estereoisômeros, tautômeros, metabólitos, isotopólogos e pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, em que:

R^1 é C_{1-8} alquil substituído ou não substituído, aril substituído ou não substituído, cicloalquil substituído ou não substituído, heterociclil substituído ou não substituído, ou heterociclilalquil substituído ou não substituído;

R^2 é H, C_{1-8} alquil substituído ou não substituído, cicloalquil substituído ou não substituído, heterociclil substituído ou não substituído, heterociclilalquil substituído ou não substituído, aralquil substituído ou não substituído, ou cicloalquilalquil substituído ou não substituído;

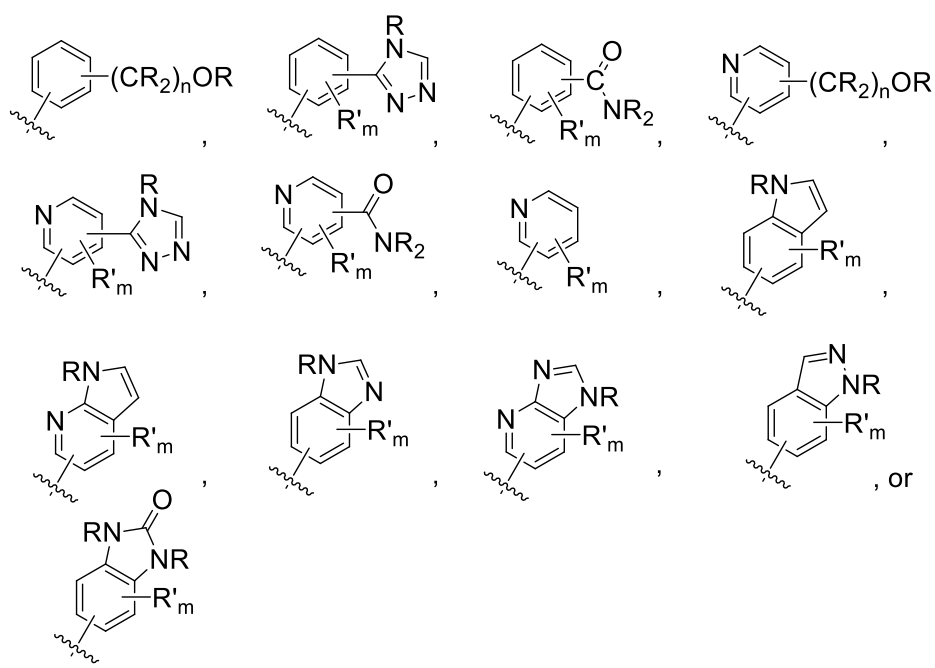
R^3 é H, ou um C_{1-8} alquil substituído ou não substituído, em que em certas modalidades, os inibidores de cinase TOR não incluem 7-(4-hidróxi-fenil)-1-(3-metóxi benzil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, representado abaixo:



[113] Em algumas modalidades dos compostos de fórmula (I), R^1 é aril substituído ou não substituído ou heteroaril substituído ou não substituído. Por exemplo, R^1 é fenil, piridil, pirimidil, benzimidazolil, 1H-pirrólo[2,3-b]piridil, indazolil, indolil, 1H-imidazo[4,5-b]piridil, 1H-imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-onil, 3H-imidazo[4,5-b]piridil, ou pirazolil, cada opcionalmente substituído. Em algumas modalidades, R^1 é fenil substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em C_{1-8} alquil substituído ou não substituído (por exemplo, metil), heterociclil substituído ou não substituído (por exemplo, um triazolil ou pirazolil substituído ou não substituído), aminocarbonil, halogênio (por exemplo, fluorine), ciano, hidróxi-alquil e hidróxi. Em outras modalidades, R^1 é piridil substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste

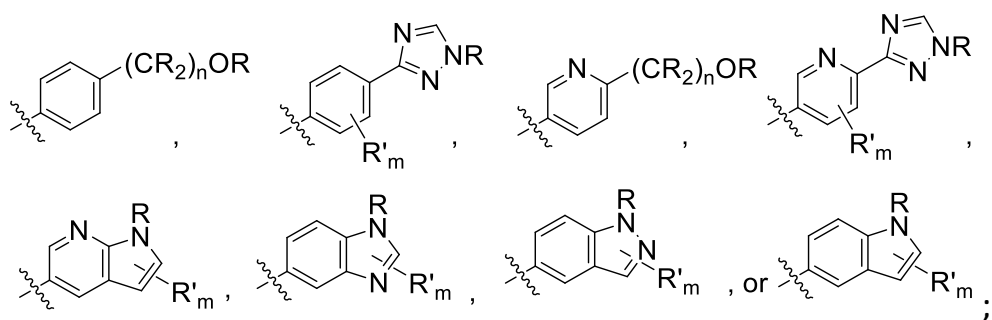
em C₁₋₈ alquil substituído ou não substituído (por exemplo, metil), substituído ou não substituído heterociclil (por exemplo, um triazolil substituído ou não substituído), halogênio, aminocarbonil, ciano, hidróxi-alquil (por exemplo, hidróxi-propil), -OR, e -NR₂, em que cada R é independentemente H, ou um C₁₋₄ alquil substituído ou não substituído. Em algumas modalidades, R¹ é 1H-pirrolo[2,3-b]piridil ou benzimidazolil, opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em C₁₋₈ alquil substituído ou não substituído, e -NR₂, em que R é independentemente H, ou um C₁₋₄ alquil substituído ou não substituído.

[114] Em algumas modalidades, R¹ é



em que R é em cada ocorrência independentemente H, ou um C₁₋₄ alquil substituído ou não substituído (por exemplo, metil); R' é em cada ocorrência independentemente um C₁₋₄ alquil substituído ou não substituído (por exemplo, metil), halogênio (por exemplo, fluoro), ciano, -OR, ou -NR₂; m é 0-3; e n é 0-3. Será entendido por aqueles versados na técnica que qualquer um dos substituintes R' pode ser fixo a qualquer átomo adequado de qualquer um dos anéis nos sistemas de anéis fundidos.

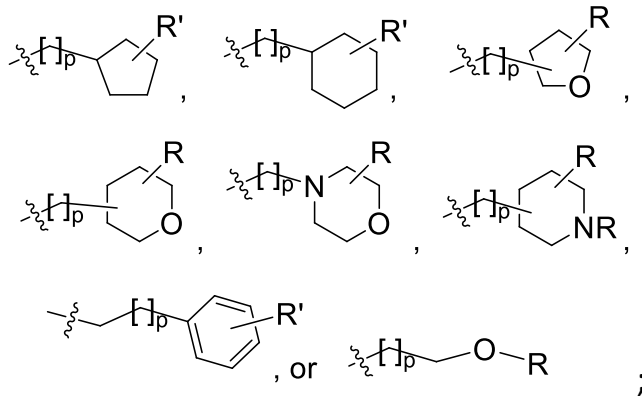
[115] Em algumas modalidades dos compostos de fórmula (I), R^1 é



em que R é em cada ocorrência independentemente H, ou um C_{1-4} alquil substituído ou não substituído; R' é em cada ocorrência independentemente um C_{1-4} alquil substituído ou não substituído, halogênio, ciano, -OR ou -NR₂; m é 0-3; e n é 0-3.

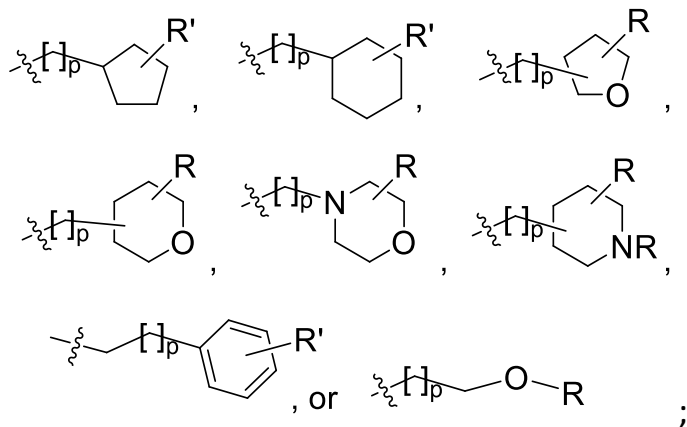
[116] Em algumas modalidades dos compostos de fórmula (I), R^2 é H, C_{1-8} alquil substituído ou não substituído, cicloalquil substituído ou não substituído, heterociclil substituído ou não substituído, C_{1-4} alquil-heterociclil substituído ou não substituído, C_{1-4} alquil-aril substituído ou não substituído, ou C_{1-4} alquil-cicloalquil substituído ou não substituído. Por exemplo, R^2 é H, metil, etil, n-propil, isopropil, n-butil, sec-butil, isobutil, tert-butil, n-pentil, isopentil, ciclopentil, ciclo-hexil, tetra-hidrofuranil, tetra-hidropiranil, (C_{1-4} alquil)-fenil, (C_{1-4} alquil)-ciclopropil, (C_{1-4} alquil)-ciclobutil, (C_{1-4} alquil)-ciclopentil, (C_{1-4} alquil)-ciclo-hexil, (C_{1-4} alquil)-pirrolidil, (C_{1-4} alquil)-piperidil, (C_{1-4} alquil)-piperazinil, (C_{1-4} alquil)-morfolinil, (C_{1-4} alquil)-tetra-hidrofuranil, ou (C_{1-4} alquil)-tetra-hidropiranil, cada opcionalmente substituído.

[117] Em outras modalidades, R^2 é H, C_{1-4} alquil, (C_{1-4} alquil)(OR),



em que R é em cada ocorrência independentemente H, ou um C₁₋₄ alquil substituído ou não substituído (por exemplo, metil); R' é em cada ocorrência independentemente H, -OR, ciano, ou um C₁₋₄ alquil substituído ou não substituído (por exemplo, metil); e p é 0-3.

[118] Em outras modalidades dos compostos de fórmula (I), R² é H, C₁₋₄alquil, (C₁₋₄alquil)(OR),



em que R é em cada ocorrência independentemente H, ou um C₁₋₂ alquil substituído ou não substituído; R' é em cada ocorrência independentemente H, -OR, ciano, ou um C₁₋₂ alquil substituído ou não substituído; e p é 0-1.

[119] Em outras modalidades dos compostos de fórmula (I), R^3 é H.

[120] Em algumas de tais modalidades descritas na presente invenção, R¹ é aril substituído ou não substituído, ou heteroaril substituído ou não substituído. Por exemplo, R¹ é fenil, piridil, pirimidil, benzimidazolil, 1H-pirrólo[2,3-b]piridil, indazolil, indolil, 1H-imidazo[4,5-b]piridine, piridil, 1H-

imidazo[4,5-b]piridin-2(3H)-onil, 3H-imidazo[4,5-b]piridil, ou pirazolil, cada opcionalmente substituído. Em algumas modalidades, R^1 é fenil substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em C_{1-8} alquil substituído ou não substituído, heterociclil substituído ou não substituído, aminocarbonil, halogênio, ciano, hidróxi-alkil e hidróxi-. Em outras, R^1 é piridil substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em C_{1-8} alquil, heterociclil substituído ou não substituído, halogênio, aminocarbonil, ciano, hidróxi-alkil, -OR, e -NR₂, em que cada R é independentemente H, ou um C_{1-4} alquil substituído ou não substituído. Em ainda outras modalidades, R^1 é 1H-pirrolo[2,3-b]piridil ou benzimidazolil, opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em C_{1-8} alquil substituído ou não substituído, e -NR₂, em que R é independentemente H, ou um C_{1-4} alquil substituído ou não substituído.

[121] Em certas modalidades, os compostos de fórmula (I) têm um grupo R^1 estabelecido na presente invenção e um grupo R^2 estabelecido na presente invenção.

[122] Em algumas modalidades dos compostos de fórmula (I), o composto inibe cinase TOR. Em outras modalidades dos compostos de fórmula (I), o composto inibe DNA-PK. Em certas modalidades dos compostos de fórmula (I), o composto inibe ambas cinase TOR e DNA-PK.

[123] Em algumas modalidades dos compostos de fórmula (I), o composto em uma concentração de 10 μ M inibe cinase mTOR, DNA-PK, PI3K, ou uma combinação das mesmas por pelo menos cerca de 50%. Os compostos de fórmula (I) podem ser mostrados como sendo inibidores das cinases acima em qualquer sistema de ensaio adequado.

[124] Os inibidores de cinase TOR representativos de fórmula (I) incluem os compostos da Tabela A.

Tabela A.

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-((*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(*cis*-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-pirrólo[2,3-b]piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-((*cis*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-etil-7-(1H-pirrólo[3,2-b]piridin-5-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-((*cis*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-benzo[d]imidazol-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-pirrólo[2,3-b]piridin-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-((*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-((*trans*-4-hidróxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(*cis*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(*cis*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-etil-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-((*cis*-4-hidróxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-indol-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-((*trans*-4-hidróxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-((*cis*-4-hidróxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(*trans*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-isopropil-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(*trans*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-isopropil-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-etil-7-(5-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-hidróxi-piridin-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-isopropil-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

5-(8-isopropil-7-oxo-5,6,7,8-tetra-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2-il)-4-metilpicolinamida;

7-(1H-indazol-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-aminopirimidin-5-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-aminopiridin-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(metilamino)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-hidróxi-piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(4-(1H-pirazol-3-il)fenil)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-indazol-4-il)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-indazol-6-il)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(pirimidin-5-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-methoxypiridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(2-metóxi-etil)-7-(1H-pirrólo[2,3-b]piridin-5-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-etil-7-(1H-pirrólo[2,3-b]piridin-5-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-etil-7-(1H-indazol-4-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(piridin-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-aminopiridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-metil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

2-(2-hidróxi-propan-2-il)-5-(8-(*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-7-oxo-5,6,7,8-tetra-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2-il)piridine 1-óxido;

4-metil-5-(7-oxo-8-((tetra-hidro-2H-piran-4-il)metil)-5,6,7,8-tetra-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2-il)picolinamida;

5-(8-((*cis*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-7-oxo-5,6,7,8-tetra-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2-il)-4-metilpicolinamida;

7-(1H-pirazol-4-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

3-((7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-2-oxo-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-1(2H)-il)metil)benzonitrila;

1-((*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

3-(7-oxo-8-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-5,6,7,8-tetra-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2-il)benzamida;

5-(8-((*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-7-oxo-5,6,7,8-tetra-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2-il)-4-metilpicolinamida;

3-((7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-2-oxo-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-1(2H)-il)metil)benzonitrila;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((1R,3R)-3-metóxi-ciclopentil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((1S,3R)-3-metóxi-ciclopentil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((1S,3S)-3-metóxi-ciclopentil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((1R,3S)-3-metóxi-ciclopentil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-indazol-6-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(2-morfolinoetil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((*trans*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(*cis*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(2-morfolinoetil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-isopropil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-imidazo[4,5-b]piridin-6-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((*cis*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(*trans*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(*cis*-4-hidróxi-ciclo-hexil)-7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

4-(7-oxo-8-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-5,6,7,8-tetra-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2-il)benzamida;

7-(1H-indazol-5-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-pirrólo[2,3-b]piridin-5-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((1S,3R)-3-metóxi-ciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((1R,3R)-3-metóxi-ciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((1R,3S)-3-metóxi-ciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((1S,3S)-3-metóxi-ciclopentil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-indol-5-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(1H-indol-6-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(4-(2-hidróxi-propan-2-il)fenil)-1-(*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-((*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((*cis*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(2-metóxi-etil)-7-(4-metil-2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(7-metil-2-oxo-2,3-di-hidro-1H-benzo[d]imidazol-5-il)-1-((tetra-hidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(2-metóxi-etil)-7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-benzil-7-(2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(3-fluoro-4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(3-fluoro-4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(3-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(5-fluoro-2-metil-4-(4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(3-fluoro-2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(2-metóxi-etil)-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(ciclopentilmetil)-7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(4-(2-hidróxi-propan-2-il)fenil)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

(S)-7-(6-(1-hidróxi-etil)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

(R)-7-(6-(1-hidróxi-etil)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-((tetra-hidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(4-(2-hidróxi-propan-2-il)fenil)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(4-(trifluorometil)benzil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(3-(trifluorometil)benzil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(3-metóxi-propil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(4-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(2-metóxi-etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((tetra-hidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(4-metil-2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1-((tetra-hidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-amino-4-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1-((tetra-hidro-2H-piran-4-il)metil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

(R)-7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3-metil-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

(S)-7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3-metil-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3,3-dimetil-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-amino-4-metil-1H-benzo[d]imidazol-6-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(2-metil-4-(1H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

7-(4-(1H-1,2,4-triazol-5-il)fenil)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona;

1-(1-hidróxi-propan-2-il)-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona; e

1-(2-hidróxi-etil)-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona,

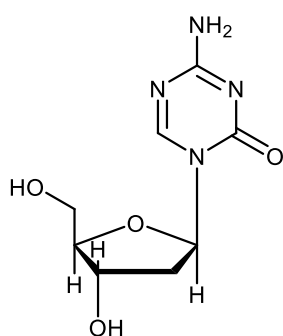
e sais, claratos, solvatos, estereoisômeros, tautômeros, metabólitos, isotopólogos e pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos.

5.3 ANÁLOGOS DE CITIDINA

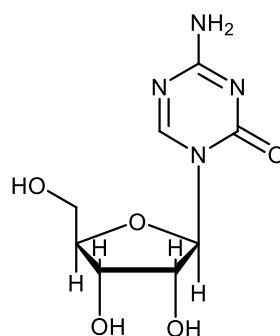
[125] Os análogos de nucleosídeos têm sido usados clinicamente para o tratamento de infecções virais e de certos cânceres. A maioria dos análogos de nucleosídeos é classificada como antimetabólitos. Depois de entrar na célula, os análogos de nucleosídeos são fosforilados sucessivamente a nucleosídeos 5'-mono- fosfatos, di-fosfatos e tri-fosfatos.

[126] Os análogos de nucleosídeos de 5-azacitidina (também conhecidos como 4-amino-1-β-D-ribofuranosil-1,3,5-triazina-2 (1H)-ona; Designação do Centro de Serviço Nacional (National Service Center) NSC-102816; Número de

Registro CAS 320-67-2; azacitidina; Aza, AZA e 5-AZA; e atualmente comercializado como VIDAZA®) e 2'-desoxi-5-azacitidina (também conhecido como 5-aza-2'-desoxicitidina, decitabina, 5-aza-CdR, Dac, e DAC, e atualmente comercializado como DACOGEN®) são inibidores de DNA metiltransferase (DNMT) que foram aprovados por U.S. Food and Drug Administration para o tratamento de síndromes mielodisplásicas (MDS). Azacitidina e decitabina são análogos da citidina; uma diferença estrutural entre esses análogos de citidina e seus nucleosídeos naturais relacionados é a presença de um átomo de nitrogênio na posição 5 do anel de citosina no lugar de um átomo de carbono. Azacitidina pode ser definida como tendo uma fórmula molecular de $C_8H_{12}N_4O_5$, um peso molecular de 244,21 gramas por mol, e uma estrutura como mostrado abaixo. A decitabina pode ser definida como tendo uma fórmula molecular de $C_8H_{12}N_4O_4$, um peso molecular de 228,21 gramas por mol, e uma estrutura, como mostrado abaixo.



Azacitidina



Decitabina

[127] Após a sua incorporação no DNA em replicação, 5-azacitidina ou 5-aza-2'-desoxicitidina pode formar um complexo covalente com DNA metiltransferases. As DNA metiltransferases são responsáveis pela metilação do DNA *de novo* e pela reprodução de padrões de metilação estabelecidos nas cadeias de DNA filhas de replicação de DNA. A inibição de DNA metiltransferases pode conduzir à hipometilação de DNA, restaurando, assim, as funções normais para células imaturas morfológicamente displásicas, por re-expressão de genes

envolvidos na regulação, diferenciação e morte do ciclo celular normal. Os efeitos citotóxicos de análogos de citidina podem causar a morte das células que não são mais responsivas aos mecanismos de controle de crescimento de células normais que se dividem rapidamente. A 5-Azacitidina, ao contrário de 5-aza-2'-desoxicitidina, também se incorpora no RNA. Os efeitos citotóxicos de azacitidina podem resultar de múltiplos mecanismos, incluindo a inibição de DNA, RNA e síntese de proteína, incorporação no RNA e DNA, e a ativação das vias com danos no DNA.

[128] A 5-Azacitidina e 5-aza-2'-desoxicitidina foram testadas em ensaios clínicos e mostraram atividade significativa, tal como, por exemplo, no tratamento de síndromes mielodisplásicas (MDS), leucemia mielóide aguda (AML), leucemia mielóide crônica (CML), leucemia linfocítica aguda (ALL), e linfoma não-Hodgkin (NHL). Ver, por exemplo, Aparicio *et al.*, *Curr. Opin. Invest. Drugs* 3(4): 627-33 (2002). A 5-azacitidina foi submetida a ensaios clínicos patrocinados pela NCI para o tratamento de MDS e foi aprovada para o tratamento de todos os subtipos FAB de MDS. Ver, por exemplo, Kornblith *et al.*, *J. Clin. Oncol.* 20(10): 2441-2452 (2002); Silverman *et al.*, *J. Clin. Oncol.* 20(10): 2429-2440 (2002). A 5-azacitidina pode alterar o curso natural de MDS por diminuição da transformação para AML através da sua atividade citotóxica e da sua inibição da DNA metiltransferase. Em um estudo de Fase III, a 5-azacitidina administrada por via subcutânea prolongou significativamente a sobrevivência e o tempo para transformação de AML ou morte em sujeitos com MDS de alto risco. Ver, por exemplo, P. Fenaux *et al.*, *Lancet Oncol.*, 2009, 10(3):223-32; Silverman *et al.*, *Blood* 106(11): Abstract 2526 (2005). Outros membros da classe de análogos de citidina incluem, por exemplo: 1-β-D-arabinofuranosilcitosina (Citarabina ou ara-C); pseudoisocitidina (psi ICR); 5-fluoro-2'-desoxicitidina (FCdR); 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina (Gemcitabina); 5-aza-2'-desoxi-2',2'-

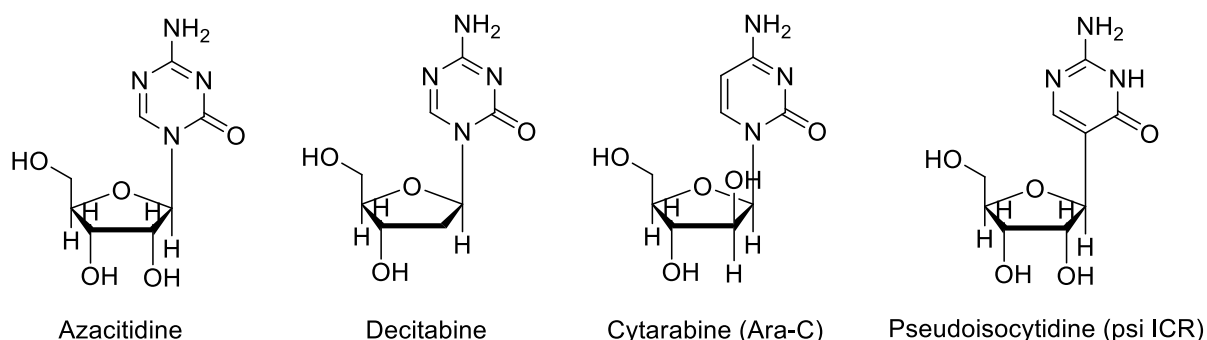
difluorocitidina; 5-aza-2'-desoxi-2'-fluorocitidina; I- β -D-ribofuranosil-2 (1H) - pirimidinona (Zebularina); 2',3'-didesoxi-5-fluoro-3'-tiacitidina (Emtriva); 2'-ciclocitidina (Ancitabina); I- β -D-arabinofuranosil-5-azacitosina (Fazarabina ou ara-AC); 6-azacitidina (6-aza-CR); 5,6-di-hidro-5-azacitidina (dH-aza-CR); N⁴-pentiloxicarbonil-5'-desoxi-5-fluorocitidina (Capecitabina); N⁴-octadecil citarabina; e citarabina de ácido elaídico.

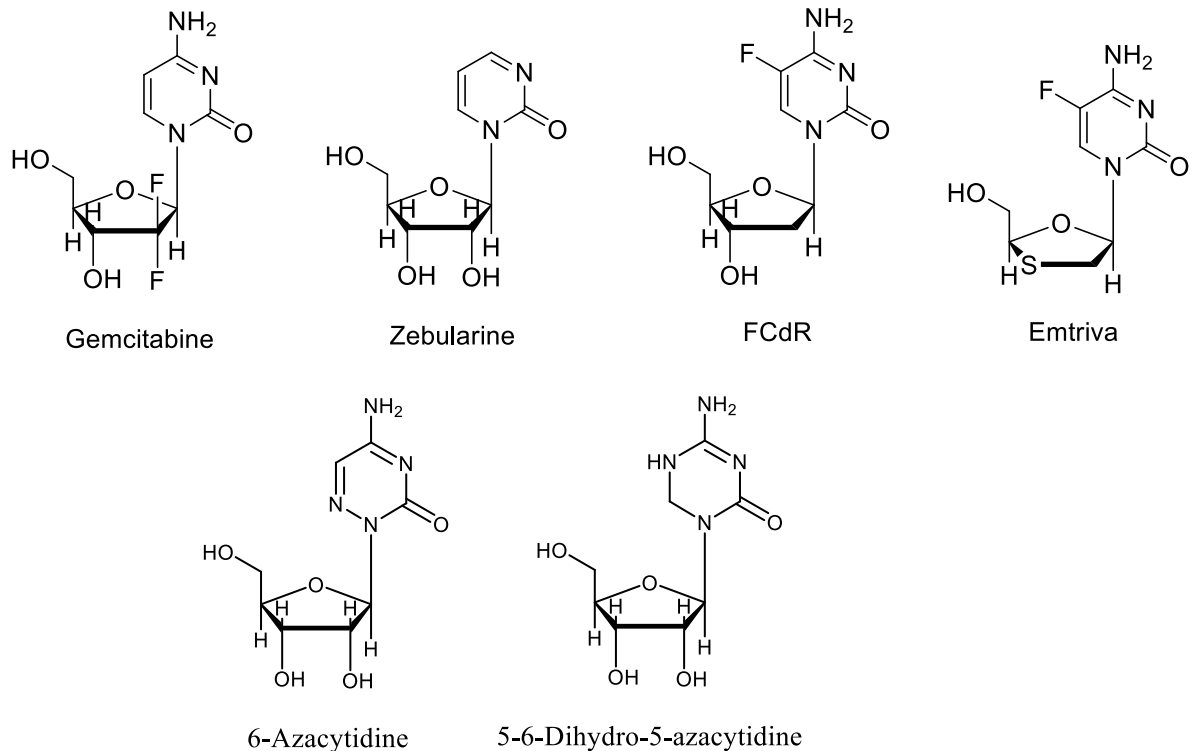
[129] A 5-azacitidina e certos outros análogos de citidina são aprovados para administração subcutânea (SC) ou intravenosa (IV) para tratar certos distúrbios proliferativos. A dosagem oral de análogos de citidina seria mais desejável e conveniente para os pacientes e médicos, por exemplo, através da eliminação de reações no local de injeção que podem ocorrer com a administração SC e/ou permitindo uma melhor aceitação pelo paciente. No entanto, a administração oral de análogos da citidina tem provado ser difícil devido a combinações de instabilidade química, instabilidade enzimática e/ou pobre permeabilidade. Por exemplo, os análogos de citidina foram considerados ácidos lábeis e instáveis no ambiente gástrico ácido. As tentativas anteriores para desenvolver formas de dosagem oral de análogos de citidina necessitavam de revestimento entérico do núcleo do fármaco para proteger o ingrediente farmacêutico ativo (API) do que era compreendido e aceito como sendo hidrólise terapeuticamente inaceitável no estômago, de tal modo que o fármaco é, de preferência, absorvido nas regiões específicas do trato gastrointestinal inferior, tais como o jejuno no intestino delgado. Ver, por exemplo, Sands, *et al.*, Publicação de Patente US nº. 2004/0162263 (Pedido nº. 10/698,983). Além disso, uma crença geralmente aceita na técnica tem sido de que a água leva a degradação hidrolítica prejudicial de análogos de citidina durante a formulação, que afeta subsequentemente a estabilidade do API na forma de dosagem. Como resultado, os revestimentos aplicados ao núcleo de fármaco para a

administração oral prospectiva de análogos de citidina anteriormente têm sido limitados a sistemas à base de solventes orgânicos para minimizar a exposição do API à água.

[130] Em certas modalidades, o análogo de citidina é 5-azacitidina. Em outras modalidades, o análogo de citidina é 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina ou 5-aza-CdR). Em ainda outras modalidades, o análogo de citidina é, por exemplo: L-D-arabinofuranosilcitosina β (citarabina ou ara-C); pseudoisocitidina (psi ICR); 5-fluoro-2'-desoxicitidina (FCdR); 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina (Gemcitabina); 5-aza-2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina; 5-aza-2'-desoxi-2'-fluorocitidina; l- β -D-ribofuranosil-2 (1H)-pirimidinona (Zebularina); 2',3'-didesoxi-5-fluoro-3'-tiacitidina (Emtriva); 2'-ciclocitidina (Ancitabina); l- β -D-arabinofuranosil-5-azacitosina (Fazarabina ou ara-AC); 6-azacitidina (6-aza-CR); 5,6-di-hidro-5-azacitidina (dH-aza-CR); N⁴-pentiloxicarbonil-5'-desoxi-5-fluorocitidina (capecitabina); N⁴-octadecil-citarabina; citarabine de ácido eláidico; ou os seus derivados ou análogos relacionados.

[131] Em certas modalidades, os análogos de citidina exemplares têm as estruturas fornecidas abaixo:





5.4 MÉTODOS PARA PRODUIR INIBIDORES DE CINASE TOR

[132] Os inibidores da cinase TOR podem ser obtidos através de metodologia sintética bem conhecida padrão, ver por exemplo, March, J. Advanced Organic Chemistry; Reactions Mechanisms, and Structure, 4^o ed., 1992. Os materiais de partida úteis para a preparação de compostos de fórmula (III) e intermediários, potanto, estão disponíveis comercialmente ou podem ser preparados a partir de materiais comercialmente disponíveis usando métodos e reagentes de síntese conhecidos.

[133] Os métodos particulares para a preparação de compostos de fórmula (I) estão descritos na Patente US n°. 8.110.578, concedida em 7 de Fevereiro de 2012, e Patente US n°. 8.569.494, concedida em 29 de Outubro de 2013, cada uma aqui incorporada por referência na sua totalidade.

5.5 MÉTODOS DE USO

[134] São aqui fornecidos métodos para o tratamento ou prevenção de um câncer, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um

inibidor de cinase TOR e uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer.

[135] Em certas modalidades, o câncer é um câncer da cabeça, pescoço, olhos, boca, garganta, esôfago, brônquios, laringe, faringe, peito, osso, pulmão, cólon, reto, estômago, próstata, bexiga urinária, útero, colo do útero, mama, ovários, testículos ou outros órgãos reprodutores, pele, tireóide, sangue, gânglios linfáticos, rins, fígado, pâncreas e cérebro ou sistema nervoso central.

[136] Em outras modalidades, o câncer é um tumor sólido. Em certas modalidades, o tumor sólido é um tumor sólido recorrente ou refratário.

[137] Em uma modalidade, o tumor sólido é um tumor neuroendócrino. Em certas modalidades, o tumor neuroendócrino é um tumor neuroendócrino de origem no intestino. Em certas modalidades, o tumor neuroendócrino é de origem não pancreática. Em certas modalidades, o tumor neuroendócrino é não pancreático de origem no intestino. Em certas modalidades, o tumor neuroendócrino é de origem primária desconhecida. Em certas modalidades, o tumor neuroendócrino é um tumor produtor de endocrina sintomática ou um tumor não funcional. Em certas modalidades, o tumor neuroendócrino é localmente não ressectável, metastático moderado, bem diferenciado, inferior (grau 1) ou intermediário (grau 2).

[138] Em uma modalidade, o câncer não é câncer do pulmão de células não pequenas (NSCLC).

[139] Em uma modalidade, o tumor sólido não é o câncer do pulmão de células não pequenas (NSCLC).

[140] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é glioblastoma multiforme (GBM).

[141] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o carcinoma hepatocelular (HCC).

[142] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o câncer da mama. Em uma modalidade, o câncer da mama é positiva do receptor de hormônio. Em uma modalidade, o câncer de mama é positivo para receptor de estrogênio (ER+, ER+/Her2 ou ER+/Her2+). Em uma modalidade, o câncer da mama é negativo para receptor de estrogênio (ER-/Her2+). Em uma modalidade, o câncer da mama é triplo negativo (TN) (câncer da mama que não expressa os genes e/ou proteínas correspondentes para o receptor de estrogênio (ER), receptor de progesterona (PR), e que não superexpressa a proteína Her2/neu).

[143] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o câncer colorretal (CRC).

[144] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o câncer salivar.

[145] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o câncer pancreático.

[146] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o câncer adenocístico.

[147] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o câncer adrenal.

[148] Em uma outra modalidade, o tumor sólido é o câncer esofágico, câncer renal, leiomiossarcoma, ou paraganglioma.

[149] Em uma modalidade, o tumor sólido é um tumor sólido avançado.

[150] Em uma outra modalidade, o câncer é carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço.

[151] Em uma outra modalidade, o câncer é câncer da próstata resistente à castração que superexpressa E-vinte e seis (ETS).

[152] Em uma outra modalidade, o câncer é o sarcoma de Ewings que superexpressa o E-vinte e seis (ETS).

[153] Em outras modalidades, o câncer é um tumor hematológico.

[154] Em outras modalidades, o câncer é o mieloma múltiplo.

[155] Em outras modalidades, o câncer é o linfoma não-Hodgkin. Em certas modalidades, o linfoma não-Hodgkin é linfoma difuso de células B grandes

(DLBCL), linfoma folicular (FL), leucemia mielóide aguda (AML), linfoma das células do manto (MCL), ou linfoma anaplásico de células grandes ALK⁺. Em uma modalidade, o linfoma não-Hodgkin é linfoma não-Hodgkin sólido avançado. Em uma modalidade, o linfoma não-Hodgkin é o linfoma difuso de células B grandes (DLBCL).

[156] Em outras modalidades, o câncer é um câncer associado com as vias envolvendo cinases mTOR, PI3K ou Akt e mutantes ou isoformas das mesmas. Outros tipos de câncer, no escopo dos métodos fornecidos na presente invenção incluem os relacionados com as vias das seguintes cinases: cinases PI3K α , PI3K β , PI3K δ , KDR, GSK3 α , GSK3 β , ATM, ATX, ATR, cFMS, e/ou DNA-PK e mutantes ou isoformas das mesmas. Em algumas modalidades, os cânceres associados com as vias de mTOR/PI3K/Akt incluem tumores sólidos e hematológicos, por exemplo, mieloma múltiplo, linfoma das células do manto, linfoma difuso de células B grandes, linfoma mielóide agudo, linfoma folicular, leucemia linfocítica crônica; e tumores sólidos, por exemplo, da mama, do pulmão, do endométrio, do ovário, gástrico, do colo do útero, e câncer da próstata; glioblastoma; carcinoma renal; carcinoma hepatocelular; carcinoma do cólon; tumores neuroendócrinos; tumores da cabeça e pescoço; e sarcomas tais como sarcoma de Ewing.

[157] Em outras modalidades, o câncer é a síndrome mielodisplásica. Em certas modalidades, o subtipo de síndrome mielodisplásica é anemia refratária (RA) ou anemia refratária com sideroblastos em anel (se for acompanhada por neutropenia ou trombocitopenia ou necessitando de transfusão), anemia refratária com excesso de blastos (RAEB), anemia refratária com excesso de blastos em transformação (RAEB -T), ou leucemia mielomonocítica crônica (CMML).

[158] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de um Critério de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (por exemplo, RECIST 1.1) de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com um tumor sólido, que compreende administrar uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma definição de resposta do Grupo de Trabalho patrocinados pelo Instituto Nacional de Câncer sobre Leucemia Linfocítica Crônica (NCI-WG CLL) de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com leucemia, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de um Critério de Grupo de Trabalho 2 de Câncer da Próstata (PCWG2) de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com câncer da próstata, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para obtenção de um Critério de Workshop Internacional (IWC) para o linfoma não-Hodgkin de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com linfoma não-Hodgkin, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de um Critério de Resposta Uniforme Internacional (IURC) para o mieloma múltiplo de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com mieloma múltiplo, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase

TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente. Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma Avaliação de Respostas para Grupo de Trabalho de Neuro-Oncologia (RANO) para o glioblastoma multiforme de resposta completa, resposta parcial ou doença estável em um paciente com glioblastoma multiforme, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina ao referido paciente.

[159] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para aumentar a sobrevivência sem progressão do tumor de um paciente tendo um câncer, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina ao referido paciente.

[160] Em uma modalidade, são fornecidos na presente invenção métodos para prevenir ou retardar um Critério de Avaliação da Resposta em Tumores Sólidos (por exemplo, RECIST 1.1) de doença progressiva em um paciente, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer. Em uma modalidade a prevenção ou retardo da progressão da doença é caracterizada ou obtida por uma alteração no tamanho global das lesões alvos, por exemplo, entre -30% e +20% em comparação com o pré-tratamento. Em uma outra modalidade, a alteração no tamanho das lesões alvos é uma redução do tamanho global de mais de 30%, por exemplo, a redução de mais de 50% do tamanho da lesão alvo em comparação com o pré-tratamento. Em uma outra, a prevenção é obtida ou caracterizada por uma redução de tamanho ou um retardo na progressão de lesões não alvos em comparação com o pré-tratamento. Em uma modalidade, a prevenção é obtida ou caracterizada por uma redução no número de lesões alvos em comparação

com o pré-tratamento. Em uma outra, a prevenção é obtida ou caracterizada por uma redução no número ou qualidade de lesões não alvos em comparação com o pré-tratamento. Em uma modalidade, a prevenção é obtida ou caracterizada pela ausência ou desaparecimento das lesões alvos em comparação com o pré-tratamento. Em uma outra modalidade, a prevenção é obtida ou caracterizada pela ausência ou desaparecimento das lesões não alvos em comparação com o pré-tratamento. Em uma outra modalidade, a prevenção é obtida ou caracterizada pela prevenção de novas lesões, em comparação com o pré-tratamento. Ainda em outra modalidade, a prevenção é obtida ou caracterizada pela prevenção de sinais clínicos e sintomas de progressão da doença em comparação com o pré-tratamento, tais como a caquexia ou dor aumentada relacionada com câncer.

[161] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a diminuição do tamanho das lesões alvo em um paciente, em comparação com o pré-tratamento, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer.

[162] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a diminuição do tamanho de uma lesão não alvo em um paciente em comparação com o pré-tratamento, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina a um paciente tendo um câncer.

[163] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma redução no número de lesões alvos em um paciente, em comparação com o pré-tratamento, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina a um paciente tendo um câncer.

[164] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma redução no número de lesões não alvos em um paciente, em comparação com o pré-tratamento, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina a um paciente tendo um câncer.

[165] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma ausência de todas as lesões alvos em um paciente, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer.

[166] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para a obtenção de uma ausência de todas as lesões não alvos em um paciente, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer.

[167] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento de um câncer, os métodos compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer, em que o tratamento resulta em uma resposta completa, uma resposta parcial ou uma doença estável, conforme determinado por Critérios de Avaliação da Resposta em Tumores Sólidos (por exemplo, RECIST 1.1).

[168] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento de um câncer, os métodos compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um

câncer, em que o tratamento resulta em uma redução no tamanho da lesão alvo, uma redução do tamanho da lesão não alvo e/ou a ausência de novas lesões alvos e/ou não alvos, em comparação com o pré-tratamento.

[169] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento de um câncer, os métodos compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer, em que o tratamento resulta na prevenção ou retardo da progressão clínica, tais como caquexia ou aumento da dor relacionado ao câncer.

[170] Em algumas modalidades, são fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento de um câncer, os métodos compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR em combinação com uma quantidade eficaz de um análogo de citidina para um paciente tendo um câncer, em que o tratamento resulta em uma ou mais dentre inibição da progressão da doença, inibição do crescimento do tumor, redução da massa tumoral primária, alívio de sintomas relacionados com o tumor, inibição de fatores secretados pelo tumor (incluindo hormônios secretados pelo tumor, tais como os que contribuem para a síndrome carcinóide), o aparecimento retardado de tumores primários ou secundários, o desenvolvimento retardado de tumores primários ou secundários, diminuição da ocorrência de tumores primários ou secundários, retardo ou diminuição da gravidade dos efeitos secundários da doença, interrupção do crescimento de tumores e a regressão de tumores, aumento do tempo para progressão (TTP), aumento da Sobrevida Livre de Progressão (PFS), e/ou aumento da Sobrevida Global (OS), entre outros.

[171] Em algumas modalidades, o inibidor de cinase TOR é um composto tal como aqui descrito. Em uma modalidade, o inibidor de cinase TOR é um composto de fórmula (I). Em uma modalidade, o inibidor de cinase TOR é um

composto da Tabela A. Em uma modalidade, o inibidor de cinase TOR é o Composto 1 (um inibidor de cinase TOR aqui estabelecido que tem a fórmula molecular $C_{21}H_{27}N_5O_3$). Em uma modalidade, o inibidor de cinase TOR é o Composto 2 (um inibidor de cinase TOR aqui estabelecido que tem a fórmula molecular $C_{16}H_{16}N_8O$). Em uma modalidade, o inibidor de cinase TOR é o Composto 3 (um inibidor de cinase TOR aqui estabelecido que tem a fórmula molecular $C_{21}H_{24}N_8O_2$). Em uma modalidade, o inibidor de cinase TOR é o Composto 4 (um inibidor de cinase TOR aqui estabelecido que tem a fórmula molecular $C_{20}H_{25}N_5O_3$). Em uma modalidade, o Composto 1 é 7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((1r,4r)-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino-[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, alternativamente chamado 7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, ou 7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-((1R*,4R*)-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona. Em uma outra modalidade, o Composto 2 é 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, ou um tautômero do mesmo, por exemplo, 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, ou 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-5-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.. Em uma outra modalidade, o Composto 3 é 7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona. Em uma outra modalidade, o Composto 4 é 1-((trans)-4-hidróxi-ciclo-hexil)-7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, alternativamente chamado 1-((1r,4r)-4-hidróxi-ciclo-hexil)-7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona. Em uma modalidade, o Composto 4 é um metabólito de Composto 1.

[172] Um inibidor de cinase TOR administrado em combinação com um análogo de citidina pode ainda ser combinado com a terapia de radiação ou cirurgia. Em certas modalidades, um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina para paciente que está sendo submetido à terapia de radiação, ou que já tenha sido submetido à terapia de radiação ou que vai ser submetido à terapia de radiação. Em certas modalidades, um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina para um paciente que foi submetido à cirurgia, tal como a cirurgia a remoção do tumor.

[173] Além disso são fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento de pacientes que foram previamente tratados de um câncer, bem como aqueles que não tenham sido previamente tratados. Além disso, são fornecidos na presente invenção métodos para o tratamento de pacientes que tenham sido submetidos a cirurgia, em uma tentativa de tratar um câncer, bem como aqueles que não tenham sido submetidos à cirurgia. Como os pacientes com um câncer têm manifestações clínicas heterogêneas e resultados clínicos diferentes, o tratamento dado a um paciente pode variar, dependendo de seu prognóstico. O médico capacitado será capaz de determinar prontamente, sem experimentação indevida, agentes específicos secundários, os tipos de cirurgia, e os tipos de terapia padrão com base em não fármaco que podem ser eficazmente usados para o tratamento de um paciente individual com um câncer.

[174] Em certas modalidades, um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina para um paciente em ciclos. A terapia de ciclagem envolve a administração de um agente ativo(s) durante um período de tempo, seguido por um repouso durante um período de tempo e repetindo esta administração sequencial. A terapia de ciclagem pode reduzir o

desenvolvimento de resistência, evitar ou reduzir os efeitos colaterais, e/ou melhorar a eficácia do tratamento.

[175] Em uma modalidade, um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina por dia em doses únicas ou divididas, durante cerca de 3 dias, cerca de 5 dias, cerca de uma semana, cerca de duas semanas, cerca de três semanas, cerca de quatro semanas (por exemplo, 28 dias), cerca de cinco semanas, de cerca de seis semanas, cerca de sete semanas, cerca de oito semanas, cerca de dez semanas, cerca de quinze semanas, ou cerca de vinte semanas, seguido por um período de descanso de cerca de 1 dia, a cerca de dez semanas. Em uma modalidade, os métodos aqui fornecidos contemplam tratamentos de ciclagem de cerca de uma semana, cerca de duas semanas, cerca de três semanas, cerca de quatro semanas, cerca de cinco semanas, de cerca de seis semanas, cerca de oito semanas, cerca de dez semanas, cerca de quinze semanas, ou cerca de vinte semanas. Em algumas modalidades, um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina em doses únicas ou divididas, durante cerca de 3 dias, cerca de 5 dias, cerca de uma semana, cerca de duas semanas, cerca de três semanas, cerca de quatro semanas (por exemplo, 28 dias), cerca de cinco semanas, ou cerca de seis semanas com um período de descanso de cerca de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 29 ou 30 dias. Em algumas modalidades, o período de descanso é de 1 dia. Em algumas modalidades, o período de descanso é de 3 dias. Em algumas modalidades, o período de descanso é de 7 dias. Em algumas modalidades, o período de descanso é de 14 dias. Em algumas modalidades, o período de descanso é de 28 dias. A frequência, número e comprimento dos ciclos de dosagem pode ser aumentada ou diminuída.

[176] Em uma modalidade, os métodos aqui fornecidos compreendem: i) administrar ao sujeito uma primeira dose diária de um inibidor de cinase TOR em

combinação com um análogo de citidina; ii) opcionalmente, descansar por um período de pelo menos um dia, onde um análogo de citidina não é administrado ao sujeito; iii) administrar uma segunda dose de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina para o sujeito; e iv) repetir as etapas ii) a iii) uma pluralidade de vezes.

[177] Em uma modalidade, os métodos aqui fornecidos compreendem a administração ao sujeito de uma dose de um análogo de citidina no dia 1, seguido por administração de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina para o sujeito no dia 2 e dias subsequentes.

[178] Em certas modalidades, um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina é administrado continuamente durante entre cerca de 1 e cerca de 52 semanas. Em certas modalidades, um inibidor da cinase TOR em combinação com um análogo de citidina é administrado continuamente por cerca de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses. Em certas modalidades, um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina é administrado continuamente durante cerca de 7, cerca de 14, cerca de 21, cerca de 28, cerca de 35, cerca de 42, cerca de 84, ou cerca de 112 dias.

[179] Em certas modalidades, quando um inibidor da cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, o inibidor de cinase TOR é administrado continuamente durante 28 dias, enquanto um análogo de citidina é administrado continuamente durante 21 dias, seguido por 7 dias sem administração de um análogo de citidina. Em uma modalidade, em um ciclo de 28 dias, um análogo de citidina é administrado isoladamente no Dia 1, um análogo de citidina e o inibidor de cinase TOR são administrados em combinação, nos Dias 2-21 e o inibidor de cinase TOR é administrado isoladamente nos Dias 22-28. Em algumas de tais modalidades, a partir do Ciclo 2, tanto um análogo de citidina e o inibidor de cinase TOR são administrados no Dia 1, um análogo de

citidina é continuado até o Dia 21, enquanto que o inibidor de cinase TOR é continuado até o Dia 28. Os ciclos de 28 dias, como descritos acima, podem ser continuados durante o tempo necessário, tal como, por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses ou mais.

[180] Em certas modalidades, quando um inibidor da cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, em um ciclo de 28 dias, um análogo de citidina é administrado isoladamente nos dias 1-7 e o inibidor de cinase TOR é administrado isoladamente nos Dias 8- 28. Esses ciclos de 28 dias podem ser continuados durante o tempo necessário, tal como, por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses ou mais.

[181] Em certas modalidades, quando um inibidor da cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, em um ciclo de 28 dias, um análogo de citidina é administrado em combinação com um inibidor da cinase TOR nos Dias 1-7 e o inibidor de cinase TOR é administrado isoladamente nos Dias 8-28. Esses ciclos de 28 dias podem ser continuados durante o tempo necessário, tal como, por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 meses ou mais.

[182] Em certas modalidades, um análogo de citidina é administrado em combinação com um inibidor de cinase TOR com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina, uma vez por dia durante 7 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina duas vezes por dia durante 7 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15

mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina, uma vez por dia durante 14 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina duas vezes por dia durante 14 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina, uma vez por dia durante 21 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina duas vezes por dia durante 21 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de

tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina três vezes por dia durante 7 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 200 mg do análogo de citidina três vezes por dia durante 14 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina, uma vez por dia durante 7 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina duas vezes por dia durante 7 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina, uma vez por dia durante 14 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15

mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina duas vezes por dia durante 14 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina, uma vez por dia durante 21 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina duas vezes por dia durante 21 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina três vezes por dia durante 7 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, a formulação compreendendo o análogo de citidina é administrada com o uso de um ciclo de

tratamento que compreende a administração de cerca de 300 mg do análogo de citidina três vezes por dia durante 14 ou mais dias, em combinação com cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg (tal como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg) uma vez por dia de um inibidor de cinase TOR. Em certas modalidades, os métodos aqui fornecidos compreendem a administração de uma formulação que compreende um análogo de citidina em combinação com um inibidor da cinase TOR com o uso de um ou mais dos ciclos aqui fornecidos, e repetir um ou mais dos ciclos por um período de, por exemplo, cerca de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, ou mais do que 12 meses. Um inibidor da cinase TOR e um análogo de citidina, cada um, podem ser administrados de forma independente uma vez (QD), duas vezes (BD) ou três vezes (TID) por dia.

[183] Em certas modalidades, quando um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, o inibidor de cinase TOR é administrado em uma quantidade de cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg por dia (tais como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg por dia) e um análogo de citidina é administrado em uma quantidade de cerca de 50 mg/m²/dia a cerca de 2.000 mg/m²/dia (tal como cerca de 50 mg/m²/dia, cerca de 75 mg/m²/dia, cerca de 100 mg/m²/dia, cerca de 120 mg/m²/dia, cerca de 140 mg/m²/dia, cerca de 150 mg/m²/dia, cerca de 180 mg/m²/dia, cerca de 200 mg/m²/dia, cerca de 220 mg/m²/dia, cerca de 240 mg/m²/dia, cerca de 250 mg/m²/dia, cerca de 260 mg/m²/dia, cerca de 280 mg/m²/dia, cerca de 300 mg/m²/dia, cerca de 320 mg/m²/dia, cerca de 350 mg/m²/dia, cerca de 380 mg/m²/dia, cerca de 400 mg/m²/dia, cerca de 450 mg/m²/dia, ou cerca de 500 mg/m²/dia). Em certas modalidades, cerca de 2,5 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 75 mg/m²/dia ou cerca de 100

mg/m²/dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 10 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 75 mg/m²/dia ou cerca de 100 mg/m²/dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 15 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 75 mg/m²/dia ou cerca de 100 mg/m²/dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 20 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 75 mg/m²/dia ou cerca de 100 mg/m²/dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 30 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 75 mg/m²/dia ou cerca de 100 mg/m²/dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 45 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 75 mg/m²/dia ou cerca de 100 mg/m²/dia de um análogo de citidina.

[184] Em certas modalidades, quando um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, o inibidor de cinase TOR é administrado em uma quantidade de cerca de 2,5 mg a cerca de 50 mg por dia (tais como cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 16 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg por dia) e um análogo de citidina é administrado em uma quantidade de cerca de 50 mg a cerca de 1000 mg por dia (tais como cerca de 50 mg, cerca de 60 mg, cerca de 70 mg, cerca de 80 mg, cerca de 90 mg, cerca de 100 mg, cerca de 120 mg, cerca de 140 mg, cerca de 150 mg, cerca de 160 mg, cerca de 180 mg, cerca de 200 mg, cerca de 220 mg, cerca de 240 mg, cerca de 250 mg, cerca de 260 mg, cerca de 280 mg, cerca de 300 mg, cerca de 320 mg, cerca de 340 mg, cerca de 350 mg, cerca de 360 mg, cerca de 380 mg, cerca de 400 mg, cerca de 420 mg, cerca de 450 mg, cerca de 480 mg, cerca de 500 mg, cerca de 600 mg, cerca de 700 mg, cerca de 800 mg, cerca de 900 mg, ou cerca de 1,000 mg por dia). Em certas modalidades,

cerca de 2,5 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 200 mg ou cerca de 300 mg por dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 10 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 200 mg ou cerca de 300 mg por dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 15 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 200 mg ou cerca de 300 mg por dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 16 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 200 mg ou cerca de 300 mg por dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 20 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 200 mg ou cerca de 300 mg por dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 30 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 200 mg ou cerca de 300 mg por dia de um análogo de citidina. Em certas modalidades, cerca de 45 mg por dia de um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com cerca de 200 mg ou cerca de 300 mg por dia de um análogo de citidina.

[185] Em certas modalidades, quando um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, a razão de inibidor de cinase TOR:análogo de citidina é de cerca de 1:1 a cerca de 1:30. Em certas modalidades, quando um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, a razão de inibidor de cinase TOR:análogo de citidina é menor que cerca de 1:1, menor que cerca de 1:10 ou menor que cerca de 1:30. Em certas modalidades, quando um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, a razão de inibidor de cinase TOR:análogo de citidina é cerca de 1:1, cerca de 1:10 ou cerca de 1:30.

[186] Em certas modalidades, quando um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, a quantidade de um análogo de citidina administrado pode variar, por exemplo, entre cerca de 50 mg/m²/dia e cerca de 2.000 mg/m²/dia, entre cerca de 100 mg/m²/dia e cerca de 1.000 mg/m²/dia, entre cerca de 50 mg/m²/dia e cerca de 200 mg/m²/dia, entre cerca de 50 mg/m²/dia e cerca de 100 mg/m²/dia, entre cerca de 100 mg/m²/dia e cerca de 500 mg/m²/dia, ou entre cerca de 120 mg/m²/dia e cerca de 250 mg/m²/dia. Em certas modalidades, dosagens particulares são, por exemplo, cerca de 50 mg/m²/dia, cerca de 75 mg/m²/dia, cerca de 100 mg/m²/dia, cerca de 120 mg/m²/dia, cerca de 140 mg/m²/dia, cerca de 150 mg/m²/dia, cerca de 180 mg/m²/dia, cerca de 200 mg/m²/dia, cerca de 220 mg/m²/dia, cerca de 240 mg/m²/dia, cerca de 250 mg/m²/dia, cerca de 260 mg/m²/dia, cerca de 280 mg/m²/dia, cerca de 300 mg/m²/dia, cerca de 320 mg/m²/dia, cerca de 350 mg/m²/dia, cerca de 380 mg/m²/dia, cerca de 400 mg/m²/dia, cerca de 450 mg/m²/dia, ou cerca de 500 mg/m²/dia. Em certas modalidades, dosagens particulares são, por exemplo, até cerca de 100 mg/m²/dia, até cerca de 120 mg/m²/dia, até cerca de 140 mg/m²/dia, até cerca de 150 mg/m²/dia, até cerca de 180 mg/m²/dia, até cerca de 200 mg/m²/dia, até cerca de 220 mg/m²/dia, até cerca de 240 mg/m²/dia, até cerca de 250 mg/m²/dia, até cerca de 260 mg/m²/dia, até cerca de 280 mg/m²/dia, até cerca de 300 mg/m²/dia, até cerca de 320 mg/m²/dia, até cerca de 350 mg/m²/dia, até cerca de 380 mg/m²/dia, até cerca de 400 mg/m²/dia, até cerca de 450 mg/m²/dia, até cerca de 500 mg/m²/dia, até cerca de 750 mg/m²/dia, ou até cerca de 1000 mg/m²/dia.

[187] Em certas modalidades, quando um inibidor de cinase TOR é administrado em combinação com um análogo de citidina, a quantidade de um análogo de citidina administrado pode variar, por exemplo, entre cerca de 5

mg/dia e cerca de 2.000 mg/dia, entre cerca de 10 mg/dia e cerca de 2.000 mg/dia, entre cerca de 20 mg/dia e cerca de 2.000 mg/dia, entre cerca de 50 mg/dia e cerca de 1,000 mg/dia, entre cerca de 100 mg/dia e cerca de 600 mg/dia, entre cerca de 100 mg/dia e cerca de 500 mg/dia, entre cerca de 150 mg/dia e cerca de 500 mg/dia, entre cerca de 250 mg/dia e cerca de 350 mg/dia, ou entre cerca de 150 mg/dia e cerca de 250 mg/dia. Em certas modalidades, dosagens particulares são, por exemplo, cerca de 10 mg/dia, cerca de 20 mg/dia, cerca de 50 mg/dia, cerca de 75 mg/dia, cerca de 100 mg/dia, cerca de 120 mg/dia, cerca de 150 mg/dia, cerca de 180 mg/dia, cerca de 200 mg/dia, cerca de 240 mg/dia, cerca de 250 mg/dia, cerca de 280 mg/dia, cerca de 300 mg/dia, cerca de 320 mg/dia, cerca de 350 mg/dia, cerca de 360 mg/dia, cerca de 400 mg/dia, cerca de 450 mg/dia, cerca de 500 mg/dia, cerca de 600 mg/dia, cerca de 700 mg/dia, cerca de 800 mg/dia, cerca de 900 mg/dia, cerca de 1,000 mg/dia, cerca de 1,200 mg/dia, ou cerca de 1,500 mg/dia. Em certas modalidades, dosagens particulares são, por exemplo, até cerca de 10 mg/dia, até cerca de 20 mg/dia, até cerca de 50 mg/dia, até cerca de 75 mg/dia, até cerca de 100 mg/dia, até cerca de 120 mg/dia, até cerca de 150 mg/dia, até cerca de 200 mg/dia, até cerca de 250 mg/dia, até cerca de 300 mg/dia, até cerca de 350 mg/dia, até cerca de 400 mg/dia, até cerca de 450 mg/dia, até cerca de 500 mg/dia, até cerca de 600 mg/dia, até cerca de 700 mg/dia, até cerca de 800 mg/dia, até cerca de 900 mg/dia, até cerca de 1,000 mg/dia, até cerca de 1,200 mg/dia, ou até cerca de 1,500 mg/dia.

5.6 COMPOSIÇÕES E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO

[188] São fornecidas na presente invenção composições que compreendem uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR e uma quantidade eficaz de um análogo de citidina e composições, que compreendem

uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR e um análogo de citidina e um carreador ou veículo farmaceuticamente aceitável.

[189] Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas aqui descritas são adequadas para administração oral, parentérica, mucosal, transdérmica ou tópica.

[190] As composições podem ser administradas a um paciente por via oral ou parentérica na forma convencional de preparações, tais como cápsulas, microcápsulas, comprimidos, grânulos, pó, trociscos, pílulas, supositórios, injeções, suspensões e xaropes. As formulações adequadas podem ser preparadas por métodos comumente empregues usando aditivos convencionais, orgânicos ou inorgânicos, tais como um excipiente (por exemplo, sacarose, amido, manitol, sorbitol, lactose, glicose, celulose, talco, fosfato de cálcio ou carbonato de cálcio), um ligante (por exemplo, celulose, metilcelulose, hidroximetilcelulose, polipropilpirrolidona, polivinilpirrolidona, gelatina, goma arábica, polietilenoglicol, sacarose ou amido), um desintegrante (por exemplo, amido, carboximetilcelulose, hidroxipropilamido, hidroxipropilcelulose substituída inferior, bicarbonato de sódio, fosfato de cálcio ou citrato de cálcio), um lubrificante (por exemplo, estearato de magnésio, ácido silícico ligeiramente anidro, talco ou lauril sulfato de sódio), um agente aromatizante (por exemplo, ácido cítrico, mentol, glicina ou pó de laranja), um conservante (por exemplo, benzoato de sódio, bissulfito de sódio, metilparabeno ou propilparabeno), um estabilizador (por exemplo, ácido cítrico, citrato de sódio ou ácido acético), um agente de suspensão (por exemplo, metilcelulose, polivinil pirrolidone ou estearato de alumínio), um agente dispersante (por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose), um diluente (por exemplo, água), e cera de base (por exemplo, manteiga de cacau, vaselina branca ou polietileno glicol). A quantidade eficaz do inibidor de cinase TOR na composição farmacêutica pode estar a um

nível que irá exercer o efeito desejado; por exemplo, cerca de 0,005 mg/kg de peso corporal de um paciente a cerca de 10 mg/kg de peso corporal de um paciente, em dosagem unitária para administração tanto oral quanto parentérica.

[191] A dose de um inibidor de cinase TOR e a dose de um análogo de citidina a ser administrada a um paciente é bastante amplamente variável e pode ser sujeita ao julgamento de um profissional de cuidados de saúde. Em geral, os inibidores de cinase TOR e um análogo de citidina podem ser administrados de uma a quatro vezes por dia em uma dose de cerca de 0,005 mg/kg de peso corporal de um paciente a cerca de 10 mg/kg de peso corporal de um paciente em um paciente, mas a dosagem acima pode ser apropriadamente variada dependendo da idade, do peso corporal e da condição médica do paciente e do tipo de administração. Em uma modalidade, a dose é de cerca de 0,01 mg/kg de peso corporal de um paciente a cerca de 5 mg/kg de peso corporal de um paciente, cerca de 0,05 mg/kg de peso corporal de um paciente a cerca de 1 mg/kg de peso corporal de um paciente, cerca de 0,1 mg/kg de peso corporal de um paciente a cerca de 0,75 mg/kg de peso corporal de um paciente ou cerca de 0,25 mg/kg de peso corporal de um paciente a cerca de 0,5 mg/kg de peso corporal de um paciente. Em uma modalidade, uma dose é administrada por dia. Em qualquer caso dado, a quantidade do inibidor de cinase TOR administrada irá depender de fatores tais como a solubilidade do componente ativo, a formulação usada e a via de administração.

[192] Em uma outra modalidade, são fornecidas na presente invenção formulações de dosagem unitária que compreendem entre cerca de 1 mg e cerca de 2000 mg, cerca de 1 mg e cerca de 200 mg, cerca de 35 mg e cerca de 1400 mg, cerca de 125 mg e cerca de 1000 mg, cerca de 250 mg e cerca de 1000 mg, cerca de 500 mg e cerca de 1000 mg, cerca de 1 mg a cerca de 30 mg, cerca de 1

mg a cerca de 25 mg ou cerca de 2,5 mg a cerca de 20 mg de um inibidor de cinase TOR, isoladamente ou em combinação com um análogo de citidina. Em uma outra modalidade, são fornecidas na presente invenção formulações de dosagem unitária que compreendem 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, cerca de 7,5 mg, 8 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 30 mg, 35 mg, 45 mg, 50 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, 140 mg, 175 mg, 200 mg, 250 mg, 280 mg, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 1000 mg ou 1400 mg de um inibidor de cinase TOR isoladamente ou em combinação com um análogo de citidina. Em outra modalidade, são fornecidas na presente invenção formulações de dosagem unitária que compreendem cerca de 2,5 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 20 mg, cerca de 30 mg ou cerca de 45 mg de um inibidor da cinase TOR isoladamente ou em combinação com um análogo de citidina. Em uma modalidade particular, são fornecidas na presente invenção formulações de dosagem unitária que compreendem cerca de 5 mg, cerca de 7,5 mg e cerca de 10 mg de um inibidor da cinase TOR isoladamente ou em combinação com um análogo de citidina.

[193] Em uma modalidade particular, são fornecidas na presente invenção formulações de dosagem unitária compreendendo cerca de 7,5 mg, cerca de 8 mg, cerca de 10 mg, cerca de 15 mg, cerca de 30 mg, cerca de 45 mg, cerca de 50 mg, cerca de 75 mg, cerca de 100 mg ou cerca de 400 mg de um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina.

[194] Em uma outra modalidade, são fornecidas na presente invenção formulações de dosagem unitária que compreendem entre cerca de 5 mg e cerca de 2.000 mg, entre cerca de 10 mg e cerca de 2.000 mg, entre cerca de 20 mg e cerca de 2.000 mg, entre cerca de 50 mg e cerca de 1.000 mg, entre cerca de 100 mg e cerca de 600 mg, entre cerca de 100 mg e cerca de 500 mg, entre cerca de 150 mg e cerca de 500 mg, entre cerca de 250 mg e cerca de 350 mg, ou entre cerca de 150 mg e cerca de 250 mg de um análogo de citidina isoladamente ou

em combinação com um inibidor da cinase TOR. Em certas modalidades, as quantidades particulares de um análogo de citidina são, por exemplo, cerca de 10 mg, cerca de 20 mg, cerca de 50 mg, cerca de 75 mg, cerca de 100 mg, cerca de 120 mg, cerca de 150 mg, cerca de 180 mg, cerca de 200 mg, cerca de 240 mg, cerca de 250 mg, cerca de 300 mg, cerca de 320 mg, cerca de 350 mg, cerca de 360 mg, cerca de 400 mg, cerca de 420 mg, cerca de 450 mg, cerca de 480 mg, cerca de 500 mg, cerca de 600 mg, cerca de 700 mg, cerca de 800 mg, cerca de 900 mg, cerca de 1,000 mg, cerca de 1200 mg, ou cerca de 1.500 mg. Em certas modalidades, as quantidades particulares de um análogo de citidina são, por exemplo, até cerca de 10 mg até cerca de 20 mg, até cerca de 50 mg até cerca de 75 mg, até cerca de 100 mg, até cerca de 120 mg, até cerca de 150 mg, até cerca de 200 mg, até cerca de 250 mg, até cerca de 300 mg, até cerca de 350 mg, até cerca de 400 mg, até cerca de 450 mg, até cerca de 500 mg, até cerca de 600 mg, até cerca de 700 mg, até cerca de 800 mg, até cerca de 900 mg, até cerca de 1,000 mg, até cerca de 1200 mg, ou até cerca de 1,500 mg.

[195] Em certas modalidades, são fornecidas na presente injeção formulações de dosagem unitária em que a razão de inibidor de cinase TOR: análogo de citidina é de cerca de 1: 1 a cerca de 1:10. Em certas modalidades, são aqui fornecidas formulações de dosagem unitária em que a razão de inibidor de cinase TOR: análogo de citidina é menor do que cerca de 1: 1, é menor do que cerca de 1: 3 ou menor do que cerca de 1:10. Em certas modalidades, são aqui fornecidas formulações de dosagem unitária em que a razão de inibidor de cinase TOR: análogo de citidina é de cerca de 1: 1, cerca de 1: 3 ou cerca de 1:10.

[196] Um inibidor de cinase TOR pode ser administrado em combinação com um análogo de citidina, uma vez, duas, três, quatro ou mais vezes ao dia.

[197] Um inibidor de cinase TOR pode ser administrado em combinação com um análogo de citidina oralmente por razões de conveniência. Em uma

modalidade, quando administrado por via oral, um inibidor da cinase TOR em combinação com um análogo de citidina é administrado com uma refeição e água. Em uma outra modalidade, o inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina é disperso em água ou suco (por exemplo, suco de maçã ou suco de laranja) e administrado oralmente como uma suspensão. Em outra modalidade, quando administrado por via oral, um inibidor da cinase TOR em combinação com um análogo de citidina é administrado em um estado de jejum.

[198] O inibidor de cinase TOR também pode ser administrado em combinação com um análogo de citidina por via intravenosa, tal como infusão intravenosa, ou por via subcutânea, tais como injeção subcutânea. O modo de administração é deixado ao critério do profissional de saúde, e pode depender em parte do local da condição médica.

[199] Em uma modalidade, são fornecidas na presente invenção cápsulas que contêm um inibidor da cinase TOR em combinação com um análogo de citidina sem um carreador, excipiente ou veículo adicional.

[200] Em uma outra modalidade, são fornecidas na presente invenção composições que compreendem uma quantidade eficaz de um inibidor de cinase TOR, uma quantidade eficaz de um análogo de citidina, e um carreador ou veículo farmacêuticamente aceitável, em que um veículo ou carreador farmacêuticamente aceitável pode compreender um excipiente, diluente, ou uma mistura dos mesmos. Em uma modalidade, a composição é uma composição farmacêutica.

[201] As composições podem estar na forma de comprimidos, comprimidos mastigáveis, cápsulas, soluções, soluções parentéricas, trociscos, supositórios e suspensões e semelhantes. As composições podem ser formuladas para conter uma dose diária, ou uma fração conveniente de uma dose diária, em uma unidade de dosagem, que pode ser um único comprimido

ou cápsula ou volume conveniente de um líquido. Em uma modalidade, as soluções são preparadas a partir de sais solúveis em água, tais como o sal cloridrato. Em geral, todas as composições são preparadas de acordo com métodos conhecidos na química farmacêutica. As cápsulas podem ser preparadas por mistura de um inibidor da cinase TOR com um carreador ou diluente adequado e preenchendo a quantidade adequada da mistura nas cápsulas. Os carreadores e diluentes habituais incluem, mas não se limitam a, substâncias em pó inertes tais como amido de muitos tipos diferentes, celulose em pó, especialmente celulose cristalina e microcristalina, açúcares tais como frutose, manitol e sacarose, farinhas de grão e pós comestíveis semelhantes.

[202] Os comprimidos podem ser preparados por compressão direta, por granulação úmida, ou por granulação a seco. As suas formulações usualmente incorporam diluentes, ligantes, lubrificantes e desintegrantes bem como o composto. Os diluentes típicos incluem, por exemplo, vários tipos de amido, lactose, manitol, caolim, fosfato ou sulfato de cálcio, sais inorgânicos tais como cloreto de sódio e açúcar em pó. Derivados de celulose em pó também são úteis. Em uma modalidade, a composição farmacêutica é isenta de lactose. Ligantes típicos para comprimidos são substâncias tais como amido, gelatina e açúcares tais como lactose, frutose, glicose e semelhantes. As gomas naturais e sintéticas também são convenientes, incluindo acácia, alginatos, metilcelulose, polivinilpirrolidina e semelhantes. Polietileno glicol, etilcelulose e ceras podem também servir como ligantes. As formulações de comprimido ilustrativas compreendendo o Composto 1 são fornecidas na presente invenção.

[203] Um lubrificante pode ser necessário em uma formulação em comprimido para evitar que o comprimido e punções se prendam na matriz. O lubrificante pode ser escolhido a partir de sólidos escorregadios como talco, estearato de magnésio e cálcio, ácido esteárico e óleos vegetais hidrogenados.

Os desintegrantes de comprimidos são substâncias que incham quando molhadas para quebrar o comprimido e liberar o composto. Eles incluem amidos, argilas, celuloses, alginas e gomas. Mais particularmente, amidos de milho e de batata, metilcelulose, ágar, bentonita, celulose de madeira, esponja natural em pó, resinas de troca catiônica, ácido algínico, goma de guar, polpa de citrinos e carboximetil celulose, por exemplo, podem ser usados, bem como lauril sulfato de sódio. Os comprimidos podem ser revestidos com açúcar como um aromatizante e selante, ou com agentes protetores formadores de filme para modificar as propriedades de dissolução do comprimido. As composições podem também ser formuladas como comprimidos mastigáveis, por exemplo, por uso de substâncias tais como manitol na formulação.

[204] Quando é desejado administrar um inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina como um supositório, bases típicas podem ser usadas. A manteiga de cacau é uma base de supositório tradicional, a qual pode ser modificada por adição de ceras para aumentar ligeiramente o seu ponto de fusão. As bases de supositório miscíveis em água compreendendo, particularmente, polietilenoglicóis de vários pesos moleculares estão em grande uso.

[205] O efeito do inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina pode ser retardado ou prolongado por formulação adequada. Por exemplo, um pélete lentamente solúvel do inibidor de cinase TOR em combinação com um análogo de citidina pode ser preparado e incorporado num comprimido ou cápsula, ou como dispositivo implantável de liberação lenta. A técnica também inclui a produção de péletes de várias taxas de dissolução diferentes e preenchimento das cápsulas com uma mistura das péletes. Os comprimidos ou cápsulas podem ser revestidos com um filme que resiste à dissolução durante um período de tempo previsível. Mesmo as preparações

parentéricas podem ser feitas para longa ação, por dissolução ou suspensão do inibidor da cinase TOR em combinação com um análogo de citidina em veículos oleosos ou emulsionados que lhe permitam dispersar lentamente no soro.

[206] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado numa formulação apresentada na Publicação do Pedido de Patente US nº. 2013-0.142.873, publicada em 6 de Junho de 2013, que é aqui incorporada na sua totalidade (ver particularmente o parágrafo [0323] ao parágrafo [0424], e parágrafo [0636] ao parágrafo [0655]). Em outras modalidades, o Composto 1 é administrado em uma formulação apresentada no Pedido de Patente Provisório US nº. 61/828.506, depositado em 29 de maio de 2013, que é aqui incorporado na sua totalidade (ver particularmente o parágrafo [0246] ao parágrafo [0403], e parágrafo [0571] ao parágrafo [0586]).

[207] Em certas modalidades, o Composto 2 é administrado em uma formulação estabelecida no Pedido Provisório US nº. 61/813,064, depositado em 17 de Abril de 2013, que é aqui incorporado na sua totalidade (ver particularmente o parágrafo [0168] ao parágrafo [0189] e parágrafo [0262] ao parágrafo [0294]). Em outras modalidades, o Composto 2 é administrado em uma formulação apresentada em Pedido de Patente Provisório US nº. 61/911.201, depositado em 3 de Dezembro de 2013, que é aqui incorporado na sua totalidade (ver particularmente o parágrafo [0170] ao parágrafo [0190], e parágrafo [0264] ao parágrafo [0296])

5.7 KITS

[208] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção kits que compreendem um inibidor da cinase TOR e um análogo de citidina.

[209] Em certas modalidades, são fornecidos na presente invenção kits que compreendem uma ou mais formas de dosagem unitária de um inibidor de

cinase TOR, tais como aqueles aqui descritos, e uma ou mais formas de dosagem unitária de um análogo de citidina, tal como os aqui descritos.

[210] Em certas modalidades, os kits aqui fornecidos compreendem ainda instruções para uso, como por administração de um inibidor de cinase TOR e um análogo de citidina.

6. EXEMPLOS

6.1. ENSAIOS BIOQUÍMICOS

[211] **Ensaio de mTOR HTR-FRET**. A seguir está um exemplo de um ensaio que pode ser usado para determinar a atividade inibidora da cinase TOR de um composto de teste. Inibidores de cinase TOR foram dissolvidos em DMSO e preparados como estoques de 10 mM e diluídos adequadamente para as experiências. Os reagentes foram preparados como segue:

[212] "Tampão TOR simples" (usado para diluir fração de TOR com alto teor de glicerol): 10 mM de Tris pH 7,4, 100 mM de NaCl, 0,1% de Tween-20, 1 mM de DTT. mTOR Invitrogen (Cat # PV4753) foi diluído neste tampão a uma concentração de ensaio de 0,200 µg/ml.

[213] Solução de ATP/Substrato ATP a 0,075mM, MnCl₂ a 12,5 mM, Hepes 50 mM, pH 7,4, β-GOP 50 mM, microcistina LR 250 nM, EDTA 0,25 mM, DTT 5 mM, e 3,5 µg/mL de GST-p70S6.

[214] Solução de reagente de detecção: HEPES 50 mM, pH 7,4, 0,01% de Triton X-100, 0,01% de BSA, EDTA 0,1 mM, 12,7 µg/ml de Cy5-αGST Amersham (Cat#PA92002V), 9 ng/mL de α-fosfo p70S6 (Thr389) (Cell Signaling Mouse Monoclonal #9206L), 627 ng/mL α-mouse Lance Eu (Perkin Elmer Cat#AD0077).

[215] Para 20 µl de tampão de TOR simples é adicionado 0,5 µL de composto de teste em DMSO. Para iniciar a reação de 5 µL de solução de ATP/substrato foram adicionados 20 µL da solução tampão de TOR simples (controle) e à solução do composto preparada acima. O ensaio foi interrompido

após 60 minutos por adição de 5 µL de uma solução de EDTA a 60 mM; 10 mL de solução de reagente de detecção foram então adicionados e a mistura foi deixada em repouso durante pelo menos 2 horas antes da leitura em um leitor de microplacas Perkin-Elmer Envision configurado para detectar LANCE Eu TR-FRET (excitação a 320 nm e emissão a 495/520 nm).

[216] Os inibidores de cinase TOR foram testados no ensaio de mTOR HTR-FRET e foram verificados como tendo atividade no mesmo, com alguns compostos que têm uma IC₅₀ inferior a 10 µM no ensaio, com alguns compostos que têm uma IC₅₀ entre 0,005 nM e 250 nM, outros tendo uma IC₅₀ entre 250 nM e 500 nM, e outros tendo uma IC₅₀ entre 500 nM e 1 µM, e outras tendo uma IC₅₀ entre 1 µM e 10 µM.

[217] **Ensaio de DNA-PK**. Ensaio de DNA-PK é realizado usando os procedimentos fornecidos no kit de ensaio de DNA-PK Promega (Catálogo# V7870). Enzima DNA-PK podem ser adquirida a partir de Promega (Promega cat # V5811).

[218] Os inibidores da cinase TOR selecionados como aqui descrito têm, ou se espera que tenham, uma IC₅₀ inferior a 10 µM neste ensaio, com alguns inibidores da cinase TOR como aqui descritos tendo uma IC₅₀ inferior a 1 µM, e outros tendo uma IC₅₀ inferior a 0,10 µM.

6.2 **ENSAIOS COM BASE EM CÉLULA**

[219] **Materiais e Métodos**. As linhagens de células e cultura de células foram adquiridas da American Type Culture Collection (ATCC) e mantidas em meio de cultura recomendado pela ATCC. As linhagens de células de câncer do ovário que foram usadas ou podem ser usadas incluem as seguintes: Ovar-3, Ovar-4, Ovar-5, Oncar-8 e Caov-3. Múltiplas linhagens de células de mieloma (MM) que foram usadas ou podem ser usadas incluem as seguintes: linhagens de células derivadas de MM humano de NCI-H929, LP-1, MM1.s, U266B1, DF-15

e RPMI-8226 . As linhagens de células resistentes a REVLIMID[®] H929/R1 e H929/R4 foram estabelecidas por exposição contínua das células parentais H929 (H929) a concentrações crescentes de REVLIMID[®] durante um período mínimo de 5 meses. A linhagem de células de controle H929/D foi estabelecida por exposição contínua das células parentais H929 e 0,1% de DMSO. As H929/R1 e H929/R4 estabelecidas foram pulsadas uma vez a cada 3 dias com 10 µM de REVLIMID, enquanto H929/D foi pulsada, uma vez a cada 3 dias com 0,1% de DMSO. Linhagens de células de câncer hepatocelular, câncer da mama, câncer do pulmão e melanoma foram adquiridas a partir de fontes comerciais (ATCC, DSMZ, HSRRB) e rotineiramente mantidas em RPMI1640 ou DMEM contendo 10% de soro fetal de bovino a 37°C com 5% de CO₂. Linhagens de células de carcinoma hepatocelulare (HCC) que foram usadas ou podem ser usadas incluem as seguintes: Hep3B, HepG2, HuH-7, PLC-PRF-5, SK-HEP-1, SNU-182, SNU-387, SNU-398, SNU-423, SNU-449, e SNU-387.

[220] **Ensaio de viabilidade de células das linhagens de células de ovário.** A viabilidade de células foi avaliada usando o Ensaio de Viabilidade de Células Luminescentes Titer-Glo[®] celular, Número de Catálogo G7570 (*Promega Corporation, Madison, WI*). O ensaio é um método homogêneo de determinar o número de células viáveis em cultura com base na quantificação de adenosina trifosfato (ATP) presente, um indicador de células metabolicamente ativas. O procedimento de ensaio homogêneo envolve a adição do reagente único (Reagente CellTiter-Glo) diretamente para células cultivadas em meio suplementado com soro. As células foram plaqueadas em uma placa de 96 cavidades de fundo plano (Número de Catálogo Costar 33595) em densidades que foram previamente otimizadas para cada linhagem de células. As células foram incubadas de um dia para o outro em 5% de CO₂ a 37°C. No dia seguinte, diluições do composto foram preparadas e todas as concentrações foram

doseadas em triplicata. As células foram incubadas com um inibidor de cinase TOR ou um inibidor de cinase TOR e um segundo agente ativo, em 5% de CO₂ a 37°C durante 3 dias. Após um período de incubação de 3 dias, 100 µL de reagente CellTiter-Glo foram adicionados a cada cavidade durante 2 minutos com agitação e depois incubados durante 10 minutos (sem agitação) à temperatura ambiente para estabilizar o sinal. A luminescência foi medida no leitor de placa VICTOR X2 multilabel. A porcentagem de inibição de crescimento foi calculada usando o controle de DMSO na mesma placa (sem composto) como resposta de 100% de crescimento celular. Para os tratamentos de compostos individuais (TORKi e segundos agentes ativos separadamente), os valores médios das triplicatas foram plotados para obter valores de IC₅₀ usando software XLfit junto à IDBS. A fórmula usada para determinar IC₅₀ em XLfit foi modelo número 205, que usa um modelo logístico de 4 parâmetros ou Modelo de Dose-Resposta Sigmoidal para calcular os valores de IC₅₀. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

[221] Medição de sinergismo de inibição da proliferação celular com o uso de um inibidor da cinase TOR em combinação com um segundo agente ativo. O ensaio de viabilidade de células foi realizado pela primeira vez com o inibidor de cinase TOR e os segundos agentes ativos individuais para determinar a faixa de dose para estudos de combinação subsequentes. Para manter potência semelhante para o inibidor de cinase TOR e o segundo agente ativo, a combinação de dose mais elevada começou em IC₅₀ aproximado para cada composto, com uma razão constante de 1: 1 ou 1:10 durante as diluições. O inibidor de cinase TOR e o segundo agente ativo foram adicionados a cada uma das cavidades contendo uma concentração final de 0,2% de DMSO (em triplicata). Na mesma placa em triplicata, as células foram tratadas com o inibidor de cinase TOR e cada segundo agente ativo, quer simultaneamente ou sequencialmente (contendo 0,2% de DMSO). O número de células afetadas pelo

tratamento com composto foi normalizado ao DMSO de controle (100% de viabilidade) e os dados foram importados para o software CalcuSyn (v 2.1, Biosoft). O sinergismo foi quantificado pelo índice de combinação (CI) usando CalcuSyn de acordo com o método CI de Chou-Talalay com simulações e modelagem matemática. O valor CI indica forte sinergismo se o valor estiver entre 0,1-0,3, sinergismo entre 0,3-0,7, moderado sinergismo entre 0,7-0,85, ligeira sinergismo entre 0,85-0,90 e quase aditivo 0,90-1,10 (*Trends Pharmacol. Sci.* 4, 450-454, 1983). ED₅₀ é a dose de efeito médio na qual é atingida uma inibição de crescimento de 50%. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. índice de combinação (IC) no ED₅₀ em linhagens de células de câncer do ovário para o Composto 1, Composto 3 e VIDAZA®.

	CI a ED50	
Linhagem de célula	Composto 3	Composto 1
Ovcar-3	0,55	1,23
Ovcar-4	0,61	0,99
Ovcar-5	0,76	0,92
Ovcar-8	0,81	0,99
Caov-3	0,92	1,08

[222] **Ensaio de viabilidade de células para linhagens de células hepatocelulares.** O inibidor de cinase TOR e segundo agente foram adicionados a uma placa Tratada com TC, de poliestireno preto, de fundo claro, plana de 384 cavidades vazia, (Cat#3712, Corning, MA) através de um dispensador acústico (EDC Biosystems). O inibidor da cinase TOR foi diluído em série de 3 vezes ao longo da placa para nove concentrações e o segundo agente foi diluído em série de 3 vezes na parte inferior da placa para sete concentrações. Uma titulação ortogonal dos dois agentes foi realizada para criar 63 combinações de compostos diferentes. Ambos os compostos também foram adicionados isoladamente para determinar seus efeitos como agentes únicos. DMSO (sem composto) foi usado

como controle para 100% de viabilidade e de fundo (sem células). Concentração de DMSO do ensaio final foi de 0,2% (v/v). As células foram adicionadas diretamente no topo dos compostos a uma densidade otimizada para assegurar que o crescimento celular estava dentro da faixa de detecção linear do ensaio, depois de quatro dias em cultura. No seu ponto final, a viabilidade de células foi determinada usando Ensaio de viabilidade de células luminescente CellTiter-Glo da Promega (Cat#G7573, Promega, WI) usando procedimentos habituais de funcionamento do fabricante. As contagens de luminescência subtraídas do fundo foram convertidas em porcentagens de viabilidade de células no que diz respeito às células de controle tratadas com DMSO. As curvas de dose - resposta foram geradas usando XLFit4 (IDBS, Reino Unido), ajustando a porcentagem de dados de controle em cada concentração, com o uso de um Modelo Logístico 4 Parâmetros/Modelo de Dose-Resposta Sigmoidal [$y = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$]. Para avaliar o efeito combinatório dos dois agentes em uma linhagem de células, os dados foram analisados comparando a sua resposta combinatória contra a resposta teórica aditiva dos dois agentes isoladamente. O efeito aditivo esperado dos dois agentes (A e B) foi calculado usando o método do produto fracionada (Webb 1961): $(fu)_{A,B} = (fu)_A \times (fu)_B$ onde F_u = fração não afetada pelo tratamento. O sinergismo da combinação é determinado quando a fração observada não afetada na combinação é menor do que $(fu)_{A,B}$, ao passo que um efeito aditivo é determinado quando a fração observada não afetada em combinação = $(fu)_{A,B}$. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Combinação de um inibidor de cinase TOR e segundos agentes ativos selecionados em linhagens de células de HCC selecionadas com VIDAZA

linhagem de células HCC	Combinação	Sinergismo
Hep3B	Composto 1 + VIDAZA®	Fraca Sinergia
HepG2	Composto 1 + VIDAZA®	Fraca Sinergia

linhagem de células HCC	Combinação	Sinergismo
PLC-PRF-5	Composto 1 + VIDAZA [®]	Aditivo
SK-HEP-1	Composto 1 + VIDAZA [®]	Sinergia
SNU-387	Composto 1 + VIDAZA [®]	Aditivo
SNU-398	Composto 1 + VIDAZA [®]	Aditivo
SNU-423	Composto 1 + VIDAZA [®]	Aditivo
SNU-449	Composto 1 + VIDAZA [®]	Aditivo
SNU-475	Composto 1 + VIDAZA [®]	Aditivo

[223] **Efeitos combinatórios do Composto 1 com 5-AZA no Ensaio de Crescimento Independente de Ancoragem do Carcinoma Hepatocelular Humano.**

[224] **Resumo.** O efeito do Composto 1 sobre o crescimento independente de ancoragem (AIG) foi avaliado pelo ensaio de formação de colônias em 2 linhagens de células de Carcinoma Hepatocelular Humano ("HHC"), HepG2 e SK-Hep-1. O Composto 1 apresentou atividade de formação anticolônia significativa e dependente de dose em concentrações de 0,1 a 100 μ M em ambas as linhagens de células. O Composto 1 inibiu sinergicamente a formação de colônias em ambas as linhagens de células com 5-AZA.

[225] **Objetivos do Estudo.** O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos diretos do Composto 1 e combinações do Composto 1 com 5-AZA no crescimento independente de ancoragem de células de tumor em 2 linhagens de células de tumor HHC. Esta avaliação foi realizada em ensaios de formação de colônia.

[226] **Materiais e Métodos.**

[227] **Materiais de Estudo.** Linhagens de células/células. Linhagens de células humanas HepG2 e células Hep SK-1 foram obtidas da American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA). As células foram cultivadas em DMEM (Meio Eagle Modificado por Dulbecco) (Mediatech; Manassas, VA) com 10% de FBS premium (Lonza, Walkersville, MD).

[228] **Procedimentos Experimentais.** (1) Ensaio de Formação de Colônia de Agente Único. Ágar Nobel (1,2 gramas; BD; Franklin Lakes, NJ) foi colocado em um frasco estéril de 100 mL. Água estéril (100 mL) foi adicionada e submetida a micro-ondas até que o ágar fervesse. Volumes iguais de meio de Ágar e 2X RPMI (ECE Scientific; Doylestown, PA) foram misturados e 300 µL foram transferidos de cada cavidade em uma placa de 24 cavidades de fundo plano (BD; Franklin Lakes, NJ). As placas foram mantidas a 4°C até que o ágar solidificasse. As culturas de células HepG2 e SK-Hep-1 foram colhidas e ressuspensas em meio de cultura a $3,6 \times 10^3$ células/mL. Volumes iguais de ágar, meio RPMI2X, e suspensão de células (1: 1: 1) foram misturados em um tubo estéril e 500 µL/cavidade foram imediatamente transferidos para placas de 24 cavidades. As placas foram mantidas a 4°C até que o ágar solidificou. O meio de cultura (500 µL) contendo o composto ou DMSO foi adicionado a cada cavidade (concentração de DMSO final para cada tratamento foi de 0,2%). O Composto 1 foi testado em concentrações finais de 0,1, 0,3, 1, 3, 10 e 30 µM. 5-AZA foi testado em concentrações finais de 1, 3 e 10 µM. Tratamentos com células foram estabelecidos em triplicata. As células foram incubadas durante 8-10 dias a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO₂. Fotografias (ampliação 2x) de cada cavidade foram feitas com o uso de uma câmera Digital Nikon DXM1200 e software Nikon ACT1 e salvas como um arquivo TIFF. O Software de Contagem Colônias ImageQuant TL (GE Healthcare; Piscataway, NJ) foi usado para contar colônias. (2) Ensaio de Formação de Colônia do Estudo de Combinação. Ágar Nobel (1,2 gramas; BD; Franklin Lakes, NJ) foi colocada num frasco estéril de 100 mL. Água estéril (100 mL) foi adicionada e submetida a micro-ondas até que o ágar fervesse. Volumes iguais de meio de ágar e RPMI 2X (ECE Scientific; Doylestown, PA) foram misturados e 300 µL foram transferidos de cada cavidade em uma placa de 24 cavidades de fundo plano (BD; Franklin Lakes, NJ). As placas foram

mantidas a 4°C até que o ágar solidificasse. As culturas de células HepG2 e SK-Hep-1 foram colhidas e ressuspensas em meio de cultura a $3,6 \times 10^3$ células/mL. Volumes iguais de ágar, meio RPMI 2X, e suspensão de células (1: 1: 1) foram misturados em um tubo estéril e 500 µL/cavidade foram imediatamente transferidos para a placas de 24 cavidades. As placas foram mantidas a 4°C até que o ágar solidificou. O meio de cultura (500 µL) contendo o composto ou DMSO foi adicionado a cada cavidade (concentração de DMSO final para cada tratamento foi de 0,2%). As células foram tratadas com um tratamento único como segue: O Composto 1 foi testado em concentrações finais de 0,1 e 0,3 µM. 5-AZA foi testado em 3 µM. Combinações do Composto 1 em 0,1 e 0,3 uM foram testadas com 3µ M de 5-AZA. Tratamentos com células foram estabelecidos em triplicata. As células foram incubadas durante 8-10 dias a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO₂. Fotografias (2X amplificação) de cada cavidade foram feitas com o uso de uma câmera Nikon DXM1200 Digital e software Nikon ACT1 e salvo como um arquivo TIFF. Software de Contagem de Colônias ImageQuant TL (GE Healthcare; Piscataway, NJ) foi usado para contar colônias.

[229] **Análise de Dados.** A porcentagem de inibição da formação de colônias foi calculada por normalização para controles de DMSO (controle a 100%). Significância versus o DMSO de controle foi calculado com o uso de uma ANOVA de uma via e teste pós Dunnett e testes t não pareado usando GraphPad Prism v5.01. Para avaliar o efeito combinatório, os dados a partir de três experiências independentes foram analisados através da comparação da resposta combinatória contra a resposta aditiva teórica de dois agentes.

[230] O efeito aditivo esperado dos dois agentes (A e B) foi calculado usando o método do produto fracionado [Webb]: $(fu)_{A,B} = (fu)_A \times (fu)_B$; onde fu = fração não afetada pelo tratamento. Um sinergismo de uma combinação é

determinado quando a fração afetada observada na combinação é significativamente menor do que $(f_u)_{A,B}$, ao passo que um efeito aditivo é determinado quando a fração observada não afetada na combinação é igual a $(f_u)_{A,B}$. Um efeito parcialmente aditivo ocorre quando a fração observada não afetada é significativamente maior do que $(f_u)_{A,B}$.

[231] **Resultados.** Os resultados de ensaios de formação de colônias com tratamentos de único agente em células HepG2 são apresentados na FIG. 1. As células HepG2 tratadas com 0,1, 0,3, 1, 3, 10, e 30 μM do Composto 1 mostraram uma inibição significativa da formação de colônias em 74, 57, 33, 24, 16 e 11% do controle, respectivamente ($p < 0,001$). 5-AZA inibiu significativamente 43-76% do controle da formação de colônias em 1, 3 e 10 μM como mostrado na FIG. 2 (valor de $p < 0,001$).

[232] Os resultados de ensaios de formação de colônia com tratamentos de agente único em células SK Hep-1 são apresentados na FIG. 3. A inibição significativa da formação de colônias (0-45% de controle) foi observada em células SK-Hep-1 após o tratamento com 0,3 - 30 μM do Composto 1 (valor de $p < 0,001$). Tratamentos com 3 μM do Composto 1 e mais elevado resultou em 100% de inibição de formação de colônias. 5-AZA inibiu significativamente 38% do controle da formação de colônias a 10 μM , como mostrado na FIG. 4 (valor $p < 0,001$).

[233] Os resultados a partir da combinação do Composto 1 em ensaios de formação de colônias em células HepG2 são apresentados na FIG. 5 e na Tabela 3. A FIG. 5 mostra que o Composto 1 a 0,1 μM + 3 μM de 5-AZA teve um efeito aditivo não significativo na formação de colônias, enquanto 0,3 μM do Composto 1 em combinação com 3 μM de 5-AZA reduziu sinergicamente o número de colônias HepG2 (valor $p < 0,001$).

[234] Os resultados a partir da combinação do Composto 1 em ensaios de formação de colônias em células SK Hep-1 são apresentados na FIG. 6 e na Tabela 4. A FIG. 6 mostra que a combinação do Composto 1 mais 3 μ M de 5-AZA reduziu sinergicamente o número de colônias SK-Hep-1 (valor de $p < 0,05$).

[235] **Conclusões.** O efeito do Composto 1 em combinação com 5-AZA, no crescimento independente da ancoragem foi avaliado pelo ensaio de formação de colônias em células HepG2 e Hep SK-1. O Composto 1 exibiu formação anticolônia significativa e dependente da dose em ambas as linhagens de células em concentrações de 0,1 a 100 μ M.

[236] Nas células HepG2, o Composto 1 em combinação com 5-AZA teve efeitos aditivos a sinérgicos.

[237] Nas células SK-HEP-1, o Composto 1 em combinação com 5-AZA teve efeitos sinérgicos.

Tabela 3. Resultados do Ensaio de Formação de Colônia de HepG2 do Composto 1

Composto	Formação de Colônia (% de Controle)	Efeito da combinação	Valor p da % de controle real vs teórico
0,1 μ M de Composto 1 + 3 μ M de 5-AZA	45	Aditivo	ns
0,3 μ M de Composto 1 + 3 μ M de 5-AZA	83	Sinergismo	***

[238] As células HepG2 foram semeadas em ágar e incubadas com o composto durante 8 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de inibição em relação às células tratadas com DMSO apenas = 0% de inibição. Os resultados representam a média de $n = 3$

experimentos em triplicata. O Método de Produto Fracionado foi usado para calcular os efeitos da combinação de diferentes compostos. *** $p < 0,001$. ns = não significativo.

Tabela 4. Resultados do Ensaio de Formação de Colônia de SK-Hep-1 do Composto 1

Composto	Formação de Colônia (% do Controle)	Efeito da combinação	Valor p da % de controle real vs teórico
0,1 μ M de Composto 1 + 3 μ M de 5-AZA	35	Sinergismo	*
0,3 μ M de Composto 1 + 3 μ M de 5-AZA	45	Sinergismo	*

[239] As células SK-Hep-1 foram plaqueadas em ágar e incubadas com o composto durante 8 dias antes das colônias serem contadas. Os dados foram calculados como a porcentagem de inibição em relação às células tratadas com DMSO apenas = 0% de inibição. Os resultados representam a média de $n = 3$ experimentos em triplicata. O Método de Produto Fracionado foi usado para calcular os efeitos da combinação de diferentes compostos. * $p < 0,05$ vs aditividade teórica pelo teste t não pareado.

[240] **Composto 2 - Efeitos Combinatória com 5-AZA em Linhagens de Células de Câncer da Mama.**

[241] **Ensaio Antiproliferação.** As células foram descongeladas a partir de um estado preservado com nitrogênio líquido. Uma vez que células foram expandidas e divididas em seus tempos de duplicação previstos, a triagem começou. As células foram semeadas em meio de crescimento em placas tratadas com cultura de tecidos de 384 cavidades de densidades celulares como listadas na Tabela 5.

Tabela 5: Pannel de Linhagem de células do câncer de mama

Nome da Linhagem de Células	Tumor	Meio de Crescimento	Densidade de Células (células/ca vidades)
BT-20	Carcinoma	MEM de Eagles com 10% de FBS	500
BT-474	Carcinoma	Hybri-Care com 10% de FBS	500
BT-549	Carcinoma, Dctal	RPMI com 10% de FBS e 0,023 IU/ml de Insulina Bovina	500
HCC1187	Carcinoma, Dctal	RPMI com 10% de FBS	500
HCC-1428	Adenocarcinoma	RPMI com 10% de FBS	500
HCC1806	Carcinoma, Ductal	RPMI com 10% de FBS	500
HCC1937	Carcinoma, Ductal	RPMI com 10% de FBS	500
HCC70	Carcinoma, Ductal	RPMI com 10% de FBS	500
Hs-578-T	Carcinoma	DMEM com 10% de FBS e 0,01mg/ml de Insulina Bovina	500
MCF7	Adenocarcinoma	Eagles MEM com 10% de FBS e 0,01mg/ml de Insulina Bovina	500
MDA-MB-157	Carcinoma	RPMI com 10% de FBS (com 5% CO ₂)	500
MDA-MB-231	Adenocarcinoma	RPMI com 10% de FBS (com 5% CO ₂)	500
MDA-MB-436	Adenocarcinoma	RPMI com 10% de FBS (com 5% CO ₂) mais Suplementos	500
MDA-MB-453	Adenocarcinoma	RPMI com 10% de FBS (com 5% CO ₂)	500
MDA-MB-468	Adenocarcinoma	DMEM com 10% de FBS (com 5% CO ₂)	500
HCC1500	Carcinoma, Ductal	RPMI com 10% de FBS	500

Nome da Linhagem de Células	Tumor	Meio de Crescimento	Densidade de Células (células/cavidades)
MDA-MB-175-VII	Carcinoma, Ductal	RPMI com 10% de FBS	500

[242] As células foram equilibradas em placas de ensaio por meio de centrifugação e colocadas em incubadoras fixas aos módulos de dosagem a 37°C durante vinte e quatro horas antes do tratamento. No momento do tratamento, um conjunto de placas de ensaio (que não receberam tratamento) foi recolhido e foram medidos os níveis de ATP pela adição de ATP Lite (Perkin Elmer). Estas placas de T zero (T_0) foram lidas usando luminescência ultrasensível em leitores de placas Envision. As placas de ensaio tratadas foram incubadas com o composto (composto único ou uma combinação) durante setenta e duas horas. Depois de setenta e duas horas, as placas foram desenvolvidas para análise do ponto final usando ATPLite. Todos os pontos de dados foram coletados por meio de processos automatizados; qualidade controlada; e analisada. As placas de ensaio foram aceitas se elas passaram os seguintes padrões de controle de qualidade: os valores relativos de luciferase foram consistentes ao longo de todo o experimento, as pontuações de fator-Z foram superiores a 0,6, controles sem tratamento/veículo se comportaram de forma consistente na placa. O cálculo da pontuação de sinergia é fornecido abaixo.

[243] A Inibição do Crescimento (GI) foi usada como uma medida da viabilidade de células. A viabilidade das células de veículo foi medida no momento da dosagem (T_0) e depois de setenta e duas horas (T_{72}). Uma leitura GI de 0% representa nenhuma inibição do crescimento - as células tratadas com o composto e os sinais de veículo T_{72} são correspondidos. Um GI de 100% representa a inibição do crescimento completo - células tratadas por compostos e sinais de veículo T_0 são correspondidos. Os números de células não

aumentaram durante o período de tratamento nas cavidades com 100% de GI e podem sugerir um efeito citostático para os compostos que atingem um patamar a este nível de efeito. Um GI de 200% representa a morte completa de todas as células na cavidade de cultura. Os Compostos que atingem um patamar de atividade de GI de 200% são considerados citotóxicos. GI foi calculado aplicando o seguinte teste e equação:

$$\text{Se } T < V_0 : 100 * [1 - (T - V_0) / V_0]$$

$$\text{Se } T \geq V_0 : 100 * [1 - (T - V_0) / (V - V_0)]$$

[244] Onde t é o sinal de medido para um artigo de teste, V é a medida de controle tratado com veículo, e V_0 é a medida de controle de veículo no tempo zero. Esta fórmula é derivada do cálculo de Inibição de Crescimento usada na triagem de alto rendimento do National Cancer Institute NCI-60.

[245] **Análise de Pontuação de Sinergia.** As pontuações de sinergia foram determinadas usando o Software Chalice (Zalicyus Inc., Cambridge MA). Resumidamente, para medir os efeitos da combinação em excesso da aditividade de Loewe, uma medida escalar para caracterizar a força da interação sinérgica denominada o Pontuação de Sinergia foi usada. A Pontuação de Sinergia é calculada como:

$$\text{Pontuação de Sinergia} = \log f_x \log F_Y \sum \max(0, I_{\text{dados}})(I_{\text{dados}} - I_{\text{Loewe}})$$

em que é a inibição observada a uma dada combinação de concentrações de fármaco.

[246] O cálculo aditividade é:

$$I_{\text{Loewe}} \text{ que satisfaz } (X/X_I) + (Y/Y_I) = 1,$$

onde X_I e Y_I são as concentrações eficazes de único agente para o efeito I de combinação observado.

[247] Atividade observada em excesso de aditividade de Loewe identifica interação sinérgica potencial.

[248] A inibição fracionada para cada agente de componente e ponto combinação na matriz foi calculada em relação à média de todas as cavidades de controle tratadas com veículo. A equação de Pontuação de Sinergia integrou o volume de atividade observado experimentalmente em cada ponto na matriz em excesso de uma superfície modelo numericamente derivada da atividade dos agentes de componente usando o modelo de Loewe por aditividade. Os termos adicionais na equação de Pontuação de Sinergia (acima) foram usados para normalizar para vários fatores de diluição usados para agentes individuais e para permitir a comparação das pontuações de sinergia através de um experimento inteiro. A inclusão de gating de inibição positiva ou um multiplicador de I_{dados} remove o ruído perto do nível de efeito zero, e inclina resultados para interações sinérgicas neste que ocorrem em níveis de atividade elevada.

[249] **Análise de Triagem da Combinação à Base de Autocruzamento.** As combinações onde a pontuação de sinergia é maior do que o autocruzamento médio mais dois desvios padrões (2σ 's) podem ser consideradas sinergias candidatas ao nível de confiança de 95%.

[250] A fim de determinar objetivamente os critérios de sucesso para a análise de triagem de combinação, vinte compostos foram selecionados para serem autocruzados ao longo do painel de dezessete linhagens de células como um meio para determinar empiricamente uma resposta não sinérgica, aditiva de linha de base. A identidade de vinte compostos autocruzados foi determinada selecionando os compostos com uma variedade de valores máximos de resposta e etapa de resposta à dose de único agente. Essas combinações de fármacos que produziram níveis de efeito que se sobrepõem estatisticamente aos valores de aditividade de linha de base foram consideradas sinérgicas.

[251] O Composto 2 teve atividade variando ao longo do painel de dezessete linhagens de células. Para cada linhagem de células, uma titulação da

dose de dez pontos, três vezes, foi realizada em formato de placa de 384 cavidades. Para linhagens de células em que o G_{I50} alcançou níveis de inibição maiores do que cinquenta por cento, o G_{I50} médio foi de 0,14 μ M.

Tabela 6: Pontuações de sinergia para o tratamento do painel de linhagens de células de câncer da mama com o Composto 2 e 5-Aza. As pontuações de sinergia que excedem os limites de autocruzamento médio mais dois desvios padrões (2σ) são representadas em negrito.

Linhagem de célula	Pontuações de sinergia	Pontuação de autocruzamento média + 2σ
BT-20	1,16	3,23
BT-474	1,35	3,37
BT-549	2,03	3,94
HCC1187	4,21	4,80
HCC-1428	1,56	3,22
HCC-1500	1,95	4,17
HCC1806	2,09	5,05
HCC1937	4,8	2,89
HCC70	4,61	3,45
Hs-578-T	5,53	4,09
MCF7	2,75	3,07
MDA-MB-157	3,98	4,68
MDA-MB-175-VII	0,3	2,82
MDA-MB-231	4,27	2,61

Linhagem de célula	Pontuações de sinergia	Pontuação de autocruzamento média + 2σ
MDA-MB-436	2,91	1,91
MDA-MB-453	1,42	2,99
MDA-MB-468	7,29	4,66

[252] **Conclusão:** Como pode ser visto na Tabela 6, o Composto 2 em combinação com 5-Aza mostrou efeitos sinérgicos em várias linhagens de células de câncer da mama e, em particular, em linhagens de células de câncer da mama semelhantes às basais.

[253] **Atividade do inibidor de cinase TOR e segundos agentes ativos.**

[254] Outros exemplos de segundos agentes ativos que podem ser testados nos ensaios de viabilidade de células, por exemplo, com o uso de uma linhagem de células de câncer do ovário, em combinação com um inibidor de cinase TOR são, por exemplo, análogos de citidina.

[255] Outros exemplos de segundos agentes ativos que podem ser testados nos ensaios de viabilidade de células, por exemplo, com o uso de uma linhagem de células do mieloma múltiplo, em combinação com um inibidor de cinase TOR são, por exemplo, análogos de citidina.

[256] Outros exemplos de segundos agentes ativos que foram testados ou podem ser testados nos ensaios de viabilidade de células, usando por exemplo uma linhagem de células de carcinoma hepatocelular, em combinação com um inibidor de cinase TOR são, por exemplo, análogos de citidina.

6.3 ENSAIOS IN VIVO

[257] **Modelo de Xenoenxerto de DLBCL.** Linhagens de células de câncer DLBCL humanas (WSU-DLCL2) são injetadas em camundongos SCID (imunodeficiência combinada grave). As linhagens de células de câncer são propagadas em cultura *in vitro*. Animais portadores de tumor são gerados por injeção de 1×10^6 células em camundongos. Após a inoculação de animais, os tumores são deixados crescer para um determinado tamanho antes da aleatorização. Os camundongos portadores de tumores de xenoenxerto que variam entre 100 e 400 mm³ são reunidos e aleatorizados em diferentes grupos de tratamento. Um inibidor de cinase TOR e um análogo de citidina são administrados em vários níveis de dosagem a camundongos portadores de tumor. Além disso, os agentes quimioterapêuticos de referência, tais como terapia de CHOP (combinação de ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona) e controles negativos são incluídos no estudo. As vias de administração podem incluir a administração subcutânea (SC), intraperitoneal (IP), intravenosa (IV), intramuscular (IM) e oral (PO). As medições do tumor e os pesos corporais são tomados ao longo do estudo e a morbidade e mortalidade são registradas. Os tumores são medidos duas vezes por semana usando calibradores e os volumes tumorais são calculados usando a fórmula de $W^2 \times L/2$.

[258] **Modelo de Xenoenxerto OCI-Ly10 DLBCL.** Células OCI-Ly10 são derivadas de um linfoma difuso de células B grandes, um tipo de linfoma não-Hodgkin. Em resumo, camundongos SCID CB.17 fêmeas são inoculados com 5×10^6 células de OCI-Ly10 subcutaneamente, e os tumores são deixados crescer para aproximadamente 50 - 300 mm³. Os camundongos portadores de xenotransplante com tumores de tamanho semelhante são reunidos em conjunto e aleatorizados em diferentes grupos de tratamento. Um modelo de estudo de eficácia típico envolve a administração de um ou mais compostos em vários níveis de doses e horários, com base em estudos anteriores de agente

único, aos camundongos portadores de tumor. O volume do tumor é medido a cada duas semanas para cerca de 28 dias de tratamento usando paquímetros, e o volume do tumor é calculado usando métodos padrões, por exemplo, usando a fórmula de $W^2 \times L/2$. O volume do tumor pode ser medido opcionalmente ainda pós-tratamento. As análises estatísticas serão realizadas usando métodos estatísticos padrões.

6.4 FORMULAÇÕES DE COMPOSTOS

[259] As formulações ilustrativas do Composto 1 úteis nos métodos aqui fornecidos são apresentadas nas Tabelas 7-10, abaixo.

Tabela 7

Ingredientes	Quantidades	
	mg	% p/p
Composto 1	20,0	15,38
Lactose monohidratada, NF (Fast Flo 316)	63,98	49,22
Celulose Microcristalina, NF (Avicel pH 102)	40,30	31,00
Croscarmelose sódica, NF (Ac-Di-Sol)	3,90	3,00
Ácido Esteárico, NF	0,52	0,40
Estearato de Magnésio, NF	1,30	1,00
Total	130,0	100
Amarelo Opadry 03K12429	5,2	4,0

Tabela 8

Ingredientes	Quantidades	
	mg	% p/p
Composto 1	5,0	3,80
Lactose monohidratada, NF (Fast Flo 316)	78,98	60,70
Celulose Microcristalina, NF (Avicel pH 102)	40,30	31,00
Croscarmelose sódica, NF (Ac-Di-Sol)	3,90	3,00
Ácido Esteárico, NF	0,52	0,40
Estearato de Magnésio, NF	1,30	1,00
Total	130,0	100
Opadry II rosa 85F94211	5,2	4% de ganho de peso

Tabela 9

Ingredientes	Quantidades			
	mg			% p/p
Composto 1	15,0	20,0	30,0	15,38
Lactose monohidratada, NF (Fast Flo 316)	48,37	64,50	96,75	49,62
Celulose Microcristalina, NF (Avicel pH 112)	30,23	40,30	60,45	31,00
Croscarmelose sódica, NF (Ac-Di-Sol)	2,925	3,90	5,85	3,00
Estearato de Magnésio, NF	0,975	1,30	1,95	1,00
Total	97,50	130,0	195,00	100

Ingredientes	Quantidades			
	mg			% p/p
Amarelo Opadry 03K12429	3,9			4,0
Opadry II Rosa 85F94211		5,2	7,8	4,0
Opadry Pink 03K140004				4,0

Tabela 10

Ingredientes	Quantidades	
	mg	% p/p
Composto 1	45,00	15,38
Lactose monohidratada, NF (Fast Flo 316)	143,955	49,22
Celulose Microcristalina, NF (Avicel pH 102)	90,675	31,00
Croscarmelose sódica, NF (Ac- Di-Sol)	8,775	3,00
Ácido Esteárico, NF	1,170	0,40
Estearato de Magnésio, NF	2,925	1,00
Total	292,50	100
Opadry rosa 03K140004	11,70	4,0

[260] As formulações ilustrativas do Composto 2 úteis nos métodos aqui fornecidos são apresentadas na Tabela 11, abaixo.

Tabela 11: Formulações de Comprimido Exemplificadoras

	% p/p (mg)			
Batelada #	1	2	3	4
Ingredientes				
Composto 2 (Ingrediente ativo)	10	10	10	10
Manitol (Mannogem EZ)	qs	qs	qs	qs
Celulose Microcristalina (PH 112)	25	25	25	25
Amido Glicolato de Sódio	3	3	3	3
Dióxido de Silício	1	1	1	1
Ácido Esteárico	0,5	0,5	0,5	0,5
EDTA Dissódico			0,5	0,5
BHT		0,4		0,4
Estearato de Magnésio	0,65	0,65	0,65	0,65
Total	100	100	100	100
Cor	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo

[261] por referência na sua totalidade. As modalidades aqui descritas não devem ser limitadas no seu escopo pelas modalidades específicas divulgadas nos exemplos que são destinadas como ilustrações de alguns aspectos das modalidades divulgadas e quaisquer modalidades que sejam funcionalmente equivalentes são englobadas pela presente divulgação. De fato, várias modificações das modalidades aqui divulgadas além das apresentadas e descritas aqui serão evidentes para os versados na técnica e destinam-se a fazer parte do escopo das reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de um composto selecionado a partir de 7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(*trans*-4-metóxi-ciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona e 7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, e de 5-azacitidina, o referido uso sendo **caracterizado** pelo fato de que é para a preparação de uma composição única ou forma de dosagem unitária ou para a preparação de composições separadas ou formas de dosagem unitárias, em que as composições separadas ou formas de dosagem unitárias são para administração simultânea, concomitante ou sequencial para tratamento ou prevenção de um câncer selecionado a partir de câncer de fígado, câncer de ovário e câncer de mama.

2. Uso de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o câncer é um câncer recidivo ou refratário.

3. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que o câncer é um câncer avançado.

4. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que o câncer de mama é positivo para receptor de hormônio, positivo para receptor de estrogênio (ER+, ER+/Her2 ou ER+/Her2+), negativo para receptor do estrogênio (ER-/Her2+) ou negativo triplo (TN).

5. Uso de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o câncer é um câncer associado com as vias envolvendo as quinases mTor, PI3K, Akt, PI3K α , PI3K β , PI3K δ , KDR, GSK3 α , GSK3 β , ATM, ATX, ATR, cFMS, e/ou DNA-PK e mutantes ou isoformas das mesmas.

6. Uso de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o composto é 7-(6-(2-hidróxi-propan-2-il)piridin-3-il)-1-(*trans*-4-metóxi-ciclo-

hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.

7. Uso de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o composto é 1-etil-7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.

8. Uso de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o composto é 7-(2-metil-6-(4H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-1-(2-(tetra-hidro-2H-piran-4-il)etil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona.

9. Composição farmacêutica, **caracterizada** por compreender o composto definido na reivindicação 1 e azacitidina e, opcionalmente, um carreador ou veículo farmacêuticamente aceitável.

10. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 9, **caracterizada** por ser na forma de cápsula sem um carreador, excipiente ou veículo adicional.

11. Kit, **caracterizado** por compreender:

(i) o composto definido na reivindicação 1;

(ii) azacitidina, e

(iii) opcionalmente, instruções para uso,

em que o composto e a azacitidina estão incluídos em uma composição única ou forma de dosagem unitária ou em composições separadas ou formas de dosagem unitárias, em que as composições separadas ou formas de dosagem unitárias são para administração simultânea, concomitante ou sequencial.

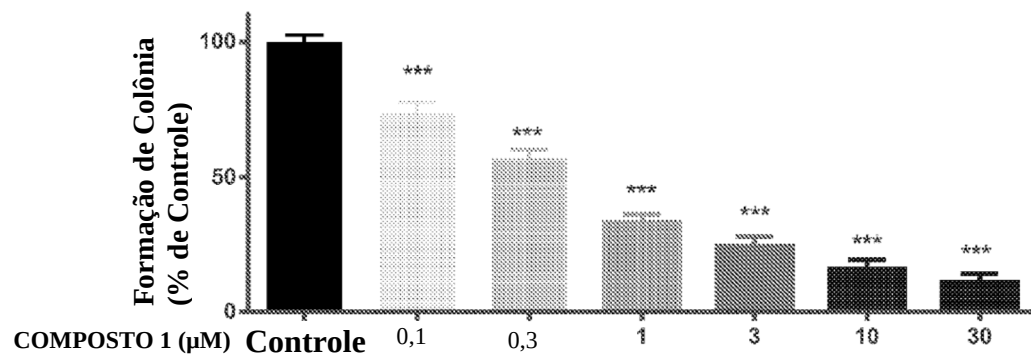


FIG. 1

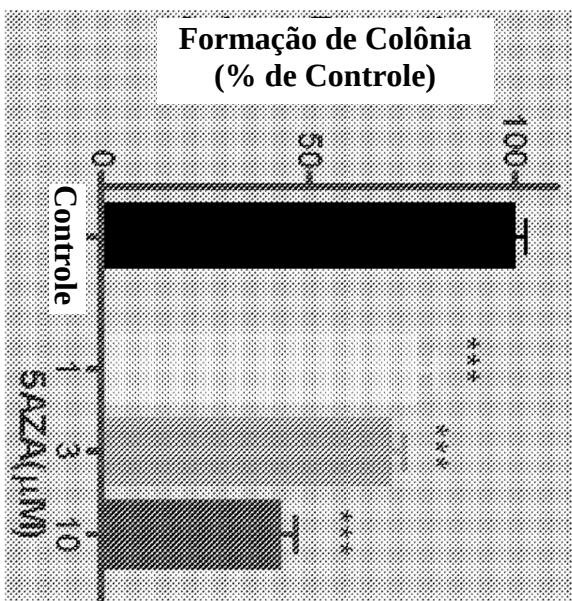


FIG. 2

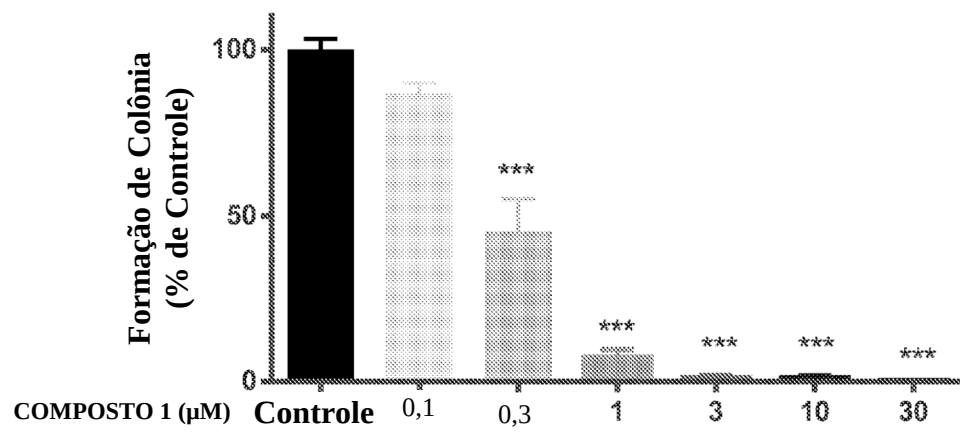


FIG. 3

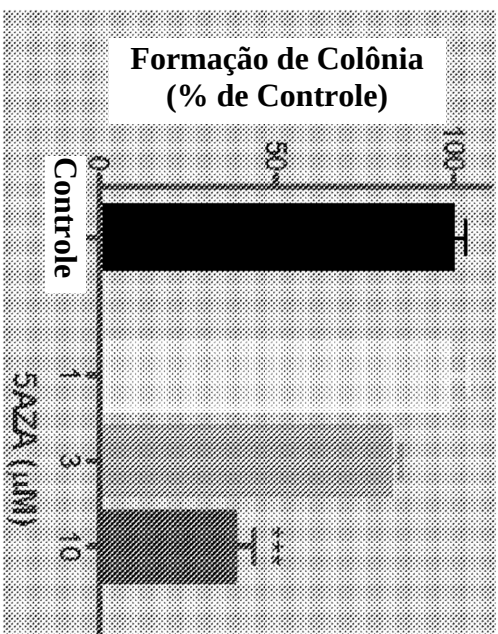


FIG. 4

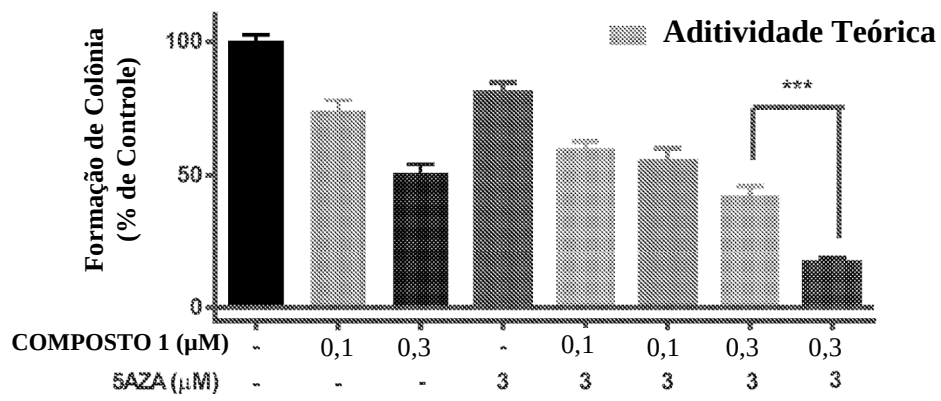


FIG. 5

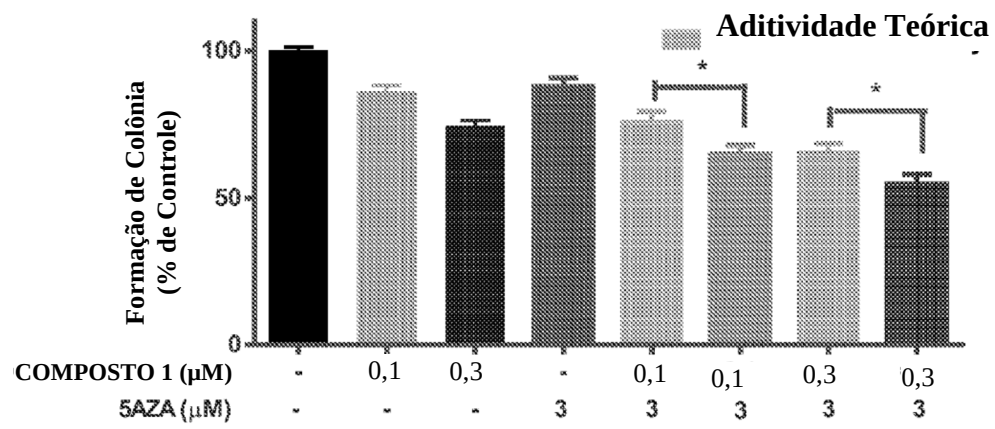


FIG. 6