

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-090543- -00000-0000

Fecha: 2013-04-08 12:02:47 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Evt: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

TITULO: COMBINACIONES FARMACÉUTICAS.

SOLICITANTE: NOVARTIS AG

DIRECCIÓN: Lichtstrasse 35 CH-4056 Basel.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ: 05 de Abril de 2013

P2013/000051

OLARTEMOIRE

OLARTE MOURE & AS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



No. 13-090543-00000-0000

Fecha: 2013-04-08 12:02:47
Tra. 11 PATENTE IYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 4

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2013/000051

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: NOVARTIS AG

Dirección: Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel

Nacionalidad o Domicilio: Suiza

Lugar de Constitución: Suiza

Teléfono: _____ Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No 34-03 Bogotá D.C.

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2011/054536

Fecha Octubre 03, 2011

Publicación Internacional No. WO 2012/047775 A1

Fecha Abril 12, 2012

6

Título (54) COMBINACIONES FARMACÉUTICAS

Clasificación Internacional (51) A61K 31/4188; A61K 31/4745; A61P 35/00.

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Octubre 04, 2010

(31) Número de
Solicitud

61/389,445

9

Comprobante de pago No. 13-

Fecha _____



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No. 08-102.832



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



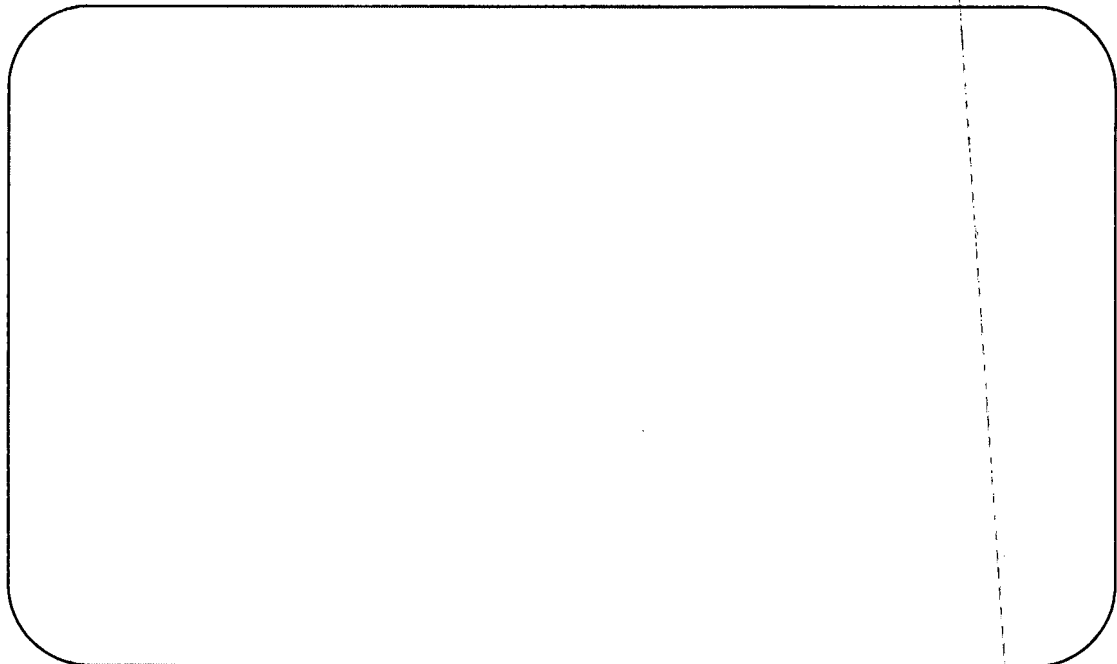
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional



FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2011/054536

Yan CHEN

Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.,
250 Massachusetts Avenue,
Cambridge, Massachusetts 02139
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Xizhong HUANG

Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.,
250 Massachusetts Avenue,
Cambridge, Massachusetts 02139
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Leon MURPHY

Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.,
250 Massachusetts Avenue,
Cambridge, Massachusetts 02139
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Beat NYFELER

Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc.,
250 Massachusetts Avenue,
Cambridge, Massachusetts 02139
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Suiza

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0032222

Bogotá D.C., Abril 08 de 2013 - 11:50:13

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS

NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	181981796	05/04/2013	9.515.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-090543-00000-0000
Fecha: 2013-04-08 12:02:47 Dep. 2020 DIR. NUEVAS CR
Tra. 11 PATENTE IYII Eve. 378 FASE NACIONAL I
Act. 411 PRESENTACION Folios: 4

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

, Abril 8 de 2013 - 11:50:15



No. 13-090543-00000-0000

Fecha: 2013-04-08 12:02:47
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 4

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE L

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia:		Fecha: ____/____/____/ AAAA MM DD	Recorrido:
Tipo de Radicación: Entrada: ☐ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1			
2	13-90543-0		
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
10	Otro

Observaciones:
Anexan CD

Nota del traductor:

El documento adjunto de poder de Novartis AG a Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana Maria Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro lleva los siguientes datos en inglés.

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

1. En esta fecha, día 30 de Agosto de 2006, yo, el suscrito Notario Público certifico por medio del presente la autenticidad de las firmas del señor Arthur Canonica, ciudadano de Corticiasca, Suiza, residente en Wisen/SO, Suiza, y del Sr. Pascal Traub, ciudadano de Riehen, Suiza, residente en Basilea, Suiza, ambos personas mayores de edad y con dirección comercial en Lichstrasse 35, 4056, Basilea, Suiza. La autenticidad de la firmas fue establecida por medio de la comparación.
2. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas han ejecutado el anterior documento como apoderados de Novartis AG.
3. Además, yo, el Notario Público certifico por el presente que Novartis AG, con su principal lugar de negocios en Basilea, Suiza, está debidamente constituida, está actualmente vigente y que los propósitos para los cuales se otorgó el Documento de Poder están dentro del alcance de sus propósitos corporativos.



4. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas tienen la autoridad para ejecutar el documento de Poder y que por este instrumento, su representación es legal.

La base para mis certificaciones de los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los siguientes documentos auténticos:

- Documento de Poder de Novartis AG fechado el 19 de junio de 2006 y
- Extracto del Registro de Comercio del Cantón de la ciudad de Basilea para Novartis AG, en Basilea, fechado el 25 de enero de 2006.

Basilea, Suiza, este día 30 de Agosto de 2006.

(Firmado) Dr. Matthias Staehelin, Notario Público del Cantón de la ciudad de Basilea, Suiza.

Mi licencia vence el 11 de Marzo de 2009.

Hay una Apostilla de Suiza, firmada por Heidi Fischer, bajo el No. 8049/13584.



Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

Certificación:

Certifico que la presente es una traducción verdadera y completa del documento adjunto: "Novartis"

Fecha: 12 de Septiembre de 2006.

Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes.

Licencia No. 376 de 1993, del Ministerio de Justicia.

Dirección: Carrera 15 No. 99-13 Oficina 411. Bogotá, Colombia.

Teléfono: (57-1) 2182308, (57-1) 6232925.

E-mail: treseser1@yahoo.com. No. 8346



Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

NOVARTIS AG

Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel / Switzerland

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or J. Ian Raisbeck and/or Ana María Frieri and/or Juan Guillermo Moure and/or Natalia Castro** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

Date/Fecha: June 27, 2006

City/Country/Ciudad,País: Basel, Switzerland


Arthur Canonica


Pascal Traub

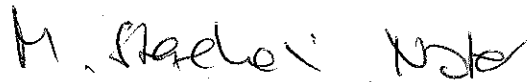
Attestation

- 1 On this date, the 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six), I, the undersigned Notary Public certify herewith the authenticity of the signatures of **Mr. Arthur Canonica**, citizen of Corticiasca, Switzerland, residing in Wisen/SO, Switzerland and of **Mr. Pascal Traub**, citizen of Riehen, Switzerland, residing in Basel, Switzerland, both of legal age and with business address at, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland. The authenticity of the signatures was established by means of comparison.
- 2 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have executed the foregoing document as proxy holders for Novartis AG.
- 3 Further, I, the Notary Public certify herewith that Novartis AG, having its principal place of business located in Basel / Switzerland, is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
- 4 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have the authority to execute the Power of Attorney and that for this instrument their representation is legal.

The foundation for my certifications contained in points 2 (two), 3 (three) and 4 (four) was the exhibition of the following authentic documents:

- Power of Attorney by Novartis AG dated June 19 (nineteen), 2006 (two thousand and six); and
- Extract from the Register of Commerce of the Canton of Basel-City for Novartis AG, in Basel, dated January 25 (twenty-five), 2006 (two thousand and six).

BASEL, Switzerland, this 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six)



Dr. Matthias Staehelin, Notary Public
in the Canton of Basel-City, Switzerland

My license expires on March 11 (eleven),
2009 (two thousand and nine).

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)

This official document

2. is signed by *P. in*

3. in his/her function as *St. Stettelin*

4. and certified by the seal of the *St. Stettelin*

Certified 20. Aug. 2006

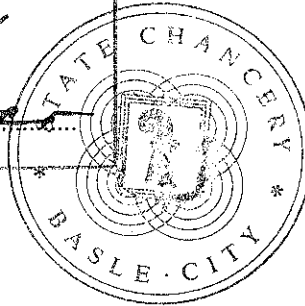
5. in Basel (Bâle) 6. on

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. no. *2009/18584*

9. Seal / stamp: 10. Signature: *Fischer*

Heidi Fischer



VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application Novartis AG is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i v)		an assignment from CHEN, Yan to Novartis AG, dated 09 September 2011 (09.09.2011)
VIII-2-1(i v)		an assignment from HUANG, Xizhong to Novartis AG, dated 09 September 2011 (09.09.2011)
VIII-2-1(i v)		an assignment from MURPHY, Leon to Novartis AG, dated 09 September 2011 (09.09.2011)
VIII-2-1(i v)		an assignment from NYFELER, Beat to Novartis AG, dated 09 September 2011 (09.09.2011)



(51) International Patent Classification:

A61K 31/4188 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2011/054536

(22) International Filing Date:

3 October 2011 (03.10.2011)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/389,445 4 October 2010 (04.10.2010) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **NOVARTIS AG** [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).

(72) Inventors; and

(75) **Inventors/Applicants (for US only): CHEN, Yan** [US/US]; Novartis Institutes for BioMedical, Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US). **HUANG, Xizhong** [US/US]; Novartis Institutes for BioMedical, Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US). **MURPHY, Leon** [US/US]; Novartis Institutes for BioMedical, Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US). **NYFELER, Beat** [CH/US]; Novartis Institutes for BioMedical, Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US).

(74) **Agent: RUECK, Sandra S.**; Novartis, Patent Department, One Health Plaza, Bldg. 101, East Hanover, New Jersey 07936-1080 (US).

(81) **Designated States** (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Designated States** (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))

(54) **Title:** PHARMACEUTICAL COMBINATIONS

(57) **Abstract:** The present invention relates to a pharmaceutical combination which comprises (a) an mTOR catalytic inhibitor, such as a catalytic phosphatidylinositol- 3-kinase (PI3K) and mTOR inhibitor compound which is an imidazoquinoline derivative and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound, and optionally, at least one pharmaceutically acceptable carrier for simultaneous, separate or sequential use, in particular for the treatment of a mammalian target of rapamycin (mTOR) kinase dependent proliferative diseases; and the uses of such a combination in the treatment of mTOR kinase dependent proliferative diseases; a pharmaceutical composition comprising such a combination; the use of such a combination for the preparation of a medicament for the treatment of a proliferative disease; a commercial package or product comprising such a combination as a combined preparation for simultaneous, separate or sequential use; and to a method of treatment of a warm-blooded animal, especially a human.



Pharmaceutical Combinations

Field of the Invention

The present invention relates to a pharmaceutical combination comprising (a) a catalytic phosphatidylinositol- 3-kinase (PI3K)/ mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor compound which is an imidazoquinoline derivative of formula (I) and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound, and optionally, at least one pharmaceutically acceptable carrier for simultaneous, separate or sequential use; and the uses of such a combination in the treatment of a proliferative disease, more specifically a mTOR kinase dependent proliferative disease; a pharmaceutical composition comprising such a combination; the use of such a combination for the preparation of a medicament for the treatment of a proliferative disease, more specifically a mTOR kinase dependent proliferative disease; a method of treatment of a subject in need thereof, especially a human; and a commercial package or product comprising such a combination as a combined preparation for simultaneous, separate or sequential use.

Background of the Invention

In mammalian cells, the target of rapamycin (mTOR) kinase exists as a multiprotein complex described as the mTORC1 complex or mTORC2 complex, which senses the availability of nutrients and energy and integrates inputs from growth factors and stress signaling. The mTORC1 complex is sensitive to allosteric mTOR inhibitor compounds (such as rapamycin); is composed of mTOR, GβL, and regulatory associated proteins of mTOR (raptor); and binds to the peptidyl-prolyl isomerase FKBP12 protein (a FK506-binding protein 1A, 12 kDa). In contrast, the mTORC2 complex is composed of mTOR, GβL, and rapamycin-insensitive companion proteins of mTOR (rictor) and does not bind to the FKBP12 protein *in vitro*.

The mTORC1 complex has been shown to be involved in protein translational control, operating as a growth factor and nutrient sensitive apparatus for growth and proliferation regulation. mTORC1 regulates protein translation via two key downstream substrates: S6 kinase, which in turn phosphorylates ribosomal protein S6, and eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1 (4EBP1), which plays a key role in modulating eIF4E regulated cap-dependent translation. The mTORC1 complex regulates cell growth in response to the energy and nutrient homeostasis of the cell, and the deregulation of the

mTORC1 complex is common in a wide variety of human cancers. The function of mTORC2 involves the regulation of cell survival via phosphorylation of Akt (Sarbasov et al., Science, 2005, 307:1098-1101) and the modulation of actin cytoskeleton dynamics (Jacinto et al., Nat. Cell. Biol., 2004, 6: 1122-1128).

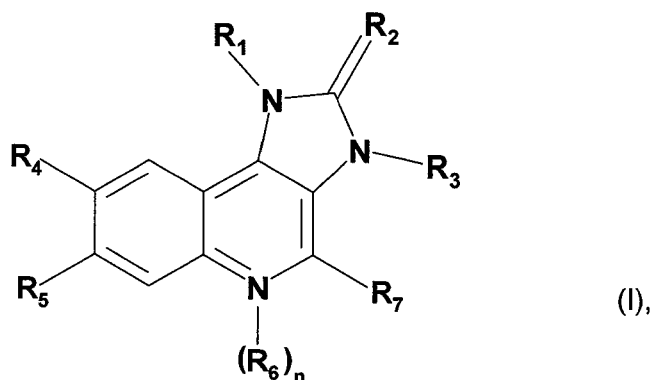
The mTORC1 complex is sensitive to allosteric mTOR inhibitor compounds, such as rapamycin and derivatives thereof, in large part due to the allosteric mTOR inhibitor compound's mode of action, which involves the formation of an intracellular complex with the FKBP12 and binding to the FKBP12-rapamycin binding (FRB) domain of mTOR (Choi et al., Science, 1996, 273:239-242). This results in a conformational change in mTORC1 which is believed to alter and weaken the interaction with its scaffolding protein raptor, in turn impeding substrates such as S6K1 from accessing mTOR and being phosphorylated (Hara et al., Cell, 2002, 110(2): 177-89; Kim et al., Cell, 2002, 110(2): 163-75; Oshiro et al., Genes Cells, 2004, 9(4): 359-66). Rapamycin and rapalogues such as RAD001 or CCI-779 have gained clinical relevance by inhibiting hyperactivation of mTOR associated with both benign and malignant proliferation disorders (Dancey, Nature Reviews Clinical Oncology, 2010, 7: 209-219; Hidalgo and Rowinsky, Oncogene, 2000, 19:6680-6686).

Everolimus (Afinitor[®], Novartis) is an FDA approved drug for the treatment of advanced kidney cancer and is still being investigated in several other phase III clinical trials in oncology. Preclinical studies have shown that Everolimus is able to inhibit the proliferation of a wide variety of tumor cell lines both *in vitro* and *in vivo*, presumably through the suppression of rapamycin sensitive mTORC1 function. Everolimus, as a derivative of rapamycin, is an allosteric mTOR inhibitor compound that is highly potent at inhibiting part of the mTORC1 function, namely S6 kinase (S6K) and the downstream S6K substrate S6. However, everolimus (and other rapamycin analogues) has little or no effect at inhibiting the priming phosphorylation phosphorylation events in 4EBP1 (T37/46), which has recently been implicated in Hsieh et al, Cancer Cell, 17(3): 249-261 (2010) as a key driver in tumorigenesis and maintenance. And allosteric mTOR inhibitor compounds like everolimus (and other rapamycin analogues) have little or no effect at inhibiting the mTORC2 pathway, or its resulting activation of Akt signaling.

In contrast, catalytic, ATP-competitive mTOR inhibitor compounds have been found to target the mTOR kinase domain directly and target both mTORC1 and mTORC2 (Feldman et al., PLoS Biology, 2009, 7(2): e1000038; Garcia-Martinez et al., Biochem. J., 2009, 421(Pt. 1): 29-42; Thoreen et al., J. Biol. Chem., 2009, 284: 8023-8032; Yu et al., Cancer

Res., 2009, 69: 6232). These are more effective inhibitors of mTORC1 than such allosteric mTOR inhibitor compounds, such as rapamycin, because they modulate rapamycin-resistant mTORC1 outputs such as 4EBP1-T37/46 phosphorylation and cap-dependent translation.

Specific imidazoquinoline derivatives and their preparation have been described in WO2006/122806 and include compounds of formula (I)



wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , n , R_6 and R_7 defined as set forth herein, or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof. Such imidazoquinoline derivatives, such as 8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one ("Compound A") are proven to be effective PI3K/mTOR inhibitors, e.g., WO2008/103636 and Maira *et al*, Mol. Cancer Ther., 7(7): 1851-1863 (July 2008), which display broad activity against a large panel of cultured human cancer cell lines.

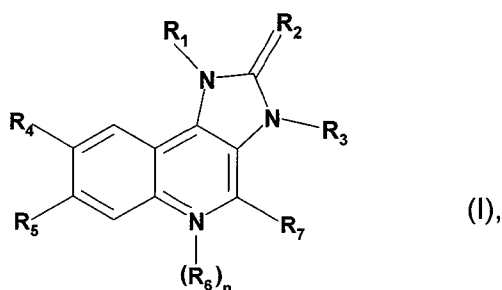
Acting as a catalytic PI3K/ mTOR inhibitor, the imidazoquinoline derivative compound 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl)-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile is capable of shutting down the complete function of mTORC1 complex, including both the rapamycin sensitive (phosphorylation of S6K, and subsequently phosphorylation of S6) and rapamycin insensitive (phosphorylation of 4EBP1) functions. The imidazoquinoline derivative compound 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl)-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile has a differential effect according to the drug concentration used, whereby mTOR inhibition predominates at a low concentration (less than 100 nmol/L) but dual PI3K/ mTOR inhibition is observed at

relatively higher concentrations (approximately 500 nmol/L). (E.g, Serra et al, Cancer Res., 68(19): 8022-8030 (October 1, 2008).)

In spite of numerous treatment options for patients with proliferative diseases, there remains a need for effective and safe therapeutic agents which can be administered to subjects in need thereof at low doses and a need for their preferential use in combination therapy. It has been surprisingly discovered that the combination of low amounts of the compound of formula (I) with low amounts of an allosteric mTOR inhibitor compound, such as everolimus, results in unexpected improvement in the treatment of tumor diseases. When administered simultaneously, sequentially or separately, the compound of formula (I) and the allosteric mTOR inhibitor compound interact in a synergistic manner to inhibit cell proliferation. This unexpected synergistic interaction allows a reduction in the dose required of each compound, leading to a reduction in the side effects and enhancement of the clinical effectiveness of the compounds and treatment.

Summary of the Invention

The present invention relates to a novel pharmaceutical combination comprising (a) a compound of formula (I)



wherein

R₁ is naphthyl or phenyl wherein said phenyl is substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of Halogen; lower alkyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, imidazolyl or triazolyl; cycloalkyl; amino substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkoxy and lower alkoxy lower alkylamino; piperazinyl unsubstituted or substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl and lower alkyl sulfonyl; 2-oxo-pyrrolidinyl; lower alkoxy lower alkyl; imidazolyl; pyrazolyl; and triazolyl;

R₂ is O or S;

R₃ is lower alkyl;

R₄ is pyridyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, lower alkyl, lower alkoxy or piperazinyl unsubstituted or substituted by lower alkyl; pyrimidinyl unsubstituted or substituted by lower alkoxy; quinolinyl unsubstituted or substituted by halogen; quinoxalinyl; or phenyl substituted with alkoxy;

R₅ is hydrogen or halogen;

n is 0 or 1;

R₆ is oxido;

with the proviso that if n=1, the N-atom bearing the radical R₆ has a positive charge;

R₇ is hydrogen or amino;

or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier, wherein said compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose, for simultaneous, separate or sequential use, in particular for the treatment of a proliferative disease, more specifically a mammalian target of rapamycin (mTOR) kinase dependent proliferative disease.

In a preferred embodiment, the COMBINATION OF THE INVENTION pertains to a pharmaceutical combination which comprises (a) the compound 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile (referred to as "Compound A" herein) or its monotosylate salt and (b) the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001), wherein Compound A is administered in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about

3 to about 315 mg/ subject per daily dose for the treatment of a mTOR kinase dependent proliferative disease. In a further embodiment, the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001) used in the combination is administered in a therapeutically effect amount from about 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject per daily dose.

In one aspect the present invention provides the use of a pharmaceutical combination which comprises (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier for the manufacture of a medicament for the treatment or prevention of a mTOR kinase dependent proliferative disease, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

In a preferred embodiment, the present invention pertains to a use of a pharmaceutical combination which comprises (a) Compound A or its monotosylate salt and (b) the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001), wherein Compound A is administered in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose for the treatment of a mTOR kinase dependent proliferative disease. In a further embodiment, the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001) is administered in a therapeutically effect amount from about 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject per daily dose.

In another aspect, the present invention provides a method of treating or preventing a proliferative disease comprising administering (a) a therapeutically effective amount of a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) a therapeutically effective amount of at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier to a subject in need thereof, wherein the compound of formula (I) is administered in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose. Preferably, the compound of formula (I) is Compound A.

In one aspect the invention provides a method for improving efficacy of the treatment of a mTOR kinase dependent proliferative disease, by administering (a) a compound of

formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier to a subject in need thereof, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose. Preferably, the compound of formula (I) is Compound A.

In one aspect of the invention, the present invention pertains to a pharmaceutical combination such as a combined preparation or a pharmaceutical composition comprising (a) a compound of formula (I), and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier for simultaneous, separate or sequential use, in particular for the treatment of an mTOR kinase dependent proliferative diseases, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose. Preferably, the compound of formula (I) is Compound A.

The present invention further provides a commercial package comprising as active ingredients COMBINATION OF THE INVENTION, together with instructions for simultaneous, separate or sequential use thereof in the delay of progression or treatment of a proliferative disease.

Detailed Description of the Figures

Figure 1 shows effect of single agent and concomitant everolimus (RAD001 or PKF-222-6666-NX-2) and/or the catalytic PI3K/ mTOR inhibitor compound 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile (Compound A) treatment on the phosphorylation of 4EBP1 in NCI-H23 (KRAS and LKB1 mutant) human non-small cell lung cancer cell models by immunofluorescence-based staining with a T37/46 phospho-specific antibody and automated imaging and quantitation (high content p4EBP1 T37/46 assay readout).

Figure 2 shows full dose matrix data from the high content analysis of p-4EBP1 in NCI-H23 human non-small cell lung cancer cell models.

Figure 3 shows effect of single agent and concomitant everolimus (RAD001) and/or Compound A treatment on the phosphorylation of S6 in NCI-H23 (KRAS and LKB1 mutant) human non-small cell lung cancer cell models using a high content pS6 S240/244 assay readout.

Figure 4 shows full dose matrix data from the high content analysis of pS6 in NCI-H23 human non-small cell lung cancer cell models.

Figure 5 shows full dose matrix cell proliferation data from single agent and concomitant everolimus (RAD001) and/or Compound A treatment in NCI-H23 human non-small cell lung cancer cell models.

Figure 6 shows effects of combining lower everolimus (RAD001) and Compound A doses on proliferation of NCI-H23 human non-small cell lung cancer cell models. In this extended dose matrix, as little as 1 pM everolimus is needed to shift the Compound A IC₅₀.

Figure 7 shows full dose matrix data for single agent and concomitant everolimus (RAD001) and/or Compound A treatment on the phosphorylation of 4EBP1 in MFE296 (PIK3CA and PTEN mutant) human endometrial cancer cell models using a high content readout.

Figure 8 shows extended dose matrix cell proliferation data for MFE296 (PIK3CA and PTEN mutant) human endometrial cancer cell models.

Figure 9 shows extended dose matrix cell proliferation data for AN3 CA (FGFR2 and PTEN mutant) human endometrial cancer cell models.

Figure 10 shows extended dose matrix cell proliferation data for GA-10 human Non-Hodgkins Lymphoma cancer cell models.

Figure 11 shows extended dose matrix cell proliferation data for RPMI 8226 human Multiple Myeloma cancer cell models.

Figure 12 shows extended dose matrix cell proliferation data for KMS-11 (FGFR3 mutant) human Multiple Myeloma cancer cell models.

Detailed Description of the Invention

Throughout this specification and in the claims that follow, the following terms are defined with the following meanings, unless explicitly stated otherwise:

The terms “comprising” and “including” are used herein in their open, non-limiting sense.

Where the plural form is used for compounds, salts, and the like, this is taken to mean also a single compound, salt, or the like.

The term “combination” is defined to refer to either a fixed combination in one dosage unit form, or a non-fixed combination (or a kit of parts) for the combined administration where compound of formula (I), and a combination partner may be administered independently at the same time or separately within time intervals that allow that the combination partners show a cooperative, e.g., synergistic, effect. The term “combined administration” or the like as utilized herein are meant to encompass administration of the selected combination partner to a single subject in need thereof (e.g. a patient), and are intended to include treatment regimens in which the agents are not necessarily administered by the same route of administration or at the same time. The term “fixed combination” means that the active ingredients, e.g. a compound of formula (I) and a combination partner, are both administered to a patient simultaneously in the form of a single entity or dosage. The term “non-fixed combination” mean that the active ingredients, e.g. a compound of formula (I) and a combination partner, are both administered to a patient as separate entities either simultaneously, concurrently or sequentially with no specific time limits, wherein such administration provides therapeutically effective levels of the two compounds in the body of the patient. The latter also applies to cocktail therapy, e.g. the administration of three or more active ingredients.

The term “catalytic PI3K/mTOR inhibitors” is defined herein as compounds which target, decrease or inhibit the catalytic activity/function of the PI3K and/or mTOR enzymes by binding to the ATP binding cleft of these enzymes.

The term “allosteric mTOR inhibitor compounds” is defined herein as compounds which target, decrease or inhibit the activity/function of the mTOR kinase through binding to an allosteric binding site, preferably the FKBP12-rapamycin binding site (FRB), of the mTORC1 complex.

The term “subject” is intended to include animals. Examples of subjects include mammals, e.g., humans, dogs, cows, horses, pigs, sheep, goats, cats, mice, rabbits, rats,

and transgenic non-human animals. In certain embodiments, the subject is a human, e.g., a human suffering from, at risk of suffering from, or potentially capable of suffering from a brain tumor disease.

The term "mg/subject" is defined herein to be the amount of the referenced compound in milligrams as estimated for a subject in need thereof having approximately 70 kg body mass. It is understood that this term is not restricted to a subject having approximately 70 kg body mass and the amount of the referenced in milligrams would be adjusted by one of ordinary skill to be equivalent to this ratio at the actual body mass of the subject.

The term "about" in connection with a particular drug dose shall have the meaning of a drug dose in the range of plus/ minus 10% w/w, preferably plus/minus 5% w/w or less, of the nominal drug dose. By way of example, a nominal drug dose of about 0.01 mg active ingredient may contain from 0.009 to 0.011 mg, preferably from 0.0095 to 0.0105 active ingredient per dose.

The term "pharmaceutical composition" is defined herein to refer to a mixture or solution containing at least one therapeutic compound to be administered to a mammal, e.g., a human in order to prevent, treat or control a particular disease or condition affecting the mammal.

The term "pharmaceutically acceptable" is defined herein to refer to those compounds, materials, compositions and/or dosage forms, which are, within the scope of sound medical judgment, suitable for contact with the tissues of mammals, especially humans, without excessive toxicity, irritation, allergic response and other problem complications commensurate with a reasonable benefit/risk ratio.

The term "a combined preparation" as used herein defines especially a "kit of parts" in the sense that the combination partners (a) and (b) as defined above can be dosed independently or by use of different fixed combinations with distinguished amounts of the combination partners (a) and (b), i.e. simultaneously or at different time points. The parts of the kit of parts can then, e.g., be administered simultaneously or chronologically staggered, that is at different time points and with equal or different time intervals for any part of the kit of parts. The ratio of the total amounts of the combination partner (a) to the combination partner (b) to be administered in the combined preparation can be varied, e.g. in order to cope with the needs of a patient sub-population to be treated or the needs of the single.

The term "pharmaceutical composition" as used herein shall refer to, for example, a mixture containing a specified amount of a therapeutic compound, e.g. an amount, of a therapeutic compound in a pharmaceutically acceptable carrier to be administered to a mammal, e.g., a human in order to treat mTOR kinase dependent proliferative diseases.

The term "treating" or "treatment" as used herein comprises a treatment effecting a delay of progression of a disease. The term "delay of progression" as used herein means administration of the combination to patients being in a pre-stage or in an early phase of the proliferative disease to be treated, in which patients for example a pre-form of the corresponding disease is diagnosed or which patients are in a condition, e.g. during a medical treatment or a condition resulting from an accident, under which it is likely that a corresponding disease will develop.

The term "mTOR kinase dependent proliferative diseases" as used herein is defined to refer to any proliferative disease or disorder mentioned herein is meant; particularly any proliferative disease is meant that responds to the referenced compounds which inhibits the mTOR kinase pathway, especially, a proliferative disease selected from a cancer or tumor disease.

"Therapeutically effective" or "clinically effective" preferably relates to an amount that is therapeutically or in a broader sense also prophylactically effective against the progression of a proliferative disease.

"Jointly therapeutically active" or "joint therapeutic effect" means that the compounds may be given separately (in a chronically staggered manner, especially a sequence-specific manner) in such time intervals that they preferably, in the warm-blooded animal, especially human, to be treated, still show a (preferably synergistic) interaction (joint therapeutic effect). Whether this is the case, can inter alia be determined by following the blood levels, showing that both compounds are present in the blood of the human to be treated at least during certain time intervals.

The present invention relates to a novel pharmaceutical combination comprising (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier for simultaneous, separate or

sequential use, in particular for the treatment of a proliferative disease, more specifically a mTOR kinase dependent proliferative disease, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

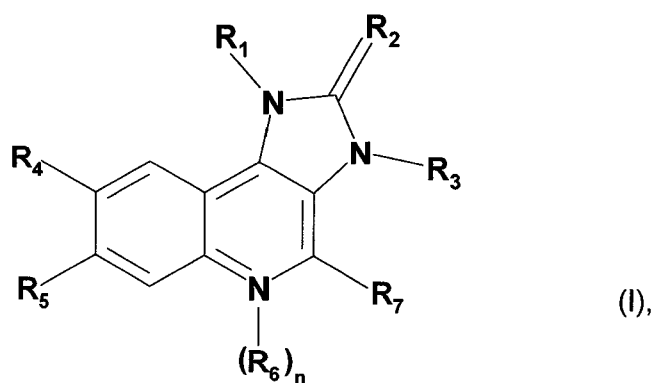
A combination which comprises (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose, will be referred to hereinafter as a COMBINATION OF THE INVENTION.

Surprisingly, it has been discovered that the combination of low amounts (from about 1 nM to about 100 nM or from about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or from about 3 to about 315 mg/person) of the compound of formula (I), with low amounts (from 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject) of at least one allosteric mTOR inhibitor compound, such as everolimus, results in unexpected improvement in the treatment of proliferative diseases, particularly mTOR kinase dependent proliferative diseases. When administered simultaneously, sequentially or separately, the compound of formula (I) and the allosteric mTOR inhibitor compound interact in a synergistic manner to inhibit the phosphorylation of 4EBP1 and cell proliferation. This unexpected synergistic interaction allows a reduction in the dose required of each compound, leading to a reduction in the side effects and enhancement of the clinical effectiveness of the compounds and treatment. The foregoing COMBINATION OF THE INVENTION is capable of enhancing the inhibition of proliferation of cancer cells to the range where, as a single agent, only high doses (from about 250 nM to about 1000 nM, or from about 2.4×10^{-5} to 9.5×10^{-5} Mole/kg, or about 784 to 3136 mg/subject) of the compound of formula (I) can only achieve.

Determining a synergistic interaction between one or more components, the optimum range for the effect and absolute dose amounts of each component for the effect may be definitively measured by administration of the components over different w/w ratio ranges and doses to patients in need of treatment. For humans, the complexity and cost of carrying out clinical studies on patients renders impractical the use of this form of testing as a

primary model for synergy. However, the observation of synergy in one species can be predictive of the effect in other species and animal models exist, as described herein, to measure a synergistic effect and the results of such studies can also be used to predict effective dose and plasma concentration ratio ranges and the absolute doses and plasma concentrations required in other species by the application of pharmacokinetic/ pharmacodynamic methods. Established correlations between tumor models and effects seen in man suggest that synergy in animals may, e.g., be demonstrated in the NCI-H23 human non-small cell lung cancer tumor model, the MFE 296 human endometrial cancer cell model (which carries both PIK3CA and PTEN mutations) and AN3CA endometrial cancer cell model, the KMS11 and RPMI 8226 myeloma cancer cell model, and GA-10 non-Hodgkin's B cell lymphoma cancer cell model as described in the Examples below.

The COMBINATION OF THE INVENTION includes a catalytic PI3K/mTOR inhibitor. Catalytic PI3K/ mTOR inhibitor compounds suitable for the present invention include compounds of formula (I)



wherein

R₁ is naphthyl or phenyl wherein said phenyl is substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of Halogen; lower alkyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, imidazolyl or triazolyl; cycloalkyl; amino substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkoxy and lower alkoxy lower alkylamino; piperazinyl unsubstituted or substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl and lower alkyl sulfonyl; 2-oxo-pyrrolidinyl; lower alkoxy lower alkyl; imidazolyl;

pyrazolyl; and triazolyl;

R₂ is O or S;

R₃ is lower alkyl;

R₄ is pyridyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, lower alkyl, lower alkoxy or piperazinyl unsubstituted or substituted by lower alkyl; pyrimidinyl unsubstituted or substituted by lower alkoxy; quinolinyl unsubstituted or substituted by halogen; quinoxalinyl; or phenyl substituted with alkoxy

R₅ is hydrogen or halogen;

n is 0 or 1;

R₆ is oxido;

with the proviso that if n=1, the N-atom bearing the radical R₆ has a positive charge;

R₇ is hydrogen or amino;

or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof. These specific imidazoquinoline derivatives suitable for the present invention, their preparation and suitable pharmaceutical formulations containing the same are described in WO2006/122806, which is hereby incorporated by reference hereto in its entirety.

The radicals and symbols as used in the definition of a compound of formula (I) have the meanings as disclosed in WO2006/122806. The following general definitions shall apply in this specification, unless otherwise specified:

"Lower" shall refer to a radical having up to and including a maximum of 7, especially up to and including a maximum of 4 carbon atoms, the radicals in question being either linear or branched with single or multiple branching.

In a preferred embodiment, alkyl has up to a maximum of 12 carbon atoms and is especially lower alkyl.

"Lower alkyl" is preferably alkyl with from and including 1 up to and including 7, preferably from and including 1 to and including 4, and is linear or branched; preferably, lower alkyl is butyl, such as n-butyl, sec-butyl, isobutyl, tert-butyl, propyl, such as n-propyl or isopropyl, ethyl or preferably methyl.

"Cycloalkyl" is preferably cycloalkyl with from and including 3 up to and including 6 carbon atoms in the ring; cycloalkyl is preferably cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl or cyclohexyl.

"Alkyl" which is substituted by halogen is preferably perfluoro alkyl such as trifluoromethyl.

"Halogen" is especially fluorine, chlorine, bromine, or iodine, especially fluorine, chlorine, or bromine.

Salts of the compounds of formula (I) may be used in accordance with the present invention. Such salts are formed, for example, as acid addition salts, preferably with organic or inorganic acids, from compounds of formula (I) with a basic nitrogen atom, especially the pharmaceutically acceptable salts. Suitable inorganic acids are, for example, halogen acids, such as hydrochloric acid, sulfuric acid, or phosphoric acid. Suitable organic acids are, for example, carboxylic, phosphonic, sulfonic or sulfamic acids, for example acetic acid, propionic acid, octanoic acid, decanoic acid, dodecanoic acid, glycolic acid, lactic acid, fumaric acid, succinic acid, malonic acid, adipic acid, pimelic acid, suberic acid, azelaic acid, malic acid, tartaric acid, citric acid, amino acids, such as glutamic acid or aspartic acid, maleic acid, hydroxymaleic acid, methylmaleic acid, cyclohexanecarboxylic acid, adamantanecarboxylic acid, benzoic acid, salicylic acid, 4-aminosalicylic acid, phthalic acid, phenylacetic acid, mandelic acid, cinnamic acid, methane- or ethane-sulfonic acid, 2-hydroxyethanesulfonic acid, ethane-1,2-disulfonic acid, benzenesulfonic acid, 4-toluenesulfonic acid, 2-naphthalenesulfonic acid, 1,5-naphthalene-disulfonic acid, 2- or 3-methylbenzenesulfonic acid, methylsulfuric acid, ethylsulfuric acid, dodecylsulfuric acid, N-cyclohexylsulfamic acid, N-methyl-, N-ethyl- or N-propyl-sulfamic acid, or other organic protonic acids, such as ascorbic acid.

A preferred compound of the present invention is a compound - described in WO2006/122806 - chosen from the group consisting of;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-pyridin-4-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-{4-[8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl}-2-methyl-propionitrile;

2-{4-[8-(5-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl}-2-methyl-propionitrile;

2-Methyl-2-{4-[3-methyl-2-oxo-8-(6-piperazin-1-yl-pyridin-3-yl)-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl}-propionitrile;

2-Methyl-2-(4-{3-methyl-8-[2-(4-methyl-piperazin-1-yl)-pyridin-4-yl]-2-oxo-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl}-phenyl)-propionitrile;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-{4-[8-(2-Fluoro-quinolin-3-yl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl}-2-methyl-propionitrile;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-6-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-5-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinoxalin-6-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-Ethyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-butyronitrile;

2-Ethyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-butyronitrile;

1-[3-Fluoro-4-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Fluoro-4-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-[4-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-phenyl]-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-[4-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-phenyl]-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-{4-[Bis-(2-methoxy-ethyl)-amino]-3-fluoro-phenyl}-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-{4-[Bis-(2-methoxy-ethyl)-amino]-3-fluoro-phenyl}-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-{4-[Bis-(2-methoxy-ethyl)-amino]-phenyl}-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-{4-[Bis-(2-methoxy-ethyl)-amino]-phenyl}-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-naphthalen-2-yl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-naphthalen-2-yl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(2-Chloro-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(2-Chloro-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-pyridin-3-yl-1-o-tolyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-quinolin-3-yl-1-o-tolyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(2-Ethyl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(2-Ethyl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-pyridin-3-yl-1-(2-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-quinolin-3-yl-1-(2-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Fluoro-2-methyl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Fluoro-2-methyl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(2-Chloro-4-fluoro-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(2-Chloro-4-fluoro-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-pyridin-3-yl-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-quinolin-3-yl-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Methoxymethyl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Methoxymethyl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[2-Chloro-4-(2-methoxy-ethyl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[2-Chloro-4-(2-methoxy-ethyl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[4-(2-Methoxy-ethyl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[4-(2-Methoxy-ethyl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-5-oxy-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-5-oxy-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-[4-(7-Fluoro-3-methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-2-methyl-propionitrile;

2-[4-(7-Fluoro-3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-2-methyl-propionitrile;

N-Methyl-N-[4-(3-methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-methanesulfonamide;

Methyl-[4-(3-methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-carbamic acid tert-butyl ester;

Ethanesulfonic acid methyl-[4-(3-methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-amide;

Ethanesulfonic acid methyl-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-amide;

N-Ethyl-N-[4-(3-methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-methanesulfonamide;

N-Ethyl-N-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-methanesulfonamide;

2-[4-(3-Ethyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-2-methyl-propionitrile;

1-[3-Fluoro-4-(4-methanesulfonyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Fluoro-4-(4-methanesulfonyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Fluoro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Fluoro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-[4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-[4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[2-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[2-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Imidazol-1-yl-2-methyl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Imidazol-1-yl-2-methyl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-(4-pyrazol-1-yl-phenyl)-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-(4-pyrazol-1-yl-phenyl)-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-quinolin-3-yl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-pyridin-3-yl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-[4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-[4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-8-(5-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-[4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(5-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-[4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[2-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[2-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-(5-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-quinoxalin-6-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(5-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-quinoxalin-6-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(*cis*-3,5-dimethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(*cis*-3,5-dimethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-ethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-ethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-isopropyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[4-(4-Ethyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[4-(4-Ethyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[4-(4-Ethyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[4-(4-Ethyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-(6-piperazin-1-yl-pyridin-3-yl)-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-imidazol-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-imidazol-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

2-Methyl-2-[4-(3-methyl-8-quinolin-3-yl-2-thioxo-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile;

2-Methyl-2-{4-[3-methyl-8-(2-methyl-pyridin-4-yl)-2-oxo-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl}-propionitrile;

5-{1-[4-(Cyano-dimethyl-methyl)-phenyl]-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-yl}-pyridine-2-carbonitrile;

2-[4-(4-Amino-3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-2-methyl-propionitrile;

1-[4-(3-Methyl-2-oxo-8-pyridin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-cyclopropanecarbonitrile;

1-[4-(3-Methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-cyclopropanecarbonitrile;

1-{4-[8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl}-cyclopropanecarbonitrile;

1-[3-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-(5-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-[3-Chloro-4-(4-methyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-3-methyl-8-quinoxalin-6-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-8-(2-methoxy-pyrimidin-5-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-pyrimidin-5-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-8-(2-methoxy-pyrimidin-5-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-pyrimidin-5-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

- 1-(3-Chloro-4-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-(2-methyl-pyridin-4-yl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 1-[3-Chloro-4-(*cis*-3,5-dimethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 1-[3-Chloro-4-(*cis*-3,5-dimethyl-piperazin-1-yl)-phenyl]-8-(5-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 1-[4-(*cis*-3,5-Dimethyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 1-[4-(*cis*-3,5-Dimethyl-piperazin-1-yl)-3-trifluoromethyl-phenyl]-8-(5-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 8-(2-Methoxy-pyrimidin-5-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 3-Methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-pyrimidin-5-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 5-[3-Methyl-2-oxo-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-yl]-pyridine-2-carbonitrile;
- 3-Methyl-8-(2-methyl-pyridin-4-yl)-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 8-(3,4-Dimethoxy-phenyl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 3-Methyl-8-pyridin-3-yl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 3-Methyl-8-quinolin-3-yl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 8-(5-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;
- 5-[3-Methyl-2-oxo-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-yl]-pyridine-2-carbonitrile;

8-(6-Fluoro-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(2,6-Dimethoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-pyrimidin-5-yl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(2-Methoxy-pyrimidin-5-yl)-3-methyl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(2,4-Dimethoxy-pyrimidin-5-yl)-3-methyl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-(4-pyrazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-1-(4-pyrazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-pyrazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

8-(5-Methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-pyrazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-[1,2,4]triazol-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(3-Chloro-4-[1,2,4]triazol-1-yl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Imidazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Imidazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Imidazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Imidazol-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-8-(5-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-pyridin-3-yl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-ylmethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

3-Methyl-8-quinolin-3-yl-1-(4-[1,2,4]triazol-1-ylmethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

1-(4-Imidazol-1-ylmethyl-phenyl)-3-methyl-8-pyridin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one; and

1-(4-Imidazol-1-ylmethyl-phenyl)-3-methyl-8-quinolin-3-yl-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one;

or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof.

A very preferred compound of formula (I) of the present invention is 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile (referred to as "Compound A" herein) and its monotosylate salt. The synthesis of 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile and its monotosylate salt are for instance respectively described in WO2006/122806 as Example 7 and 152-3.

Another very preferred compound of formula (I) of the present invention is 8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one (referred to as "Compound B" herein). The synthesis of 8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one is for instance described in WO2006/122806 as Example 86.

In each embodiment described herein, the COMBINATION OF THE INVENTION comprises an amount of the compound of formula (I), or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, preferably Compound A, that is ranging from either about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose for the treatment of a proliferative disease, more specifically a mTOR kinase dependent proliferative disease. The COMBINATION OF THE INVENTION may include an amount of the compound of formula (I) that is ranging from about 10 to 315 mg/ subject, 100 to 315 mg/subject, or 200 to 315 mg/subject per daily dose.

Accordingly, the dose amount of the compound of formula (I), or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, preferably Compound A, in a subject in need thereof corresponds to a dose amount of about 1 nM to about 100 nM per daily dose, from about 5 nM to about 78 nM per daily dose, from about 8 nM to about 62 nM per daily dose, or from about 16 nM to about 50 nM per daily dose.

In one embodiment, the amount of the compound of formula (I), or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, preferably Compound A, can be from about 9.5×10^{-8} Mole/kg to about 9.5×10^{-6} Mole/kg, from about 4.8×10^{-7} Mole/kg to about 7.4×10^{-6} Mole/kg, from about 7.6×10^{-7} Mole/kg to about 5.9×10^{-6} Mole/kg, or from about 1.5×10^{-6} Mole/kg to about 4.7×10^{-6} Mole/kg per daily dose.

In an alternate embodiment, the dose amount of the compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, preferably Compound A, for a subject in need thereof can be from about 3 mg/ subject to about 315 mg/ subject per daily dose, from about 15 mg/ subject to about 245 mg/ subject per daily dose, from about 25 mg/ subject to about 195 mg/ subject per daily dose, or from about 50 mg/ subject to about 157 mg/ subject per daily dose. The subject in need thereof is preferably a human.

In an alternate embodiment, the dose amount of the compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, preferably Compound A, for a subject in need thereof, wherein the subject is estimated to be approximately 70 kg, can be from about 10 to 315 mg/ subject, 100 to 315 mg/subject, or 200 to 315 mg/subject per daily dose.

The COMBINATION OF THE INVENTION includes compounds which target, decrease or inhibit the activity/function of the mTOR kinase through binding to the allosteric binding site of the mTORC1 complex. Such compounds will be referred to as "allosteric mTOR inhibitor compounds". Suitable allosteric mTOR inhibitors include e.g.:

I. Rapamycin which is an immunosuppressive lactam macrolide that is produced by Streptomyces hygroscopicus.

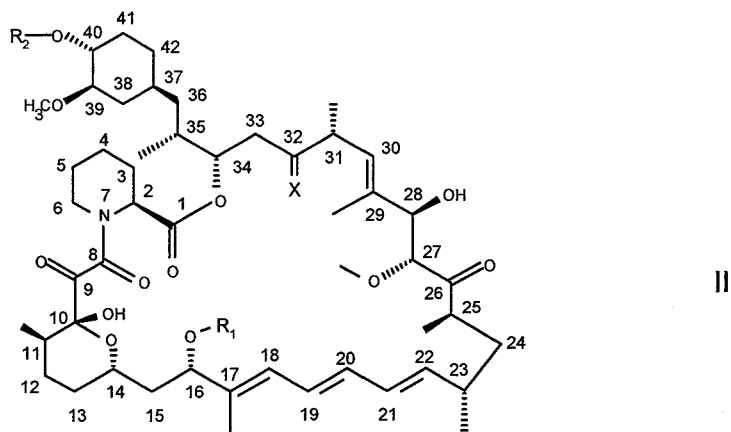
II. Rapamycin derivatives such as:

a. substituted rapamycin e.g. a 40-O-substituted rapamycin e.g. as described in US 5,258,389, WO 94/09010, WO 92/05179, US 5,118,677, US 5,118,678, US 5,100,883, US 5,151,413, US 5,120,842, WO 93/11130, WO 94/02136, WO 94/02485 and WO 95/14023 all of which are incorporated herein by reference;

b. a 16-O-substituted rapamycin e.g. as disclosed in WO 94/02136, WO 95/16691 and WO 96/41807, the contents of which are incorporated herein by reference;

c. a 32-hydrogenated rapamycin e.g. as described in WO 96/41807 and US 5,256,790, incorporated herein by reference.

d. Preferred rapamycin derivatives are compounds of formula (II)



wherein

R₁ is CH₃ or C₃₋₆alkynyl,

R₂ is H or -CH₂-CH₂-OH, 3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-propanoyl or tetrazolyl, and X is =O, (H,H) or (H,OH)

provided that R₂ is other than H when X is =O and R₁ is CH₃, or a prodrug thereof when R₂ is -CH₂-CH₂-OH, e.g. a physiologically hydrolysable ether thereof.

Compounds of formula (II) are disclosed e.g. in WO 94/09010, WO 95/16691 or WO 96/41807, which are incorporated herein by reference. They may be prepared as disclosed or by analogy to the procedures described in these references.

Preferred compounds are 32-deoxorapamycin, 16-pent-2-ynyloxy-32-deoxorapamycin, 16-pent-2-ynyloxy-32(S)-dihydro-rapamycin, 16-pent-2-ynyloxy-32(S)-dihydro-40-O-(2-hydroxyethyl)-rapamycin and, more preferably, 40-O-(2-hydroxyethyl)-rapamycin, disclosed as Example 8 in WO 94/09010.

Particularly preferred rapamycin derivatives of formula (II) are 40-O-(2-hydroxyethyl)-rapamycin, 40-[3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2-methylpropanoate]-rapamycin (also called CCI779), 40-epi-(tetrazolyl)-rapamycin (also called ABT578), 32-deoxorapamycin, 16-pent-2-ynyloxy-32(S)-dihydro rapamycin, or TAFA-93.

e. Rapamycin derivatives also include so-called rapalogs, e.g. as disclosed in WO 98/02441 and WO 01/14387, e.g. AP23573, AP23464, or AP23841.

Rapamycin and derivatives thereof have, on the basis of observed activity, e.g. binding to macrophilin-12 (also known as FK-506 binding protein or FKBP-12), e.g. as described in WO 94/09010, WO 95/16691 or WO 96/41807, been found to be useful e.g. as immuno-suppressant, e.g. in the treatment of acute allograft rejection.

III. Ascomycin, which is an ethyl analog of FK506.

IV. AZD08055 and OSI127, which are compounds that inhibit the kinase activity of mTOR by directly binding to the ATP-binding cleft of the enzyme

In one embodiment of the present invention, the COMBINATION OF THE INVENTION comprises at least one allosteric mTOR inhibitor compound selected from the group consisting of Sirolimus (rapamycin, AY-22989, Wyeth), Everolimus (RAD001, Novartis), 40-[3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2-methylpropanoate]-rapamycin (also called Temsirolimus or CCI-779, Wyeth), Deferolimus (AP-23573/MK-8669, Ariad/Merck & Co) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In the preferred embodiment of the present invention, the COMBINATION OF THE INVENTION is comprised of the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus. Everolimus (referred to as "RAD001" or "PKF-222-6666-NX-2" herein), has the chemical name (1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S, 35R)-1,18-dihydroxy-12-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-hydroxyethoxy)-3-methoxycyclohexyl]-1-methylethyl]-19,30-dimethoxy-15,17,21,23,29,35-hexamethyl-11,36-dioxa-4-aza-tricyclo[30.3.1.0^{4,9}]hexatriaconta-16,24, 26,28-tetraene-2,3,10,14,20-pentaone or 40-O-(2-hydroxyethyl)-rapamycin. Everolimus and analogues are described in U.S. Patent No. 5,665,772, at column 1, line 39 to column 3, line 1, which are incorporated herein by reference hereto in its entirety. Everolimus may be prepared as disclosed or by analogy to the procedures described in this reference.

The structure of the active agents identified by code nos., generic or trade names may be taken from the actual edition of the standard compendium "The Merck Index" or from databases, e.g. Patents International (e.g. IMS World Publications). The corresponding content thereof is hereby incorporated by reference.

Comprised are likewise the pharmaceutically acceptable salts thereof, the corresponding racemates, diastereoisomers, enantiomers, tautomers, as well as the corresponding crystal modifications of above disclosed compounds where present, e.g. solvates, hydrates and polymorphs, which are disclosed therein. The compounds used as active ingredients in the combinations of the invention can be prepared and administered as described in the cited documents, respectively. Also within the scope of this invention is the combination of more than two separate active ingredients as set forth above, i.e., a pharmaceutical combination within the scope of this invention could include three active ingredients or more.

It has been surprisingly discovered that unexpected synergistic interaction is achieved between compounds of formula (I) and allosteric mTOR inhibitors, particularly RAD001, when low dose amounts of the compounds of formula (I) are combined with allosteric mTOR inhibitors. The COMBINATION OF THE INVENTION may comprise a dose amount of everolimus (RAD001) comprising less than or equal to 10 mg/subject (e.g., 8 mg/ subject, 5 mg/subject, 2.5 mg/subject, 1 mg/subject) per daily dose.

The COMBINATION OF THE INVENTION may comprises an dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound, particularly everolimus (RAD001), that is from about 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject per daily dose for the treatment of a proliferative disease.

Accordingly, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound, particularly everolimus (RAD001), administered to a subject in need thereof corresponds to a dose amount of 0.001 nM to about 17.8 nM per daily dose, from about 0.001 nM to about 10nM per daily dose, or from about 0.001 nM to about 1 nM per daily dose. Most preferably, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound is about 0.001 nM to about 1 nM per daily dose.

In one embodiment, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound, particularly everolimus (RAD001), can be from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg per daily dose, from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 8.5×10^{-8} Mole/kg per daily dose, or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 8.5×10^{-9} Mole/kg per daily dose. Most preferably, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound is from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 8.5×10^{-9} per daily dose.

In an alternate embodiment, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound, particularly everolimus (RAD001), administered to a subject in need thereof, can be from about 0.00056 mg/ subject to about 10 mg/ subject per daily dose, from about 0.00056 mg/ subject to about 5.6 mg/ subject per daily dose, or from about 0.00056 mg/ subject to about 0.56 mg/ subject per daily dose. Most preferably, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound is from about 0.00056 mg/ subject to about 0.56 mg/ subject per daily dose. The subject in need thereof is preferably a human.

In a preferred embodiment, the COMBINATION OF THE INVENTION pertains to a pharmaceutical combination which comprises (a) Compound A or its monotosylate salt and (b) the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001), wherein Compound A is provided in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose for the treatment of an mTOR kinase dependent proliferative disease. In a further embodiment, the allosteric mTOR inhibitor compound is provided in a therapeutically effect amount from about 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject per daily dose.

In a further embodiment, the dose amount of Compound A corresponds to a dose amount of about 1 nM to about 100 nM per daily dose, from about 5 nM to about 78 nM per daily dose, from about 8 nM to about 62 nM per daily dose, or from about 16 nM to about 50 nM per daily dose.

In a further embodiment, the dose amount of Compound A can be from about 9.5×10^{-8} Mole/kg to about 9.5×10^{-6} Mole/kg, from about 4.8×10^{-7} Mole/kg to about 7.4×10^{-6} Mole/kg, from about 7.6×10^{-7} Mole/kg to about 5.9×10^{-6} Mole/kg, or from about 1.5×10^{-6} Mole/kg to about 4.7×10^{-6} Mole/kg per daily dose.

In an alternate embodiment, the dose amount of Compound A can be from about 3 mg/ subject to about 315 mg/ subject per daily dose, from about 15 mg/ subject to about 245 mg/ subject per daily dose, from about 25 mg/ subject to about 195 mg/ subject per daily dose, or from about 50 mg/ subject to about 157 mg/ subject per daily dose. The subject in need thereof is preferably a human.

In an alternate embodiment, the dose amount of Compound A can be from about 10 to 315 mg/ subject, 100 to 315 mg/subject, or 200 to 315 mg/subject per daily dose.

In a further embodiment, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001) administered to a subject in need thereof corresponds to a dose amount of about 0.001 nM to about 17.8 nM per daily dose, from about 0.001 nM to about 10nM per daily dose, or from about 0.001 nM to about 1 nM per daily dose. Most preferably, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound is about 0.001 nM to about 1 nM per daily dose.

In one embodiment, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001) can be from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg per daily dose, from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 8.5×10^{-8} Mole/kg per daily dose, or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 8.5×10^{-9} Mole/kg per daily dose. Most preferably, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound is from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 8.5×10^{-9} per daily dose.

In an alternate embodiment, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound everolimus (RAD001) in a subject in need thereof, wherein the subject is estimated to be approximately 70 kg, can be from about 0.00056 mg/ subject to about 10 mg/ subject per daily dose, from about 0.00056 mg/ subject to about 5.6 mg/ subject per daily dose, or from about 0.00056 mg/ subject to about 0.56 mg/ subject per daily dose. Most preferably, the dose amount of the allosteric mTOR inhibitor compound is from about 0.00056 mg/ subject to about 0.56 mg/ subject per daily dose. The subject in need thereof is preferably a human.

In accordance with the present invention, the COMBINATION OF THE INVENTION may be used for the treatment of a proliferative disease, particularly an mTOR kinase dependent proliferative disease.

"mTOR kinase dependent proliferative diseases" include, but not restricted to, proliferative diseases, including cancers and other related malignancies, associated with pathological mTOR signaling cascades. A non-limiting list of the cancers associated with pathological mTOR signaling cascades includes non small cell lung cancer, endometrial cancer, multiple myeloma, non-Hodgkin's B cell lymphoma, colorectal cancer, breast

cancer, renal cell carcinoma, gastric tumors, neuroendocrine tumors, lymphomas and prostate cancer.

Preferred mTOR kinase dependent proliferative diseases are breast, glioblastomas, non small cell lung cancer, endometrial cancer, multiple myeloma, and non-Hodgkin's B cell lymphoma.

Further examples of proliferative diseases are for instance benign or malignant tumor, carcinoma of the brain, kidney, liver, adrenal gland, bladder, stomach, ovaries, colon, rectum, pancreas, lung (e.g., non small cell lung cancer), endometrial, non-Hodgkin's B-cell lymphoma, vagina or thyroid, sarcoma, glioblastomas, multiple myeloma or or gastric gastrointestinal cancer, especially colon carcinoma or colorectal adenoma or a tumor of the neck and head, an epidermal hyperproliferation, psoriasis, prostate hyperplasia, neuroendocrine, a neoplasia, a neoplasia of epithelial character, lymphomas, a mammary carcinoma or a leukemia.

In one embodiment, the present invention relates to the use of a pharmaceutical combination which comprises (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier for the treatment or prevention of a proliferative disease, particularly a mTOR kinase dependent proliferative disease, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

In another embodiment, the present invention relates to the use of a pharmaceutical combination which comprises (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier for the manufacture of a medicament for the treatment or prevention of a proliferative disease, particularly a mTOR kinase dependent proliferative disease, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

In another aspect, the present invention provides a method of treating or preventing a proliferative disease comprising administering (a) a therapeutically effective amount of a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) a therapeutically effective amount of at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier to a subject in need thereof, wherein the compound of formula (I) is administered in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

In another aspect the present invention provides a combination comprising (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound selected from the group consisting of RAD rapamycin (sirolimus) and derivatives/analogs thereof such as everolimus (or RAD001); CCI-779 and Deferolimus (AP-23573/MK-8669) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose for simultaneous, separate or sequential use, for the treatment of proliferative diseases.

In a further aspect the present invention provides a method for improving efficacy of the treatment of a mTOR kinase dependent proliferative diseases by administering (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier to a subject in need thereof, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

In a further aspect, the present invention provides a pharmaceutical combination for administration to humans comprising (a) a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, as described above, at about 0.31% to about 31%, about 1.6% to about 24.4%, about 2.5% to about 19.4%, or about 5.0% to about 15.6% of the maximal tolerable dose (MTD) and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound thereof at about 0.006% to 100%, about 0.006% to

about 56.3%, about 0.006% to about 5.6% of the MTD. In a preferred embodiment, the compound of formula (I) is Compound A which is dosed at about 30% of the MTD and the allosteric mTOR inhibitor compound is dosed at about 5.6% of the MTD. In the most preferred embodiment, the compound of formula (I) is Compound A which is dosed at about 30% of the MTD and the allosteric mTOR inhibitor compound is everolimus (RAD001) dosed at 5.6% of the MTD. The MTD corresponds to the highest dose of a medicine that can be given without unacceptable side effects. It is within the art to determine the MTD. For instance the MTD can suitably be determined in a Phase I study including a dose escalation to characterize dose limiting toxicities and determination of biologically active tolerated dose level.

In one aspect of the invention, the present invention pertains to a pharmaceutical combination, such as a combined preparation or a pharmaceutical composition, comprising (a) a compound of formula (I), and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier for simultaneous, separate or sequential use, in particular for the treatment of an mammalian target of rapamycin (mTOR) kinase dependent proliferative diseases, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

In a preferred embodiment, the compound of formula (I) is 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile (Compound A) or its monotosylate salt.

In a further embodiment, the compound of formula (I) is 8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one (Compound B).

In a further embodiment of the present invention, the allosteric mTOR inhibitor compound is selected from the group consisting of RAD rapamycin (sirolimus) and derivatives/analogues thereof such as everolimus (or RAD001); CCI-779 and Deferolimus (AP-23573/MK-8669) or a pharmaceutically acceptable salt thereof. Particularly preferred allosteric mTOR inhibitor compounds in accordance with the present invention is everolimus.

In a preferred embodiment of the present invention, the compound of formula (I) is 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl)-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile (Compound A) or its monotosylate salt and the allosteric mTOR inhibitor compound is everolimus (RAD001).

The pharmaceutical compositions or combination in accordance with the present invention can be tested in clinical studies. Suitable clinical studies may be, for example, open label, dose escalation studies in patients with proliferative diseases. Such studies prove in particular the synergism of the active ingredients of the COMBINATION OF THE INVENTION. The beneficial effects, e.g., synergy, on proliferative diseases may be determined directly through the results of these studies which are known as such to a person skilled in the art. Such studies may be, in particular, suitable to compare the effects of a monotherapy using the active ingredients and a COMBINATION OF THE INVENTION. Each patient may receive doses of the agent (a) either daily or intermittent. The efficacy of the treatment may be determined in such studies, e.g., after 12, 18 or 24 weeks by evaluation of symptom scores every 6 weeks.

The administration of a pharmaceutical COMBINATION OF THE INVENTION may result not only in a beneficial effect, e.g. a synergistic therapeutic effect, e.g. with regard to alleviating, delaying progression of or inhibiting the symptoms, but also in further surprising beneficial effects, e.g. fewer side-effects, an improved quality of life or a decreased morbidity, compared with a monotherapy applying only one of the pharmaceutically active ingredients used in the COMBINATION OF THE INVENTION.

It is one objective of this invention to provide a pharmaceutical composition comprising a quantity, which may be jointly therapeutically effective at targeting or preventing mTOR kinase dependent proliferative diseases, of a COMBINATION OF THE INVENTION. In this composition, agent (a) and agent (b) may be administered together, one after the other or separately in one combined unit dosage form or in two separate unit dosage forms. The unit dosage form may also be a fixed combination.

The pharmaceutical compositions for separate administration of combination partner (a) and combination partner (b) or for the administration in a fixed combination, i.e. a single galenical composition comprising at least two combination partners (a) and (b), according to the invention may be prepared in a manner known per se and are those suitable for enteral, such as oral or rectal, and parenteral administration to mammals (warm-blooded animals), including humans, comprising an amount of at least one pharmacologically active

combination partner alone, e.g. as indicated above, or in combination with one or more pharmaceutically acceptable carriers or diluents, especially suitable for enteral or parenteral application.

Pharmaceutical preparations for the combination therapy for enteral or parenteral administration are, for example, those in unit dosage forms, such as sugar-coated tablets, tablets, capsules or suppositories, or ampoules. If not indicated otherwise, these are prepared in a manner known per se, for example by means of conventional mixing, granulating, sugar-coating, dissolving or lyophilizing processes. It will be appreciated that the unit content of a combination partner contained in an individual dose of each dosage form need not in itself constitute an effective amount since the necessary effective amount may be reached by administration of a plurality of dosage units.

In preparing the compositions for oral dosage form, any typical pharmaceutical acceptable carriers or excipients may be added to the components of the composition, which can be solid or liquid. Solid form preparations comprise, for example, powders, capsules and tablets. Examples of pharmaceutically acceptable carrier include water, glycols, oils, alcohols, flavoring agents, preservatives, coloring agents; or carriers such as starches, sugars, microcrystalline cellulose, diluents, granulating agents, lubricants, binders, disintegrating agents and the like in the case of oral solid preparations, with the solid oral preparations being preferred over the liquid preparations. Because of their ease of administration, tablets and capsules represent the most advantageous oral dosage unit form in which case solid pharmaceutical carriers are obviously employed. Pharmaceutical compositions comprising a catalytic PI3K/ mTOR inhibitor compound of formula (I) and most preferably Compound A, in association with at least one pharmaceutically acceptable carrier may be manufactured in a conventional manner by mixing with a pharmaceutically acceptable carrier.

Liquid form preparations comprise solutions, suspensions, and emulsions. Liquid compositions can be formulated in solution by dissolving the active component in water and adding suitable colorants, flavoring agents, stabilizers, and thickening agents as desired. Aqueous suspensions for oral use can be made by dispersing the finely divided active component in water together with a viscous material such as natural synthetic gums, resins, methyl cellulose, and other suspending agents known to the pharmaceutical formulation art.

In particular, any amount of each of the combination partner of the COMBINATION OF THE INVENTION may be administered simultaneously or sequentially and in any order,

and the components may be administered separately or as a fixed combination. For example, the method of preventing or treating a mTOR kinase dependent proliferative disease according to the invention may comprise (i) administration of the combination partner (a) in free or pharmaceutically acceptable salt form and (ii) administration of a combination partner (b) in free or pharmaceutically acceptable salt form, simultaneously or sequentially in any order, in jointly amounts, preferably in synergistically effective amounts, e.g. in daily or intermittently dosages corresponding to the amounts described herein. The individual combination partners of the COMBINATION OF THE INVENTION may be administered separately at different times during the course of therapy or concurrently in divided or single combination forms. Furthermore, the term "administering" also encompasses the use of a pro-drug of a combination partner that convert in vivo to the combination partner as such. The instant invention is therefore to be understood as embracing all such regimens of simultaneous or alternating treatment and the term "administering" is to be interpreted accordingly. Further the term "daily dose" encompasses the amount of the individual combination partners of the COMBINATION OF THE INVENTION, as separately at different times during the course of therapy or concurrently in divided or single dose unit forms, administered that is equal to or equivalent to the amount specified during any 24-hour period.

The effective dosage of each of the combination partners employed in the COMBINATION OF THE INVENTION may vary depending on the particular compound or pharmaceutical composition employed, the mode of administration, the condition being treated, the severity of the condition being treated. Thus, the dosage regimen of the COMBINATION OF THE INVENTION is selected in accordance with a variety of factors including the route of administration and the renal and hepatic function of the patient. A clinician or physician of ordinary skill can readily determine and prescribe the effective amount of the single active ingredients required to alleviate, counter or arrest the progress of the condition. Optimal precision in achieving concentration of the active ingredients within the range that yields efficacy without toxicity requires a regimen based on the kinetics of the active ingredients' availability to target sites.

In another embodiment, the invention pertains to a kit of parts comprising a pharmaceutical composition comprising (a) a compound of formula (I), and (b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound together with instructions how to administer that

pharmaceutical composition, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose. These instructions will explain in detail the dosing regimen how the combination is to be administered.

In one embodiment, the invention pertains to a kit of parts comprising a pharmaceutical composition comprising Compound A and at least one allosteric mTOR inhibitor compound, preferably everolimus (RAD001), together with instructions how to administer that pharmaceutical composition, wherein Compound A is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose. These instructions will explain in detail the dosing regimen how the combination is to be administered.

The present invention further provides a commercial package comprising as active ingredients COMBINATION OF THE INVENTION, together with instructions for simultaneous, separate or sequential use thereof in the delay of progression or treatment of a mTOR kinase dependent proliferative disease.

The following Examples illustrate the invention described above; they are not, however, intended to limit the scope of the invention in any way. The beneficial effects of the pharmaceutical combination of the present invention can also be determined by other test models known as such to the person skilled in the pertinent art.

Example 1

Material and Methods

The cell lines used in this study were purchased from American Type Cell Collection, including non small cell lung cancer cell line NCI-H23 (which carries both KRAS and LKB1 mutations), endometrial tumor cell lines MFE 296 (which carries both PIK3CA and PTEN mutations) and AN 3CA (which carries both FGFR2 and PTEN mutations), Multiple Myeloma cell lines KMS 11 (which carries FGFR3 mutations) and RPMI 8226, Non-Hodgkin's B cell lymphoma line GA-10. All the cell lines were cultured at 37°C in a 5% CO₂ incubator in

RPMI 1640 (ATCC #30-2001) media complemented with 10% fetal bovine serum, 2 mmol/L glutamine and 1% sodium pyruvate.

Cell Proliferation Assay: Cell viability was determined by measuring cellular ATP content using the CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (Promega #G7573) according to manufacturer's protocol. Briefly, 1500-50000 cells were plated on either 384 or 96 well plates in 30µl (384 well) or 100µl (96 well) growth media, cells were allowed to attach overnight and followed by 72 hrs of incubation with various concentration of drugs or drug combinations (10 µl per well in 384 well plates), at the end of the drug treatment, 30µl of the CellTiter-Glo reagent were added to each well (384 well plates) to lyse the cell, and luminescence signals were recorded on a Envision plate reader.

Automated imaging assay (or High-content assay) for pS6 S240/244 and p4EBP1 T37/46: $2-4 \times 10^3$ cells were seeded in clear-bottom 384-well black plates (Greiner#781091) in 30µl per well growth media 24 hours prior to treatment. Compounds were added to the cell in 10µl growth media and incubated overnight; the cells were then fixed by addition of 10µl per well Mirsky's fixative (National Diagnostics # HS-102) for 1 hour, washed seven times with 30µl/well TBS buffer using a BioTek plate washer, and blocked with 100µl/well blocking buffer (TBS with 0.1% BSA and 0.1% Triton X-100). The anti-Ser 240/244 -RPS6 antibody (CST #4838, 1:150 dilution) or anti-Thr 37/46-p4EBP1 antibody (CST #2855, 1:150 dilution) were then incubated overnight at 4°C. After seven times wash with TBS, the cells were stained with Cy5-conjugated goat-anti-rabbit IgG 2nd antibody (Millipore #AP187S, 1:150 dilution) and DNA staining dye Hoechst 33342 for 1.5 hours. The phospho-S6 and phospho- 4EBP1 signals were imaged using InCell 1000 Analyzer (BN_staining_10x protocol) at 10x magnification, 3 fields per well after seven times wash with TBS. For Hoechst 33342 signal: the excitation and emission wave lengths are 360nm (D360_40x filter) and 460nm (HQ460_40M filter), respectively, and for Cy5, 620nm (HQ620_60x filter) for both the excitation and emission wave lengths. Analysis of the images was done using the InCell Investigator software.

Method for calculating the effect of the Combination: To evaluate the everolimus and Compound A combination effect in a non-bias way and to identify synergistic effect at all possible concentrations, the combination studies were conducted with a "dose matrix", where a combination is tested in all possible permutations of serially-diluted everolimus and Compound A single agent doses, in all combination assays, compounds were applied simultaneously. Single agent dose responding curves, IC₅₀, IC₉₀, and the Synergy are all

analyzed using Chalice software (CombinatoRx, Cambridge MA). Synergy was calculated by comparing a combination's response to those of its single agents, against the drug-with-itself dose-additive reference model. Deviations from dose additivity can be assessed visually on an Isobologram or numerically with a Combination Index. Excess inhibition compare to additivity can also be plotted as a full dose-matrix chart to capture where the synergies occur. To quantify the overall strength of combination effects, a volume score $V_{HSA} = \sum_{X,Y} \ln f_X \ln f_Y (I_{data} - I_{HSA})$ is also calculated between the data and the highest-single-agent surface, normalized for single agent dilution factors f_X, f_Y [ref].

Results:

A. Effect of Combination in NCI-H23 Human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Model

p4EBP1 signal: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on the p4EBP1 signal was evaluated using the high content p4EBP1 T37/46 assay described above. The cells were plated at 3000 cells per well in 384 well plates in quadruplicates, and treated with compound for 18 hrs before the measurement (Figures 1-2). In this "dose matrix" study, everolimus was subjected to a 5 dose 4X serial dilution with the high dose at 1.2 μ M and the low dose at about 5nM, and Compound A was subjected to a 9 dose 2X serial dilution with high dose at 1.2 μ M and low dose at about 5nM. Compound A alone caused a concentration-dependent reduction of p4EBP1 signal (IC_{50} =10 nM, and IC_{90} =80nM), and the signal reduction plateaued at concentrations of 156nM and above where complete inhibition is apparently achieved; everolimus as a single agent, only exerted a very marginal effect on p4EBP1 signals at all concentrations tested (5nM-1.2 μ M, approximately 30% signal reduction). This is consistent with the previous reports that phosphorylation of the 4EBP1 T37/46 residues, which plays a key role in regulating cap-dependent translation, can only be modulated by catalytic mTOR inhibitors, but not allosteric inhibitors like everolimus. Concomitant everolimus/Compound A treatment has markedly enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (5nM-1.2 μ M, or 0.042-10.08nMolar/kg, or 2.82-676.44mg/person) and sub-optimal doses of Compound A (5nM-78nM, or 0.47-7.44nMolar/kg, or 15.68-244.62mg/person), at higher Compound A concentrations (156nM-1.2 μ M, or 14.88-114.50nMolar/kg, or 489.24-3763.44mg/person), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments when the maximum effect has been reached. Based on this pattern, the synergy effect observed can be classified as "dose sparing" for Compound A rather than "overall

effect boosting”: as little as 5nM of everolimus can shift the IC_{90} for Compound A from 80nM to 5nM, achieving a 16 fold reduction.

pS6 S240/244 signal: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on the pS6 signal was evaluated using the high content pS6 S240/244 assay described above. The experiment setup is identical to the p4EBP1 assay used for the NCI-H23 cell model. (Figures 3-4). And the same “dose matrix” (everolimus: 5 dose, 4X, 1.2 μ M to 5nM, Compound A: 9 dose, 2X, 1.2 μ M to 5nM) was applied. Unlike the inhibition on p4EBP1, both Compound A and everolimus as single agents displaced very potent inhibitory effect on pS6 signal: IC_{50} for Compound A is 5nM and IC_{90} about 20nM, while everolimus’s IC_{50} is <5nM and IC_{90} about 10nM. Concomitant everolimus/Compound A treatments did not result in enhanced inhibition especially compare to everolimus single agent treatment.

Cell Proliferation: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated using the cell titer glow (CTG) assay described above. The experiment setup is identical to the p4EBP1 high content assay as used for the NCI-H23 cell model. (Figure 5). And the same “dose matrix” (everolimus: 5 dose, 4X, 1.2 μ M to 5nM, Compound A: 9 dose, 2X, 1.2 μ M to 5nM) was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth with IC_{50} =78 nM, and A_{max} , the maximum fraction of inhibition = 0.7 (70% growth inhibition compare to DMSO control); everolimus only displaced a minor growth inhibitory effect on cell proliferation as a single agent, never achieved an IC_{50} , and A_{max} = 0.3. Concomitant everolimus/Compound A treatment has dramatically enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (5nM-1.2 μ M or 0.042-10.08nMolar/kg, or 2.82-676.44mg/person) and sub-optimal doses of Compound A (5nM-78nM, or 0.47-7.44nMolar/kg, or 15.68-244.62mg/person), at higher Compound A concentrations (156nM-1.2 μ M, or 14.88-114.50nMolar/kg, or 489.24-3763.44mg/person), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. This pattern is highly similar to the synergy pattern of p4EBP1 inhibition: the areas of combination benefit almost overlap with each other, indicating that the synergistic inhibition of p4EBP1 is at least part (if not all) of the underlying mechanism for the observed synergy on growth inhibition. And as discussed above, this combination benefit should be categorized as “dose sparing” for Compound A rather than “overall effect boosting”: as little as 5nM of everolimus can achieve an 8-fold reduction on

IC₅₀ (from 80nM to 10nM), while the combination effects at all doses never exceeded the single dose effect of Compound A at high concentration (1.2μM).

To further investigate the effect of concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation at even lower everolimus and Compound A concentrations (5nM everolimus and Compound A combination already appeared to be highly synergistic as summarized in the cell proliferation results above for the NCI-H23 cancer cell model). Another experiment was conducted to evaluate the combination effect using cell titer glow (CTG) assay, this time, cells were plated in 384 well plates at 1000 cells/well in triplicates, and treated with compound for 72 hours before the measurement (Figure 6). In this extended "dose matrix" study, everolimus was subjected to a 11 dose 4X serial dilution with the highest dose at 1uM and the low dose at about 1pM, and Compound A was subjected to a 9 dose 4X serial dilution with high dose at 1μM and low dose at about 16pM. The single agent activities for both Compound A and everolimus are consistent with what has been observed in the cell proliferation results above for the NCI-H23 cancer cell model: Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth (IC₅₀=80 nM, A_{max}=0.7), and everolimus had only a minor growth inhibitory effect as a single agent (IC₅₀>1μM, and A_{max} = 0.3); however, addition of everolimus to low dose Compound A (1-62nM, or 0.095-5.91nMolar/kg, or 3.14-194.44mg/person) was able to significantly boost Compound A's antiproliferative effect to an extent that is comparable to high dose Compound A (250nM-1μM or 23.85-95.41nMolar/kg, or 784.05-3136.20mg/person), combination at sub-nanomolar amount (16pM-250pM) Compound A or higher dose (250-1μM) of Compound A did not yield any benefit compared to Compound A single agent. The quantity of everolimus needed to achieve the Compound A dose sparing is also astonishingly low, as little as 1pM, or 0.0000084nMolar/kg, or 0.00056mg/person of everolimus appears to be comparable to μM quantity of everolimus in term of achieving similar scale of synergy with Compound A. Suggesting that practically, trace amount of everolimus (sub nanomolar or even picomolar, 1pM to 1nM, or 0.0000084 to 0.0084 nMolar/kg, or 0.00056 to 0.56mg/person) can be added to sub-optimal amount of Compound A (about 1-100nM, or 0.095-9.54nMolar/kg, or 3.14-313.62mg/person) to potentiate Compound A effect on complete inhibition of mTORC1 activity and subsequently, better inhibition on growth inhibition.

B. Effect of Combination in MFE 296 Human Endometrial Cancer Cell Model

p4EBP1 signal: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on the p4EBP1 signal was evaluated using the high content p4EBP1 T37/46 assay described above. The cells were plated at 4000 cells/well in 384 well plates in duplicates, and treated with compound for 18 hrs before the measurement (Figure 7). Similar to the “dose matrix” study performed for the NCI-H23 cancer cell model, in this “dose matrix” study, everolimus was subjected to a 11 dose 4X serial dilution with the high dose at 500nM and the low dose at about 0.25pM, and Compound A was subjected to a 9 dose 4X serial dilution with high dose at 1μM and low dose at about 16pM. Compound A alone caused a concentration-dependent reduction of p4EBP1 signal (IC_{50} =16 nM, and IC_{90} about 100nM), and reached complete inhibition at concentration >250uM; everolimus as a single agent, only exerted a very marginal effect on p4EBP1 signals at all concentrations tested (0.5pM-500nM, approximately 20% signal reduction). Concomitant everolimus/Compound A treatment has markedly enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (0.5pM-500nM, or 0.0000042-4.2nMolar/kg, or 0.00028-281.84mg/person) and sub-optimal doses of Compound A (16pM-62nM, or 0.0015-5.91nMolar/kg, or 0.050-194.44mg/person), the presence of trace amount of everolimus was able to shift the IC_{50} for Compound A from 16nM to 0.24nM and IC_{90} from about 100nM to 4nM. At higher Compound A concentrations (250nM-1μM, or 23.85-95.41nMolar/kg, or 784.05-3136.20mg/person), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. This pattern, which is in total agreement with what has been observed in the NCI-H23 cells described above suggesting that the synergy effect observed can be categorized as “dose sparing” for Compound A without any “overall effect boosting”. Low dose combination of everolimus and Compound A can be used as a highly efficacious mTOR1 inhibition reagent.

Cell Proliferation: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated using the cell titer glow (CTG) assay describe above. The experiment setup is identical to the p4EBP1 assay as described above for the MFE296 cancer cell model. (Figure 8). And the same “dose matrix” (everolimus: 11 dose, 4X, 500nM to 0.5pM, Compound A: 9 dose, 4X, 1μM to 16nM) was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth (IC_{50} =78 nM, A_{max} = 0.79); everolimus as a single agent is slightly less efficacious (A_{max} = 0.6) in this cell line, however, extremely potent (IC_{50} <0.25pM). Concomitant everolimus/Compound A treatment has markedly enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (0.5pM-500nM, or 0.0000042-4.2nMolar/kg, or 0,00028-281.84mg/person) and sub-

optimal doses of Compound A (16pM-62nM, or 0.0015-5.91nMolar/kg, or 0.050-194.44mg/person), at higher Compound A concentrations (250nM-1 μ M, or 23.85-95.41nMolar/kg, or 784.05-3136.20mg/person), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. The synergy pattern here again, suggested that trace amount (picomolar) of everolimus was able to significantly reduce the full effective dose of Compound A (from 250nM to close to sub-nanomolar range).

C. Effect of Combination in AN3 CA Human Endometrial Cancer Cell Model

Cell Proliferation: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated using the cell titer glow (CTG) assay described above. The cells were plated at 1500 cells/well in 384 well plates in quadruplicates, and treated with compound for 72 hrs before the measurement (Figure 9). The following "dose matrix", everolimus: 11 dose, 4X, 500nM to 0.5pM, Compound A: 9 dose, 4X, 1 μ M to 16nM, was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth (IC_{50} =5 nM, A_{max} = 0.69); everolimus as a single agent is not very efficacious (A_{max} = 0.3). Concomitant everolimus/Compound A treatment has dramatically enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (0.5pM-500nM, or 0.0000042-4.2nMolar/kg, or 0,00028-281.84mg/person) and sub-optimal doses of Compound A (16pM-16nM, or 0.0015-1.53nMolar/kg, or 0.050-50.17mg/person), at higher Compound A concentrations (64nM-1 μ M, or 5.92-95.42nMolar/kg, or 194.44-3136.20mg/person), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. The synergy pattern here again, suggested a dose sparing model that trace amount of (picomolar) of everolimus was able to significantly reduce the full effective dose amount of Compound A (from >64nM to close to nanomolar or sub-nanomolar range).

D. Effect of Combination in GA-10 Human Non-Hodgkin's Lymphoma Cancer Cell Model

Cell Proliferation: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated using the cell titer glow (CTG) assay described above. The cells were plated at 50000 cells/well in 96 well plates in triplicate, and treated with compound for 72 hrs prior to the measurement (Figure 10). The following "dose matrix", everolimus: 8 dose, 3X, 500nM to 0.23nM, Compound A: 8 dose, 2X, 1 μ M to 8nM,

was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth, and at high concentration, eliminated almost all surviving cells (IC_{50} about 25 nM, $IC_{90}=250$ nM, $A_{max} = 1$); everolimus as a single agent is not very efficacious ($A_{max} = 0.3$). Concomitant everolimus/Compound A treatment has dramatically enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (0.23nM-500nM, or 0.0019-4.2nMolar/kg, or 0.13-281.84mg/person) and sub-optimal doses of Compound A (8nM-62nM, or 0.76-5.92nMolar/kg, or 25.09-194.44mg/person), shifted the IC_{90} for Compound A from about 300nM to 16nM. At higher Compound A concentrations (250nM-1 μ M, or 23.85-95.41nMolar/kg, or 784.05-3136.20mg/person), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. The synergy pattern here again, suggested a dose sparing model that trace amount of (sub-nanomolar) of everolimus was able to significantly reduce the full effective dose amount of Compound A (from >250nM to 16-62nM).

E. Effect of Combination in KMS-11 Human Multiple Myeloma Cancer Cell Model

Cell Proliferation: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated using the cell titer glow (CTG) assay described above. The cells were plated at 50000 cells/well in 96 well plates in triplicates, and treated with compound for 72 hrs prior to the measurement (Figure 11). The following "dose matrix", everolimus: 8 dose, 3X, 500nM to 0.23nM, Compound A: 8 dose, 2X, 1 μ M to 8nM, was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth, and at high concentration, (IC_{50} about 80nM, $A_{max} = 0.7$); everolimus as a single agent is not very efficacious ($A_{max} = 0.28$). Concomitant everolimus/Compound A treatment has dramatically enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (0.23nM-500nM, or 0.0019-4.2nMolar/kg, or 0.13-281.84mg/person) and sub-optimal doses of Compound A (8nM-62nM, or 0.76-5.92nMolar/kg, or 25.09-194.44mg/person), shifted the IC_{50} for Compound A from about 80nM to 16nM. At higher Compound A concentrations (125nM-1 μ M, or 11.93-95.42nMolar/kg, or 392.03- 3136.20mg/person), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. The synergy pattern here again, suggested a dose sparing model that trace amount of (sub-nanomolar) of everolimus was able to significantly reduce the full effective dose amount of Compound A (from >125nM to 16-62nM).

F. Effect of Combination in RPMI 8226 Human Multiple Myeloma Cancer Cell Model

Cell Proliferation: The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated using the cell titer glow (CTG) assay described above. The cells were plated at 50000 cells/well in 96 well plates in triplicates, and treated with compound for 72 hrs prior to the measurement (Figure 12). The following "dose matrix", everolimus: 8 dose, 3X, 500nM to 0.23nM, Compound A: 8 dose, 2X, 1 μ M to 8nM, was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth, and at high concentration, (IC_{50} about 125nM, A_{max} = 0.7); everolimus as a single agent is not very efficacious (A_{max} = 0.15). Concomitant everolimus/Compound A treatment has dramatically enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (0.23nM-500nM, or 0.0019-4.2nMolar/kg, or 0.13-281.84mg/person) and sub-optimal doses of Compound A (8nM-62nM, or 0.76-5.92nMolar/kg, or 25.09-194.44mg/person), shifted the IC_{50} for Compound A from about 125nM to 16nM. At higher Compound A concentrations (125nM-1 μ M, or 11.93-95.42nMolar/kg, or 392.03- 3136.20mg/subject), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. The synergy pattern here again, suggested a dose sparing model that trace amount of (sub-nanomolar) of everolimus was able to significantly reduce the full effective dose amount of Compound A (from >125nM to 16-62nM).

Summary and Discussion:

The antiproliferative effect of everolimus and Compound A combinations were evaluated in six cell lines from various tissue lineages that carry different genetic alterations, strong synergy was found in all cell lines tested with a similar pattern: everolimus was able to enhance the potency of Compound A by 5-100 fold depends on the cell types and the absolute level of enhancement depends on the differences between the maximum efficacies of Compound A and everolimus. Only trace amounts of everolimus (pM- nM) is needed to synergize with low dose Compound A (nM). Evaluation of the combination effect on p4EBP1 reduction, a key readout for mTORC1 function identified overlapping area of synergy with the antiproliferative analysis, suggesting that the combination benefit is at least partially contributed by the synergistic inhibition of eIF4E regulated cap dependent translation pathway. Clinically, combining a fixed low dose of everolimus with an optimal low dose Compound A to achieve complete inhibition of mTORC1 (super mTORC1 inhibitor) should be a very attractive option. Compared to using Compound A as a single agent at high dose to achieve the same goal, such combination will provide the same extent of mTORC1 inhibition while avoiding the potential drug bio-availability issue of Compound A and possible off-target toxicity that might be associated with Compound A high dose .

Example 2

The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated in SK-BR3 Human Breast Cancer cells using the cell titer glow (CTG) assay described above. The cells were plated at 2000 cells/well in 96 well plates in triplicates, and treated with compound for 72 hrs prior to the measurement. The following dose matrix, everolimus: 8 dose, 2X, 2000nM to 15nM, Compound A: 8 dose, 2X, 2 μ M to 15nM, was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth, and at high concentration, (IC_{50} about 31nM, A_{max} = 0.67); everolimus as a single agent is also efficacious (A_{max} = 0.50, IC_{50} < 15nM). Concomitant everolimus/Compound A treatment enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (15nM-2 μ M) and sub-optimal doses of Compound A (15nM-60nM), shifted the IC_{50} for Compound A from about 31nM to as low as <15nM. At higher Compound A concentrations (120nM-2 μ M), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. The synergy pattern here again, suggests a dose sparing model that low dose everolimus is able to significantly reduce the full effective dose range of Compound A (from 120nM to <15nM).

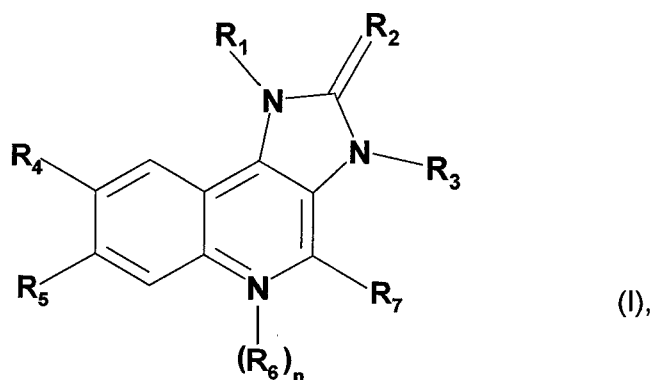
Example 3

The effect of single agent and concomitant everolimus/Compound A treatment on cell proliferation was evaluated in MDA-MB-361 Human Breast Cancer cells using the cell titer glow (CTG) assay described above. The cells were plated at 2000 cells/well in 96 well plates in triplicates, and treated with compound for 72 hrs prior to the measurement. The following "dose matrix", everolimus: 8 dose, 2X, 2000nM to 15nM, Compound A: 8 dose, 2X, 2 μ M to 15nM, was applied. Compound A alone caused a concentration-dependent inhibition of cell growth, and at high concentration, (IC_{50} about 60nM, A_{max} = 0.81); everolimus as a single agent is not highly efficacious (A_{max} < 0.50). Concomitant everolimus/Compound A treatment enhanced the inhibitory effect compared to both everolimus at all doses (15nM-2 μ M) and sub-optimal doses of Compound A (15nM-60nM), shifted the IC_{50} for Compound A from about 60nM to as low as <15nM. At higher Compound A concentrations (120nM-2 μ M), the combination did not exhibit any additional benefit compare to Compound A single agent treatments. The synergy pattern here again, suggested a dose sparing model that low dose everolimus was able to significantly reduce the full effective dose range of Compound A (from 120nM to <15nM).

Claims:

1. A pharmaceutical combination comprising:

a) a compound of formula (I)



wherein

R₁ is naphthyl or phenyl wherein said phenyl is substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of Halogen; lower alkyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, imidazolyl or triazolyl; cycloalkyl; amino substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkoxy and lower alkoxy lower alkylamino; piperazinyl unsubstituted or substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl and lower alkyl sulfonyl; 2-oxo-pyrrolidinyl; lower alkoxy lower alkyl; imidazolyl; pyrazolyl; and triazolyl;

R₂ is O or S;

R₃ is lower alkyl;

R₄ is pyridyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, lower alkyl, lower alkoxy or piperazinyl unsubstituted or substituted by lower alkyl; pyrimidinyl unsubstituted or substituted by lower alkoxy; quinolinyl unsubstituted or substituted by halogen; quinoxalinyl; or phenyl substituted with alkoxy

R₅ is hydrogen or halogen;

n is 0 or 1;

R₆ is oxido;

with the proviso that if n=1, the N-atom bearing the radical R₆ has a positive charge;

R₇ is hydrogen or amino;

or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and

b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound, and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier, for use in the treatment of a proliferative disease, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

2. A pharmaceutical combination of claim 1 wherein the compound of formula (I) is 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl)-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl]-propionitrile (Compound A) and its monotosylate salt.

3. A pharmaceutical combination of claim 1 wherein the compound of formula (I) is 8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one (Compound B).

4. A pharmaceutical combination according to any one of claims 1 to 3 wherein the allosteric mTOR inhibitor compound is selected from RAD rapamycin (sirolimus) and derivatives/analogues thereof such as everolimus (or RAD001); CCI-779 and Deferolimus (AP-23573/MK-8669).

5. A pharmaceutical combination of claim 4, wherein the allosteric mTOR inhibitor compound is everolimus (RAD001) which is administered to a subject in need thereof in an amount between administered from about 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-8}

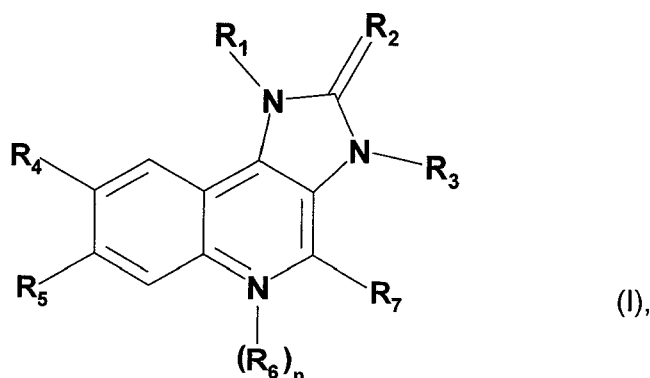
¹² Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject per daily dose.

6. A pharmaceutical combination of claim 1, wherein the proliferative disease is an mTOR kinase dependent proliferative disease.

7. A pharmaceutical combination of claim 1, wherein the proliferative disease is a benign or malignant tumor, carcinoma of the brain, kidney, liver, adrenal gland, bladder, stomach, ovaries, colon, rectum, pancreas, lung (e.g., non small cell lung cancer), endometrial, non-Hodgkin's B-cell lymphoma, vagina or thyroid, sarcoma, glioblastomas, multiple myeloma or or gastric gastrointestinal cancer, especially colon carcinoma or colorectal adenoma or a tumor of the neck and head, an epidermal hyperproliferation, psoriasis, prostate hyperplasia, neuroendocrine, a neoplasia, a neoplasia of epithelial character, lymphomas, a mammary carcinoma or a leukemia.

8. Use of a pharmaceutical combination comprising:

a) a compound of formula (I)



wherein

R₁ is naphthyl or phenyl wherein said phenyl is substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of Halogen; lower alkyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, imidazolyl or triazolyl; cycloalkyl; amino substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkoxy and lower alkoxy lower alkylamino; piperazinyl unsubstituted or substituted by one or two substituents independently selected from the group consisting of lower alkyl and lower alkyl sulfonyl; 2-oxo-pyrrolidinyl; lower alkoxy lower alkyl; imidazolyl;

pyrazolyl; and triazolyl;

R₂ is O or S;

R₃ is lower alkyl;

R₄ is pyridyl unsubstituted or substituted by halogen, cyano, lower alkyl, lower alkoxy or piperazinyl unsubstituted or substituted by lower alkyl; pyrimidinyl unsubstituted or substituted by lower alkoxy; quinolinyl unsubstituted or substituted by halogen; quinoxalinyl; or phenyl substituted with alkoxy

R₅ is hydrogen or halogen;

n is 0 or 1;

R₆ is oxido;

with the proviso that if n=1, the N-atom bearing the radical R₆ has a positive charge;

R₇ is hydrogen or amino;

or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and

b) at least one allosteric mTOR inhibitor compound, and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier, for the manufacture of a medicament for the treatment and prevention of a target of mTOR kinase dependent proliferative diseases, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

9. Use according to claim 8 wherein the compound of formula (I) is 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl)-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]-phenyl]-propionitrile (Compound A) and its monotosylate salt.

10. Use according to claim 8 wherein the compound of formula (I) is 8-(6-methoxy-pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(4-piperazin-1-yl-3-trifluoromethyl-phenyl)-1,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one.
11. Use according to any one of claims 8, 9 or 10 wherein the mTOR inhibitor is selected from RAD rapamycin (sirolimus) and derivatives/analogues thereof such as everolimus (or RAD001); CCI-779 and Deferolimus (AP-23573/MK-8669).
12. Use according to claim 8, wherein the allosteric mTOR inhibitor compound is everolimus (RAD001) which is administered to a subject in need thereof in an amount between administered from about 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject per daily dose
13. A pharmaceutical composition comprising the pharmaceutical combination according to any one of claims 1, 2, 3, 4 or 5.
14. A pharmaceutical combination comprising 2-methyl-2-[4-(3-methyl-2-oxo-8-quinolin-3-yl-2,3-dihydro-imidazo[4,5-c]quinolin-1-yl)-phenyl]-propionitrile (Compound A) and an mTOR inhibitor selected from the group consisting of RAD rapamycin (sirolimus) and derivatives/analogues thereof such as everolimus (or RAD001); CCI-779 and Deferolimus (AP-23573/MK-8669), wherein the active ingredients are present in each case in free form or in the form of a pharmaceutically acceptable salt, and optionally at least one pharmaceutically acceptable carrier, for simultaneous, separate or sequential use for the treatment of instance benign or malignant tumor, carcinoma of the brain, kidney, liver, adrenal gland, bladder, stomach, ovaries, colon, rectum, pancreas, lung (e.g., non small cell lung cancer), endometrial, non-Hodgkin's B-cell lymphoma, vagina or thyroid, sarcoma, glioblastomas, multiple myeloma or or gastric gastrointestinal cancer, especially colon carcinoma or colorectal adenoma or a tumor of the neck and head, an epidermal hyperproliferation, psoriasis, prostate hyperplasia, neuroendocrine, a neoplasia, a neoplasia of epithelial character, lymphomas, a mammary carcinoma or a leukemia, wherein Compound A is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose..

15. A pharmaceutical combination according to claim 13, wherein the allosteric mTOR inhibitor compound is everolimus (RAD001) which is administered to a subject in need thereof in an amount between administered from about 0.001 nM to about 17.8 nM or from about 8.5×10^{-12} Mole/kg to about 1.5×10^{-7} Mole/kg, or from about 0.00056 mg/subject to about 10 mg/subject per daily dose.

16. A method for improving efficacy of the treatment of a target of rapamycin (mTOR) kinase dependent proliferative disease comprising administering a combination comprising a compound of formula (I) or a tautomer thereof, or a pharmaceutically acceptable salt, or a hydrate or solvate thereof, and at least one allosteric mTOR inhibitor compound to subject in need thereof, wherein the compound of formula (I) is administered to a subject in need thereof in an amount between about 1 nM to about 100 nM or about 9.5×10^{-8} to about 9.5×10^{-6} Mole/kg or about 3 to about 315 mg/ subject per daily dose.

Figure 1

p-4EBP1 in cell western in NCI-H23 (NSCLC, KRAS/LKB1) 18 Hour Treatment

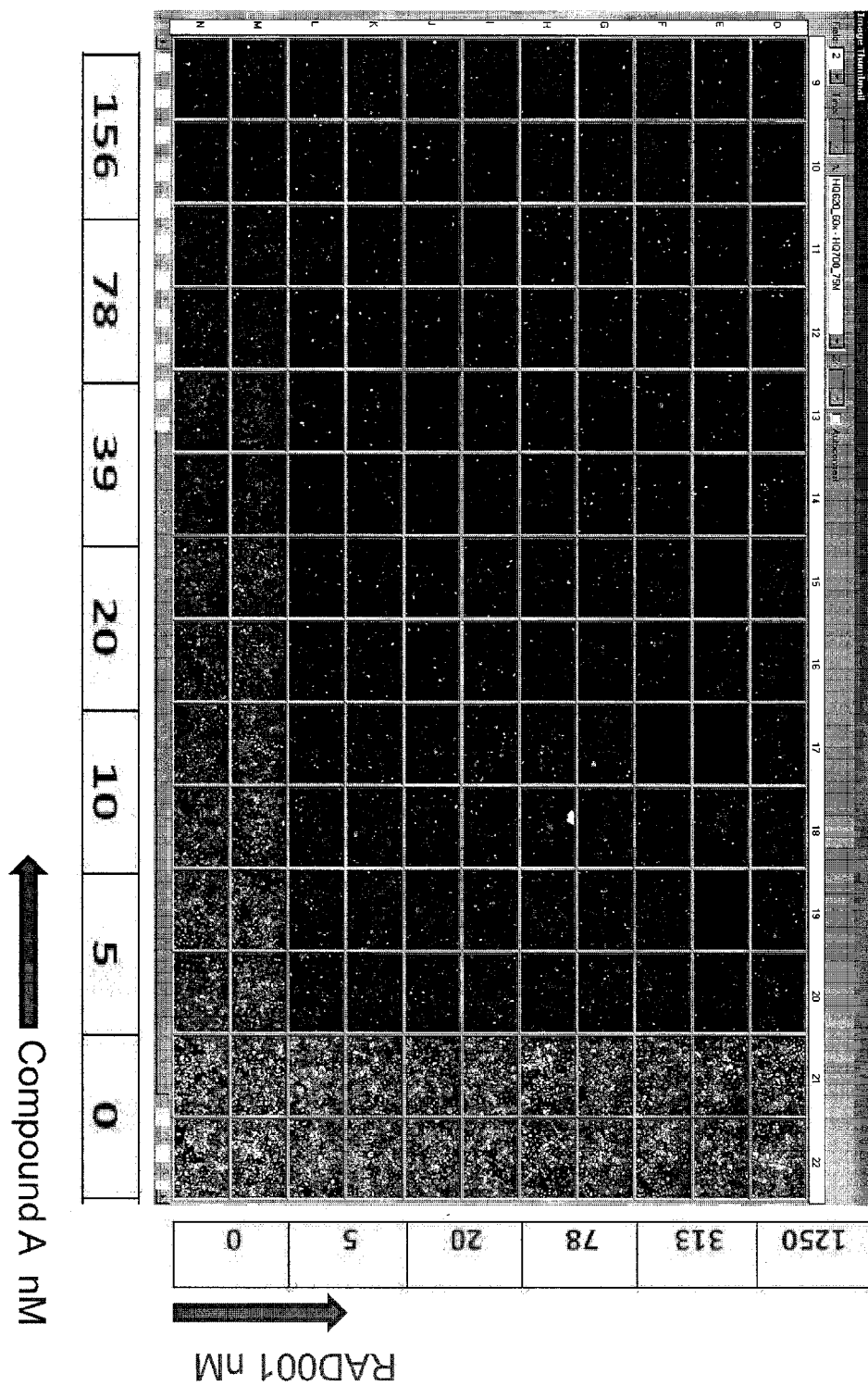


Figure 2

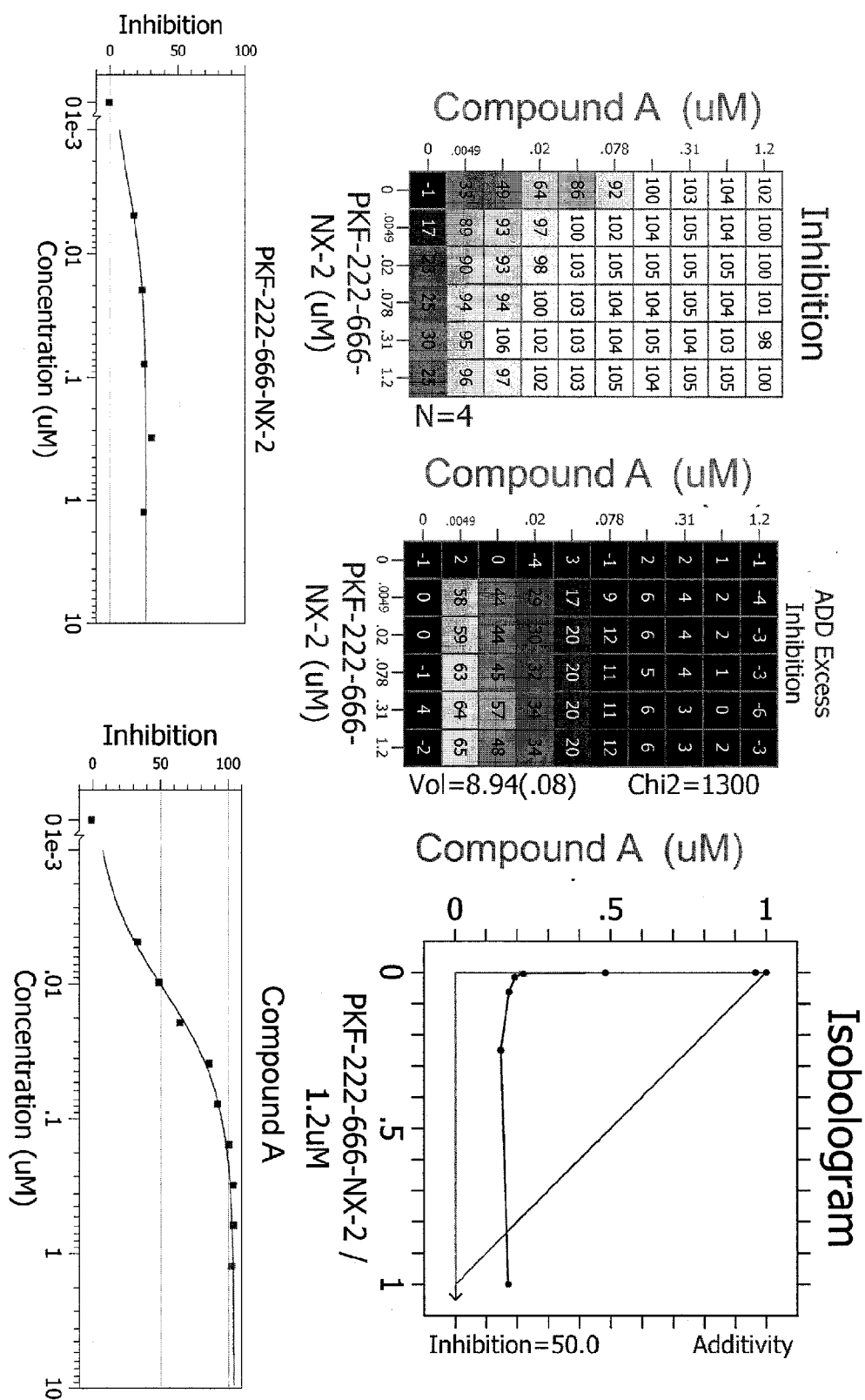


Figure 3

p-S6 in cell western in NCI-H23 (NSCLC, KRAS/LKB1) 18 Hour Treatment

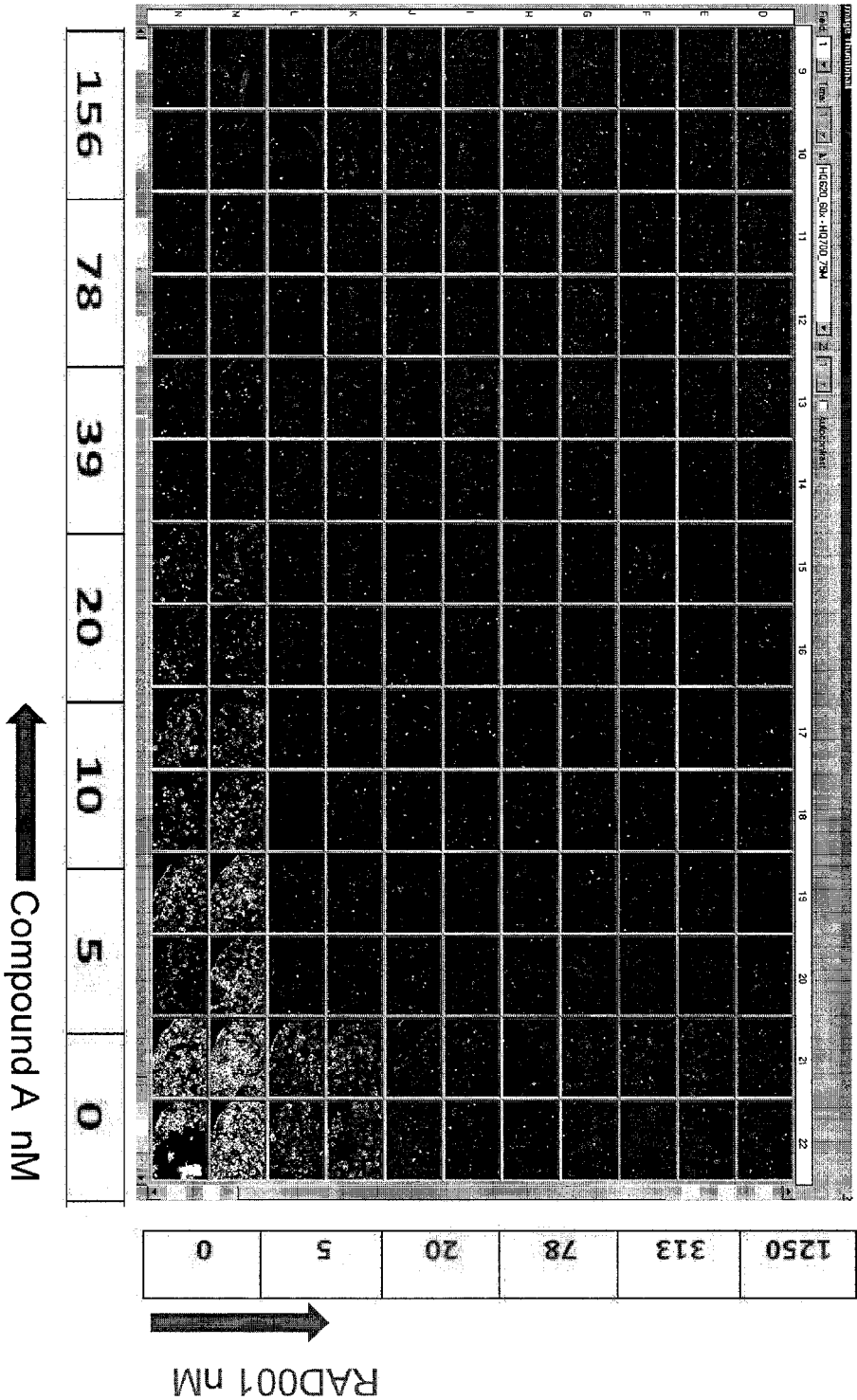


Figure 4

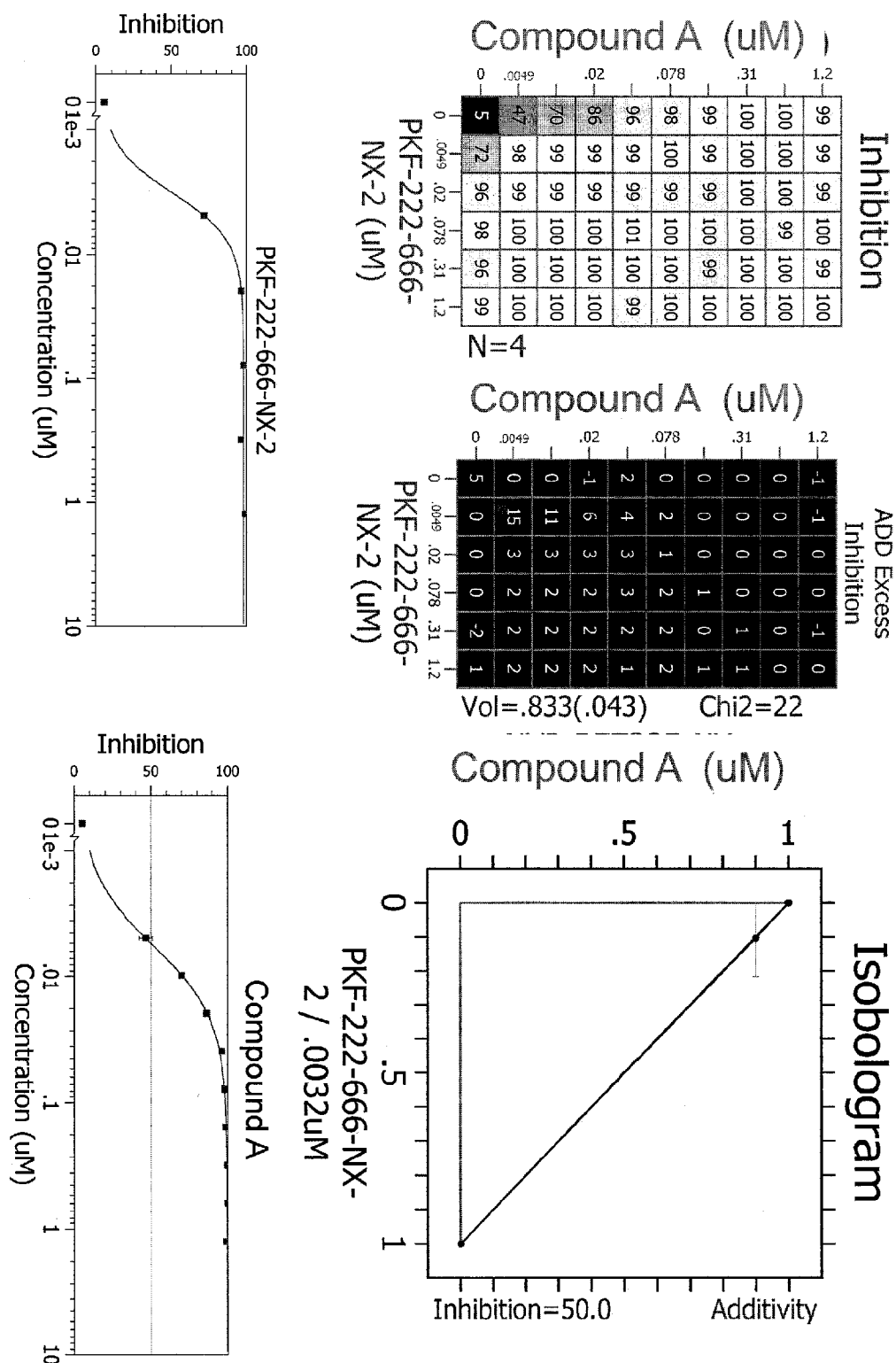


Figure 5

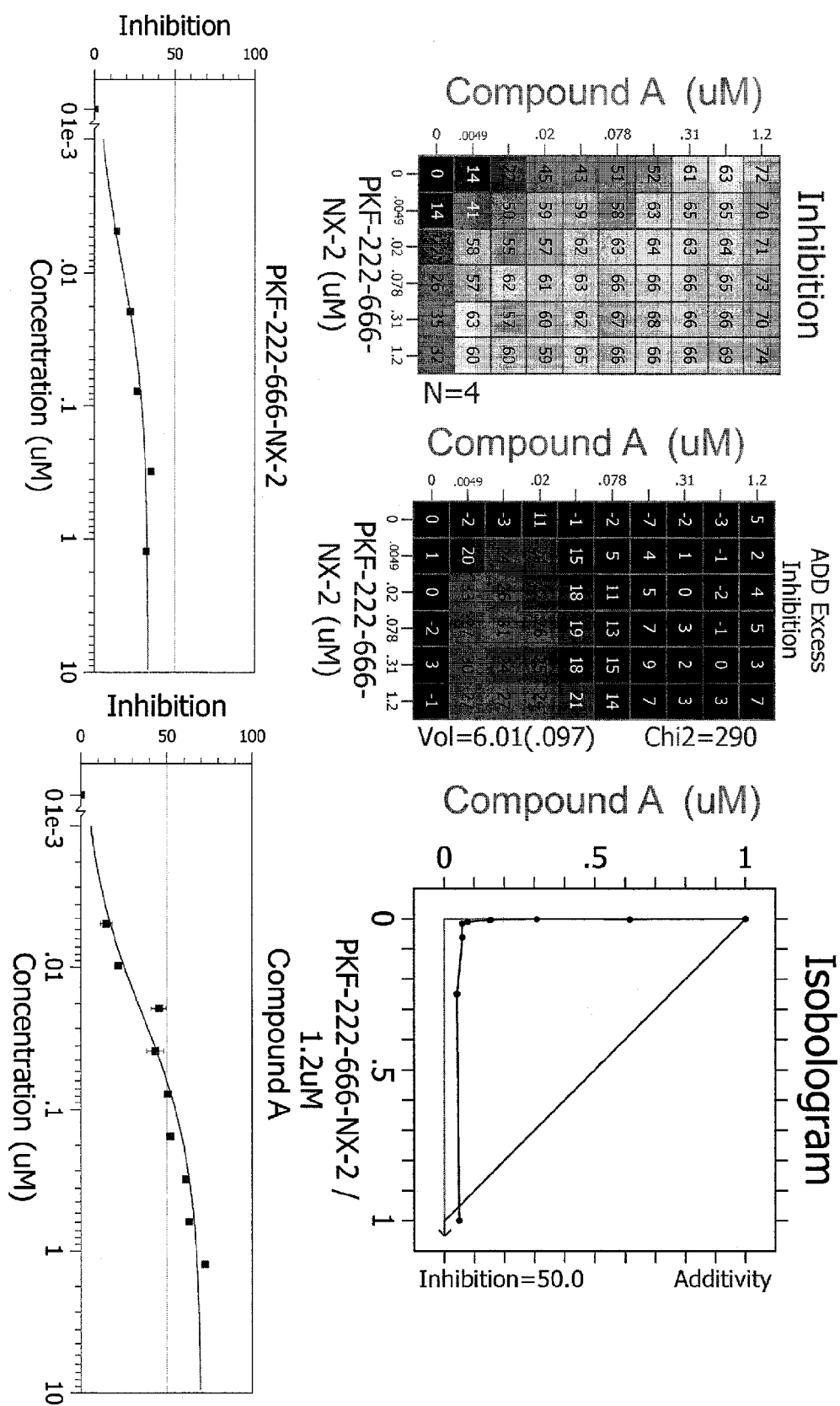


Figure 6

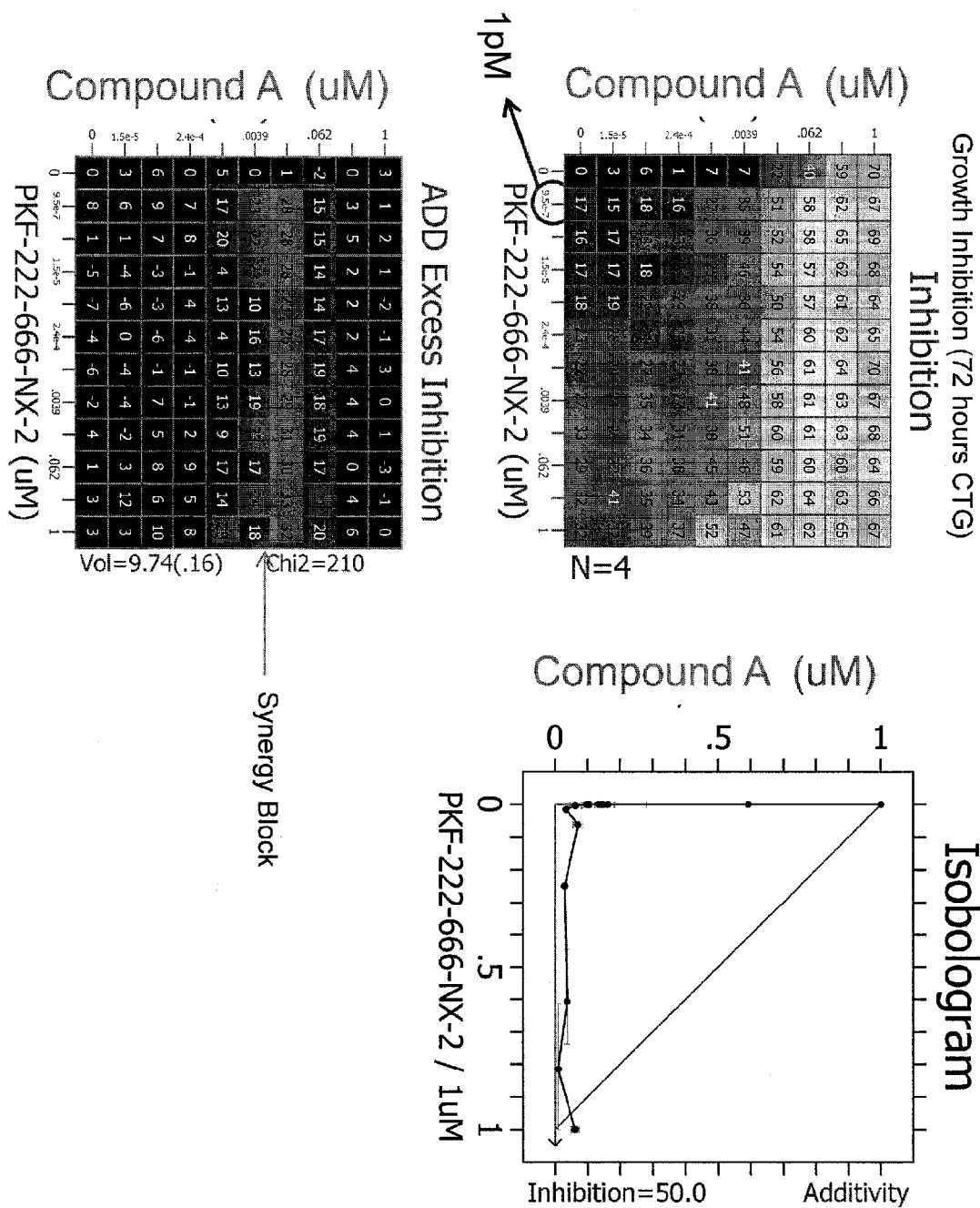


Figure 7

Compound A + RAD001 18H in MFE 296, 4000/well

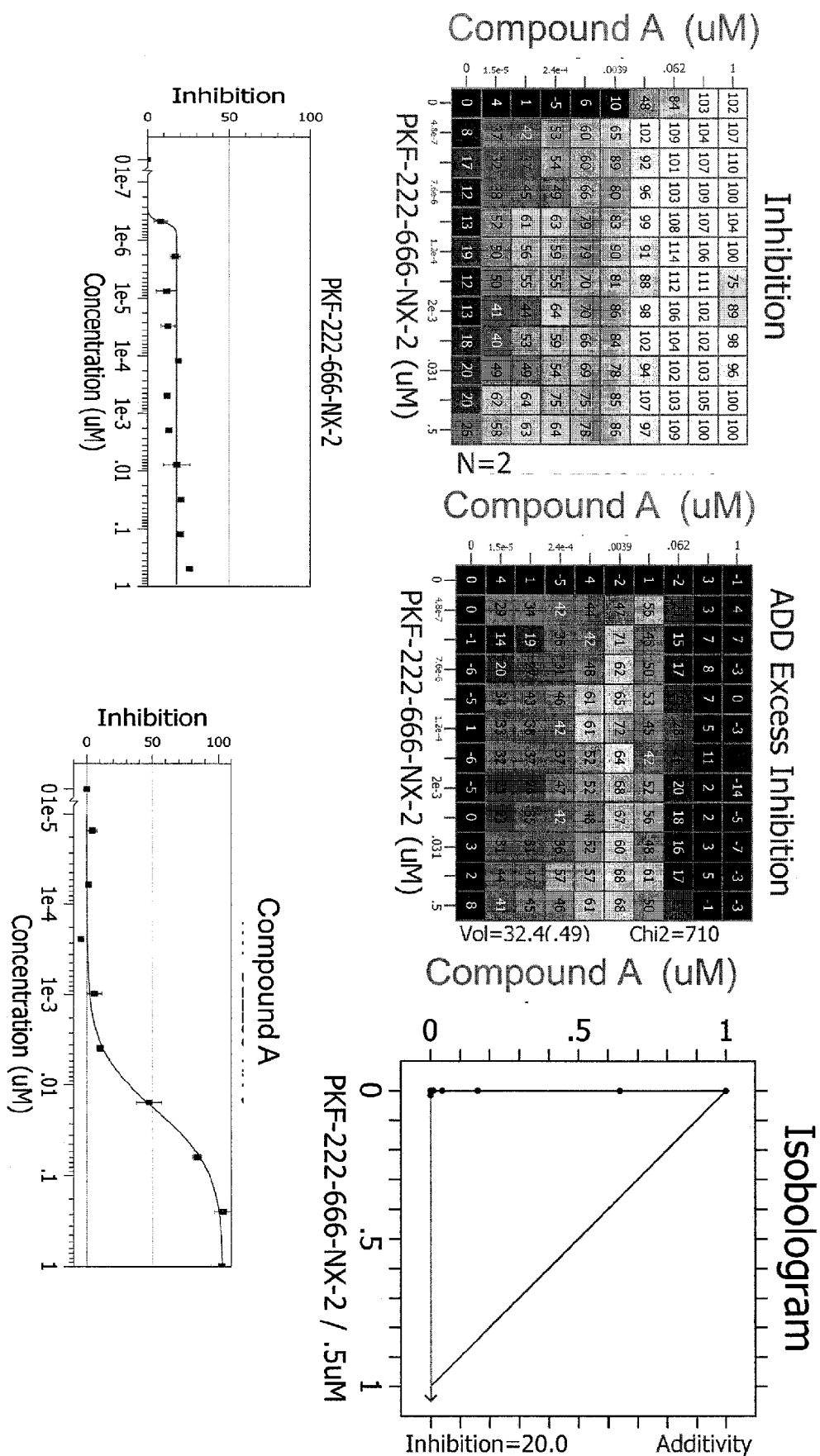


Figure 8

MFE296 Endometrial (PIK3CA/PTEN) 72 hrs CTG

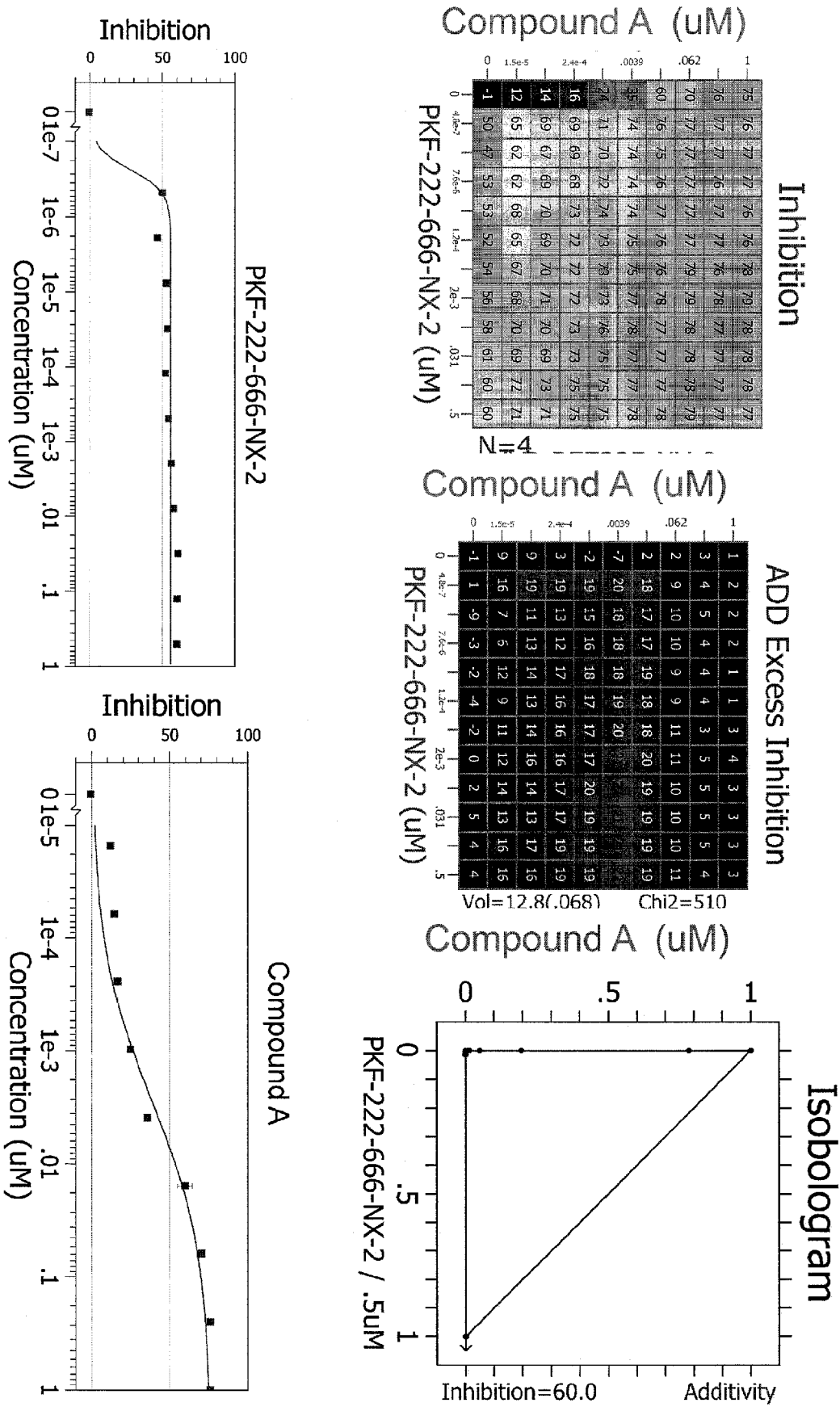


Figure 9

AN3 CA – Endometrial (PTEN/FGFR2) 72 hrs CTG

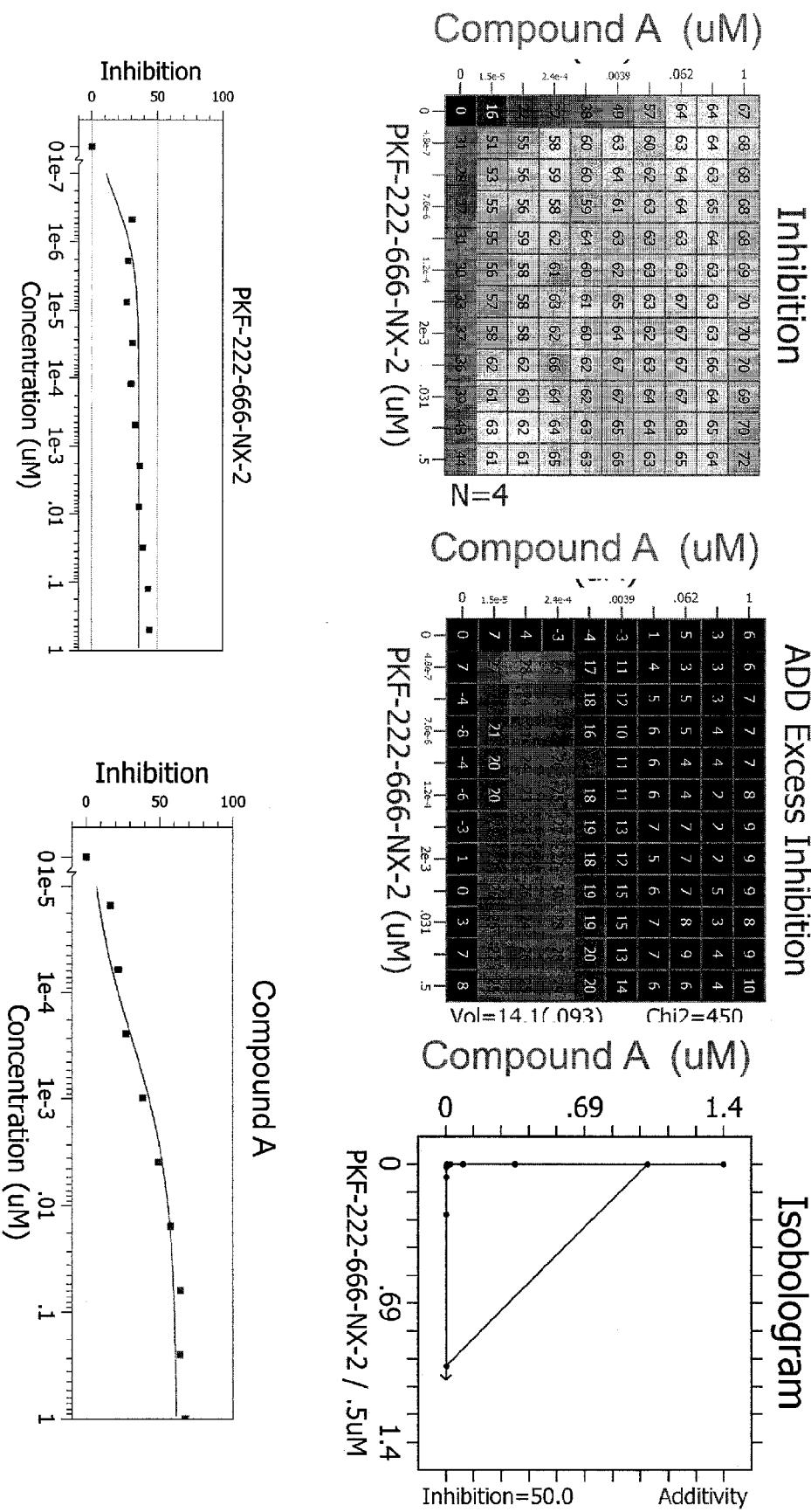


Figure 10

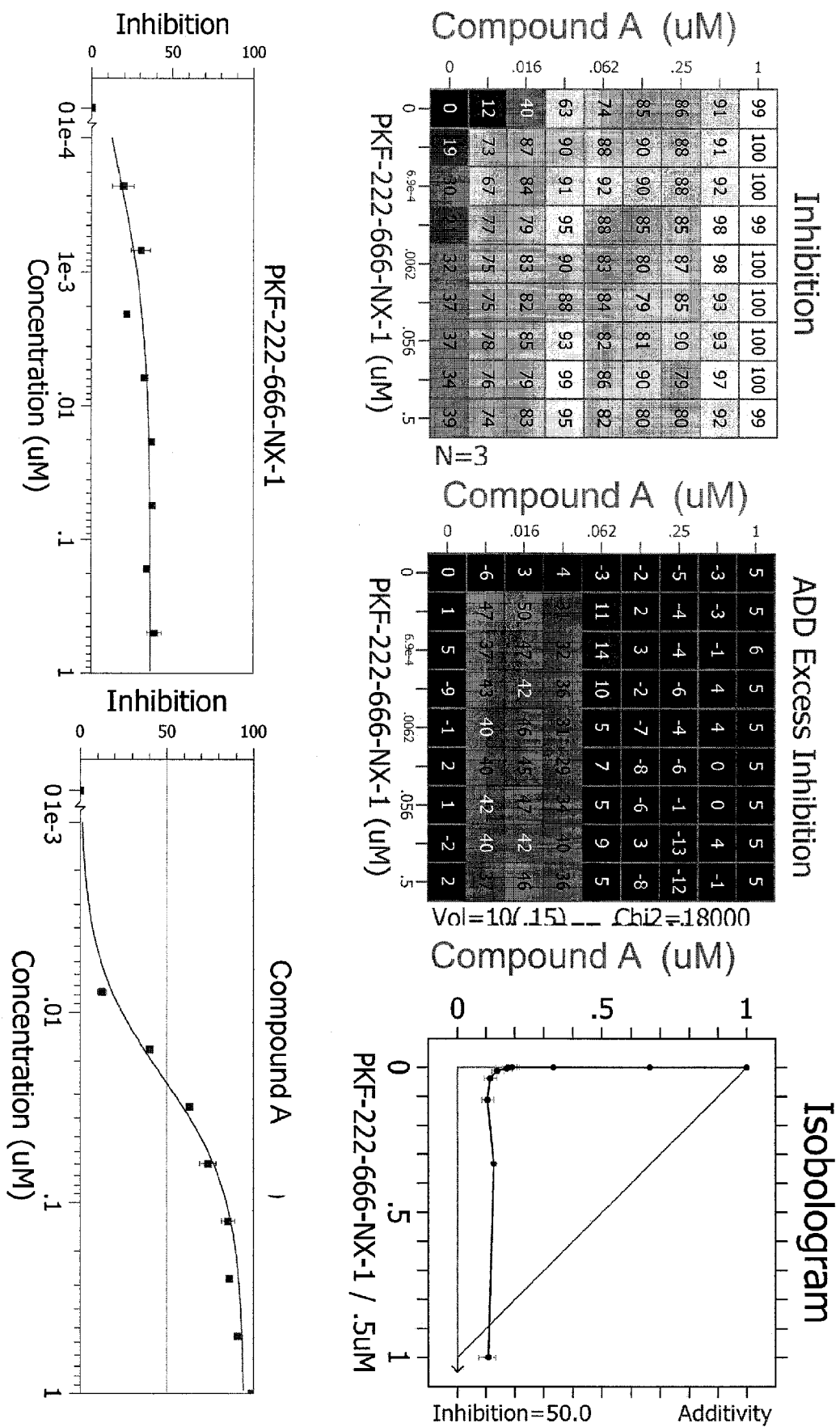


Figure 1: Inhibition and Add-Excess Inhibition of PKF-222-666-NX-1 by Compound A

Top Left: Inhibition Heatmap

Compound A (uM)	0	.016	.062	.25	1
0	0	-3	9	28	41
12	12	36	48	58	66
12	12	41	49	62	66
4	4	42	47	62	64
19	19	47	48	63	68
12	12	42	48	58	64
15	15	46	48	60	65
13	13	43	48	58	62
12	12	45	50	58	63

Top Right: Add-Excess Inhibition Heatmap

Compound A (uM)	0	.016	.062	.25	1
0	0	-9	6	-4	3
0	0	36	36	20	2
-1	-1	36	39	19	-3
-8	-8	35	39	19	0
7	7	36	39	19	1
0	0 <td>33</td> <td>35</td> <td>3</td> <td>0</td>	33	35	3	0
3	3 <td>30</td> <td>35</td> <td>2</td> <td>-2</td>	30	35	2	-2
0	0 <td>32</td> <td>38</td> <td>3</td> <td>-6</td>	32	38	3	-6
0	0 <td>32</td> <td>30</td> <td>-1</td> <td>-5</td>	32	30	-1	-5

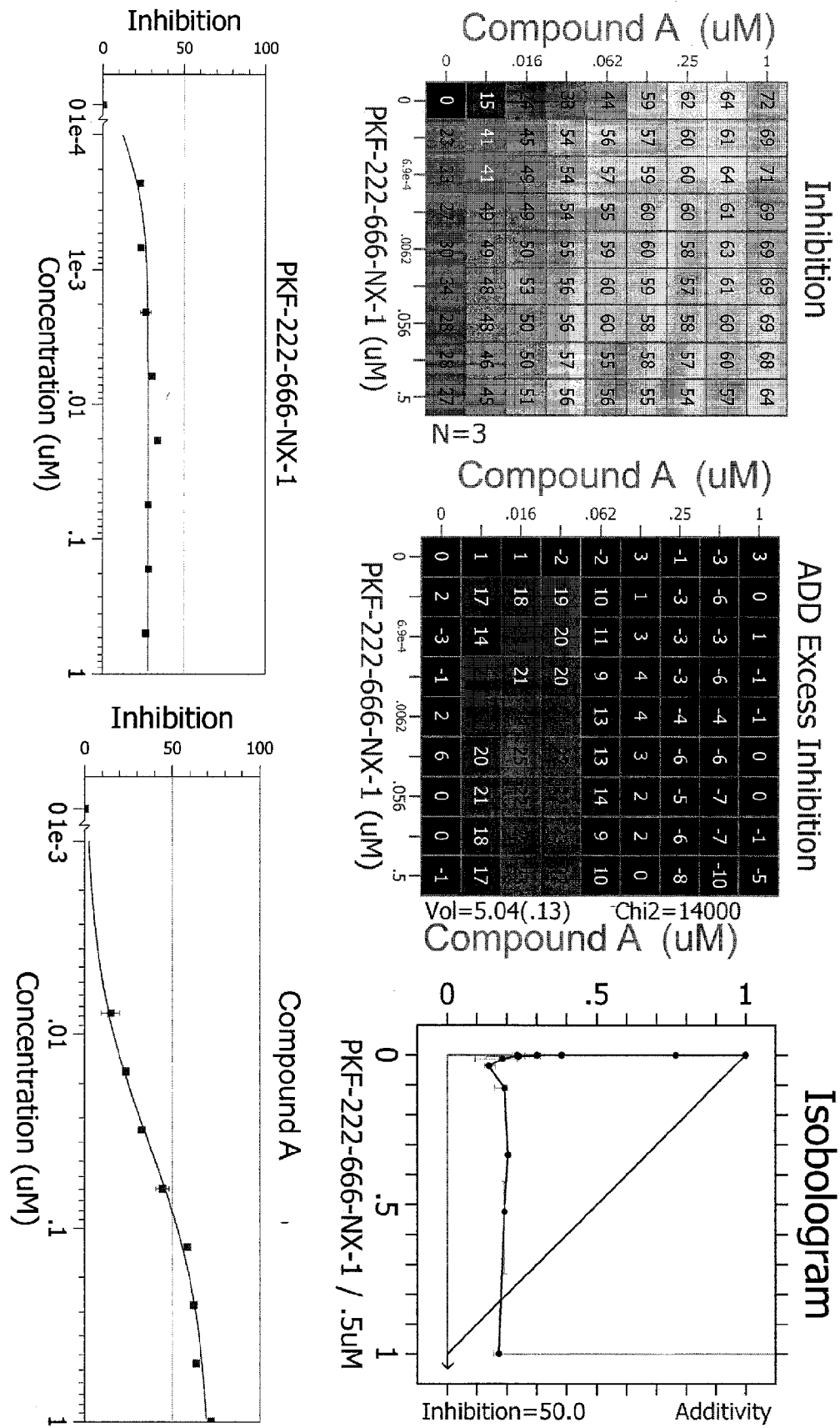
Bottom Left: Dose-Response Curve (Inhibition vs. Concentration)

Bottom Right: Isobologram (Compound A vs. PKF-222-666-NX-1)

Statistical Data:

- $N=3$
- $Vol=9.6(.26)$
- $Chi2=4400$
- $Inhibition=49.0$
- $Additivity$

Figure 12



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2011/054536

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/4188 A61K31/4745 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/103636 A1 (NOVARTIS AG [CH]; BRACHMANN SASKIA MARIA [CH]; FINAN PETER [US]; FRITS) 28 August 2008 (2008-08-28) page 15, lines 9-11 -----	1-16
X	WO 2006/122806 A2 (NOVARTIS AG [CH]; NOVARTIS PHARMA GMBH [AT]; GARCIA-ECHEVERRIA CARLOS) 23 November 2006 (2006-11-23) page 35, lines 18-28 ----- -/--	1-16



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 February 2012

Date of mailing of the international search report

20/02/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cattell, James

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2011/054536

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	V. SERRA ET AL: "NVP-BEZ235, a Dual PI3K/mTOR Inhibitor, Prevents PI3K Signaling and Inhibits the Growth of Cancer Cells with Activating PI3K Mutations", CANCER RESEARCH, vol. 68, no. 19, 1 October 2008 (2008-10-01), pages 8022-8030, XP55018423, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1385 the whole document -----	1-16
X	MAIRA SAUVEUR-MICHEL ET AL: "Identification and characterization of NVP-BEZ235, a new orally available dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor with potent in vivo antitumor activity", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 7, no. 7, 2008, pages 1851-1863, XP002668980, page 1859; figure 6 -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/054536

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008103636	A1	28-08-2008	
		AU 2008218806 A1	28-08-2008
		CA 2676786 A1	28-08-2008
		CN 101616672 A	30-12-2009
		EP 2129379 A1	09-12-2009
		JP 2010519309 A	03-06-2010
		KR 20090114463 A	03-11-2009
		RU 2009135080 A	27-03-2011
		US 2010105696 A1	29-04-2010
		WO 2008103636 A1	28-08-2008

WO 2006122806	A2	23-11-2006	
		AR 054127 A1	06-06-2007
		AT 535526 T	15-12-2011
		AU 2006249071 A1	23-11-2006
		BR PI0610321 A2	15-06-2010
		CA 2608496 A1	23-11-2006
		CN 101495477 A	29-07-2009
		CR 9504 A	31-07-2008
		EA 200702387 A1	30-06-2008
		EP 1888578 A2	20-02-2008
		EP 2270008 A1	05-01-2011
		EP 2292617 A1	09-03-2011
		JP 2008540599 A	20-11-2008
		KR 20080009724 A	29-01-2008
		MA 29462 B1	02-05-2008
		NI 200700296 A	24-07-2008
		NZ 562890 A	24-12-2010
		PE 00042007 A1	30-01-2007
		SM AP200700051 A	28-11-2007
		US 2008194579 A1	14-08-2008
		US 2010056558 A1	04-03-2010
		US 2011251202 A1	13-10-2011
		WO 2006122806 A2	23-11-2006
		ZA 200709074 A	25-09-2008

COMBINACIONES FARMACÉUTICAS

Campo de la Invención

La presente invención, se refiere a una combinación
5 farmacéutica que comprende: (a) un compuesto inhibidor de cinasa
de fosfatidil-inositol-3 catalítica (PI3K) / objetivo de mamífero de
rapamicina (mTOR), el cual es un derivado de imidazoquinolina de la
fórmula (I), y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor
de mTor, y opcionalmente, cuando menos un vehículo
10 farmacéuticamente aceptable, para su uso simultáneo, separado, o
en secuencia; y a los usos de esta combinación en el tratamiento de
una enfermedad proliferativa, más específicamente de una
enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor; a una
composición farmacéutica, la cual comprende dicha combinación; al
15 uso de esta combinación para la preparación de un medicamento
para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, más
específicamente de una enfermedad proliferativa dependiente de la
cinasa mTor; a un método para el tratamiento de un sujeto que lo
necesite, en especial un ser humano; y a un paquete o producto
20 comercial que comprende esta combinación como una preparación
combinada, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia.

Antecedentes de la Invención

En las células de mamífero, la cinasa del objetivo de
rapamicina (mTOR) existe como un complejo de múltiples proteínas
25 descrito como el complejo mTORC1 o el complejo mTORC2, que

detecta la disponibilidad de nutrientes y energía, e integra las introducciones a partir de los factores de crecimiento y la señalización de estrés. El complejo mTORC1 es sensible a los compuestos inhibidores aloestéricos de mTor (tales como la rapamicina); está compuesto de mTOR, GβL, y proteínas asociadas con la regulación de mTor (raptor); y se enlaza a la proteína FKBP12 de peptidil-prolil-isomerasa (una proteína 1A que se enlaza al FK506, de 12 kDa). En contraste, el complejo mTORC2 está compuesto de mTOR, GβL, y proteínas compañeras de mTor insensibles a la rapamicina (rictor), y no se enlazan a la proteína FKBP12 *in vitro*.

Se ha demostrado que el complejo mTORC1 está involucrado en el control de traducción de proteínas, operando como un factor de crecimiento y como un aparato sensible a los nutrientes para la regulación del crecimiento y la proliferación. mTORC1 regula la traducción de proteínas por medio de dos sustratos clave corriente abajo: cinasa S6, que a su vez fosforila la proteína ribosomal S6, y la proteína 1 de enlace del factor de inicio de traducción eucariótica 4E (4EBP1), que tiene una función clave en la modulación de la traducción dependiente de cap regulada por eIF4E. El complejo mTORC1 regula el crecimiento celular en respuesta a la homeostasia de energía y nutrientes de la célula, y la desregulación del complejo mTORC1 es común en una amplia variedad de cánceres humanos. La función de mTORC2 involucra la regulación de la sobrevivencia celular por medio de la fosforilación de Akt (Sarbasov y colaboradores, Science, 2005, 307: 1098-1101), y la modulación de

la dinámica del citoesqueleto de actina (Jacinto y colaboradores, Nat. Cell. Biol., 2004, 6: 1122-1128).

El complejo mTORC1 es sensible a los compuestos inhibidores aloestéricos de mTor, tales como rapamicina y sus derivados, en gran parte debido al modo de acción del compuesto aloestérico inhibidor de mTor, el cual involucra la formación de un complejo intracelular con la FKBP12 y el enlace al dominio de enlace de FKBP12-rapamicina (FRB) de mTor (Choi y colaboradores, Science, 1996, 273: 239-242). Esto da como resultado un cambio de conformación en mTORC1, el cual se cree que altera y debilita la interacción con su proteína de andamiaje raptor, impidiendo a su vez que los sustratos tales como S6K1 tengan acceso a mTor y sean fosforilados (Hara y colaboradores, Cell, 2002, 110(2): 177-89; Kim y colaboradores, Cell, 2002, 110(2): 163-75; Oshiro y colaboradores, Genes células, 2004, 9(4): 359-66). La rapamicina y los rapálogos, tales como RAD001 o CCI-779, han alcanzado relevancia clínica por inhibir la hiper-activación de mTor asociada con los trastornos de proliferación tanto benignos como malignos (Dancey, Nature Reviews Clinical Oncology, 2010, 7: 209-219; Hidalgo y Rowinsky, Oncogene, 2000, 19: 6680-6686).

Everolimus (Afinitor[®], Novartis) es un fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de cáncer de riñón avanzado y todavía se está investigando en otros diferentes estudios clínicos en fase III en oncología. Los estudios clínicos previos han demostrado que el Everolimus es capaz de inhibir la proliferación de una amplia

variedad de líneas celulares tumorales, tanto *in vitro* como *in vivo*, presumiblemente a través de la supresión de la función de mTORC1 sensible a la rapamicina. El everolimus, como un derivado de rapamicina, es un compuesto aloestérico inhibidor de mTor que es

5 altamente potente para inhibir parte de la función de mTORC1, es decir, la cinasa S6 (S6K), y el sustrato S6 corriente abajo de S6K. Sin embargo, el everolimus (y otros análogos de rapamicina) tiene poco o ningún efecto en la inhibición de los sucesos de fosforilación de preparación en 4EBP1 (T37/46), el cual recientemente se ha

10 implicado en Hsieh y colaboradores, Cancer Cell, 17(3): 249-261 (2010) como un impulsor clave en la tumorigénesis y en el mantenimiento. Y los compuestos inhibidores aloestéricos de mTor como everolimus (y otros análogos de rapamicina) tienen poco o ningún efecto en la inhibición de la senda de mTORC2, o en su

15 activación resultante de la señalización de Akt.

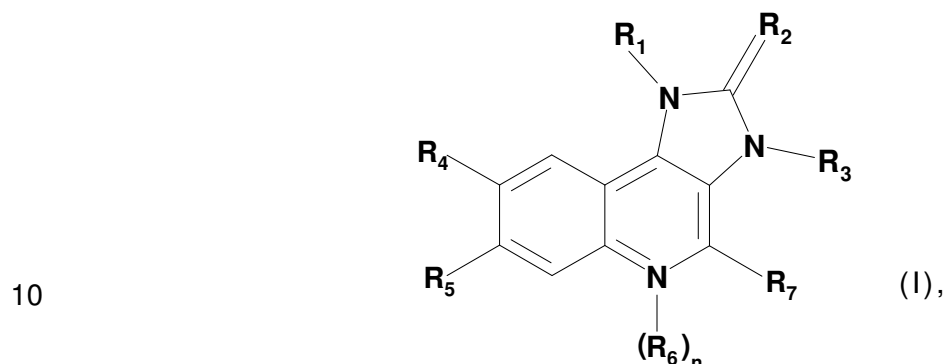
En contraste, se ha encontrado que los compuestos inhibidores de mTor catalíticos que compiten con el ATP se dirigen al dominio de cinasa mTor directamente, y se dirigen tanto al mTORC1 como al mTORC2 (Feldman y colaboradores, PLoS Biology, 2009, 7(2):

20 e1000038; Garcia-Martinez y colaboradores, Biochem. J., 2009, 421(Pt. 1): 29-42; Thoreen y colaboradores, J. Biol. Chem., 2009, 284: 8023-8032; Yu y colaboradores, Cancer Res., 2009, 69: 6232). Éstos son inhibidores de mTORC1 más efectivos que los compuestos inhibidores aloestéricos de mTor, tales como rapamicina, debido a

25 que modulan las producciones de mTORC1 resistente a la

rapamicina, tales como la fosforilación de 4EBP1-T37/46 y la traducción dependiente de cap.

Los derivados de imidazoquinolina específicos y su preparación se han descrito en la Publicación Internacional Número
5 WO2006/122806 e incluyen los compuestos de la fórmula (I):



en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , n , R_6 y R_7 se definen como se estipula en la presente, o un tautómero de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato de los
15 mismos. Se ha probado que los derivados de imidazoquinolina, tales como 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluorometil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona (“Compuesto A”) son inhibidores de PI3K/mTOR efectivos, por ejemplo, Publicación Internacional Número WO2008/103636 y Maira y
20 colaboradores, Mol. Cancer Ther., 7(7): 1851-1863 (Julio de 2008), que exhiben una amplia actividad contra un gran panel de líneas celulares de cáncer humanas cultivadas.

Actuando como un inhibidor catalítico de PI3K/mTOR, el compuesto derivado de imidazoquinolina de 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-
25

propionitrilo es capaz de desactivar la función completa del complejo mTORC1, incluyendo tanto la función sensible a la rapamicina (fosforilación de S6K, y subsiguientemente fosforilación de S6), como la función insensible a la rapamicina (fosforilación de 4EBP1).

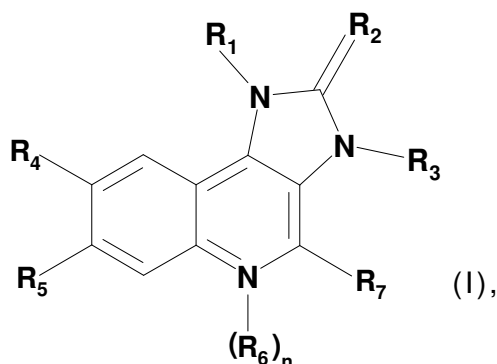
5 El compuesto derivado de imidazoquinolina de 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo tiene un efecto diferencial de acuerdo con la concentración de fármaco utilizada, en donde la inhibición de mTor predomina en una concentración baja (menos de 100 nanomoles/
10 litro) pero se observa una inhibición doble de PI3K/mTor en concentraciones relativamente más altas (aproximadamente 500 nanomoles/litro). (Por ejemplo, Serra y colaboradores, Cancer Res., 68(19): 8022-8030 (Octubre 1, 2008)).

A pesar de las numerosas opciones de tratamiento para los
15 pacientes con enfermedades proliferativas, sigue existiendo una necesidad de agentes terapéuticos efectivos y seguros que se puedan administrar a los sujetos que lo necesiten en dosis bajas, y una necesidad de su uso preferencial en la terapia de combinación. De una manera sorprendente, se ha descubierto que la combinación
20 de bajas cantidades del compuesto de la fórmula (I), con bajas cantidades de un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, tal como everolimus, da como resultado una mejora inesperada en el tratamiento de las enfermedades tumorales. Cuando se administra de una manera simultánea, en secuencia, o por separado, el compuesto
25 de la fórmula (I), y el compuesto aloestérico inhibidor de mTor

interactúa de una manera sinérgica para inhibir la proliferación celular. Esta interacción sinérgica inesperada permite hacer una reducción en la dosis requerida de cada compuesto, conduciendo a una reducción en los efectos secundarios y a una mejora de la efectividad clínica de los compuestos y del tratamiento.

Breve Descripción de la Invención

La presente invención, se refiere a una combinación farmacéutica novedosa, la cual comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I):



en donde:

R₁ es naftilo o fenilo, en donde el fenilo está sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en Halógeno; alquilo inferior insustituido o sustituido por halógeno, ciano, imidazolilo o triazolilo; cicloalquilo; amino sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en alquilo inferior, alquilo inferior-sulfonilo, alcóxilo inferior, y alcóxilo inferior-alquilo inferior-amino; piperazinilo insustituido o sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del

grupo que consiste en alquilo inferior, y alquilo inferior-sulfonilo; 2-oxo-pirrolidinilo; alcoxilo inferior-alquilo inferior; imidazolilo; pirazolilo; y triazolilo;

R_2 es O o S;

5 R_3 es alquilo inferior;

R_4 es piridilo insustituido o sustituido por halógeno, ciano, alquilo inferior, alcoxilo inferior, o piperazinilo insustituido o sustituido por alquilo inferior; pirimidinilo insustituido o sustituido por alcoxilo inferior; quinolinilo insustituido o sustituido por halógeno; 10 quinoxalinilo; o fenilo sustituido con alcoxilo;

R_5 es hidrógeno o halógeno;

n es 0 ó 1;

R_6 es óxido;

con la condición de que, si $n = 1$, el radical portador del átomo 15 de nitrógeno (N) R_6 tiene una carga positiva;

R_7 es hidrógeno o amino;

o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando 20 menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto mencionado de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre 25 aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por

dosis diaria, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en particular para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, más específicamente de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa del objetivo de mamífero de rapamicina (mTOR).

5 En una modalidad preferida, la combinación de la invención pertenece a una combinación farmacéutica que comprende: (a) el compuesto de 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidroimidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (referido como “Compuesto A” en la presente), o su sal de mono-tosilato, y (b) el
10 compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), en donde se administra el Compuesto A en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente
15 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor. En una modalidad adicional, el compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), utilizado en la combinación, se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva de aproximadamente 0.001
20 nM a aproximadamente 17.8 nM, o de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/ kilogramo, o de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria.

 En un aspecto, la presente invención proporciona el uso de una
25 combinación farmacéutica que comprende: (a) un compuesto de la

fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

En una modalidad preferida, la presente invención pertenece al uso de una combinación farmacéutica que comprende: (a) el Compuesto A o su sal de mono-tosilato, y (b) el compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), en donde se administra el Compuesto A en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor. En una modalidad adicional, el compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva de aproximadamente 0.001 nM a

aproximadamente 17.8 nM, o de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo, o de aproximadamente 0.00056 miligramos/ sujeto a aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento o la prevención de una enfermedad proliferativa, el cual comprende administrar: (a) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I) o de un tautómero del mismo, o de una sal farmacéuticamente aceptable, o de un hidrato, o
10 de un solvato del mismo, y (b) una cantidad terapéuticamente efectiva de cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, a un sujeto que lo necesite, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra en una cantidad de entre aproximadamente
15 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria. De preferencia, el compuesto de la fórmula (I) es el compuesto A.

20 En un aspecto, la invención proporciona un método para mejorar la eficacia del tratamiento de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor, mediante la administración de: (a) un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y
25 (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y

opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, a un sujeto que lo necesite, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de
5 entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria. De preferencia, el compuesto de la fórmula (I) es el compuesto A.

En un aspecto de la invención, la presente invención pertenece
10 a una combinación farmacéutica, tal como una preparación combinada o una composición farmacéutica, la cual comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso simultáneo,
15 separado, o en secuencia, en particular para el tratamiento de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y
20 aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria. De preferencia, el compuesto de la fórmula (I) es el compuesto A.

La presente invención proporciona además un paquete
25 comercial que comprende como ingredientes activos, la

COMBINACIÓN DE LA INVENCION, junto con instrucciones para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en la demora del progreso o en el tratamiento de una enfermedad proliferativa.

Descripción Detallada de las Figuras

5 La Figura 1 muestra el efecto del tratamiento con el agente individual y el everolimus concomitante (RAD001 o PKF-222-6666-NX-2) y/o el compuesto inhibidor catalítico de PI3K/mTOR de 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (Compuesto A) sobre la fosforilación
10 de 4EBP1 en los modelos de células humanas de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23 (KRAS y LKB1 mutantes), mediante el teñido basado en inmunofluorescencia con un anticuerpo foto-específico T37/46 y la toma de imágenes y cuantificación automatizada (lectura de ensayo con alto contenido de p4EBP1 T37/46).

15 La Figura 2 muestra los datos de matriz de dosis completa a partir del análisis de alto contenido de p-4EBP1 en modelos de células humanas de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23.

 La Figura 3 muestra el efecto del tratamiento con el agente individual y el everolimus concomitante (RAD001) y/o el compuesto
20 sobre la fosforilación de S6 en modelos de células humanas de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23 (KRAS y LKB1 mutantes) utilizando una lectura de ensayo de alto contenido de pS6 S240/244.

 La Figura 4 muestra los datos de matriz de dosis completa a partir del análisis de alto contenido de pS6 en modelos de células
25 humanas de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23.

La Figura 5 muestra los datos de proliferación celular de matriz de dosis completa a partir del tratamiento con el agente individual y el everolimus concomitante (RAD001) y/o el compuesto en modelos de células humanas de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23.

5 La Figura 6 muestra los efectos de combinar la dosis más baja de everolimus (RAD001) y el Compuesto A sobre la proliferación de modelos de células humanas de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23. En esta matriz de dosis extendida, se necesita tan poco como 1 pM de everolimus para cambiar la IC_{50} del compuesto A.

10 La Figura 7 muestra los datos de matriz de dosis completa para el tratamiento con el agente individual y el everolimus concomitante (RAD001) y/o el compuesto, sobre la fosforilación de 4EBP1 en los modelos de células humanas de cáncer endometrial MFE296 (PIK3CA y PTEN mutantes) utilizando una lectura de alto contenido.

15 La Figura 8 muestra los datos de proliferación celular de dosis extendida para los modelos de células humanas de cáncer endometrial para MFE296 (PIK3CA y PTEN mutantes).

20 La Figura 9 muestra los datos de proliferación celular de matriz de dosis extendida para los modelos de células humanas de cáncer endometrial AN3 CA (FGFR2 y PTEN mutantes).

La Figura 10 muestra los datos de proliferación celular de matriz de dosis extendida para los modelos de células humanas de cáncer de linfoma no de Hodgkin GA-10.

25 La Figura 11 muestra los datos de proliferación celular de matriz de dosis extendida para los modelos de células humanas de

cáncer de mieloma múltiple RPMI 8226.

La Figura 12 muestra los datos de proliferación celular de matriz de dosis extendida para los modelos de células humanas de cáncer de mieloma múltiple KMS-11 (FGFR3 mutante).

5

Descripción Detallada de la Invención

A través de toda esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, los siguientes términos se definen con los siguientes significados, a menos que se informe explícitamente de otra manera:

10

Los términos "comprendiendo" e "incluyendo" se utilizan en la presente en su sentido abierto, no limitante.

Cuando se utiliza la forma plural para los compuestos, sales, y similares, esto también significa un solo compuesto, sal, o similar.

15

El término "combinación" se define para referirse ya sea a una combinación fija en una forma unitaria de dosificación, o bien a una combinación no fija (o a un kit de partes) para la administración combinada, en donde el compuesto de la fórmula (I), y un componente de combinación, se pueden administrar independientemente al mismo tiempo o por separado dentro de intervalos de tiempo que permitan que los componentes de combinación muestren un efecto cooperativo, por ejemplo, sinérgico.

20

El término "administración combinada" o similar, como se utiliza en la presente, pretende abarcar la administración del componente de combinación seleccionado a un solo sujeto que lo necesite (por ejemplo, a un paciente), y se pretende que incluya los regímenes de

25

tratamiento en donde los agentes no necesariamente se administren por la misma vía de administración o al mismo tiempo. El término “combinación fija” significa que los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de la fórmula (I), y un componente de combinación, se administran ambos a un paciente de una manera simultánea en la forma de una sola entidad o dosificación. El término “combinación no fija” significa que los ingredientes activos, por ejemplo, un compuesto de la fórmula (I), y un componente de combinación, se administran ambos a un paciente como entidades separadas, ya sea de una manera simultánea, concurrente, o en secuencia, sin límites de tiempo específicos, en donde esta administración proporcione niveles terapéuticamente efectivos de los dos compuestos en el cuerpo del paciente. Esto último también se aplica a la terapia de cóctel, por ejemplo, la administración de tres o más ingredientes activos.

El término “inhibidores catalíticos de PI3K/mTOR” se define en la presente como los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad/función catalítica de las enzimas de PI3K y/o mTor mediante el enlace con la hendidura de enlace de ATP de estas enzimas.

El término “compuestos aloestéricos inhibidores de mTor” se define en la presente como los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad/función de la cinasa mTor a través del enlace con un sitio de enlace aloestérico, de preferencia el sitio de enlace de FKBP12-rapamicina (FRB), del complejo mTORC1.

El término “sujeto” pretende incluir animales. Los ejemplos de los sujetos incluyen mamíferos, por ejemplo, seres humanos, perros, reses, caballos, cerdos, ovejas, cabras, gatos, ratones, conejos, ratas, y animales no humanos transgénicos. En ciertas modalidades, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un ser humano que padezca de, que esté en riesgo de padecer de, o que sea potencialmente capaz de padecer de una enfermedad tumoral del cerebro.

El término “miligramos/sujeto” se define en la presente como la cantidad del compuesto referenciado en miligramos, como se estime para un sujeto que lo necesite, que tenga una masa corporal de aproximadamente 70 kilogramos. Se entiende que este término no está restringido a un sujeto que tenga una masa corporal de aproximadamente 70 kilogramos, y la cantidad del compuesto referenciado en miligramos sería ajustada por un experto ordinario como equivalente a esta proporción en la masa corporal real del sujeto.

El término “aproximadamente” en relación con una dosis de fármaco particular tendrá el significado de una dosis de fármaco en el intervalo de más/menos el 10 por ciento en peso/peso, de preferencia de más/menos el 5 por ciento en peso/peso o menos, de la dosis nominal del fármaco. A manera de ejemplo, una dosis nominal del fármaco de aproximadamente 0.01 miligramos de ingrediente activo, puede contener de 0.009 a 0.011 miligramos, de preferencia de 0.0095 a 0.0105 miligramos de ingrediente activo por dosis.

El término “composición farmacéutica” se define en la presente para referirse a una mezcla o solución que contiene cuando menos un compuesto terapéutico para administrarse a un mamífero, por ejemplo, a un ser humano, con el objeto de prevenir, tratar o controlar una enfermedad o condición particular que afecte al mamífero.

El término “farmacéuticamente aceptable” se define en la presente para referirse a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance de un buen juicio médico, son adecuados para estar en contacto con los tejidos de los mamíferos, en especial de los seres humanos, sin una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica, y otras complicaciones problemáticas, de una manera conmensurada con una proporción razonable de beneficio/riesgo.

El término “una preparación combinada”, como se utiliza en la presente, define en especial un “kit de partes” en el sentido de que los componentes de combinación (a) y (b), como se definen anteriormente, se pueden dosificar independientemente o mediante el uso de diferentes combinaciones fijas con cantidades distinguidas de los componentes de combinación (a) y (b), es decir, simultáneamente o en diferentes puntos del tiempo. Las partes del kit de partes se pueden administrar entonces, por ejemplo, de una manera simultánea o cronológicamente escalonada, es decir, en diferentes puntos del tiempo y con intervalos de tiempo iguales o diferentes para cualquier parte del kit de partes. La proporción de las

cantidades totales del componente de combinación (a) al componente de combinación (b) para administrarse en la preparación combinada, se puede variar, por ejemplo, con el objeto de tratar con las necesidades de una sub-población de pacientes que se vaya a tratar, o con las necesidades del individuo.

El término "composición farmacéutica", como se utiliza en la presente, se referirá, por ejemplo, a una mezcla que contenga una cantidad especificada de un compuesto terapéutico, por ejemplo, una cantidad de un compuesto terapéutico en un vehículo farmacéuticamente aceptable, para administrarse a un mamífero, por ejemplo, a un ser humano, con el objeto de tratar las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor.

El término "tratar" o "tratamiento", como se utiliza en la presente, comprende el tratamiento que efectúa una demora del progreso de una enfermedad. El término "demora de progreso", como se utiliza en la presente, significa la administración de la combinación a los pacientes que estén en una etapa previa o en una fase temprana de la enfermedad proliferativa que se vaya a tratar, en cuyos pacientes se diagnostique, por ejemplo, una pre-forma de la enfermedad correspondiente, o cuyos pacientes estén en una condición, por ejemplo, durante un tratamiento médico o una condición resultante de un accidente, bajo la cual sea probable que se desarrolle una enfermedad correspondiente.

El término "enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor", como se utiliza en la presente, se define para referirse

a cualquier enfermedad o trastorno proliferativo mencionado en la presente; en particular cualquier enfermedad proliferativa significa que responde a los compuestos referenciados que inhiben la senda de la cinasa mTor, en especial, una enfermedad proliferativa seleccionada a partir de un cáncer o una enfermedad tumoral.

"Terapéuticamente efectiva" o "clínicamente efectiva", de preferencia se refiere a una cantidad que es terapéuticamente, o en un sentido más amplio también profilácticamente, efectiva contra el progreso de una enfermedad proliferativa.

"Conjuntamente activos terapéuticamente" o "efecto terapéutico conjunto" significa que los compuestos se pueden dar por separado (de una manera crónicamente escalonada, en especial de una manera específica de la secuencia) a intervalos de tiempo tales que de preferencia, en el animal de sangre caliente, en especial en el ser humano, que se vaya a tratar, todavía muestren una interacción (de preferencia sinérgica) (efecto terapéutico conjunto). El hecho de que sea éste el caso se puede determinar, entre otras cosas, siguiendo los niveles en sangre, que muestren que ambos compuestos están presentes en la sangre del ser humano que se vaya a tratar, cuando menos durante ciertos intervalos de tiempo.

La presente invención, se refiere a una combinación farmacéutica novedosa, la cual comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando

menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en particular para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, más específicamente de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

Una combinación que comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, será referida posteriormente en la presente como una combinación de la invención.

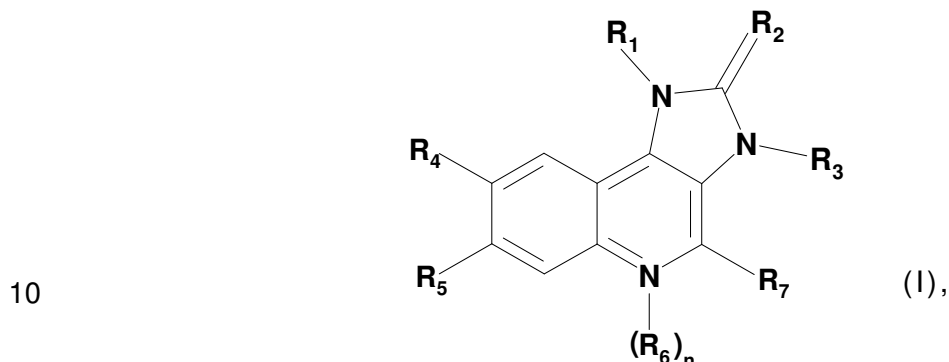
De una manera sorprendente, se ha descubierto que la combinación de bajas cantidades (de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 100 nM, o de aproximadamente 9.5×10^{-8} a

aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de aproximadamente 3 a aproximadamente 315 miligramos/persona) del compuesto de la fórmula (I), con bajas cantidades (de 0.001 nM a aproximadamente 17.8 nM, o de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo, o de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 10 miligramos/sujeto) de cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, tal como everolimus, da como resultado una mejora inesperada en el tratamiento de las enfermedades proliferativas, en particular las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor. Cuando se administra de una manera simultánea, en secuencia, o por separado, el compuesto de la fórmula (I), y el compuesto aloestérico inhibidor de mTor, interactúan de una manera sinérgica para inhibir la fosforilación de 4EBP1 y la proliferación celular. Esta interacción sinérgica inesperada permite que se haga una reducción en la dosis requerida de cada compuesto, conduciendo a una reducción en los efectos secundarios y a un mejoramiento de la efectividad clínica de los compuestos y del tratamiento. La COMBINACIÓN DE LA INVENCION anterior es capaz de mejorar la inhibición de la proliferación de las células de cáncer hasta el intervalo en donde, como un solo agente, solamente se puedan alcanzar dosis altas (de aproximadamente 250 nM a aproximadamente 1000 nM, o de aproximadamente 2.4×10^{-5} a 9.5×10^{-5} moles/kilogramo, o de aproximadamente 784 a 3136 miligramos/sujeto) del compuesto de la fórmula (I).

La determinación de una interacción sinérgica entre uno o más componentes, el intervalo óptimo para el efecto, y las cantidades de dosis absolutas de cada componente para el efecto, se pueden medir definitivamente mediante la administración de los componentes sobre
5 diferentes intervalos de proporción en peso/peso y dosis, a los pacientes que necesiten tratamiento. Para los seres humanos, la complejidad y el costo de llevar a cabo estudios clínicos en los pacientes hace impráctico el uso de esta forma de prueba como un modelo primario para el sinergismo. Sin embargo, la observación del
10 sinergismo en una especie puede ser predictiva del efecto en otra especie, y existen modelos animales, como se describen en la presente, para medir un efecto sinérgico, y los resultados de estos estudios también se pueden utilizar para predecir la dosis efectiva y los intervalos de proporción de concentración en plasma, y la dosis
15 absoluta y las concentraciones en plasma requeridas en otras especies, mediante la aplicación de los métodos farmacocinéticos/farmacodinámicos. Las correlaciones establecidas entre los modelos de tumores y los efectos que se ven en el hombre, sugieren que se puede demostrar el sinergismo en animales, por ejemplo, en el
20 modelo de tumor humano de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23, el modelo de células humanas de cáncer endometrial MFE 296 (el cual lleva ambas mutaciones de PIK3CA y PTEN), y el modelo de células de cáncer endometrial AN3CA, el modelo de células de cáncer de mieloma KMS11 y RPMI 8226, y el modelo de células de
25 cáncer de linfoma de células-B no de Hodgkin GA-10, como se

describe en los Ejemplos más adelante.

La combinación de la invención incluye un inhibidor catalítico de PI3K/mTOR. Los compuestos inhibidores catalíticos de PI3K/mTOR adecuados para la presente invención incluyen los compuestos de la fórmula (I):



en donde:

R_1 es naftilo o fenilo, en donde el fenilo está sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en Halógeno; alquilo inferior insustituido o sustituido por halógeno, ciano, imidazolilo o triazolilo; cicloalquilo; amino sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en alquilo inferior, alquilo inferior-sulfonilo, alcoxilo inferior, y alcoxilo inferior-alquilo inferior-amino; piperazinilo insustituido o sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en alquilo inferior, y alquilo inferior-sulfonilo; 2-oxo-pirrolidinilo; alcoxilo inferior-alquilo inferior; imidazolilo; pirazolilo; y triazolilo;

25 R_2 es O o S;

R₃ es alquilo inferior;

R₄ es piridilo insustituido o sustituido por halógeno, ciano, alquilo inferior, alcoxilo inferior, o piperazinilo insustituido o sustituido por alquilo inferior; pirimidinilo insustituido o sustituido por
5 alcoxilo inferior; quinolinilo insustituido o sustituido por halógeno; quinoxalinilo; o fenilo sustituido con alcoxilo;

R₅ es hidrógeno o halógeno;

n es 0 ó 1;

R₆ es óxido;

10 con la condición de que, si n = 1, el radical portador del átomo de nitrógeno (N) R₆ tiene una carga positiva;

R₇ es hidrógeno o amino;

o un tautómero de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato de los mismos. Estos derivados
15 de imidazoquinolina específicos adecuados para la presente invención, su preparación, y las formulaciones adecuadas farmacéuticas que los contienen, se describen en la Publicación Internacional Número WO2006/122806, la cual se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

20 Los radicales y símbolos, como se utilizan en la definición de un compuesto de la fórmula (I), tienen los significados como se dan a conocer en la Publicación Internacional Número WO2006/122806. Las siguientes definiciones generales se aplicarán en esta memoria descriptiva, a menos que se especifique de otra manera:

25 "Inferior" se referirá a un radical que tiene hasta e incluyendo

un máximo de 7, en especial hasta e incluyendo un máximo de 4 átomos de carbono, siendo los radicales en cuestión, lineales o ramificados con ramificación individual o múltiple.

En una modalidad preferida, alquilo tiene hasta un máximo de 12 átomos de carbono, y es en especial alquilo inferior.

"Alquilo inferior" es de preferencia alquilo con desde e incluyendo 1 hasta e incluyendo 7, de preferencia desde e incluyendo 1 hasta e incluyendo 4 átomos de carbono, y es lineal o ramificado; de preferencia, alquilo inferior es butilo, tal como butilo normal, butilo secundario, isobutilo, butilo terciario, propilo, tal como propilo normal o isopropilo, etilo, o de preferencia metilo.

"Cicloalquilo" es de preferencia cicloalquilo con desde e incluyendo 3 hasta e incluyendo 6 átomos de carbono en el anillo; cicloalquilo es de preferencia ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo.

"Alquilo" que está sustituido por halógeno es de preferencia perfluoro-alquilo, tal como trifluoro-metilo.

"Halógeno" es en especial flúor, cloro, bromo, o yodo, en especial flúor, cloro, o bromo.

Las sales de los compuestos de la fórmula (I) se pueden utilizar de acuerdo con la presente invención. Estas sales se forman, por ejemplo, como las sales de adición de ácido, de preferencia con ácidos orgánicos o inorgánicos, a partir de los compuestos de la fórmula (I) con un átomo de nitrógeno básico, en especial las sales farmacéuticamente aceptables. Los ácidos inorgánicos adecuados

son, por ejemplo, los ácidos de halógeno, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, o ácido fosfórico. Los ácidos orgánicos adecuados son, por ejemplo, los ácidos carboxílicos, fosfónicos, sulfónicos o sulfámicos, por ejemplo ácido acético, ácido propiónico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido malónico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, aminoácidos, tales como ácido glutámico o ácido aspártico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido metilmaleico, ácido ciclohexanocarboxílico, ácido adamantancarboxílico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido ftálico, ácido fenilacético, ácido mandélico, ácido cinámico, ácido metan- o etan-sulfónico, ácido 2-hidroxietan-sulfónico, ácido etan-1,2-disulfónico, ácido bencen-sulfónico, ácido 4-toluen-sulfónico, ácido 2-naftalen-sulfónico, ácido 1,5-naftalen-disulfónico, ácido 2- ó 3-metil-bencen-sulfónico, ácido metil-sulfúrico, ácido etil-sulfúrico, ácido dodecil-sulfúrico, ácido N-ciclohexil-sulfámico, ácido N-metil-, N-etil- o N-propil-sulfámico, u otros ácidos protónicos orgánicos, tales como ácido ascórbico.

Un compuesto preferido de la presente invención es un compuesto - descrito en la Publicación Internacional Número WO2006/122806 - seleccionado a partir del grupo que consiste en:

2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-4-il-2,3-dihidroimidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidroimidazo-

[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

2-{4-[8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-2-oxo-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il]-fenil}-2-metil-propionitrilo;

2-{4-[8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-2-oxo-2,3-dihidro-imidazo-
5 [4,5-c]-quinolin-1-il]-fenil}-2-metil-propionitrilo;

2-metil-2-{4-[3-metil-2-oxo-8-(6-piperazin-1-il-piridin-3-il)-2,3-
dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il]-fenil}-propionitrilo;

2-metil-2-(4-{3-metil-8-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-piridin-4-il]-2-
oxo-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il}-fenil)-propionitrilo;

10 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

2-{4-[8-(2-fluoro-quinolin-3-il)-3-metil-2-oxo-2,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il]-fenil}-2-metil-propionitrilo;

2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-6-il-2,3-dihidro-imidazo-
15 [4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-5-il-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinoxalin-6-il-2,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

20 2-etil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-
c]-quinolin-1-il)-fenil]-butironitrilo;

2-etil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-butironitrilo;

1-[3-fluoro-4-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-
25 1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-fluoro-4-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-[4-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-fenil]-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

5 3-metil-1-[4-(2-oxo-pirrolidin-1-il)-fenil]-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-{4-[Bis-(2-metoxi-etil)-amino]-3-fluoro-fenil}-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 1-{4-[Bis-(2-metoxi-etil)-amino]-3-fluoro-fenil}-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-{4-[Bis-(2-metoxi-etil)-amino]-fenil}-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-{4-[Bis-(2-metoxi-etil)-amino]-fenil}-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 3-metil-1-naftalen-2-il-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-naftalen-2-il-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 1-(2-cloro-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(2-cloro-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-piridin-3-il-1-o-tolil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 3-metil-8-quinolin-3-il-1-o-tolil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-

quinolin-2-ona;

1-(2-etil-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-
quinolin-2-ona;

5 1-(2-etil-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-
c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-piridin-3-il-1-(2-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-quinolin-3-il-1-(2-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 1-(4-fluoro-2-metil-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(4-fluoro-2-metil-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 1-(2-cloro-4-fluoro-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(2-cloro-4-fluoro-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-
c]-quinolin-2-ona;

20 1-(3-cloro-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-
c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-piridin-3-il-1-(3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 3-metil-8-quinolin-3-il-1-(3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(4-metoxi-metil-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(4-metoxi-metil-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

5 1-[2-cloro-4-(2-metoxi-etil)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-
dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[2-cloro-4-(2-metoxi-etil)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-
dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 1-[4-(2-metoxi-etil)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[4-(2-metoxi-etil)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-5-oxi-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

15 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-5-oxi-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

2-[4-(7-fluoro-3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-2-metil-propionitrilo;

20 2-[4-(7-fluoro-3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-2-metil-propionitrilo;

N-metil-N-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-metan-sulfonamida;

Terbutil-éster del ácido metil-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-
2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-carbámico;

25 Metil-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-

quinolin-1-il)-fenil]-amida del ácido etan-sulfónico;

Metil-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-amida del ácido etan-sulfónico;

5 N-etil-N-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-metan-sulfonamida;

N-etil-N-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-metan-sulfonamida;

2-[4-(3-etil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-2-metil-propionitrilo;

10 1-[3-fluoro-4-(4-metan-sulfonil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-fluoro-4-(4-metan-sulfonil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 1-(3-fluoro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-fluoro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 3-metil-1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[2-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 1-[2-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

5 1-(4-imidazol-1-il-2-metil-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(4-imidazol-1-il-2-metil-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 3-metil-1-(4-pirazol-1-il-fenil)-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-(4-pirazol-1-il-fenil)-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-quinolin-3-il-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 3-metil-8-piridin-3-il-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 3-metil-1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-

metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-

metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-

5 trifluoro-metil-fenil]-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-3-

trifluoro-metil-fenil]-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[2-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-8-(6-metoxi-piridin-3-

il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 1-[2-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-quinoxalin-6-il-1,3-

dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-quinolin-3-il-

15 1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-piridin-3-il-

1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-

metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-quinoxalin-6-

il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(*cis*-3,5-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-

25 piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(*cis*-3,5-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(4-etil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

5 1-[3-cloro-4-(4-etil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(4-isopropil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 1-[3-cloro-4-(4-isopropil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(4-isopropil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(4-isopropil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 1-[4-(4-etil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[4-(4-etil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 1-[4-(4-etil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[4-(4-etil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-(6-piperazin-1-il-piridin-3-il)-1-(3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-

dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-imidazol-1-il-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-
5 imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-imidazol-1-il-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

2-metil-2-[4-(3-metil-8-quinolin-3-il-2-tioxo-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo;

10 2-metil-2-{4-[3-metil-8-(2-metil-piridin-4-il)-2-oxo-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il]-fenil}-propionitrilo;

5-{1-[4-(Ciano-dimetil-metil)-fenil]-3-metil-2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo-[4,5-c]-quinolin-8-il}-piridin-2-carbonitrilo;

2-[4-(4-amino-3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-
15 [4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-2-metil-propionitrilo;

1-[4-(3-metil-2-oxo-8-piridin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-ciclopropan-carbonitrilo;

1-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-ciclopropan-carbonitrilo;

20 1-{4-[8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-2-oxo-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il]-fenil}-ciclopropan-carbonitrilo;

1-[3-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;
25

1-[3-cloro-4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-3-metil-8-quinoxalin-6-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-8-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

5 1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-pirimidin-5-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-8-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-pirimidin-5-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-piperazin-1-il-fenil)-3-metil-8-(2-metil-piridin-4-il)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[3-cloro-4-(*cis*-3,5-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 1-[3-cloro-4-(*cis*-3,5-dimetil-piperazin-1-il)-fenil]-8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-[4-(*cis*-3,5-dimetil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 1-[4-(*cis*-3,5-dimetil-piperazin-1-il)-3-trifluoro-metil-fenil]-8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(2-metoxi-pirimidin-5-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-pirimidin-5-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 5-[3-metil-2-oxo-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-2,3-

dihidro-1H-imidazo-[4,5-c]-quinolin-8-il]-piridin-2-carbonitrilo;

3-metil-8-(2-metil-piridin-4-il)-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

5 8-(3,4-dimetossi-fenil)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-piridin-3-il-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-quinolin-3-il-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 8-(6-metossi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(5-metossi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 5-[3-metil-2-oxo-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-2,3-dihidro-1H-imidazo-[4,5-c]-quinolin-8-il]-piridin-2-carbonitrilo;

8-(6-fluoro-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(2,6-dimetossi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 3-metil-8-pirimidin-5-il-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(2-metossi-pirimidin-5-il)-3-metil-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 8-(2,4-dimetossi-pirimidin-5-il)-3-metil-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-(4-pirazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-1-(4-pirazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

5 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-pirazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-pirazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

10 1-(3-cloro-4-[1,2,4]-triazol-1-il-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(3-cloro-4-[1,2,4]-triazol-1-il-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(4-imidazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

15 1-(4-imidazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

1-(4-imidazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

20 1-(4-imidazol-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-8-(5-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-piridin-3-il-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

3-metil-8-quinolin-3-il-1-(4-[1,2,4]-triazol-1-il-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

25 1-(4-imidazol-1-il-metil-fenil)-3-metil-8-piridin-3-il-1,3-dihidro-

imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona; y

1-(4-imidazol-1-il-metil-fenil)-3-metil-8-quinolin-3-il-1,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona;

o un tautómero de los mismos, o una sal farmacéuticamente
5 aceptable, o un hidrato o un solvato de los mismos.

Un compuesto muy preferido de la fórmula (I) de la presente
invención es el 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-
imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (referido como
"Compuesto A" en la presente), y su sal de mono-tosilato. La síntesis
10 del 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-
[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo y su sal de mono-tosilato se
describe, por ejemplo, respectivamente, en la Publicación
Internacional Número WO2006/122806 como los Ejemplos 7 y 152-3.

Otro compuesto muy preferido de la fórmula (I) de la presente
15 invención es la 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-
trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona
(referida como "Compuesto B" en la presente). La síntesis de la 8-(6-
metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-
1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona se describe, por ejemplo,
20 en la Publicación Internacional Número WO2006/122806 como el
Ejemplo 86.

En cada modalidad descrita en la presente, la combinación de
la invención comprende una cantidad del compuesto de la fórmula
(I), o de un tautómero del mismo, o de una sal farmacéuticamente
25 aceptable, o de un hidrato, o de un solvato del mismo, de preferencia

el compuesto A, que está en el intervalo de cualquiera de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, más específicamente de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor. La combinación de la invención puede incluir una cantidad del compuesto de la fórmula (I) que está en el intervalo de aproximadamente 10 a 315 miligramos/sujeto, de 100 a 315 miligramos/sujeto, o de 200 a 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

De conformidad con lo anterior, la cantidad de dosis del compuesto de la fórmula (I), o de un tautómero del mismo, o de una sal farmacéuticamente aceptable, o de un hidrato, o de un solvato del mismo, de preferencia del Compuesto A, en un sujeto que lo necesite, corresponde a una cantidad de dosis de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 100 nM por dosis diaria, de aproximadamente 5 nM a aproximadamente 78 nM por dosis diaria, de aproximadamente 8 nM a aproximadamente 62 nM por dosis diaria, o de aproximadamente 16 nM a aproximadamente 50 nM por dosis diaria.

En una modalidad, la cantidad del compuesto de la fórmula (I), o de un tautómero del mismo, o de una sal farmacéuticamente aceptable, o de un hidrato, o de un solvato del mismo, de preferencia del Compuesto A, puede ser de aproximadamente 9.5×10^{-8}

moles/kilogramo a aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, de aproximadamente 4.8×10^{-7} moles/kilogramo a aproximadamente 7.4×10^{-6} moles/kilogramo, de aproximadamente 7.6×10^{-7} moles/kilogramo a aproximadamente 5.9×10^{-6} moles/kilogramo, o de aproximadamente 1.5×10^{-6} moles/kilogramo a aproximadamente 4.7×10^{-6} moles/kilogramo por dosis diaria.

En una modalidad alternativa, la cantidad de dosis del compuesto de la fórmula (I), o de un tautómero del mismo, o de una sal farmacéuticamente aceptable, o de un hidrato, o de un solvato del mismo, de preferencia del Compuesto A, para un sujeto que lo necesite, puede ser de aproximadamente 3 miligramos/sujeto a aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, de aproximadamente 15 miligramos/sujeto a aproximadamente 245 miligramos/sujeto por dosis diaria, de aproximadamente 25 miligramos/sujeto a aproximadamente 195 miligramos/sujeto por dosis diaria, o de aproximadamente 50 miligramos/sujeto a aproximadamente 157 miligramos/sujeto por dosis diaria. El sujeto que lo necesite es de preferencia un ser humano.

En una modalidad alternativa, la cantidad de dosis del compuesto de la fórmula (I), o de un tautómero del mismo, o de una sal farmacéuticamente aceptable, o de un hidrato, o de un solvato del mismo, de preferencia del Compuesto A, para un sujeto que lo necesite, en donde se estima que el sujeto es de aproximadamente 70 kilogramos, puede ser de aproximadamente 10 a 315 miligramos/sujeto, de 100 a 315 miligramos/sujeto, o de 200 a 315 miligramos/

sujeto por dosis diaria.

La combinación de la invención incluye los compuestos que dirigen, reducen, o inhiben la actividad/función de la cinasa mTor a través del enlace con el sitio de enlace aloestérico del complejo mTORC1. Estos compuestos serán referidos como los “compuestos aloestéricos inhibidores de mTor”. Los inhibidores aloestéricos de mTor adecuados incluyen, por ejemplo:

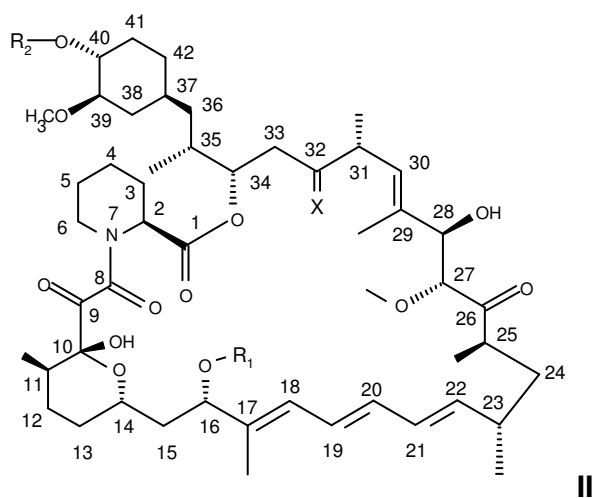
- I. Rapamicina, la cual es un macrólido de lactama inmunosupresor que es producido por *Streptomyces hygroscopicus*.
- II. Derivados de rapamicina, tales como:
 - a. rapamicina sustituida, por ejemplo, una 40-O-rapamicina sustituida, por ejemplo, como se describe en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 5,258,389, en las Publicaciones Internacionales Números WO 94/09010 y WO 92/05179, en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números US 5,118,677, US 5,118,678, US 5,100,883, US 5,151,413, US 5,120,842, y en las Publicaciones Internacionales Números WO 93/11130, WO 94/02136, WO 94/02485 y WO 95/14023, todas las cuales se incorporan a la presente como referencia;
 - b. una 16-O-rapamicina sustituida, por ejemplo, como se da a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO 94/02136, WO 95/16691 y WO 96/41807, el contenido de las cuales se incorpora a la presente como referencia;
 - c. una rapamicina 32-hidrogenada, por ejemplo, como se describe en la Publicación Internacional Número WO 96/41807 y

en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 5,256,790, incorporadas a la presente como referencia.

d. Los derivados de rapamicina preferidos son los compuestos de la fórmula (II):

5

10



en donde:

R_1 es CH_3 o alquilo de 3 a 6 átomos de carbono,

15

R_2 es H o $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$, 3-hidroxi-2-(hidroxi-metil)-2-metil-propanoílo o tetrazolilo, y X es $=\text{O}$, (H,H) o (H,OH);

en el entendido de que R_2 es diferente de H cuando X es $=\text{O}$ y R_1 es CH_3 , o un pro-fármaco de los mismos cuando R_2 es $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$, por ejemplo, un éter fisiológicamente hidrolizable de los mismos.

20

Los compuestos de la fórmula (II) se dan a conocer, por ejemplo, en las Publicaciones Internacionales Números WO 94/09010, WO 95/16691 o WO 96/41807, las cuales se incorporan a la presente como referencia. Se pueden preparar como se da a conocer o por analogía a los procedimientos descritos en estas

25

referencias.

Los compuestos preferidos son: 32-desoxo-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32-desoxo-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro-40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina y, más preferiblemente, 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, dada a conocer como el Ejemplo 8 en la Publicación Internacional Número WO 94/09010.

Los derivados de rapamicina particularmente preferidos de la fórmula (II) son: 40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina, 40-[3-hidroxi-2-(hidroxi-metil)-2-metil-propanoato]-rapamicina (también denominada como CCI779), 40-epi-(tetrazolil)-rapamicina (también denominada como ABT578), 32-desoxo-rapamicina, 16-pent-2-iniloxi-32(S)-dihidro rapamicina, o TAFA-93.

e. Los derivados de rapamicina también incluyen los denominados como rapálogos, por ejemplo, como se da a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO 98/02441 y WO 01/14387, por ejemplo, AP23573, AP23464, o AP23841.

La rapamicina y sus derivados, con base en la actividad observada, por ejemplo, tienen enlace con la macrofilina-12 (también conocida como la proteína de enlace de FK-506 o FKBP-12), por ejemplo, como se describe en las Publicaciones Internacionales Números WO 94/09010, WO 95/16691 o WO 96/41807, y se ha encontrado que son útiles, por ejemplo, como inmunosupresores, por ejemplo, en el tratamiento de rechazo agudo de aloinjerto.

III. Ascomicina, la cual es un análogo etílico de FK506.

IV. AZD08055 y OSI127, los cuales son compuestos que inhiben la actividad de cinasa de mTor mediante su enlace directo con la hendidura de enlace de ATP de la enzima.

5 En una modalidad de la presente invención, la COMBINACIÓN DE LA INVENCION comprende cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor seleccionado a partir del grupo que consiste en: Sirolimus (rapamicina, AY-22989, Wyeth), Everolimus (RAD001, Novartis)), 40-[3-hidroxi-2-(hidroxi-metil)-2-metil-
10 propanoato]-rapamicina (también denominada como Temsirolimus o CCI-779, Wyeth), Deferolimus (AP-23573/MK-8669, Ariad/Merck & Co.), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En la modalidad preferida de la presente invención, la COMBINACIÓN DE LA INVENCION está comprendida del compuesto
15 aloestérico inhibidor de mTor, everolimus. El everolimus (referido como "RAD001" o "PKF-222-6666-NX-2" en la presente), tiene el nombre químico: (1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E, 28E,30S,32S,35R)-1,18-dihidroxi-12-((1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-
hidroxi-etoxi)-3-metoxi-ciclohexil]-1-metil-etil)-19,30-dimetoxi-15,17,
20 21,23,29,35-hexametil-11,36-dioxa-4-aza-triciclo-[30.3.1.04,9]-hexa- triaconta-16,24,26,28-tetraeno-2,3,10,14,20-pentaona ó 40-O-(2-
hidroxi-etil)-rapamicina. El everolimus y sus análogos se describen en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,665,772, en la columna 1, línea 39 a columna 3, línea 1, la cual se
25 incorpora a la presente como referencia en su totalidad. El

everolimus se puede preparar como se da a conocer o por analogía a los procedimientos descritos en esta referencia.

La estructura de los agentes activos identificados por números de código, nombres genéricos o comerciales, se puede tomar de la edición actual del compendio estándar "The Merck Index" o de las bases de datos, por ejemplo, Patents International (por ejemplo, IMS World Publications). El contenido correspondiente de las mismas se incorpora a la presente como referencia.

De la misma manera están comprendidas las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, los racematos correspondientes, diaestereoisómeros, enantiómeros, tautómeros, así como las modificaciones de cristal correspondientes de los compuestos anteriormente dados a conocer, en donde estén presentes, por ejemplo, solvatos, hidratos y polimorfos, los cuales se dan a conocer en las mismas. Los compuestos utilizados como ingredientes activos en las combinaciones de la invención, se pueden preparar y administrar como se describe en los documentos citados, respectivamente. También, dentro del alcance de esta invención, está la combinación de más de dos ingredientes activos separados como se estipula anteriormente, es decir, una combinación farmacéutica dentro del alcance de esta invención podría incluir tres ingredientes activos o más.

Se ha descubierto, de una manera sorprendente, que se logra una interacción sinérgica inesperada entre los compuestos de la fórmula (I) y los inhibidores aloestéricos de mTOR, en particular

RAD001, cuando se combinan cantidades de dosis bajas de los compuestos de la fórmula (I) con los inhibidores aloestéricos de mTOR. La combinación de la invención puede comprender una cantidad de dosis de everolimus (RAD001), la cual comprende menos
5 o igual a 10 miligramos/sujeto (por ejemplo, 8 miligramos/sujeto, 5 miligramos/sujeto, 2.5 miligramos/sujeto, 1 miligramo/sujeto) por dosis diaria.

La combinación de la invención puede comprender una cantidad de dosis del compuesto inhibidor aloestérico de mTor, en particular everolimus (RAD001), que es de aproximadamente 0.001
10 nM a aproximadamente 17.8 nM, o de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo, o de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria, para el tratamiento de una
15 enfermedad proliferativa.

De conformidad con lo anterior, la cantidad de dosis del compuesto inhibidor aloestérico de mTor, en particular everolimus (RAD001), administrada a un sujeto que lo necesite, corresponde a una cantidad de dosis de 0.001 nM a aproximadamente 17.8 nM por
20 dosis diaria, de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 10nM por dosis diaria, o de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 1 nM por dosis diaria. De una manera muy preferible, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor es de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 1 nM
25 por dosis diaria.

En una modalidad, la cantidad de dosis del compuesto inhibidor aloestérico de mTor, en particular everolimus (RAD001), puede ser de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo por dosis diaria, de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 8.5×10^{-8} moles/kilogramo por dosis diaria, o de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 8.5×10^{-9} moles/kilogramo por dosis diaria. De una manera muy preferible, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor es de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 8.5×10^{-9} por dosis diaria.

En una modalidad alternativa, la cantidad de dosis del compuesto inhibidor aloestérico de mTor, en particular everolimus (RAD001), administrada a un sujeto que lo necesite, puede ser de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria, de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 5.6 miligramos/sujeto por dosis diaria, o de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 0.56 miligramos/sujeto por dosis diaria. De una manera muy preferible, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor es de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 0.56 miligramos/sujeto por dosis diaria. El sujeto que lo necesite es de preferencia un ser humano.

En una modalidad preferida, la combinación de la invención

pertenece a una combinación farmacéutica que comprende: (a) el Compuesto A o su sal de mono-tosilato, y (b) el compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), en donde el Compuesto A se proporciona en una cantidad de entre
5 aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, para el tratamiento de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor. En una
10 modalidad adicional, el compuesto aloestérico inhibidor de mTor se proporciona en una cantidad terapéuticamente efectiva de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 17.8 nM, o de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo, o de aproximadamente 0.00056 miligramos/
15 sujeto a aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria.

En una modalidad adicional, la cantidad de dosis del Compuesto A corresponde a una cantidad de dosis de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 100 nM por dosis diaria, de aproximadamente 5 nM a aproximadamente 78 nM por dosis
20 diaria, de aproximadamente 8 nM a aproximadamente 62 nM por dosis diaria, o de aproximadamente 16 nM a aproximadamente 50 nM por dosis diaria.

En una modalidad adicional, la cantidad de dosis del Compuesto A puede ser de aproximadamente 9.5×10^{-8} moles/
25 kilogramo a aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, de

aproximadamente 4.8×10^{-7} moles/kilogramo a aproximadamente 7.4×10^{-6} moles/kilogramo, de aproximadamente 7.6×10^{-7} moles/kilogramo a aproximadamente 5.9×10^{-6} moles/kilogramo, o de aproximadamente 1.5×10^{-6} moles/kilogramo a aproximadamente 4.7×10^{-6} moles/kilogramo por dosis diaria.

En una modalidad alternativa, la cantidad de dosis del Compuesto A puede ser de aproximadamente 3 miligramos/sujeto a aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, de aproximadamente 15 miligramos/sujeto a aproximadamente 245 miligramos/sujeto por dosis diaria, de aproximadamente 25 miligramos/sujeto a aproximadamente 195 miligramos/sujeto por dosis diaria, o de aproximadamente 50 miligramos/sujeto a aproximadamente 157 miligramos/sujeto por dosis diaria. El sujeto que lo necesita es de preferencia un ser humano.

En una modalidad alternativa, la cantidad de dosis del Compuesto A puede ser de aproximadamente 10 a 315 miligramos/sujeto, de 100 a 315 miligramos/sujeto, o de 200 a 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

En una modalidad adicional, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), administrada a un sujeto que lo necesite, corresponde a una cantidad de dosis de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 17.8 nM por dosis diaria, de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 10nM por dosis diaria, o de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 1 nM por dosis diaria. De una manera muy

preferible, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor es de aproximadamente 0.001 nM a aproximadamente 1 nM por dosis diaria.

En una modalidad, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), puede ser de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo por dosis diaria, de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 8.5×10^{-8} moles/kilogramo por dosis diaria, o de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 8.5×10^{-9} moles/kilogramo por dosis diaria. De una manera muy preferible, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor es de aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo a aproximadamente 8.5×10^{-9} por dosis diaria.

En una modalidad alternativa, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor, everolimus (RAD001), en un sujeto que lo necesite, en donde se estima que el sujeto es de aproximadamente 70 kilogramos, puede ser de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria, de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 5.6 miligramos/sujeto por dosis diaria, o de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 0.56 miligramos/sujeto por dosis diaria. De una manera muy preferible, la cantidad de dosis del compuesto aloestérico inhibidor de mTor es de aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto a aproximadamente 0.56 miligramos/sujeto por dosis diaria. El sujeto

que lo necesita es de preferencia un ser humano.

De acuerdo con la presente invención, la combinación de la invención, se puede utilizar para el tratamiento de una enfermedad proliferativa, en particular de una enfermedad proliferativa
5 dependiente de la cinasa mTor.

Las “enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor” incluyen, pero no se restringen a, enfermedades proliferativas, incluyendo cánceres y otras malignidades relacionadas, asociadas con las cascadas de señalización de mTor patológicas. Una lista no
10 limitante de los cánceres asociados con las cascadas de señalización de mTor patológicas incluyen cáncer pulmonar no microcelular, cáncer endometrial, mieloma múltiple, linfoma de células-B no de Hodgkin, cáncer colo-rectal, cáncer de mama, carcinoma de células renales, tumores gástricos, tumores
15 neuroendocrinos, linfomas, y cáncer de próstata.

Las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor preferidas son de mama, glioblastomas, cáncer pulmonar no microcelular, cáncer endometrial, mieloma múltiple, y linfoma de células-B no de Hodgkin.

20 Otros ejemplos de enfermedades proliferativas son, por ejemplo, tumor benigno o maligno, carcinoma del cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, estómago, ovarios, colon, recto, páncreas, pulmón (por ejemplo, cáncer pulmonar no microcelular), endometrial, linfoma de células-B no de Hodgkin, vagina o tiroides,
25 sarcoma, glioblastomas, mieloma múltiple o cáncer gastrointestinal

gástrico, en especial carcinoma de colon o adenoma colo-rectal, o un tumor de cuello y cabeza, una hiper-proliferación epidérmica, soriasis, hiperplasia de próstata, neuroendicrina, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, linfomas, un carcinoma mamario, o una leucemia.

En una modalidad, la presente invención, se refiere al uso de una combinación farmacéutica que comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para el tratamiento o la prevención de una enfermedad proliferativa, en particular una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

En otra modalidad, la presente invención, se refiere al uso de una combinación farmacéutica que comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente

aceptable, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad proliferativa, en particular una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/ kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para el tratamiento o la prevención de una enfermedad proliferativa, el cual comprende administrar: (a) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), o de un tautómero del mismo, o de una sal farmacéuticamente aceptable, o de un hidrato, o de un solvato del mismo, y (b) una cantidad terapéuticamente efectiva de cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, a un sujeto que lo necesite, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una combinación que comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), o

un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor seleccionado a partir del grupo que consiste en rapamicina RAD (sirolimus), y los derivados/análogos de la misma, tales como everolimus (o RAD001); CCI-779 y Deferolimus (AP-23573/MK-8669) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, para el tratamiento de las enfermedades proliferativas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para mejorar la eficacia del tratamiento de las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor, mediante la administración de: (a) un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, a un sujeto que lo necesite, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y

aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

5 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una combinación farmacéutica para su administración a seres humanos, la cual comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, como se describe anteriormente, en
10 de aproximadamente el 0.31 por ciento a aproximadamente el 31 por ciento, de aproximadamente el 1.6 por ciento a aproximadamente el 24.4 por ciento, de aproximadamente el 2.5 por ciento a aproximadamente el 19.4 por ciento, o de aproximadamente el 5.0 por ciento a aproximadamente el 15.6 por ciento de la máxima dosis
15 tolerable (MTD), y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor del mismo en de aproximadamente el 0.006 por ciento al 100 por ciento, de aproximadamente el 0.006 por ciento a aproximadamente el 56.3 por ciento, de aproximadamente el 0.006 por ciento a aproximadamente el 5.6 por ciento de la máxima dosis
20 tolerable (MTD). En una modalidad preferida, el compuesto de la fórmula (I) es el compuesto que se dosifica en aproximadamente el 30 por ciento de la máxima dosis tolerable (MTD), y el compuesto aloestérico inhibidor de mTor se dosifica en aproximadamente el 5.6 por ciento de la máxima dosis tolerable (MTD). En la modalidad más
25 preferida, el compuesto de la fórmula (I) es el compuesto que se

dosifica en aproximadamente el 30 por ciento de la máxima dosis tolerable (MTD), y el compuesto aloestérico inhibidor de mTor es everolimus (RAD001) dosificado en el 5.6 por ciento de la máxima dosis tolerable (MTD). La máxima dosis tolerable (MTD) corresponde
5 a la dosis más alta de un medicamento que se puede dar sin efectos secundarios inaceptables. Está dentro de la técnica la determinación de la máxima dosis tolerable (MTD). Por ejemplo, la máxima dosis tolerable (MTD) se puede determinar de una manera adecuada en un estudio en Fase I, que incluye una escala de la dosis, para
10 caracterizar las toxicidades limitantes de la dosis y para determinar el nivel tolerado de dosis biológicamente activa.

En un aspecto de la invención, la presente invención pertenece a una combinación farmacéutica, tal como a una preparación combinada o a una composición farmacéutica, la cual comprende: (a)
15 un compuesto de la fórmula (I), y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en particular para el tratamiento de las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa del objetivo
20 de mamífero de rapamicina (mTOR), en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente
25 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

En una modalidad preferida, el compuesto de la fórmula (I) es el 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (Compuesto A), o su sal de mono-tosilato.

5 En una modalidad adicional, el compuesto de la fórmula (I) es la 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona (Compuesto B).

En una modalidad adicional de la presente invención, el compuesto aloestérico inhibidor de mTor se selecciona a partir del grupo que consiste en la rapamicina RAD (sirolimus), y los derivados/análogos de la misma, tales como everolimus (o RAD001); CCI-779 y Deferolimus (AP-23573/MK-8669), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. El compuesto inhibidor aloestérico de mTor particularmente preferido de acuerdo con la presente invención, es everolimus.

10

15

En una modalidad preferida de la presente invención, el compuesto de la fórmula (I) es el 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (Compuesto A), o su sal de mono-tosilato, y el compuesto aloestérico inhibidor de mTor es everolimus (RAD001).

20

Las composiciones farmacéuticas o la combinación de acuerdo con la presente invención, se pueden probar en estudios clínicos. Los estudios clínicos adecuados pueden ser, por ejemplo, los estudios de escala de dosis, de etiqueta abierta, en pacientes con enfermedades proliferativas. Estos estudios prueban en particular el

25

sinergismo de los ingredientes activos de la combinación de la invención. Los efectos benéficos, por ejemplo, el sinergismo, sobre las enfermedades proliferativas, se pueden determinar directamente a través de los resultados de estos estudios, los cuales son conocidos como tales por una persona experta en este campo. Estos estudios pueden ser, en particular, adecuados para comparar los efectos de una monoterapia utilizando los ingredientes activos y una combinación de la invención. Cada paciente puede recibir dosis del agente (a) ya sea diariamente, o bien de una forma intermitente. La eficacia del tratamiento se puede determinar en estos estudios, por ejemplo, después de 12, 18 ó 24 semanas, mediante la evaluación de los puntajes de síntomas cada 6 semanas.

La administración de una combinación farmacéutica de la invención puede dar como resultado no solamente un efecto benéfico, por ejemplo, un efecto terapéutico sinérgico, por ejemplo, con respecto a aliviar, demorar el progreso de, o inhibir, los síntomas, sino también efectos benéficos adicionales sorprendentes, por ejemplo, más pocos efectos secundarios, una mejor calidad de vida, o una patología reducida, comparándose con una monoterapia que aplique solamente uno de los ingredientes farmacéuticamente activos utilizados en la combinación de la invención.

Es un objetivo de esta invención proporcionar una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad que puede ser conjuntamente efectiva terapéuticamente para resolver o prevenir las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor, de una

combinación de la invención. En esta composición, el agente (a) y el agente (b) se pueden administrar juntos, uno después del otro, o por separado, en una forma de dosificación unitaria combinada, o en dos formas de dosificación unitaria separadas. La forma de dosificación unitaria también puede ser una combinación fija.

Las composiciones farmacéuticas para la administración separada del componente de combinación (a) y el componente de combinación (b), o para la administración en una combinación fija, es decir, una sola composición galénica que comprende cuando menos dos componentes de combinación (a) y (b), de acuerdo con la invención, se pueden preparar de una manera conocida por sí misma, y son aquéllas adecuadas para su administración enteral, tal como oral o rectal, y parenteral a mamíferos (animales de sangre caliente), incluyendo a seres humanos, las cuales comprenden una cantidad de cuando menos un componente de combinación farmacológicamente activo solo, por ejemplo, como se indica anteriormente, o en combinación con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, en especial adecuados para la aplicación enteral o parenteral.

Las preparaciones farmacéuticas para la terapia de combinación para su administración enteral o parenteral son, por ejemplo, aquéllas que están en formas de dosificación unitaria, tales como tabletas recubiertas con azúcar, tabletas, cápsulas o supositorios, o ampolletas. Si no se indica de otra manera, éstas se preparan de una manera conocida por sí misma, por ejemplo, por

medio de los procesos convencionales de mezcla, granulación, recubrimiento con azúcar, disolución, o liofilización. Se apreciará que el contenido unitario de un componente de combinación contenido en una dosis individual de cada forma de dosificación no
5 necesita constituir por sí mismo una cantidad efectiva debido a que se puede alcanzar la cantidad efectiva necesaria mediante la administración de una pluralidad de unidades de dosificación.

En la preparación de las composiciones para la forma de dosificación oral, se pueden agregar cualesquiera vehículos o
10 excipientes farmacéuticamente aceptables típicos a los componentes de la composición, los cuales pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida comprenden, por ejemplo, polvos, cápsulas y tabletas. Los ejemplos del vehículo farmacéuticamente aceptable incluyen agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes
15 saborizantes, conservadores, agentes colorantes; o vehículos tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes, y similares, en el caso de las preparaciones sólidas orales, prefiriéndose las preparaciones orales sólidas sobre las
20 preparaciones líquidas. Debido a su facilidad de administración, las tabletas y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más conveniente, en cuyo caso, obviamente se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto inhibidor catalítico de PI3K/mTOR de la
25 fórmula (I), y más preferiblemente el Compuesto A, en asociación

con cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, se pueden elaborar de una manera convencional, mezclando con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las preparaciones en forma líquida comprenden soluciones,
5 suspensiones, y emulsiones. Las composiciones líquidas se pueden formular en solución mediante la disolución del componente activo en agua, y la adición de colorantes, agentes saborizantes, estabilizantes, y agentes espesantes adecuados, según sea deseado. Las suspensiones acuosas para uso oral se pueden hacer
10 mediante la dispersión del componente activo finamente dividido en agua, junto con un material viscoso, tal como gomas sintéticos naturales, resinas, metil-celulosa, y otros agentes de suspensión conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica.

En particular, se puede administrar cualquier cantidad de cada
15 uno de los componentes de la combinación de la invención, de una manera simultánea o en secuencia y en cualquier orden, y los componentes se pueden administrar por separado o como una combinación fija. Por ejemplo, el método para prevenir o tratar una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor de acuerdo
20 con la invención puede comprender: (i) la administración del componente de combinación (a) en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, y (ii) la administración de un componente de combinación (b) en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, de una manera simultánea o en
25 secuencia, en cualquier orden, en cantidades conjuntamente

efectivas, de preferencia en cantidades sinérgicamente efectivas, por ejemplo, en dosificaciones diarias o intermitentes correspondientes a las cantidades descritas en la presente. Los componentes de combinación individuales de la combinación de la invención, se pueden administrar por separado en diferentes tiempos durante el curso de la terapia, o de una manera concurrente en formas de combinación divididas o individuales. Adicionalmente, el término “administración” también abarca el uso de un pro-fármaco de un componente de combinación que se convierte *in vivo* hasta el componente de combinación como tal. Por consiguiente, se debe entender que la presente invención abarca todos los regímenes de tratamiento simultáneo o alternado, y el término “administración” se debe interpretar de conformidad con lo anterior. Además, el término “dosis diaria” abarca la cantidad de los componentes de combinación individuales de la combinación de la invención, así como por separado en diferentes tiempos durante el curso de la terapia, o de una manera concurrente en formas unitarias de dosis divididas o individuales, administradas de tal forma que es igual o equivalente a la cantidad especificada durante cualquier período de 24 horas.

La dosificación efectiva de cada uno de los componentes de combinación empleados en la combinación de la invención puede variar dependiendo del compuesto o de la composición farmacéutica particular empleada, del modo de administración, de la condición que se esté tratando, y de la gravedad de la condición que se esté tratando. Por consiguiente, el régimen de dosificación de la

combinación de la invención, se selecciona de acuerdo con una variedad de factores, incluyendo la vía de administración y la función renal y hepática del paciente. Un clínico o médico de una experiencia ordinaria puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad efectiva de los ingredientes activos individuales requeridos para aliviar, contrarrestar, o detener el progreso de la condición. La precisión óptima para alcanzar la concentración de los ingredientes activos dentro del intervalo que proporcione la eficacia sin toxicidad requiere un régimen basado en la cinética de la disponibilidad de los ingredientes activos para los sitios objetivo.

En otra modalidad, la invención pertenece a un kit de partes, el cual comprende una composición farmacéutica, la cual comprende: (a) un compuesto de la fórmula (I), y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, junto con instrucciones sobre la manera de administrar esa composición farmacéutica, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria. Estas instrucciones explicarán con detalle el régimen de dosificación en el que se deba administrar la combinación.

En una modalidad, la invención pertenece a un kit de partes, el cual comprende una composición farmacéutica, la cual comprende el Compuesto A, y cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de

mTor, de preferencia everolimus (RAD001), junto con instrucciones sobre la manera de administrar esa composición farmacéutica, en donde se administra el Compuesto A a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 5 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria. Estas instrucciones explicarán con detalle el régimen de dosificación en el que se deba administrar la combinación.

10 La presente invención proporciona además un paquete comercial que comprende, como ingredientes activos, la combinación de la invención, junto con instrucciones para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en la demora del progreso o en el tratamiento de una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa 15 mTor.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención descrita anteriormente; sin embargo, no pretenden limitar el alcance de la invención de ninguna manera. Los efectos benéficos de la combinación farmacéutica de la presente invención también se 20 pueden determinar mediante otros modelos de prueba conocidos como tales por la persona experta en la técnica pertinente.

Ejemplo 1

Material y Métodos

Las líneas celulares utilizadas en este estudio se adquirieron 25 en la American Type Cell Collection, incluyendo la línea de células

de cáncer pulmonar no microcelular NCI-H23 (la cual lleva ambas mutaciones de KRAS y LKB1), las líneas celulares tumorales endometriales MFE 296 (las cuales llevan ambas mutaciones de PIK3CA y PTEN), y AN 3CA (la cual lleva ambas mutaciones de FGFR2 y PTEN), las líneas celulares de mieloma múltiple KMS 11 (las cuales llevan mutaciones de FGFR3), y la línea de linfoma de células-B no de Hodgkin GA-10 en RPMI 8226. Todas las líneas celulares se cultivaron a 37°C en una incubadora con CO₂ al 5 por ciento en un medio de RPMI 1640 (ATCC #30-2001) complementado con suero bovino fetal al 10 por ciento, 2 milimoles/litro de glutamina, y piruvato de sodio al 1 por ciento.

Ensayo de proliferación celular: Se determinó la viabilidad celular mediante la medición del contenido de ATP celular utilizando el Ensayo de Viabilidad Celular Luminiscente CellTiter-Glo® (Promega #G7573) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Dicho de una manera breve, se aplicaron de 1,500 a 50,000 células en placas ya sea de 384 o de 96 pozos, en 30 microlitros (384 pozos) o en 100 microlitros (96 pozos) del medio de crecimiento; las células se dejaron adherirse durante la noche, seguido por 72 horas de incubación con diferentes concentraciones de fármacos o de combinaciones de fármacos (10 microlitros por pozo en las placas de 384 pozos); al final del tratamiento con el fármaco, se agregaron 30 microlitros del reactivo CellTiter-Glo a cada pozo (placas de 384 pozos) para lisar las células, y se registraron las señales de luminiscencia en un lector de placas Envision.

Ensayo de toma de imágenes automatizada (o ensayo de alto contenido) para pS6 S240/244 y p4EBP1 T37/46: Se sembraron $2-4 \times 10^3$ células en placas negras de 384 pozos de fondo transparente (Greiner #781091) en 30 microlitros por pozo del medio de crecimiento, 24 horas antes del tratamiento. Los compuestos se agregaron a las células en 10 microlitros del medio de crecimiento, y se incubaron durante la noche; las células se fijaron entonces mediante la adición de 10 microlitros por pozo de fijador de Mirsky (National Diagnostics # HS-102) durante 1 hora, se lavaron siete veces con 30 microlitros/pozo de regulador TBS utilizando un lavador de placas BioTek, y se bloquearon con 100 microlitros/pozo de regulador de bloqueo (TBS con albúmina de suero bovino (BSA) al 0.1 por ciento, y Triton X-100 al 0.1 por ciento). El anticuerpo anti-Ser 240/244-RPS6 (CST #4838, dilución a 1:150) o el anticuerpo anti-Thr 37/46-p4EBP1 (CST #2855, dilución a 1:150) se incubaron entonces durante la noche a 4°C. Después de lavar siete veces con TBS, las células se tiñeron con el segundo anticuerpo de IgG de cabra anti-conejo conjugado con Cy5 (Millipore #AP187S, dilución a 1:150), y teñido del ADN con el tinte Hoechst 33342 durante 1.5 horas. Se tomaron las imágenes de las señales del fosfo-S6 y del fosfo-4EBP1 utilizando el Analizador InCell 1000 (BN_teñido_protocolo_10x) a una amplificación 10x, a 3 campos por pozo, después de lavarse siete veces con TBS. Para la señal Hoechst 33342: las longitudes de onda de excitación y emisión son

de 360 nanómetros (filtro D360_40x), y de 460 nanómetros (filtro HQ460_40M), respectivamente, y para Cy5, de 620 nanómetros (filtro HQ620_60x) para ambas longitudes de onda de excitación y emisión. El análisis de las imágenes se hizo utilizando el software InCell Investigator.

Método para calcular el efecto de la combinación: Con el fin de evaluar el efecto de la combinación de everolimus y el Compuesto A de una manera no forzada, y de identificar el efecto sinérgico en todas las concentraciones posibles, se condujeron los estudios de la combinación con una "matriz de dosis", en donde se prueba una combinación en todas las posibles permutaciones de dosis diluidas en serie del agente individual de everolimus y el Compuesto A, en todos los ensayos de combinación, los compuestos se aplicaron de una manera simultánea. Las curvas de respuesta a la dosis del agente individual, la IC_{50} , la IC_{90} , y el sinergismo, se analizan todos utilizando el software Chalice (CombinatoRx, Cambridge, MA). El sinergismo se calculó mediante la comparación de la respuesta a una combinación con aquéllas de sus agentes individuales, contra el modelo de referencia de dosis aditiva del fármaco consigo mismo. Las desviaciones de la aditividad de la dosis se pueden evaluar visualmente en un Isoblograma, o numéricamente con un Índice de Combinación. El exceso de inhibición comparado con la aditividad también se puede graficar como un diagrama de matriz de dosis completa, para capturar el lugar en el que se presentan los sinergismos. Con el fin de cuantificar la fuerza global de los efectos

de la combinación, también se calcula un puntaje del volumen $V_{HSA} = \sum_{X,Y} \ln f_X \ln f_Y (I_{\text{datos}} - I_{HSA})$, entre los datos y la superficie del agente individual más alto, normalizado para los factores de dilución del agente individual f_X, f_Y [ref].

5 **Resultados:**

A. Efecto de la combinación en el modelo de células humanas de cáncer pulmonar no microcelular (NSCLC) NCI-H23

Señal de p4EBP1: El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes, sobre la
 10 señal de p4EBP1, se evaluó utilizando el ensayo de alto contenido de p4EBP1 T37/46 descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 3,000 células por pozo en placas de 384 pozos por cuadruplicado, y se trataron con el compuesto durante 18 horas antes de la medición (Figuras 1 y 2). En este estudio de "matriz de dosis", el everolimus
 15 se sometió a una dilución en serie de 5 dosis 4X con la dosis alta a 1.2 μM y la dosis baja a aproximadamente 5 nM, y el Compuesto A se sometió a una dilución en serie de 9 dosis 2X con la dosis alta a 1.2 μM y la dosis baja a aproximadamente 5 nM. El Compuesto A solo provocó una reducción dependiente de la concentración de la
 20 señal de p4EBP1 ($\text{IC}_{50} = 10 \text{ nM}$, y $\text{IC}_{90} = 80 \text{ nM}$), y la reducción de la señal llegó a una planicie en concentraciones de 156 nM y mayores, en donde evidentemente se logra una inhibición completa; el everolimus como un solo agente, solamente ejerció un efecto muy marginal sobre las señales de p4EBP1 en todas las concentraciones
 25 probadas (de 5 nM a 1.2 μM , una reducción de señal de

aproximadamente el 30 por ciento). Esto es consistente con los reportes anteriores de que la fosforilación de los residuos de 4EBP1 T37/46, que tiene una función clave en la regulación de la traducción dependiente de cap, solamente se puede modular mediante los inhibidores catalíticos de mTOR, pero no mediante los inhibidores aloestéricos como everolimus. El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A ha mejorado notoriamente el efecto inhibidor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 5 nM a 1.2 μ M, o de 0.042 a 10.08 nanomolar/kilogramo, o de 2.82 a 676.44 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 5 nM a 78 nM, o de 0.47 a 7.44 nanomolar/kilogramo, o de 15.68 a 244.62 miligramos/persona), en concentraciones más altas del Compuesto A (de 156 nM a 1.2 μ M, o de 14.88 a 114.50 nanomolar/kilogramo, ó de 489.24 a 3763.44 miligramos/persona), la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A, cuando se ha alcanzado el máximo efecto. Basándose en este patrón, el efecto sinérgico observado se puede clasificar como de “dispersión de la dosis” para el Compuesto A, en lugar del “refuerzo del efecto global”: tan poco como 5 nM de everolimus puede cambiar la IC₉₀ para el Compuesto A desde 80 nM hasta 5 nM, logrando una reducción de 16 veces.

Señal de pS6 S240/244: El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes, sobre la señal de pS6, se evaluó utilizando el ensayo de alto contenido de

pS6 S240/244 descrito anteriormente. El establecimiento del experimento es idéntico al ensayo de p4EBP1 utilizado para el modelo de células NCI-H23. (Figuras 3 y 4). Y se aplicó la misma “matriz de dosis” (everolimus: 5 dosis, 4X, de 1.2 μ M a 5 nM; 5 Compuesto A: 9 dosis, 2X, de 1.2 μ M a 5 nM). A diferencia de la inhibición sobre p4EBP1, tanto el Compuesto A como el everolimus, como los agentes individuales, desplazaron un efecto inhibitor muy potente sobre la señal de pS6: la IC_{50} para el Compuesto A es de 5 nM, y la IC_{90} es de aproximadamente 20 nM, mientras que la IC_{50} 10 del everolimus es <5 nM, y la IC_{90} es de aproximadamente 10 nM. Los tratamientos concomitantes con everolimus/Compuesto A no dieron como resultado una mejor inhibición, en especial comparándose con el tratamiento con el agente individual de everolimus.

15 Proliferación celular: El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes, sobre la proliferación celular, se evaluó utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG) descrito anteriormente. El establecimiento del experimento es idéntico al ensayo de alto contenido de p4EBP1, como se utiliza para 20 el modelo de células NCI-H23. (Figura 5). Y se aplicó la misma “matriz de dosis” (everolimus: 5 dosis, 4X, de 1.2 μ M a 5 nM, Compuesto A: 9 dosis, 2X, de 1.2 μ M a 5 nM). El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración con una IC_{50} = 78 nM, y A_{max} , la máxima fracción de 25 inhibición = 0.7 (inhibición del crecimiento del 70 por ciento,

comparándose con el control de sulfóxido de dimetilo control (DMSO)); el everolimus solamente desplazó un efecto inhibitor del crecimiento menor sobre la proliferación celular como un solo agente, y nunca alcanzó una IC_{50} y $A_{max} = 0.3$. El tratamiento

5 concomitante con everolimus/Compuesto A ha potenciado dramáticamente el efecto inhibitor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 5 nM a 1.2 μ M o de 0.042 a 10.08 nanomolar/kilogramo, o de 2.82 a 676.44 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 5 nM a 78 nM, o de 0.47

10 a 7.44 nanomolar/kilogramo, o de 15.68 a 244.62 miligramos/persona); en concentraciones más altas del Compuesto A (de 156 nM a 1.2 μ M, o de 14.88 a 114.50 nanomolar/kilogramo, ó de 489.24 a 3763.44 miligramos/persona), la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente

15 individual del Compuesto A. Este patrón es altamente similar al patrón sinérgico de la inhibición de p4EBP1: las áreas de beneficio de la combinación casi se traslapan una con la otra, indicando que la inhibición sinérgica de p4EBP1 es cuando menos parte (si no es que todo) del mecanismo subyacente para el sinergismo observado sobre

20 la inhibición del crecimiento. Y, como se discute anteriormente, este beneficio de la combinación se debe categorizar como la “dispersión de la dosis” para el Compuesto A en lugar del “refuerzo del efecto global”: tan poco como 5 nM de everolimus puede lograr una reducción de 8 veces sobre la IC_{50} (de 80 nM a 10 nM), mientras que

25 los efectos de la combinación en todas las dosis nunca excedieron el

efecto de la dosis individual del Compuesto A en una alta concentración (1.2 μ M).

Para investigar adicionalmente el efecto del tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A sobre la proliferación celular en concentraciones todavía más bajas de everolimus y el Compuesto A (la combinación 5 nM de everolimus y el Compuesto A ya evidenció ser altamente sinérgica, como se resume en los resultados de la proliferación celular anteriores para el modelo de células de cáncer NCI-H23). Se condujo otro experimento para evaluar el efecto de la combinación utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG), y esta vez, las células se aplicaron en placas de 384 pozos a 1,000 células/pozo por triplicado, y se trataron con el compuesto durante 72 horas antes de la medición (Figura 6). En este estudio extendido de "matriz de dosis", el everolimus se sometió a una dilución en serie de 11 dosis 4X con la dosis más alta a 1 μ M, y la dosis baja a aproximadamente 1 pM, y el Compuesto A se sometió a una dilución en serie de 9 dosis 4X con la dosis alta a 1 μ M, y la dosis baja a aproximadamente 16 pM. Las actividades de los agentes individuales tanto para el Compuesto A como para el everolimus, son consistentes con lo que se ha observado in los resultados de la proliferación celular anteriores para el modelo de células de cáncer NCI-H23: El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración (IC_{50} = 80 nM, A_{max} = 0.7), y el everolimus tuvo solamente un efecto inhibidor del crecimiento menor como un solo agente (IC_{50} > 1 μ M, y A_{max} = 0.3);

sin embargo, la adición de everolimus al Compuesto A en dosis baja (de 1 a 62 nM, o de 0.095 a 5.91 nanomolar/kilogramo, ó de 3.14 a 194.44 miligramos/persona) fue capaz de reforzar de una manera significativa el efecto anti-proliferativo del Compuesto A hasta un

5 grado que es comparable con el Compuesto A en dosis alta (de 250 nM a 1 μ M, o de 23.85 a 95.41 nanomolar/kilogramo, o de 784.05 a 3136.20 miligramos/persona); la combinación en una cantidad sub-nanomolar (de 16 pM a 250 pM) del Compuesto A, o la dosis más alta (de 250 a 1 μ M) del Compuesto A no proporcionó ningún

10 beneficio comparándose con el agente individual del Compuesto A. La cantidad de everolimus necesaria para lograr la dispersión de la dosis del Compuesto A también es asombrosamente baja, tan poco como de 1 pM, o de 0.0000084 nanomolar/kilogramo, o de 0.00056 miligramos/persona de everolimus parece ser comparable con la

15 cantidad en μ M de everolimus en términos de alcanzar una escala similar de sinergismo con el Compuesto A, sugiriendo que prácticamente, se puede agregar una cantidad de traza de everolimus (sub-nanomolar o incluso picomolar, de 1 pM a 1 nM, o de 0.0000084 a 0.0084 nanomolar/kilogramo, o de 0.00056 a 0.56

20 miligramos/persona) hasta una cantidad sub-óptima del Compuesto A (de aproximadamente 1 a 100 nM, o de 0.095 a 9.54 nanomolar/kilogramo, ó de 3.14 a 313.62 miligramos/persona) para potenciar el efecto del Compuesto A sobre la inhibición completa de la actividad de mTORC1 y subsiguientemente, una mejor inhibición sobre la

25 inhibición del crecimiento.

B. Efecto de la combinación en el modelo de células humanas de cáncer endometrial MFE 296

Señal de p4EBP1: El efecto del tratamiento con everolimus/

5 Compuesto A en un solo agente y concomitantes, sobre la señal de p4EBP1, se evaluó utilizando el ensayo de alto contenido de p4EBP1 T37/46 descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 4,000 células/pozo en placas de 384 pozos por duplicado, y se trataron con el compuesto durante 18 horas antes de la medición (Figura 7). De

10 una manera similar al estudio de "matriz de dosis" llevado a cabo para el modelo de células de cáncer NCI-H23, en este estudio de "matriz de dosis", el everolimus se sometió a una dilución en serie de 11 dosis 4X con la dosis alta a 500 nM, y la dosis baja a aproximadamente 0.25 pM, y el Compuesto A se sometió a una

15 dilución en serie de 9 dosis 4X con la dosis alta a 1 μ M, y la dosis baja a aproximadamente 16 pM. El Compuesto A solo provocó una reducción dependiente de la concentración de la señal de p4EBP1 (IC_{50} = 16 nM, e IC_{90} aproximadamente 100 nM), y alcanzó la inhibición completa en una concentración >250 μ M; el everolimus

20 como un solo agente, solamente ejerció un efecto muy marginal sobre las señales de p4EBP1 en todas las concentraciones probadas (de 0.5 pM a 500 nM, una reducción de la señal de aproximadamente el 20 por ciento). El tratamiento concomitante con everolimus/ Compuesto A ha mejorado notoriamente el efecto inhibidor,

25 comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 0.5 pM

a 500 nM, o de 0.0000042 a 4.2 nanomolar/kilogramo, o de 0.00028 a 281.84 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 16 pM a 62 nM, o de 0.0015 a 5.91 nanomolar/kilogramo, o de 0.050 a 194.44 miligramos/persona), la presencia de una cantidad de traza de everolimus fue capaz de cambiar la IC_{50} para el Compuesto A desde 16 nM hasta 0.24 nM, y la IC_{90} de aproximadamente 100 nM a 4 nM. En las concentraciones más altas del Compuesto A (de 250 nM a 1 μ M, o de 23.85 a 95.41 nanomolar/kilogramo, o de 784.05 a 3136.20 miligramos/persona), la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. Este patrón, el cual está en total acuerdo con lo que se ha observado en las células NCI-H23 descritas anteriormente, sugiriendo que el efecto sinérgico observado se puede categorizar como “dispersión de la dosis” para el Compuesto A sin ningún “refuerzo del efecto global”. La combinación de dosis baja del everolimus y el Compuesto A se puede utilizar como un reactivo de inhibición de mTORC1 altamente eficaz.

Proliferación celular: El efecto del tratamiento con everolimus/ Compuesto A en un solo agente y concomitantes sobre la proliferación celular, se evaluó utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG) descrito anteriormente. El establecimiento del experimento es idéntico al ensayo de p4EBP1 como se describe anteriormente para el modelo de células de cáncer MFE296. (Figura 8). Y se aplicó la misma “matriz de dosis” (everolimus: 11 dosis, 4X, de 500 nM a 0.5

pM; Compuesto A: 9 dosis, 4X, de 1 μ M a 16 nM). El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración ($IC_{50} = 78$ nM, $A_{max} = 0.79$); el everolimus como un solo agente es ligeramente menos eficaz ($A_{max} = 0.6$) en esta línea celular, y sin embargo, es extremadamente potente ($IC_{50} < 0.25$ pM). El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A ha mejorado notoriamente el efecto inhibitor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 0.5 pM a 500 nM, o de 0.0000042 a 4.2 nanomolar/kilogramo, o de 0,00028 a 281.84 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 16 pM a 62 nM, o de 0.0015 a 5.91 nanomolar/kilogramo, o de 0.050 a 194.44 miligramos/persona); en concentraciones más altas del Compuesto A (de 250 nM a 1 μ M, o de 23.85 a 95.41 nanomolar/kilogramo, o de 784.05 a 3136.20 miligramos/persona), la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. El patrón sinérgico, aquí nuevamente, sugirió que una cantidad de traza (picomolar) de everolimus fue capaz de reducir de una manera significativa la dosis efectiva completa del Compuesto A (desde 250nM hasta cerca del intervalo sub-nanomolar).

C. Efecto de la combinación en el modelo de células humanas de cáncer endometrial AN3 CA

Proliferación celular: El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes sobre la proliferación celular, se evaluó utilizando el ensayo CellTiter-Glo

(CTG) descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 1,500 células/pozo en placas de 384 pozos por cuadruplicado, y se trataron con el compuesto durante 72 horas antes de la medición (Figura 9). Se aplicó la siguiente “matriz de dosis”: Everolimus: 11 dosis, 4X, de 500 nM a 0.5 pM; Compuesto A: 9 dosis, 4X, de 1 μ M a 16 nM. El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración ($IC_{50} = 5$ nM, $A_{max} = 0.69$); el everolimus como un solo agente no es muy eficaz ($A_{max} = 0.3$). El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A ha potenciado dramáticamente el efecto inhibidor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 0.5 pM a 500 nM, o de 0.0000042 a 4.2 nanomolar/kilogramo, o de 0,00028 a 281.84 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 16 pM a 16 nM, o de 0.0015 a 1.53 nanomolar/kilogramo, o de 0.050 a 50.17 miligramos/persona), en concentraciones más altas del Compuesto A (de 64 nM a 1 μ M, o de 5.92 a 95.42 nanomolar/kilogramo, o de 194.44 a 3136.20 miligramos/persona); la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. El patrón sinérgico, aquí nuevamente, sugirió un modelo de dispersión de la dosis en el que una cantidad de traza de (picomolar) de everolimus fue capaz de reducir de una manera significativa la cantidad de dosis efectiva completa del Compuesto A (desde >64 nM hasta cerca del intervalo nanomolar o sub-nanomolar).

D. Efecto de la combinación en el modelo de células de cáncer humanas de linfoma no de Hodgkin GA-10

Proliferación celular: El efecto del tratamiento con everolimus/ Compuesto A en un solo agente y concomitantes sobre la proliferación celular, se evaluó utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG) descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 50,000 células/pozo en placas de 96 pozos por triplicado, y se trataron con el compuesto durante 72 horas antes de la medición (Figura 10). Se aplicó la siguiente “matriz de dosis”: Everolimus: 8 dosis, 3X, de 500 nM a 0.23 nM; Compuesto A: 8 dosis, 2X, de 1 μ M a 8 nM. El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración, y en una alta concentración, eliminó casi todas las células sobrevivientes (IC_{50} de aproximadamente 25 nM, $IC_{90} = 250$ nM, $A_{max} = 1$); el everolimus como un solo agente no es muy eficaz ($A_{max} = 0.3$). El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A ha potenciado dramáticamente el efecto inhibitor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 0.23 nM a 500 nM, o de 0.0019 a 4.2 nanomolar/kilogramo, o de 0.13 a 281.84 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 8 nM a 62 nM, o de 0.76 a 5.92 nanomolar/kilogramo, o de 25.09 a 194.44 miligramos/persona), cambió la IC_{90} para el Compuesto A desde aproximadamente 300 nM hasta 16 nM. En concentraciones más altas del Compuesto A (de 250 nM a 1 μ M, o de 23.85 a 95.41 nanomolar/kilogramo, o de 784.05 a 3136.20 miligramos/persona), la

combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. El patrón sinérgico, aquí nuevamente, sugirió un modelo de dispersión de la dosis en el que una cantidad de traza (sub-nanomolar) de everolimus fue capaz de reducir de una manera significativa la cantidad de dosis efectiva completa del Compuesto A (desde >250 nM hasta 16 a 62 nM).

E. Efecto de la combinación en el modelo de células de cáncer humanas de mieloma múltiple KMS-11

Proliferación celular: El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes sobre la proliferación celular, se evaluó utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG) descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 50,000 células/pozo en placas de 96 pozos por triplicado, y se trataron con el compuesto durante 72 horas antes de la medición (Figura 11). Se aplicó la siguiente “matriz de dosis”: Everolimus: 8 dosis, 3X, de 500 nM a 0.23 nM; Compuesto A: 8 dosis, 2X, de 1 μ M a 8 nM. El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración, y en una alta concentración (IC_{50} de aproximadamente 80 nM, $A_{max} = 0.7$); el everolimus como un solo agente no es muy eficaz ($A_{max} = 0.28$). El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A ha potenciado dramáticamente el efecto inhibidor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 0.23 nM a 500 nM, o de 0.0019 a 4.2 nanomolar/kilogramo, o de 0.13 a 281.84 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas

del Compuesto A (de 8 nM a 62 nM, o de 0.76 a 5.92 nanomolar/kilogramo, o de 25.09 a 194.44 miligramos/persona), cambió la IC_{50} para el Compuesto A desde aproximadamente 80 nM hasta 16 nM. En concentraciones más altas del Compuesto A (de 125 nM a 1 μ M, o de 11.93 a 95.42 nanomolar/kilogramo, o de 392.03 a 3136.20 miligramos/persona); la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. El patrón sinérgico, aquí nuevamente, sugirió un modelo de dispersión de la dosis en el que una cantidad de traza (sub-nanomolar) de everolimus fue capaz de reducir de una manera significativa la cantidad de dosis efectiva completa del Compuesto A (desde >125 nM hasta 16 a 62 nM).

F. Efecto de la combinación en el modelo de células de cáncer humanas de mieloma múltiple RPMI 8226

Proliferación celular: El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes sobre la proliferación celular, se evaluó utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG) descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 50,000 células/pozo en placas de 96 pozos por triplicado, y se trataron con el compuesto durante 72 horas antes de la medición (Figura 12). Se aplicó la siguiente “matriz de dosis”: Everolimus: 8 dosis, 3X, de 500 nM a 0.23 nM, Compuesto A: 8 dosis, 2X, de 1 μ M a 8 nM. El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración, y en una alta concentración (IC_{50} de aproximadamente 125nM, $A_{max} = 0.7$); el everolimus como un solo

agente no es muy eficaz ($A_{\max} = 0.15$). El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A ha potenciado dramáticamente el efecto inhibidor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 0.23 nM a 500 nM, o de 0.0019 a 4.2 nanomolar/kilogramo, o de 0.13 a 281.84 miligramos/persona), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 8 nM a 62 nM, o de 0.76 a 5.92 nanomolar/kilogramo, o de 25.09 a 194.44 miligramos/persona), cambió la IC_{50} para el Compuesto A desde aproximadamente 125 nM hasta 16 nM. En concentraciones más altas del Compuesto A (de 125 nM a 1 μ M, o de 11.93 a 95.42 nanomolar/kilogramo, o de 392.03 a 3136.20 miligramos/sujeto), la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. El patrón sinérgico, aquí nuevamente, sugirió un modelo de dispersión de la dosis en el que una cantidad de traza (sub-nanomolar) de everolimus fue capaz de reducir de una manera significativa la cantidad de dosis efectiva completa del Compuesto A (desde >125 nM hasta 16 a 62 nM).

Compendio y Discusión:

Se evaluó el efecto anti-proliferativo de las combinaciones de everolimus y el Compuesto A en seis líneas celulares a partir de diferentes linajes de tejido que llevaban diferentes alteraciones genéticas, y se encontró un fuerte sinergismo en todas las líneas celulares probadas con un patrón similar: el everolimus fue capaz de mejorar la potencia del Compuesto A por 5 a 100 veces dependiendo de los tipos de células, y el nivel absoluto de mejora depende de las

diferencias entre las máximas eficacias del Compuesto A y del everolimus. Solamente se necesitan cantidades de traza de everolimus (de pM a nM) para hacer sinergismo con el Compuesto A en dosis baja (nM). La evaluación del efecto de la combinación sobre la reducción de p4EBP1, una lectura clave para la función de mTORC1 identificó un área de traslape de sinergismo con el análisis anti-proliferativo, sugiriendo que se contribuye cuando menos parcialmente al beneficio de la combinación mediante la inhibición sinérgica de la senda de traducción dependiente de cap regulada por eIF4E. Clínicamente, la combinación de una dosis baja fija de everolimus con el Compuesto A en una dosis baja óptima para lograr la inhibición completa de mTORC1 (súper-inhibidor de mTORC1) debería ser una opción muy atractiva. Comparándose con el uso del Compuesto A como un solo agente en una alta dosis para alcanzar la misma meta, esta combinación proporcionará el mismo grado de inhibición de mTORC1, mientras que se eliminará la cuestión de la biodisponibilidad potencial del fármaco del Compuesto A y la posible toxicidad fuera del objetivo, que podría estar asociada con la alta dosis del Compuesto A.

Ejemplo 2

El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes sobre la proliferación celular, se evaluó en células humanas de cáncer de mama SK-BR3 utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG) descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 2,000 células/pozo en placas de 96 pozos por triplicado, y se

trataron con el compuesto durante 72 horas antes de la medición. Se aplicó la siguiente matriz de dosis: Everolimus: 8 dosis, 2X, de 2,000 nM a 15 nM; Compuesto A: 8 dosis, 2X, de 2 μ M a 15 nM. El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración, y en una alta concentración (IC_{50} de aproximadamente 31 nM, $A_{max} = 0.67$); el everolimus como un solo agente también es eficaz ($A_{max} = 0.50$, $IC_{50} < 15$ nM). El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A potenció el efecto inhibidor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 15 nM a 2 μ M), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 15 nM a 60 nM), y cambió la IC_{50} para el Compuesto A desde aproximadamente 31 nM hasta tan baja como < 15 nM. En concentraciones más altas del Compuesto A (de 120 nM a 2 μ M), la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. El patrón sinérgico, aquí nuevamente, sugiere un modelo de dispersión de la dosis en donde el everolimus en dosis baja es capaz de reducir de una manera significativa el intervalo de dosis efectiva completa del Compuesto A (desde 120 nM hasta < 15 nM).

Ejemplo 3

El efecto del tratamiento con everolimus/Compuesto A en un solo agente y concomitantes sobre la proliferación celular, se evaluó en las células humanas de cáncer de mama MDA-MB-361, utilizando el ensayo CellTiter-Glo (CTG) descrito anteriormente. Las células se aplicaron a 2,000 células/pozo en placas de 96 pozos por triplicado,

y se trataron con el compuesto durante 72 horas antes de la medición. Se aplicó la siguiente “matriz de dosis”: Everolimus: 8 dosis, 2X, de 2,000 nM a 15 nM; Compuesto A: 8 dosis, 2X, de 2 μ M a 15 nM. El Compuesto A solo provocó una inhibición del crecimiento celular dependiente de la concentración, y en una alta concentración (IC₅₀ de aproximadamente 60 nM, A_{max} = 0.81); el everolimus como un solo agente no es altamente eficaz (A_{max} <0.50). El tratamiento concomitante con everolimus/Compuesto A potenció el efecto inhibidor, comparándose con tanto el everolimus en todas las dosis (de 15 nM a 2 μ M), como las dosis sub-óptimas del Compuesto A (de 15 nM a 60 nM), cambió la IC₅₀ para el Compuesto A desde aproximadamente 60 nM hasta tan baja como <15 nM. En concentraciones más altas del Compuesto A (de 120 nM a 2 μ M), la combinación no exhibió beneficio alguno adicional, comparándose con los tratamientos con el agente individual del Compuesto A. El patrón sinérgico, aquí nuevamente, sugirió un modelo de dispersión de la dosis en donde el everolimus de dosis baja fue capaz de reducir de una manera significativa el intervalo de dosis efectiva completa del Compuesto A (desde 120 nM hasta <15 nM).

20

25

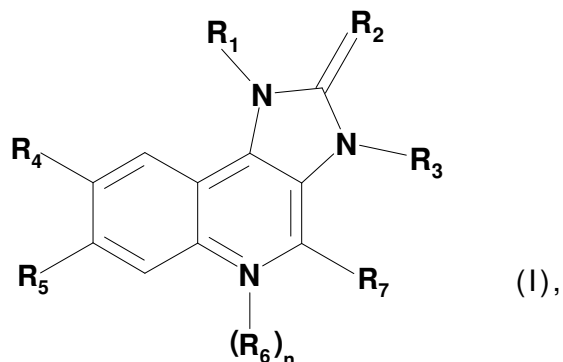
REIVINDICACIONES

1. Una combinación farmacéutica, la cual comprende:

a) un compuesto de la fórmula (I):

5

10



en donde:

R_1 es naftilo o fenilo, en donde el fenilo está
 15 sustituido por uno o dos sustituyentes independientemente
 seleccionados a partir del grupo que consiste en Halógeno; alquilo
 inferior insustituido o sustituido por halógeno, ciano, imidazolilo o
 triazolilo; cicloalquilo; amino sustituido por uno o dos sustituyentes
 seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en
 20 alquilo inferior, alquilo inferior-sulfonilo, alcoxilo inferior, y alcoxilo
 inferior-alquilo inferior-amino; piperazinilo insustituido o sustituido
 por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a
 partir del grupo que consiste en alquilo inferior, y alquilo inferior-
 sulfonilo; 2-oxo-pirrolidinilo; alcoxilo inferior-alquilo inferior;
 25 imidazolilo; pirazolilo; y triazolilo;

R_2 es O o S;

R_3 es alquilo inferior;

R_4 es piridilo insustituido o sustituido por halógeno, ciano, alquilo inferior, alcoxilo inferior, o piperazinilo insustituido o sustituido por alquilo inferior; pirimidinilo insustituido o sustituido por alcoxilo inferior; quinolinilo insustituido o sustituido por halógeno; quinoxalinilo; o fenilo sustituido con alcoxilo;

R_5 es hidrógeno o halógeno;

n es 0 ó 1;

R_6 es óxido;

con la condición de que, si $n = 1$, el radical portador del átomo de nitrógeno (N) R_6 tiene una carga positiva;

R_7 es hidrógeno o amino;

o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y

b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para utilizarse en el tratamiento de una enfermedad proliferativa, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

2. Una combinación farmacéutica de la reivindicación 1, en

donde el compuesto de la fórmula (I) es el 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (Compuesto A), y su sal de mono-tosilato.

3. Una combinación farmacéutica de la reivindicación 1, en
5 donde el compuesto de la fórmula (I) es la 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona (Compuesto B).

4. Una combinación farmacéutica de acuerdo con cualquiera
de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el compuesto aloestérico
10 inhibidor de mTor se selecciona a partir de rapamicina RAD (sirolimus), y los derivados/análogos de la misma, tales como everolimus (o RAD001); CCI-779 y Deferolimus (AP-23573/MK-8669).

5. Una combinación farmacéutica de la reivindicación 4, en
donde el compuesto aloestérico inhibidor de mTor es everolimus
15 (RAD001), el cual se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 0.001 nM y aproximadamente 17.8 nM, o de entre aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo y aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto y aproximadamente
20 10 miligramos/sujeto por dosis diaria.

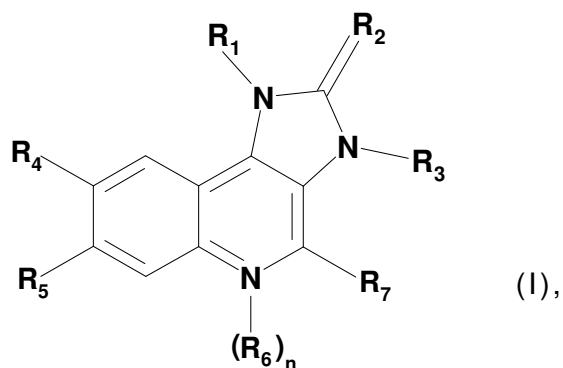
6. Una combinación farmacéutica de la reivindicación 1, en
donde la enfermedad proliferativa es una enfermedad proliferativa dependiente de la cinasa mTor.

7. Una combinación farmacéutica de la reivindicación 1, en
25 donde la enfermedad proliferativa es un tumor benigno o maligno,

carcinoma del cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, estómago, ovarios, colon, recto, páncreas, pulmón (por ejemplo, cáncer pulmonar no microcelular), endometrial, linfoma de células-B no de Hodgkin, vagina o tiroides, sarcoma, glioblastomas, mieloma múltiple o cáncer gastrointestinal gástrico, en especial carcinoma de colon, o adenoma colo-rectal, o un tumor de cuello y cabeza, una hiper-proliferación epidérmica, soriasis, hiperplasia de próstata, neuroendocrina, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, linfomas, un carcinoma mamario, o una leucemia.

8. El uso de una combinación farmacéutica, la cual comprende:

a) un compuesto de la fórmula (I):



en donde:

R₁ es naftilo o fenilo, en donde el fenilo está sustituido por uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados a partir del grupo que consiste en Halógeno; alquilo inferior insustituido o sustituido por halógeno, ciano, imidazolilo o

triazolilo; cicloalquilo; amino sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en alquilo inferior, alquilo inferior-sulfonilo, alcoxilo inferior, y alcoxilo inferior-alquilo inferior-amino; piperazinilo insustituido o sustituido
 5 por uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo que consiste en alquilo inferior, y alquilo inferior-sulfonilo; 2-oxo-pirrolidinilo; alcoxilo inferior-alquilo inferior; imidazolilo; pirazolilo; y triazolilo;

R_2 es O o S;

10 R_3 es alquilo inferior;

R_4 es piridilo insustituido o sustituido por halógeno, ciano, alquilo inferior, alcoxilo inferior, o piperazinilo insustituido o sustituido por alquilo inferior; pirimidinilo insustituido o sustituido por alcoxilo inferior; quinolinilo insustituido o sustituido por halógeno;
 15 quinoxalinilo; o fenilo sustituido con alcoxilo;

R_5 es hidrógeno o halógeno;

n es 0 ó 1;

R_6 es óxido;

con la condición de que, si $n = 1$, el radical portador
 20 del átomo de nitrógeno (N) R_6 tiene una carga positiva;

R_7 es hidrógeno o amino;

o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato o un solvato del mismo, y
 b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor
 25 de mTor, y opcionalmente cuando menos un vehículo

farmacéuticamente aceptable, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y la prevención de las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa del objetivo de mamífero mTor, en donde el compuesto de la fórmula (I) se
5 administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

10 9. El uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el compuesto de la fórmula (I) es el 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (Compuesto A), y su sal de mono-tosilato.

15 10. El uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el compuesto de la fórmula (I) es la 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro-metil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-2-ona.

20 11. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8, 9 ó 10, en donde el inhibidor de mTor se selecciona a partir de rapamicina RAD (sirolimus), y los derivados/análogos de la misma, tales como everolimus (o RAD001); CCI-779 y Deferolimus (AP-23573/MK-8669).

25 12. El uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el compuesto aloestérico inhibidor de mTor es everolimus (RAD001), el cual se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de

entre aproximadamente 0.001 nM y aproximadamente 17.8 nM, o de entre aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo y aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto y aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria.

13. Una composición farmacéutica, la cual comprende la combinación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 ó 5.

14. Una combinación farmacéutica, la cual comprende el 2-metil-2-[4-(3-metil-2-oxo-8-quinolin-3-il-2,3-dihidro-imidazo-[4,5-c]-quinolin-1-il)-fenil]-propionitrilo (Compuesto A), y un inhibidor de mTor seleccionado a partir del grupo que consiste en rapamicina RAD (sirolimus), y los derivados/análogos de la misma, tales como everolimus (o RAD001); CCI-779 y Deferolimus (AP-23573/MK-8669), en donde los ingredientes activos están presentes en cada caso en forma libre o en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, para el tratamiento de un tumor benigno o maligno, carcinoma del cerebro, riñón, hígado, glándula suprarrenal, vejiga, estómago, ovarios, colon, recto, páncreas, pulmón (por ejemplo, cáncer pulmonar no microcelular), endometrial, linfoma de células-B no de Hodgkin, vagina o tiroides, sarcoma, glioblastomas, mieloma múltiple o cáncer gastrointestinal gástrico, en especial carcinoma de colon, o adenoma colo-rectal, o un tumor de cuello y cabeza, una hiper-proliferación

epidérmica, soriasis, hiperplasia de próstata, neuroendocrina, una neoplasia, una neoplasia de carácter epitelial, linfomas, un carcinoma mamario o una leucemia, en donde se administra el Compuesto A a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre
5 aproximadamente 1 nM y aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

15. Una combinación farmacéutica de acuerdo con la
10 reivindicación 13, en donde el compuesto aloestérico inhibidor de mTor es everolimus (RAD001), el cual se administra a un sujeto que lo necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 0.001 nM y aproximadamente 17.8 nM, o de entre aproximadamente 8.5×10^{-12} moles/kilogramo y aproximadamente 1.5×10^{-7} moles/kilogramo, o de
15 entre aproximadamente 0.00056 miligramos/sujeto y aproximadamente 10 miligramos/sujeto por dosis diaria.

16. Un método para mejorar la eficacia del tratamiento de una enfermedad proliferativa dependiente de cinasa del objetivo de mamífero de rapamicina (mTOR), el cual comprende administrar una
20 combinación que comprende un compuesto de la fórmula (I), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un hidrato, o un solvato del mismo, y cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, a un sujeto que lo necesite, en donde el compuesto de la fórmula (I) se administra a un sujeto que lo
25 necesite, en una cantidad de entre aproximadamente 1 nM y

aproximadamente 100 nM, o de entre aproximadamente 9.5×10^{-8} y aproximadamente 9.5×10^{-6} moles/kilogramo, o de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 315 miligramos/sujeto por dosis diaria.

5

10

15

20

25

RESUMEN

La presente invención, se refiere a una combinación farmacéutica que comprende: (a) un inhibidor catalítico de mTor, tal como una cinasa de fosfatidil-inositol-3 catalítica (PI3K), y un compuesto inhibidor de mTor, el cual es un derivado de imidazo-quinolina, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente, cuando menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en particular para el tratamiento de las enfermedades proliferativas dependientes de cinasa del objetivo de mamífero de rapamicina (mTOR); y a los usos de esta combinación en el tratamiento de las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor; a una composición farmacéutica, la cual comprende dicha combinación; al uso de esta combinación para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad proliferativa; a un paquete o producto comercial que comprende esta combinación como una preparación combinada, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia; y a un método para el tratamiento de un animal de sangre caliente, en especial de un ser humano.

* * * * *

SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA DE ACUERDO CON EL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (TCP)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de Publicación Internacional
12 de abril de 2012 (12.04.2012)

(10) Número de Publicación Internacional
PCT WO 2012/047775 A1

(51) Clasificación Internacional de Patente:
A61K 31/4188 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)

(21) Número de Solicitud Internacional:
PCT/US2011/054536

(22) Fecha de Presentación Internacional:
3 de octubre de 2011 (03.10.2011)

(25) Idioma de Presentación: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:
61/389,445 4-octubre-2010 (04.10.2010) US

(71) Solicitante (para todos los Estados (Países) designados excepto US): **NOVARTIS AG** [CH/CH];
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basilea (CH).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente):
CHEN, Yan [US/US]; Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US).
HUANG, Xizhong [US/US]; Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US).
MURPHY, Leon [US/US]; Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US).
NYFELE, Beat [CH/US]; Novartis Institutes for BioMedical Research, Inc., 250 Massachusetts Avenue, Cambridge, Massachusetts 02139 (US).

(74) Agente: **RUECK, Sandra S.**; Novartis, Departamento de Patentes, One Health Plaza, Bldg. 101, East Hanover, Nueva Jersey 07936-1080 (US).

(81) Estados (Países) Designados (a menos que se indique de otra manera, para cada tipo de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados (Países) Designados (a menos que se indique de otra manera, para cada tipo de protección regional disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiáticos (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europeos (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones de acuerdo con la Regla 4.17:

- con respecto al derecho de la solicitante de solicitar y que le sea otorgada una patente (Regla 4.17(ii))
- con respecto al derecho de la solicitante de reclamar la prioridad de la solicitud anterior (Regla 4.17(iii))

Publicada:

- con reporte de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- antes del vencimiento del límite de tiempo para enmendar las reivindicaciones, y para volverse a publicar en el caso de recibirse las enmiendas (Regla 48.2(h))

(54) Título : **COMBINACIONES FARMACÉUTICAS**

(57) Resumen: La presente invención, se refiere a una combinación farmacéutica que comprende: (a) un inhibidor catalítico de mTor, tal como una cinasa de fosfatidil-inositol-3 catalítica (PI3K), y un compuesto inhibidor de mTor, el cual es un derivado de imidazo-quinolina, y (b) cuando menos un compuesto aloestérico inhibidor de mTor, y opcionalmente, cuando menos un vehículo farmacéutica-mente aceptable, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia, en particular para el tratamiento de las enfermedades proliferativas dependientes de cinasa del objetivo de mamífero de rapamicina (mTOR); y a los usos de esta combinación en el tratamiento de las enfermedades proliferativas dependientes de la cinasa mTor; a una composición farmacéutica, la cual comprende dicha combinación; al uso de esta combinación para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad proliferativa; a un paquete o producto comercial que comprende esta combinación como una preparación combinada, para su uso simultáneo, separado, o en secuencia; y a un método para el tratamiento de un animal de sangre caliente, en especial de un ser humano.

WO 2012/047775 A1

p-4EBP1 en Western Celular en NCI-H23 (NSCLC, KRAS/LKB1) - Tratamiento de 18 Horas

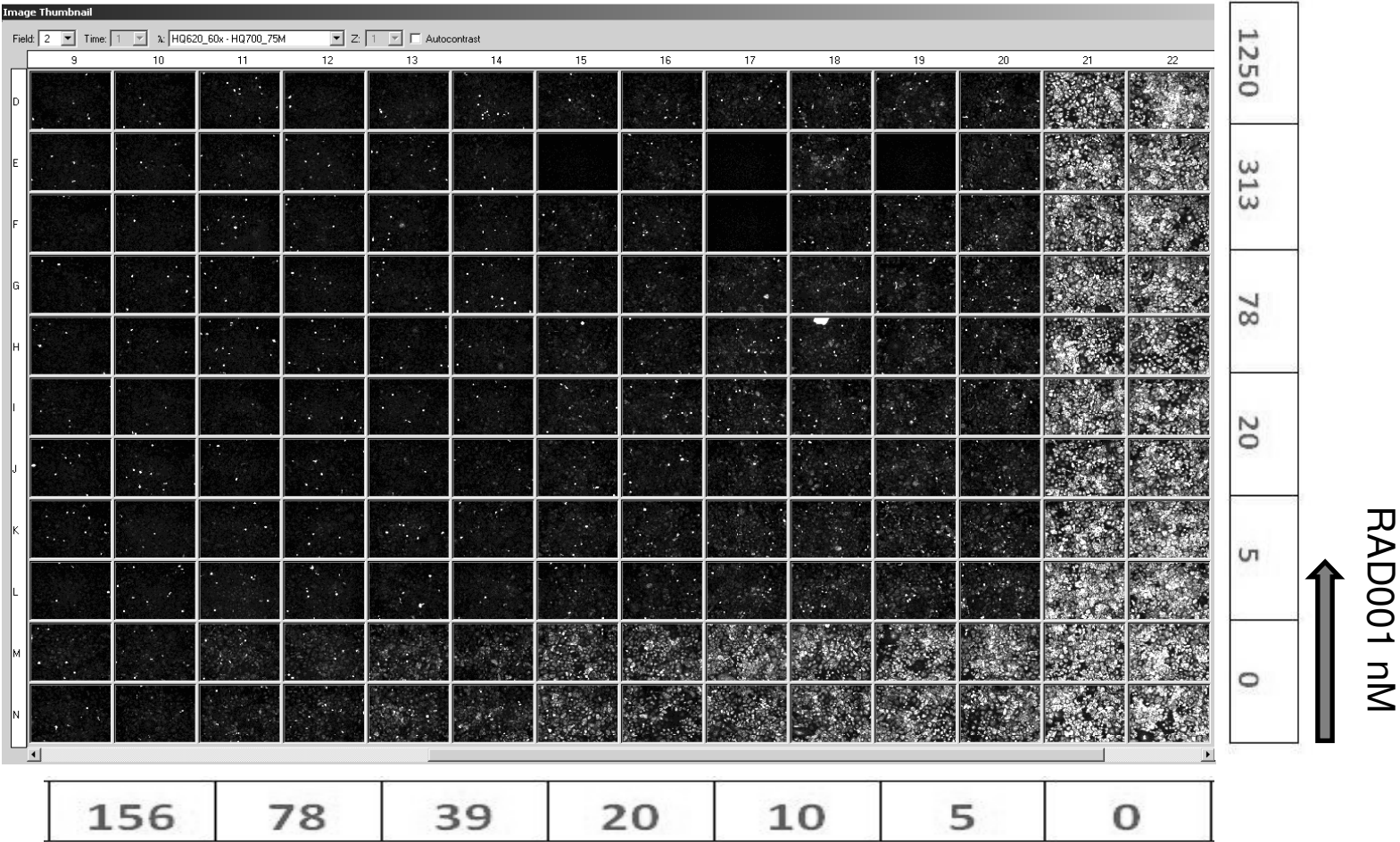


FIG. 1

← Compuesto A nM

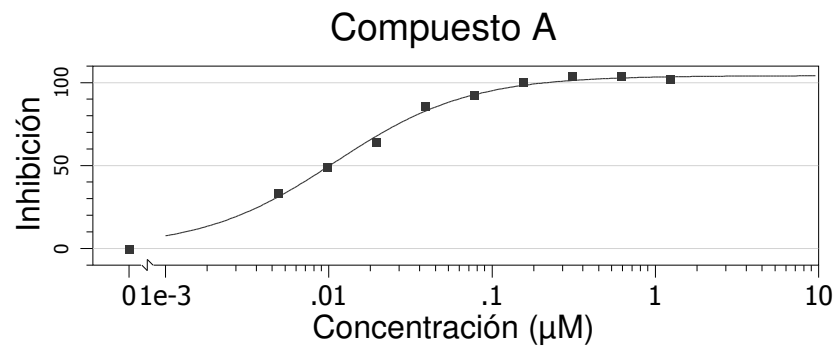
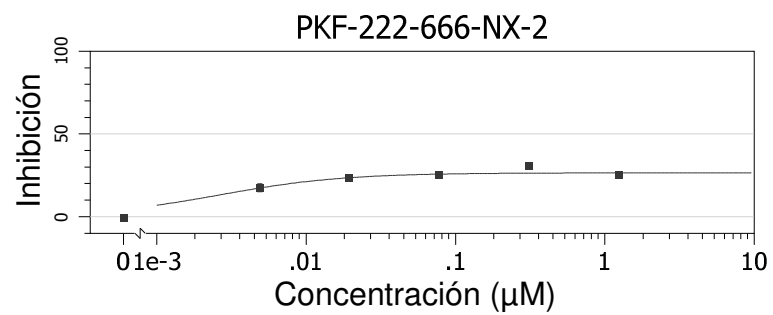
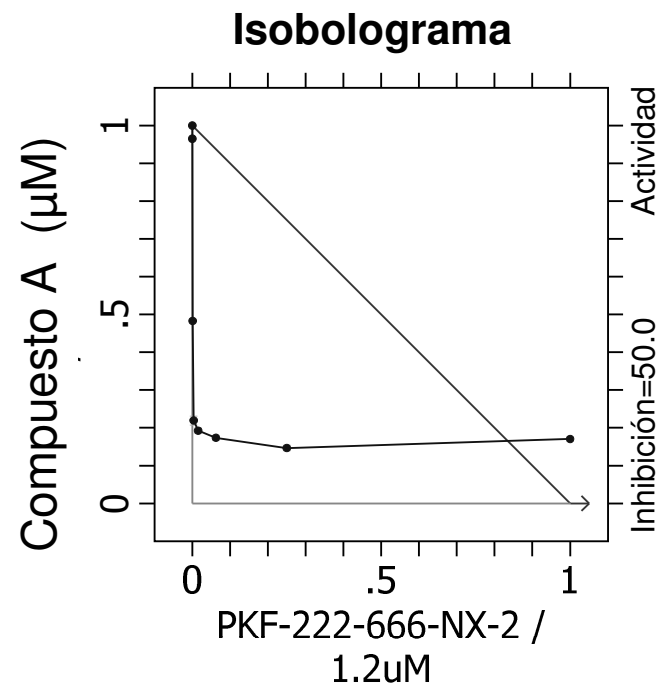
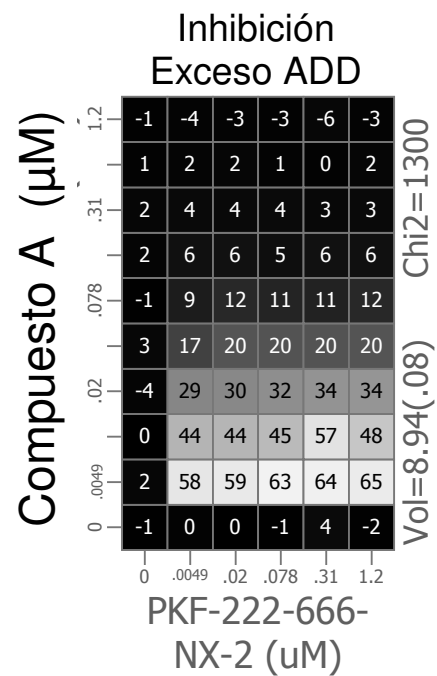
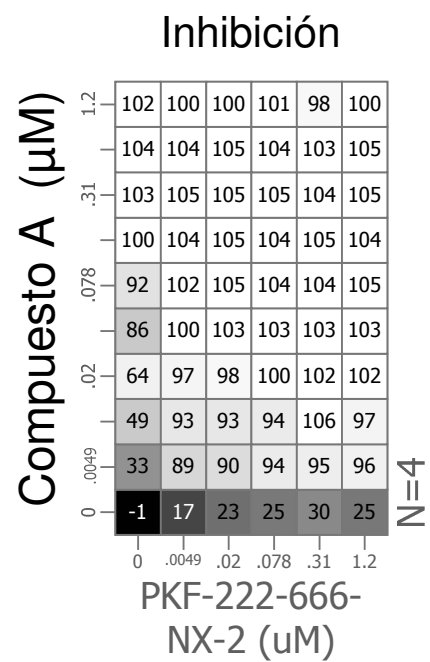


FIG. 2

p-S6 en Western Celular en NCI-H23 (NSCLC, KRAS/LKB1) - Tratamiento de 18 Horas

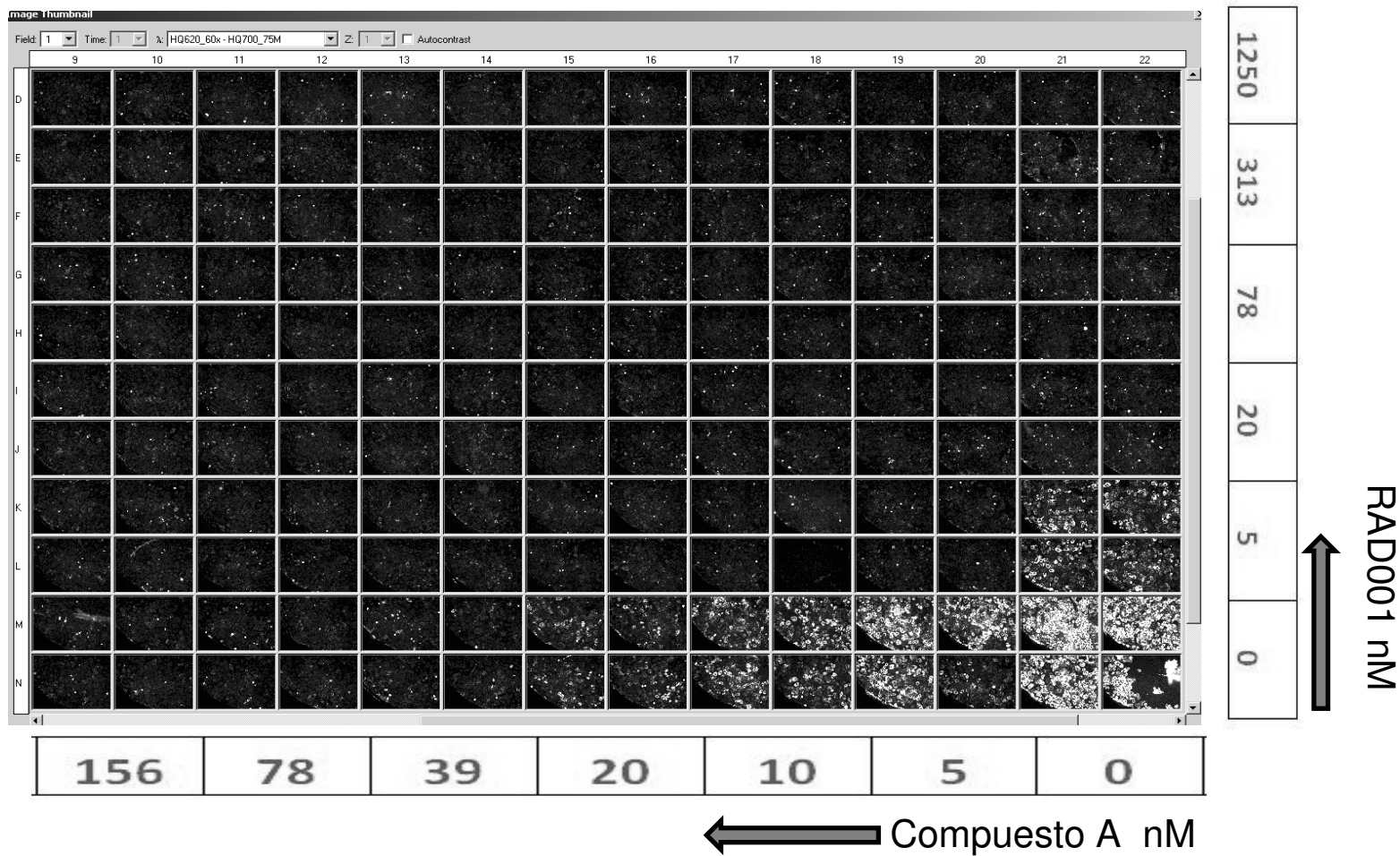


FIG. 3

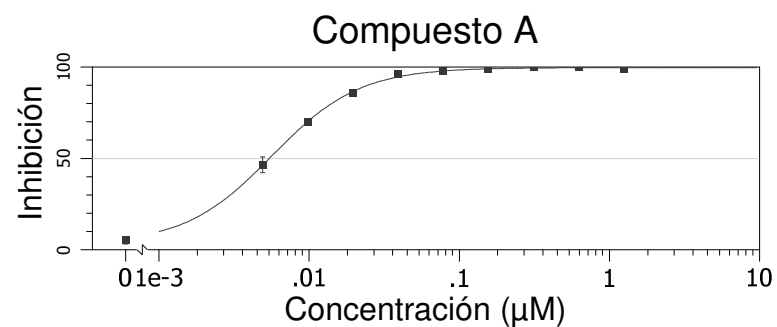
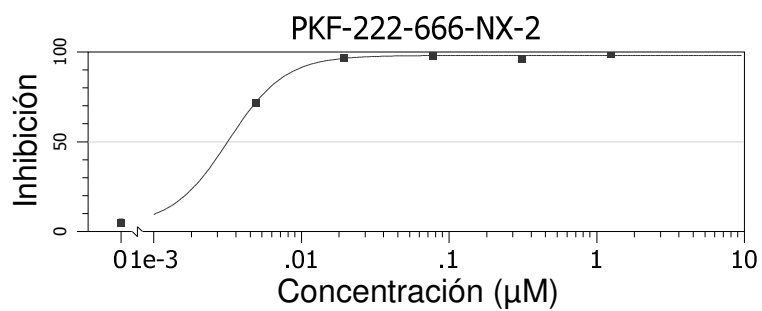
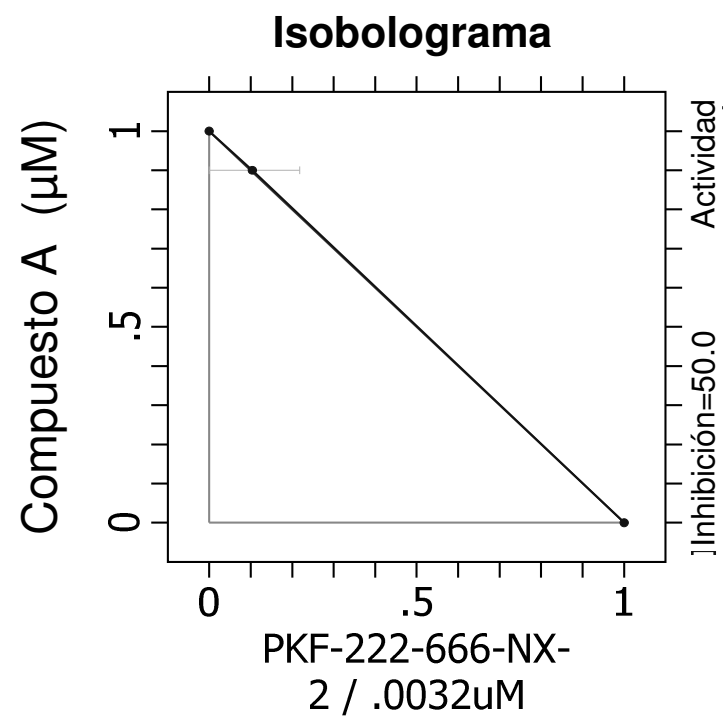
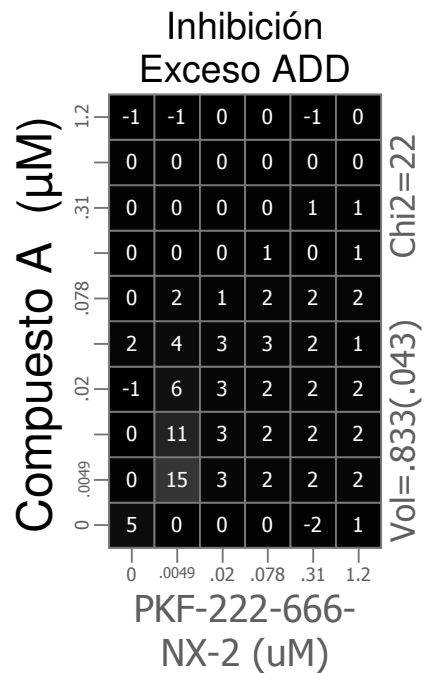
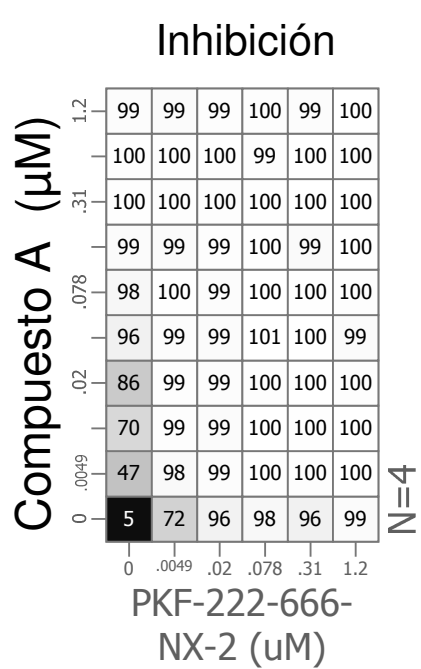


FIG. 4

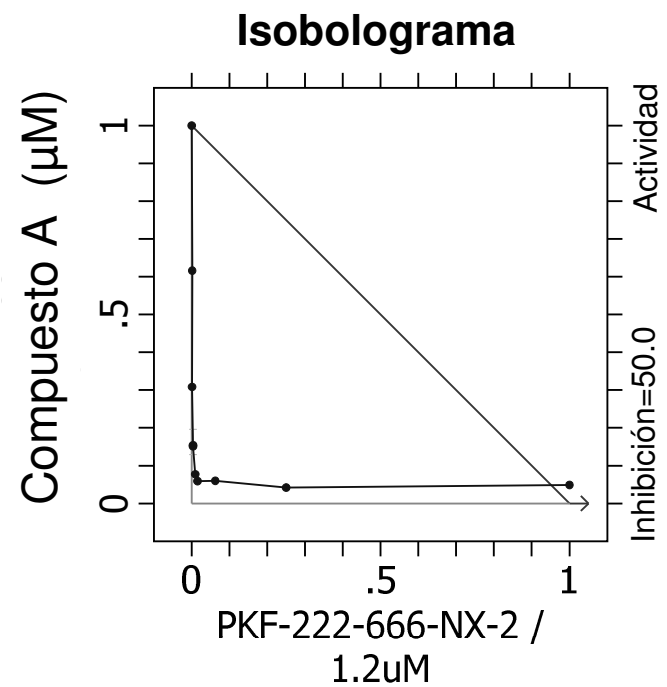
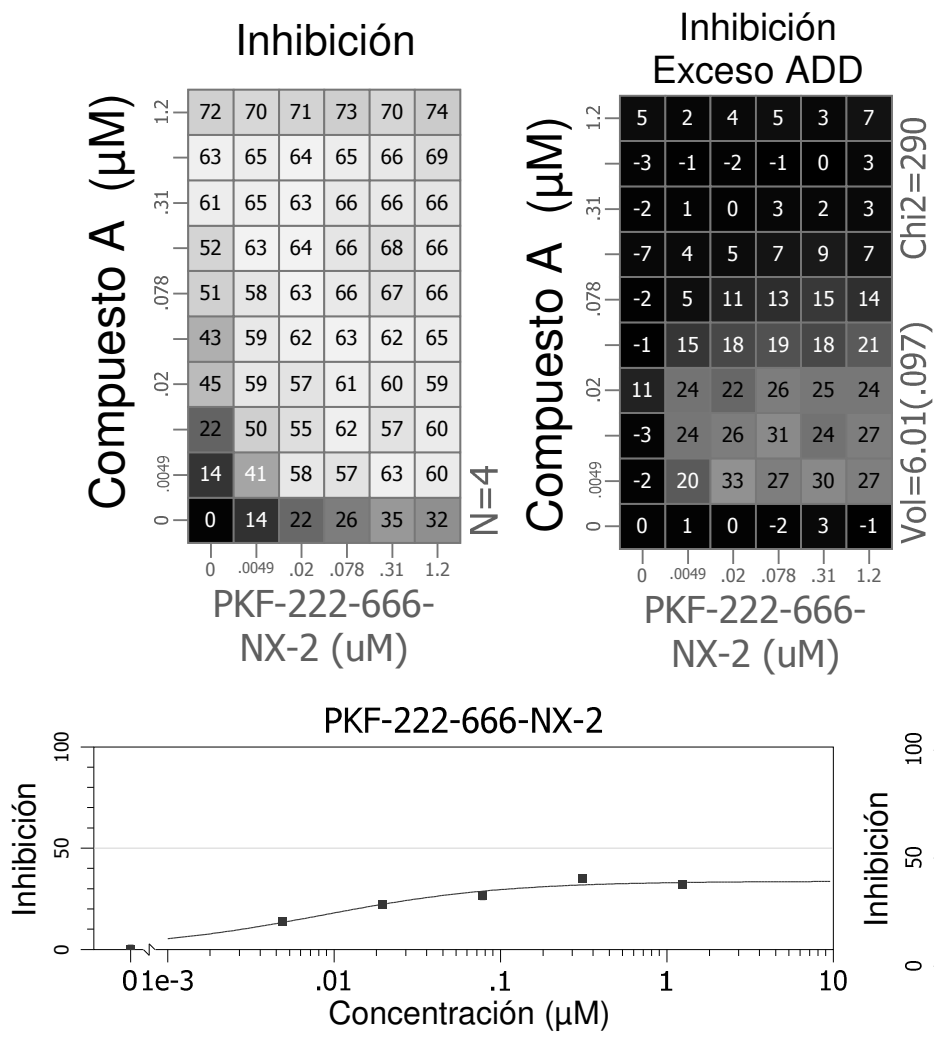


FIG. 5

Inhibición del Crecimiento (72 horas CTG)

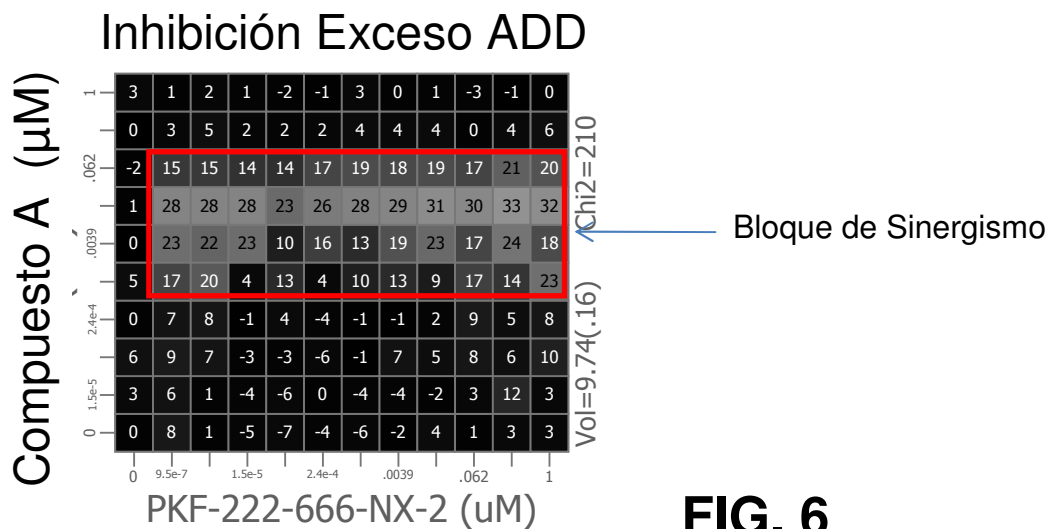
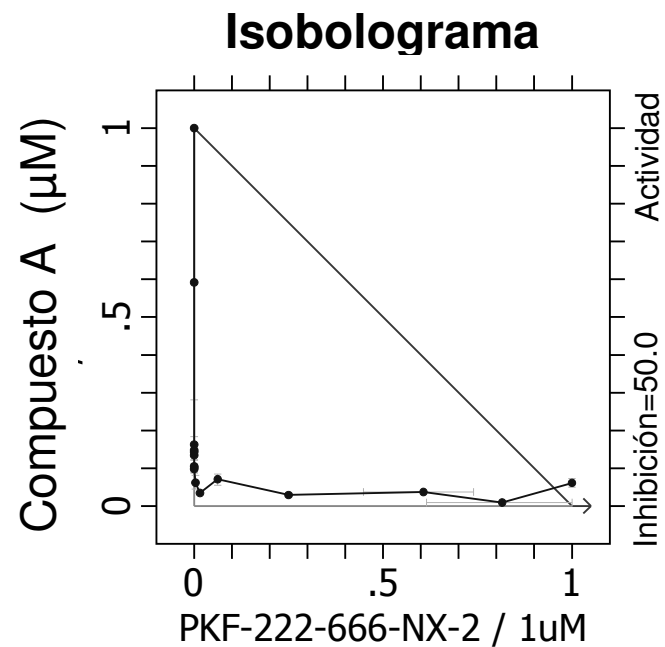
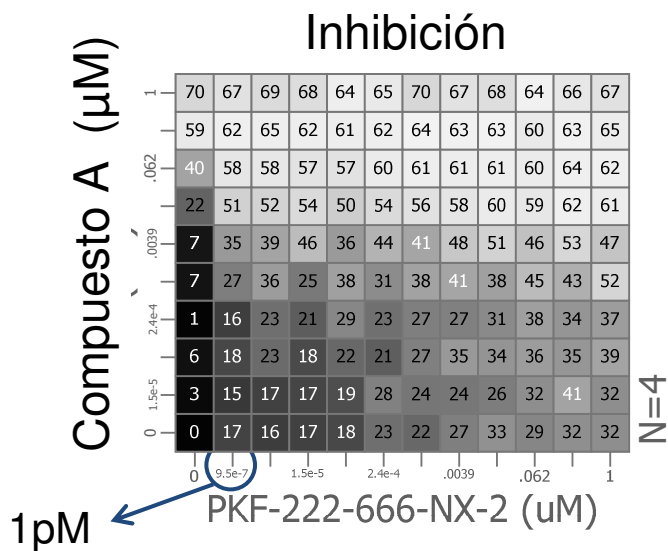


FIG. 6

Compuesto A + RAD001 18 horas en MFE 296, 4000/pozo

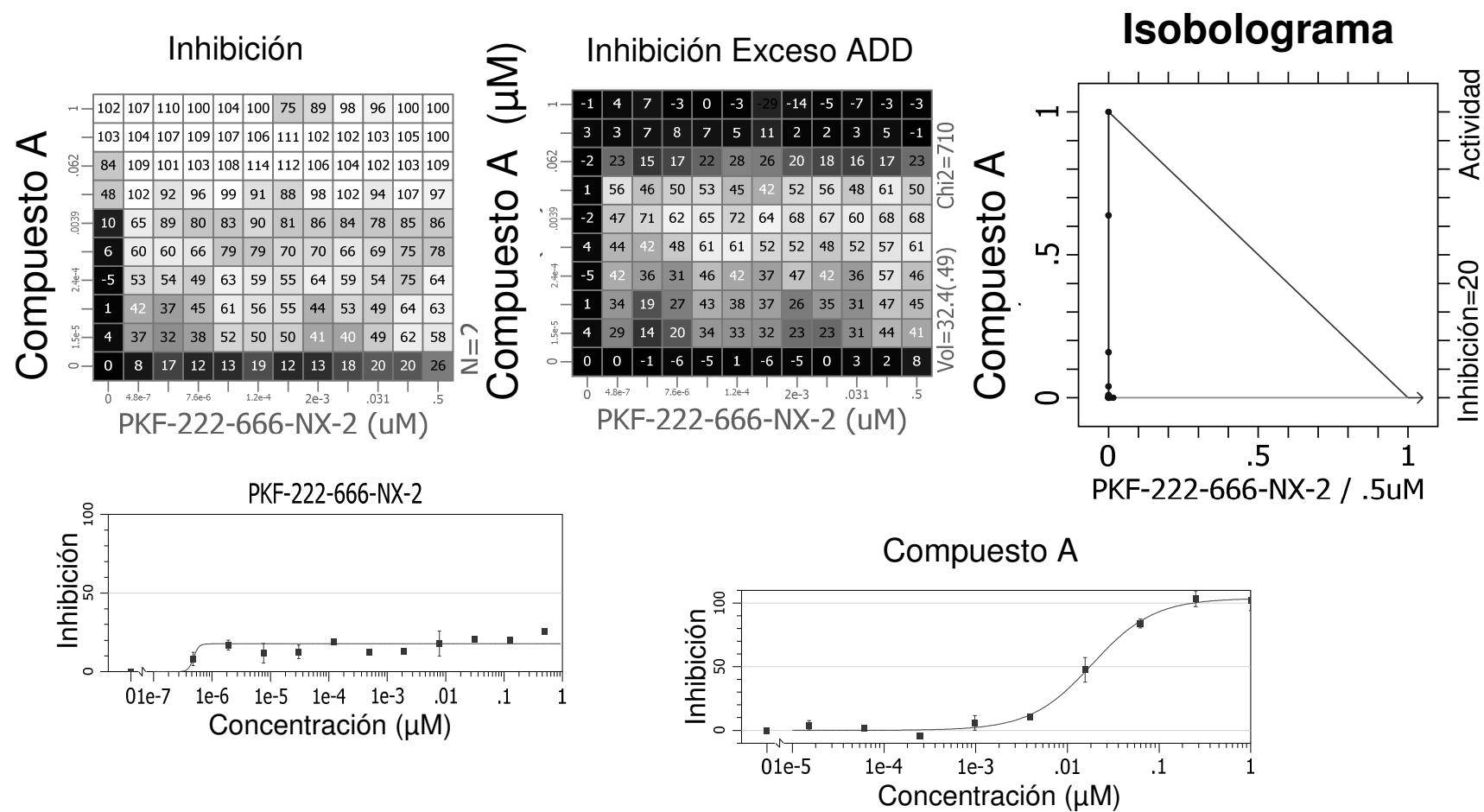


FIG. 7

MFE296 Endometrial (PIK3CA/PTEN) 72 horas CTG

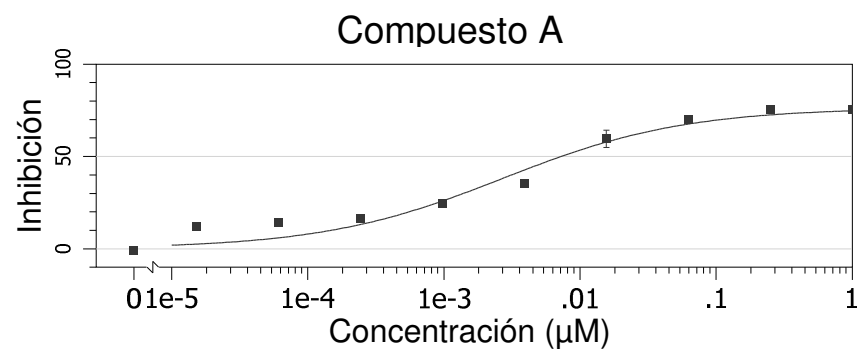
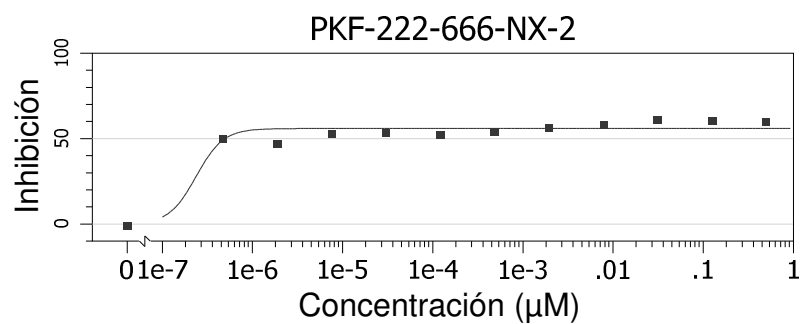
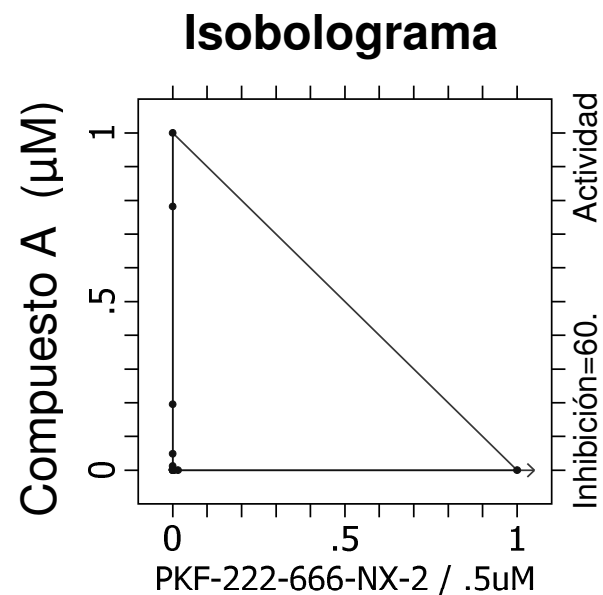
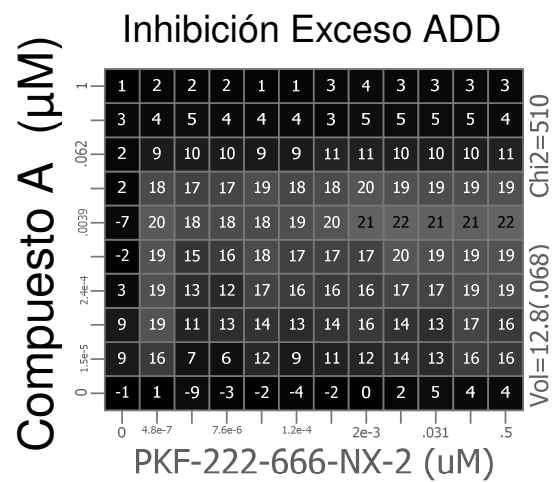
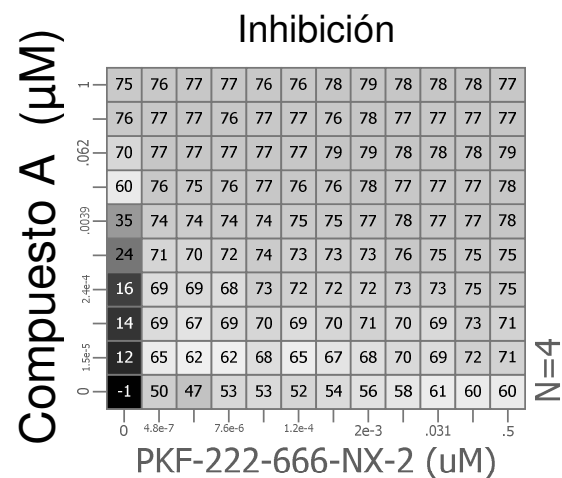


FIG. 8

AN3 CA – Endometrial (PTEN/FGFR2) 72 horas CTG

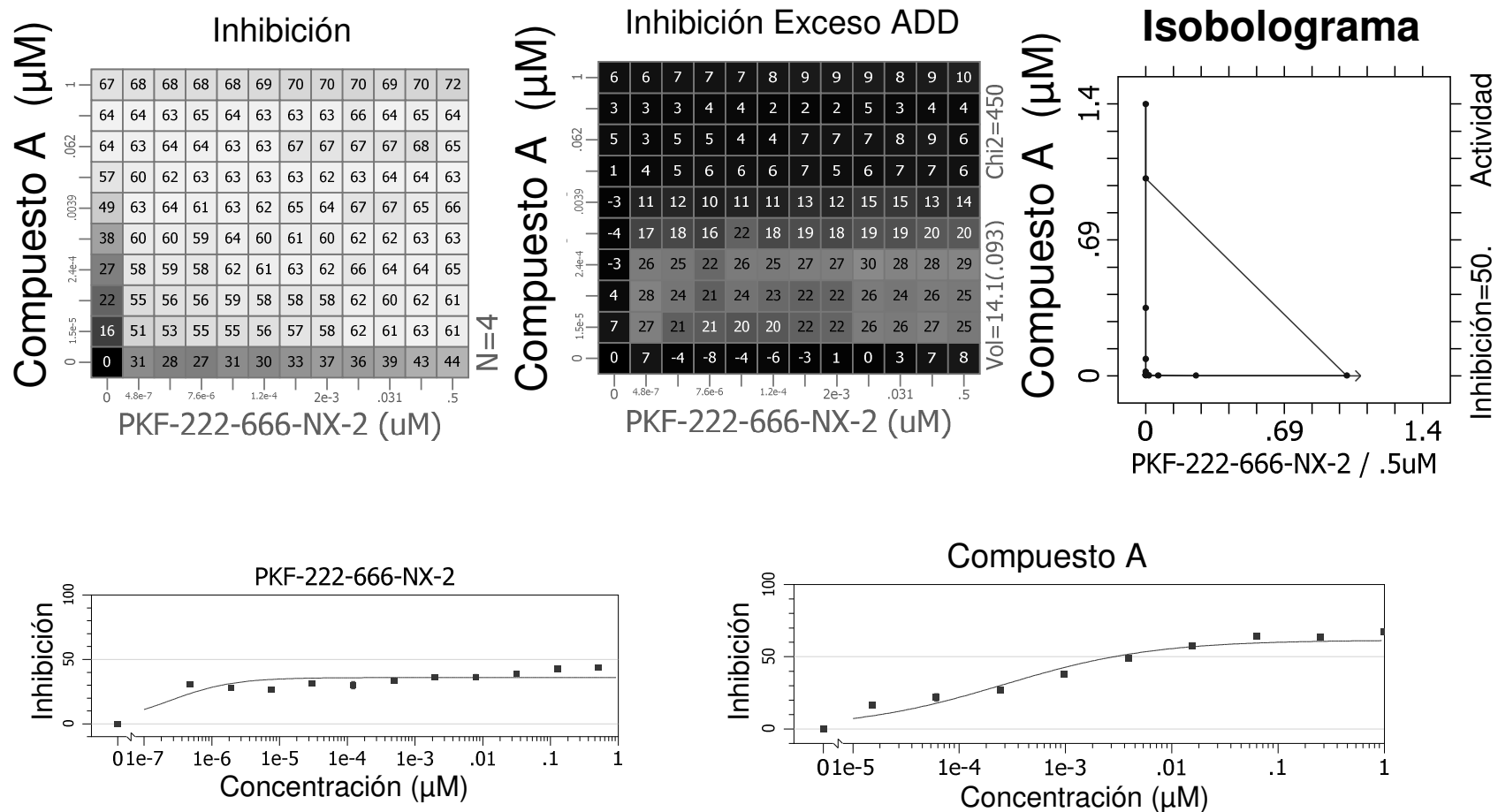


FIG. 9

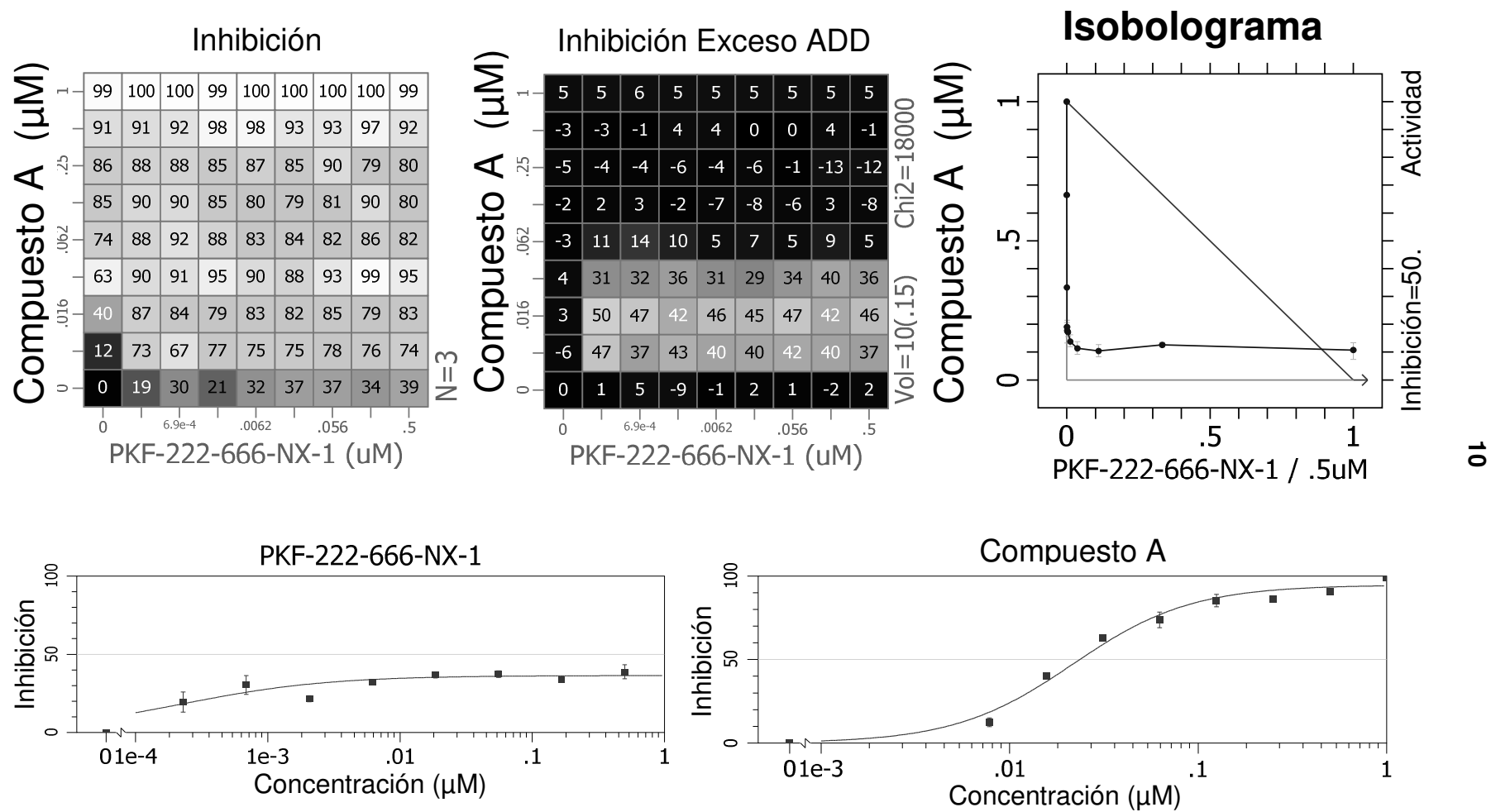


FIG. 10

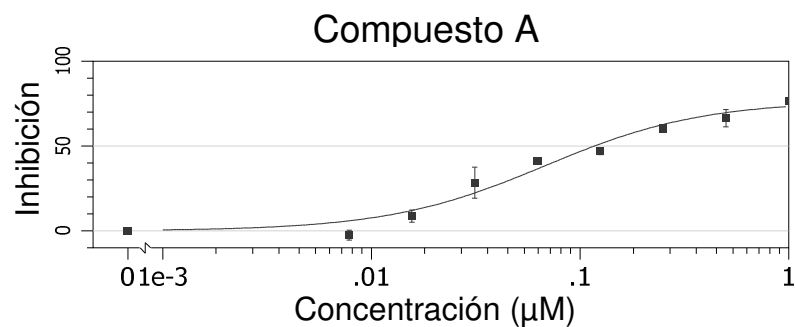
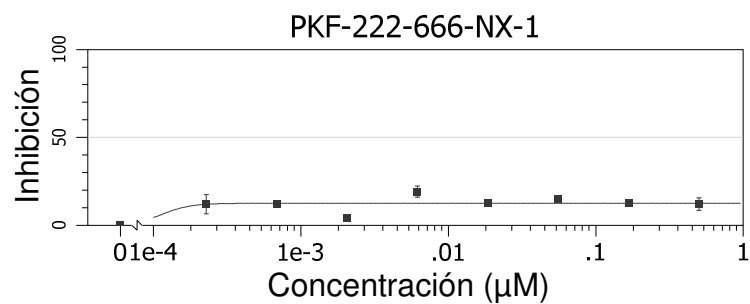
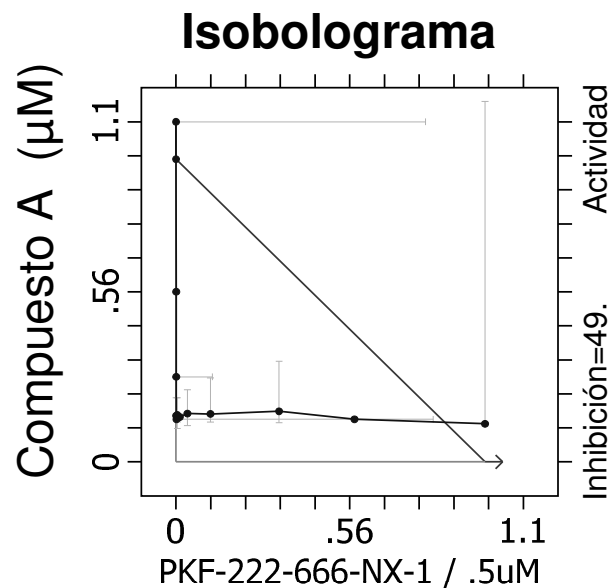
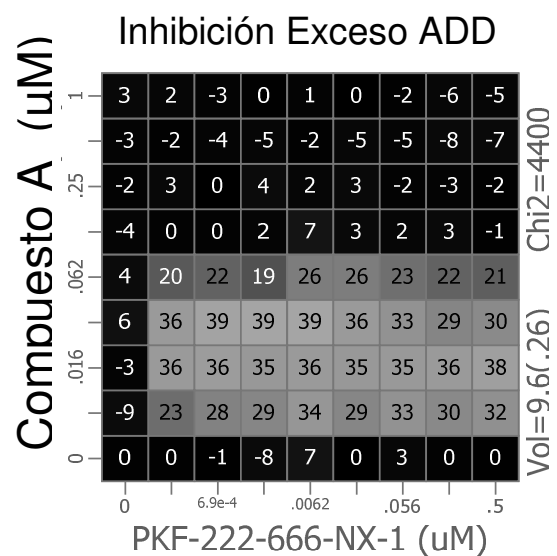
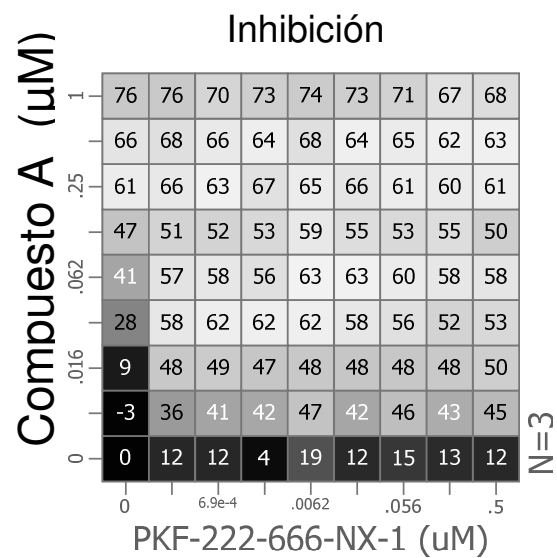


FIG. 11

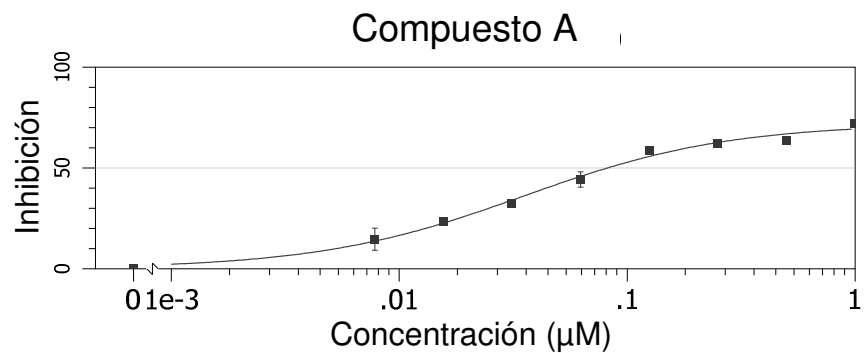
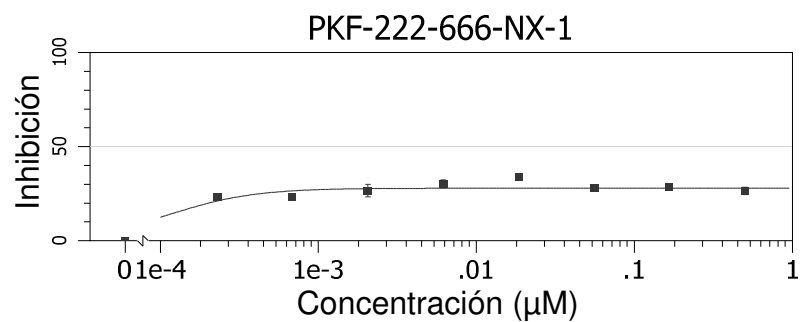
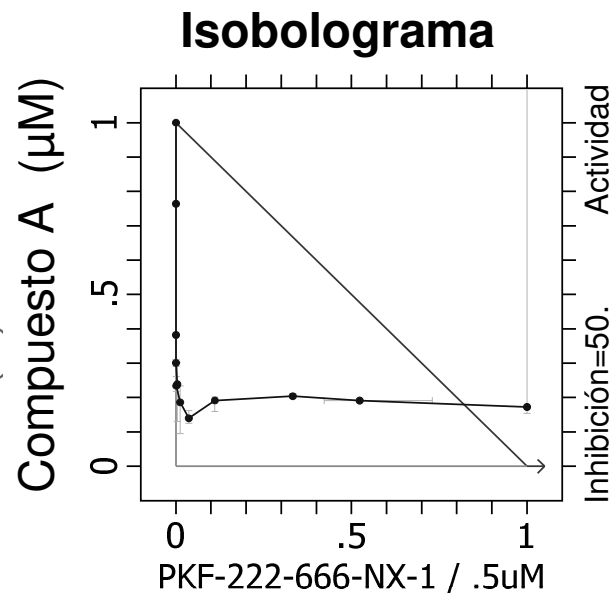
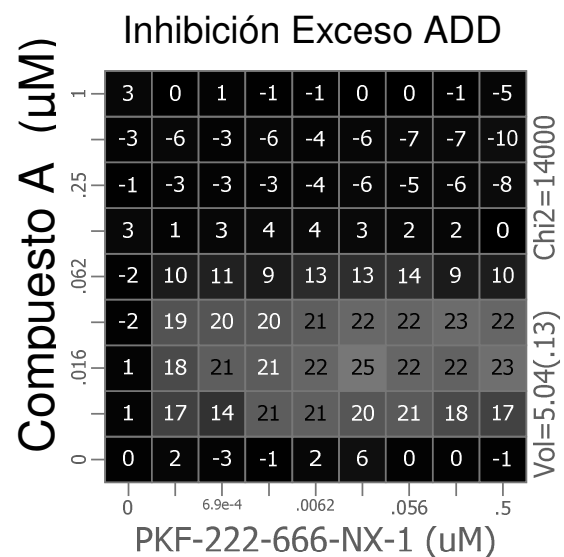
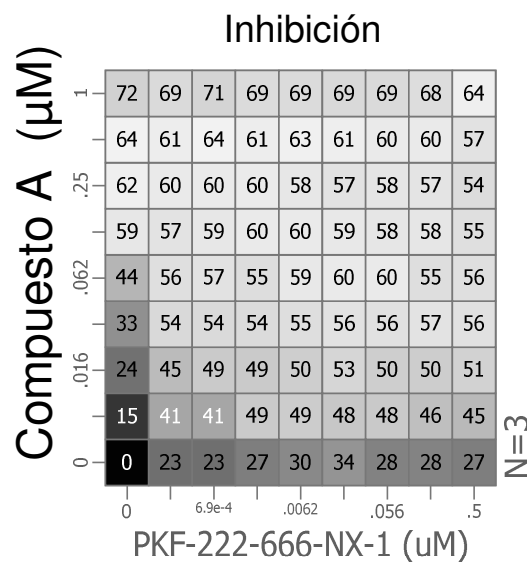


FIG. 12

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2011/054536

International filing date (day/month/year)
03.10.2011

Priority date (day/month/year)
04.10.2010

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. A61K31/4188 A61K31/4745 A61P35/00

Applicant
NOVARTIS AG

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Cattell, James

Telephone No. +49 89 2399-8468



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2011/054536

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1 (a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-16</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-16</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-16</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

V.

1).

The documents cited in the search report are to be regarded as being numbered D1-D4 in their order of citation. The ISA intend to refer to the sections of these documents highlighted in the search report, unless otherwise specified.

2).

The compounds of formula I are known as anti cancer agents from D1-D4.

Their combination with the agents of allosteric mTOR inhibitors is not disclosed (Art 33 (2) PCT).

3).

D3 discloses that a compound of formula I (NVP-BEZ235) has a synergistic anti cancer activity with temozolomide. It is also well known to the skilled man in this field that combinations of anti cancer agents may have a significant effect, as indicated by D1 and D2.

The combinations of the claims therefore would occur obviously to the skilled man under Article 33(3) PCT, and the results shown in the application would result inevitably from this combination.

No inventive step can therefore presently be recognised.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 54392 - WO - PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2011/054536	International filing date (<i>day/month/year</i>) 03/10/2011	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 04/10/2010
Applicant NOVARTIS AG		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2011/054536

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/4188 A61K31/4745 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/103636 A1 (NOVARTIS AG [CH]; BRACHMANN SASKIA MARIA [CH]; FINAN PETER [US]; FRITS) 28 August 2008 (2008-08-28) page 15, lines 9-11	1-16
X	WO 2006/122806 A2 (NOVARTIS AG [CH]; NOVARTIS PHARMA GMBH [AT]; GARCIA-ECHEVERRIA CARLOS) 23 November 2006 (2006-11-23) page 35, lines 18-28	1-16
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 February 2012

Date of mailing of the international search report

20/02/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cattell, James

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/054536

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	V. SERRA ET AL: "NVP-BEZ235, a Dual PI3K/mTOR Inhibitor, Prevents PI3K Signaling and Inhibits the Growth of Cancer Cells with Activating PI3K Mutations", CANCER RESEARCH, vol. 68, no. 19, 1 October 2008 (2008-10-01), pages 8022-8030, XP55018423, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1385 the whole document -----	1-16
X	MAIRA SAUVEUR-MICHEL ET AL: "Identification and characterization of NVP-BEZ235, a new orally available dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor with potent in vivo antitumor activity", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 7, no. 7, 2008, pages 1851-1863, XP002668980, page 1859; figure 6 -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/054536

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008103636	A1	28-08-2008	
		AU 2008218806 A1	28-08-2008
		CA 2676786 A1	28-08-2008
		CN 101616672 A	30-12-2009
		EP 2129379 A1	09-12-2009
		JP 2010519309 A	03-06-2010
		KR 20090114463 A	03-11-2009
		RU 2009135080 A	27-03-2011
		US 2010105696 A1	29-04-2010
		WO 2008103636 A1	28-08-2008

WO 2006122806	A2	23-11-2006	
		AR 054127 A1	06-06-2007
		AT 535526 T	15-12-2011
		AU 2006249071 A1	23-11-2006
		BR PI0610321 A2	15-06-2010
		CA 2608496 A1	23-11-2006
		CN 101495477 A	29-07-2009
		CR 9504 A	31-07-2008
		EA 200702387 A1	30-06-2008
		EP 1888578 A2	20-02-2008
		EP 2270008 A1	05-01-2011
		EP 2292617 A1	09-03-2011
		JP 2008540599 A	20-11-2008
		KR 20080009724 A	29-01-2008
		MA 29462 B1	02-05-2008
		NI 200700296 A	24-07-2008
		NZ 562890 A	24-12-2010
		PE 00042007 A1	30-01-2007
		SM AP200700051 A	28-11-2007
		US 2008194579 A1	14-08-2008
		US 2010056558 A1	04-03-2010
		US 2011251202 A1	13-10-2011
		WO 2006122806 A2	23-11-2006
		ZA 200709074 A	25-09-2008
