

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486, ya que éstas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud inicial. Por el contrario, éstas corresponden a una limitación de la materia reivindicada.

2. a- El Examinador señala que el título de la invención no debe contener la palabra “uso” en ella, por lo que debe ser modificado.

b- El título de la invención ha sido modificado en concordancia con los objetos reivindicados en el Capítulo Reivindicatorio Modificado, de la siguiente manera:

“COMBINACIONES DE 2,3-DIHIIDROIMIDAZO[1,2-C]QUINAZOLINAS SUSTITUIDAS Y UN AGENTE ACTIVO ADICIONAL”

3. a- El Examinador señala que el Capítulo Reivindicatorio no es claro ni conciso por las siguientes razones:

- las Reivindicaciones 1 a 3 reclaman combinaciones entre el compuesto activo 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida y uno o más agentes activos pero no se definen ejemplos de éstos en el Capítulo Descriptivo. El Examinador argumenta que las combinaciones deben mostrar un efecto sinérgico para que éstas sean patentables;
- la composición de la Reivindicación 4 debe estar definida en términos de sus ingredientes activos y excipientes, en términos porcentuales y proporciones;
- la Reivindicación 3 define un ingrediente activo ABT-737 y no mediante su nombre común internacional o por su nombre IUPAC;
- las Reivindicaciones 1 y 4 no son concisas porque reclaman el compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida que puede ser combinado o incorporado en una combinación con uno o más ingredientes activos, pero que éstas combinaciones no tienen sustento en el Capítulo Descriptivo;

b- i) En primer lugar, llamo respetuosamente la atención del Examinador sobre el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, en donde se reclama única y exclusivamente una combinación de a) 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-

c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida, y b) un agente activo adicional que es 4-[4-[[2-(4-clorofenil)fenil]metil]piperazin-1-il]-N-[4-[[[(2R)-4-(dimetilamino)-1-fenilsulfanilbutan-2-il]amino]-3-nitrofenil]sulfonilbenzamida (ABT-737).

Esta modificación encuentra sustento en la previa Reivindicación 3, en la página 103, párrafos 1-3 y en las páginas 139-142 del Capítulo Descriptivo original.

Adicionalmente, con el fin de superar la objeción elevada por el Examinador con respecto a la falta de claridad del nombre del ingrediente activo adicional ABT-737, este ha sido enmendado en la actual Reivindicación 1 por su nombre IUPAC.

De esta manera, las objeciones elevadas por el Examinador en su examen de fondo referidas a la falta de concisión, claridad y sustento en la Descripción de las reivindicaciones previas quedan superadas y por lo tanto, el Capítulo Reivindicatorio Modificado cumple lo establecido en el Art. 30 de la Decisión 486.

4. a- El Examinador sostiene que el Capítulo Descriptivo no es claro porque la información que contiene no permite que la persona normalmente versada en la materia pueda comprender el problema técnico y la solución aportada por la invención, como quiera que no se evidencia un hilo conductor y consistencia entre lo divulgado y el efecto técnico inesperado (sinergia), derivado de combinar al compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con uno o más agentes activos seleccionados de una larga lista, simplemente es una relatoría o mención de posibles objetos sin que se sustente y pruebe la relación entre el problema técnico planteado y la solución que aporta la solicitud.

b- Como se ha indicado en la sección 3 de este memorial, con fin de cumplir con los requerimientos del Examinador con respecto a la falta de claridad del nombre del ingrediente activo adicional ABT-737, este ha sido modificado en la actual Reivindicación 1 por su nombre IUPAC. Igualmente, este ha sido introducido en la página 16 del Capítulo Descriptivo cuando éste es mencionado por primera vez. Esta enmienda no extiende el alcance de la divulgación original.

En su examen de fondo, el Examinador argumenta que el Capítulo Descriptivo no es claro porque la información que contiene no permite a la persona normalmente versada en la materia comprender el problema técnico y la solución aportada por la invención. Añade que no hay consistencia entre lo divulgado y el efecto técnico inesperado (sinergia), derivado de combinar al

compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con uno o más agentes activos seleccionados de una larga lista, por lo que la relación entre el problema técnico planteado y la solución que aporta la solicitud no está sustentada.

Tal como se ha señalado anteriormente, el Capítulo Reivindicatorio Modificado ha sido limitado a una combinación del compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con el agente adicional ABT-737.

Por tanto, considero que el Capítulo Descriptivo es lo suficientemente claro para que una persona normalmente versada en la materia pueda llevar a cabo la invención en todo el alcance reivindicado.

En efecto, el Examinador podrá apreciar que en las páginas 102-103 del Capítulo Descriptivo se señalan las ventajas del uso de agentes citotóxicos y/o citostáticos en combinación con un compuesto o una composición de la presente invención.

Asimismo, en el párrafo 1 de la página 139 del Capítulo Descriptivo se lee:

“La combinación del Compuesto A con ABT-737, un inhibidor de Bcl-2, sensibilizó a las células T47D a la apoptosis, apoyando adicionalmente la hipótesis de que la inhibición simultánea de PI3K y Bcl-2 podría mejorar sinérgicamente el efecto de muerte tumoral en el cáncer de mama Bcl-2 positivo.”

En la página 140 (último párrafo) y 141 (primer párrafo) del Capítulo Descriptivo se describe el análisis cuantitativo llevado a cabo del efecto de combinación del compuesto (2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida) y ABT-737 sobre la inducción de Caspasa 3 y 7 en células T47D (C), detallado en la figura 5. Dicha figura muestra que el índice de combinación del compuesto A con ABT-737 con base en la fórmula descrita por Chou (Chou y col., 2006) es < 1 , lo que indica un efecto sinérgico (ver página 141 párrafo 1 de la Descripción).

Por lo tanto, después de leer el Capítulo Descriptivo detenidamente, una persona normalmente versada en la materia sería capaz de comprender el problema técnico y la solución aportada por la invención, así como de llevar a cabo la invención en todo el alcance reivindicado, sin dificultad alguna.

Por tal razón, considero que la Descripción es clara y completa de acuerdo a lo establecido en el Art. 28 de la Decisión 486.

5. a- El Examinador señala que la presente invención no cumple con el requisito de unidad de invención en tanto identifica 5 grupos inventivos tal y como muestro a continuación:

- Grupo Inventivo 1: Combinación del compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con agente inhibidor Bcl específicamente ABT-737 (Reivindicación 1, 3 y 4). Presenta sustento.

- Grupo Inventivo 2: Combinación del compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con un péptido de unión Bcl (Reivindicación 1 y 4). No Presenta sustento.

- Grupo Inventivo 3: Combinación del compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con un ARNsi para Bcl (Reivindicación 1 y 4). No presenta sustento.

- Grupo Inventivo 4: Combinación del compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con un oligonucleótido de terapia antisentido (Reivindicación 1 y 4). No presenta sustento.

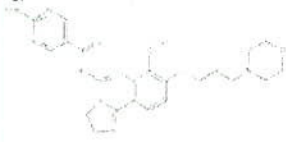
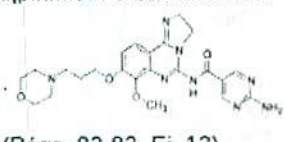
- Grupo Inventivo 5: Combinación del compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con un inhibidor vía mTOR específicamente rapamicina (Reivindicación 1-2 y 4). Presenta sustento.

b- De acuerdo con la limitación introducida en el Capítulo Reivindicatorio Modificado, este ha sido limitado al grupo inventivo 1 indicado por el Examinador en su examen de fondo, el cual tiene sustento en el Capítulo Descriptivo:

Grupo Inventivo 1. Combinación del compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida con un agente inhibidor Bcl específicamente ABT-737.

Por tanto, considero que la materia actualmente reivindicada presenta unidad de invención de acuerdo a lo establecido en el Art. 25 de la Decisión 486.

6. a- El Examinador señala que la presente invención carece de novedad a la luz de la patente WO2008070150 (D1) según la siguiente tabla comparativa:

Características esenciales	D1
Una combinación o composición farmacéutica que contiene:	Combinación o Composición farmacéutica que comprende: (Resumen y Págs. 82-83, Ej. 13)
a) 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida 	a) 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida  (Págs. 82-83, Ej. 13)
b) un agente activo adicional rapamicina	b) Rapamicina (Págs. 127-128 Rvs. 29-33)

En este sentido, el Examinador ha objetado la novedad de la Reivindicación previa 1 frente a lo divulgado en el documento del arte previo D1 (WO2008070150), el cual divulga composiciones farmacéuticas que comprenden al compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida combinado con otros ingredientes como la rapamicina, útiles en el tratamiento del cáncer mama.

b- En vista de las modificaciones al Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, la Reivindicación 1 se refiere específicamente a la combinación del compuesto (2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida) y el agente inhibidor Bcl ABT-737.

En este punto es importante resaltar que para fundamentar una afectación válida contra la novedad de una invención, el arte previo debe divulgar explícitamente todas y cada una de las características de la invención¹. Es más, el Tribunal Andino de Justicia (TAJ) ha determinado que para establecer una objeción válida contra la novedad, la divulgación del arte previo debe ser lo suficientemente detallada para que una persona versada en la materia pueda usar dicha información para reproducir y explotar la invención².

En consecuencia, la novedad no es destruida por ninguno de los documentos del arte previo citados por el Examinador en su examen de fondo.

¹ Manual Andino de Patentes. (2004). Sección 9.4. (disponible en <http://www.comunidadandina.org/public/patentes.pdf>).

² Proceso 06-IP-89 (<http://intranet.comunidadandina.org/Documentos/Procesos/209-IP-2005.doc>); y Proceso 36-IP-2004 (<http://www.notinet.com.co/serverfiles/servicios/archivos/30jul04/ca36-04.htm>)

7. a- El Examinador ha objetado el nivel inventivo de la presente invención frente a lo divulgado en los documentos del arte previo D1 y D2 (WO2010138575), ya que sería obvio para la persona normalmente versada en la materia incluir el compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida de acuerdo con lo divulgado en el documento D1 dentro de la combinación revelada en el documento D2, para llegar así al objeto de la Reivindicación 3 de la solicitud.

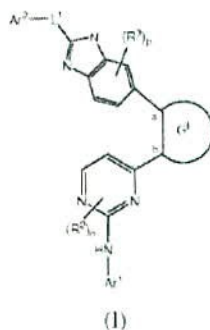
b- Discrepo respetuosamente de esta opinión y me permito aportar los siguientes argumentos a favor del nivel inventivo de la presente invención:

Como se ha visto, las reivindicaciones se han limitado a la materia específica mencionada anteriormente, esto es, la combinación del compuesto (2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida) y el agente inhibidor Bcl ABT-737.

El documento del arte previo D1 divulga compuestos 2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolina, entre los que se encuentra el compuesto 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazol[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida, útiles en el tratamiento del cáncer.

D1 menciona que dichos compuestos 2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolina se pueden utilizar en combinación con otro agente antihiperproliferativo, antiinflamatorio, analgésico, inmunoregulatorio, diurético, antiarrítmico, anti-hipercolesterolémico, anti-dislipidémico, antidiabético o antiviral (ver página 38) y relata una larga lista de agentes adicionales (páginas 38-41) entre los que no se encuentra el agente adicional reivindicado en la presente invención ABT-737.

Por otro lado, D2 se refiere a compuestos derivados de pirimidin-imidazol útiles en el tratamiento del cáncer. Los compuestos reivindicados en la presente invención son estructuralmente muy diferentes de los descritos en D2. En particular, D2 se refiere a compuestos de fórmula general (I):



Dichos compuestos no contienen un núcleo de imidazo[1,2-c]quinazolina como los compuestos reivindicados en la presente invención, sino que poseen un núcleo de benzoimidazol y un anillo de pirimidina unidos a través de un heterociclo.

Este documento menciona que dichos compuestos de fórmula general (I) se pueden utilizar en combinación con otro agente adicional e incluye una larga lista en sus páginas 34-42 entre la que se encuentra el agente ABT-737. Sin embargo, este documento no contiene datos experimentales en los que se pruebe la actividad biológica de ninguna de las numerosas posibles combinaciones mencionadas.

Por lo tanto, una persona versada en la materia no estaría motivada a combinar dicho agente ABT-737 con el compuesto (2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida) con la expectativa de obtener combinaciones con efectos mejorados como las descritas en la presente invención.

Considero que a los efectos de argumentar en contra del nivel inventivo, no es suficiente señalar y combinar diferentes características en diferentes documentos cuando no hay motivación para una persona versada en la materia para hacerlo.

Como se observa en las páginas 138-140 de la presente solicitud, el compuesto específico 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida en combinación con el agente adicional ABT-737 sensibilizó a las células T47D a la apoptosis, lo cual pone de manifiesto el efecto sinérgico de dicha combinación sobre el efecto de muerte tumoral en el cáncer de mama Bcl-2 positivo.

Estos hallazgos proporcionan la base para el desarrollo de terapias personalizadas para el tratamiento de subtipos moleculares de cáncer de mama: cáncer de mama inflamatorio, cáncer de mama triple negativo, cáncer de mama positivo a receptor de Her2, cáncer de mama positivo a receptor de hormona. Este efecto inesperado no se podría haber deducido de manera obvia de los documentos del arte previo D1 y D2.

4

Así pues, considero que este efecto inesperado y sorprendente tal como se muestra en la presente solicitud, en particular, en la sección biológica, evidencia la altura inventiva de la presente invención.

En conclusión, considero que en las nuevas condiciones, la presente solicitud cumple con todos los requisitos de patentabilidad establecidos por la Ley.

8. Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por la Examinadora en su primer examen de fondo han sido resueltas y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad y proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

Anexos:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado.
- Hojas sustitutas 16 y 139 a 141

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

(Primer Examen de Fondo)

1. Una combinación de
 - a) 2-amino-N-[7-metoxi-8-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolin-5-il]pirimidin-5-carboxamida, y
 - b) un agente activo adicional que es 4-[4-[[2-(4-clorofenil)fenil]metil]piperazin-1-il]-N-[4-[[[(2R)-4-(dimetilamino)-1-fenilsulfanilbutan-2-il]amino]-3-nitrofenil]sulfonilbenzamida.

se relaciona con combinaciones de:

a) un compuesto de 2,3-dihidroimidazo[1,2-c]quinazolina, o una sal, solvato, hidrato o estereoisómero del mismo fisiológicamente aceptable; y

b) uno o más agentes activos adicionales, en particular un agente activo seleccionado de un agente antiangiogénesis, antihiperproliferativo, antiinflamatorio, analgésico, inmunoregulatorio, diurético, antiaritmico, antihipercolesterolemia, antidislipidemia, antidiabético o antiviral, más particularmente uno o más agentes activos adicionales seleccionados del grupo que consiste en:

- un inhibidor de Bcl, tales como 4-[4-[[2-(4-clorofenil)fenil]metil]piperazin-1-il]-N-[4-[[2-(4-dimetilamino)-1-fenilsulfanilbutan-2-il]amino]-3-nitrofenil]sulfonilbenzamida (ABT-737), ABT-263 (Navitoclax), EM20-25, YC137, GX-015-070 (Obatoclax), Tetrocarcin A, UCB-1350883, AT-101 ((-)-Gossypol), SPC-2004 (Beclanorsen), IG-105, WL-276, BI-97C1, I-VRL (Immunovivorelbine), DATS (Allitridin), CNDO-103 (Apogossypol), D-G-3139 (Genasense), Evotec, PIB-1402, EU-517;

- un péptido de unión a Bcl;

- un ARNsi contra Bcl, tal como PNT-2258;

- un oligonucléotido para terapia antisentido, tal como BclKlex; y

- un inhibidor de la vía mTOR, tal como rapamicina o un análogo de rapamicina, tales como Rapamicina (Sirolimus), Everolimus (RAD-001, Afinitor), Zotarolimus (ABT-578, Endeavor), Temisirolimus (CCI-779, Torisel), Ridaforolimus (AP-23576, MK-8669), TAFA-93, o un inhibidor de la quinasa mTOR, tales como WYE-132, OSI-027, INK-128, OSI-027, AZD-2014, AZD-8055, CC-223, ABI-009, EXEL-3885,

(PIK3CA^{mut}), fueron resistentes a la apoptosis inducida por el Compuesto A, a pesar de la potente actividad antiproliferativa del Compuesto A (IC₅₀ en el orden de un solo dígito nM). La combinación del Compuesto A con ABT-737, un inhibidor de Bcl-2, sensibilizó a las células T47D a la apoptosis, apoyando adicionalmente la hipótesis de que la inhibición simultánea de PI3K y Bcl-2 podría mejorar sinérgicamente el efecto de muerte tumoral en el cáncer de mama Bcl-2 positivo.

Por otro lado, las células tumorales MDA-MB-468 PTEN^{null}, EGFR^{high} y Bcl-2 negativas, no solo son insensibles a la inhibición de la proliferación, sino que también son resistentes a la inducción de apoptosis mediante el Compuesto A. La inhibición de mTORC1 mediante rapamicina y/o la inhibición de mTORC2 mediante el silenciamiento de Rictor, sensibiliza a las células MDA-MB468 hacia el Compuesto A con respecto a la inhibición de la proliferación y la inducción de apoptosis.

En conclusión, el Compuesto A fue extremadamente eficaz para inducir apoptosis en células de cáncer de mama que expresan HER2 y/o la mutación PIK3CA en ausencia de Bcl-2. El Compuesto A en combinación con agentes anti-Bcl o inhibidores de mTOR podría ser una estrategia promisorio para conseguir respuestas de tumor en tumores positivos a Bcl-2 o tumores de mama que expresan EGFR /PTEN^{null}, respectivamente. Estos hallazgos proveen fundamento para desarrollar terapias personalizadas para el tratamiento de subtipos moleculares de cáncer de mama.

La Figura 1 muestra la correlación de IC₅₀s del

Compuesto A en ensayos de proliferación y estatus genético de líneas celulares de cáncer de mama.

La Figura 2 muestra cinéticas de inhibición de crecimiento celular mediante Compuesto A. Se usó la técnica de Xcelligence (Roche, Alemania) para monitorear los efectos sobre el crecimiento de células tumorales después de tratamiento mediante Compuesto A. Se detectó el índice celular (CI), que se correlaciona con el número de células que se unen al fondo de la placa (Giordano C, Masi A, Pizzini A, Sansone A, Consalvi V, Chiaraluce R, Lucente G. Synthesis and activity of fibrillogenesis peptide inhibitors related to the 17-21 beta-amyloid sequence. Eur J Med Chem. 2009;44:179-189), cada 15 minutos durante 80 horas de periodo de tratamiento. Se normalizó el CI al punto de tiempo de tratamiento (a las 24 horas CI =1).

La Figura 3 muestra la inducción de clivaje de PARP mediante el Compuesto A en células BT-20, BT-474, ZR-75-1, T47D y MDA-MB468 investigadas en el punto de tiempo indicado mediante análisis por transferencia Western usando GAPDH como control proteico interno.

La Figura 4 muestra moléculas prosupervivencia de la familia Bcl investigadas en células sin tratar (A). Se lisaron las células y se llevó a cabo análisis por transferencia Western para detectar Bcl-2, Mcl-1, y survivina. Se usó GAPDH como control proteico interno.

La Figura 5 muestra un análisis cuantitativo del efecto de combinación del compuesto A y ABT-737 sobre la inducción de Caspasa 3 y 7 en células T47D (C). Se investigó la inducción de apoptosis mediante el compuesto A

y ABT-737 como agente individual y en combinación, mediante Caspase-Glo® 3/7 (Promega, EE.UU.) y se analizó mediante el programa Analyze 5 (Bayer HealthCare, Alemania). Los efectos de la combinación se muestran mediante isoblograma y el índice de combinación en base a la fórmula descrita por Chou (Chou y col., 2006). Un índice de combinación < 1 , $=1$, y > 1 indica efecto sinérgico, aditivo, y antagonista, respectivamente.

La Figura 6 muestra células MDA-MB-468 transfectadas con Lentivirus que expresa shRNA contra Rictor. Se evaluó la expresión celular del componente mTORC2 Rictor mediante análisis por transferencia Western (A). Inducción de clivaje de PARP mediante tratamiento con compuesto A en combinación con inhibición de mTORC1 o mTORC2 (B). Las células MDA-MB468 con shControl y shRictor se trataron con los agentes indicados durante 48 horas, y se analizó el clivaje de PARP. Se usó GAPDH como control proteico interno.

Sustancias control

Se usó rapamicina obtenida de Sigma (St Louis, MO, EE.UU.) como inhibidor de referencia. Se obtuvo ABT-737 de Selleck Chemicals (Houston, TX, EE.UU.)

En conclusión, el Compuesto A fue extremadamente eficaz para inducir apoptosis en células de cáncer de mama que expresan HER2 y/o una mutación *PIK3CA* en ausencia de Bcl-2. El Compuesto A en combinación con agentes anti-Bcl o inhibidores de mTOR debería proveer una estrategia promisorio para conseguir respuestas tumorales en tumores de mama positivos a Bcl-2 o que expresan EGFR /PTEN^{null},