

Q.F.

1620

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-064192-00000-0000

Fecha: 2011-05-24 17:00:50 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 44

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD



PATENTE DE INVENCION

ENTRADA FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No.

11-64192

54. TITULO

MÉTODO PARA CLASIFICAR COMPUESTOS QUE INTERACTÚAN

SELECTIVAMENTE CON RAD9

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

MAGNACHEM INTERNATIONAL LABORATORIES, INC.

DOMICILIO

BOCA RATÓN, FL, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

74. APODERADO

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

22. BOGOTÁ, D.C.

21, 22
24-05-2011



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-064192-00000-0000

Fecha: 2011-05-24 17:00:50
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 379 FASENACIONALII
Folios: 44

adicación

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☐ Capítulo I.

☒ Capítulo II.

IDENTIFICACIÓN

2 SOLICITANTE

Nombre: **MAGNACHEM INTERNATIONAL LABORATORIES, INC.**

Dirección: 621 NW 53rd Street, Suite 240, Boca Raton, FL 33487, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución: Estados Unidos de América.

Teléfono:

Fax:

E-mail

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual Número _____

IDENTIFICACIÓN

3 REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO**

Dirección: Calle 70 A #4-41, Bogotá, Colombia.

Teléfono: 744-2200

Fax: 742-2200

E-mail:

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual Número 80.410.337 TP 57492

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de radicación (del poder). _____

4 INVENTOR (ES) (72)

Nombre: **TERRERO, David; GOMEZ, Federico, M.; GOMEZ GARCIA-GODOY, C., Federico.**

Dirección: Calle Bohechio #29, Ensanche Quisquilla, República Dominicana; 621 NW 53rd Street, Suite 240, Boca Raton, FL, Estados Unidos de América; Calle Emilio Aparicio #24, Ensanche Julieta, Santo Domingo, República Dominicana; respectivamente.

Nacionalidad o Domicilio: República Dominicana y Estados Unidos de América; respectivamente

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2009/062082

Fecha 26.10.2009

Publicación Internacional No. WO 2010/048616 A3

Fecha 29.04.2010

6 Título (54): MÉTODO PARA CLASIFICAR COMPUESTOS QUE INTERACTÚAN SELECTIVAMENTE CON RAD9

7 Clasificación Internacional (51): _____

8 Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI ☒

NO ☐

US

24.10.2008

61/108,224

9 Comprobante de pago No. 11-43 846

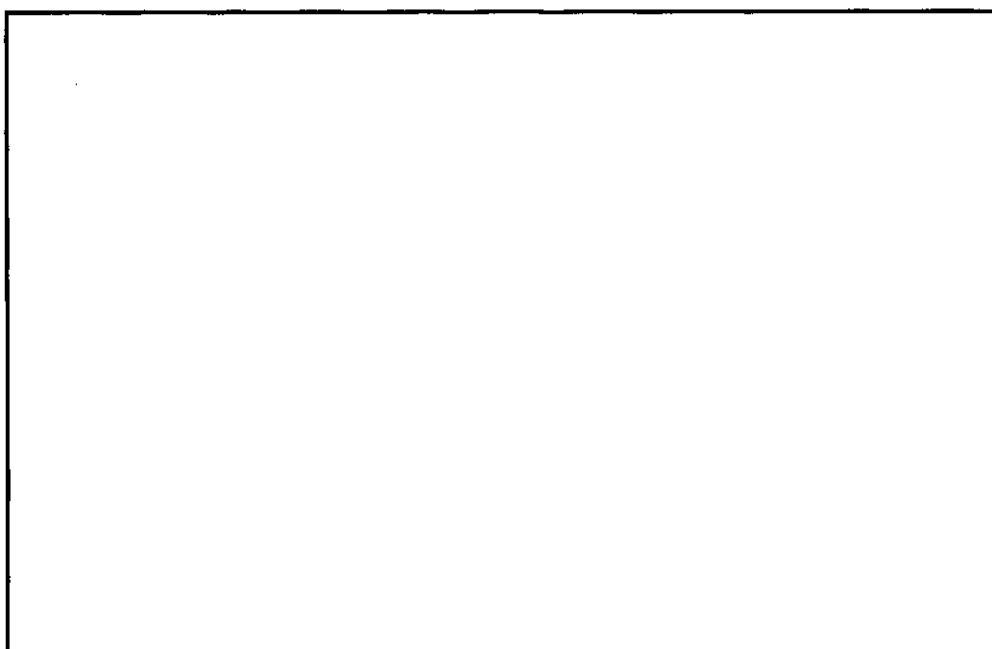
Fecha 09-05-2011

10

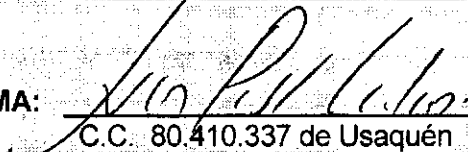
ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$ 571.000
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de la persona jurídica peticionaria, en cuanto no esté inscrita en alguna Cámara de Comercio Colombiana.
- ☐ Poderes, si fuere el caso. Fotocopia autenticada.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Fotocopia autenticada.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al español (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA).
- ☒ Traducción de 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 12x12.
- ☐ 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 bajo el Art. 34.
- ☐ Otros: - Comprobante(s) de pago de la tasa por concepto de reivindicaciones adicionales \$ — (—*\$27.000).

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JUAN PABLO CADENA SARMIENTOFIRMA: 

C.C. 80.410.337 de Usaquén TP 57492 del C.S.J.

117244³

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0043846

Bogotá D.C., Mayo 09 de 2011 - 07:05:26

RECIBIDO DE : BRIGARD & CASTRO S.A.

NI 860.047.372

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	430541381	05/05/2011	39.408.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	7 TRAMITES DE SOL. DE DISENOS INDUSTRIALES	571.000.00	571.000.00
				\$571.000.00

=====

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-064192- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 17:00:50

Tra. 11 PATENTE IYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 379 FASENACIONALII
Folios: 44

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

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

Mayo 9 de 2011 - 09:30:30

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
29 April 2010 (29.04.2010)

(10) International Publication Number
WO 2010/048616 A3

- (51) International Patent Classification:
G01N 33/50 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2009/062082
- (22) International Filing Date:
26 October 2009 (26.10.2009)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
61/108,224 24 October 2008 (24.10.2008) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): **MAG-NACHEM INTERNATIONAL LABORATORIES, INC.**; 621 NW 53rd Street, Suite 240, Boca Raton, FL 33487 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): **TERRERO, David** [DO/DO]; Calle Bohechio #29, Ensanche Quisquella (DO). **GOMEZ, Federico, M.** [US/US]; 621 NW 53rd Street, Suite 240, Boca Raton, FL (US). **GOMEZ GARCIA-GODOY, C., Federico** [DO/DO]; Calle Emilio Aparicio #24, Ensanche Julieta, Santo Domingo (DO).
- (74) Agents: **PABST, Patrea, L.** et al.; Pabst Patent Group LLP, 1545 Peachtree Street, N.E., Suite 320, Atlanta, GA 30309 (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, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (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, 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:

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

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))

(88) Date of publication of the international search report:
10 June 2010



WO 2010/048616 A3

(54) Title: METHOD FOR SCREENING FOR COMPOUNDS SELECTIVELY INTERACTING WITH RAD9

(57) Abstract: Natural and synthetic compounds of Formulae Ia-Ie having a lactone structure, in particular Securoside, have been determined to be effective antitumor compounds which target the hRad9 gene and/or protein encoded thereby or complex containing the protein and/or the p53 gene and/or protein. Securoside is cytospecific for mutants of hRad9 based on studies conducted in Rad9 mutant yeast strains. Securoside appears to interact with mutant hRad9 in cancer cells to produce DNA lesions which result in apoptosis. Studies have demonstrated that Securoside is useful for treating proliferation disorders such as melanoma, leukemia, breast cancer, lung cancer, ovarian cancer, colon cancer, esophagus cancer, liver cancer, and lymphatic cancer, and to alleviate pain associated with the cancer. Other compounds effective for the treatment of cancer and optionally pain associated therewith may also be identified using the same assays, for example, by screening for efficacy in assays using Rad9 and/or p53 defective mutant yeasts.

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA BAJO EL TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad
Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
29 de abril de 2010 (29.04.2010)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2010/048616 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
G01N 33/50 (2006.01)

(21) Numero de Solicitud Internacional:
PCT/US2009/062082

(22) Fecha de Presentación Internacional:
26 de octubre de 2009 (26.10.2009)

(25) Lenguaje de entrega: Inglés

(26) Lenguaje de Publicación: Inglés

(30) Datos de la Prioridad:
61/108,224 24 de octubre de 2008 (24.10.2008) US

(71) Solicitante (para todos los Estados designados menos los Estados Unidos): **MAGNACHEM INTERNATIONAL LABORATORIES, INC.**; 621 NW 53rd Street, Suite 240, Boca Raton, FL 33487 (US)

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (solo para los Estados Unidos): **TERRERO, David** [DO/DO]; Calle Bohechio #29, Ensanche Quisqueña (DO). **GOMEZ, Federico, M.** [US/US]; 621 NW 53rd Street, Suite 240, Boca Raton, FL (US). **GOMEZ GARCIA-GODOY, C., Federico** [DO/DO]; Calle Emilio Aparicio #24, Ensanche Julieta, Santo Domingo (DO)

(74) Agente: **PABST, Patrea, L. et al.**; Pabst Patent Group LLP, 1545 Peachtree Street, N.E. Suite 320, Atlanta, GA 30309 (US).

(81) Estados Designados (a menos que se indique lo contrario, para todo 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, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que se indique lo contrario, para todo tipo de protección regional disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea (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, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones bajo la Regla 4.17:

— de la calidad del inventor (Regla 4.17(iv))

Publicado:

— con el informe de búsqueda internacional (Art. 21(3)).

— antes del vencimiento de la fecha límite para modificar las reivindicaciones y ser publicado nuevamente una vez se reciban dichas modificaciones (Regla 48.2(h)).

(88) Fecha de publicación del informe de búsqueda internacional :

10 de junio de 2010

(54) Título: MÉTODO PARA CLASIFICAR COMPUESTOS QUE INTERACTÚAN SELECTIVAMENTE CON RAD9

(57) Resumen: Compuestos naturales y sintéticos de las fórmulas Ia-le que tienen una estructura de lactona, en particular Securolide, se han determinado que son compuestos anti-tumorales efectivos que se dirigen al gen hrad9 y/o proteína codificada por el mismo o complejo que contiene la proteína y/o el gen p53 y/o proteína. El Securolide es citoselectivo para mutantes de hRad9 con base en estudios conducidos en cepas de levadura de mutante rad9. El Securolide parece que interactúa con el mutante hRad9 en células cancerosas para producir lesiones de DNA las cuales dan por resultado la apoptosis. Los estudios han demostrado que el Securolide es útil para tratar desórdenes de proliferación tal como melanoma, leucemia, cáncer de seno, cáncer de pulmón, cáncer de ovarios, cáncer de colon, cáncer de esófago, cáncer de hígado, y cáncer linfático, y para mitigar el dolor asociado con el cáncer. Otros compuestos efectivos para el tratamiento de cáncer y opcionalmente dolor asociado con el mismo también se pueden identificar usando los mismos ensayos, por ejemplo, mediante la clasificación de eficacia en ensayos que usan levaduras de mutante defectuosas de Rad9 y/o p53.

MÉTODO PARA CLASIFICAR COMPUESTOS QUE INTERACTÚAN SELECTIVAMENTE CON RAD9

Campo de la Invención

La presente invención está en general en el campo de objetivos para compuestos anti-cáncer y métodos de clasificación de los mismos.

Referencia Cruzada a Solicitudes Relacionadas

Esta solicitud reclama la prioridad de U.S.S.N. 61/108,224 "*Method for Screening for Compounds Selectively Interacting with RAD9*" por David Terrero, presentada el 24 de Octubre de 2008.

Antecedentes de la Invención

Muchos compuestos son conocidos para el tratamiento de cáncer. La mayoría actúa por la vía de la inhibición de la replicación de DNA o proliferación celular en general, y no son específicos para células transformadas. Aunque se ha impartido especificidad a través del uso de ligandos objetivos, y el enlace a receptores específicos en las células tumorales, en general la mayoría de compuestos anti-tumorales son efectivos en virtud del exterminio de más de las células tumorales que proliferan más rápidamente como son comparadas con las células normales que se replican más lentamente.

Sería altamente deseable tener compuestos más selectivos, que sean citotóxicos a las células tumorales pero no a las células normales.

Por lo tanto, es un objetivo de esta invención proporcionar un método para identificar compuestos que exhiban actividad anti-tumoral selectiva.

Aun es adicionalmente un objetivo de esta invención proporcionar una nueva clase de compuestos que exhiban actividad anti-tumoral a través del objetivo del gen hRad9 en humanos.

Breve Descripción de la Invención

Compuestos naturales y sintéticos de las fórmulas Ia-Ie, o metabolitos de los mismos, que tienen una estructura de lactona, en particular Securolide, se han determinado que son compuestos anti-tumorales altamente efectivos los cuales se dirigen al gen hrad9 y/o proteína codificada por el mismo o complejo que contiene la proteína y/o el gen p53 y/o la proteína codificada por el mismo. El Securolide es citoselectivo para mutantes de hRad9 con base en los

estudios conducidos en las cepas de levadura de mutante Rad9. El Securolide parece que interactúa con el mutante hRad9 en células cancerosas para producir lesiones de DNA las cuales dan por resultado apoptosis. Los estudios han demostrado que el Securolide es útil para el tratamiento de desórdenes de proliferación tal como melanoma, leucemia, cáncer de seno, cáncer de pulmón, cáncer de ovarios, cáncer de colon, cáncer de esófago, cáncer de hígado, y cáncer linfático, y para mitigar el dolor asociado con el cáncer. También se pueden identificar otros compuestos efectivos para el tratamiento de cáncer y opcionalmente el dolor asociado con el mismo usando los mismos ensayos como se usaron para demostrar el mecanismo de acción del Securolide, por ejemplo, mediante la clasificación para la eficacia en ensayos que usan levaduras de mutante defectuoso Rad9.

Descripción Detallada de la Invención

Definiciones

"Alquilo", como se usa en la presente, se refiere al radical de grupos alifáticos saturados o insaturados, incluyendo grupos alquilo, alquenilo o alquinilo de cadena recta, grupos alquilo, alquenilo o alquinilo de cadena ramificada, grupos cicloalquilo, cicloalquenilo, o cicloalquinilo (alíclicos), grupos cicloalquilo, cicloalquenilo, o cicloalquinilo sustituidos con alquilo, y grupos alquilo, alquenilo, o alquinilo sustituidos con cicloalquilo. A menos que se indique de otra manera, un alquilo de cadena recta o cadena ramificada tiene 30 o menos átomos de carbono en su cadena principal (por ejemplo, C1- C30 para cadena recta, C3-C30 para cadena ramificada), preferiblemente 20 o menos, preferiblemente 10 o menos, más preferiblemente 6 o menos, mucho más preferiblemente 5 o menos. Si el alquilo está insaturado, la cadena de alquilo tiene en general de 2-30 carbonos en la cadena, preferiblemente de 2-20 carbonos en la cadena, preferiblemente de 2-10 carbonos en la cadena, más preferiblemente de 2-6 carbonos, mucho más preferiblemente de 2-5 carbonos. Del mismo modo, los cicloalquilos preferidos tienen de 3-20 átomos de carbono en su estructura de anillo, preferiblemente de 3-10 átomos de carbono en su estructura de anillo, mucho más preferiblemente 5, 6 o 7 carbonos en la estructura de anillo. Los ejemplos de radicales de hidrocarburos saturados incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, ciclohexilo, (ciclohexil)metilo, ciclopropilmetilo, y homólogos e isómeros de, por ejemplo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo. Ejemplos de grupos alquilo insaturados incluyen, pero no se

limitan a, vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1- y 3-propinilo, y 3-butinilo.

El término “alquilo” incluye una o más sustituciones en uno o más átomos de carbono del radical de hidrocarburo así como también heteroalquilos. Sustituyentes adecuados incluyen, pero no se limitan a, halógenos, tal como, cloro, bromo, o yodo; hidroxilo; $-NR_1R_2$, en donde R_1 y R_2 son independientemente hidrógeno, alquilo, o arilo, y en donde el átomo de nitrógeno se cuaterniza opcionalmente; $-SR$, en donde R es hidrógeno, alquilo, o arilo; $-CN$; $-NO_2$; $-COOH$; carboxilato; $-COR$, $-COOR$, o $-CONR_2$; en donde R es hidrógeno, alquilo, o arilo; azida, aralquilo, alcoxilo, imino, fosfonato, fosfinato, sililo, éter, sulfonilo, sulfonamido, heterociclilo, porciones aromáticas o heteroaromáticas, $-CF_3$; $-CN$; $-NCOCOCH_2CH_2$; $-NCOCOCHCH$; $-NCS$; y combinaciones de los mismos.

“Arilo”, como se usa en la presente, se refiere a sistemas de anillo aromático, heterocíclico, aromático fusionado, heterocíclico fusionado, biaromático o biheterocíclico de C_5 - C_{10} miembros. Ampliamente definido, “arilo”, como se usa en la presente, incluye grupos aromáticos de anillo individual de 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, y 10-miembros que pueden incluir de cero a cuatro heteroátomos, por ejemplo, benceno, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y los similares. Esos grupos arilo que tienen heteroátomos en la estructura de anillo también se pueden referir como “arilo heterociclos” “heteroaromáticos”. El anillo aromático se puede sustituir en una o más posiciones de anillo con uno o más sustituyentes incluyendo, pero no limitados a, halógeno, azida, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, alcoxilo, amino (o amino cuaternizado), nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, sulfonamido, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, porciones aromáticas o heteroaromáticas, $-CF_3$, $-CN$; y combinaciones de los mismos.

El término “arilo” también incluyen sistema de anillo policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los cuales dos o más carbonos son comunes para dos anillos unidos (es decir, “anillos fusionados”) en donde por lo menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, el otro anillo o anillo cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclos. Ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, benzimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzoxazolinilo, benztiazolilo, benztriazolilo, benztetrazolilo, benzisoxazolilo, benzisotiazolilo, benzimidazolinilo, carbazolilo, 4aH carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinnolinilo,

decahidroquinolinilo, 2*H*,6*H*-1,5,2- ditiazinilo, dihidrofuro[2,3*b*]tetrahydrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1*H*-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizinilo, indolilo, 3*H*-indolilo, isatinoilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindoliloyl, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, metilendioxfenilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3 -oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxindolilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidonilo, 4-piperidonilo, piperonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridolmidazol, piridotiazol, piridinilo, piridil, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2*H*-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 1*H*- quinolizinilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahydrofuranilo, tetrahydroisoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrazolilo, 6*H*-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo y xantenilo. Uno o más de los anillos se puede sustituir como se define anteriormente para "arilo".

Los términos "alquenilo" y "alquinilo" se refieren a grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y sustitución posible a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen por lo menos un enlace doble o triple respectivamente.

El término "heteroalquilo", como se usa en la presente, se refiere a radicales que contienen carbono de cadena recta o cíclicos, o combinaciones de los mismos, que contienen por lo menos un heteroátomo. Heteroátomos adecuados incluyen, pero no se limitan a, O, N, Si, P y S, en donde los átomos de nitrógeno, fósforo y azufre se oxidan opcionalmente, y el heteroátomo se cuaterniza opcionalmente. Los heteroalquilos se pueden sustituir como se define anteriormente para los grupos alquilo.

"Alcoxi", "alquilamino", y "alquiltio" se usan para referirse a aquellos grupos alquilo unidos al resto de la molécula por la vía de un átomo de oxígeno, un grupo amino, o un átomo de azufre, respectivamente.

"Alquilarilo", como se usa en la presente, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo (por ejemplo, un grupo aromático o heteroaromático).

"Heterociclo" o "heterocíclico", como se usa en la presente, se refiere a un radical cíclico unido por la vía de un anillo de carbono o nitrógeno de un anillo monocíclico o bicíclico que contiene un anillo de 3-10 átomos, y preferiblemente

un anillo de 5-6 átomos, que consiste de carbono y uno a cuatro heteroátomos cada uno seleccionado del grupo que consiste de oxígeno no de peróxido, azufre, y N(Y) en donde Y está ausente o es H, O, alquilo(C1-10), fenilo o bencilo, y que contiene opcionalmente 1-3 enlaces dobles y sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes. Ejemplos de anillo heterocíclico incluyen, pero no se limitan a, benzimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzoxazolinilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, benzisoxazolilo, benzisotiazolilo, benzimidazolinilo, carbazolilo, 4aH-carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinnolinilo, decahidroquinolinilo, 2H,6H,-1,5,2- ditiazinilo, dihidrofuro[2,3-b]tetrahidrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, 3H-indolilo, isatinoilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, metilendioxfenilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquimolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxepanilo, oxetanilo, oxindolilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenothiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidonilo, 4-piperidonilo, piperonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazole, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, piyrrolidinilo, pirrolinilo, 2H-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4H-quinolizínilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidropiranilo, tetrahidroquinolinilo, tetrazolilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tianthrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo y xantenilo. Grupos heterocíclicos se pueden sustituir opcionalmente con uno o más sustituyentes como se define anteriormente por alquilo y arilo.

“Halógeno”, como se usa en la presente, se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

Mecanismo de Acción

Los puntos de control del ciclo celular regulan el orden preciso de los eventos del ciclo celular, asegurando de esta manera la distribución de copias completas del genoma a las células hijas (Hartwell, L. & Weinert, T., *Science* 246, 629-634, 1989). Los defectos en los puntos de control conducen a inestabilidad genómica, un factor contribuidor principal en el desarrollo de cáncer, debido a que

las células con puntos de control defectuosos se desarrollan en mitosis con DNA dañado o incompletamente replicado (Hartwell, L.H. & Kastan, M.B., *Science* 266, 1821-1828, 1995; Nojima, H. *Hum. Cell* 10, 221-230, 1997).

Estudios moleculares y genéticos en las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizosaccharomyces pombe* han identificado una red intrincada de genes requeridos para el punto de control S-G2/M, el cual asegura la detención del ciclo celular en respuesta al daño del DNA y/o replicación del DNA incompleto (Weinert, T., *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8, 185-193, 1998). En la levadura de fisión, un grupo de seis proteínas rad de punto de control no esencial, Hus1, Rad1, Rad3, Rad9, Rad17, y Rad26, constituyen la maquinaria sensorial de la cascada del punto de control de levadura de fisión (Humphrey, T., *Mutat. Res.* 451, 211-226, 2000). Estas proteínas son requeridas para la detección del ciclo celular en respuesta a la inhibición de la síntesis de DNA por los compuestos tales como hidroxí y urea o daños de DNA causados por radiación UV y gamma (Humphrey, T., *Mutat. Res.* 451, 211-226, 2000). Estas proteínas se han conservado altamente durante la evolución, y las proteínas relacionadas se han descubierto en muchas otras eucariotas, incluyendo humanos (Venclovas, C. & Thelen, M.P. *Nucleic Acids Res.* 28, 2481-2493, 2000). Los análogos humanos de estas proteínas rad de punto de control son referidos como hHus1, hRad1, hRad3, hRad9, y hRad17. La Rad26 no tiene un homólogo en humanos.

La hRad9 interactúa con la hRad1 y hHus1 en un complejo estable que ha sido denominado el complejo 9-1-1- (Burtelow y colaboradores, *J. Biol. Chem.*, 276, 25903-25909, 2001). La homología estructural entre cada miembro del complejo 9-1-1 y el antígeno nuclear de células de proliferación de factor de posesividad de replicación (PCNA) ha conducido a la hipótesis de que el complejo 9-1-1 reemplaza las funciones dependientes de PCNA asociadas con replicación durante la reparación de DNA (Caspari y colaboradores, *Mol. Cell. Biol.* 20, 1254-1262, 2000). Durante la replicación de DNA, el homotrímero de PCNA forma una abrazadera deslizante similar a anillo sobre el DNA y actúa para incrementar la posesividad de la DNA polimerasa. EL modelo 9-1-1/PCNA es apoyado por la observación de que hRad9, hRad1, y hHus1 cada una interactúa con hRad17, lo cual comparte una homología extensiva a las subunidades del factor de replicación C, una proteína requerida para cargar el PCNA1 sobre DNA (Mossi, R, y Hubscher, U., *Eur. J. Biochem.*, 254, 209-216, 1998). Estudios adicionales han mostrado que el daño de DNA induce no solamente a la hiperfosforilación de hRad9 y hRad1 sino también a la asociación de complejo 9-1-1 con cromatina. A

partir de esto, ha surgido un modelo en el cual la carga dependiente de hRad17 de 9-1-1 sobre DNA en los sitios del daño podrían coordinar una respuesta de punto de control de múltiples facetas (St.Onge et al., *J. Biol. Chem.*, 276, 41898-41905, 2001).

Estudios biomoleculares *in vitro* y modelos experimentales sugieren que la 4,5-dihidro-3-metilen-2[3H]furanona, "Securolide" se enlaza a las estructuras intracelulares para desencadenar reguladores inmunes intrínsecos que previenen el crecimiento de células aberrantes. El Securolide da por resultado la muerte de la célula de las cepas de levadura de mutante Rad9. Con base en estos datos, se cree que el Securolide interactúa con el mutante hRad9 en células cancerosas para producir lesiones de DNA lo cual conduce a la apoptosis. Los bioensayos que implican cepas de mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* mostraron citotoxicidad solamente en las cepas de mutante y más específicamente al gen rad9. Esto sugiere que el Securolide tiene citotoxicidad selectiva en los genomas inestables. Ensayos clínicos humanos han mostrado que los ensayos *in vitro* son predictivos de eficacia en el tratamiento de cáncer y otra enfermedad, incluyendo pacientes con cáncer de seno y próstata quienes han fracasado a la quimioterapia convencional y a la terapia de radiación.

El DNA dañado en la *S. cerevisiae* activa el gen rad9, el cual es conocido como una proteína de punto de control de reparación de ciclo celular, para detener el ciclo celular después de que ha ocurrido el daño. La Rad9 también puede promover la pro-apoptosis (suicidio celular) y suprime la división celular. Los bioensayos muestran que el Securolide causa lesiones al DNA dañado a través del rad9. El Hrad9 es el homólogo de rad9 en células tumorales humanas. Desde que el Securolide es citotóxico a los mutantes rad9 en otros tipos de levaduras, se espera que el Securolide se dirija al hrad9 en humanos para desestabilizar los genomas de las células malignas.

El gen p53 es un gen supresor de tumor, es decir, su actividad detiene la formación de tumores. Si una persona hereda solamente una copia funcional del gen p53 de sus padres, están predispuestos a cáncer y usualmente desarrollan varios tumores independientes en una variedad de tejidos en la edad adulta temprana. Esta condición es rara, y es conocida como síndrome de Li-Fraumeni. Sin embargo, las mutaciones en p53 se descubrieron en la mayoría de tipos de tumor, y de esta manera contribuyen a la red compleja de eventos moleculares que conducen a la formación de tumores.

El gen p53 se ha mapeado al cromosoma 17. En la célula, la proteína

p53 enlaza el DNA, el cual a su vez estimula otro gen para producir una proteína llamada p21 que interactúa con una proteína estimuladora de división celular (cdk2). Cuando la p21 se forma en complejo con la cdk2 la célula no puede pasar a través de la siguiente etapa de la división celular. El mutante p53 ya no puede enlazar el DNA en una manera efectiva, y como consecuencia la proteína p21 no se hace disponible para actuar como la "señal de detención" para la división celular. De esta manera las células se dividen descontroladamente y forman tumores.

La p53 se activa en respuesta a una infinidad de tipos de estreses, los cuales incluyen pero no se limitan a daño de DNA (inducido por ya sea UV, IR, o agentes químicos tal como peróxido de hidrógeno), estrés oxidante, choque osmótico, agotamiento de ribonucleótidos y expresión de oncogenes desregulados. Esta activación es marcada por dos eventos principales. En primer lugar, la vida media de la proteína p53 se incrementa drásticamente, conduciendo a una rápida acumulación de p53 en las células estresadas. En segundo lugar, un cambio conformacional hace que la p53 tome una función activa, como un regulador de transcripción en estas células. El evento crítico que conduce a la activación de p53 es la fosforilación de su dominio N-terminal. El dominio de activación transcripcional N-terminal contiene un gran número de sitios de fosforilación y se puede considerar como el objetivo primario para las señales de estrés de transducción de proteínas cinasas.

Las proteínas cinasas que son conocidas para dirigirse a este dominio de activación transcripcional del p53 se pueden dividir aproximadamente en dos grupos. Un primer grupo de proteínas cinasas pertenece a la familia MAPK (JNK1-3, ERK1-2, p38 MAPK.), la cual se sabe que responde a varios tipos de estreses, tal como daño de la membrana, estrés oxidante, choque osmótico, choque de calor, etc. Un segundo grupo de proteínas cinasas (ATR, ATM, CHK1 y CHK2, DNA-PK, CAK) está implicado en el punto de control de integridad del genoma, una cascada molecular que detecta y responde a varias formas de daño de DNA causado por estrés genotóxico. Los oncogenes también estimulan la activación de p53, mediada por la proteína p14ARF.

En células no estresadas, los niveles de p53 se mantienen bajos a través de una degradación continua de p53. Una proteína llamada Mdm2 (también llamada HDM2 en humanos) se enlaza a p53, previniendo su acción y lo transporta del núcleo al citosol. También la Mdm2 actúa como la ubiquitina ligasa y une covalentemente la ubiquitina a p53 y de esta manera marca la p53 para

degradación por el proteosoma. Sin embargo, la ubiquitilación de la p53 es reversible. Una ubiquitina específica de proteasa, USP7 (o HAUSP), puede escisar la ubiquitina de la p53, protegiéndola en consecuencia de la degradación dependiente de proteosoma. Esto es un medio por el cual la p53 se estabiliza en respuesta a insultos oncogénicos.

La fosforilación del extremo N-terminal de p53 por las proteínas vinasas mencionadas anteriormente interrumpe el enlace Mdm2. Otras proteínas, tal como Pin1, luego son reclutadas a p53 e inducen un cambio conformacional en p53 lo cual previene el enlace Mdm2 aún más. La fosforilación también permite el enlace de co-activadores transcripcionales, similar a p300 o PCAF, los cuales luego acetilan el extremo carboxiterminal de p53, exponiendo el dominio de enlace de DNA de p53, permitiéndolo a activar o reprimir los genes específicos. Las enzimas desacetilasa, tales como Sirt1 y Sirt7, pueden desacetilar p53, conduciendo a una inhibición de la apoptosis. Algunos oncogenes también pueden estimular la transcripción de proteínas las cuales se enlazan a MDM2 e inhiben su actividad.

Sistemas de Ensayo

Los estudios de la eficacia del Securolide en inducir la muerte celular selectiva en las líneas de células de levadura de mutante Rad9 y/o p53 demuestra la viabilidad de usar las líneas de células para clasificar otros compuestos que inducen selectivamente la muerte celular en las líneas de mutantes Rad9 y/o p53 como es comparado con las líneas de tipo silvestre o modelos animales. Las líneas de células adecuadas y los modelos animales son comercialmente disponibles o se pueden preparar con esfuerzo de rutina. Por ejemplo, the American Type Culture Collection, Manassas, VA 20108, lista varias cepas de mutante Rad9 de levadura (números de catálogo 90731; 90730; 74154, 4003576, 4023576, y 4033576. Un pez cebra que contiene un RAD9 clonado homólogo es disponible de ATCC como número de catálogo 10169289. También existen numerosas publicaciones científicas en las cepas de levadura que tienen varios defectos que implican no solo RAD9 y/o p53 sino otros aspectos del complejo que implica RAD9 y/o p53, los cuales también se pueden usar para clarificar compuestos que inducen la muerte celular como es comparada con las células normales. Las células normales, especialmente células de mamífero, también se pueden diseñar para inducir mutaciones en el hRAD9 y/o gen p53, para el uso en ensayos. El homólogo humano se lista en la base de datos NCBI, junto con los genes para ratones y ratas. (LocusID 5883).

Las mutaciones se introducen de manera preferible mediante mutagénesis dirigida al sitio. La mutagénesis dirigida al sitio es una técnica de biología molecular en la cual se crea una mutación en un sitio definido en una molécula de DNA. En general, la mutagénesis dirigida al sitio requiere que la secuencia de genes de tipo silvestre sea conocida. Un oligonucleótido con su secuencia que contiene una mutación deseada se sintetiza químicamente. El oligonucleótido se une por el hidrógeno de par base que se enlaza a la secuencia de genes de tipo silvestre complementarios. El oligonucleótido sintético se usa como un cebador para la síntesis in vitro de una nueva hebra de DNA que es complementaria a la hebra original (plantilla). La síntesis de DNA se realiza al agregar la enzima DNA polimerasa a la plantilla de DNA. La hebra recientemente sintetizada de DNA tiene el cebador y la mutación deseada incorporada en el. Al usar un par de cebadores en la reacción en cadena de la polimerasa es posible amplificar la molécula de DNA recientemente creada y producir suficientes copias para hacer la manipulación adicional del nuevo DNA posible. Típicamente, el DNA mutado luego se inserta en un vector de expresión por medio de enzimas de restricción y la DNA ligasa. El vector de expresión luego se inserta típicamente en una célula donde se puede usar como una plantilla genética para la síntesis de una proteína mutada. La actividad biológica de la proteína mutada luego se puede comparar a aquella de la proteína de tipo silvestre.

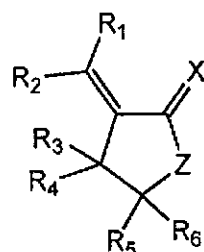
Ensayos

En una modalidad preferida, el compuesto que se clasifica para la actividad se agrega a las células tanto normales (es decir, que no tienen una deficiencia en un complejo de proteína de punto de control incluyendo Rad9 y/o una mutación en el gen p53) y anormales (es decir, que tienen una mutación o inactivación en una o más de las proteínas, o genes que codifican las proteínas, en el complejo de proteína de punto de control incluyendo Rad9 y/o en p53). Aquellos compuestos que causan la muerte celular en las células anormales como son comparadas con las células normales luego se clasifican en ensayos adicionales para evaluar la citotoxicidad general y la actividad contra tipos de células específicas, tales como células tumorales, células bacterianas y células viralmente infectadas.

Compuestos

Compuestos adecuados que pueden exhibir actividad anti-tumor a

través del objetivo selectivo del gen hRad9 y/o p53 en humanos incluyen:



Fórmula Ia

en donde

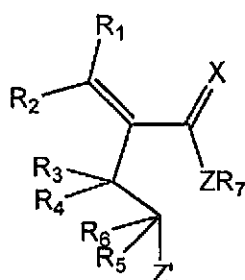
R_1 - R_6 tomados independientemente o R_3 - R_6 tomados conjuntamente son un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquier otros agrupamientos orgánicos que contienen cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluyen opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos. R_1 - R_6 pueden estar sustituidos o no sustituidos.

R_1 - R_6 se seleccionan de alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido, amino, amino sustituido, amido, amido sustituido, sulfonilo, sulfonilo sustituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, cíclico C1-C20, cíclico C1-C20 sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, aminoácido, péptido, o grupo polipéptido;

Z es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos; y

X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos.

En otra modalidad, el compuesto tiene la siguiente estructura química:



Fórmula Ib

en donde

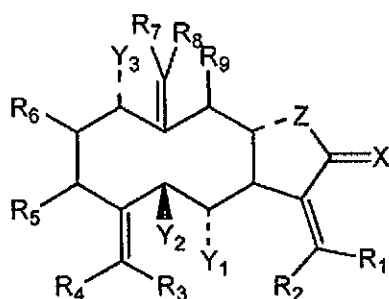
R_1 - R_7 tomados independientemente o R_3 - R_6 tomados conjuntamente pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquiera de otros agrupamientos orgánicos que contienen cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluyen opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos, agrupamientos R_1 - R_6 representativos que son alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido, amino, amino sustituido, amido, amido sustituido, sulfonilo, sulfonilo sustituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, cíclico C1-C20, cíclico C1-C20 sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, aminoácido, péptido, o grupo polipéptido;

X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos;

Z es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos; y

Z' puede ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquier otra composición orgánica que contiene de 1 - 8 átomos de carbono e incluyen opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos.

En aun otra modalidad, las lactonas que tienen un grupo alfa-metileno pueden tener la estructura como se muestra a continuación:



Fórmula 1c

en donde

R_1 - R_9 tomados independientemente o R_5 y R_6 tomados conjuntamente pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquiera de otros agrupamientos orgánicos que contienen cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluyen opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos, agrupamientos R_1 - R_6 representativos que son alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido, amino, amino sustituido, amido, amido sustituido, sulfonilo, sulfonilo sustituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, cíclico C1-C20, cíclico C1-C20 sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, aminoácido, péptido, o grupo polipéptido;

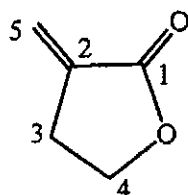
Y_1 , Y_2 , e Y_3 tomados independientemente o Y_1 e Y_2 tomados conjuntamente pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquiera de otros agrupamientos orgánicos que contienen cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluyen opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno, en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos, agrupamientos R_1 - R_6 representativos que son alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido,

amino, amino sustituido, amido, amido sustituido, sulfonilo, sulfonilo sustituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, cíclico C1-C20, cíclico C1-C20 sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, aminoácido, péptido, o grupo polipéptido;

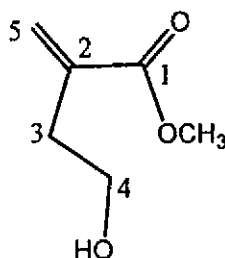
Z es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos; y

X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos.

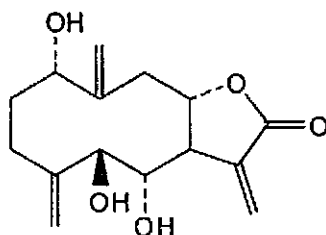
En una modalidad, la lactona es un Securolide, el cual es una alfa-metilen-lactona (1) que tiene la estructura:



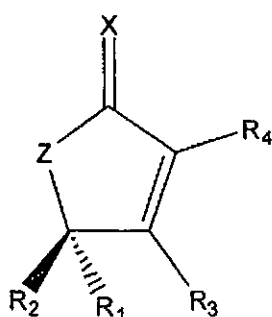
En otra modalidad, el éster es α -metilen- γ -hidroxi- butanoato de metilo (2) como se muestra en la siguiente estructura:



En aun otra modalidad, la lactona es un compuesto bicíclico que tiene la siguiente estructura:



Otros compuestos adecuados pueden incluir:



Fórmula Id

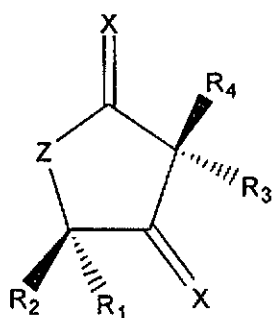
en donde

R_1 - R_4 tomados independientemente pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquiera de otros agrupamientos orgánicos que contienen cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluyen opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos, agrupamientos R_1 - R_4 representativos que son H, alquilo, alquilo sustituido, alilo, alilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, aloxi, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido, amino, amino sustituido, amido, amido sustituido, sulfonilo, sulfonilo sustituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, cíclico C1-C20, cíclico C1-C20 sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, aminoácido, péptido, o grupo polipéptido;

X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales, lineales, ramificados o cíclicos; y

Z es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos.

En aun otra modalidad, las lactonas que tienen un grupo alfa-metileno pueden tener la estructura como se muestra a continuación:



Fórmula Ie

en donde

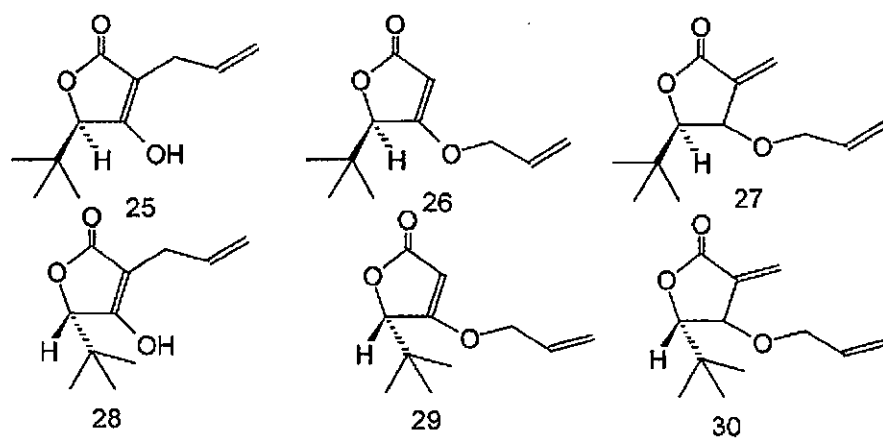
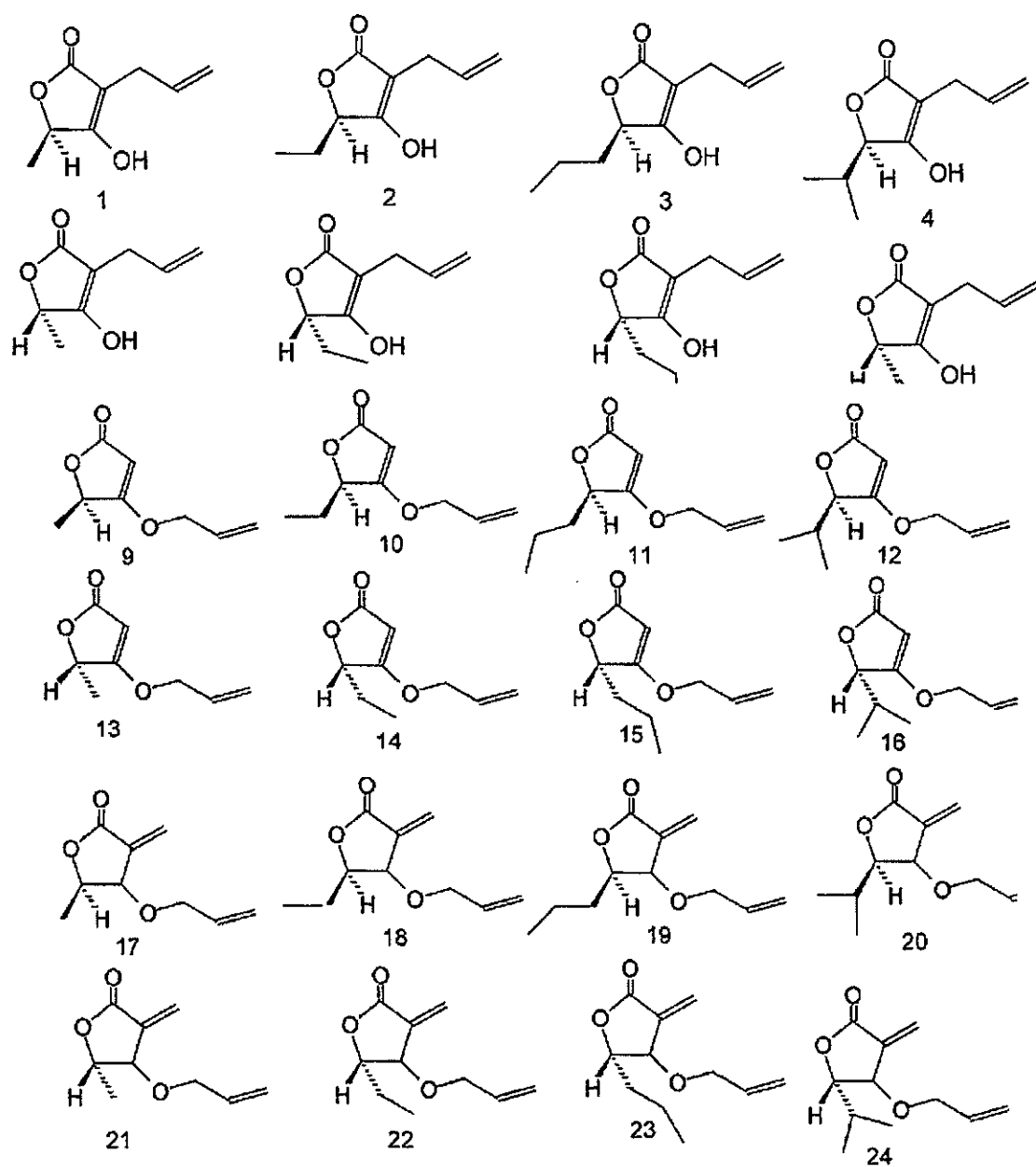
R_1 - R_4 tomados independientemente pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquiera de otros agrupamientos orgánicos que contienen cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluyen opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos, agrupamientos R_1 - R_4 representativos que son alquilo, alilo, alquilo sustituido, alquenilo, alilo, alilo sustituido, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, aloxi, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido, amino, amino sustituido, amido, amido sustituido, sulfonilo, sulfonilo sustituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, cíclico C1-C20, cíclico C1-C20 sustituido, heterocíclico, heterocíclico sustituido, aminoácido, péptido, o grupo polipéptido;

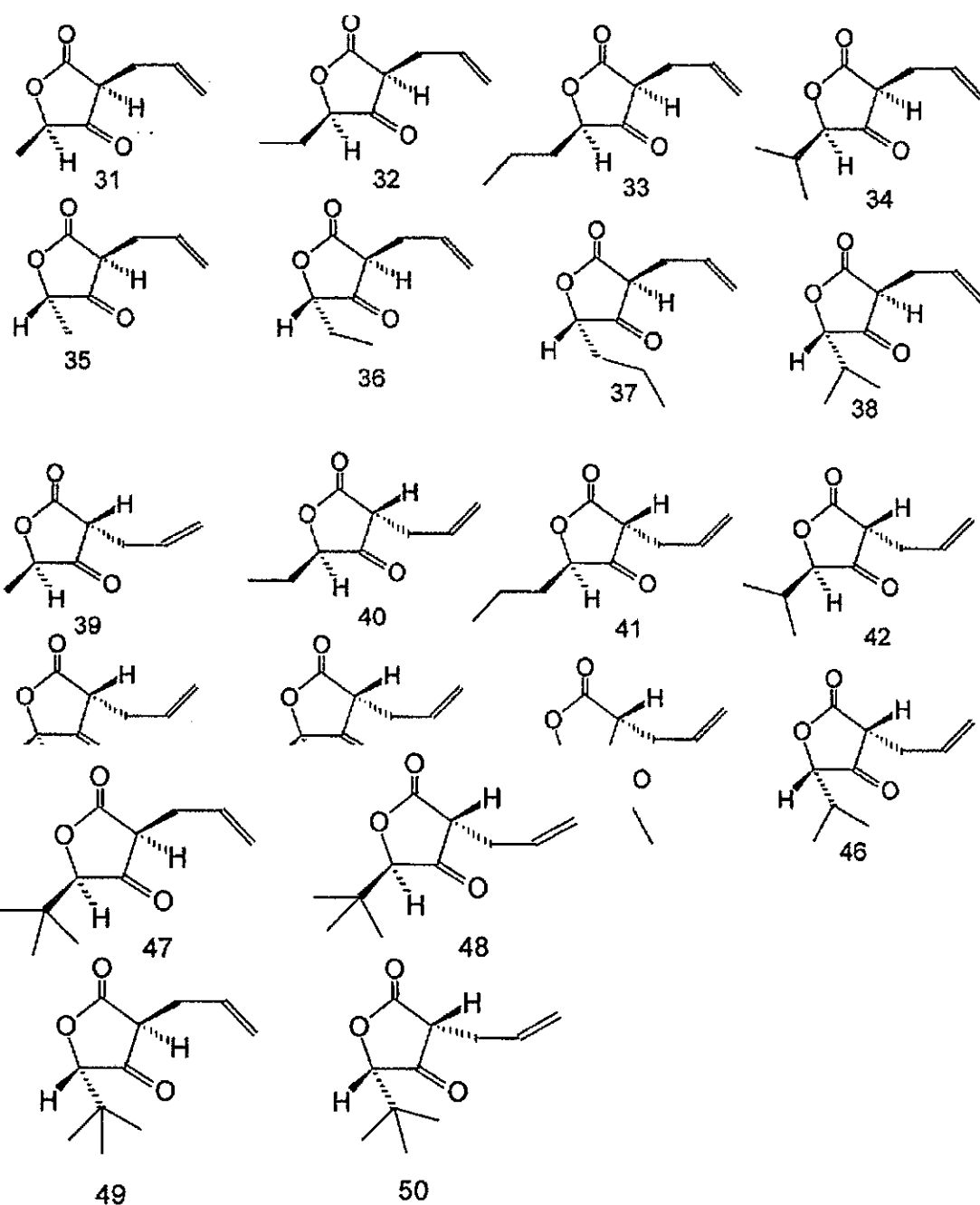
Z es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos; y

X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados o cíclicos.

Compuestos adecuados también incluyen metabolitos de los compuestos descritos anteriormente, estereoisómeros de los compuestos descritos anteriormente, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y combinaciones de los mismos.

Lactonas representativas se listan en la Tabla I:





Las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables de compuestos de la fórmula Ia-Ie se pueden preparar de una manera convencional al tratar una solución o suspensión de la base libre con aproximadamente un equivalente químico de un ácido farmacéuticamente aceptable. Se puede emplear una concentración convencional y técnicas de recristalización para aislar la sal.

Las sales de adición base farmacéuticamente aceptables de compuestos que contienen un grupo ácido se pueden preparar de una manera

convencional del ácido, por ejemplo mediante la reacción con aproximadamente un equivalente químico de una base.

La presente invención se entenderá adicionalmente a manera de referencia siguiendo los ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1: Bioensayo con Securolide en *Saccharomyces Cereviseae*

Se realizaron bioensayos en medios sólidos con Securolide (LMSV-6) en una concentración entre diez y cien microgramos/mililitro en un conjunto de cepas mutantes de *Saccharomyces cereviseae* con DNA similar a aquel en células tumorales/cancerosas. El Securolide mostró actividad citotóxica marcada solamente en las cepas mutantes, especialmente el gen rad9. Esto indica que el Securolide tiene citotoxicidad selectiva a las células que tienen genomas inestables.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la clasificación de compuestos farmacéuticamente activos, caracterizado porque comprende:
proporcionar células que tienen una o más mutaciones en el complejo de proteína de punto de control de ciclo celular que incluye Rad9, o un gen que codifica una proteína en el complejo,
adicionar un compuesto para ser clasificado a las células y
determinar si el compuesto extermina o induce la apoptosis en alguna o todas las células.
2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células son células de levadura.
3. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células son células de mamífero.
4. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células están en un animal.
5. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células son células tumorales.
6. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque además comprende adicionar el compuesto a las células normales que no tienen una mutación en el complejo de proteína de punto de control de ciclo celular que incluye Rad9.
7. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células tienen una mutación en el gen Rad9.
8. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células tienen una proteína Rad9 inactiva o menos activa.

9. Un compuesto farmacéuticamente aceptable, caracterizado porque se identifica por el método de conformidad con la reivindicación 1 o 6.
10. Un método para la clasificación de compuestos farmacéuticamente activos, caracterizado porque comprende proporcionar células que tienen una o más mutaciones en la proteína p53, o un gen que codifica la proteína, adicionar un compuesto para ser clasificado a las células, y determinar si el compuesto extermina o induce la apoptosis en alguna o todas las células.
11. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque las células son células de levadura.
12. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque las células son células de mamífero.
13. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque las células están en un animal.
14. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque las células son células tumorales.
15. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque además comprende adicionar el compuesto a células normales que no tienen una mutación en la proteína p53.
16. El método de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque las células tienen una mutación en el gen p53.
17. El método de conformidad con la reivindicación 10,

RESUMEN DE LA INVENCION

Compuestos naturales y sintéticos de las fórmulas Ia-le que tienen una estructura de lactona, en particular Securolide, se han determinado que son compuestos anti-tumorales efectivos que se dirigen al gen hrad9 y/o proteína codificada por el mismo o complejo que contiene la proteína y/o el gen p53 y/o proteína. El Securolide es citoselectivo para mutantes de hRad9 con base en estudios conducidos en cepas de levadura de mutante rad9. El Securolide parece que interactúa con el mutante hRad9 en células cancerosas para producir lesiones de DNA las cuales dan por resultado la apoptosis. Los estudios han demostrado que el Securolide es útil para tratar desórdenes de proliferación tal como melanoma, leucemia, cáncer de seno, cáncer de pulmón, cáncer de ovarios, cáncer de colon, cáncer de esófago, cáncer de hígado, y cáncer linfático, y para mitigar el dolor asociado con el cáncer. Otros compuestos efectivos para el tratamiento de cáncer y opcionalmente dolor asociado con el mismo también se pueden identificar usando los mismos ensayos, por ejemplo, mediante la clasificación de eficacia en ensayos que usan levaduras de mutante defectuosas de Rad9 y/o p53.

PATENT COOPERATION TREATY

MAGNA 103
PCT
Rt

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To:

Pabst Patent Group LLP
1545 Peachtree Street, N.E., Suite 320
Atlanta GA 30309
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(PCT Rule 71.1)

Date of mailing (day/month/year)	11.01.2011
-------------------------------------	------------

Applicant's or agent's file reference MAGNA 103 PCT
--

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No. PCT/US2009/062082	International filing date (day/month/year) 26.10.2009	Priority date (day/month/year) 24.10.2008
--	--	--

Applicant Magnachem International Laboratories, Inc.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. **REMINDER**

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

RECEIVED

JAN 18 2011

Name and mailing address of the International preliminary examining authority:  European Patent Office P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Fax: +31 70 340 - 3016

Authorized Officer Leineweber, K Tel. +31 70 340-4737	PABST PATENT GROUP LLP 
---	--

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference MAGNA 103 PCT		FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/PEA416
International application No. PCT/US2009/062082		International filing date (day/month/year) 26.10.2009	Priority date (day/month/year) 24.10.2008	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. G01N33/50				
Applicant Magnachem International Laboratories, Inc.				
1. This report is the International preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ sent to the applicant and to the International Bureau a total of 1 sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3b/s of Annex C of the Administrative Instructions).				
4. This report contains Indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ 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 Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or 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				
Date of submission of the demand 2010-08-24		Date of completion of this report 11.01.2011		
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Fax: +31 70 340 - 3016		Authorized officer Rosin, Oliver Telephone No. +31 70 340-8925		



INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/US2009/062082

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on

- ☒ 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 (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))

2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):*

Description, Pages

1-20 as originally filed

Claims, Numbers

1-6 filed with telefax on 05-11-2010

- ☐ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. ☒ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages
- ☒ the claims, Nos. 7-18
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (*specify*):
- ☐ any table(s) related to sequence listing (*specify*):

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (*specify*):

5. ☐ 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 70.2 (e)).

6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) have been received and taken into account in drawing up this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/US2009/062082

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>3-6</u>
	No: Claims	<u>1, 2</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-6</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-6</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/062082

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

Reference is made to the following documents:

- D1 MEYERKORD C L ET AL: "Loss of Hus1 sensitizes cells to etoposide-induced apoptosis by regulating BH3-only proteins.",
ONCOGENE 11 DEC 2008,
vol. 27, no. 58, 15 September 2008 (2008-09-15), pages 7248-7259,
XP002563608,
ISSN: 1476-5594

- D2 STROME ERIN D ET AL: "Heterozygous screen in Saccharomyces cerevisiae identifies dosage-sensitive genes that affect chromosome stability.",
GENETICS MAR 2008,
vol. 178, no. 3, March 2008 (2008-03), pages 1193-1207, XP002563609,
ISSN: 0016-6731

- D3 US 2005/101663 A1 (TERRERO DAVID [DO]) 12 May 2005 (2005-05-12)

- D4 HOPKINS KEVIN M ET AL: "Deletion of mouse rad9 causes abnormal cellular responses to DNA damage, genomic instability, and embryonic lethality.",
MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY AUG 2004,
vol. 24, no. 16, August 2004 (2004-08), pages 7235-7248, XP002563610,
ISSN: 0270-7306

- D5 WO 01/64913 A2 (RIGEL PHARMACEUTICALS INC [US]; XU XIANG [US]; LUO YING [US]) 7 September 2001 (2001-09-07)

- D6 SIMON JULIAN A ET AL: "Novel approaches to screen for anticancer drugs using Saccharomyces cerevisiae.",
METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY (CLIFTON, N.J.) 2003,
vol. 223, 2003, pages 555-576, XP008117292,
ISSN: 1064-3745

Novelty (Art 33(2) PCT)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.
PCT/US2009/062082

The present application does not meet the criteria of Article 33(2) PCT, because the subject-matter of claims 1-2 is not new.

D6 discloses "*As many types of cancer calls have loss-of-function mutations in genes that are important for DNA repair or checkpoint control,, drug screens can be conducted using yeast that are deficient in these conserved genes. By comparing the sensitivities of a wild-type and an isogenic mutant to a panel of drugs, it is possible to identify drugs that exhibit selectivity for mutants. The use of "matched pairs," in which two cell lines differ only in defined genes that are the cause of the disease, is a powerful screening tool. This is especially important in anticancer drug development because many drugs in clinical use are cytotoxic to both normal and tumor tissue. Using matched pairs in cell-based assays, it is possible to identify drugs that exhibit selectively toward cancer cells with defined mutations*" (p557 first par). D6 further discloses in chapter 3 (Proof of Principle p557 et seq.) yeast experiments carried out with *rad9*-specific mutants compared to wild type, whereas the drugs are tested for a cytotoxic effect resembling induction of cell death. Figure 1 shows specificity of cisplatin for the *rad9*-mutants. D6 additionally discloses that "*It is interesting that these two classes of topoisomerase poisons exhibited different sensitivities towards DNA damage (*mec1* and *mec2*) and S-phase checkpoint mutants (*rad9*, *rad17*). Mutants in these two checkpoint pathways were found to be highly sensitive to camptothecin...*" (p558).

D6 thus anticipates the subject matter of claims 1-2.

Inventive Step (Art 33(3) PCT)

The present application does not meet the criteria of Article 33(3) PCT, because the subject-matter of claims 1-6 does not involve an inventive step.

The subject matter of claims 1-2 is not novel and therefore also not inventive.

D6 is regarded as being the prior art closest to the subject-matter of claim 3 and discloses a method for screening for pharmaceutically active compounds selective for *rad9*-mutants (p557-558; fig 1).

The subject-matter of claim 3 differs from this in that the test cells are mammalian cells. The effect resulting from this difference is a longer incubation time and less easy detection of drug effects. The problem to be solved by claim 3 may therefore be regarded as provision of a worse method.

The solution proposed in claim 3 cannot be considered as involving an inventive step (Article 33(3) PCT) for the following reasons:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY
(SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2009/062082

D6 discloses that "*From the practical point of view, yeast is an ideal organism for high-throughput cell-based screens ... Its rapid growth rate means that drug screens can be usually be completed after an overnight incubation, as opposed to week-long incubations for mammalian tissue culture cells. Compounds that inhibit growth can easily be detected by comparing the optical density of cultures grown in the presence and absence of drugs*" (p556 last par). Although D6 does not carry out the method of claim 1 in mammalian cells, it discloses the possibility of the screening method of claim 1 in mammalian cells and the disadvantages accompanied by the use of said cells. The subject matter of claim 3 is therefore not inventive.

The same reasoning applies, *mutatis mutandis*, to the subject-matter of the corresponding independent claims 4-6, which therefore are also considered not inventive.

The subject matter of claims 1-6 is therefore not inventive.

Industrial Applicability (Art 33(4) PCT)

The subject matter of claims 1-6 is industrially applicable.

Nov. 5. 2010 3:26PM

No. 6195 F. 4

PCT/US 2009/062 082 - 05-11-2010

We claim

1. A method for screening for pharmaceutically active compounds selective for tumor cells comprising
providing cells having one or more mutations in Rad9,
adding a compound to be screened to the cells,
adding the compound to normal cells not having a mutation in the oncogene, and
identifying compounds that selectively induce cell death in the mutant cells as compared to the normal cells.
2. The method of claim 1 wherein the cells are yeast cells.
3. The method of claim 1 wherein the cells are mammalian cells.
4. The method of claim 1 wherein the cells are in an animal.
5. The method of claim 1 wherein the cells are tumor cells.
6. The method of claim 1 wherein the cells have an inactive or less active Rad9 protein.

TRATADO SOBRE COOPERACIÓN DE PATENTES

De la
ADMINISTRACIÓN DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

Para: Pabst Patent Group LLP 1545 Peachtree Street, N.E., Suite 320 Atlanta, GA 30309 Estados Unidos de América		PCT NOTIFICACIÓN DE TRANSMISIÓN DEL INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD (Regla PCT 71.1)	
Expediente de Referencia del Solicitante o Agente MAGNA 103 PCT		Fecha de Envío (día/mes/año) 11.01.2011	
Solicitud Internacional No. PCT/US2009/062082		Fecha de Solicitud Internacional (día/mes/año) 26.10.2009	Fecha Prioridad (día/mes/año) 24.10.2008
Solicitante MAGNACHEM INTERNATIONAL LABORATORIES, INC.			

1. El solicitante queda notificado por el presente que la Administración Encargada del Examen Preliminar Internacional transmite aquí el informe preliminar internacional sobre la patentabilidad y sus anexos, si hay, establecidos en la solicitud internacional.
2. Una copia del informe y sus anexos, si hay, está siendo transmitida a la Oficina Internacional para comunicación a todas las Oficinas elegidas.
3. Cuando sea requerido por cualquiera de las Oficinas Elegidas, la Oficina Internacional preparará una traducción al inglés del informe (pero no de los anexos) y transmitirá dicha traducción a esas Oficinas.
4. **RECORDATORIO**

El solicitante deberá entrar a fase nacional ante cada oficina elegida realizando ciertos actos (presentar traducciones y pagando tarifas nacionales) dentro de 30 meses de la fecha de prioridad (o más tarde en algunas oficinas) (Artículo 39(1)) (ver también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional con el Formato PCT/IB/301).

Donde se requiera enviar una traducción de la solicitud internacional a una Oficina elegida, esa traducción deberá contener una traducción de cualquier anexo al informe preliminar internacional sobre la patentabilidad. Es responsabilidad del solicitante preparar y enviar dicha traducción directamente a cada Oficina elegida que le concierna.

Para más detalles sobre tiempos límites aplicables y requerimientos de las Oficinas elegidas, ver Volumen II de la *Guía del Solicitante PCT*.

Se remite al solicitante al Artículo 33(5), el cual establece que los criterios de novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial como se describen en el Artículo 33(2) a (4) solo tienen como objeto el examen preliminar internacional y que "cualquier Estado Contratante puede aplicar criterios adicionales o diferentes para decidir si, en ese Estado, la invención reivindicada es patentable o no" (ver también Artículo 27(5)). Tales criterios adicionales pueden relacionarse, por ejemplo, a exenciones de patentabilidad, requerimientos para permitir la divulgación, claridad y soporte de las reivindicaciones.

Nombre y dirección de correspondencia de la Administración del examen preliminar internacional:



Oficina de Patentes Europea
 Patentlaan 2, NL-2280 HV Rijswijk – Pays Bas
 Tel: +31 70 340 2040
 Fax: +31 70 340 3016

Funcionario Autorizado

Leineweber, K.

Teléfono +31 70 340 4737

TRATADO SOBRE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD

(Capítulo II del Tratado de Cooperación de Patentes)
(Artículo 36 y Regla 70 PCT)

Expediente de Referencia del Solicitante o Agente MAGNA 103 PCT	PARA PROCEDIMIENTO POSTERIOR Véase Forma PCT/IPEA/416	
Solicitud Internacional No. PCT/US2009/062082	Fecha de Solicitud Internacional (día/mes/año) 26.10.2009	Fecha Prioridad (día/mes/año) 24.10.2008
Clasificación Internacional de Patente (IPC) o Clasificación Nacional e IPC INV. G01N33/50		
Solicitante MAGNACHEM INTERNATIONAL LABORATORIES, INC.		

1.	Este informe es el informe de examen preliminar internacional elaborado por la Administración Encargada del Examen Preliminar Internacional bajo el Artículo 35 y enviado al solicitante según Artículo 36.																								
2.	Este INFORME comprende un total de <u>6</u> hojas, incluyendo esta portada.																								
3.	Este INFORME también viene acompañado de ANEXOS que comprenden: a. ☒ (enviados al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de <u>1</u> hojas, como sigue: ☒ hojas de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido corregidas y son la base para este informe y/o hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Autoridad (ver regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas) ☐ hojas que sustituyen hojas anteriores, pero las cuales esta Autoridad considera contienen una corrección que excede la divulgación en la solicitud internacional como se presentó, según se indica en el ítem 4 de la Casilla I y la Casilla Suplementaria. b. ☐ (enviado solamente a la Oficina Internacional) un total de (indique tipo y número de portador(es) electrónico(s)) _____, que contienen un listado de secuencias, en formato electrónico únicamente, como se indica en la Casilla Suplementara relacionada con el Listado de Secuencias (ver Sección 802 de las Instrucciones Administrativas).																								
4.	Este informe contiene datos con respecto a los siguientes puntos: <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 10%;">☒</td> <td style="width: 20%;">Casilla No. I</td> <td>Base del Informe</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No. II</td> <td>Prioridad</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No. III</td> <td>Sin elaboración de un dictamen sobre novedad, nivel inventivo y aplicación industrial</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No. IV</td> <td>Carencia de nivel inventivo</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>Casilla No. V</td> <td>Declaración justificada según Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial; documentos y explicaciones que sustentan esta declaración</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No. VI</td> <td>Ciertos documentos enumerados</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No. VII</td> <td>Ciertas deficiencias en la solicitud internacional</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Casilla No. VIII</td> <td>Ciertas observaciones relacionadas con la solicitud internacional</td> </tr> </table>	☒	Casilla No. I	Base del Informe	☐	Casilla No. II	Prioridad	☐	Casilla No. III	Sin elaboración de un dictamen sobre novedad, nivel inventivo y aplicación industrial	☐	Casilla No. IV	Carencia de nivel inventivo	☒	Casilla No. V	Declaración justificada según Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial; documentos y explicaciones que sustentan esta declaración	☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos enumerados	☐	Casilla No. VII	Ciertas deficiencias en la solicitud internacional	☐	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones relacionadas con la solicitud internacional
☒	Casilla No. I	Base del Informe																							
☐	Casilla No. II	Prioridad																							
☐	Casilla No. III	Sin elaboración de un dictamen sobre novedad, nivel inventivo y aplicación industrial																							
☐	Casilla No. IV	Carencia de nivel inventivo																							
☒	Casilla No. V	Declaración justificada según Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial; documentos y explicaciones que sustentan esta declaración																							
☐	Casilla No. VI	Ciertos documentos enumerados																							
☐	Casilla No. VII	Ciertas deficiencias en la solicitud internacional																							
☐	Casilla No. VIII	Ciertas observaciones relacionadas con la solicitud internacional																							

Fecha de presentación de la petición 2010-08-24	Fecha de la preparación de este informe 11.01.2011
Nombre y dirección de correspondencia de la Administración del examen preliminar internacional: Oficina de Patentes Europea Patentlaan 2, NL-2280 HV Rijswijk – Pays Bas Tel: +31 70 340 2040 Fax: +31 70 340 3016	Funcionario Autorizado Rosin, Oliver Teléfono No. +31 70 340 8925

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD

Solicitud Internacional No.
PCT/US2009/062082

Casilla No. I Base del informe.

1. Respecto al **idioma**, este informe se basa en:

- ☒ La solicitud internacional en el idioma en el que fue presentada originalmente
- ☐ Una traducción de la solicitud internacional al _____ el cual es el idioma de una traducción presentada con el objeto de:
- ☐ búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b))
 - ☐ publicación de la solicitud internacional (Regla 12.4(a))
 - ☐ examen preliminar internacional (bajo las Reglas 55.2 (a) y/o 55.3 (a))

2. Respecto a los **elementos** de la solicitud internacional este informe se basa en:

(Las hojas de reemplazo que han sido presentadas ante la Oficina receptora en respuesta a una invitación bajo el Artículo 14 se referencian en este informe como "presentadas originalmente" y no se anexan a este informe):

Descripción, páginas

1-20 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, números

1-6 presentadas por fax el 05-11-2010

☐ Un listado de secuencias – Ver Casilla Suplementaria relacionada con el Listado de Secuencias.

3. ☒ Las modificaciones han dado como resultado la cancelación de

- ☐ la descripción, páginas _____
- ☒ las reivindicaciones, Nos. 7-18
- ☐ los dibujos, hojas/figs _____
- ☐ el listado de secuencias (*especificar*) _____
- ☐ cualquier tabla(s) relacionada(s) con el listado de secuencias (*especificar*) _____

4. ☐ Este informe se ha establecido como si (algunas de) las modificaciones anexas a este informe y enumeradas debajo no se hubieran hecho, ya que se consideran que exceden la divulgación presentada o no iban acompañadas por una carta que indicara la base de las modificaciones en la solicitud como fue presentada, según se indica en la casilla Suplementaria (Reglas 70.2(c) y (c-bis)):

- ☐ la descripción, páginas _____
- ☐ las reivindicaciones, Nos. _____
- ☐ los dibujos, hojas _____
- ☐ el listado de secuencias (*especificar*) _____

5. ☐ Este informe se ha establecido teniendo en cuenta la rectificación de un error obvio autorizado por o notificado a esta Autoridad bajo la Regla 91 (Regla 70.2 (e)).

6. ☐ El informe(s) de Búsqueda Internacional Complementario de la(s) Autoridad(es) _____ ha sido recibido y tenido en cuenta en la realización de este reporte (Regla 45bis.8 (b) y (c)).

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD

Solicitud Internacional No.
PCT/US2009/062082

Casilla No. V Declaración justificada según Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial; documentos y explicaciones que sustentan esta declaración.

1. Declaración

Novedad (N)	SI: Reivindicaciones	3-6
	NO: Reivindicaciones	1-2
Nivel Inventivo (NI)	SI: Reivindicaciones	
	NO: Reivindicaciones	1-6
Aplicabilidad Industrial (AI)	SI: Reivindicaciones	1-6
	NO: Reivindicaciones	

2. Citas y explicaciones (Regla 70.7)

Ver hoja separada

INFORME DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD
(hoja separada)

Solicitud Internacional No.
PCT/US2009/067104

Relacionado con la casilla V

Declaración justificada con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial; documentos y explicaciones que sustentan esta declaración.

Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1 MEYERKORD C L ET AL: "Loss of Hus 1 sensitizes cells to etoposide-induced apoptosis by regulating BH3-only proteins", *Oncogene* 11 de diciembre de 2008, vol. 27, No. 58, 15 de septiembre de 2008 (2008-09-15), páginas 7248-7259, XP002563608, ISSN: 1476-5594

D2 STROME ERIN D ET AL: "Heterozygous screen in *Saccharomyces cerevisiae* identifies dosage-sensitive genes that affect chromosome stability", *Genetics* Mar 2008, vol. 178, No. 3, marzo 2008 (2008-03), páginas 1193-1207, XP002563609, ISSN: 0016-6731

D3 US 2005/101663 A1 (TERRERO DAVID [DO]) 12 de mayo de 2005 (2005-05-12)

D4 HOPKINS KEVIN M ET AL: "Deletion of mouse rad9 causes abnormal cellular responses to DNA damage, genomic instability, and embryonic lethality", *Molecular and Cellular Biology*, agosto 2004, vol. 24, No. 16, agosto 2004 (2004-08), páginas 7235-7248, XP002563610, ISSN: 0270-7306

D5 WO 01/64913 A2 (RIGEL PHARMACEUTICALS INC [US]); Xu Xiang [US]; Lou Ying [US]) 7 de septiembre de 2001 (2001-09-07)

D6 SIMON JULIAN A ET AL: "Novel approaches to screen for anticancer drugs using *Saccharomyces cerevisiae*", *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.) 2003, vol. 223, 2003, páginas 555-576, XP008117292, ISSN: 1064-3745

Novedad (Art. 32(2) del PCT)

La presente solicitud no cumple con el criterio del Artículo 33(2) del PCT ya que la materia objeto de las reivindicaciones 1-2 no es novedosa.

D6 divulga: *"ya que muchos tipos de células cancerígenas tiene mutaciones en pérdida de funciones en genes que son importantes para la reparación de ADN o control del punto de verificación, la clasificación de los fármacos se puede llevar a cabo utilizando levadura deficiente en estos genes conservados. Mediante la comparación de las sensibilidades de una tipo agreste y un mutante isogénico con un panel de fármacos, es posible identificar fármacos que exhiben selectividad por los mutantes. El uso de "pares", en el que dos líneas de células difieren solamente en genes definidos que son la causa de la enfermedad, es una herramienta de clasificación poderosa. Esto es especialmente importante en el desarrollo de fármacos anti-cáncer porque muchos fármacos en uso clínico son citotóxicos tanto para el tejido normal y el tumoral. Al utilizar pares en ensayos a base de células es posible identificar fármacos que exhiben selectividad hacia las células cancerígenas con mutaciones definidas"* (página 557 primera parte). D6 además divulga en el capítulo 3 (Prueba del Principio página 557 et seq.) los experimentos con levadura llevados a cabo con mutantes específicos *rad9* comparados con el tipo agreste, mientras que los fármacos se prueban para efectos citotóxicos que asemejan inducción de muerte celular. La Figura 1 muestra especificidad de cisplatinina para los mutantes *rad9*. Adicionalmente, D6 divulga que *"es interesante que estas dos clases de veneno topoisomeraso exhiben diferentes sensibilidades hacia el daño de ADN (mec1 y mec 2) y mutantes del punto de verificación en fase S (rad9, rad17). Se encontró que los mutantes en estas dos vías del punto de verificación son altamente sensibles a la camptotenia...* (página 558).

Por lo tanto, D6 anticipaba la materia objeto de las reivindicaciones 1-2.

Nivel inventivo (Art. 32(3) del PCT)

La presente solicitud no cumple con el criterio del Artículo 33(3) del PCT ya que la materia objeto de las reivindicaciones 1-6 no involucran un nivel inventivo.

La materia objeto de las reivindicaciones 1-2 no es novedosa y por lo tanto, tampoco es inventiva.

Se considera D6 como el arte previo más cercano a la materia objeto de la reivindicación 3 y divulga un método de clasificación para compuestos farmacéuticamente activos selectivos para mutantes *rad9* (páginas 557-558; fig. 1)

La materia objeto de la reivindicación 3 difiere de esta en que las células de pruebas son células de mamífero. El efecto que resulta de esta diferencia es un tiempo de incubación más largo y más difícil para la detección de los efectos del fármaco. El problema a solucionar por la reivindicación 3 puede, por lo tanto, ser considerado como el suministro de un método peor.

No se puede considerar que la solución propuesta en la reivindicación 3 involucra un nivel inventivo (Artículo 33(3)) del PCT por las siguientes razones:

D6 divulga que *"Desde el punto de vista práctico, la levadura es un organismo ideal para la clasificación a base de células de alto rendimiento... su rata de crecimiento significa que la clasificación del fármaco se puede completar normalmente después de una incubación de la noche a la mañana, opuesto a las incubaciones de largas semanas para células de cultivo de tejido mamífero. Los compuestos que exhiben crecimiento se pueden detectar fácilmente mediante la comparación de la densidad óptica del crecimiento del cultivo en presencia y ausencia de fármacos"* (página 556 última parte). Aunque D6 no lleva a cabo ningún método de la reivindicación 1 en células de mamíferos, este divulga la posibilidad del método de clasificación de la reivindicación 1 en células de mamíferos y las desventajas adicionales por el uso de dichas células. La materia objeto de la reivindicación 3, por lo tanto, no es inventiva.

La misma razón aplica, *mutatis mutandis*, a la materia objeto de las correspondientes reivindicaciones independientes 4-6, las cuales, por ende, también son consideradas como carentes de inventiva.

Aplicabilidad industrial (Art. 33(4) del PCT)

La materia objeto de las reivindicaciones 1-6 tienen aplicabilidad industrial.

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Un método para la clasificación de compuestos farmacéuticamente activos selectivos para células tumorales, caracterizado porque comprende proporcionar células que tienen una o más mutaciones en Rad9, adicionar un compuesto para ser clasificado a las células, adicionar el compuesto a células normales que no tienen una mutación en el oncogen, e identificar compuestos que inducen selectivamente la muerte celular en las células mutantes como son comparadas a las células normales.
2. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células son células de levadura.
3. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células son células de mamífero.
4. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células están en un animal.
5. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células son células tumorales.
6. El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque las células tienen una proteína Rad9 inactiva o menos activa.



No. 11-064192- -00000-0000

Fecha: 2011-05-24 17:00:50 Dep. 2020 DIR.NUEVASC
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 44

PATENTE DE INVENCION ☐

MODEL

Act. 411 PRESENTACIÓN
Folios: 44

☐	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 ☐

Bogotá,
2020

Doctor(a)
CADENA SARMIENTO JUAN PABLO

REFERENCIA	Radicación No.	11 64192
	Solicitud internacional	PCT/US2009/062082
	Fecha inicio fase nacional	24/05/2010
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	010953

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...

Radicación No.: 11 64192


CARLOS DANIEL LEMUS GIRALDO

Profesional Universitario 2044-09 (P) con asignación de funciones
de la Dirección de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha _____

adpall : 15 JUL. 2011