

SS

PETITORIO



Radicación: 8400334 98000000 Folios: 118
 Fecha (HMD): 2004-09-09 17:19:59
 Trámite: 1 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAR
 Dependencia: 2009 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE: ☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad			
☐ Capítulo I. ☒ Capítulo II.			
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. Dirección: Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgica Nacionalidad o Domicilio: Beerse, Belgica Lugar de Constitución: Belgica Teléfono: 3264270 Fax: 6069701 E-mail: jllcco@lloredacamacho.com	IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____	
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: ALICIA LLOREDA RICAURTE Dirección: Calle 72 No. 5-83, Piso 5º, Bogotá- Colombia Teléfono: 3264270 Fax: 6069701 E-mail: jllcco@lloredacamacho.com	C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número 39.690.713 TP 53.215	
4 INVENTOR(ES) (72)	Nombre: VAN EMELEN, Kristof; VERDONCK, Marc, Gustaaf, Geline; VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna; ANGIBAUD, Patrick, René; MEERPOEL, Lieven; DYATKIN, Alexey, Borisovich. Dirección: Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse; Janssen-Cilag 1, rue Camille Desmoulins, TSA 91003, F-92787 Issy-les-Moulineaux Cedex 9 y Johnson & Johnson Pharmaceutical Research and Development, L.L.C., Welsh and McKean Rds, Spring House, PA 19477. Nacionalidad o Domicilio: Belgica, Francia y Estados Unidos de América.		
5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/EPO3/02515</u> Fecha: <u>11/03/03</u> Publicación Internacional No. <u>WO 03/075928 A1</u> Fecha: <u>18/09/03</u>			
6 Título (54) "INHIBIDORES DE LA HISTONA DESACETILASA"			
7 Clasificación Internacional (51) <u>A61K 31/505</u> // <u>A61K31/496</u> // <u>A61K31/454</u>			
8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen US	(32) Fecha 13.03.2002	(31) Número de Solicitud 60/363,799
9 Comprobante de Pago No. <u>04- 64,976</u> Fecha: <u>Agosto 18 de 2004</u>			

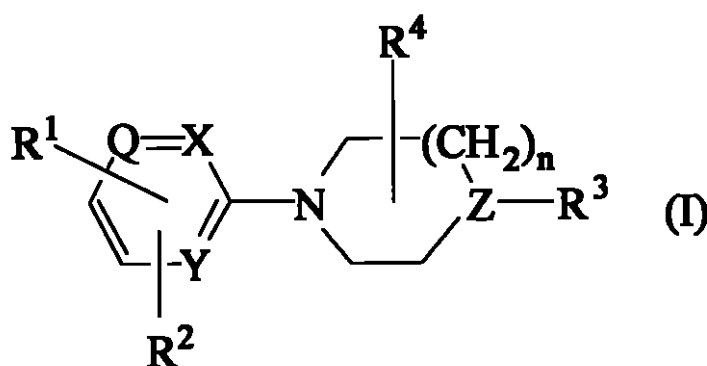
⑩

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☒ Declaraciones (Declaración bajo las Reglas PCT 4.17(11) y 51bis1.(a) (11) que acreditan el traspaso de los inventores al solicitante)
- ☐ Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ 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, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional con su traducción, Publicación con su traducción.

⑪

FIGURA CARACTERISTICA:



⑫

Solicito la concesión de la patente.

NOMBRE: ALICIA ILLOREDA RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.690.713 Usaquén T.P. 53.245

(4)

Radicacion : 04089534 00000000
 Fecha (RIB): 2004-09-09 17:19:59
 Folios: 110
 Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FIDE INCI 411 PRESENTA
 Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

MIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 64,976
 FECHA : AGOSTO 18 DE 2004

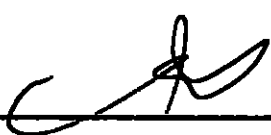
CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	UNICO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLORENDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	20721311	18/08/2004	9,600,000.00

CONCEPTO

CANT. CONTABILITICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
	TOTAL :	\$ 422,000.00

SOM: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



F RMATO DE DIGITALIZACION
RELACION DE ANEXOS



KOYRI
Technologies S.A.
Desarrollo de Software y Servicios

W

Expediente No		04089534	No de Follo
Item		No de unidades	
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA	X	✓
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS:		

Observaciones:

No contienen Arte Final

folios 4 a 6
extractos y tarjetas
Sept 1/2004

4

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES PCT REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente PRD 2011-PCT	PARA FUTURAS ACCIONES ver Notificación o Transmisión del Reporte de Búsqueda Internacional (Forma PCT/ISA/220) así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación.	
Solicitud internacional No. PCT/EP 03/02515	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 11/03/2003	Fecha de Prioridad (Primera) (día/mes/año) 13/03/2002

Solicitante
JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.

Este Reporte de Búsqueda Internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante Según el Artículo 18. Una copia será transmitida a la Oficina Internacional.

Este Reporte de Búsqueda Internacional consta de un total de 6 hojas.

☒ También está acompañado de una copia de cada documento técnico anterior citado en este reporte.

1. Bases del reporte

a. Respecto al lenguaje, la búsqueda internacional se llevó a cabo según la solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó, a menos que se indique de otro modo en este ítem.

☐ la búsqueda internacional se llevó a cabo según la traducción de la solicitud internacional proporcionada a esta Autoridad (Regla 23.1(b)).

b. Respecto a una secuencia de ácido nucleótico y/o amino revelado en la solicitud internacional, la búsqueda internacional se llevó a cabo según la lista de la secuencia:

☐ contenido en la solicitud internacional en forma escrita.

☐ presentada junto con la solicitud internacional en forma legible por computador.

☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad en forma escrita.

☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad en forma legible por computador.

☐ se ha proporcionado la afirmación de que el listado de secuencias escrito proporcionado subsiguientemente no va más allá de la revelación en la solicitud internacional según se presentó.

☐ se ha proporcionado la afirmación de que la información registrada en forma legible por computador es idéntica al listado de la secuencia escrita.

2. ☒ Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse (Ver Casilla I).

3. ☐ Falta unidad de invención (ver Casilla II).

4. Respecto al título,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☐ Esta Autoridad ha establecido que el texto se lea así:

5. Respecto al resumen,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☐ Esta Autoridad ha establecido el texto de acuerdo con la Norma 38.2(b), según aparece en el Recuerdo III. El solicitante puede, un mes después de la fecha de haber enviado por correo este reporte de búsqueda internacional, presentar comentarios a esta Autoridad.

6. La figura de los dibujos que se publicará con el resumen es la Figura No.

☐ como lo sugirió el solicitante.

☐ porque el solicitante no sugirió una figura.

☐ porque esta figura caracteriza mejor a la invención.

☒ Ninguna de las figuras.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/EP 03/02515

A. CLASIFICACION DE MATERIA

IPC 7 A61K31/505 A61P35/00 C07D471/10 C07D239/42 C07D401/04
 C07D295/14 C07D307/68 C07D217/02 C07D207/09 C07D401/12
 C12Q1/34

Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI

B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)

IPC 7: C07D A61K A61P C12Q

Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)

EPO-Interno, Dato WPI, Dato CHEM ABS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
A	WO 01 38322 A (METHYLGENE INC) 31 de mayo de 2001 (2001-05-31) documento completo	1,9
A	WO 98 55449 A (QUEENSLAND INST MED RES ; FAIRLIE DAVID (AU); PARSONS PETER G (AU);) 10 de diciembre de 1998 (1998-12-10) documento completo	1,9
X	H FOKS ET AL.: "Estudios en derivados de pirazina" POL. J. PHARMACOL. PHARM., vol. 30, 1978, páginas 105-111, XP008016993 compuesto 7	1,2

☒ En el recuadro C se enumeran más documentos.

☒ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.

* Categorías especiales de documentos citados:

'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se
 considera de relevancia particular

'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de
 presentación internacional

'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de
 prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra
 citación u otra razón especial (según se especifica)

'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u
 otros medios

'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional
 pero después de la fecha de prioridad reivindicada

'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación
 internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la
 solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta
 la invención

'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no
 puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende
 un paso inventivo cuando el documento se toma solo

'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no
 puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el
 documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha
 combinación obvia para una persona experta en la técnica

'Z' documento miembro de la misma familia de patentes

Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional

6 de agosto de 2003

Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional

18-08-2003

Nombre y dirección del correo de ISA/
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlann 2
 NL-2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado

de Nooy, A

Formas PCT ISA 210 (segunda hoja) (Julio 1992)

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP 03/02515

C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	H. FOKS ET AL.: "Investigaciones en derivados de pirazina" DISSERT. PHARM. PHARMACOL., vol. 24, 1972, páginas 577-583, XP008016985 compuesto 25	1,2
X	D.A. WALSH ET AL.: "Síntesis y actividad antialérgica de derivados N-2-(dimetilamino) etil-4-aril-1-piperidina zincarboxamida " J. MED. CHEM., vol. 33, 1990, páginas 2028-2032, XP002241715 compuesto 1	1,2
X	A.-H. KHUTHIER ET AL.: " Estudios de oxidos terciari amino.9. tratamientos termales de 1-(4-sustituidos-fenil) piperidina N-oxidos para el correspondiente N-hidroxilaminas" J. ORG. CHEM., vol. 52, 1987, páginas 1710-1713, XP002241716 compuesto 1F	1,2

Información continuada de PCT/ISA/210

Continuación de la casilla 1.2

Reivindicaciones Nos: 1-2, 6-9, 11-12 (todas en parte)

La fase inicial de la búsqueda reveló un gran número de documentos pertinentes al asunto de la novedad. Se recuperaron tantos documentos que puede ser imposible determinar cuales partes de las reivindicaciones podrían definir el objeto por el cual se pudiera buscar protección (Art. 6 PCT) Por estas razones, parece imposible realizar una búsqueda significativa y/o emitir un reporte de búsqueda completo sobre toda la amplitud de las reivindicaciones mencionadas. En consecuencia sólo se puede considerar completa la búsqueda y el reporte para el caso donde R1 en la fórmula I de la reivindicación 1 es un grupo, tal como lo define en la reivindicación 3, es decir, bien sea -C(O) NH (OH) o -NHC (O) C1-6 alcanediyl 1SH.

La atención de solicitante se centra en el hecho que las reivindicaciones, o parte de las reivindicaciones relacionadas con las invenciones sobre las cuales ningún reporte de búsqueda internacional se ha establecido, no necesita ser objeto de un examen preliminar internacional (Norma 66.1 (e) PCT). Se advierte al solicitante que la política EPO cuando se actúa como Autoridad de Examen Preliminar normalmente no lleva a cabo un examen preliminar sobre el asunto que no ha sido investigado. Este es el caso independientemente de si las reivindicaciones son o no modificadas seguidas del recibo del reporte de búsqueda o durante cualquier procedimiento del Capítulo II.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/EP 03/02515

Casilla I Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 1 de la primera hoja)

Este reporte de búsqueda internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

1. ☐ Reivindicaciones Nos.:
porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber:

ver siguiente hoja
2. ☒ Reivindicaciones Nos.: 1-2, 6-9, 11-12 (todas en parte)
porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:

ver SIGUIENTE INFORMACION hoja PCT/ISA/210
3. ☐ Reivindicaciones No.:
porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla II Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 2 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

1. ☐ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
2. ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales.
3. ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos.:
4. ☐ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este informe de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones; está cubierto por las reivindicaciones Nos.:

Comentario sobre Protesta

- ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.
- ☐ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PRD 2011-PCT	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. PCT/EP 03/02515	International filing date (day/month/year) 11/03/2003	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 13/03/2002
Applicant JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 6 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☒ None of the figures.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/02515

11

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/505 A61P35/00 C07D471/10 C07D239/42 C07D401/04
C07D295/14 C07D307/68 C07D217/02 C07D207/09 C07D401/12
C12Q1/34

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K A61P C12Q

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

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

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01 38322 A (METHYLGENE INC) 31 May 2001 (2001-05-31) the whole document	1,9
A	WO 98 55449 A (QUEENSLAND INST MED RES ;FAIRLIE DAVID (AU); PARSONS PETER G (AU);) 10 December 1998 (1998-12-10) the whole document	1,9
X	H. FOKS ET AL.: "Studies on pyrazine derivatives" POL. J. PHARMACOL. PHARM., vol. 30, 1978, pages 105-111, XP008016993 compound 7	1,2

-/--

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"S" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 August 2003

Date of mailing of the international search report

18/08/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

de Nooy, A

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	H. FOKS ET AL.: "Investigations on pyrazine derivatives" DISSERT. PHARM. PHARMACOL., vol. 24, 1972, pages 577-583, XP008016985 compound 25	1,2
X	D.A. WALSH ET AL.: "Synthesis and antiallergy activity of N-'2-(dimethylamino)ethyl-4-aryl-1-piperazinecarboxamide derivatives" J. MED. CHEM., vol. 33, 1990, pages 2028-2032, XP002241715 compound 1	1,2
X	A.-H. KHUTHIER ET AL.: "Studies of tertiary amine oxides. 9. Thermal rearrangement of 1-(4-substituted-phenyl)piperidine N-oxides to the corresponding N-hydroxylamines" J. ORG. CHEM., vol. 52, 1987, pages 1710-1713, XP002241716 compound 1f	1,2

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1-2, 6-9, 11-12 (all in part)

The initial phase of the search revealed a very large number of documents relevant to the issue of novelty. So many documents were retrieved that it is impossible to determine which parts of the claims may be said to define subject-matter for which protection might legitimately be sought (Article 6 PCT). For these reasons, it appears impossible to execute a meaningful search and/or issue a complete search report over the whole breadth of the above mentioned claims. Consequently, the search and the report can only be considered complete for the case where R1 in formula I of claim 1 is a group as defined in claim 3, that is, either $-C(O)NH(OH)$ or $-NHC(O)C1-6alkaned1ylSH$.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 03/02515

14

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: 1-2, 6-9, 11-12 (all in part)
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/02515

15

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0138322	A	31-05-2001	AU 1876801 A	04-06-2001
			CA 2391952 A1	31-05-2001
			EP 1233958 A1	28-08-2002
			WO 0138322 A1	31-05-2001
			JP 2003514904 T	22-04-2003
			US 6541661 B1	01-04-2003
WO 9855449	A	10-12-1998	AU 7751698 A	21-12-1998
			WO 9855449 A1	10-12-1998
			EP 0988280 A1	29-03-2000
			JP 2002513419 T	08-05-2002

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de Publicación Internacional

18 de Septiembre de 2003 (18.09.2003)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional

WO 03/075929 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes: A61K 31/505,
A61P 35/00, C07D 471/10, 239/42, 401/04, 295/14,
307/68, 217/02, 207/09, 401/12, C12Q 1/34

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP03/02515

(22) Fecha de Registro Internacional: 11 de Marzo de 2003
(11.03.2003)

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:
60/363,799 13 de marzo de 2002 (13.03.2002) US(71) Solicitante (para todos los Estados designados excepto Estados Unidos): JANSSEN PHARMACEUTICA N.V [BE/BE];
Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para Estados Unidos solamente): VAN
EMELEN, Kristof [BE/BE]; Janssen Pharmaceutica
N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).
VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine [BE/BE]; Janssen
Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse
(BE). VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna
[BE/BE]; Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg
30, B-2340 Beerse (BE). ANGIBAUD, Patrick, René
[FR/FR]; Janssen-Cilag S.A., 1, rue Camille Desmoulins,
TSA 91003, F-92787 Issy-les-Moulineaux Cedex 9 (FR).
MEERPOEL, Lieve [BE/BE]; Janssen Pharmaceutica
N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).
DYATKIN, Alexey, Borisovich [RU/US]; Johnson &
Johnson Pharmaceutical Research and Development,
L.L.C., Welsh and McKean Roads, Springhouse, PA
19477 (US).(74) Representante Común: JANSSEN PHARMACEUTICA
N.V.; Karen Vermuyten-GA 4736, J & J Patent Law
Department, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE).(81) Estados Designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Estados Designados (regional): Patente ARIPO (GH, GM, KE, LS,
MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente Eurasiática
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) Patente Europea
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), Patente
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).

Declaraciones bajo la Regla 4.17:

- en cuanto a la facultad del solicitante para aplicar y obtener una patente (Regla 4.17 (ii)) para las siguientes designaciones AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, Patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Patente Eurasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), Patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

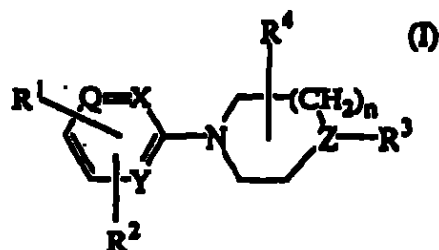
- como el derecho del solicitante a reivindicar la prioridad de la solicitud anterior (Regla 4.17 (iii)) para todas las designaciones
- de la calidad de inventor (Regla 4.17 (iv)) para Estados Unidos de América solamente

Publicada:

- con reporte de búsqueda internacional
- antes de la expiración del límite de tiempo para modificar las reivindicaciones y ser publicada de nuevo en el caso de recibo de modificaciones

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Gúlas sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada edición regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: INHIBIDORES DE LA HISTONA DESACETILASA

(57) Resumen: Esta invención comprende los compuestos novedosos de fórmula (I) en donde n, R¹, R², R³, R⁴, Q, X, Y, Z tienen significados definidos, teniendo actividad enzimática inhibidora de la histona desacetilasa; su preparación, composiciones que las contienen y su utilización como una medicina.

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
18 September 2003 (18.09.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/075929 A1

(51) International Patent Classification: A61K 31/505,
A61P 35/00, C07D 471/10, 239/42, 401/04, 295/14,
307/68, 217/02, 207/09, 401/12, C12Q 1/34

(21) International Application Number: PCT/EP03/02515

(22) International Filing Date: 11 March 2003 (11.03.2003)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/363,799 13 March 2002 (13.03.2002) US

CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GR, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(i)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations of inventorship (Rule 4.17(iv)) for US only

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(71) Applicant (for all designated States except US): JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. [BE/BE]; Turnhoutseweg 30, B-2340 Beersel (BE).

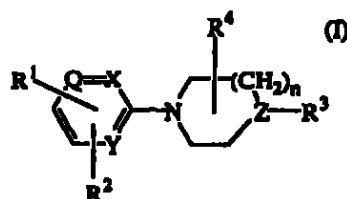
(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): VAN EMELLEN, Kristof [BE/BE]; Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beersel (BE). VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine [BE/BE]; Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beersel (BE). VAN BRANDT, Sven, Francine, Anna [BE/BE]; Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beersel (BE). ANGIBAUD, Patrick, René [FR/FR]; Janssen-Cilag S.A., 1, rue Camille Desmoulins, TSA 91003, F-92787 Issy-les-Moulineaux Cedex 9 (FR). MEERPOEL, Lieve [BE/BE]; Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beersel (BE). DYATKIN, Alexey, Borisovich [RU/US]; Johnson & Johnson Pharmaceutical Research and Development, L.L.C., Welsh and McKean Roads, Springhouse, PA 19477 (US).

(74) Common Representative: JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.; Karen Vermuyten- GA4736, J & J Patent Law Department, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beersel (BE).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,

(54) Title: INHIBITORS OF HISTONE DEACETYLASE



(57) Abstract: This invention comprises the novel compounds of formula (I) wherein n, R¹, R², R³, R⁴, Q, X, Y, Z and have defined meanings, having histone deacetylase inhibiting enzymatic activity; their preparation, compositions containing them and their use as a medicine.

WO 03/075929 A1

18

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT
REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

(PCT Artículo 36 y Regla 70)
 (Reporte justificado de acuerdo al anuncio del presidente de la EPO publicado en el OJ11/2001)

Registro de referencia del solicitante o agente PRD 2011-PCT	PARA FUTURAS ACCIONES Ver Notificación o Transmisión del Reporte de Examen Preliminar Internacional (Formato PCT/IPEA/416)	
Solicitud Internacional No. PCT/EP 03/02515	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 11/03/2003	Fecha de prioridad (día/mes/año) 13/03/2002
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC A61K31/505		
Solicitante JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.		
1. Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional y se transmite al solicitante de conformidad con el Artículo 36. 2. Este REPORTE consta de un total de <u>2</u> páginas, incluyendo la carátula. ☐ Este reporte también está acompañado de ANEXOS, es decir, páginas de descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido modificados y son la base de este informe y/o páginas que contienen rectificaciones hechas ante esta Autoridad (ver Regla 70.16 y la Sección 607 de las Instrucciones Administrativas de conformidad con el PCT). Estos anexos constan de un total de hojas.		
3. Este informe contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: - I ☒ Bases del Reporte - II ☐ Prioridad - III ☒ No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad Industrial. - IV ☐ Falta de unidad de invención - V ☒ Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación . - VI ☐ Ciertos documentos citados - VII ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional - VIII ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional		
Fecha de presentación de la demanda 02/09/2003	Fecha de terminación de este reporte 26/11/2003	
Nombre y dirección de correo autoridad de IPEA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk-Netherlands Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016	Funcionario autorizado VERHULST W Tel. (+49.89) 2399 2828	

I. Base del Reporte

La base de este examen preliminar internacional es la solicitud como fue presentada originalmente.

III. No establecimiento de opinión con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial

La cuestión si la invención reivindicada parece ser novedosa, involucrar un nivel inventivo, o ser industrialmente aplicable no ha sido el objeto del examen preliminar internacional con respecto a las reivindicaciones las cuales no han sido buscadas (Artículo 17(2)(a) ó (3) y Regla 66.1 (e) del PCT); ver también reporte de búsqueda internacional).

V. Declaración razonada según la Regla 66.2(a)(ii) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial

En la medida en que el Examen Preliminar Internacional se ha realizado (ver ítem III arriba), se precisa lo siguiente:

A la luz de los documentos citados en el reporte de búsqueda internacional, se considera que la invención según lo definido en por lo menos alguna de las reivindicaciones, la cual ha sido el objeto de un reporte de búsqueda internacional, no parece cumplir con los criterios mencionados en el Artículo 33(1) del PCT, i.e. no parece ser novedoso y/o involucrar un nivel inventivo (ver el reporte de búsqueda internacional, en particular los documentos citados X y/o Y y las correspondientes referencias a la reivindicación).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

(Rationalised Report according to the Notice of the President of the EPO published in the OJ11/2001)

Applicant's or agent's file reference PRD 2011-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP 03/ 02515	International filing date (day/month/year) 11/03/2003	Priority date (day/month/year) 13/03/2002
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K31/505		
Applicant JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.		

1. - This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 2 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consists of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 02/09/2003	Date of completion of this report 26/11/2003
Name and mailing address of the IPEA/  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Netherlands Tel: (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer VERHULST W Tel. (+49-89) 2399 2828

Form PCT/IPEA/409 (cover sheet) P20476 (October 2002)



I. Basis of the report

The basis of this international preliminary examination is the application as originally filed.

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The question of whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step, or to be industrially applicable has not been the subject of the international preliminary examination in respect of the claims which have not been searched (Article 17(2)(a) or (3) and Rule 66.1(e) PCT); see also international search report).

V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability

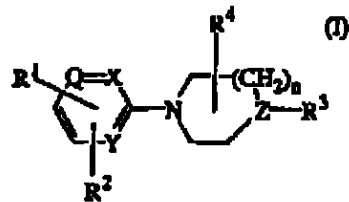
To the extent that the international preliminary examination has been carried out (see item III above), the following is pointed out:

In light of the documents cited in the international search report, it is considered that the invention as defined in at least some of the claims, which have been the subject of an international search report, does not appear to meet the criteria mentioned in Article 33(1) PCT, i.e. does not appear to be novel and/or to involve an inventive step (see international search report, in particular the documents cited X and/or Y and corresponding claim references).

INHIBIDORES DE LA HISTONA DESACETILASA

RESUMEN, OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5 Esta invención comprende los compuestos novedosos de la
fórmula (I)



en donde n, R¹, R², R³, R⁴, Q, X, Y y Z tienen significados definidos, teniendo
actividad enzimática inhibidora de histona desacetilasa; su preparación,
composiciones que las contienen y su uso como un medicamento.

15

20

INHIBIDORES DE LA HISTONA DESACETILASA

MEMORIA DESCRIPTIVA

Esta invención se refiere a compuestos que tienen actividad
5 enzimática inhibidora de histona desacetilasa (HDAC). Además se refiere a procedimientos para su preparación, composiciones que los comprenden, así como su uso, tanto *in vitro* como *in vivo*, para inhibir HDAC y como un medicamento, por ejemplo, como un medicamento para inhibir condiciones proliferativas, tales como cáncer y psoriasis.

10 En todas las células eucarióticas, el ADN genómico en la cromatina se asocia con histonas para formar nucleosomas. Cada nucleosoma consiste de un octámero de proteína hecho de dos copias de cada histona H2A, H2B, H3 y H4. El ADN se enrolla alrededor de este núcleo de proteína, y los aminoácidos básicos de las histonas interactúan con los
15 grupos fosfato cargados negativamente del ADN. La modificación de post-translación más común de estas histonas de núcleo es la acetilación reversible de los grupos ϵ -amino de residuos de lisina de N-terminal conservados altamente básicos. El estado constante de la acetilación de las histonas se establece por el equilibrio dinámico entre la histona
20 acetiltransferasa(s) competente y la histona desacetilasa(s) denominada "HDAC" aquí denominada. Desde hace mucho la acetilación y la desacetilación de la histona se ha asociado con el control de la transcripción. La reciente clonación de los genes que codifican diferentes histonas

acetiltransferasas e histonas desacetilasas dió una posible explicación para la relación entre la acetilación de la histona y el control de la transcripción. La acetilación reversible de las histonas puede dar como resultado la remodelación de la cromatina y, como tal, actúa como un mecanismo de control para la transcripción del gen. En general, la hiperacetilación de las histonas facilita la expresión del gen, mientras que la desacetilación de la histona se correlaciona con la represión de la transcripción. Se demostró que las histonas acetiltransferasas actúan como coactivadoras de la transcripción, mientras que las histonas desacetilasas pertenecen a trayectorias de represión transcripcional.

El equilibrio dinámico entre la acetilación y desacetilación de la histona es esencial para el crecimiento normal de las células. La inhibición de la histona desacetilasa da como resultado la interrupción del ciclo celular, diferenciación celular, apoptosis y reversificación del genotipo transformado. Por lo tanto, los inhibidores de HDAC pueden tener gran potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades o condiciones proliferativas de las células (Marks y otros, Nature Reviews: Cancer 1: 194-202, 2001).

El estudio de los inhibidores de las histonas desacetilasas (HDAC) indica que de hecho, estas enzimas juegan un papel importante en la proliferación y diferenciación de las células. El inhibidor (TSA) hace que el ciclo celular se interrumpa en las fases G1 y G2, revierta el fenotipo transformado de diferentes líneas celulares e induzca, una diferenciación de células de leucemia de Friend y otras. Se ha reportado que TSA (y el ácido

hidroxámico de suberoilánilida SAHA) inhiben el crecimiento celular, inducen la diferenciación terminal e impiden la formación de tumores en ratones (Finnin y otros Nature, 401: 188-193, 1999).

También se ha reportado que trichostatin A es útil en el
5 tratamiento de fibrosis, por ejemplo, fibrosis hepática y cirrosis hepática (Geerts y otros, Solicitud de Patente Europea EP 0 827 742, publicada el 11 de marzo de 1998).

La solicitud de patente WO01/38322, publicada el 31 de mayo del 2001 describe, entre otros, inhibidores de histona desacetilasa de la
10 fórmula general $Cy-L^1-Ar-Y^1-C(O)-NH-Z$, para el tratamiento de enfermedades y condiciones proliferativas de células.

La solicitud de patente WO01/70675, publicada el 27 de septiembre de 2001, describe inhibidores de histona desacetilasa de la fórmula $Cy-X-Y^1-W$ y $Cy-S(O)_2-NH-Y^3-W$ y además provee composiciones y
15 métodos para el tratamiento de enfermedades y condiciones proliferativas de células.

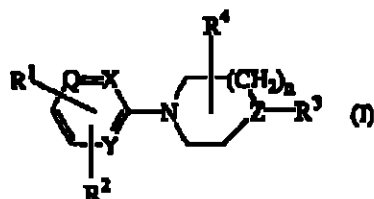
El problema por resolver es proveer inhibidores de histona desacetilasa con alta actividad enzimática y también mostrar propiedades ventajosas tales como actividad celular y biodisponibilidad incrementada,
20 preferiblemente biodisponibilidad oral, y que tengan pocos o ningunos efectos secundarios.

Los compuestos novedosos de la presente invención resuelven el problema anteriormente descrito. Los compuestos se diferencian de la técnica

anterior en su estructura.

Los compuestos de la presente invención muestran una excelente actividad enzimática inhibidora de histona desacetilasa *in vitro*. Los compuestos de la presente invención tienen propiedades ventajosas con respecto a la actividad celular y propiedades específicas con respecto a la inhibición de la progresión del ciclo celular en los puntos de verificación G1 y G2 (capacidad de inducción de p21). Los compuestos de la presente invención muestran buena estabilidad metabólica y alta biodisponibilidad y muy particularmente, muestran biodisponibilidad oral.

Esta invención se refiere a compuestos de la fórmula (I)



formas de *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y formas estereoquímicamente isoméricas de los mismos, en donde

n es 0, 1, 2 ó 3 y cuando *n* es 0, entonces se pretende un enlace directo;

cada Q es nitrógeno o ;

cada X es nitrógeno o ;

cada Y es nitrógeno o ;

cada Z es nitrógeno o ;

R¹ es -C(O)NR⁵R⁶, -N(H)C(O)R⁷, -C(O)-alcanodiilo de C₁₋₆SR⁷, -

$\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OH})\text{R}^7$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})$ -alcanodilo de $\text{C}_{1-8}\text{SR}^7$, $-\text{NR}^8\text{C}(\text{O})\text{C}=\text{N}(\text{OH})\text{R}^7$ u otro grupo quelante de Zn en donde R^5 y R^6 son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxilo, alquilo de C_{1-8} , hidroxialquilo de C_{1-8} , aminoalquilo de C_{1-8} o aminoarilo;

5 R^7 se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo de C_{1-8} , alquilcarbonilo de C_{1-8} , arilalquilo de C_{1-8} , alquilpirazinilo de C_{1-8} , piridinona, pirrolidinona o metilimidazolilo;

R^8 se selecciona independientemente de hidrógeno o alquilo de C_{1-8} ;

10 R^2 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C_{1-8} , alquilo de C_{1-8} , trifluorometilo, di(alquilo de C_{1-8})amino, hidroxiamino o naftalenilsulfonilpirazinilo;

R^3 es hidrógeno, alquilo de C_{1-8} , aril-alquenodilo de C_{2-8} , furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, $-\text{C}(\text{O})\text{feniloR}^9$, alquilaminocarbonilo de C_{1-8} , aminosulfonilo, arilaminosulfonilo, aminosulfonilamino, di(alquilo de C_{1-8})aminosulfonilamino, arilaminosulfonilamino, aminosulfonilamino-alquilo de C_{1-8} , di(alquilo de C_{1-8})aminosulfonilamino-alquilo de C_{1-8} , arilaminosulfonilamino-alquilo de C_{1-8} , di(alquilo de C_{1-8})amino-alquilo de C_{1-8} , alquilsulfonilo de C_{1-12} , di(alquilo de C_{1-8})aminosulfonilo, trihalógeno-alquilsulfonilo de C_{1-8} , di(arilo)alquilcarbonilo de C_{1-8} , tiofenil-alquilcarbonilo de C_{1-8} , piridinilcarbonilo o aril-alquilcarbonilo de C_{1-8} ,

20 en donde cada R^9 se selecciona independientemente de fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente

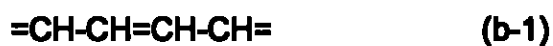
R⁴ hidrógeno, hidroxi, amino, hidroxi-alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈, aril-alquilo de C₁₋₈, aminocarbonilo, hidroxycarbonilo, amino-alquilo de C₁₋₈, aminocarbonilo-alquilo de C₁₋₈, hidroxycarbonilo-alquilo de C₁₋₈, hidroxiaminocarbonilo, alquiloxycarbonilo de C₁₋₈, alquilamino de C₁₋₈-alquilo de C₁₋₈ o di(alquilo de C₁₋₈)amino-alquilo de C₁₋₈;

$$-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NR}^{10}- \quad (\text{a-1})$$

en donde R^{10} es hidrógeno o arilo;

cuando R^3 y R^4 están presentes en átomos de carbono

adyacentes, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula



arilo en lo anterior es fenilo, o fenilo sustituido con uno o más
sustituyentes cada uno independientemente seleccionado de halógeno, alquilo
5 de C₁₋₆, alquilo de C₁₋₆, trifluorometilo, ciano o hidroxicarbonilo.

El término "inhibidor de histona desacetilasa" o "inhibidor de
histona desacetilasa" se usa para identificar un compuesto, que es capaz de
interactuar con una histona desacetilasa e inhibir su actividad, muy
particularmente su actividad enzimática. Inhibición de la actividad enzimática
10 de la histona desacetilasa significa reducir la capacidad de una histona
desacetilasa para remover un grupo acetilo a partir de una histona.
Preferiblemente, dicha inhibición es específica, es decir, el inhibidor de la
histona desacetilasa reduce la capacidad de una histona desacetilasa al
remover un grupo acetilo de una histona a una concentración que es menor
15 que la concentración del inhibidor que se requiere para producir algún otro
efecto biológico no relacionado.

Tal como se usa en las definiciones anteriores y de aquí en
adelante, halógeno es genérico para flúor, cloro, bromo y yodo; alquilo de C₁₋₄
define radicales hidrocarburo saturados de cadena recta y ramificada que
20 tienen de 1 a 4 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metilo, etilo,
propilo, butilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo y similares; alquilo de C₁₋₆ incluye
alquilo de C₁₋₄ y los homólogos superiores del mismo que tienen de 5 a 6
átomos de carbono tales como, por ejemplo, pentilo, 2-metilo-butilo, hexilo, 2-

metilpentilo y similares; alcanodiilo de C_{1-6} define radicales hidrocarburo saturados de cadena recta y ramificada bivalentes que tienen de 1 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, metileno, 1,2-etanodiilo, 1,3-propanodiilo, 1,4-butanodiilo, 1,5-pentanodiilo, 1,6-hexanodiilo y los isómeros ramificados de los mismos tales como, 2-metilpentanodiilo, 3-metilpentanodiilo, 2,2-dimetilbutanodiilo, 2,3-dimetilbutanodiilo y similares; trihalógenoalquilo de C_{1-6} define alquilo de C_{1-6} que contiene tres sustituyentes halógeno idénticos o diferentes, tales como por ejemplo trifluorometilo; alcanodiilo de C_{2-6} define radicales hidrocarburo de cadena recta y ramificada bivalentes que contienen doble enlace y que tienen de 2 a 6 átomos de carbono tales como, por ejemplo, etenodiilo, 2-propenodiilo, 3-butenodiilo, 2-pentenodiilo, 3-pentenodiilo, 3-metil-2-butenodiilo, y similares; el aminoarilo define el arilo sustituido con amino.

El término "otro grupo quelante de Zn" se refiere a un grupo que puede interactuar con un ion de Zn, que puede estar presente en un sitio de unión enzimático.

Las sales de adición farmacéuticamente aceptables comprenden sales de adición de ácido, farmacéuticamente aceptables y sales básicas de adición farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables, tal como se mencionó antes comprenden las formas de sal de adición de ácido no tóxica terapéuticamente activas, que pueden formar los compuestos de la fórmula (I). Los compuestos de la fórmula (I) que tienen propiedades básicas pueden ser convertidos a sus sales de

adición de ácido farmacéuticamente aceptables tratando dicha forma de base con un ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos halogenohídricos, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico; ácido sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o ácidos
5 orgánicos tales como, por ejemplo, acético, trifluoroacético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico, malónico, succínico (es decir, ácido butanodiólico), maléico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metansulfónico, etansulfónico, bencensulfónico, *p*-toluensulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-amino-salicílico, pamoico y los ácidos similares.

10 Los compuestos de la fórmula (I) que tienen propiedades ácidas pueden ser convertidos a sus sales de adición básica farmacéuticamente aceptables tratando dicha forma ácida con una base orgánica o inorgánica adecuada. Las formas de sal básicas apropiadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, sales de metal alcalino y alcalino térreo, por ejemplo,
15 sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo, las sales de benzatina, *N*-metil-D-glucamina, hidrabarnina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

El término "sales ácidas o básicas de adición" también
20 comprende los hidratos y las formas de adición solventes, que pueden formar los compuestos de la fórmula (I). Ejemplos de este tipo de fórmulas son, por ejemplo, hidratos, alcoholatos y similares.

El término "formas estereoquímicamente isoméricas de

compuestos de la fórmula (I)", tal como se usa aquí, define todos los compuestos posibles hechos de los mismos átomos enlazados por la misma secuencia de enlaces pero que tienen diferentes estructuras tridimensionales, que no son intercambiables, que pueden tener los compuestos de la fórmula

5 (I). Salvo indicaciónb al contrario, la designación química de un compuesto abarca la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isoméricas posibles, que puede tener dicho compuesto. Dichas mezclas pueden contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Todas las formas estereoquímicamente

10 isoméricas de los compuestos de la fórmula (I) tanto en forma pura como mezclados entre sí unos con otros se abrcan dentro del alcance de la presente invención.

Las formas de *N*-óxido de los compuestos de la fórmula (I) comprenden los compuestos de la fórmula (I) en donde uno o varios átomos

15 de nitrógeno son oxidados al denominado *N*-óxido, particularmente aquellos *N*-óxidos en donde uno o más de piperidina-, piperazina- o piridazinil-nitrógenos son *N*-oxidados.

Algunos de los compuestos de la fórmula (I) también pueden existir en sus formas tautoméricas. Se pretende que dichas formas, aunque no

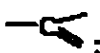
20 se indican explícitamente en la fórmula anterior, incluyan dentro del alcance de la presente invención.

Siempre que se use de aquí en adelante, el término "compuestos de la fórmula (I)" incluye también las sales de adición farmacéuticamente

aceptables y todas las formas estereoisoméricas.

Tal como se usa aquí, los términos "histona desacetilasa" y "HDAC" se refieren a cualquiera de una familia de enzimas que remueven grupos acetilo de los grupos ϵ -amino de residuos de lisina en el *N*-terminal de una histona. Salvo indicación al contrario por el contexto, el término "histona" se refiere a cualquier proteína de histona, incluidos H1, H2A, H2B, H3, H4 y H5, de cualquier especie. Las proteínas HDAC humanas o productos de gen de las mismas, incluyen pero no se limitan a HDAC-1, HDAC-2, HDAC-3, HDAC-4, HDAC-5, HDAC-6, HDAC-7, HDAC-8, HDAC-9 y HDAC-10. La histona desacetilasa también se puede derivar de una fuente de protozoarios o de hongos.

Un primer grupo de compuestos interesantes consiste de estos compuestos de la fórmula (I) en donde se aplican una o más de las siguientes restricciones:

- a) n es 0 ó 1;
- b) cada Q es ;
- c) R^1 es $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{OH})$ o $-\text{NHC}(\text{O})$ alcanodilo de C_{1-6}SH ;
- d) R^2 es hidrógeno o nitro;
- e) R^3 es alquilo de C_{1-6} , arilalo-quenodilo de C_{2-6} , furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, alquilaminocarbonilo de C_{1-6} , aminosulfonilo, di(alquilo de C_{1-6})aminosulfonilamino-alquilo de C_{1-6} , di(alquilo de C_{1-6})amino-alquilo de C_{1-6} , alquilsulfonilo de C_{1-12} , di(alquilo de C_{1-6})aminosulfonilo, trihalógeno-alquilsulfonilo de C_{1-6} , di(arilo)alquilcarbonilo de

C₁₋₆, tiofenil-alquilcarbonilo de C₁₋₆, piridinilcarbonilo o aril-alquilcarbonilo de C₁₋₆;

f) R⁴ es hidrógeno;

g) cuando R³ y R⁴ están presentes en el mismo átomo de carbono, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula (a-1) en donde R¹⁰ es arilo;

h) cuando R³ y R⁴ están presentes sobre átomos de carbono adyacentes, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula (b-1).

10 Un segundo grupo de compuestos interesantes consisten de los compuestos de la fórmula (I) en donde una o más de las siguientes restricciones se aplican:

a) n es 1;

b) cada Q es ;

15 c) cada Z es nitrógeno;

d) R¹ es -C(O)NH(OH);

e) R² es hidrógeno;

f) R³ es naftalenilcarbonilo, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂, o di(arilo)alquilcarbonilo de C₁₋₆;

20 g) R⁴ es hidrógeno.

Un tercer grupo de compuestos interesantes consiste de los compuestos de la fórmula (I) en donde R² es hidrógeno.

Un cuarto grupo de compuestos interesantes consiste de los

compuestos de la fórmula (I) en donde R^1 es $-C(O)NH(OH)$.

Un quinto grupo de compuestos interesantes consiste de los compuestos de la fórmula (I) en donde R^2 es hidrógeno y R^1 es $-C(O)NH(OH)$.

Un sexto grupo de compuestos interesantes consiste de los compuestos de la fórmula (I) en donde se aplican una o más de las siguientes restricciones;

a) R^1 es $-C(O)NR^5R^6$, $-C(O)$ -alcanodiilo de $C_{1-8}SR^7$, $-NR^6C(O)N(OH)R^7$, $-NR^6C(O)$ alcanodiilo de $C_{1-8}SR^7$, $-NR^6C(O)C=N(OH)R^7$ u otro grupo quelante de Zn en donde R^5 y R^6 son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxil, hidroxialquilo de C_{1-8} o aminoalquilo de C_{1-8} ;

b) R^2 es hidrógeno, halógeno, hidroxil, amino, nitro, alquilo de C_{1-8} , alquilo de C_{1-8} , trifluorometilo o di(alquilo de C_{1-8})amino;

c) R^3 es hidrógeno, alquilo de C_{1-8} , aril-alquenodiilo de C_{2-8} , furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, $-C(O)$ fenilo R^9 , alquilaminocarbonilo de C_{1-8} , aminosulfonilo, arilaminosulfonilo, aminosulfonilamino, di(alquilo de C_{1-8})aminosulfonilamino, di(alquilo de C_{1-8})amino-alquilo de C_{1-8} , alquilsulfonilo de C_{1-12} , di(alquilo de C_{1-8})aminosulfonilo o piridinilcarbonilo, en donde cada R^9 se selecciona independientemente de fenilo, fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquilo de C_{1-8} , alquilo de C_{1-8} , alquilo de C_{1-8} , o tiofenilo;

d) R^4 es hidrógeno, hidroxil, amino, hidroxialquilo de C_{1-8} , alquilo de C_{1-8} , alquilo de C_{1-8} , aril-alquilo de C_{1-8} , aminocarbonilo, amino-alquilo de

C₁₋₈, alquilamino de C₁₋₈-alquilo de C₁₋₈, o di(alquilo de C₁₋₈)amino-alquilo de C₁₋₈.

Un grupo de compuestos preferidos consiste de los compuestos de la fórmula (I) en donde

5 R¹ es -C(O)NR⁵R⁶, -C(O)-alcanodiilo de C₁₋₈-SR⁷, -NR⁸C(O)N(OH)R⁷, -NR⁸C(O)alcanodiilo de C₁₋₈-SR⁷, -NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷ u otro grupo quelante de Zn en donde R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxilo, hidroxilo-alquilo de C₁₋₈ o amino-alquilo de C₁₋₈;

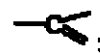
10 R² es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈, trifluorometilo o di(alquilo de C₁₋₈)amino;

 R³ es hidrógeno, alquilo de C₁₋₈, aril-alquenodiilo de C₂₋₈, furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, -C(O)feniloR⁹, alquilaminocarbonilo de C₁₋₈, aminosulfonilo, arilaminosulfonilo, aminosulfonilamino, di(alquilo de C₁₋₈)aminosulfonilamino, di(alquilo de C₁₋₈)amino-alquilo de C₁₋₈, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂, di(alquilo de C₁₋₈)aminosulfonilo o piridinilcarbonilo, en donde cada R⁹ se selecciona independientemente de fenilo, fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈; o tiofenilo;

20 R⁴ es hidrógeno, hidroxilo, amino, hidroxilo-alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈, alquilo de C₁₋₈, aril-alquilo de C₁₋₈, aminocarbonilo, amino-alquilo de C₁₋₈, alquilamino de C₁₋₈-alquilo de C₁₋₈, o di(alquilo de C₁₋₈)amino-alquilo de C₁₋₈.

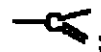
Un grupo adicional de compuestos preferidos consiste de los

compuestos de la fórmula (I) en donde n es 0 ó 1; cada Q es



- R¹ es -C(O)NH(OH) o -NHC(O)C-alcanodiilo de C₁₋₈-SH; R² es hidrógeno o nitro; R³ es alquilo de C₁₋₈, aril-alquenodiilo de C₂₋₈, furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, alquilaminocarbonilo de C₁₋₈, aminosulfonilo, di(alquilo de C₁₋₈)aminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₈, di(alquilo de C₁₋₈)amino-alquilo de C₁₋₈, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂, di(alquilo de C₁₋₈)aminosulfonilo, trihalógeno-alquilsulfonilo de C₁₋₈, di(arilo)-alquilcarbonilo de C₁₋₈, tiofenil-alquilcarbonilo de C₁₋₈, piridinilcarbonilo o aril-alquilcarbonilo de C₁₋₈; R⁴ es hidrógeno; cuando R³ y R⁴ están presentes en el mismo átomo de carbono, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula (a-1) en donde R¹⁰ es arilo; o cuando R³ y R⁴ están presentes sobre átomos de carbono adyacentes, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula (b-1).

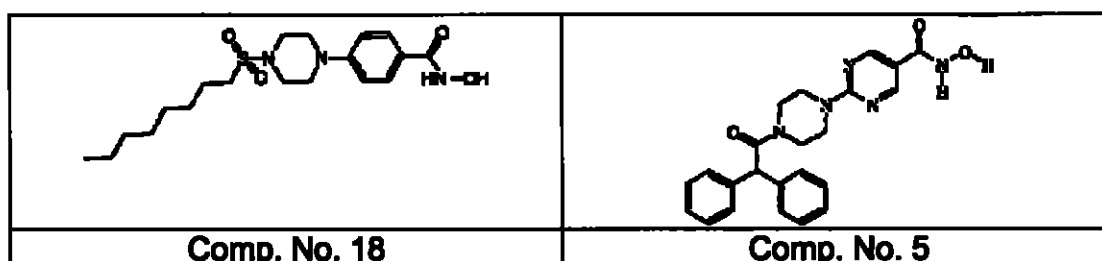
Un grupo de compuestos más preferidos consiste de los compuestos de la fórmula (I) en donde n es 1; cada Q es

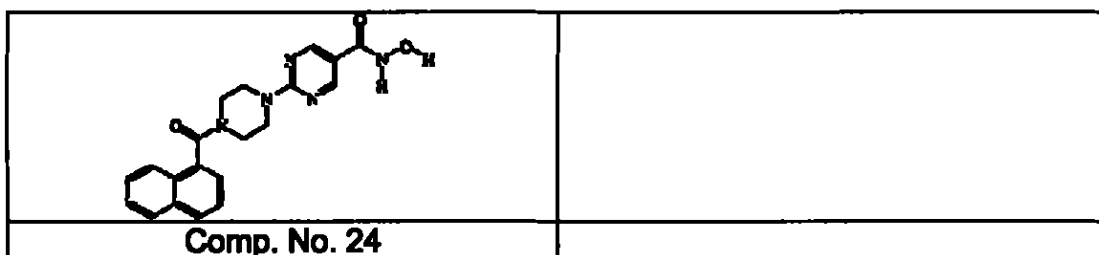


- cada Z es nitrógeno; R¹ es -C(O)NH(OH); R² es hidrógeno; R³ es naftalenilcarbonilo, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂ o di(arilo)alquilcarbonilo de C₁₋₈; y R⁴ es hidrógeno.

Los compuestos más preferidos son los compuestos No. 18, No. 5 y No. 24.

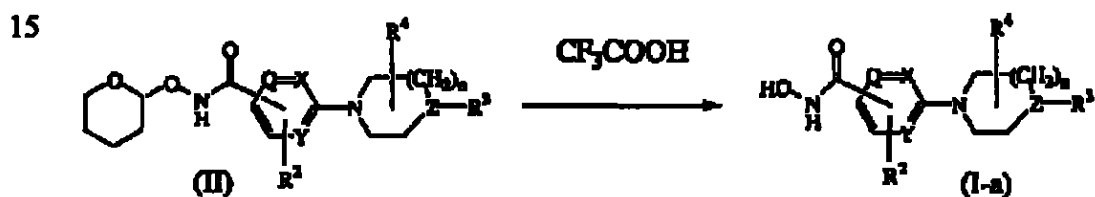
20



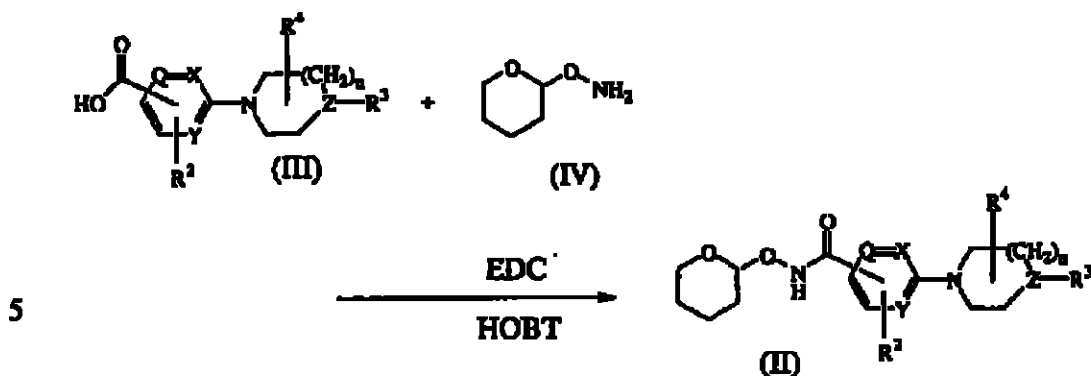


5 Los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables y *N*-óxidos y formas estereoquímicamente isoméricas de los mismos se pueden preparar de la manera convencional. Una vía de síntesis general incluye como ejemplo:

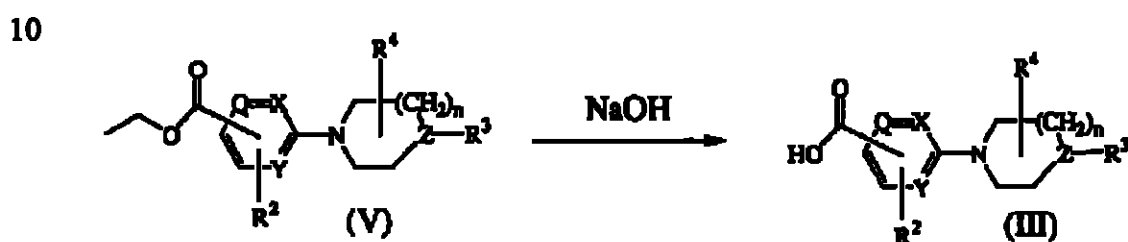
a) ácidos hidroxámicos de la fórmula (I) en donde R^1 es –
 10 $C(O)NH(OH)$, dichos compuestos siendo referidos como compuestos de la fórmula (I-a), se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (II) con un ácido apropiado, tal como por ejemplo, ácido trifluoroacético. Dicha reacción se realiza en un solvente apropiado, tal como, por ejemplo, metanol.



b) intermediarios de la fórmula (II) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (III) con un intermediario de la
 20 fórmula (IV) en presencia de reactivos apropiados tales como monoclórhidrato de *N*-(etilcarbonimidóil)-*N,N*-dimetil-1,3-propanodiamina, (EDC) y 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol (HOBt). La reacción se puede realizar en un solvente adecuado tal como una mezcla de DCM y THF.



c) intermediarios de la fórmula (III) se pueden preparar haciendo reaccionar un intermediario de la fórmula (V) con una base apropiada tal como NaOH en presencia de un solvente adecuado tal como etanol.



Los compuestos de la fórmula (I) se pueden preparar convenientemente usando técnicas de síntesis de fase sólida. En general, las síntesis de fase sólida implican hacer reaccionar un intermediario en una síntesis con un soporte de polímero. Luego, este intermediario soportado en polímero puede hacerse a través de un número de pasos de síntesis. Luego de cada paso, la filtración de la resina y el lavado de la misma varias veces con diferentes solventes remueve las impurezas. En cada paso la resina se puede dividir para reaccionar con varios intermediarios en el siguiente paso permitiendo de este modo, la síntesis de un gran número de compuestos. Luego del último paso en el procedimiento, la resina se trata con un reactivo o

procedimiento para segmentar la resina de la mezcla. Una explicación más detallada de las técnicas usadas en la química de fase sólida se describe por ejemplo en "The Combinatorial Index" (B. Bunin, Academic Press) y Novabiochem's 1999 Catalogue & Peptide Synthesis Handbook (Novabiochem AG, Suiza) ambas incorporadas aquí por referencia.

Los compuestos de la fórmula (I) y algunos de los intermediarios pueden tener por lo menos un centro estereogénico en su estructura. Este centro estereogénico puede estar presente en una configuración R o S.

Los compuestos de la fórmula (I) tal como se preparan en los procedimientos anteriormente descritos son generalmente mezclas racémicas de enantiómeros, que pueden ser separadas unas de otras siguiendo procedimientos de resolución conocidos en la técnica. Los compuestos racémicos de la fórmula (I) pueden ser convertidos a las formas de sal diastereoméricas correspondientes mediante reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas de sal diastereoméricas son subsecuentemente separadas, por ejemplo, mediante cristalización selectiva o fraccionada y los enantiómeros son liberados ahí por álcali. Otra forma de separar las formas enantioméricas de los compuestos de la fórmula (I) incluye cromatografía de líquidos usando fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también se pueden derivar de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida apropiados, siempre y cuando la reacción ocurra estereoespecíficamente. Preferiblemente, si se desea un estereoisómero

específico, dicho compuesto sería sintetizado por métodos de preparación estereoespecíficos. Esos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

Los compuestos de la fórmula (I), las sales de adición de ácido
5 farmacéuticamente aceptables y las formas estereoisoméricas de los mismos tienen propiedades farmacológicas valiosas puesto que tienen un efecto inhibidor de histona desacetilasa (HDAC).

Esta invención provee un método para inhibir el crecimiento anormal de las células, incluidas células transformadas, al administrar una
10 cantidad efectiva de un compuesto de la invención. El crecimiento anormal de las células se refiere al crecimiento de las células independiente de los mecanismos reguladores normales (por ejemplo, pérdida de inhibición por contacto). Esto incluye la inhibición del crecimiento tumoral directamente causando una interrupción del crecimiento, diferenciación terminal y/o
15 apoptosis de las células cancerosas, e indirectamente inhibiendo la neovascularización de tumores.

Esta invención también provee un método para inhibir el crecimiento tumoral al administrar una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención, a un sujeto, por ejemplo, un mamífero (y en particular,
20 un ser humano) que necesite dicho tratamiento. En particular, esta invención provee un método para inhibir el crecimiento de tumores mediante la administración de una cantidad efectiva de compuestos de la presente invención. Ejemplos de tumores inhibirse sin limitar, incluyen cáncer de

pulmón (por ejemplo, adenocarcinoma e incluido cáncer de pulmón de células no pequeñas), cánceres pancreáticos (por ejemplo, carcinoma pancreático tal como, por ejemplo, carcinoma pancreático exocrino), cánceres de colon (por ejemplo, carcinomas colorrectales, tales como, por ejemplo, adenocarcinoma de colon y adenoma de colon), cáncer de próstata incluida la enfermedad avanzada, tumores hematopoyéticos de linaje de linfoide (por ejemplo, leucemia linfocítica aguda, linfoma de células B, linfoma de Burkitt), células mieloides (por ejemplo, leucemia mielógena aguda (AML)), cáncer folicular de la tiroides, síndrome mielodisplásico (MDS), tumores de origen mesenquimal (por ejemplo, fibrosarcomas y rhabdomyosarcomas), melanomas, teratocarcinomas, neuroblastomas, gliomas, tumor benigno de la piel (por ejemplo, queratocantomas), carcinoma de mama (por ejemplo, cáncer de seno avanzado), carcinoma de riñón, carcinoma de ovario, carcinoma de vejiga y carcinoma epidérmico.

El compuesto de acuerdo con la invención se puede usar para otros propósitos terapéuticos, por ejemplo:

- a) sensibilización de tumores a radioterapia mediante la administración del compuesto de conformidad con la invención antes, durante o después de la irradiación del tumor con el tratamiento de cáncer;
- b) tratamiento de artropatías y condiciones osteopatológicas tales como artritis reumatoide, osteoartritis, artritis juvenil, gota, artritis psoriática, espondilitis anquilosante y lupus eritematoso sistémico;
- c) inhibición de la proliferación de células del músculo liso

incluidos trastornos proliferativos vasculares, aterosclerosis y restenosis;

d) tratamiento de condiciones inflamatorias y condiciones dérmicas tales como colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, rinitis alérgica, enfermedad de injerto vs hospedero, conjuntivitis, asma, ARDS, enfermedad de Behcet, rechazo de trasplante, urticaria, dermatitis alérgica, alopecia areata, escleroderma, exantema, eczema, dermatomiositis, acné, diabetes, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Kawasaki, esclerosis múltiple, enfisema, fibrosis quística y bronquitis crónica;

e) tratamiento de endometriosis, fibroides uterinos, sangrado uterino disfuncional e hiperplasia endometrial;

f) tratamiento de vascularización ocular incluida la vasculopatía que afecta los vasos retinales y coloidales;

g) tratamiento de una disfunción cardíaca;

h) inhibición de condiciones inmunosupresoras tales como tratamiento de infecciones por VIH;

i) tratamiento de disfunción renal;

j) supresión de trastornos endógenos;

k) inhibición de la disfunción de gluconeogénesis;

l) tratamiento de una neuropatología por ejemplo enfermedad de Parkinson o una neuropatología que resulta en un trastorno cognitivo, por ejemplo enfermedad de Alzheimer o enfermedades relacionadas con poliglutamina;

m) inhibición de una patología neuromuscular, por ejemplo,

esclerosis lateral amiotrófica;

n) tratamiento de atrofia muscular espinal;

o) tratamiento de otras condiciones sujetas a tratamiento al potenciar la expresión de un gen;

5 p) incremento de la terapia génica.

De otra parte, la presente invención describe los compuestos de la fórmula (I) para usarse como un medicamento, así como al uso de estos compuestos de la fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para tratar una o más de las condiciones antes mencionadas.

10 Los compuestos de la fórmula (I), las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y las formas estereoisoméricas de las mismas pueden tener propiedades valiosas de diagnóstico en el sentido de que se pueden usar para detectar o identificar un HDAC en una muestra biológica que comprende detectar o medir la formación de un complejo entre un
15 compuesto marcado y una HDAC.

Los métodos de detección o identificación pueden usar compuestos que son marcados con agentes de marcaje tales como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas, etc. Ejemplos de radioisótipos incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^3H y ^{14}C . Generalmente las
20 enzimas se hacen detectables por conjugación de un sustrato apropiado que, a su vez cataliza una reacción detectable. Ejemplos de los mismos incluyen, por ejemplo, beta-galactosidasa, beta-glucosidasa, alcalina fosfatasa, peroxidasa y malata deshidrogensasa, preferiblemente peroxidasa de rábano

picante. Sustancias luminiscentes incluyen, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aecuatorina y luciferasa.

Las muestras biológicas se pueden definir como tejido corporal o fluidos corporales. Ejemplos de fluidos corporales son fluido cerebroespinal, sangre, plasma, suero, orina, esputo, saliva y similares.

Teniendo en cuenta las propiedades farmacológicas útiles, los compuestos de la presente invención se pueden formular en varias formas farmacéuticas para propósitos de administración.

Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, se combina una cantidad efectiva de un compuesto particular, en forma de sal básica o ácida de adición, como el ingrediente activo, en mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable; dicho vehículo puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para administración. Estas composiciones farmacéuticas son deseablemente en forma de dosis unitaria adecuada, preferiblemente, para administración oral, rectal, percutánea o para inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosis oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos usuales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolina, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegradores y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y tabletas.

Debido a su facilidad de administración, las tabletas y cápsulas representan las formas de dosis unitaria oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente vehículos farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el vehículo generalmente incluirá agua estéril, por lo menos en gran parte, aunque se pueden incluir por ejemplo otros ingredientes para ayudar a la solubilidad. Las soluciones inyectables, por ejemplo, se pueden preparar en las cuales el vehículo comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y solución de glucosa. También se pueden preparar las suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el vehículo comprende opcionalmente un agente incrementador de penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, dichos aditivos no causan un efecto deletéreo significativo a la piel. Los aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ayudar a preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de varias formas, por ejemplo, como un parche transdérmico, como aplicación por deposición o como una pomada.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas antes mencionadas en forma de dosis unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosis. La forma de dosis unitaria tal como se usa en la descripción y en las reivindicaciones se refiere a unidades

físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, cada unidad conteniendo una cantidad predeterminada de ingrediente activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas de dosis unitarias son

5 tabletas (incluidas tabletas revestidas o no revestidas), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharadas, cucharaditas y similares, y múltiples segregados de los mismos.

La personas versadas en la técnica podrán determinar fácilmente la cantidad efectiva de los resultados de prueba presentados más adelante.

10 En general, se contempla que una cantidad terapéuticamente efectiva sería entre 0,05 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal, y en particular de 0,05 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Sería apropiado administrar la dosis requerida en dos, tres, cuatro o más subdosis a intervalos apropiados durante todo el día. Dichas subdosis se pueden formular como formas de dosis unitaria, por

15 ejemplo, conteniendo 5 a 500 mg, y en particular 10 mg a 500 mg de ingrediente activo por forma de dosis unitaria.

Como otro aspecto de la presente invención, se contempla una combinación de HDAC-inhibidor con otro agente anticancerígeno, especialmente para usarse como un medicamento, muy específicamente en el

20 tratamiento de cáncer o enfermedades relacionadas.

Para el tratamiento de las anteriores condiciones, los compuestos de la invención se pueden emplear ventajosamente en combinación con uno o más de otros agentes medicinales, muy

particularmente, con otros agentes anticancerosos. Ejemplos de agentes anticancerígenos son:

- compuestos de coordinación de platino, por ejemplo, cisplatín, carboplatín u oxaliplatín;
- 5 - compuestos de taxano, por ejemplo, paclitaxel o docetaxel;
- inhibidores de topoisomerasa I tales como compuestos de campotecina, por ejemplo, irinotecan o topotecan;
- inhibidores de topoisomerasa II tales como derivados de podofilotoxina antitumoral, por ejemplo, etopósido o tenipósido;
- 10 - alcaloides de vinca antitumorales, por ejemplo, vinblastina, vincristina o vinorelbina;
- derivados de nucleósidos antitumorales, por ejemplo, 5-fluorouracilo, gencitabina o capecitabina;
- agentes alquilantes tales como mostaza de nitrógeno o
- 15 nitrosourea, por ejemplo, ciclofosfamida, clorambucil, carmustina o lomustina;
- derivados de antraciclina antitumorales, por ejemplo, daunorubicina, doxorubicina, idarubicina o mitoxantrona;
- anticuerpos HER2, por ejemplo, trastuzumab;
- antagonistas de receptor de estrógeno o moduladores de
- 20 receptor de estrógenos selectivos, por ejemplo, tamoxifen, toremifen, droloxifen, faslodex o raloxifen;
- inhibidores de aromatasa tales como exemestano, anastrozol, letrozol y vorozol;

- agentes de diferenciación tales como retinoides, vitamina D y agentes bloqueadores de metabolismo de ácido retinoico (RAMBA), por ejemplo, acutano;

- Inhibidores del ADN metiltransferasa, por ejemplo, azacitidina;

5 - Inhibidores de cinasa, por ejemplo, flavoperidol, mesilato de imatinib o gefitinib;

- inhibidores de farnesiltransferasa; o

- otros inhibidores de HDAC.

El término "compuesto de coordinación de platino" se usa aquí
10 para denotar cualquier compuesto de coordinación de platino inhibidor de crecimiento de células tumorales que provea platino en forma de un ion.

El término "compuesto de taxano" indica una clase de compuestos que tiene un sistema de anillo de taxano y que se relaciona con o se deriva de extractos de ciertas especies de árboles de tejo (Taxus).

15 El término "inhibidores de topoisomerasa" se usa para indicar enzimas que pueden alterar la topología del ADN en células eucarióticas. Son críticas para funciones celulares importantes y proliferación celular. Existen dos clases de topoisomerasas en células eucarióticas, a saber tipo I y tipo II. La topoisomerasa I es una enzima monomérica de peso molecular
20 de aproximadamente 100,000. La enzima se une al ADN e introduce un rompimiento de una sola cadena transitoria, desenrolla la doble hélice (o permite que se desenrolle) y subsecuentemente vuelve a sellar la ruptura antes de disociarse de la cadena del ADN. La topoisomerasa II tiene un

mecanismo de acción similar que implica la inducción de rompimiento de cadena del ADN por la formación de radicales libres.

El término "compuestos de camptotecina" se usa para indicar compuestos que se relacionan o se derivan de compuesto de campotecina original que es un alcaloide insoluble en agua derivado del árbol chino *Camptothecin acuminata* y el árbol de la India *Nothapodytes foetida*.

El término "compuestos de podofilotoxina" se usa para indicar compuestos que se relacionan o se derivan de la podofilotoxina original, que se extrae de la planta de mandrágora.

10 El término "alcaloides de vinca antitumorales" se usa para indicar compuestos que se relacionan o se derivan de extractos de la planta de vincapervinca (*Vinca rosea*).

El término "agentes alquilantes" comprende un grupo diverso de compuestos químicos que tienen la característica común de poder contribuir, bajo condiciones fisiológicas, grupos alquilo en macromoléculas biológicamente vitales tales como ADN. Con la mayoría de los agentes más importantes tales como mostazas de nitrógeno y las nitrosoureas, las porciones alquilantes activas se generan *in vivo* después de reacciones degradativas complejas, algunas de las cuales son enzimáticas. Las acciones farmacológicas más importantes de los agentes alquilantes son aquellas que alteran los mecanismos fundamentales relacionados con la proliferación celular en particular síntesis del ADN y división celular. La capacidad de los agentes alquilantes para interferir con la función e integridad del ADN en

15
20

tejidos rápidamente proliferantes provee la base para sus aplicaciones terapéuticas y para muchas de sus propiedades tóxicas.

El término "derivados de antraciclina antitumorales" comprende antibióticos obtenidos del hongo *Strep. peuticus var. caesius* y sus derivados, 5 caracterizados por tener una estructura de anillo de tetraciclina con un azúcar poco usual, daunosamina, enlazado por un enlace glicosídico.

La amplificación de la proteína de receptor del factor de crecimiento hepidermico humano 2 (HER 2) en carcinomas primarias se ha mostrado que se correlaciona con pronóstico clínico deficiente para ciertos 10 pacientes. Trastuzumab es un anticuerpo IgG1 kappa monoclonal humanizado derivado del ADN recombinante altamente purificado que se une con alta afinidad y especificidad al dominio extracelular del receptor de HER2.

Muchos cánceres de seno tienen receptores de estrógeno y el crecimiento de estos tumores puede ser estimulado por estrógeno. Los 15 términos "antagonistas del receptor de estrógeno" y "moduladores de receptor de estrógeno selectivos" se usan para indicar inhibidores competitivos de estradiol que se unen al receptor de estrógeno (ER). Los moduladores de receptor de estrógeno selectivos, cuando se unen a ER, inducen un cambio en la forma tridimensional del receptor, inhibiendo su unión al elemento de 20 respuesta de estrógeno (ERE) sobre ADN.

En mujeres postmenopáusicas, la principal fuente de estrógeno circulante es la conversión de andrógenos adrenal y ovárico (androstenediona y testosterona) a estrógenos (estrone y estradiol) por la enzima aromatasa en

tejidos periféricos. La privación de estrógeno a través de la inhibición o la activación de la aromatasa es un tratamiento efectivo y selectivo para algunas pacientes postmenopáusicas con cáncer de seno dependiente de hormona.

El término "agente antiestrógeno" se usa aquí para incluir no sólo
5 antagonistas de receptor de estrógeno y moduladores de receptor de estrógeno selectivos sino también inhibidores de aromatasa tal como se describió antes.

El término "agentes de diferenciación" abarca compuestos que, en varias formas, inhiben la proliferación celular e inducen la diferenciación.
10 Se sabe que la vitamina D y los retinoides juegan un papel importante en regular el crecimiento y diferenciación de una amplia variedad de tipos de células normales y malignos. Los agentes bloqueadores de metabolismo de ácido retinoido (RAMBA's) incrementan los niveles de ácidos retinoicos endógenos inhibiendo el catabolismo mediado por citocromo P450 de ácidos
15 retinoicos.

Los cambios de metilación del ADN están entre las anomalías más comunes en neoplasia humana. La hipermetilación dentro de los promotores de genes seleccionados generalmente se asocia con la inactivación de los genes implicados. El término "inhibidores del ADN
20 metiltransferasa" se usa para indicar compuestos que actúan a través de la inhibición farmacológica del ADN metiltransferasa y la reactivación de expresión de gen supresor de tumor.

El término "inhibidores de cinasa" comprende inhibidores

potentes de cinasas que están implicados en la progresión del ciclo celular y la muerte de células programada (apoptosis).

El término "inhibidores de farnesiltransferasa" se usa para indicar compuestos que están diseñados para evitar la farnesilación de Ras y otras proteínas intracelulares, se ha demostrado que tienen efecto sobre la proliferación y supervivencia de células malignas.

El término "otros inhibidores de HDAC" comprende pero no se limita a:

- ácidos grasos de cadena corta, por ejemplo, butirato, 4-fenilbutirato o ácido valproico;
- ácidos hidroxámicos, por ejemplo, ácido hidroxámico de suberoilanolida (SAHA), hidroxamato de biarilo A-161906, aril-N-hidroxicarboxamidas bicíclicas, piroxamida, CG-1521, PXD-101, ácido hidroxámico de sulfonamida, LAQ-824, tricotatina A (TSA), oxamflatina, scriptaid, ácido m-carboxicinámico y ácido bishidroxámico o análogo de ácido trapoxinhidroxámico;
- tetrapéptidos cíclicos, por ejemplo, trapoxina, apidicina o depsipéptido;
- benzamidas por ejemplo MS-275 o CI-994, o
- depudecina.

Para el tratamiento de cáncer, los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden administrar a un paciente como se describió antes, junto con irradiación. La irradiación significa radiación por ionización y

en particular, radiación por rayos gamma, especialmente aquellas emitidas por aceleradores lineales o por radionúclidos que actualmente se usan en común. La irradiación del tumor por radionúclidos puede ser externa o interna.

La presente invención también se refiere a una combinación de
5 acuerdo con la invención de un agente anticanceroso y un inhibidor de HDAC de conformidad con la invención.

La presente invención también se refiere a una combinación de acuerdo con la invención para usarse en terapia médica, por ejemplo, para inhibir el crecimiento de células tumorales.

10 La presente invención también se refiere a combinaciones de acuerdo con la invención para inhibir el crecimiento de células tumorales.

La presente invención también se refiere a un método para inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de una combinación de
15 conformidad con la invención.

Esta invención además provee un método para inhibir el crecimiento anormal de células, incluidas células transformadas, mediante la administración de una cantidad efectiva de una combinación de acuerdo con la invención.

20 El otro agente medicinal e inhibidor de HDAC se pueden administrar simultáneamente (por ejemplo, en composiciones separadas o unitarias) o secuencialmente en cualquier orden. En el último caso, los dos compuestos se administrarán dentro de un período y en una cantidad y

manera que es suficiente para asegurar que se logre un efecto ventajoso o sinérgico se logra. Se apreciará que el método y orden de administración preferidos y las cantidades y regímenes de dosis respectivos para cada componente de la invención dependerán en particular de otro agente medicinal e inhibidor de HDAC que se esté administrando, su vía de administración, el tumor en particular que se esté tratando y el anfitrión particular que se esté tratando. El método y orden de administraciones óptimas y las cantidades de regímenes de dosis los pueden determinar fácilmente los sujetos en la técnica usando métodos convencionales y en vista de la información que aquí se dispone.

El compuesto de coordinación de platino se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo de 50 a 400 mg/m^2 , particularmente para cisplatino en una dosis de aproximadamente 75 mg/m^2 para cisplatino y para carboplatino en aproximadamente 300 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El compuesto de taxano se administra ventajosamente en una dosis de 50 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo de 75 a 250 mg/m^2 , particularmente para paclitaxel en una dosis de aproximadamente 175 a 250 mg/m^2 y para docetaxel en aproximadamente 75 a 150 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El compuesto de camptotecina se administra ventajosamente en una dosis de 0.1 a 400 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo de 1 a 300 mg/m^2 , particularmente para irinotecan en

una dosis de aproximadamente 100 a 350 mg/m² y para topotecan en una dosis de aproximadamente 1 a 2 mg/m² por curso de tratamiento.

El derivado de podofilotoxina antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 30 a 300 mg por metro cuadrado (mg/m²) de
5 área de superficie corporal, por ejemplo de 50 a 250 mg/m², particularmente para etopósido en una dosis de aproximadamente 35 a 100 mg/m² y para tenipósido en una dosis de aproximadamente 50 a 250 mg/m² por curso de tratamiento.

El alcaloide de vinca antitumoral se administra ventajosamente
10 en una dosis de 2 a 30 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área de superficie corporal, particularmente para vinblastina en una dosis de aproximadamente 3 a 12 mg/m², para vincristina en una dosis de aproximadamente 1 a 2 mg/m² y para vinorelbina en una dosis de aproximadamente 10 a 30 mg/m² por curso de tratamiento.

15 El derivado de nucleósido antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 200 a 2,500 mg por metro cuadrado (mg/m²) de área de superficie corporal, por ejemplo de 700 a 1,500 mg/m², particularmente para 5-FU en una dosis de aproximadamente 200 a 500 mg/m², para gemcitabina en una dosis de aproximadamente 800 a 1,200
20 mg/m² y para capecitabina en una dosis de aproximadamente 1,000 a 2,500 mg/m² por curso de tratamiento.

Los agentes alquilantes tales como mostaza de nitrógeno o nitrosourea se administran ventajosamente en una dosis de 100 a 500 mg por

metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo de 120 a 200 mg/m^2 , particularmente para ciclofosfamida en una dosis de aproximadamente 100 a 500 mg/m^2 , para clorambucil en una dosis de aproximadamente 0.1 a 0.2 mg/kg , para camustina en una dosis de aproximadamente 150 a 200 mg/m^2 y para lomustina en una dosis de aproximadamente 100 a 150 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El derivado de antraciclina antitumoral se administra ventajosamente en una dosis de 10 a 75 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, por ejemplo de 15 a 60 mg/m^2 , particularmente para doxorubicina en una dosis de aproximadamente 40 a 75 mg/m^2 , para daunorubicina en una dosis de aproximadamente 25 a 45 mg/m^2 y para idarubicina en una dosis de aproximadamente 10 a 15 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El trastuzumab se administra ventajosamente en una dosis de 1 a 5 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de área de superficie corporal, particularmente de 2 a 4 mg/m^2 por curso de tratamiento.

El agente antiestrógeno se administra ventajosamente en una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg diarios dependiendo del agente particular y la condición que se esté tratando. El tamoxifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de 5 a 50 mg , preferiblemente de 10 a 20 mg dos veces por día, continuando la terapia durante un tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El toremifeno se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60

mg una vez al día, continuando la terapia durante un tiempo suficiente para lograr y mantener un efecto terapéutico. El anastrozol se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 1 mg una vez al día. El droloxifen se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 20-100 mg una vez al día. El raloxifen se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 60 mg una vez al día. El exemestano se administra ventajosamente por vía oral en una dosis de aproximadamente 25 mg una vez al día.

Estas dosis se pueden administrar por ejemplo una vez, dos veces o más por curso de tratamiento, que se puede repetir por ejemplo cada 7, 14, 21 ó 28 días.

En vista de sus propiedades farmacológicas útiles, los componentes de las combinaciones de conformidad con la invención, es decir, el otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC se pueden formular en varias formas farmacéuticas para propósitos de administración. Los componentes se pueden formular por separado en composiciones farmacéuticas individuales o en una composición farmacéutica unitaria que contenga ambos componentes.

Por lo tanto, la presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende el otro agente medicinal y el inhibidor de HDAC junto con uno o más vehículos farmacéuticos.

La presente invención también se refiere a una combinación de acuerdo con la invención en forma de una composición farmacéutica que comprende un agente anticanceroso y un inhibidor de HDAC de conformidad

con la invención junto con uno o más vehículos farmacéuticos.

La presente invención se refiere además al uso de una combinación de conformidad con la invención en la fabricación de una composición farmacéutica para inhibir el crecimiento de células tumorales.

5 La presente invención se refiere además a un producto que contiene como primer ingrediente activo un inhibidor de HDAC de acuerdo con la invención y un segundo ingrediente activo como un agente anticanceroso, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de pacientes que padecen cáncer.

10

Parte experimental

Los siguientes ejemplos se proveen para propósitos de ilustración.

"BSA" significa albúmina de suero de bovino, "DCM" significa
15 diclorometano, "DIEA" significa diisopropiletilamina, "DMF" significa dimetilformamida, "DMSO" significa sulfóxido de dimetilo, "EtOAc" significa acetato de etilo, "Fmoc" significa fluorenilmetoxycarbonilo, "Hepes" significa ácido 4-(-2-hidroxietil)-1-piperazin-etansulfónico, "HOBT" significa 1-hidroxi-1H-benzotriazol, "MeOH" significa metanol, "PyBop" significa hexafluorofosfato
20 de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfonio, "PyBrOP" significa hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio, "TEA" significa trietilamina, "TFA" significa ácido trifluoroacético, "THF" significa tetrahidrofurano, Extrelut™ es un producto de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania, y es una

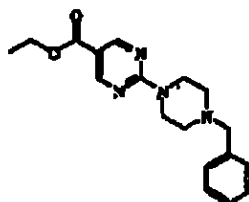
columna de cadena corta que comprende tierra diatomácea.

A. Preparación de los intermediarios

EJEMPLO A1

5

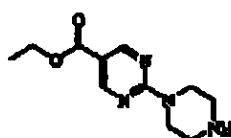
a) Preparación de



10

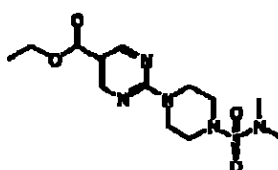
intermediario 1

Se agregó una solución de 1-(fenilmetil)-piperazina (0.068 moles) en acetonitrilo p.a. (135 ml) gradualmente a una solución de carbonato de potasio (0.18 moles) y ácido 2-(metilsulfonil)-5-pirimidincarboxílico, éster etílico (0.082 moles) en acetonitrilo p.a. (135 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 45 minutos a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se dejó en reposo durante la noche. Se agregó DCM (400 ml). Se agregó agua (300 ml) y la capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y el solvente se evaporó. El residuo (28 g) se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: DCM/MeOH 95/5). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó. El residuo se cristalizó a partir de acetonitrilo, se filtró y se secó al vacío, produciendo 15,1 g del intermediario 1.

b) Preparación de**Intermediario 2**

5 Se hidrogenó una mezcla del intermediario 1 (0.03 moles) en ETOH (250 ml) a 50°C con 10% de Pd/C (2 g) como catalizador. Después de la absorción de H₂ (1 equiv), el catalizador se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: DCM/(MeOH/NH₃) 90/10). Se recogieron las fracciones de producto y el

10 solvente se evaporó, produciendo 6.8 g (>96%) del intermediario 2.

c) Preparación de**Intermediario 3**

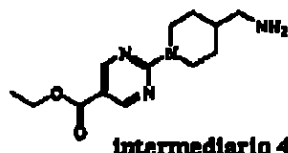
15 Se agregó una solución de cloruro de dimetil-sulfamiloilo (0.0015 moles) en DCM (LML) a 5°C a una mezcla del intermediario 2 (0.0012 moles) y TEA (0.0017 moles) en DCM (LML) bajo flujo de N₂. La mezcla se agitó a

20 temperatura ambiente durante 18 horas. Se agregó carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró, y el solvente se evaporó hasta sequedad. El residuo (0.69 g) se recogió en éter dietílico. El precipitado se filtró y se secó, produciendo

0.64 g (73%) del intermediario 3, punto de fusión 193°C.

EJEMPLO A2

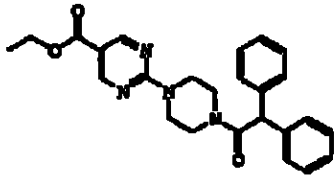
5 Preparación de



Se agregó gota a gota una solución de éster etílico de ácido 2-
10 (metilsulfonil)-5-pirimidincarboxílico (0.0434 moles) en acetonitrilo (100 ml) a
10°C a una solución de 4-piperidinmetanamina (0.0868 moles) y carbonato de
potasio (0.0434 moles) en acetonitrilo (200 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla se
agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se vació en agua con hielo y se
extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró, y el
15 solvente se evaporó. El residuo (14.18 g) se purificó por cromatografía en
columna sobre gel de sílice (20–45 µm) (eluyente: DCM/MeOH/NH₄OH 90/10/1
a 80/20/2). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó,
produciendo 3.7 g (32%) del intermediario 4.

EJEMPL A3**a) Preparación de**

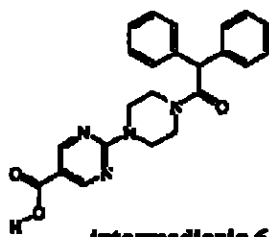
5

**intermediario 5**

Se agitó una mezcla del intermediario 2 (0.0002 moles), cloruro de α -fenil-benceneacetilo (0.0003 moles) y morfolinometil-PS-depurador (Proveedor: Novabiochem, Cat No 01-64-0171: morfolinometilpoliestireno HL (malla 200-400), 2% divinilbenceno) (0.150 g) en DCM (5 ml) a temperatura ambiente durante 20 horas, después se agregó tris(2-aminoetil)amine-PS-depurador (Proveedor: Novabiochem, Cat. No 01-64-0170: tris-(2-aminometil)-amino-poliestireno HL (malla 200-400), divinilbenceno al 1%) (0.150 g) y la mezcla de reacción se agitó durante otras 4 horas. Los depuradores se filtraron, se lavaron con DCM y el solvente se evaporó, produciendo el intermediario 5.

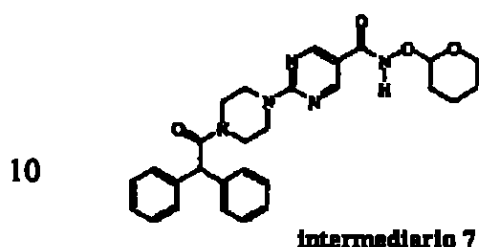
b) Preparación de

20

**intermediario 6**

Se agitó una mezcla del intermediario 5 (0.0003 moles) en hidróxido de sodio 1N (1.5 ml), THF (4 ml) y MeOH (1 ml) a temperatura ambiente durante 3 días, después la mezcla de reacción se neutralizó con HCl (1.5 ml, 1N). La mezcla se filtró a través de Extrelut™ NT (proveedor: Merck) y se secó bajo flujo de N₂, produciendo el intermediario 6.

c) Preparación de



Se agitó una mezcla del intermediario 6 (0.0003 moles), HOBT-6-carboxamidometil-PS-depurador (0.200 g; Novabiochem Cat. No. 01-64-0425) y *N,N*-dimetil-4-piridinamina (0.00015 moles) en DCM/DMF (5 ml) a temperatura ambiente durante 15 minutos, después se agregó *N,N*-metanotetraibis-2-propanamina (0.070 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. La resina se lavó 3 veces con DCM, 3 veces con DMF y nuevamente 3 veces con DCM y 3 veces con DMF, finalmente 6 veces con DCM. Una solución de *O*-(tetrahidro-2*H*-piran-2-il)-hidroxilamina (0.00026 moles) en DCM (5 ml) se agregó y la mezcla de reacción se agitó durante 20 horas, después metilisocianato enlazado a PS (proveedor: Novabiochem, Cat No 01-64-0289: metilisotiocianato-poliestireno HL (malla 200-400), divinilbenceno al 2%) (0.150 g) se agregó y la mezcla se agitó durante 4

horas. Los depuradores se filtraron, se lavaron 2 veces con DCM y el filtrado se usó, produciendo el intermediario 7.

B. Preparación de los compuestos finales

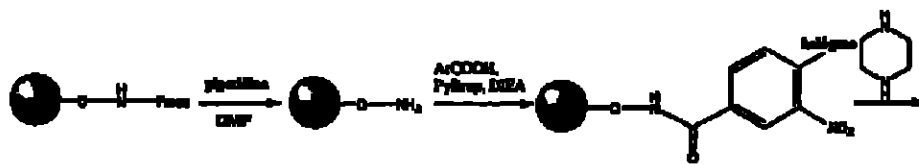
5

EJEMPLO B1

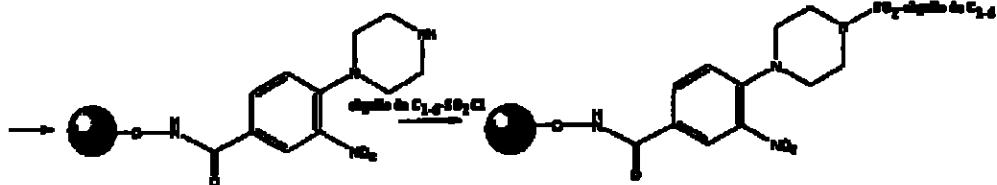
Se desprotegió resina de N-Fmoc-hidroxilamina-2-clorotritilo (Novabiochem, 01-64-0165) por piperidina al 50% en DMF (temperatura ambiente, 24 hr). La resina se lavó varias veces con DCM y DMF y se hinchó en DMF. Dos equivalentes de ácido¹, PyBrOP y 4 equivalentes de DIEA se agregaron como una porción. La mezcla se agitó durante 24 hr, el líquido se drenó y la resina se lavó varias veces por DCM y DMF. La resina se hinchó en DMF que contenía 2 equivalentes de amina, se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente, y el líquido se drenó y la resina se lavó por DCM y DMF. Se agregó cloruro de sulfonilo (2 eq.) como una porción a la resina hinchada en DMF con 4 equivalentes de TEA. La reacción se agitó durante la noche, se drenó y la resina se lavó por DCM y DMF. El producto final se separó por TFA al 5% en DCM, se analizó por CLAR y EM y se evaporó en los tubos pre-pesados.

¹Basado en la carga de la resina.

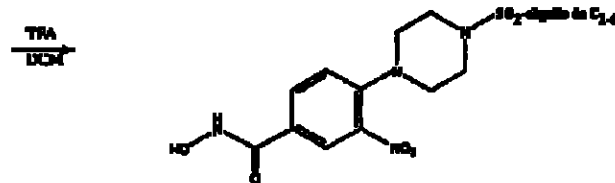
Para propósitos ilustrativos, se incluye el siguiente esquema.



5



10



EJEMPLO B2

Se desprotegió resina de N-Fmoc-hidroxilamina-2-clorotritilo (Novabiochem, 01-64-0165) por piperidina al 50% en DMF (temperatura ambiente, 24 hr)¹. La resina se lavó² varias veces con DCM y DMF y se hinchó en DMF. Dos equivalentes de ácido³, PyBrOP⁴ y 4 equivalentes de DIEA se agregaron como una porción. La mezcla se agitó durante 24 hr, el líquido se drenó y la resina se lavó varias veces por DCM y DMF. La resina se hinchó en DMF que contenía 2 equivalentes de amina, se agitó durante 24 hr a temperatura ambiente, y el líquido se drenó y la resina se lavó por DCM y DMF. El producto final se separó por TFA al 5% en DCM, se analizó por CLAR

y EM y se evaporó en los tubos pre-pesados.

¹. En un ejemplo, se usó el compuesto 1, resina de carboximetanotiol-4-metoxitritilo (Novabiochem, 01-64-0238).

². En un caso, también se usó MeOH en los diferentes
5 procedimientos de lavado, compuesto 1.

³. Con base en la carga de la resina.

⁴. En un caso, PyBrOP fue reemplazado por PyBOP, compuesto
1.

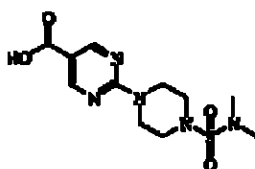
10

EJEMPLO B3

Se desprotegió resina de N-Fmoc-hidroxilamina-2-clorotritilo (Novabiochem, 01-64-0165) fue desprotegida por piperidina al 50% en DMF (temperatura ambiente, 24 hr)¹. La resina se lavó² varias veces en DCM y
15 DMF y se hinchó en DMF. Dos equivalentes de ácido³, PyBrOP⁴ y 4 equivalentes de DIEA se agregaron como una porción. La mezcla se agitó durante 24 hr, el líquido se drenó y la resina se lavó varias veces en DCM y DMF. La resina se hinchó en DMF que contenía 2 equivalentes de amina, se agitó durante 24 hr a temperatura ambiente, el líquido se drenó y la resina se
20 lavó por DCM y DMF. Tres equivalentes de ácido, DIC y DIEA se agitaron con resina durante la noche a temperatura ambiente. La resina se drenó y se lavó por DCM y DMF. El producto final se separó por TFA al 5% en DCM, se analizó por CLAR y EM y se evaporó en los tubos pre-pesados.

EJEMPLO B4**a) Preparación de**

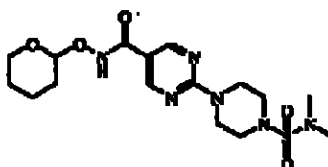
5

**sal de sodio
intermediario 8**

Se agitó una mezcla del intermediario 3 (0.0016 moles) e
 10 hidróxido de sodio (0.0033 moles) en EtOH (6 ml) y se puso a reflujo durante 2
 horas, después se enfrió a temperatura ambiente. El precipitado se filtró, se
 lavó con EtOH y se secó, produciendo 0.59 g (>100%) del intermediario 8. Na.

b) Preparación de

15

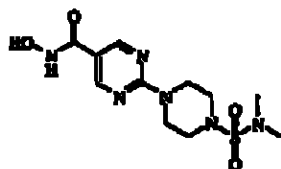
**intermediario 9**

Se agregó monoclóhidrato de *N*-(etilcarbonimidil)-*N,N*-dimetil-
 1,3-propanodiamina (0.0021 moles) en porciones a una mezcla del
 20 intermediario 8. Na (0.0016 moles), *O*-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)- hidroxilamina
 (0.0021 moles) y 1-hidroxi-1*H*-benzotriazol (0.0021 moles) en DCM/THF (10
 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante un fin
 de semana. Se agregó carbonato de potasio al 10%. La mezcla se extrajo con

DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró, y el solvente se evaporó hasta sequedad. El residuo (0.94 g) se purificó por cromatografía en columna sobre cromasil (eluyente: DCM/MeOH/ NH_4OH 97/3/0.1; 15-40 μm). Las fracciones puras se recogieron y el solvente se evaporó. El residuo (0.45 g, 65%) se recogió en éter dietílico. El precipitado se filtró y se secó, produciendo 0.422 g (61%) del intermediario 9, punto de fusión 183°C .

c) Preparación de

10



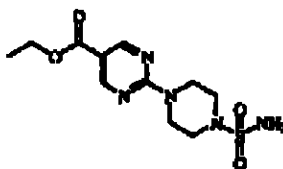
compuesto 2

Se agregó ácido trifluoroacético (0.5 moles) a una mezcla del intermediario 9 (0.0009 moles) en MeOH (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El precipitado se filtró, se lavó con DCM y se secó, produciendo 0.176 g (59%) de compuesto 2, punto de fusión $>260^\circ\text{C}$.

EJEMPLO B5

20

Preparación de

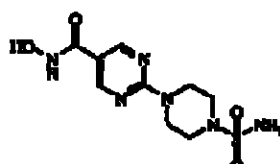


intermediario 10

Se agitó una mezcla del intermediario 2 (0.0019 moles) y sulfamida (0.0021 moles) en 1,2-dimetoxi-etano (5 ml) y se puso a reflujo durante 4 días. Se agregó agua. La mezcla se filtró y se secó, produciendo
5 0.51 g (83%) del intermediario 10, punto de fusión 192°C.

El Intermediario 10 se manipuló análogamente como se describe en el ejemplo [B4] para dar 0.034 g (13%) de compuesto 3, punto de fusión 212°C.

10

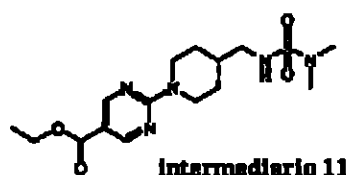


compuesto 3

EJEMPLO B6

15

Preparación de

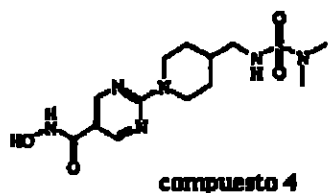


intermediario 11

Se agregó una solución de cloruro de dimetil-sulfamoilo (0.007
20 moles) en DCM (5 ml) a 10°C a una solución del intermediario 4 (0.0057 moles) y TEA (0.0085 moles) en DCM (5 ml) bajo flujo de N₂. La mezcla se agitó durante la noche, se vació en agua con hielo y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró, y el solvente se evaporó.

El residuo se cristalizó a partir de CH_3CN /éter dietílico. El precipitado se filtró y se secó, produciendo 0.492 g (24%) del intermediario 11, punto de fusión 142°C .

El Intermediario 11 se manipuló análogamente como se describe en el ejemplo [B4] para dar 0.7 g (85%) de compuesto 4, punto de fusión 182°C .

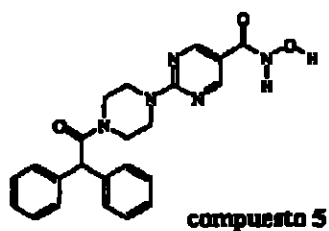


10

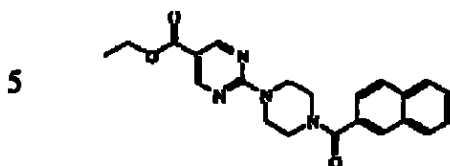
EJEMPLO B7

Preparación de

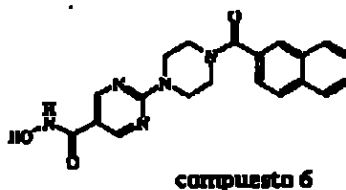
15



Se agitó una mezcla del intermediario 7 (0.0003 moles) en ácido acético, ácido trifluoroacético (5 ml, 5% en MeOH) a temperatura ambiente durante 20 horas, después la mezcla de reacción se secó por soplado, produciendo el compuesto 5.

EJEMPL B8**Preparación de****intermediario 12**

- Se agitó una mezcla del intermediario 2 (0.0025 moles), cloruro de 2-naftalencarbonilo (0.003 moles) y carbonato de potasio (0.005 moles) en acetoniitrilo (20 ml) y se puso a refluxo durante la noche, después se enfrió a temperatura ambiente, se vació en agua con hielo y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró, y el solvente se evaporó. El residuo se cristalizó a partir de éter dietílico. El precipitado se filtró y se secó, produciendo 0.97 g (100%) del intermediario 12, punto de fusión 140°C.
- 15 El intermediario 12 se manipuló análogamente como se describe en el ejemplo [B4] para dar 0.338 g (86%) de compuesto 6, punto de fusión 130°C.



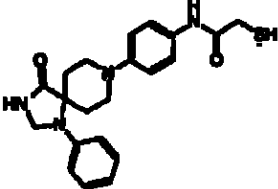
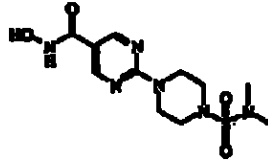
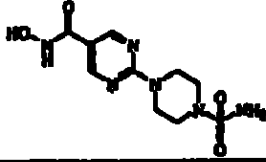
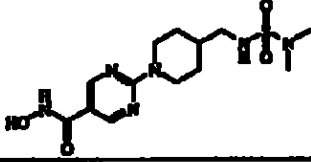
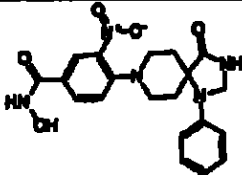
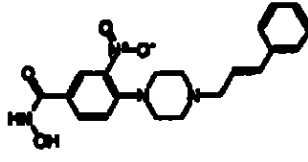
- 20 El TABLA F-1 presenta una lista de los compuestos que se prepararon de conformidad con uno de los ejemplos anteriores. Las siguientes abreviaturas se usaron en los cuadros. Comp. No. representa el número de compuesto, Ej. [Bn°] se refiere al mismo método que se describe en los

ejemplos Bn°, C₂HF₃O₂ representa la sal de trifluoroacetato. Algunos compuestos se han caracterizado mediante el punto de fusión (p.f.), otros compuestos se caracterizaron por datos de espectro de masa [MH⁺] (em.).

5

10

15

	
C ₂ HF ₃ O ₂ (1:1), Co. No. 1; E [B2]	Co. No. 2; Ex. [B4]; pf. >260 °C
	
Co. No. 3; E . [B5]; pf 212 °C	Co. No. 4; E . [B6]; pf 182 °C
	
.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:2), Co. No.7; E . [B2]; em 412	.C ₂ HF ₃ O ₂ (1:2), Co. No.8; E [B2]; em 383

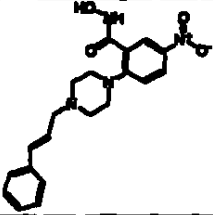
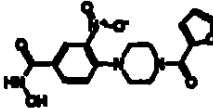
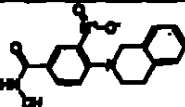
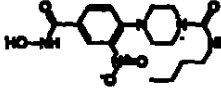
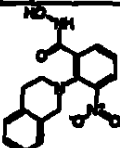
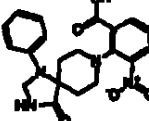
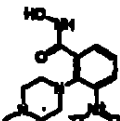
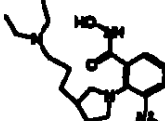
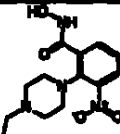
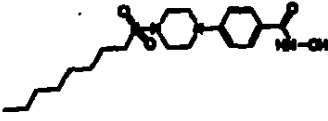
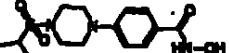
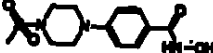
20

5

10

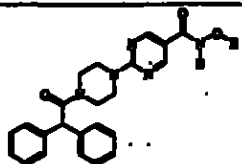
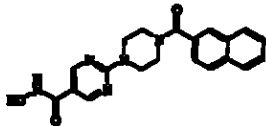
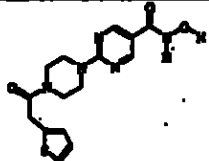
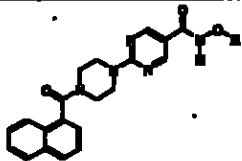
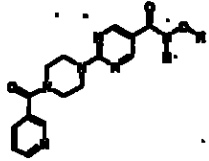
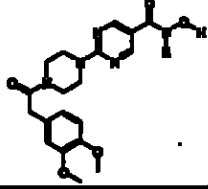
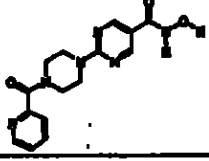
15

20

	
$C_2HF_3O_2$ (1:2), Co. No.9; E . [B2]; em 383	$C_2HF_3O_2$ (1:1), Co. No.10; E. . [B2]; em 361
	
$C_2HF_3O_2$ (1:1), Co. No.11; E . [B2]; em 314	$C_2HF_3O_2$ (1:1), Co. No.12; E . [B3]; em 366
	
$C_2HF_3O_2$ (1:1), Co. No.13; E . [B2]; em 314	$C_2HF_3O_2$ (1:1), Co. No.14; E . [B2]; em 412
	
$C_2HF_3O_2$ (1:2), Co. No.15; E . [B2]; em 281	$C_2HF_3O_2$ (1:2), Co. No.16; E . [B2]; em 365
	
$C_2HF_3O_2$ (1:2), Co. No.17; E . [B2]; em 293	Co. No.18; E . [B1]; em 398
	
Co. No.19; E... [B1]; em 328	Co. No.20; Ex. [B1]; em 300
	
Co. No.21; Ex. [B1]; em 329	Co. No.22; Ex. [B1]; em 354

5

10

	
Co. No.5; E . [B7];em 418	Co. No.6; E . [B8]; pf . 130 °C
	
Co. No.23; E . [B7];em 348	Co. No.24; E . [B7];em 378
	
Co. No.25; E . [B7]; s . 329	Co. No.26; E . [B7];em 402
	
Co. No.27; E . [B7]; s . 329	

C. Ejemplo farmacológico

15

La prueba *in vitro* para Inhibición de histona desacetilasa (véase ejemplo C.1) mide la inhibición de actividad enzimática de HDAC obtenida con los compuestos de la fórmula (I).

20

La actividad celular de los compuestos de la fórmula (I) se determinó sobre células tumorales A2780 usando una prueba colorimétrica para toxicidad o supervivencia de células (Mosmann Tim, Journal of Immunological Methods 65: 55-63, 1983) (véase ejemplo C.2).

La solubilidad cinética en un medio acuoso mide la capacidad de un compuesto para permanecer en solución acuosa para dilución (véase

ejemplo C.3).

Soluciones de patrón de DMSO se diluyen con un solvente regulador de pH acuoso en 3 pasos consecutivos. Para cada dilución, la turbidez se mide con un nefelómetro.

- 5 La permeabilidad de un fármaco expresa su capacidad para moverse de un medio a otro o a través de otro. Específicamente, su capacidad para moverse a través de la membrana intestinal hacia el torrente sanguíneo y/o del torrente sanguíneo al objetivo. La permeabilidad (véase ejemplo C.4) se puede medir a través de la formación de una bicapa de fosfolípido de
- 10 membrana artificial inmovilizada por filtro. En la prueba de membrana artificial inmovilizada por filtro, se forma un "emparedado" con una placa de microtitulación de 96 receptáculos y una placa de filtro de 96 receptáculos, de tal manera que cada pozo mixto se divide en dos cámaras con una solución de donador en la parte inferior y una solución de aceptor en la parte superior,
- 15 separadas por un disco de microfiltro de 125 μm (poros de 0.45 μm), revestido con solución en dodecano al 2% (p/v) de dioleilfosfatidilcolina, bajo condiciones que forman las bicapas multilaminares dentro de los canales de filtro cuando el sistema hace contacto con una solución reguladora de pH acuosa. La permeabilidad de los compuestos a través de esta membrana
- 20 artificial se mide en cm/s . El propósito es buscar la penetración de los fármacos a través de una membrana artificial paralela en dos diferentes pH's: 4.0 y 7.4 La detección de compuesto se hace con espectrometría de UV a una longitud de onda óptima entre 250 y 500 nm.

El metabolismo de fármacos significa que un compuesto xenobiótico o endobiótico soluble en lípido es enzimáticamente transformado a (a) metabolito(s) polar, soluble en agua y excretable. El órgano principal para el metabolismo de fármaco es el hígado. Los productos metabólicos a menudo son menos activos que el fármaco original o inactivo. Sin embargo, algunos metabolitos pueden tener actividad incrementada o efectos tóxicos. Este metabolismo de fármacos puede incluir tanto el procedimiento de "destoxicación" como de "toxicación". Uno de los sistemas de enzimas importantes que determinan la capacidad del organismo para tratar con fármacos y compuestos químicos está representado por las citocromo P450 monooxigenasas, que son enzimas dependientes de NADPH. La estabilidad metabólica de los compuestos se puede determinar *in vitro* con el uso de tejido humano subcelular (véase ejemplo C.5). Aquí la estabilidad metabólica de los compuestos se expresa como % de fármaco metabolizado después de 15 minutos de incubación de estos compuestos con microsomas. La cuantificación de los compuestos se determinó por análisis de CL-EM.

El supresor tumoral activa p53 transcripcionalmente un número de genes incluido el gen WAF1/CIP1 en respuesta a daño del ADN. El producto de 21 kDa del gen WAF1 se encuentra en un complejo que incluye ciclinas, cinasas dependientes de ciclina (CDKs) y antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA) en células normales pero no células transformadas y parece ser un inhibidor universal de actividad de CDK. Una consecuencia de unión de p21WAF1 a y que inhibe CDK es prevenir la fosforilación

dependiente de CDK y la inactivación subsecuente de la proteína Rb, que es esencial para la progresión del ciclo celular. La inducción de p21WAF1 en respuesta a contacto celular con un inhibidor de HDAC es por lo tanto un indicador potente y específico de inhibición de progresión de ciclo celular en

5 los puntos de verificación de G1 y G2.

La capacidad de los compuestos para inducir p21WAF1 se midió con la prueba inmunoabsorbente ligada a enzima p21WAF1 (WAF1 ELISA de Oncogen). La prueba de p21WAF1 es un inmunoensayo de enzimas "emparedadas" que emplea anticuerpos monoclonales de ratón y policlonales

10 de conejo. Un anticuerpo policlonal de conejo para la proteína WAF1 humana, ha sido inmovilizado sobre la superficie de los receptáculos de plástico provistos en el equipo. Cualquier p21WAF presente en la muestra que se ha de someter a prueba se unirá al anticuerpo de captura. El anticuerpo monoclonal detector biotilnado también reconoce proteína p21WAF1 humana,

15 y se unirá a cualquier p21WAF1, que ha sido retenido por el anticuerpo de captura. El anticuerpo detector, a su vez, es enlazado por estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante. La peroxidasa de rábano picante cataliza la conversión del sustrato cromogénico tetra-metilbenzidina de una solución incolora a una solución azul (o amarilla) después de la adición de

20 reactivo de interrupción), cuya intensidad es proporcional a la cantidad de proteína p21WAF1 unida a la placa. El producto de reacción de color se cuantifica usando un espectrofotómetro. La cuantificación se logra mediante la construcción de una curva estándar usando concentraciones conocidas de

p21WAF1 (que se proveen liofilizadas) (véase ejemplo C.6).

EJEMPLO C.1

Prueba *in vitro* para la inhibición de histona desacetilasa

5 Se incubaron los extractos nucleares de HeLa (supplier. Biomol) a 60 µg/ml con 1×10^{-8} M de sustrato de péptido radiomarcado. Como un sustrato para medir la actividad de HDAC se usó un péptido sintético, es decir, los aminoácidos 14-21 de la histona H4. El sustrato se biotilinoó en la parte NH₂-terminal con un separador de ácido 6-aminohexanoico, y es protegido en
10 la parte COOH-terminal por un grupo amida y específicamente [³H]acetilado en la lisina 16. El sustrato, biotin-(6-aminohexanoico)Gly-Ala-([³H]-acetil-Lys-Arg-His-Arg-Lys-Val-NH₂), se agregó en un regulador de pH que contenía 25 mM de Hepes. 1 M de sucrosa, 0.1 mg/ml de BSA y 0.01% de Triton X-100 a pH 7.4. Después de 30 min. la reacción de desacetilación se terminó mediante
15 la adición de HCl y ácido acético (concentración final 0.035 mM y 3.8 mM respectivamente). Luego de interrumpir la reacción, el ³H-acetato libre se extrajo con acetato de etilo. Luego de mezclarse y centrifugarse, la radioactividad en una alícuota de la fase superior (orgánica) se contó en un contadorβ.

20 Para cada experimento, los controles (que contenían extracto nuclear HeLa y DMSO sin compuesto), una incubación de blanco (que contenía DMSO pero no contenía extracto nuclear HeLa o compuesto) y las muestras (que contenían compuesto disuelto en DMSO y extracto nuclear

HeLa) se hicieron en paralelo. En el primer caso, los compuestos se probaron a una concentración de 10^{-5} M. Cuando los compuestos mostraron actividad a 10^{-5} M, se hizo una curva de concentración-respuesta en donde los compuestos se probaron a concentraciones entre 10^{-5} M y 10^{-12} M. En cada prueba, el valor blanco se restó tanto del control como de los valores de la muestra. La muestra de control representó 100% de desacetilación de sustrato. Para cada muestra la radioactividad se expresó como % del valor promedio de los controles. Cuando los valores de CI_{50} apropiados (concentración del fármaco necesaria para reducir la cantidad de metabolitos a 50% del control) se calcularon usando análisis de probabilidad para datos graduados. Aquí los efectos de los compuestos de prueba se expresan como pCI_{50} (el valor de logaritmo negativo del valor de CI_{50}). Todos los compuestos probados mostraron actividad enzimática a una concentración de prueba de 10^{-5} M y 21 compuestos tuvieron una $pCI_{50} \geq 5$ (véase TABLA F-2).

15

EJEMPLO C.2

Determinación de actividad antiproliferativa sobre células A2780

Se disolvieron todos los compuestos probados en DMSO y se hicieron diluciones adicionales en medio de cultivo. Las concentraciones finales de DMSO nunca excedieron de 0,1% (v/v) en pruebas de proliferación de células. Los controles contenían células A2780 y DMSO sin compuesto y los blancos contenían DMSO pero sin células. Se disolvió MTT a 5 mg/ml en

20

PBS. Un regulador de pH de glicina compuesto de 0,1 M glicina y 0,1 M de NaCl regulado en su pH a 10.5 con NaOH (1N) se preparó (todos los reactivos fueron de Merck).

Las células de carcinoma de ovario A2780 humanas (cortesía de Dr. T.C. Hamilton [Fox Chase Cancer Centre, Pennsylvania, E.U.A.]) se cultivaron en medio RPMI 1640 complementado con 2 mM de L-glutamina, 50 µg/ml de gentamicina y 10% de suero de ternera fetal. Las células se mantuvieron rutinariamente como cultivos de monocapa a 37°C en atmósfera de 5% de CO₂ humidificada. Las células se hicieron pasar una vez a la semana usando una solución de tripsina/EDTA a una relación de ebullición de 1:40. Todos los medios y complementos se obtuvieron de Life Technologies. Las células estuvieron libres de contaminación por micoplasma tal como se determinó usando el equipo de cultivo de tejido de micoplasma Gen-Probe (proveedor: BioMérieux).

Las células se sembraron en placas de cultivo de 96 receptáculos NUNC™ (proveedor: Life Technologies) y se dejaron adherir al plástico durante la noche. Las densidades usadas para las placas fueron de 1,500 células por pozo en un volumen total de 200 µl de medio. Luego de la adhesión de células a las placas, el medio se cambió y se agregaron fármacos y/o solventes a un volumen final de 200 µl. Luego de cuatro días de incubación, el medio se reemplazó por 200 µl de medio fresco y la densidad y viabilidad de las células se probaron usando una prueba basada en MTT. A cada pozo, se agregó 25 µl de solución de MTT y las células después se

incubaron durante 2 horas a 37°C. Luego el medio se activó cuidadosamente y el producto de MTT-formazan azul se solubilizó mediante la adición de 25 µl de regulador de pH de glicina seguido por 100 µl de DMSO. Las placas de microprueba se agitaron durante 10 min. en un agitador de microplacas y la
5 absorbancia a 540 nm se midió usando un espectrofotómetro de 96 receptáculos Emax (proveedor: Sopachem).

En un experimento, los resultados para cada condición experimental son la media de 3 receptáculos replicados. Para propósitos de selección iniciales, los compuestos se probaron a una sola concentración fija
10 de 10^{-6} M. Para los compuestos activos, los experimentos se repitieron para establecer curvas de concentración-respuesta completa. Para cada experimento, los controles (que no contenían fármaco) y una incubación de blanco (que no contenían células o fármacos) se llevaron a cabo en paralelo. El valor del blanco se restó de los valores del control y la muestra. Para cada
15 muestra, el valor de la media para el crecimiento de las células (en unidades de absorbancia) se expresó como un porcentaje del valor de la media para el crecimiento de las células del control. Cuando fue apropiado, los valores de CI_{50} (concentración del fármaco, necesaria para reducir el crecimiento celular a 50% del control) se calcularon usando análisis de probabilidad para datos
20 graduados (Finney, D.J., Probit Analyses, 2^a ed., capítulo 10. Graded Responses, Cambridge University Press. Cambridge 1962). Aquí, los efectos de los compuestos de prueba se expresan como pCI_{50} (el valor del logaritmo negativo del valor de CI_{50}). La mayoría de los compuestos probados

mostraron actividad celular a una concentración de 10^{-6} M y 9 compuestos tuvieron un $pCl_{50} \geq 5$ (véase TABLA F-2).

EJEMPLO C.3

5

Solubilidad cinética en medio acuoso

En el primer medio de dilución se agrogó 10 μ l de una solución de patrón concentrada del compuesto activo, solubilizada en DMSO (5 mM) a 100 μ l de regulador de pH de citrato de fosfato pH 7.4 y se mezcló. En el

10 segundo paso de dilución, una alícuota (20 μ l) del primer paso de dilución se suministró adicionalmente en 100 μ l de regulador de pH de citrato de fosfato pH 7.4 y se mezcló. Finalmente, en el tercer paso de dilución, una muestra (20 μ l) del segundo paso de dilución se diluyó adicionalmente en 100 μ l de regulador de pH de citrato de fosfato pH 7.4 y se mezcló. Todas las diluciones

15 se realizaron en placas de 96 receptáculos. Inmediatamente después del último paso de dilución, la turbidez de los tres pasos de dilución consecutivos se midió con un nefelómetro. La dilución se hizo por triplicado para que cada compuesto excluyera errores ocasionales. Con base en las mediciones de turbidez, se realizó una categorización en tres clases. Los compuestos con

20 alta solubilidad obtuvieron una puntuación de 3 y para este compuesto la primera dilución es clara. Los compuestos con solubilidad media obtuvieron una puntuación de 2. Para estos compuestos, la primera dilución no es clara y la segunda dilución es clara. Los compuestos con baja solubilidad obtuvieron

una puntuación de 1 y para estos compuestos tanto la primera como la segunda diluciones no son claras. La solubilidad de 9 compuestos se midió. De estos compuestos, 7 mostraron una puntuación de 3, y 2 demostraron una puntuación de 1 (véase TABLA F-2).

5

EJEMPLO C.4

Análisis de permeabilidad de membrana artificial

Las muestras de patrón (alícuotas de 10 µl de una solución de patrón de 5 mM en 100% de DMSO) se diluyeron en una placa de pozo profundo o de premezcla que contenía 2 ml de un sistema regulador de pH acuoso pH 4 o pH 7.4 (concentrado de solución del sistema (pION)).

Antes de que las muestras se agregaran a la placa de referencia, 150 µl de regulador de pH se agregó a los receptáculos y se realizó una medición de UV de blanco. Posteriormente, el regulador de pH se desechó y la placa se usó como placa de referencia. Todas las mediciones se hicieron en placas resistentes a UV (proveedor: Costar o Greiner).

Luego de la medición de blanco de la placa de referencia, 150 µl de las muestras diluidas se agregó a la placa de referencia y 200 µl de las muestras diluidas se agregó a la placa e donador 1. Se revistió una placa de filtro de aceptor 1 (proveedor: Millipore, tipo:MAIP N45) con 4 µl de la solución promotora de membrana artificial (1,2-dioleoil-sn-Glycer-3-fosfocolina en dodecano que contenía 0.1% de 2,6-di-*ter*-butil-4-metilfenol y se colocó sobre

la parte superior de la placa de donador 1 para formar un "emparedado". El regulador de pH (200 µl) se suministró a los receptáculos de aceptor sobre la parte superior. El emparedado se cubrió con una tapa y se almacenó durante 18 horas a temperatura ambiente en la oscuridad.

5 Se hizo una medición de blanco de placa de aceptor 2 mediante la adición de 150 µl de regulador de pH a los receptáculos, seguida por medición de UV. Después de la medición de blanco de la placa de aceptor 2, el regulador de pH se desechó y 150 µl de solución de aceptor se transfirió de la placa de filtro de aceptor 1 a la placa de aceptor 2. Luego la placa de filtro
10 de aceptor 1 se removió del emparedado. Luego de la medición de blanco de la placa de donador 2 (véase lo anterior), 150 µl de la solución de donador se transfirió de la placa de donador 1 a la placa del donador 2. El espectro de UV de los receptáculos de placa de donador 2, placa de aceptor 2 y placa de referencia se escudriñaron (con un SpectraMAX 190). Todos los espectros se
15 procesaron para calcular permeabilidad con software PSR4p Command. Todos los compuestos se midieron por triplicado. Como estándares en cada experimento, se usaron carbamazepina, griseofulvin, acicloguanisina, atenolol, furosemida y clorotiazida. Los compuestos se categorizaron en 3 categorías que tenían baja permeabilidad (media del efecto $<0.5 \times 10^{-6}$ cm/s; puntuación
20 1), una permeabilidad media (1×10^{-6} cm/s $>$ media del efecto $\geq 0.5 \times 10^{-6}$ cm/s; puntuación 2) o una permeabilidad alta ($\geq 0.5 \times 10^{-6}$ cm/s; puntuación 3). Dos compuestos mostraron una puntuación de 1 a los pH's medidos.

EJEMPLO C.5**Estabilidad metabólica**

5 Se hicieron preparaciones de tejidos subcelulares de acuerdo con Gorrod y otros (Xenobiotica 5: 453-462, 1975) por preparación mediante centrífuga después de homogeneización mecánica de tejido. El tejido hepático se enjuagó en regulador de pH de 0.1 M de Tris-HCl enfriado con hielo (pH 7.4) para lavar el exceso de sangre. El tejido se secó, se pesó y se trituró en
10 fragmentos grandes usando tijeras de cirugía. Las piezas de tejido se homogeneizaron en 3 volúmenes de regulador de pH de fosfato 0.1 M enfriado con hielo (pH 7.4) usando ya sea un Potter-S (Braun, Italia) equipado con un pistilo de teflón o un homogeneizador Sorvall Omni-Mix, durante 7 x 10 seg. En ambos casos, el recipiente se mantuvo en/sobre hielo durante el
15 procedimiento de homogeneización.

Los homogenados de tejido se centrifugaron a 9000 x g durante 20 minutos a 4°C usando una centrífuga Sorvall o ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante se almacenó a -80°C y se designó "S9".

La fracción S9 se puede centrifugar adicionalmente a 100,000 x
20 g durante 60 minutos (4°C) usando una ultracentrífuga Beckman. El sobrenadante resultante se aspiró cuidadosamente, se formó una alícuota con el mismo y se designó "citosol". La pastilla se volvió a resuspender en regulador de pH de fosfato 0.1 M (pH 7.4) en un volumen final de 1 ml por 0.5

g de peso de tejido original y se designó "microsomas".

Con todas las fracciones subcelulares se formaron alícuotas, inmediatamente se congelaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C hasta usarse.

5 Para las muestras que se iban a probar, la mezcla de incubación contenía PBS (0.1M), compuesto (5 μM), microsomas (1 mg/ml) y sistema generador de NADPH (glucosa-6-fosfato 0.8 mM, cloruro de magnesio 0.8 mM y 0.8 unidades de glucosa-6-fosfato de deshidrogenasa). Las muestras de control contenían el mismo material pero los microsomas fueron
10 reemplazados por microsomas inactivados con calor (10 min. a 95 grados centígrados). La recuperación de los compuestos en las muestras de control fue siempre del 100%.

Las mezclas se preincubaron durante 5 minutos a 37 grados centígrados. La reacción se inició en un punto de tiempo cero ($t = 0$) mediante
15 la adición de NADP 0.8 mM y las muestras se incubaron durante 15 min. ($t = 15$). La reacción se terminó con la adición de 2 volúmenes de DMSO. Después las muestras se centrifugaron durante 10 min. a $900 \times g$ y los sobrenadantes se almacenaron a temperatura ambiente durante no más de 24 horas antes del análisis. Todas las incubaciones se hicieron por duplicado. El
20 análisis de los sobrenadantes se realizó con análisis de CL-EM. La elución de las muestras se hizo en Xterra MS C18 (50 x 4.6 mm, 5 μm , Waters, E.U.A.). Se usó un sistema de CLAR Alliance 2790 (Supplier: Waters, E.U.A.). La elución fue con regulador de pH A (acetato de amonio 25 mM (pH 5.2) en

H₂O/acetonitrilo (95/5)), el solvente B siendo acetonitrilo y el solvente C metanol a una velocidad de flujo de 2.4 ml/min. El gradiente empleado fue incrementando la concentración de la fase orgánica de 0% hasta 50% de B y 50% de C en 5 minutos hasta 100% de B en 1 minutos de una manera lineal y la concentración de fase orgánica se mantuvo estacionaria durante 1.5 min. adicionales. El volumen total de inyección de las muestras fue de 25 µl.

Se usó un espectrómetro de masa de cuádrupolo triple (proveedor: Micromass, Manchester, R.U.) equipado con una fuente de ESI como detector. La fuente y la temperatura de desolvación se fijaron a 120 y 350°C, respectivamente, y se usó nitrógeno como nebulizador y gas de secado. Los datos se adquirieron en un modo de escudriñamiento positivo (reacción de ion individual). El voltaje del cono se fijó a 10 volts y el tiempo de residencia fue de 1 seg.

La estabilidad metabólica se expresó como % del metabolismo del compuesto luego de 15 minutos de incubación en presencia de microsomas activos (E (act)) (% de metabolismo = 100 %-

$$\left(\frac{\text{Corriente de iones total (TIC) de E(act) a } t = 15}{\text{TIC de E(act) a } t = 0} \right) \times 100.$$

Los compuestos que mostraron un porcentaje de metabolismo menor que 20% se definieron como de estabilidad metabólica alta. El compuesto que mostró un metabolismo entre 20 y 70% se definió como de estabilidad intermedia y los compuestos que mostraron un porcentaje de metabolismo

- mayor que 70 se definieron como de estabilidad metabólica baja. Siempre se incluyeron tres compuestos de referencia al comienzo cuando se hizo una selección de estabilidad metabólica. El verapamilo se incluyó como un compuesto de estabilidad metabólica baja (% de metabolismo = 73%). El
- 5 cisapride se incluyó como un compuesto de estabilidad metabólica media (% de metabolismo 45%) y propanol se incluyó como un compuesto de estabilidad metabólica intermedia a alta (25% de metabolismo). Estos compuestos de referencia se usaron para validar la prueba de estabilidad metabólica.
- 10 Se usó un compuesto de prueba y mostró un porcentaje de metabolismo menor que 20%.

EJEMPLO C.6

Capacidad de Inducción de p21

- 15 El siguiente protocolo se usó para determinar el nivel de expresión de proteína p21 en células de carcinoma de ovario A2780 humanas. Las células A2780 (20000 células/180 FL) se sembraron en placas de 96 microrreceptáculos en un medio RPMI 1640 complementado con L-glutamina
- 20 2 mM, 50 µg/ml de gentamicina y 10% de suero de ternera fetal. 24 horas antes de la lisis de las células, los compuestos se agregaron a concentraciones finales de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} . Todos los compuestos de prueba se disolvieron en DMSO y se hicieron diluciones adicionales en un

medio de cultivo. 24 horas después de la adición del compuesto, se retiraron los sobrenadantes de las células. Las células se lavaron con 200 µl de PBS enfriado con hielo. Las células se aspiraron y se agregaron 30 µl de regulador de pH de lisis (Tris.HCl 50 mM (pH 7.6), NaCl 150 mM, Nonidet p40 al 1% y glicerol al 10%). Las placas se incubaron durante la noche a -70°C.

El número apropiado de receptáculos de titulación se removió de la bolsa de lámina delgada y se colocó en un contenedor de pozo vacío. Se preparó una solución de trabajo (1x) del regulador de pH de lavado (concentrado de lavado de placa de 20x: 100 ml de solución concentrada 20 veces de PBS y agente tensoactivo, contiene cloroacetamida al 2%). El estándar de P21WAF liofilizado se reconstituyó con H₂O destilada y luego se diluyó con diluyente de muestra (provisto en el equipo).

Las muestras se prepararon diluyéndolas 1:4 en un diluyente de muestra. Las muestras (100 µl) y los estándares de p21WAF1 (100 µl) se aplicaron con pipeta a los receptáculos apropiados y se incubaron a temperatura ambiente durante 2 horas. Los receptáculos se lavaron 3 veces con regulador de pH de lavado 1x y después 100 µl de reactivo de anticuerpo detector (Una solución de anticuerpo P21WAF1 monoclonal biotinilado) se aplicó con pipeta en cada receptáculo. Los receptáculos se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora y después se lavaron tres veces con regulador de pH de lavado 1x. El conjugado de 400x (conjugado de peroxidasa-estreptavidina: solución concentrada 400 veces) se diluyó y 100 µl de la solución 1x se agregó a los receptáculos. Los receptáculos se incubaron

a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se lavaron 3 veces con regulador de lavado 1x y 1 vez con H₂O destilada. La solución del sustrato (sustrato cromogénico) (100 µl) se agregó a los receptáculos y los receptáculos se incubaron durante 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se agregó solución de interrupción a cada pozo en el mismo orden que la solución de sustrato que se agregó previamente. La absorbancia en cada pozo se midió usando un lector de placa espectrofotométrica a longitudes de onda dobles de 450/595 nm.

Para cada experimento, los controles (que no contenían fármaco) y una incubación de blanco (que no contenía células o fármaco) se llevaron a cabo en paralelo. El valor del blanco se restó de todos los valores de control y de muestra. Para cada muestra, el valor para la inducción de P21WAF1 (en unidades de absorbancia) se expresó como el porcentaje del valor para P21WAF1 presente en el control. El porcentaje de inducción mayor que 130 % se definió como inducción significativa. Tres compuestos se probaron en esta prueba. Dos mostraron inducción significativa.

TABLA F-2
La tabla F-2 presenta una lista de resultados de los compuestos que se probaron de acuerdo con el ejemplo C.1, C.2 y C.3

No. de compuesto	Actividad de la enzima pCl ₅₀	Actividad celular pCl ₅₀	Puntuación de solubilidad
8	>5		
7	>5		
9	>5		
10	>5		
11	>5		
12	>5		
1	>5	<5	1
18	6.173	6.166	1
5	7.096	6.181	

5

23	6.932	5.796	
24	7.073	6.084	
25	6.29	<5	
26	6.984	5.378	
27	6.433	<5	
6	7.104	5.828	3
19	5.536	<5	3
20	5.451	<5	
21	5.679	<5	3
22	5.599	5.297	3
2	6.515	5.534	3
3	6.881	<5	3
4	7.27	5.528	3

D. EJEMPLO DE COMPOSICION

10

Tabletas recubiertas con película

Preparación del núcleo de la tableta

Se mezcló bien una mezcla de 100 g de un compuesto de la fórmula (I), 570 g de lactosa y 200 g de almidón y posteriormente se humidificó con una solución de 5 g de dodecilsulfato de sodio y 10 g de polivinilpirrolidona en aproximadamente 200 ml de agua. La mezcla de polvo húmedo se tamizó, se secó y se tamizó de nuevo. Después se agragaron 100 g de celulosa microcristalina y 15 g de aceite vegetal hidrogenado. Se mezcló bien todo y se comprimió en tabletas, produciendo 10,000 tabletas, comprendiendo cada una 10 mg de un compuesto de la fórmula (I).

Recubrimiento

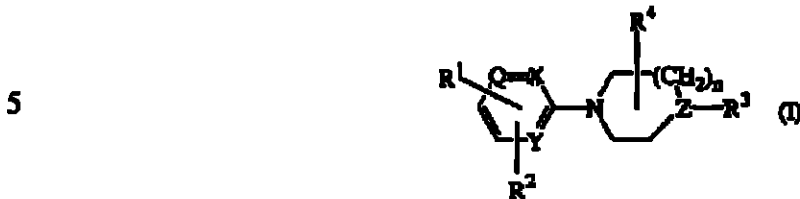
A una solución de 10 g de metilcelulosa en 75 ml de etanol desnaturalizado se agraga una solución de 5 g de etilcelulosa en 150 ml de diclorometano. Después se agregan 75 ml de diclorometano y 2.5 ml de 1,2,3-
5 propanotriol 10 g de polietilenglicol se deriten y se disuelven en 75 ml de diclorometano. La última solución se agrega a la primera y luego se agregan se agregan 2.5 g de octadecanoato de magnesio, 5 g de polivinilpirrolidona y 30 ml de suspensión de color concentrada y se homogeniza todo. Los núcleos de tableta se recubren con la mezcla así obtenida en un aparato de
10 recubrimiento. .

15

20

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de la fórmula (I)



formas de *N*-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y formas estereoquímicamente isoméricas de los mismos, en donde *n* es 0, 1, 2 ó 3 y cuando *n* es 0, entonces se pretende un enlace directo; cada *Q* es

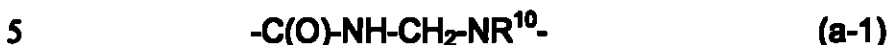
10 nitrógeno o ; cada *X* es nitrógeno o ; cada *Y* es nitrógeno o ; cada *Z* es nitrógeno o ; *R*¹ es -C(O)NR⁵R⁶, -N(H)C(O)R⁷, -C(O)-alcanodiilo de C₁₋₆SR⁷, -NR⁶C(O)N(OH)R⁷, -NR⁶C(O)-alcanodiilo de C₁₋₆SR⁷, -NR⁶C(O)C=N(OH)R⁷ u otro grupo quelante de Zn en donde R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxilo, alquilo de C₁₋₆,

15 hidroxilo-alquilo de C₁₋₆, amino-alquilo de C₁₋₆ o aminoarilo; R⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo de C₁₋₆, alquilcarbonilo de C₁₋₆, aril-alquilo de C₁₋₆, alquilpirazinilo de C₁₋₆, piridinona, pirrolidinona o metilimidazolilo; R⁸ se selecciona independientemente de hidrógeno o alquilo de C₁₋₆; R² es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, nitro, alquilo de C₁₋₆,

20 alquilo de C₁₋₆, trifluorometilo, di(alquilo de C₁₋₆)amino, hidroxiamino o naftalenilsulfonilpirazinilo; R³ es hidrógeno, alquilo de C₁₋₆, aril-alquenodiilo de C₂₋₆, furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, -C(O)feniloR⁹, alquilaminocarbonilo de C₁₋₆, aminosulfonilo, arilaminosulfonilo, aminosulfonilamino, di(alquilo de

C₁₋₆)aminosulfonilamino, arilaminosulfonilamino, aminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)aminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₆, arilaminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂, di(alquilo de C₁₋₆)aminosulfonilo, trihalógeno-
5 alquilsulfonilo de C₁₋₆, di(arilo)alquilcarbonilo de C₁₋₆, tiofenil-alquilcarbonilo de C₁₋₆, piridinilcarbonilo o aril-alquilcarbonilo de C₁₋₆, en donde cada R⁹ se selecciona independientemente de fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, amino, alquilo de C₁₋₆, alquiloxi de C₁₋₆, hidroxialquilo de C₁₋₄, hidroxialquiloxi de C₁₋₄,
10 amino-alquiloxi de C₁₋₄, di(alquilo de C₁₋₄)amino-alquiloxi de C₁₋₄, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, hidroxialquilpiperazinilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, alquilo xipiperidinilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, hidroxialquiloxi de C₁₋₄-alquilpiperazinilo de C₁₋₄, alquilpiperazinilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, di(hidroxialquilo de C₁₋₄)amino-alquilo de C₁₋₄, pirrolidinilo-alquiloxi de C₁₋₄, morfolinilo-alquiloxi de C₁₋₄ o morfolinilo-alquilo de C₁₋₄; tiofenilo; o tiofenilo sustituido con di(alquilo de C₁₋₄)amino-alquiloxi de C₁₋₄, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, pirrolidinilo-alquiloxi de C₁₋₄, alquilpiperazinilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, di(hidroxialquilo de C₁₋₄)amino-alquilo de C₁₋₄ o morfolinilalquiloxi de C₁₋₄; R⁴ hidrógeno, hidroxialquilo de C₁₋₆, alquilo de C₁₋₆, alquiloxi de C₁₋₆, aril-alquilo de C₁₋₆, aminocarbonilo, hidroxycarbonilo, amino-alquilo de C₁₋₆, aminocarbonilo-alquilo de C₁₋₆, hidroxycarbonilo-alquilo de C₁₋₆,
20

hidroxiaminocarbonilo, alquiloxicarbonilo de C₁₋₈, alquilamino de C₁₋₈-alquilo de C₁₋₈ o di(alquilo de C₁₋₈)amino-alquilo de C₁₋₈; cuando R³ y R⁴ están presentes en el mismo átomo de carbono, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula



en donde R¹⁰ es hidrógeno o arilo; cuando R³ y R⁴ están presentes en átomos de carbono adyacentes, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula



- 10 arilo en lo anterior es fenilo, o fenilo sustituido con uno o más sutituyentes cada uno independientemente seleccionado de halógeno, alquilo de C₁₋₈, alquiloxi de C₁₋₈, trifluorometilo, ciano o hidroxicarbonilo.

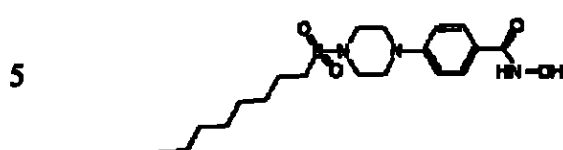
- 2.- El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado además porque R¹ es -C(O)NR⁵R⁶, -C(O)-alcanodiilo de C₁₋₈-SR⁷, -NR⁸C(O)N(OH)R⁷, -NR⁸C(O)alcanodiilo de C₁₋₈-SR⁷, -NR⁸C(O)C=N(OH)R⁷ u otro grupo quelante de Zn en donde R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxil, hidroxil-alquilo de C₁₋₈ o amino-alquilo de C₁₋₈; R² es hidrógeno, halógeno, hidroxil, amino, nitro, alquilo de C₁₋₈, alquiloxi de C₁₋₈, trifluorometilo o di(alquilo de C₁₋₈)amino;
- 20 R³ es hidrógeno, alquilo de C₁₋₈, aril-alquenodiilo de C₂₋₈, furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, -C(O)feniloR⁹, alquilaminocarbonilo de C₁₋₈, aminosulfonilo, arilaminosulfonilo, aminosulfonilamino, di(alquilo de C₁₋₈)aminosulfonilamino, di(alquilo de C₁₋₈)amino-alquilo de C₁₋₈, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂, di(alquilo de C₁₋

3.- El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado además porque n es 0 ó 1; cada Q es ; R¹ es -C(O)NH(OH) o -NHC(O)C-alcanodiilo de C₁₋₆-SH; R² es hidrógeno o nitro; R³ es alquilo de C₁₋₆, aril-alquenodiilo de C₂₋₆, furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, alquilaminocarbonilo de C₁₋₆, aminosulfonilo, di(alquilo de C₁₋₆)aminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂, di(alquilo de C₁₋₆)aminosulfonilo, trihalógeno-alquilsulfonilo de C₁₋₆, di(arilo)-alquilcarbonilo de C₁₋₆, tiofenil-alquilcarbonilo de C₁₋₆, piridinilcarbonilo o arilal-quilcarbonilo de C₁₋₆; R⁴ es hidrógeno; cuando R³ y R⁴ están presentes en el mismo átomo de carbono, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula (a-1) en donde R¹⁰ es arilo; o cuando R³ y R⁴ están presentes sobre átomos de carbono adyacentes, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula (b-1).

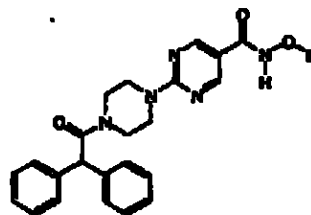
4.- El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 3, caracterizado además porque n es 1; cada Q es ; cada Z es nitrógeno; R¹ es -C(O)NH(OH); R² es hidrógeno; R³ es naftalenilcarbonilo, alquilsulfonilo

de C₁₋₁₂ o di(arilo)alquilcarbonilo de C₁₋₆; y R⁴ es hidrógeno.

5.- El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1, 3 y 4, seleccionado de los compuestos No. 18, No. 5 y No. 24.

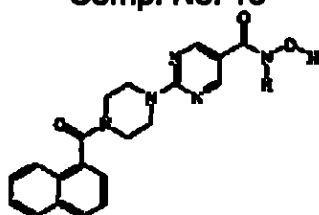


Comp. No. 18



Comp. No. 5

10



Comp. No. 24

6.- Una composición farmacéutica que comprende vehículos farmacéuticamente aceptables y como un ingrediente activo una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de conformidad con las reivindicaciones 1 a 5.

7.- Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado además porque los vehículos farmacéuticamente aceptables y un compuesto de conformidad con las reivindicaciones 1 a 5 se mezclan en forma íntima.

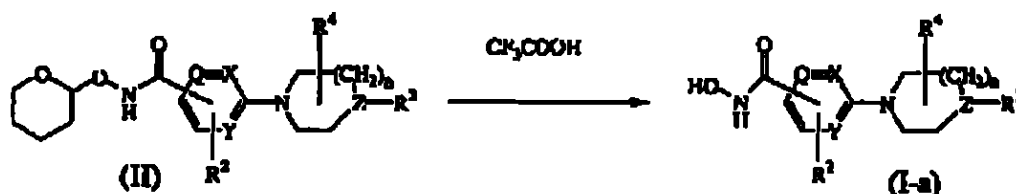
8.- Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso como un medicamento.

9.- El uso de un compuesto como el que se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la fabricación de un

medicamento para el tratamiento de enfermedades proliferativas.

- 10.- Un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se hace reaccionar un intermediario de la fórmula (II) con un ácido apropiado, tal como por ejemplo, ácido trifluoroacético, produciendo un ácido hidroxámico de la fórmula (I-a), en donde R^1 es $-C(O)NH(OH)$

10



15

- 11.- Un método de detección e identificación de una HDAC en una muestra biológica que comprende detectar o medir la formación de un complejo entre un compuesto marcado como se define en la reivindicación 1 y una HDAC.

- 12.- Una combinación de un agente anticancerígeno y un inhibidor de HDAC como se reclama en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

Original (para PRESENTACION) - Impreso el 24.02.2003 10:01:04 AM

VIII-2-1	Declaración: Derecho a solicitar y que se le otorgue una patente Declaración en cuanto al derecho del solicitante, en cuanto a la fecha de registro internacional, para solicitar y que se le otorgue una patente (Reglas 4.17(ii) y 51bis.1(a)(ii), en un caso en el que la declaración bajo la Regla 4.17(iv) no es apropiada: Nombre	en relación con la solicitud internacional No. PCT/EP03/02515 JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho a solicitar y que se le otorgue una patente en virtud de lo siguiente:
VIII-2-1 (ii)	Exclusión(es) de designaciones preventivas	JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, VAN EMELLEN, Kristof
VIII-2-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine
VIII-2-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna
VIII-2-1 (iv)		una cesión de ANGIBAUD, Patrick, René a JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., con fecha 06 de marzo de 2003 (06.03.2003)
VIII-2-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, MEERPOEL, Lieven
VIII-2-1 (iv)		una cesión de DYATKIN, Alexey, Borisovich a JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., con fecha 26 de febrero de 2003 (06.02.2003)
VIII-2-1 (ix)	Esta declaración se hace con el fin de:	todas las designaciones excepto la designación de los Estados Unidos de América

101

VIII-3-1	Declaración: Derecho a reivindicar prioridad Declaración en cuanto al derecho del solicitante, en cuanto a la fecha de registro internacional, para reivindicar prioridad de la solicitud anterior especificada a continuación, donde el solicitante no es el solicitante que presentó la solicitud anterior o donde el nombre del solicitante ha cambiado desde la presentación de la solicitud anterior (Reglas 4.17(ii) y 51bis.1(a)(ii): Nombre	en relación con la solicitud internacional No. PCT/EP03/02515 JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho a reivindicar prioridad de una solicitud anterior No. 60/363.799 en virtud de lo siguiente:
VIII-3-1		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, VAN EMELLEN, Kristof
VIII-3-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine
VIII-3-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna
VIII-3-1 (iv)		una cesión de ANGIBAUD, Patrick, René a JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., con fecha 06 de marzo de 2003 (06.03.2003)
VIII-3-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. tiene derecho como empleador del inventor, MEERPOEL, Lieven
VIII-3-1		una cesión de DYATKIN, Alexey, Borisovich a JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., con fecha 26 de febrero de 2003 (06.02.2003)
VIII-3-1 (ix)	Esta declaración se hace con el fin de:	todas las designaciones

VIII-4-1	Declaración: Inventoría (únicamente para la designación de los Estados Unidos de América) Declaración de Inventoría (Reglas 4.17(iv) y 51bis.1(a)(iv) para la designación de los Estados Unidos de América:	Mediante el presente declaro que creo que soy el inventor original, primero y único (si se menciona sólo un inventor a continuación) o conjunto (si se menciona más de un inventor a continuación) de la materia objeto que se reivindica y para la cual se busca una patente. Esta declaración se dirige a la solicitud Internacional No. PCT/EP03/02515 (si se proporciona declaración según la Regla 26ter) Mediante el presente declaro que mi residencia, dirección de correo y ciudadanía son como se declara junto a mi nombre. Mediante el presente declaro que he revisado y entiendo los contenidos de la solicitud internacional anteriormente identificada, incluyendo las reivindicaciones de dicha solicitud. He identificado en la solicitud de dicha solicitud, en cumplimiento con la Regla 4.10 del PCT, cualquier reivindicación de prioridad extranjera y he identificado a continuación, bajo el encabezamiento "Solicitudes Anteriores" por número de solicitud, país o Miembro de la Organización Mundial del Comercio, día, mes y año de presentación, cualquier solicitud para un certificado de patente o inventor presentado en un país diferente a los Estados Unidos de América, incluyendo cualquier solicitud internacional del PCT que designe al menos un país diferente a los Estados Unidos de América, que tiene una fecha de presentación anterior a la de la solicitud en la cual se reivindica prioridad.
VIII-4-1 -1	Solicitudes anteriores:	

		Mediante el presente reconozco el deber de revelar información que es conocida por mí que es importante para la patentabilidad según se define en 37 C.F.R. § 1.56, incluyendo solicitudes para continuación en parte, información importante que estuvo disponible entre la fecha de presentación de la solicitud anterior y la fecha de presentación internacional del PCT de la solicitud de continuación en parte. Mediante el presente declaro que todas las declaraciones hechas en el presente de mi propio conocimiento son verdaderas y que todas las declaraciones hechas sobre información y creencia creo que son verdaderas; y además que esas declaraciones fueron hechas con el conocimiento de que las declaraciones falsas intencionadas y semejantes son castigables con multa o prisión o ambos según la Sección 1001 del Título 18 del Código de los Estados Unidos y que dichas declaraciones falsas intencionadas pueden poner en riesgo la validez de la solicitud o patente que se expida de la misma.
VIII-4-1 -1-1 VIII-4-1 -1-2 VIII-4-1 -1-3 VIII-4-1 -1-4 VIII-4-1 -1-5 VIII-4-1 -1-6	Nombre: Residencia: (ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país) Dirección de correo: Ciudadanía: Firma del inventor: (si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional. La firma debe ser la del inventor, no la del agente) Fecha: (de la firma que no está contenida en la solicitud o de la declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional)	VAN EMELLEN, Kristof Sint-Niklaas, Bélgica Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 B-2340 Beerse Belgium BE (firma: ilegible) 28 de marzo de 2003

VIII-4-1 -2-1 VIII-4-1 -2-2 VIII-4-1 -2-3 VIII-4-1 -2-4 VIII-4-1 -2-5 VIII-4-1 -2-6	Nombre: Residencia: (ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país) Dirección de correo: Ciudadanía: Firma del inventor: (si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional. La firma debe ser la del inventor, no la del agente) Fecha: (de la firma que no está contenida en la solicitud o de la declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional)	VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine Gierle, Bélgica Janseen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 B-2340 Beerse Belgium BE (firma: ilegible) 28 de marzo de 2003
VIII-4-1 -3-1 VIII-4-1 -3-2 VIII-4-1 -3-3 VIII-4-1 -3-4 VIII-4-1 -3-5 VIII-4-1 -3-6	Nombre: Residencia: (ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país) Dirección de correo: Ciudadanía: Firma del inventor: (si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional. La firma debe ser la del inventor, no la del agente) Fecha: (de la firma que no está contenida en la solicitud o de la declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional)	VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna Nijlen, Bélgica JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. Turnhoutseweg 30 B-2340 Beerse Belgium BE (firma: ilegible) 28 de marzo de 2003

VIII-4-1 -4-1 VIII-4-1 -4-2 VIII-4-1 -4-3 VIII-4-1 -4-4 VIII-4-1 -4-5 VIII-4-1 -4-6	Nombre: Residencia: (ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país) Dirección de correo: Ciudadanía: Firma del inventor: (si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional. La firma debe ser la del inventor, no la del agente) Fecha: (de la firma que no está contenida en la solicitud o de la declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional)	ANGIBAUD, Patrick, René Fontaine-Bellenger, Francia Janssen-Cilag S.A. 1, rue Camille Desmoulins TSA 91003 92787 Issy-les-Moulineaux Cedex 9 France FR
VIII-4-1 -5-1 VIII-4-1 -5-2 VIII-4-1 -5-3 VIII-4-1 -5-4 VIII-4-1 -5-5 VIII-4-1 -5-6	Nombre: Residencia: (ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país) Dirección de correo: Ciudadanía: Firma del inventor: (si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional. La firma debe ser la del inventor, no la del agente) Fecha: (de la firma que no está contenida en la solicitud o de la declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud internacional)	MEERPOEL, Lieven Beerse, Bélgica Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 B-2340 Beerse Belgium BE (firma: ilegible) 17 de abril de 2003

106

VIII-4-1 -4-1 VIII-4-1 -4-2 VIII-4-1 -4-3 VIII-4-1 -4-4 VIII-4-1 -4-5 VIII-4-1 -4-6	Nombre: Residencia: (ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país) Dirección de correo: Ciudadanía: Firma del inventor: (si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud Internacional. La firma debe ser la del inventor, no la del agente) Fecha: (de la firma que no está contenida en la solicitud o de la declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud Internacional)	ANGIBAUD, Patrick, René Fontaine-Bellenger, Francia Janssen-Cilag S.A. 1, rue Camille Desmoulins TSA 91003 92787 Issy-les-Moulineaux Cedex 9 France FR (firma: ilegible) 28 de marzo de 2003
VIII-4-1 -5-1 VIII-4-1 -5-2 VIII-4-1 -5-3 VIII-4-1 -5-4 VIII-4-1 -5-5 VIII-4-1 -5-6	Nombre: Residencia: (ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país) Dirección de correo: Ciudadanía: Firma del inventor: (si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud Internacional. La firma debe ser la del inventor, no la del agente) Fecha: (de la firma que no está contenida en la solicitud o de la declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la presentación de la solicitud Internacional)	MEERPOEL, Lieven Beerse, Bélgica Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 B-2340 Beerse Belgium BE

107

VIII-4-1	Nombre:	DYATKIN, Alexey, Borisovich
-8-1	Residencia:	Maple Glen, Pennsylvania
VIII-4-1	(ciudad y Estado de los EE.UU., si es del caso, o país)	
-8-2	Dirección de correo:	
VIII-4-1		Johnson & Johnson Pharmaceutical
-8-3		Research and Development, L.L.C.
		Welsh and McKean Roads
	Ciudadanía:	Spring House PA 19477 USA
VIII-4-1		RU
-8-4	Firma del inventor:	(firma: ilegible)
VIII-4-1	(si no está contenida en la solicitud, o si la declaración se	
-8-5	corrige o añade bajo la Regla 26ter después de la	03/31/03
	presentación de la solicitud Internacional. La firma debe ser la	
	del inventor, no la del agente)	
	Fecha:	
	(de la firma que no está contenida en la solicitud o de la	
VIII-4-1	declaración que se corrige o añade bajo la Regla 26ter	
-8-6	después de la presentación de la solicitud Internacional)	

108

Original (for SUBMISSION) - printed on 24.02.2003 10:01:04 AM

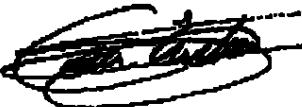
VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)). In a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name:	in relation to the international application No. PCT/EP03/02515 JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1 (i)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, VAN ENLEEN, Kristof
VIII-2-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine
VIII-2-1 (iii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna
VIII-2-1 (iv)		an assignment from ANGIBAUD, Patrick, René to JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., dated 06 March 2003 (06.03.2003)
VIII-2-1 (v)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, MEERPOEL, Lieven
VIII-2-1 (vi)		an assignment from DYATKIN, Alexey, Borisovich to JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., dated 26 February 2003 (26.02.2003)
VIII-2-1 (ix)	This declaration is made for the purposes of:	all designations except the designation of the United States of America

Original (for SUBMISSION) - printed on 24.02.2003 10:01:04 AM

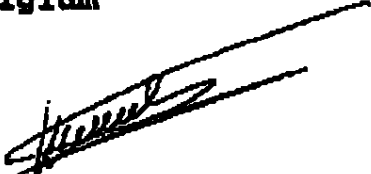
VIII-3-1	Declaration: Entitlement to claim priority Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii)): Name:	in relation to the international application No. PCT/EP03/02515 JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled to claim priority of earlier application No. 60/363,799 by virtue of the following:
VIII-3-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, VAN EMELLEN, Kristof
VIII-3-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine
VIII-3-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna
VIII-3-1 (iv)		an assignment from ANGIBAUD, Patrick, René to JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., dated 06 March 2003 (06.03.2003)
VIII-3-1 (ii)		JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. is entitled as employer of the inventor, MEERPOEL, Lieven
VIII-3-1 (iv)		an assignment from DYATKIN, Alexey, Borisovich to JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., dated 26 February 2003 (26.02.2003)
VIII-3-1 (ix)	This declaration is made for the purposes of:	all designations

VIII-4-1	Declaration: Inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America) Declaration of Inventorship (Rules 4.17(iv) and 51bis.1(a)(iv)) for the purposes of the designation of the United States of America:	I hereby declare that I believe I am the original, first and sole (if only one inventor is listed below) or joint (if more than one inventor is listed below) inventor of the subject matter which is claimed and for which a patent is sought. This declaration is directed to international application No. PCT/EP03/02515 (if furnishing declaration pursuant to Rule 26ter) I hereby declare that my residence, mailing address, and citizenship are as stated next to my name. I hereby state that I have reviewed and understand the contents of the above-identified international application, including the claims of said application. I have identified in the request of said application, in compliance with PCT Rule 4.10, any claim to foreign priority, and I have identified below, under the heading "Prior Applications," by application number, country or Member of the World Trade Organization, day, month and year of filing, any application for a patent or inventor's certificate filed in a country other than the United States of America, including any PCT international application designating at least one country other than the United States of America, having a filing date before that of the application on which foreign priority is claimed.
VIII-4-1 -1	Prior applications:	

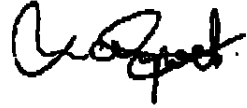
Original (for SUBMISSION) - printed on 24.02.2003 10:01:04 AM

		I hereby acknowledge the duty to disclose information that is known by me to be material to patentability as defined by 37 C.F.R. § 1.56, including for continuation-in-part applications, material information which became available between the filing date of the prior application and the PCT international filing date of the continuation-in-part application. I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.
VIII-4-1 -1-1	Name:	VAN EMLEN, Kristof
VIII-4-1 -1-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Sint-Niklaas, Belgium
VIII-4-1 -1-3	Mailing address:	Janesen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 2340 Beerse Belgium
VIII-4-1 -1-4	Citizenship:	BE
VIII-4-1 -1-5	Inventor's Signature: (if not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1 -1-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	March 18, 2003

Original (for SUBMISSION) - printed on 24.02.2003 10:01:04 AM

VIII-4-1 -2-1	Name:	VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine
VIII-4-1 -2-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Gierle, Belgium
VIII-4-1 -2-3	Mailing address:	Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 2340 Beerse Belgium
VIII-4-1 -2-4	Citizenship:	BE
VIII-4-1 -2-5	Inventor's Signature: (If not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	 march 18, 03
VIII-4-1 -2-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	
VIII-4-1 -3-1	Name:	VAN BRANDT, Even, Franciscus, Anna
VIII-4-1 -3-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Nijlen, Belgium
VIII-4-1 -3-3	Mailing address:	Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 2340 Beerse Belgium
VIII-4-1 -3-4	Citizenship:	BE
VIII-4-1 -3-5	Inventor's Signature: (If not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	 March 28, 03
VIII-4-1 -3-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	

Original (for SUBMISSION) - printed on 24.02.2003 10:01:04 AM

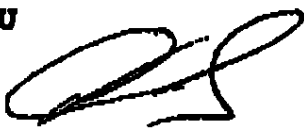
VIII-4-1 -4-1	Name:	ANGIBAUD, Patrick, René
VIII-4-1 -4-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Fontaine-Bellenger, France
VIII-4-1 -4-3	Mailing address:	Janssen-Cilag S.A. 1, rue Camille Desmoulins TSA 91003 92787 Issy-les-Moulineaux Cedex 9 France
VIII-4-1 -4-4	Citizenship:	FR
VIII-4-1 -4-5	Inventor's Signature: (If not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1 -4-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	
VIII-4-1 -5-1	Name:	MEERPOEL, Lieven
VIII-4-1 -5-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Beerse, Belgium
VIII-4-1 -5-3	Mailing address:	Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 2340 Beerse Belgium
VIII-4-1 -5-4	Citizenship:	BE
VIII-4-1 -5-5	Inventor's Signature: (If not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1 -5-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	April 17, 2003

114

Original (for SUBMISSION) - printed on 24.02.2003 10:01:04 AM

VIII-4-1 -4-1	Name:	ANGIBAUD, Patrick, René
VIII-4-1 -4-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Fontaine-Bellenger, France
VIII-4-1 -4-3	Mailing address:	Janssen-Cilag S.A. 1, rue Camille Desmoulins TSA 91003 92787 Issy-les-Moulineaux Cedex 9 France
VIII-4-1 -4-4	Citizenship:	FR
VIII-4-1 -4-5	Inventor's Signature: (If not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1 -4-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	Nov 28, 2003
VIII-4-1 -5-1	Name:	MEERPOEL, Lieven
VIII-4-1 -5-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Beerse, Belgium
VIII-4-1 -5-3	Mailing address:	Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 2340 Beerse Belgium
VIII-4-1 -5-4	Citizenship:	BE
VIII-4-1 -5-5	Inventor's Signature: (If not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1 -5-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	

Original (for SUBMISSION) - printed on 24.02.2003 10:01:04 AM

VIII-4-1 -8-1	Name:	DYATKIN, Alexey, Borisovich
VIII-4-1 -8-2	Residence: (city and either US State, if applicable, or country)	Maple Glen, Pennsylvania
VIII-4-1 -8-3	Mailing address:	Johnson & Johnson Pharmaceutical Research and Development, L.L.C. Walsh and McKean Roads Spring House PA 19477 USA
VIII-4-1 -8-4	Citizenship:	RU
VIII-4-1 -8-5	Inventor's Signature: (If not contained in the request, or if declaration is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application. The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	
VIII-4-1 -8-6	Date: (of signature which is not contained in the request, or of the declaration that is corrected or added under Rule 26ter after the filing of the international application)	03/31/03

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

419

116

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION [x]

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X] 1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X] 1
- ◆ Descripción de la invención [X] 25
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [X] 2

COMPLETA [X]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de 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 []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

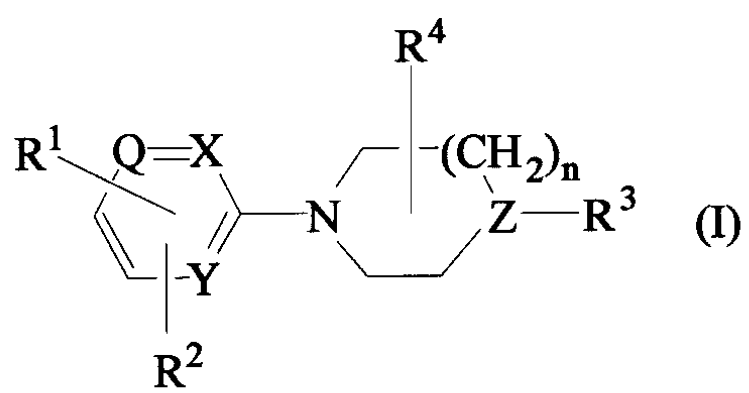
COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia



EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

fecha de entrada en force nali: 13/10/2004.

No. SOLICITUD INTERNACIONAL : PCT/EP03/02515

(21) No. SOLICITUD: 04-89534

(51) INT. CL.: A81K 31/505 //A61k31/496//A61k31/64

(22) FECHA DE PRESENTACIÓN: 09-09-2004

(71) SOLICITANTE: JANSSEN PHARMACEUTICA N.V

(30) PRIORIDAD: 60/363,799

(31) No. DE SOLICITUD:

(72) INVENTOR/ES: VAN EMELLEN, Kristof; VERDONCK, Marc, Gustaaf, Celine; VAN BRANDT, Sven, Franciscus, Anna; ANGIBAUD, Patrick, René MEERPOEL, Lieven y DYATKIN, Alexey, Borisovich

(32) FECHA DE PRESENTACIÓN: 13-03-2002

(33) PAÍS: US

(74) REPRESENTANTE ALICIA LLOREDA RICAURTE
LEGAL:

(54) TÍTULO:

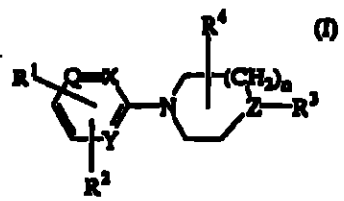
"INHIBIDORES DE LA HISTONA DESACETILASA"

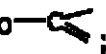
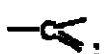
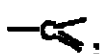
(57) RESUMEN:

Solicitud PCT/; PCT/EP03/02515. fecha: 11/03/03

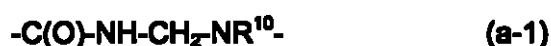
Reivindicación número 1.- Pub. Internacional: W003075929 fecha: 18/09/03.

1.- Un compuesto de la fórmula (I)



formas de N-óxido, las sales de adición farmacéuticamente aceptables y formas estereoquímicamente isoméricas de los mismos, en donde n es 0, 1, 2 ó 3 y cuando n es 0, entonces se pretende un enlace directo; cada Q es nitrógeno ; cada X es nitrógeno ; cada Y es nitrógeno o ; cada Z es nitrógeno ; R¹ es -C(O)NR⁶R⁶, -N(H)C(O)R⁷, -C(O)-alcanodillo de C₁₋₆SR⁷, -NR⁶C(O)N(OH)R⁷, -NR⁶C(O)-alcanodillo de C₁₋₆SR⁷, -NR⁶C(O)C=N(OH)R⁷ u otro grupo quelante de Zn en donde R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, hidroxil, alquilo de C₁₋₆, hidroxil-alquilo de C₁₋₆, amino-alquilo de C₁₋₆ o aminoarilo; R⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo de C₁₋₆, alquilcarbonilo de C₁₋₆, aril-alquilo de C₁₋₆, alquilpirazinilo de C₁₋₆, piridinona, pirrolidinona o metilimidazolilo; R⁸ se selecciona independientemente de hidrógeno o alquilo de C₁₋₆; R² es hidrógeno, halógeno, hidroxil, amino, nitro, alquilo de C₁₋₆, alquilo de C₁₋₆.

trifluorometilo, di(alquilo de C₁₋₆)amino, hidroxiamino o naftalenilsulfonilpirazinilo; R³ es hidrógeno, alquilo de C₁₋₆, aril-alquenodilo de C₂₋₆, furanilcarbonilo, naftalenilcarbonilo, -C(O)feniloR⁹, alquilaminocarbonilo de C₁₋₆, aminosulfonilo, arilaminosulfonilo, aminosulfonilamino, di(alquilo de C₁₋₆)aminosulfonilamino, arilaminosulfonilamino, aminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)aminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₆, arilaminosulfonilamino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, alquilsulfonilo de C₁₋₁₂, di(alquilo de C₁₋₆)aminosulfonilo, trihalógeno-alquilsulfonilo de C₁₋₆, di(arilo)alquilcarbonilo de C₁₋₆, tiofenil-alquilcarbonilo de C₁₋₆, piridinilcarbonilo o aril-alquilcarbonilo de C₁₋₆, en donde cada R⁹ se selecciona independientemente de fenilo; fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, amino, alquilo de C₁₋₆, alquilo de C₁₋₆, hidroxil-alquilo de C₁₋₄, hidroxil-alquilo de C₁₋₄, amino-alquilo de C₁₋₄, di(alquilo de C₁₋₄)amino-alquilo de C₁₋₄, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, hidroxil-alquilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, alquilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, hidroxil-alquilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, alquilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, di(hidroxil-alquilo de C₁₋₄)amino-alquilo de C₁₋₄, pirrolidinil-alquilo de C₁₋₄, morfolinil-alquilo de C₁₋₄ o morfolinil-alquilo de C₁₋₄; tiofenilo; o tiofenilo sustituido con di(alquilo de C₁₋₄)amino-alquilo de C₁₋₄, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆, pirrolidinil-alquilo de C₁₋₄, alquilo de C₁₋₄-alquilo de C₁₋₄, di(hidroxil-alquilo de C₁₋₄)amino-alquilo de C₁₋₄ o morfolinil-alquilo de C₁₋₄; R⁴ hidrógeno, hidroxil, amino, hidroxil-alquilo de C₁₋₆, alquilo de C₁₋₆, alquilo de C₁₋₆, aril-alquilo de C₁₋₆, aminocarbonilo, hidroxycarbonilo, amino-alquilo de C₁₋₆, aminocarbonilo-alquilo de C₁₋₆, hidroxycarbonilo-alquilo de C₁₋₆, hidroxiaminocarbonilo, alquilo de C₁₋₆-alquilo de C₁₋₆, alquilamino de C₁₋₆-alquilo de C₁₋₆ o di(alquilo de C₁₋₆)amino-alquilo de C₁₋₆; cuando R³ y R⁴ están presentes en el mismo átomo de carbono, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula



en donde R¹⁰ es hidrógeno o arilo; cuando R³ y R⁴ están presentes en átomos de carbono adyacentes, R³ y R⁴ juntos pueden formar un radical bivalente de la fórmula



arilo en lo anterior es fenilo, o fenilo sustituido con uno o más sustituyentes cada uno independientemente seleccionado de halógeno, alquilo de C₁₋₆, alquilo de C₁₋₆, trifluorometilo, ciano o hidroxycarbonilo.

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
ALICIA LLOREDA RICAURTE
Apoderado(a)
JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.

Oficio N° **06046**

ASUNTO:

Radicación N°	04-89534
Solicitud internacional	PCT/EP03/02515
Fecha inicio fase nacional	13/10/2004
Trámite	011
Evento	379
Actuación	430
Folios	001

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:

- El solicitante debe presentar un nuevo título, que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente (Regla 4.3 PCT, Art. 27, 27 Decisión 486, Circular Única 5.2.9).
- La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de 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 éste fuere una persona jurídica.

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 N° 10 de 2001.

ALIX CARMENZA GÓSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha,
17 SET. 2004

202044

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 Pisos 2, 5, 7 y 10
Commutador: 3 820840 Fax: 3 505220
Sede CAN: Tr. 40A No. 38-50 3153265 al 69
Fax: 3 505220. Línea 9800-910 165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. - Colombia