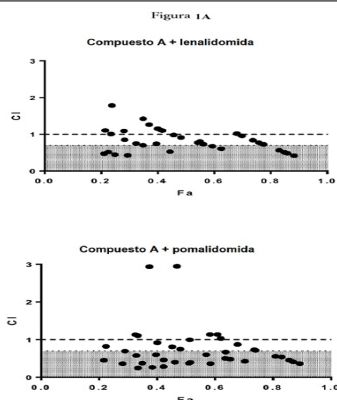


DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT



1

Título de la Invención(200 caracteres o espacios máximos)

COMBINACIONES DE INHIBIDORES DE HISTONA DEACETILASA Y FÁRMACOS INMUNOMODULADORES

2

Datos del Solicitante

Nombre:

ACETYLON
PHARMACEUTICALS,
INC.

**Dirección
Electrónica:**

sic@castellanosyco.co

Dirección:

70 Fargo Street, Suite 205,
Boston, MA 02210,
ESTADOS UNIDOS DE
AMERICA

**Domicilio/País de
constitución:**

ESTADOS UNIDOS DE
AMERICA -
MASSACHUSETTS -
BOSTON

Identificación:

☐ CEDULA DE
CIUDADANIA

☒ EMPRESA
EXTRANJERA

☐ PASAPORTE

☐ CEDULA DE
EXTRANJERIA

☐ NIT

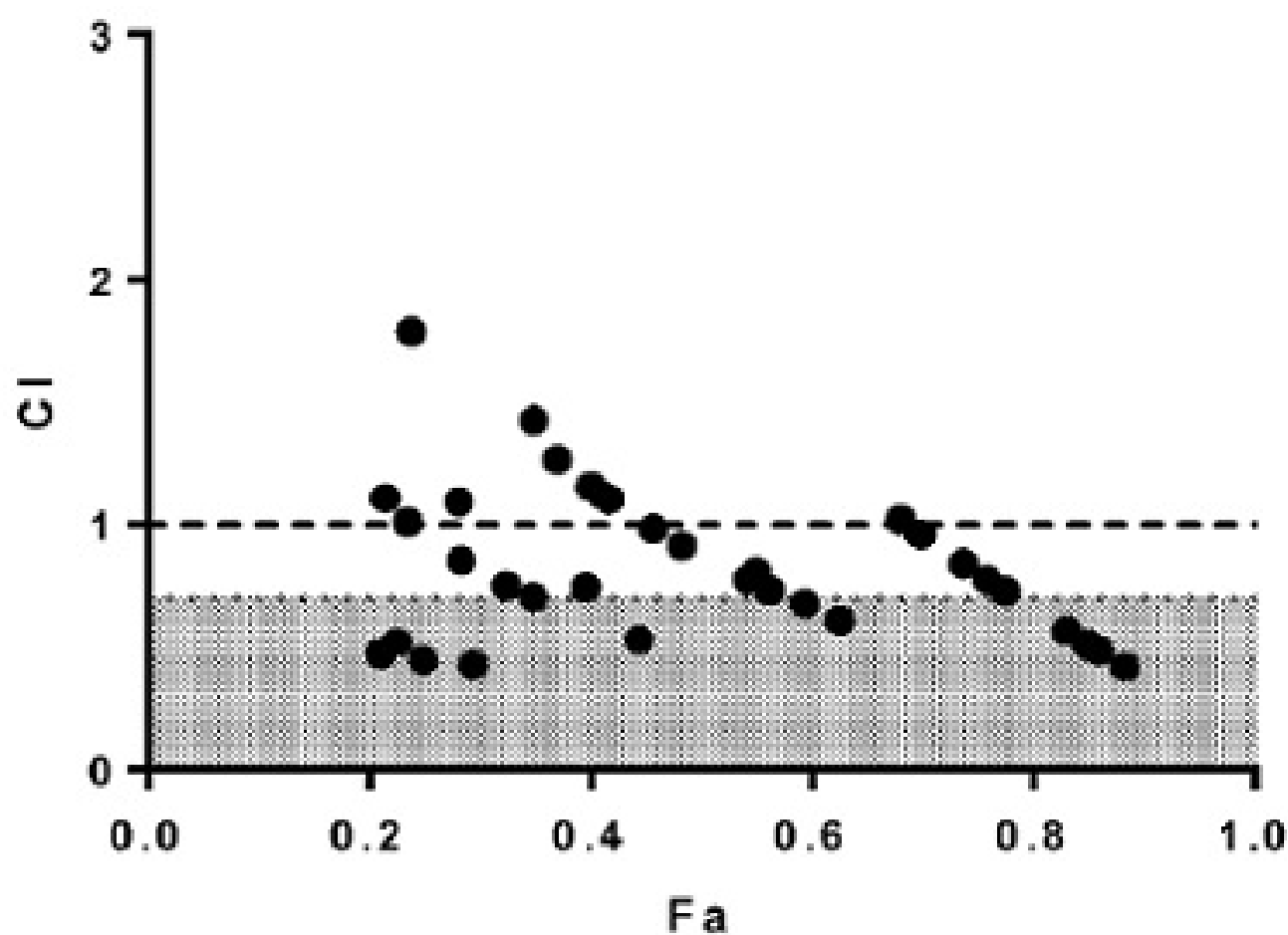
Número: 900044563-											
3	Solicitantes										
<table><tr><td>Apellidos - Nombres o Razón Social</td><td>Tipo</td><td colspan="2">Identificación</td></tr><tr><td>1. ACETYLON PHARMACEUTICALS, INC.</td><td>EE</td><td colspan="2">900044563</td></tr></table>				Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación		1. ACETYLON PHARMACEUTICALS, INC.	EE	900044563	
Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación									
1. ACETYLON PHARMACEUTICALS, INC.	EE	900044563									
4	Datos del Inventor										
Nombre:		Steven Norman Quayle	Dirección Electrónica:								
			sic@castellanosyco.co								
Dirección:		62 Linden Street, #1, Brookline, MA 02445, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	Domicilio/País de constitución:								
			ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - MASSACHUSETTS - BROOKLINE								
Identificación:											
☐ CEDULA DE CIUDADANIA		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA									
☐ EMPRESA EXTRANJERA		☐ NIT									
☐ PASAPORTE		☒ No Aplica									
Número:		-									
5	Inventor(es)										
<table><tr><td>Apellidos - Nombres</td><td>Domicilio</td></tr><tr><td>1. Quayle Steven Norman</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>2. Jones Simon Stewart</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr></table>				Apellidos - Nombres	Domicilio	1. Quayle Steven Norman	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	2. Jones Simon Stewart	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		
Apellidos - Nombres	Domicilio										
1. Quayle Steven Norman	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA										
2. Jones Simon Stewart	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA										
6	Datos Inventor(es)										
<table><tr><td>País de Residencia</td><td>Departamento/Estado</td><td>Ciudad</td><td>Dirección</td></tr></table>				País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección				
País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección								

1.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	BROOKLINE	62 Linden Street, #1, Brookline, MA 02445, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	HARVARD	46 Westcott Road, Harvard, MA 01451, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO	Dirección Electrónica:	sic@castellanosyco.co
Dirección:		CALLE 94A 7A 09	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - CUNDINAMARCA - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE Número: 39779654-				
Presentación de Poder				
Año de Radicación				
Número de Radicación				
8	Datos Solicitud: PCT / WO			
Número Solicitud:		PCT/US2014/068263	Fecha Solicitud:	03/12/2014
Número Publicacion:		WO 2015/084905	Fecha Publicacion:	11/06/2015
9	Declaraciones de prioridad		☒ SI ☐ NO	
1.	(33) País de origen ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	Codigo del país US	(31) No. Solicitud 61/911,086	(32) Fecha 03/12/2013

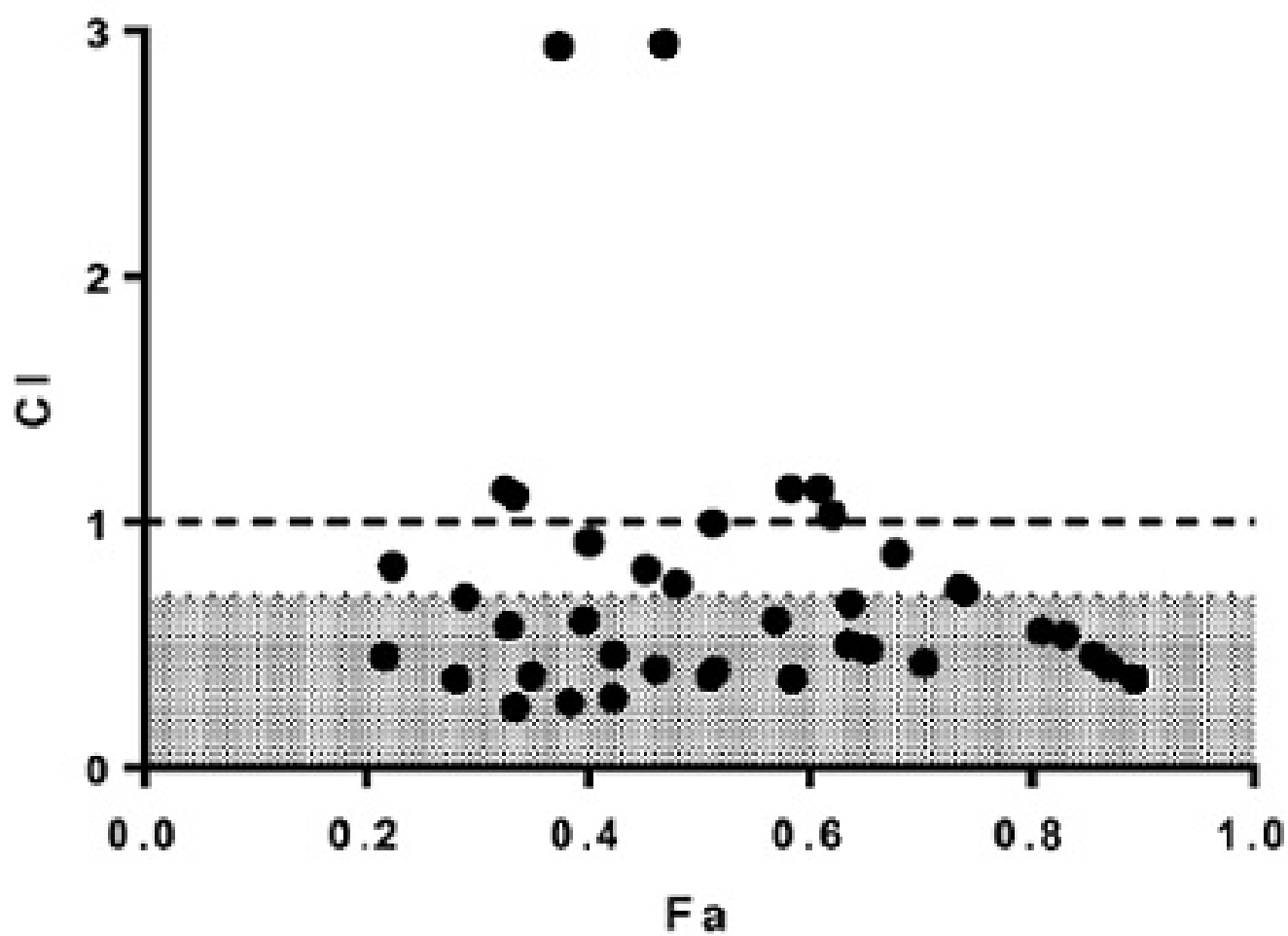
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	US	62/061,368	08/10/2014
10	Reivindicaciones			
Número reivindicaciones:		28	Pago Reivindicaciones:	Si
11	Reducción de tasas.			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
12	Documentos Anexos			
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen ☐ Certificado Depósito Material Biológico ☐ Uso de Conocimiento tradicional ☐ Listado de secuencias ☒ Artes finales 12 x 12 cm ☒ Poderes, si fuere el caso ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad ☒ Otros Anexos				

Figura 1A

Compuesto A + lenalidomida



Compuesto A + pomalidomida





(51) International Patent Classification:

A61K 31/505 (2006.01) A61K 31/16 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2014/068263

(22) International Filing Date:

3 December 2014 (03.12.2014)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/911,086 3 December 2013 (03.12.2013) US
62/061,368 8 October 2014 (08.10.2014) US

(71) Applicant: ACETYLON PHARMACEUTICALS, INC.
[US/US]; 70 Fargo Street, Suite 205, Boston, MA 02210 (US).

(72) Inventors: QUAYLE, Steven, Norman; 62 Linden Street, #1, Brookline, MA 02445 (US). JONES, Simon, Stewart; 46 Westcott Road, Harvard, MA 01451 (US).

(74) Agents: TRINQUE, Brian, C. et al.; Lathrop & Gage LLP, 28 State Street, Boston, MA 02109 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,

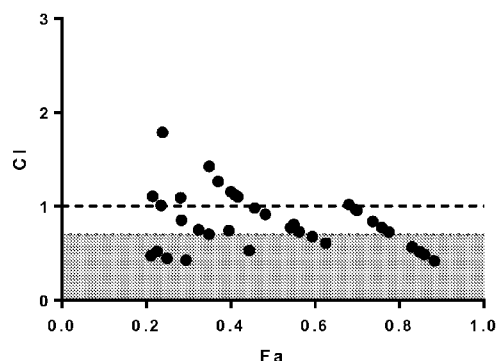
[Continued on next page]

(54) Title: COMBINATIONS OF HISTONE DEACETYLASE INHIBITORS AND IMMUNOMODULATORY DRUGS

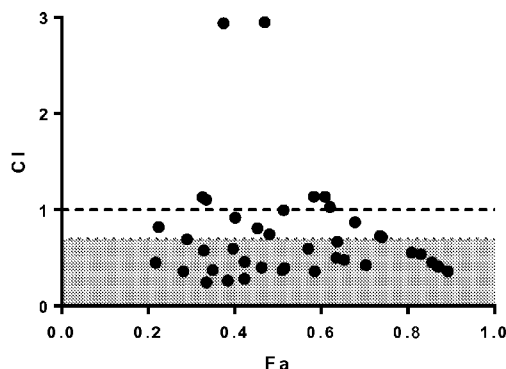
(57) Abstract: The invention relates to combinations comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug for the treatment of lymphoma in a subject in need thereof. Also provided herein are methods for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject an effective amount of one of the above combinations.

Figure 1A

Compound A + lenalidomide



Compound A + pomalidomide





KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

COMBINATIONS OF HISTONE DEACETYLASE INHIBITORS AND IMMUNOMODULATORY DRUGS

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

This application claims priority to U.S. Provisional Application Serial Nos. 61/911,086, filed December 3, 2013, and 62/061,368, filed October 8, 2014, each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

BACKGROUND

Histone deacetylase (HDAC) enzymes represent attractive therapeutic targets in lymphoma, but unfortunately non-selective HDAC inhibitors have led to dose-limiting toxicities in patients.

The immunomodulatory (IMiD) class of drugs, including lenalidomide and pomalidomide, exhibit anti-lymphoma properties in a variety of lymphoma models, and have demonstrated clinical activity in lymphoma patients.

Due to the dose-limiting toxicities of the above therapies, there is an ongoing need in the art for more efficacious and less toxic compositions and methods for the treatment of lymphoma. In order to meet these needs, provided herein are pharmaceutical combinations comprising a HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug, and methods for the treatment of lymphoma. The combinations and methods of the invention are well tolerated and do not exhibit the dose-limiting toxicities of prior therapies.

SUMMARY OF THE INVENTION

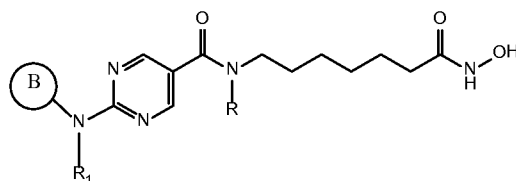
Provided herein are pharmaceutical combinations for the treatment of lymphoma in a subject in need thereof. Also provided herein are methods for treating lymphoma in a subject in need thereof.

Provided in some embodiments are combinations comprising a histone deacetylase (HDAC) inhibitor and an immunomodulatory drug (IMiD) for the treatment of lymphoma in a subject in need thereof. For example, an embodiment of the invention provides a pharmaceutical combination for treating lymphoma comprising a therapeutically effective amount of a histone deacetylase 6 (HDAC6) specific inhibitor or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an immunomodulatory drug (IMiD) or a pharmaceutically acceptable salt thereof. An additional embodiment of the invention provides a pharmaceutical combination for treating lymphoma comprising a therapeutically effective

amount of a histone deacetylase 6 (HDAC6) specific inhibitor or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an immunomodulatory drug (IMiD) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein the combination is administered at dosages that would not be effective when one or both of the compounds are administered alone, but which amounts are effective in combination.

Provided in other embodiments are methods for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject an effective amount of a combination comprising a histone deacetylase (HDAC) inhibitor and an immunomodulatory drug (IMiD). For example, an embodiment of the invention provides a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of a pharmaceutical combination comprising a histone deacetylase 6 (HDAC6) specific inhibitor or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an immunomodulatory drug (IMiD) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In specific embodiments, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula I:



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

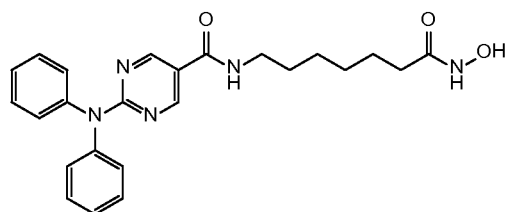
ring B is aryl or heteroaryl;

R₁ is an aryl or heteroaryl, each of which may be optionally substituted by OH, halo, or C₁₋₆-alkyl;

and

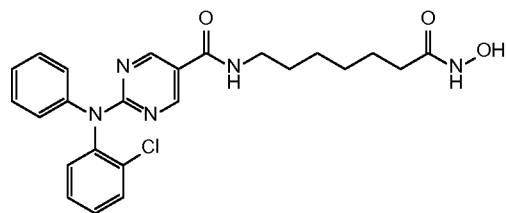
R is H or C₁₋₆-alkyl.

In preferred embodiments, the compound of Formula I is:



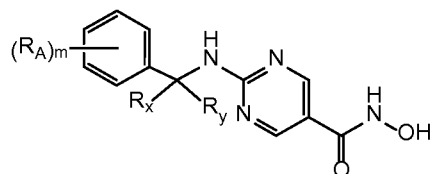
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In yet other embodiments, the compound of Formula I is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In other specific embodiments, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula II:



(II)

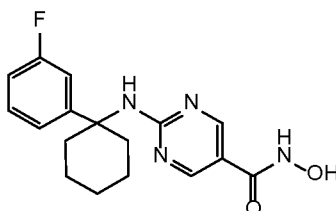
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

R_x and R_y together with the carbon to which each is attached, form a cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, or cyclooctyl; each R_A is independently C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkoxy, halo, OH, $-NO_2$, $-CN$, or $-NH_2$; and

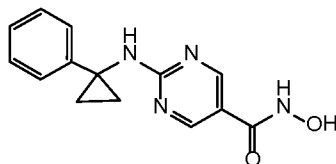
m is 0, 1, or 2.

In preferred embodiments, the compound of Formula II is:



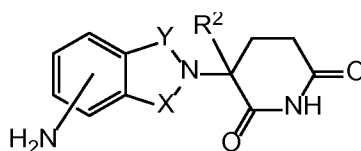
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In other preferred embodiments, the compound of Formula II is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In some embodiments of the combinations and/or methods, the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



(III)

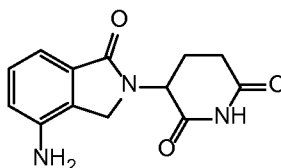
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

one of X and Y is C=O, the other of X and Y is CH₂ or C=O; and

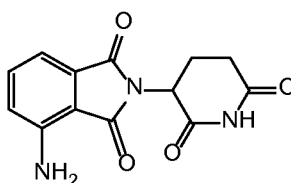
R² is H or C₁₋₆-alkyl.

In preferred embodiments, the compound of Formula III is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In yet other preferred embodiments, the compound of Formula III is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

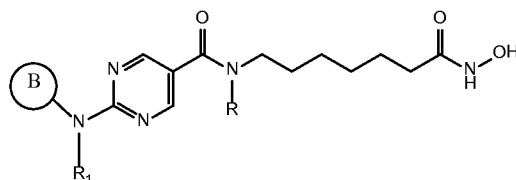
In some embodiments, the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered with a pharmaceutically acceptable carrier.

In some embodiments, the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered in separate dosage forms. In other embodiments, the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered in a single dosage form.

In some embodiments, the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered at different times. In other embodiments, the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered at substantially the same time.

In some embodiments, the combination of a HDAC inhibitor and an IMiD achieves a synergistic effect in the treatment of the subject in need thereof.

In some embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula I:



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

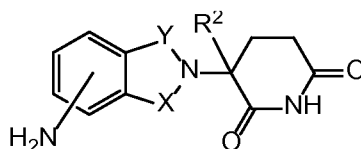
ring B is aryl or heteroaryl;

R₁ is an aryl or heteroaryl, each of which may be optionally substituted by OH, halo, or C₁₋₆-alkyl;

and

R is H or C₁₋₆-alkyl; and

the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



(III)

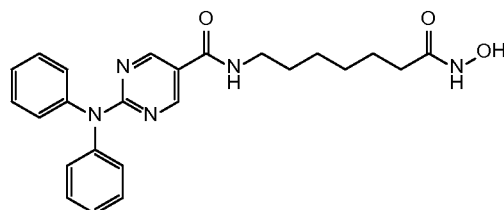
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

one of X and Y is C=O, the other of X and Y is CH₂ or C=O; and

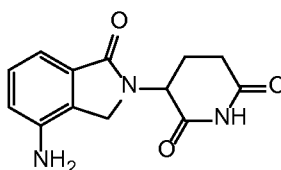
R² is H or C₁₋₆-alkyl.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:



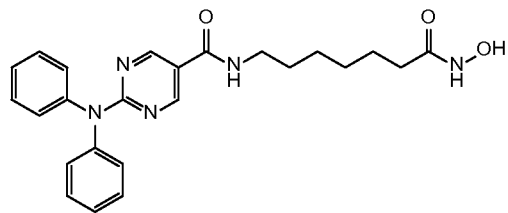
or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and

the immunomodulatory drug is:

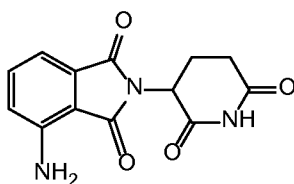


or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:

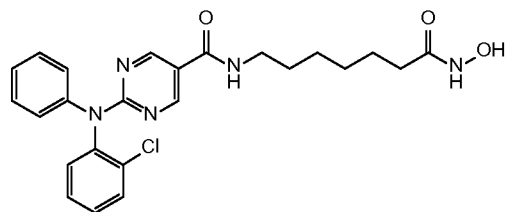


or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:

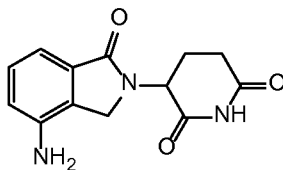


or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:

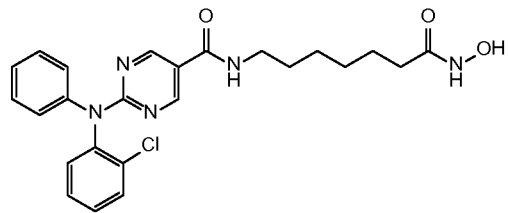


or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:

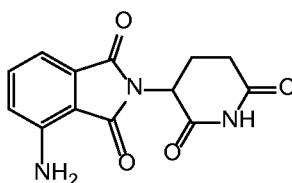


or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:

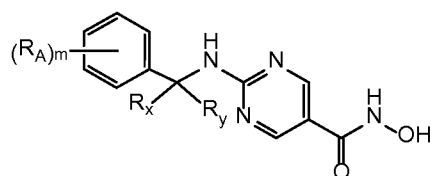


or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In some embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula II:



(II)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

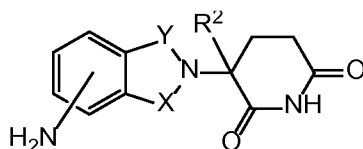
wherein,

R_x and R_y together with the carbon to which each is attached, form a cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, or cyclooctyl; each R_A is independently C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkoxy, halo, OH, $-NO_2$, $-CN$, or $-$

NH_2 ; and

m is 0, 1, or 2; and

the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



(III)

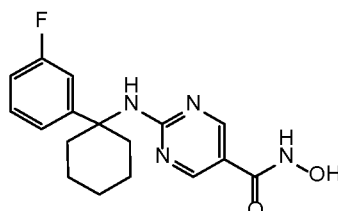
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

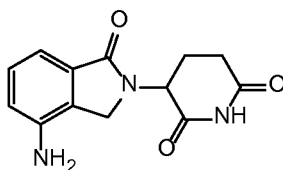
one of X and Y is $C=O$, the other of X and Y is CH_2 or $C=O$; and

R^2 is H or C_{1-6} -alkyl.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:

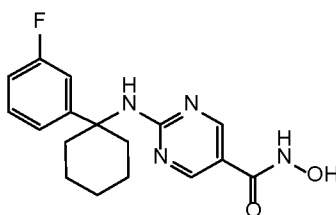


or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:

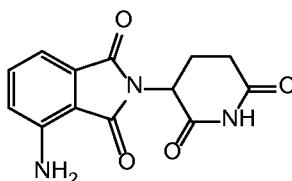


or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:

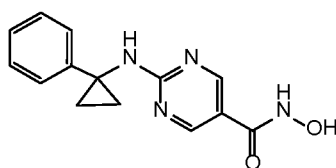


or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:

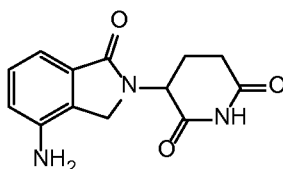


or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:

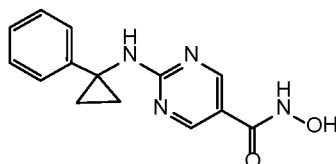


or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:

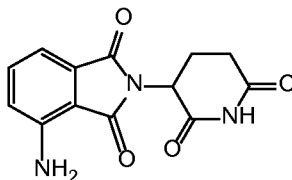


or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In specific embodiments of the combinations and/or methods, the HDAC6 specific inhibitor is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

An embodiment of the invention includes a method for decreasing cell cycle progression by administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

Another embodiment of the invention includes a method for increasing cellular apoptosis by administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

A further embodiment of the invention includes a method for suppressing transcriptional regulators in cancer by administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

Other objects, features, and advantages will become apparent from the following detailed description. The detailed description and specific examples are given for illustration only because various changes and modifications within the spirit and scope of the invention will become apparent to those skilled in the art from this detailed description. Further, the examples demonstrate the principle of the invention.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figures 1A-F show the F_A/CI Synergy Plots after treatment of Mino Mantle Cell Lymphoma (MCL) cells with an HDAC6 inhibitor and an IMiD. **Figure 1A** shows the F_A/CI Synergy Plots after treatment of Mino MCL cells with **Compound A**, and either lenalidomide (top) or pomalidomide (bottom). **Figure 1B** shows the F_A/CI Synergy Plots after treatment of Mino MCL cells with **Compound B**, and either lenalidomide (top) or pomalidomide (bottom). **Figure 1C** shows the F_A/CI Synergy Plots after treatment of Mino MCL cells with **Compound C**, and either lenalidomide (top) or pomalidomide (bottom).

Figure 1D shows the F_A/CI Synergy Plots after treatment of Jeko1 MCL cells with **Compound A** and pomalidomide. **Figure 1E** shows the F_A/CI Synergy Plots after treatment of Jeko1 MCL cells with **Compound B**, and either lenalidomide (top) or pomalidomide (bottom). **Figure 1F** shows the F_A/CI Synergy Plots after treatment of Jeko1 MCL cells with **Compound C**, and either lenalidomide (top) or pomalidomide (bottom). Data points with Combination Index (CI) values <1 indicate treatment combinations resulting in synergistic decreases in cellular viability.

Figure 2A shows the effect of treatment of Jeko1 mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound B** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound B** with either IMiD on cell cycle inhibition. Combination treatment with either IMiD resulted in further reductions in cell cycle progression consistent with decreased proliferation.

Figure 2B shows the effect of treatment of Mino mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound A** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound A** with either IMiD on cell cycle inhibition. Combination treatment with either IMiD resulted in further reductions in cell cycle progression consistent with decreased proliferation.

Figure 2C shows the effect of treatment of Mino mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound B** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound B** with either IMiD on cell cycle inhibition. Combination treatment with either IMiD resulted in further reductions in cell cycle progression consistent with decreased proliferation.

Figure 3A shows the effect of treatment of Jeko1 mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound A** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound A** with either IMiD on the induction of apoptosis. Combination treatment with either IMiD resulted in synergistic increases in cellular apoptosis.

Figure 3B shows the effect of treatment of Jeko1 mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound B** (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound B** with pomalidomide on the induction of apoptosis. Combination treatment with either IMiD resulted in synergistic increases in cellular apoptosis.

Figure 4 is a picture of an immunoblot from Jeko1 mantle cell lymphoma cells showing that the combination of **Compound A** and pomalidomide led to further suppression of MYC, IRF4, and IKZF3 expression, all of which are key transcriptional regulators in cancer. Markers of apoptosis (cleaved PARP) were also increased by combination treatment

DETAILED DESCRIPTION

The instant application is directed, generally, to combinations comprising a histone deacetylase (HDAC) inhibitor and an immunomodulatory drug (IMiD), and methods for the treatment of lymphoma.

Definitions

Listed below are definitions of various terms used to describe this invention. These definitions apply to the terms as they are used throughout this specification and claims, unless otherwise limited in specific instances, either individually or as part of a larger group.

The term “about” generally indicates a possible variation of no more than 10%, 5%, or 1% of a value. For example, “about 25 mg/kg” will generally indicate, in its broadest sense, a value of 22.5-27.5 mg/kg, i.e., 25 ± 2.5 mg/kg.

The term “alkyl” refers to saturated, straight- or branched-chain hydrocarbon moieties containing, in certain embodiments, between one and six, or one and eight carbon atoms, respectively. Examples of C₁₋₆ alkyl moieties include, but are not limited to, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, *n*-butyl, *tert*-butyl, neopentyl, n-hexyl moieties; and examples of C₁₋₈ alkyl moieties include, but are not limited to, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, *n*-butyl, *tert*-butyl, neopentyl, n-hexyl, heptyl, and octyl moieties.

The number of carbon atoms in an alkyl substituent can be indicated by the prefix “C_{x-y},” where x is the minimum and y is the maximum number of carbon atoms in the substituent. Likewise, a C_x chain means an alkyl chain containing x carbon atoms.

The term “alkoxy” refers to an -O-alkyl moiety.

The terms “cycloalkyl” or “cycloalkylene” denote a monovalent group derived from a monocyclic or polycyclic saturated or partially unsaturated carbocyclic ring compound. Examples of C₃₋₈-cycloalkyl include, but are not limited to, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, and cyclooctyl; and examples of C₃₋₁₂-cycloalkyl include, but are not limited to, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, bicyclo [2.2.1] heptyl, and bicyclo [2.2.2] octyl. Also contemplated are monovalent groups derived from a monocyclic or polycyclic carbocyclic ring compound having at least one carbon-carbon double bond by the removal of a single hydrogen atom. Examples of such groups include, but are not limited to, cyclopropenyl, cyclobutenyl, cyclopentenyl, cyclohexenyl, cycloheptenyl, cyclooctenyl, and the like.

The term “aryl” refers to a mono- or poly-cyclic carbocyclic ring system having one or more aromatic rings, fused or non-fused, including, but not limited to, phenyl, naphthyl, tetrahydronaphthyl, indanyl, idenyl and the like. In some embodiments, aryl groups have 6 carbon atoms. In some embodiments, aryl groups have from six to ten carbon atoms. In some embodiments, aryl groups have from six to sixteen carbon atoms.

The term “heteroaryl” refers to a mono- or poly-cyclic (*e.g.*, bi-, or tri-cyclic or more) fused or non-fused moiety or ring system having at least one aromatic ring, where one or more of the ring-forming atoms is a heteroatom such as oxygen, sulfur, or nitrogen. In some embodiments, the heteroaryl group has from about one to six carbon atoms, and in further embodiments from one to fifteen carbon atoms. In some embodiments, the heteroaryl group contains five to sixteen ring atoms of which one ring atom is selected from oxygen, sulfur, and nitrogen; zero, one, two, or three ring atoms are additional heteroatoms independently selected from oxygen, sulfur, and nitrogen; and the remaining ring atoms are carbon. Heteroaryl includes, but is not limited to, pyridinyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyrrolyl, pyrazolyl, imidazolyl, thiazolyl, oxazolyl, isooxazolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, oxadiazolyl, thiophenyl, furanyl, indolyl, quinolinyl, isoquinolinyl, benzimidazolyl, benzooxazolyl, quinoxalinyl, acridinyl, and the like.

The term “halo” refers to a halogen, such as fluorine, chlorine, bromine, and iodine.

The term “combination” refers to two or more therapeutic agents to treat a therapeutic condition or disorder described in the present disclosure. Such combination of therapeutic agents may be in the form of a single pill, capsule, or intravenous solution. However, the term “combination” also encompasses the situation when the two or more therapeutic agents are in separate pills, capsules, or intravenous solutions. Likewise, the term “combination therapy” refers to the administration of two or more therapeutic agents to treat a therapeutic condition or disorder described in the present disclosure. Such administration encompasses co-administration of these therapeutic agents in a substantially simultaneous manner, such as in a single capsule having a fixed ratio of active ingredients or in multiple, or in separate containers (*e.g.*, capsules) for each active ingredient. In addition, such administration also encompasses use of each type of therapeutic agent in a sequential manner, either at approximately the same time or at different times. In either case, the treatment regimen will provide beneficial effects of the drug combination in treating the conditions or disorders described herein.

The term “HDAC” refers to histone deacetylases, which are enzymes that remove the acetyl groups from the lysine residues in core histones, thus leading to the formation of a

condensed and transcriptionally silenced chromatin. There are currently 18 known histone deacetylases, which are classified into four groups. Class I HDACs, which include HDAC1, HDAC2, HDAC3, and HDAC8, are related to the yeast RPD3 gene. Class II HDACs, which include HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, and HDAC10, are related to the yeast Hda1 gene. Class III HDACs, which are also known as the sirtuins are related to the Sir2 gene and include SIRT1-7. Class IV HDACs, which contains only HDAC11, has features of both Class I and II HDACs. The term “HDAC” refers to any one or more of the 18 known histone deacetylases, unless otherwise specified.

The term “HDAC6 specific” means that the compound binds to HDAC6 to a substantially greater extent, such as 5X, 10X, 15X, 20X greater or more, than to any other type of HDAC enzyme, such as HDAC1 or HDAC2. That is, the compound is selective for HDAC6 over any other type of HDAC enzyme. For example, a compound that binds to HDAC6 with an IC_{50} of 10 nM and to HDAC1 with an IC_{50} of 50 nM is HDAC6 specific. On the other hand, a compound that binds to HDAC6 with an IC_{50} of 50 nM and to HDAC1 with an IC_{50} of 60 nM is not HDAC6 specific.

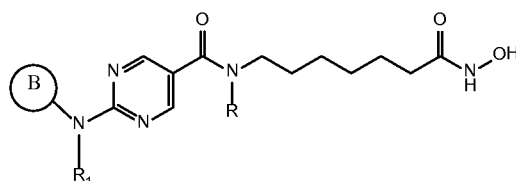
The term “inhibitor” is synonymous with the term antagonist.

Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitors

Provided herein are pharmaceutical combinations for the treatment of lymphoma in a subject in need thereof. Also provided herein are methods for treating lymphoma in a subject in need thereof.

The combinations and methods of the invention comprise a histone deacetylase (HDAC) inhibitor. The HDAC inhibitor may be any HDAC inhibitor. Thus, the HDAC inhibitor may be selective or non-selective to a particular type of histone deacetylase enzyme. Preferably, the HDAC inhibitor is a selective HDAC inhibitor. More preferably, the HDAC inhibitor is an HDAC6 inhibitor.

In some embodiments, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula I:



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,
wherein,

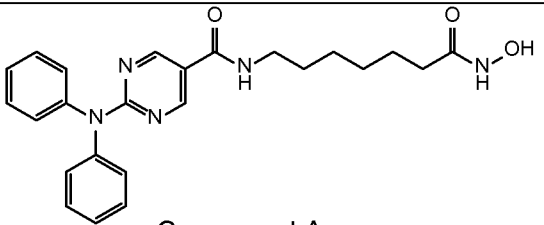
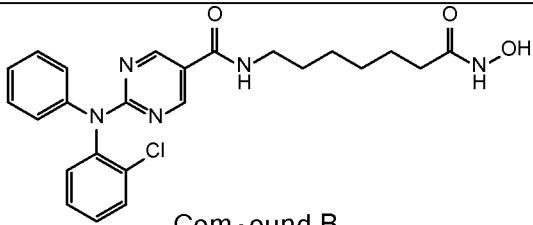
ring B is aryl or heteroaryl;

R₁ is an aryl or heteroaryl, each of which may be optionally substituted by OH, halo, or C₁₋₆-alkyl;

and

R is H or C₁₋₆-alkyl.

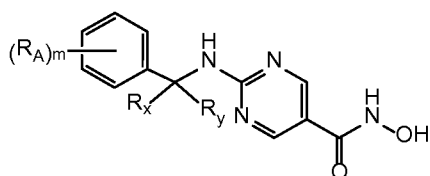
Representative compounds of Formula I include, but are not limited to:

 Compound A 2-(diphenylamino)-N-(7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl)pyrimidine-5-carboxamide IC₅₀(nM) HDAC6 = 10 HDAC3 = 84	 Compound B 2-((2-chlorophenyl)(phenyl)amino)-N-(7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl)pyrimidine-5-carboxamide IC₅₀(nM) HDAC6 = 4 HDAC3 = 76
--	--

or pharmaceutically acceptable salts thereof.

The preparation and properties of selective HDAC6 inhibitors according to Formula I are provided in International Patent Application No. PCT/US2011/021982, the entire contents of which is incorporated herein by reference.

In other embodiments, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula II:



(II)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

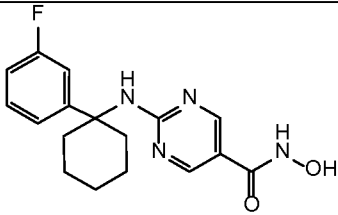
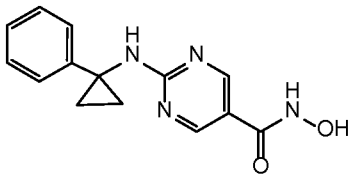
wherein,

R_x and R_y together with the carbon to which each is attached, form a cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, or cyclooctyl; each R_A is independently C₁₋₆-alkyl, C₁₋₆-alkoxy, halo, OH, -NO₂, -CN, or -

NH₂; and

m is 0, 1, or 2.

Representative compounds of Formula II include, but are not limited to:

 Compound C IC₅₀(nM) HDAC6 = 7 HDAC1 = 2123 (283.5x) HDAC2 = 2570 (9343.2x) HDAC3=11223 (1498.8x)	 Compound D IC₅₀(nM) HDAC6 = 2 HDAC1 = 94 (60x) HDAC2 = 128 (81.9x) HDAC3=219 (139.5x)
---	---

or pharmaceutically acceptable salts thereof.

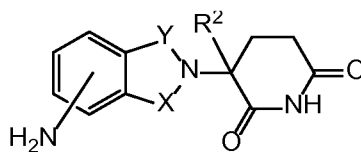
The preparation and properties of selective HDAC6 inhibitors according to Formula II are provided in International Patent Application No. PCT/US2011/060791, the entire contents of which are incorporated herein by reference.

In some embodiments, the compounds described herein are unsolvated. In other embodiments, one or more of the compounds are in solvated form. As known in the art, the solvate can be any of pharmaceutically acceptable solvent, such as water, ethanol, and the like.

Immunomodulatory Drugs (IMiDs)

The combinations and methods of the invention comprise an immunomodulatory drug (IMiD). The IMiD may be any immunomodulatory drug. Preferably, the IMiD is a thalidomide of Formula III.

In some embodiments, the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



(III)

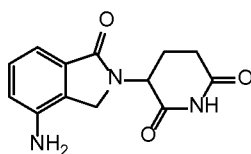
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

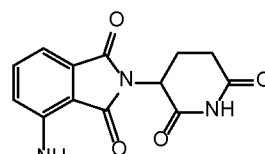
one of X and Y is C=O, the other of X and Y is CH₂ or C=O; and

R² is H or C₁₋₆-alkyl.

Representative compounds of Formula III include, but are not limited to:



Compound E



Compound F

or pharmaceutically acceptable salts thereof.

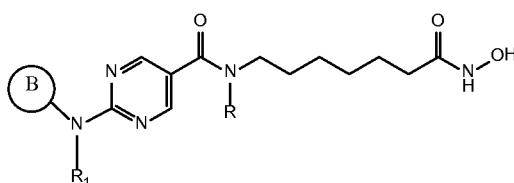
The preparation and properties of the immunomodulatory drugs according to Formula III are provided in U.S. Patent Nos. 5,635,517; 6,281,230; 6,335,349; and 6,476,052; as well as International Patent Application No. PCT/US97/013375, each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

In some embodiments, the compounds described herein are unsolvated. In other embodiments, one or more of the compounds are in solvated form. As known in the art, the solvate can be any of pharmaceutically acceptable solvent, such as water, ethanol, and the like.

Combinations/Pharmaceutical Combinations

Provided herein are combinations for the treatment of lymphoma in a subject in need thereof. Provided in some embodiments are combinations comprising a histone deacetylase (HDAC) inhibitor and an immunomodulatory drug (IMiD) for the treatment of lymphoma in a subject in need thereof.

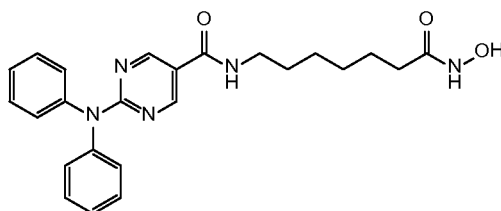
In some embodiments of the combinations, the HDAC inhibitor is an HDAC6 inhibitor. In specific embodiments, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula I:



(I)

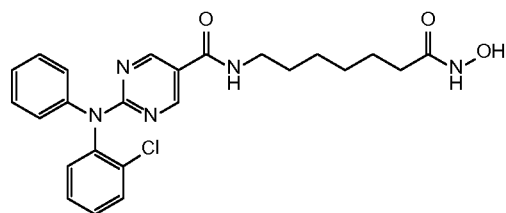
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In preferred embodiments, the compound of Formula I is:



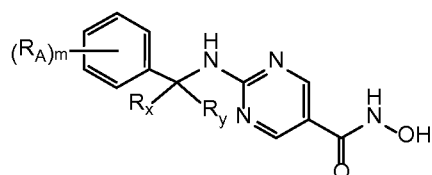
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In yet other embodiments, the compound of Formula I is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

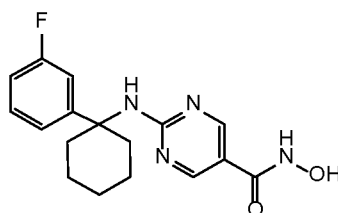
In other specific embodiments, the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula II:



(II)

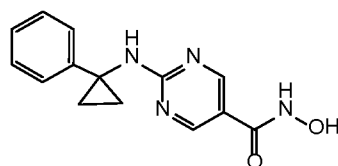
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In preferred embodiments, the compound of Formula II is:



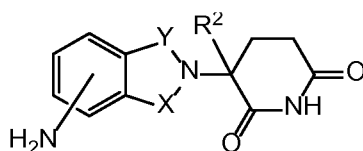
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In other preferred embodiments, the compound of Formula II is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

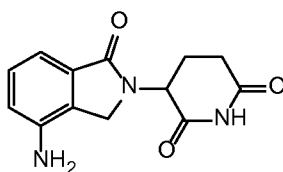
In some embodiments of the combinations, the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



(III)

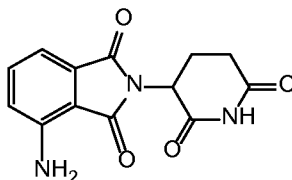
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In preferred embodiments, the compound of Formula III is:



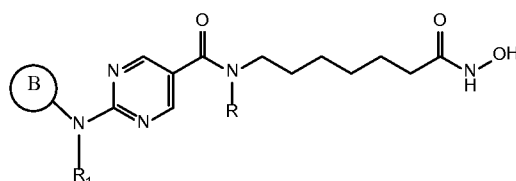
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In yet other preferred embodiments, the compound of Formula III is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In one embodiment, provided herein is a combination therapy comprising an HDAC6 specific inhibitor and an immunomodulatory drug, wherein the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula I:



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

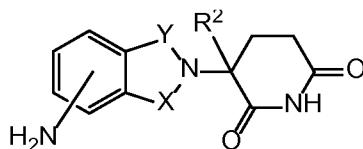
ring B is aryl or heteroaryl;

R₁ is an aryl or heteroaryl, each of which may be optionally substituted by OH, halo, or C₁₋₆-alkyl;

and

R is H or C₁₋₆-alkyl; and

the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



(III)

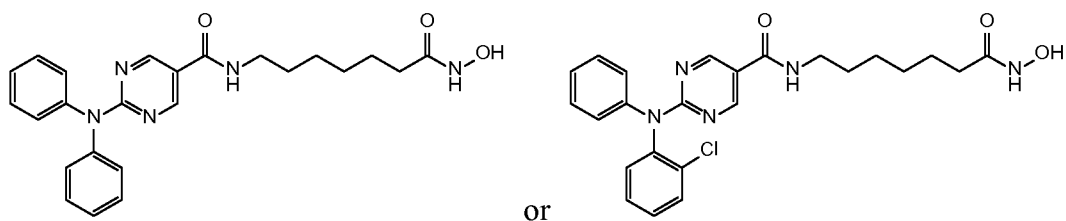
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

one of X and Y is C=O, the other of X and Y is CH₂ or C=O; and

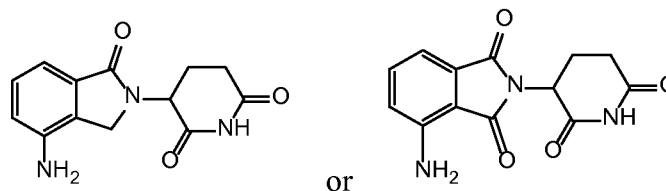
R² is H or C₁₋₆-alkyl.

In specific embodiments of the combinations, the HDAC6 specific inhibitor is:



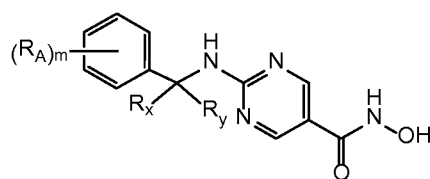
or pharmaceutically acceptable salts thereof; and

the immunomodulatory drug is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment, provided herein is a combination therapy comprising an HDAC6 specific inhibitor and an immunomodulatory drug, wherein the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula II:



(II)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

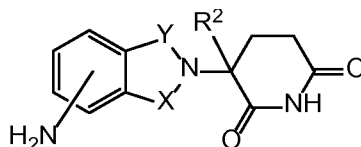
wherein,

R_x and R_y together with the carbon to which each is attached, form a cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, or cyclooctyl; each R_A is independently C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkoxy, halo, OH, $-NO_2$, $-CN$, or $-NH_2$; and

m is 0, 1, or 2; and

m is 0, 1, or 2; and

the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



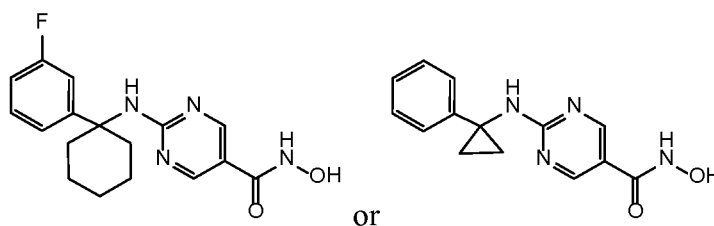
(III)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

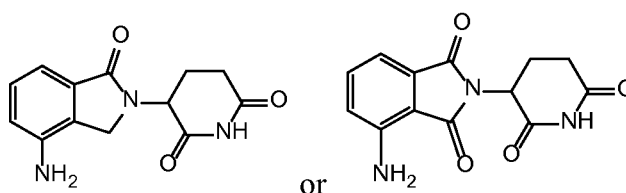
wherein,

one of X and Y is C=O, the other of X and Y is CH₂ or C=O; and
R² is H or C₁₋₆-alkyl.

In specific embodiments of the combinations, the HDAC6 specific inhibitor is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and
the immunomodulatory drug is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

Although the compounds of Formulas I, II, and III are depicted in their neutral forms, in some embodiments, these compounds are used in a pharmaceutically acceptable salt form. As used herein, “pharmaceutically acceptable salts” refers to derivatives of the disclosed compounds wherein the parent compound is modified by converting an existing acid or base moiety to its salt form. Examples of pharmaceutically acceptable salts include, but are not limited to, mineral or organic acid salts of basic residues such as amines; alkali or organic salts of acidic residues such as carboxylic acids; and the like. The pharmaceutically acceptable salts of the present invention include the conventional non-toxic salts of the parent compound formed, for example, from non-toxic inorganic or organic acids. The pharmaceutically acceptable salts of the present invention can be synthesized from the parent compound which contains a basic or acidic moiety by conventional chemical methods. Generally, such salts can be prepared by reacting the free acid or base forms of these compounds with a stoichiometric amount of the appropriate base or acid in water or in an organic solvent, or in a mixture of the two; generally, nonaqueous media like ether, ethyl acetate, ethanol, isopropanol, or acetonitrile are preferred. Lists of suitable salts are found in Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 and Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

Administration/Dose

In some embodiments, the HDAC inhibitor (a compound of Formula I or II) is administered simultaneously with the immunomodulatory drug (a compound of Formula III). Simultaneous administration typically means that both compounds enter the patient at precisely the same time. However, simultaneous administration also includes the possibility that the HDAC inhibitor and the IMiD enter the patient at different times, but the difference in time is sufficiently miniscule that the first administered compound is not provided the time to take effect on the patient before entry of the second administered compound. Such delayed times typically correspond to less than 1 minute, and more typically, less than 30 seconds. In one example, wherein the compounds are in solution, simultaneous administration can be achieved by administering a solution containing the combination of compounds. In another example, simultaneous administration of separate solutions, one of which contains the HDAC inhibitor and the other of which contains the IMiD, can be employed. In one example wherein the compounds are in solid form, simultaneous administration can be achieved by administering a composition containing the combination of compounds. Alternatively, simultaneous administration can be achieved by administering two separate compositions, one comprising the HDAC inhibitor and the other comprising the IMiD.

In other embodiments, the HDAC inhibitor and the IMiD are not administered simultaneously. In some embodiments, the HDAC inhibitor is administered before the IMiD. In other embodiments, the IMiD is administered before the HDAC inhibitor. The time difference in non-simultaneous administrations can be greater than 1 minute, five minutes, 10 minutes, 15 minutes, 30 minutes, 45 minutes, 60 minutes, two hours, three hours, six hours, nine hours, 12 hours, 24 hours, 36 hours, or 48 hours. In other embodiments, the first administered compound is provided time to take effect on the patient before the second administered compound is administered. Generally, the difference in time does not extend beyond the time for the first administered compound to complete its effect in the patient, or beyond the time the first administered compound is completely or substantially eliminated or deactivated in the patient.

In some embodiments, one or both of the HDAC inhibitor and immunomodulatory drug are administered in a therapeutically effective amount or dosage. A “therapeutically effective amount” is an amount of HDAC6 inhibitor (a compound of Formula I or II) or an immunomodulatory drug (a compound of Formula III) that, when administered to a patient by itself, effectively treats the lymphoma. An amount that proves to be a “therapeutically effective amount” in a given instance, for a particular subject, may not be effective for 100%

of subjects similarly treated for the disease or condition under consideration, even though such dosage is deemed a “therapeutically effective amount” by skilled practitioners. The amount of the compound that corresponds to a therapeutically effective amount is strongly dependent on the type of cancer, stage of the cancer, the age of the patient being treated, and other facts. In general, therapeutically effective amounts of these compounds are well-known in the art, such as provided in the supporting references cited above.

In other embodiments, one or both of the HDAC inhibitor and immunomodulatory drug are administered in a sub-therapeutically effective amount or dosage. A sub-therapeutically effective amount is an amount of HDAC inhibitor (a compound of Formula I or II) or an immunomodulatory drug (a compound of Formula III) that, when administered to a patient by itself, does not completely inhibit over time the biological activity of the intended target.

Whether administered in therapeutic or sub-therapeutic amounts, the combination of the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug should be effective in treating lymphoma. For example, a sub-therapeutic amount of a compound of Formula III (immunomodulatory drug) can be an effective amount if, when combined with a compound of Formula I or II (HDAC inhibitor), the combination is effective in the treatment of lymphoma.

In some embodiments, the combination of compounds exhibits a synergistic effect (*i.e.*, greater than additive effect) in the treatment of the lymphoma. The term “synergistic effect” refers to the action of two agents, such as, for example, a HDAC inhibitor and an IMiD, producing an effect, for example, slowing the symptomatic progression of cancer or symptoms thereof, which is greater than the simple addition of the effects of each drug administered by themselves. A synergistic effect can be calculated, for example, using suitable methods such as the Sigmoid-Emax equation (Holford, N. H. G. and Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), the equation of Loewe additivity (Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) and the median-effect equation (Chou, T. C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984)). Each equation referred to above can be applied to experimental data to generate a corresponding graph to aid in assessing the effects of the drug combination. The corresponding graphs associated with the equations referred to above are the concentration-effect curve, isobologram curve and combination index curve, respectively.

In different embodiments, depending on the combination and the effective amounts used, the combination of compounds can inhibit cancer growth, achieve cancer stasis, or even achieve substantial or complete cancer regression.

While the amounts of a HDAC inhibitor and an IMiD should result in the effective treatment of lymphoma, the amounts, when combined, are preferably not excessively toxic to the patient (*i.e.*, the amounts are preferably within toxicity limits as established by medical guidelines). In some embodiments, either to prevent excessive toxicity and/or provide a more efficacious treatment of lymphoma, a limitation on the total administered dosage is provided. Typically, the amounts considered herein are per day; however, half-day and two-day or three-day cycles also are considered herein.

Different dosage regimens may be used to treat lymphoma. In some embodiments, a daily dosage, such as any of the exemplary dosages described above, is administered once, twice, three times, or four times a day for three, four, five, six, seven, eight, nine, or ten days. Depending on the stage and severity of the cancer, a shorter treatment time (*e.g.*, up to five days) may be employed along with a high dosage, or a longer treatment time (*e.g.*, ten or more days, or weeks, or a month, or longer) may be employed along with a low dosage. In some embodiments, a once- or twice-daily dosage is administered every other day. In some embodiments, each dosage contains both an HDAC inhibitor and an IMiD to be delivered as a single dosage, while in other embodiments, each dosage contains either a HDAC inhibitor and an IMiD to be delivered as separate dosages.

Compounds of Formula I, II, or III, or their pharmaceutically acceptable salts or solvate forms, in pure form or in an appropriate pharmaceutical composition, can be administered via any of the accepted modes of administration or agents known in the art. The compounds can be administered, for example, orally, nasally, parenterally (intravenous, intramuscular, or subcutaneous), topically, transdermally, intravaginally, intravesically, intracisternally, or rectally. The dosage form can be, for example, a solid, semi-solid, lyophilized powder, or liquid dosage forms, such as for example, tablets, pills, soft elastic or hard gelatin capsules, powders, solutions, suspensions, suppositories, aerosols, or the like, preferably in unit dosage forms suitable for simple administration of precise dosages. A particular route of administration is oral, particularly one in which a convenient daily dosage regimen can be adjusted according to the degree of severity of the disease to be treated.

As discussed above, the HDAC inhibitor and the IMiD of the pharmaceutical combination can be administered in a single unit dose or separate dosage forms. Accordingly, the phrase “pharmaceutical combination” includes a combination of two

drugs in either a single dosage form or a separate dosage forms, *i.e.*, the pharmaceutically acceptable carriers and excipients described throughout the application can be combined with an HDAC inhibitor and an IMiD in a single unit dose, as well as individually combined with a HDAC inhibitor and an IMiD when these compounds are administered separately.

Auxiliary and adjuvant agents may include, for example, preserving, wetting, suspending, sweetening, flavoring, perfuming, emulsifying, and dispensing agents. Prevention of the action of microorganisms is generally provided by various antibacterial and antifungal agents, such as, parabens, chlorobutanol, phenol, sorbic acid, and the like. Isotonic agents, such as sugars, sodium chloride, and the like, may also be included. Prolonged absorption of an injectable pharmaceutical form can be brought about by the use of agents delaying absorption, for example, aluminum monostearate and gelatin. The auxiliary agents also can include wetting agents, emulsifying agents, pH buffering agents, and antioxidants, such as, for example, citric acid, sorbitan monolaurate, triethanolamine oleate, butylated hydroxytoluene, and the like.

Solid dosage forms can be prepared with coatings and shells, such as enteric coatings and others well-known in the art. They can contain pacifying agents and can be of such composition that they release the active compound or compounds in a certain part of the intestinal tract in a delayed manner. Examples of embedded compositions that can be used are polymeric substances and waxes. The active compounds also can be in microencapsulated form, if appropriate, with one or more of the above-mentioned excipients.

Liquid dosage forms for oral administration include pharmaceutically acceptable emulsions, solutions, suspensions, syrups, and elixirs. Such dosage forms are prepared, for example, by dissolving, dispersing, etc., the HDAC inhibitors or immunomodulatory drugs described herein, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and optional pharmaceutical adjuvants in a carrier, such as, for example, water, saline, aqueous dextrose, glycerol, ethanol and the like; solubilizing agents and emulsifiers, as for example, ethyl alcohol, isopropyl alcohol, ethyl carbonate, ethyl acetate, benzyl alcohol, benzyl benzoate, propyleneglycol, 1,3-butyleneglycol, dimethyl formamide; oils, in particular, cottonseed oil, groundnut oil, corn germ oil, olive oil, castor oil and sesame oil, glycerol, tetrahydrofurfuryl alcohol, polyethyleneglycols and fatty acid esters of sorbitan; or mixtures of these substances, and the like, to thereby form a solution or suspension.

Generally, depending on the intended mode of administration, the pharmaceutically acceptable compositions will contain about 1% to about 99% by weight of the compounds described herein, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and 99% to 1% by weight of a

pharmaceutically acceptable excipient. In one example, the composition will be between about 5% and about 75% by weight of a compound described herein, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, with the rest being suitable pharmaceutical excipients.

Actual methods of preparing such dosage forms are known, or will be apparent, to those skilled in this art. Reference is made, for example, to Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990).

Methods of Treatment

The invention relates to methods for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a pharmaceutical combination of the invention. Thus, provided herein are methods for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

The subject considered herein is typically a human. However, the subject can be any mammal for which treatment is desired. Thus, the methods described herein can be applied to both human and veterinary applications.

The terms "treating" or "treatment" indicates that the method has, at the least, mitigated abnormal cellular proliferation. For example, the method can reduce the rate of lymphoma growth in a patient, or prevent the continued growth or spread of the lymphoma, or even reduce the overall reach of the lymphoma.

As such, in one embodiment, provided herein is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound A, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound E, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound A, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound F, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound B, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound E, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound B,

or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound F, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound C, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound E, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound C, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound F, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound D, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound E, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In another embodiment is a method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of Compound D, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and Compound F, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

In some embodiments of the methods, the subject was previously refractory to an immunomodulatory drug.

The invention relates to methods for decreasing cell cycle progression by administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

The invention relates to methods for increasing cellular apoptosis by administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

The invention relates to methods for suppressing transcriptional regulators in cancer by administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

Kits

In other embodiments, kits are provided. Kits according to the invention include package(s) comprising compounds or compositions of the invention. In some embodiments, kits comprise a HDAC inhibitor, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an IMiD or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The phrase “package” means any vessel containing compounds or compositions presented herein. In some embodiments, the package can be a box or wrapping. Packaging materials for use in packaging pharmaceutical products are well-known to those of skill in the art. Examples of pharmaceutical packaging materials include, but are not limited to, bottles, tubes, inhalers, pumps, bags, vials, containers, syringes, bottles, and any packaging material suitable for a selected formulation and intended mode of administration and treatment.

The kit can also contain items that are not contained within the package, but are attached to the outside of the package, for example, pipettes.

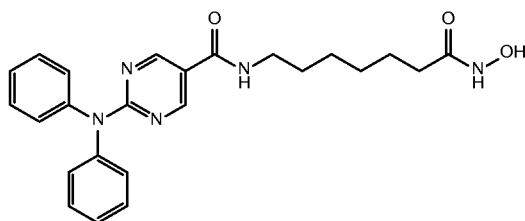
Kits can further contain instructions for administering compounds or compositions of the invention to a patient. Kits also can comprise instructions for approved uses of compounds herein by regulatory agencies, such as the United States Food and Drug Administration. Kits can also contain labeling or product inserts for the compounds. The package(s) and/or any product insert(s) may themselves be approved by regulatory agencies. The kits can include compounds in the solid phase or in a liquid phase (such as buffers provided) in a package. The kits can also include buffers for preparing solutions for conducting the methods, and pipettes for transferring liquids from one container to another.

EXAMPLES

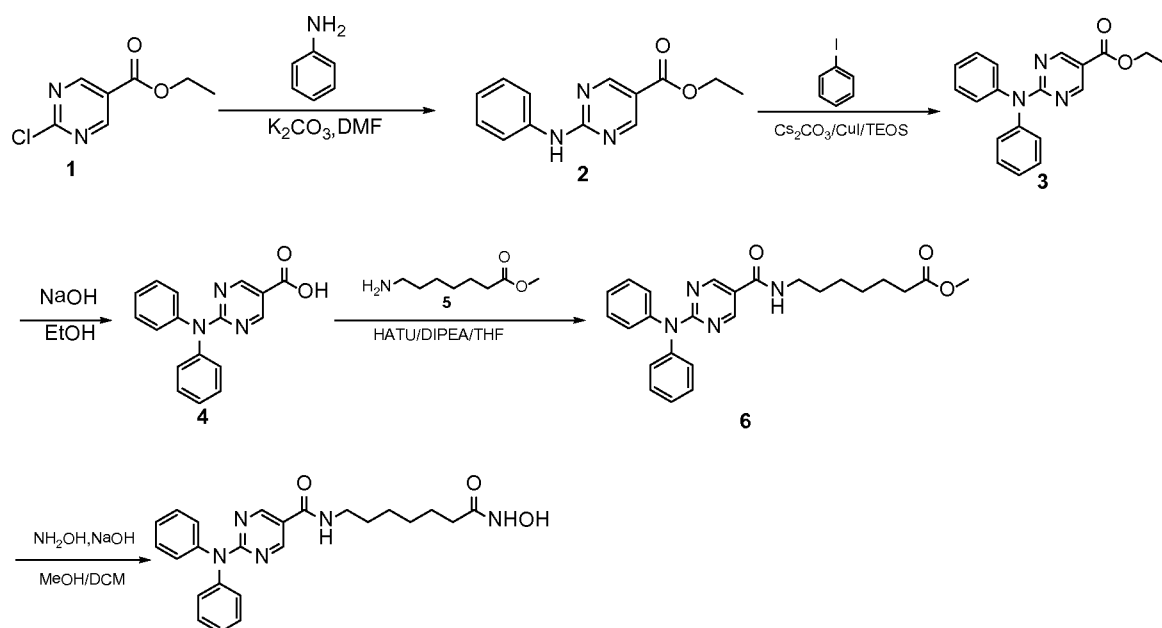
Examples have been set forth below for the purpose of illustration and to describe certain specific embodiments of the invention. However, the scope of the claims is not to be in any way limited by the examples set forth herein. Various changes and modifications to the disclosed embodiments will be apparent to those skilled in the art and such changes and modifications including, without limitation, those relating to the chemical structures, substituents, derivatives, formulations and/or methods of the invention may be made without departing from the spirit of the invention and the scope of the appended claims. Definitions of the variables in the structures in the schemes herein are commensurate with those of corresponding positions in the formulae presented herein.

The synthesis of the compounds of Formula I is provided in PCT/US2011/021982, which is incorporated herein by reference in its entirety. The synthesis of compounds of Formula II is provided in PCT/US2011/060791, which is incorporated herein by reference in its entirety. The synthesis of the compounds of Formula III is provided in U.S. Patent Nos. 5,635,517; 6,281,230; 6,335,349; and 6,476,052; and in International Patent Application No. PCT/US97/013375, each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

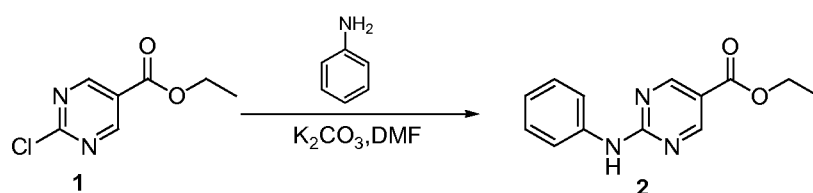
Example 1: Synthesis of 2-(diphenylamino)-N-(7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl)pyrimidine-5-carboxamide (Compound A)



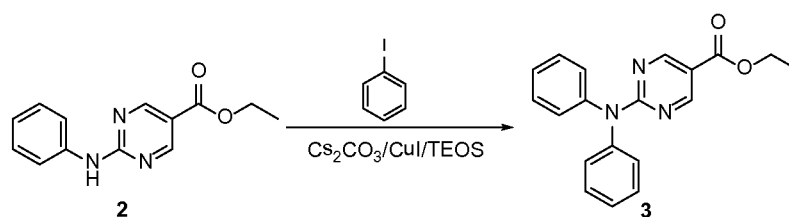
Reaction Scheme



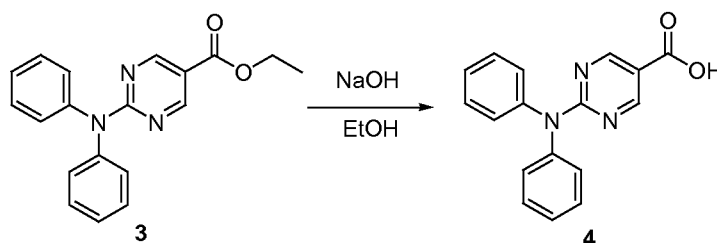
Synthesis of Intermediate 2



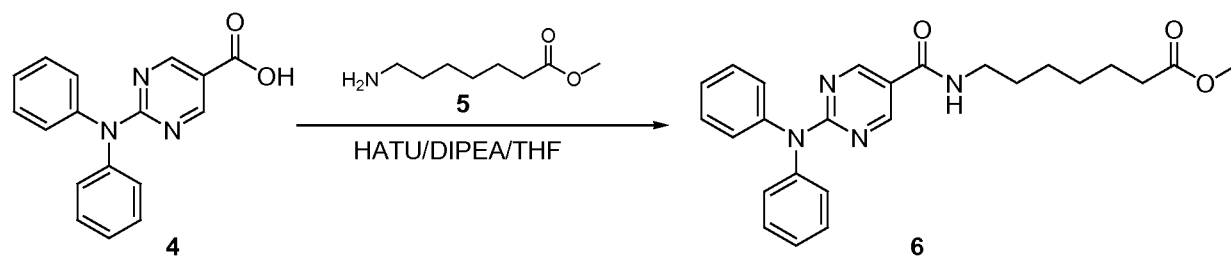
A mixture of aniline (3.7 g, 40 mmol), ethyl 2-chloropyrimidine-5-carboxylate **1** (7.5 g, 40 mmol), K_2CO_3 (11 g, 80 mmol) in DMF (100 ml) was degassed and stirred at 120 °C under N_2 overnight. The reaction mixture was cooled to rt and diluted with EtOAc (200 ml), then washed with saturated brine (200 ml x 3). The organic layer was separated and dried over Na_2SO_4 , evaporated to dryness and purified by silica gel chromatography (petroleum ethers/EtOAc = 10/1) to give the desired product as a white solid (6.2 g, 64 %).

Synthesis of Intermediate 3

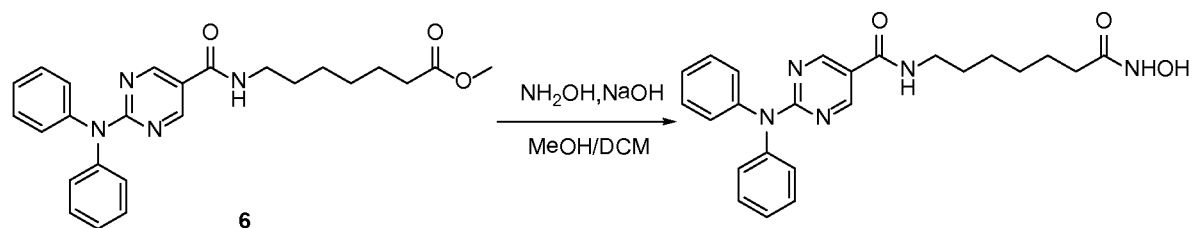
A mixture of the compound **2** (6.2 g, 25 mmol), iodobenzene (6.12 g, 30 mmol), CuI (955 mg, 5.0 mmol), Cs_2CO_3 (16.3 g, 50 mmol) in TEOS (200 ml) was degassed and purged with nitrogen. The resulting mixture was stirred at 140 °C for 14h. After cooling to rt, the residue was diluted with EtOAc (200 ml) and 95%EtOH (200 ml), $\text{NH}_4\text{F}\cdot\text{H}_2\text{O}$ on silica gel [50g, pre-prepared by the addition of NH_4F (100g) in water (1500 ml) to silica gel (500g, 100-200mesh)] was added, and the resulting mixture was kept at rt for 2 h, the solidified materials was filtered and washed with EtOAc. The filtrate was evaporated to dryness and the residue was purified by silica gel chromatography (petroleum ethers/EtOAc = 10/1) to give a yellow solid (3 g, 38 %).

Synthesis of Intermediate 4

2N NaOH (200 ml) was added to a solution of the compound **3** (3.0 g, 9.4 mmol) in EtOH (200 ml). The mixture was stirred at 60 °C for 30min. After evaporation of the solvent, the solution was neutralized with 2N HCl to give a white precipitate. The suspension was extracted with EtOAc (2 x 200 ml), and the organic layer was separated, washed with water (2 x 100 ml), brine (2 x 100 ml), and dried over Na_2SO_4 . Removal of solvent gave a brown solid (2.5 g, 92 %).

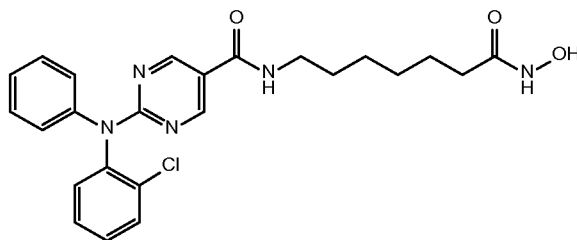
Synthesis of Intermediate 6

A mixture of compound **4** (2.5 g, 8.58 mmol), aminoheptanoate **5** (2.52 g, 12.87 mmol), HATU (3.91 g, 10.30 mmol), DIPEA (4.43 g, 34.32 mmol) was stirred at rt overnight. After the reaction mixture was filtered, the filtrate was evaporated to dryness and the residue was purified by silica gel chromatography (petroleum ethers/EtOAc = 2/1) to give a brown solid (2 g, 54 %).

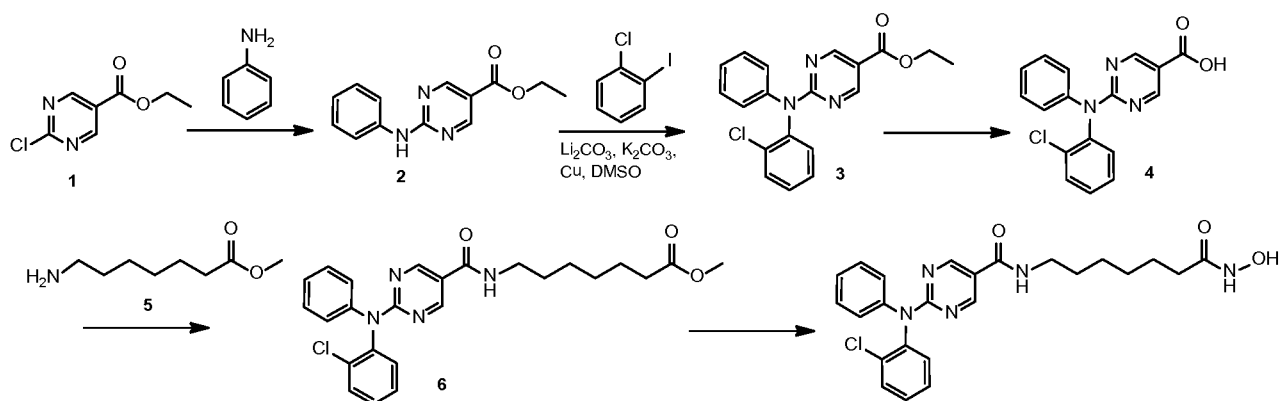
Synthesis of 2-(diphenylamino)-N-(7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl)pyrimidine-5-carboxamide

A mixture of the compound **6** (2.0 g, 4.6 mmol), sodium hydroxide (2N, 20 mL) in MeOH (50 ml) and DCM (25 ml) was stirred at 0 °C for 10min. Hydroxylamine (50%) (10 ml) was cooled to 0 °C and added to the mixture. The resulting mixture was stirred at rt for 20min. After removal of the solvent, the mixture was neutralized with 1M HCl to give a white precipitate. The crude product was filtered and purified by pre-HPLC to give a white solid (950 mg, 48%).

Example 2: Synthesis of 2-((2-chlorophenyl)(phenyl)amino)-N-(7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl)pyrimidine-5-carboxamide (Compound B)



Reaction Scheme:



Synthesis of Intermediate 2: See synthesis of intermediate **2** in Example 1.

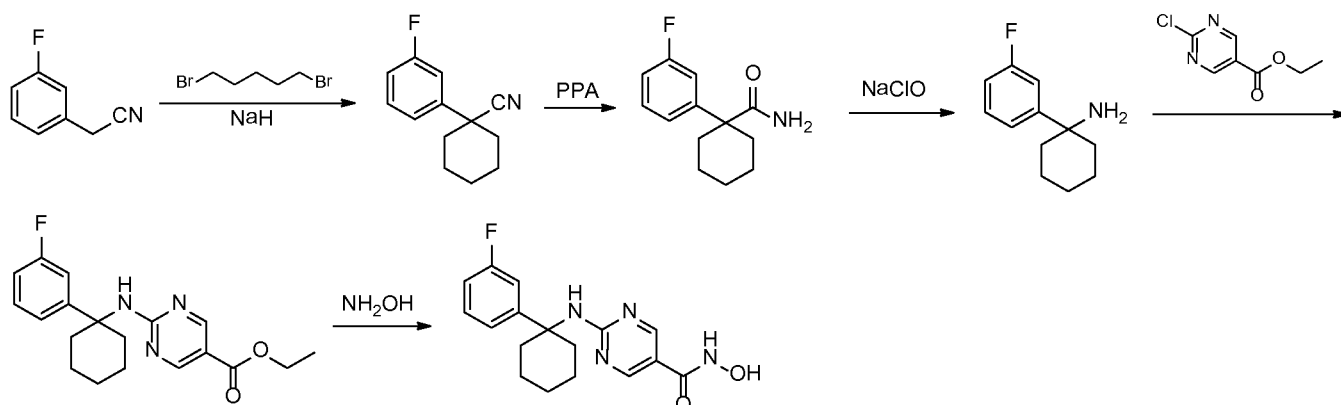
Synthesis of Intermediate 3: A mixture of compound **2** (69.2 g, 1 equiv.), 1-chloro-2-iodobenzene (135.7 g, 2 equiv.), Li_2CO_3 (42.04 g, 2 equiv.), K_2CO_3 (39.32 g, 1 equiv.), Cu (1 equiv. 45 μm) in DMSO (690 ml) was degassed and purged with nitrogen. The resulting mixture was stirred at 140 °C. Work-up of the reaction gave compound **3** at 93 % yield.

Synthesis of Intermediate 4: See synthesis of intermediate **4** in Example 1.

Synthesis of Intermediate 6: See synthesis of intermediate **6** in Example 1.

Synthesis of 2-((2-chlorophenyl)(phenyl)amino)-N-(7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl)pyrimidine-5-carboxamide (Compound B): See synthesis of **Compound A** in Example 1.

Example 3: Synthesis of 2-((1-(3-fluorophenyl)cyclohexyl)amino)-N-hydroxypyrimidine-5-carboxamide (Compound C)



Synthesis of 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanecarbonitrile:

To a solution of 2-(3-fluorophenyl)acetonitrile (100 g, 0.74 mol) in Dry DMF (1000 ml) was added 1,5-dibromopentane (170 g, 0.74 mol), NaH (65 g, 2.2 eq) was added dropwise at ice bath. After addition, the resulting mixture was vigorously stirred overnight at 50°C. The suspension was quenched by ice water carefully, extracted with ethyl acetate (3*500 ml). The combined organic solution was concentrate to afford the crude which was purified on flash column to give 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanecarbonitrile as pale solid (100 g, 67%).

Synthesis of 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanecarboxamide:

To a solution of 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanecarbonitrile (100 g, 0.49 mol) in PPA (500 ml) was heated at 110°C for about 5-6 hours. After completed, the resulting mixture was carefully basified with sat. NaHCO₃ solution until the PH=8-9. The precipitate was collected and washed with water (1000 ml) to afford 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanecarboxamide as white solid (95 g, 87%).

Synthesis of 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanamine:

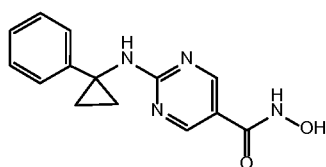
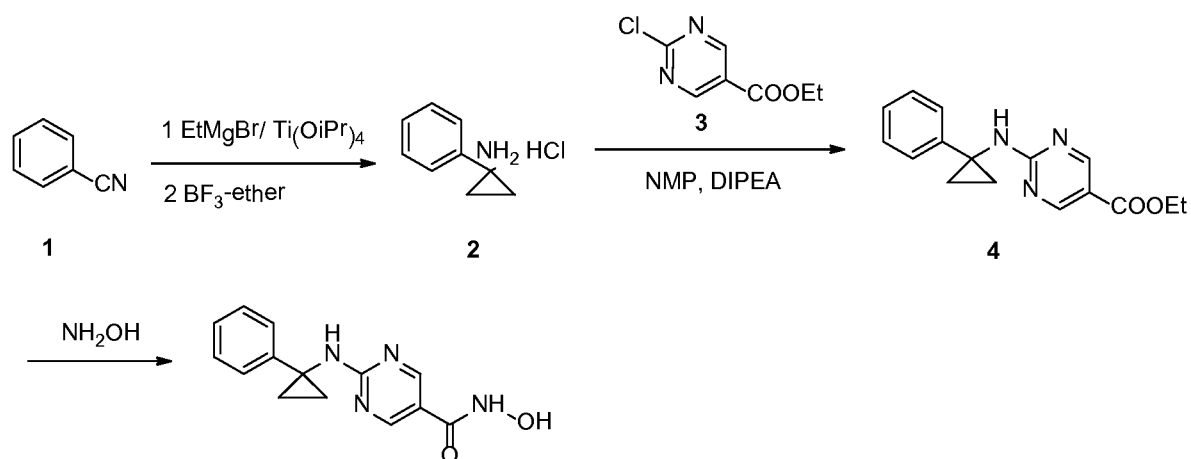
To a solution of 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanecarboxamide (95 g, 0.43 mol) in n-BuOH (800 ml) was added NaClO (260 ml, 1.4 eq), then 3N NaOH (400 ml, 2.8 eq) was added at 0°C and the reaction was stirred overnight at r.t. The resulting mixture was extracted with EA (2*500 ml), the combined organic solution was washed with brine, dried to afford the crude which was further purification on treating with HCl salt as white powder (72 g, 73%).

Synthesis of ethyl 2-(1-(3-fluorophenyl)cyclohexylamino)pyrimidine-5-carboxylate:

To a solution of 1-(3-fluorophenyl)cyclohexanamine hydrochloride (2.29 g 10 mmol) in Dioxane (50 ml) was added ethyl 2-chloropyrimidine-5-carboxylate (1.87 g, 1.0 eq) and DIPEA (2.58 g, 2.0 eq). The mixture was heated overnight at 110-120⁰C. The resulting mixture was directly purified on silica gel column to afford the coupled product as white solid (1.37 g, 40%)

Synthesis of 2-((1-(3-fluorophenyl)cyclohexyl)amino)-N-hydroxypyrimidine-5-carboxamide:

To a solution of ethyl 2-(1-(3-fluorophenyl)cyclohexylamino)pyrimidine-5-carboxylate (100 mg, 0.29 mmol) in MeOH/DCM(10 ml, 1:1) was added 50% NH₂OH in water (2 ml, excess), then sat. NaOH in MeOH (2 ml, excess) was added at 0⁰C and the reaction was stirred for 3-4 hours. After completed, the resulting mixture was concentrated and acidified with 2N HCl to the PH=4-5. The precipitate was collected and washed by water (10 ml) to remove the NH₂OH and dried to afford 2-((1-(3-fluorophenyl)cyclohexyl)amino)-N-hydroxypyrimidine-5-carboxamide as white powder (70 mg, 73%).

Example 4: Synthesis of N-hydroxy-2-((1-phenylcyclopropyl)amino)pyrimidine-5-carboxamide (Compound D)Reaction Scheme

Synthesis of Intermediate 2: A solution of compound **1**, benzonitrile, (250 g, 1.0 equiv.), and $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ (1330 ml, 1.5 equiv.) in MBTE (3750 ml) was cooled to about -10 to -5 °C under a nitrogen atmosphere. EtMgBr (1610 ml, 3.0M, 2.3 equiv.) was added dropwise over a period of 60 min., during which the inner temperature of the reaction was kept below 5 °C. The reaction mixture was allowed to warm to 15-20 °C for 1 hr. BF_3 -ether (1300 ml, 2.0 equiv.) was added dropwise over a period of 60 min., while the inner temperature was maintained below 15 °C. The reaction mixture was stirred at 15-20 °C for 1-2 hr. and stopped when a low level of benzonitrile remained. 1N HCl (2500 ml) was added dropwise while maintaining the inner temperature below 30 °C. NaOH (20%, 3000 ml) was added dropwise to bring the pH to about 9.0, while still maintaining a temperature below 30 °C. The reaction mixture was extracted with MTBE (3 L $\times$ 2) and EtOAc (3 L $\times$ 2), and the combined organic layers were dried with anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure (below 45 °C) to yield a red oil. MTBE (2500 ml) was added to the oil to give a clear solution, and upon bubbling with dry HCl gas, a solid precipitated. This solid was filtered and dried in vacuum yielding 143 g of compound **2**.

Synthesis of Intermediate 4: Compound **2** (620 g, 1.0 equiv) and DIPEA (1080 g, 2.2 equiv. were dissolved in NMP (3100 ml) and stirred for 20 min. Compound **3** (680 g, 1.02 equiv.) was added and the reaction mixture was heated to about 85-95 °C for 4 hrs. The solution was allowed to slowly cool to r.t. This solution was poured onto H_2O (20 L) and much of the solid was precipitated out from the solution with strong stirring. The mixture was filtered and the cake was dried under reduced pressure at 50 °C for 24 hr., yielding 896 g of compound **4** (solid, 86.8%).

Synthesis of N-hydroxy-2-((1-phenylcyclopropyl)amino)pyrimidine-5-carboxamide (Compound D): A solution of MeOH(1000 ml) was cooled to about 0-5 °C with stirring. $\text{NH}_2\text{OH HCl}$ (1107 g, 10 equiv.) was added, followed by careful addition of NaOCH_3 (1000 g, 12.0 equiv.) The resulting mixture was stirred at 0-5 °C for one hr, and was filtered to remove the solid. Compound **4** (450 g, 1.0 equiv.) was added to the reaction mixture in one portion, and stirred at 10 °C for two hours until compound **4** was consumed. The reaction mixture was adjusted to a pH of about 8.5-9 through addition of HCl (6N), resulting in precipitation. The mixture was concentrated under reduced pressure. Water (3000 ml) was

added to the residue with intense stirring and the precipitate was collected by filtration. The product was dried in an oven at 45 °C overnight (340 g, 79% yield).

Example 5: HDAC Enzyme Assays

Compounds for testing were diluted in DMSO to 50 fold the final concentration and a ten point three fold dilution series was made. The compounds were diluted in assay buffer (50 mM HEPES, pH 7.4, 100 mM KCl, 0.001% Tween-20, 0.05% BSA, 20 μ M TCEP) to 6 fold their final concentration. The HDAC enzymes (purchased from BPS Biosciences) were diluted to 1.5 fold their final concentration in assay buffer. The tripeptide substrate and trypsin at 0.05 μ M final concentration were diluted in assay buffer at 6 fold their final concentration. The final enzyme concentrations used in these assays were 3.3 ng/ml (HDAC1), 0.2 ng/ml (HDAC2), 0.08 ng/ml (HDAC3) and 2 ng/ml (HDAC6). The final substrate concentrations used were 16 μ M (HDAC1), 10 μ M (HDAC2), 17 μ M (HDAC3) and 14 μ M (HDAC6). Five μ l of compound and 20 μ l of enzyme were added to wells of a black, opaque 384 well plate in duplicate. Enzyme and compound were incubated together at room temperature for 10 minutes. Five μ l of substrate was added to each well, the plate was shaken for 60 seconds and placed into a Victor 2 microtiter plate reader. The development of fluorescence was monitored for 60 min and the linear rate of the reaction was calculated. The IC₅₀ was determined using Graph Pad Prism by a four parameter curve fit.

Example 6: HDAC6 Inhibitors Synergize with IMiDs in Lymphoma Cell Killing

In this experiment, it is shown that combining an HDAC6 inhibitor (**Compound A**, **Compound B**) with either lenalidomide (**Compound E**) or pomalidomide (**Compound F**) leads to synergistic decreases in the viability of the Mino and Jeko1 Mantle Cell Lymphoma (MCL) cells *in vitro*. The relevance of inhibition of HDAC6 to this synergistic effect was validated by demonstrating synergistic interactions of either IMiD molecule (lenalidomide or pomalidomide) with **Compound C**, which is more than 300-fold selective for HDAC6 over class I HDAC's.

Briefly, for viability assays, cells were seeded in 384-well plates and treated in quadruplicate in a dose-matrix format with an HDAC6 inhibitor (**Compound A**, **Compound B**, or **Compound C**) in combination with lenalidomide or pomalidomide. After incubating these cells for 72hr, total cell viability was assessed via an MTS assay (Aqueous One, Promega). The fraction affected (Fa) was subsequently determined for each dose

combination and the combination index (CI) was assessed using the method of Chou-Talalay. CI values less than one represent a synergistic effect, values equal to one suggest an additive effect, and values greater than two indicate an antagonistic effect. As can be seen in the Fa-CI plots in **Figures 1A-F**, all HDAC6 inhibitors showed strong evidence of synergy with the tested IMiDs across a broad range of Fa's. This is evidenced by the large number of data points (representing individual dose combinations) in the Fa-CI plot that fall below the highly stringent cutoff of 0.7.

Example 7: HDAC Inhibitors Act Synergistically to Promote Apoptosis in Combination with Immunomodulatory Drugs (IMiDs) in Mantle Cell Lymphoma (MCL) Cells

Histone deacetylase (HDAC) inhibitors have demonstrated significant clinical benefit as single agents in cutaneous and peripheral T cell lymphomas, and have received FDA approval for these indications. Ricolinostat (**Compound A**) is a first-in-class, orally available selective inhibitor of HDAC6 (approximately 11-fold selective over class I HDAC's). Described herein is an assessment of the potential activity of ricolinostat in MCL cell lines in combination with IMiDs.

Figures 2A-C show that treatment of mantle cell lymphoma cells with **Compound A** or **Compound B** and/or IMiDs resulted in decreased cell cycle progression. **Figure 2A** shows the effect of treatment of Jeko1 mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound B** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound B** with either IMiD on cell cycle inhibition. **Figure 2B** shows the effect of treatment of Mino mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound A** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound A** with either IMiD on cell cycle inhibition. **Figure 2C** shows the effect of treatment of Mino mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound B** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound B** with either IMiD on cell cycle inhibition.

Figures 3A-B show that treatment of mantle cell lymphoma cells with **Compound A** or **Compound B** and IMiDs resulted in synergistic increases in cellular apoptosis. **Figure 3A** shows the effect of treatment of Jeko1 mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO, **Compound A** (2 μ M), Lenalidomide (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound A** with either IMiD on the induction of apoptosis. **Figure 3B** shows the effect of treatment of Jeko1 mantle cell lymphoma cells for 4 days with DMSO,

Compound B (2 μ M), Pomalidomide (1 μ M), or combinations of **Compound B** with pomalidomide on the induction of apoptosis.

Figure 4 is a picture of an immunoblot from Jeko1 mantle cell lymphoma cells showing that the combination of **Compound A** and pomalidomide led to further suppression of MYC, IRF4, and IKZF3 expression, all of which are key transcriptional regulators in cancer. Markers of apoptosis (cleaved PARP) were also increased by combination treatment

Combination treatment of MCL lines with **Compounds A** and **B** and lenalidomide or pomalidomide in a dose-matrix format resulted in synergistic decreases in cell viability *in vitro*. Reduced cell growth was accompanied by increased apoptosis after combination treatment, as well as reduced expression of the critical oncogenic transcription factors MYC and IRF4. Overall, these data support the continued evaluation of the activity of **Compounds A** and **B** in mantle cell lymphoma in combination with either IMiDs.

Incorporation by Reference

The contents of all references (including literature references, issued patents, published patent applications, and co-pending patent applications) cited throughout this application are hereby expressly incorporated herein in their entireties. Unless otherwise defined, all technical and scientific terms used herein are accorded the meaning commonly known to one with ordinary skill in the art.

Equivalents

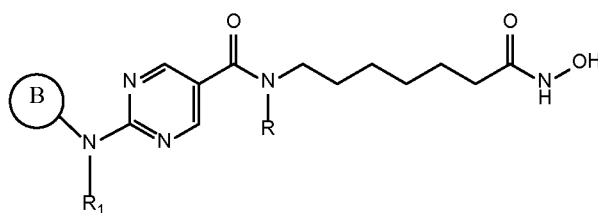
Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents of the specific embodiments of the invention described herein. Such equivalents are intended to be encompassed by the following claims.

CLAIMS

What is claimed is:

1. A pharmaceutical combination for treating lymphoma comprising a therapeutically effective amount of a histone deacetylase 6 (HDAC6) specific inhibitor or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an immunomodulatory drug (IMiD) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

2. The combination of claim 1, wherein the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula I:



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

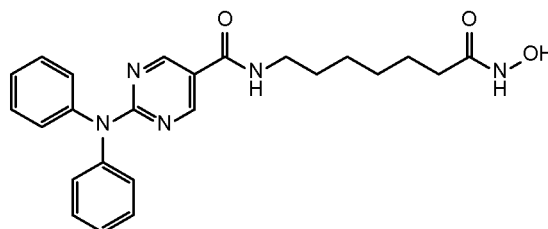
ring B is aryl or heteroaryl;

R₁ is an aryl or heteroaryl, each of which may be optionally substituted by OH, halo, or C₁₋₆-alkyl;

and

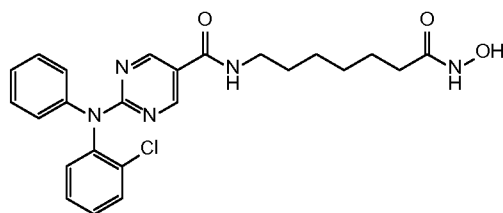
R is H or C₁₋₆-alkyl.

3. The combination of claim 2, wherein the compound of Formula I is:



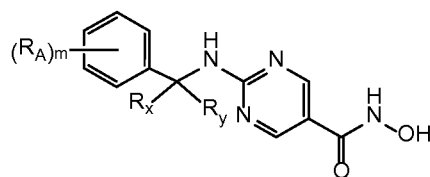
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

4. The combination of claim 2, wherein the compound of Formula I is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

5. The combination of claim 1, wherein the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula II:



(II)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

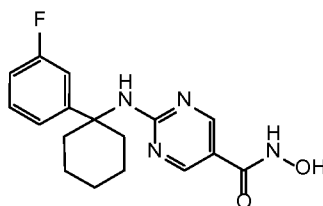
wherein,

R_x and R_y together with the carbon to which each is attached, form a cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, cyclooctyl;

each R_A is independently C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkoxy, halo, OH, $-NO_2$, $-CN$, or $-NH_2$; and

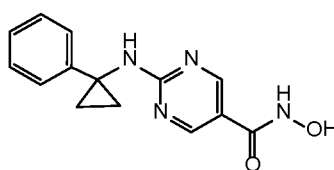
m is 0 or 1.

6. The combination of claim 5, wherein the compound of Formula II is:



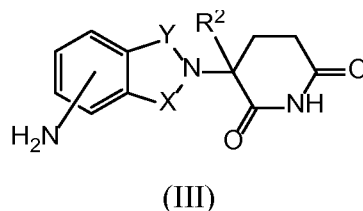
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

7. The combination of claim 5, wherein the compound of Formula II is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

8. The combination of claim 1, wherein the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



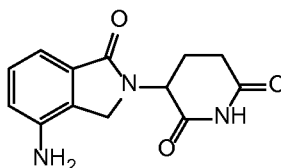
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

one of X and Y is C=O, the other of X and Y is CH₂ or C=O; and

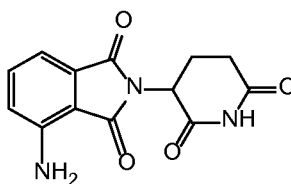
R² is H or C₁₋₆-alkyl.

9. The combination of claim 8, wherein the compound of Formula III is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

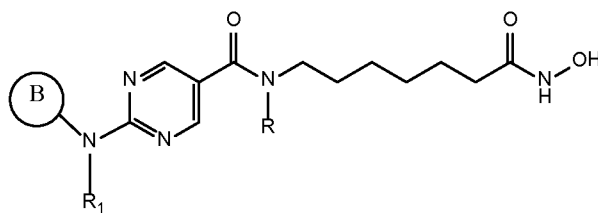
10. The combination of claim 8, wherein the compound of Formula III is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

11. A method for treating lymphoma in a subject in need thereof comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of a pharmaceutical combination comprising a histone deacetylase 6 (HDAC6) specific inhibitor or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an immunomodulatory drug (IMiD) or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

12. The method of claim 11, wherein the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula I:



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

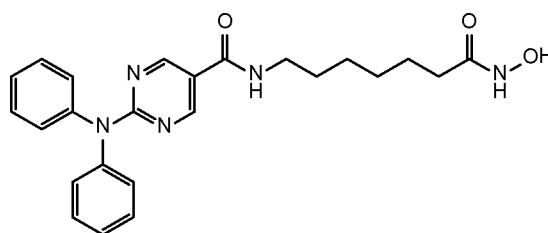
ring B is aryl or heteroaryl;

R₁ is an aryl or heteroaryl, each of which may be optionally substituted by OH, halo, or C₁₋₆-alkyl;

and

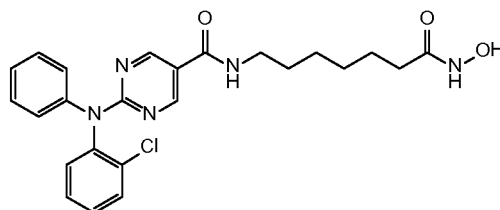
R is H or C₁₋₆-alkyl.

13. The method of claim 12, wherein the compound of Formula I is:



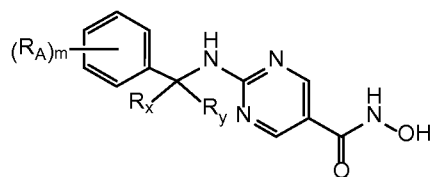
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

14. The method of claim 12, wherein the compound of Formula I is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15. The method of claim 11, wherein the HDAC6 specific inhibitor is a compound of Formula II:



(II)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

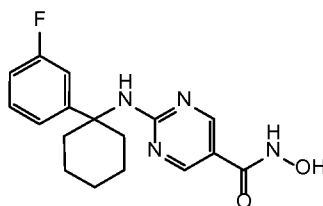
wherein,

R_x and R_y together with the carbon to which each is attached, form a cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, cyclooctyl;

each R_A is independently C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkoxy, halo, OH, $-NO_2$, $-CN$, or $-NH_2$; and

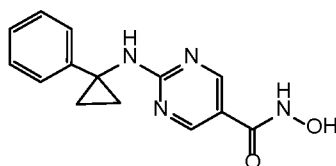
m is 0 or 1.

16. The method of claim 15, wherein the compound of Formula II is:



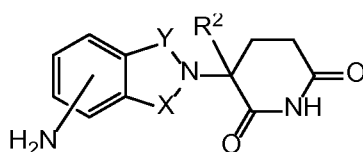
or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

17. The method of claim 15, wherein the compound of Formula II is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

18. The method of claim 11, wherein the immunomodulatory drug is a compound of Formula III:



(III)

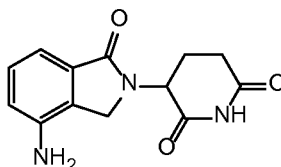
or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein,

one of X and Y is C=O, the other of X and Y is CH₂ or C=O; and

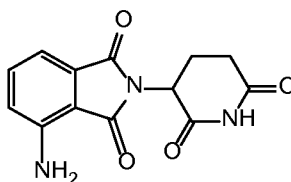
R² is H or C₁₋₆-alkyl.

19. The method of claim 18, wherein the compound of Formula III is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

20. The method of claim 18, wherein the compound of Formula III is:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

21. The method of claim 11, wherein the subject was previously refractory to an immunomodulatory drug.
22. The method of claim 11, wherein the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered in separate dosage forms.
23. The method of claim 11, wherein the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered in a single dosage form.
24. The method of claim 11, wherein the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug are administered at different times.
25. The method of claim 11, wherein the HDAC inhibitor and the immunomodulatory drug administered at substantially the same time.

26. A method for decreasing cell cycle progression comprising administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.
27. A method for increasing cellular apoptosis comprising administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.
28. A method for suppressing transcriptional regulators in cancer comprising administering a combination comprising an HDAC inhibitor and an immunomodulatory drug.

Figure 1A

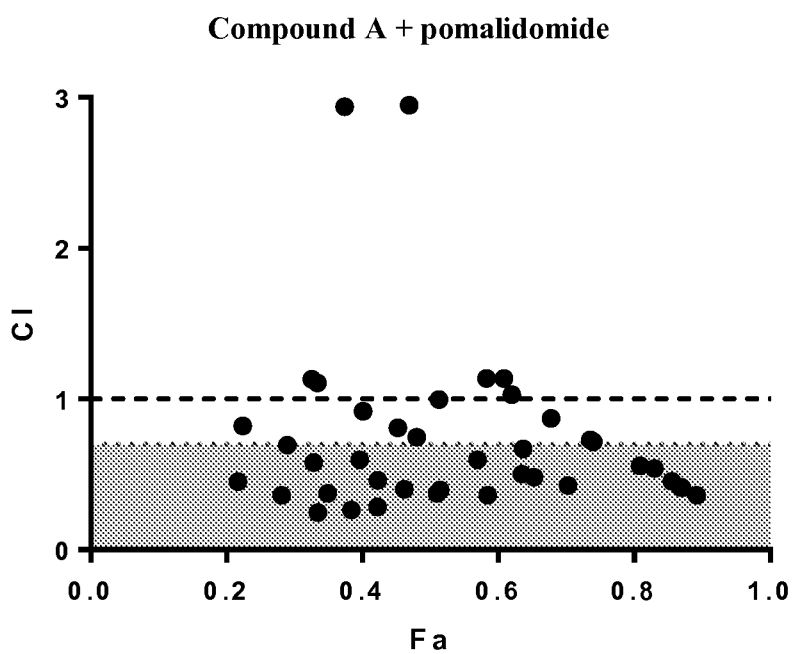
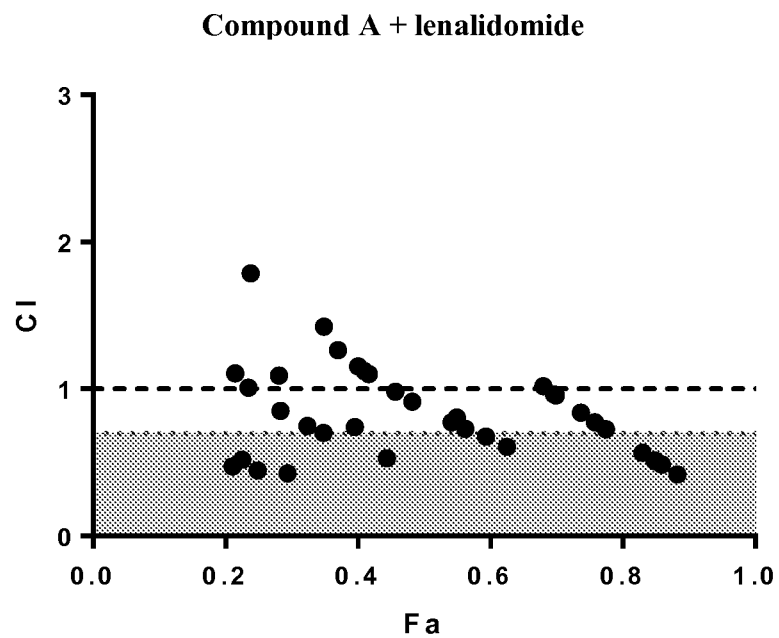


Figure 1B

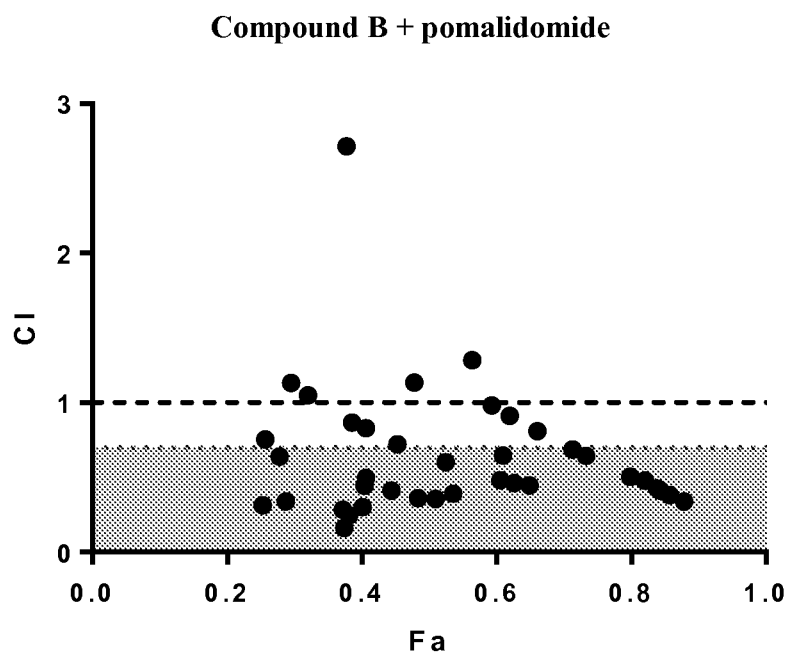
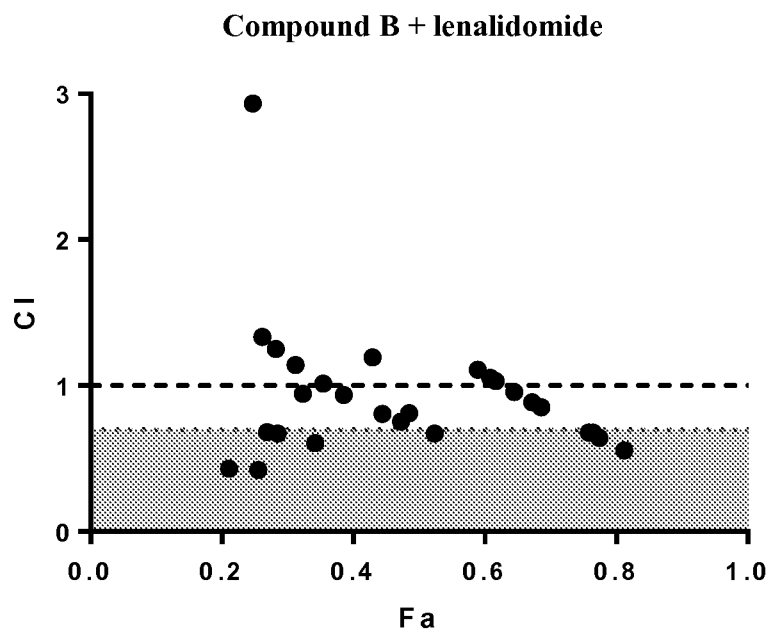


Figure 1C

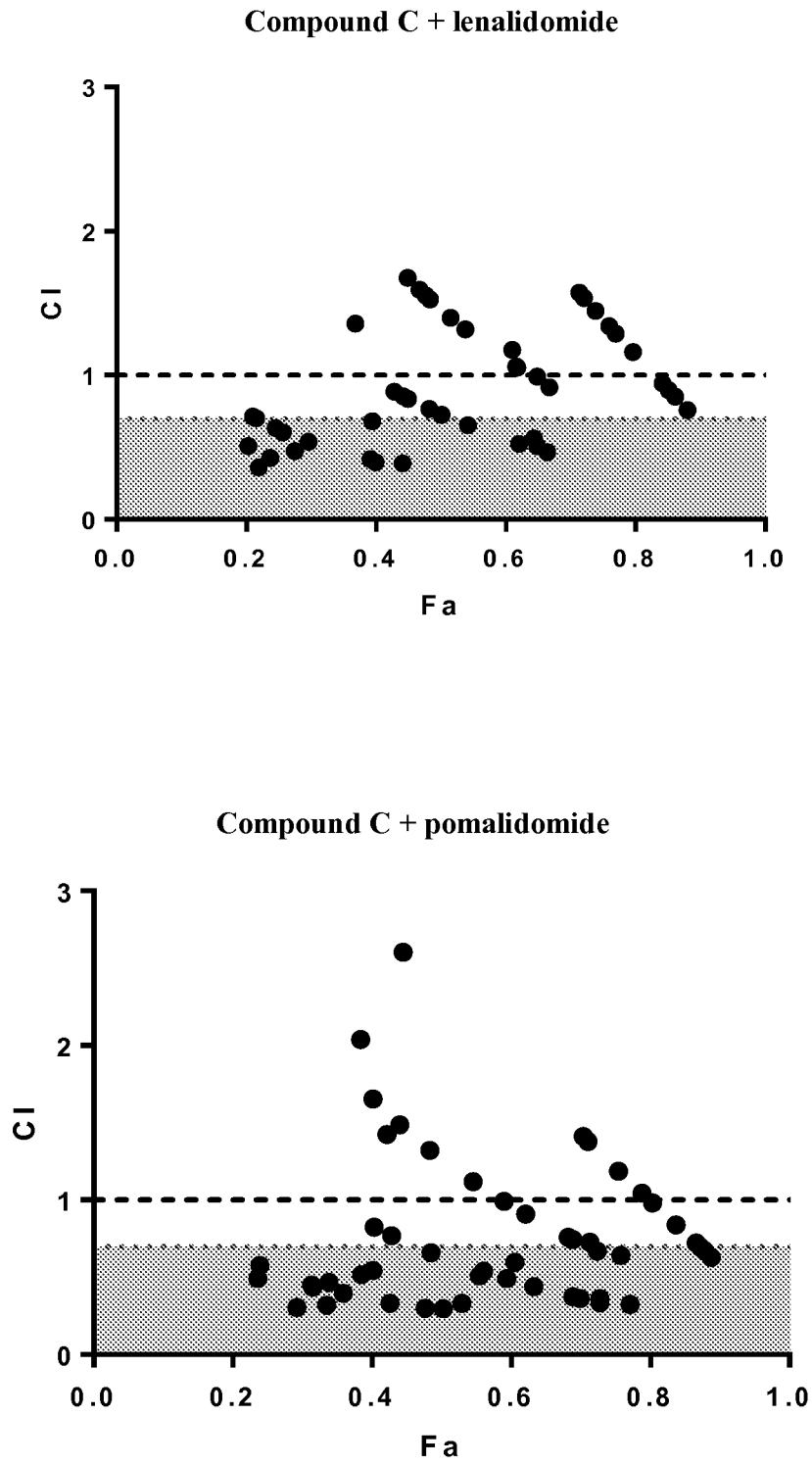


Figure 1D

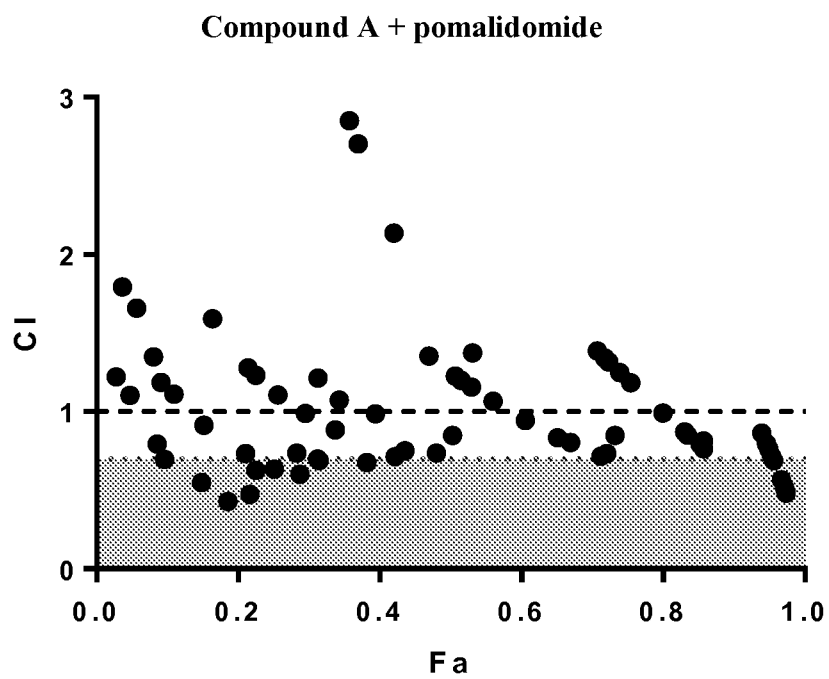


Figure 1E

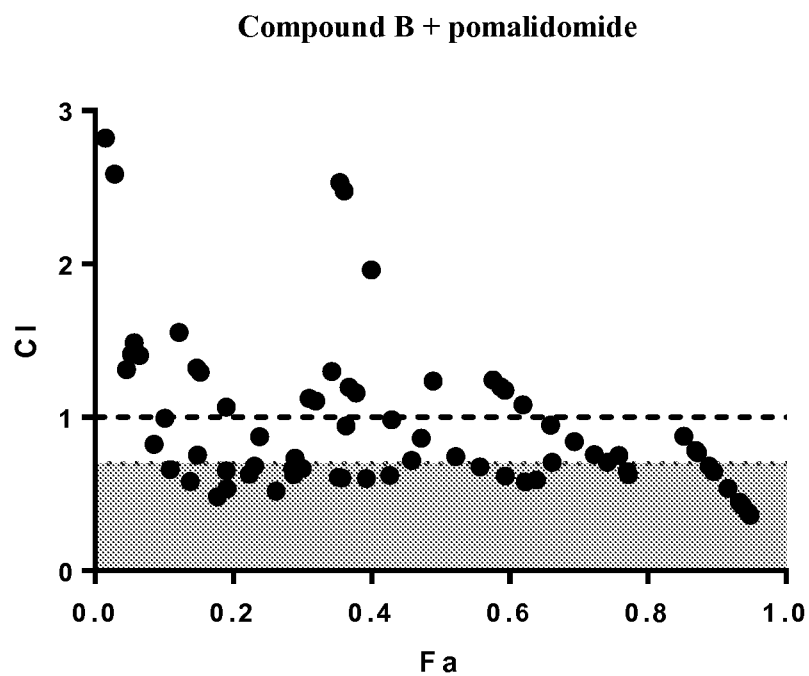
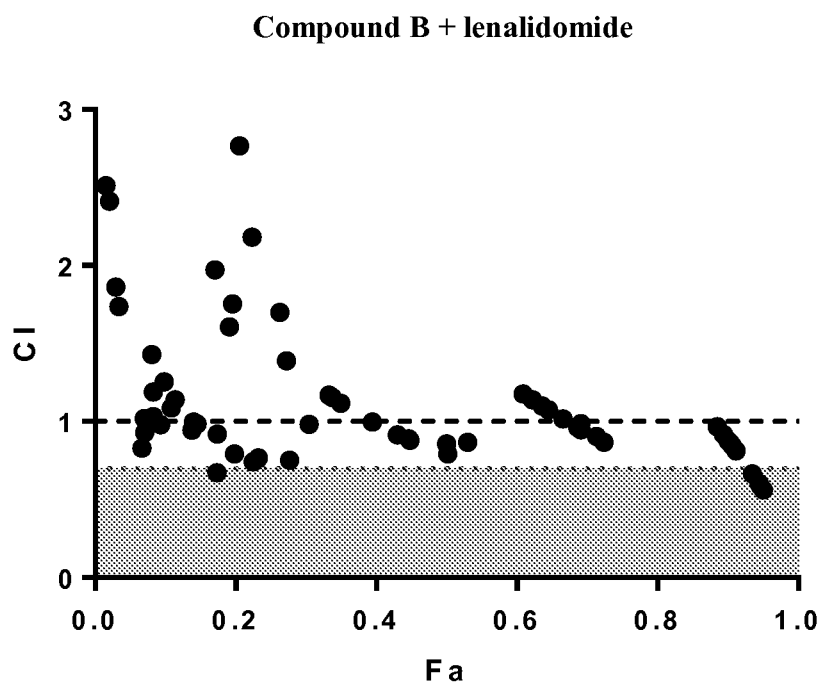
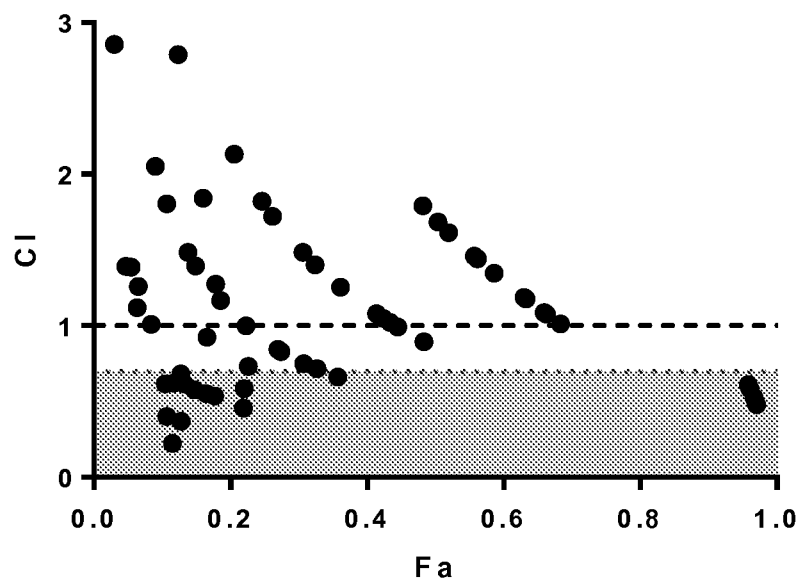


Figure 1F

Compound C + lenalidomide



Compound C + pomalidomide

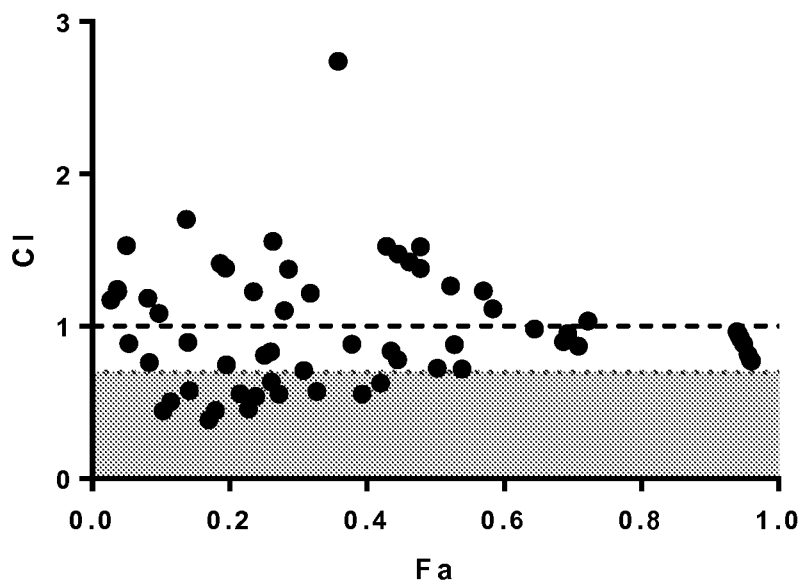
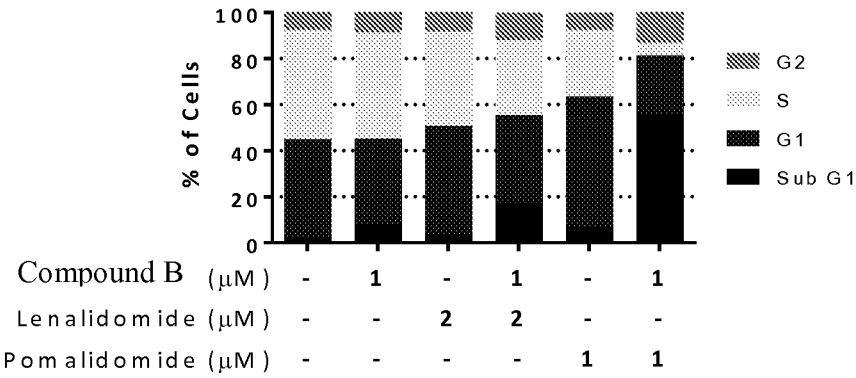
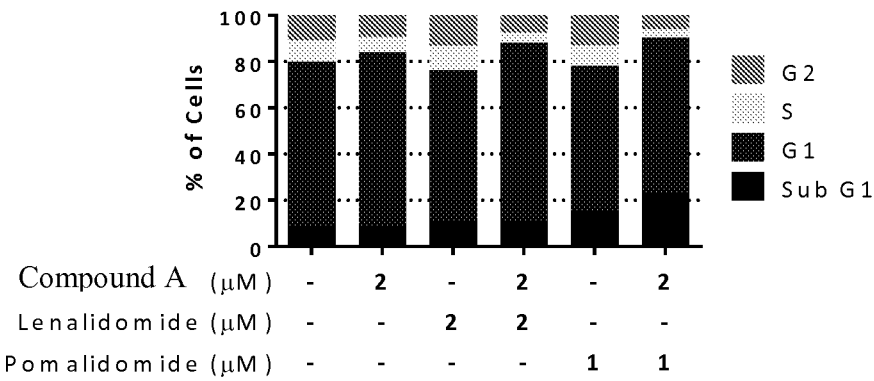


Figure 2

A



B



C

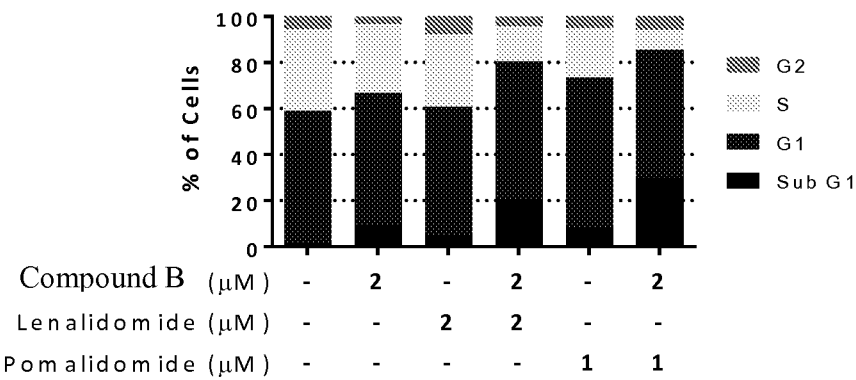
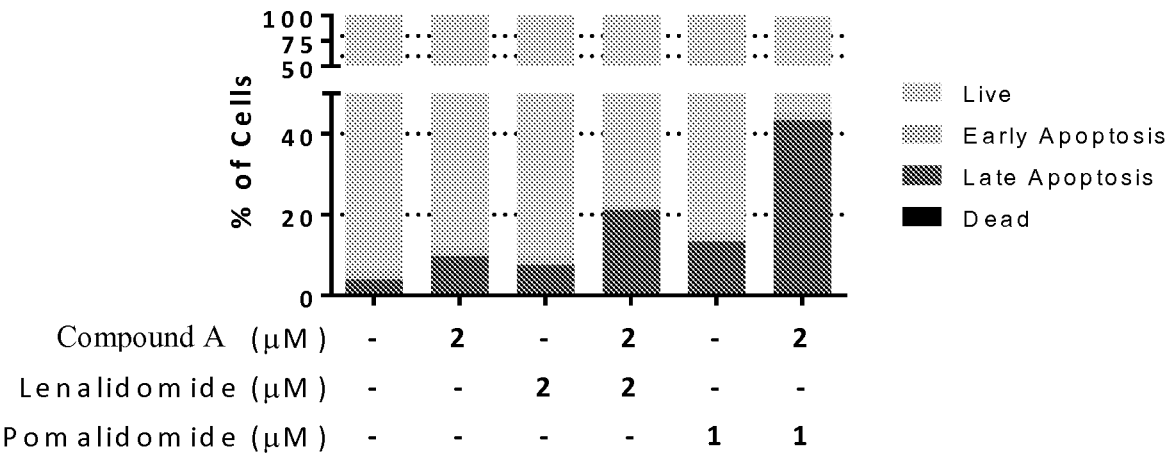


Figure 3

A



B

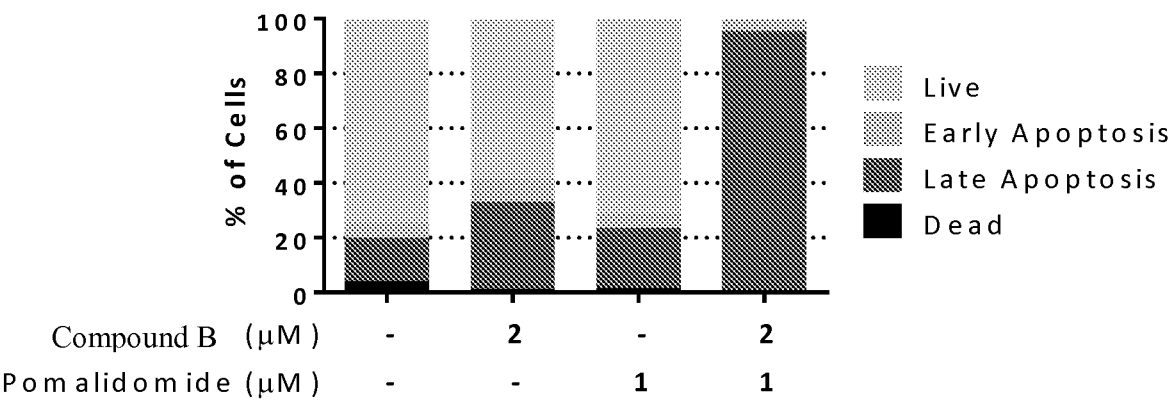
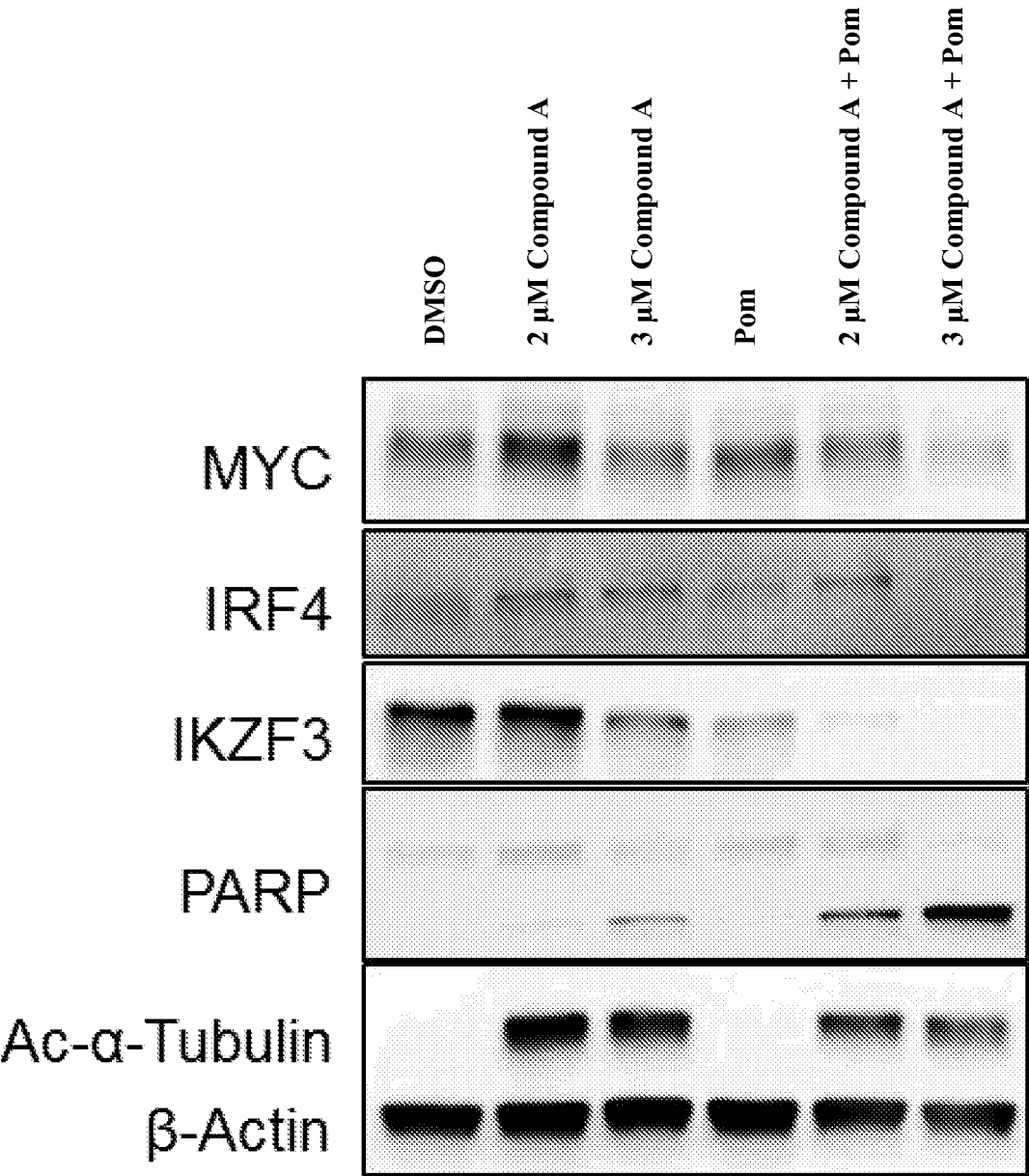


Figure 4



A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**A61K 31/505(2006.01)i, A61K 31/495(2006.01)i, A61K 31/16(2006.01)i, A61P 37/00(2006.01)i**

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/505; A61K 31/573; A61K 39/395; A61K 35/48; A61K 51/00; C07C 259/06; G01N 33/68; A61K 38/20; A61K 35/50; C07D 401/12; A61K 31/495; A61K 31/16; A61P 37/00

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

Korean utility models and applications for utility models

Japanese utility models and applications for utility models

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

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: histone deacetylase 6 inhibitor, immunomodulatory, lymphoma, Lenalidomide, pomalidomide

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013-0225543 A1 (JONES, S. S. et al.) 29 August 2013 See abstract; and paragraphs [0074], [0125]-[0132], [0150] and [0165]-[0169].	1-4
Y		8-10
A		5-7
X	US 2012-0121502 A1 (VAN DUZER, J. II et al.) 17 May 2012 See abstract; paragraphs [0260], [0291] and [0303]; and table 1.	1,5-7
Y		8-10
Y	US 2010-0098657 A1 (SCHAFER, P. H. et al.) 22 April 2010 See abstract; paragraphs [0170]-[0176]; and claims 13, 16 and 19.	8-10
A	WO 2013-013113 A2 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION) 24 January 2013 See abstract; page 22; and table 2.	1-10
A	US 2011-0280849 A1 (ZHANG, X. et al.) 17 November 2011 See abstract; and claims 1 and 3.	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 February 2015 (27.02.2015)

Date of mailing of the international search report

27 February 2015 (27.02.2015)

Name and mailing address of the ISA/KR

International Application Division
Korean Intellectual Property Office
189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. ++82 42 472 3473

Authorized officer

LEE, Jeong A

Telephone No. +82-42-481-8740



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2014/068263

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2013-0225543 A1	29/08/2013	WO 2012-018499 A2 WO 2012-018499 A3	09/02/2012 24/05/2012
US 2012-0121502 A1	17/05/2012	AU 2011-329028 A1 CA 2818125 A1 CL 2013001381 A1 CN 103429574 A EA 201390711 A1 EP 2640709 A2 EP 2640709 A4 IL 226326 D0 JP 2013-542994 A KR 10-2013-0115300 A MX 2013005392 A SG 190211 A1 US 2014-142104 A1 US 8614223 B2 WO 2012-068109 A2 WO 2012-068109 A3	30/05/2013 24/05/2012 11/04/2014 04/12/2013 31/03/2014 25/09/2013 02/04/2014 31/07/2013 28/11/2013 21/10/2013 29/07/2013 28/06/2013 22/05/2014 24/12/2013 24/05/2012 02/08/2012
US 2010-0098657 A1	22/04/2010	WO 2009-085262 A1	09/07/2009
WO 2013-013113 A2	24/01/2013	EP 2734500 A2 JP 2014-524922 A US 2014-0378385 A1 WO 2013-013113 A3	28/05/2014 25/09/2014 25/12/2014 14/03/2013
US 2011-0280849 A1	17/11/2011	None	

COLOMBIA

PODER

El (los)

Acetylon Pharmaceuticals, Inc.

Domiciliados en

70 Fargo Street, Suite 205
Boston, MA 02210
USA

Nombran por el presente a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la Calle 94A No. 7A-09, Bogotá-Colombia para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad Industrial e intelectual y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso –administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

- Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fabrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
- Para la obtención de protección de variedades vegetales
- Para la obtención de registros sanitarios;
- Para la obtención de registros de derechos de autor.
- Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso - administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato entre los apoderados, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extra-judiciales.

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy 4 de mayo de 2016

en Boston, Massachusetts

por John van Duzer

VP Senior, química y fabricación

CASTELLANOS & Co.
INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM

CALLE 94 A No. 7 A – 09 / P.O. BOX 6349
PHONE (57 1) 756 07 70 / FAX (57 1) 755 01 58
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA
castellanos@castellanosyco.co

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned

Acetylon Pharmaceuticals, Inc.

Of

70 Fargo Street, Suite 205
Boston, MA 02210
USA

hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS A. and for MARGARITA CASTELLANOS A.** attorneys residing at Calle 94A No. 7A-09, Bogotá- Colombia, to obtain the protection of my (our) Intellectual Property, for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

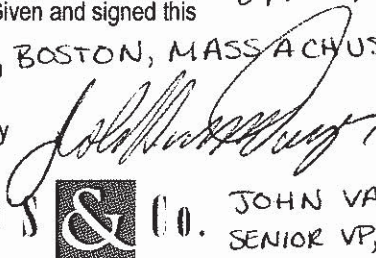
- Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
- For the obtainment of plant variety protection
- For the obtainment of Sanitary registrations;
- For the obtainment of copyright registrations
- Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of attorney within the appointed attorneys, compromise, cancel, receive, withdraw, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

Given and signed this 04 MAY 2016
in BOSTON, MASSACHUSETTS

by



JOHN VAN DUZER
SENIOR VP, CHEMISTRY

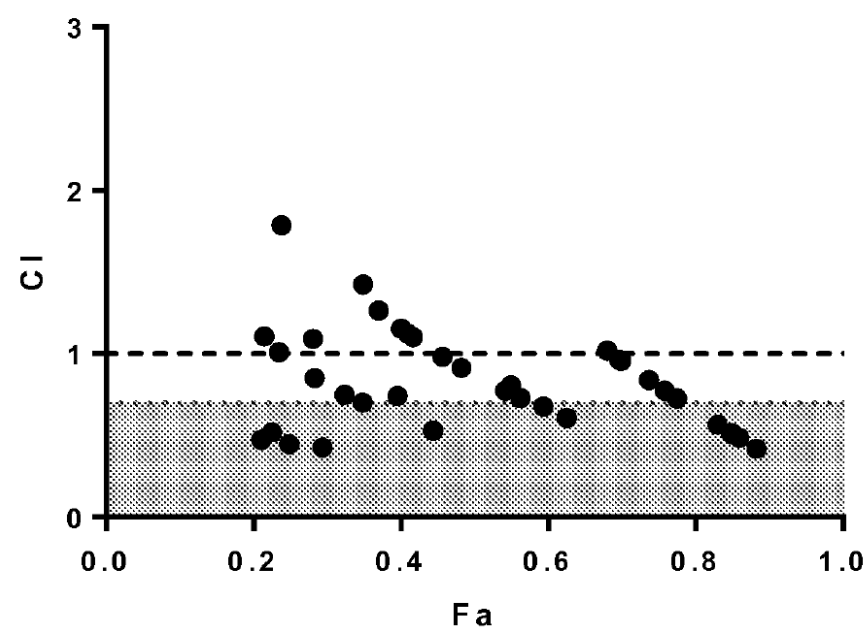
+ MANUFACTURING

RESUMEN

La invención se refiere a combinaciones que comprenden un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador para el tratamiento del linfoma en un sujeto que lo necesita. También
5 se proporcionan en la presente métodos para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprenden administrarle al sujeto una cantidad eficaz de una de las combinaciones anteriores.

Figura 1A

Compuesto A + lenalidomida



Compuesto A + pomalidomida

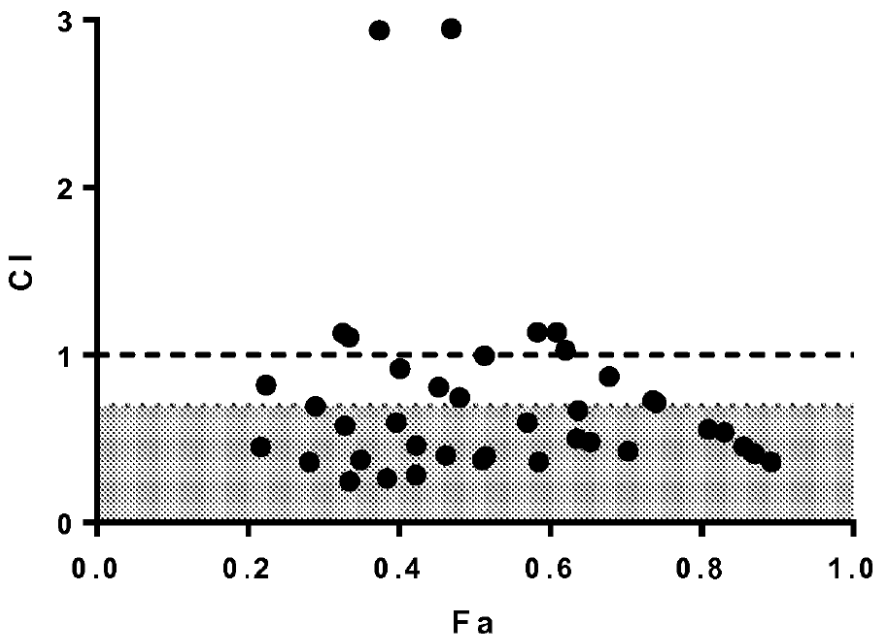


Figura 1B

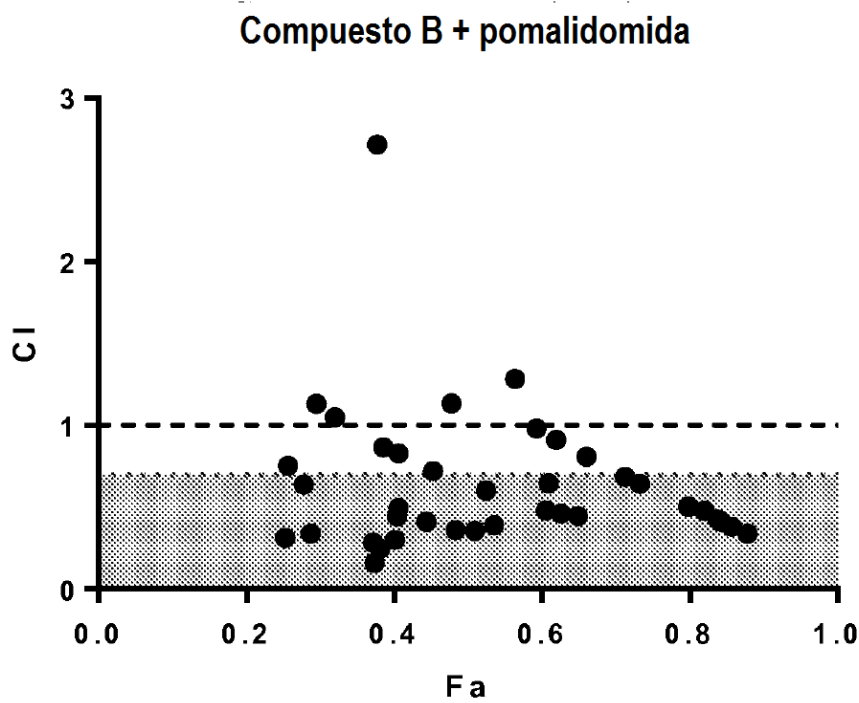
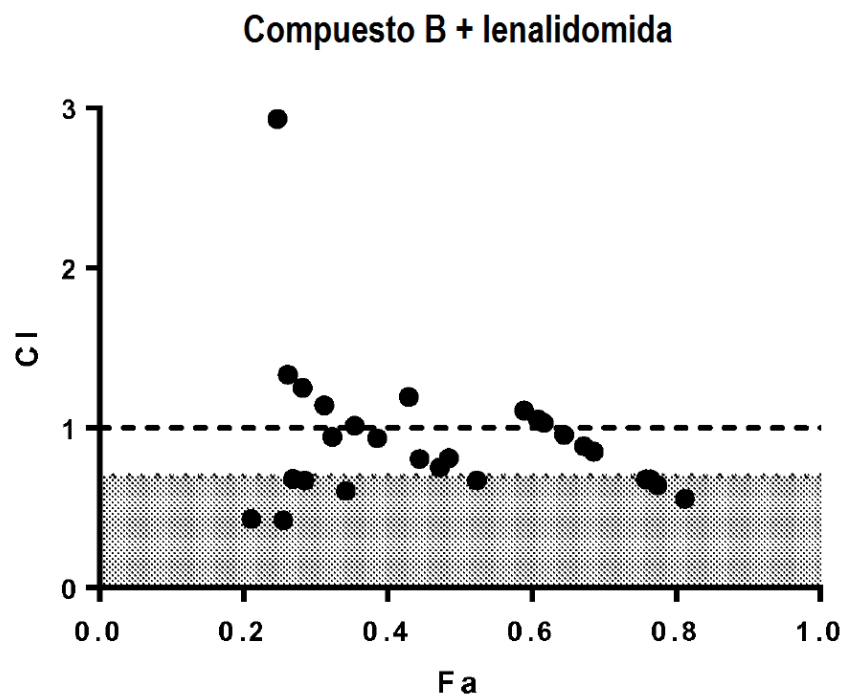


Figura 1C

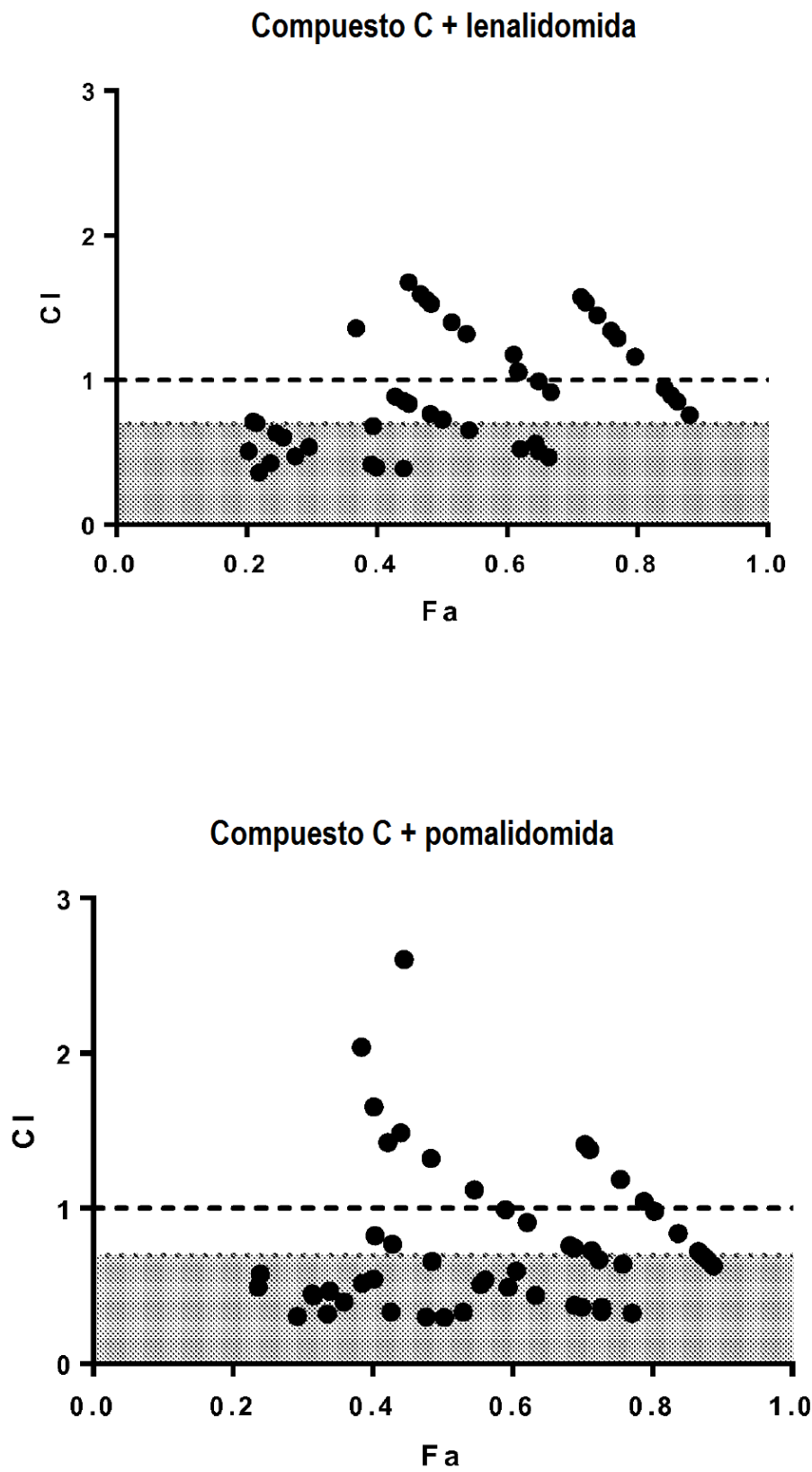


Figura 1D

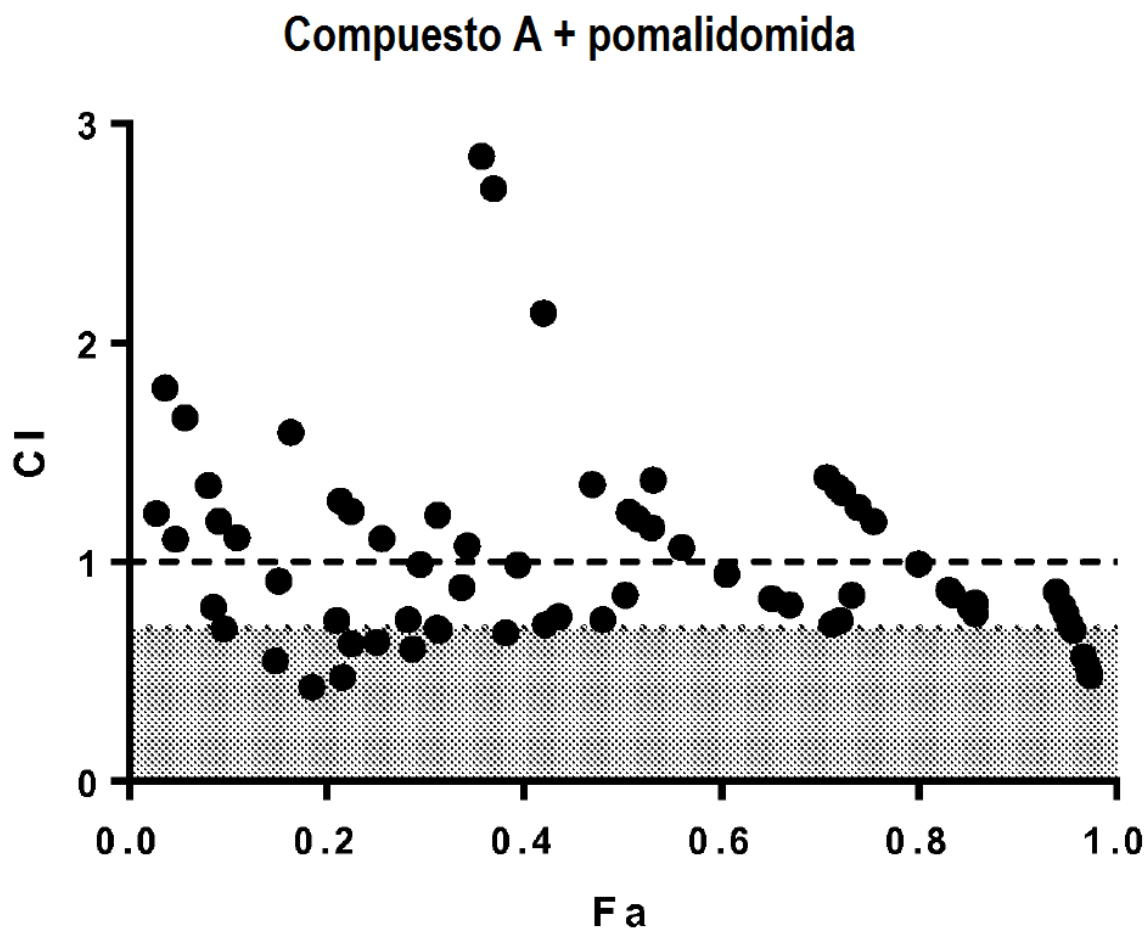


Figura 1E

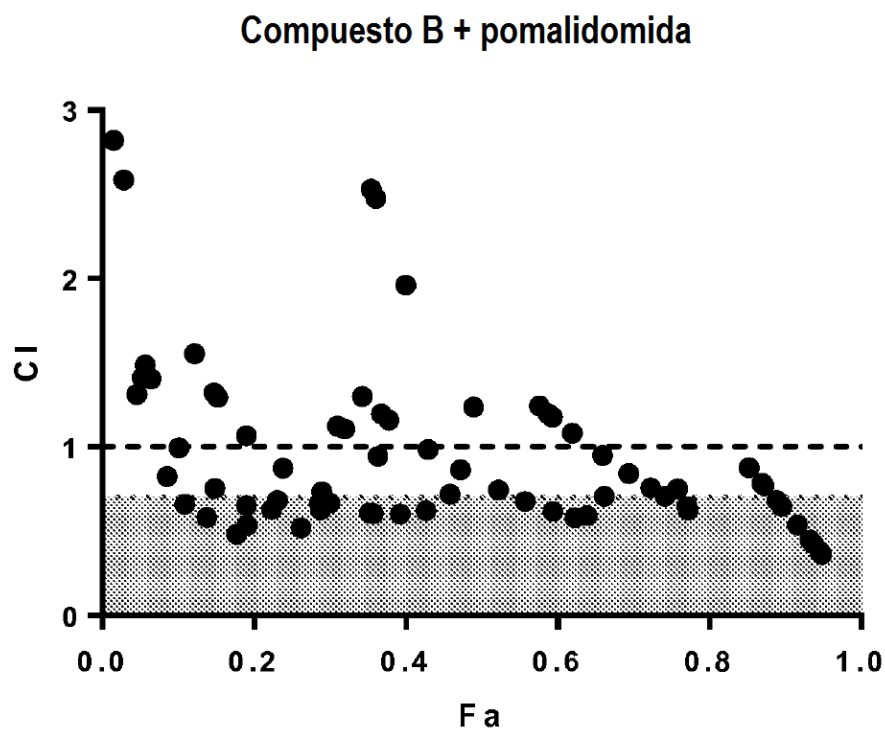
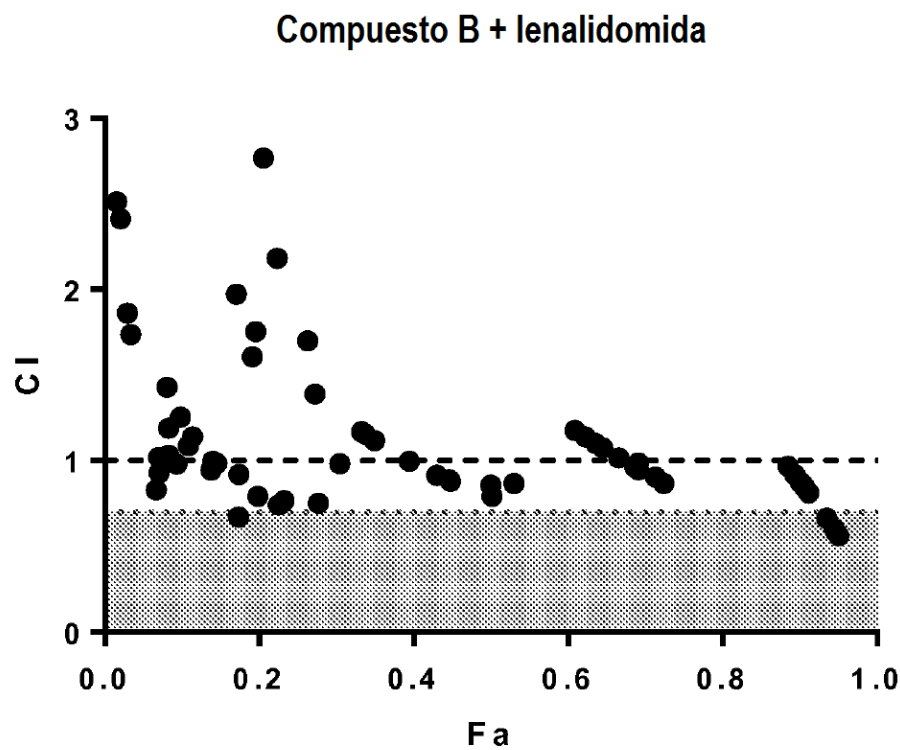


Figura 1F

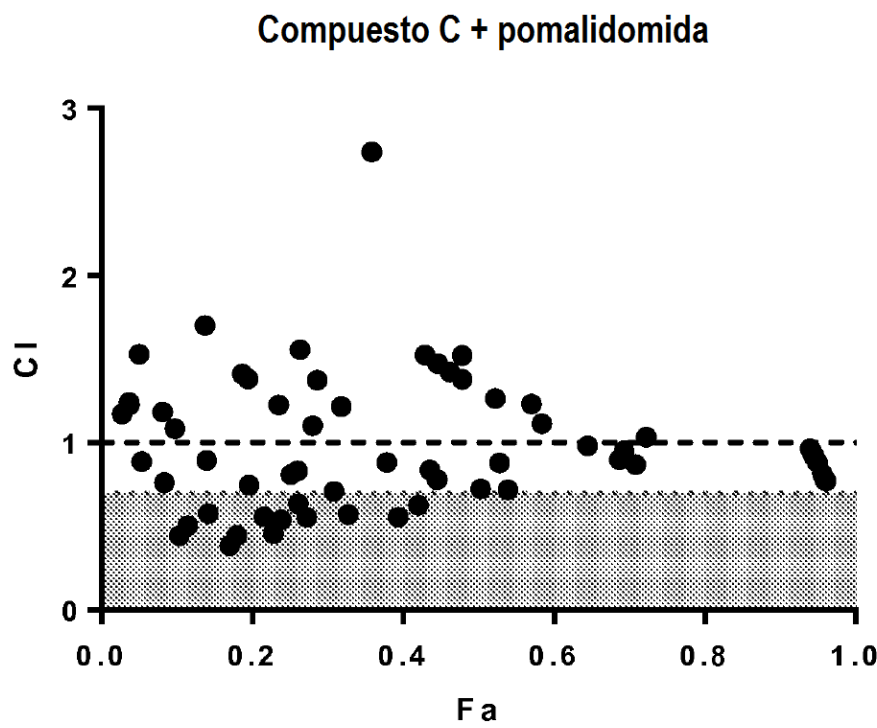
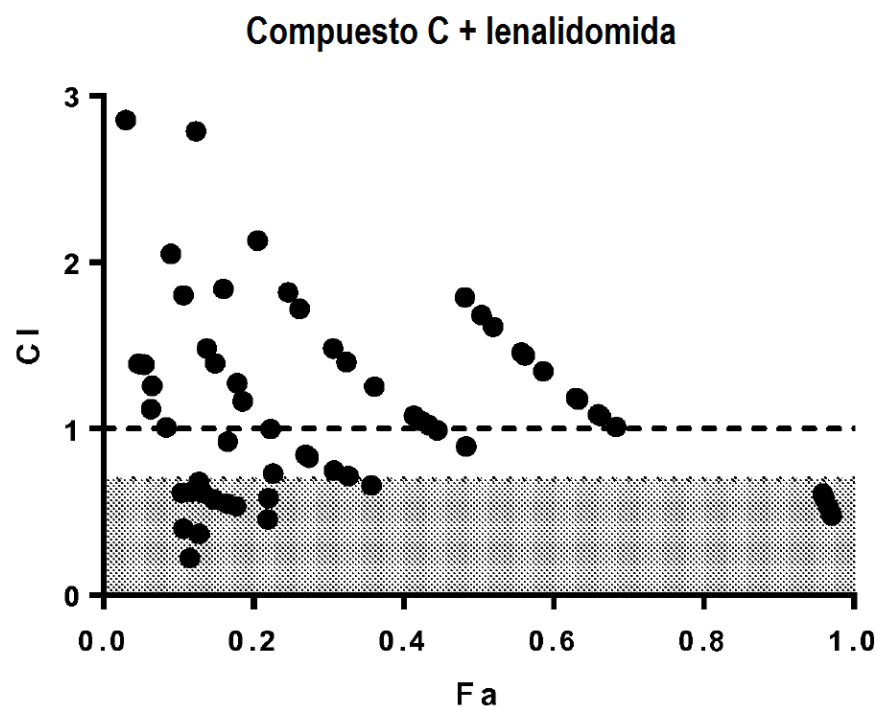
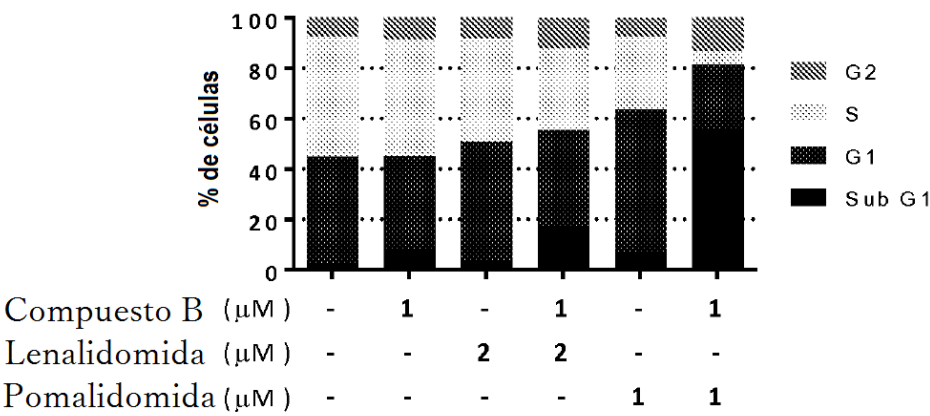
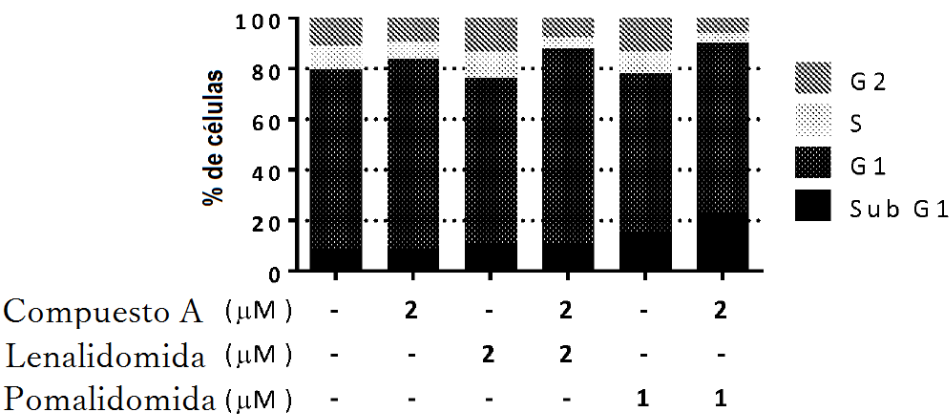


Figura 2

A



B



C

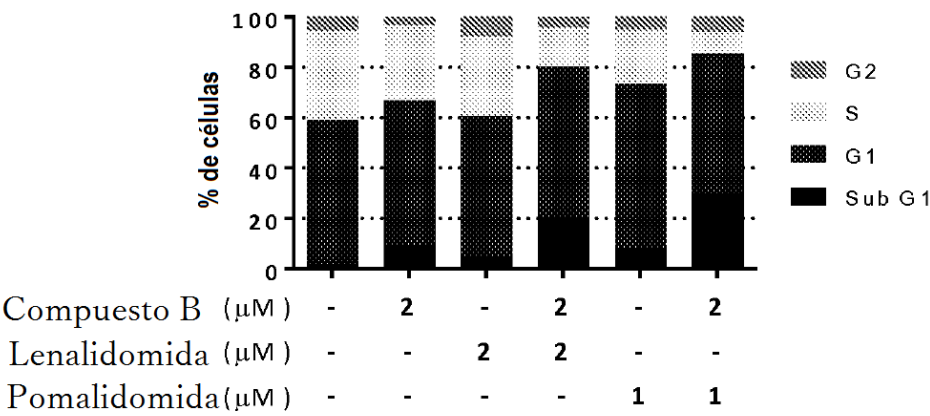
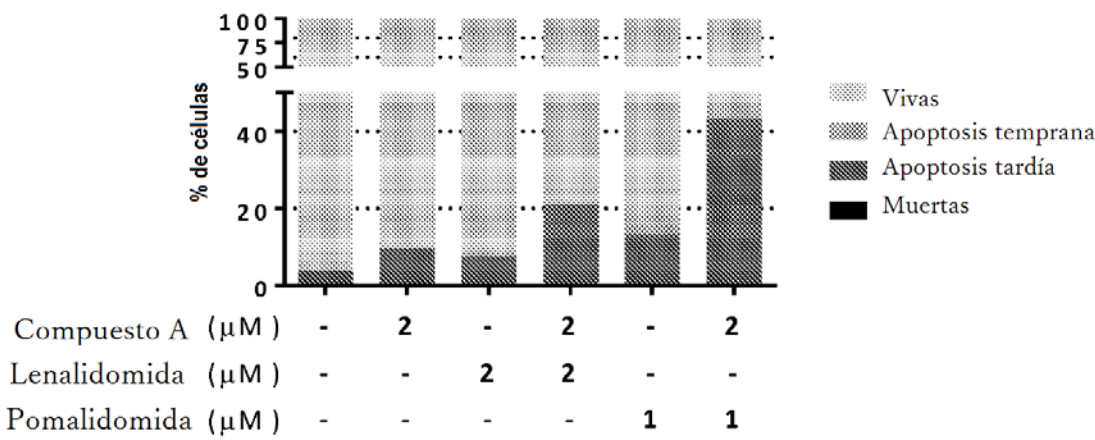
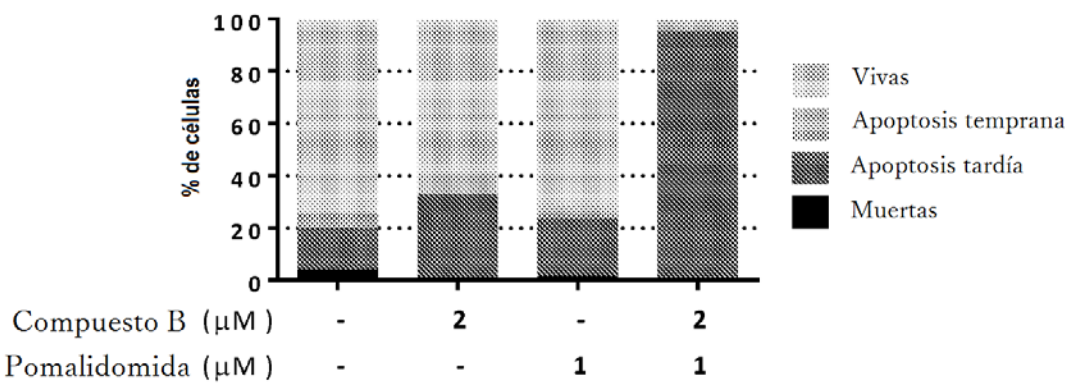


Figura 3

A



B



**COMBINACIONES DE INHIBIDORES DE HISTONA DEACETILASA Y
FÁRMACOS INMUNOMODULADORES**

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 La presente solicitud reivindica la prioridad de la
solicitud provisional estadounidense N.º de serie 61/911.086,
presentada el 3 de diciembre de 2013 y 62/061.368, presentada
el 8 de octubre de 2014, las cuales se incorporan a la
presente mediante esta referencia en su totalidad.

10

ANTECEDENTES

Las enzimas de histona deacetilasa (HDAC) representan
dianas terapéuticas atractivas en el linfoma, pero,
lamentablemente, los inhibidores de HDAC no selectivos han
15 provocado toxicidades limitantes de la dosis en los
pacientes.

La clase inmunomoduladora (IMiD) de fármacos, incluidos
lenalidomida y pomalidomida, presentan propiedades
antilinfoma en diversos modelos de linfoma y han demostrado
20 actividad clínica en pacientes con linfoma.

Debido a las toxicidades limitantes de la dosis de las
terapias anteriores, existe una necesidad continua en la
técnica de composiciones más eficaces y menos tóxicas y
métodos para el tratamiento del linfoma. Para cubrir estas
25 necesidades, se proporcionan en la presente combinaciones
farmacéuticas que comprenden un inhibidor de HDAC y un
fármaco inmunomodulador y métodos para el tratamiento del
linfoma. Las combinaciones y métodos de la invención tienen
buena tolerancia y no presentan las toxicidades limitantes de
30 la dosis de las terapias anteriores.

COMPENDIO DE LA INVENCION

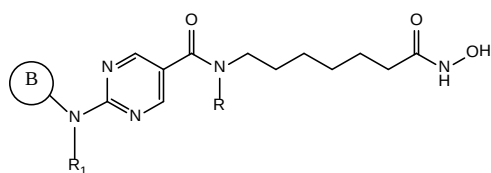
Se proporcionan en la presente combinaciones farmacéuticas para el tratamiento del linfoma en un sujeto
5 que lo necesita. También se proporcionan en la presente métodos para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita.

En algunas modalidades, se proporcionan combinaciones que comprenden un inhibidor de histona deacetilasa (HDAC) y un fármaco inmunomodulador (IMiD) para el tratamiento del
10 linfoma en un sujeto que lo necesita. Por ejemplo, una modalidad de la invención proporciona una combinación farmacéutica para tratar el linfoma que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor específico de histona deacetilasa 6 (HDAC6) o una sal farmacéuticamente
15 aceptable de este y un fármaco inmunomodulador (IMiD) o una sal farmacéuticamente aceptable de este. Una modalidad adicional de la invención proporciona una combinación farmacéutica para tratar el linfoma que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor específico
20 de histona deacetilasa 6 (HDAC6) o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un fármaco inmunomodulador (IMiD) o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde la combinación se administra en dosificaciones que no serían eficaces si uno o ambos compuestos se administraran solos,
25 pero las cuales son eficaces en combinación.

En otras modalidades, se proporcionan métodos para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprenden administrar al sujeto una cantidad eficaz de una combinación que comprende un inhibidor de histona deacetilasa
30 (HDAC) y un fármaco inmunomodulador (IMiD). Por ejemplo, una

modalidad de la invención proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación farmacéutica que comprende un inhibidor específico de histona deacetilasa 6 (HDAC6) o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un fármaco inmunomodulador (IMiD) o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En modalidades específicas, el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde,

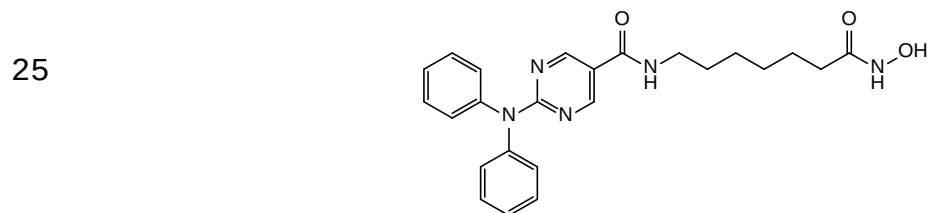
el anillo B es arilo o heteroarilo;

R₁ es un arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo o alquilo C₁₋₆;

y

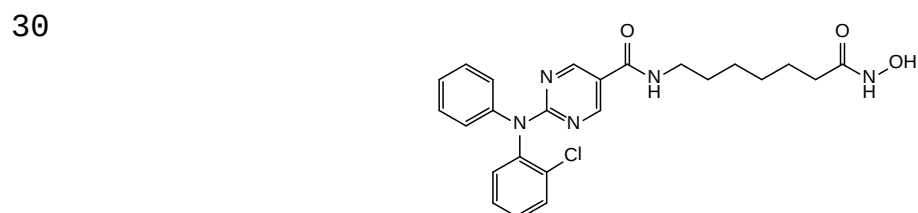
R es H o alquilo C₁₋₆.

En modalidades preferidas, el compuesto de fórmula I es:



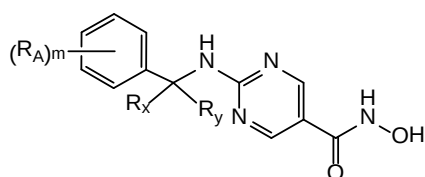
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otras modalidades, el compuesto de fórmula I es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otras modalidades específicas, el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula II:



(II)

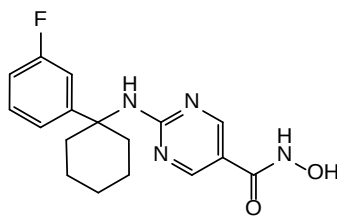
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
en donde,

R_x y R_y junto con el carbono al cual está unido cada uno, forma un ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo;

cada R_A es independientemente alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, halo, OH, -NO₂, -CN o -NH₂; y

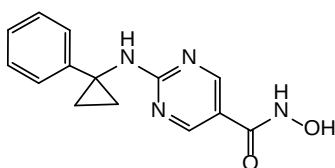
m es 0, 1 o 2.

En modalidades preferidas, el compuesto de fórmula II es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otras modalidades preferidas, el compuesto de fórmula II es:

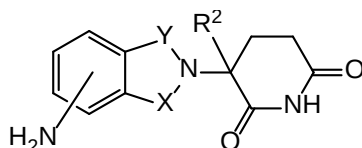


5

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de las combinaciones y/o métodos, el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula III:

10



(III)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

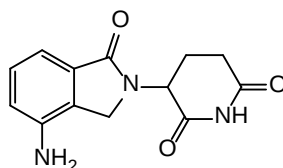
15

uno de X e Y es C=O, el otro de X e Y es CH₂ o C=O; y

R² es H o alquilo C₁₋₆.

En modalidades preferidas, el compuesto de fórmula III es:

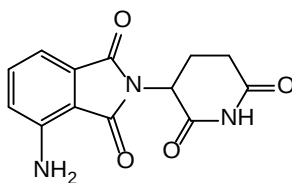
20



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otras modalidades preferidas, el compuesto de fórmula III es:

25



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

30

En algunas modalidades, el inhibidor de HDAC y el

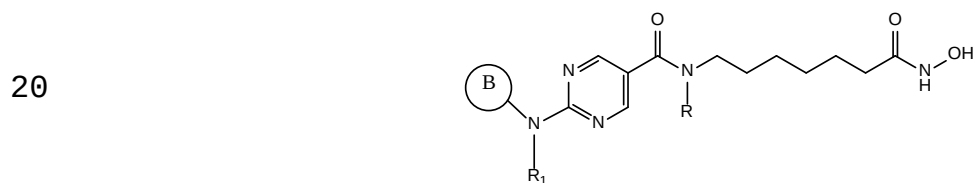
fármaco inmunomodulador se administran con un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en formas de dosificación separadas. En otras modalidades, el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en una forma de dosificación única.

En algunas modalidades, el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en momentos diferentes. En otras modalidades, el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran prácticamente al mismo tiempo.

En algunas modalidades, la combinación de un inhibidor de HDAC y un IMiD logra un efecto sinérgico en el tratamiento del sujeto que lo necesita.

En algunas modalidades de las combinaciones y/o métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
en donde,

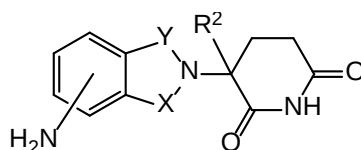
25 el anillo B es arilo o heteroarilo;

R₁ es un arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo o alquilo C₁₋₆;

y

30 R es H o alquilo C₁₋₆; y

el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula
III:



(III)

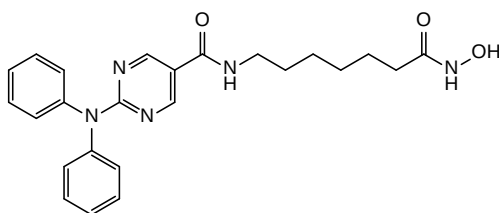
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

uno de X e Y es C=O, el otro de X e Y es CH₂ o C=O; y

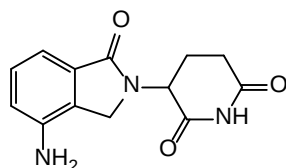
R² es H o alquilo C₁₋₆.

En modalidades específicas de las combinaciones y/o
métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:



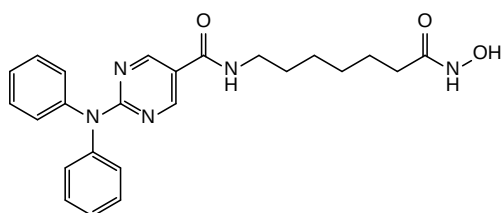
o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

el fármaco inmunomodulador es:



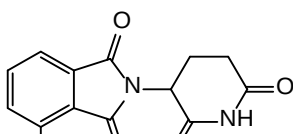
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En modalidades específicas de las combinaciones y/o
métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:



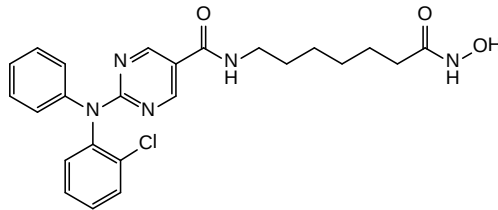
o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

el fármaco inmunomodulador es:



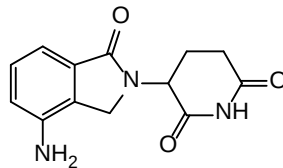
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

5 En modalidades específicas de las combinaciones y/o métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:



10

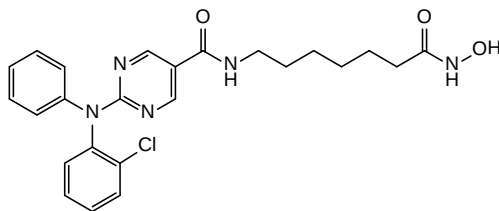
o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y el fármaco inmunomodulador es:



15

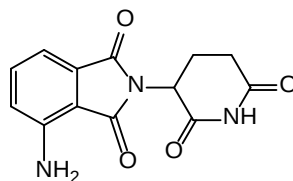
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En modalidades específicas de las combinaciones y/o métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:



20

o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y el fármaco inmunomodulador es:

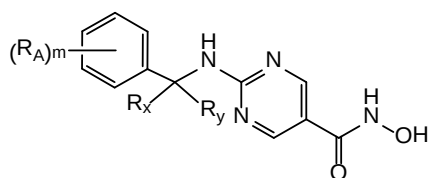


25

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de las combinaciones y/o métodos,
30 el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula

II:



5

(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

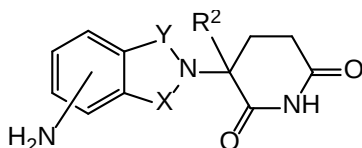
R_x y R_y junto con el carbono al cual está unido cada uno, forma un ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 10 ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo;

cada R_A es independientemente alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, OH, $-NO_2$, $-CN$ o $-NH_2$; y

m es 0, 1, o 2; y

el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula

15 III:



(III)

20

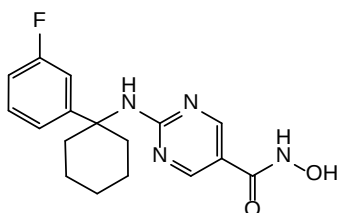
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

uno de X e Y es $C=O$, el otro de X e Y es CH_2 o $C=O$; y

R^2 es H o alquilo C_{1-6} .

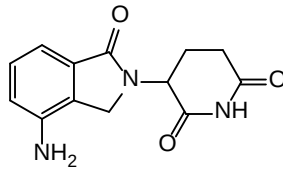
En modalidades específicas de las combinaciones y/o 25 métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:



30

o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

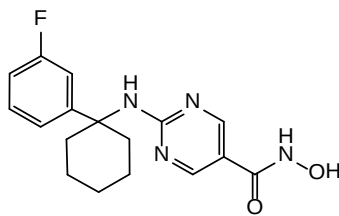
el fármaco inmunomodulador es:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

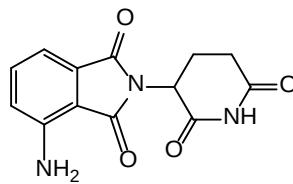
En modalidades específicas de las combinaciones y/o métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:

10



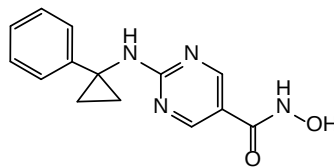
o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y
el fármaco inmunomodulador es:

15



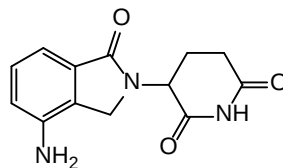
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En modalidades específicas de las combinaciones y/o
20 métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

25 el fármaco inmunomodulador es:

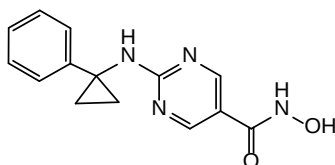


o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

30 En modalidades específicas de las combinaciones y/o

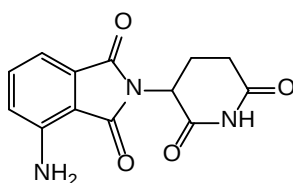
métodos, el inhibidor específico de HDAC6 es:

5



o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y
el fármaco inmunomodulador es:

10



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Una modalidad de la invención incluye un método para disminuir la evolución del ciclo celular mediante la administración de una combinación que comprende un inhibidor
15 de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

Otra modalidad de la invención incluye un método para aumentar la apoptosis celular mediante la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

20 Otra modalidad de la invención incluye un método para suprimir los reguladores transcripcionales en el cáncer mediante la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

Otros objetos, características y ventajas serán
25 evidentes en virtud de la siguiente descripción detallada. La descripción detallada y los ejemplos específicos se brindan únicamente a modo ilustrativo, ya que diversos cambios y modificaciones comprendidos en el espíritu y alcance de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica en
30 virtud de la presente descripción detallada. Además, los

ejemplos demuestran el principio de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las figuras 1A-F muestran las gráficas de sinergia de
5 F_A/CI después del tratamiento de células de linfoma de
células del manto Mino (MCL) con un inhibidor de HDAC6 y un
IMiD. La figura 1A muestra las gráficas de sinergia de F_A/CI
después del tratamiento de células de MCL Mino con el
compuesto A y lenalidomida (superior) o pomalidomida
10 (inferior). La figura 1B muestra las gráficas de sinergia de
 F_A/CI después del tratamiento de células de MCL Mino con el
compuesto B y lenalidomida (superior) o pomalidomida
(inferior). La figura 1C muestra las gráficas de sinergia de
 F_A/CI después del tratamiento de células de MCL Mino con el
15 compuesto C y lenalidomida (superior) o pomalidomida
(inferior). La figura 1D muestra las gráficas de sinergia de
 F_A/CI después del tratamiento de células de MCL Jeko1 con el
compuesto A y pomalidomida. La figura 1E muestra las gráficas
de sinergia de F_A/CI después del tratamiento de células de
20 MCL Jeko1 con el compuesto B y lenalidomida (superior) o
pomalidomida (inferior). La figura 1F muestra las gráficas de
sinergia de F_A/CI después del tratamiento de células de MCL
Jeko1 con el compuesto C y lenalidomida (superior) o
pomalidomida (inferior). Los puntos de datos con valores de
25 índice de combinación (CI) <1 indican combinaciones de
tratamiento que producen disminuciones sinérgicas en la
viabilidad celular.

La figura 2A muestra el efecto del tratamiento de
células de linfoma de células del manto Jeko1 durante 4 días
30 con DMSO, compuesto B (2 μM), lenalidomida (2 μM),

pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto B con cualquier IMiD sobre la inhibición del ciclo celular. El tratamiento de combinación con cualquier IMiD produjo mayores reducciones en la evolución del ciclo celular, lo que coincide con la disminución de la proliferación.

La figura 2B muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Mino durante 4 días con DMSO, compuesto A (2 μ M), lenalidomida (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto A con cualquier IMiD sobre la inhibición del ciclo celular. El tratamiento de combinación con cualquier IMiD produjo mayores reducciones en la evolución del ciclo celular, lo que coincide con la disminución de la proliferación.

La figura 2C muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Mino durante 4 días con DMSO, compuesto B (2 μ M), lenalidomida (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto B con cualquier IMiD sobre la inhibición del ciclo celular. El tratamiento de combinación con cualquier IMiD produjo mayores reducciones en la evolución del ciclo celular, lo que coincide con la disminución de la proliferación.

La figura 3A muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Jeko1 durante 4 días con DMSO, compuesto A (2 μ M), lenalidomida (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto A con cualquier IMiD sobre la inducción de la apoptosis. El tratamiento de combinación con cualquier IMiD produjo aumentos sinérgicos en la apoptosis celular.

La figura 3B muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Jeko1 durante 4 días

con DMSO, compuesto B (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto B con pomalidomida sobre la inducción de la apoptosis. El tratamiento de combinación con cualquier IMiD produjo aumentos sinérgicos en la apoptosis
5 celular.

La figura 4 es una fotografía de una inmunotransferencia de células de linfoma de células del manto Jeko1 que muestra que la combinación del compuesto A y pomalidomida produjo mayor supresión de la expresión de MYC, IRF4 y IKZF3, los
10 cuales son reguladores transcripcionales claves en el cáncer. Los marcadores de apoptosis (PARP escindido) también aumentaron con el tratamiento de combinación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

15 La presente solicitud se refiere, generalmente, a combinaciones que comprenden un inhibidor de histona deacetilasa (HDAC) y un fármaco inmunomodulador (IMiD) y métodos para el tratamiento del linfoma.

Definiciones

20 A continuación se enumeran definiciones de varios términos utilizados para describir la presente invención. Estas definiciones corresponden a los términos tal como son utilizados a través de esta memoria descriptiva y reivindicaciones, a menos que se limiten de otro modo en
25 casos específicos, ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

El término “alrededor de” en general indica una variación posible de no más del 10 %, 5 % o 1 % de un valor. Por ejemplo, “alrededor de 25 mg/kg” en general indicará, en
30 su sentido más amplio, un valor de 22.5-27.5 mg/kg, es decir,

25 ± 2,5 mg/kg.

El término "alquilo", se refiere a restos de hidrocarburo de cadena saturada, lineal o ramificada que contienen, en determinadas modalidades, entre uno y seis, o
5 uno y ocho átomos de carbono, respectivamente. Los ejemplos de restos alquilo C₁₋₆ incluyen, de modo no taxativo, restos metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, terc-butilo, neopentilo, n-hexilo; y ejemplos de restos alquilo C₁₋₈ incluyen, de modo no taxativo, restos metilo, etilo, propilo,
10 isopropilo, n-butilo, terc-butilo, neopentilo, n-hexilo, heptilo y octilo.

El número de átomos de carbono en un sustituyente de alquilo se puede indicar mediante el prefijo "C_{x-y}", donde x es el mínimo y y es el número máximo de átomos de carbono en el
15 sustituyente. Asimismo, una cadena C_x se refiere a una cadena de alquilo que contiene x átomos de carbono.

El término "alcoxi" se refiere a un resto -O-alquilo.

Los términos "cicloalquilo" o "cicloalquilenos" denotan un grupo monovalente derivado de un compuesto de anillo
20 carbocíclico saturado o parcialmente insaturado monocíclico o policíclico. Los ejemplos de cicloalquilo C₃₋₈ incluyen, de modo no taxativo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo; y los ejemplos de cicloalquilo C₃₋₁₂ incluyen, de modo no taxativo,
25 ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, biciclo [2.2.1] heptilo y biciclo [2.2.2] octilo. También se contemplan grupos monovalentes derivados de un compuesto de anillo carbocíclico monocíclico o policíclico que tiene al menos un enlace doble carbono-carbono mediante la remoción de
30 un único átomo de hidrógeno. Los ejemplos de dichos grupos

incluyen, de modo no taxativo, ciclopropenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo y similares.

El término "arilo", se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono o policíclico que tiene uno o más anillos aromáticos, fusionados o no fusionados, que incluyen, de modo no taxativo, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, indenilo y similares. En algunas modalidades, los grupos arilo tienen 6 átomos de carbono. En algunas modalidades, los grupos arilo tienen de seis a diez átomos de carbono. En algunas modalidades, los grupos arilo tienen de seis a dieciséis átomos de carbono.

El término "heteroarilo" se refiere a un resto mono o policíclico (p. ej., bi o tricíclico o más) fusionado o no fusionado o un sistema de anillo que tiene al menos un anillo aromático, en donde uno o más de los átomos que forman anillos es un heteroátomo como oxígeno, azufre o nitrógeno. En algunas modalidades, el grupo heteroarilo tiene entre aproximadamente uno y seis átomos de carbono y, en otras modalidades, entre uno y quince átomos de carbono. En algunas modalidades, el grupo heteroarilo contiene entre cinco y dieciséis átomos del anillo de los cuales un átomo del anillo se selecciona de oxígeno, azufre y nitrógeno; cero, uno, dos o tres átomos del anillo son heteroátomos adicionales seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno; y los átomos del anillo restantes son carbono. Heteroarilo incluye, de modo no taxativo, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, indolilo, quinolinilo,

isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzooxazolilo, quinoxalinilo, acridinilo y similares.

El término “halo” se refiere a un halógeno, como flúor, cloro, bromo y yodo.

5 La expresión “combinación” se refiere a dos o más agentes terapéuticos para tratar una afección o trastorno terapéutico descrito en la presente divulgación. Dicha combinación de agentes terapéuticos se puede encontrar en forma de una píldora, cápsula o solución intravenosa única.

10 Sin embargo, el término “combinación” también abarca la situación en la cual los dos o más agentes terapéuticos se encuentran en píldoras, cápsulas o soluciones intravenosas separadas. Asimismo, la expresión “terapia de combinación” se refiere a la administración de dos o más agentes terapéuticos

15 para tratar una afección o trastorno terapéutico descrito en la presente divulgación. Dicha administración comprende la administración conjunta de estos agentes terapéuticos en una forma sustancialmente simultánea, tal como en una cápsula simple con una relación fija de ingredientes activos o en

20 contenedores múltiples o separados (p. ej., cápsulas) para cada ingrediente activo. Además, dicha administración también abarca el uso de cada tipo de agente terapéutico de manera consecutiva, ya sea aproximadamente al mismo tiempo o en momentos diferentes. En ambos casos, el régimen de

25 tratamiento proporcionará efectos beneficiosos de la combinación de fármacos para tratar las afecciones o trastornos descritos en la presente.

El término “HDAC” se refiere a histona deacetilasas, que son enzimas que retiran los grupos acetilo de los residuos de

30 lisina en las histonas del núcleo y provocan así la formación

de una cromatina condensada y transcripcionalmente silenciada. Existen actualmente 18 histona deacetilasas conocidas, que se clasifican en cuatro grupos. Las HDAC de clase I, que incluyen HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC8, están relacionadas con el gen RPD3 de la levadura. Las HDAC de clase II, que incluyen HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 y HDAC10 están relacionadas con el gen Hda1 de la levadura. Las HDAC de clase III, que también se conocen como las sirtuinas están relacionadas con el gen Sir2 e incluyen SIRT1-7. Las HDAC de clase IV, que solo contienen HDAC11, tienen características de las HDAC de clase I y II. El término "HDAC" se refiere a uno o más de las 18 histona deacetilasas conocidas, a menos que se especifique algo diferente.

El término "específico de HDAC6" significa que el compuesto se une a HDAC6 en una medida sustancialmente mayor, como 5X, 10X, 15X, 20X mayor o más, que a cualquier otro tipo de enzima HDAC, como HDAC1 o HDAC2. Es decir, el compuesto es selectivo para HDAC6 por encima de cualquier otro tipo de enzima HDAC. Por ejemplo, un compuesto que se une a HDAC6 con un IC_{50} de 10 nM y a HDAC1 con un IC_{50} de 50 nM es específico de HDAC6. Por otra parte, un compuesto que se une a HDAC6 con un IC_{50} de 50 nM y a HDAC1 con un IC_{50} de 60 nM no es específico de HDAC6.

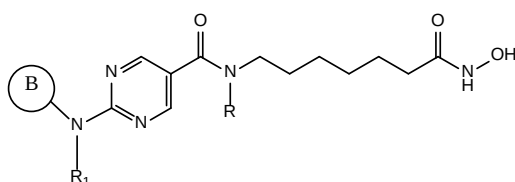
El término "inhibidor" es sinónimo del término antagonista.

Inhibidores de histona deacetilasa (HDAC)

Se proporcionan en la presente combinaciones farmacéuticas para el tratamiento del linfoma en un sujeto que lo necesita. También se proporcionan en la presente métodos para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita.

Las combinaciones y métodos de la invención comprenden un inhibidor de histona deacetilasa (HDAC). El inhibidor de HDAC puede ser cualquier inhibidor de HDAC. Por ende, el inhibidor de HDAC puede ser selectivo o no selectivo para un tipo particular de enzima histona deacetilasa. Preferentemente, el inhibidor de HDAC es un inhibidor de HDAC selectivo. Más preferentemente, el inhibidor de HDAC es un inhibidor de HDAC6.

En algunas modalidades, el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

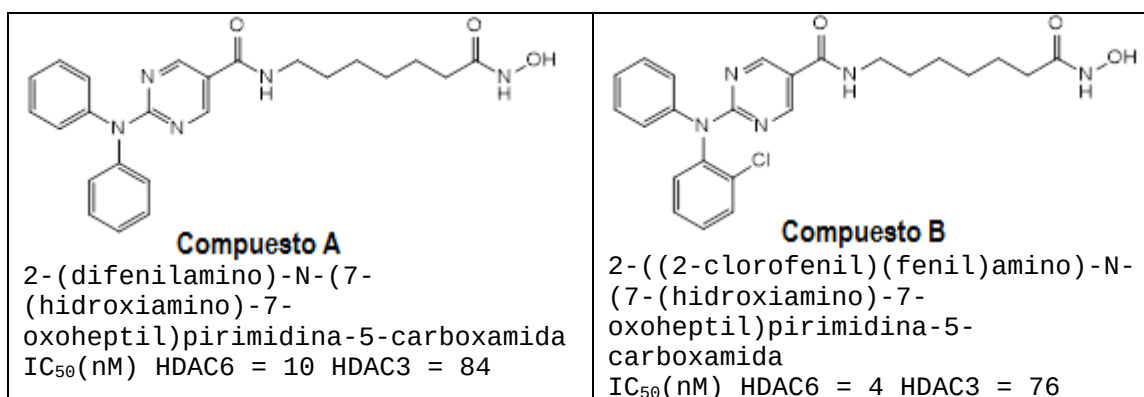
el anillo B es arilo o heteroarilo;

R₁ es un arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo o alquilo C₁₋₆;

y

R es H o alquilo C₁₋₆.

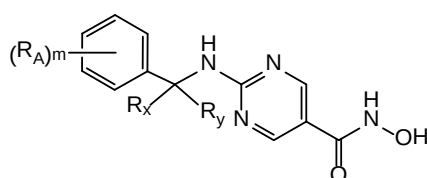
Los compuestos representativos de fórmula I incluyen, entre otros:



o sales farmacéuticamente aceptables de estos.

La preparación y las propiedades de los inhibidores de
 5 HDAC6 selectivos de acuerdo con la fórmula I se proporcionan
 en la solicitud de patente internacional N.º
 PCT/US2011/021982, cuyos contenidos se incorporan en su
 totalidad a la presente mediante esta referencia.

En otras modalidades, el inhibidor específico de HDAC6
 10 es un compuesto de fórmula II:



(II)

15 o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
 en donde,

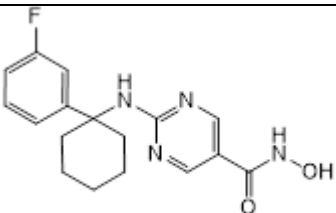
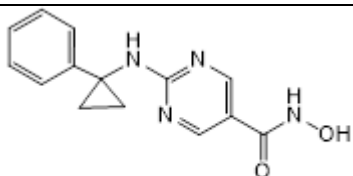
R_x y R_y junto con el carbono al cual está unido cada uno,
 forma un ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo,
 ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo;

20 cada R_A es independientemente alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} ,
 halo, OH, $-NO_2$, $-CN$ o $-NH_2$; y

m es 0, 1 o 2.

Los compuestos representativos de fórmula II incluyen,
 entre otros:

25

 Compuesto C IC₅₀(nM) HDAC6 = 7 HDAC1 = 2123 (283.5x) HDAC2 = 2570 (9343.2x) HDAC3=11223 (1498.8x)	 Compuesto D IC₅₀(nM) HDAC6 = 2 HDAC1 = 94 (60x) HDAC2 = 128 (81.9x) HDAC3=219 (139.5x)
---	---

30

o sales farmacéuticamente aceptables de estos.

La preparación y las propiedades de los inhibidores de HDAC6 selectivos de acuerdo con la fórmula II se proporcionan en la solicitud de patente internacional N.º
 5 PCT/US2011/060791, cuyos contenidos se incorporan en su totalidad a la presente mediante esta referencia.

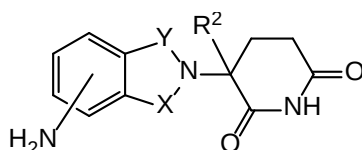
En algunas modalidades, los compuestos descritos en la presente son no solvatados. En otras modalidades, uno o más de los compuestos se encuentran en forma solvatada. Como se
 10 conoce en la técnica, el solvato puede ser cualquiera de un disolvente farmacéuticamente aceptable, como agua, etanol y similares.

Fármacos inmunomoduladores (IMiD)

Las combinaciones y métodos de la invención comprenden
 15 un fármaco inmunomodulador (IMiD). El IMiD puede ser cualquier fármaco inmunomodulador. Preferentemente, el IMiD es una talidomida de fórmula III.

En algunas modalidades, el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula III:

20

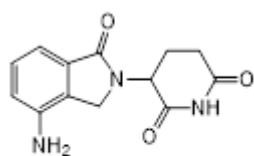
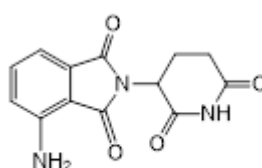


(III)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
 25 en donde,
 uno de X e Y es C=O, el otro de X e Y es CH₂ o C=O; y
 R² es H o alquilo C₁₋₆.

Los compuestos representativos de fórmula III incluyen, entre otros:

30

**Compuesto E****Compuesto F**

o sales farmacéuticamente aceptables de estos.

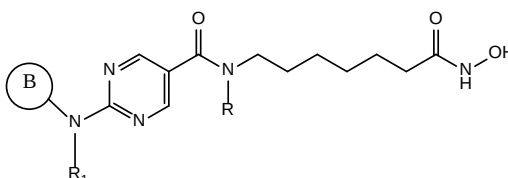
5 La preparación y las propiedades de los fármacos inmunomoduladores de acuerdo con la fórmula III se proporcionan en las patentes estadounidenses N.º 5.635.517; 6.281.230; 6.335.349; y 6.476.052; así como la solicitud de patente internacional N.º PCT/US97/013375, las cuales se
10 incorporan a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

En algunas modalidades, los compuestos descritos en la presente son no solvatados. En otras modalidades, uno o más de los compuestos se encuentran en forma solvatada. Como se
15 conoce en la técnica, el solvato puede ser cualquiera de un disolvente farmacéuticamente aceptable, como agua, etanol y similares.

Combinaciones/Combinaciones farmacéuticas

Se proporcionan en la presente combinaciones para el
20 tratamiento del linfoma en un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se proporcionan combinaciones que comprenden un inhibidor de histona deacetilasa (HDAC) y un fármaco inmunomodulador (IMiD) para el tratamiento del linfoma en un sujeto que lo necesita.

25 En algunas modalidades de las combinaciones, el inhibidor de HDAC es un inhibidor de HDAC6. En modalidades específicas, el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula I:

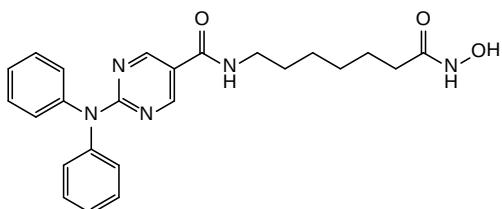


(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En modalidades preferidas, el compuesto de fórmula I es:

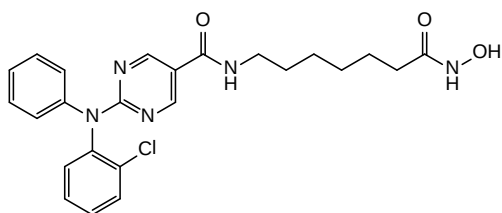
5



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otras modalidades, el compuesto de fórmula I es:

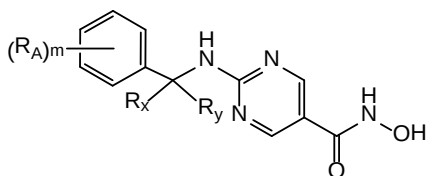
10



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

15

En otras modalidades específicas, el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula II:



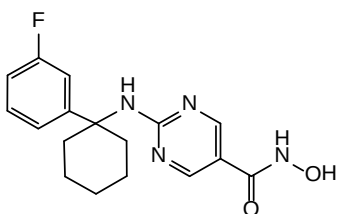
20

(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En modalidades preferidas, el compuesto de fórmula II es:

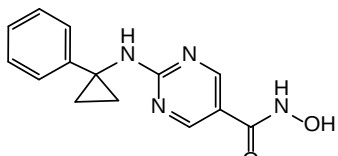
25



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

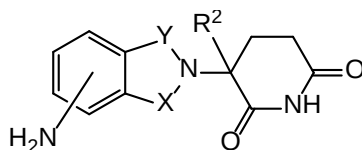
En otras modalidades preferidas, el compuesto de fórmula

30 II es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

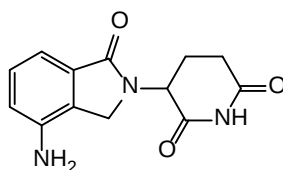
En algunas modalidades de las combinaciones, el fármaco
5 inmunomodulador es un compuesto de fórmula III:



10 (III)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

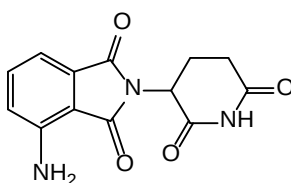
En modalidades preferidas, el compuesto de fórmula III
es:



15

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

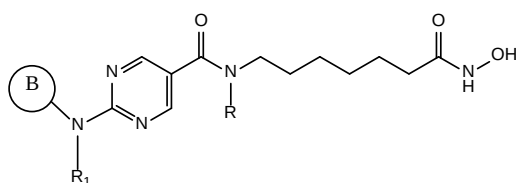
En otras modalidades preferidas, el compuesto de fórmula
III es:



20

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En una modalidad, se proporciona en la presente una
25 terapia de combinación que comprende un inhibidor específico
de HDAC6 y un fármaco inmunomodulador, en donde el inhibidor
específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula I:



30

(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
 en donde,

5 el anillo B es arilo o heteroarilo;

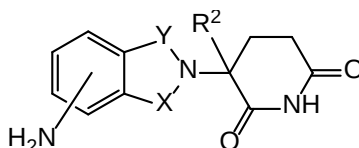
R_1 es un arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales
 puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo o alquilo
 C_{1-6} ;

y

10 R es H o alquilo C_{1-6} ; y

el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula

III:



15

(III)

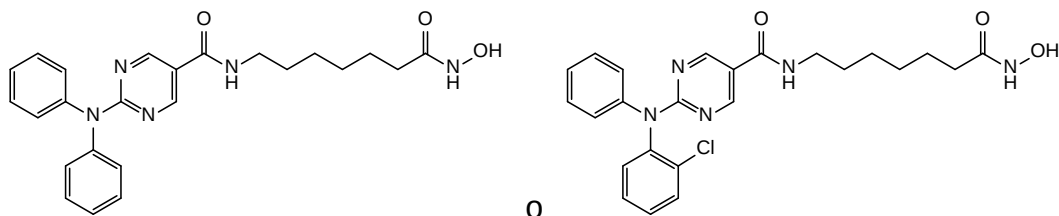
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
 en donde,

uno de X e Y es $C=O$, el otro de X e Y es CH_2 o $C=O$; y

20 R^2 es H o alquilo C_{1-6} .

En modalidades específicas de las combinaciones, el
 inhibidor específico de HDAC6 es:

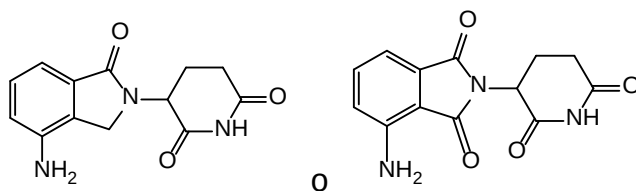
25



30

o sales farmacéuticamente aceptables de estos; y

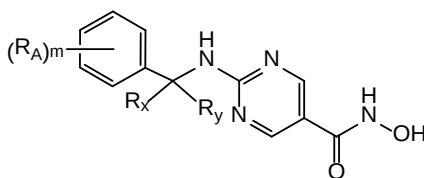
el fármaco inmunomodulador es:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona en la presente una terapia de combinación que comprende un inhibidor específico de HDAC6 y un fármaco inmunomodulador, en donde el inhibidor
10 específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula II:



(II)

15 o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
en donde,

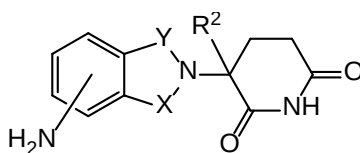
R_x y R_y junto con el carbono al cual está unido cada uno, forma un ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo;

20 cada R_A es independientemente alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, halo, OH, -NO₂, -CN o -NH₂; y

m es 0, 1, o 2; y

el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula
III:

25



(III)

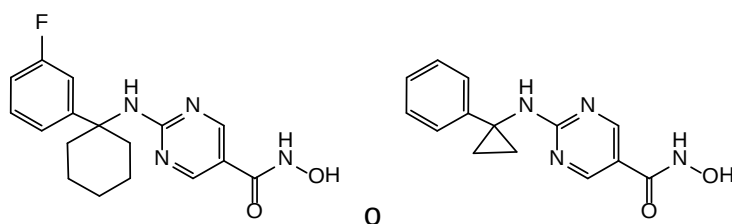
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

30 en donde,

uno de X e Y es C=O, el otro de X e Y es CH₂ o C=O; y
R² es H o alquilo C₁₋₆.

En modalidades específicas de las combinaciones, el
inhibidor específico de HDAC6 es:

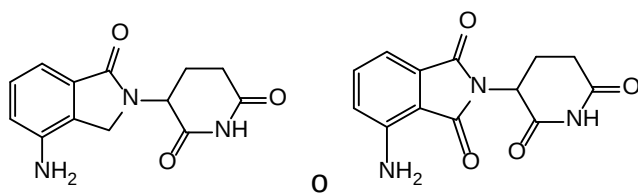
5



o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

10

el fármaco inmunomodulador es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

15

Aunque los compuestos de fórmulas I, II y III se
ilustran en su forma neutra, en algunas modalidades, estos
compuestos se utilizan en una forma de sal farmacéuticamente
aceptable. Tal como se usa en la presente, "sales
farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los
20 compuestos descritos donde se modifica el compuesto principal
convirtiendo un resto de base o ácido existente en su forma
salina. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables
incluyen, de modo no taxativo, sales de ácidos minerales u
orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales
25 alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos
carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente
aceptables de la presente invención incluyen las sales no
tóxicas convencionales del compuesto precursor formadas, por
ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no
30 tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la

presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto precursor que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. En general, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas básicas o ácidas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido o base adecuados en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de ambos. En general, se prefieren los medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^o ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 y Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), cada uno de los cuales se incorporan al presente por referencia en su totalidad.

Administración/dosis

En algunas modalidades, el inhibidor de HDAC (un compuesto de fórmula I o II) se administra simultáneamente con el fármaco inmunomodulador (un compuesto de fórmula III). La administración simultánea significa, típicamente, que ambos compuestos ingresan al paciente exactamente al mismo tiempo. Sin embargo, la administración simultánea también incluye la posibilidad de que el inhibidor de HDAC y el IMiD ingresen al paciente en momentos diferentes, pero la diferencia en tiempo es tan poca que el compuesto administrado en primer lugar no tiene tiempo de actuar en el paciente antes del ingreso del compuesto administrado en segundo lugar. Estos tiempos retrasados corresponden típicamente a menos de 1 minuto y, más típicamente, menos de 30 segundos. En un ejemplo, en donde los compuestos se encuentran en solución, la administración simultánea se puede

lograr mediante la administración de una solución que contiene la combinación de compuestos. En otro ejemplo, se puede emplear la administración simultánea de soluciones separadas, una de las cuales contiene el inhibidor de HDAC y la otra de las cuales contiene el IMiD. En un ejemplo, en donde los compuestos se encuentran en forma sólida, la administración simultánea se puede lograr mediante la administración de una composición que contiene la combinación de compuestos. Alternativamente, la administración simultánea se puede lograr mediante la administración de dos composiciones separadas, en donde una comprende el inhibidor de HDAC y la otra comprende el IMiD.

En otras modalidades, el inhibidor de HDAC y el IMiD no se administran simultáneamente. En algunas modalidades, el inhibidor de HDAC se administra antes que el IMiD. En otras modalidades, el IMiD se administra antes que el inhibidor de HDAC. La diferencia de tiempo en las administraciones no simultáneas puede ser mayor que 1 minuto, cinco minutos, 10 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, dos horas, tres horas, seis horas, nueve horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas o 48 horas. En otras modalidades, se le da tiempo al compuesto administrado en primer lugar para actuar en el paciente antes de administrar el compuesto administrado en segundo lugar. Generalmente, la diferencia de tiempo no supera el tiempo necesario para que el compuesto administrado en primer lugar termine de actuar en el paciente o para que el compuesto administrado en primer lugar se haya eliminado completamente o casi completamente o desactivado en el paciente.

En algunas modalidades, uno o ambos del inhibidor de

HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en una cantidad o dosificación terapéuticamente eficaz. Una “cantidad terapéuticamente eficaz” es una cantidad de inhibidor de HDAC6 (un compuesto de fórmula I o II) o un fármaco inmunomodulador (un compuesto de fórmula III) que, cuando se administra solo a un paciente, trata eficazmente el linfoma. Una cantidad que resulta ser una “cantidad terapéuticamente eficaz” en una instancia determinada, para un sujeto particular, puede no ser eficaz para el 100 % de los sujetos tratados de forma similar contra la enfermedad o afección pertinente, sin embargo dicha dosificación se considera una “cantidad terapéuticamente eficaz” por los profesionales expertos. La cantidad del compuesto que corresponde a una cantidad terapéuticamente eficaz depende mucho del tipo de cáncer, el estadio del cáncer, la edad del paciente que se está tratando y otros hechos. En general, las cantidades terapéuticamente eficaces de estos compuestos son conocidas en la técnica, como se establece en las referencias de apoyo citadas arriba.

En otras modalidades, uno o ambos del inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en una cantidad o dosificación subterapéuticamente eficaz. Una “cantidad subterapéuticamente eficaz” es una cantidad de inhibidor de HDAC (un compuesto de fórmula I o II) o un fármaco inmunomodulador (un compuesto de fórmula III) que, cuando se administra solo a un paciente, no inhibe completamente con el tiempo la actividad biológica de la diana deseada.

Independientemente de que se administre en cantidades terapéuticas o subterapéuticas, la combinación del inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador debería ser eficaz para

tratar el linfoma. Por ejemplo, una cantidad subterapéutica de un compuesto de fórmula III (fármaco inmunomodulador) puede ser una cantidad eficaz si, cuando se combina con un compuesto de fórmula I o II (inhibidor de HDAC), la
5 combinación es eficaz en el tratamiento del linfoma.

En algunas modalidades, la combinación de los compuestos exhibe un efecto sinérgico (es decir, mayor que el efecto aditivo) en el tratamiento del linfoma. La expresión "efecto sinérgico" se refiere a la acción de dos agentes, como, por
10 ejemplo, un inhibidor de HDAC y un IMiD, que produce un efecto, por ejemplo, ralentizando el avance sintomático del cáncer o sus síntomas, que es mayor que la simple adición de los efectos de cada fármaco administrado por sí solo. Un efecto sinérgico se puede calcular, por ejemplo, usando
15 métodos adecuados tales como la ecuación Sigmoid-Emax (Holford, N. H. G. y Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), la ecuación de aditividad de Loewe (Loewe, S. y Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) y la ecuación de efecto mediano (Chou, T. C. y
20 Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984)). Cada una de las ecuaciones mencionadas anteriormente se puede aplicar a los datos experimentales para generar un gráfico correspondiente que ayude a evaluar los efectos de la combinación de fármacos. Las gráficas correspondientes
25 asociadas a las ecuaciones a las que se hace referencia con anterioridad son curva efecto-concentración, isoblograma y curva de índice de combinación, respectivamente.

En distintas modalidades, dependiendo de la combinación y de las cantidades eficaces utilizadas, la combinación de
30 los compuestos puede inhibir el crecimiento del cáncer,

alcanzar estasis del cáncer o incluso alcanzar regresión del cáncer sustancial o completa.

Aunque las cantidades de un inhibidor de HDAC y un IMiD deberían producir el tratamiento eficaz del linfoma, las
5 cantidades, cuando se combinan, preferentemente, no son excesivamente tóxicas para el paciente (es decir, las cantidades, preferentemente, se encuentran dentro de los límites de toxicidad establecidos por las pautas médicas). En algunas modalidades, ya sea para impedir una toxicidad
10 excesiva y/o proporcionar un tratamiento más eficaz del linfoma, se proporciona una limitación a la dosificación total administrada. Típicamente, las cantidades consideradas en la presente son por día; sin embargo, también se consideran en la presente ciclos de medio día y dos días o
15 tres días.

Se pueden utilizar regímenes de dosificación diferentes para tratar el linfoma. En algunas modalidades, se administra una dosificación diaria, como cualquiera de las dosificaciones ejemplares descritas arriba, una vez, dos
20 veces, tres veces o cuatro veces al día durante tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez días. Según el estadio y la gravedad del cáncer, se puede emplear un período de tratamiento más breve (p. ej., hasta cinco días) junto con una dosificación alta o se puede emplear un período de
25 tratamiento más prolongado (p. ej., diez o más días, o semanas, o un mes o mayor) junto con una dosificación baja. En algunas modalidades, se administra una dosificación de una vez o dos veces al día por medio. En algunas modalidades, cada dosificación contiene un inhibidor de HDAC y un IMiD
30 para administrar como una dosificación única, mientras que en

otras modalidades, cada dosificación contiene un inhibidor de HDAC y un IMiD para administrar como dosificaciones separadas.

Se pueden administrar los compuestos de fórmula I, II o
5 III, o sus sales farmacéuticamente aceptables o formas solvatadas, en forma pura o en una composición farmacéutica adecuada, a través de cualquiera de los modos de administración aceptados o los agentes conocidos en la técnica. Los compuestos se pueden administrar, por ejemplo,
10 por vía oral, nasal, parenteral (intravenosa, intramuscular o subcutánea), tópica, transdérmica, intravaginal, intravesical, intracisternal o rectal. La forma de dosificación puede ser, por ejemplo, un sólido, semisólido, polvo liofilizado o formas de dosificación líquida, tales
15 como, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas de gelatina dura o elástica blanda, polvos, soluciones, suspensiones, supositorios, aerosoles o similares, preferentemente en formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración simple de dosis exactas. Una vía de
20 administración particular es la oral, específicamente cuando un régimen conveniente de dosificación diaria se puede ajustar de acuerdo con el grado de gravedad de la enfermedad a tratar.

Como se planteó arriba, el inhibidor de HDAC y el IMiD
25 de la combinación farmacéutica se pueden administrar en una única dosis unitaria o en formas de dosificación separadas. En consecuencia, la frase "combinación farmacéutica" incluye una combinación de dos fármacos ya sea en forma de dosificación unitaria o en forma de dosificación separada, es
30 decir, los portadores y excipientes farmacéuticamente

aceptables descritos en la solicitud se pueden combinar con un inhibidor de HDAC y un IMiD en una dosis unitaria única, así como combinar individualmente con un inhibidor de HDAC y un IMiD cuando estos compuestos se administran por separado.

5 Los agentes adyuvantes y auxiliares pueden incluir, por ejemplo, agentes conservantes, humectantes, de suspensión, endulzantes, saborizantes, perfumantes, emulsionantes y dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos es proporcionada, generalmente, por diversos agentes
10 antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. Los agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio y similares también se pueden incluir. La absorción prolongada de una forma farmacéutica inyectable se puede lograr con el
15 uso de agentes que retrasen la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina. Los agentes auxiliares también pueden incluir agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes amortiguadores del pH y antioxidantes, como, por ejemplo, ácido cítrico, monolaurato de sorbitán,
20 oleato de trietanolamina, hidroxitolueno butilado y similares.

Las formas de dosificación sólidas se pueden preparar con recubrimientos y cáscaras, tales como recubrimientos entéricos y otros bien conocidos en la técnica. Pueden
25 contener agentes opacificantes y pueden ser de tal composición que liberen el compuesto o compuestos activos en una determinada parte del tracto intestinal de forma retardada. Los ejemplos de composiciones incorporadas que se pueden usar incluyen ceras y sustancias poliméricas. Los
30 ingredientes activos también puede encontrarse en forma

microencapsulada, si corresponde, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes, y elixires farmacéuticamente aceptables. Dichas formas de dosificación se preparan, por ejemplo, disolviendo, dispersando, etc., los inhibidores de HDAC o los fármacos inmunomoduladores descritos en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un portador, tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol y similares; agentes solubilizantes y emulsionantes, como por ejemplo, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida; aceites, en particular, aceite de semilla de algodón, aceite de maní, aceite de germen de maíz, aceite de oliva, aceite de ricino y aceite de sésamo, glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán; o mezclas de estas sustancias y similares, para de esta manera formar una solución o suspensión.

Generalmente, dependiendo del modo de administración deseado, las composiciones farmacéuticamente aceptables contendrán alrededor de 1 % hasta alrededor de 99 % en peso de los compuestos descritos en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y de 99 % hasta 1 % en peso de un excipiente farmacéuticamente aceptable. En un ejemplo, la composición será de entre alrededor de 5 % y alrededor de 75 % en peso de un compuesto descrito en la

presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, siendo el resto excipientes farmacéuticos adecuados.

Los métodos reales para preparar dichas formas de dosificación son conocidos por los expertos en la técnica o
5 serán evidentes para ellos. Se hace referencia, por ejemplo, a Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^o Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990).

Métodos de tratamiento

La invención se refiere a métodos para tratar el linfoma
10 en un sujeto que lo necesita que comprenden administrarle al sujeto una combinación farmacéutica de la invención. Por ende, se proporcionan en la presente métodos para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprenden administrarle al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz
15 de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

El sujeto considerado en la presente es, típicamente, un ser humano. Sin embargo, el sujeto puede ser cualquier mamífero para el cual se desee el tratamiento. Por ende, los
20 métodos descritos en la presente se pueden utilizar en aplicaciones humanas y veterinarias.

Los términos "tratar" o "tratamiento" indican que el método, por lo menos, ha mitigado la proliferación celular anormal. Por ejemplo, el método puede reducir la velocidad de
25 crecimiento del linfoma en un paciente o impedir el crecimiento continuo o la propagación del linfoma o incluso reducir el alcance global del linfoma.

Así pues, en una modalidad, se proporciona en la presente un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo
30 necesita que comprende administrarle al sujeto una cantidad

terapéuticamente eficaz del compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto E, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto F, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto E, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto B, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto F, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto C, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto E, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz

del compuesto C, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto F, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto D, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto E, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra modalidad, se proporciona un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto D, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y el compuesto F, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos, anteriormente, el sujeto era resistente a un fármaco inmunomodulador.

La invención se refiere a métodos para disminuir la evolución del ciclo celular mediante la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

La invención se refiere a métodos para aumentar la apoptosis celular mediante la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

La invención se refiere a métodos para suprimir los reguladores transcripcionales en el cáncer mediante la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

En otras modalidades, se proporcionan kits. Los kits de acuerdo con la invención incluyen paquetes que comprenden los compuestos o composiciones de la invención. En algunas modalidades, los kits comprenden un inhibidor de HDAC, o una
5 sal farmacéuticamente aceptable de este, y un IMiD, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La frase "paquete" significa cualquier recipiente que contenga los compuestos o composiciones presentados en la presente. En algunas modalidades, el paquete puede ser una
10 caja o un envoltorio. Los materiales de envasado para utilizar en el envasado de productos farmacéuticos son conocidos por los expertos en la técnica. Algunos ejemplos de materiales de envasado farmacéutico incluyen, entre otros, frascos, tubos, inhaladores, bombas, bolsas, viales,
15 recipientes, jeringas, botellas y cualquier material de envasado adecuado para una formulación seleccionada y un modo de administración y tratamiento deseados.

El kit también puede contener elementos que no se encuentran dentro del paquete, sino que están unidos al
20 exterior del paquete, por ejemplo, pipetas.

Los kits también pueden contener instrucciones para administrar los compuestos o composiciones de la invención a un paciente. Los kits también pueden comprender instrucciones para los usos aprobados de los compuestos de la presente por
25 agencias reguladoras, como la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos. Los kits también pueden contener etiquetas o prospectos de los productos para los compuestos. Los paquetes y/o cualquier prospecto de producto pueden estar aprobados por las agencias reguladoras. Los kits
30 pueden incluir compuestos en fase sólida o en fase líquida

(como los amortiguadores proporcionados) en un paquete. Los kits también pueden incluir amortiguadores para preparar soluciones para realizar los métodos y pipetas para transferir líquidos de un recipiente a otro.

5

EJEMPLOS

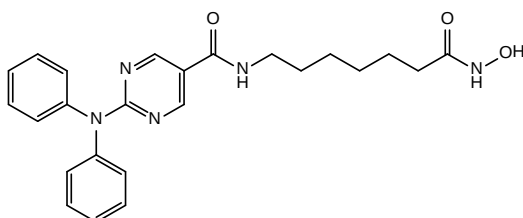
A continuación se presentan ejemplos con el fin de ilustrar y describir determinadas modalidades específicas de la invención. Sin embargo, el alcance de las reivindicaciones
10 no se verá afectado de ningún modo por los ejemplos presentados aquí. Varios cambios y modificaciones de las modalidades descritas serán evidentes para los expertos en la técnica y dichos cambios y modificaciones incluyendo, de modo no taxativo, los relacionados con las estructuras,
15 sustituyentes, derivados, formulaciones y/o métodos químicos de la invención se pueden realizar sin apartarse del espíritu de la invención y el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Las definiciones de variables en las estructuras en los esquemas de la presente corresponden a las posiciones
20 pertinentes en las fórmulas presentadas aquí.

La síntesis de los compuestos de fórmula I se proporciona en PCT/US2011/021982, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia. La síntesis de los compuestos de fórmula II se proporciona en
25 PCT/US2011/060791, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia. La síntesis de los compuestos de fórmula III se proporciona en las patentes estadounidenses N.º 5.635.517; 6.281.230; 6.335.349; y 6.476.052; y en la solicitud de patente internacional N.º
30 PCT/US97/013375, las cuales se incorporan a la presente

mediante esta referencia en su totalidad.

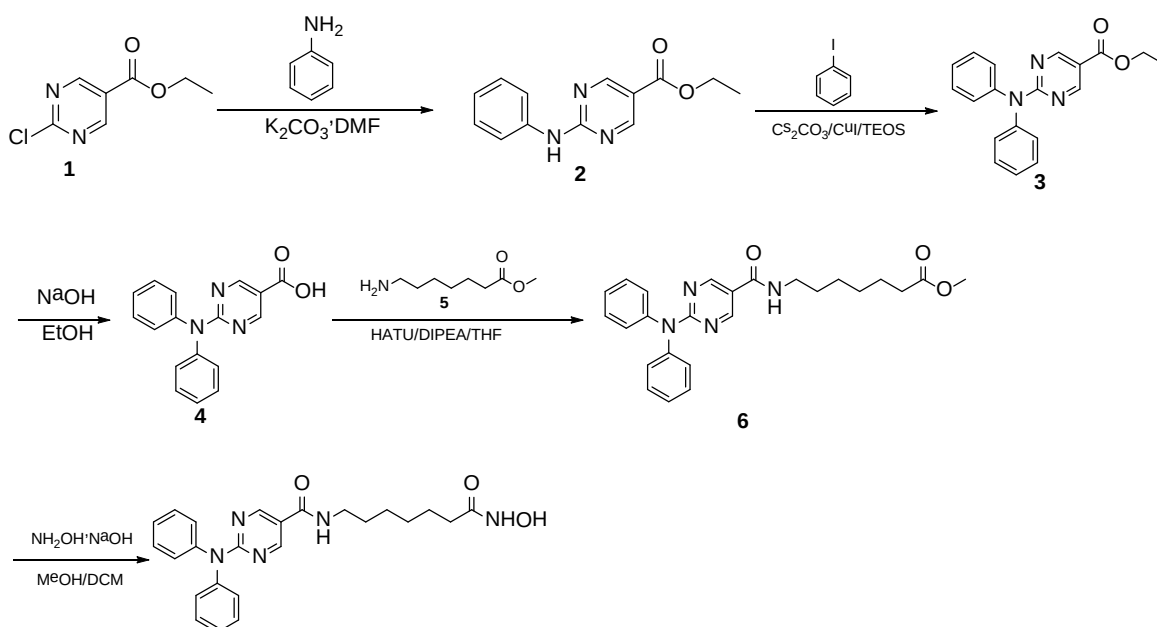
Ejemplo 1: síntesis de 2-(difenilamino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida (compuesto A)

5



10

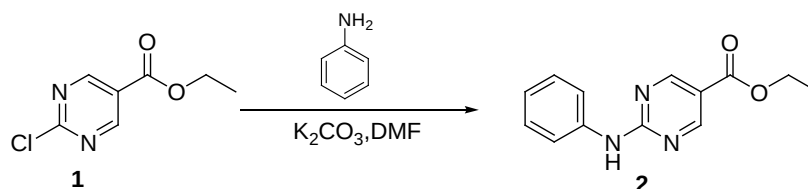
Esquema de reacción



15

20

Síntesis del intermedio 2

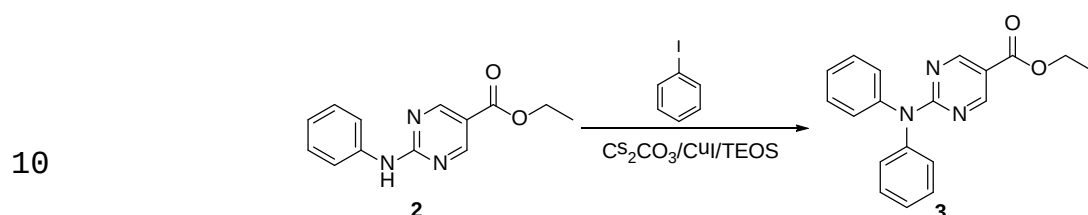


25

30 N₂ durante la noche. Se enfrió la mezcla de reacción a TA y

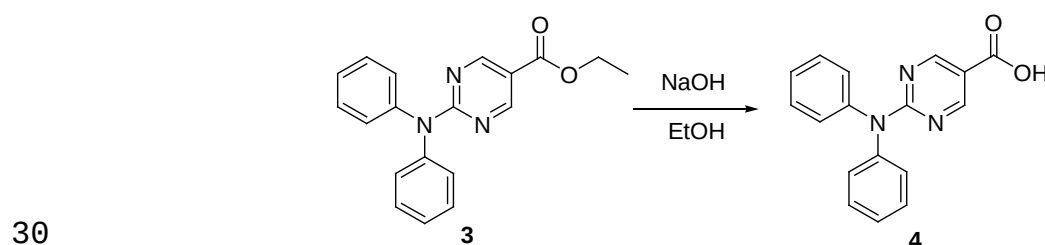
se diluyó con EtOAc (200 ml), después se lavó con salmuera saturada (200 ml x 3). Se separó la capa orgánica y se secó sobre Na₂SO₄, se evaporó a sequedad y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (éteres de petróleo/EtOAc = 10/1) para dar el producto deseado como un sólido blanco (6,2 g, 64 %).

Síntesis del intermedio 3



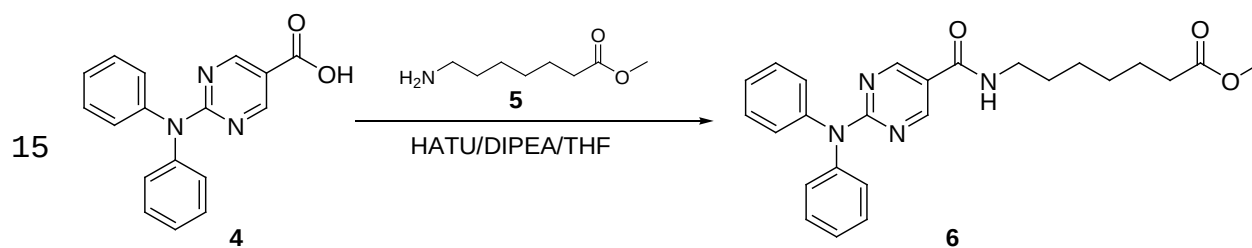
Se desgasificó una mezcla del compuesto 2 (6,2 g, 25 mmol), yodobenceno (6,12 g, 30 mmol), CuI (955 mg, 5,0 mmol), Cs₂CO₃ (16,3 g, 50 mmol) en TEOS (200 ml) y se purgó con nitrógeno. Se agitó la mezcla resultante a 140 °C durante 14 h. Después de enfriar a ta, se diluyó el residuo con EtOAc (200 ml) y se añadió EtOH al 95 % (200 ml), NH₄F-H₂O sobre gel de sílice [50g, prepreparado mediante el añadido de NH₄F (100g) en agua (1500 ml) a gel de sílice (500g, 100-200 mesh)] y se mantuvo la mezcla resultante a ta durante 2 h, se filtraron los materiales solidificados y se lavaron con EtOAc. Se evaporó el filtrado a sequedad y se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (éteres de petróleo/EtOAc = 10/1) para dar un sólido amarillo (3 g, 38 %).

Síntesis del intermedio 4



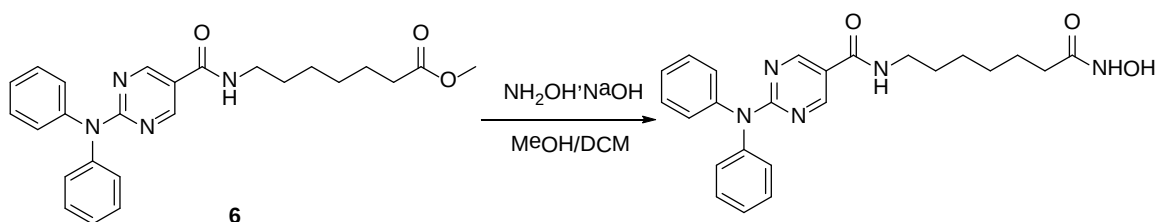
Se añadió NaOH 2N (200 ml) a una solución del compuesto 3 (3,0 g, 9,4 mmol) en EtOH (200 ml). Se agitó la mezcla a 60 °C durante 30 min. Después de la evaporación del disolvente, se neutralizó la solución con HCl 2N para dar un precipitado blanco. Se extrajo la suspensión con EtOAc (2 x 200 ml) y se separó la capa orgánica, se lavó con agua (2 x 100 ml), salmuera (2 x 100 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. La eliminación del disolvente dio un sólido marrón (2,5 g, 92 %).

Síntesis del intermedio 6



Se agitó una mezcla del compuesto 4 (2,5 g, 8,58 mmol), aminoheptanoato 5 (2,52 g, 12,87 mmol), HATU (3,91 g, 10,30 mmol), DIPEA (4,43 g, 34,32 mmol) a ta durante la noche. Después de filtrar la mezcla de reacción, se evaporó el filtrado a sequedad y se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (éteres de petróleo/EtOAc = 2/1) para dar un sólido marrón (2 g, 54 %).

25 Síntesis de 2-(difenilamino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida



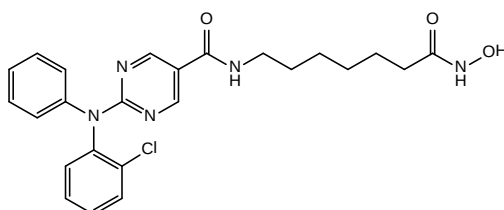
30 Se agitó una mezcla del compuesto 6 (2,0 g, 4,6 mmol),

hidróxido de sodio (2N, 20 mL) en MeOH (50 ml) y DCM (25 ml) a 0 °C durante 10 min. Se enfrió hidroxilamina (50 %) (10 ml) a 0 °C y se añadió a la mezcla. Se agitó la mezcla resultante a ta durante 20 min. Después de la eliminación del
5 disolvente, se neutralizó la mezcla con HCl 1M para dar un precipitado blanco. Se filtró el producto bruto y se purificó mediante pre-HPLC para dar un sólido blanco (950 mg, 48 %).

Ejemplo 2: síntesis de 2-((2-clorofenil)(fenil)amino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida

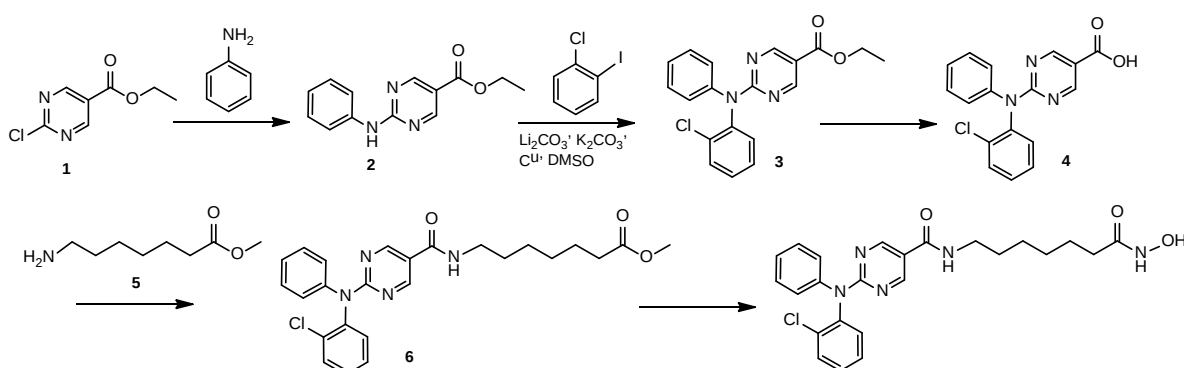
10

(compuesto B)



Esquema de reacción:

15



20

Síntesis del intermediario 2: véase la síntesis del intermediario 2 en el ejemplo 1.

Síntesis del intermediario 3: se desgasificó una mezcla del compuesto 2 (69,2 g, 1 equiv.), 1-cloro-2-yodobenceno (135,7 g, 2 equiv.), Li₂CO₃ (42,04 g, 2 equiv.), K₂CO₃ (39,32 g, 1 equiv.), Cu (1 equiv. 45 µm) en DMSO (690 ml) y se purgó con nitrógeno. Se agitó la mezcla resultante a 140 °C. El tratamiento final de la reacción dio el compuesto 3 con un rendimiento del 93 %.

30

Síntesis del intermediario 4: véase la síntesis del

intermedio 4 en el ejemplo 1.

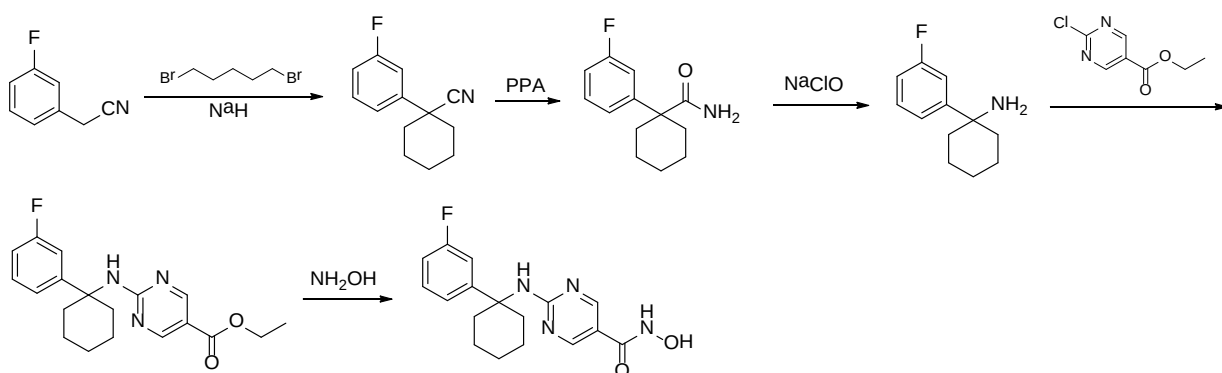
Síntesis del intermedio 6: véase la síntesis del intermedio 6 en el ejemplo 1.

Síntesis de 2-((2-clorofenil)(fenil)amino)-N-(7-(hidroxiamino)-7-oxoheptil)pirimidina-5-carboxamida (compuesto B): véase la síntesis del compuesto A en el ejemplo 1.

Ejemplo 3: síntesis de 2-((1-(3-fluorofenil)ciclohexil)amino)-N-hidroxipirimidina-5-carboxamida (compuesto C)

10

15



Síntesis de 1-(3-fluorofenil)ciclohexanocarbonitrilo:

A una solución de 2-(3-fluorofenil)acetonitrilo (100 g, 0,74 mol) en DMF seco (1000 ml) se le añadió por goteo 1,5-dibromopentano (170 g, 0,74 mol), NaH (65 g, 2,2 eq.) en un baño de hielo. Después del añadido, se agitó vigorosamente la mezcla resultante durante la noche a 50 °C. Se inactivó la suspensión con agua helada cuidadosamente y se extrajo con acetato de etilo (3*500 ml). Se concentró la solución orgánica combinada para obtener el producto bruto que se purificó en columna ultrarrápida para dar 1-(3-fluorofenil)ciclohexanocarbonitrilo como un sólido pálido (100 g, 67 %).

Síntesis de 1-(3-fluorofenil)ciclohexanocarboxamida:

Una solución de 1-(3-fluorofenil)ciclohexanocarbonitrilo

(100 g, 0,49 mol) en PPA (500 ml) se calentó a 110 °C durante aproximadamente 5-6 horas. Después de finalizar, se basificó cuidadosamente la mezcla resultante con solución saturada de NaHCO₃ hasta PH=8-9. Se recogió el precipitado y se lavó con
 5 agua (1000 ml) para dar 1-(3-fluorofenil)ciclohexanocarboxamida como un sólido blanco (95 g, 87 %).

Síntesis de 1-(3-fluorofenil)ciclohexanamina:

A una solución de 1-(3-
 10 fluorofenil)ciclohexanocarboxamida (95 g, 0,43 mol) en n-BuOH (800 ml) se le añadió NaClO (260 ml, 1,4 eq.), después NaOH 3N (400 ml, 2,8 eq.) a 0 °C y se agitó la reacción durante la noche a ta. Se extrajo la mezcla resultante con EA (2*500 ml), se lavó la solución orgánica combinada con salmuera, se
 15 secó para obtener el producto bruto que se purificó adicionalmente con tratamiento con sal HCl como un polvo blanco (72 g, 73 %).

Síntesis de 2-(1-(3-fluorofenil)ciclohexilamino)pirimidina-5-carboxilato de etilo:

A una solución de clorhidrato de 1-(3-
 20 fluorofenil)ciclohexanamina (2,29 g 10 mmol) en dioxano (50 ml) se le añadió 2-cloropirimidina-5-carboxilato de etilo (1,87 g, 1,0 eq.) y DIPEA (2,58 g, 2,0 eq.). Se calentó la mezcla durante la noche a 110-120 °C. La mezcla resultante se
 25 purificó directamente sobre columna de gel de sílice para dar el producto unido como un sólido blanco (1,37 g, 40 %).

Síntesis de 2-((1-(3-fluorofenil)ciclohexil)amino)-N-hidroxipirimidina-5-carboxamida:

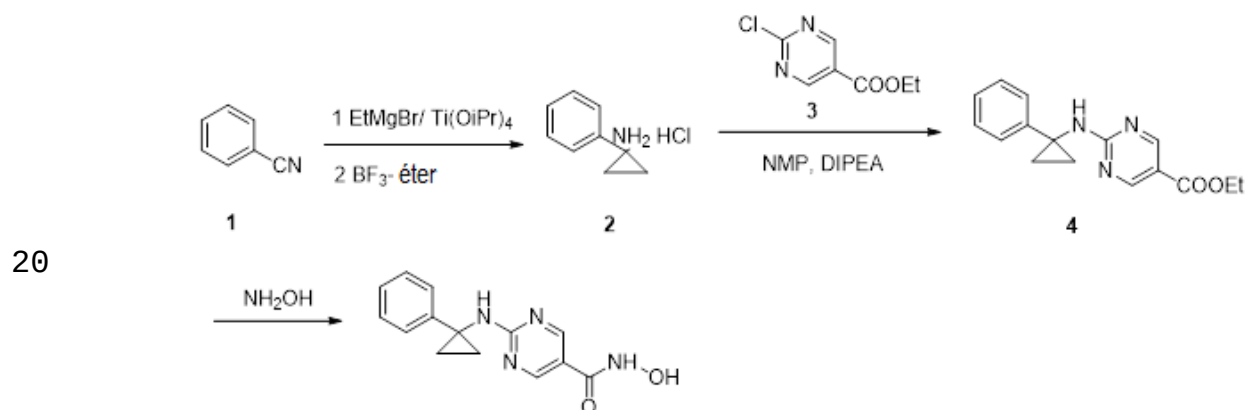
A una solución de 2-(1-(3-
 30 fluorofenil)ciclohexilamino)pirimidina-5-carboxilato de etilo

(100 mg, 0,29 mmol) en MeOH/DCM (10 ml, 1:1) se le añadió NH_2OH al 50 % en agua (2 ml, en exceso), después se le añadió NaOH saturado en MeOH (2 ml, en exceso) a 0 °C y se agitó la reacción durante 3-4 horas. Después de finalizar, se concentró la mezcla resultante y se acidificó con HCl 2N hasta PH=4-5. Se recogió el precipitado y se lavó con agua (10 ml) para retirar el NH_2OH y se secó para obtener 2-((1-(3-fluorofenil)ciclohexil)amino)-N-hidroxipirimidina-5-carboxamida como polvo blanco (70 mg, 73 %).

Ejemplo 4: síntesis de N-hidroxi-2-((1-fenilciclopropil)amino)pirimidina-5-carboxamida (compuesto D)



Esquema de reacción



Síntesis del intermedio 2: se enfrió una solución de compuesto 1, benzonitrilo (250 g, 1,0 equiv.) y $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ (1330 ml, 1,5 equiv.) en MBTE (3750 ml) a aproximadamente -10 a -5 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió por goteo EtMgBr (1610 ml, 3,0M, 2,3 equiv.) durante un período de 60 min, durante el cual la temperatura interna de la reacción se mantuvo por debajo de 5 °C. Se dejó que la mezcla de reacción se calentara a 15-20 °C durante 1 h. Se añadió por goteo BF_3 -

éter (1300 ml, 2,0 equiv.) durante un período de 60 min y la temperatura interna se mantuvo por debajo de 15 °C. Se agitó la mezcla de reacción a 15-20 °C durante 1-2 h y se detuvo cuando quedaba un nivel bajo de benzonitrilo. Se añadió por goteo HCl 1N (2500 ml) y se mantuvo la temperatura interna por debajo de 30 °C. Se añadió por goteo NaOH (20 %, 3000 ml) para llevar el pH a aproximadamente 9,0 y se continuó manteniendo una temperatura por debajo de 30 °C. Se extrajo la mezcla de reacción con MTBE (3 L × 2) y EtOAc (3 L × 2) y se secaron las capas orgánicas combinadas con Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida (por debajo de 45 °C) para dar un aceite rojo. Se añadió MTBE (2500 ml) al aceite para dar una solución transparente y tras burbujear con gas HCl seco, se precipitó un sólido. Se filtró este sólido y se secó al vacío para proporcionar 143 g del compuesto 2.

Síntesis del intermedio 4: se disolvieron el compuesto 2 (620 g, 1,0 equiv.) y DIPEA (1080 g, 2,2 equiv. en NMP (3100 ml) y se agitaron durante 20 min. Se añadió el compuesto 3 (680 g, 1,02 equiv.) y se calentó la mezcla de reacción a aproximadamente 85-95 °C durante 4 h. Se dejó enfriar lentamente la solución a ta. Se vertió esta solución en H₂O (20 L) y se precipitó gran parte del sólido de la solución con agitación fuerte. Se filtró la mezcla y se secó la torta bajo presión reducida a 50 °C durante 24 h para proporcionar 896 g del compuesto 4 (sólido, 86,8 %).

Síntesis de N-hidroxi-2-((1-fenilciclopropil)amino)pirimidina-5-carboxamida (compuesto D): se enfrió una solución de MeOH (1000 ml) a aproximadamente 0-5 °C con agitación. Se añadió HCl de NH₂OH (1107 g, 10 equiv.), seguido de añadido cuidadoso de NaOCH₃

(1000 g, 12,0 equiv.) Se agitó la mezcla resultante a 0-5 °C durante una hora y se filtró para retirar el sólido. Se añadió el compuesto 4 (450 g, 1,0 equiv.) a la mezcla de reacción en una porción y se agitó a 10 °C durante dos horas hasta que se consumió el compuesto 4. Se ajustó la mezcla de reacción a un pH de aproximadamente 8,5-9 mediante añadido de HCl (6N), que produjo precipitación. Se concentró la mezcla a presión reducida. Se añadió agua (3000 ml) al residuo con agitación intensa y se recogió el precipitado mediante filtración. Se secó el producto en un horno a 45 °C durante la noche (340 g, 79 % de rendimiento).

Ejemplo 5: ensayos de enzima HDAC

Los compuestos para análisis se diluyeron en DMSO a 50 veces la concentración final y se realizó una serie de dilución de diez coma tres veces. Los compuestos se diluyeron en amortiguador de ensayo (50 mM de HEPES, pH 7,4, 100 mM de KCl, 0,001 % de Tween-20, 0,05 % de BSA, 20 µM de TCEP) a 6 veces su concentración final. Las enzimas HDAC (adquiridas de BPS Biosciences) se diluyeron a 1,5 veces su concentración final en amortiguador de ensayo. El sustrato de tripéptidos y tripsina a una concentración final de 0,05 µM se diluyeron en amortiguador de ensayo a 6 veces su concentración final. Las concentraciones de enzima finales utilizados en estos ensayos fueron 3,3 ng/ml (HDAC1), 0,2 ng/ml (HDAC2), 0,08 ng/ml (HDAC3) y 2 ng/ml (HDAC6). Las concentraciones de sustrato finales utilizadas fueron 16 µM (HDAC1), 10 µM (HDAC2), 17 µM (HDAC3) y 14 µM (HDAC6). Se agregaron cinco µl del compuesto y 20 µl de enzima a los pocillos de una placa opaca negra de 384 pocillos por duplicado. La enzima y el compuesto se incubaron juntos a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Se agregaron cinco μ l de sustrato a cada pocillo, la placa se agitó durante 60 segundos y se colocó en un lector de placas de microtitulación Victor 2. El desarrollo de fluorescencia se controló durante 60 min y se calculó el índice lineal de la reacción. La IC₅₀ se determinó usando Graph Pad Prism con un ajuste de curva de cuatro parámetros.

Ejemplo 6: los inhibidores de HDAC6 sinergizan con IMiD en la destrucción de las células de linfoma

En este experimento, se sabe que la combinación de un inhibidor de HDAC6 (compuesto A, compuesto B) con lenalidomida (compuesto E) o pomalidomida (compuesto F) produce disminuciones sinérgicas en la viabilidad de las células de linfoma de células del manto Mino y Jeko1 (MCL) *in vitro*. La importancia de la inhibición de HDAC6 para este efecto sinérgico fue validada mediante la demostración de las interacciones sinérgicas de cualquier molécula de IMiD (lenalidomida o pomalidomida) con el compuesto C, que es más que 300 veces selectivo para HDAC6 sobre HDAC de clase I.

En resumen, para los ensayos de viabilidad, se cultivaron células en placas de 384 pocillos y se trataron por cuádruplicado en un formato de matriz de dosis con un inhibidor de HDAC6 (compuesto A, compuesto B o compuesto C) en combinación con lenalidomida o pomalidomida. Después de incubar estas células durante 72 h, se evaluó la viabilidad celular total mediante un ensayo MTS (Aqueous One, Promega). Se determinó posteriormente la fracción afectada (Fa) para cada combinación de dosis y se evaluó el índice de combinación (CI) utilizando el método de Chou-Talalay. Los valores de CI inferiores a uno representan un efecto sinérgico, los valores iguales a uno sugieren un efecto

aditivo y los valores mayores a dos indican un efecto antagonista. Como se puede observar en las gráficas Fa-CI en las figuras 1A-F, todos los inhibidores de HDAC6 mostraron pruebas contundentes de sinergia con los IMiD evaluados en un
5 intervalo amplio de Fa. Esto queda comprobado por la gran cantidad de puntos de datos (que representan combinaciones de dosis individuales) en la gráfica Fa-CI que se encuentran por debajo del corte altamente riguroso de 0,7.

**Ejemplo 7: los inhibidores de HDAC actúan sinérgicamente para
10 promover la apoptosis en combinación con los fármacos
inmunomoduladores (IMiD) en las células de linfoma del manto
(MCL)**

Los inhibidores de histona deacetilasa (HDAC) han demostrado un beneficio clínico significativo como agentes
15 únicos en los linfomas de linfocitos T periféricos y cutáneos y han recibido aprobación de la FDA para estas indicaciones. El ricolinostat (compuesto A) es un inhibidor selectivo de HDAC6 disponible para administración oral primero en su clase (aproximadamente selectivo 11 veces sobre HDAC de clase I).
20 Se describe en la presente una evaluación de la actividad potencial del ricolinostat en las líneas celulares de MCL en combinación con IMiD.

Las figuras 2A-C muestran que el tratamiento de las células de linfoma de células del manto con el compuesto A o
25 el compuesto B y/o IMiD produjo una disminución de la evolución del ciclo celular. La figura 2A muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Jeko1 durante 4 días con DMSO, compuesto B (2 μ M), lenalidomida (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del
30 compuesto B con cualquier IMiD sobre la inhibición del ciclo

celular. La figura 2B muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Mino durante 4 días con DMSO, compuesto A (2 μ M), lenalidomida (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto A con cualquier IMiD sobre la inhibición del ciclo celular. La figura 2C muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Mino durante 4 días con DMSO, compuesto B (2 μ M), lenalidomida (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto B con cualquier IMiD sobre la inhibición del ciclo celular.

Las figuras 3A-B muestran que el tratamiento de las células de linfoma de células del manto con el compuesto A o el compuesto B e IMiD produjo aumentos sinérgicos en la apoptosis celular. La figura 3A muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Jeko1 durante 4 días con DMSO, compuesto A (2 μ M), lenalidomida (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto A con cualquier IMiD sobre la inducción de la apoptosis. La figura 3B muestra el efecto del tratamiento de células de linfoma de células del manto Jeko1 durante 4 días con DMSO, compuesto B (2 μ M), pomalidomida (1 μ M) o combinaciones del compuesto B con pomalidomida sobre la inducción de la apoptosis.

La figura 4 es una fotografía de una inmunotransferencia de células de linfoma de células del manto Jeko1 que muestra que la combinación del compuesto A y pomalidomida produjo mayor supresión de la expresión de MYC, IRF4 y IKZF3, los cuales son reguladores transcripcionales claves en el cáncer. Los marcadores de apoptosis (PARP escindido) también aumentaron con el tratamiento de combinación.

El tratamiento de combinación de líneas de MCL con los

compuestos A y B y lenalidomida o pomalidomida en un formato de matriz de dosis produjo disminuciones sinérgicas en la viabilidad celular *in vitro*. El crecimiento celular reducido fue acompañado por un aumento de la apoptosis después del
5 tratamiento de combinación, así como expresión reducida de los factores de transcripción oncogénicos fundamentales MYC e IRF4. En general, estos datos apoyan la evaluación continua de la actividad de los compuestos A y B en el linfoma de células del manto en combinación con cualquier IMiD.

10 Incorporación mediante esta referencia

Los contenidos de todas las referencias (incluidas las referencias de bibliografía, patentes emitidas, solicitudes de patente publicadas y solicitudes de patente co-pendientes) citadas a lo largo de la presente solicitud se incorporan
15 expresamente a la presente en su totalidad. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se utilizan en la presente tienen el significado habitualmente conocido por un experto en la técnica.

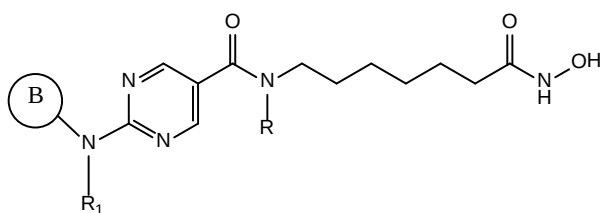
20 Equivalentes

Los expertos en la presente reconocerán, o serán capaces de establecer usando solo la experimentación de rutina, muchos equivalentes de las modalidades específicas de la invención que se describen en la presente. Se pretende que
25 tales equivalentes sean comprendidos por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación farmacéutica para tratar el linfoma que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor específico de histona deacetilasa 6 (HDAC6) o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un fármaco inmunomodulador (IMiD) o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

2. La combinación de la reivindicación 1 en donde el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

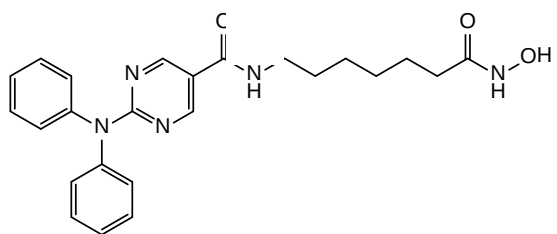
el anillo B es arilo o heteroarilo;

R¹ es un arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo o alquilo C₁₋₆;

y

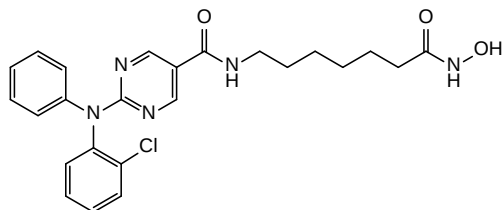
R es H o alquilo C₁₋₆.

3. La combinación de la reivindicación 2 en donde el compuesto de fórmula I es:



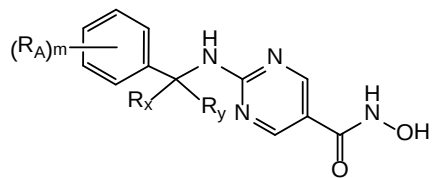
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

4. La combinación de la reivindicación 2 en donde el compuesto de fórmula I es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

5. La combinación de la reivindicación 1 en donde el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula II:



(II)

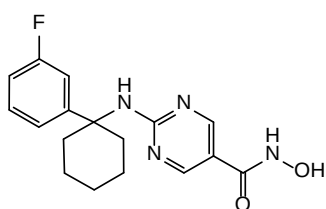
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
en donde,

R_x y R_y junto con el carbono al cual está unido cada uno, forma un ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo;

cada R_A es independientemente alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, halo, OH, -NO₂, -CN o -NH₂; y

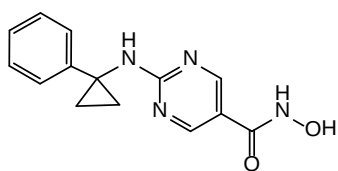
m es 0 o 1.

6. La combinación de la reivindicación 5 en donde el compuesto de fórmula II es:



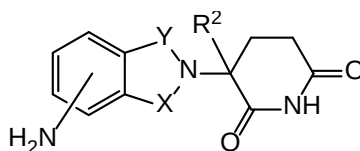
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

7. La combinación de la reivindicación 5 en donde el compuesto de fórmula II es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

8. La combinación de la reivindicación 1 en donde el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula III:



(III)

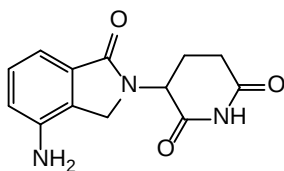
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

uno de X e Y es C=O, el otro de X e Y es CH₂ o C=O; y

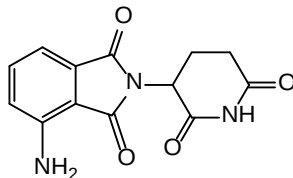
R² es H o alquilo C₁₋₆.

9. La combinación de la reivindicación 8 en donde el compuesto de fórmula III es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

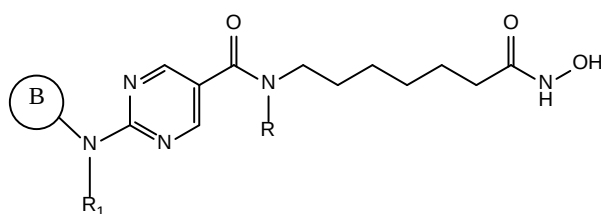
10. La combinación de la reivindicación 8 en donde el compuesto de fórmula III es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

11. Un método para tratar el linfoma en un sujeto que lo necesita que comprende administrarle al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación farmacéutica que comprende un inhibidor específico de histona deacetilasa 6 (HDAC6) o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un fármaco inmunomodulador (IMiD) o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

12. El método de la reivindicación 11 en donde el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

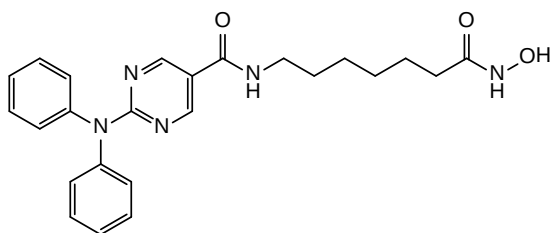
el anillo B es arilo o heteroarilo;

R¹ es un arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con OH, halo o alquilo C₁₋₆;

y

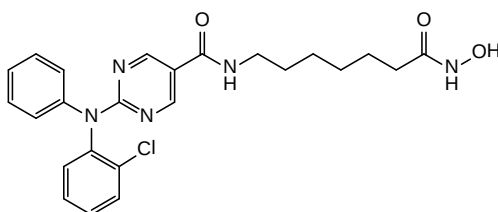
R es H o alquilo C₁₋₆.

13. El método de la reivindicación 12 en donde el compuesto de fórmula I es:



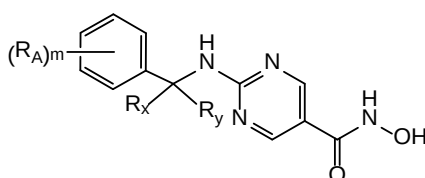
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

14. El método de la reivindicación 12 en donde el compuesto de fórmula I es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

15. El método de la reivindicación 11 en donde el inhibidor específico de HDAC6 es un compuesto de fórmula II:



(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

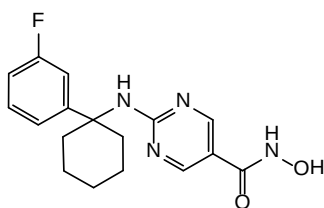
R_x y R_y junto con el carbono al cual está unido cada uno, forma un ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo,

cicloheptilo, ciclooctilo;

cada R_A es independientemente alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halo, OH, $-NO_2$, $-CN$ o $-NH_2$; y

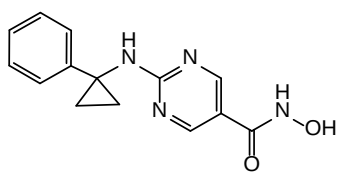
m es 0 o 1.

16. El método de la reivindicación 15 en donde el compuesto de fórmula II es:



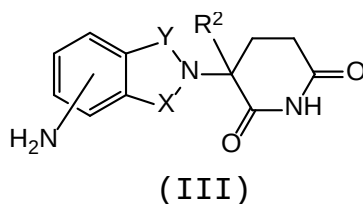
o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

17. El método de la reivindicación 15 en donde el compuesto de fórmula II es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

18. El método de la reivindicación 11 en donde el fármaco inmunomodulador es un compuesto de fórmula III:



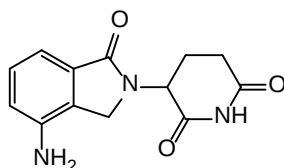
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

en donde,

uno de X e Y es C=O, el otro de X e Y es CH₂ o C=O; y

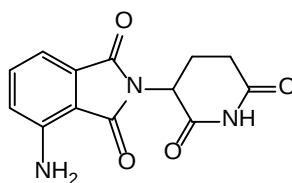
R² es H o alquilo C₁₋₆.

19. El método de la reivindicación 18 en donde el compuesto de fórmula III es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

20. El método de la reivindicación 18 en donde el compuesto de fórmula III es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

21. El método de la reivindicación 11 en donde, anteriormente, el sujeto era resistente a un fármaco inmunomodulador.

22. El método de la reivindicación 11 en donde el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en formas de dosificación separadas.

23. El método de la reivindicación 11 en donde el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en una forma de dosificación única.

24. El método de la reivindicación 11 en donde el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran en momentos diferentes.

25. El método de la reivindicación 11 en donde el inhibidor de HDAC y el fármaco inmunomodulador se administran prácticamente al mismo tiempo.

26. Un método para disminuir la evolución del ciclo celular que comprende la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

27. Un método para aumentar la apoptosis celular que comprende la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.

28. Un método para suprimir los reguladores transcripcionales en el cáncer que comprende la administración de una combinación que comprende un inhibidor de HDAC y un fármaco inmunomodulador.