



Organización y
Normalización CSA Ltda



CSA836255

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PCT

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones



SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

10-82099

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

TRATAMIENTO DEL CANCER CON COMBINACIONES DE INHIBIDORES

DE LA TOPOISOMERASA EN INHIBIDORES DE PARP

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

BIPAR SCIENCES. INC.

DOMICILIO

SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO

LUZ CLEMENTA DE PAEZ
C.C.35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C.,

03-07-2010

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-082099- -00000-0000

Fecha: 2010-07-07 15:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 156

ación

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL****SOLICITUD DE:**

1



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**Nombre: **BIPAR SCIENCES, INC.**
Sociedad constituida y existente bajo las
leyes del Estado de Delaware, Estados
Unidos de América.Dirección: 400 Oyster Point Boulevard,
Suite 200,
South San Francisco,
California 94080,
Estados Unidos de AméricaDomicilio: South San Francisco,
California,
Estados Unidos de América**IDENTIFICACIÓN**

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.**IDENTIFICACIÓN**

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número 35.456.344

T.P 23.555

4

**INVENTOR (ES)
(72)**1. **Valeria S. OSSOVSKAYA**
338 Spear Street, Unit 14C,
San Francisco,
California 94105,
Estados Unidos de América3. **Barry M. SHERMAN**
2830 Churchill Drive,
Hillsborough,
California 94010,
Estados Unidos de América2. **Charles BRADLEY**
66 Spyglass Ct.,
Half Moon Bay,
California 94019,
Estados Unidos de América

5

PCT (86)Solicitud Internacional No. PCT/US2008/085756Fecha: 5 de diciembre de 2008Publicación Internacional No. WO 2009/073869 A1Fecha: 11 de junio de 2009

6

Título (54)**TRATAMIENTO DEL CANCER CON COMBINACIONES DE INHIBIDORES DE LA
TOPOISOMERASA E INHIBIDORES DE PARP**

7

Clasificación Internacional (51) A01N 043/042

8

Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI ☒ NO ☐US7 de diciembre de 200761/012,364

9

Comprobante de pago No.: 10-14,399Comprobante de pago No.: 10-34,535Comprobante de pago No.: 10-52,232Fecha: 22 de febrero de 2010Fecha: 4 de mayo de 2010Fecha: 28 de junio de 2010

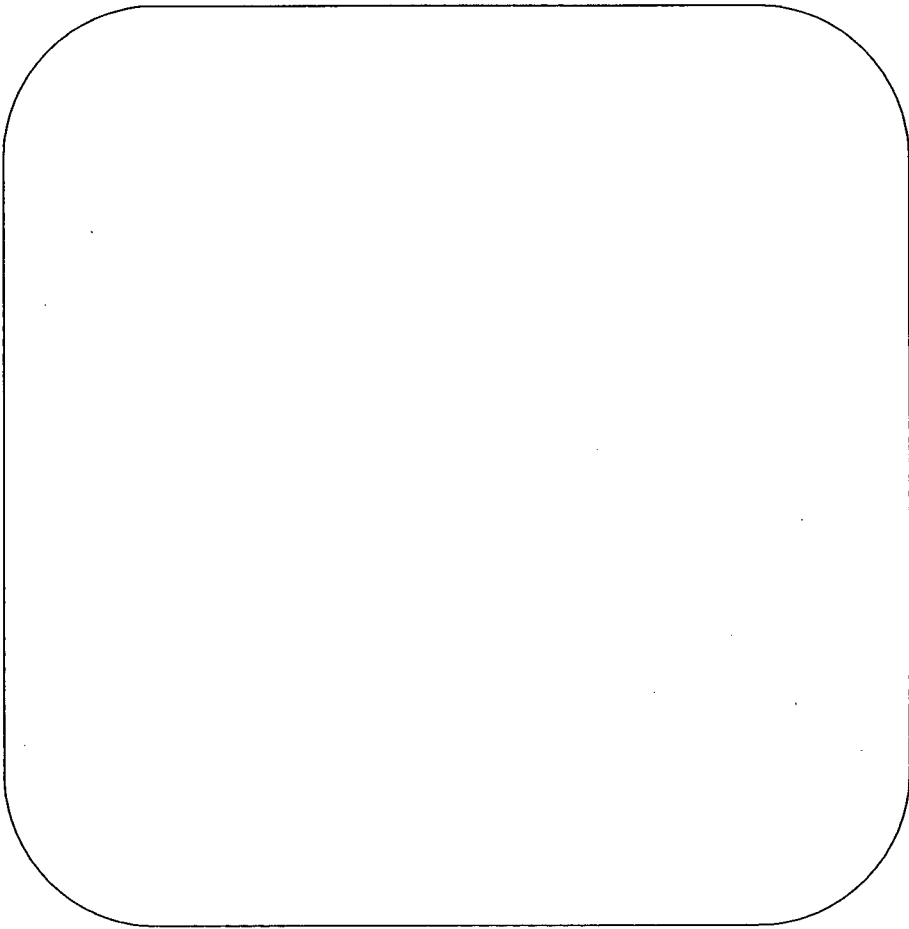
10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 554.000.oo.
- ☒ Comprobante de pago por 29 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$754.000.oo.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia De Paez
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

JGG

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2009/073869 A1

Descripción:

Páginas 53 en el idioma original

Páginas 57 en español

Reivindicaciones: Número (s) 39

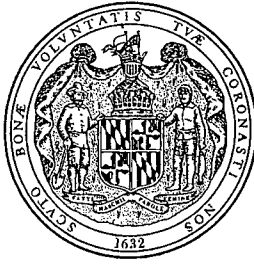
Figuras: Número (s)

2. ☒ Forma PCT/ISA/210. Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Forma PCT/IB/306. Notificación de la inscripción del cambio de dirección de la Sociedad Solicitante **BIPAR SCIENCES, INC.**, y del nombre y dirección de los inventores **Valeria S. OSSOVSKAYA** y **Barry M. SHERMAN**.

4. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA
FASE INTERNACIONAL**



The State of Maryland

Office of the Secretary of State

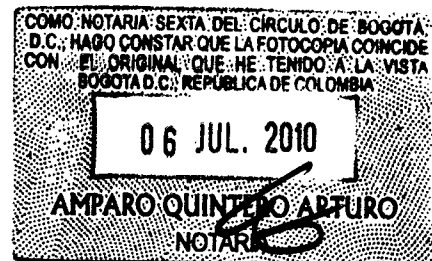
Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by **Robert P. Duckworth**
3. acting in the capacity of **Clerk of the Circuit Court for Anne Arundel County**
4. bears the seal/stamp of the **Circuit Court for Anne Arundel County**

Certified

5. at Annapolis, Maryland
6. the **24th day of August, 2009**
7. by The Secretary of State of Maryland
8. Seal



9. Signature

Secretary of State

No. 244161

To All To Whom These Presents Shall Come

Based upon available information

US Legalization

Authenticates the signature of

Andrea Q. Ryan

notarized by

Nancy J. Ingram

is true and correct

Deborah Campbell

Authorized Signature

Deborah Campbell

On this day of August 21, 2009, I Ahmad Miski, Notary Public, Anne Arundel County, State of Maryland, do hereby certify under the Oath of my Office and Seal that the signature of Deborah Campbell is true and accurate.

My commission expires on May 28, 2013

82285

State of Maryland, Anne Arundel County, Sgt.

I, ROBERT P. DUCKWORTH, Clerk of the Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland, a court of record, do hereby certify that Ahmad Miski, Notary Public, is a commissioned/appointed and qualified Notary Public commencing on the 1st of May, 2009.

COMO: NOTARIA: SEXTA DEL: CIRCULO: DE: BOGOTA
D.C.: HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

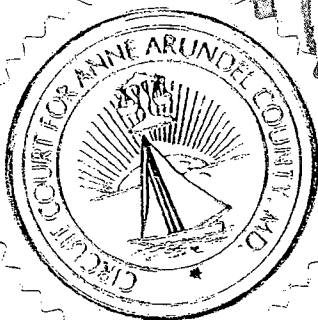
06 JUL 2010

AMARO QUINTERO ARTURO

In Testimony Whereof, I have hereunto set my hand and affixed the seal of the court this 24th day of August, 2009.

Robert P. Duckworth

Robert P. Duckworth, Clerk
Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland



CAVELIER
ABOGADOS
 OFICIO SISKI
 CARRERA 4a N° 72-35
 BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

181

Representación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation and Power-of-Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

BIPAR SCIENCES, INC.

domiciliado (s) en/of 400 Oyster Point Boulevard, Suite 200,

South San Francisco, California 94080, United States of America

Hereby ratify the patent application No. 09.085.583 filed by Luz Clemencia de Páez on August 14, 2009, and,

por el presente nombramos a LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555, DANIEL PEÑA, tpa. 65620 y GERMAN MARIN tpa. 64239 domiciliados en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555, DANIEL PEÑA, tpa. 65620 y GERMAN MARIN tpa. 64239 domiciled at Carrera 4a N° 72 35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of temporal or definitive impediment. The second alternate shall replace the first alternate and the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternate, or all of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time. In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above named attorneys at law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair

...tidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, ... ante las del orden administrativo, contencioso-... ativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en ...o concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de ...ntes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

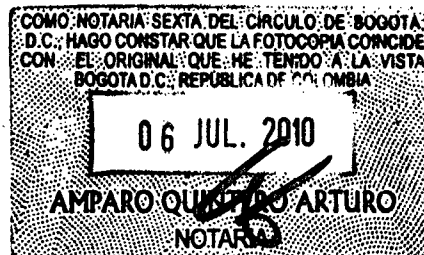
Dado y firmado hoy/Given and signed this 18th day of August 2009

en/in Bridgewater, New Jersey, US

por/by ANDREA Q. RYAN, Attorney-in-Fact

Firma/Signature

Andrea Q. Ryan

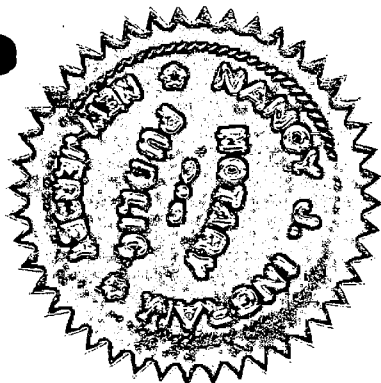


NOTARIAL CERTIFICATE (Corporation)

UNITED STATES OF AMERICA)
STATE OF NEW JERSEY) ss.
COUNTY OF SOMERSET)

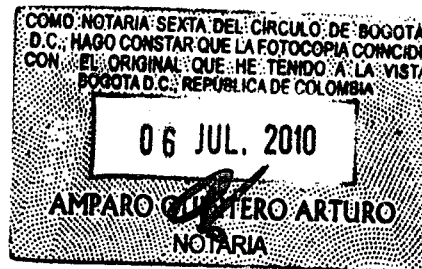
On this 18th day of August, 2009, personally appeared before me, **Andrea Q. Ryan, Attorney-in-Fact**, of **BiPar Sciences, Inc.**, known or identified to me to be the individual described in and who executed the foregoing document, **REPRESENTATION AND POWER-OF-ATTORNEY**, and acknowledged the same as a free act and deed for uses and purposes therein expressed by authority of the said Corporation incorporated under the laws of the State of Delaware, United States of America.

I further certify that said authority, dated **June 30, 2009**, is based on a **Signature Authorization Form**, which I have seen, appointing the said individual Assistant Secretary with full power to sign the foregoing document on behalf of the said Corporation and that the purposes for which said document is granted are within the scope of the objects or activities of said Corporation,



Nancy J. Ingram
Notary Public

Nancy J. Ingram
Notary Public, State of New Jersey
My Commission Expires August 2, 2014



TRADUCCION OFICIAL NO. 779/2009

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCIÓN FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES; LLEVA SELLO Y FIRMA DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL, SEGÚN RESOLUCION No. 3618 EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA EL 6 DE SEPT. DE 1972.

TRADUCCION DE LOS SELLOS QUE SE ENCUENTRAN EN EL DOCUMENTO DE REPRESENTACION Y PODER OTORGADO POR **BIPAR SCIENCES, INC.**, DOMICILIADA EN **400 OYSTER POINT BOULEVARD, SUITE 200, SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080, ESTADOS UNIDOS AMERICA**, POR MEDIO DEL CUAL SE RATIFICA LA SOLICITUD DE PATENTE NO. 09.085.583 RADICADA POR LUZ CLEMENCIA DE PAEZ EL 14 DE AGOSTO DE 2009 Y POR EL CUAL SE NOMBRA A LOS DOCTORES **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, DANIEL PEÑA Y GERMAN MARIN** COMO REPRESENTANTES DE DICHA COMPAÑIA.

DADO Y FIRMADO EL 18 DE AGOSTO DE 2009 EN BRIDGEWATER, NEW JERSEY, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA POR ANDREA Q. RYAN, APODERADO. FIRMADO: ANDREA Q. RYAN.

**CERTIFICADO NOTARIAL
(CORPORACIÓN)**

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

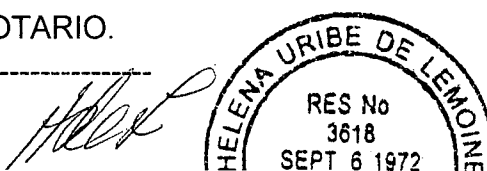
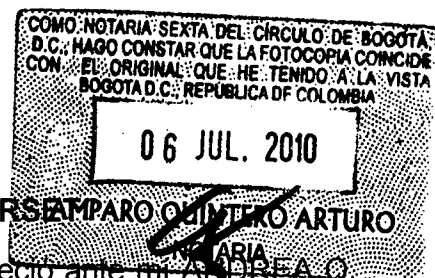
ESTADO DE NEW JERSEY - CONDADO DE SOMMERSET

Este día 18 de Agosto de 2009 personalmente compareció ante mí **ANDREA Q. RYAN**, Apoderado de **BIPAR SCIENCES, INC.**, quien se identificó como la persona descrita y quien ejecutó el anterior documento de REPRESENTACION Y PODER y declaró que el mismo es su acto libre para los usos y fines allí expresados por autorización de dicha Corporación constituida bajo las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América.

Certifico además que la autorización, de fecha 30 de Junio de 2009, se basa en una Forma de Autorización de Firma que tuve a la vista, y por medio de la cual se nombra a dicha persona como Secretario Asistente con plenos poderes para firmar el anterior documento a nombre de dicha Corporación y que los fines para los cuales se otorga dicho documento se encuentran dentro del alcance de los objetos o actividades de dicha Corporación.

FIRMADO: **NANCY J. INGRAM**, NOTARIO PUBLICO, ESTADO DE NEW JERSEY, CON COMISION HASTA EL 2 DE AGOSTO DE 2014.

HAY SELLO DEL NOTARIO.



A TODOS A QUIENES LOS PRESENTES LLEGUEN

CON BASE EN LA INFORMACIÓN DISPONIBLE
LA OFICINA DE LEGALIZACIONES DE LOS

ESTADOS UNIDOS

AUTENTICA LA FIRMA DE

ANDREA Q. RYAN

NOTARIZADA POR

NANCY J. INGRAM

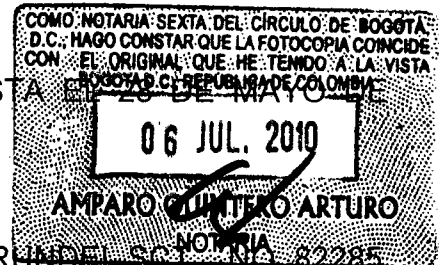
LA CUAL ES VERDADERA Y CORRECTA

FIRMADO: DEBORAH. CAMPBELL

FIRMA AUTORIZADA

ESTE DÍA 21 DE AGOSTO DE 2009, YO, AHMAD MISKI, NOTARIO
PUBLICO, PARA EL CONDADO DE ANNE ARUNDEL, ESTADO DE
MARYLAND, CERTIFICO QUE LA FIRMA DE DEBORAH A. CAMPBELL ES
VERDADERA Y CORRECTA.

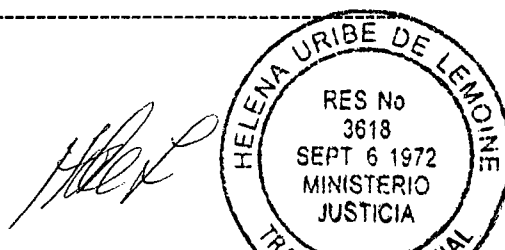
FIRMADO: AHMAD MISKI, CON COMISION HASTA EL 28 DE MAYO
2013. HAY SELLO DEL NOTARIO.



ESTADO DE MARYLAND, CONDADO DE ANNE ARUNDEL
Yo, ROBERT P. DUCKWORTH, Oficial de la Corte de Circuito del Condado de
Anne Arundel, Maryland, una Corte de Registro, por medio del presente
certifico que **AHMAD MISKI** era Notario Público debidamente comisionado,
nombrado y calificado desde el día 5 de Mayo de 2009.

En testimonio de lo anterior firmo y pongo el sello de la corte este día 24 de
Agosto de 2009

FIRMADO: ROBERT. P. DUCKWORTH, FUNCIONARIO
CORTE DE CIRCUITO DEL CONDADO DE ANNE ARUNDEL, MARYLAND
HAY SELLO EN RELIEVE



ESTADO DE MARYLAND
DESPACHO DEL SECRETARIO DE ESTADO

APOSTILLA

CONVENIO DE LA HAYA DEL 5 DE OCTUBRE DE 1961

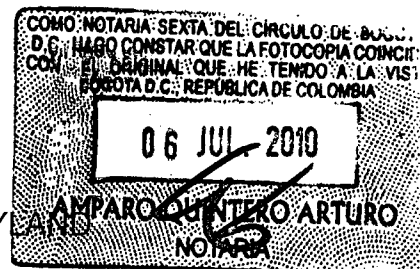
1. PAIS: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

EL PRESENTE DOCUMENTO PUBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR: **ROBERT P. DUCKWORTH**
3. ACTUANDO EN SU CAPACIDAD DE: FUNCIONARIO DE LA CORTE
DE CIRCUITO DEL CONDADO DE ANNE ARUNDEL
4. LLEVA EL SELLO DE: DE LA CORTE DE CIRCUITO DEL CONDADO
DE ANNE ARUNDEL

CERTIFICADO

5. EN: ANNAPOLIS, MARYLAND
6. EL 24 DE AGOSTO DE 2009
7. POR EL SECRETARIO DEL ESTADO MARYLAND
8. BAJO EL NO.: **244161**
9. SELLO: DEL SECRETARIO DEL ESTADO DE MARYLAND
10. FIRMADO: ILEGIBLE. SECRETARIO DE ESTADO



LA TRADUCTORA OFICIAL

Helena Uribe de Lemoine

HELENA URIBE DE LEMOINE



BOGOTÁ
ESPIONAJE
ALITO

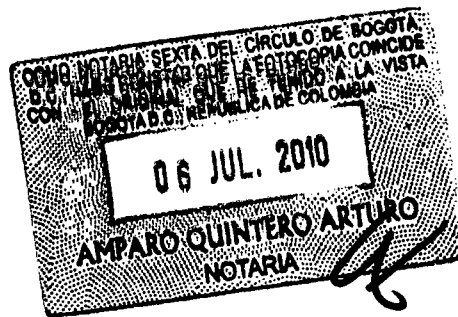
956568

Helena Uribe
CIVILIZACION DE EL
GOBIERNO DE LA
ASOCIACIONES INDICAS

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2009 SET 22 A 8:13

Jefe de Localizaciones
BOGOTÁ D.C.



13

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

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
11 June 2009 (11.06.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/073869 A1

(51) International Patent Classification:
A01N 43/42 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)

(74) Agents: HALLUIN, Albert, P. et al.; WILSON SONSINI
GOODRICH & ROSATI, 650 Page Mill Road, Palo Alto,
CA 94304-1050 (US).

(21) International Application Number:
PCT/US2008/085756

(22) International Filing Date:
5 December 2008 (05.12.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/012,364 7 December 2007 (07.12.2007) US

(71) Applicant (for all designated States except US): BIPAR
SCIENCES, INC. [US/US]; 1000 Marina Boulevard,
Suite 550, Brisbane, CA 94005 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): OSSOVSKAYA,
Valeria [US/US]; 96 Toledo Way, #304, San Francisco,
CA 94123 (US). BRADLEY, Charles [US/US]; 66 Spy-
glass Ct., Half Moon Bay, CA 94019 (US). SHERMAN,
Barry [US/US]; 2830 Churchill Drive, Hillsborough, CA
94010 (US).

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

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

Published:
— with international search report



WO 2009/073869 A1

(54) Title: TREATMENT OF CANCER WITH COMBINATIONS OF TOPOISOMERASE INHIBITORS AND PARP
INHIBITORS

(57) Abstract: In one aspect, the present invention provides a composition and a kit comprising a combination of topoisomerase
inhibitor and PARP inhibitor for treatment of cancer. In another aspect, the invention provides a method of treating cancer compris-
ing administering to a subject a combination of topoisomerase inhibitor and PARP inhibitor. In particular, the invention provides
compositions and methods for treating cancer in a subject by inhibiting a poly-ADP-ribose polymerase and a topoisomerase, as well
as providing formulations and modes of administering such compositions.

CROSS REFERENCE

5 [0001] This application claims the benefit of U.S. Provisional Application No. 61/012,364, entitled "Treatment of Cancer with Combinations of Topoisomerase Inhibitors and PARP Inhibitors" filed December 7, 2007 (Attorney Docket No. 28825-747.101), which is incorporated herein in its entirety by reference.

BACKGROUND OF THE INVENTION

10 [0002] Cancer is a serious public health threat. Malignant cancerous growths, due to their unique characteristics, pose serious challenges for modern medicine. These characteristics include uncontrollable cell proliferation resulting in unregulated growth of malignant tissue, an ability to invade local and even remote tissues, lack of control of cellular differentiation and often the lack of effective therapy and prevention.

15 [0003] Cancer can develop in any tissue of any organ at any age. The etiology of cancer has not been fully elucidated; but mechanisms such as genetic susceptibility, chromosome breakage disorders, viruses, environmental factors and immunologic disorders have all been linked to a malignant cell growth and transformation. Cancer encompasses a large category of medical conditions, affecting millions of individuals worldwide. All cancer types begin with the out-of-control growth of abnormal cells.

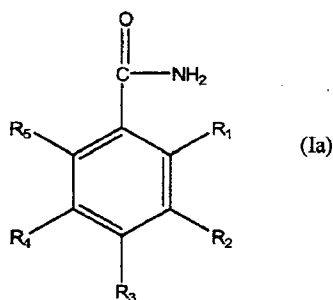
20 [0004] There are many types of cancer, including, lung, bladder, prostate, pancreatic, cervical, brain, gastric, colorectal and melanoma. Currently, some of the main treatments available are surgery, radiation therapy, and chemotherapy. Surgery is often a drastic measure and can have serious consequences. For example, some treatments for cervical cancer, bladder cancer, prostate cancer or testicular cancer may cause infertility and/or sexual dysfunction. Surgical procedures to treat pancreatic cancer may result in partial or total removal of the pancreas and can carry significant risks to the patient. Some surgical procedures for prostate cancer carry the risk of urinary incontinence and impotence. The procedures for lung cancer patients often have significant post-operative pain as
25 the ribs must be cut through to access and remove the cancerous lung tissue. In addition, patients who have both lung cancer and another lung disease, such as emphysema or chronic bronchitis, typically experience an increase in their shortness of breath following the surgery.

30 [0005] Radiation therapy has the advantage of killing cancer cells but it also damages non-cancerous tissue at the same time. Chemotherapy involves the administration of various anti-cancer drugs to a patient but often is accompanied by adverse side effects.

35 [0006] Worldwide, more than 10 million people are diagnosed with cancer every year and it is estimated that this number will grow to 15 million new cases every year by 2020. Cancer causes six million deaths every year or 12% of the deaths worldwide. There remains a need for methods that can treat cancer. These methods can provide the basis for pharmaceutical compositions useful in the prevention and treatment of cancer in humans and other mammals.

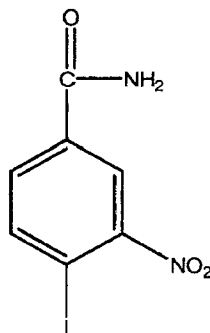
SUMMARY OF THE INVENTION

[0007] In one aspect, the present invention provides a method of treating a cancer, comprising administering to a patient an effective amount of a combination of a topoisomerase inhibitor and a PARP inhibitor of formula (Ia)

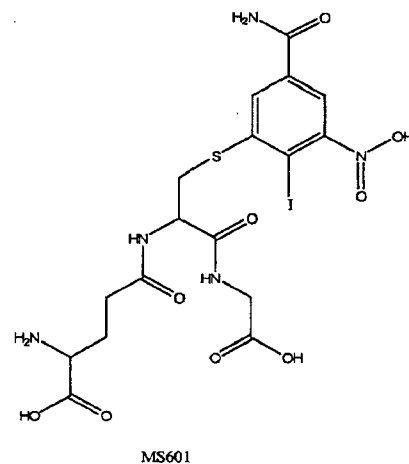
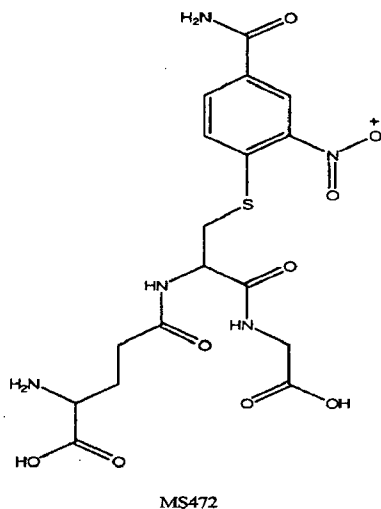


wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, bromo, fluoro, chloro, (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, (C_3-C_7) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs, or prodrugs thereof; and wherein the cancer is not breast cancer, uterine cancer, or ovarian cancer.

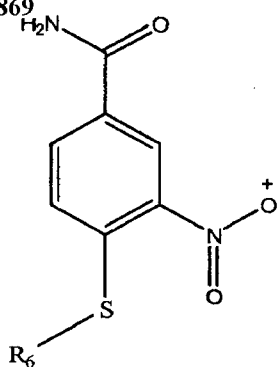
[0008] In some embodiments of the method, the PARP inhibitor is of formula:



[0009] In some embodiments of the method, the PARP inhibitor is a metabolite of 4-iodo-3-nitrobenzamide selected from the group consisting of:



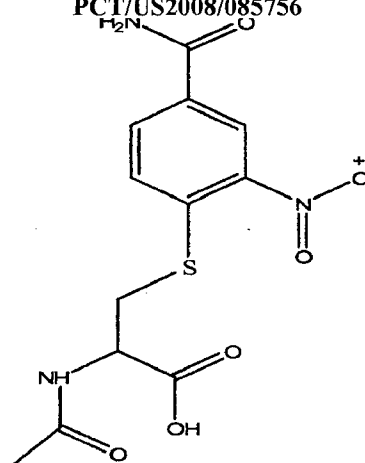
WO 2009/073869



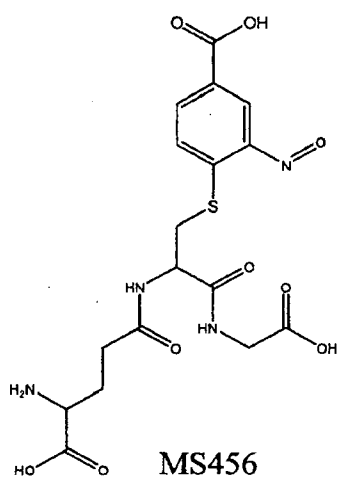
MS213

R₆ is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl (C₁-C₈), alkoxy (C₁-C₈), isoquinolinones, indoles, thiazole, oxazole, oxadiazole, thiophene, or phenyl.

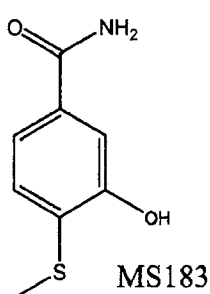
PCT/US2008/085756



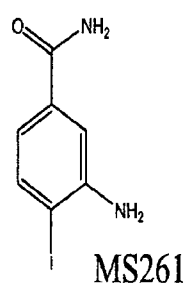
MS328



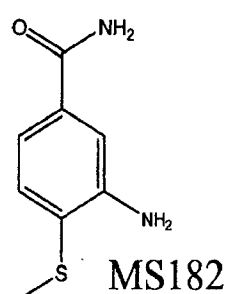
MS456



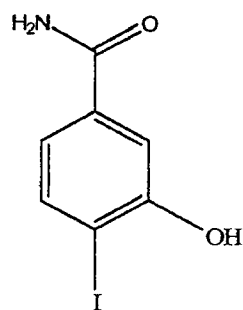
MS183



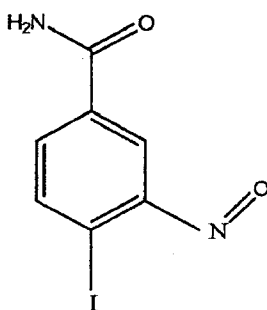
MS261



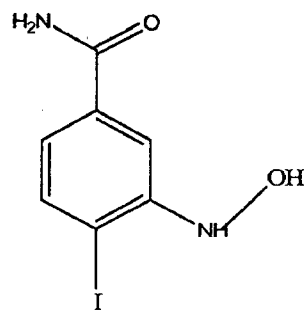
MS182



MS263

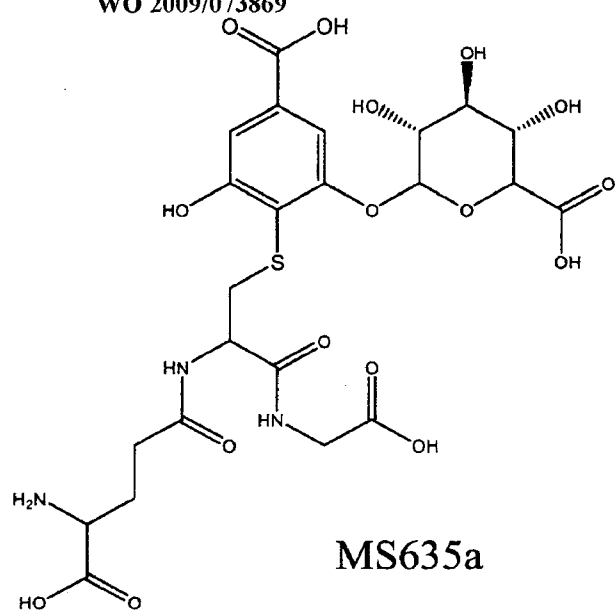


MS276



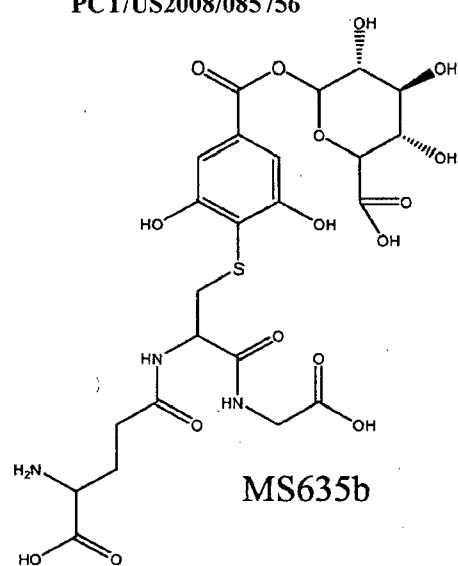
MS278

WO 2009/073869

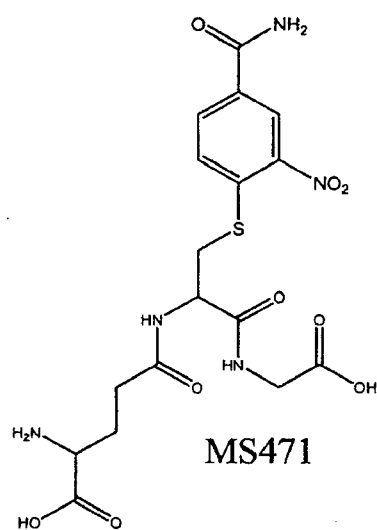


MS635a

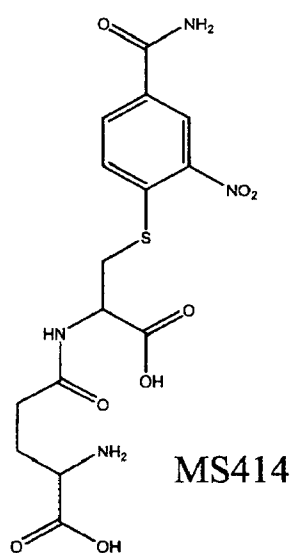
PCT/US2008/085756



MS635b

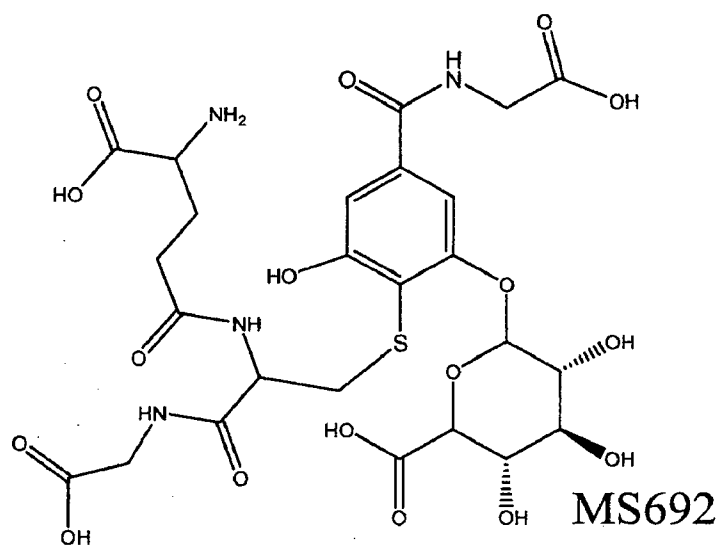


MS471



MS414

and



MS692

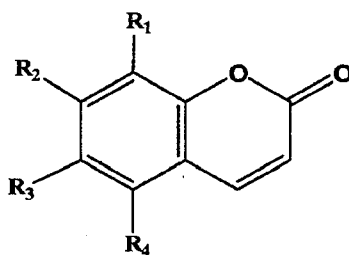
[0010] In some embodiments of the method, the topoisomerase inhibitor is topotecan, irinotecan, lurtotecan, exatecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof. In some embodiments, the topoisomerase inhibitor is topotecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof. In some embodiments, the cancer

WO 2009/073869

PCT/US2008/085756

is selected from adrenal cortical cancer, anal cancer, aplastic anemia, bile duct cancer, bladder cancer, bone cancer, bone metastasis, CNS tumors, peripheral CNS cancer, Castleman's Disease, cervical cancer, childhood Non-Hodgkin's lymphoma, colon and rectum cancer, esophagus cancer, Ewing's family of tumors, eye cancer, gallbladder cancer, gastrointestinal carcinoid tumors, gastrointestinal stromal tumors, gestational trophoblastic disease, hairy cell leukemia, Hodgkin's disease, Kaposi's sarcoma, kidney cancer, laryngeal and hypopharyngeal cancer, acute lymphocytic leukemia, acute myeloid leukemia, children's leukemia, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, liver cancer, lung cancer, lung carcinoid tumors, Non-Hodgkin's lymphoma, malignant mesothelioma, multiple myeloma, myelodysplastic syndrome, myeloproliferative disorders, nasal cavity and paranasal cancer, nasopharyngeal cancer, neuroblastoma, oral cavity and oropharyngeal cancer, osteosarcoma, pancreatic cancer, penile cancer, pituitary tumor, prostate cancer, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, salivary gland cancer, sarcoma (adult soft tissue cancer), melanoma skin cancer, non-melanoma skin cancer, stomach cancer, testicular cancer, thymus cancer, thyroid cancer, vaginal cancer, vulvar cancer, Waldenstrom's macroglobulinemia and cancers of viral origin. In some embodiments, the cancer is selected from the group consisting of leukemia, prostate cancer, transitional cell carcinoma of the bladder, pancreatic cancer, colorectal cancer, cervical cancer, and lung cancer.

[0011] In some embodiments, the method of the present invention further comprises administering an effective amount of a benzopyrone compound of formula (II):

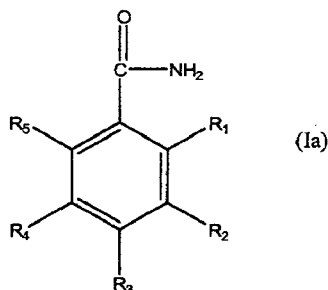


Formula II

wherein R_1 , R_2 , R_3 and R_4 are independently selected from the group consisting of H, halogen, optionally substituted hydroxy, optionally substituted amine, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted phenyl, optionally substituted C_4 - C_{10} heteroaryl and optionally substituted C_3 - C_8 cycloalkyl or a salt, solvate, isomer, tautomers, metabolite or prodrug thereof.

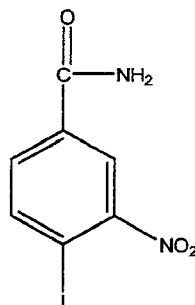
[0012] In some embodiments of the method, at least one therapeutic effect is obtained, said at least one therapeutic effect being reduction in size of a tumor, reduction in metastasis, complete remission, partial remission, pathologic complete response, or stable disease. In some embodiments, an improvement of clinical benefit rate ($CBR = CR + PR + SD \geq 6$ months) is obtained as compared to treatment with the topoisomerase inhibitor but without the PARP inhibitor. In some embodiments, the improvement of clinical benefit rate is at least about 60%. In some embodiments, the method further comprises surgery, radiation therapy, chemotherapy, gene therapy, DNA therapy, adjuvant therapy, neoadjuvant therapy, viral therapy, RNA therapy, immunotherapy, nanotherapy or a combination thereof. In some embodiments, the topoisomerase inhibitor is administered as an intravenous infusion. In some embodiments, 4-iodo-3-nitrobenzamide or its metabolite is administered orally or as a parenteral injection or infusion, or inhalation. In some embodiments, the PARP inhibitor is administered prior to, or concurrently with, or subsequent to the administration of the topoisomerase inhibitor. In some embodiments, the PARP inhibitor and the topoisomerase inhibitor are administered in the same formulation. In some embodiments, the PARP inhibitor and the topoisomerase inhibitor are administered in different formulations.

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
[0013] In another aspect, the present invention provides a composition for administration to a patient for the treatment of cancer, the composition comprising an effective amount of a combination of a topoisomerase inhibitor and a PARP inhibitor of formula (Ia):

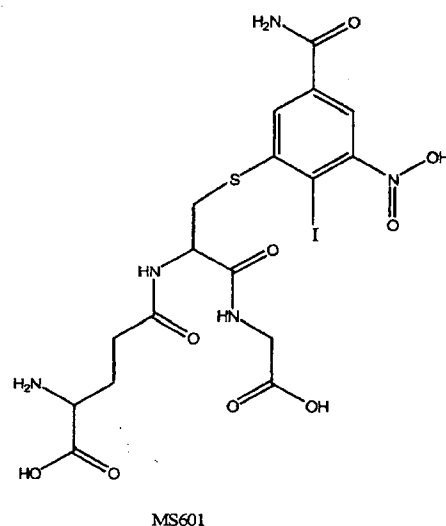
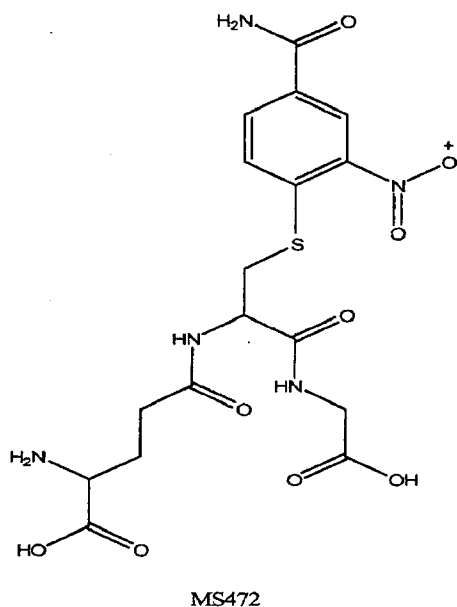


wherein R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, bromo, fluoro, chloro, (C₁-C₆) alkyl, (C₁-C₆) alkoxy, (C₃-C₇) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs or prodrugs thereof; and wherein the cancer is not breast cancer, uterine cancer, or ovarian cancer.

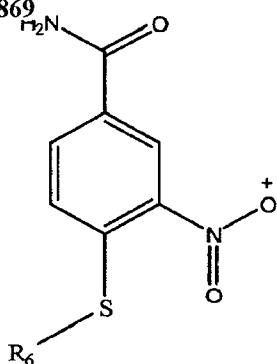
[0014] In some embodiments of the composition, the PARP inhibitor is of formula:



[0015] In some embodiments of the composition, the PARP inhibitor is a metabolite of 4-iodo-3-nitrobenzamide selected from the group consisting of:



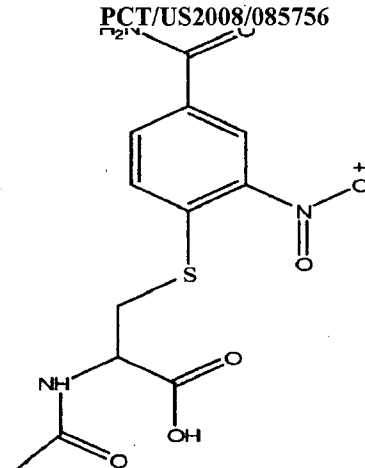
WO 2009/073869



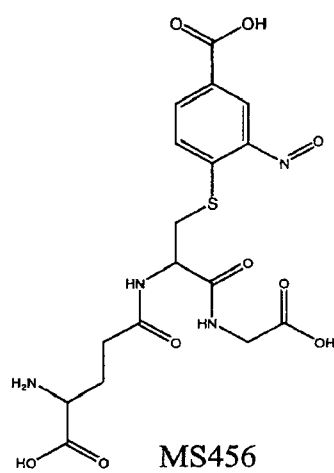
MS213

R_6 is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl (C_1 - C_8), alkoxy (C_1 - C_8), isoquinolinones, indoles, thiazole, oxazole, oxadiazole, thiophene, or phenyl.

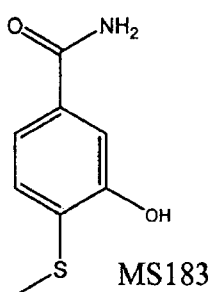
PCT/US2008/085756



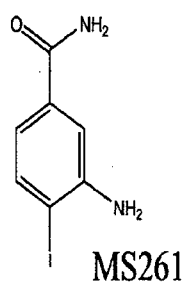
MS328



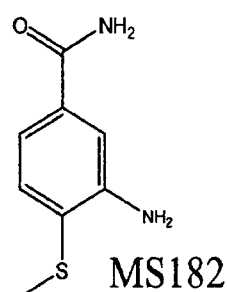
MS456



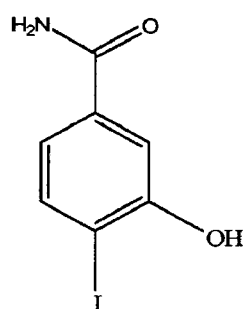
MS183



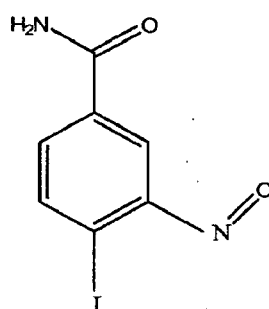
MS261



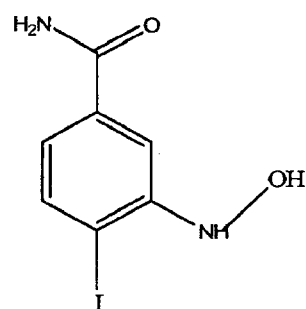
MS182



MS263

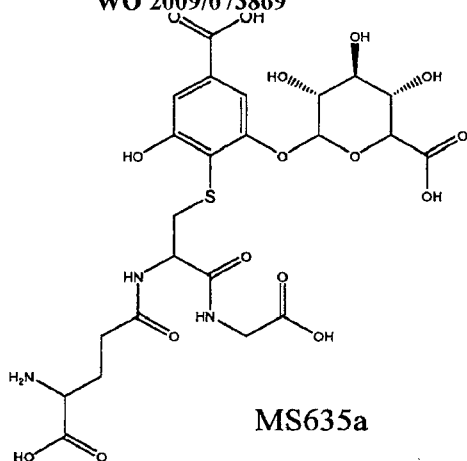


MS276



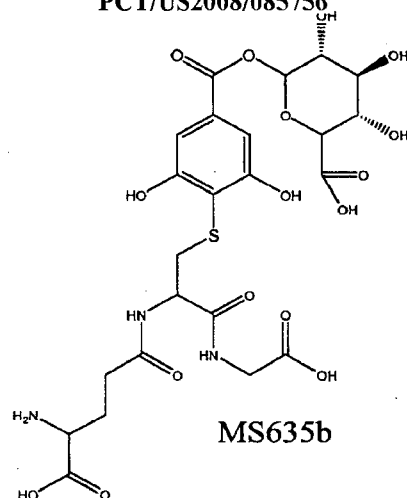
MS278

WO 2009/073869

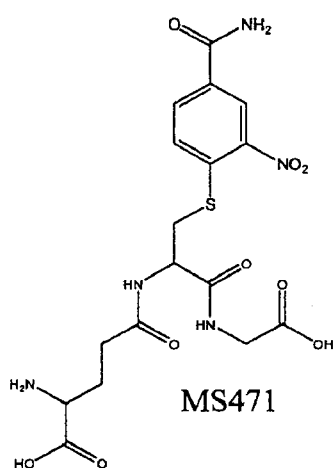


MS635a

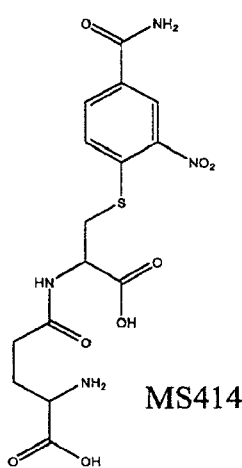
PCT/US2008/085756



MS635b

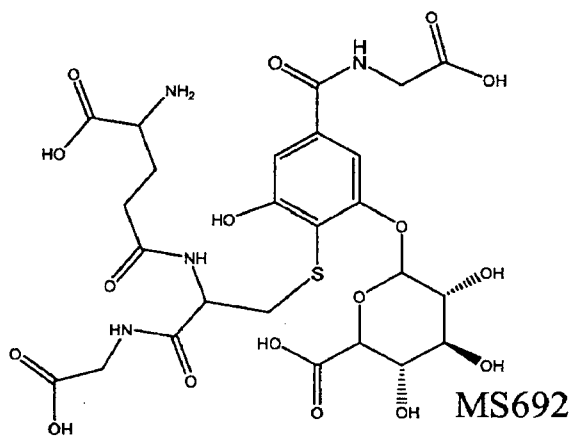


MS471



MS414

and

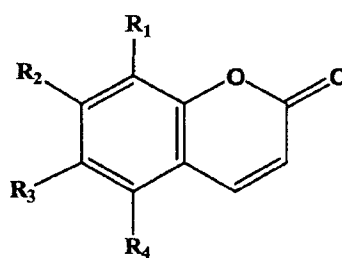


MS692

5

[0016] In some embodiments of the composition, the topoisomerase inhibitor is topotecan, irinotecan, lurtotecan, exatecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof. In some embodiments, the topoisomerase inhibitor is topotecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof. In some embodiments, the cancer is selected from the group consisting of leukemia, prostate cancer, transitional cell carcinoma of the bladder, pancreatic cancer, colorectal cancer, cervical cancer, and lung cancer. In some embodiments, the composition further comprises an effective amount of a benzopyrone compound of formula (II):

22

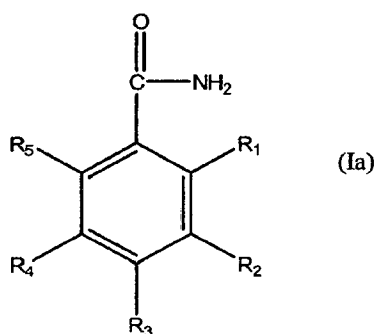


Formula II

wherein R_1 , R_2 , R_3 and R_4 are independently selected from the group consisting of H, halogen, optionally substituted hydroxy, optionally substituted amine, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted phenyl, optionally substituted C_4 - C_{10} heteroaryl and optionally substituted C_3 - C_8 cycloalkyl or a salt, solvate, isomer, tautomers, metabolite or prodrug thereof.

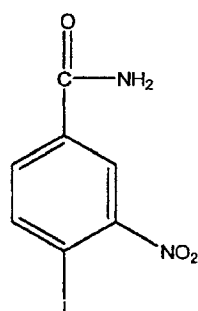
[0017] In some embodiments, the composition is administered in unit dosage form. In some embodiments, the unit dosage form is adapted for oral or parenteral administration. In some embodiments, upon administration of the composition, at least one therapeutic effect is obtained, said at least one therapeutic effect being reduction in size of a tumor, reduction in metastasis, complete remission, partial remission, pathologic complete response, or stable disease. In some embodiments, upon administration of the composition, an improvement of clinical benefit rate (CBR = CR + PR + SD $\geq$ 6 months) is obtained as compared to treatment with the topoisomerase inhibitor but without the PARP inhibitor. In some embodiments, the improvement of clinical benefit rate is at least about 60%. In some embodiments, the composition is administered in combination with surgery, radiation therapy, chemotherapy, gene therapy, DNA therapy, adjuvant therapy, neoadjuvant therapy, viral therapy, RNA therapy, immunotherapy, nanotherapy or a combination thereof.

[0018] In yet another aspect, the present invention provides a kit for treatment of cancer, comprising: (a) a PARP inhibitor of the formula (Ia):

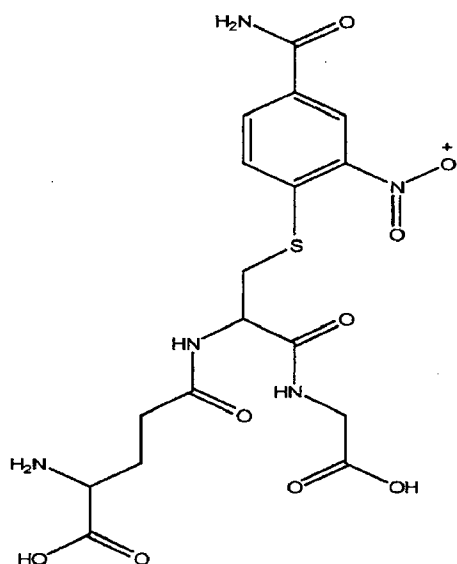


wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, bromo, fluoro, chloro, (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, (C_3-C_7) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs or prodrugs thereof; and (b) a topoisomerase inhibitor; wherein the cancer is not breast cancer, uterine cancer, or ovarian cancer.

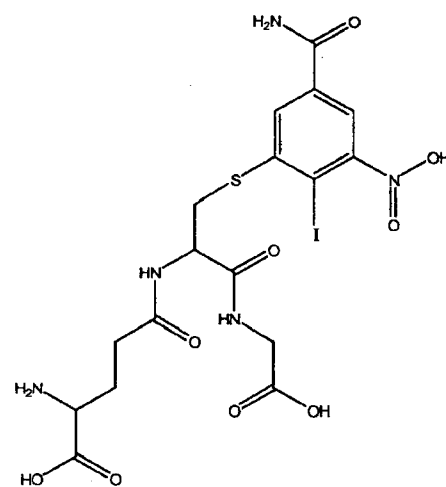
[0019] In some embodiments of the kit, the PARP inhibitor is of formula:



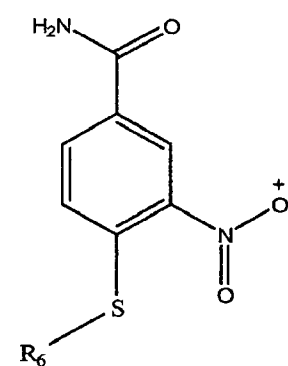
[0020] In some embodiments of the kit, the PARP inhibitor is a metabolite of 4-iodo-3-nitrobenzamide selected from the group consisting of:



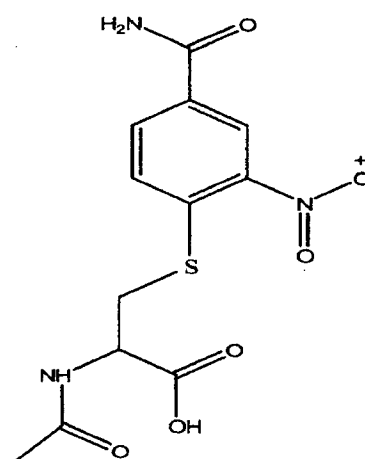
MS472



MS601



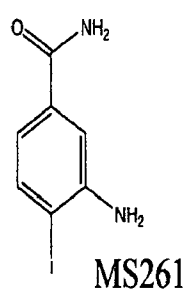
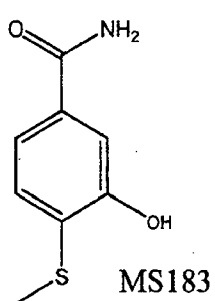
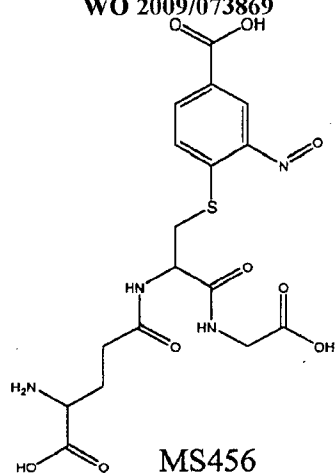
MS213



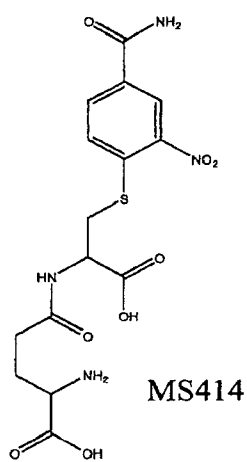
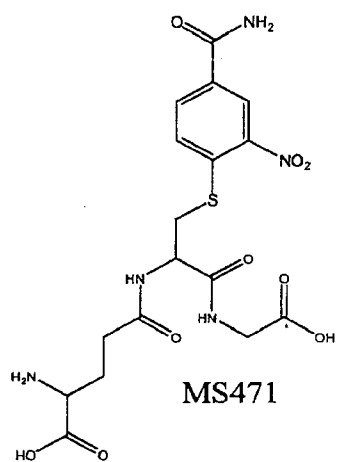
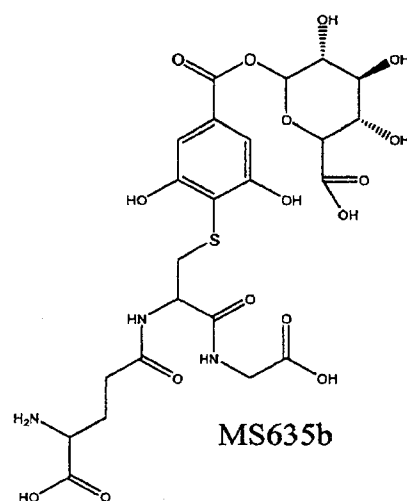
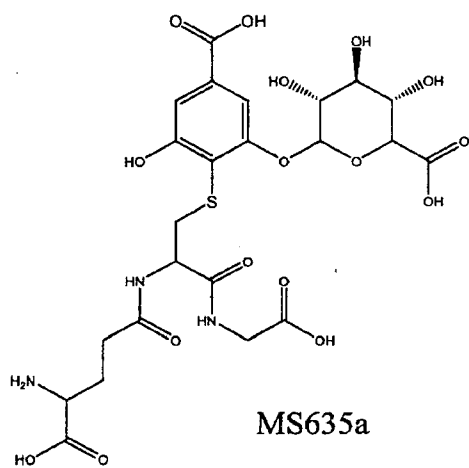
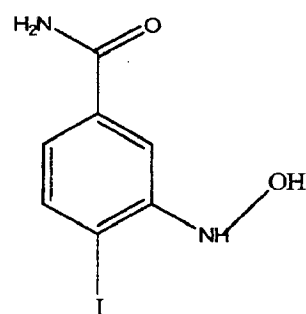
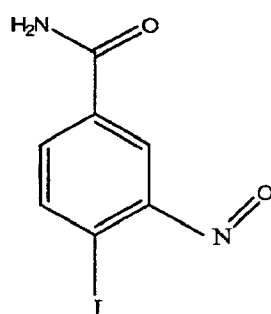
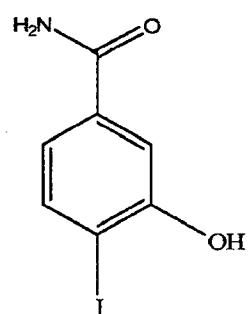
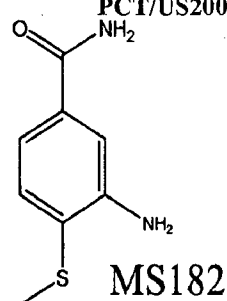
MS328

R₆ is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl(C₁-C₈), alkoxy (C₁-C₈), isoquinolinones, indoles, thiazole, oxazole, oxadiazole, thiophene, or phenyl.

WO 2009/073869



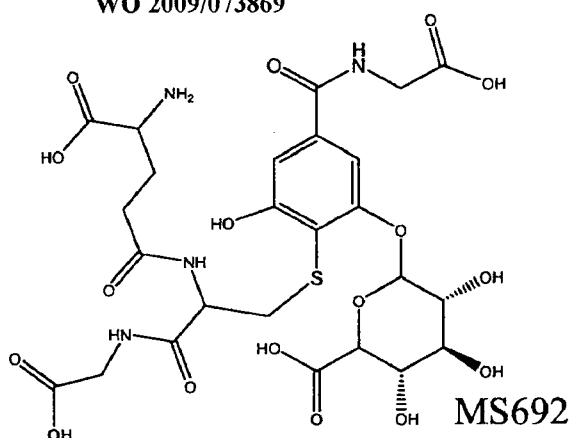
PCT/US2008/085756



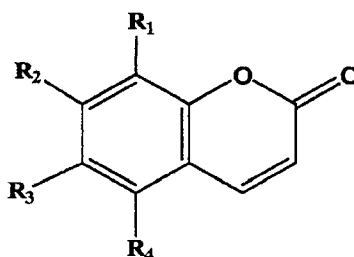
and

WO 2009/073869

PCT/US2008/085756



[0021] In some embodiments of the kit, the topoisomerase inhibitor is topotecan, irinotecan, lurtotecan, exatecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof. In some embodiments, the topoisomerase inhibitor is topotecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof. In some embodiments, the cancer is selected from the group consisting of leukemia, prostate cancer, transitional cell carcinoma of the bladder, pancreatic cancer, colorectal cancer, cervical cancer, and lung cancer. In some embodiments, the kit further comprises an effective amount of a benzopyrone compound of formula (II):



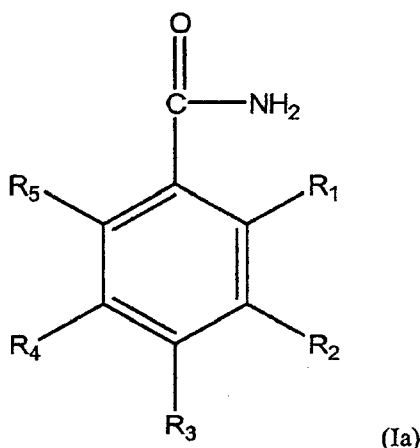
wherein R_1 , R_2 , R_3 and R_4 are independently selected from the group consisting of H, halogen, optionally substituted hydroxy, optionally substituted amine, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted phenyl, optionally substituted C_4 - C_{10} heteroaryl and optionally substituted C_3 - C_8 cycloalkyl or a salt, solvate, isomer, tautomers, metabolite or prodrug thereof.

[0022] In some embodiments, the kit further comprises directions for administering the PARP inhibitor, the topoisomerase inhibitor or both. In some embodiments of the kit, the PARP inhibitor, the topoisomerase inhibitor, or both are in unit dosage form.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Definitions

[0023] "Nitrobenzamide compound(s)" means a compound of the formula (Ia)



wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, (C_1 - C_6) alkyl, (C_1 - C_6) alkoxy, (C_3 - C_7) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs, or prodrugs thereof. R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 can also be a halide such as chloro, fluoro, or bromo.

[0024] "Surgery" means any therapeutic or diagnostic procedure that involves methodical action of the hand or of the hand with an instrument, on the body of a human or other mammal, to produce a curative, remedial, or diagnostic effect.

[0025] "Radiation therapy" means exposing a patient to high-energy radiation, including without limitation x-rays, gamma rays, and neutrons. This type of therapy includes without limitation external-beam therapy, internal radiation therapy, implant radiation, brachytherapy, systemic radiation therapy, and radiotherapy.

[0026] "Chemotherapy" means the administration of one or more anti-cancer drugs such as, antineoplastic chemotherapeutic agents, chemopreventative agents, and/or other agents to a cancer patient by various methods, including intravenous, oral, intramuscular, intraperitoneal, intravesical, subcutaneous, transdermal, buccal, or inhalation or in the form of a suppository. Chemotherapy may be given prior to surgery to shrink a large tumor prior to a surgical procedure to remove it, after surgery or radiation therapy to prevent the growth of any remaining cancer cells in the body.

[0027] The terms "effective amount" or "pharmaceutically effective amount" refer to a sufficient amount of the agent to provide the desired biological, therapeutic, and/or prophylactic result. That result can be reduction and/or alleviation of the signs, symptoms, or causes of a disease, or any other desired alteration of a biological system. For example, an "effective amount" for therapeutic uses is the amount of a nitrobenzamide compound as disclosed herein per se or a composition comprising the nitrobenzamide compound herein required to provide a clinically significant decrease in a disease. An appropriate effective amount in any individual case may be determined by one of ordinary skill in the art using routine experimentation.

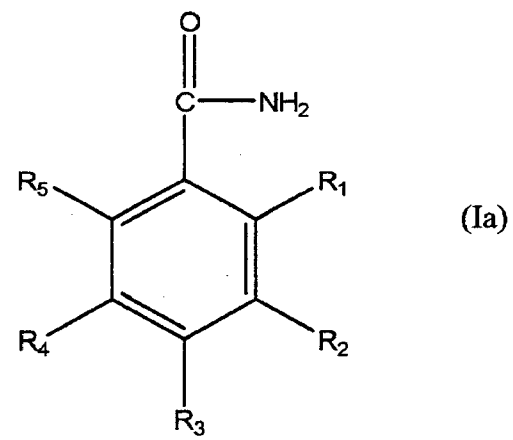
[0028] By "pharmaceutically acceptable" or "pharmacologically acceptable" is meant a material which is not biologically or otherwise undesirable, i.e., the material may be administered to an individual without causing any undesirable biological effects or interacting in a deleterious manner with any of the components of the composition in which it is contained.

[0029] The term "treating" and its grammatical equivalents as used herein include achieving a therapeutic benefit and/or a prophylactic benefit. By therapeutic benefit is meant eradication or amelioration of the underlying disorder being treated. For example, in a cancer patient, therapeutic benefit includes eradication or amelioration of the

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
 underlying cancer. Also, a therapeutic benefit is achieved with the eradication or amelioration of one or more of the physiological symptoms associated with the underlying disorder such that an improvement is observed in the patient, notwithstanding the fact that the patient may still be afflicted with the underlying disorder. For prophylactic benefit, a method of the invention may be performed on, or a composition of the invention administered to a patient at risk of developing cancer, or to a patient reporting one or more of the physiological symptoms of such conditions, even though a diagnosis of the condition may not have been made.

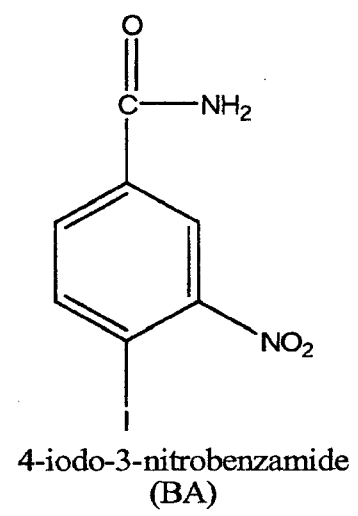
Nitrobenzamide Compounds

[0030] Compounds useful in the present invention are of Formula (Ia)



wherein R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, (C₁-C₆) alkyl, (C₁-C₆) alkoxy, (C₃-C₇) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs, or prodrugs thereof. R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ can also be a halide such as chloro, fluoro, or bromo.

[0031] A preferred compound of formula Ia is



[0032] The present invention provides for the use of the aforesaid nitrobenzamide compounds for the treatment of leukemia including acute promyleocytic leukemia in peripheral blood, lung cancer, bladder cancer, colon cancer, rectal cancer, prostate cancer, pancreatic cancer, and cervical cancer, as well as other cancer types described herein (U.S. patent no. 5,464,871, U.S. patent no. 5,670,518, and U.S. patent no. 6,004,978 are incorporated herein by

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
reference in their entirety). The present invention also provides the use of the aforesaid nitrobenzamide compounds for the treatment of Gleevec (Imatinib Mesylate) resistant patient population. Gleevec is a tyrosine kinase inhibitor.

[0033] In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds of the present invention are used for the treatment of cervical cancer. In other embodiments, the nitrobenzamide compounds of the present invention are used for the treatment of lung cancer including small cell lung cancer. In other embodiments, the nitrobenzamide compounds of the present invention are used for the treatment of colon and rectal cancers. In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds of the present invention are used for the treatment of bladder and prostate cancer. In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds of the present invention are used for the treatment of liver and pancreatic cancer. In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds of the present invention are used for the treatment of leukemia, cervical, glioma, and melanoma.

[0034] In still further preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds of the present invention are used for the treatment of cancers derived from stem cells. In malignancies described herein, a proportion of tumor cells - 'cancer stem cells' - have the capacity for extensive proliferation and transferal of the tumor. An alteration in stem cell fate and growth may play a role in tumorigenesis. Epithelial stem cells have a life-span at least as long as that of the organism, and thus they are thought to be susceptible to multiple genetic hits which cumulatively may result in tumor formation. Many cancers, such as those of the skin and colon, arise in tissues that are constantly replenished with cells throughout life. But the crucial mutations that lead to the disease are likely to have occurred during the tissues' formative period, when cells are dividing exponentially.

[0035] The stem cell compartment, now identified virtually in every tissue, can be defined as a subset of rare cells, endowed with the exclusive prerogative of self-renewal and persistence throughout the organism's life, in contrast with differentiated cells, which form the tissue bulk, but usually feature a postmitotic behavior and a short lifespan. The fact that several mutations are necessary for a cell to become cancerous may suggest that in many tissues the mutations may accumulate in stem cells. As cancer stem cells self-renew, it follows that they may be derived either from self-renewing normal stem cells, or from more differentiated cells that acquire peculiar properties of stem cells. Consistently, a tumor can be conceived as a tissue, including both "differentiated" cells, and a subset of "cancer stem cells", which maintain the tumor mass, and are likely responsible for formation of secondary tumors (metastasis). Hence, nitrobenzamides of the present invention can be used to target cancers derived from stem cells.

[0036] In some embodiments, the present invention provides for the use of the aforesaid nitrobenzamide compounds in combination with topoisomerase inhibitors for the treatment of cancer including but not limited to leukemia, lung cancer, bladder cancer, colon cancer, rectal cancer, prostate cancer, pancreatic cancer, and cervical cancer, as well as other cancer types described herein (U.S. patent no. 5,464,871, U.S. patent no. 5,670,518, and U.S. patent no. 6,004,978 are incorporated herein by reference in their entirety). In some embodiments, in order to carry out the current invention, the compositions and methods disclosed in U.S. Patent 7,405,227 can be used. All patents and patent applications are herein incorporated by reference in their entirety.

[0037] In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds in combination with topoisomerase inhibitors are used for the treatment of cervical cancer. In other embodiments, the nitrobenzamide compounds in combination with topoisomerase inhibitors are used for the treatment of lung cancer including small cell lung cancer. In other embodiments, the nitrobenzamide compounds in combination with topoisomerase inhibitors are used for the treatment of colon and rectal cancers. In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds in combination with topoisomerase inhibitors are used for the treatment of bladder and prostate cancer. In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds in combination with topoisomerase inhibitors are used for the treatment of liver and pancreatic cancer. In some preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds in

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
combination with topoisomerase inhibitors are used for the treatment of leukemia, cervical, glioma, and melanoma. In still further preferred embodiments, the nitrobenzamide compounds in combination with topoisomerase inhibitors are used for the treatment of cancers derived from stem cells. In some embodiments, the nitrobenzamide compound of the invention is 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA).

[0038] The present invention discloses a non-clinical pharmacology of 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA) in human tumor and normal primary cells and also in mice. In vitro BA inhibits the proliferation of a variety of human tumor cells including colon, prostate, cervix, lung, melanoma, lymphoma, and leukemia. In vivo BA in combination with topoisomerase inhibitors, such as topotecan and irinotecan, is evaluated in animal models of carcinogenesis. Once-daily or twice-weekly administration of BA inhibits tumor growth in the human colon, lung, and cervical carcinoma xenograft model in both nude and SCID mice, and positively affects the survival rate of animals exposed to the drug given daily or twice weekly.

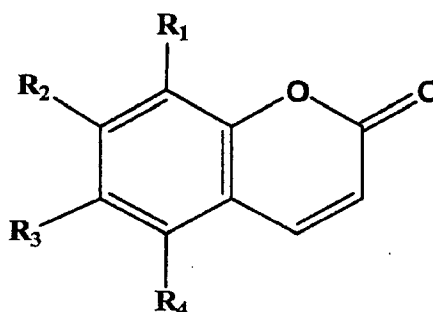
[0039] It has been reported that nitrobenzamide compounds have selective cytotoxicity upon malignant cancer cells but not upon nonmalignant cancer cells. See Rice et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:7703-7707 (1992). In one embodiment, the nitrobenzamide compounds utilized in the methods of the present invention may exhibit more selective toxicity towards tumor cells than non-tumor cells.

[0040] It has been reported that the tumorigenicity of nitrobenzamide and nitrososbenzamide compounds is enhanced when BSO is co-administered to cancer cells. See Mendeleyev et al., *Biochemical Pharmacol.* 50(5):705-714 (1995). Buthionine sulfoximine (BSO) inhibits gamma-glutamylcysteine synthetase, a key enzyme in the biosynthesis of glutathione, which is responsible in part for cellular resistance to chemotherapy. See Chen et al., *Chem Biol Interact.* Apr 24;111-112:263-75 (1998). The invention also provides a method for treating cancer comprising the administration of a nitrobenzamide and/or benzopyrone compound in combination with BSO.

[0041] In addition to BSO, other inhibitors of gamma-glutamylcysteine synthetase can be used in combination with nitrobenzamide and/or benzopyrone compounds. Other suitable analogs of BSO include, but are not limited to, proprothionine sulfoximine, methionine sulfoximine, ethionine sulfoximine, methyl buthionine sulfoximine, γ -glutamyl- α -aminobutyrate and γ -glutamylcysteine.

Benzopyrone Compounds

[0042] In some embodiments, the benzamide compounds are administered in combination with benzopyrone compounds of formula II. The benzopyrone compounds of formula II are,



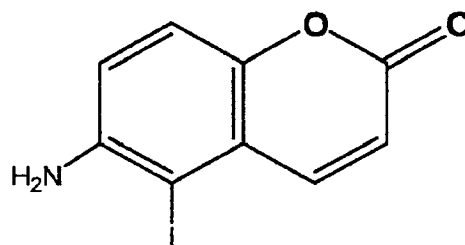
Formula II

wherein R₁, R₂, R₃ and R₄ are independently selected from the group consisting of H, halogen, optionally substituted hydroxy, optionally substituted amine, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted phenyl, optionally substituted C₄-C₁₀ heteroaryl and optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl or a salt, solvate, isomer, tautomers, metabolite, or prodrug thereof (U.S. patent no. 5,484,951 is incorporated herein by reference in its entirety).

WO 2009/073869

PCT/US2008/085756

[0043] In a preferred embodiment, the invention relates to the following benzopyrone compound of formula II



6-amino-5-iodo-benzopyrone
(BP)

Mechanism of Nitrobenzamide Compounds

[0044] Not intending to be limited by one mechanism of action, the compounds described herein are believed to have anti-cancer properties via the modulation of a poly (ADP-ribose) polymerase enzyme. The drugs' mechanism of action is related to their ability to act as a ligand for the nuclear enzyme poly (ADP-ribose) polymerase (PARP-1). See Mendeleyev et al., *supra*, (1995). PARP-1 is expressed in the nucleus and catalyzes the conversion of β -nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) into nicotinamide and poly-ADP-ribose (PAR). PARP-1's role in homeostatic conditions seems to be limited to DNA transcription and repair. However, when cellular stress causes DNA damage, PARP-1 activity increases dramatically, which appears to be necessary for genomic integrity. Shall et al., *Mutat Res.* Jun 30;460(1):1-15 (2000).

[0045] One of PARP-1's functions is to synthesize the biopolymer, poly (ADP-ribose). Both poly (ADP-ribose) and PARP-1 have been linked to the repair of DNA repair, apoptosis, the maintenance of genomic stability, and carcinogenesis. See Masutani et al., *Genes, Chromosomes, and Cancer* 38:339-348 (2003). PARP-1 plays a role in DNA repair, specifically base excision repair (BER). BER is a protection mechanism in mammalian cells for single-base DNA breakage. PARP-1 binds to the ends of DNA fragments through its zinc finger domains with great affinity and thereby acts as a DNA damage sensor. Gradwohl et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2990-2994 (1990); Murcia et al., *Trends Biochem Sci* 19: 172-176 (1994). A breakage in the DNA triggers a binding response by PARP-1 to the site of the break. PARP-1 then increases its catalytic activity several hundred fold (See Simonin et al., *J Biol Chem* 278: 13454-13461 (1993)) and begins to convert poly ADP-ribosylation of itself (Desmarais et al., *Biochim Biophys Acta* 1078: 179-186 (1991)) and BER proteins, such as DNA-PKcs and the molecular scaffold protein XRCC-1. See Ruscetti et al., *J. Biol. Chem.* Jun 5;273(23):14461-14467 (1998) and Masson et al., *Mol Cell Biol.* Jun;18(6):3563-71 (1998). BER proteins are rapidly recruited to the site of DNA damage. El-Kaminsy et al., *Nucleic Acid Res.* 31(19):5526-5533 (2003); Okano et al., *Mol Cell Biol.* 23(11):3974-3981 (2003). PARP-1's dissociates from the DNA breakage site but it remains in the vicinity of the DNA repair event.

[0046] Inhibiting the activity of a PARP molecule includes reducing the activity of these molecules. The term "inhibits" and its grammatical conjugations, such as "inhibitory," is not intended to require complete reduction in PARP activity. Such reduction is preferably by at least about 50%, at least about 75%, at least about 90%, and more preferably by at least about 95% of the activity of the molecule in the absence of the inhibitory effect, e.g., in the absence of an inhibitor, such as a nitrobenzamide compound of the invention. Most preferably, the term refers to an observable or measurable reduction in activity. In treatment scenarios, preferably the inhibition is sufficient to produce a therapeutic and/or prophylactic benefit in the condition being treated. The phrase "does not inhibit" and its grammatical conjugations does not require a complete lack of effect on the activity. For example, it refers to

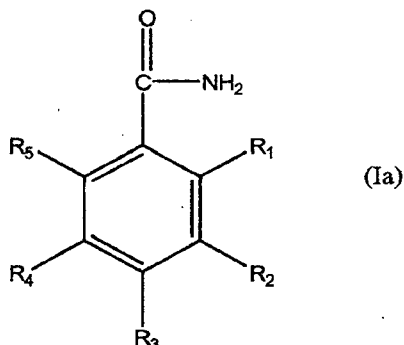
WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
 situations where there is less than about 20%, less than about 10%, and preferably less than about 5% of reduction in PARP activity in the presence of an inhibitor such as a nitrobenzamide compound of the invention.

BA Metabolites:

[0047] As used herein "BA" means 4-iodo-3-nitrobenzamide; "BNO" means 4-iodo-3-nitrosobenzamide;

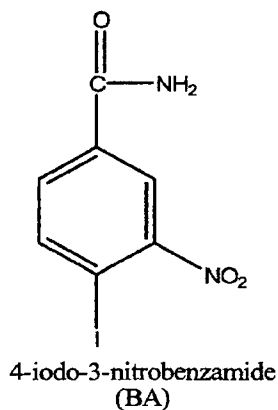
"BNHOH" means 4-iodo-3-hydroxyaminobenzamide.

[0048] Precursor compounds useful in the present invention are of Formula (Ia)

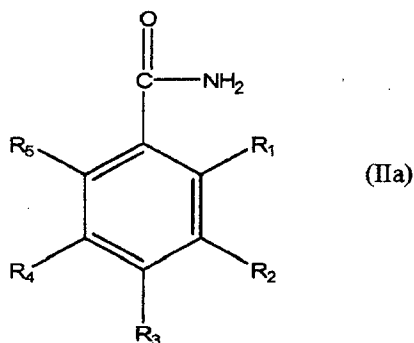


wherein R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, (C₁-C₆) alkyl, (C₁-C₆) alkoxy, (C₃-C₇) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs, or pro-drugs thereof. R₁, R₂, R₃, R₄, and R₅ can also be a halide such as chloro, fluoro, or bromo substituents.

[0049] A preferred precursor compound of formula Ia is:



[0050] Some metabolites useful in the present invention are of the Formula (IIa):

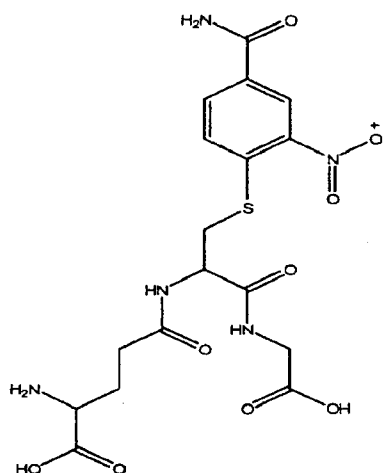


WO 2009/073869

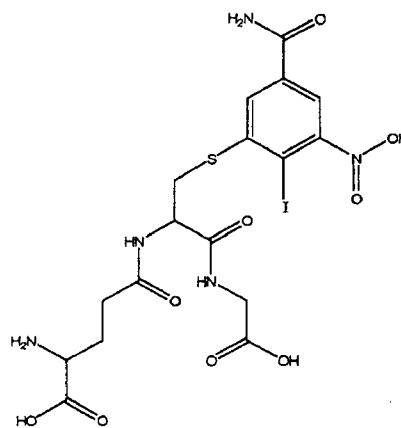
PCT/US2008/085756

wherein either: (1) at least one of R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituent is always a sulfur-containing substituent, and the remaining substituents R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 are independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, bromo, fluoro, chloro, $(C_1 - C_6)$ alkyl, $(C_1 - C_6)$ alkoxy, $(C_3 - C_7)$ cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents are always hydrogen; or (2) at least one of R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents is not a sulfur-containing substituent and at least one of the five substituents R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 is always iodo, and wherein said iodo is always adjacent to a R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , or R_5 group that is either a nitro, a nitroso, a hydroxyamino, hydroxy or an amino group; and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs, or pro-drugs thereof. In some embodiments, the compounds of (2) are such that the iodo group is always adjacent a R_1 , R_2 , R_3 , R_4 or R_5 group that is a nitroso, hydroxyamino, hydroxy or amino group. In some embodiments, the compounds of (2) are such that the iodo the iodo group is always adjacent a R_1 , R_2 , R_3 , R_4 or R_5 group that is a nitroso, hydroxyamino, or amino group.

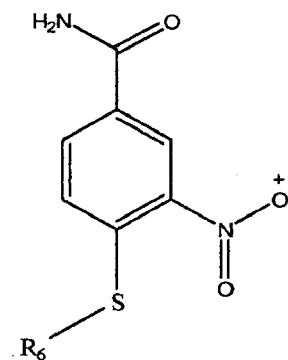
[0051] The following compositions are preferred metabolite compounds, each represented by a chemical formula:



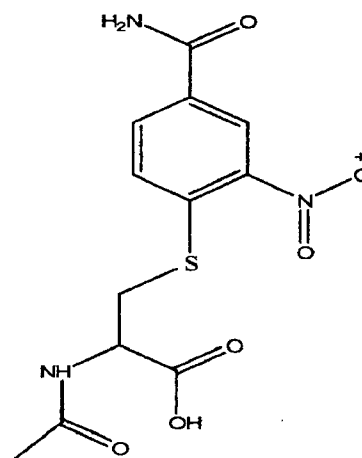
MS472



MS601



MS213



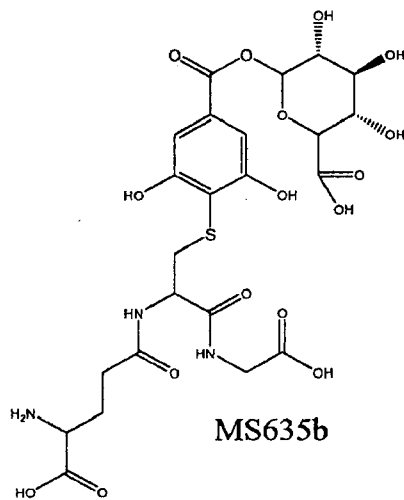
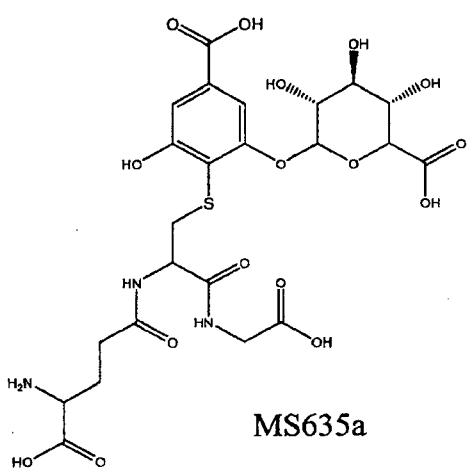
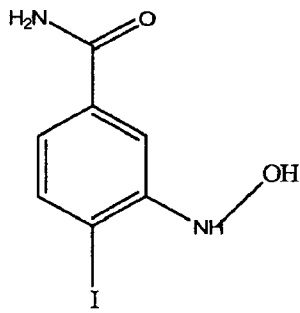
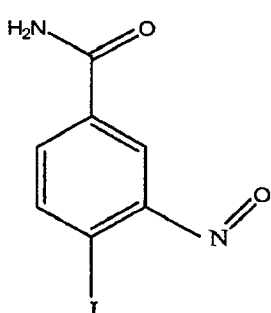
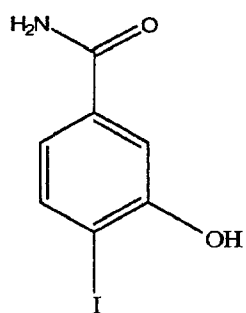
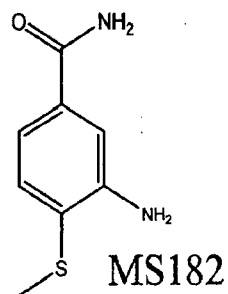
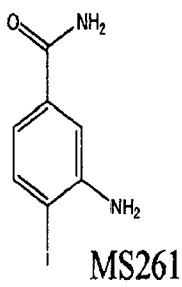
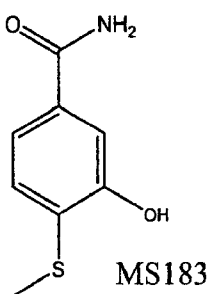
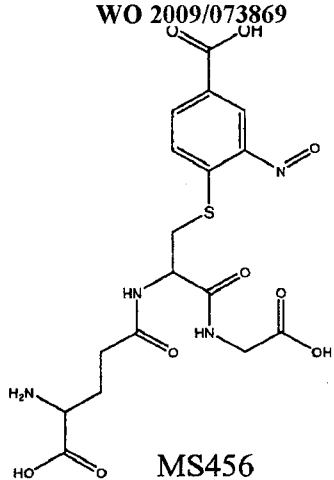
MS328

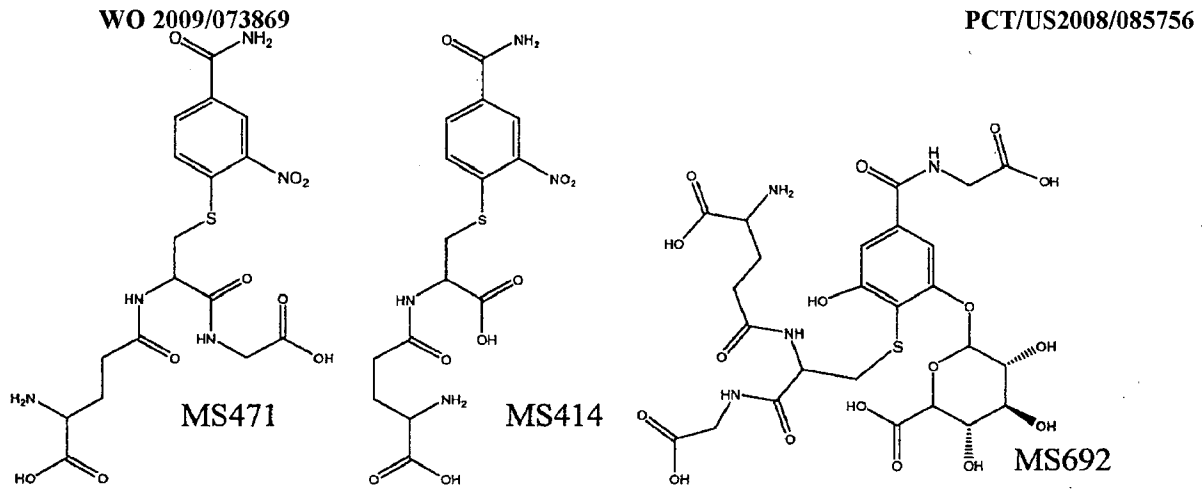
R_6 is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl($C_1 - C_8$), alkoxy ($C_1 - C_8$), isoquinolinones, indoles, thiazole, oxazole, oxadiazole, thiophene, or phenyl.

23

WO 2009/073869

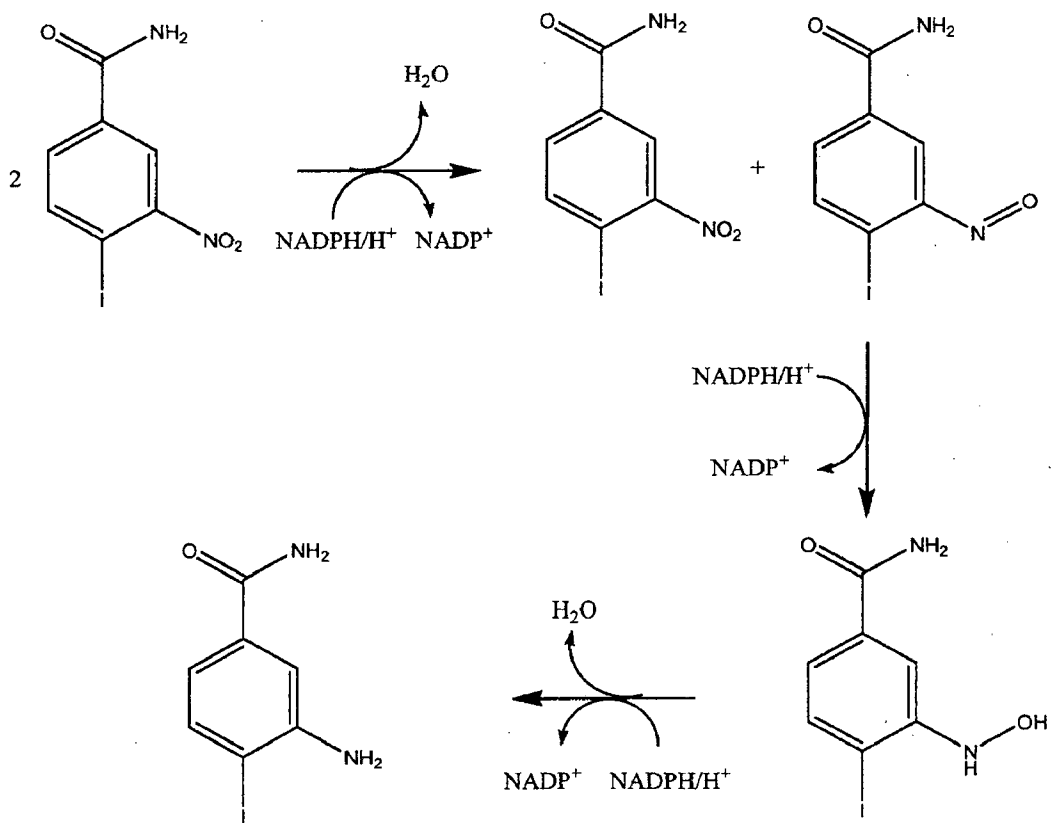
PCT/US2008/085756





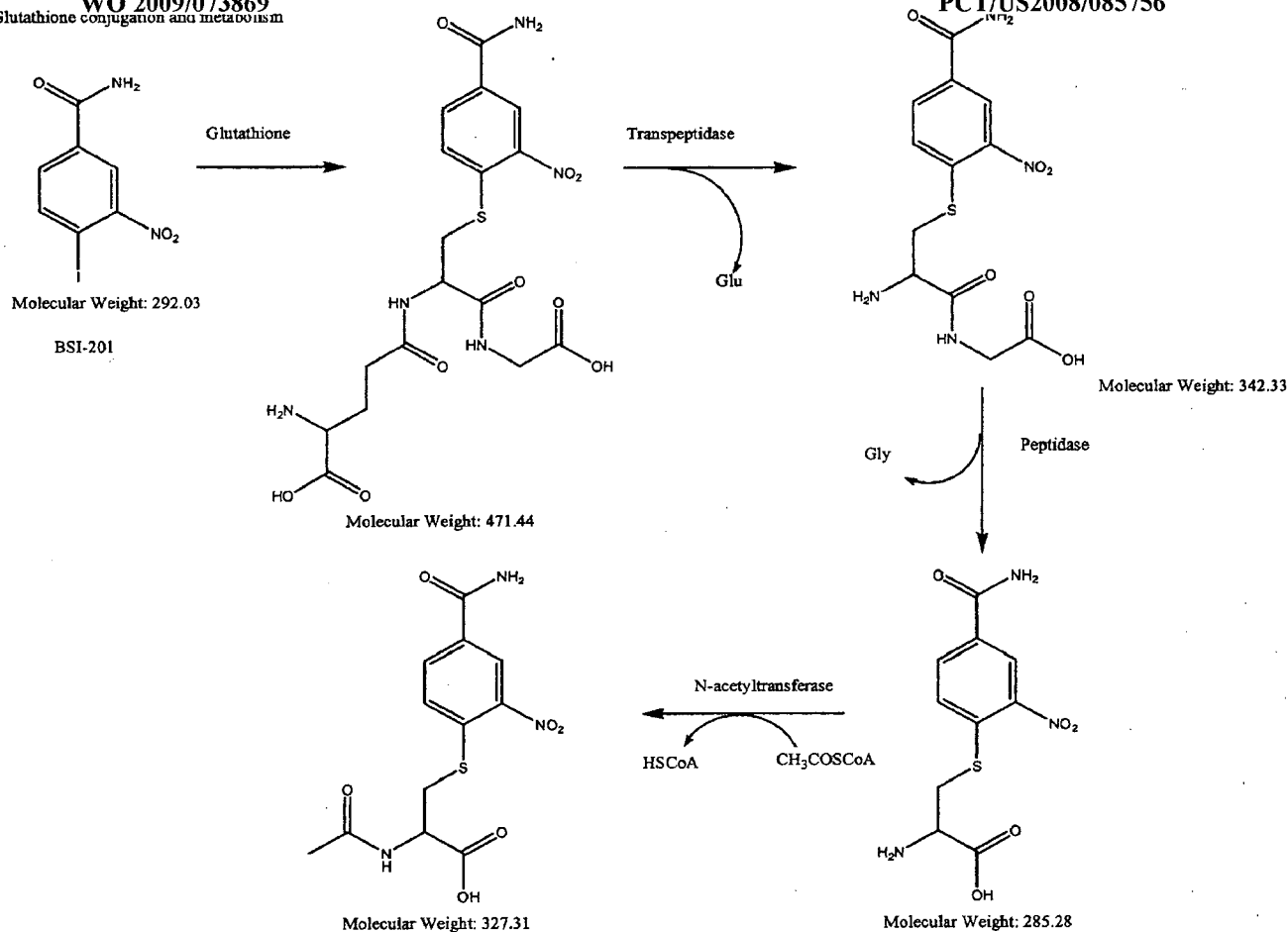
[0052] While not being limited to any one particular mechanism, the following provides an example for MS292 metabolism via a nitroreductase or glutathione conjugation mechanism:

Nitroreductase mechanism



[0053] BA glutathione conjugation and metabolism:

WO 2009/073869
Glutathione conjugation and metabolism



[0054] It has been reported that nitrobenzamide metabolite compounds have selective cytotoxicity upon malignant cancer cells but not upon non-malignant cancer cells. See Rice et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7703-7707 (1992), incorporated herein in its entirety. In one embodiment, the nitrobenzamide metabolite compounds utilized in the methods of the present invention may exhibit more selective toxicity towards tumor cells than non-tumor cells. The metabolites according to the invention may thus be administered to a patient in need of such treatment in conjunction with chemotherapy with at least one topoisomerase inhibitor. The dosage range for such metabolites may be in the range of about 0.0004 to about 0.5 mmol/kg (millimoles of metabolite per kilogram of patient body weight), which dosage corresponds, on a molar basis, to a range of about 0.1 to about 100 mg/kg of BA. Other effective ranges of dosages for metabolites are 0.0024-0.5 mmol/kg and 0.0048-0.25 mmol/kg. Such doses may be administered on a daily, every-other-daily, twice-weekly, weekly, bi-weekly, monthly or other suitable schedule. Essentially the same modes of administration may be employed for the metabolites as for BA—e.g. oral, i.v., i.p., etc.

Topoisomerase Inhibitors

[0055] Topoisomerase inhibitors are agents designed to interfere with the action of topoisomerase enzymes (topoisomerase I and II), which are enzymes that control the changes in DNA structure by catalyzing the breaking and rejoining of the phosphodiester backbone of DNA strands during the normal cell cycle. Topoisomerases have become popular targets for cancer chemotherapy treatments. It is thought that topoisomerase inhibitors block the ligation step of the cell cycle, generating single and double stranded breaks that harm the integrity of the genome. Introduction of these breaks subsequently lead to apoptosis and cell death. Topoisomerase inhibitors are often divided according to which type of enzyme it inhibits. Topoisomerase I, the type of topoisomerase most often found

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
 in eukaryotes, is targeted by topotecan, irinotecan, lurtotecan and exatecan, each of which is commercially available from. Topotecan is available from GlaxoSmithKline under the trade name Hycamtin®. Irinotecan is available from Pfizer under the trade name Camptosar®. Lurtotecan may be obtained as a liposomal formulation from Gilead Sciences Inc. Topoisomerase inhibitors may be administered at an effective dose. In some embodiments an effective dose for treatment of a human will be in the range of about 0.01 to about 10 mg/m²/day. The treatment may be repeated on a daily, bi-weekly, semi-weekly, weekly, or monthly basis. In some embodiments, a treatment period may be followed by a rest period of from one day to several days, or from one to several weeks. In combination with a PARP-1 inhibitor, the PARP-1 inhibitor and the topoisomerase inhibitor may be dosed on the same day or may be dosed on separate days.

[0056] Compounds that target type II topoisomerase are split into two main classes: topoisomerase poisons, which target the topoisomerase-DNA complex, and topoisomerase inhibitors, which disrupt catalytic turnover. Topo II poisons include but are not limited to eukaryotic type II topoisomerase inhibitors (topo II): amsacrine, etoposide, etoposide phosphate, teniposide and doxorubicin. These drugs are anti-cancer therapies. Examples of topoisomerase inhibitors include ICRF-193. These inhibitors target the N-terminal ATPase domain of topo II and prevent topo II from turning over. The structure of this compound bound to the ATPase domain has been solved by Classen (Proceedings of the National Academy of Science, 2004) showing that the drug binds in a non-competitive manner and locks down the dimerization of the ATPase domain.

Irinotecan

[0057] Irinotecan is a topoisomerase I inhibitor. Chemically, it is a semisynthetic analogue of the natural alkaloid camptothecin. Its main use is in colon cancer, particularly in combination with other chemotherapy agents. This includes the regimen FOLFIRI which consists of infusional 5-fluorouracil, leucovorin, and irinotecan.

[0058] Irinotecan is activated by hydrolysis to SN-38, an inhibitor of topoisomerase I. This is then inactivated by glucuronidation by uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1). The inhibition of topoisomerase I by the active metabolite SN-38 eventually leads to inhibition of both DNA replication and transcription.

Topotecan:

[0059] Topotecan hydrochloride (trade name Hycamtin) is a topoisomerase I inhibitor. Topotecan hydrochloride is approved by the Food and Drug Administration (FDA) to treat ovarian cancer and small cell lung cancer in patients whose cancer has not gotten better with earlier chemotherapy. It is also approved to be used together with cisplatin, a platinum compound, to treat cervical cancer in some women whose cancer has not gotten better or has recurred. Topotecan hydrochloride is also being studied in the treatment of other types of cancer. Topotecan can be administered via intravenous injection or orally.

Clinical Efficacy:

[0060] Clinical efficacy may be measured by any method known in the art. In some embodiments, clinical efficacy of the combination of topoisomerase inhibitor and PARP-1 inhibitor (e.g. topotecan and BA) may be determined by measuring the clinical benefit rate (CBR). The clinical benefit rate is measured by determining the sum of the percentage of patients who are in complete remission (CR), the number of patients who are in partial remission (PR) and the number of patients having stable disease (SD) at a time point at least 6 months out from the end of therapy. The shorthand for this formula is $CBR = CR + PR + SD \geq 6 \text{ months}$. The CBR for combination therapy with a topoisomerase inhibitor and a PARP-1 inhibitor (e.g. topotecan and BA; CBR_{T-B}) may be compared to that of therapy with topotecan alone (CBR_T). In some embodiments, CBR_{T-B} is at least about 40%, at least about 50% or at least about 60%.

32

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
[0061] In some embodiments disclosed herein, the methods include pre-determining that a cancer is treatable by PARP modulators. Some such methods comprise identifying a level of PARP in a tumor sample of a patient, determining whether the level of PARP expression in the sample is greater than a pre-determined value, and, if the PARP expression is greater than said predetermined value, treating the patient with a combination of a
5 topoisomerase inhibitor (such as topotecan or irinotecan) and a PARP-1 inhibitor such as BA.

[0062] PARP inhibitors kill cells where this form of DNA repair is absent; and thus are effective in killing BRCA deficient tumor cells and other similar tumor cells. Normal cells may be unaffected by the drug as they may still possess this DNA repair mechanism. This treatment might also be applicable to other forms of cancer that behave like BRCA deficient cancer. In some embodiments, an advantage of treating with PARP inhibitors is that it is
10 targeted therapy: tumor cells are killed while normal cells appear unaffected. This is because PARP inhibitors exploit the specific genetic make-up of some tumor cells.

[0063] Patients deficient in BRCA genes have up-regulated levels of PARP. PARP up-regulation may be an indicator of other defective DNA-repair pathways and unrecognized BRCA-like genetic defects. Assessment of PARP-1 gene expression is an indicator of tumor sensitivity to PARP inhibitor. The BRCA deficient patients
15 treatable by PARP inhibitors can be identified if PARP is up-regulated. Further, such BRCA deficient patients can be treated with PARP inhibitors.

[0064] In some embodiments, a sample is collected from a patient having a lesion suspected of being cancerous. While such sample may be any available biological tissue, in most cases the sample will be a portion of the suspected lesion, whether obtained by laparoscopy or open surgery. PARP expression may then be analyzed and, if
20 the PARP expression is above a predetermined level (e.g. is up-regulated vis-à-vis normal tissue) the patient may be treated with a PARP-1 inhibitor in combination with a topoisomerase inhibitor.

[0065] In some embodiments, tumors that are homologous recombination deficient are identified by evaluating levels of PARP expression. If up-regulation of PARP is observed, such tumors can be treated with PARP inhibitors. Another embodiment is a method for treating a homologous recombination deficient cancer comprising evaluating
25 level of PARP expression and, if overexpression is observed, the cancer may be treated with a PARP inhibitor in combination with a topoisomerase inhibitor.

[0066] Tumors that have deficiency in either the BRCA1 or BRCA2 genes occur because the tumor cells have lost a specific mechanism that repair damaged DNA. BRCA1 and BRCA2 are important for DNA double-strand break repair by homologous recombination, and mutations in these genes predispose to many cancers. PARP is involved
30 in base excision repair, a pathway in the repair of DNA single-strand breaks. BRCA1 or BRCA2 dysfunction sensitizes cells to the inhibition of PARP enzymatic activity, resulting in chromosomal instability, cell cycle arrest and subsequent apoptosis.

[0067] PARP inhibitors kill cells where this form of DNA repair is absent; and thus are effective in killing BRCA deficient tumor cells and other similar tumor cells. Normal cells may be unaffected by the drug as they may still possess this DNA repair mechanism. In some embodiments, an advantage of treating with PARP inhibitors is that it
35 is targeted therapy: tumor cells are killed while normal cells appear unaffected. This is because PARP inhibitors exploit the specific genetic make-up of some tumor cells. While not wishing to be bound by theory, it is thought that combined treatment with PARP inhibitor and a topoisomerase inhibitor may permit efficacious dosing of the topoisomerase inhibitor at a lower, and hence less toxic, dose. In some embodiments, the effective dose of
40 topoisomerase inhibitor used with a PARP inhibitor may be about 10 to about 90%, about 10 to about 80%, about 10 to about 60%, about 10 to about 50%, less than about 90%, less than about 80%, less than about 60%, less than about 50% or less than about 40% of an effective dose of the topoisomerase inhibitor used alone.

Sample collection, preparation and separation

[0068] Biological samples may be collected from a variety of sources from a patient including a body fluid sample, or a tissue sample. Samples collected can be human normal and tumor samples, nipple aspirants. The samples can be collected from individuals repeatedly over a longitudinal period of time (e.g., about once a day, once a week, once a month, biannually or annually). Obtaining numerous samples from an individual over a period of time can be used to verify results from earlier detections and/or to identify an alteration in biological pattern as a result of, for example, disease progression, drug treatment, etc.

[0069] Sample preparation and separation can involve any of the procedures, depending on the type of sample collected and/or analysis of PARP. Such procedures include, by way of example only, concentration, dilution, adjustment of pH, removal of high abundance polypeptides (e.g., albumin, gamma globulin, and transferrin, etc.), addition of preservatives and calibrants, addition of protease inhibitors, addition of denaturants, desalting of samples, concentration of sample proteins, extraction and purification of lipids.

[0070] The sample preparation can also isolate molecules that are bound in non-covalent complexes to other protein (e.g., carrier proteins). This process may isolate those molecules bound to a specific carrier protein (e.g., albumin), or use a more general process, such as the release of bound molecules from all carrier proteins via protein denaturation, for example using an acid, followed by removal of the carrier proteins.

[0071] Removal of undesired proteins (e.g., high abundance, uninformative, or undetectable proteins) from a sample can be achieved using high affinity reagents, high molecular weight filters, ultracentrifugation and/or electrodialysis. High affinity reagents include antibodies or other reagents (e.g. aptamers) that selectively bind to high abundance proteins. Sample preparation could also include ion exchange chromatography, metal ion affinity chromatography, gel filtration, hydrophobic chromatography, chromatofocusing, adsorption chromatography, isoelectric focusing and related techniques. Molecular weight filters include membranes that separate molecules on the basis of size and molecular weight. Such filters may further employ reverse osmosis, nanofiltration, ultrafiltration and microfiltration.

[0072] Ultracentrifugation is a method for removing undesired polypeptides from a sample. Ultracentrifugation is the centrifugation of a sample at about 15,000-60,000 rpm while monitoring with an optical system the sedimentation (or lack thereof) of particles. Electrodialysis is a procedure which uses an electromembrane or semipermeable membrane in a process in which ions are transported through semi-permeable membranes from one solution to another under the influence of a potential gradient. Since the membranes used in electrodialysis may have the ability to selectively transport ions having positive or negative charge, reject ions of the opposite charge, or to allow species to migrate through a semipermeable membrane based on size and charge, it renders electrodialysis useful for concentration, removal, or separation of electrolytes.

[0073] Separation and purification in the present invention may include any procedure known in the art, such as capillary electrophoresis (e.g., in capillary or on-chip) or chromatography (e.g., in capillary, column or on a chip).

Electrophoresis is a method which can be used to separate ionic molecules under the influence of an electric field. Electrophoresis can be conducted in a gel, capillary, or in a microchannel on a chip. Examples of gels used for electrophoresis include starch, acrylamide, polyethylene oxides, agarose, or combinations thereof. A gel can be modified by its cross-linking, addition of detergents, or denaturants, immobilization of enzymes or antibodies (affinity electrophoresis) or substrates (zymography) and incorporation of a pH gradient. Examples of capillaries used for electrophoresis include capillaries that interface with an electrospray.

[0074] Capillary electrophoresis (CE) is preferred for separating complex hydrophilic molecules and highly charged solutes. CE technology can also be implemented on microfluidic chips. Depending on the types of

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
capillary and buffers used, CE can be further segmented into separation techniques such as capillary zone electrophoresis (CZE), capillary isoelectric focusing (CIEF), capillary isotachopheresis (cITP) and capillary electrochromatography (CEC). An embodiment to couple CE techniques to electrospray ionization involves the use of volatile solutions, for example, aqueous mixtures containing a volatile acid and/or base and an organic such as an alcohol or acetonitrile.

[0075] Capillary isotachopheresis (cITP) is a technique in which the analytes move through the capillary at a constant speed but are nevertheless separated by their respective mobilities. Capillary zone electrophoresis (CZE), also known as free-solution CE (FSCE), is based on differences in the electrophoretic mobility of the species, determined by the charge on the molecule, and the frictional resistance the molecule encounters during migration which is often directly proportional to the size of the molecule. Capillary isoelectric focusing (CIEF) allows weakly-ionizable amphoteric molecules, to be separated by electrophoresis in a pH gradient. CEC is a hybrid technique between traditional high performance liquid chromatography (HPLC) and CE.

[0076] Separation and purification techniques used in the present invention include any chromatography procedures known in the art. Chromatography can be based on the differential adsorption and elution of certain analytes or partitioning of analytes between mobile and stationary phases. Different examples of chromatography include, but not limited to, liquid chromatography (LC), gas chromatography (GC), high performance liquid chromatography (HPLC) etc.

Identifying level of PARP

[0077] The poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) is also known as poly (ADP-ribose) synthase and poly ADP-ribosyltransferase. PARP catalyzes the formation of poly (ADP-ribose) polymers which can attach to nuclear proteins (as well as to itself) and thereby modify the activities of those proteins. The enzyme plays a role in DNA repair, but it also plays a role in regulating chromatin in the nuclei (for review see: D. D'amours et al. "Poly (ADP-ribosylation reactions in the regulation of nuclear functions," Biochem. J. 342: 249-268 (1999)).

[0078] PARP-1 comprises an N-terminal DNA binding domain, an automodification domain and a C-terminal catalytic domain and various cellular proteins interact with PARP-1. The N-terminal DNA binding domain contains two zinc finger motifs. Transcription enhancer factor-1 (TEF-1), retinoid X receptor α , DNA polymerase β , X-ray repair cross-complementing factor-1 (XRCC1) and PARP-1 itself interact with PARP-1 in this domain. The automodification domain contains a BRCT motif, one of the protein-protein interaction modules. This motif is originally found in the C-terminus of BRCA1 (breast cancer 1, early onset) and is present in various proteins related to DNA repair, recombination and cell-cycle checkpoint control. POU-homeodomain-containing octamer transcription factor-1 (Oct-1), Yin Yang (YY)1 and ubiquitin-conjugating enzyme 9 (ubc9) could interact with this BRCT motif in PARP-1.

[0079] More than 15 members of the PARP family of genes are present in the mammalian genome. PARP family proteins and poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG), which degrades poly(ADP-ribose) to ADP-ribose, could be involved in a variety of cell regulatory functions including DNA damage response and transcriptional regulation and may be related to carcinogenesis and the biology of cancer in many respects.

[0080] Several PARP family proteins have been identified. Tankyrase has been found as an interacting protein of telomere regulatory factor 1 (TRF-1) and is involved in telomere regulation. Vault PARP (VPARP) is a component in the vault complex, which acts as a nuclear-cytoplasmic transporter. PARP-2, PARP-3 and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin inducible PARP (TiPARP) have also been identified. Therefore, poly (ADP-ribose) metabolism could be related to a variety of cell regulatory functions.

WO 2009/073869

PCT/US2008/085756

[0081] A member of this gene family is PARP-1. The PARP-1 gene product is expressed at high levels in the nuclei of cells and is dependent upon DNA damage for activation. Without being bound by any theory, it is believed that PARP-1 binds to DNA single or double stranded breaks through an amino terminal DNA binding domain. The binding activates the carboxy terminal catalytic domain and results in the formation of polymers of ADP-ribose on target molecules. PARP-1 is itself a target of poly ADP-ribosylation by virtue of a centrally located automodification domain. The ribosylation of PARP-1 causes dissociation of the PARP-1 molecules from the DNA. The entire process of binding, ribosylation, and dissociation occurs very rapidly. It has been suggested that this transient binding of PARP-1 to sites of DNA damage results in the recruitment of DNA repair machinery or may act to suppress the recombination long enough for the recruitment of repair machinery.

[0082] The source of ADP-ribose for the PARP reaction is nicotinamide adenosine dinucleotide (NAD). NAD is synthesized in cells from cellular ATP stores and thus high levels of activation of PARP activity can rapidly lead to depletion of cellular energy stores. It has been demonstrated that induction of PARP activity can lead to cell death that is correlated with depletion of cellular NAD and ATP pools. PARP activity is induced in many instances of oxidative stress or during inflammation. For example, during reperfusion of ischemic tissues reactive nitric oxide is generated and nitric oxide results in the generation of additional reactive oxygen species including hydrogen peroxide, peroxynitrate and hydroxyl radical. These latter species can directly damage DNA and the resulting damage induces activation of PARP activity. Frequently, it appears that sufficient activation of PARP activity occurs such that the cellular energy stores are depleted and the cell dies. A similar mechanism is believed to operate during inflammation when endothelial cells and pro-inflammatory cells synthesize nitric oxide which results in oxidative DNA damage in surrounding cells and the subsequent activation of PARP activity. The cell death that results from PARP activation is believed to be a major contributing factor in the extent of tissue damage that results from ischemia-reperfusion injury or from inflammation.

[0083] In some embodiments, the level of PARP in a sample from a patient is compared to predetermined standard sample. The sample from the patient is typically from a diseased tissue, such as cancer cells or tissues. The standard sample can be from the same patient or from a different subject. The standard sample is typically a normal, non-diseased sample. However, in some embodiments, such as for staging of disease or for evaluating the efficacy of treatment, the standard sample is from a diseased tissue. The standard sample can be a combination of samples from several different subjects. In some embodiments, the level of PARP from a patient is compared to a pre-determined level. This pre-determined level is typically obtained from normal samples. As described herein, a "pre-determined PARP level" may be a level of PARP used to, by way of example only, evaluate a patient that may be selected for treatment, evaluate a response to a PARP inhibitor treatment, evaluate a response to a combination of a PARP inhibitor and a second therapeutic agent treatment, and/or diagnose a patient for cancer, inflammation, pain and/or related conditions. A pre-determined PARP level may be determined in populations of patients with or without cancer. The pre-determined PARP level can be a single number, equally applicable to every patient, or the pre-determined PARP level can vary according to specific subpopulations of patients. For example, men might have a different pre-determined PARP level than women; non-smokers may have a different pre-determined PARP level than smokers. Age, weight, and height of a patient may affect the pre-determined PARP level of the individual. Furthermore, the pre-determined PARP level can be a level determined for each patient individually. The pre-determined PARP level can be any suitable standard. For example, the pre-determined PARP level can be obtained from the same or a different human for whom a patient selection is being assessed. In one embodiment, the pre-determined PARP level can be obtained from a previous assessment of the same patient. In such a manner, the progress of the selection of the patient can be monitored over time. In addition, the standard can be obtained from

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
 an assessment of another human or multiple humans, e.g., selected groups of humans. In such a manner, the extent of the selection of the human for whom selection is being assessed can be compared to suitable other humans, e.g., other humans who are in a similar situation to the human of interest, such as those suffering from similar or the same condition(s).

5 [0084] The analysis of PARP levels in patients is particularly valuable and informative, as it allows the physician to more effectively select the best treatments, as well as to utilize more aggressive treatments and therapy regimens based on the up-regulated or down-regulated level of PARP. More aggressive treatment, or combination treatments and regimens, can serve to counteract poor patient prognosis and overall survival time. Armed with this information, the medical practitioner can choose to provide certain types of treatment such as treatment with PARP

10 inhibitors, and/or more aggressive therapy.
 [0085] In monitoring a patient's PARP levels, over a period of time, which may be days, weeks, months, and in some cases, years, or various intervals thereof, the patient's body fluid sample, e.g., serum or plasma, can be collected at intervals, as determined by the practitioner, such as a physician or clinician, to determine the levels of PARP, and compared to the levels in normal individuals over the course of treatment or disease. For example,
 15 patient samples can be taken and monitored every month, every two months, or combinations of one, two, or three month intervals according to the invention. In addition, the PARP levels of the patient obtained over time can be conveniently compared with each other, as well as with the PARP values, of normal controls, during the monitoring period, thereby providing the patient's own PARP values, as an internal, or personal, control for long-term PARP monitoring.

20 THERAPEUTIC USE OF PARP INHIBITORS AND TOPOISOMERASE INHIBITORS

Cancer types

[0086] The invention provides methods to treat several specific cancers or tumors. For example, cancer types include adrenal cortical cancer, anal cancer, aplastic anemia, bile duct cancer, bladder cancer, bone cancer, bone metastasis, Adult CNS brain tumors, Children CNS brain tumors, Castleman disease, cervical cancer, Childhood
 25 Non-Hodgkin's lymphoma, colon and rectum (colorectal) cancer, esophagus cancer, Ewing's family of tumors, eye cancer, gallbladder cancer, gastrointestinal carcinoid tumors, gastrointestinal stromal tumors, gestational trophoblastic disease, Hodgkin's disease, Kaposi's sarcoma, kidney cancer, laryngeal and hypopharyngeal cancer, acute lymphocytic leukemia, acute myeloid leukemia, children's leukemia, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, liver cancer, lung cancer, lung carcinoid tumors, Non-Hodgkin's lymphoma, malignant
 30 mesothelioma, multiple myeloma, myelodysplastic syndrome, nasal cavity and paranasal cancer, nasopharyngeal cancer, neuroblastoma, oral cavity and oropharyngeal cancer, osteosarcoma, pancreatic cancer, penile cancer, pituitary tumor, prostate cancer, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, salivary gland cancer, sarcoma (adult soft tissue cancer), melanoma skin cancer, non-melanoma skin cancer, stomach cancer, testicular cancer, thymus cancer,
 35 thyroid cancer, vaginal cancer, vulvar cancer, Waldenstrom's macroglobulinemia, cancers of viral origin and virus-associated cancers.

[0087] Carcinoma of the thyroid gland is the most common malignancy of the endocrine system. Carcinoma of the thyroid gland include differentiated tumors (papillary or follicular) and poorly differentiated tumors (medullary or anaplastic). Carcinomas of the vagina include squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, melanoma and
 40 sarcoma. Testicular cancer is broadly divided into seminoma and nonseminoma types.

[0088] Thymomas are epithelial tumors of the thymus, which may or may not be extensively infiltrated by nonneoplastic lymphocytes. The term thymoma is customarily used to describe neoplasms that show no overt atypia

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
of the epithelial component. A thymic epithelial tumor that exhibits clear-cut cytologic atypia and histologic features no longer specific to the thymus is known as a thymic carcinoma (also known as type C thymoma).

[0089] The methods provided by the invention may comprise the administration of the benzamide compounds with topoisomerase inhibitors in combination with other therapies. The choice of therapy that can be co-administered with the compositions of the invention will depend, in part, on the condition being treated. For example, for treating acute myleoid leukemia, a benzamide compound of some embodiments of the invention can be used in combination with radiation therapy, monoclonal antibody therapy, chemotherapy, bone marrow transplantation, gene therapy, DNA/RNA therapy, adjuvant therapy, nanotherapy, neoadjuvant therapy, immunotherapy, or a combination thereof.

Cervical Cancer

[0100] In another aspect, the invention provides a method of treating cervical cancer, preferably an adenocarcinoma in the cervix epithelial. Two main types of this cancer exist: squamous cell carcinoma and adenocarcinomas. The former constitutes about 80-90% of all cervical cancers and develops where the ectocervix (portion closest to the vagina) and the endocervix (portion closest to the uterus) join. The latter develop in the mucous-producing gland cells of the endocervix. Some cervical cancers have characteristics of both of these and are called adenosquamous carcinomas or mixed carcinomas.

[0101] The chief treatments available for cervical cancer are surgery, immunotherapy, radiation therapy and chemotherapy. Some possible surgical options are cryosurgery, a hysterectomy, and a radical hysterectomy. Radiation therapy for cervical cancer patients includes external beam radiation therapy or brachytherapy. Anti-cancer drugs that may be administered as part of chemotherapy to treat cervical cancer include cisplatin, carboplatin, hydroxyurea, irinotecan, bleomycin, vincristine, mitomycin, ifosfamide, fluorouracil, etoposide, methotrexate, and combinations thereof.

[0102] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for cervical cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Prostate Cancer

[0103] In one other aspect, the invention provides methods to treat prostate cancer, preferably a prostate cancer selected from the following: an adenocarcinoma or an adenocarinoma that has migrated to the bone. Prostate cancer develops in the prostate organ in men, which surrounds the first part of the urethra. The prostate has several cell types but 99% of tumors are adenocarcinomas that develop in the glandular cells responsible for generating seminal fluid.

[0104] Surgery, immunotherapy, radiation therapy, cryosurgery, hormone therapy, and chemotherapy are some treatments available for prostate cancer patients. Possible surgical procedures to treat prostate cancer include radical retropubic prostatectomy, a radical perineal prostatectomy, and a laparoscopic radical prostatectomy. Some radiation therapy options are external beam radiation, including three dimensional conformal radiation therapy, intensity modulated radiation therapy, and conformal proton beam radiation therapy. Brachytherapy (seed implantation or interstitial radiation therapy) is also an available method of treatment for prostate cancer. Cryosurgery is another possible method used to treat localized prostate cancer cells.

[0105] Hormone therapy, also called androgen deprivation therapy or androgen suppression therapy, may be used to treat prostate cancer. Several methods of this therapy are available including an orchiectomy in which the testicles, where 90% of androgens are produced, are removed. Another method is the administration of luteinizing

hormone-releasing hormone (LHRH) analogs to lower androgen levels. The LHRH analogs available include leuprolide, goserelin, triptorelin, and histrelin. An LHRH antagonist may also be administered, such as abarelix.

[0106] Treatment with an anti-androgen agent, which blocks androgen activity in the body, is another available therapy. Such agents include flutamide, bicalutamide, and nilutamide. This therapy is typically combined with

LHRH analog administration or an orchiectomy, which is termed a combined androgen blockade (CAB).

[0107] Chemotherapy may be appropriate where a prostate tumor has spread outside the prostate gland and hormone treatment is not effective. Anti-cancer drugs such as doxorubicin, estramustine, etoposide, mitoxantrone, vinblastine, paclitaxel, docetaxel, carboplatin, and prednisone may be administered to slow the growth of prostate cancer, reduce symptoms and improve the quality of life.

[0108] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for prostate cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Pancreatic Cancer

[0109] Some embodiments provide methods of treating pancreatic cancer, preferably a pancreatic cancer selected from the following: an epithelioid carcinoma in the pancreatic duct tissue and an adenocarcinoma in a pancreatic duct.

[0110] The most common type of pancreatic cancer is an adenocarcinoma, which occurs in the lining of the pancreatic duct. The possible treatments available for pancreatic cancer are surgery, immunotherapy, radiation therapy, and chemotherapy. Possible surgical treatment options include a distal or total pancreatectomy and a pancreaticoduodenectomy (Whipple procedure).

[0111] Radiation therapy may be an option for pancreatic cancer patients, specifically external beam radiation where radiation is focused on the tumor by a machine outside the body. Another option is intraoperative electron beam radiation administered during an operation.

[0112] Chemotherapy may be used to treat pancreatic cancer patients. Appropriate anti-cancer drugs include 5-fluorouracil (5-FU), mitomycin, ifosfamide, doxorubicin, streptozocin, chlorozotocin, and combinations thereof.

[0113] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for pancreatic cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Bladder Cancer

[0114] Some embodiments provide methods of treating bladder cancer, preferably a transitional cell carcinoma in urinary bladder. Bladder cancers are urothelial carcinomas (transitional cell carcinomas) or tumors in the urothelial cells that line the bladder. The remaining cases of bladder cancer are squamous cell carcinomas, adenocarcinomas, and small cell cancers. Several subtypes of urothelial carcinomas exist depending on whether they are noninvasive or invasive and whether they are papillary, or flat. Noninvasive tumors are in the urothelium, the innermost layer of the bladder, while invasive tumors have spread from the urothelium to deeper layers of the bladder's main muscle wall. Invasive papillary urothelial carcinomas are slender finger-like projections that branch into the hollow center of the bladder and also grow outward into the bladder wall. Non-invasive papillary urothelial tumors grow towards the center of the bladder. While a non-invasive, flat urothelial tumor (also called a flat carcinoma in situ) is

confined to the layer of cells closest to the inside hollow part of the bladder, an invasive flat urothelial carcinoma invades the deeper layer of the bladder, particularly the muscle layer.

[0115] To treat bladder cancer, surgery, radiation therapy, immunotherapy, chemotherapy, or a combination thereof may be applied. Some possible surgical options are a transurethral resection, a cystectomy, or a radical cystectomy. Radiation therapy for bladder cancer may include external beam radiation and brachytherapy.

[0116] Immunotherapy is another method that may be used to treat a bladder cancer patient. Typically this is accomplished intravesically, which is the administration of a treatment agent directly into the bladder by way of a catheter. One method is Bacillus Calmete-Guerin (BCG) where a bacterium sometimes used in tuberculosis vaccination is given directly to the bladder through a catheter. The body mounts an immune response to the bacterium, thereby attacking and killing the cancer cells.

[0117] Another method of immunotherapy is the administration of interferons, glycoproteins that modulate the immune response. Interferon alpha is often used to treat bladder cancer.

[0118] Anti-cancer drugs that may be used in chemotherapy to treat bladder cancer include thitepa, methotrexate, vinblastine, doxorubicin, cyclophosphamide, paclitaxel, carboplatin, cisplatin, ifosfamide, gemcitabine, or combinations thereof.

[0119] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for bladder cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Colon cancer and rectal cancer

[0090] In another aspect, the invention provides methods to treat colorectal cancers. In some embodiments, the method comprises administering benzopyrone compounds alone into a subject. In other embodiments, the method comprises administering benzopyrone compounds in combination with one or more anti-tumor agents as listed herein into a subject.

[0091] Colorectal cancer includes cancerous growths in the colon, rectum and appendix. Many colorectal cancers are thought to arise from adenomatous polyps in the colon. Colorectal cancer originates from the epithelial cells lining the gastrointestinal tract. Hereditary or somatic mutations in specific DNA sequences, among which are included DNA replication or DNA repair genes, and also the APC, K-Ras, NOD2 and p53 genes, lead to unrestricted cell division. Therapy is usually through surgery, which in many cases is followed by chemotherapy. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) is being investigated as an adjuvant mixed with autologous tumor cells in immunotherapy for colorectal cancer.

[0092] Over 20% of patients present with metastatic (stage IV) colorectal cancer at the time of diagnosis, and up to 25% of this group have isolated liver metastasis that is potentially resectable. Patients with colon cancer and metastatic disease to the liver may be treated in either a single surgery or in staged surgeries depending upon the fitness of the patient for prolonged surgery, the difficulty expected with the procedure with either the colon or liver resection, and the comfort of the surgery performing potentially complex hepatic surgery.

[0093] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for colorectal cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

45

[0120] Some embodiments provide methods of treating acute myeloid leukemia (AML), preferably acute promyelocytic leukemia in peripheral blood. AML begins in the bone marrow but can spread to other parts of the body including the lymph nodes, liver, spleen, central nervous system, and testes. It is acute meaning it develops quickly and may be fatal if not treated within a few months. AML is characterized by immature bone marrow cells usually granulocytes or monocytes, which continue to reproduce and accumulate.

[0121] AML may be treated by immunotherapy, radiation therapy, chemotherapy, bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation, or a combination thereof. Radiation therapy includes external beam radiation and may have side effects. Anti-cancer drugs that may be used in chemotherapy to treat AML include cytarabine, anthracycline, anthracenedione, idarubicin, daunorubicin, idarubicin, mitoxantrone, thioguanine, vincristine, prednisone, etoposide, or a combination thereof.

[0122] Monoclonal antibody therapy may be used to treat AML patients. Small molecules or radioactive chemicals may be attached to these antibodies before administration to a patient in order to provide a means of killing leukemia cells in the body. The monoclonal antibody, gemtuzumab ozogamicin, which binds CD33 on AML cells, may be used to treat AML patients unable to tolerate prior chemotherapy regimens.

[0123] Bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation may be used to treat AML patients. Some possible transplantation procedures are an allogenic or an autologous transplant.

[0124] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for leukemia patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

[0125] There are other types of leukemia's that can also be treated by the methods provided by the invention including but not limited to, Acute Lymphocytic Leukemia, Acute Myeloid Leukemia, Chronic Lymphocytic Leukemia, Chronic Myeloid Leukemia, Hairy Cell Leukemia, Myelodysplasia, and Myeloproliferative Disorders.

Lung Cancer

[0126] Some embodiments provide methods to treat lung cancer. The most common type of lung cancer is non-small cell lung cancer (NSCLC), which accounts for approximately 80-85% of lung cancers and is divided into squamous cell carcinomas, adenocarcinomas, and large cell undifferentiated carcinomas. Small cell lung cancer accounts for 15-20% of lung cancers.

[0127] Small cell lung cancer is a disease in which malignant (cancer) cells form in the tissues of the lung. There are three types of small cell lung cancer. These three types include many different types of cells. The cancer cells of each type grow and spread in different ways. The types of small cell lung cancer are named for the kinds of cells found in the cancer and how the cells look when viewed under a microscope: small cell carcinoma (oat cell cancer); mixed small cell/large cell carcinoma; and combined small cell carcinoma. For most patients with small cell lung cancer, current treatments do not cure the cancer.

[0128] Treatment options for lung cancer include surgery, immunotherapy, radiation therapy, chemotherapy, photodynamic therapy, or a combination thereof. Some possible surgical options for treatment of lung cancer are a segmental or wedge resection, a lobectomy, or a pneumonectomy. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy.

[0129] Some anti-cancer drugs that may be used in chemotherapy to treat lung cancer include cisplatin, carboplatin, paclitaxel, docetaxel, gemcitabine, vinorelbine, irinotecan, etoposide, vinblastine, gefitinib, ifosfamide, methotrexate, or a combination thereof. Photodynamic therapy (PDT) may be used to treat lung cancer patients.

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
[0130] The methods described herein can provide a beneficial effect for lung cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Skin Cancer

5 [0131] Some embodiments provide methods of treating skin cancer. There are several types of cancer that start in the skin. The most common types are basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma, which are non-melanoma skin cancers. Actinic keratosis is a skin condition that sometimes develops into squamous cell carcinoma. Non-melanoma skin cancers rarely spread to other parts of the body. Melanoma, the rarest form of skin cancer, is more likely to invade nearby tissues and spread to other parts of the body. Different types of treatment are available for patients with non-melanoma and melanoma skin cancer and actinic keratosis including surgery, radiation therapy, chemotherapy and photodynamic therapy. Some possible surgical options for treatment of skin cancer are mohs micrographic surgery, simple excision, electrodesiccation and curettage, cryosurgery, laser surgery. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy. Other types of treatments that are being tested in clinical trials are biologic therapy or immunotherapy, chemoimmunotherapy, topical chemotherapy with fluorouracil and photodynamic therapy.

15 [0132] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for skin cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

20 *Eye Cancer, Retinoblastoma*

[0133] Some embodiments provide methods to treat eye retinoblastoma. Retinoblastoma is a malignant tumor of the retina. Although retinoblastoma may occur at any age, it most often occurs in younger children, usually before the age of 5 years. The tumor may be in one eye only or in both eyes. Retinoblastoma is usually confined to the eye and does not spread to nearby tissue or other parts of the body. Treatment options that attempt to cure the patient and preserve vision include enucleation (surgery to remove the eye), radiation therapy, cryotherapy, photocoagulation, immunotherapy, thermotherapy and chemotherapy. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy.

25 [0134] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for eye retinoblastoma patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

30 *Eye Cancer, Intraocular Melanoma*

[0135] Some embodiments provide methods to treat intraocular (eye) melanoma. Intraocular melanoma, a rare cancer, is a disease in which cancer cells are found in the part of the eye called the uvea. The uvea includes the iris, the ciliary body, and the choroid. Intraocular melanoma occurs most often in people who are middle aged. Treatments for intraocular melanoma include surgery, immunotherapy, radiation therapy and laser therapy. Surgery is the most common treatment of intraocular melanoma. Some possible surgical options are iridectomy, iridotrabeculectomy, iridocyclectomy, choroidectomy, enucleation and orbital exenteration. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy. Laser therapy may be an intensely powerful beam of light to destroy the tumor, thermotherapy or photocoagulation.

[0136] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for intraocular melanoma patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

5 *Liver Cancer*

[0137] Some embodiments provide methods to treat primary liver cancer (cancer that begins in the liver). Primary liver cancer can occur in both adults and children. Different types of treatments are available for patients with primary liver cancer. These include surgery, immunotherapy, radiation therapy, chemotherapy and percutaneous ethanol injection. The types of surgery that may be used are cryosurgery, partial hepatectomy, total hepatectomy and radiofrequency ablation. Radiation therapy may be external beam radiation therapy, brachytherapy, radiosensitizers or radiolabel antibodies. Other types of treatment include hyperthermia therapy and immunotherapy.

[0138] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for liver cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Kidney Cancer

[0139] Some embodiments provide methods to treat kidney cancer. Kidney cancer (also called renal cell cancer or renal adenocarcinoma) is a disease in which malignant cells are found in the lining of tubules in the kidney. Kidney cancer may be treated by surgery, radiation therapy, chemotherapy and immunotherapy. Some possible surgical options to treat kidney cancer are partial nephrectomy, simple nephrectomy and radical nephrectomy. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy. Stem cell transplant may be used to treat kidney cancer.

[0140] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for kidney cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Thyroid Cancer

[0141] Some embodiments provide methods of treating thyroid cancer. Thyroid cancer is a disease in which cancer (malignant) cells are found in the tissues of the thyroid gland. The four main types of thyroid cancer are papillary, follicular, medullary and anaplastic. Thyroid cancer may be treated by surgery, immunotherapy, radiation therapy, hormone therapy and chemotherapy. Surgery is the most common treatment of thyroid cancer. Some possible surgical options for treatment of thyroid cancer are lobectomy, near-total thyroidectomy, total thyroidectomy and lymph node dissection. Radiation therapy may be external radiation therapy or may required intake of a liquid that contains radioactive iodine. Hormone therapy uses hormones to stop cancer cells from growing. In treating thyroid cancer, hormones can be used to stop the body from making other hormones that might make cancer cells grow.

[0142] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for thyroid cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

AIDS-Related Lymphoma

[0143] Some embodiments provide methods of treating AIDS-related lymphoma. AIDS-related lymphoma is a disease in which malignant cells form in the lymph system of patients who have acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). AIDS is caused by the human immunodeficiency virus (HIV), which attacks and weakens the body's immune system. The immune system is then unable to fight infection and diseases that invade the body. People with HIV disease have an increased risk of developing infections, lymphoma, and other types of cancer. Lymphomas are cancers that affect the white blood cells of the lymph system. Lymphomas are divided into two general types: Hodgkin's lymphoma and non-Hodgkin's lymphoma. Both Hodgkin's lymphoma and non-Hodgkin's lymphoma may occur in AIDS patients, but non-Hodgkin's lymphoma is more common. When a person with AIDS has non-Hodgkin's lymphoma, it is called an AIDS-related lymphoma. Non-Hodgkin's lymphomas may be indolent (slow-growing) or aggressive (fast-growing). AIDS-related lymphoma is usually aggressive. The three main types of AIDS-related lymphoma are diffuse large B-cell lymphoma, B-cell immunoblastic lymphoma and small non-cleaved cell lymphoma.

[0144] Treatment of AIDS-related lymphoma combines treatment of the lymphoma with treatment for AIDS. Patients with AIDS have weakened immune systems and treatment can cause further damage. For this reason, patients who have AIDS-related lymphoma are usually treated with lower doses of drugs than lymphoma patients who do not have AIDS. Highly-active antiretroviral therapy (HAART) is used to slow progression of HIV. Medicine to prevent and treat infections, which can be serious, is also used. AIDS-related lymphomas may be treated by chemotherapy, immunotherapy, radiation therapy and high-dose chemotherapy with stem cell transplant. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy. AIDS-related lymphomas can be treated by monoclonal antibody therapy.

[0145] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for AIDS-related lymphoma patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Kaposi's Sarcoma

[0146] Some embodiments provide methods of treating Kaposi's sarcoma. Kaposi's sarcoma is a disease in which cancer cells are found in the tissues under the skin or mucous membranes that line the mouth, nose, and anus. Classic Kaposi's sarcoma usually occurs in older men of Jewish, Italian, or Mediterranean heritage. This type of Kaposi's sarcoma progresses slowly, sometimes over 10 to 15 years. Kaposi's sarcoma may occur in people who are taking immunosuppressants. Kaposi's sarcoma in patients who have Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) is called epidemic Kaposi's sarcoma. Kaposi's sarcoma in people with AIDS usually spreads more quickly than other kinds of Kaposi's sarcoma and often is found in many parts of the body. Kaposi's sarcoma may be treated with surgery, chemotherapy, radiation therapy and immunotherapy. External radiation therapy is a common treatment of Kaposi's sarcoma. Some possible surgical options to treat Kaposi's Sarcoma are local excision, electrodesiccation and curettage, and cryotherapy.

[0147] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for Kaposi's sarcoma, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

[0148] Some embodiments provide methods of treating viral-induced cancers. Several common viruses are clearly or probable causal factors in the etiology of specific malignancies. These viruses either normally establish latency or few can become persistent infections. Oncogenesis is probably linked to an enhanced level of viral activation in the infected host, reflecting heavy viral dose or compromised immune control. The major virus-malignancy systems include hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), and hepatocellular carcinoma; human lymphotropic virus-type 1 (HTLV-1) and adult T-cell leukemia/lymphoma; and human papilloma virus (HPV) and cervical cancer. In general, these malignancies occur relatively early in life, typically peaking in middle-age or earlier.

Virus-Induced Hepatocellular Carcinoma

[0149] The causal relationship between both HBV and HCV and hepatocellular carcinoma or liver cancer is established through substantial epidemiologic evidence. Both appear to act via chronic replication in the liver by causing cell death and subsequent regeneration. Different types of treatments are available for patients with liver cancer. These include surgery, immunotherapy, radiation therapy, chemotherapy and percutaneous ethanol injection. The types of surgery that may be used are cryosurgery, partial hepatectomy, total hepatectomy and radiofrequency ablation. Radiation therapy may be external beam radiation therapy, brachytherapy, radiosensitizers or radiolabel antibodies. Other types of treatment include hyperthermia therapy and immunotherapy.

[0150] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for virus induce hepatocellular carcinoma patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, percutaneous ethanol injection, hyperthermia therapy and immunotherapy, or a combination thereof.

Viral-Induced Adult T cell leukemia/lymphoma

[0151] The association between HTLV-1 and Adult T cell leukemia (ATL) is firmly established. Unlike the other oncogenic viruses found throughout the world, HTLV-1 is highly geographically restricted, being found primarily in southern Japan, the Caribbean, west and central Africa, and the South Pacific islands. Evidence for causality includes the monoclonal integration of viral genome in almost all cases of ATL in carriers. The risk factors for HTLV-1-associated malignancy appear to be perinatal infection, high viral load, and being male sex.

[0152] Adult T cell leukemia is a cancer of the blood and bone marrow. The standard treatments for adult T cell leukemia/lymphoma are radiation therapy, immunotherapy, and chemotherapy. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy. Other methods of treating adult T cell leukemia/lymphoma include immunotherapy and high-dose chemotherapy with stem cell transplantation.

[0153] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for Adult T cell leukemia patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and radiation therapy, chemotherapy, immunotherapy and high-dose chemotherapy with stem cell transplantation, or a combination thereof.

Viral-Induced Cervical Cancer

[0154] Infection of the cervix with human papillomavirus (HPV) is the most common cause of cervical cancer. Not all women with HPV infection, however, will develop cervical cancer. Cervical cancer usually develops slowly over time. Before cancer appears in the cervix, the cells of the cervix go through changes known as dysplasia, in which cells that are not normal begin to appear in the cervical tissue. Later, cancer cells start to grow and spread more deeply into the cervix and to surrounding areas. The standard treatments for cervical cancers are surgery,

50.

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
immunotherapy, radiation therapy and chemotherapy. The types of surgery that may be used are conization, total hysterectomy, bilateral salpingo-oophorectomy, radical hysterectomy, pelvic exenteration, cryosurgery, laser surgery and loop electrosurgical excision procedure. Radiation therapy may be external beam radiation therapy or brachytherapy.

5 [0155] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for adult cervical cancer, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

CNS cancers

10 [0156] Brain and spinal cord tumors are abnormal growths of tissue found inside the skull or the bony spinal column, which are the primary components of the central nervous system (CNS). Benign tumors are non-cancerous, and malignant tumors are cancerous. The CNS is housed within rigid, bony quarters (i.e., the skull and spinal column), so any abnormal growth, whether benign or malignant, can place pressure on sensitive tissues and impair function. Tumors that originate in the brain or spinal cord are called primary tumors. Most primary tumors are
15 caused by out-of-control growth among cells that surround and support neurons. In a small number of individuals, primary tumors may result from specific genetic disease (e.g., neurofibromatosis, tuberous sclerosis) or from exposure to radiation or cancer-causing chemicals. The cause of most primary tumors remains a mystery.

[0157] The first test to diagnose brain and spinal column tumors is a neurological examination. Special imaging techniques (computed tomography, and magnetic resonance imaging, positron emission tomography) are also
20 employed. Laboratory tests include the EEG and the spinal tap. A biopsy, a surgical procedure in which a sample of tissue is taken from a suspected tumor, helps doctors diagnose the type of tumor.

[0158] Tumors are classified according to the kind of cell from which the tumor seems to originate. The most common primary brain tumor in adults comes from cells in the brain called astrocytes that make up the blood-brain barrier and contribute to the nutrition of the central nervous system. These tumors are called gliomas (astrocytoma, anaplastic astrocytoma, or glioblastoma multiforme) and account for 65% of all primary central nervous system
25 tumors. Some of the tumors are, but not limited to, Oligodendroglioma, Ependymoma, Meningioma, Lymphoma, Schwannoma, and Medulloblastoma.

Neuroepithelial Tumors of the CNS

[0159] Astrocytic tumors, such as astrocytoma,; anaplastic (malignant) astrocytoma, such as hemispheric, diencephalic, optic, brain stem, cerebellar; glioblastoma multiforme; pilocytic astrocytoma, such as hemispheric, diencephalic, optic, brain stem, cerebellar; subependymal giant cell astrocytoma; and pleomorphic xanthoastrocytoma. Oligodendroglial tumors, such as oligodendroglioma; and anaplastic (malignant) oligodendroglioma. Ependymal cell tumors, such as ependymoma,; anaplastic ependymoma; myxopapillary ependymoma; and subependymoma. Mixed gliomas, such as mixed oligoastrocytoma; anaplastic (malignant) oligoastrocytoma; and others (e.g. ependymo-astrocytomas). Neuroepithelial tumors of uncertain origin, such as polar spongioblastoma; astroblastoma; and gliomatosis cerebri. Tumors of the choroid plexus, such as choroid plexus papilloma; and choroid plexus carcinoma (anaplastic choroid plexus papilloma). Neuronal and mixed neuronal-glial tumors, such as gangliocytoma; dysplastic gangliocytoma of cerebellum (Lhermitte-Duclos); ganglioglioma; anaplastic (malignant) ganglioglioma; desmoplastic infantile ganglioglioma, such as desmoplastic infantile astrocytoma; central neurocytoma; dysembryoplastic neuroepithelial tumor; olfactory neuroblastoma (esthesioneuroblastoma. Pineal Parenchyma Tumors, such as pineocytoma; pineoblastoma; and mixed pineocytoma/pineoblastoma. Tumors with neuroblastic or glioblastic elements (embryonal tumors), such as
30
35
40

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
 medulloepithelioma; primitive neuroectodermal tumors with multipotent differentiation, such as medulloblastoma; cerebral primitive neuroectodermal tumor; neuroblastoma; retinoblastoma; and ependymblastoma.

Other CNS Neoplasms

[0160] Tumors of the Sellar Region, such as pituitary adenoma; pituitary carcinoma; and craniopharyngioma.

5 Hematopoietic tumors, such as primary malignant lymphomas; plasmacytoma; and granulocytic sarcoma. Germ Cell Tumors, such as germinoma; embryonal carcinoma; yolk sac tumor (endodermal sinus tumor); choriocarcinoma; teratoma; and mixed germ cell tumors. Tumors of the Meninges, such as meningioma; atypical meningioma; and anaplastic (malignant) meningioma. Non-meningothelial tumors of the meninges, such as Benign Mesenchymal; Malignant Mesenchymal; Primary Melanocytic Lesions; Hemopoietic Neoplasms; and Tumors of
 10 Uncertain Histogenesis, such as hemangioblastoma (capillary hemangioblastoma). Tumors of Cranial and Spinal Nerves, such as schwannoma (neurinoma, neurilemma); neurofibroma; malignant peripheral nerve sheath tumor (malignant schwannoma), such as epithelioid, divergent mesenchymal or epithelial differentiation, and melanotic. Local Extensions from Regional Tumors; such as paraganglioma (chemodectoma); chordoma; chondroma; chondrosarcoma; and carcinoma. Metastatic tumors, Unclassified Tumors and Cysts and Tumor-like Lesions, such
 15 as Rathke cleft cyst; Epidermoid; dermoid; colloid cyst of the third ventricle; enterogenous cyst; neuroglial cyst; granular cell tumor (choristoma, pituicytoma); hypothalamic neuronal hamartoma; nasal glial heterotopia; and plasma cell granuloma.

[0161] Chemotherapeutics available are, but not limited to, alkylating agents such as, Cyclophosphamide, Ifosfamide, Melphalan, Chlorambucil, BCNU, CCNU, Decarbazine, Procarbazine, Busulfan, and Thiotepa;
 20 antimetabolites such as, Methotrexate, 5-Fluorouracil, Cytarabine, Gemcitabine (Gemzar®), 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, Fludarabine, and Cladribine; anthracyclins such as, daunorubicin. Doxorubicin, Idarubicin, Epirubicin and Mitoxantrone; antibiotics such as, Bleomycin; camptothecins such as, irinotecan and topotecan; taxanes such as, paclitaxel and docetaxel; and platinum compounds such as, Cisplatin, carboplatin, and Oxaliplatin.

[0162] The treatments are surgery, radiation therapy, immunotherapy, hyperthermia, gene therapy, chemotherapy, and combination of radiation and chemotherapy. Doctors also may prescribe steroids to reduce the swelling inside the CNS.

[0163] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for adult cervical cancer, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a
 30 combination thereof.

PNS Cancers

[0164] The peripheral nervous system consists of the nerves that branch out from the brain and spinal cord. These nerves form the communication network between the CNS and the body parts. The peripheral nervous system is further subdivided into the somatic nervous system and the autonomic nervous system. The somatic nervous system
 35 consists of nerves that go to the skin and muscles and is involved in conscious activities. The autonomic nervous system consists of nerves that connect the CNS to the visceral organs such as the heart, stomach, and intestines. It mediates unconscious activities.

[0165] Acoustic neuromas are benign fibrous growths that arise from the balance nerve, also called the eighth cranial nerve or vestibulocochlear nerve. These tumors are non-malignant, meaning that they do not spread or
 40 metastasize to other parts of the body. The location of these tumors is deep inside the skull, adjacent to vital brain

SL

centers in the brain stem. As the tumors enlarge, they involve surrounding structures which have to do with vital functions. In the majority of cases, these tumors grow slowly over a period of years.

[0166] The malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) is the malignant counterpart to benign soft tissue tumors such as neurofibromas and schwannomas. It is most common in the deep soft tissue, usually in close proximity of a nerve trunk. The most common sites include the sciatic nerve, brachial plexus, and sacral plexus. The most common symptom is pain which usually prompts a biopsy. It is a rare, aggressive, and lethal orbital neoplasm that usually arises from sensory branches of the trigeminal nerve in adults. Malignant PNS tumor spreads along nerves to involve the brain, and most patients die within 5 years of clinical diagnosis. The MPNST may be classified into three major categories with epithelioid, mesenchymal or glandular characteristics. Some of the MPNST include but not limited to, Subcutaneous malignant epithelioid schwannoma with cartilaginous differentiation, Glandular malignant schwannoma, Malignant peripheral nerve sheath tumor with perineurial differentiation, Cutaneous epithelioid malignant nerve sheath tumor with rhabdoid features, Superficial epithelioid MPNST, Triton Tumor (MPNST with rhabdomyoblastic differentiation), Schwannoma with rhabdomyoblastic differentiation. Rare MPNST cases contain multiple sarcomatous tissue types, especially osteosarcoma, chondrosarcoma and angiosarcoma. These have sometimes been indistinguishable from the malignant mesenchymoma of soft tissue.

[0167] Other types of PNS cancers include but not limited to, malignant fibrous cytoma, malignant fibrous histiocytoma, malignant meningioma, malignant mesothelioma, and malignant mixed Müllerian tumor.

[0168] The treatments are surgery, radiation therapy, immunotherapy, chemotherapy, and combination of radiation and chemotherapy.

[0169] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for PNS cancers, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer

[0170] Management of patients with central nervous system (CNS) cancers remains a formidable task. Cancers such as, hypopharyngeal cancer, laryngeal cancer, nasopharyngeal cancer, oropharyngeal cancer, and the like, have been treated with surgery, immunotherapy, chemotherapy, combination of chemotherapy and radiation therapy. Etoposide and actinomycin D, two commonly used oncology agents that inhibit topoisomerase II, fail to cross the blood-brain barrier in useful amounts.

[0171] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for Oral Cavity and Oropharyngeal cancer, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Stomach Cancer

[0172] Stomach cancer is the result of cell changes in the lining of the stomach. There are three main types of stomach cancers: lymphomas, gastric stromal tumors, and carcinoid tumors. Lymphomas are cancers of the immune system tissue that are sometimes found in the wall of the stomach. Gastric stromal tumors develop from the tissue of the stomach wall. Carcinoid tumors are tumors of hormone-producing cells of the stomach.

[0173] The causes of stomach cancer continue to be debated. A combination of heredity and environment (diet, smoking, etc) are all thought to play a part. Common approaches to the treatment include surgery, immunotherapy, chemotherapy, radiation therapy, combination of chemotherapy and radiation therapy or biological therapy.

53

[0174] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for stomach cancer, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

5 **Gallbladder cancer**

[0094] In another aspect, the invention provides methods to treat gallbladder cancers. In some embodiments, the method comprises administering benzopyrone compounds alone into a subject. In other embodiments, the method comprises administering benzopyrone compounds in combination with one or more anti-tumor agents as listed herein into a subject.

10 [0095] Gallbladder cancer is a rare cancer in which malignant cells are found in the tissues of the gallbladder. The gallbladder stores bile, a fluid made by the liver to digest fat. The wall of the gallbladder has 3 main layers of tissue: mucosal (innermost) layer, muscularis (middle, muscle) layer, and serosal (outer) layer. Between these layers is supporting connective tissue. Primary gallbladder cancer starts in the innermost layer and spreads through the outer layers as it grows. Gallbladder cancer can be cured only if it is found before it has spread, when it can be removed
15 by surgery. If the cancer has spread, palliative treatment can improve the patient's quality of life by controlling the symptoms and complications of this disease.

[0096] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for gallbladder cancer patients, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a
20 combination thereof.

Esophageal cancer

[0097] In another aspect, the invention provides methods to treat esophageal cancers. In some embodiments, the method comprises administering benzopyrone compounds alone into a subject. In other embodiments, the method comprises administering benzopyrone compounds in combination with one or more anti-tumor agents as listed
25 herein into a subject.

[0098] Esophageal cancer is malignancy of the esophagus. There are various subtypes. Most tumors of the esophagus are malignant. A very small proportion (under 10%) is leiomyoma (smooth muscle tumor) or gastrointestinal stromal tumor (GIST). Malignant tumors are generally adenocarcinomas, squamous cell carcinomas, and occasionally *small-cell carcinomas*. The latter share many properties with small-cell lung cancer, and are
30 relatively sensitive to chemotherapy compared to the other types.

[0099] Small and localized tumors are treated surgically with curative intent. Larger tumors tend not to be operable and hence cannot be cured; their growth can still be delayed with chemotherapy, radiotherapy or a combination of the two. In some cases chemo- and radiotherapy can render these larger tumors operable.

[00100] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for esophageal cancer patients, by
35 administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Testicular cancer

[0175] Testicular cancer is cancer that typically develops in one or both testicles in young men. Cancers of the
40 testicle develop in certain cells known as germ cells. The 2 main types of germ cell tumors (GCTs) that occur in men are seminomas (60%) and nonseminomas (40%). Tumors can also arise in the supportive and hormone-producing tissues, or stroma, of the testicles. Such tumors are known as gonadal stromal tumors. The 2 main types

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
 are Leydig cell tumors and Sertoli cell tumors. Secondary testicular tumors are those that start in another organ and then spread to the testicle. Lymphoma is the most common secondary testicular cancer.

[0176] Common approaches to the treatment include surgery, immunotherapy, chemotherapy, radiation therapy, combination of chemotherapy and radiation therapy or biological therapy. Several drugs are typically used to treat testicular cancer: Platinol (cisplatin), Vepesid or VP-16 (etoposide) and Blenoxane (bleomycin sulfate). Additionally, Ifex (ifosfamide), Velban (vinblastine sulfate) and others may be used.

[0177] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for stomach cancer, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

Thymus Cancer

[0178] The thymus is a small organ located in the upper/front portion of your chest, extending from the base of the throat to the front of the heart. The thymus contains 2 main types of cells, thymic epithelial cells and lymphocytes. Thymic epithelial cells can give origin to thymomas and thymic carcinomas. Lymphocytes, whether in the thymus or in the lymph nodes, can become malignant and develop into cancers called Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphomas. The thymus also contains another much less common type of cells called Kulchitsky cells, or neuroendocrine cells, which normally release certain hormones. These cells can give rise to cancers, called carcinoids or carcinoid tumors that often release the same type of hormones, and are similar to other tumors arising from neuroendocrine cells elsewhere in the body.

[0179] Common approaches to the treatment include surgery, immunotherapy, chemotherapy, radiation therapy, combination of chemotherapy and radiation therapy or biological therapy. Anticancer drugs that have been used in the treatment of thymomas and thymic carcinomas are doxorubicin (adriamycin), cisplatin, ifosfamide, and corticosteroids (prednisone). Often, these drugs are given in combination to increase their effectiveness. Combinations used to treat thymic cancer include cisplatin, doxorubicin, etoposide and cyclophosphamide, and the combination of cisplatin, doxorubicin, cyclophosphamide, and vincristine.

[0180] The methods provided by the invention can provide a beneficial effect for stomach cancer, by administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor, or a combination of administration of a nitrobenzamide compound with a topoisomerase inhibitor and surgery, radiation therapy, chemotherapy, or a combination thereof.

COMBINATION THERAPY

[0181] Some embodiments provide combinations of one or more PARP inhibitors described herein and one or more topoisomerase inhibitors described herein. In some embodiments, the PARP inhibitor is 4-iodo-3-nitrobenzamide or a pharmaceutically acceptable salt, pro-drug or metabolite thereof. In some embodiments, the topoisomerase inhibitor is topotecan, irinotecan, lurtotecan, exatecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof. In some preferred embodiments, the combination is of BA or pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof and topotecan or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

[0182] In other embodiments of the present invention, the methods of the invention further comprise treating cancer by administering to a subject a PARP inhibitor with at least one topoisomerase inhibitor in combination with another anti-cancer therapy including but not limited to surgery, radiation therapy (e.g. X ray), gene therapy, immunotherapy, DNA therapy, adjuvant therapy, neoadjuvant therapy, viral therapy, RNA therapy, or nanotherapy.

SS

[0183] Where the combination therapy further comprises a non-drug treatment, the non-drug treatment may be conducted at any suitable time so long as a beneficial effect from the co-action of the combination of the therapeutic agents and non-drug treatment is achieved. For example, in appropriate cases, the beneficial effect is still achieved when the non-drug treatment is temporally removed from the administration of the therapeutic agents, by a significant period of time. The conjugate and the other pharmacologically active agent may be administered to a patient simultaneously, sequentially or in combination. It will be appreciated that when using a combination of the invention, the compound of the invention and the other pharmacologically active agent may be in the same pharmaceutically acceptable carrier and therefore administered simultaneously. They may be in separate pharmaceutical carriers such as conventional oral dosage forms which are taken simultaneously. The term "combination" further refers to the case where the compounds are provided in separate dosage forms and are administered sequentially.

Radiation Therapy

[0184] Radiation therapy (or radiotherapy) is the medical use of ionizing radiation as part of cancer treatment to control malignant cells. Radiotherapy may be used for curative or adjuvant cancer treatment. It is used as palliative treatment (where cure is not possible and the aim is for local disease control or symptomatic relief) or as therapeutic treatment (where the therapy has survival benefit and it can be curative). Radiotherapy is used for the treatment of malignant tumors and may be used as the primary therapy. It is also common to combine radiotherapy with surgery, chemotherapy, hormone therapy or some mixture of the three. Most common cancer types can be treated with radiotherapy in some way. The precise treatment intent (curative, adjuvant, neoadjuvant, therapeutic, or palliative) will depend on the tumour type, location, and stage, as well as the general health of the patient.

[0185] Radiation therapy is commonly applied to the cancerous tumor. The radiation fields may also include the draining lymph nodes if they are clinically or radiologically involved with tumor, or if there is thought to be a risk of subclinical malignant spread. It is necessary to include a margin of normal tissue around the tumor to allow for uncertainties in daily set-up and internal tumor motion.

[0186] Radiation therapy works by damaging the DNA of cells. The damage is caused by a photon, electron, proton, neutron, or ion beam directly or indirectly ionizing the atoms which make up the DNA chain. Indirect ionization happens as a result of the ionization of water, forming free radicals, notably hydroxyl radicals, which then damage the DNA. In the most common forms of radiation therapy, most of the radiation effect is through free radicals. Because cells have mechanisms for repairing DNA damage, breaking the DNA on both strands proves to be the most significant technique in modifying cell characteristics. Because cancer cells generally are undifferentiated and stem cell-like, they reproduce more, and have a diminished ability to repair sub-lethal damage compared to most healthy differentiated cells. The DNA damage is inherited through cell division, accumulating damage to the cancer cells, causing them to die or reproduce more slowly. Proton radiotherapy works by sending protons with varying kinetic energy to precisely stop at the tumor.

[0187] Gamma rays are also used to treat certain types of cancer. In the procedure called gamma-knife surgery, multiple concentrated beams of gamma rays are directed on the growth in order to kill the cancerous cells. The beams are aimed from different angles to focus the radiation on the growth while minimizing damage to the surrounding tissues.

Gene Therapy Agents

[0188] Gene therapy agents insert copies of genes into a specific set of a patient's cells, and can target both cancer and non-cancer cells. The goal of gene therapy can be to replace altered genes with functional genes, to stimulate a patient's immune response to cancer, to make cancer cells more sensitive to chemotherapy, to place "suicide" genes

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
 into cancer cells, or to inhibit angiogenesis. Genes may be delivered to target cells using viruses, liposomes, or other carriers or vectors. This may be done by injecting the gene-carrier composition into the patient directly, or *ex vivo*, with infected cells being introduced back into a patient. Such compositions are suitable for use in the present invention.

5 *Adjuvant therapy*

[0189] Adjuvant therapy is a treatment given after the primary treatment to increase the chances of a cure. Adjuvant therapy may include chemotherapy, radiation therapy, hormone therapy, or biological therapy. Which adjuvant therapy is best for a patient is based on the type of cancer and its stage.

[0190] Because the principal purpose of adjuvant therapy is to kill any cancer cells that may have spread, treatment is usually systemic (uses substances that travel through the bloodstream, reaching and affecting cancer cells all over the body).

[0191] Adjuvant chemotherapy is the use of drugs to kill cancer cells. Chemotherapy can reach nearly every part of the body to kill cancer cells. Adjuvant chemotherapy is usually a combination of anticancer drugs, which has been shown to be more effective than a single anticancer drug.

[0192] Some cancers are sensitive to hormones. By reducing hormone production or by blocking the cancer's ability to accept the hormones, hormone therapy can prevent cancer cells from growing. Hormone therapy can be used in conjunction with surgery, radiation or chemotherapy.

[0193] Radiation therapy is sometimes used as a local adjuvant treatment. Radiation therapy is considered adjuvant treatment when it is given before or after a mastectomy.

20 *Neoadjuvant therapy*

[0194] Neoadjuvant therapy refers to a treatment given before the primary treatment. Examples of neoadjuvant therapy include chemotherapy, radiation therapy, and hormone therapy.

Oncolytic viral therapy

[0195] Viral therapy for cancer utilizes a type of viruses called oncolytic viruses. An oncolytic virus is a virus that is able to infect and lyse cancer cells, while leaving normal cells unharmed, making them potentially useful in cancer therapy. Replication of oncolytic viruses both facilitates tumor cell destruction and also produces dose amplification at the tumor site. They may also act as vectors for anticancer genes, allowing them to be specifically delivered to the tumor site.

[0196] There are two main approaches for generating tumor selectivity: transductional and non-transductional targeting. Transductional targeting involves modifying the specificity of viral coat protein, thus increasing entry into target cells while reducing entry to non-target cells. Non-transductional targeting involves altering the genome of the virus so it can only replicate in cancer cells. This can be done by either transcription targeting, where genes essential for viral replication are placed under the control of a tumor-specific promoter, or by attenuation, which involves introducing deletions into the viral genome that eliminate functions that are dispensable in cancer cells, but not in normal cells. There are also other, slightly more obscure methods.

[0197] *Chen et al (2001)* used CV706, a prostate-specific adenovirus, in conjunction with radiotherapy on prostate cancer in mice. The combined treatment results in a synergistic increase in cell death, as well as a significant increase in viral burst size (the number of virus particles released from each cell lysis).

[0198] ONYX-015 has undergone trials in conjunction with chemotherapy. The combined treatment gives a greater response than either treatment alone, but the results have not been entirely conclusive. ONYX-015 has shown promise in conjunction with radiotherapy.

S7

WO 2009/073869

PCT/US2008/085756

[0199] Viral agents administered intravenously can be particularly effective against metastatic cancers, which are especially difficult to treat conventionally. However, bloodborne viruses can be deactivated by antibodies and cleared from the blood stream quickly e.g. by Kupffer cells (extremely active phagocytic cells in the liver, which are responsible for adenovirus clearance). Avoidance of the immune system until the tumour is destroyed could be the biggest obstacle to the success of oncolytic virus therapy. To date, no technique used to evade the immune system is entirely satisfactory. It is in conjunction with conventional cancer therapies that oncolytic viruses show the most promise, since combined therapies operate synergistically with no apparent negative effects.

[0200] The specificity and flexibility of oncolytic viruses means they have the potential to treat a wide range of cancers with minimal side effects. Oncolytic viruses have the potential to solve the problem of selectively killing cancer cells.

Nanotherapy

[0201] Nanometer-sized particles have novel optical, electronic, and structural properties that are not available from either individual molecules or bulk solids. When linked with tumor-targeting moieties, such as tumor-specific ligands or monoclonal antibodies, these nanoparticles can be used to target cancer-specific receptors, tumor antigens (biomarkers), and tumor vasculatures with high affinity and precision. The formation and manufacturing process for cancer nanotherapy is disclosed in patent US7179484, and article M. N. Khalid, P. Simard, D. Hoarau, A. Dragomir, J. Leroux, Long Circulating Poly(Ethylene Glycol)Decorated Lipid Nanocapsules Deliver Docetaxel to Solid Tumors, *Pharmaceutical Research*, 23(4), 2006, all of which are herein incorporated by reference in their entirety.

RNA therapy

[0202] RNA including but not limited to siRNA, shRNA, microRNA may be used to modulate gene expression and treat cancers. Double stranded oligonucleotides are formed by the assembly of two distinct oligonucleotide sequences where the oligonucleotide sequence of one strand is complementary to the oligonucleotide sequence of the second strand; such double stranded oligonucleotides are generally assembled from two separate oligonucleotides (e.g., siRNA), or from a single molecule that folds on itself to form a double stranded structure (e.g., shRNA or short hairpin RNA). These double stranded oligonucleotides known in the art all have a common feature in that each strand of the duplex has a distinct nucleotide sequence, wherein only one nucleotide sequence region (guide sequence or the antisense sequence) has complementarity to a target nucleic acid sequence and the other strand (sense sequence) comprises nucleotide sequence that is homologous to the target nucleic acid sequence.

[0203] MicroRNAs (miRNA) are single-stranded RNA molecules of about 21–23 nucleotides in length, which regulate gene expression. miRNAs are encoded by genes that are transcribed from DNA but not translated into protein (non-coding RNA); instead they are processed from primary transcripts known as pri-miRNA to short stem-loop structures called pre-miRNA and finally to functional miRNA. Mature miRNA molecules are partially complementary to one or more messenger RNA (mRNA) molecules, and their main function is to downregulate gene expression.

[0204] Certain RNA inhibiting agents may be utilized to inhibit the expression or translation of messenger RNA ("mRNA") that is associated with a cancer phenotype. Examples of such agents suitable for use herein include, but are not limited to, short interfering RNA ("siRNA"), ribozymes, and antisense oligonucleotides. Specific examples of RNA inhibiting agents suitable for use herein include, but are not limited to, Cand5, Sirna-027, fomivirsen, and angiozyme.

[0205] Certain small molecule therapeutic agents are able to target the tyrosine kinase enzymatic activity or downstream signal transduction signals of certain cell receptors such as epidermal growth factor receptor ("EGFR") or vascular endothelial growth factor receptor ("VEGFR"). Such targeting by small molecule therapeutics can result in anti-cancer effects. Examples of such agents suitable for use herein include, but are not limited to, imatinib, gefitinib, erlotinib, lapatinib, canertinib, ZD6474, sorafenib (BAY 43-9006), ERB-569, and their analogues and derivatives.

Anti-Metastatic Agents

[0206] The process whereby cancer cells spread from the site of the original tumor to other locations around the body is termed cancer metastasis. Certain agents have anti-metastatic properties, designed to inhibit the spread of cancer cells. Examples of such agents suitable for use herein include, but are not limited to, marimastat, bevacizumab, trastuzumab, rituximab, erlotinib, MMI-166, GRN163L, hunter-killer peptides, tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs), their analogues, derivatives and variants.

Chemopreventative agents

[0207] Certain pharmaceutical agents can be used to prevent initial occurrences of cancer, or to prevent recurrence or metastasis. Administration with such chemopreventative agents in combination with eflornithine-NSAID conjugates of the invention can act to both treat and prevent the recurrence of cancer. Examples of chemopreventative agents suitable for use herein include, but are not limited to, tamoxifen, raloxifene, tibolone, bisphosphonate, ibandronate, estrogen receptor modulators, aromatase inhibitors (letrozole, anastrozole), luteinizing hormone-releasing hormone agonists, goserelin, vitamin A, retinal, retinoic acid, fenretinide, 9-*cis*-retinoid acid, 13-*cis*-retinoid acid, all-*trans*-retinoic acid, isotretinoin, tretinoid, vitamin B6, vitamin B12, vitamin C, vitamin D, vitamin E, cyclooxygenase inhibitors, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), aspirin, ibuprofen, celecoxib, polyphenols, polyphenol E, green tea extract, folic acid, glucaric acid, interferon-alpha, anethole dithiolethione, zinc, pyridoxine, finasteride, doxazosin, selenium, indole-3-carbinol, alpha-difluoromethylornithine, carotenoids, beta-carotene, lycopene, antioxidants, coenzyme Q10, flavonoids, quercetin, curcumin, catechins, epigallocatechin gallate, N-acetylcysteine, indole-3-carbinol, inositol hexaphosphate, isoflavones, glucanin acid, rosemary, soy, saw palmetto, and calcium. An additional example of chemopreventative agents suitable for use in the present invention is cancer vaccines. These can be created through immunizing a patient with all or part of a cancer cell type that is targeted by the vaccination process.

FORMULATIONS, ROUTES OF ADMINISTRATION, AND EFFECTIVE DOSES

[0208] Another aspect of the present invention relates to formulations and routes of administration for pharmaceutical compositions comprising a nitrobenzamide compound. Such pharmaceutical compositions can be used to treat cancer in the methods described in detail above.

[0209] The compounds of formula Ia may be provided as a prodrug and/or may be allowed to interconvert to a nitrosobenzamide form *in vivo* after administration. That is, either the nitrobenzamide form and/or the nitrosobenzamide form, or pharmaceutically acceptable salts may be used in developing a formulation for use in the present invention. Further, in some embodiments, the compound may be used in combination with one or more other compounds or in one or more other forms. For example a formulation may comprise both the nitrobenzamide compound and acid forms in particular proportions, depending on the relative potencies of each and the intended indication. The two forms may be formulated together, in the same dosage unit e.g. in one cream, suppository, tablet, capsule, or packet of powder to be dissolved in a beverage; or each form may be formulated in a separate

unit, e.g., two creams, two suppositories, two tablets, two capsules, a tablet and a liquid for dissolving the tablet, a packet of powder and a liquid for dissolving the powder, etc.

[0210] In compositions comprising combinations of a nitrobenzamide compound and another active agent can be effective. The two compounds and/or forms of a compound may be formulated together, in the same dosage unit e.g. in one cream, suppository, tablet, capsule, or packet of powder to be dissolved in a beverage; or each form may be formulated in separate units, e.g., two creams, suppositories, tablets, two capsules, a tablet and a liquid for dissolving the tablet, a packet of powder and a liquid for dissolving the powder, etc.

[0211] The term "pharmaceutically acceptable salt" means those salts which retain the biological effectiveness and properties of the compounds used in the present invention, and which are not biologically or otherwise undesirable. For example, a pharmaceutically acceptable salt does not interfere with the beneficial effect of the compound of the invention in treating a cancer.

[0212] Typical salts are those of the inorganic ions, such as, for example, sodium, potassium, calcium and magnesium ions. Such salts include salts with inorganic or organic acids, such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, phosphoric acid, nitric acid, sulfuric acid, methanesulfonic acid, p-toluenesulfonic acid, acetic acid, fumaric acid, succinic acid, lactic acid, mandelic acid, malic acid, citric acid, tartaric acid or maleic acid. In addition, if the compounds used in the present invention contain a carboxy group or other acidic group, it may be converted into a pharmaceutically acceptable addition salt with inorganic or organic bases. Examples of suitable bases include sodium hydroxide, potassium hydroxide, ammonia, cyclohexylamine, dicyclohexyl-amine, ethanolamine, diethanolamine and triethanolamine.

[0213] For oral administration, the compounds can be formulated readily by combining the active compound(s) with pharmaceutically acceptable carriers well known in the art. Such carriers enable the compounds of the invention to be formulated as tablets, including chewable tablets, pills, dragees, capsules, lozenges, hard candy, liquids, gels, syrups, slurries, powders, suspensions, elixirs, wafers, and the like, for oral ingestion by a patient to be treated. Such formulations can comprise pharmaceutically acceptable carriers including solid diluents or fillers, sterile aqueous media and various non-toxic organic solvents. Generally, the compounds of the invention will be included at concentration levels ranging from about 0.5%, about 5%, about 10%, about 20%, or about 30% to about 50%, about 60%, about 70%, about 80% or about 90% by weight of the total composition of oral dosage forms, in an amount sufficient to provide a desired unit of dosage.

[0214] Aqueous suspensions may contain a nitrobenzamide compound with pharmaceutically acceptable excipients, such as a suspending agent (e.g., methyl cellulose), a wetting agent (e.g., lecithin, lysolecithin and/or a long-chain fatty alcohol), as well as coloring agents, preservatives, flavoring agents, and the like.

[0215] In some embodiments, oils or non-aqueous solvents may be required to bring the compounds into solution, due to, for example, the presence of large lipophilic moieties. Alternatively, emulsions, suspensions, or other preparations, for example, liposomal preparations, may be used. With respect to liposomal preparations, any known methods for preparing liposomes for treatment of a condition may be used. See, for example, Bangham et al., J. Mol. Biol, 23: 238-252 (1965) and Szoka et al., Proc. Natl Acad. Sci 75: 4194-4198 (1978), incorporated herein by reference. Ligands may also be attached to the liposomes to direct these compositions to particular sites of action. Compounds of this invention may also be integrated into foodstuffs, e.g., cream cheese, butter, salad dressing, or ice cream to facilitate solubilization, administration, and/or compliance in certain patient populations.

[0216] Pharmaceutical preparations for oral use may be obtained as a solid excipient, optionally grinding a resulting mixture, and processing the mixture of granules, after adding suitable auxiliaries, if desired, to obtain tablets or dragee cores. Suitable excipients are, in particular, fillers such as sugars, including lactose, sucrose,

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
mannitol, or sorbitol; flavoring elements, cellulose preparations such as, for example, maize starch, wheat starch, rice starch, potato starch, gelatin, gum tragacanth, methyl cellulose, hydroxypropylmethyl-cellulose, sodium carboxymethylcellulose, and/or polyvinyl pyrrolidone (PVP). If desired, disintegrating agents may be added, such as the cross-linked polyvinyl pyrrolidone, agar, or alginic acid or a salt thereof such as sodium alginate. The compounds may also be formulated as a sustained release preparation.

[0217] Dragee cores can be provided with suitable coatings. For this purpose, concentrated sugar solutions may be used, which may optionally contain gum arabic, talc, polyvinyl pyrrolidone, carbopol gel, polyethylene glycol, and/or titanium dioxide, lacquer solutions, and suitable organic solvents or solvent mixtures. Dyestuffs or pigments may be added to the tablets or dragee coatings for identification or to characterize different combinations of active compound doses.

[0218] Pharmaceutical preparations that can be used orally include push-fit capsules made of gelatin, as well as soft, sealed capsules made of gelatin and a plasticizer, such as glycerol or sorbitol. The push-fit capsules can contain the active ingredients in admixture with filler such as lactose, binders such as starches, and/or lubricants such as talc or magnesium stearate and, optionally, stabilizers. In soft capsules, the active compounds may be dissolved or suspended in suitable liquids, such as fatty oils, liquid paraffin, or liquid polyethylene glycols. In addition, stabilizers may be added. All formulations for oral administration should be in dosages suitable for administration.

[0219] For injection, the inhibitors of the present invention may be formulated in aqueous solutions, preferably in physiologically compatible buffers such as Hank's solution, Ringer's solution, or physiological saline buffer. Such compositions may also include one or more excipients, for example, preservatives, solubilizers, fillers, lubricants, stabilizers, albumin, and the like. Methods of formulation are known in the art, for example, as disclosed in Remington's Pharmaceutical Sciences, latest edition, Mack Publishing Co., Easton P. These compounds may also be formulated for transmucosal administration, buccal administration, for administration by inhalation, for parental administration, for transdermal administration, and rectal administration.

[0220] In addition to the formulations described previously, the compounds may also be formulated as a depot preparation. Such long acting formulations may be administered by implantation or transcutaneous delivery (for example subcutaneously or intramuscularly), intramuscular injection or use of a transdermal patch. Thus, for example, the compounds may be formulated with suitable polymeric or hydrophobic materials (for example as an emulsion in an acceptable oil) or ion exchange resins, or as sparingly soluble derivatives, for example, as a sparingly soluble salt.

[0221] Pharmaceutical compositions suitable for use in the present invention include compositions wherein the active ingredients are present in an effective amount, i.e., in an amount effective to achieve therapeutic and/or prophylactic benefit in at least one of the cancers described herein. The actual amount effective for a particular application will depend on the condition or conditions being treated, the condition of the subject, the formulation, and the route of administration, as well as other factors known to those of skill in the art. Determination of an effective amount of a nitrobenzamide compound is well within the capabilities of those skilled in the art, in light of the disclosure herein, and will be determined using routine optimization techniques.

[0222] In some embodiments, in order to carry out the current invention, the compositions and methods disclosed in other patents and patent applications assigned to BiPar are used. For example, formulations for treating cancer as described in U. S. Patent Application 12/015,403 and PCT Application PCT/US2008/51214 can be used. All patents and patent applications are herein incorporated by reference in their entirety.

Example 1: In Vitro Combination Effects of 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA) with Irinotecan

[0223] The in vitro combination effects of 4-Iodo-3-nitrobenzamide (BA) with irinotecan hydrochloride are examined using human small cell lung cancer cells, LX-1 cells.

Cell Culture

[0224] Human small cell lung cancer cell strain LX-1 is obtained from ATCC (American Type Culture Collection). In a medium comprising D-MEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) and 10% bovine fetal serum (FCS), human small cell lung cancer cell strain LX-1 is subcultured. The culture is carried out in an incubator with 5% CO₂ at 37°C. The same medium is also used in the following experiments. LX-1 cells on subculture are subjected to a trypsin treatment, suspended in the medium and plated at 10⁵ cells per P100 cell culture dish or at 10⁴ cells per P60 cell culture dish in the presence of different concentrations compounds or DMSO control. Following treatment, the number of attached cells is measured using Coulter counter, and by staining with 1% methylene blue. Methylene blue is dissolved in 50%-50% mixture of Methanol and water. Cells are plated in 24- or 96-well plates and treated as planned, media are aspirated, cells are washed with PBS, fixed in methanol for 5-10 min, methanol is aspirated and plates are allowed to dry completely. Methylene blue solution is added to wells and plates are incubated for 5 min. Staining solution is removed and plates are washed with dH₂O until washes are no longer blue. After plates are completely dry, a small amount of 1N HCl is added to each well to extract the methylene blue. The OD readout at 600nm and a calibration curve are used to determine cell number.

Compounds

[0225] Test agents are prepared as the following. Irinotecan hydrochloride is obtained from Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd. and provided after 2 fold serial dilutions with medium in use. Benzamide compounds are dissolved directly from dry powder to 10 mM stock solution in DMSO for each separate experiment. Control experiments are carried out with the matching volume/concentration of the vehicle (DMSO); in these controls, the cells show no changes in their growth or cell cycle distribution.

PI Exclusion, Cell Cycle and TUNEL Assays

[0226] After the addition of drugs and incubation, cells are trypsinized and aliquots of the samples are taken for counting and PI (Propidium Iodide) exclusion assay. One part of the cells is centrifuged and resuspended in 0.5 ml ice-cold PBS containing 5 µg/ml of PI. The other part of the cells is fixed in ice-cold 70 % ethanol and stored in a freezer overnight. For cell cycle analysis, cells are stained with propidium iodide (PI) by standard procedures. Cellular DNA content is determined by flow cytometry using BD LSRII FACS, and the percentages of cells in G1, S or G2/M are determined using ModFit software.

[0227] The cells are labeled for apoptosis with the "In Situ Cell Death Detection Kit, Fluorescein" (Roche Diagnostics Corporation, Roche Applied Science, Indianapolis, IN). Briefly, fixed cells are centrifuged and washed once in phosphate-buffered saline (PBS) containing 1% bovine serum albumin (BSA), then resuspended in 2 ml permeabilization buffer (0.1% Triton X-100 and 0.1% sodium citrate in PBS) for 25 min at room temperature and washed twice in 0.2 ml PBS/1% BSA. The cells are resuspended in 50 µl TUNEL reaction mixture (TdT enzyme and labeling solution) and incubated for 60 min at 37 °C in a humidified dark atmosphere in an incubator. The labeled cells are washed once in PBS/1% BSA, then resuspended in 0.5 ml ice-cold PBS containing 1 µg/ml 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) for at least 30 min. All cell samples are analyzed with a BD LSR II (BD Biosciences, San Jose, CA).

62

Bromodeoxyuridine (BrdU) labeling assay

[0228] 50 µl of BrdU (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) stock solution (1 mM) is added to give 10 µM BrdU final concentration. The cells are incubated for 30 min at 37°C and fixed in ice-cold 70 % ethanol and stored in a cold room (4°C) overnight. Fixed cells are centrifuged and washed once in 2 ml PBS, then resuspended in 0.7 ml of denaturation solution (0.2 mg/ml pepsin in 2 N HCl) for 15 min at 37 °C in the dark and suspended with 1.04 ml 1M Tris buffer (Trizma base, Sigma Chemical Co.) and washed in 2 ml PBS. Then cells are resuspended in 100-µl anti-BrdU antibody (DakoCytomation, Carpinteria, CA) with 1:100 dilution in TBFP permeable buffer (0.5 % Tween-20, 1 % bovine serum albumin and 1 % fetal bovine serum in PBS) and incubated for 25 min at room temperature in the dark and washed in 2 ml PBS. The primary antibody-labeled cells are resuspended in 100 µl Alexa Fluor F(ab')₂ fragment of goat anti-mouse IgG (H+L) (2 mg/mL) (Molecular Probes, Eugene, OR) with 1:200 dilution in TBFP permeable buffer and incubated for 25 min at room temperature in the dark and washed in 2 ml PBS, then resuspended in 0.5 ml ice-cold PBS containing 1 µg/ml 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) for at least 30 min. All cell samples are analyzed with a BD LSR II (BD Biosciences, San Jose, CA).

[0229] Combinations of 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA) with topoisomerase inhibitors, i.e. irinotecan or topotecan, have been tested in *in vitro* and *in vivo* models of cancer. Evaluation of BA in combination with irinotecan in the LX-1 small cell lung carcinoma cell line shows that BA potentiates S- and G2/M cell cycle arrest and enhances cytotoxic effects induced by irinotecan.

Example 2: In vivo anti-tumor activity of a combination of 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA) and irinotecan in the treatment of colorectal cancer

[0230] Three colorectal cancer cell lines: CACO-2, HT-29, and DHD/K12/TRb (PROb), are subcutaneously transplanted to nude mice (59 animals) at 6 weeks of age, respectively. After 11 days from the tumor transplantation, 36 animals having a tumor volume of about 100 to 300 mm³ are allotted to 5 groups consisting of 6 animals per group. On the same day, the animals receive parenteral administration, respectively, of cysteine buffer for "vehicle group", 50 mg/kg or 15 mg/kg of BA (i.p.) biweekly for "BA alone administration group", 50 mg/kg or 15 mg/kg of irinotecan (i.p.) for "irinotecan alone administration group", 50 mg/kg of BA (i.p.) and 50 mg/kg of irinotecan (i.p.) for "combined administration group (higher doses), 15 mg/kg of BA (i.p.) and 15 mg/kg of irinotecan (i.p.) for "combined administration group (lower doses)". Thereafter, tumor volume and body weight of the mice are measured for 30 days.

[0231] BA is dissolved directly from dry powder to 10 mM stock solution in DMSO for each separate experiment. Control experiments are carried out with the matching volume/concentration of the vehicle (DMSO). Irinotecan is administered by giving 50 mg/kg or 15 mg/kg of irinotecan intraperitoneally (i.p.).

Endpoint

[0232] Tumors are calipered twice weekly for the duration of the study. Each animal is euthanized when its neoplasm reaches the predetermined endpoint size (1,000 mm³). The *time to endpoint* (TTE) for each mouse is calculated by the following equation:

$$TTE = \frac{\log_{10} (\text{endpoint volume}) - b}{m}$$

where TTE is expressed in days, endpoint volume is in mm³, b is the intercept, and m is the slope of the line obtained by linear regression of a log-transformed tumor growth data set. The data set is comprised of the first

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
observation that exceeded the study endpoint volume and the three consecutive observations that immediately preceded the attainment of the endpoint volume. The calculated TTE is usually less than the day on which an animal is euthanized for tumor size. Animals that do not reach the endpoint are euthanized at the end of the study, and assigned a TTE value equal to the last day (68 days). Treatment efficacy is determined from *tumor growth delay* (TGD), which is defined as the increase in the median TTE for a treatment group compared to the control group:

$$TGD = T - C,$$

expressed in days, or as a percentage of the median TTE of the control group:

$$\%TGD = \frac{T - C}{C} \times 100$$

where:

T = median TTE for a treatment group,
C = median TTE for control Group.

MTV and Criteria for Regression Responses

[0233] Treatment efficacy is also determined from the tumor volumes of animals remaining in the study on the last day, and from the number of regression responses. The MTV(n) is defined as the *median tumor volume on D61* in the number of animals remaining, *n*, whose tumors have not attained the endpoint volume. Treatment may cause a *partial regression* (PR) or a *complete regression* (CR) of the tumor in an animal. A PR indicates that the tumor volume is 50% or less of its D1 volume for three consecutive measurements during the course of the study, and equal to or greater than 13.5 mm³ for one or more of these three measurements. A CR indicates that the tumor volume is less than 13.5 mm³ for three consecutive measurements during the course of the study. An animal with a CR at the termination of a study is additionally classified as a *tumor-free survivor* (TFS).

Statistical and Graphical Analyses

[0234] The logrank test is employed to analyze the significance of the difference between the TTE values of two groups by comparing their Kaplan-Meier curves. The logrank test analyzes the data for all animals in a group, except the NTR deaths. The two-tailed statistical analyses are conducted at P = 0.05, using Prism 3.03 (GraphPad) for Windows. Prism reports logrank test results as not significant at P > 0.05, significant at 0.01 < P ≤ 0.05, very significant at 0.001 < P ≤ 0.01 and extremely significant at P ≤ 0.001. Because the logrank test determines statistical significance, and does not provide an estimate of the magnitude of the difference between groups, all levels of significance are reported as either significant or non-significant within the text of this report.

Results:

[0235] The tumor growth curves show the group median tumor volume as a function of time. The combination of the various doses of BA with irinotecan results in greatly reduced tumor volume as compared to treatment with irinotecan alone.

[0236] When an animal exits the study due to tumor size or TR death, the final tumor volume recorded for the animal is included with the data used to calculate the median volume at subsequent time points. Therefore, the final median tumor volume shown by the curve may differ from the MTV, which is the median tumor volume for mice remaining in the study on the last day (excluding all with tumors that have attained the endpoint). If more than one TR death occurs in a group, the median tumor growth curve is truncated at the time of the last measurement that precedes the second TR death. Tumor growth curves are also truncated when the tumors in more than 50% of the assessable animals in a group have attained the endpoint volume.

Example 3: Anti-tumor effect of a combination of 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA) and topotecan in treating small cell lung cancer

[0237] The anti-tumor effect of a combination of BA and topotecan, one of the approved drugs for the treatment of small cell lung cancer (SCLC) in humans, is evaluated in an established subcutaneous xenograft model of SCLC. SCID mice (24 animals) are inoculated with human small cell lung cancer SW-2 cells (8×10^6 cells/animal) injected subcutaneously into the right flank of the mice. When the tumors reach about 80 mm^3 in size, the mice are randomly divided into four groups (6 animals per group). The first group of mice is treated with topotecan administered i.p. This group of mice is further divided into 3 subgroups, which receive 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, or 2 mg/kg of topotecan i.p. respectively. A second group of animals is treated with 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA). BA is administered as a continuous infusion (i.v.) (CI) via Alzet® osmotic pumps (Model 1002), which delivers a total volume of approximately 100 μL , at 0.25 $\mu\text{L}/\text{hour}$ for 14 days. Each pump delivers a total dose of 25 mg/kg/week of BA over 14 days. Alzet model osmotic pumps are implanted on days 1, 15, and 29. The pumps are pre-warmed for ~1 hour at 37 °C, and then implanted subcutaneously (s.c.) in the left flanks of isofluoraneanesthetized mice. The third group of mice receives a combination of topotecan and BA, using the same doses and schedules as in groups 1 and 2. A control group of animals receives phosphate-buffered saline (PBS) using the same schedule as the animals in group 2. Tumor growth is monitored by measuring tumor size twice per week. Tumor size is calculated using the formula: length x width x height x (1/2).

[0238] Change in tumor size is monitored twice weekly and then daily. In the control group of animals, tumors grow to about 800^3 mm in 44 days. Treatment with topotecan alone results in tumor growth delays of 12 days. Treatment with BA alone results in a tumor-growth delay of 34 days in 3 out of 6 animals. The remaining 3 animals in this group have complete tumor regressions. Treatment with the combination of topotecan and BA shows an enhanced anti-tumor effect resulting in complete tumor regression in 5 out of the 6 treated animals. These animals are tumor-free on day 78, the last measurement point. Thus, the combination of topotecan and BA is synergistic when compared to the single agents in this human SCLC xenograft model.

Example 4: Anti-tumor effect of a combination of 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA) and topotecan in treating cervical cancer

[0239] Immunodeficient, SCID, mice receive topotecan at two dose levels as monotherapies, and in combinations with 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA), which is administered via three sequential 14-day infusions. Treatments begin on Day 1 (D1), and animals are euthanized when their tumors attained the 750 mm^3 endpoint volume.

[0240] The study examines the effects of continuous BA infusions on topotecan activity and tolerability in SCID mice bearing established SiHa carcinomas.

Mice

[0241] Female CB.17 SCID mice (Charles River) are 10 weeks old, and have a body weight (BW) range of 15.2-26.6g on D1 of the study. The animals are fed *ad libitum* water (reverse osmosis, 1 ppm Cl) and NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet® consisting of 18.0% crude protein, 5.0% crude fat, and 5.0% crude fiber. The mice are housed on irradiated ALPHA-dri® bed-o-cobs® Laboratory Animal Bedding in static microisolators on a 12-hour light cycle at 21–22 °C (70–72 °F) and 40–60% humidity in the laboratory accredited by AAALAC International (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory), which assures compliance with accepted standards for the care and use of laboratory animals.

Tumor Implantation

[0242] WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
The human Siria cells, derived from a surgically removed cervical carcinoma, are maintained in athymic nude mice by serial engraftment. A tumor fragment (1 mm³) is implanted s.c. into the right flank of each test mouse. Tumors are monitored twice weekly and then daily as their volumes approach 80–120 mm³. On D1 of the study, animals are sorted into treatment groups with tumor sizes of 63–144 mm³ and group mean tumor sizes of ~102 mm³.

Tumor size, in mm³, was calculated from:

$$\text{Tumor Volume} = \frac{w^2 \times l}{2}$$

[0243] Tumor weight may be estimated with the assumption that 1 mg is equivalent to 1 mm³ of tumor volume.

Treatment

[0244] Mice are sorted into groups (n = 10) and treated in accordance with the protocol.

[0245] 4-iodo-3-nitrobenzamide (BA) is administrated intraperitoneally (i.p.) at 15 mg/kg or 50 mg/kg, biweekly. Control Group 1 mice receive the vehicle. Topotecan is administrated intravenously (i.v.), at 0.5 and 1 mg/kg, respectively, once daily on days 1–5, 8–12, and 15–19 (qd x 5/2/5/2/5). Starting on day 16, topotecan is administered intraperitoneally (i.p.) at 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, or 2 mg/kg.

Endpoint

[0246] Tumors are calipered twice weekly for the duration of the study. Each animal is euthanized when its neoplasm reaches the predetermined endpoint size (1,000 mm³). The time to endpoint (TTE) for each mouse is calculated by the following equation:

$$\text{TTE} = \frac{\log_{10}(\text{endpoint volume}) - b}{m}$$

where TTE is expressed in days, endpoint volume is in mm³, b is the intercept, and m is the slope of the line obtained by linear regression of a log-transformed tumor growth data set. The data set is comprised of the first observation that exceeded the study endpoint volume and the three consecutive observations that immediately preceded the attainment of the endpoint volume. The calculated TTE is usually less than the day on which an animal is euthanized for tumor size. Animals that do not reach the endpoint are euthanized at the end of the study, and assigned a TTE value equal to the last day (68 days). Treatment efficacy is determined from tumor growth delay (TGD), which is defined as the increase in the median TTE for a treatment group compared to the control group:

$$\text{TGD} = T - C,$$

expressed in days, or as a percentage of the median TTE of the control group:

$$\% \text{TGD} = \frac{T - C}{C} \times 100$$

where:

T = median TTE for a treatment group,

C = median TTE for control Group.

MTV and Criteria for Regression Responses

[0247] Treatment efficacy is also determined from the tumor volumes of animals remaining in the study on the last day, and from the number of regression responses. The MTV(n) is defined as the median tumor volume on D61 in the number of animals remaining, n, whose tumors have not attained the endpoint volume. Treatment may cause a partial regression (PR) or a complete regression (CR) of the tumor in an animal. A PR indicates that the tumor

WO 2009/073869 PCT/US2008/085756
volume is 50% or less of its D1 volume for three consecutive measurements during the course of the study, and equal to or greater than 13.5 mm³ for one or more of these three measurements. A CR indicates that the tumor volume is less than 13.5 mm³ for three consecutive measurements during the course of the study. An animal with a CR at the termination of a study is additionally classified as a *tumor-free survivor* (TFS).

5 **Statistical and Graphical Analyses**

[0248] The logrank test is employed to analyze the significance of the difference between the TTE values of two groups by comparing their Kaplan-Meier curves (Fig. 1). The logrank test analyzes the data for all animals in a group, except the NTR deaths. The two-tailed statistical analyses are conducted at $P = 0.05$, using Prism 3.03 (GraphPad) for Windows. Prism reports logrank test results as not significant at $P > 0.05$, significant at $0.01 < P \leq 0.05$, very significant at $0.001 < P \leq 0.01$ and extremely significant at $P \leq 0.001$. Because the logrank test determines statistical significance, and does not provide an estimate of the magnitude of the difference between groups, all levels of significance are reported as either significant or non-significant within the text of this report. The tumor growth curves show the group median tumor volume as a function of time. The combination of BA with topotecan results in greatly reduced tumor volume as compared to treatment with topotecan alone.

15 [0249] When an animal exits the study due to tumor size or TR death, the final tumor volume recorded for the animal is included with the data used to calculate the median volume at subsequent time points. Therefore, the final median tumor volume shown by the curve may differ from the MTV, which is the median tumor volume for mice remaining in the study on the last day (excluding all with tumors that have attained the endpoint). If more than one TR death occurs in a group, the median tumor growth curve is truncated at the time of the last measurement that precedes the second TR death. Tumor growth curves are also truncated when the tumors in more than 50% of the assessable animals in a group have attained the endpoint volume.

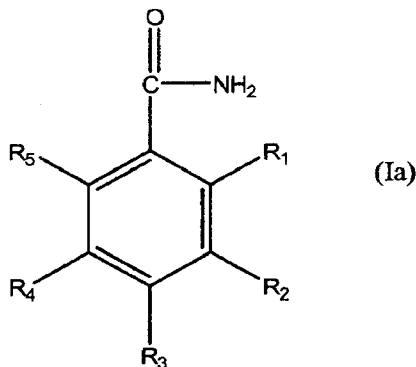
20 [0250] The above examples are in no way intended to limit the scope of the instant invention. Further, it can be appreciated to one of ordinary skill in the art that many changes and modifications can be made thereto without departing from the spirit or scope of the appended claims, and such changes and modifications are contemplated within the scope of the instant invention.

25 [0251] It will be apparent to one of ordinary skill in the art that many changes and modifications can be made thereto without departing from the spirit or scope of the appended claims.

67.

WHAT IS CLAIMED IS:

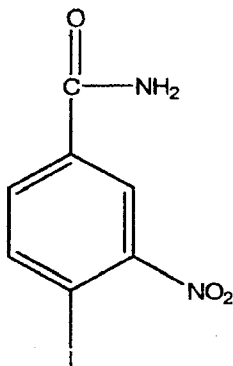
1. A method of treating a cancer, comprising administering to a patient an effective amount of a combination of a topoisomerase inhibitor and a PARP inhibitor of formula (Ia)



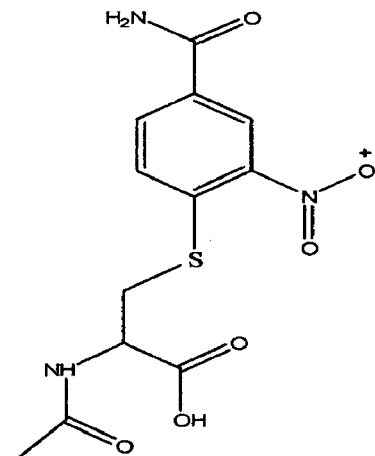
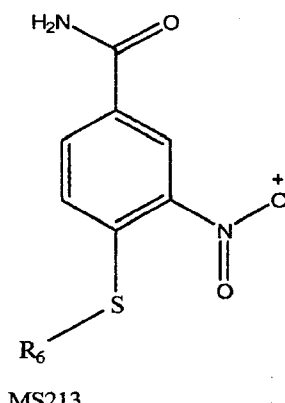
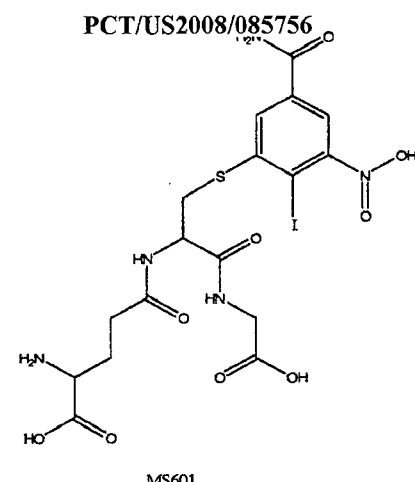
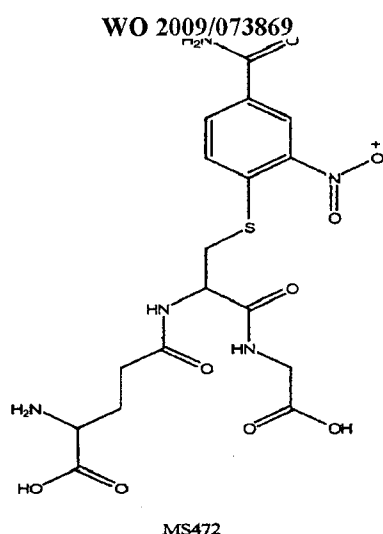
wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, bromo, fluoro, chloro, (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, (C_3-C_7) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs, or prodrugs thereof

wherein the cancer is not breast cancer, uterine cancer, or ovarian cancer.

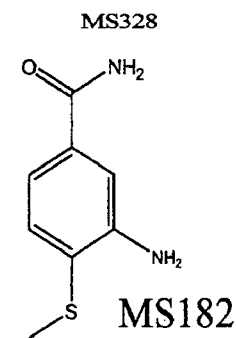
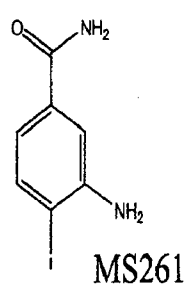
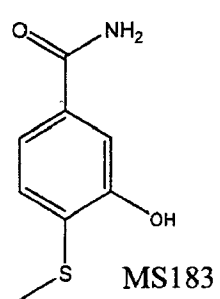
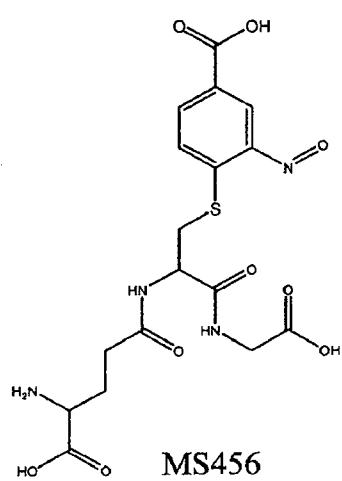
2. The method of claim 1, wherein the PARP inhibitor is of formula:



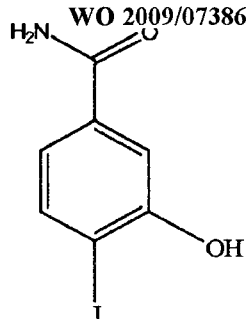
3. The method of claim 1, wherein the PARP inhibitor is a metabolite of 4-iodo-3-nitrobenzamide selected from the group consisting of:



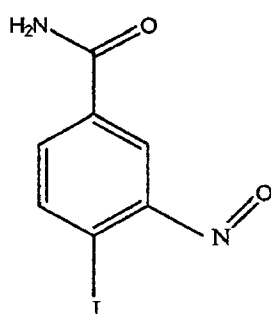
R₆ is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl(C₁-C₈), alkoxy (C₁-C₈), isoquinolinones, indoles, thiazole, oxazole, oxadiazole, thiophene, or phenyl.



WO 2009/073869

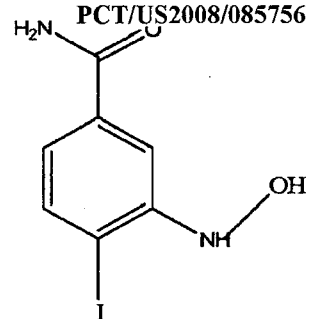


MS263

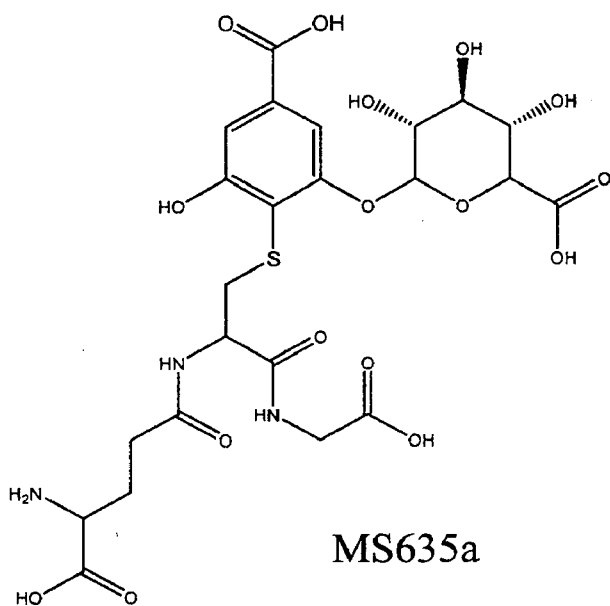


MS276

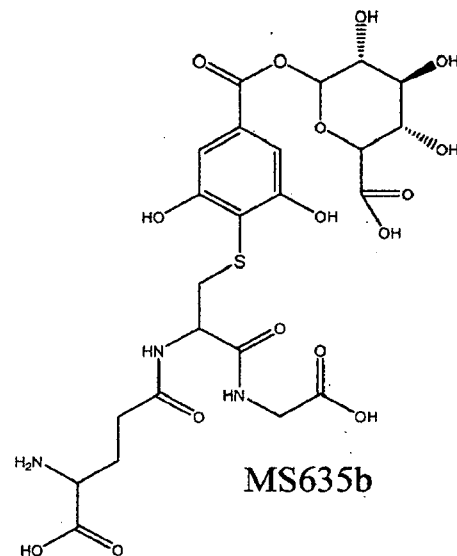
PCT/US2008/085756



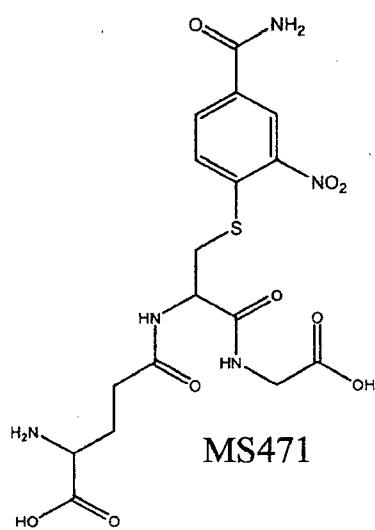
MS278



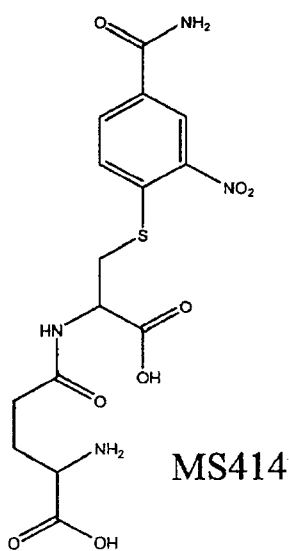
MS635a



MS635b

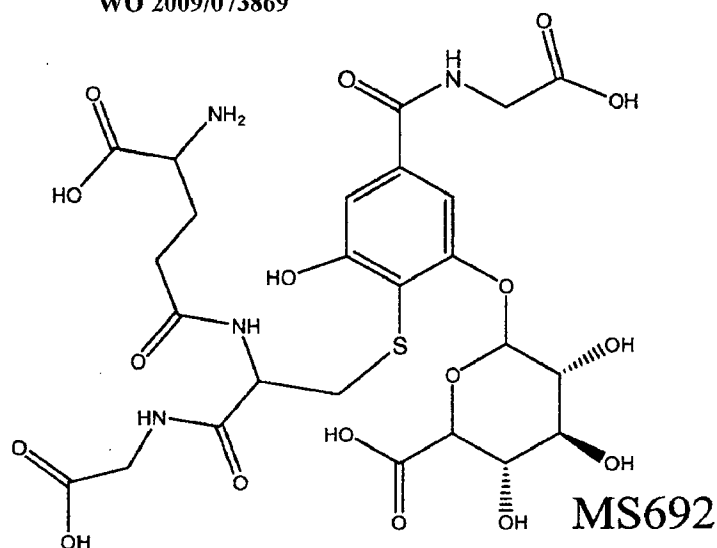


MS471

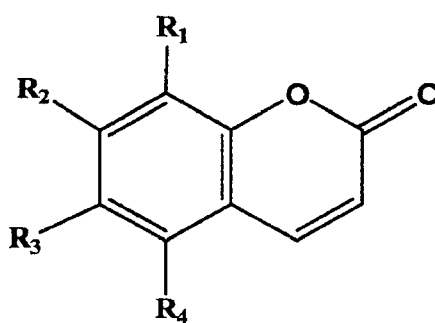


MS414

and



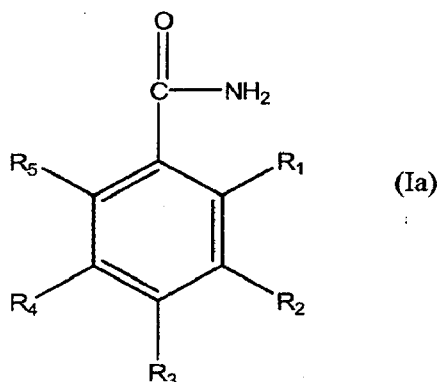
4. The method of claim 1, wherein the topoisomerase inhibitor is topotecan, irinotecan, lurtotecan, exatecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof.
5. The method of claim 1, wherein the topoisomerase inhibitor is topotecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof.
6. The method of claim 1, wherein the cancer is selected from adrenal cortical cancer, anal cancer, aplastic anemia, bile duct cancer, bladder cancer, bone cancer, bone metastasis, CNS tumors, peripheral CNS cancer, Castleman's Disease, cervical cancer, childhood Non-Hodgkin's lymphoma, colon and rectum cancer, esophagus cancer, Ewing's family of tumors, eye cancer, gallbladder cancer, gastrointestinal carcinoid tumors, gastrointestinal stromal tumors, gestational trophoblastic disease, hairy cell leukemia, Hodgkin's disease, Kaposi's sarcoma, kidney cancer, laryngeal and hypopharyngeal cancer, acute lymphocytic leukemia, acute myeloid leukemia, children's leukemia, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, liver cancer, lung cancer, lung carcinoid tumors, Non-Hodgkin's lymphoma, malignant mesothelioma, multiple myeloma, myelodysplastic syndrome, myeloproliferative disorders, nasal cavity and paranasal cancer, nasopharyngeal cancer, neuroblastoma, oral cavity and oropharyngeal cancer, osteosarcoma, pancreatic cancer, penile cancer, pituitary tumor, prostate cancer, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, salivary gland cancer, sarcoma (adult soft tissue cancer), melanoma skin cancer, non-melanoma skin cancer, stomach cancer, testicular cancer, thymus cancer, thyroid cancer, vaginal cancer, vulvar cancer, Waldenstrom's macroglobulinemia and cancers of viral origin.
7. The method of claim 1, wherein the cancer is selected from the group consisting of leukemia, prostate cancer, transitional cell carcinoma of the bladder, pancreatic cancer, colorectal cancer, cervical cancer, and lung cancer.
8. The method of claim 1, further comprising administering an effective amount of a benzopyrone compound of formula (II):



Formula II

wherein R₁, R₂, R₃ and R₄ are independently selected from the group consisting of H, halogen, optionally substituted hydroxy, optionally substituted amine, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted phenyl, optionally substituted C₄-C₁₀ heteroaryl and optionally substituted C₃-C₈ cycloalkyl or a salt, solvate, isomer, tautomers, metabolite or prodrug thereof.

9. The method of claim 1, wherein at least one therapeutic effect is obtained, said at least one therapeutic effect being reduction in size of a tumor, reduction in metastasis, complete remission, partial remission, pathologic complete response, or stable disease.
10. The method of claim 1, wherein an improvement of clinical benefit rate (CBR = CR + PR + SD ≥ 6 months) is obtained as compared to treatment with the topoisomerase inhibitor but without the PARP inhibitor.
11. The method of claim 10, wherein the improvement of clinical benefit rate is at least about 60%.
12. The method of claim 1 further comprises surgery, radiation therapy, chemotherapy, gene therapy, DNA therapy, adjuvant therapy, neoadjuvant therapy, viral therapy, RNA therapy, immunotherapy, nanotherapy or a combination thereof.
13. The method of claim 1, wherein the topoisomerase inhibitor is administered as an intravenous infusion.
14. The method of claim 1, wherein 4-iodo-3-nitrobenzamide or its metabolite is administered orally or as a parenteral injection or infusion, or inhalation.
15. The method of claim 1, wherein the PARP inhibitor is administered prior to, or concurrently with, or subsequent to the administration of the topoisomerase inhibitor.
16. The method of claim 1, wherein the PARP inhibitor and the topoisomerase inhibitor are administered in the same formulation.
17. The method of claim 1, wherein the PARP inhibitor and the topoisomerase inhibitor are administered in different formulations.
18. A composition for administration to a patient for the treatment of cancer, the composition comprising an effective amount of a combination of a topoisomerase inhibitor and a PARP inhibitor of formula (Ia):



WO 2009/073869

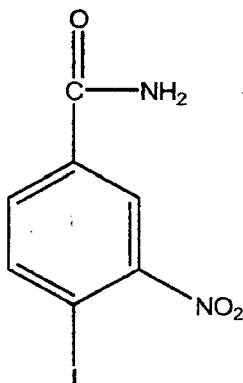
PCT/US2008/085756

wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, bromo, fluoro, chloro, (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, (C_3-C_7) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically

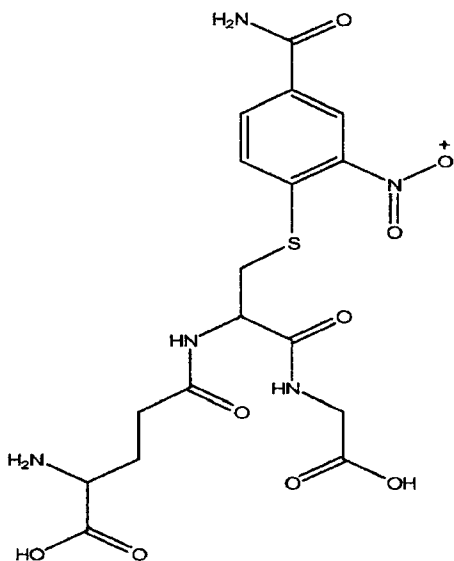
5 acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs or prodrugs thereof;

wherein the cancer is not breast cancer, uterine cancer, or ovarian cancer.

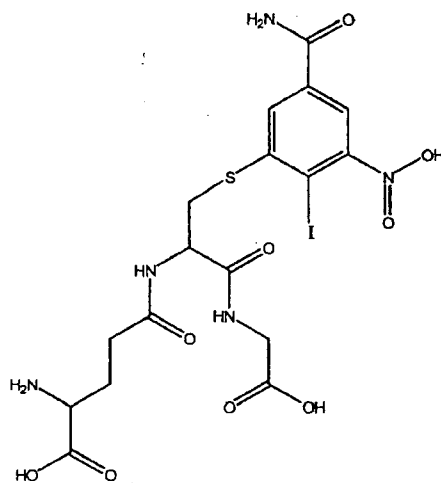
19. The composition of claim 18, wherein the PARP inhibitor is of formula:



10 20. The composition of claim 18, wherein the PARP inhibitor is a metabolite of 4-iodo-3-nitrobenzamide selected from the group consisting of:

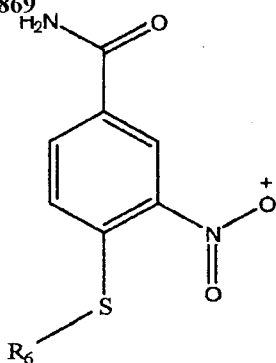


MS472



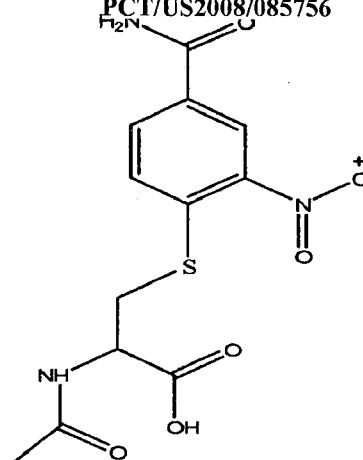
MS601

WO 2009/073869



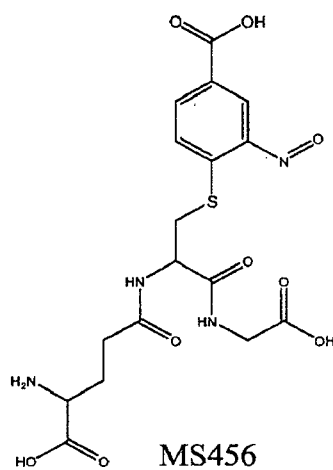
MS213

PCT/US2008/085756

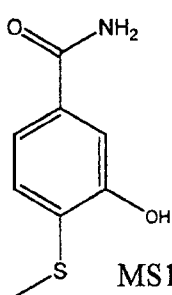


MS328

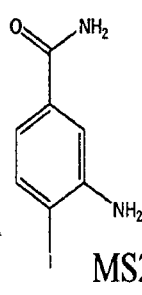
R₆ is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl(C₁-C₈), alkoxy (C₁-C₈), isoquinolinones, indoles, thiazole, oxazole, oxadiazole, thiophene, or phenyl.



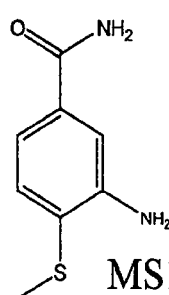
MS456



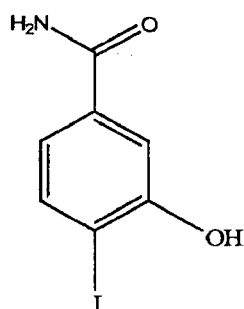
MS183



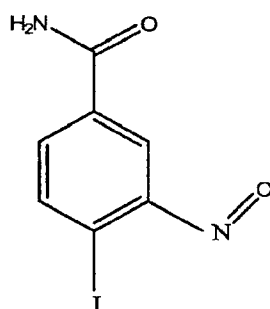
MS261



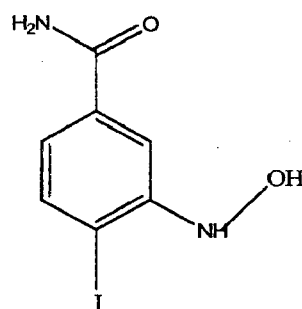
MS182



MS263

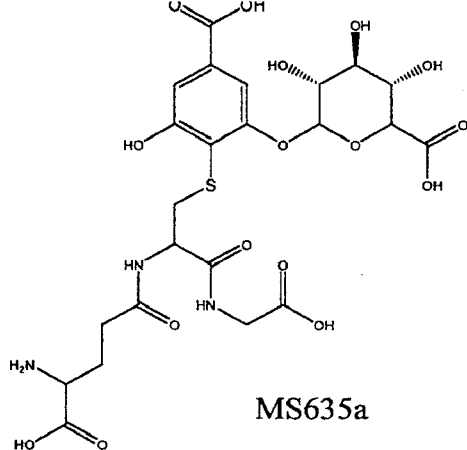


MS276



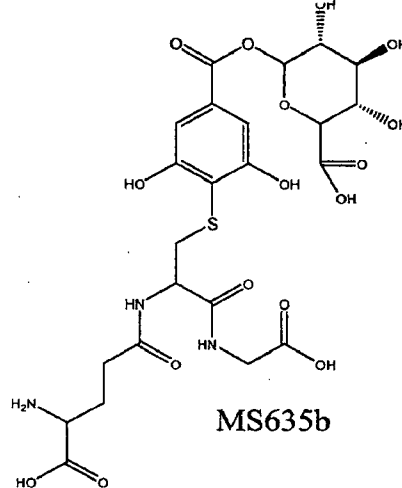
MS278

WO 2009/073869

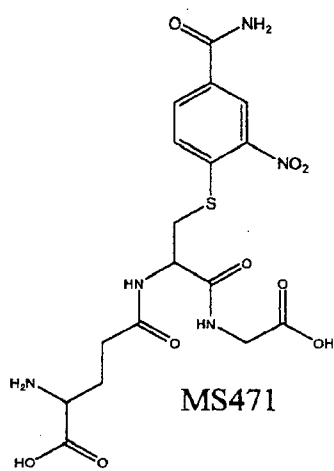


MS635a

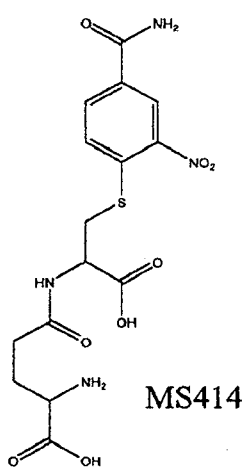
PCT/US2008/085756



MS635b

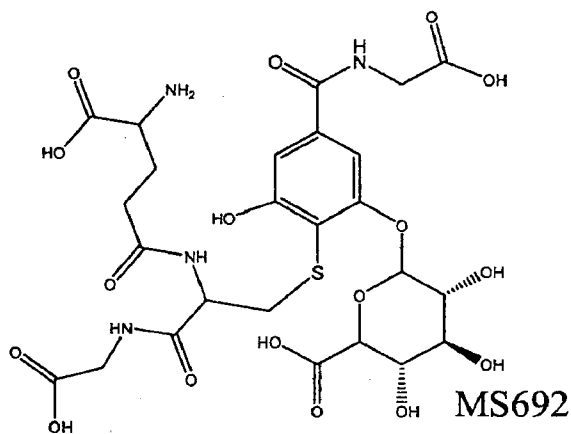


MS471



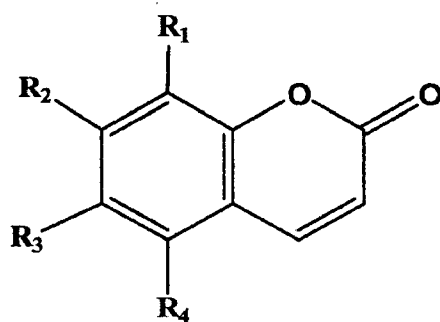
MS414

and



MS692

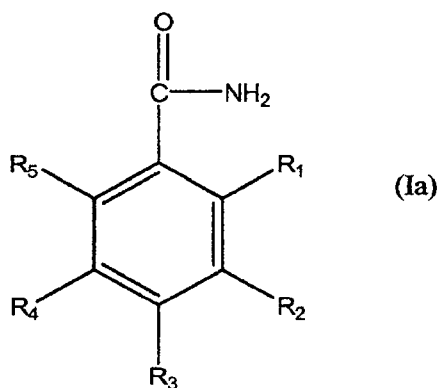
21. The composition of claim 18, wherein the topoisomerase inhibitor is topotecan, irinotecan, lurtotecan, exatecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof.
22. The composition of claim 18, wherein the topoisomerase inhibitor is topotecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof.
23. The composition of claim 18, wherein the cancer is selected from the group consisting of leukemia, prostate cancer, transitional cell carcinoma of the bladder, pancreatic cancer, colorectal cancer, cervical cancer, and lung cancer.
24. The composition of claim 18 further comprises an effective amount of a benzopyrone compound of formula (II):



Formula II

wherein R_1 , R_2 , R_3 and R_4 are independently selected from the group consisting of H, halogen, optionally substituted hydroxy, optionally substituted amine, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted phenyl, optionally substituted C_4 - C_{10} heteroaryl and optionally substituted C_3 - C_8 cycloalkyl or a salt, solvate, isomer, tautomers, metabolite or prodrug thereof.

25. The composition of claim 18, wherein the composition is administered in unit dosage form.
26. The composition of claim 25, wherein the unit dosage form is adapted for oral or parenteral administration.
27. The composition of claim 18, wherein upon administration of the composition, at least one therapeutic effect is obtained, said at least one therapeutic effect being reduction in size of a tumor, reduction in metastasis, complete remission, partial remission, pathologic complete response, or stable disease.
28. The composition of claim 18, wherein upon administration of the composition, an improvement of clinical benefit rate ($CBR = CR + PR + SD \geq 6$ months) is obtained as compared to treatment with the topoisomerase inhibitor but without the PARP inhibitor.
29. The composition of claim 28, wherein the improvement of clinical benefit rate is at least about 60%.
30. The composition of claim 18, wherein the composition is administered in combination with surgery, radiation therapy, chemotherapy, gene therapy, DNA therapy, adjuvant therapy, neoadjuvant therapy, viral therapy, RNA therapy, immunotherapy, nanotherapy or a combination thereof.
31. A kit for treatment of cancer, comprising:
 - (a) a PARP inhibitor of the formula (Ia):



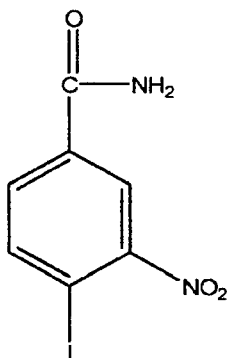
wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 are, independently selected from the group consisting of hydrogen, hydroxy, amino, nitro, iodo, bromo, fluoro, chloro, (C_1-C_6) alkyl, (C_1-C_6) alkoxy, (C_3-C_7) cycloalkyl, and phenyl, wherein at least two of the five R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , and R_5 substituents are always hydrogen, at least one of the five substituents are always nitro, and at least one substituent positioned adjacent to a nitro is always iodo, and pharmaceutically acceptable salts, solvates, isomers, tautomers, metabolites, analogs or prodrugs thereof; and

(b) a topoisomerase inhibitor;

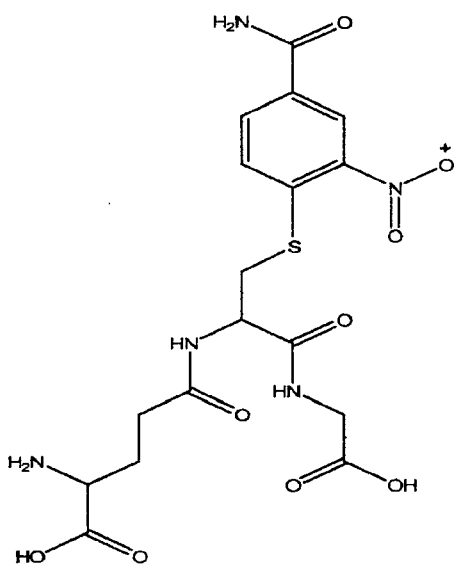
wherein the cancer is not breast cancer, uterine cancer, or ovarian cancer.

32. WO 2009/073869
The kit of claim 31, wherein the PARP inhibitor is of formula:

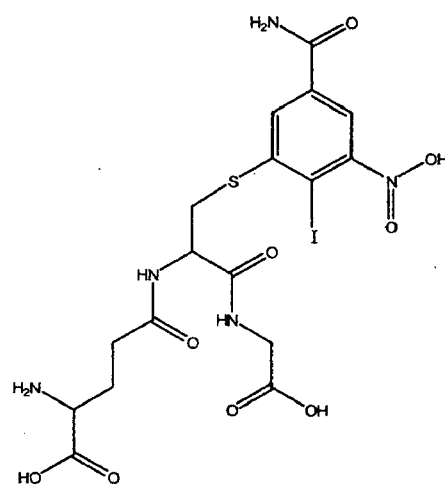
PCT/US2008/085756



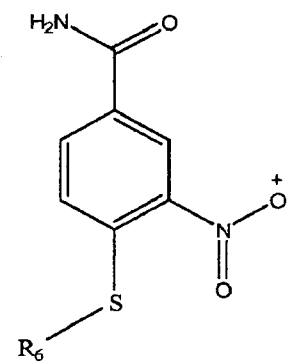
33. The kit of claim 31, wherein the PARP inhibitor is a metabolite of 4-iodo-3-nitrobenzamide selected from the group consisting of:



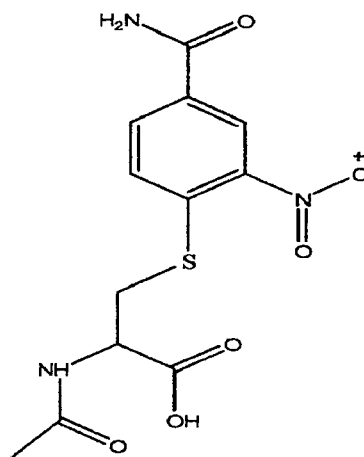
MS472



MS601



MS213

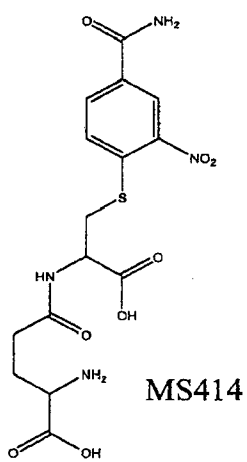
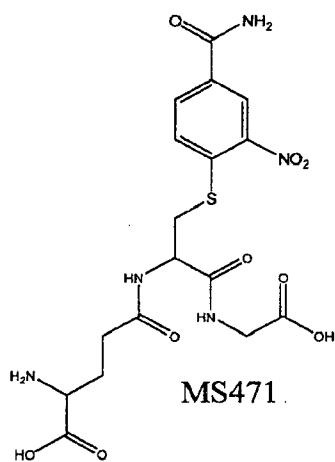
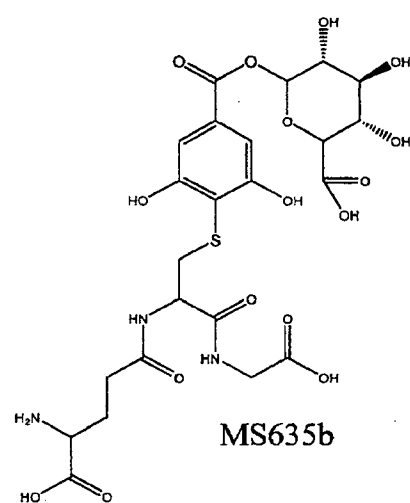
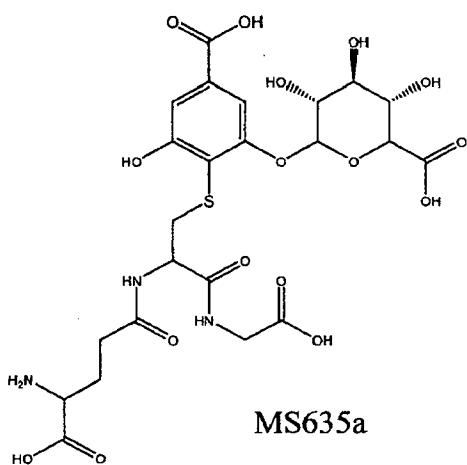
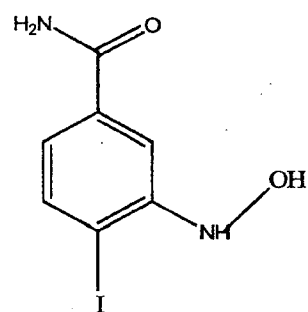
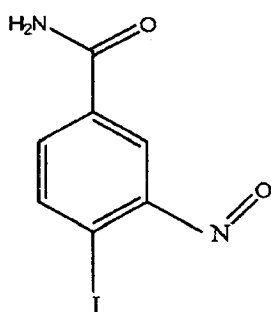
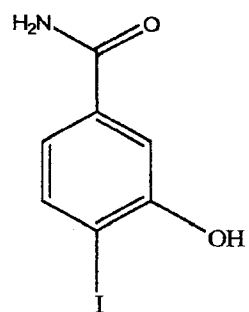
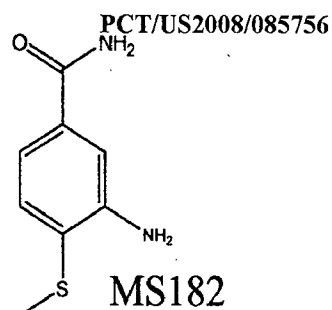
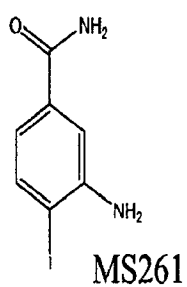
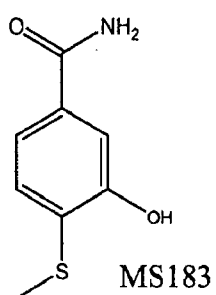
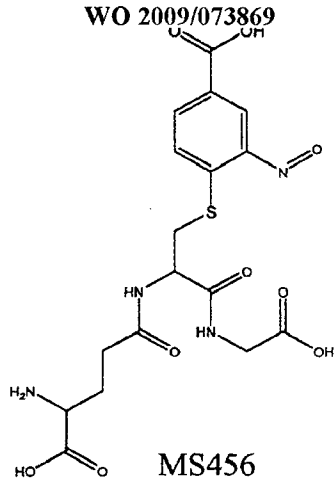


MS328

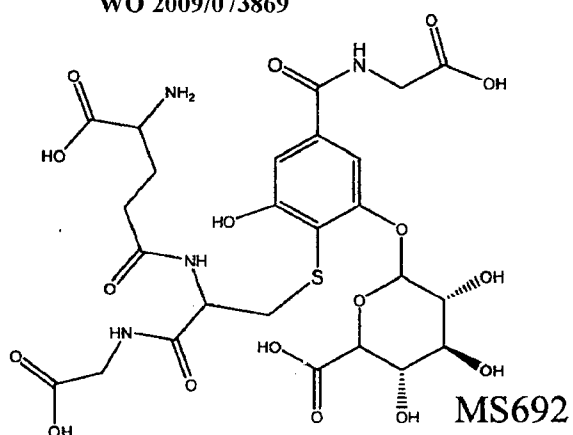
R_6 is selected from a group consisting of hydrogen, alkyl (C_1 - C_8), alkoxy (C_1 - C_8), isoquinolinones, indoles, thiazole, oxazole, oxadiazole, thiophene, or phenyl.

77

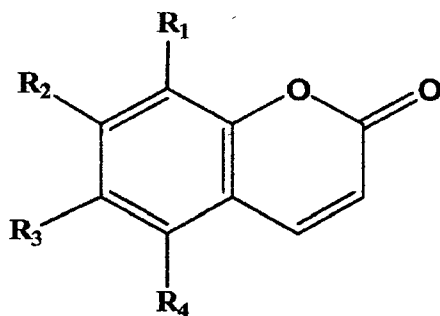
WO 2009/073869



and



34. The kit of claim 31, wherein the topoisomerase inhibitor is topotecan, irinotecan, lurtotecan, exatecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof.
35. The kit of claim 31, wherein the topoisomerase inhibitor is topotecan or a pharmaceutically acceptable salt or metabolite thereof.
36. The kit of claim 31, wherein the cancer is selected from the group consisting of leukemia, prostate cancer, transitional cell carcinoma of the bladder, pancreatic cancer, colorectal cancer, cervical cancer, and lung cancer.
37. The kit of claim 31 further comprises an effective amount of a benzopyrone compound of formula (II):



Formula II

wherein R_1 , R_2 , R_3 and R_4 are independently selected from the group consisting of H, halogen, optionally substituted hydroxy, optionally substituted amine, optionally substituted lower alkyl, optionally substituted phenyl, optionally substituted C_4 - C_{10} heteroaryl and optionally substituted C_3 - C_8 cycloalkyl or a salt, solvate, isomer, tautomers, metabolite or prodrug thereof.

38. The kit of claim 31 further comprises directions for administering the PARP inhibitor, the topoisomerase inhibitor or both.
39. The kit of claim 31, wherein the PARP inhibitor, the topoisomerase inhibitor, or both are in unit dosage form.

TRATAMIENTO DEL CÁNCER CON COMBINACIONES DE INHIBIDORES DE LA TOPOISOMERASA E INHIBIDORES DE PARP

REFERENCIA CRUZADA

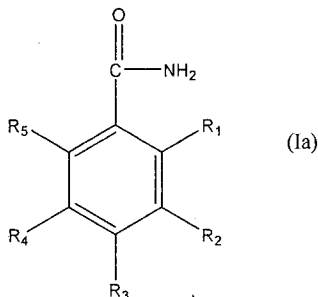
- 5 [0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE.UU. No. 61/012.364, titulada "Tratamiento del cáncer con combinaciones de inhibidores de la topoisomerasa e inhibidores de PARP" presentada el 7 de diciembre de 2007 (nº del expediente del agente 28825-747.101), que se incorpora aquí en su totalidad como referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 [0002] El cáncer es una seria amenaza para la salud pública. Los crecimientos cancerosos malignos, debido a sus características específicas, suponen graves desafíos para la medicina moderna. Estas características incluyen una proliferación celular incontrolable que tiene como resultado el crecimiento sin regulación del tejido maligno, una capacidad de invadir tejidos locales e incluso remotos, ausencia de control de la diferenciación celular, y a menudo, la ausencia de una terapia y prevención eficaces.
- 15 [0003] El cáncer se puede desarrollar en cualquier tejido de cualquier órgano a cualquier edad. La etiología del cáncer no ha sido elucidada completamente; pero mecanismos tales como la susceptibilidad genética, trastornos de rotura de cromosomas, virus, factores ambientales y trastornos inmunológicos han sido ligados todos ellos a un crecimiento y transformación de las células malignas. El cáncer incluye una gran categoría de situaciones médicas, que afectan a millones de individuos en todo el mundo. Todos los tipos de cáncer empiezan con el crecimiento de
- 20 células fuera de control anormales.
- [0004] Hay muchos tipos de cáncer, que incluyen, el cáncer de pulmón, de vejiga, de próstata, pancreático, cáncer de cuello uterino, de cerebro, gástrico, colorrectal y melanoma. Actualmente, algunos de los tratamientos principales disponibles son la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia. La cirugía con frecuencia es una medida drástica y puede tener consecuencias graves. Por ejemplo, algunos tratamientos para el cáncer de cuello uterino, cáncer de
- 25 vejiga, cáncer de próstata o cáncer de testículos pueden causar infertilidad y/o disfunción sexual. Los procedimientos quirúrgicos para tratar el cáncer pancreático pueden producir una eliminación parcial o total del páncreas y pueden acarrear riesgos importantes para el paciente. Algunos procedimientos quirúrgicos para el cáncer de próstata llevan asociado el riesgo de incontinencia urinaria e impotencia. Los procedimientos para los pacientes con cáncer de pulmón a menudo tienen un dolor postoperatorio significativo ya que se tienen que cortar las costillas
- 30 para permitir el acceso y la extracción del tejido pulmonar canceroso. Además, los pacientes que tienen cáncer de pulmón y otra enfermedad pulmonar, tal como un enfisema o bronquitis crónica, típicamente experimentan una mayor dificultad de respiración después de la cirugía.
- [0005] La terapia de radiación tiene la ventaja de destruir las células cancerosas, pero también daña el tejido no canceroso al mismo tiempo. La quimioterapia implica la administración de diversos fármacos anticancerosos a un
- 35 paciente, pero a menudo va acompañada por efectos secundarios adversos.
- [0006] En todo el mundo, a más de 10 millones de personas se les diagnostica cáncer cada año y se estima que este número crecerá hasta 15 millones de casos nuevos cada año en 2020. El cáncer produce seis millones de muertes cada año o el 12 % de las muertes de todo el mundo. Sigue existiendo la necesidad de métodos que puedan tratar el
- 40 cáncer. Estos métodos pueden proporcionar la base de composiciones farmacéuticas útiles en la prevención y tratamiento del cáncer en los seres humanos y otros mamíferos.

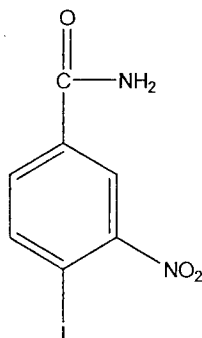
SUMARIO DE LA INVENCION

[0007] En un aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar un cáncer, que comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa y un inhibidor de PARP de la fórmula (Ia)

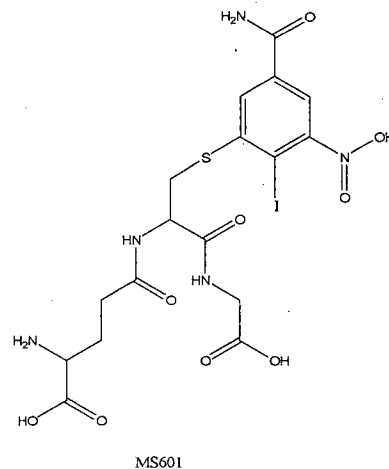
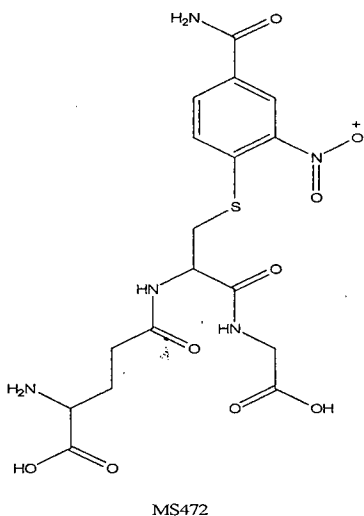


en la que R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxí, amino, nitro, yodo, bromo, fluoro, cloro, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇) y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente situado en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo; y donde el cáncer no es cáncer de mama, ni cáncer de útero, ni cáncer de ovarios.

[0008] En algunas realizaciones del método, el inhibidor de PARP es de la fórmula:

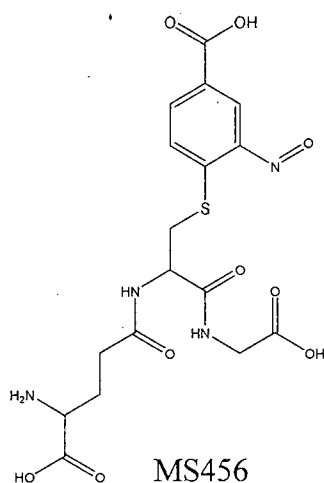


[0009] En algunas realizaciones del método, el inhibidor de PARP es un metabolito de la 4-yodo-3-nitrobenzamida seleccionado del grupo que consiste en:

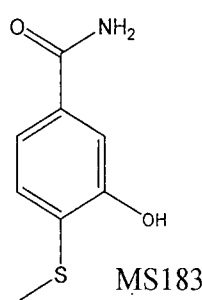


N#Cc1ccc(cc1S*)[N+](=O)[O-]NC(=O)c1ccc(cc1SCC(NC(=O)C)C(=O)O)N(=O)[O-]

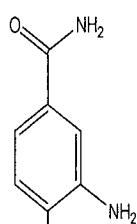
R₆ se selecciona de un grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈), isoquinolinonas, indoles, tiazol, oxazol, oxadiazol, tiofeno o fenilo.



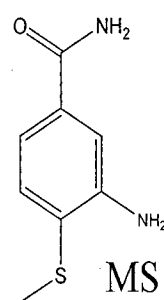
MS456



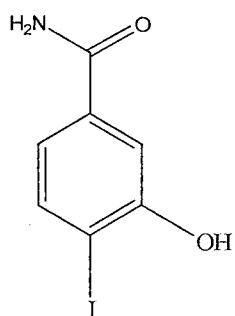
MS183



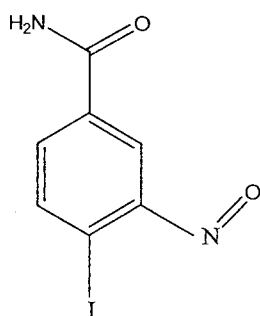
MS261



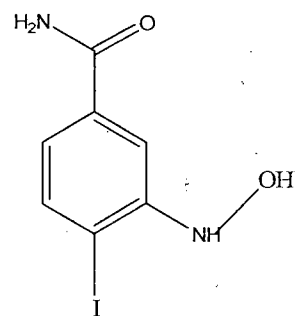
MS182



MS263

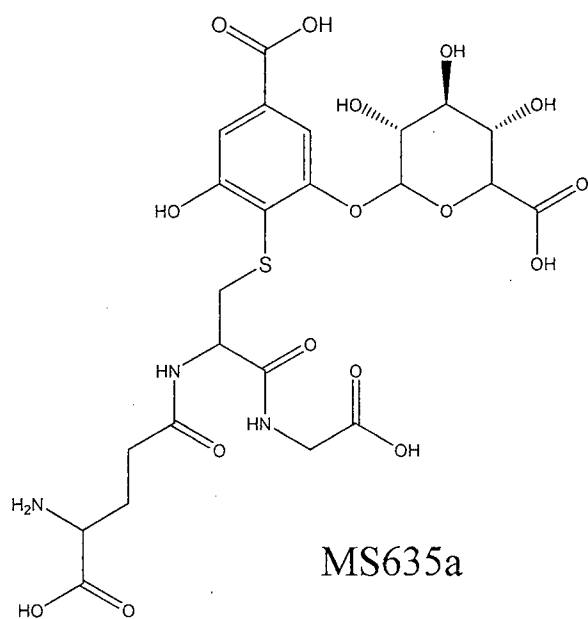


MS276

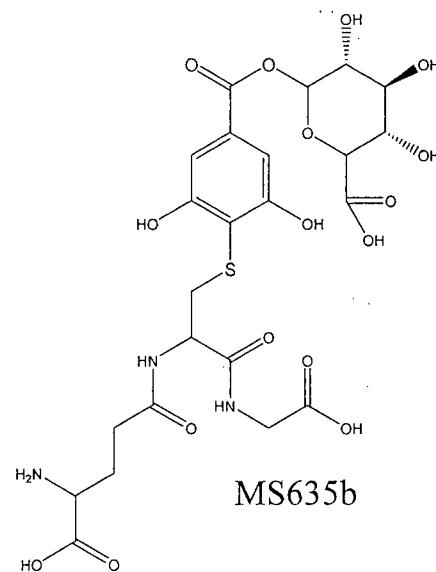


MS278

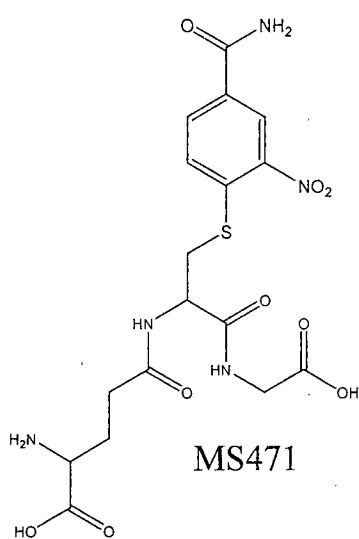
82



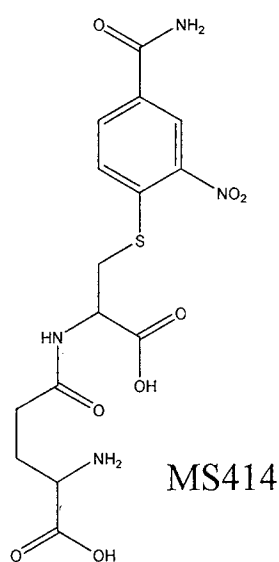
MS635a



MS635b

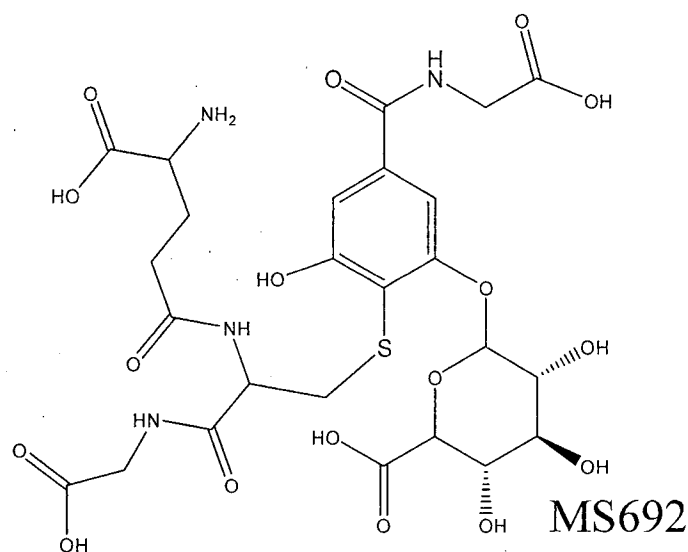


MS471



MS414

y

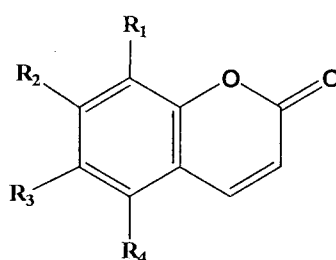


MS692

[0010] En algunas realizaciones del método, el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán, irinotecán, lurtotecán, exatecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables. En algunas

realizaciones, el cáncer se selecciona entre cáncer corticosuprarrenal, cáncer anal, anemia aplásica, cáncer de los conductos biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, metástasis ósea, tumores del SNC, cáncer periférico del SNC, enfermedad de Castleman, cáncer de cuello uterino, linfoma infantil no Hodgkin, cáncer de colon y de recto, cáncer de esófago, familia de tumores de Ewing, cáncer ocular, cáncer de la vesícula biliar, tumores carcinoides gastrointestinales, tumores estromales gastrointestinales, enfermedad trofoblástica gestacional, tricoleucemia, enfermedad de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer laríngeo e hipofaríngeo, leucemia aguda linfocítica, leucemia mieloide aguda, leucemia infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, tumores carcinoides de pulmón, linfoma no Hodgkin, mesotelioma maligno, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico, trastornos mieloproliferativos, cáncer de la cavidad nasal y paranasal, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer de la cavidad oral y orofaríngeo, osteosarcoma, cáncer pancreático, cáncer de pene, tumor hipofisario, cáncer de próstata, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de las glándulas salivares, sarcoma (cáncer de tejidos blandos en adultos), cáncer melanoma de la piel, cáncer de la piel no melanoma, cáncer de estómago, cáncer de testículos, cáncer de timo, cáncer de tiroides, cáncer vaginal, cáncer vulvar, macroglobulinemia de Waldenstrom y cánceres de origen vírico. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia, cáncer de próstata, carcinoma de células de transición de la vejiga, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de cuello uterino, y cáncer de pulmón.

[0011] En algunas realizaciones, el método de la presente invención comprende además administrar una cantidad eficaz de un compuesto de benzopirona de la fórmula (II):



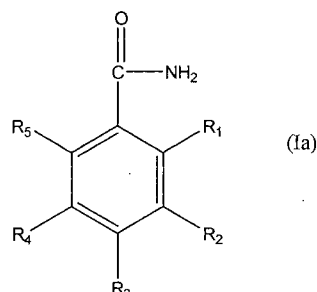
Fórmula II

en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo opcionalmente sustituido, amina opcionalmente sustituida, alquilo inferior opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo C₄-C₁₀ opcionalmente sustituido y cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido o una sal, solvato, isómero, tautómero, metabolito o profármaco del mismo.

[0012] En algunas realizaciones del método, se obtiene al menos un efecto terapéutico, siendo dicho efecto terapéutico la reducción del tamaño de un tumor, la reducción de la metástasis, la remisión completa, la remisión parcial, la respuesta patológica completa o la enfermedad estable. En algunas realizaciones, se obtiene una mejora de la tasa de beneficio clínico (CBR= CR+ PR+ SD ≥ 6 meses), en comparación con el tratamiento con el inhibidor de la topoisomerasa pero sin el inhibidor de PARP. En algunas realizaciones, la mejora de la tasa de beneficio clínico es al menos aproximadamente el 60 %. En algunas realizaciones, el método comprende además cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia génica, terapia de ADN, terapia adyuvante, terapia neoadyuvante, terapia vírica, terapia de ARN, inmunoterapia, nanoterapia o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, el inhibidor de la topoisomerasa se administra como una perfusión intravenosa. En algunas realizaciones, se administra la 4-yodo-3-nitrobenzamida o su metabolito oralmente o como una inyección parenteral o perfusión, o por inhalación. En algunas realizaciones, el inhibidor de PARP se administra antes de la administración, o concurrentemente, o posteriormente a la administración del inhibidor de la topoisomerasa. En algunas realizaciones, el inhibidor de

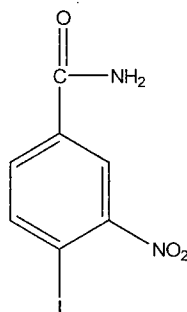
PARP y el inhibidor de la topoisomerasa se administran en la misma formulación. En algunas realizaciones, el inhibidor de PARP y el inhibidor de la topoisomerasa se administran en diferentes formulaciones.

[0013] En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición para administración a un paciente para el tratamiento del cáncer, y la composición comprende una cantidad eficaz de una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa y de un inhibidor de PARP de la fórmula (1a):



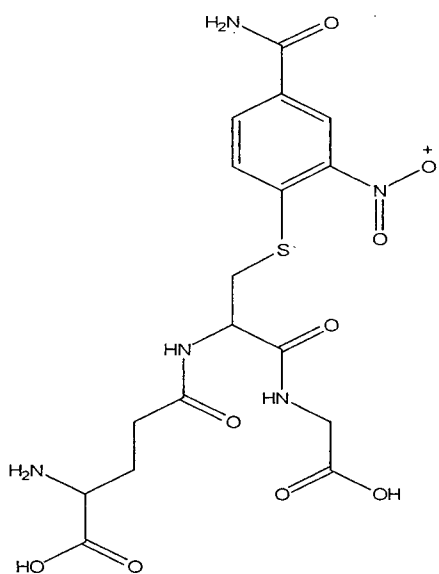
en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitró, yodo, bromo, flúor, cloro, alquilo (C_1 - C_6), alcoxi (C_1 - C_6), cicloalquilo (C_3 - C_7), y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitró, y al menos un sustituyente en posición adyacente a un nitró es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo; y donde el cáncer no es cáncer de mama, ni cáncer de útero, ni cáncer de ovarios.

[0014] En algunas realizaciones de la composición, el inhibidor de PARP es de la fórmula:

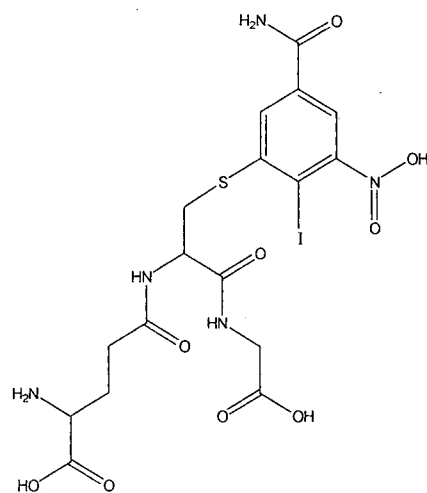


[0015] En algunas realizaciones de la composición, el inhibidor de PARP es un metabolito de la 4-yodo-3-nitrobenzamida seleccionado del grupo que consiste en:

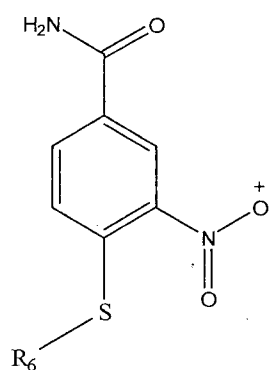
85



MS472

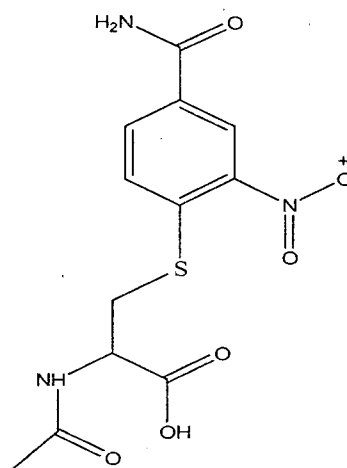


MS601

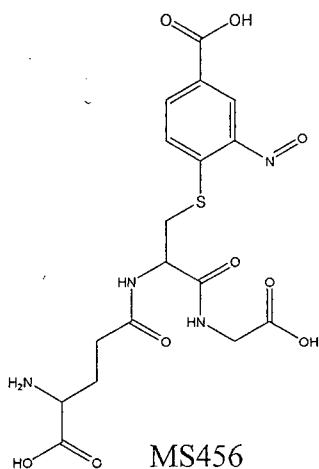


MS213

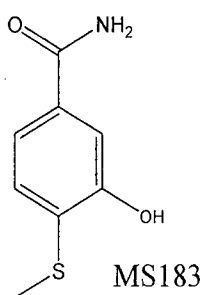
R₆ se selecciona de un grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈), isoquinolinonas, indoles, tiazol, oxazol, oxadiazol, tiofeno o fenilo.



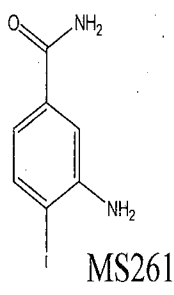
MS328



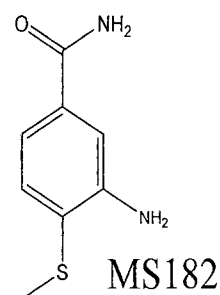
MS456



MS183

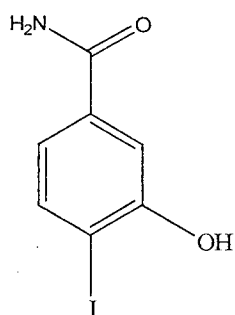


MS261

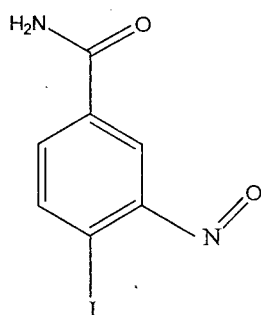


MS182

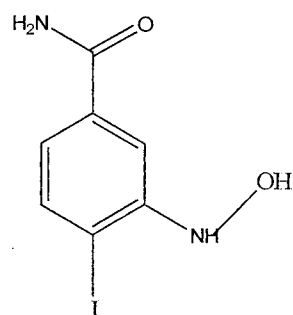
86.



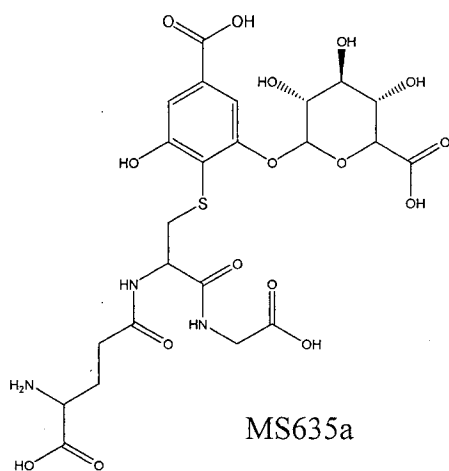
MS263



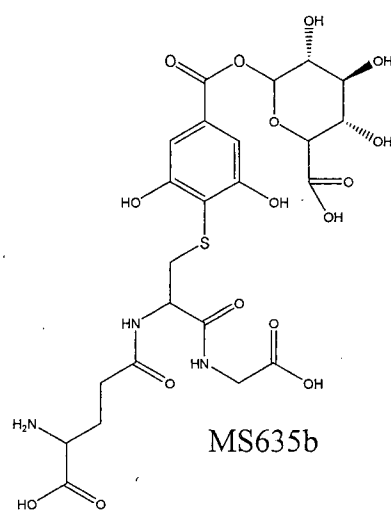
MS276



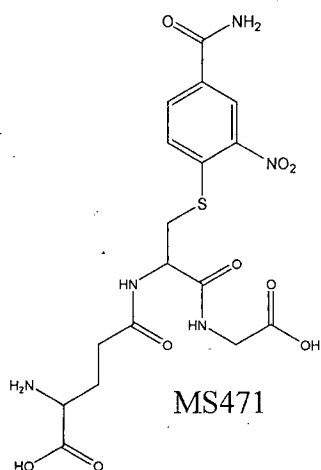
MS278



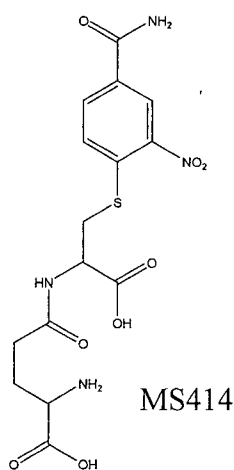
MS635a



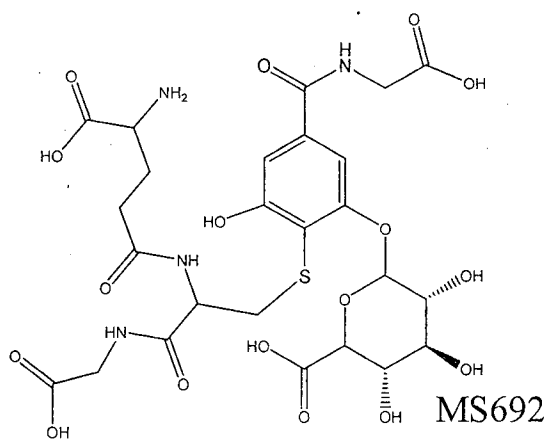
MS635b



MS471

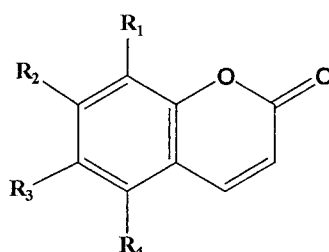


MS414



MS692

[0016] En algunas realizaciones de la composición, el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán, irinotecán, lurtotecán, exatecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia, cáncer de próstata, carcinoma de células de transición de la vejiga, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de cuello uterino, y cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, la composición comprende además una cantidad eficaz de un compuesto de benzopirona de la fórmula (II):

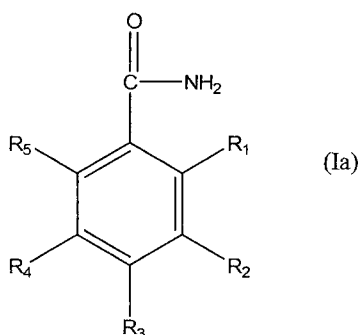


Fórmula II

en la que R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo opcionalmente sustituido, amina opcionalmente sustituida, alquilo inferior opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo C_4 - C_{10} opcionalmente sustituido y cicloalquilo C_3 - C_8 opcionalmente sustituido o una sal, solvato, isómero, tautómero, metabolito o profármaco del mismo.

[0017] En algunas realizaciones, la composición se administra en una forma farmacéutica unitaria. En algunas realizaciones, la forma farmacéutica unitaria se adapta para administración oral o parenteral. En algunas realizaciones, después de la administración de la composición, se obtiene al menos un efecto terapéutico, siendo dicho efecto terapéutico la reducción del tamaño de un tumor, la reducción de la metástasis, la remisión completa, la remisión parcial, la respuesta patológica completa o la enfermedad estable. En algunas realizaciones, después de la administración de la composición, se obtiene una mejora de la tasa de beneficio clínico ($CBR = CR + PR + SD \geq 6$ meses) en comparación con el tratamiento con el inhibidor de la topoisomerasa pero sin el inhibidor de PARP. En algunas realizaciones, la mejora de la tasa de beneficio clínico es al menos aproximadamente el 60 %. En algunas realizaciones, la composición se administra en combinación con cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia génica, terapia de ADN, terapia adyuvante, terapia neoadyuvante, terapia vírica, terapia de ARN, inmunoterapia, nanoterapia o una combinación de las mismas.

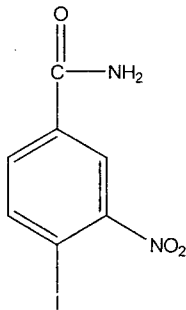
[0018] En otro aspecto más, la presente invención proporciona un kit para el tratamiento del cáncer, que comprende: (a) un inhibidor de PARP de la fórmula (Ia):



en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, bromo, fluoro, cloro, alquilo (C_1 - C_6), alcoxi (C_1 - C_6), cicloalquilo (C_3 - C_7), y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las

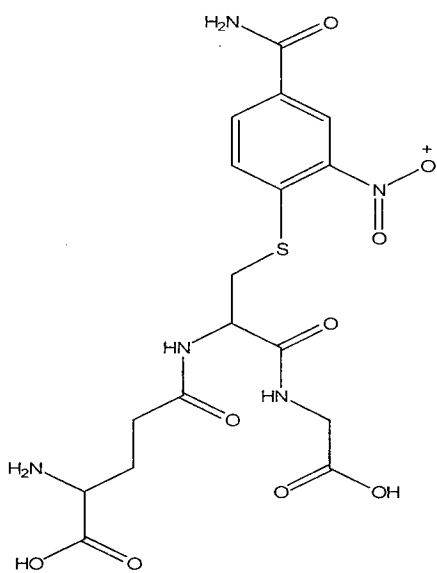
sales; solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo; y (b) un inhibidor de la topoisomerasa; donde el cáncer no es cáncer de mama, ni cáncer de útero, ni cáncer de ovarios.

[0019] En algunas realizaciones del kit, el inhibidor de PARP es de la fórmula:

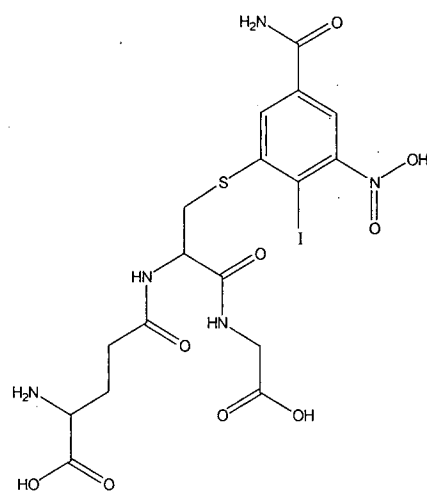


5

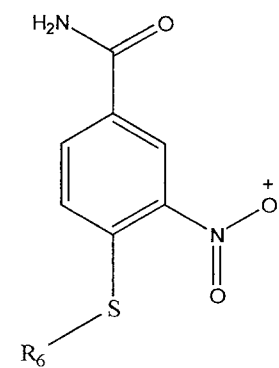
[0020] En algunas realizaciones del kit, el inhibidor de PARP es un metabolito de la 4-yodo-3-nitrobenzamida seleccionado del grupo que consiste en:



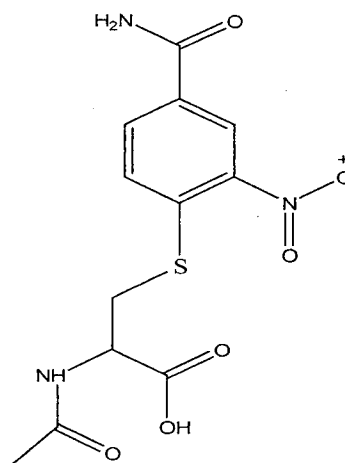
MS472



MS601

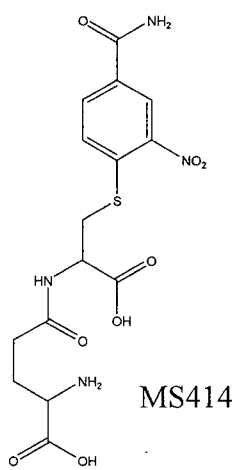
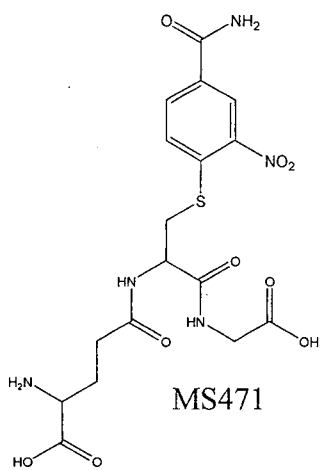
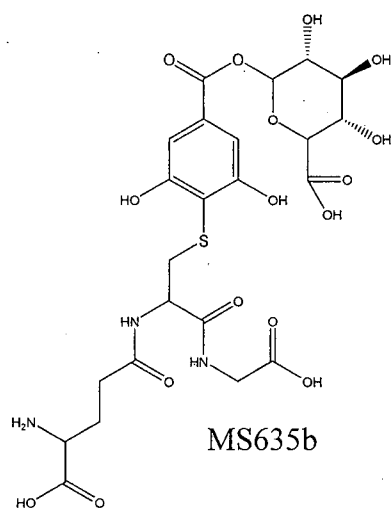
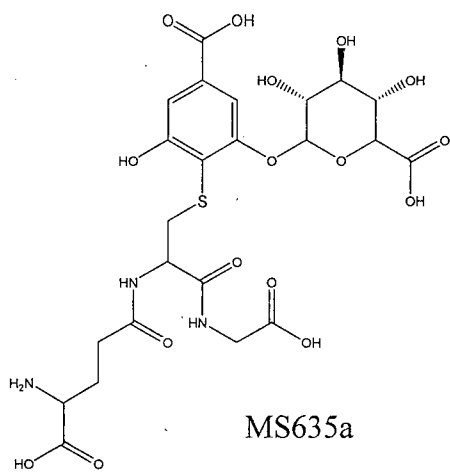
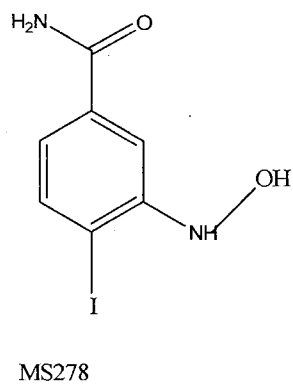
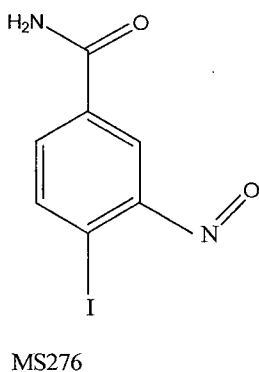
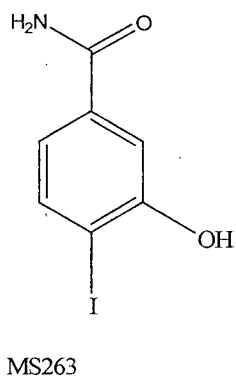
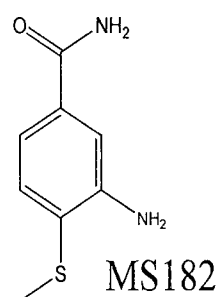
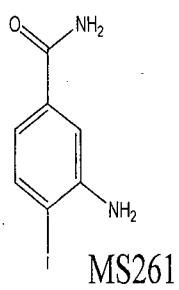
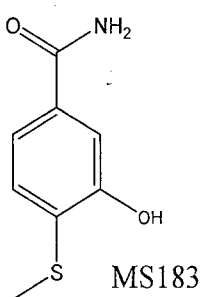
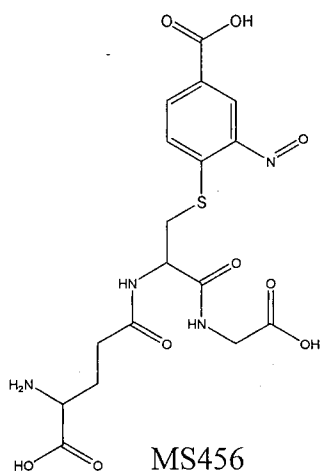


MS213

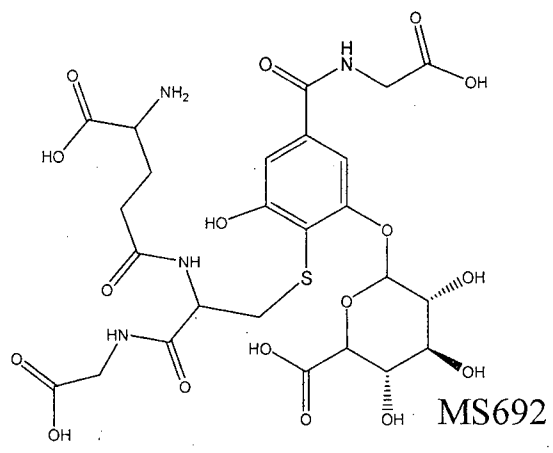


MS328

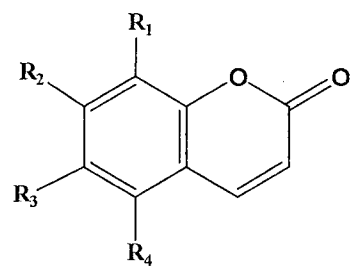
R₆ se selecciona de un grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈), isoquinolinonas, indoles, tiazol, oxazol, oxadiazol, tiofeno o fenilo.



y



[0021] En algunas realizaciones del kit, el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán, irinotecán, lurtotecán, exatecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia, cáncer de próstata, carcinoma de células de transición de la vejiga, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de cuello uterino, y cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, el kit comprende además una cantidad eficaz de un compuesto de benzopirona de la fórmula (II):



Fórmula II

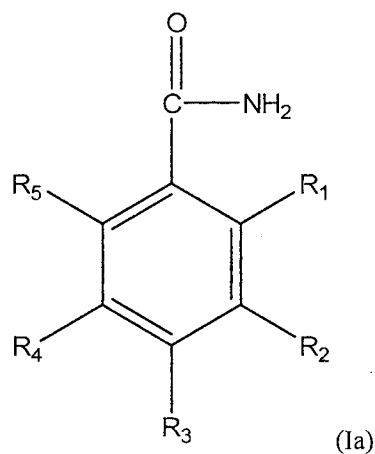
en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo opcionalmente sustituido, amina opcionalmente sustituida, alquilo inferior opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo C₄-C₁₀ opcionalmente sustituido y cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido o una sal, solvato, isómero, tautómero, metabolito o profármaco del mismo.

[0022] En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar el inhibidor de PARP, el inhibidor de la topoisomerasa o ambos. En algunas realizaciones del kit, el inhibidor de PARP, el inhibidor de la topoisomerasa, o ambos, están en una forma farmacéutica unitaria.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

[0023] “Compuesto o compuestos de nitrobenzamida” significa un compuesto de la fórmula (Ia)



en la que R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇) y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente situado en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo. R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ pueden ser también un haluro tal como cloro, fluoro o bromo.

[0024] “Cirugía” significa cualquier procedimiento terapéutico o de diagnóstico que implica la acción metódica de la mano o de la mano con un instrumento, sobre el cuerpo de un ser humano o de otro mamífero, para producir un efecto curativo, de rehabilitación, o de diagnóstico.

[0025] “Terapia de radiación” significa exponer a un paciente a una radiación de alta energía, incluyendo pero sin limitarse a ellos, los rayos X, rayos gamma, y neutrones. Este tipo de terapia incluye, sin limitarse a ellas, la terapia de radiación externa, terapia de radiación interna, radiación de implante, braquiterapia, terapia de radiación sistémica, y radioterapia.

[0026] “Quimioterapia” significa la administración de uno o más fármacos anticancerosos, tales como agentes quimioterapéuticos antineoplásicos, agentes quimiopreventivos, y/o otros agentes, a un paciente de cáncer por diferentes métodos, incluyendo las vías intravenosa, oral, intramuscular, intraperitoneal, intravesical, subcutánea, transdérmica, bucal, o por inhalación o en la forma de un supositorio. La quimioterapia se puede aplicar antes de la cirugía para reducir un tumor grande antes de un procedimiento quirúrgico para eliminarlo, después de cirugía o de radioterapia para evitar el crecimiento de todas las células cancerosas que quedan en el cuerpo.

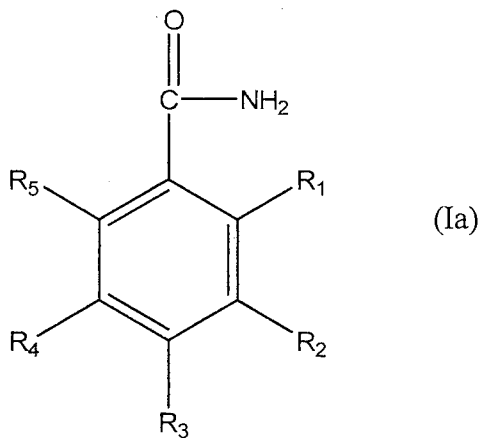
[0027] Los términos “cantidad eficaz” o “cantidad farmacéuticamente eficaz” se refieren a una cantidad suficiente del agente para proporcionar el resultado biológico, terapéutico y/o profiláctico deseado. Ese resultado puede ser la reducción y/o el alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Por ejemplo, una “cantidad eficaz” para usos terapéuticos es la cantidad de un compuesto de nitrobenzamida como se describe en la presente memoria *per se*, o de una composición que comprende el compuesto de nitrobenzamida de la presente memoria, requerida para proporcionar una reducción clínicamente significativa de una enfermedad. Una cantidad eficaz apropiada en cualquier caso individual puede ser determinada por un experto en la técnica usando experimentación rutinaria.

[0028] Por “farmacéuticamente aceptable” o “farmacológicamente aceptable” se indica un material que no es biológicamente ni de otra forma indeseable, es decir, el material se puede administrar a un individuo sin causar ningún efecto biológico indeseable o sin interactuar de una manera perjudicial con cualquiera de los componentes de la composición en la que está contenido.

[0029] El término “tratamiento” y sus equivalentes gramaticales, como se usan en la presente memoria, incluyen conseguir un efecto terapéutico beneficioso y/o un efecto profiláctico beneficioso. Por efecto terapéutico beneficioso se entiende la erradicación o mejoría del trastorno subyacente a tratar. Por ejemplo, en un paciente con cáncer, un efecto terapéutico beneficioso incluye la erradicación o mejoría del cáncer subyacente. Además, se consigue un efecto terapéutico beneficioso con la erradicación o mejoría de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados con el trastorno subyacente de tal forma que se observe una mejoría en el paciente, independientemente del hecho de que el paciente pueda seguir padeciendo el trastorno subyacente. Para un efecto profiláctico beneficioso, se puede efectuar un método de la invención, o se puede administrar una composición de la invención a un paciente con riesgo de desarrollar cáncer, o a un paciente que presente uno o más de los síntomas fisiológicos de dichas afecciones, aunque no se haya realizado el diagnóstico de la afección.

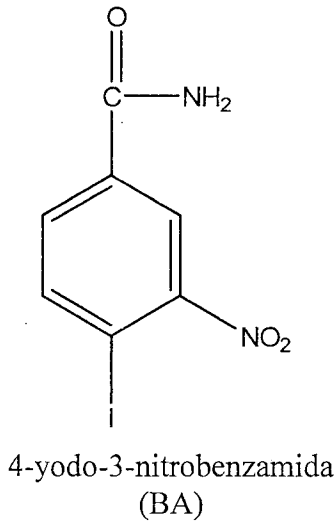
Compuestos de nitrobenzamida

[0030] Los compuestos útiles en la presente invención son de la fórmula (Ia)



en la que R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇) y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente situado en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos. R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ pueden ser también un haluro tal como cloro, fluoro o bromo.

[0031] Un compuesto preferido de la fórmula Ia es



[0032] La presente invención proporciona el uso de los compuestos de nitrobenzamida mencionados para el tratamiento de la leucemia incluyendo la leucemia promielocítica aguda de la sangre periférica, el cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de próstata, cáncer pancreático, y cáncer de cuello uterino, así como otros tipos de cáncer descritos aquí (la patente de EE.UU. no. 5.464.871, la patente de EE.UU. no. 5.670.518, y la patente de EE.UU. no. 6.004.978 se incorporan aquí como referencia en su totalidad). La presente invención proporciona también el uso de los compuestos de nitrobenzamida mencionados para el tratamiento de la población de pacientes resistentes a GLEEVEC (Mesilato de Imatinib). GLEEVEC es un inhibidor de la tirosina-cinasa.

[0033] En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida de la presente invención se usan para el tratamiento del cáncer de cuello uterino. En otras realizaciones, los compuestos de nitrobenzamida de la presente invención se usan para el tratamiento del cáncer de pulmón incluyendo el cáncer de pulmón de células pequeñas. En otras realizaciones, los compuestos de nitrobenzamida de la presente invención se usan para el tratamiento del cáncer de colon y del cáncer rectal. En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida de la presente invención se usan para el tratamiento del cáncer de vejiga y del cáncer de próstata. En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida de la presente invención se usan para el tratamiento del cáncer de hígado y del cáncer pancreático. En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida de la presente invención se usan para el tratamiento de la leucemia, cáncer de cuello uterino, glioma, y melanoma.

[0034] En otras realizaciones preferidas adicionales, los compuestos de nitrobenzamida de la presente invención se usan para el tratamiento de cánceres derivados de células madre. En los tumores malignos descritos aquí, una proporción de células tumorales - 'células madre de cáncer' - tienen la capacidad de proliferación y transferencia extensivas del tumor. Una alteración en el destino y en el crecimiento de las células madre puede desempeñar un papel en la génesis de los tumores. Las células madre epiteliales tienen una vida al menos tan larga como la del organismo, y por tanto se cree que son susceptibles a múltiples impactos genéticos que de forma acumulativa pueden dar como resultado la formación de un tumor. Muchos cánceres, tales como los de la piel y de colon, surgen en tejidos que tienen repuesto constante de células durante toda la vida. Pero las mutaciones cruciales que llevan a la enfermedad probablemente tienen lugar durante el periodo de formación de los 'tejidos', cuando las células se dividen exponencialmente.

[0035] El compartimento de células madre, identificado ahora virtualmente en cada tejido, se puede definir como un subconjunto de células raras, dotado con la exclusiva prerrogativa de autorrenovación y persistencia durante toda la vida del organismo, en contraste con las células diferenciadas, que forman la mayor parte del tejido, pero que usualmente muestran un comportamiento postmitótico y una corta duración de vida. El hecho de que sean necesarias varias mutaciones para que una célula se vuelva cancerosa puede sugerir que en muchos tejidos las mutaciones se pueden acumular en células madre. Como las células madre del cáncer se autorrenuevan, se deduce que se pueden derivar de células madre normales autorrenovables, o de células más diferenciadas que adquieren propiedades peculiares de células madre. De forma consistente, un tumor se puede concebir como un tejido, que incluye tanto células "diferenciadas", como un subconjunto de "células madre cancerosas", que mantienen la masa tumoral, y que probablemente son responsables de la formación de tumores secundarios (metástasis). Por tanto, las nitrobenzamidias de la presente invención se pueden utilizar para dirigirse a cánceres derivados de células madre.

[0036] En algunas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de los compuestos de nitrobenzamida mencionados en combinación con inhibidores de la topoisomerasa para el tratamiento del cáncer incluyendo, pero sin limitarse a ellos, la leucemia, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de

próstata, cáncer pancreático, y cáncer de cuello uterino, así como otros tipos de cáncer descritos aquí (la patente de EE.UU. no. 5.464.871, la patente de EE.UU. no. 5.670.518, y la patente de EE.UU. no. 6.004.978 se incorporan aquí como referencia en su totalidad). En algunas realizaciones, con el fin de llevar a cabo la presente invención, se pueden utilizar las composiciones y métodos descritos en la patente de EE.UU. 7.405.227. Todas las patentes y solicitudes de patentes se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

[0037] En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida en combinación con inhibidores de la topoisomerasa se usan para el tratamiento del cáncer de cuello uterino. En otras realizaciones, los compuestos de nitrobenzamida en combinación con inhibidores de la topoisomerasa se usan para el tratamiento del cáncer de pulmón incluyendo el cáncer de pulmón de células pequeñas. En otras realizaciones, los compuestos de nitrobenzamida en combinación con inhibidores de la topoisomerasa se usan para el tratamiento del cáncer de colon y del cáncer rectal. En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida en combinación con inhibidores de la topoisomerasa se usan para el tratamiento del cáncer de vejiga y del cáncer de próstata. En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida en combinación con inhibidores de la topoisomerasa se usan para el tratamiento del cáncer de hígado y del cáncer pancreático. En algunas realizaciones preferidas, los compuestos de nitrobenzamida en combinación con inhibidores de la topoisomerasa se usan para el tratamiento de la leucemia, cáncer de cuello uterino, glioma, y melanoma. En otras realizaciones preferidas adicionales, los compuestos de nitrobenzamida en combinación con inhibidores de la topoisomerasa se usan para el tratamiento de los cánceres derivados de células madre. En algunas realizaciones, el compuesto de nitrobenzamida de la invención es la 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA).

[0038] La presente invención describe una farmacología no clínica de la 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) en células de tumor humano y en células primarias normales y también en ratones. La BA *in vitro* inhibe la proliferación de una variedad de células tumorales humanas incluyendo las de colon, próstata, cuello uterino, pulmón, melanoma, linfoma, y leucemia. La BA *in vivo* en combinación con inhibidores de la topoisomerasa, tales como topotecán e irinotecán, se evalúa en modelos animales de carcinogénesis. La administración de BA una vez al día o dos veces por semana inhibe el crecimiento del tumor en el colon y pulmón humano, y el modelo de xenotrasplante de carcinoma de cuello uterino tanto en ratones desnudos como en ratones SCID, y afecta positivamente a la tasa de supervivencia de los animales expuestos al fármaco administrado diariamente o dos veces por semana.

[0039] Se ha notificado que los compuestos de nitrobenzamida tienen citotoxicidad selectiva sobre las células cancerosas malignas pero no sobre las células cancerosas no malignas. Véase Rice *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:7703-7707 (1992). En una realización, los compuestos de nitrobenzamida utilizados en los métodos de la presente invención pueden presentar una toxicidad más selectiva hacia las células tumorales que hacia las células no tumorales.

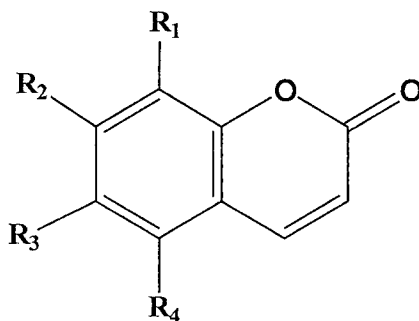
[0040] Se ha notificado que la citotoxicidad de los compuestos de nitrobenzamida y de nitrosobenzamida se aumenta cuando se co-administra butionina sulfoximina (BSO) a las células cancerosas. Véase Mendeleyev *et al.*, *Biochemical Pharmacol.* 50(5):705-714 (1995). La butionina sulfoximina (BSO) inhibe la gamma-glutamylcisteína-sintetasa, una enzima clave en la biosíntesis del glutatión, que es responsable en parte de la resistencia celular a la quimioterapia. Véase Chen *et al.*, *Chem Biol Interact.* 24 de abril;111-112: 263-75 (1998). La invención proporciona también un método para tratar el cáncer que comprende la administración de un compuesto de nitrobenzamida y/o de benzopirona en combinación con BSO.

[0041] En adición a la BSO, se pueden usar otros inhibidores de gamma-glutamylcisteína-sintetasa en combinación con compuestos de nitrobenzamida y/o de benzopirona. Otros análogos adecuados de BSO incluyen, pero sin

limitarse a ellos, proprotionina sulfoximina, metionina sulfoximina, etionina sulfoximina, metil butionina sulfoximina, γ -glutamyl- α -aminobutirato y γ -glutamilcisteína.

Compuestos de benzopirona

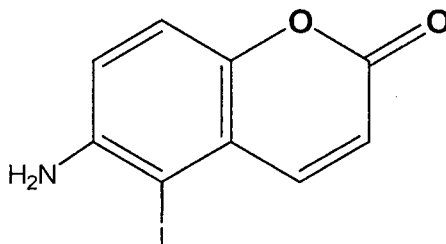
[0042] En algunas realizaciones, se administran los compuestos de benzamida en combinación con compuestos de benzopirona de la fórmula II. Los compuestos de benzopirona de la fórmula II son,



Fórmula II

en la que R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo opcionalmente sustituido, amina opcionalmente sustituida, alquilo inferior opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo C_4 - C_{10} opcionalmente sustituido y cicloalquilo C_3 - C_8 opcionalmente sustituido o una sal, solvato, isómero, tautómero, metabolito o profármaco de los mismos (la patente de EE.UU. no. 5,484,951 se incorpora aquí como referencia en su totalidad).

[0043] En una realización preferida, la invención se refiere al siguiente compuesto de benzopirona de la fórmula II



6-amino-5-yodo-benzopirona
(BP)

Mecanismo de los compuestos de nitrobenzamida

[0044] Sin pretender limitarse a ningún mecanismo de acción, se cree que los compuestos descritos en la presente memoria tienen propiedades anticancerosas a través de la modulación de una enzima poli(ADP-ribosa)-polimerasa (PARP). El mecanismo de acción de los fármacos se refiere a su capacidad de actuar como un ligando para la enzima nuclear poli(ADP-ribosa)-polimerasa (PARP-1). Véase Mendeleyev *et al.*, *citq anterior*, (1995). La PARP-1 se expresa en el núcleo y cataliza la conversión de β -nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) en nicotinamida y poli-ADP-ribosa (PAR). El papel de la PARP-1 en condiciones homeostáticas parece que se limita a la transcripción y reparación del ADN. Sin embargo, cuando el estrés celular causa daños al ADN, la actividad de la PARP-1 aumenta notablemente, lo que parece que es necesario para la integridad genómica. Shall *et al.*, *Mutat Res.* Jun 30;460(1):1-15 (2000).

[0045] Una de las funciones de la PARP-1 es sintetizar el biopolímero, poli(ADP-ribosa). Tanto la poli(ADP-ribosa) como la PARP-1 han sido ligadas a la reparación del ADN, a la apoptosis, al mantenimiento de la estabilidad genómica, y a la carcinogénesis. Véase Masutani *et al.*, *Genes, Chromosomes, and Cancer* 38:339-348 (2003). La

96

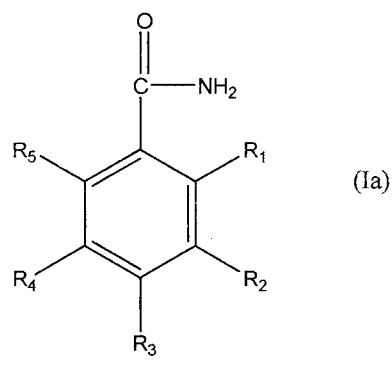
PARP-1 desempeña un papel en la reparación del ADN, específicamente en la reparación por escisión de bases (BER). La reparación por escisión de bases es un mecanismo de protección de las células de los mamíferos para la rotura del ADN de una sola base. La PARP-1 se une a los extremos de los fragmentos de ADN mediante sus dominios de dedos de cinc con gran afinidad y por lo tanto actúa como un sensor del daño del ADN. Gradwohl *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2990-2994 (1990); Murcia *et al.*, *Trends Biochem Sci* 19: 172-176 (1994). Una rotura en el ADN desencadena una respuesta de unión por la PARP-1 al sitio de la rotura. La PARP-1 aumenta entonces su actividad catalítica varios cientos de veces (Véase Simonin *et al.*, *J Biol Chem* 278: 13454-13461 (1993)) y empieza a convertir la poli ADP-ribosilación de sí misma (Desmarais *et al.*, *Biochim Biophys Acta* 1078: 179-186 (1991)) y las proteínas BER, tales como ADN-PKcs y la proteína molecular adaptadora XRCC-1. Véase Ruscetti *et al.*, *J. Biol. Chem.* Jun 5;273(23):14461-14467 (1998) y Masson *et al.*, *Mol Cell Biol.* Jun;18(6):3563-71 (1998). Las proteínas BER se reclutan rápidamente en el sitio del daño del ADN. El-Kaminsy *et al.*, *Nucleic Acid Res.* 31(19):5526-5533 (2003); Okano *et al.*, *Mol Cell Biol.* 23(11):3974-3981 (2003). La PARP-1 se disocia del sitio de rotura del ADN pero permanece próxima al suceso de reparación del ADN.

[0046] La inhibición de la actividad de una molécula de PARP incluye reducir la actividad de estas moléculas. El término "inhibe", y sus conjugaciones gramaticales tales como "inhibidor", no pretende que se requiera la reducción total de la actividad de PARP. Dicha reducción es preferiblemente de al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 90 % y más preferiblemente al menos aproximadamente un 95 % de la actividad de la molécula en ausencia del efecto inhibidor, por ejemplo, en ausencia de un inhibidor tal como un compuesto de nitrobenzamida de la invención. Lo más preferiblemente, el término se refiere a una reducción de la actividad observable o medible. En algunas situaciones de tratamiento, preferiblemente la inhibición es suficiente para producir un beneficio terapéutico y/o profiláctico en la afección que se esté tratando. La frase "no inhibe" y sus conjugaciones gramaticales no requieren la falta completa de efecto sobre la actividad. Por ejemplo, se refiere a situaciones en las que hay menos de aproximadamente 20 %, menos de aproximadamente 10 %, y preferiblemente menos de aproximadamente 5 % de reducción en la actividad de PARP en presencia de un inhibidor tal como un compuesto de nitrobenzamida de la invención.

Metabolitos de BA:

[0047] Como se usan en la presente memoria, "BA" significa 4-yodo-3-nitrobenzamida; "BNO" significa 4-yodo-3-nitrosobenzamida; "BNHOH" significa 4-yodo-3-hidroxiaminobenzamida.

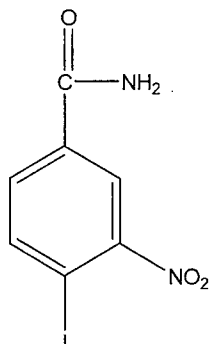
[0048] Son compuestos precursores útiles en la presente invención los de la fórmula (Ia)



en la que R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇) y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente situado en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros,

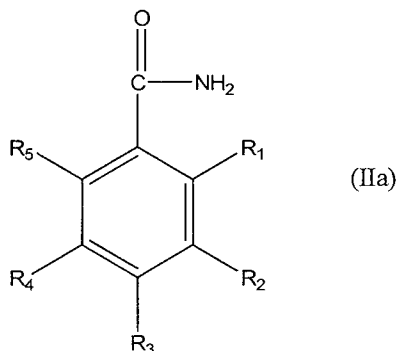
tautómeros, metabolitos, análogos o pro-fármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos. R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 pueden ser también un haluro tal como los sustituyentes cloro, fluoro o bromo.

[0049] Un compuesto precursor preferido de la fórmula Ia es:



4-yodo-3-nitrobenzamida
(BA)

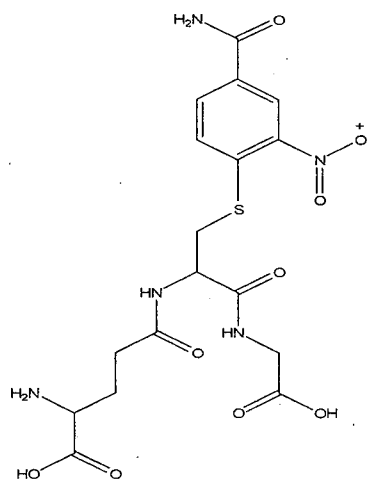
[0050] Algunos metabolitos útiles en la presente invención son de la fórmula (IIa):



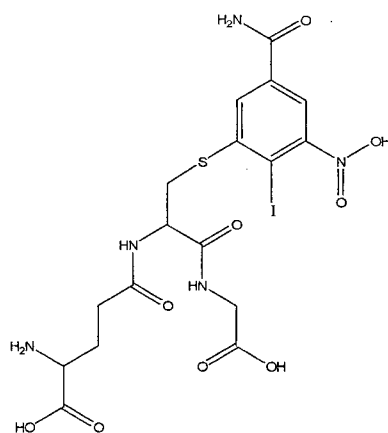
(IIa)

en la que o bien: (1) al menos uno de los sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 es siempre un sustituyente que contiene azufre y los sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 restantes se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, bromo, fluoro, cloro, alquilo (C_1 - C_6), alcoxi (C_1 - C_6), cicloalquilo (C_3 - C_7) y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son siempre hidrógeno; o bien (2) al menos uno de los sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 no es un sustituyente que contiene azufre y al menos uno de los cinco sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 es siempre yodo, y donde dicho yodo está siempre adyacente a un grupo R_1 , R_2 , R_3 , R_4 o R_5 que es un grupo nitro, nitroso, hidroxiamino, hidroxilo o amino; y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos. En algunas realizaciones, los compuestos de (2) son tales que el grupo yodo está siempre adyacente a un grupo R_1 , R_2 , R_3 , R_4 o R_5 que es un grupo nitroso, hidroxiamino, hidroxilo o amino. En algunas realizaciones, los compuestos de (2) son tales que el grupo yodo está siempre adyacente a un grupo R_1 , R_2 , R_3 , R_4 o R_5 que es un grupo nitroso, hidroxiamino o amino.

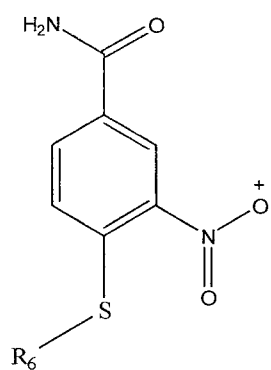
[0051] Las siguientes composiciones son compuestos metabolitos preferidos, representado cada uno de ellos por una fórmula química:



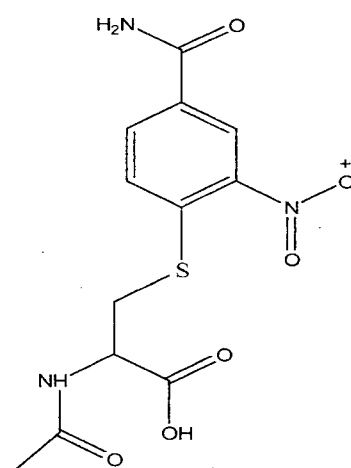
MS472



MS601

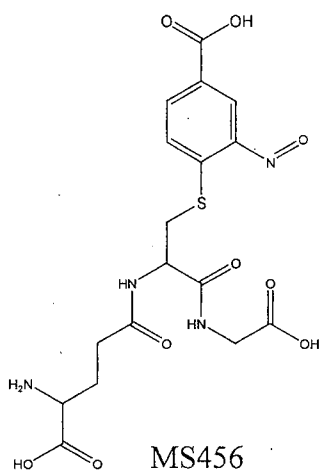


MS213

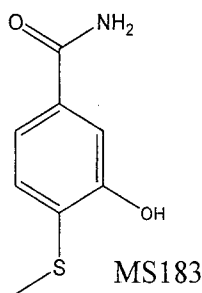


MS328

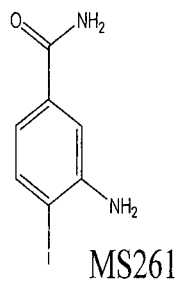
R₆ se selecciona de un grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈), isoquinolinonas, indoles, tiazol, oxazol, oxadiazol, tiofeno o fenilo.



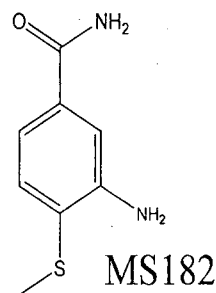
MS456



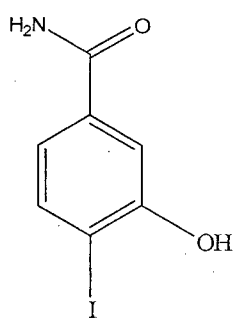
MS183



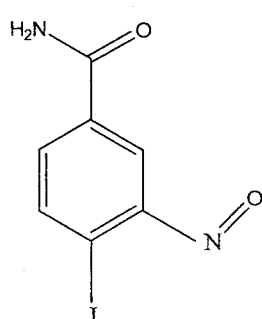
MS261



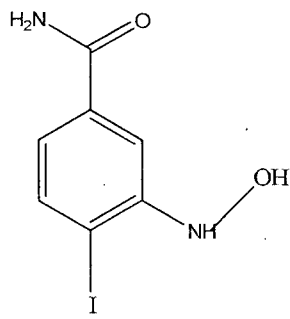
MS182



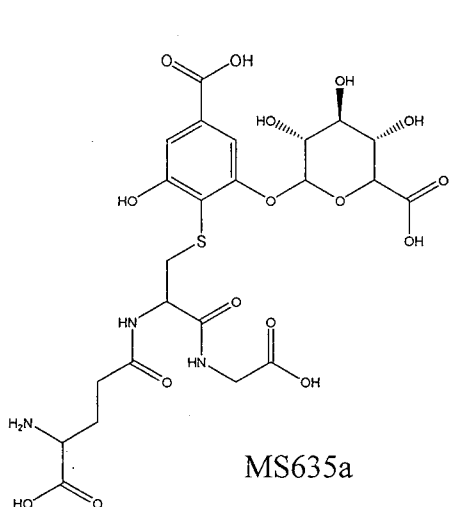
MS263



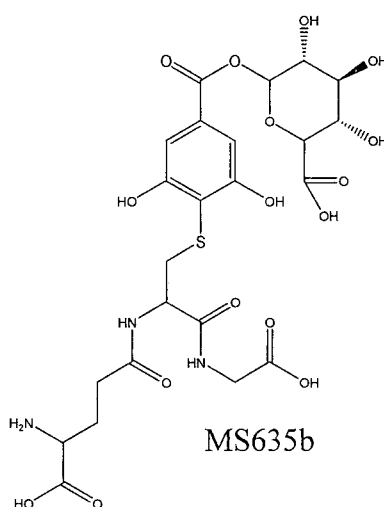
MS276



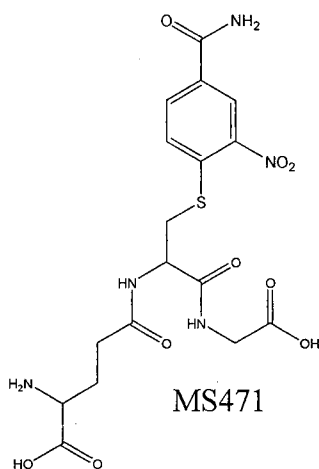
MS278



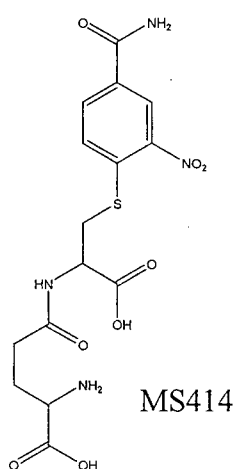
MS635a



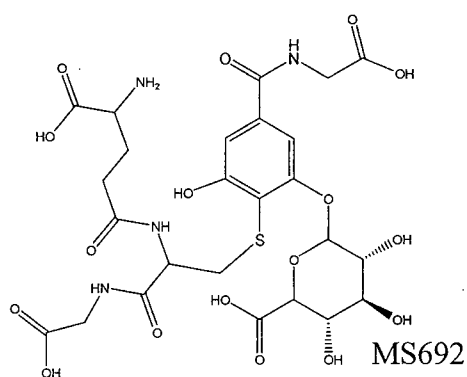
MS635b



MS471



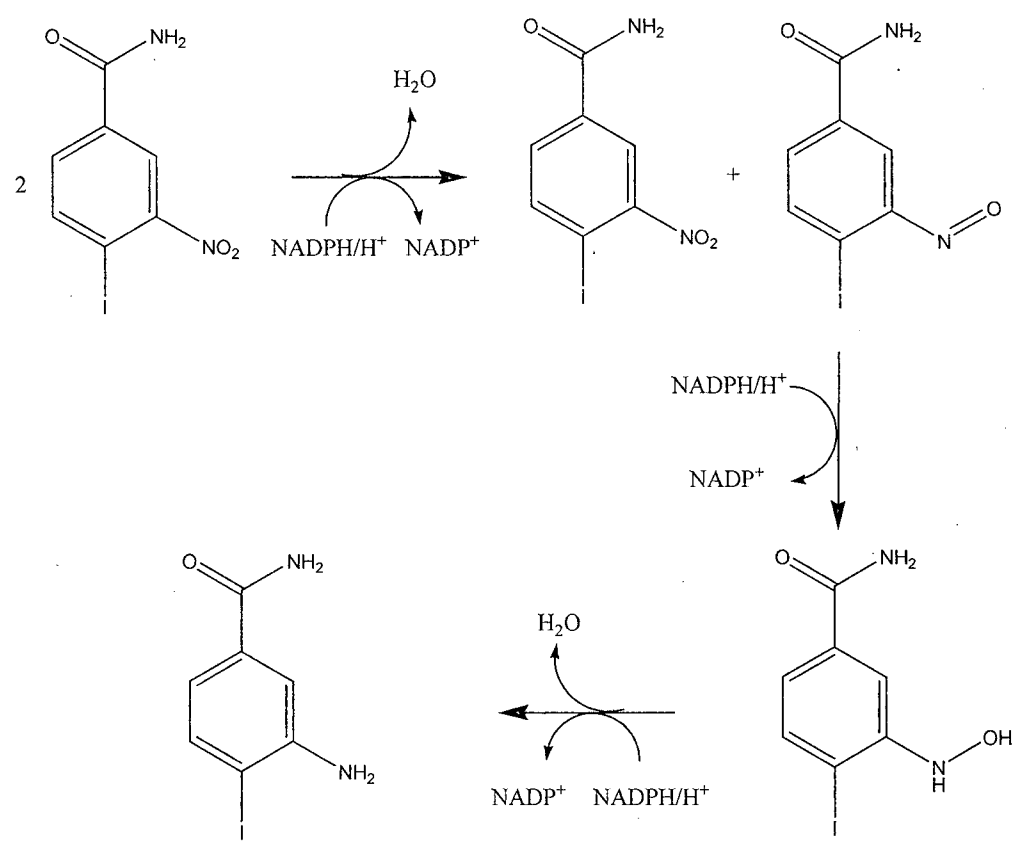
MS414



MS692

[0052] Aunque no está limitado a ningún mecanismo particular, lo siguiente proporciona un ejemplo de metabolismo para MS292 a través de un mecanismo de nitrorreductasa o de conjugación con glutatión:

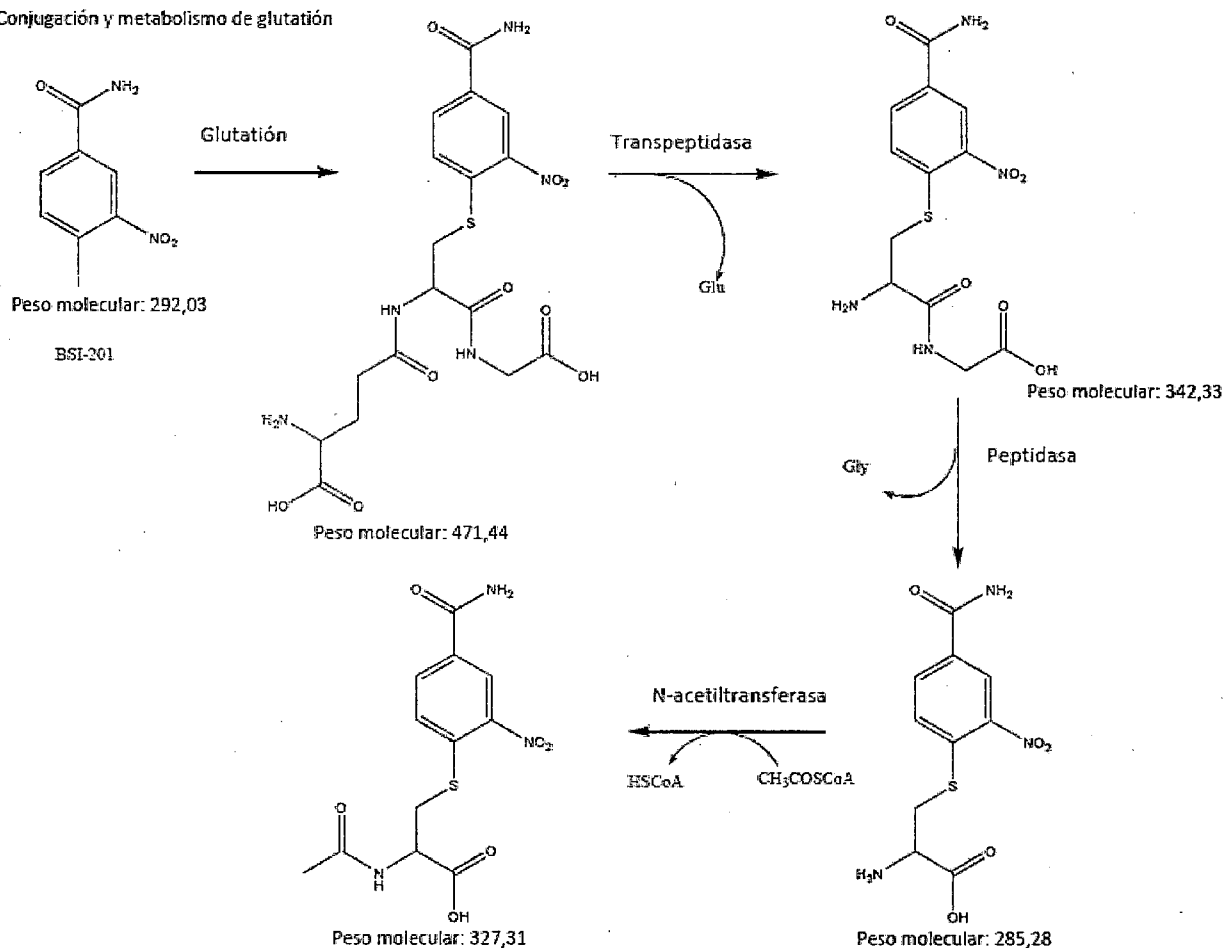
Mecanismo de nitrorreductasa



5

[0053] Conjugación de BA-glutatión y metabolismo:

Conjugación y metabolismo de glutatión



[0054] Se ha publicado que los compuestos de metabolitos de nitrobenzamida tienen citotoxicidad selectiva sobre las células cancerosas malignas pero no sobre las células cancerosas no malignas. Véase Rice *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7703-7707 (1992), incorporado en la presente memoria en su totalidad. En una realización, los compuestos metabolitos de nitrobenzamida utilizados en los métodos de la presente invención pueden presentar una toxicidad más selectiva hacia las células tumorales que hacia las células no tumorales. Los metabolitos según la invención se pueden administrar por tanto a un paciente que necesite tal tratamiento conjuntamente con quimioterapia con al menos un inhibidor de la topoisomerasa. El intervalo de dosis para tales metabolitos puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,0004 a aproximadamente 0,5 mmol/kg (milimoles de metabolito por kilogramo de peso corporal del paciente), cuya dosis corresponde, en una base molar, a un intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg de BA. Otros intervalos de dosis eficaces para los metabolitos son 0,0024-0,5 mmol/kg y 0,0048-0,25 mmol/kg. Dichas dosis se pueden administrar de manera diaria, en días alternos, dos veces a la semana, semanalmente, cada dos semanas, mensualmente o según otro programa adecuado. Se pueden emplear esencialmente los mismos modos de administración para los metabolitos que para la BA, por ejemplo, oral, i.v., i.p., etc.

Inhibidores de la topoisomerasa

[0055] Los inhibidores de la topoisomerasa son agentes diseñados para interferir con la acción de las enzimas topoisomerasas (topoisomerasa I y II), que son enzimas que controlan los cambios en la estructura del ADN catalizando la rotura y el restablecimiento del esqueleto de fosfodiéster de las cadenas de ADN durante el ciclo celular normal. Las topoisomerasas se han convertido en blancos populares para los tratamientos de quimioterapia del cáncer. Se cree que los inhibidores de la topoisomerasa bloquean la etapa de ligado del ciclo celular, generando

roturas de las cadenas sencillas y dobles que dañan la integridad del genoma. La introducción de estas roturas conduce posteriormente a la apoptosis y muerte celular. Los inhibidores de la topoisomerasa se dividen a menudo según el tipo de enzima que inhiben. La topoisomerasa I, el tipo de la topoisomerasa encontrada más a menudo en los eucariotas, es la diana de topotecán, irinotecán, lurtotecán y exatecán, cada uno de los cuales está

5 comercialmente disponible. El topotecán está disponible en GlaxoSmithKline con el nombre comercial HYCAMPTIN. El irinotecán está disponible en Pfizer con el nombre comercial CAMPTOSAR. El lurtotecán se puede obtener como una formulación liposómica en Gilead Sciences Inc. Los inhibidores de la topoisomerasa se pueden administrar en una dosis eficaz. En algunas realizaciones, una dosis eficaz para el tratamiento de un ser humano estará en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/m²/día. El tratamiento se puede

10 repetir una vez al día, dos veces por semana, una vez cada dos semanas, una vez por semana o una vez al mes. En algunas realizaciones, un periodo de tratamiento puede ir seguido de un periodo de descanso desde un día a varios días, o desde una a varias semanas. En combinación con un inhibidor de PARP-1, el inhibidor de PARP-1 y el inhibidor de la topoisomerasa se pueden administrar el mismo día o se pueden administrar en días separados.

[0056] Los compuestos que se dirigen a la topoisomerasa de tipo II se dividen en dos clases principales: los tóxicos de la topoisomerasa, que se dirigen al complejo de topoisomerasa-ADN, y los inhibidores de la topoisomerasa, que desestabilizan el recambio catalítico. Los tóxicos para topo II incluyen, pero sin limitarse a ellos, inhibidores de la topoisomerasa del tipo II (topo II) eucariota: amsacrina, etopósido, fosfato de etopósido, tenipósido y doxorubicina. Estos fármacos son terapias anti-cancerosas. Los ejemplos de inhibidores de la topoisomerasa incluyen ICRF-193. Estos inhibidores se dirigen al dominio ATPasa N-terminal de topo II e impiden el recambio de

20 topo II. La estructura de este compuesto unido al dominio de la ATPasa ha sido resuelta por Classen (Proceedings of the National Academy of Science, 2004) demostrando que el fármaco se une de una manera no competitiva e impide la dimerización del dominio de la ATPasa.

Irinotecán

[0057] El irinotecán es un inhibidor de la topoisomerasa I. Químicamente, es un análogo semisintético del alcaloide natural camptotecina. Su utilización principal es en el cáncer de colon, particularmente en combinación con otros agentes de quimioterapia. Esto incluye el régimen FOLFIRI que consiste en 5-fluorouracilo, leucovorina, e irinotecán por perfusión.

[0058] El irinotecán se activa por hidrólisis hasta SN-38, un inhibidor de la topoisomerasa I. Se inactiva éste después por glucuronidación mediante uridina difosfato glucuronosiltransferasa 1A1 (UGT1A1). La inhibición de la topoisomerasa I por el metabolito activo SN-38 eventualmente lleva a la inhibición tanto de la replicación como de la transcripción del ADN.

Topotecán:

[0059] El hidrocloreuro de topotecán (nombre de fábrica Hycamtin) es un inhibidor de la topoisomerasa I. El hidrocloreuro de topotecán ha sido aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para tratar el cáncer de ovarios y el cáncer de pulmón de células pequeñas en pacientes cuyo cáncer no ha mejorado con quimioterapia temprana. También ha sido aprobado su uso junto con cisplatino, un compuesto de platino, para tratar el cáncer de cuello uterino en algunas mujeres cuyo cáncer no ha mejorado o ha recurrido. El hidrocloreuro de topotecán se está estudiando también en el tratamiento de otros tipos de cáncer. El topotecán se puede administrar mediante inyección por vía intravenosa u oralmente.

Eficacia clínica:

[0060] La eficacia clínica se puede medir por cualquier método conocido en la técnica. En algunas realizaciones, la eficacia clínica de la combinación del inhibidor de la topoisomerasa y del inhibidor de PARP-1 (por ejemplo,

topotecán y BA) se puede determinar midiendo la tasa de beneficio clínico (CBR). La tasa de beneficio clínico se mide determinando la suma del porcentaje de pacientes que están en remisión completa (CR), el número de pacientes que están en remisión parcial (PR) y el número de pacientes que tienen enfermedad estable (SD) en un punto temporal al menos 6 meses después del final de la terapia. La abreviatura de esta fórmula es $CBR = CR + PR + SD \geq 6$ meses. La CBR para la terapia de combinación con un inhibidor de la topoisomerasa y un inhibidor de PARP-1 (por ejemplo, topotecán y BA; CBR_{T-B}) se puede comparar con la de la terapia con topotecán solo (CBR_T). En algunas realizaciones, la CBR_{T-B} es al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 % o al menos aproximadamente 60 %.

[0061] En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, los métodos incluyen predeterminar que un cáncer es tratable mediante moduladores de PARP. Algunos de dichos métodos comprenden identificar un nivel de PARP en una muestra de tumor de un paciente, determinar si el nivel de expresión de PARP en la muestra es mayor que un valor predeterminado, y, si la expresión de PARP es mayor que dicho valor predeterminado, tratar al paciente con una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa (tal como topotecán o irinotecán) y un inhibidor de PARP-1 tal como BA.

[0062] Los inhibidores de PARP destruyen las células cuando esta forma de reparación de ADN está ausente; y por tanto son eficaces en la destrucción de células tumorales deficientes en BRCA y otras células tumorales similares. Las células normales no pueden ser afectadas por el fármaco ya que todavía poseen el mecanismo de reparación del ADN. Este tratamiento puede ser aplicable también a otras formas de cáncer que se comportan como cáncer deficiente en BRCA. En algunas realizaciones, una ventaja para tratar con inhibidores de PARP es que esta es una terapia dirigida: se destruyen las células tumorales mientras que las células normales no son afectadas. Esto es porque los inhibidores de PARP explotan la estructura genética específica de algunas células tumorales.

[0063] Los pacientes deficientes en genes BRCA pueden tener niveles regulados positivamente de PARP. La regulación positiva de PARP puede ser un indicador de otras rutas de reparación de ADN defectuosos y de defectos genéticos de tipo BRCA no reconocidos. La evaluación de la expresión génica de PARP-1 es un indicador de la sensibilidad del tumor frente al inhibidor de PARP. Los pacientes deficientes en BRCA tratables con inhibidores de PARP se pueden identificar si el PARP es regulado positivamente. Además, tales pacientes deficientes en BRCA pueden ser tratados con inhibidores de PARP.

[0064] En algunas realizaciones, se recoge una muestra de un paciente que tiene una lesión sospechosa de ser cancerosa. Aunque dicha muestra puede ser cualquier tejido biológico disponible, en la mayoría de los casos la muestra será una porción de la lesión sospechosa, obtenida mediante laparoscopia o cirugía abierta. La expresión de PARP se puede analizar entonces y, si la expresión de PARP es superior a un nivel predeterminado (por ejemplo, está regulada positivamente frente a tejido normal) se puede tratar al paciente con un inhibidor de PARP-1 en combinación con un inhibidor de la topoisomerasa.

[0065] En algunas realizaciones, los tumores que son deficientes de recombinación homóloga se identifican evaluando los niveles de expresión de PARP. Si se observa regulación positiva de PARP, dichos tumores se pueden tratar con inhibidores de PARP. Otra realización es un método para tratar un cáncer deficiente en recombinación homóloga que comprende evaluar el nivel de expresión de PARP y, si se observa sobreexpresión, se puede tratar el cáncer con un inhibidor de PARP en combinación con un inhibidor de la topoisomerasa.

[0066] Los tumores que tienen deficiencias en cualquiera de los genes BRCA1 o BRCA2 se producen porque las células tumorales han perdido un mecanismo específico que repara el ADN dañado. Los genes BRCA1 y BRCA2 son importantes para la reparación de roturas de ADN de doble cadena por recombinación homóloga, y las mutaciones en estos genes predisponen a muchos cánceres. La PARP está implicada en la reparación por escisión

de bases, una vía en la reparación de roturas de ADN de cadena sencilla. La disfunción de BRCA-1 o BRCA-2 sensibiliza a las células ante la inhibición de la actividad enzimática de PARP, dando como resultado inestabilidad cromosómica, detención del ciclo celular y posterior apoptosis.

[0067] Los inhibidores de PARP destruyen las células cuando esta forma de reparación de ADN está ausente; y por tanto son eficaces en la destrucción de células tumorales deficientes en BRCA y otras células tumorales similares. Las células normales no pueden ser afectadas por el fármaco ya que todavía poseen el mecanismo de reparación del ADN. En algunas realizaciones, una ventaja para tratar con inhibidores de PARP es que esta es una terapia dirigida: se destruyen las células tumorales mientras que las células normales no son afectadas. Esto es porque los inhibidores de PARP explotan la estructura genética específica de algunas células tumorales. Aunque no se desea que sea limitado por ninguna teoría, se cree que el tratamiento combinado con un inhibidor de PARP y un inhibidor de la topoisomerasa puede permitir la dosificación eficaz del inhibidor de la topoisomerasa a una dosis más baja, y por tanto menos tóxica. En algunas realizaciones, la dosis eficaz de inhibidor de la topoisomerasa usada con un inhibidor de PARP puede ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 %, menos de aproximadamente 90 %, menos de aproximadamente 80 %, menos de aproximadamente 60 %, menos de aproximadamente 50 % o menos de aproximadamente 40 % de una dosis eficaz del inhibidor de la topoisomerasa usado solo.

Recogida, preparación y separación de muestras

[0068] Las muestras biológicas se pueden recoger de una variedad de fuentes de un paciente, incluyendo una muestra de fluido corporal o una muestra de tejido. Las muestras recogidas pueden ser muestras humanas normales y tumorales, aspiraciones del pezón. Las muestras se pueden recoger de individuos repetidamente durante un periodo lineal de tiempo (por ejemplo, aproximadamente una vez al día, una vez por semana, una vez al mes, dos veces al año o una vez al año). La obtención de numerosas muestras de un individuo durante un periodo de tiempo se puede usar para verificar los resultados de detecciones tempranas y/o para identificar una alteración del patrón biológico como resultado, por ejemplo, de la progresión de la enfermedad, del tratamiento con fármacos, etc.

[0069] La preparación y separación de las muestras puede implicar cualquier procedimiento, dependiendo del tipo de muestra recogida y/o del análisis de PARP. Dichos procedimientos incluyen, sólo a modo de ejemplo, concentración, dilución, ajuste del pH, eliminación de polipéptidos de gran abundancia (por ejemplo, albúmina, gammaglobulina y transferrina, etc.), adición de conservantes y calibrantes, adición de inhibidores de proteasa, adición de desnaturalizantes, desalado de muestras, concentración de proteínas de la muestra, extracción y purificación de lípidos.

[0070] La preparación de la muestra también puede aislar moléculas que están unidas en complejos no covalentes a otras proteínas (p. ej., proteínas transportadoras). Este proceso puede aislar aquellas moléculas unidas a una proteína transportadora específica (p. ej., albúmina), o usar un proceso más general, tal como la liberación de moléculas unidas de todas la proteínas transportadoras mediante desnaturalización proteica, por ejemplo usando un ácido, seguido de la eliminación de las proteínas transportadoras.

[0071] La eliminación de proteínas indeseadas (por ejemplo, proteínas de gran abundancia, no informativas o indetectables) de una muestra se puede conseguir usando reactivos de alta afinidad, filtros de alto peso molecular, ultracentrifugación y/o electrodiálisis. Los reactivos de alta afinidad incluyen anticuerpos u otros reactivos (por ejemplo aptámeros) que se unen selectivamente a proteínas de gran abundancia. La preparación de las muestras también podría incluir cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad con iones metálicos, filtración en gel, cromatografía hidrófoba, cromatoenfoco, cromatografía de adsorción, isoelectroenfoco y

técnicas relacionadas. Los filtros para peso molecular incluyen membranas que separan las moléculas tomando como base el tamaño y el peso molecular. Dichos filtros pueden emplear además ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración y microfiltración.

[0072] La ultracentrifugación es un método para eliminar polipéptidos no deseados de una muestra. La

ultracentrifugación es la centrifugación de una muestra a aproximadamente 15.000-60.000 rpm mientras se monitoriza con un sistema óptico la sedimentación (o ausencia de ésta) de las partículas. La electrodiálisis es un procedimiento que usa una electromembrana o membrana semipermeable en un proceso en el que se transportan iones a través de membranas semipermeables de una disolución a otra bajo la influencia de un gradiente de potencial. Como las membranas usadas en electrodiálisis pueden tener la capacidad de transportar selectivamente iones que tienen carga positiva o negativa, rechazar iones de la carga opuesta, o permitir la migración de especies a través de una membrana semipermeable tomando como base el tamaño y la carga, esto hace que la electrodiálisis sea útil para la concentración, eliminación, o separación de electrolitos.

[0073] La separación y purificación en la presente invención puede incluir cualquier procedimiento conocido en la técnica, tal como electroforesis capilar (p. ej., en capilar o en chip) o cromatografía (p. ej., en capilar, columna o en un chip). La electroforesis es un método que se puede usar para separar moléculas iónicas bajo la influencia de un campo eléctrico. La electroforesis se puede realizar en un gel, capilar o en un microcanal de un chip. Los ejemplos de geles usados para electroforesis incluyen almidón, acrilamida, poli(óxidos de etileno), agarosa o combinaciones de los mismos. Un gel se puede modificar mediante su reticulación, adición de detergentes o desnaturalizantes, inmovilización de enzimas o anticuerpos (electroforesis de afinidad) o sustratos (zimografía) y la incorporación de un gradiente de pH. Los ejemplos de capilares usados para electroforesis incluyen capilares que interactúan con un electropulverizador.

[0074] La electroforesis capilar (CE) se prefiere para separar moléculas hidrófilas complejas y solutos altamente cargados. La tecnología de CE se puede poner en práctica también en chips microfluidificados. Dependiendo de los tipos de capilares y tampones usados, la CE se puede segmentar además en técnicas de separación tales como electroforesis capilar en zona (CZE), isoelectroenfoque capilar (CIEF), isotacoforesis capilar (cITP) y electrocromatografía capilar (CEC). Una realización para acoplar las técnicas de CE con la ionización por electropulverización implica el uso de disoluciones volátiles, por ejemplo, mezclas acuosas que contienen un ácido y/o base volátil y un compuesto orgánico tal como un alcohol o acetonitrilo.

[0075] La isotacoforesis capilar (cITP) es una técnica en la que los analitos se mueven a través del capilar a una velocidad constante pero que sin embargo se separan por sus movilidades respectivas. La electroforesis capilar en zona (CZE), también conocida como CE en zona libre (FSCE), se basa en diferencias en la movilidad electroforética de las especies, determinada por la carga de la molécula, y la resistencia friccional que encuentra la molécula durante la migración que a menudo es directamente proporcional al tamaño de la molécula. El isoelectroenfoque capilar (CIEF) permite separar moléculas anfóteras poco ionizables por electroforesis en un gradiente de pH. La CEC es una técnica híbrida entre la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) tradicional y la CE.

[0076] Las técnicas de separación y purificación usadas en la presente invención incluyen cualquier procedimiento cromatográfico conocido en la técnica. La cromatografía se puede basar en la adsorción y elución diferencial de determinados analitos o en el reparto de analitos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Los diferentes ejemplos de cromatografía incluyen, pero sin limitarse a ellos, cromatografía líquida (LC), cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), etc.

Identificación del nivel de PARP

[0077] La poli(ADP-ribosa)-polimerasa (PARP) es conocida también como poli(ADP-ribosa)sintasa y poli-ADP-ribosiltransferasa. La PARP cataliza la formación de polímeros de poli(ADP-ribosa) que se pueden unir a proteínas nucleares (así como a sí mismas) y modificar así las actividades de esas proteínas. La enzima desempeña un papel en la reparación del ADN, pero también desempeña un papel en la regulación de la cromatina de los núcleos (para revisión véase: D. D'amours *et al.* "Poly (ADP-ribosylation reactions in the regulation of nuclear functions", Biochem. J. 342: 249-268 (1999)).

[0078] La PARP-1 comprende un dominio de unión a ADN N-terminal, un dominio de automodificación y un dominio catalítico C-terminal, y diversas proteínas celulares interaccionan con la PARP-1. El dominio de unión a ARN N-terminal contiene dos motivos de dedos de cinc. El factor 1 potenciador de la transcripción (TEF-1), el receptor α de retinoide X, la ADN polimerasa β , el factor 1 de complemento cruzado de reparación por rayos X (XRCC1) y la PARP-1 misma interaccionan con la PARP-1 en este dominio. El dominio de automodificación contiene un motivo BRCT, uno de los módulos de interacción proteína-proteína. Este resto se encuentra originalmente en el C-terminal de BRCA1 (cáncer de mama 1, comienzo precoz) y está presente en varias proteínas relacionadas con la reparación, recombinación del ADN y con el control de la regulación de ciclo celular. El factor 1 de transcripción octamérico que contiene el homeodominio POU (Oct-1), el Yin Yang (YY)1 y la enzima conjugadora de ubiquitina 9 (ubc9) podrían interaccionar con este motivo BRCT en PARP-1.

[0079] Están presentes más de 15 miembros de la familia de genes PARP en el genoma de mamífero. La familia de proteínas PARP y la poli(ADP-ribosa) glicohidrolasa (PARG), que degrada la poli(ADP-ribosa) a ADP-ribosa, podrían estar implicadas en varias funciones reguladoras del ciclo celular incluyendo la respuesta a daños en el ADN y la regulación transcripcional y pueden estar relacionadas con la carcinogénesis y la biología del cáncer en muchos aspectos.

[0080] Se han identificado varias proteínas de la familia de PARP. Se ha encontrado que la tanquirasa es una proteína que interacciona con el factor 1 regulador de telómero (TRF-1) y está implicada en la regulación de telómero. PARP "vault" (bóveda) (VPARP) es un componente del complejo vault, que actúa como un transportador nuclear-citoplásmico. Se han identificado también PARP-2, PARP-3 y PARP inducible por 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TiPARP). Por lo tanto, el metabolismo de la poli(ADP-ribosa) podría estar relacionado con una variedad de funciones reguladoras celulares.

[0081] Un miembro de esta familia de genes es la PARP-1. El producto génico de PARP-1 se expresa a altos niveles en los núcleos de células y depende de la lesión de ADN para su activación. Sin estar vinculado a ninguna teoría, se cree que PARP-1 se une a las roturas de ADN de cadena sencilla o doble a través de un dominio amino terminal de unión al ADN. La unión activa el dominio catalítico carboxiterminal y da como resultado la formación de polímeros de ADP-ribosa en las moléculas diana. La PARP-1 es en sí misma una diana de poli ADP-ribosilación gracias a un dominio de automodificación localizado centralmente. La ribosilación de PARP-1 causa la disociación de las moléculas de PARP-1 del ADN. El proceso completo de unión, ribosilación y disociación ocurre muy rápidamente. Se ha sugerido que esta unión transitoria de PARP-1 a los sitios de daño del ADN da como resultado el reclutamiento de la maquinaria de reparación del ADN o puede actuar para suprimir la recombinación el tiempo suficiente para que se produzca el reclutamiento de la maquinaria de reparación.

[0082] La fuente de ADP-ribosa para la reacción de PARP es el dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD). El NAD se sintetiza en las células a partir de las reservas de ATP celular y así los niveles altos de activación de la actividad de PARP pueden dar lugar rápidamente a la depleción de las reservas energéticas de la célula. Se ha demostrado que la inducción de la actividad de PARP puede dar lugar a la muerte celular que está correlacionada

con la depleción de las reservas celulares de NAD y ATP. La actividad de PARP está inducida en muchos casos por el estrés oxidativo o durante la inflamación. Por ejemplo, durante la reperfusión de tejidos isquémicos se genera óxido nítrico reactivo y el óxido nítrico da como resultado la generación de especies de oxígeno reactivas adicionales incluyendo peróxido de hidrógeno, peroxinitrato y radical hidroxilo. Esta última especie puede dañar directamente al ADN y el daño resultante induce la activación de la actividad de PARP. Frecuentemente, parece que ocurre suficiente activación de la actividad de PARP, de tal modo que las reservas de energía celular se agotan y la célula muere. Se cree que opera un mecanismo similar durante la inflamación cuando las células endoteliales y las células proinflamatorias sintetizan óxido nítrico que da como resultado el daño del ADN oxidativo en las células circundantes y la posterior activación de la actividad de PARP. Se cree que la muerte celular que resulta de la activación de PARP es un factor contribuyente principal en la extensión del daño tisular que resulta del daño por isquemia-reperfusión o de la inflamación.

[0083] En algunas realizaciones, se compara el nivel de PARP en una muestra de un paciente con una muestra patrón predeterminada. La muestra del paciente es típicamente de un tejido enfermo, tal como células o tejidos cancerosos. La muestra patrón puede ser del mismo paciente o de un sujeto diferente. La muestra patrón es típicamente una muestra normal no enferma. Sin embargo, en algunas realizaciones tales como para estadificación de la enfermedad o para evaluación de la eficacia del tratamiento, la muestra patrón es de un tejido enfermo. La muestra patrón puede ser una combinación de muestras de varios sujetos diferentes. En algunas realizaciones, se compara el nivel de PARP de un paciente con un nivel predeterminado. Este nivel predeterminado se obtiene típicamente de muestras normales. Como se describe en la presente memoria, un "nivel predeterminado de PARP" puede ser un nivel de PARP usado, sólo como ejemplo, para evaluar a un paciente que se puede seleccionar para tratamiento, evaluar una respuesta a un tratamiento con inhibidor de PARP, evaluar una respuesta a una combinación de un inhibidor de PARP y un segundo tratamiento con un agente terapéutico, y/o diagnosticar un paciente de cáncer, inflamación, dolor y/o condiciones relacionadas. Se puede determinarse un nivel predeterminado de PARP en poblaciones de pacientes con o sin cáncer. El nivel predeterminado de PARP puede ser un solo número, aplicable igualmente a cada paciente, o el nivel predeterminado de PARP puede variar según subpoblaciones específicas de pacientes. Por ejemplo, los hombres pueden tener un nivel predeterminado de PARP diferente de las mujeres; los no fumadores pueden tener un nivel predeterminado de PARP diferente de los fumadores. La edad, peso y altura de un paciente pueden influir en el nivel predeterminado de PARP del individuo. Además, el nivel predeterminado de PARP puede ser un nivel determinado individualmente para cada paciente. El nivel predeterminado de PARP puede ser cualquier patrón adecuado. Por ejemplo, el nivel predeterminado de PARP se puede obtener a partir del mismo ser humano o de uno diferente para el que se está evaluando una selección de pacientes. En una realización, el nivel predeterminado de PARP se puede obtener a partir de una valoración previa del mismo paciente. De esta manera, se puede monitorizar con el tiempo la progresión de la selección de pacientes. Además, se puede obtener el patrón a partir de una valoración de otro ser humano o de múltiples seres humanos, por ejemplo, grupos seleccionados de seres humanos. De esta manera, se puede comparar la extensión de la selección del ser humano para el que se está valorando la selección con otros seres humanos adecuados, por ejemplo, otros seres humanos que están en situación similar al ser humano de interés, tales como aquellos que padezcan afecciones similares o idénticas.

[0084] El análisis de los niveles de PARP en pacientes es particularmente valioso e informativo, ya que permite al médico seleccionar más eficazmente los mejores tratamientos, así como utilizar tratamientos y regímenes de terapia más agresivos tomando como base el nivel regulado al alza o regulado a la baja de PARP. El tratamiento más agresivo, o los tratamientos y regímenes de combinación, pueden servir para contrarrestar un mal pronóstico y el

tiempo de supervivencia global del paciente. Provisto de esta información, el profesional médico puede elegir proporcionar ciertos tipos de tratamiento tales como tratamiento con inhibidores de PARP y/o una terapia más agresiva.

[0085] En la monitorización de los niveles de PARP de un paciente, durante un periodo de tiempo, que puede ser de días, semanas, meses, y en algunos casos, años, o varios intervalos de éstos, la muestra de fluido corporal del paciente, p. ej., suero o plasma, se puede recoger a intervalos, según lo determine el profesional sanitario, tal como un médico o clínico, para determinar los niveles de PARP, y compararlos con los niveles de individuos normales durante el curso o tratamiento o enfermedad. Por ejemplo, se pueden tomar y monitorizar muestras del paciente cada mes, cada dos meses o combinaciones de intervalos de uno, dos o tres meses según la invención. Además, los niveles de PARP del paciente obtenidos con el tiempo se pueden comparar convenientemente entre sí, así como con los niveles de PARP de controles normales, durante el periodo de monitorización, proporcionando así los valores de PARP propios del paciente, como control interno o personal, para monitorización de PARP a largo plazo.

USO TERAPÉUTICO DE LOS INHIBIDORES DE PARP Y DE LOS INHIBIDORES DE LA TOPOISOMERASA

Tipos de cáncer

[0086] La invención proporciona métodos para tratar varios cánceres o tumores específicos. Por ejemplo, los tipos de cáncer incluyen cáncer corticosuprarrenal, cáncer anal, anemia aplásica, cáncer de los conductos biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, metástasis ósea, tumores cerebrales del SNC en adultos, tumores cerebrales del SNC en niños, enfermedad de Castleman, cáncer de cuello uterino, linfoma infantil no Hodgkin, cáncer de colon y de recto (colorrectal), cáncer de esófago, familia de tumores de Ewing, cáncer ocular, cáncer de la vesícula biliar, tumores carcinoides gastrointestinales, tumores estromales gastrointestinales, enfermedad trofoblástica gestacional, enfermedad de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer laríngeo e hipofaríngeo, leucemia aguda linfocítica, leucemia mieloide aguda, leucemia infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, tumores carcinoides de pulmón, linfoma no Hodgkin, mesotelioma maligno, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico, cáncer de la cavidad nasal y paranasal, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer de la cavidad oral y orofaríngeo, osteosarcoma, cáncer pancreático, cáncer de pene, tumor hipofisario, cáncer de próstata, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de las glándulas salivares, sarcoma (cáncer de tejidos blandos en adultos), cáncer melanoma de la piel, cáncer de la piel no melanoma, cáncer de estómago, cáncer de testículos, cáncer de timo, cáncer de tiroides, cáncer vaginal, cáncer vulvar, macroglobulinemia de Waldenstrom y cánceres de origen vírico y cánceres asociados a virus.

[0087] El carcinoma de la glándula tiroides es el tumor maligno más común del sistema endocrino. El carcinoma de la glándula tiroides incluye tumores diferenciados (papilares o foliculares) y tumores poco diferenciados (medulares o anaplásicos). Los carcinomas de la vagina incluyen carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, melanoma y sarcoma. El cáncer de testículo se divide en general en los tipos de seminoma y no seminoma.

[0088] Los timomas son tumores epiteliales del timo que pueden o no estar infiltrados de modo extensivo por linfocitos no neoplásicos. El término timoma se usa habitualmente para describir neoplasmas que no muestran una atipia manifiesta del componente epitelial. Un tumor epitelial tímico que presenta atipia citológica bien definida y características histológicas que ya no son específicas del timo se conoce como carcinoma tímico (también conocido como timoma de tipo C).

[0089] Los métodos proporcionados por la invención pueden comprender la administración de los compuestos de benzamida con los inhibidores de la topoisomerasa en combinación con otras terapias. La elección de la terapia que

se puede coadministrar con las composiciones de la invención dependerá, en parte, de la afección a tratar. Por ejemplo, para tratar la leucemia mieloide aguda, se puede usar un compuesto de benzamida de algunas realizaciones de la invención en combinación con radioterapia, terapia de anticuerpos monoclonales, quimioterapia, trasplante de médula ósea, terapia génica, terapia de ADN/ARN, terapia adyuvante, nanoterapia, terapia neoadyuvante, inmunoterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de cuello uterino

[0100] En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar el cáncer de cuello uterino, preferiblemente un adenocarcinoma en el epitelio del cuello del útero. Existen dos tipos principales de este cáncer: carcinoma de células escamosas y adenocarcinomas. El primero constituye aproximadamente 80-90 % de todos los cánceres de cuello uterino y se desarrolla donde se unen el ectocervix (parte más próxima a la vagina) y el endocervix (parte más próxima al útero). El último se desarrolla en las células de las glándulas que producen moco del endocervix. Algunos cánceres de cuello uterino tienen características de estos dos tipos y se denominan carcinomas adenoescamosos o carcinomas mixtos.

[0101] Los tratamientos principales disponibles para el cáncer de cuello uterino son cirugía, inmunoterapia, radioterapia y quimioterapia. Algunas posibles opciones quirúrgicas son criocirugía, una histerectomía y una histerectomía radical. La radioterapia para los pacientes de cáncer de cuello uterino incluye radioterapia externa o braquiterapia. Los fármacos anticancerosos que se pueden administrar como parte de la quimioterapia para tratar el cáncer de cuello uterino incluyen cisplatino, carboplatino, hidroxiaurea, irinotecán, bleomicina, vincristina, mitomicina, ifosfamida, fluorouracilo, etopósido, metotrexato y combinaciones de los mismos.

[0102] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de cuello uterino, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de próstata

[0103] En otro aspecto, la invención proporciona métodos para tratar el cáncer de próstata, preferiblemente un cáncer de próstata seleccionado entre los siguientes: un adenocarcinoma o un adenocarcinoma que ha migrado al hueso. El cáncer de próstata se desarrolla en los hombres en el órgano prostático, que rodea la primera parte de la uretra. La próstata tiene varios tipos de células pero el 99 % de los tumores son adenocarcinomas que se desarrollan en las células glandulares responsables de generar el fluido seminal.

[0104] La cirugía, inmunoterapia, radioterapia, criocirugía, terapia hormonal y quimioterapia son algunos tratamientos disponibles para los pacientes con cáncer de próstata. Los posibles procedimientos quirúrgicos para tratar el cáncer de próstata incluyen prostatectomía retropúbica radical, una prostatectomía perineal radical y una prostatectomía radical laparoscópica. Algunas opciones de radioterapia son radiación externa incluyendo radioterapia conformacional tridimensional, radioterapia de intensidad modulada y radioterapia conformacional de rayos de protones. También está disponible la braquiterapia (implantación seminal o radioterapia intersticial) para el tratamiento del cáncer de próstata. La criocirugía es otro método posible para tratar las células de cáncer de próstata localizadas.

[0105] Para tratar el cáncer de próstata se puede usar terapia hormonal, también denominada terapia de privación de andrógenos o terapia de supresión de andrógenos. Se dispone de varios métodos de esta terapia incluyendo una orquiectomía en la que los testículos, donde se produce el 90 % de los andrógenos, se extirpan. Otro método es la administración de análogos de la hormona de liberación de hormona luteinizante (LHRH) para reducir los niveles de

andrógenos. Los análogos de LHRH disponibles incluyen leuprolida, goserelina, triptorelina e histrelina. También se puede administrar un antagonista de LHRH, tal como abarelix.

[0106] El tratamiento con un agente antiandrógenos que bloquea la actividad de los andrógenos en el cuerpo es otra terapia disponible. Estos agentes incluyen flutamida, bicalutamida y nilutamida. Esta terapia se combina típicamente con la administración de un análogo de LHRH o una orquiectomía, que se denomina bloqueo de andrógenos combinado (CAB).

[0107] La quimioterapia puede ser apropiada cuando un tumor de próstata se ha extendido al exterior de la glándula prostática y el tratamiento hormonal no es eficaz. Se pueden administrar fármacos anticancerosos tales como doxorubicina, estramustina, etopósido, mitoxantrona, vinblastina, paclitaxel, docetaxel, carboplatino y prednisona, para ralentizar el crecimiento del cáncer de próstata, reducir los síntomas y mejorar la calidad de vida.

[0108] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de próstata, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

15 *Cáncer pancreático*

[0109] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el cáncer pancreático, preferiblemente un cáncer pancreático seleccionado entre los siguientes: un carcinoma epitelióide en el tejido ductal pancreático y un adenocarcinoma en un conducto pancreático.

[0110] El tipo más común de cáncer pancreático es un adenocarcinoma, que aparece en el revestimiento del conducto pancreático. Los posibles tratamientos disponibles para el cáncer pancreático son cirugía, inmunoterapia, radioterapia y quimioterapia. Las posibles opciones de tratamiento quirúrgico incluyen una pancreatectomía distal o total y una pancreaticoduodenectomía (procedimiento de Whipple).

[0111] La radioterapia puede ser una opción para los pacientes con cáncer pancreático, específicamente la radiación externa donde la radiación se enfoca sobre el tumor por una máquina exterior al cuerpo. Otra opción es la radiación con haces de electrones intraoperativos administrada durante una operación.

[0112] Se puede usar quimioterapia para tratar a los pacientes con cáncer pancreático. Los fármacos anticancerosos apropiados incluyen 5-fluorouracilo (5-FU), mitomicina, ifosfamida, doxorubicina, estreptozocina, clorozotocina y combinaciones de los mismos.

[0113] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer pancreático, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de vejiga

[0114] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el cáncer de vejiga, preferiblemente un carcinoma de células de transición de la vejiga urinaria. Los cánceres de vejiga son carcinomas uroteliales (carcinomas de células transicionales) o tumores en las células uroteliales que revisten la vejiga. Los demás casos de cánceres de vejiga son carcinomas de células escamosas, adenocarcinomas y cánceres de células pequeñas. Existen varios subtipos de carcinomas uroteliales dependiendo de si son no invasivos o invasivos y si son papilares o planos. Los tumores no invasivos están en el urotelio, la capa más interna de la vejiga, mientras que los tumores invasivos se han extendido desde el urotelio a las capas más profundas de la pared muscular principal de la vejiga. Los carcinomas uroteliales papilares invasivos son proyecciones finas parecidas a dedos que se ramifican hacia el interior del centro

huevo de la vejiga y también crecen hacia el exterior en la pared de la vejiga. Los tumores uroteliales papilares no invasivos crecen hacia el centro de la vejiga. Mientras que un tumor urotelial plano no invasivo (también denominado carcinoma plano *in situ*) está limitado a la capa de las células más próximas a la parte hueca interior de la vejiga, un carcinoma urotelial plano invasivo invade la capa más profunda de la vejiga, particularmente la capa muscular.

[0115] Para tratar el cáncer de vejiga, se puede aplicar cirugía, radioterapia, inmunoterapia, quimioterapia o una combinación de las mismas. Algunas opciones quirúrgicas posibles son una resección transuretral, una cistectomía o una cistectomía radical. La radioterapia para el cáncer de vejiga puede incluir radiación externa y braquiterapia.

[0116] La inmunoterapia es otro método que se puede usar para tratar a un paciente con cáncer de vejiga.

Típicamente, esto se realiza intravesicalmente, que es la administración de un agente de tratamiento directamente en la vejiga por medio de un catéter. Un método es el Bacillus Calmette-Guerin (BCG) donde una bacteria utilizada a veces en la vacuna contra la tuberculosis se administra directamente a la vejiga a través de un catéter. El cuerpo crea una respuesta inmunitaria contra la bacteria, atacando de esta manera y destruyendo las células cancerosas.

[0117] Otro método de inmunoterapia es la administración de interferones, glicoproteínas que modulan la respuesta inmunitaria. A menudo se usa el interferón alfa para tratar el cáncer de vejiga.

[0118] Los fármacos anticancerosos que se pueden usar en quimioterapia para tratar el cáncer de vejiga incluyen titepa, metotrexato, vinblastina, doxorubicina, ciclofosfamida, paclitaxel, carboplatino, cisplatino, ifosfamida, gemcitabina o combinaciones de los mismos.

[0119] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de vejiga, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de colon y cáncer rectal

[0090] En otro aspecto, la invención proporciona métodos para tratar los cánceres colorrectales. En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un sujeto compuestos de benzopirona solos. En otras realizaciones, el método comprende administrar a un sujeto compuestos de benzopirona en combinación con uno o más agentes anti-tumorales como se listan en esta memoria.

[0091] El cáncer colorrectal incluye crecimientos cancerosos en el colon, recto y apéndice. Muchos cánceres colorrectales se cree que surgen de pólipos adenomatosos en el colon. El cáncer colorrectal se origina de las células epiteliales que revisten el tracto gastrointestinal. Mutaciones hereditarias o somáticas en secuencias específicas de ADN, entre las que se incluyen los genes de replicación del ADN o los genes de reparación del ADN, y también los genes APC, K-Ras, NOD2 y p53, llevan a una división celular no restringida. La terapia es usualmente por medio de cirugía, que en muchos casos va seguida de quimioterapia. El bacilo de Calmette-Guérin (BCG) está siendo investigado como un adyuvante en mezcla con células tumorales autólogas en la inmunoterapia para el cáncer colorrectal.

[0092] Más del 20 % de pacientes presentan cáncer colorrectal con metástasis (etapa IV) al tiempo de la diagnosis, y hasta el 25 % de este grupo han aislado metástasis en hígado que potencialmente puede ser sometido a resección. Los pacientes con cáncer de colon y enfermedad metastásica de hígado pueden ser tratados con cirugía simple o con cirugías en etapas dependiendo de la capacidad del paciente para una cirugía prolongada, de la dificultad esperada con el procedimiento de resección del colon o del hígado, y de la comodidad de la cirugía para realizar potencialmente una cirugía hepática compleja.

[0093] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer colorrectal, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

5 **Leucemia mieloide aguda**

[0120] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar la leucemia mieloide aguda (AML), preferiblemente la leucemia promielocítica aguda en sangre periférica. La AML empieza en la médula ósea pero se puede extender a otras partes del cuerpo incluyendo los ganglios linfáticos, hígado, bazo, sistema nervioso central y testículos. Es aguda, lo que significa que se desarrolla rápidamente y puede ser fatal si no se trata en unos pocos meses. La AML se caracteriza por células de médula ósea inmaduras, normalmente granulocitos o monocitos, que continúan reproduciéndose y acumulándose.

[0121] La AML se puede tratar por inmunoterapia, radioterapia, quimioterapia, trasplante de células madre de médula ósea o de sangre periférica o una combinación de los mismos. La radioterapia incluye radiación externa y puede tener efectos secundarios. Los fármacos anticancerosos que se pueden usar en quimioterapia para tratar la AML incluyen citarabina, antraciclina, antracenodiona, idarubicina, daunorubicina, mitoxantrona, tioguanina, vincristina, prednisona, etopósido o una combinación de los mismos.

[0122] Se puede usar una terapia con anticuerpos monoclonales para tratar a los pacientes con AML. Se pueden unir moléculas pequeñas o agentes químicos radiactivos a esos anticuerpos antes de la administración a un paciente para proporcionar una forma de destruir las células de leucemia en el cuerpo. Se puede usar el anticuerpo monoclonal gemtuzumab ozogamicina, que se une a CD33 en las células AML, para tratar a los pacientes con AML que no pueden tolerar los regímenes de quimioterapia anteriores.

[0123] Para tratar a los pacientes con AML se puede usar un trasplante de células madre de médula ósea o de sangre periférica. Algunos procedimientos de trasplante posibles son un trasplante alogénico o un trasplante autólogo.

[0124] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de leucemia, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

[0125] Hay otros tipos de leucemia que también se pueden tratar por los métodos proporcionados por la invención que incluyen, pero sin limitarse a ellos, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, tricoleucemia, mielodisplasia y trastornos mieloproliferativos.

Cáncer de pulmón

[0126] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el cáncer de pulmón. El tipo más común de cáncer de pulmón es el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), que supone aproximadamente el 80-85 % de los cánceres pulmonares y se divide en carcinomas de células escamosas, adenocarcinomas y carcinomas no diferenciados de células grandes. El cáncer de pulmón microcítico supone el 15-20 % de los cánceres de pulmón.

[0127] El cáncer de pulmón de células pequeñas es una enfermedad en la que las células malignas (cáncer) se forman en los tejidos del pulmón. Hay tres tipos de cáncer de pulmón de células pequeñas. Estos tres tipos incluyen muchos tipos diferentes de células. Las células cancerosas de cada tipo crecen y se extienden de diferentes modos. Los tipos de cáncer de pulmón de células pequeñas se denominan según las clases de células encontradas en el cáncer y según el aspecto de las células cuando se miran al microscopio: carcinoma de células pequeñas (cáncer de

células en avena); carcinoma mixto de células pequeñas/células grandes; y carcinoma combinado de células pequeñas. Para la mayoría de los pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas, los tratamientos actuales no curan el cáncer.

[0128] Las opciones de tratamiento para el cáncer de pulmón incluyen cirugía, inmunoterapia, radioterapia, quimioterapia, terapia fotodinámica o una combinación de las mismas. Algunas opciones quirúrgicas posibles para el tratamiento de cáncer de pulmón son una resección segmental o en cuña, una lobectomía o una neumonectomía. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia.

[0129] Algunos fármacos anticancerosos que se pueden usar en quimioterapia para tratar el cáncer de pulmón incluyen cisplatino, carboplatino, paclitaxel, docetaxel, gemcitabina, vinorelbina, irinotecán, etopósido, vinblastina, gefitinib, ifosfamida, metotrexato o una combinación de los mismos. Se puede usar la terapia fotodinámica (PDT) para tratar a los pacientes con cáncer de pulmón.

[0130] Los métodos descritos aquí pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de pulmón, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de piel

[0131] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el cáncer de piel. Hay varios tipos de cáncer que empiezan en la piel. Los tipos más comunes son el carcinoma de células basales y el carcinoma de células escamosas, que son cánceres de piel no melanomas. La queratosis actínica es una afección cutánea que algunas veces evoluciona hasta un carcinoma de células escamosas. Los cánceres de piel no melanomas rara vez se extienden a otras partes del cuerpo. El melanoma, la forma más rara de cáncer de piel, tiene mayor probabilidad de invadir tejidos cercanos y extenderse a otras partes del cuerpo. Se dispone de diferentes tipos de tratamiento para los pacientes con cáncer de piel no melanoma y melanoma y queratosis actínica incluyendo cirugía, radioterapia, quimioterapia y terapia fotodinámica. Algunas opciones quirúrgicas posibles para el tratamiento del cáncer de piel son cirugía micrográfica de mohs, escisión simple, electrodesecación y curetaje, criocirugía y cirugía con láser. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia. Otros tipos de tratamiento que se están ensayando en ensayos clínicos son la terapia biológica o inmunoterapia, quimioinmunoterapia, quimioterapia tópica con fluorouracilo y terapia fotodinámica.

[0132] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de piel, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de ojo, retinoblastoma

[0133] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el retinoblastoma ocular. El retinoblastoma es un tumor maligno de la retina. Aunque el retinoblastoma puede aparecer a cualquier edad, la mayoría de las veces se produce en niños pequeños, normalmente antes de los 5 años. El tumor puede estar únicamente en un ojo o en los dos ojos. El retinoblastoma normalmente se limita al ojo y no se extiende al tejido cercano o a otras partes del cuerpo. Las opciones del tratamiento que intentan curar al paciente y conservar la visión incluyen enucleación (cirugía para extraer el ojo), radioterapia, crioterapia, fotocoagulación, inmunoterapia, termoterapia y quimioterapia. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia.

[0134] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de retinoblastoma ocular, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la

topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de ojo, melanoma intraocular

[0135] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el melanoma intraocular (ojo). El melanoma intraocular, un cáncer raro, es una enfermedad en la que las células cancerosas se encuentran en la parte del ojo denominada úvea. La úvea incluye el iris, el cuerpo ciliar y la coroides. El melanoma intraocular aparece la mayoría de las veces en personas de mediana edad. Los tratamientos para el melanoma intraocular incluyen cirugía, inmunoterapia, radioterapia y terapia con láser. La cirugía es el tratamiento más común del melanoma intraocular. Algunas opciones quirúrgicas posibles son iridectomía, iridotrabeculectomía, iridociclectomía, coroidectomía, enucleación y exenteración orbital. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia. La terapia con láser puede ser un haz intensamente potente de luz para destruir el tumor, termoterapia o fotocoagulación.

[0136] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de melanoma intraocular, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de hígado

[0137] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el cáncer hepático primario (el cáncer que empieza en el hígado). El cáncer hepático primario se puede producir tanto en adultos como en niños. Se dispone de diferentes tipos de tratamiento para pacientes con cáncer hepático primario. Éstos incluyen cirugía, inmunoterapia, radioterapia, quimioterapia e inyección percutánea de etanol. Los tipos de cirugía que se pueden usar son criocirugía, hepatectomía parcial, hepatectomía total y ablación por radiofrecuencia. La radioterapia puede ser radioterapia externa, braquiterapia, radiosensibilizadores o anticuerpos radiomarcadores. Otros tipos de tratamiento incluyen terapia de hipertermia e inmunoterapia.

[0138] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de hígado, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de riñón

[0139] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el cáncer de riñón. El cáncer de riñón (también denominado cáncer de células renales o adenocarcinoma renal) es una enfermedad en la que se encuentran células malignas en el revestimiento de los túbulos del riñón. El cáncer de riñón se puede tratar por cirugía, radioterapia, quimioterapia e inmunoterapia. Algunas opciones quirúrgicas posibles para tratar el cáncer de riñón son nefrectomía parcial, nefrectomía simple y nefrectomía radical. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia. Se puede usar el trasplante de células madre para tratar el cáncer de riñón.

[0140] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de riñón, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de tiroides

[0141] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el cáncer de tiroides. El cáncer de tiroides es una enfermedad en la que se encuentran células cancerosas (malignas) en los tejidos de la glándula tiroides. Los cuatro

114

tipos principales de cáncer de tiroides son papilar, folicular, medular y anaplásico. El cáncer de tiroides se puede tratar por medio de cirugía, inmunoterapia, radioterapia, terapia hormonal y quimioterapia. La cirugía es el tratamiento más común del cáncer de tiroides. Algunas opciones quirúrgicas posibles para el tratamiento del cáncer de tiroides son lobectomía, tiroidectomía casi total, tiroidectomía total y disección de ganglios linfáticos. La radioterapia puede ser radioterapia externa o puede requerir la introducción de un líquido que contiene yodo radiactivo. La terapia hormonal usa hormonas para detener el crecimiento de las células cancerosas. En el tratamiento del cáncer de tiroides, se pueden usar hormonas para detener la fabricación por parte del cuerpo de otras hormonas que podrían hacer que crecieran las células cancerosas.

[0142] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de tiroides, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cánceres relacionados con el SIDA

Linfoma relacionado con el SIDA

[0143] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el linfoma relacionado con el SIDA. El linfoma relacionado con el SIDA es una enfermedad en la que se forman células malignas en el sistema linfático de pacientes que tienen el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El SIDA se produce por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), que ataca y debilita el sistema inmunitario del cuerpo. El sistema inmunitario no puede luchar entonces contra las infecciones y enfermedades que invaden el cuerpo. Las personas con la enfermedad por VIH tienen un mayor riesgo de desarrollar infecciones, linfoma y otros tipos de cáncer. Los linfomas son cánceres que afectan a los glóbulos blancos del sistema linfático. Los linfomas se dividen en dos tipos generales: linfoma de Hodgkin y linfoma no Hodgkin. Tanto el linfoma de Hodgkin como el linfoma no Hodgkin pueden aparecer en pacientes con SIDA, pero el linfoma no Hodgkin es más común. Cuando una persona con SIDA tiene linfoma no Hodgkin, éste se denomina linfoma relacionado con el SIDA. Los linfomas no Hodgkin pueden ser indolentes (de crecimiento lento) o agresivos (de crecimiento rápido). El linfoma relacionado con el SIDA normalmente es agresivo. Los tres tipos principales de linfomas relacionados con el SIDA son linfoma difuso de células B grandes, linfoma inmunoblástico de células B y linfoma de células pequeñas no hendidas.

[0144] El tratamiento del linfoma relacionado con el SIDA combina el tratamiento del linfoma con el tratamiento del SIDA. Los pacientes con SIDA tienen el sistema inmunitario debilitado y el tratamiento puede causar daños adicionales. Por esta razón, los pacientes que tienen linfoma relacionado con el SIDA usualmente son tratados con dosis más bajas de fármacos que los pacientes con linfoma que no tienen SIDA. Se utiliza terapia antirretroviral altamente activa (HAART) para reducir la progresión del VIH. También se usan medicinas para prevenir y tratar infecciones, que pueden ser graves. Los linfomas relacionados con el SIDA se pueden tratar por quimioterapia, inmunoterapia, radioterapia y quimioterapia de dosis altas con trasplante de células madre. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia. Los linfomas relacionados con el SIDA se pueden tratar por medio de una terapia de anticuerpos monoclonales.

[0145] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de linfoma relacionado con el SIDA, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Sarcoma de Kaposi

[0146] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar el sarcoma de Kaposi. El sarcoma de Kaposi es una enfermedad en la que se encuentran células cancerosas en los tejidos debajo de la piel o en membranas mucosas que revisten la boca, la nariz y el ano. El sarcoma de Kaposi clásico normalmente aparece en hombres de edad avanzada de origen judío, italiano o mediterráneo. Este tipo de sarcoma de Kaposi progresa lentamente, algunas veces durante 10 a 15 años. El sarcoma de Kaposi puede aparecer en personas que estén tomando inmunodepresores. El sarcoma de Kaposi en pacientes que tienen el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) se denomina sarcoma de Kaposi epidémico. El sarcoma de Kaposi en personas con SIDA normalmente se extiende más rápidamente que otros tipos de sarcoma de Kaposi y a menudo se encuentra en muchas partes del cuerpo. El sarcoma de Kaposi se puede tratar con cirugía, quimioterapia, radioterapia e inmunoterapia. La radioterapia externa es un tratamiento común en el sarcoma de Kaposi. Algunas opciones quirúrgicas posibles para tratar el sarcoma de Kaposi son escisión local, electrodesecación y curetaje y crioterapia.

[0147] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para el sarcoma de Kaposi, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cánceres inducidos por virus

[0148] Algunas realizaciones proporcionan métodos para tratar cánceres inducidos por virus. Algunos virus comunes son factores claramente o probablemente causantes en la etiología de tumores malignos específicos. Estos virus normalmente establecen latencia o unos pocos se pueden convertir en infecciones persistentes. La oncogénesis probablemente está asociada con un mayor nivel de activación viral en el hospedante infectado, reflejando una dosis viral pesada o un control inmunitario comprometido. Los sistemas de tumores malignos por virus principales incluyen el virus de la hepatitis B (HBV), el virus de la hepatitis C (HCV) y el carcinoma hepatocelular; el virus linfotrópico humano de tipo I (HTLV-I) y la leucemia/linfoma de células T en adultos; y el virus del papiloma humano (HPV) y el cáncer de cuello uterino. En general, estos tumores malignos se producen a una edad relativamente temprana, alcanzando típicamente un máximo en la edad mediana o antes.

Carcinoma hepatocelular inducido por virus

[0149] La relación causal entre HBV y HCV y el carcinoma hepatocelular o el cáncer de hígado se establece por medio de una evidencia epidemiológica sustancial. Ambos parecen actuar por medio de una replicación crónica en el hígado provocando la muerte celular y la posterior regeneración. Se dispone de diferentes tipos de tratamientos para los pacientes con cáncer de hígado. Éstos incluyen cirugía, inmunoterapia, radioterapia, quimioterapia e inyección percutánea de etanol. Los tipos de cirugía que se pueden usar son criocirugía, hepatectomía parcial, hepatectomía total y ablación por radiofrecuencia. La radioterapia puede ser radioterapia externa, braquiterapia, radiosensibilizadores o anticuerpos radiomarcadores. Otros tipos de tratamiento incluyen terapia de hipertermia e inmunoterapia.

[0150] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes con carcinoma hepatocelular inducido por virus, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, inyección percutánea de etanol, terapia de hipotermia e inmunoterapia, o una combinación de las mismas.

Leucemia/linfoma de células T en adultos inducida por virus

[0151] La asociación entre HTLV-1 y la leucemia de células T en adultos (ATL) está firmemente establecida. A diferencia de los otros virus oncogénicos encontrados en todo el mundo, el HTLV-1 está muy restringido geográficamente, encontrándose principalmente en el sur de Japón, en el Caribe, en África occidental y central y en las islas del Sur del Pacífico. Las pruebas de causalidad incluyen la integración monoclonal del genoma viral en casi todos los casos de ATL en los portadores. Los factores de riesgo para el tumor maligno asociado a HTLV-1 parecen ser infección perinatal, alta carga viral y ser del sexo masculino.

[0152] La leucemia de células T en adultos es un cáncer de la sangre y de la médula ósea. Los tratamientos convencionales para la leucemia/linfoma de células T en adultos son radioterapia, inmunoterapia y quimioterapia. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia. Otros métodos para tratar la leucemia/linfoma de células T en adultos incluyen inmunoterapia y quimioterapia de dosis altas con trasplante de células madre.

[0153] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes con leucemia de células T en adultos, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia y quimioterapia de dosis altas con trasplante de células madre, o una combinación de las mismas.

Cáncer de cuello uterino inducido por virus

[0154] La infección del cuello del útero con el papilomavirus humano (HPV) es la causa más común del cáncer de cuello uterino. Sin embargo, no todas las mujeres con infección por HPV desarrollarán cáncer de cuello uterino. El cáncer de cuello uterino normalmente se desarrolla lentamente a lo largo del tiempo. Antes de que aparezca el cáncer en el cuello del útero, las células del cuello del útero pasan por cambios conocidos como displasia, en la que empiezan a aparecer células que no son normales en el tejido del cuello uterino. Posteriormente, las células cancerosas empiezan a crecer y a extenderse más profundamente en el cuello del útero y en las áreas circundantes. Los tratamientos convencionales para los cánceres de cuello uterino son cirugía, inmunoterapia, radioterapia y quimioterapia. Los tipos de cirugía que se pueden usar son conización, histerectomía total, salpingo-ooforectomía bilateral, histerectomía radical, exenteración pélvica, criocirugía, cirugía con láser y procedimiento de escisión con asa electroquirúrgica. La radioterapia puede ser radioterapia externa o braquiterapia.

[0155] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para el cáncer de cuello uterino en adultos, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cánceres del SNC

[0156] Los tumores cerebrales y de la médula espinal son crecimientos anormales del tejido encontrado dentro del cráneo o de la columna vertebral, que son los componentes principales del sistema nervioso central (SNC). Los tumores benignos no son cancerosos y los tumores malignos son cancerosos. El SNC está alojado dentro de compartimentos óseos rígidos (es decir, el cráneo y la columna vertebral), de forma que cualquier crecimiento anormal, ya sea benigno o maligno, puede ejercer presión sobre tejidos sensibles e impedir su función. Los tumores que se originan en el cerebro o en la médula espinal se denominan tumores primarios. La mayoría de los tumores primarios se producen por un crecimiento fuera de control entre las células que rodean y soportan las neuronas. En un número pequeño de individuos, los tumores primarios se pueden producir por enfermedades genéticas específicas (por ejemplo, neurofibromatosis, esclerosis tuberosa) o por la exposición a radiación o a agentes químicos causantes de cáncer. La causa de la mayoría de los tumores primarios sigue siendo un misterio.

111

[0157] El primer ensayo para diagnosticar los tumores cerebrales y de la médula espinal es un examen neurológico. También se emplean técnicas de formación de imágenes especiales (tomografía computarizada y formación de imágenes por resonancia magnética, tomografía de emisión de positrones). Los ensayos de laboratorio incluyen el EEG y la punción lumbar. Una biopsia, un procedimiento quirúrgico en el que se extrae una muestra de tejido de un tumor sospechoso, ayuda a los médicos a diagnosticar el tipo de tumor.

[0158] Los tumores se clasifican de acuerdo con el tipo de célula de la que parece proceder el tumor. El tumor cerebral primario más común en adultos procede de células del cerebro denominadas astrocitos que constituyen la barrera hematoencefálica y contribuyen a la nutrición del sistema nervioso central. Estos tumores se denominan gliomas (astrocitoma, astrocitoma anaplásico o glioblastoma multiforme) y constituyen el 65 % de todos los tumores primarios del sistema nervioso central. Algunos de los tumores son, pero sin limitarse a ellos, oligodendroglioma, ependimoma, meningioma, linfoma, schwannoma y meduloblastoma.

Tumores neuroepiteliales del SNC

[0159] Tumores astrocíticos, tales como astrocitoma; astrocitoma anaplásico (maligno), tales como hemisférico, diencefálico, óptico, del tallo cerebral, cerebelar; glioblastoma multiforme; astrocitoma pilocítico, tal como hemisférico, diencefálico, óptico, del tallo cerebral, cerebelar; astrocitoma subependimario de células gigantes; y xantoastrocitoma pleomórfico. Tumores oligodendrogliales, tales como oligodendroglioma; y oligodendroglioma anaplásico (maligno). Tumores de células ependimales, tales como ependimoma; ependimoma anaplásico; ependimoma mixopapilar; y subependimoma. Gliomas mixtos, tales como oligoastrocitoma mixto; oligoastrocitoma anaplásico (maligno); y otros (por ejemplo, ependimo-astrocitomas). Tumores neuroepiteliales de origen incierto, tales como espongiblastoma polar; astroblastoma; y gliomatosis cerebri. Tumores del plexo coroideo, tal como papiloma del plexo coroideo; y carcinoma del plexo coroideo (papiloma anaplásico del plexo coroideo). Tumores gliales-neurales mixtos y tumores neurales, tales como gangliocitoma; gangliocitoma displásico del cerebelo (Lhermitte-Duclos); ganglioglioma; ganglioglioma anaplásico (maligno); ganglioglioma desmoplásico infantil, tal como astrocitoma desmoplásico infantil; neurocitoma central; tumor neuroepitelial disembrionario; neuroblastoma olfatorio (esthesioneuroblastoma). Tumores del parénquima pineal, tales como pineocitoma; pineoblastoma; y pineocitoma/pineoblastoma mixto. Tumores con elementos neuroblásticos o glioblásticos (tumores embrionarios), tales como meduloepitelioma; tumores neuroectodérmicos primitivos con diferenciación multipotente, tales como meduloblastoma; tumor neuroectodérmico primitivo cerebral; neuroblastoma; retinoblastoma; y ependimoblastoma.

Otros neoplasmas del SNC

[0160] Tumores de la región selar, tales como adenoma de pituitaria; carcinoma de pituitaria; y craneofaringioma. Tumores hematopoyéticos, tales como linfomas malignos primarios; plasmacitoma; y sarcoma granulocítico. Tumores de células germinales, tales como germinoma; carcinoma embrionario; tumor del saco vitelino (tumor del seno endodérmico); coriocarcinoma; teratoma; y tumores mixtos de células germinales. Tumores de las meninges, tales como meningioma; meningioma atípico; y meningioma anaplásico (maligno). Tumores no meningoteliales de las meninges, tales como mesénquima benigno; mesénquima maligno; lesiones melanocíticas primarias; neoplasmas hematopoyéticos; y tumores de histogénesis incierta, tales como hemangioblastoma (hemangioblastoma capilar). Tumores de los nervios craneales y espinales, tales como schwannoma (neurinoma, neurilemoma); neurofibroma; tumor maligno de vaina nerviosa periférica (schwannoma maligno), tal como diferenciación epiteloide, mesenquimática divergente o epitelial, y melanótico. Extensiones locales de tumores regionales; tales como paraganglioma (quimiodectoma); cordoma; codroma; condrosarcoma; y carcinoma. Tumores metastásicos, tumores

no clasificados y quistes y lesiones de tipo tumoral, tales como quistes de la bolsa de Rathke; epidermoide; dermoide; quiste coloide del tercer ventrículo; quiste enterógeno; quiste neuroglial; tumor de células granulares (coristoma, pituitoma); hamartoma neuronal hipotalámico; heterotopia glial nasal; y granuloma de células plasmáticas.

5 [0161] Los agentes quimioterapéuticos disponibles son, pero sin limitarse a ellos, agentes alquilantes tales como ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, BCNU, CCNU, decarbazina, procarbazina, busulfán y tiotepa; antimetabolitos tales como metotrexato, 5-fluorouracilo, citarabina, gemcitabina (GEMZAR), 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fludarabina y cladribina; antraciclinas tales como daunorubicina, doxorubicina, idarubicina, epirubicina y mitoxantrona; antibióticos tales como bleomicina; camptotecinas tales como irinotecán y topotecán; taxanos tales como paclitaxel y docetaxel; y platinos tales como cisplatino, carboplatino y oxaliplatino.

10 [0162] Los tratamientos son cirugía, radioterapia, inmunoterapia, hipertermia, terapia génica, quimioterapia y combinación de radiación y quimioterapia. Los médicos también pueden recetar esteroides para reducir la hinchazón dentro del SNC.

15 [0163] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para el cáncer de SNC, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cánceres del SNP

20 [0164] El sistema nervioso periférico (SNP) consiste en los nervios que se ramifican desde el cerebro y la médula espinal. Estos nervios forman la red de comunicaciones entre el SNC y las partes del cuerpo. El sistema nervioso periférico se subdivide adicionalmente en el sistema nervioso somático y el sistema nervioso autonómico. El sistema nervioso somático consiste en nervios que van hasta la piel y los músculos y está implicado en las actividades conscientes. El sistema nervioso autonómico consiste en nervios que conectan el SNC con órganos viscerales tales como el corazón, estómago y los intestinos. Media las actividades inconscientes.

25 [0165] Los neuromas acústicos son extensiones fibrosas benignas que proceden del nervio del equilibrio, también denominado octavo nervio craneal o nervio vestibulococlear. Estos tumores no son malignos, lo que significa que no se extienden ni metastatizan a otras partes del cuerpo. La localización de estos tumores es profunda dentro del cráneo, adyacente a centros cerebrales vitales en el tallo cerebral. Cuando aumentan los tumores, implican estructuras circundantes que tienen funciones vitales. En la mayoría de los casos, estos tumores crecen lentamente durante un periodo de años.

30 [0166] El tumor maligno de vaina nerviosa periférica (MPNST) es el homólogo maligno de los tumores benignos de tejidos blandos tales como neurofibromas y schwannomas. Es el más común en el tejido blando profundo, normalmente muy próximo al tronco de un nervio. Los sitios más comunes incluyen el nervio ciático, el plexo braquial y el plexo sacro. El síntoma más común es el dolor que normalmente induce a una biopsia. Es un neoplasma orbital, raro, agresivo y letal que normalmente procede de ramificaciones sensoriales del nervio trigémino en adultos. El tumor del SNP maligno se extiende a lo largo de nervios que implican al cerebro, y la mayoría de los pacientes mueren antes de que hayan transcurrido 5 años desde el diagnóstico clínico. El MPNST se puede clasificar en tres categorías principales con características epitelioides, mesenquimáticas o glandulares. Algunos de los MPNST incluyen, pero sin limitarse a ellos, schwannoma epiteliode maligno subcutáneo con diferenciación cartilaginosa, schwannoma maligno glandular, tumor maligno de la vaina nerviosa periférica con diferenciación perineurial, tumor maligno de la vaina de nervios epiteliode cutánea con características rabdoides, MPNST epiteliode superficial, Tumor Tritón (MPNST con diferenciación rabdomioblástica), Schwannoma con

diferenciación rabdomioblástica. Los casos de MPNST raros contienen múltiples tipos de tejidos sarcomatosos, especialmente osteosarcoma, condrosarcoma y angiosarcoma. Algunas veces, son indistinguibles del mesenquimoma maligno de tejido blando.

[0167] Otros tipos de cánceres del SNP incluyen, pero sin limitarse a ellos, citoma fibroso maligno, histiocitoma fibroso maligno, meningioma maligno, mesotelioma maligno y tumor mülleriano mixto maligno.

[0168] Los tratamientos son cirugía, radioterapia, inmunoterapia, quimioterapia y combinación de radiación y quimioterapia.

[0169] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los cánceres del SNP, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de la cavidad oral y orofaríngeo

[0170] El tratamiento de pacientes con cánceres de la cavidad oral y orofaríngeo sigue siendo una tarea formidable. Los cánceres tales como el cáncer hipofaríngeo, el cáncer laríngeo, el cáncer nasofaríngeo, el cáncer orofaríngeo y similares se han tratado con cirugía, inmunoterapia, quimioterapia, una combinación de quimioterapia y radioterapia. El etopósido y la actinomicina D, dos agentes de oncología usados comúnmente que inhiben la topoisomerasa II, no pueden atravesar la barrera hematoencefálica en cantidades útiles.

[0171] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para el cáncer de la cavidad oral y orofaríngeo, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de estómago

[0172] El cáncer de estómago es el resultado de cambios celulares en el revestimiento del estómago. Hay tres tipos principales de cánceres de estómago: linfomas, tumores estromáticos gástricos y tumores carcinoides. Los linfomas son cánceres del tejido del sistema inmunitario que algunas veces se encuentra en la pared del estómago. Los tumores estromáticos gástricos se desarrollan a partir del tejido de la pared del estómago. Los tumores carcinoides son tumores de células productoras de hormonas del estómago.

[0173] Las causas del cáncer de estómago continúan debatiéndose. Se cree que participa una combinación de herencia y entorno (dieta, hábito de fumar, etc). Las estrategias comunes para el tratamiento incluyen cirugía, inmunoterapia, quimioterapia, radioterapia, combinación de quimioterapia y radioterapia o terapia biológica.

[0174] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para el cáncer de estómago, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de la vesícula biliar

[0094] En otro aspecto, la invención proporciona métodos para tratar los cánceres de la vesícula biliar. En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un sujeto compuestos de benzopirona solos. En otras realizaciones, el método comprende administrar a un sujeto compuestos de benzopirona en combinación con uno o más agentes anti-tumorales como se listan en esta memoria.

[0095] El cáncer de la vesícula biliar es un cáncer raro en el que las células malignas se encuentran en los tejidos de la vesícula biliar. La vesícula biliar almacena la bilis, un fluido fabricado por el hígado para digerir las grasas. La pared de la vesícula tiene 3 capas principales de tejido: capa mucosal (la más interior), capa muscular (media,

músculo), y capa serosal (exterior). Entre estas capas se encuentra tejido conjuntivo de soporte. El cáncer de la vesícula biliar primario empieza en la capa más interior y se extiende hacia las capas exteriores cuando crece. El cáncer de la vesícula biliar sólo se puede curar si se encuentra antes de que se haya extendido, cuando puede ser eliminado por cirugía. Si el cáncer se ha extendido, el tratamiento paliativo puede mejorar la calidad de vida del paciente controlando los síntomas y complicaciones de esta enfermedad.

[0096] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de la vesícula biliar, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

10 **Cáncer de esófago**

[0097] En otro aspecto, la invención proporciona métodos para tratar los cánceres de esófago. En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un sujeto compuestos de benzopirona solos. En otras realizaciones, el método comprende administrar a un sujeto compuestos de benzopirona en combinación con uno o más agentes anti-tumorales como se listan en esta memoria.

15 [0098] El cáncer de esófago es el tumor maligno del esófago. Hay diferentes subtipos. La mayor parte de los tumores del esófago son malignos. Una proporción muy pequeña (menos del 10 %) es leiomioma (tumor del músculo liso) o tumor estromal gastrointestinal (GIST). Los tumores malignos generalmente son adenocarcinomas, carcinomas de células escamosas, y ocasionalmente *carcinomas de células pequeñas*. Los últimos comparten muchas propiedades con el cáncer de pulmón de células pequeñas, y son relativamente sensibles a la quimioterapia comparados con los otros tipos.

20 [0099] Los tumores pequeños y localizados se tratan quirúrgicamente con intentos curativos. Los tumores más grandes no suelen ser operables y por tanto no se curan; pero su crecimiento puede ser retrasado con quimioterapia, radioterapia o una combinación de las dos. En algunos casos la quimioterapia y la radioterapia pueden hacer operables estos tumores más grandes.

25 [00100] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para los pacientes de cáncer de esófago, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

Cáncer de testículo

30 [0175] El cáncer de testículo es un cáncer que típicamente se desarrolla en uno o en los dos testículos en hombres jóvenes. Los cánceres de testículo se desarrollan en ciertas células conocidas como células germinales. Los 2 tipos principales de tumores de las células germinales (GCT) que aparecen en el hombre son seminomas (60 %) y no seminomas (40 %). Los tumores también pueden aparecer en tejidos de soporte y productores de hormonas, o en el estroma, de los testículos. Estos tumores se conocen como tumores estromáticos gonadales. Los 2 tipos principales son los tumores de las células de Leydig y los tumores de las células de Sertoli. Los tumores de testículo secundarios son los que empiezan en otro órgano y después se extienden al testículo. El linfoma es el cáncer de testículo secundario más común.

35 [0176] Las estrategias comunes para el tratamiento incluyen cirugía, inmunoterapia, quimioterapia, radioterapia, combinación de quimioterapia y radioterapia o terapia biológica. Típicamente, se usan varios fármacos para tratar el
40 cáncer de testículo: PLATINOL (cisplatino), VEPESID o VP-16 (etopósido) y BLENOXANO (sulfato de bleomicina). Además, se pueden usar IFEX (ifosfamida), VELBAN (sulfato de vinblastina) y otros.

[0177] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para el cáncer de testículo, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

5 **Cáncer de timo**

[0178] El timo es un órgano pequeño localizado en la parte superior/delantera del tórax, que se extiende desde la base de la garganta a la parte delantera del corazón. El timo contiene 2 tipos principales de células, células epiteliales tímicas y linfocitos. Las células epiteliales tímicas pueden dar a lugar a timomas y carcinomas tímicos. Los linfocitos, ya estén en el timo o en los ganglios linfáticos, pueden volverse malignos y desarrollar cánceres denominados enfermedad de Hodgkin y linfomas no Hodgkin. El timo contiene también otro tipo mucho menos común de células denominadas células de Kulchitsky, o células neuroendocrinas, que normalmente liberan ciertas hormonas. Estas células pueden dar lugar a cánceres, denominados carcinoides o tumores carcinoides que a menudo liberan el mismo tipo de hormonas y que son similares a otros tumores procedentes de células neuroendocrinas en otras partes del cuerpo.

15 [0179] Las estrategias comunes para el tratamiento incluyen cirugía, inmunoterapia, quimioterapia, radioterapia, combinación de quimioterapia y radioterapia o terapia biológica. Los fármacos anticancerosos que se han usado en el tratamiento de timomas y carcinomas tímicos son doxorubicina (adriamicina), cisplatino, ifosfamida y corticosteroides (prednisona). A menudo, estos fármacos se administran en combinación para aumentar su eficacia. Las combinaciones usadas para tratar el cáncer tímico incluyen cisplatino, doxorubicina, etopósido y ciclofosfamida, 20 y la combinación de cisplatino, doxorubicina, ciclofosfamida y vincristina.

[0180] Los métodos proporcionados por la invención pueden proporcionar un efecto beneficioso para el cáncer de estómago, mediante la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa, o una combinación de la administración de un compuesto de nitrobenzamida con un inhibidor de la topoisomerasa y cirugía, radioterapia, quimioterapia, o una combinación de las mismas.

35 **TERAPIA DE COMBINACIÓN**

[0181] Algunas realizaciones proporcionan combinaciones de uno o más inhibidores de PARP descritos en esta memoria y uno o más inhibidores de la topoisomerasa descritos en esta memoria. En algunas realizaciones, el inhibidor de PARP es la 4-yodo-3-nitrobenzamida o una de sus sales, pro-fármacos o metabolitos 30 farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán, irinotecán, lurtotecán, exatecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones preferidas, la combinación es de BA o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables y topotecán o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0182] En otras realizaciones de la presente invención, los métodos de la invención comprenden además tratar el 35 cáncer mediante la administración a un sujeto de un inhibidor de PARP con al menos un inhibidor de la topoisomerasa en combinación con otra terapia anti-cancerosa incluyendo pero sin limitarse a cirugía, terapia de radiación (p. ej. rayos X), terapia génica, inmunoterapia, terapia de ADN, terapia adyuvante, terapia neoadyuvante, terapia viral, terapia de ARN, o nanoterapia.

[0183] Cuando la terapia de combinación comprende además un tratamiento sin fármacos, el tratamiento sin 40 fármacos se puede realizar en cualquier momento adecuado siempre que se consiga un efecto beneficioso de la co-acción de la combinación de los agentes terapéuticos y del tratamiento sin fármacos. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso todavía se consigue cuando el tratamiento sin fármacos se retira temporalmente de

la administración de los agentes terapéuticos durante un periodo de tiempo significativo. El conjugado y los demás agentes farmacológicamente activos se pueden administrar a un paciente simultánea, secuencialmente o en combinación. Se apreciará que, cuando se usa una combinación de la invención, el compuesto de la invención y el otro agente farmacológicamente activo pueden estar en el mismo vehículo farmacéuticamente aceptable y por lo tanto se pueden administrar simultáneamente. Pueden estar en vehículos farmacéuticos distintos tales como formas de dosificación orales convencionales que se toman simultáneamente. El término "combinación" designa además el caso en que los compuestos se proporcionan en formas de dosificación separadas y se administran secuencialmente.

Terapia de radiación

[0184] La terapia de radiación (o radioterapia) es el uso médico de radiación ionizante como parte del tratamiento del cáncer para controlar las células malignas. La radioterapia se puede usar para el tratamiento curativo o adyuvante del cáncer. Se usa como tratamiento paliativo (cuando la cura no es posible y el fin es el control local de la enfermedad o el alivio sintomático) o como tratamiento terapéutico (cuando la terapia tiene un efecto beneficioso sobre la supervivencia y puede ser curativa). La radioterapia se usa para el tratamiento de tumores malignos y se puede usar como terapia primaria. También es común combinar radioterapia con cirugía, quimioterapia, terapia hormonal o alguna mezcla de las tres. Los tipos de cáncer más comunes se pueden tratar con radioterapia de algún modo. El intento de un tratamiento preciso (curativo, adyuvante, neoadyuvante, terapéutico o paliativo) dependerá del tipo, localización y etapa del tumor, así como de la salud general del paciente.

[0185] La terapia de radiación se aplica comúnmente al tumor canceroso. Los campos de radiación pueden incluir también los nódulos linfáticos de drenaje si están implicados clínicamente o radiológicamente con el tumor, o si se cree que están en riesgo de extensión maligna subclínica. Es necesario incluir un margen de tejido normal alrededor del tumor para tener en cuenta las incertidumbres en el programa diario y el movimiento interno del tumor.

[0186] La terapia de radiación actúa dañando el ADN de las células. El daño es causado por un haz de fotones, electrones, protones, neutrones, o iones que ionizan directa o indirectamente los átomos que fabrican la cadena de ADN. La ionización indirecta tiene lugar como resultado de la ionización del agua, formando radicales libres, especialmente radicales hidroxilo, que dañan entonces el ADN. En las formas más comunes de terapia de radiación, la mayor parte del efecto de la radiación es a través de radicales libres. Debido a que las células tienen mecanismos para reparar el daño del ADN, la rotura del ADN en ambas cadenas ha probado ser la técnica más significativa para modificar las características celulares. Debido a que las células cancerosas generalmente están indiferenciadas y son de tipo célula madre, se reproducen más y tienen una capacidad reducida para reparar un daño subletal en comparación con la mayoría de células diferenciadas sanas. El daño en el ADN se hereda a través de la división celular, acumulándose el daño en las células cancerosas, lo que les causa la muerte o que se reproduzcan más despacio. La radioterapia de protones funciona enviando protones con una energía cinética variable para parar de manera precisa en el tumor.

[0187] Los rayos gamma se utilizan también para tratar ciertos tipos de cáncer. En el procedimiento denominado "Gamma-knife cirugía" (terapia con bisturí de rayos gamma), se dirigen múltiples haces concentrados de rayos gamma al crecimiento para matar las células cancerosas. Los haces están dirigidos desde diferentes ángulos para enfocar la radiación sobre el crecimiento minimizando el daño a los tejidos circundantes.

Agentes de terapia génica

[0188] Los agentes de terapia génica insertan copias de genes en un conjunto específico de células de un paciente y se pueden dirigir tanto a las células cancerosas como a las no cancerosas. El objetivo de la terapia génica puede ser reemplazar los genes alterados con genes funcionales, estimular la respuesta inmunitaria de un paciente al cáncer, hacer que las células cancerosas sean más sensibles a la quimioterapia, poner genes "suicidas" en las células

cancerosas, o inhibir la angiogénesis. Los genes se pueden suministrar a células diana usando virus, liposomas u otros vehículos o vectores. Esto se puede hacer inyectando la composición de gen-vehículo en el paciente directamente o *ex vivo*, con células infectadas que se introducen de nuevo al paciente. Dichas composiciones son adecuadas para uso en la presente invención.

5 **Terapia adyuvante**

[0189] La terapia adyuvante es un tratamiento dado después del tratamiento primario para incrementar las posibilidades de una cura. La terapia adyuvante puede incluir quimioterapia, terapia de radiación, terapia hormonal o terapia biológica. La terapia adyuvante que es mejor para un paciente se basa en el tipo de cáncer y la fase del mismo.

10 [0190] Debido a que el propósito principal de la terapia adyuvante es matar cualquier célula cancerosa que pueda haberse diseminado, el tratamiento es habitualmente sistémico (utiliza sustancias que viajan a través del torrente sanguíneo, alcanzando y afectando las células cancerosas por todo el cuerpo).

[0191] La quimioterapia adyuvante es el uso de fármacos para matar células cancerosas. La quimioterapia puede alcanzar casi todas las partes del cuerpo para destruir las células cancerosas. La quimioterapia adyuvante es habitualmente una combinación de fármacos anticancerosos, que se ha mostrado que es más eficaz que un único fármaco anticanceroso.

15 [0192] Algunos cánceres son sensibles a las hormonas. Reduciendo la producción de hormonas o bloqueando la capacidad del cáncer para aceptar las hormonas, la hormonoterapia puede evitar que las células cancerosas crezcan. La hormonoterapia se puede usar conjuntamente con cirugía, radiación o quimioterapia.

20 [0193] La terapia de radiación se usa a veces como un tratamiento adyuvante local. La terapia de radiación se considera tratamiento adyuvante cuando se proporciona antes o después de una mastectomía.

Terapia neoadyuvante

[0194] La terapia neoadyuvante designa un tratamiento administrado antes del tratamiento primario. Los ejemplos de terapia neoadyuvante incluyen quimioterapia, terapia de radiación y terapia hormonal.

25 **Terapia vírica oncolítica**

[0195] La terapia vírica para el cáncer utiliza un tipo de virus llamados virus oncolíticos. Un virus oncolítico es un virus que es capaz de infectar y lisar las células cancerosas, a la vez que deja a las células normales sin daño, lo que les hace potencialmente útiles en la terapia del cáncer. La replicación de los virus oncolíticos facilita la destrucción de las células tumorales y produce también una amplificación de la dosis en el sitio del tumor. También pueden actuar como vectores para genes anticancerosos, permitiendo su administración específicamente en el sitio del tumor.

[0196] Hay dos enfoques principales para generar selectividad tumoral: direccionamiento transduccional y no transduccional. La orientación transduccional implica modificar la especificidad de la proteína de cubierta vírica, aumentando por tanto la entrada en células diana mientras se reduce la entrada en células no diana. El direccionamiento no transduccional implica alterar el genoma del virus de manera que sólo se pueda replicar en las células cancerosas. Esto se puede hacer mediante orientación transcripcional, cuando los genes esenciales para la replicación vírica están dispuestos bajo el control de un promotor específico del tumor, o mediante atenuación, lo que implica introducir delecciones en el genoma vírico que eliminan funciones que son prescindibles en las células cancerosas pero no en las células normales. Hay también otros métodos ligeramente más complejos.

40 [0197] Chen *et al.* (2001) usaron CV706, un adenovirus específico de la próstata, junto con radioterapia en el cáncer de próstata en ratones. El tratamiento combinado da como resultado un aumento sinérgico de la muerte

celular, así como un aumento significativo del tamaño de lisis vírica (el número de partículas víricas liberadas de cada lisis celular).

[0198] El ONYX-015 ha experimentado ensayos junto con quimioterapia. El tratamiento combinado da una respuesta mayor que cualquier tratamiento solo, pero los resultados no han sido enteramente concluyentes. El ONYX-015 ha mostrado ser prometedor junto con la radioterapia.

[0199] Los agentes víricos administrados por vía intravenosa pueden ser particularmente eficaces contra los cánceres metastásicos, que son especialmente difíciles de tratar convencionalmente. Sin embargo, los virus portados por la sangre se pueden desactivar por anticuerpos y se pueden eliminar rápidamente del torrente sanguíneo, por ejemplo por células de Kupffer (células fagocíticas extremadamente activas en el hígado, que son responsables del aclaramiento adenovírico). Evitar el sistema inmunitario hasta que se destruya el tumor podría ser el mayor obstáculo para el éxito de la terapia de virus oncolítico. Hasta la fecha, ninguna técnica usada para eludir el sistema inmunitario es enteramente satisfactoria. Conjuntamente con las terapias de cáncer convencionales es cuando los virus oncolíticos se muestran más prometedores, ya que las terapias combinadas operan de manera sinérgica sin efectos negativos aparentes.

[0200] La especificidad y flexibilidad de los virus oncolíticos significa que tienen el potencial de tratar un amplio campo de cánceres con efectos secundarios mínimos. Los virus oncolíticos tienen el potencial de resolver el problema de matar selectivamente las células cancerosas.

Nanoterapia

[0201] Las partículas de tamaño nanométrico tienen nuevas propiedades ópticas, electrónicas y estructurales que no están disponibles ni para las moléculas individuales ni para los sólidos a granel. Cuando se unen con restos dirigidos a tumores, tales como ligandos específicos de tumores o anticuerpos monoclonales, estas nanopartículas se pueden usar para establecer como objetivo los receptores específicos del cáncer, antígenos tumorales (biomarcadores) y vasculaturas tumorales con alta afinidad y precisión. La formulación y el proceso de fabricación para la nanoterapia del cáncer se describen en la patente US7179484, y en el artículo de M. N. Khalid, P. Simard, D. Hoarau, A. Dragomir, J. Leroux, "Long Circulating Poly(Ethylene Glycol)Decorated Lipid Nanocapsules Deliver Docetaxel to Solid Tumors", *Pharmaceutical Research*, 23(4), 2006, todos los cuales se incorporan a la presente memoria como referencia en su totalidad.

Terapia de ARN

[0202] El ARN incluyendo, pero sin limitarse a ellos, siARN, shARN y microARN, se puede usar para modular la expresión génica y tratar los cánceres. Los oligonucleótidos bicatenarios están formados por el ensamblaje de dos secuencias oligonucleotídicas distintas donde la secuencia oligonucleotídica de una cadena es complementaria de la secuencia oligonucleotídica de la segunda cadena; dichos oligonucleótidos de doble cadena se ensamblan generalmente a partir de dos oligonucleótidos separados (p. ej., siARN), o a partir de una única molécula que se pliega sobre sí misma para formar una estructura de doble cadena (p. ej., shARN o ARN en forma de horquilla corta). Estos oligonucleótidos bicatenarios conocidos en la técnica tienen todos el rasgo común de que cada cadena de la doble cadena tiene una secuencia nucleotídica distinta, en la que sólo una región de la secuencia nucleotídica (secuencia guía o secuencia antisentido) tiene complementariedad con una secuencia de ácido nucleico diana y la otra cadena (secuencia sentido) comprende una secuencia nucleotídica que es homóloga a la secuencia de ácido nucleico diana.

[0203] Los microARN (miARN) son moléculas de ARN monocatenarias de aproximadamente 21–23 nucleótidos de longitud que regulan la expresión génica. Los miARN están codificados por genes que se transcriben a partir de ADN pero que no se traducen a proteína (ARN no codificante); en vez de esto, se procesan a partir de transcritos

115

primarios conocidos como pre-miARN a estructuras en horquilla cortas denominadas pre-miARN y finalmente a miARN funcional. Las moléculas de miARN maduras son parcialmente complementarias de una o más moléculas de ARN mensajero (mARN) y su función principal es regular negativamente la expresión génica.

5 [0204] Determinados agentes inhibidores de ARN se pueden utilizar para inhibir la expresión o traducción del ARN mensajero ("mARN") que está asociado con un fenotipo de cáncer. Los ejemplos de dichos agentes adecuados para uso en la presente memoria incluyen, pero sin limitarse a ellos, ARN pequeño de interferencia ("siARN"), ribozimas y oligonucleótidos antisentido. Los ejemplos específicos de agentes inhibidores de ARN adecuados para uso en la presente memoria incluyen, pero sin limitarse a ellos, Cand5, Sirna-027, fomivirseno y angiozima.

10

Inhibidores enzimáticos de moléculas pequeñas

15 [0205] Determinados agentes terapéuticos de moléculas pequeñas pueden tener como objetivo la actividad enzimática tirosina quinasa o las señales de transducción de la señal posteriores de determinados receptores celulares tales como el receptor del factor de crecimiento epidérmico ("EGFR") o el receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular ("VEGFR"). Dicha orientación por productos terapéuticos de moléculas pequeñas puede dar como resultado efectos anticancerosos. Los ejemplos de dichos agentes adecuados para uso en la presente memoria incluyen, pero sin limitarse a ellos, imatinib, gefitinib, erlotinib, lapatinib, canertinib, ZD6474, sorafenib (BAY 43-9006), ERB-569 y sus análogos y derivados.

Agentes anti-metastásicos

20 [0206] El proceso mediante el cual las células cancerosas se extienden desde el sitio del tumor original a otras localizaciones por el cuerpo se denomina metástasis cancerosa. Determinados agentes tienen propiedades anti-metastásicas, diseñadas para inhibir la diseminación de las células cancerosas. Los ejemplos de dichos agentes adecuados para uso en la presente memoria incluyen, pero sin limitarse a ellos, marimastat, bevacizumab, trastuzumab, rituximab, erlotinib, MMI-166, GRN163L, péptidos de búsqueda y eliminación, inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP), sus análogos, derivados y variantes.

25

Agentes quimiopreventivos

30 [0207] Determinados agentes farmacéuticos se pueden usar para prevenir las incidencias iniciales del cáncer, o para prevenir la recurrencia o metástasis. La administración de dichos agentes quimiopreventivos en combinación con conjugados de eflornitina-AINE de la invención puede actuar tanto para tratar como para prevenir la recurrencia del cáncer. Los ejemplos de agentes quimiopreventivos adecuados para uso en la presente memoria incluyen, pero sin limitarse a ellos, tamoxifeno, raloxifeno, tibolona, bisfosfonato, ibandronato, moduladores del receptor de estrógeno, inhibidores de aromatasa (letrozol, anastrozol), agonistas de la hormona de liberación de la hormona luteinizante, goserelina, vitamina A, retinal, ácido retinoico, fenretinida, ácido 9-*cis*-retinoide, ácido 13-*cis*-retinoide, ácido todo-*trans*-retinoico, isotretinoína, tretinoid, vitamina B6, vitamina B12, vitamina C, vitamina D, 35 vitamina E, inhibidores de la ciclooxigenasa, fármacos anti-inflamatorios no-esteroides (AINE), aspirina, ibuprofeno, celecoxib, polifenoles, polifenol E, extracto de té verde, ácido fólico, ácido glucárico, interferón-alfa, anetol ditioleona, cinc, piridoxina, finasterida, doxazosina, selenio, indol-3-carbinal, alfa-difluorometilornitina, carotenoides, beta-caroteno, licopeno, antioxidantes, coenzima Q10, flavonoides, quercetina, curcumina, catequinas, galato de epigallocatequina, N-acetilcisteína, indol-3-carbinol, inositol hexafosfato, isoflavonas, ácido glucánico, 40 romero, soja, sabal, y calcio. Un ejemplo adicional de agentes quimiopreventivos adecuados para uso en la presente invención son las vacunas del cáncer. Éstas se pueden crear a través de la inmunización de un paciente con todo o parte de un tipo de células cancerosas que se establecen como diana del proceso de vacunación.

FORMULACIONES, VÍAS DE ADMINISTRACIÓN, Y DOSIS EFICACES

[0208] Otro aspecto de la presente invención se refiere a formulaciones y vías de administración para composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de nitrobenzamida. Dichas composiciones farmacéuticas se pueden usar para tratar el cáncer en los métodos descritos en detalle anteriormente.

5 [0209] Los compuestos de la fórmula Ia se pueden proporcionar como un profármaco y/o se pueden dejar interconvertir en una forma de nitrosobenzamida *in vivo* después de la administración. Es decir, la forma de nitrobenzamida y/o la forma de nitrosobenzamida, o las sales farmacéuticamente aceptables se pueden usar para desarrollar una formulación para uso en la presente invención. Además, en algunas realizaciones, el compuesto se puede usar en combinación con uno o más compuestos distintos en una o más formas de dosificación distintas. Por
10 ejemplo, una formulación puede comprender tanto el compuesto de nitrobenzamida como formas ácidas en proporciones particulares, dependiendo de las potencias relativas de cada uno y de la indicación pertinente. Las dos formas se pueden formular juntas, en la misma unidad de dosificación, por ejemplo en una crema, supositorio, comprimido, cápsula o paquete de polvo a disolver en una bebida; o cada forma se puede formular en una unidad separada, por ejemplo, dos cremas, dos supositorios, dos comprimidos, dos cápsulas, un comprimido y un líquido
15 para disolver el comprimido, un paquete de polvo y un líquido para disolver el polvo, etc.

[0210] En las composiciones que comprenden combinaciones de un compuesto de nitrobenzamida y otro agente activo pueden ser eficaces. Los dos compuestos y/o formas de un compuesto se pueden formular conjuntamente en la misma unidad de dosificación, por ejemplo en una crema, supositorio, comprimido, cápsula o paquete de polvo a disolver en una bebida; o cada forma se puede formular en unidades separadas, por ejemplo, dos cremas,
20 supositorios, comprimidos, dos cápsulas, un comprimido y un líquido para disolver el comprimido, un paquete de polvo y un líquido para disolver el polvo, etc.

[0211] La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa las sales que retienen la eficacia y las propiedades biológicas de los compuestos usados en la presente invención, y que no son indeseables desde el punto de vista biológico ni desde otro punto de vista. Por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable no interfiere con el efecto beneficioso del compuesto de la invención para tratar un cáncer.

25 [0212] Son sales típicas las de los iones inorgánicos tales como, por ejemplo, iones de sodio, potasio, calcio y magnesio. Estas sales incluyen sales con ácidos inorgánicos u orgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido acético, ácido fumárico, ácido succínico, ácido láctico, ácido mandélico, ácido málico, ácido cítrico, ácido tartárico
30 o ácido maleico. Además, si los compuestos usados en la presente invención contienen un grupo carboxi u otro grupo ácido, se pueden convertir en una sal de adición farmacéuticamente aceptable con bases inorgánicas u orgánicas. Los ejemplos de bases adecuadas incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, amoníaco, ciclohexilamina, diciclohexilamina, etanolamina, dietanolamina y trietanolamina.

[0213] Para la administración oral, los compuestos se pueden formular fácilmente combinando el compuesto o
35 compuestos activos con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Estos vehículos permiten que los compuestos de la invención se formulen como comprimidos, incluyendo comprimidos masticables, píldoras, grageas, cápsulas, comprimidos para chupar, caramelos duros, líquidos, geles, jarabes, pastas, polvos, suspensiones, elixires, sellos y similares, para la ingestión oral por un paciente a ser tratado. Estas formulaciones pueden comprender vehículos farmacéuticamente aceptables incluyendo diluyentes sólidos o cargas, medios acuosos
40 estériles y diversos disolventes orgánicos no tóxicos. En general, los compuestos de la invención se incluirán a niveles de concentración que varían desde aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 % o aproximadamente 30 % hasta aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 100 %.

aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 % o aproximadamente 90 % en peso de la composición total de las formas de dosificación orales, en una cantidad suficiente para proporcionar una unidad de dosificación deseada.

[0214] Las suspensiones acuosas pueden contener un compuesto de nitrobenzamida con excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como un agente de suspensión (por ejemplo, metil-celulosa), un agente humectante (por ejemplo, lecitina, lisolecitina y/o un alcohol graso de cadena larga), así como agentes colorantes, conservantes, agentes aromatizantes, y similares.

[0215] En algunas realizaciones, pueden ser necesarios disolventes oleosos o no acuosos para poner los compuestos en solución, debido, por ejemplo, a la presencia de grandes restos lipófilos. Alternativamente, se pueden usar emulsiones, suspensiones, u otras preparaciones, por ejemplo, preparaciones liposomiales. Con respecto a las preparaciones liposomiales, se puede usar cualquier método conocido para preparar liposomas para el tratamiento de una afección. Véase, por ejemplo, Bangham *et al.*, J. Mol. Biol, 23: 238-252 (1965) y Szoka *et al.*, Proc. Natl Acad. Sci 75: 4194-4198 (1978), incorporado en la presente memoria como referencia. También se pueden unir ligandos a los liposomas para dirigir estas composiciones a sitios de acción particulares. Los compuestos de esta invención se pueden integrar también en productos alimentarios, por ejemplo, crema de queso, mantequilla, aderezo para ensaladas o helados para facilitar la solubilización, administración y/o el seguimiento de la terapia en ciertas poblaciones de pacientes.

[0216] Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener como un excipiente sólido, opcionalmente triturando la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, añadiendo después los auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados, son en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; elementos aromatizantes, preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinil pirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes tales como polivinil pirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal de los mismos tal como alginato sódico. Los compuestos también se pueden formular como una preparación de liberación sostenida.

[0217] A los núcleos de las grageas se les pueden proporcionar recubrimientos adecuados. Para este fin, se pueden usar soluciones de azúcar concentradas que opcionalmente pueden contener goma arábica, talco, polivinil pirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. A los comprimidos o a los recubrimientos de grageas se les pueden añadir colorantes o pigmentos para la identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.

[0218] Las preparaciones farmacéuticas que se pueden usar por vía oral incluyen cápsulas duras hechas de gelatina así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los ingredientes activos mezclados con un agente de carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosificaciones adecuadas para la administración.

[0219] Para inyección, los inhibidores de la presente invención se pueden formular en soluciones acuosas, preferiblemente en soluciones tampón fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer o solución tampón salina fisiológica. Estas composiciones también pueden incluir uno o más excipientes, por ejemplo, conservantes, solubilizantes, agentes de carga, lubricantes, estabilizantes, albúmina y similares. Los

métodos de formulación son conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences, última edición, Mack Publishing Co., Easton P. Estos compuestos se pueden formular también para administración transmucosal, administración bucal, para administración por inhalación, para administración parental, para administración transdérmica, y administración rectal.

- 5 [0220] Además de las formulaciones descritas previamente, los compuestos también se pueden formular como una preparación de depósito. Estas formulaciones de actuación a largo plazo se pueden administrar por implantación o administración transcutánea (por ejemplo, subcutánea o intramuscularmente), por inyección intramuscular o mediante el uso de un parche transdérmico. De esta manera, por ejemplo, los compuestos se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, como una sal moderadamente soluble.
- 10 [0221] Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso en la presente invención incluyen composiciones en las que los ingredientes activos están presentes en una cantidad eficaz, es decir, en una cantidad eficaz para conseguir el efecto beneficioso terapéutico y/o profiláctico en al menos uno de los cánceres descritos en la presente memoria. La cantidad real eficaz para una aplicación particular dependerá de la afección o afecciones a tratar, del estado del sujeto, de la formulación y de la vía de administración, así como de otros factores conocidos por los expertos en la técnica. La determinación de una cantidad eficaz de un compuesto de nitrobenzamida está dentro de las capacidades de los expertos en la técnica a la luz de la descripción de la presente memoria y se determinará usando técnicas de optimización rutinarias.
- 15 [0222] En algunas realizaciones, con el fin de llevar a cabo la presente invención, se usan las composiciones y métodos descritos en otras patentes y solicitudes de patentes asignadas a BiPar. Por ejemplo, se pueden usar las formulaciones para tratar el cáncer que se describen en la solicitud de patente de EE.UU. 12/015.403 y en la solicitud PCT PCT/US2008/51214. Todas las patentes y solicitudes de patentes se incorporan aquí como referencia en su totalidad.
- 20

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Efectos *in vitro* de la combinación de 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) con irinotecán

[0223] Los efectos *in vitro* de la combinación de 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) con hidrocloreuro de irinotecán se examinan utilizando células de cáncer de pulmón humano de células pequeñas, células LX-1.

Cultivo celular

- 30 [0224] Las células de la cepa LX-1 de cáncer de pulmón humano de células pequeñas se obtienen de la ATCC (American Type Culture Collection). En un medio que comprende D-MEM (Medio Eagle modificado por Dulbecco) y 10 % de suero fetal bovino (FCS), se subcultivan las células de la cepa LX-1 de cáncer de pulmón humano de células pequeñas. El cultivo se lleva a cabo en un incubador con 5 % de CO₂ a 37 °C. El mismo medio se usa también en los siguientes experimentos. Las células LX-1 en subcultivo se someten a un tratamiento con tripsina, se suspenden en el medio y se extienden en placas a 10⁵ células por placa P100 de cultivo celular o a 10⁴ células por placa P60 de cultivo celular en presencia de diferentes concentraciones de compuestos o de control DMSO. Después del tratamiento, el número de células pegadas se mide usando un contador Coulter, y por tinción con azul de metileno al 1 %. El azul de metileno se disuelve en una mezcla 50 %-50 % de metanol y agua. Las células se extienden en placas de 24 ó 96 pocillos y se tratan como se ha planificado, se aspira el medio, las células se lavan con PBS, se fijan en metanol durante 5-10 min, se aspira el metanol y se deja que las placas se sequen
- 35
- 40

completamente. Se añade la solución de azul de metileno a los pocillos y se incuban las placas durante 5 min. Se elimina la solución de tinción y se lavan las placas con dH₂O hasta que los lavados no sean azules. Después de que las placas estén completamente secas, se añade una pequeña cantidad de HCl 1 N a cada pocillo para extraer el azul de metileno. Se usan la lectura de la densidad óptica (OD) a 600 nm y una curva de calibración para determinar el número de células.

Compuestos

[0225] Los agentes de ensayo se preparan como sigue. El hidrocloreuro de irinotecán se obtiene de Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd. y se proporciona después de diluciones seriadas al doble con el medio en uso. Los compuestos de benzamida se disuelven directamente de polvo seco a una solución madre 10 mM en DMSO para cada experimento independiente. Los experimentos control se realizan con el volumen/concentración del vehículo (DMSO) equivalente; en estos controles, las células no muestran cambios en su crecimiento o distribución del ciclo celular.

Ensayos de exclusión de PI, ciclo celular y TUNEL

[0226] Después de la adición de los fármacos y de la incubación, las células se tripsinizan y se toman alícuotas de las muestras para recuento y ensayo de exclusión de PI (yoduro de propidio). Una parte de las célula se centrifuga y se resuspende en 0,5 ml de PBS enfriado en hielo que contiene 5 µg/ml de PI. La otra parte de las células se fija en etanol al 70 % enfriado en hielo y se almacena en un congelador toda la noche. Para el análisis del ciclo celular, se tiñen las células con yoduro de propidio (PI) por procedimientos estándar. El contenido de ADN celular se determina por citometría de flujo usando BD LSR^{II} FACS, y los porcentajes de células en G₁, S o G₂/M se determinan usando el programa informático ModFit.

[0227] Las células se marcan para apoptosis con el “Kit para la Detección *In situ* de la Muerte Celular, Fluoresceína” (Roche Diagnostics Corporation, Roche Applied Science, Indianapolis, IN). Brevemente, las células fijadas se centrifugan y se lavan una vez con solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contiene albúmina de suero bovino (BSA) al 1 %, se resuspenden después en 2 ml de tampón de permeabilización (0,1 % de Tritón X-100 y 0,1 % de citrato de sodio en PBS) durante 25 min a temperatura ambiente y se lavan dos veces en 0,2 ml de PBS/1 % de BSA. Las células se resuspenden en 50 µl de mezcla de reacción TUNEL (enzima TdT y solución de marcado) y se incuban durante 60 min a 37 °C en una atmósfera oscura humidificada en un incubador. Las células marcadas se lavan una vez con PBS/1 % de BSA, se resuspenden después en 0,5 ml de PBS enfriado en hielo que contiene 1 µg/ml de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) durante al menos 30 min. Todas las muestras de células se analizan con un BD LSR II (BD Biosciences, San Jose, CA).

Ensayo de marcaje con bromodesoxiuridina (BrdU)

[0228] Se añaden 50 µl de solución madre (1 mM) de BrdU (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) para dar una concentración final 10 µM de BrdU. Las células se incuban durante 30 min a 37 °C y se fijan en etanol al 70 % enfriado en hielo y se almacenan en una habitación fría (4 °C) toda la noche. Las células fijadas se centrifugan y se lavan una vez con 2 ml de PBS, se resuspenden después en 0,7 ml de solución de desnaturalización (0,2 mg/ml de pepsina en HCl 2 N) durante 15 min a 37 °C en la oscuridad y se suspenden con 1,04 ml de tampón Tris 1 M (Trizma base, Sigma Chemical Co.) y se lavan con 2 ml de PBS. Las células se resuspenden entonces en 100 µl de anticuerpo anti-BrdU (DakoCytomation, Carpinteria, CA) con una dilución 1:100 en tampón permeable TBFP (0,5 % de Tween-20, 1 % de albúmina de suero bovino y 1 % de suero fetal bovino en PBS) y se incuban durante 25 min a temperatura ambiente en la oscuridad y se lavan con 2 ml de PBS. Las células marcadas con el anticuerpo primario se resuspenden en 100 µl de fragmento F(ab')₂ Alexa Fluor de IgG (H+L) anti-ratón de cabra (2 mg/mL) (Molecular

Probes, Eugene, OR) con una dilución 1:200 en tampón permeable TBFP y se incuban durante 25 min a temperatura ambiente en la oscuridad y se lavan con 2 ml de PBS, se resuspenden después en 0,5 ml de PBS enfriado en hielo que contiene 1 µg/ml de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) durante al menos 30 min. Todas las muestras de células se analizan con un BD LSR II (BD Biosciences, San Jose, CA).

5 [0229] Se han ensayado combinaciones de la 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) con inhibidores de la topoisomerasa, esto es, irinotecán o topotecán, en modelos de cáncer *in vitro* e *in vivo*. La evaluación de BA en combinación con irinotecán en la línea celular LX-1 de carcinoma de pulmón de células pequeñas demuestra que la BA potencia la parada del ciclo de células S- y G2/M y aumenta los efectos citotóxicos inducidos por el irinotecán.

10 **Ejemplo 2: Actividad anti-tumoral *in vivo* de una combinación de 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) e irinotecán en el tratamiento del cáncer colorrectal**

[0230] Tres líneas celulares de cáncer colorrectal: CACO-2, HT-29, and DHD/K12/TRb (PROb), se transplantan subcutáneamente a ratones desnudos (59 animales) de 6 semanas de edad, respectivamente. Después de 11 días del trasplante del tumor, 36 animales que tienen un volumen de tumor de aproximadamente 100 a 300 mm³ se distribuyen en 5 grupos que consisten en 6 animales por grupo. El mismo día, los animales reciben la administración parenteral, respectivamente, de tampón de cisteína para el "grupo del vehículo", 50 mg/kg o 15 mg/kg de BA (i.p.) cada dos semanas para el "grupo de administración de BA sola", 50 mg/kg o 15 mg/kg de irinotecán (i.p.) para el "grupo de administración de irinotecán solo", 50 mg/kg de BA (i.p.) y 50 mg/kg de irinotecán (i.p.) para el "grupo de administración combinada (dosis más altas)", 15 mg/kg de BA (i.p.) y 15 mg/kg de irinotecán (i.p.) para el "grupo de administración combinada (dosis más bajas)". Después, se midieron el volumen del tumor y el peso corporal de los ratones durante 30 días.

[0231] La BA se disuelve directamente a partir de polvo seco a una solución madre 10 mM en DMSO para cada experimento separado. Los experimentos control se realizan con el volumen/concentración del vehículo (DMSO) equivalente; El irinotecán se administra dando 50 mg/kg o 15 mg/kg de irinotecán intraperitonealmente (i.p.).

Punto final

[0232] Se calibran los tumores dos veces por semana durante el transcurso del estudio. Se sacrifica cada animal cuando su neoplasma alcanza el tamaño de punto final predeterminado (1.000 mm³). Se calcula el tiempo hasta el punto final (TTE) mediante la siguiente ecuación:

$$TTE = \frac{\log_{10} (\text{volumen de punto final}) - b}{m}$$

30 en la que el TTE se expresa en días, el volumen de punto final está en mm³, b es la intersección y m la pendiente de la línea obtenida mediante regresión lineal de un conjunto de datos de crecimiento tumoral transformados logarítmicamente. El conjunto de datos comprende la primera observación que excede el volumen del punto final del estudio y las tres observaciones consecutivas que preceden inmediatamente al alcance del volumen del punto final. El TTE calculado es habitualmente menor que el día en que se sacrifica el animal por el tamaño del tumor. Los animales que no alcanzan el punto final se sacrifican al final del estudio, y se les asigna un valor de TTE igual al último día (68 días). Se determina la eficacia del tratamiento a partir del retraso del crecimiento del tumor (TGD), que se define como el aumento del TTE medio para un grupo de tratamiento en comparación con el grupo de control:

$$TGD = T - C,$$

expresada en días, o como porcentaje del TTE medio del grupo control:

$$\%TGD = \frac{T - C}{C} \times 100$$

en la que:

T = TTE medio para un grupo de tratamiento,

5 C = TTE medio para el grupo control.

MTV y criterios para las respuestas de regresión

[0233] La eficacia del tratamiento se determina también a partir de los volúmenes del tumor de los animales que permanecen en estudio el último día, y a partir del número de las respuestas de regresión. El MTV(n) se define como el volumen medio del tumor el D61 en el número de animales que permanecen, n, cuyos tumores no han alcanzado el volumen del punto final. El tratamiento puede causar una *regresión parcial* (PR) o una *regresión completa* (CR) del tumor en un animal. Una PR indica que el volumen del tumor es el 50 % o menos de su volumen en el D1 mediante tres medidas consecutivas a lo largo del estudio, y es igual o mayor que 13,5 mm³ para una o más de estas tres medidas. Una CR indica que el volumen del tumor es menor que 13,5 mm³ para tres medidas consecutivas a lo largo del estudio. Un animal con una CR a la terminación de un estudio se clasifica adicionalmente como un sobreviviente libre de tumor (TFS).

Análisis estadístico y gráfico

[0234] Se emplea el *logrank test* para analizar la significancia de la diferencia entre los valores TTE de dos grupos comparando sus curvas Kaplan-Meier. El logrank test analiza los datos de todos los animales de un grupo, excepto las muertes no relacionadas con el tumor (NTR). Los análisis estadísticos de dos colas se realizan a P = 0,05, utilizando Prism 3.03 (GraphPad) para Windows. El programa Prism indica los resultados del logrank test no significativos a P > 0,05, significativos a 0,01 < P ≤ 0,05, muy significativos a 0,001 < P ≤ 0,01 y extremadamente significativos a P ≤ 0,001. Debido a que el logrank test determina la significancia estadística, y no proporciona un estimado de la magnitud de la diferencia entre grupos, todos los niveles de significancia se indican como significativos o no significativos dentro del texto de este informe.

Resultados:

[0235] Las curvas de crecimiento del tumor presentan el volumen medio del tumor del grupo como una función del tiempo. La combinación de las diferentes dosis de BA con irinotecán da como resultado una gran reducción del volumen del tumor en comparación con el tratamiento con irinotecán solo.

[0236] Cuando un animal sale del estudio debido al tamaño del tumor o a muerte relacionada con el tumor (TR), el volumen final del tumor registrado para el animal se incluye con los datos usados para calcular el volumen medio en los puntos de tiempo subsiguientes. Por tanto, el volumen medio del tumor final mostrado por la curva puede diferir del MTV, que es el volumen medio del tumor para los ratones que permanecen en el estudio el último día (excluyendo todos aquellos con tumores que han alcanzado el punto final). Si ocurre más de una muerte TR en un grupo, la curva del crecimiento medio del tumor está truncada al tiempo de la última medida que precede a la segunda muerte TR. Las curvas de crecimiento del tumor se truncan también cuando los tumores en más del 50 % de los animales evaluables de un grupo han alcanzado el volumen del punto final.

Ejemplo 3: Efecto anti-tumor de una combinación de 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) y topotecán en el tratamiento de cáncer de pulmón de células pequeñas

[0237] El efecto anti-tumor de una combinación de BA y topotecán, uno de los fármacos aprobados para el tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) en los seres humanos, se evalúa en un modelo de xenotrasplante subcutáneo establecido de SCLC. Se inoculan ratones SCID (24 animales) con células SW-2 de cáncer de pulmón de células pequeñas (8×10^6 células/animal) inyectadas subcutáneamente en el flanco derecho de los ratones. Cuando los tumores alcanzan aproximadamente 80 mm^3 de tamaño, los ratones se dividen al azar en cuatro grupos (6 animales por grupo). El primer grupo de ratones se trata con topotecán administrado i.p. Este grupo de ratones se divide después en 3 subgrupos, que reciben 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, o 2 mg/kg de topotecán i.p. respectivamente. Un segundo grupo de animales se trata con 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA). La BA se administra como una perfusión continua (i.v.) (CI) a través de bombas osmóticas Alzet® (Modelo 1002), que liberan un volumen total de aproximadamente 100 μL , a 0,25 μL /hora durante 14 días. Cada bomba suministra una dosis total de 25 mg/kg/semana de BA durante 14 días. Se implantan bombas osmóticas modelo Alzet los días 1, 15 y 29. Se precientan las bombas durante ~1 hora a 37°C y se implantan entonces por vía subcutánea (s.c.) en los flancos izquierdos de ratones anestesiados con isoflurano. El tercer grupo de ratones recibe una combinación de topotecán y BA, utilizando las mismas dosis y pautas que los grupos 1 y 2. Un grupo control de animales recibe solución salina tamponada con fosfato (PBS) utilizando la misma pauta que los animales del grupo 2. El crecimiento del tumor se monitoriza midiendo el tamaño del tumor dos veces por semana. El tamaño del tumor se calcula utilizando la fórmula: longitud x anchura x altura x (1/2).

[0238] El cambio en el tamaño del tumor se monitoriza dos veces por semana y después diariamente. En el grupo control de animales, los tumores crecen hasta aproximadamente 800^3 mm en 44 días. El tratamiento con topotecán solo da como resultado retrasos en el crecimiento del tumor de 12 días. El tratamiento con BA sola da como resultado un retraso en el crecimiento del tumor de 34 días en 3 de 6 animales. Los 3 animales restantes de este grupo tienen regresiones completas del tumor. El tratamiento con la combinación de topotecán y BA muestra una mejora del efecto anti-tumor dando como resultado la regresión completa del tumor en 5 de los 6 animales tratados. Estos animales están libres del tumor el día 78, el último punto de medida. Por tanto, la combinación de topotecán y BA es sinérgica cuando se compara con los agentes individuales en este modelo de xenotrasplante humano de SCLC.

Ejemplo 4: Efecto anti-tumor de una combinación de 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) y topotecán en el tratamiento del cáncer de cuello uterino

[0239] Los ratones inmunodeficientes, SCID, reciben topotecán a dos niveles de dosis como monoterapias, y en combinaciones con 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA), que se administra por tres perfusiones secuenciales durante 14 días. Los tratamientos empiezan el Día 1 (D1), y los animales se sacrifican cuando sus tumores alcanzan el volumen del punto final de 750 mm^3 .

[0240] El estudio examina los efectos de las perfusiones continuas de BA sobre la actividad del topotecán y la tolerabilidad en los ratones SCID que tienen carcinomas SiHa establecidos.

Ratones

[0241] Los ratones SCID CB.17 hembras (Charles River) son de 10 semanas de edad y tienen unos límites de peso corporal (BW) de 15,2–26,6 g el D1 del estudio. Los animales reciben a voluntad agua (ósmosis inversa, Cl 1 ppm) y NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet® que consiste en 18,0 % de proteína bruta, 5,0 % de grasa bruta y 5,0 % de fibra bruta. Se ponen en jaulas los ratones en ALPHA-dri® bed-o-cobs® Laboratory Animal Bedding irradiados en microaislantes estáticos con un ciclo de luz de 12 horas a 21-22 °C y 40–60 % de humedad en el laboratorio,

reconocido por la AAALAC internacional (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory), que asegura el cumplimiento de los estándares aceptados para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

Implantación del tumor

[0242] Las células SiHa humanas, derivadas de un carcinoma de cuello uterino eliminado quirúrgicamente, se mantienen en ratones desnudos atímicos mediante injertos seriales. Se implanta un fragmento de tumor (1 mm³) s.c. en el flanco derecho de cada ratón de ensayo. Se monitorizan los tumores dos veces por semana y después una vez al día a medida que sus volúmenes se aproximan a 80–120 mm³. El D1 del estudio, se clasifican los animales en grupos de tratamiento con tamaños de tumor de 63–144 mm³ y tamaños medios de tumor por grupo ~102 mm³.

El tamaño del tumor, en mm³, se calculó a partir de

$$\text{Volumen del tumor} = \frac{w^2 \times l}{2}$$

[0243] El peso del tumor se puede estimar con el supuesto de que 1 mg equivale a 1 mm³ de volumen de tumor.

Tratamiento

[0244] Se distribuyen los ratones en grupos (n = 10) y se tratan según el protocolo.

[0245] Se administra 4-yodo-3-nitrobenzamida (BA) intraperitonealmente (i.p.) a 15 mg/kg o 50 mg/kg, cada dos semanas. Los ratones del grupo control 1 recibieron el vehículo. Se administra topotecán intravenosamente (i.v.), a 0,5 y 1 mg/kg, respectivamente, una vez al día, los días 1–5, 8–12, y 15–19 (cada día x 5/2/5/2/5). Empezando el día 16, se administra topotecán intraperitonealmente (i.p.) a 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, o 2 mg/kg.

Punto final

[0246] Se calibran los tumores dos veces por semana durante el transcurso del estudio. Se sacrifica cada animal cuando su neoplasma alcanza el tamaño de punto final predeterminado (1.000 mm³). Se calcula el tiempo hasta el punto final (TTE) para cada ratón mediante la siguiente ecuación:

$$\text{TTE} = \frac{\log_{10} (\text{volumen de punto final}) - b}{m}$$

en la que el TTE se expresa en días, el volumen de punto final está en mm³, b es la intersección y m la pendiente de la línea obtenida mediante regresión lineal de un conjunto de datos de crecimiento tumoral transformados logarítmicamente. El conjunto de datos comprende la primera observación que excede el volumen del punto final del estudio y las tres observaciones consecutivas que preceden inmediatamente al alcance del volumen del punto final. El TTE calculado es habitualmente menor que el día en que se sacrifica el animal por el tamaño del tumor. Los animales que no alcanzan el punto final se sacrifican al final del estudio, y se les asigna un valor de TTE igual al último día (68 días). Se determina la eficacia del tratamiento a partir del retraso del crecimiento tumoral (TGD), que se define como el aumento del TTE medio para un grupo de tratamiento en comparación con el grupo control:

$$\text{TGD} = T - C,$$

expresado en días, o como un porcentaje del TTE medio del grupo control:

$$\% \text{TGD} = \frac{T - C}{C} \times 100$$

en la que:

T = TTE medio para un grupo de tratamiento,
C = TTE medio para el grupo control.

MTV y criterios para las respuestas de regresión

[0247] La eficacia del tratamiento se determina también a partir de los volúmenes del tumor de los animales que permanecen en estudio el último día, y a partir del número de las respuestas de regresión. El MTV(n) se define como el volumen medio del tumor el D61 en el número de animales que permanecen, n , cuyos tumores no han alcanzado el volumen del punto final. El tratamiento puede causar una *regresión parcial* (PR) o una *regresión completa* (CR) del tumor en un animal. Una PR indica que el volumen del tumor es 50 % o menos de su volumen en el D1 mediante tres medidas consecutivas a lo largo del estudio, y es igual o mayor que $13,5 \text{ mm}^3$ para una o más de estas tres medidas. Una CR indica que el volumen del tumor es menor que $13,5 \text{ mm}^3$ para tres medidas consecutivas a lo largo del estudio. Un animal con una CR a la terminación de un estudio se clasifica adicionalmente como un sobreviviente libre de tumor (TFS).

Análisis estadístico y gráfico

[0248] Se emplea el *logrank test* para analizar la significancia de la diferencia entre los valores TTE de dos grupos comparando sus curvas Kaplan-Meier (Fig. 1). El logrank test analiza los datos de todos los animales de un grupo, excepto las muertes no relacionadas con el tumor (NTR). Los análisis estadísticos de dos colas se realizan a $P = 0,05$, utilizando Prism 3.03 (GraphPad) para Windows. El programa Prism indica resultados del logrank test no significativos a $P > 0,05$, significativos a $0,01 < P \leq 0,05$, muy significativos a $0,001 < P \leq 0,01$ y extremadamente significativos a $P \leq 0,001$. Debido a que el logrank test determina la significancia estadística, y no proporciona un estimado de la magnitud de la diferencia entre grupos, todos los niveles de significancia se indican como significativos o no significativos dentro del texto de este informe. Las curvas de crecimiento del tumor presentan el volumen medio del tumor del grupo como una función del tiempo. La combinación de BA con topotecán da como resultado una gran reducción del volumen del tumor en comparación con el tratamiento con topotecán solo.

[0249] Cuando un animal sale del estudio debido al tamaño del tumor o a muerte relacionada con el tumor (TR), el volumen final del tumor registrado para el animal se incluye con los datos usados para calcular el volumen medio en los puntos de tiempo subsiguientes. Por tanto, el volumen medio del tumor final mostrado por la curva puede diferir del MTV, que es el volumen medio del tumor para los ratones que permanecen en el estudio el último día (excluyendo todos aquellos con tumores que han alcanzado el punto final). Si ocurre más de una muerte TR en un grupo, la curva del crecimiento medio del tumor está truncada al tiempo de la última medida que precede a la segunda muerte TR. Las curvas de crecimiento del tumor se truncan también cuando los tumores en más del 50 % de los animales evaluables de un grupo han alcanzado el volumen del punto final.

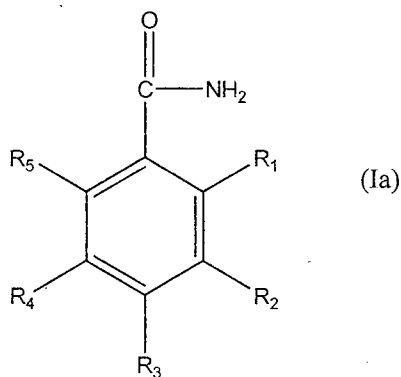
[0250] Los ejemplos anteriores no pretenden de ningún modo limitar el alcance de la presente invención. Además, se puede apreciar por un experto normal en la técnica que se pueden hacer muchos cambios y modificaciones de la misma sin separarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones adjuntas, y tales cambios y modificaciones se contemplan dentro del alcance de la presente invención.

[0251] Será evidente para un experto normal en la técnica que se pueden hacer muchos cambios y modificaciones de la misma sin separarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones adjuntas.

BS

REIVINDICACIONES:

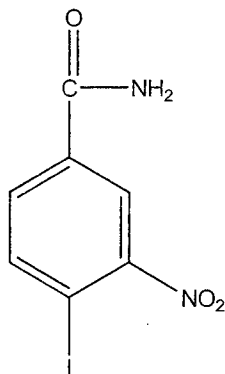
1. Un método para tratar un cáncer, que comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa y un inhibidor de PARP de la fórmula (Ia)



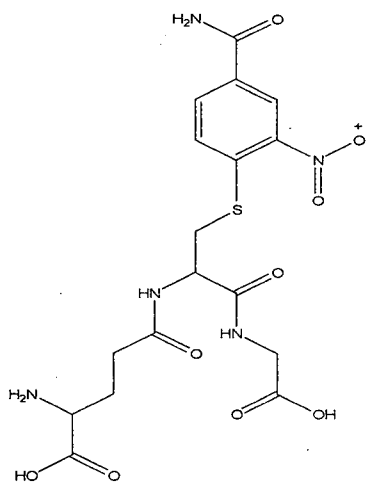
en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, bromo, fluoro, cloro, alquilo (C_1 - C_6), alcoxi (C_1 - C_6), cicloalquilo (C_3 - C_7) y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente situado en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo

donde el cáncer no es cáncer de mama, ni cáncer de útero, ni cáncer de ovarios.

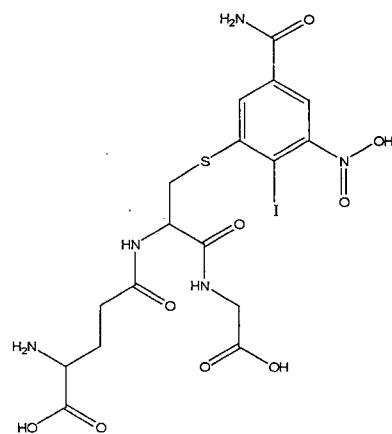
2. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de PARP es de la fórmula:



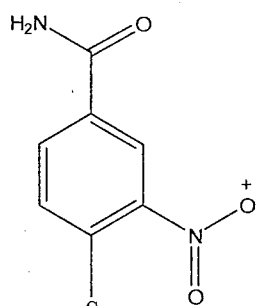
3. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de PARP es un metabolito de la 4-yodo-3-nitrobenzamida seleccionado del grupo que consiste en:



MS472

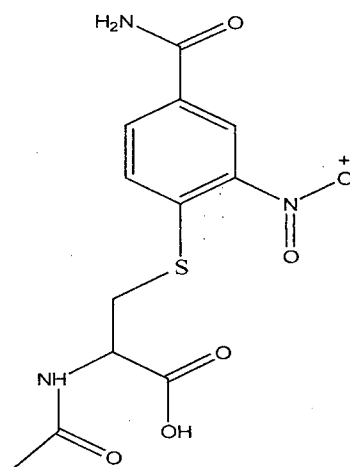


MS601

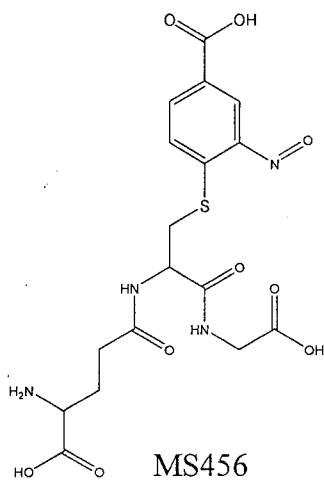


MS213

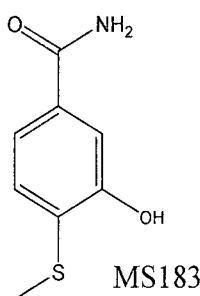
R₆ se selecciona de un grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈), isoquinolinonas, indoles, tiazol, oxazol, oxadiazol, tiofeno o fenilo.



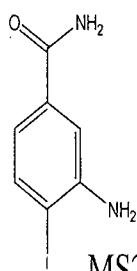
MS328



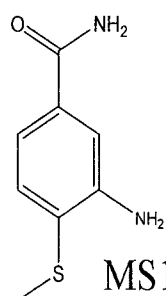
MS456



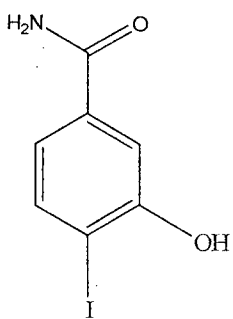
MS183



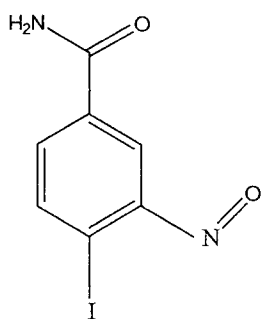
MS261



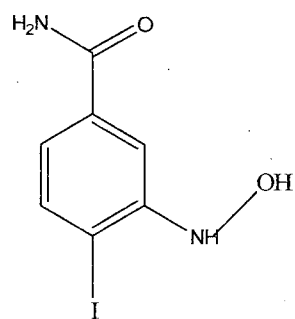
MS182



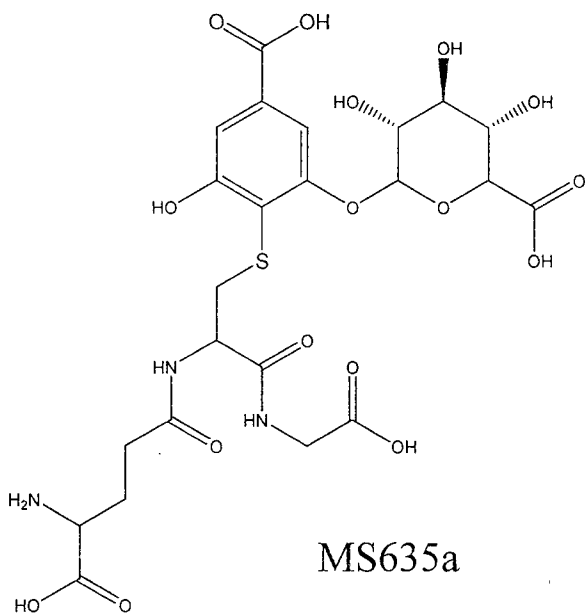
MS263



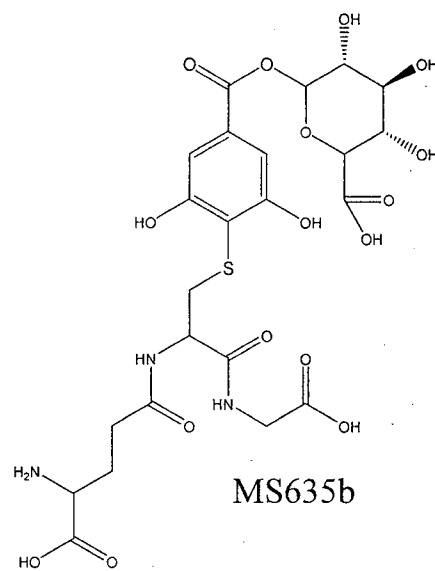
MS276



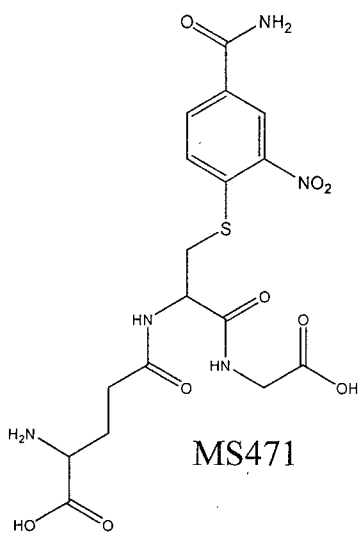
MS278



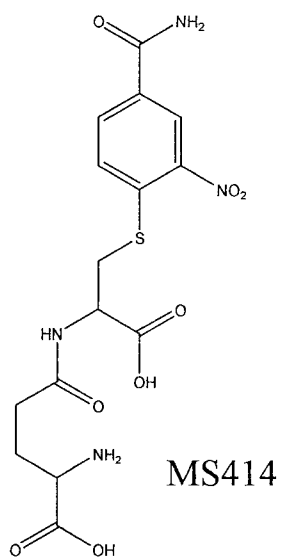
MS635a



MS635b

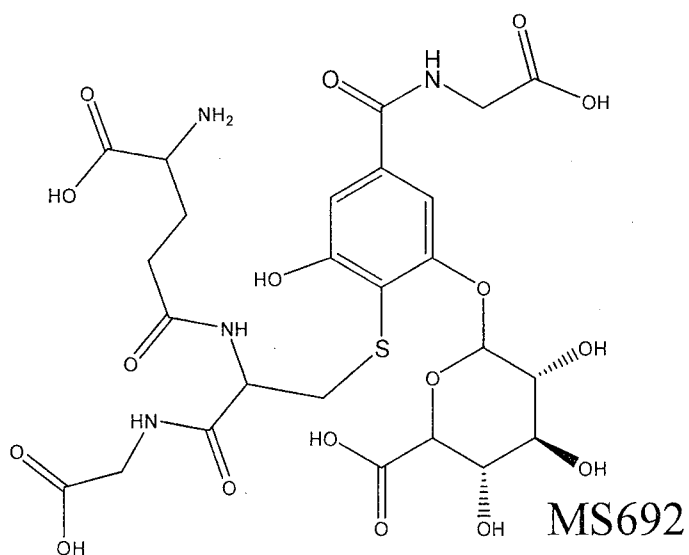


MS471

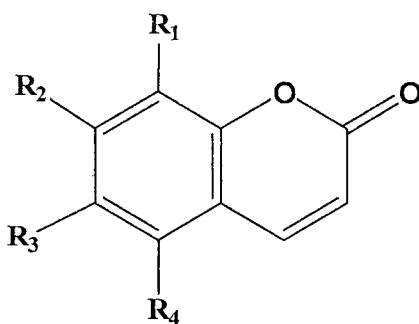


MS414

y



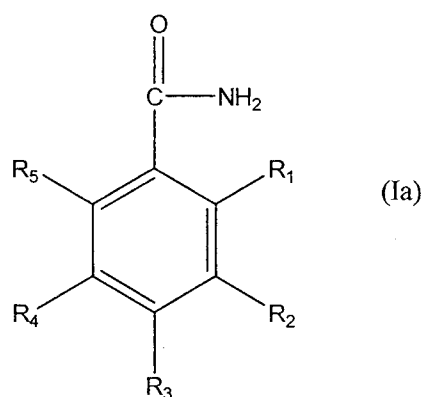
4. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán, irinotecán, lurtotecán, exatecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables.
5. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables.
6. El método de la reivindicación 1, en el que el cáncer se selecciona entre cáncer corticosuprarrenal, cáncer anal, anemia aplásica, cáncer de los conductos biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, metástasis ósea, tumores del SNC, cáncer periférico del SNC, enfermedad de Castleman, cáncer de cuello uterino, linfoma infantil no Hodgkin, cáncer de colon y de recto, cáncer de esófago, familia de tumores de Ewing, cáncer ocular, cáncer de la vesícula biliar, tumores carcinoides gastrointestinales, tumores estromales gastrointestinales, enfermedad trofoblástica gestacional, tricoleucemia, enfermedad de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer laríngeo e hipofaríngeo, leucemia aguda linfocítica, leucemia mieloide aguda, leucemia infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, tumores carcinoides de pulmón, linfoma no Hodgkin, mesotelioma maligno, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico, trastornos mieloproliferativos, cáncer de la cavidad nasal y paranasal, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer de la cavidad oral y orofaríngeo, osteosarcoma, cáncer pancreático, cáncer de pene, tumor hipofisario, cáncer de próstata, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de las glándulas salivares, sarcoma (cáncer de tejidos blandos en adultos), cáncer melanoma de la piel, cáncer de la piel no melanoma, cáncer de estómago, cáncer de testículos, cáncer de timo, cáncer de tiroides, cáncer vaginal, cáncer vulvar, macroglobulinemia de Waldenstrom y cánceres de origen vírico.
7. El método de la reivindicación 1, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia, cáncer de próstata, carcinoma de células de transición de la vejiga, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de cuello uterino, y cáncer de pulmón.
8. El método de la reivindicación 1, que comprende además administrar una cantidad eficaz de un compuesto de benzopirona de la fórmula (II):



Fórmula II

en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo opcionalmente sustituido, amina opcionalmente sustituida, alquilo inferior opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo C₄-C₁₀ opcionalmente sustituido y cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido o una sal, solvato, isómero, tautómero, metabolito o profármaco del mismo.

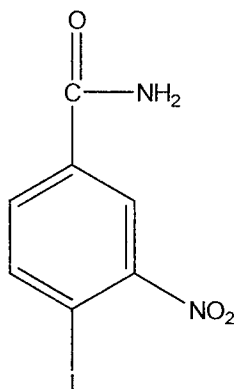
9. El método de la reivindicación 1, en el que se obtiene al menos un efecto terapéutico, siendo dicho efecto terapéutico la reducción del tamaño de un tumor, reducción de la metástasis, remisión completa, remisión parcial, respuesta patológica completa o enfermedad estable.
10. El método de la reivindicación 1, en el que se obtiene una mejora de la tasa de beneficio clínico (CBR = CR + PR + SD ≥ 6 meses) en comparación con el tratamiento con el inhibidor de la topoisomerasa pero sin el inhibidor de PARP.
11. El método de la reivindicación 10, en el que la mejora de la tasa de beneficio clínico es de al menos aproximadamente un 60 %.
12. El método de la reivindicación 1, que comprende además cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia génica, terapia de ADN, terapia adyuvante, terapia neoadyuvante, terapia vírica, terapia de ARN, inmunoterapia, nanoterapia o una combinación de las mismas.
13. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de la topoisomerasa se administra como una perfusión intravenosa.
14. El método de la reivindicación 1, en el que la 4-yodo-3-nitrobenzamida o su metabolito se administra oralmente o como una inyección o perfusión parenteral, o por inhalación.
15. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de PARP se administra antes de la administración, o concurrentemente, o posteriormente a la administración del inhibidor de la topoisomerasa.
16. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de PARP y el inhibidor de la topoisomerasa se administran en la misma formulación.
17. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de PARP y el inhibidor de la topoisomerasa se administran en diferentes formulaciones.
18. Una composición para administración a un paciente para el tratamiento del cáncer, y la composición comprende una cantidad eficaz de una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa y de un inhibidor de PARP de la fórmula (Ia):



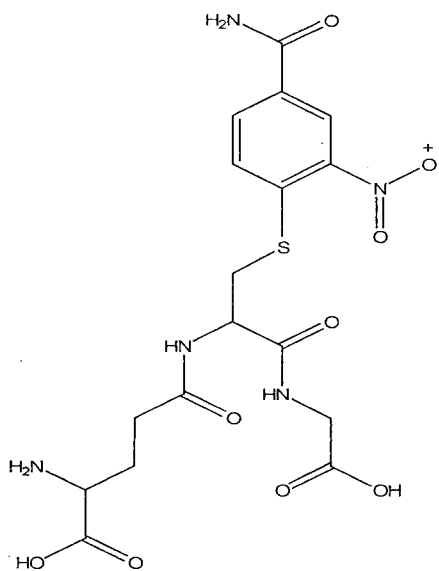
5 en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, bromo, fluoro, cloro, alquilo (C_1 - C_6), alcoxi (C_1 - C_6), cicloalquilo (C_3 - C_7), y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo;

donde el cáncer no es cáncer de mama, ni cáncer de útero, ni cáncer de ovarios.

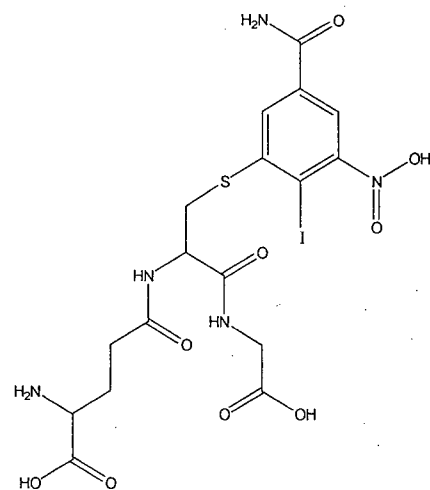
19. La composición de la reivindicación 18, en la que el inhibidor de PARP es de la fórmula:



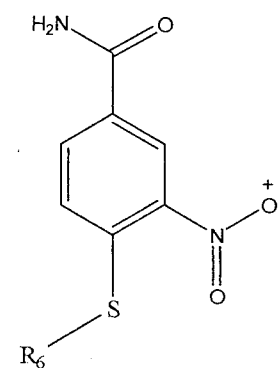
10 20. La composición de la reivindicación 18, en la que el inhibidor de PARP es un metabolito de la 4-yodo-3-nitrobenzamida seleccionado del grupo que consiste en:



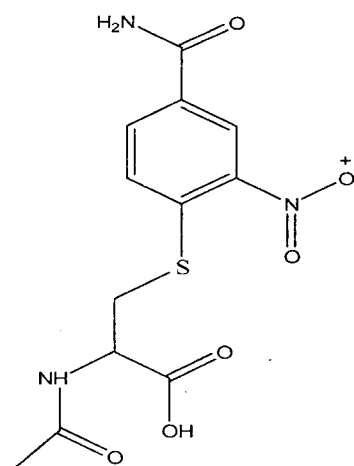
MS472



MS601

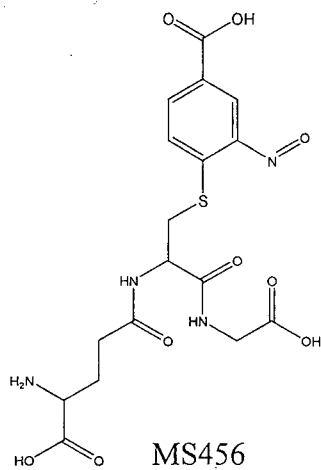


MS213

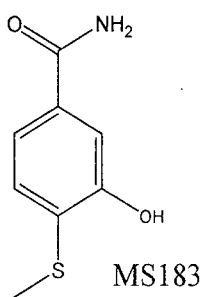


MS328

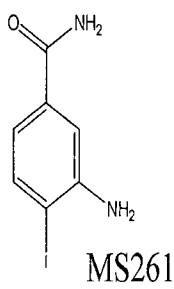
R_6 se selecciona de un grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C_1-C_8), alcoxi (C_1-C_8), isoquinolinonas, indoles, tiazol, oxazol, oxadiazol, tiofeno o fenilo.



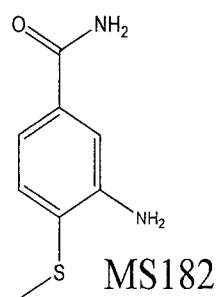
MS456



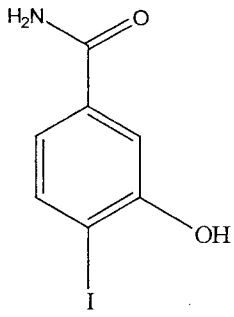
MS183



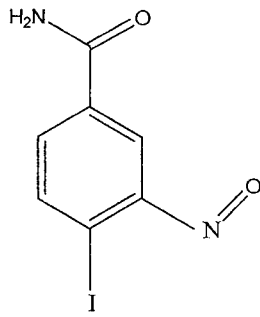
MS261



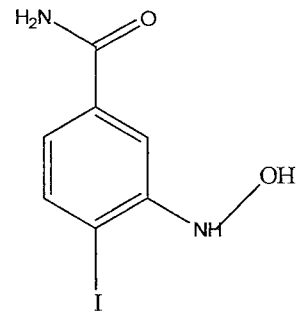
MS182



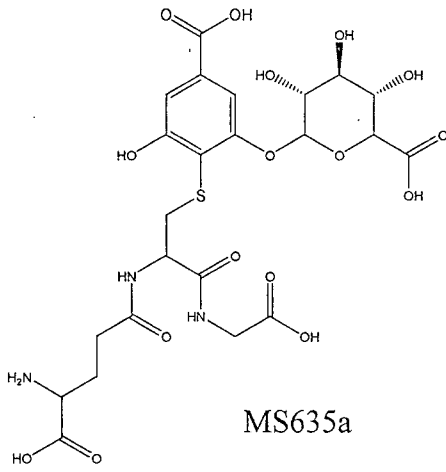
MS263



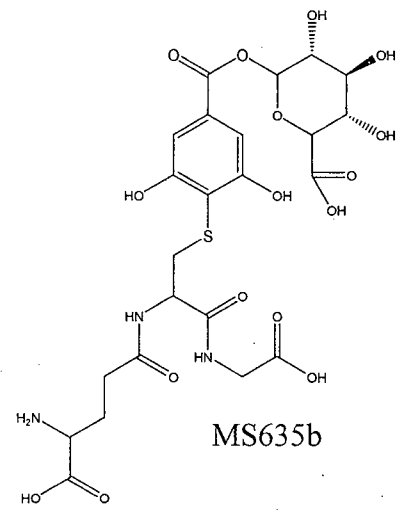
MS276



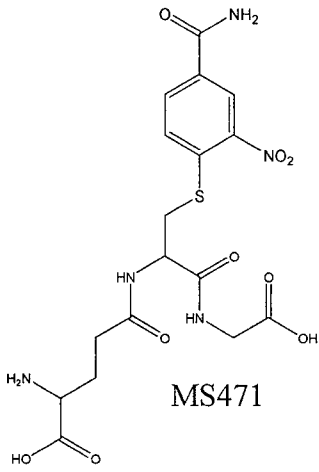
MS278



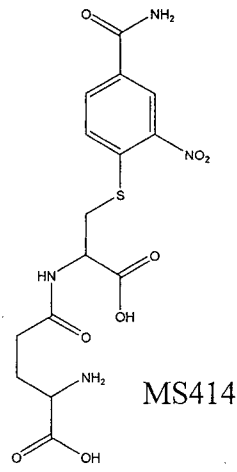
MS635a



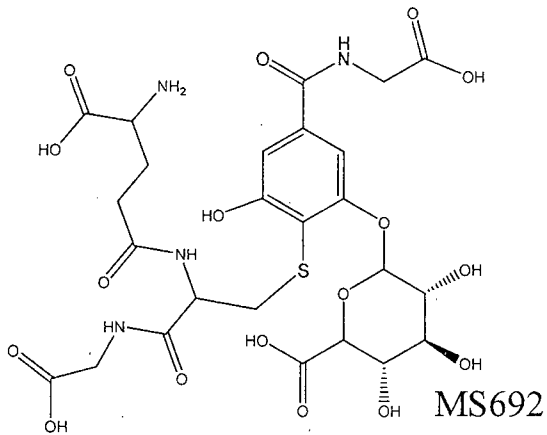
MS635b



MS471



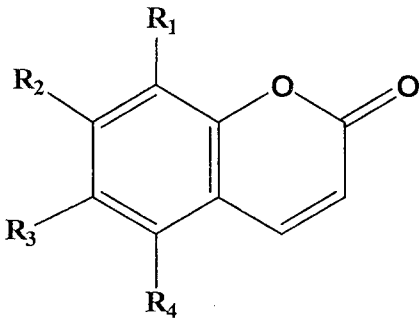
MS414



MS692

y

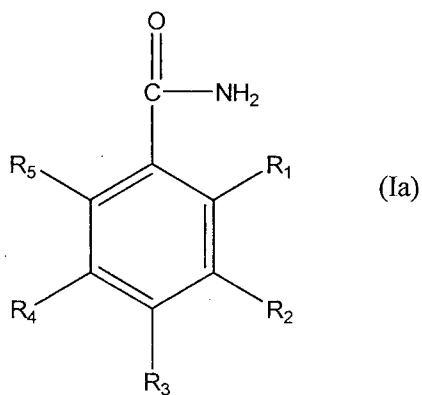
21. La composición de la reivindicación 18, en la que el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán, irinotecán, lurtotecán, exatecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables.
22. La composición de la reivindicación 18, en la que el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables.
- 5 23. La composición de la reivindicación 18, en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia, cáncer de próstata, carcinoma de células de transición de la vejiga, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de cuello uterino, y cáncer de pulmón.
24. La composición de la reivindicación 18 comprende además una cantidad eficaz de un compuesto de benzopirona de la fórmula (II):



Fórmula II

en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo opcionalmente sustituido, amina opcionalmente sustituida, alquilo inferior opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo C₄-C₁₀ opcionalmente sustituido y cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido o una sal, solvato, isómero, tautómero, metabolito o profármaco del mismo.

25. La composición de la reivindicación 18, en la que la composición se administra en una forma farmacéutica unitaria.
26. La composición de la reivindicación 25, en la que la forma farmacéutica unitaria se adapta para administración oral o parenteral.
- 20 27. La composición de la reivindicación 18, en la que tras la administración de la composición, se obtiene al menos un efecto terapéutico, siendo dicho efecto terapéutico la reducción del tamaño de un tumor, la reducción de la metástasis, la remisión completa, la remisión parcial, la respuesta patológica completa o la enfermedad estable.
28. La composición de la reivindicación 18, en la que tras la administración de la composición, se obtiene una mejora de la tasa de beneficio clínico (CBR = CR + PR + SD ≥ 6 meses) en comparación con el tratamiento con el inhibidor de la topoisomerasa pero sin el inhibidor de PARP.
- 25 29. La composición de la reivindicación 28, en la que la mejora de la tasa de beneficio clínico es de al menos aproximadamente un 60 %.
- 30 30. La composición de la reivindicación 18, en la que la composición se administra en combinación con cirugía, radioterapia, quimioterapia, terapia génica, terapia de ADN, terapia adyuvante, terapia neoadyuvante, terapia vírica, terapia de ARN, inmunoterapia, nanoterapia o una combinación de las mismas.
31. Un kit para el tratamiento del cáncer, que comprende:
(a) un inhibidor de PARP de la fórmula (Ia):

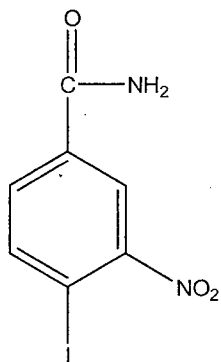


en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, bromo, fluoro, cloro, alquilo (C_1 - C_6), alcoxi (C_1 - C_6), cicloalquilo (C_3 - C_7), y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , y R_5 son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo; y

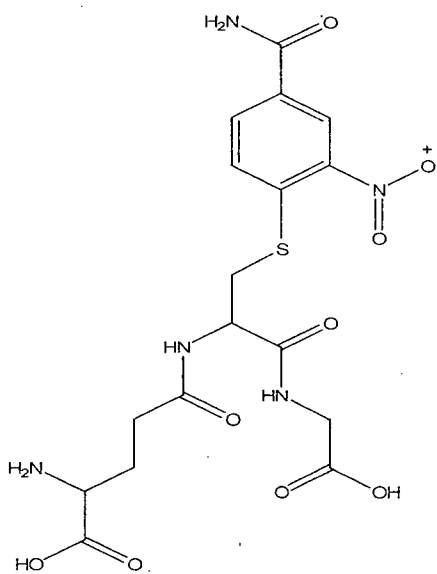
(b) un inhibidor de la topoisomerasa;

donde el cáncer no es cáncer de mama, ni cáncer de útero, ni cáncer de ovarios.

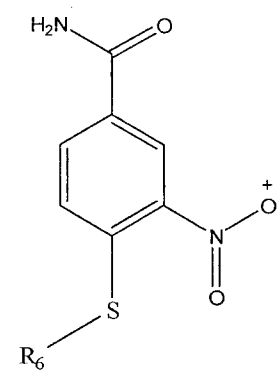
10 32. El kit de la reivindicación 31, en el que el inhibidor de PARP es de la fórmula:



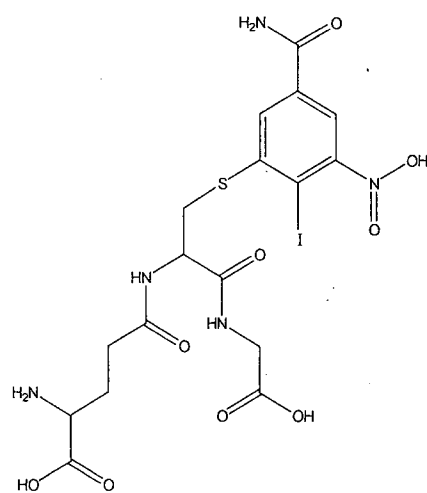
33. El kit de la reivindicación 31, en el que el inhibidor de PARP es un metabolito de la 4-yodo-3-nitrobenzamida seleccionado del grupo que consiste en:



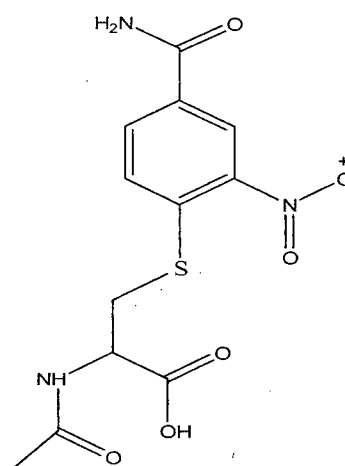
MS472



MS213

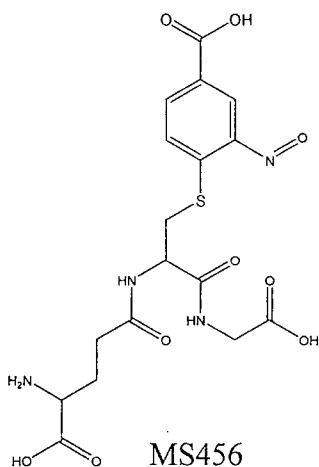


MS601

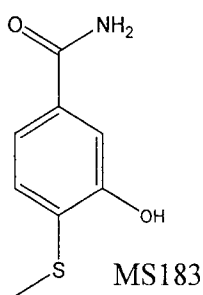


MS328

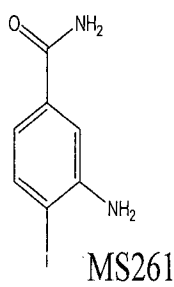
R₆ se selecciona de un grupo que consiste en hidrógeno, alquilo (C₁-C₈), alcoxi (C₁-C₈), isoquinolinonas, indoles, tiazol, oxazol, oxadiazol, tiofeno o fenilo.



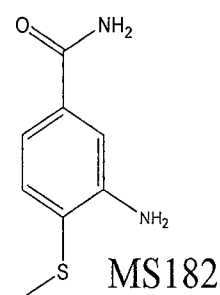
MS456



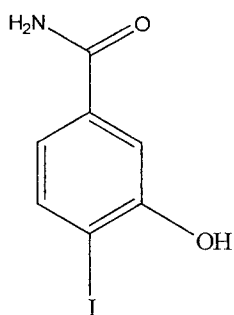
MS183



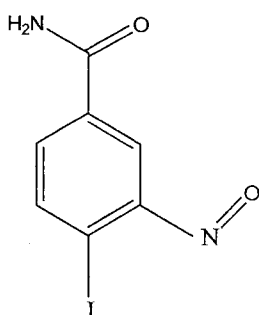
MS261



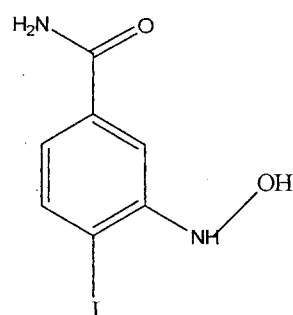
MS182



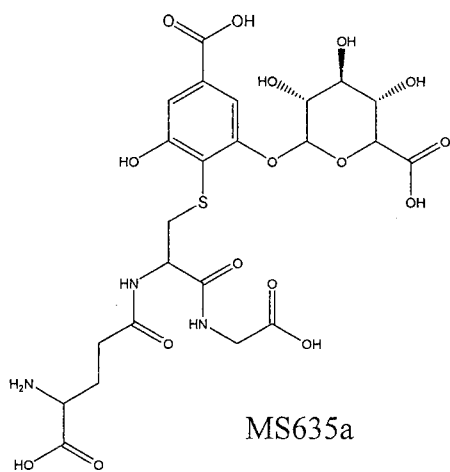
MS263



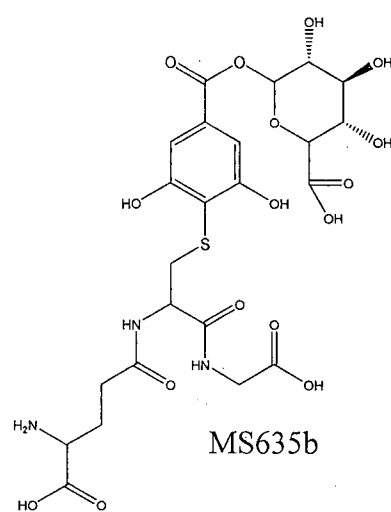
MS276



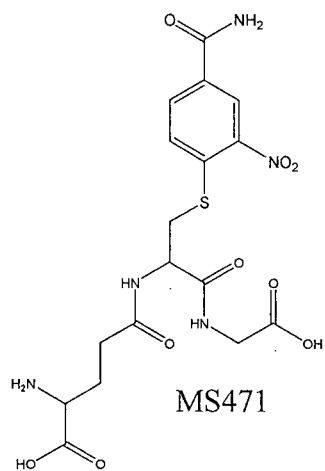
MS278



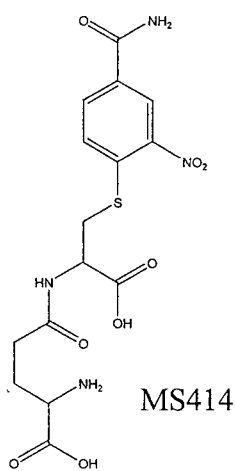
MS635a



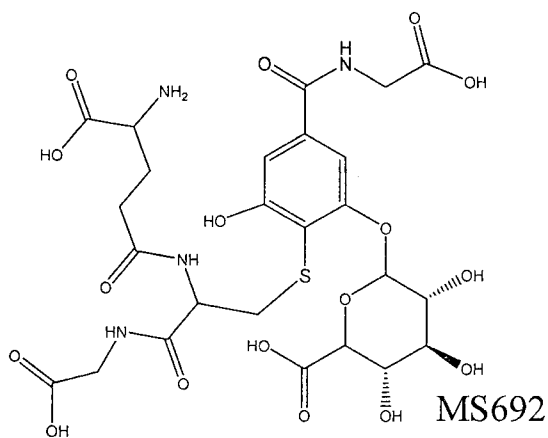
MS635b



MS471



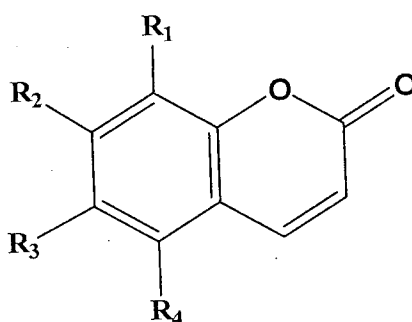
MS414



MS692

y

34. El kit de la reivindicación 31, en el que el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán, irinotecán, lurtotecán, exatecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables.
35. El kit de la reivindicación 31, en el que el inhibidor de la topoisomerasa es topotecán o una de sus sales o metabolitos farmacéuticamente aceptables.
- 5 36. El kit de la reivindicación 31, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia, cáncer de próstata, carcinoma de células de transición de la vejiga, cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de cuello uterino, y cáncer de pulmón.
37. El kit de la reivindicación 31 comprende además una cantidad eficaz de un compuesto de benzopirona de la fórmula (II):



Fórmula II

en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, halógeno, hidroxilo opcionalmente sustituido, amina opcionalmente sustituida, alquilo inferior opcionalmente sustituido, fenilo opcionalmente sustituido, heteroarilo C₄-C₁₀ opcionalmente sustituido y cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido

- 15 o una sal, solvato, isómero, tautómero, metabolito o profármaco del mismo.
38. El kit de la reivindicación 31, comprende además instrucciones para administrar el inhibidor de PARP, el inhibidor de la topoisomerasa o ambos.
39. El kit de la reivindicación 31, en el que el inhibidor de PARP, el inhibidor de la topoisomerasa, o ambos, están en una forma farmacéutica unitaria.

Resumen

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición y un kit que comprende una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa y un inhibidor de PARP para el tratamiento del cáncer. En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa y un inhibidor de PARP. En particular, la invención proporciona composiciones y métodos para tratar el cáncer en un sujeto mediante la inhibición de la poli-ADP-ribosa-polimerasa y una topoisomerasa, así como proporciona formulaciones y modos de administrar tales composiciones.

10

15

20

25

30

35

40

149

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 08/85756

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC(8) - A01N 43/42; A61K 31/47; G01N 33/574 (2009.01)
 USPC - 514/309; 435/7.23
 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)
 USPC: 514/309; 435/7.23

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
 USPC: 514/457; 514/617; 514/619 (see search terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 Electronic Databases Searched: USPTO WEST (PGPUB, EPAB, JPAB, USPT), Google Patent, Google Scholar. Search Terms Used: benzamide derivatives, PARP inhibitor, topoisomerase and inhibitor, ADP-ribose, cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2007/0015837 A1 (Kun et al.) 18 January 2007 (18.01.2007) abstract; para [0010]-[0011], [0029], [0032]-[0033], [0035], [0048]-[0049], [00136]-[0137], [0154], [0164], [0168]	1-9, 12-27 and 30-39
Y		10-11 and 28-29
Y	US 2005/0026933 A1 (Greenberger et al.) 03 February 2005 (03.02.2005) para [0048], table 5	10-11 and 28-29
A	US 6,004,978 A (Kun et al.) 21 December 1999 (21.12.1999) entire document	1-39
A	US 5,756,510 A (Griffith et al.) 26 May 1998 (26.05.1998) entire document	1-39

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

- * 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 05 February 2009 (05.02.2009)	Date of mailing of the international search report 13 FEB 2009
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2008/085756

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

BOLIN, Kimberly, A.
Morrison & Foerster LLP
755 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304-1018
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year)

18 September 2009 (18.09.2009)

Applicant's or agent's file reference

658142000940

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US2008/085756

International filing date (day/month/year)

05 December 2008 (05.12.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant☐ the inventor☐ the agent☐ the common representative

Name and Address

BIPAR SCIENCES, INC.
1000 Marina Boulevard, Suite 550
Brisbane, CA 94005
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person☐ the name☒ the address☐ the nationality☐ the residence

Name and Address

BIPAR SCIENCES, INC.
400 Oyster Point Boulevard, Suite 200
South San Francisco, California 94080
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office☐ the International Searching Authority☐ the Authority(ies) specified for supplementary search☐ the International Preliminary Examining Authority☒ the designated Offices concerned☐ the elected Offices concerned☐ other:The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Koyama Akiko

e-mail pt08.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 08

Facsimile No. +41 22 338 70 10

Form PCT/IB/306 (January 2009)

1/D64O3ZR90

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2008/085756

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

BOLIN, Kimberly, A.
Morrison & Foerster LLP
755 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304-1018
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 28 April 2010 (28.04.2010)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 658142000940	
International application No. PCT/US2008/085756	International filing date (day/month/year) 05 December 2008 (05.12.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

OSSOVSKAYA, Valeria
96 Toledo Way, #304
San Francisco, CA 94123
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

OSSOVSKAYA, Valeria, S.
338 Spear Street, Unit 14C
San Francisco, CA 94105
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Chevallay-Worley Madeleine

e-mail pt08.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 08

Facsimile No. +41 22 338 70 10

1/EFXQZ00Z0

Form PCT/IB/306 (January 2009)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2008/085756

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

BOLIN, Kimberly, A.
Morrison & Foerster LLP
755 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304-1018
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 28 April 2010 (28.04.2010)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 658142000940	
International application No. PCT/US2008/085756	International filing date (day/month/year) 05 December 2008 (05.12.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address SHERMAN, Barry 2830 Churchill Drive Hillsborough, CA 94010 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address SHERMAN, Barry, M. 2830 Churchill Drive Hillsborough, CA 94010 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
☐ the International Searching Authority
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search☐ the International Preliminary Examining Authority
☒ the designated Offices concerned
☐ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Chevallay-Worley Madeleine e-mail pt08.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 08
Facsimile No. +41 22 338 70 10	

Form PCT/IB/306 (January 2009)

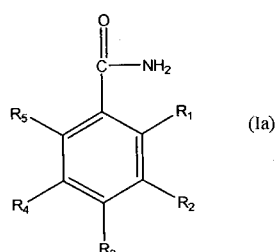
1/EFXQ0YOY0

153

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) Prioridad (32) Fecha (33) País 61/012,364 07/12/2007 US		(51) Int Cl: A01N 043/042 (71) Solicitante(s) BIPAR SCIENCES, INC. (72) Inventor(es) VALERIA S. OSSOVSKAYA Y OTROS (74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 07/07/2010 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 05/12/2008 No. de solicitud PCT/US2008/085756		(87) Publicación internacional Fecha: 11/06/2009 N° publicación: WO 2009/073869 A1	
(54) Titulo: TRATAMIENTO DEL CÁNCER CON COMBINACIONES DE INHIBIDORES DE LA TOPOISOMERASA E INHIBIDORES DE PARP			

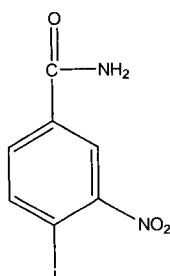
Reivindicación(es):

1. Un método para tratar un cáncer, que comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de una combinación de un inhibidor de la topoisomerasa y un inhibidor de PARP de la fórmula (1a)

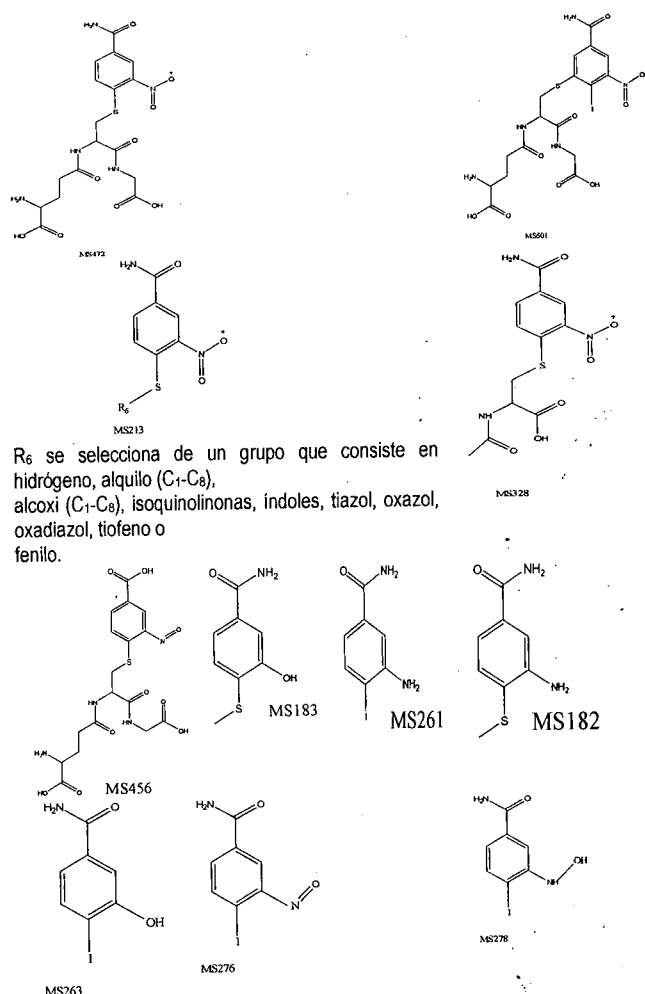


en la que R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, amino, nitro, yodo, bromo, fluoro, cloro, alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₇) y fenilo, donde al menos dos de los cinco sustituyentes R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son siempre hidrógeno, al menos uno de los cinco sustituyentes es siempre nitro, y al menos un sustituyente situado en posición adyacente a un nitro es siempre yodo, y las sales, solvatos, isómeros, tautómeros, metabolitos, análogos o profármacos farmacéuticamente aceptables del mismo donde el cáncer no es cáncer de mama, ni cáncer de útero, ni cáncer de ovarios.

2. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de PARP es de la fórmula:



3. El método de la reivindicación 1, en el que el inhibidor de PARP es un metabolito de la 4-yodo-3-nitrobenzamida seleccionado del grupo que consiste en:



154

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 14,399
FECHA : FEBRERO 22 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-082099- -00000-0000

Fecha: 2010-07-07 15:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 156

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175552554	22/02/2010	57,025,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		5 TRAMITES DE SOL. DE MODELO DE UTI	325,000.00
		TOTAL :	\$ 325,000.00

SON: TRESCIENTOS VEINTICINCO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

076 AB6-841-004-8

LS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 34,535
FECHA : MAYO 4 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-082099-00000-0000

Fecha: 2010-07-07 15:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 156

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175534520	03/05/2010	61,670,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SDLICITUDES	
		93 TASA ANUAL MANTENIMIENTO MODELO D	174,000.00
		TOTAL :	\$ 174,000.00

SON: CIENTO SETENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

006 17136-841-004-8

156.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 52,232
FECHA : JUNIO 28 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-082099- -00000-0000

Fecha: 2010-07-07 15:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 156

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175542485	28/06/2010	62,897,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-02	PRORROGAS Y RENDVACIONES	819,000.00
30		PRORROGAS Y RENDVACIONES	819,000.00
		TOTAL :	\$ 819,000.00

SON: OCHOCIENTOS DIEZ Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Colo ABG-841-004-8



No. 10-082099- -00000-0000

Fecha: 2010-07-07 15:59:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 156

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE

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

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

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

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

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

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

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



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
SUAREZ-DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
BIPAR SCIENCES, INC

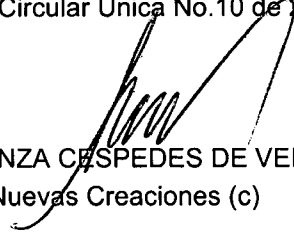
REFERENCIA	Radicación No.	10 082099
	Solicitud internacional	PCT/US2008/085756
	Fecha inicio fase nacional	07/07/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	009487

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

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

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

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


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha
adpa11

30 JUL 2010