

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogada
LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ
clientes@cavelier.com; cavelier@cavelier.com

ASUNTO Radicación 10 152 537
 Trámite 011
 Evento 378
 Actuación 519
 Oficio 10
 Folios 10

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-152537- -00002-0000

Fecha: 2012-10-26 10:18:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 519 TRASLADOINFORME Folios: 10

Patente de Invención	☒	Patente de Modelo de Utilidad
Vía Nacional		
Vía PCT (Fase Nacional)	☒	Capítulo I ☒ Capítulo II
No. Solicitud Internacional	PCT/EP2009/056944	
Fecha de Presentación Internacional	05/Junio/2009	

Como resultado del Examen de Fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Folios 65 a 99	03/Diciembre/2010
Reivindicaciones:	Folios 100 a 105	03/Diciembre/2010
Dibujos:	Folios 107 a 116	03/Diciembre/2010
Prioridad:	EP 08157800.7	06/Junio/2008
	EP 09160297.9	14/Mayo/2009

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de Prioridad porque esta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Formulaciones farmacéuticas sólidas que comprenden BIBW 2992".

El problema planteado en esta solicitud consiste en proporcionar una forma de dosificación farmacéutica para la sustancia activa BIBW 2992 que cumpla con los requisitos de biodisponibilidad adecuados para el intervalo de dosificación diana

deseado y métodos de producción de las formas de dosificación.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona una forma de dosificación farmacéutica de la sustancia activa BIBW 2992 MA₂, que proporciona un perfil de disolución de liberación inmediata a lo largo del intervalo de pH fisiológicamente relevante de pH 1 – 6,8 y agua, en donde no menos de 85% se disuelve en el espacio de 60 minutos o menos *in vitro*.

El objeto de la presente Solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A 61 K 009/000.

4. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literales (d))

El objeto de las reivindicaciones 14 y 16, que se refieren a métodos de tratamiento, no es patentable de acuerdo con el Art citado.

5. Reivindicaciones relativas a un uso o a un segundo uso (Art 14 y 21 D 486)

El uso de la reivindicación 13 no es patentable, de acuerdo con el Art 14.

6. De la Solicitud de Patente

Titulo

El título es muy general y no define el objeto de de la solicitud, por lo cual se sugiere al solicitante hacer la corrección necesaria.

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

La Reivindicación 1 no es concisa porque no se encuentra definida señalando la cantidad del compuesto 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato que distingue la invención del arte previo. Se sugiere definirla por sus características técnicas esenciales como lo son los componentes que la conforman y las cantidades de los mismos. Adicionalmente el pliego Reivindicatorio no es claro porque hace referencia a la descripción, según la expresión “BIBW 2992 MA₂”. Se sugiere eliminar la referencia a la descripción y mencionar el compuesto por su nombre IUPAC, es decir, por el nombre 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato.

Lo anterior aplica también para las Reivindicaciones 2 – 31, ya que tal como se encuentran definidos no es posible identificar las características técnicas esenciales que las conforman y que las distinguen del arte previo.

Las siguientes Reivindicaciones no son claras porque las expresiones:

No.	Objeción de claridad
1	"que proporciona un perfil de disolución de liberación inmediata a lo largo del intervalo de pH fisiológicamente relevante de pH 1 – 6,8 y agua, en donde no menos de 85% (Q=80%) se disuelve en el espacio de 60 minutos o menos <i>in vitro</i> bajo las siguientes condiciones de disolución <i>in vitro</i> de acuerdo con la farmacopea Europea 6.2: aparato 2 (paletas), 900mL de medio de disolución de pH 1 – 6.8 o agua , y una velocidad de agitación de 50 a 150 r.p.m., preferiblemente 50 o 75 rpm. a una temperatura de 37°C".
2	"que proporciona un perfil de disolución de liberación inmediata, en el que no menos

	de 85% (Q 80%) de la sustancia activa se disuelve en el espacio de 30 minutos o menos <i>in vitro</i> "
3	"que proporciona un perfil de disolución de liberación inmediata, en el que no menos de 85% (Q 80%) de la sustancia activa se disuelve en el espacio de 15 minutos o menos <i>in vitro</i> "
4	"que proporciona un perfil de liberación inmediata en el que la concentración máxima de la sustancia activa en plasma en estado estacionario ($C_{max,ss}$) aumenta de una forma proporcional a la dosis"
5	"que proporciona un perfil de liberación inmediata, en el que el área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo del analito/sustancia activa en plasma en estado estacionario a lo largo de un intervalo de dosificación τ ($AUC_{\tau,ss}$) aumenta de una manera proporcional en la dosis"
6	"que proporciona un perfil de liberación inmediata, caracterizada porque alcanza una concentración en plasma máxima en el plasma de pacientes de cáncer entre 0,75 y 7 horas, preferiblemente con un valor medio entre 1 y 6 horas después de dosis sencilla, así como en estado estacionario"
7	"que proporciona un perfil de liberación inmediata, en donde la concentración de plasma máxima en estado estacionario en el plasma de pacientes de cáncer está dentro de un intervalo de 5 ng/mL y 100 ng/mL, con un valor medio geométrico de entre 15 y 35 ng/mL, si se ha administrado una forma de dosificación que comprende 20 mg de BIBW 2992 MA ₂ (sal del API) una vez al día durante un periodo de cómo mínimo 14 días"
8	"que proporciona un perfil de liberación inmediata, en donde la concentración de plasma máxima en estado estacionario en el plasma de pacientes de cáncer está dentro de un intervalo de 5 ng/mL y 30 ng/mL, con un valor medio geométrico de entre 25 y 120 ng/mL, si se ha administrado una forma de dosificación que comprende 30 mg de BIBW 2992 MA ₂ (sal del API) una vez al día durante un periodo de cómo mínimo 14 días"
9	"que proporciona un perfil de liberación inmediata, en donde la concentración de plasma máxima en estado estacionario en el plasma de pacientes de cáncer está dentro de un intervalo de 5 ng/mL y 230 ng/mL, con un valor medio geométrico de entre 25 y 120 ng/mL, si se ha administrado una forma de dosificación que comprende 40 mg de BIBW 2992 MA ₂ (sal del API) una vez al día durante un periodo de cómo mínimo 14 días"
10	"que proporciona un perfil de liberación inmediata, en donde la concentración de plasma máxima en estado estacionario en el plasma de pacientes de cáncer está dentro de un intervalo de 5 ng/mL y 230 ng/mL, con un valor medio geométrico de entre 35 y 120 ng/mL, si se ha administrado una forma de dosificación que comprende 50 mg de BIBW 2992 MA ₂ (sal del API) una vez al día durante un periodo de cómo mínimo 14 días"

se refieren a resultados a alcanzar y las reivindicaciones incluirían no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado. Además se recuerda al solicitante que las características técnicas esenciales de una forma de dosificación farmacéutica son referidas a los ingredientes activos que las conforman, sus excipientes y/o sus proporciones. Se sugiere al solicitante eliminar estas expresiones o frases del capítulo reivindicatorio ya que estas le restan claridad a la solicitud.

Las Reivindicaciones 17 – 28 no son claras porque los términos “producto intermedio” y “mezcla intermedia o final”, son términos ambiguos e imprecisos y no definen la invención por sus características técnicas esenciales que permitan distinguir la invención del arte previo. Se sugiere definir la invención por sus características técnicas esenciales como lo son los componentes que la conforman y las cantidades de los mismos.

Las Reivindicaciones 29 – 31 no son claras porque mencionan un método para producir el producto intermedio pero este no se define mediante características como alguna etapa ó alguna condición específica en que debiera realizarse. Se sugiere,

entonces, definir la invención por sus características esenciales, estructurales o funcionales.

Se requiere al Solicitante hacer las aclaraciones necesarias.

7. Unidad de invención (Art 25 D 486)

La solicitud no cumple con el requisito de unidad de invención porque se refiere a 3 grupos inventivos.

Los grupos inventivos están definidos por las siguientes características esenciales:

Grupo Inventivo 1: Forma de dosificación farmacéutica de la sustancia activa BIBW 2992 MA₂ (Reivindicaciones 1 – 13 y 15).

Grupo Inventivo 2: Un producto intermedio compactado que comprende BIBW MA₂ en forma de polvo obtenible mediante una etapa de compactación, la mezcla intermedia y final y formulaciones orales preparadas a partir del producto intermedio y (Reivindicaciones 17 – 28). Sugerido en D1.

Grupo Inventivo 3: Método para producir el producto intermedio compactado de BIBW 2992 MA₂ que comprende una etapa de compactación por rodillos. (Reivindicaciones 29 – 31). Sugerido en D1.

El grupo inventivo 1 (Forma de dosificación farmacéutica de la sustancia activa BIBW 2992 MA₂) se encuentra divulgado en D1 y D2.

El problema a ser solucionado en esta invención consiste en suministrar una forma de dosificación farmacéutica para la sustancia activa BIBW 2992 que cumpla con los requisitos de biodisponibilidad adecuados para el intervalo de dosificación diana deseado y métodos de producción de las formas de dosificación. En la solicitud se presentan 3 posibles soluciones correspondientes a los grupos inventivos identificados anteriormente. No se presenta unidad de invención del grupo inventivo 1 con los demás grupos listados, porque en el estado de la técnica, se encuentra una o más características técnicas esenciales que definen a los otros grupos inventivos en relación con el grupo inventivo 1. En esta solicitud no se puede identificar la característica técnica esencial que sea común a los grupos inventivos mencionados.

Por lo tanto, esta solicitud carece de unidad de invención, los diferentes grupos no ofrecen un concepto inventivo común. Cada uno de los grupos listados se caracteriza por tener su propia característica técnica esencial. Se sugiere presentar las solicitudes divisionales que considere necesarias, ó limitar la solicitud inicial a una sola invención, eliminando de ella las otras invenciones.

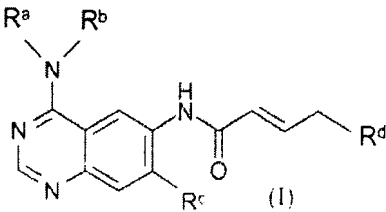
Debido a la falta de unidad de invención, el examen de patentabilidad se limita al grupo inventivo 1.

8. Determinación del Estado de la Técnica

El Estado de la Técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la Solicitud de Prioridad: Junio 06 de 2008 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Item	Documento	Título	Fecha de Publicación*
D1	WO2007054550	Quinazoline derivatives for the treatment of cancer diseases	18/Mayo/2007
D2	Artículo ¹	Suspensions	25/Abril/1995

D1: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=WO&NR=2007054550&KC=&FT=E&ocale=en_EP, divulga (resumen) el uso de quinazolinas de fórmula (I) en terapias relacionadas con cáncer.



D2: (folios 136 a 138), divulga un estudio de escalado de dosis de BIBW 2992 en terapias relacionadas con proliferación celular con tumores sólidos avanzados.

9. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Novedad (Art 16 D486)

Grupo inventivo 1:

La reivindicación 1 consiste en forma de dosificación farmacéutica de la sustancia activa BIBW 2992 MA₂ (sal del API), que proporciona un perfil de disolución de liberación inmediata a lo largo del intervalo de pH fisiológicamente relevante de pH 1 – 6,8 y agua, en donde no menos de 85% (Q=80%) se disuelve en el espacio de 60 minutos o menos *in vitro* bajo las siguientes condiciones de disolución *in vitro* de acuerdo con la farmacopea Europea 6.2: aparato 2 (paletas), 900mL de medio de disolución de pH 1 – 6,8 o agua , y una velocidad de agitación de 50 a 150 r.p.m., preferiblemente 50 o 75 rpm, a una temperatura de 37°C.

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D1
forma de dosificación farmacéutica	Tabletas de liberación inmediata recubiertas obtenidas por proceso de granulación seca (páginas 30 – 31, ejemplo 9; página 23, desde donde dice: "dosage")
BIBW 2992 MA ₂	4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahydrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato (BIBW 2992 MA ₂)(página 18, líneas 1 – 3)

Las características **esenciales** de la forma de dosificación farmacéutica de la Reivindicación 1 habían sido divulgadas previamente en D1, el cual enseña tabletas de liberación inmediata recubiertas obtenidas por proceso de granulación seca que contienen 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahydrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato (BIBW 2992 MA₂)

¹ **ESKENS FALM ET AL:** "A phase I dose escalation study of BIBW 2992, an irreversible dual inhibitor of epidermal growth factor receptor 1 (EGFR) and 2 (HER2) tyrosine kinase in a 2-week on, 2-week off schedule in patients with advanced solid tumours" BRITISH JOURNAL OF CANCER, vol. 98, 20 November 2007 (2007-11-20), pages 80-85.

(páginas 30 – 31, ejemplo 9; página 23, desde donde menciona: "dosage": página 18, líneas 1 – 3).

En consecuencia, la Reivindicación 1 no es nueva ó carece de novedad, según lo divulgado en el documento D1.

Las reivindicaciones dependientes 2 – 13 no mencionan alguna característica que haga nueva la forma de dosificación farmacéutica de la Reivindicación 1, por lo cual se considera que no son nuevas.

Nivel Inventivo (Art18 D486)

La Reivindicación 15 consiste en forma de dosificación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 12, que comprende valores del intervalo de dosis entre 1 y 160 mg de la sustancia activa

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del Estado de la Técnica

Características esenciales	D1	D2
forma de dosificación farmacéutica	Tabletas de liberación inmediata recubiertas obtenidas por proceso de granulación seca (páginas 30 – 31, ejemplo 9; página 23, desde donde menciona: "dosage")	No menciona
1 a 160 mg de BIBW 2992 MA ₂	No menciona	BIBW 2992 en dosis que varían desde 10 mg hasta 100 mg) (folio 137 y 138, tabla 2).

Los documentos D1 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la Reivindicación 15 porque divulgan tabletas de liberación inmediata recubiertas obtenidas por proceso de granulación seca (D1: páginas 30 – 31, ejemplo 9; página 23, desde donde menciona: "dosage") que contienen 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato (BIBW 2992 MA₂) en dosis que varían desde 10 mg hasta 100 mg (D2: folio 138, tabla 2).

La diferencia entre la invención, definida en la Reivindicación 15 y las tabletas de liberación inmediata de D1 consiste en la cantidad del principio activo 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato (BIBW 2992 MA₂), en particular dosis de entre 1 y 160 mg.

La diferencia entre la invención, definida en la Reivindicación 15 y el compuesto de D2 consiste en la forma farmacéutica en la que se encuentra el principio activo 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato (BIBW 2992).

Esta diferencia (las diferentes dosis en las que se encuentra el principio activo 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato) no parece conceder un efecto técnico inesperado o una ventaja a las formas de dosificación farmacéutica reclamadas en

esta solicitud ya que no parecen presentar propiedades superiores en comparación con las composiciones del estado de la técnica cercano.

Por lo tanto, el Problema Técnico Objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar las cantidades de principio activo 4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato, particularmente para que tal principio activo se encuentre en cantidades dentro del rango de 1 y 160 mg”.

Sin embargo, tal modificación en la forma de dosificación farmacéutica ya se encontraba divulgada en el documento D2 que se refiere particularmente a -[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)quinazolina dimaleato (BIBW 2992) en cantidades que varían desde 5 mg, hasta 100 mg (D2:ver folios 137 y 138, página 81 y 82, tabla 2).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría esta característica de D2 en las composiciones de D1 para llegar así al objeto de la Reivindicación 15 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia.

Conclusión:
la Reivindicación 15 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

10. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente Solicitud están afectados así:

Item	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	WO2007054550	1 – 15	Novedad - Nivel Inventivo
D1	ESKENS FALM ET AL	15	Nivel inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

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.


JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (C)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 30 OCT. 2012

Elaborado por: Nelson Ricardo Velasco G. 
Revisado por: Jacqueline Alfonso Rozo.

A phase I dose escalation study of BIBW 2992, an irreversible dual inhibitor of epidermal growth factor receptor 1 (EGFR) and 2 (HER2) tyrosine kinase in a 2-week on, 2-week off schedule in patients with advanced solid tumours

FALM Eskens^{*,1}, CH Mom², AST Planting¹, JA Gietema², A Amelsberg³, H Huisman⁴, L van Doorn¹, H Burger¹, P Stopfer⁵, J Verweij¹ and EGE de Vries²

¹Department of Medical Oncology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands; ²Department of Medical Oncology, University Hospital, Groningen, The Netherlands; ³Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc, Ridgefield, CT, USA; ⁴Boehringer Ingelheim BV, Aikmaar, The Netherlands; ⁵Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Biberach, Germany

To assess tolerability, pharmacokinetics (PK), pharmacodynamics (PD) and clinical activity of the dual epidermal growth factor receptor (EGFR) 1 and 2 (HER2) tyrosine kinase inhibitor BIBW 2992. An escalating schedule of once-daily (OD) BIBW 2992 for 14 days followed by 14 days off medication was explored. Thirty-eight patients were enrolled. Dose levels were 10, 20, 30, 45, 70, 85, and 100 mg. At 100 mg dose-limiting toxicity (DLT) (common toxicity criteria grade 3 skin rash and grade 3 diarrhoea despite treatment with loperamide) occurred in two patients. In the next-lower dose of 70 mg, DLT (grade 3 fatigue and ALAT elevation) occurred in one of six patients. An intermediate dose level of 85 mg was studied. Here DLT occurred in two patients (grade 3 diarrhoea despite treatment and grade 2 diarrhoea lasting more than 7 days despite treatment). An additional 12 patients were treated at 70 mg. BIBW 2992 PK after single and multiple doses revealed moderately fast absorption, and no deviation from dose proportionality. Pharmacodynamics analysis in skin biopsies did not show significant changes in EGFR-associated biomarkers. However, a significant inhibitory effect on the proliferation index of epidermal keratinocytes was observed. No partial or complete responses were observed, stable disease lasting more than four cycles was seen in seven patients. The recommended dose for studies with BIBW 2992 for 14 days followed by 14 days off medication is 70 mg OD.

British Journal of Cancer (2008) 98, 80–85. doi:10.1038/sj.bjc.6604108 www.bjcancer.com

Published online 20 November 2007

© 2008 Cancer Research UK

Keywords: phase I; BIBW 2992; epidermal growth factor receptor; tyrosine kinase inhibitor; pharmacokinetics

Increased expression of epidermal growth factor receptors (EGFR) is frequently found in epithelial tumours. EGFR and HER2 play a role in carcinogenesis, and alterations in these receptors are associated with poor outcome (Hynes and Lane, 2005). As HER2 overexpression is found to potentiate EGFR signalling, dual inhibition of these two receptors is considered to be of great potential clinical interest. A number of reversible and irreversible tyrosine kinase inhibitors have been explored in clinical trials, including the reversible dual inhibitor lapatinib, which has recently gained approval in the USA for patients with HER2-Neu overexpressing metastatic breast cancer progressing after trastuzumab (Baselga *et al*, 2002; Geyer *et al*, 2006).

BIBW 2992 (Figure 1) is an irreversible dual inhibitor of EGFR and HER2 tyrosine kinase. The inhibitory concentration (IC)₅₀ is

0.5 nM for EGFR kinase and 14 nM for HER2 kinase. Related kinases from vascular endothelial growth factor 2, C-SRC and Lck are not inhibited at concentrations 100- to 1000-fold higher. BIBW 2992 inhibits EGF-induced EGFR phosphorylation and cellular proliferation in cell lines such as EGFR-overexpressing and HER2-expressing cell lines A431, NIH-3T3-HER2, NCI-N87 and BT-474 (Boehringer-Ingelheim, data on file). Oral BIBW 2992 induced tumour regression in mice carrying EGFR-overexpressing and HER2-expressing A431 xenografts, in mice carrying EGFR-overexpressing and HER2-expressing MDA-MB-453 xenografts, and in NCI-N87 gastric and SKOV-3 ovarian models at plasma concentrations of 80–280 nM (Boehringer-Ingelheim, data on file). Toxicity occurred in skin and kidneys in rats and the gastrointestinal tract in rats and minipigs.

Objectives of this study were (1) to determine maximum tolerated dose (MTD) and dose-limiting toxicity (DLT) when administered once-daily (OD) for 14 days followed by 14 days off treatment, (2) to characterise safety including acute and chronic adverse events (AE), (3) to characterise single- and multiple-dose pharmacokinetics (PK), (4) to analyse biomarkers in skin biopsies and (5) to assess antitumour activity.

*Correspondence: Dr FALM Eskens, Department of Medical Oncology, Room HE-120, Erasmus University Medical Center, PO Box 2040, Rotterdam, 3000 CA, The Netherlands; E-mail: f.eskens@erasmusmc.nl
Revised 22 October 2007; accepted 30 October 2007; published online 20 November 2007

137

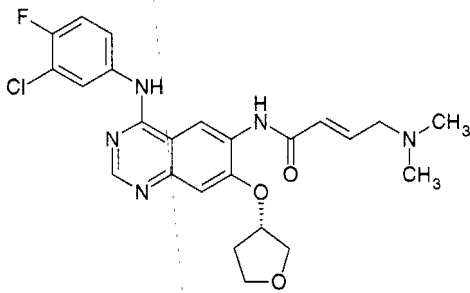


Figure 1 Chemical structure of BIBW 2992.

PATIENTS AND METHODS

Eligibility criteria

Patients with histologically or cytologically confirmed solid tumours historically known to express EGFR and/or HER2, for whom no proven therapy exists or who are not amenable to established treatments were eligible. Additional eligibility criteria were as follows: age ≥ 18 years; Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status ≤ 2 ; life expectancy ≥ 3 months; adequate bone marrow (absolute neutrophil count $\geq 1.5 \times 10^9 l^{-1}$, platelet count $\geq 100 \times 10^9 l^{-1}$), hepatic (bilirubin $\leq 26 \mu mol l^{-1}$, serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) < 3 times upper limit of normal (ULN) or < 5 times ULN in case of liver metastases) and renal (creatinine $\leq 132 \mu mol l^{-1}$) function; no chemotherapy, immunotherapy, radiotherapy, or hormonal therapy within 28 days excluding LHRH agonists or hormones taken for breast cancer. A normal left ventricular ejection fraction (LVEF) based on echocardiography or MUGA scan was required. Specific exclusion criteria included impairment of gastrointestinal function interfering with drug absorption or chronic diarrhoea.

Study design

BIBW 2992 was supplied by Boehringer-Ingelheim Pharma GmbH, Biberach, Germany as tablets of 5, 20, or 100 mg. Tablets were taken 1 h before breakfast. A cycle was defined as 14 days on treatment followed by 14 days off medication. At days of pharmacokinetic evaluation, BIBW 2992 was taken 1 h before breakfast. The starting dose corresponded with one-fifth of the toxic dose low in rats, the most sensitive species. The dose for successive cohorts was doubled until observation of drug-related AE grade ≥ 2 according to common toxicity criteria v3.0 in one or more patients in the first cycle. Thereafter escalation steps were $\leq 50\%$. Should DLT be observed in one out of six patients and dose escalation continued, escalation steps were $\leq 35\%$. Initially, three patients were treated per dose level. If one patient experienced drug-related DLT, three additional patients were treated. When no further patient experienced DLT, the dose was escalated. When $\geq 2/6$ patients experienced DLT, three additional patients were treated 1 dose tier below unless six had already been treated there.

Maximum tolerated dose was defined as the highest dose with $\leq 1/6$ patients experiencing DLT during cycle 1. Dose-limiting toxicity was defined as grade 3 or 4 nonhaematological toxicity except untreated nausea, vomiting, or diarrhoea; grade 4 haematological toxicity; grade 3 diarrhoea, nausea, or vomiting despite supportive care; need for loperamide for ≥ 7 days to treat or prevent grade ≥ 2 diarrhoea; need for continuous administration of 5HT-3 antagonists or dexamethasone to treat or prevent grade ≥ 2 nausea or vomiting; occurrence of grade ≥ 2 cardiac left ventricular function or renal toxicity. In the absence of DLT or

disease progression, patients received six cycles and were allowed to continue in an extension protocol. Inpatient dose escalation was not allowed. The study was approved by local Ethics Committees, and all patients provided written informed consent.

Pretreatment and follow-up studies

Prior to therapy, medical history taking and physical examination were performed. A complete blood cell count (CBC), white blood cell (WBC) differential and serum biochemistry were performed, as were urinalysis, electrocardiogram, MUGA scanning and, chest X-ray. Weekly evaluations during cycles 1 and 2 and every other week thereafter included physical examination, AE assessment, CBC, WBC differential and serum chemistry including renal function. Tumour measurements and MUGA scanning were performed every other cycle. Response was assessed using RECIST (Therasse et al, 2000).

Pharmacokinetic sampling and data analysis

Blood samples (5 ml) were collected prior to dosing and 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, and 24 h after drug administration on day 1 and 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 24, 48, and 72 h after drug administration on day 14 of cycle 1. Trough PK samples were taken before drug administration on day 8 of every cycle, whereas in every subsequent cycle, a sample was taken 24 h following day 14 dose. Samples were collected in pre-cooled EDTA-Vacutainer[®] tubes and centrifuged immediately. Plasma samples were stored at $-20^\circ C$. Plasma concentrations of BIBW 2992 were analysed by validated high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry methods at Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Germany. The calibration curves for BIBW 2992 covered a range of $0.500-250 ng ml^{-1}$ plasma in undiluted samples.

Noncompartmental analysis was conducted using WinNonlin[®] (version 4.1, Pharsight, Mountainview, CA, USA). Standard noncompartmental methods were used to calculate area under the plasma concentration versus time curve ($AUC_{0-24,ss}$), peak plasma concentration ($C_{max,ss}$), apparent total body clearance (CL/F_{ss}), apparent volume of distribution (V_d/F_{ss}), and terminal half-life ($t_{1/2,ss}$). Accumulation ratio of C_{max} and AUC of days 1 and 14 were calculated (R_A , C_{max} , and $R_{A,AUC}$). Time to peak plasma concentration ($t_{max,ss}$) was reported as median values.

Pharmacodynamic determinations

Punch biopsies were taken from unaffected forearm skin before BIBW 2992 administration and at day 14 of cycle 1. Biopsies were fixed in 10% formalin at room temperature (RT) and embedded in paraffin. Tissue sections ($4 \mu m$) were mounted on silan adhesive 'Star Frost' glass slides (Knittel Glaser, Braunschweig, Germany), dried overnight at $56^\circ C$, deparaffinised with xylene, and rehydrated. Expression of (1) Ki-67, (2) p27^{KIP1} (kinase inhibitory protein 1; KIP1), (3) EGFR, (4) phosphorylated mitogen-activated protein kinase (pMAPK), and (5) phosphorylated Akt (pAkt) was examined (Toyoshima and Hunter, 1994; Scholzen and Gerdes, 2000). Antibodies used were monoclonal mouse antihuman Ki-67 antigen (DakoCytomation, Glostrup, Denmark); monoclonal mouse antihuman p27 protein (Novacastra, Newcastle, UK); phospho-p44/42 Map kinase (Thr202/Tyr204) rabbit polyclonal antibody (Cell Signalling Technology, Beverly, MA, USA); phospho-Akt (Ser473) rabbit polyclonal antibody (Cell Signalling Technology), and monoclonal mouse anti-EGFR (clone E30; DakoCytomation). Isotype-matched negative control antibodies and negative control mouse IgG2a, kappa (DakoCytomation) were used to validate specificity of Ki-67, p27^{KIP1}, and EGFR staining. Blocking peptides from SignalStain phospho-p44/42 (Thr 202/Tyr204) IHC detection kit (Cell Signalling Technology)

and phospho-Akt (Ser473) blocking peptide (Cell Signalling Technology) were included to validate pMAPK and pAkt. Antibodies were diluted in antibody diluent (DakoCytomation) and all antigens but EGFR required heat-mediated (pressure cooker) antigen retrieval in sodium citrate (10 mM; pH 6.0). To unmask EGFR antigen, slides were incubated 3 min at RT in proteinase K solution. Endogenous peroxidase activity was blocked for 5 min at RT with peroxidase block and nonspecific cross-reactivity was blocked by incubation in 1% bovine serum albumin for 30 min at RT. Slides were incubated in diluted primary antibody and antigen detection by a two-step staining procedure using DAKO EnVision + Polymer Detection System. Visualisation was achieved by incubation at RT for 3–5 min in 3,3'-diaminobenzidine chromogen-buffered substrate solution (DakoCytomation). Slides were counterstained with haematoxylin.

Ki-67- and p27^{KIP1}-positive keratinocytes were scored by counting ≥1000 cells. The number of pMAPK-, pAkt-, and EGFR-positive epidermal keratinocytes and staining intensity were estimated using the Allred scoring system (Toyoshima and Hunter, 1994). The proportion of positive cells was scored on a 0–5 scale and intensity on a 0–3 scale. Scoring of positive cells is based on epidermal keratinocytes.

Statistical methods

Paired Student's *t*-tests were employed to calculate *P*-value for comparison of means and to define any statistically significant changes in biomarker levels. Correlations among initial biomarker levels were assessed by calculating Spearman's rank correlation coefficients.

RESULTS

Thirty-eight patients (Table 1) received 114 cycles of BIBW 2992. Sequentially, dose levels studied were 10 mg (*n* = 3), 20 mg (*n* = 3), 30 mg (*n* = 3), 45 mg (*n* = 3), 70 mg (*n* = 18), 100 mg (*n* = 2), and 85 mg (*n* = 6). Number of patients and cycles administered as a function of schedule and dose are listed in Table 2.

Table 1 Patient characteristics

Total	38
Male/female	19/19
Median age, years	58
Range years	18–81
Prior chemotherapy	
None	7
1–2 prior regimens	20
≥3 prior regimens	11
Prior radiotherapy	
No	23
Yes	15
Prior hormonal therapy	
No	36
Yes	2
Tumour type	
Colorectal carcinoma	10
Oesophageal carcinoma	5
Renal cell carcinoma	3
Non-small cell lung cancer	3
ACUP	3
Pancreatic carcinoma	2
Miscellaneous	12

Safety

Mild gastrointestinal AE, mainly diarrhoea and also nausea and vomiting, were observed in 35 patients at all dose levels. Diarrhoea was manageable with loperamide and usually was self-limiting, requiring no medication in the 14 drug-free days. Nausea and vomiting were mild and never required specific treatment. One patient (dose level, 70 mg) experienced reversible grade 2 stomatitis in cycle 1 and refused additional treatment.

Dose-dependent cutaneous AE manifested as dry skin, folliculitis, or skin rash and was frequently observed at all dose levels. Skin rash was located on face and trunk. In nine patients, minocycline 100 mg OD during the 14 treatment days alleviated or prevented symptoms. Skin toxicity was self-limiting and disappeared during the 14 drug-free days.

Other AE included mild fatigue in 24 patients and self-limiting epistaxis without changes in coagulation parameters in 20 patients. ALT, AST, alkaline phosphatase, and bilirubin elevations were seen at all dose levels. Grade 3 ALT (*n* = 2), AST (*n* = 1), and alkaline phosphatase (*n* = 1) were observed in the 70 mg group. Grade 2 ALT was observed in three patients and four patients had grade 2 AST. Grade 2 alkaline phosphatase was seen in five and grade 2 bilirubin in two patients. Consistently, elevations of liver enzymes and bilirubin were related to the 14-day dosing schedule, with levels decreasing after drug discontinuation.

Haematological AE consisted of grade 1 anemia in 6 and grade 1 thrombocytopenia in two patients.

Two patients showed LVEF reduction. In one patient at 10 mg, LVEF decreased from 76 to 56% after cycle 2 and to 35% after cycle 4 (grade 3). MUGA scan after cycle 4 was performed in another hospital. Two months after discontinuation of BIBW 2992, repeat assessment at the original hospital showed an LVEF of 54%. A transient decrease, despite normal ECGs and absence of clinical signs of heart failure, cannot be excluded. Left ventricular ejection fraction in a patient at 70 mg decreased from 56 to 40% after cycle 2 without signs of heart failure and with normal ECGs. No follow-up is available on this patient.

Dose-limiting toxicity

At 70 mg, one DLT was observed in cycle 1, consisting of grade 3 ALT and fatigue.

At 100 mg, DLTs consisting of grade 3 skin rash (*n* = 1) (Figure 2) and grade 3 diarrhoea despite loperamide (*n* = 1) were observed in two patients. At 85 mg, DLTs were seen in two patients (grade 3 diarrhoea (*n* = 1) and grade 2 diarrhoea lasting ≥7 days

Table 2 Dose escalation scheme, treatment duration

Dose level (mg)	No. of patients	Total no. of cycles	No. of patients with DLT in cycle 1
10	3	7	—
20	3	10	—
30	3	6	—
45	3	14 ^a	—
70	18	48 ^b	3
85	6	16 ^c	2
100	2	7 ^d	1

Abbreviation: DLT = dose-limiting toxicity. Administration scheme: BIBW 2992 once-daily 2 weeks every 4 weeks. ^aOne patient with a parotid gland tumour received three additional cycles in the extension study. ^bOne patient with a gallbladder carcinoma received one additional cycle in the extension study. ^cTwo patients received one and five cycles respectively at 70 mg following the onset of DLT in the first treatment cycle. ^dOne patient received only one cycle that was complicated by DLT, one patient received cycles 3 and 4 at 85 mg due to DLT in the second cycle at 100 mg, and subsequently received cycles 5 and 6, as well as two additional cycles in the extension study at 70 mg.