

Q.F.



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PC-1

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

05-10076

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO Combinaciones terapéuticas de inhibidores de quinasas de crb B y terapias antineoplásicas.

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL A61K31/5377, A61P35/00

71. SOLICITANTE warner lambert Company LLC.

DOMICILIO 201 tuber Road, Morris plains, New Jersey
07950 E.U.A.

74. APODERADO CARLOS R. OLARTE

22. BOGOTA, D.C., Febrero 4, 2005.

GT

CS

05/08

OLARTE RAISBECK


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 05010076 00000000 Folios: 109
Fecha (UMB): 2005-02-04 16:55:30
Trámite : 011 PCT-PATENT 279 FASE NACI 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL 07-Marzo-2005

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☒

Capítulo II.

2

S LICITANTE
(71)

Nombre: WARNER LAMBERT COMPANY LLC

Dirección: 201 Tabor Road, Morris Plains, New Jersey 07950, E.U.A.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución: Delaware, Estados Unidos de América.

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Wold Trade Center Torre A, Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: WILLIAM LEON ELLIOTT; DAVID WILLIAM FRY.

Dirección: 1966 Encore Court, Ann Arbor, Michigan 48103, E.U.A; 4659 Ash Court Ypsilanti, Michigan 48197, E.U.A.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

3

PCT (86)

Solicitud Internacional No.

PCT/IB2003/003388

Fecha Julio 28, 2003

Publicación Internacional No.

WO 2004/014386

Fecha Febrero 19, 2004

4

Título (54) COMBINACIONES TERAPÉUTICAS DE INHIBIDORES DE QUINASA DE
erb B Y TERAPIAS ANTINEOPLÁSICAS.

Clasificación Internacional (51) A61K 31/5377,

A61P 35/00

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

Agosto 7, 2002

Abril 11, 2003

(31) Número de Solicitud

60/401,705

60/462,247

5

Comprobante de pago No. ,063

Fecha Enero 19, 2005



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso.



Documento de cesión del Interventor 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 Internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar Internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



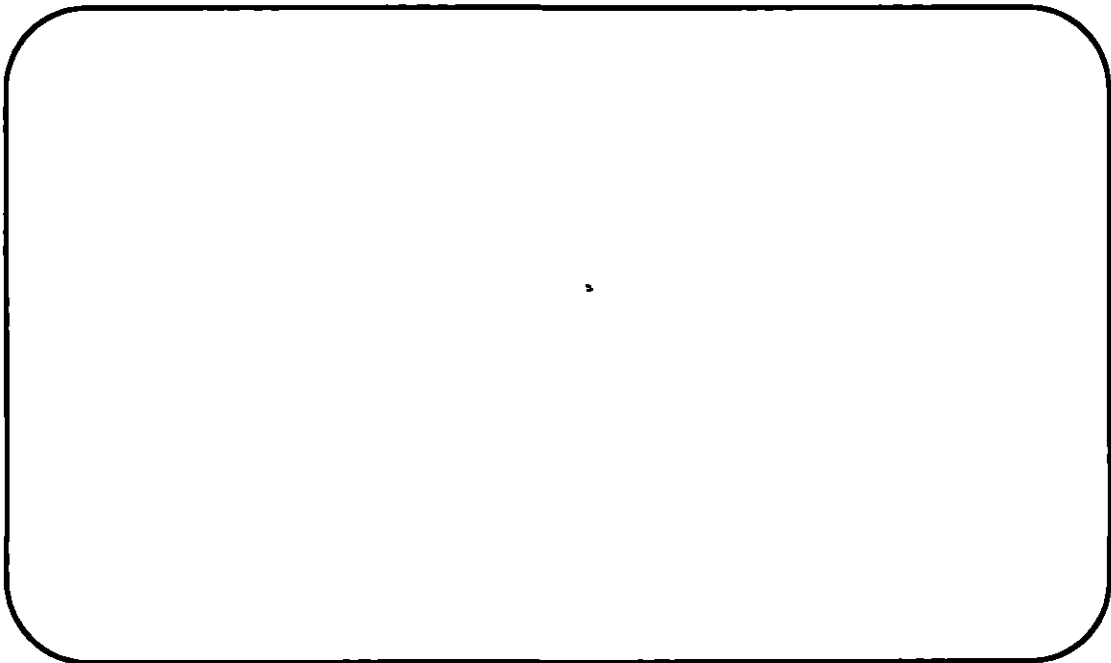
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud Internacional.



Otros. Búsqueda Internacional



FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

3

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 05010076 00000000 Folios: 109
Fecha (MM): 2005-02-04 16:55:30
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 05 - 4,063
FECHA : ENERO 19 DE 2005

CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
ALEX SANTOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	29810430	18/01/2005	7,223,000.00

CONCEPTO

CANT. CONTABILITICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	443,000.00
	TOTAL :	\$ 443,000.00

SON: CUATROCIENTOS CUARENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE

WARNER- LAMBERT COMPANY LLC.

Bilingüe inglés- español otorgado en Nueva York, Estados Unidos el 14 de julio de 2003 y firmado por J. Trevor Lumb, Vicepresidente de Pfizer Products Inc.

Sello: recibido el 21 julio de 2003 Departamento de Patentes NYD- Pfizer Inc.

CERTIFICACION NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, el 14 de julio de 2003 el suscrito notario Kenneth Greenwood certifica que J. Trevor Lumb, domiciliado en Nueva York ejercía funciones de Secretario Asistente de Warner-Lambert Company LLC, con sede en Morris Plains, Nueva Jersey, Estados Unidos.

Firma del notario: Kenneth Greenwood

Sello notarial: certificado, verificado y autenticado en la Localidad de Egham en Surrey, 14 julio, 2003 por el Notario Kenneth Greenwood-Horne Engall & Freeman

Sello Notario Público en alto relieve rojo.

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)
REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

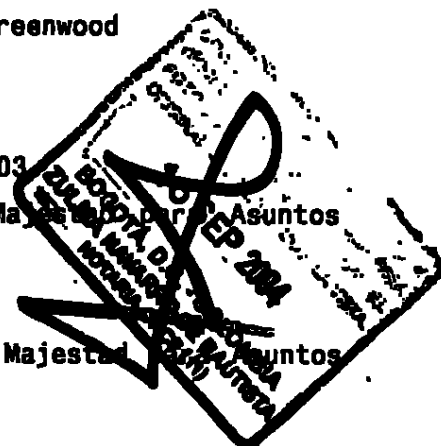
1. País :Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento Público 2.ha sido firmado por K. Greenwood
3. ejerce funciones de Notario Público
4. Lleva el sello de dicho Notario Público

CERTIFICADO 5. En Londres 6. El 17 de julio de 2003

7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad por Asuntos exteriores y de la mancomunidad.
8. No. G210433
9. Sello del Secretario de Estado Principal de su Majestad por Asuntos exteriores y de la mancomunidad
10. Firma de R. Bawden - Por Secretario de Estado

Si el documento se usa en un país que no es parte de la convención de la Haya del 5 de octubre 1961, debe presentarse en sección consular de la misión que representa el país.

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 25 de julio-2003. Marlen Neira C



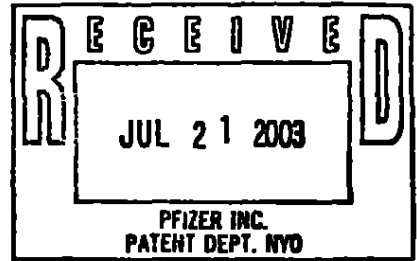
MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 OCT 1995
Marlen Neira C.

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER -- TORRE C
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-6200
FAX: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com



Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

Warner-Lambert Company LLC
domiciliado en

201 Tabor Road, Morris Plains, New Jersey 07950 USA

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck and Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

El suscrito,

domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Ralsbeck y Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

Date/Fecha: July 14, 2003

City/Country/Ciudad,País: New York, USA



1937

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE +57-1 638-6200
FAX: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Notarial Certification

On this date,
July 14, 2003

The undersigned Notary Public certifies:

1. That *J. Trevor Lumb*
of legal age and domiciled in
New York, USA
signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing
document as Assistant Secretary
of Warner-Lambert Company LLC

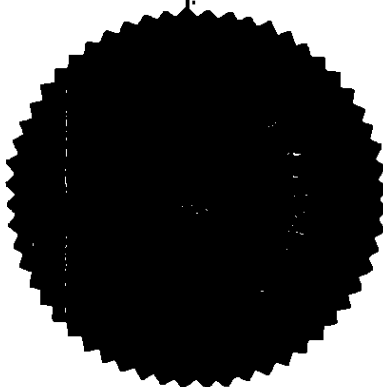
3. That Warner-Lambert Company LLC,
having its principal place of business located in
Morris Plains, New Jersey, U.S.A.
is duly incorporated, is currently in existence, and
that the purposes for which the Power of Attorney is
granted are within the scope of its corporate
purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the
Power of Attorney and that his/her representation is
legal.

5. The foundation for my certifications contained in
points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following
authentic document(s):

NOTARY PUBLIC (Signature):

EXECUTION
Certified Verified and Authenticated
In The Town Of Bham In Surrey
This *14th* Day Of *July*
2003
KENNETH GREENWOOD
NOTARY PUBLIC
HORNE ENGALL AND FREEMAN



Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que
J. Trevor Lumb
mayor de edad y domiciliado
New York
suscribió el documento que antecede.

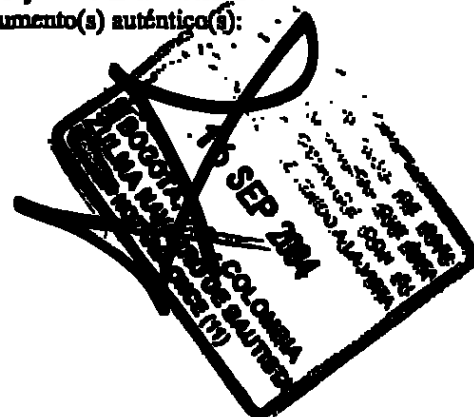
2. Que el otorgante ha suscrito el referido
documento en su carácter de
de

4. Que
con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia
legal vigente y que los propósitos para los cuales
se otorga el poder se encuentra dentro de los que
comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para
suscibir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones
contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición
de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):



7

APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by K Greenwood
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de

5. at London/Londres
6. the/le 17 July 2003
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No **G210433**

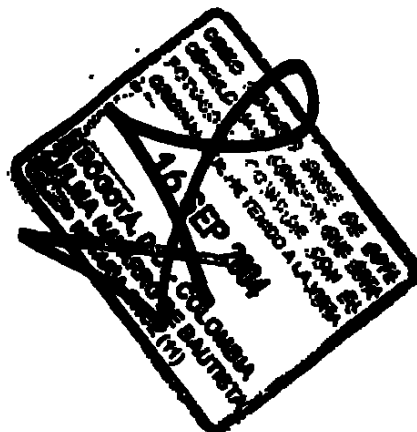
9. Stamp:
timbre:
10. Signature: R. Bawden



A handwritten signature, likely of R. Bawden, consisting of a stylized 'R' with a horizontal stroke.

For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.



6

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de Octubre de 1961)

1. País: Distrito de Columbia
Estados Unidos de América
2. El presente documento público
Fue firmado por: Kevin Woodward
3. Que actuó en su calidad de Notario Público del
Distrito de Columbia
4. Lleva el sello del mencionado Notario Público
Se certificó
5. En Washington D.C.
6. El 13 de enero de 2005
7. Por parte del Secretario del Distrito de Columbia.
8. Bajo el Número 136195
9. Aparece el sello del Distrito de Columbia
10. Firmado por Sherryl H. Newman.

a

CESIÓN

Por contraprestación valiosa pagada a nosotros por WARNER-LAMBERT COMPANY LLC., sociedad constituida en virtud de las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América, cuya dirección postal completa es 201 Tabor Road, Morris Plains, New Jersey 07950, Estados Unidos de América, por el presente vendemos y traspasamos a la citada WARNER-LAMBERT COMPANY LLC, todo nuestro derecho, título e interés en y sobre nuestro invento de una nueva y útil mejora en COMBINACIONES TERAPEUTICAS DE INHIBIDORES DE QUINASA DE erb B Y TERAPIAS ANTINEOPLÁSICAS, en cuanto respecta a la República de Colombia, tal como se indica y describe plenamente en la especificación y por el presente autorizamos y solicitamos al Comisionado de Patentes de Colombia expedir dicha patente a nombre de la citada WARNER-LAMBERT COMPANY LLC de conformidad con esta Cesión.

En fe de lo cual, firmamos de nuestro puño y letra,

Ann Arbor, MI. 12-20-2004 (Fdo) William Leon ELLIOTT
Lugar, fecha y firma - William Leon ELLIOTT

Ann Arbor, MI. 12-15-2004 (Fdo) David William FRY
Lugar, fecha y firma - David William FRY

10

Yo SAMI SWADEK por el presente certifico que este es el documento original.

(Fdo) SAMI SWADEK Distrito de Columbia: SS

Suscrito y jurado ante mí, el 13 de enero de 2005.

(Fdo.) Kevin Woodward, Notario Público del Distrito de Columbia, cuyo cargo vence el 14 de abril de 2007, según consta en su correspondiente sello notarial.



Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. *District of Columbia*
United States of America

KEVIN WOODWARD

2. This public document has been signed by _____

3. acting in the capacity of **NOTARY PUBLIC IN AND FOR THE DISTRICT**
OF COLUMBIA

4. bears the seal/stamp of **KEVIN WOODWARD, NOTARY PUBLIC, D.C.**

CERTIFIED

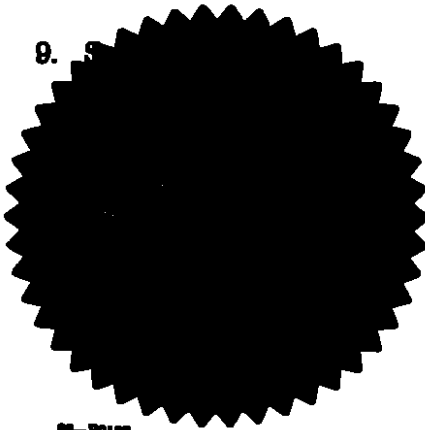
5. at Washington, D.C.

6. the **13TH** day of **JANUARY 2005**

7. by *Secretary of the District of Columbia*

8. No. **136195**

9. \$



00-70120

10. Signature

SHERRYE H. NEWMAN

ASSIGNMENT

For valuable consideration paid to me (us) by WARNER-LAMBERT COMPANY LLC a corporation organized under the laws of the State of Delaware, United States of America whose full post office address is 201 Tabor Road, Morris Plains, New Jersey 07950, United States of America, I (we) do hereby sell and assign to the said WARNER-LAMBERT COMPANY LLC, all my (our) right, title and interest in and to my (our) invention for a new and useful Improvement in THERAPEUTIC COMBINATIONS OF erb B KINASE INHIBITORS AND ANTINEOPLASTIC THERAPIES so far as the Republic of Colombia is concerned, as fully set forth and described in the specification, and I (we) do hereby authorize and request the Commissioner of Patents of Colombia to issue said patent to the said WARNER-LAMBERT COMPANY LLC in accordance with this assignment.

In witness whereof I (we) have hereunto set my (our) hand(s) this

Ann Arbor MI 12/20/2004 William L Elliott
Place, date and signature - William Leon ELLIOTT

Ann Arbor MI 12/15/04 David William Fry
Place, date and signature - David William FRY

Kevin Woodward
Notary Public, District of Columbia
My Commission Expires 04-14-2007

SAMI SWADEK, hereby
certify that this is the original document
Sami Swadek Signatory
District of Columbia : SS
Subscribed and Sworn to before me
this 13th day of January 2005
Kevin Woodward Notary Public, D.C.
My commission expires 04-14-2007

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
19 February 2004 (19.02.2004)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2004/014386 A1

(51) International Patent Classification⁷: A61K 31/5377,
31/337, 31/70, 33/24, A61P 35/00

(74) Agents: LUMB, J., Trevor et al.; Pfizer Inc., 201 Tabor
Road, Morris Plains, NJ 07950 (US).

(21) International Application Number:
PCT/IB2003/003388

(22) International Filing Date: 28 July 2003 (28.07.2003)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/401,705 7 August 2002 (07.08.2002) US
60/462,247 11 April 2003 (11.04.2003) US

(71) Applicant (*for all designated States except US*):
WARNER-LAMBERT COMPANY LLC [US/US];
201 Tabor Road, Morris Plains, NJ 07950 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (*for US only*): ELLIOTT, William,
Leon [US/US]; Pfizer Global Research and Development,
2800 Plymouth Road, Ann Arbor, MI 48105 (US). FRY,
David, William [US/US]; Pfizer Global Research and De-
velopment, 2800 Plymouth Road, Ann Arbor, MI 48105
(US).

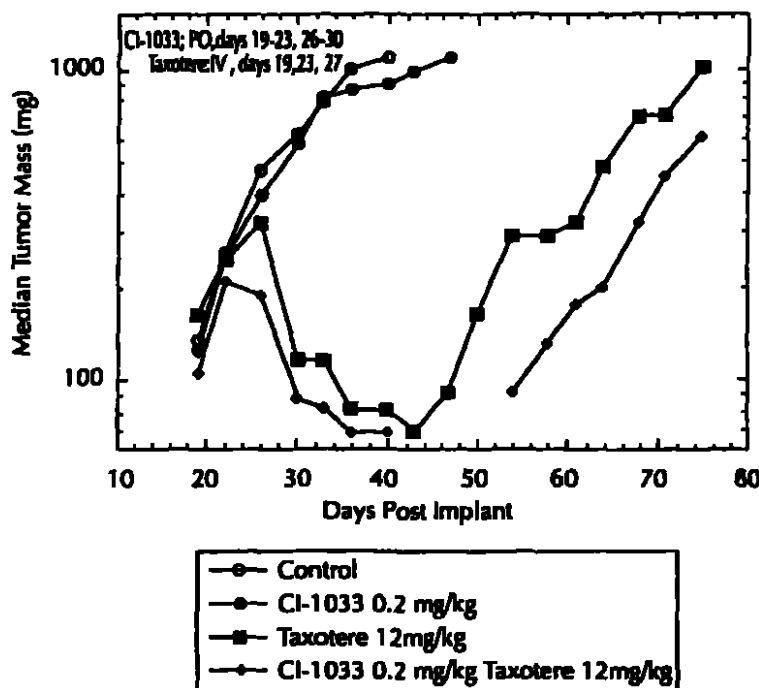
(51) Designated States (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

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

Published:
— with international search report

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

(54) Title: THERAPEUTIC COMBINATIONS OF HRB B KINASE INHIBITORS AND ANTINEOPLASTIC THERAPIES



(57) Abstract: Administration of an irreversible tyrosine kinase inhibitor such as CI-1033 in combination with one or more other antineoplastic agent(s), or ionizing radiation is synergistic for treating cancer.

-1-

THERAPEUTIC COMBINATIONS OF *erb B* KINASE INHIBITORS AND ANTINEOPLASTIC THERAPIES

FIELD OF THE INVENTION

5 The invention concerns a method for treating cell proliferative disorders utilizing an *erbB* receptor tyrosine kinase inhibitor in conjunction with conventional antineoplastic agents and modalities. The use of this combination of agents in a therapeutic protocol provides unexpectedly greater efficacy than employing the single agents alone.

BACKGROUND OF THE INVENTION

10 Pathological conditions resulting in inappropriate proliferation of cells are a common cause of human disease. Benign mammalian disease differs from malignant disease (cancer) primarily by the inability to spread from one part of the body to another and their generally slower growth rate. Both can kill or otherwise disable its victim. Internal adhesions and scarring after abdominal surgery can lead to bowel strangulation and death. Blindness from diabetes mellitus results from the inappropriate growth of new
15 blood vessels inside the eye. Benign neurofibromas cause disfigurement. Psoriasis, a skin disease, results from the inappropriate overgrowth of otherwise normal cells. Cancers are one of the leading causes of death. While cancer chemotherapy has advanced dramatically in recent years. Many tumors can be effectively treated utilizing compounds that are either naturally occurring products or synthetic agents. In addition,
20 other cancer therapies, such as ionizing radiation are used effectively in the treatment of certain cancers. Cancer therapy often entails use of a combination of agents, generally as a means of providing greater therapeutic effects and reducing the toxic effects that are often encountered with the individual agents when used alone.

25 Chemotherapy is also a mainstay of cancer treatment and is routinely used with success against many types of cancer and other hyperproliferative cellular disorders. Nevertheless, certain types of cancer are not amenable to chemotherapy protocols that are currently in use. Some types of tumors simply do not respond to standard methods of

-2-

chemotherapy, or respond for a time and later become insensitive, resulting in a recurrence of the cancer. New methods that enhance current chemotherapy protocols are highly desirable.

Many antineoplastic agents have been used therapeutically to treat cancers.

5 Among the most widely used are gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, carboplatin, cisplatin, topotecan, CPT-11, etoposide, doxorubicin, and capecitabine. Many of these agents have limited therapeutic effect. Most of these agents must be used at such high doses that severe side effects are common. In addition to the chemical agents noted above, radiation therapy has been employed successfully to halt disease progression or
10 cause tumor regression.

Gemcitabine is the generic name assigned to 2'-deoxy-2',2'-difluoro-cytidine. It is commercially available as the monohydrochloride salt, and as the β -isomer. It is also known chemically as 1-(4-amino-2-oxo-1H-pyrimidin-1-yl)-2-deoxy-2,2-difluororibose. Gemcitabine is disclosed in U.S. Patent Numbers 4,808,614 and 5,464,826, which are
15 incorporated herein by reference for their teaching of how to synthesize, formulate, and use gemcitabine for treating susceptible neoplasms. The commercial formulation of gemcitabine hydrochloride as a single agent is indicated as first-line treatment for patients with locally advanced (nonresectable Stage II or Stage III) or metastatic (Stage IV) adenocarcinoma of the pancreas or lung cell carcinoma (NSCLC), and is commonly used
20 in patients previously treated with 5-fluorouracil. It also is routinely used in combination with other known antineoplastic agents, most notably with ionizing radiation. No synergistic combinations have, however, heretofore been reported.

Paclitaxel is a natural product mitotic inhibitor. It is an antimicrotubule agent that promotes the assembly of microtubules from tubulin dimers and stabilizes microtubules
25 by preventing depolymerization. This stability results in the inhibition of the normal dynamic reorganization of the microtubule network that is essential for vital interphase and mitotic cellular functions. In addition, paclitaxel induces abnormal arrays or bundles of microtubules throughout the cell cycle and multiple asters of microtubules during mitosis. Paclitaxel is indicated primarily for ovarian carcinoma and breast cancer,
30 although it is useful in treating other cancers as well. Paclitaxel is disclosed in U.S. Patent Numbers 5,496,804, 5,641,803, 5,670,537 and 6,510,398, which are incorporated

5

-3-

herein by reference for their teaching of how to synthesize, formulate, and use paclitaxel for treating susceptible neoplasms. Use of paclitaxel is generally accompanied by undesirable side effects, including hypersensitivity reactions, hypotension, bradycardia, hypertension, nausea and vomiting, and injection site reactions. Paclitaxel is
5 commercially available as Taxol® (Bristol-Myers Squibb).

Docetaxel is a semi-synthetic compound belonging to the taxoid family. It is an antimicrotubule agent that promotes the assembly of microtubules from tubulin dimers and stabilizes microtubules by preventing depolymerization. This stability results in the inhibition of the normal dynamic reorganization of the microtubule network that is
10 essential for vital interphase and mitotic cellular functions. In addition, docetaxel induces abnormal arrays or bundles of microtubules throughout the cell cycle and multiple asters of microtubules during mitosis. Docetaxel is indicated primarily for breast cancer and cell lung cancer, although it is useful in treating other cancers as well. Docetaxel is disclosed in U.S. Patent Numbers 4,814,470, 5,438,072, 5,698,582 and 5,714,512, which
15 are incorporated herein by reference for their teaching of how to synthesize, formulate, and use docetaxel for treating susceptible neoplasms. Use of docetaxel is generally accompanied by undesirable side effects, including hypersensitivity reactions, hypotension, bradycardia, hypertension, nausea and vomiting, and injection site reactions. Docetaxel trihydrate is commercially available as Taxotere® (Aventis Pharmaceutical
20 Products, Inc).

Carboplatin and cisplatin are the generic names assigned to diammine [1,1-cyclobutane-dicarboxylato(2-)-0,0]-, (SP-4-2) platinum and cis-diamminodichloroplatinum (II), respectively. Both are commercially available as preparations for IV injection. Carboplatinum is disclosed in U.S. patent 4,657,927, which is incorporated herein by
25 reference for its teaching of how to synthesize, formulate, and use carboplatin for treating susceptible neoplasms. Similarly, cisplatin is disclosed in German patent DE 2,318,020, which are incorporated herein by reference for their teaching of how to synthesize, formulate, and use cisplatin for treating susceptible neoplasms. Carboplatin and cisplatin alkylate DNA and thus interfere with DNA replication and transcription. Carboplatin and
30 cisplatin are used in the treatment of cancers of the testis, ovary, endometrium, cervix, bladder, head and neck, gastrointestinal tract, lung, soft tissue and bone sarcomas, and

-4-

non-Hodgkins lymphoma. Use of platinum compounds is generally accompanied by several side effects including myelosuppression, nausea and vomiting, renal tubular abnormalities, ototoxicity, and hypersensitivity reactions.

Topotecan and CPT-11 are the generic names assigned to Hycamptin® and Camptosar®. These compounds are derivatives of camptothecin. The chemical name for topotecan hydrochloride is (S)-10-[(dimethylamino)methyl]-4-ethyl-4,9-dihydroxy-1H-pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinoline-3,14-(4H,12H)-dione monohydrochloride. The chemical name for CPT-11 is (4S)-4,11-diethyl-4-hydroxy-9-[(4-piperidinopiperidino)carbonyloxy]-1H-pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinoline-3,14-(4H,12H) dione hydrochloride. Both are commercially available as preparations for IV injection. Topotecan is disclosed in U.S. patent 5,004,758, which is incorporated herein by reference for its teaching of how to synthesize, formulate, and use topotecan for treating susceptible neoplasms. Similarly, CPT-11 is disclosed in U.S. patent 4,604,463, which is incorporated herein by reference for its teaching of how to synthesize, formulate, and use CPT-11 for treating susceptible neoplasms. Topotecan and CPT-11 interact with DNA topoisomerase I, resulting in single stranded, and ultimately double stranded breaks in DNA. Topotecan and CPT-11 are used in the treatment of cell lung cancer and ovarian, colorectal, and esophageal cancers. Use of camptothecin analogs is generally accompanied by several side effects including myelosuppression, nausea and vomiting, and hypersensitivity reactions.

Etoposide or VP-16 are the generic names for epipodophyllotoxin. The chemical name for etoposide is 4'-demethylepipodophyllotoxin 9-[4,6-O-(R)-ethylidene-(beta)-D-glucopyranoside]. Etoposide is commercially available as capsules for oral administration or as a solution for IV injection. Etoposide is disclosed in U.S. patent 3,524,844, which is incorporated herein by reference for its teaching of how to synthesize, formulate, and use etoposide for treating susceptible neoplasms. Etoposide interacts with DNA topoisomerase II resulting in single stranded, and ultimately double stranded breaks in DNA. Etoposide is used in the treatment of small and cell lung cancers, germ cell cancers and lymphomas. Use of etoposide is generally accompanied by several side effects including myelosuppression, nausea and vomiting, hypersensitivity reactions, and mucocutaneous effects.

-5-

Doxorubicin is the generic name for Adriamycin®. The chemical name for doxorubicin is 5,12-Naphthacenedione, 10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy-(alpha)-L- *hyxo*-hexopyranosyl)oxy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-8-(hydroxylacetyl)-1-methoxy-, hydrochloride (8*S*- *cis*). Doxorubicin is commercially available for IV injection. Doxorubicin is disclosed in U.S. patent 3,590,028, which is incorporated herein by reference for its teaching of how to synthesize, formulate, and use doxorubicin for treating susceptible neoplasms. Doxorubicin binds to nucleic acids, presumably by specific intercalation of the planar anthracycline nucleus with the DNA double helix, resulting in abnormal cellular replication. Doxorubicin is used in the treatment of breast, bladder, liver, lung, prostate, stomach and thyroid cancers; bone and soft tissue sarcomas; lymphomas and leukemias; and tumors of childhood. Use of doxorubicin is generally accompanied by several side effects including myelosuppression, nausea and vomiting, mucocutaneous, and cardiac effects.

Capecitabine is the generic name for Xeloda®. The chemical name for capecitabine is 5'-deoxy-5-fluoro-N-[(pentyloxy) carbonyl]-cytidine. Capecitabine is commercially available as tablets for oral administration. Capecitabine is disclosed in U.S. patents 4,966,891 and 5,472,949, which are incorporated herein by reference for their teaching of how to synthesize, formulate, and use capecitabine for treating susceptible neoplasms. This drug is enzymatically converted to 5-fluorouracil (5-FU) in vivo. Both normal and tumor cells metabolize 5-FU to 5-fluoro-2'-deoxyuridine monophosphate (FdUMP) and 5-fluorouridine triphosphate (FUTP). These metabolites cause cell injury by two different mechanisms. First, FdUMP and the folate cofactor, N5,10-methylenetetrahydrofolate, bind to thymidylate synthase (TS) to form a covalently bound ternary complex. This binding inhibits the formation of thymidylate from 2'-deoxyuridylate. Thymidylate is the necessary precursor of thymidine triphosphate, which is essential for the synthesis of DNA, so that a deficiency of this compound can inhibit cell division. Second, nuclear transcriptional enzymes can mistakenly incorporate FUTP in place of uridine triphosphate (UTP) during the synthesis of RNA. This metabolic error can interfere with RNA processing and protein synthesis. Capecitabine is used in the treatment of breast and colorectal cancers. Use of capecitabine is generally accompanied by several side effects including diarrhea, nausea, vomiting, myelosuppression, stomatitis, and hand-and-foot syndrome.

Radiation therapy is, in many cases, the therapy of choice for the treatment of cancers, including esophageal, mammary, head and neck, brain, prostate and certain leukemias. However, it is well known that incomplete killing of neoplastic cells can result in the recurrence of cancer even after rigorous radiation treatment regimens are completed. Indeed, there are suggestions that some cell populations are stimulated to proliferate as a result of exposure to radiation, thus completely defeating the purpose of the treatment. Clearly, the need for more efficient methods to kill neoplastic cells persists, and a method to eliminate the occurrence of cellular proliferation in response to radiation therapy would be highly beneficial.

In addition, severe side effects are often associated with radiation therapy, including fibrosis, mucocitis, leukopenia and nausea. The development of radiation therapy methods which utilize fewer exposures to radiation, or lower doses per exposure, or both, and yet which still achieve the same or enhanced levels of anti-neoplastic activity, would be highly advantageous.

The molecular mechanism(s) by which tumor cells are killed, survive or are stimulated to proliferate after exposure to ionizing radiation are not fully understood. Several reports have demonstrated that radiation activates multiple signaling pathways within cells in vitro which can lead to either increased cell death or increased proliferation depending upon the dose and culture conditions. [Verheij et al. (1996) *Nature*, 380, 75-79; Rosette and Karin (1996) *Science* 274, 1194-1197; Chmura et al. (1997) *Cancer Res.* 57, 1270-1275; Santana et al. (1996) *Cell* 86, 189-199; Kyriakis and Avruch (1996) *Bioessays* 18, 567-577; Xia et al. (1995) *Science* 270, 1326-1331; Kasid et al. (1996) *Nature* 382, 813-816]. It has been shown that radiation-mediated activation of acidic sphingomyelinase generates ceramide and subsequently activates the Stress Activated Protein (SAP) kinase pathway (sometimes referred to in the literature as the c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) pathway). This pathway has been proposed to play a major role in the initiation of apoptosis (cell death) by radiation (Verheij et al.; Rosette et al.; Chmura et al.; Santana et al.; Kyriakis and Avruch; Xia et al.).

With respect to the cellular response to ionizing radiation, another cellular target has been proposed to be involved. The epidermal growth factor (EGF) receptor has been shown to be activated in a dose dependent fashion in response to radiation [Schmidt-

17

-7-

Ullrich et al. (1996) Radiation Research, 145, 81-85; Schmidt-Ullrich et al. (1997) Oncogene 15, 1191-1197].

Among the newer chemotherapeutic agents being developed are target specific chemical entities. Since EGF has been associated with certain tumor types and with cell proliferation, a number of agents are been developed which inhibit the EGF receptor tyrosine kinases. The EGF receptor tyrosine kinase family includes the erbB receptor kinases erbB1, erbB2, erbB3, and erbB4. Most of these erbB tyrosine kinase inhibitors are reversible inhibitors. They bind to the receptor and are released. In addition most of these tyrosine kinase inhibitors are specific for only one of the kinases in the erbB receptor tyrosine kinase family. However, US Patent numbers 6,344,455 and 6,344,459 describe irreversible inhibitors of erbB receptor tyrosine kinases erbB1, erbB2, erbB3, and erbB4, i.e., PAN erbB receptor tyrosine kinase inhibitors. The preferred PAN erb B tyrosine kinase inhibitor is N-[4-(3-chloro-4-fluoro-phenylamino)-7-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-quinazolin-6-yl]-acrylamide. It is also known as CI-1033. It is described in WO 00/31048, which is incorporated herein by reference for its teaching of how to make N-[4-(3-chloro-4-fluoro-phenylamino)-7-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-quinazolin-6-yl]-acrylamide, how to formulate it into dosage forms, and how to use it for treating cancers and other cell proliferative disorders.

SUMMARY OF THE INVENTION

This invention relates to a synergistic combination of antineoplastic agents, and to a method for treating tumors comprising administering to a patient an erb B inhibitor in a therapeutic regimen with at least one other chemotherapeutic agent or with radiation therapy. Preferably, the erb B inhibitor is an irreversible inhibitor of at least one receptor of the erb B family of tyrosine kinases. More preferably the erb B inhibitor is a PAN erb B tyrosine kinase inhibitor. Most preferably, the erb B inhibitor is an irreversible PAN erb B tyrosine kinase inhibitor. The preferred irreversible PAN erb B tyrosine kinase inhibitor is N-[4-(3-chloro-4-fluoro-phenylamino)-7-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-quinazolin-6-yl]-acrylamide (CI-1033). The invention more particularly provides

-8-

a therapeutic regimen comprising, as one component, CI-1033, and a second component selected from the group consisting of gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, capecitabine, and ionizing radiation. The invention also provides a therapeutic regimen comprising at least one erb B kinase inhibitor and at least one other chemotherapeutic agent.

DESCRIPTION OF FIGURES

Figure 1 shows the synergy of CI-1033 and Taxotere® in human H125 non-small lung cell carcinoma xenografts.

Figure 2 shows the synergy of CI-1033 and radiation in a murine Rif-1 sarcoma.

Figure 3 demonstrates the schedule dependence of Taxol when combined with CI-1033 on MDA-MB-468 Breast cancer cells.

Figure 4 demonstrates the in vivo schedule dependence observed when CI-1033 is combined with Cisplatin.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

It is an object of this invention to provide a method to delay growth or kill hyperproliferating cells, comprised of exposing the hyperproliferating cells to an inhibitor of at least one erb B kinase in combination therapy with another conventional antineoplastic agent. Preferably, the erb B kinase inhibitor is an irreversible erb B inhibitor. More preferably, the erb B kinase inhibitor inhibits more than one erb B kinase. It is a further object of this invention to provide a method to treat hyperproliferative cell disorders such as, but not limited to, cancer in mammals. That method will encompass administering, a lethal agent (e.g. ionizing radiation, chemotherapeutic agents, heat, ultraviolet light, high intensity red light as used in photo-dynamic therapy, etc.) in combination therapy with an inhibitor, preferably, an irreversible inhibitor of the erb B

-9-

tyrosine kinases. The administration of such an erbB tyrosine kinase inhibitor potentiates the ability of radiation or chemotherapy, or both, or of other lethal agents, to cause apoptosis of cancer cells, thus stabilizing disease progression and decreasing cancer recurrences.

5 The invention contemplates the use of any PAN erb B tyrosine kinase inhibitor, and preferably an irreversible PAN erb B tyrosine kinase inhibitor. The preferred irreversible PAN erb B tyrosine kinase inhibitor is N-[4-(3-chloro-4-fluoro-phenylamino)-7-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-quinazolin-6-yl]-acrylamide, an irreversible erbB inhibitor. It is also known as CI-1033. CI-1033 is described in WO 00/31048,
10 which is incorporated herein by reference for its teaching of how to make N-[4-(3-chloro-4-fluoro-phenylamino)-7-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-quinazolin-6-yl]-acrylamide, how to formulate it into dosage forms, and how to use it for treating cancers such as colon, breast, ovarian, pancreatic, prostate, lung cancer, other cancers such as adenocarcinomas and sarcomas.

15 Administration of the PAN erb B tyrosine kinase inhibitor may be, for example, prior to, after, or concurrent with the radiation or chemotherapy treatment. One skilled in the art will recognize that the amount of PAN erb B tyrosine kinase inhibitor to be administered will be that amount sufficient to enhance the anti-neoplastic effect of the radiation and/or chemotherapy. Such an amount may vary inter alia depending on the
20 gender, age, weight and condition of the patient, and must be determined on a case by case basis. The amount may vary according to the size and type of neoplasia, as well as the particular radiation or chemotherapy protocol that is followed. Generally, a suitable dose is one that results in a concentration of the inhibitor at the site of the tumor in the range of 0.5 nM to 200 μ M, and more usually from 20 nM to 80 nM. It is expected that
25 serum concentrations from 40 nM to 150 nM should be sufficient in most cases. Administration may be oral, parenteral or topical, and is likely to be oral or intravenous. The inhibitor may be administered in any of several forms, including tablets, pills, powders, lozenges, sachets, cachets, elixirs, suspensions, emulsions, solutions, syrups, aerosol (as a solid or in a liquid medium), soft or hard gelatin capsules, suppositories,
30 sterile injectable solutions and sterile packaged powders for either oral or topical application.

-10-

The compositions useful in practicing this invention comprise the above active ingredients, or suitable salts thereof, together with common excipients, diluents, and carriers.

A preferred treatment comprises CI-1033, used in conjunction with one or more of gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, or capecitabine. Another preferred combination is use of CI-1033 in a protocol for treatment of cancers with ionizing radiation. In another preferred embodiment is a method of treating cancers comprising administering CI-1033 in a protocol with ionizing radiation and another antineoplastic agent selected from the group consisting of gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, or capecitabine.

The present invention provides a unique combination of antineoplastic agents that exhibits a dramatic synergistic effect. The combination utilizes an irreversible PAN erb B tyrosine kinase inhibitor, in conjunction with the administration of cytotoxic agents such as gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, or a protocol for use with ionizing radiation therapy. These combinations are especially effective in treating patients with solid tumors, especially cell lung cancer and other advanced solid tumors.

An object of this invention is to provide a method for treating hyperproliferative cell disorders with a combination comprising CI-1033 together with at least one of either gemcitabine, paclitaxel, taxotere, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, capecitabine or ionizing radiation. The term hyperproliferative cell disorder includes such disorders as psoriasis, cancer, and restenosis. A further object is to provide a composition comprising synergistic amounts of CI-1033 and gemcitabine, synergistic amounts of CI-1033 and paclitaxel, synergistic amounts of CI-1033 and taxotere, synergistic amounts of CI-1033 and cisplatin, synergistic amounts of CI-1033 and carboplatin, synergistic amounts of CI-1033 and etoposide, synergistic amounts of CI-1033 and adriamycin, synergistic amounts of CI-1033 and topotecan, synergistic amounts of CI-1033 and CPT-11, synergistic amounts of CI-1033 and capecitabine, and a synergistic amount of CI-1033 to be used with ionizing radiation.

-11-

In a further embodiment of the invention, we provide a method for treating cancer comprising administering to an animal in need of treatment an effective amount of a combination of CI-1033 and at least one therapy selected from the group consisting of ionizing radiation, gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, and capecitabine.

A preferred method embraces treatment of solid tumors with the combinations comprising CI-1033 and conventional antineoplastic therapeutic modalities.

A further preferred method employs an antitumor amount of CI-1033 and an effective amount of at least one of gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, or capecitabine, or ionizing radiation to treat susceptible cancers, including cell lung cancer (NSCLC), breast cancer, ovarian cancer, head and neck cancer, myelomas, prostate cancer, colon cancer, pancreatic cancer and other solid tumors. In another embodiment, CI-1033 may be used in the present invention in combination with two or more other antineoplastic therapeutic modalities.

Another embodiment of the invention is a kit comprising in one compartment a dosage of CI-1033, and in another compartment a dosage of an agent selected from the group consisting of gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, doxorubicin, topotecan, CPT-11, capecitabine, or a pharmaceutically acceptable salt thereof. In another embodiment, the kit comprises a dosage of CI-1033 and dosages of at least two compounds selected from the group consisting of gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, or capecitabine. Included in the kit are also instructions for use of the combinations of the present invention, including directions for dosing, dosage schedules and preparation and administration of the agents used in the combination.

The compounds utilized in the method of this invention may be administered in doses commonly employed clinically. Depending on the stage of the disease, the tumor type and the general condition of the mammal in need of such treatment, lower doses of each of the antineoplastic modalities than are conventionally administered may be used to achieve similar efficacy against the tumor than are conventionally used as a single agent

-12-

while also diminishing the side effects. Such doses can be calculated in the normal fashion, for example on body surface area. CI-1033 is administered, for example, at doses from about 10.0 mg to about 200 mg for continuous dosing, preferably from about 50.0 mg to about 200.0 mg. Ideally, CI-1033 will be administered at a dose that will produce plasma levels of about 5 to about 100 $\mu\text{g/mL}$. CI-1033 typically is administered orally, for example, as capsules having active ingredient in the amounts of 5, 25, 50, 75, 100, and 200 mg per capsule. CI-1033 is administered daily at about the same dose levels throughout a treatment period, typically for 15 to 30 days. Alternatively, the daily dosage of CI-1033 may be administered in divided doses during a 24 hr period. Multiple treatment periods can be practiced, as dictated by the attending medical practitioner and the particular patient and condition being treated. Intravenous administration of CI-1033 is also contemplated when warranted by the medical condition of the patient or to comport with other concurrent medical treatments.

Gemcitabine is administered at doses comparable to those routinely utilized clinically. For example, the initial dose of gemcitabine, typically as the hydrochloride salt, is about 1000 mg/m^2 of body surface area. Gemcitabine is routinely formulated as a sterile solution and is administered by intravenous infusion, generally over about a 30-minute period, with about 2 to 4 weekly doses, with courses repeated about every 28 to 30 days. The dose of 1000 mg/m^2 can be given for up to about 7 weeks, according to this treatment regimen, or until undesirable side effects are observed. Other salt forms can be utilized if desired, for example, the hydrobromide, monophosphate, sulfate, malonate, citrate, and succinate are readily prepared.

Capecitabine, for monotherapy, generally is administered orally at a dose of about 2500 mg/m^2 daily for 2 weeks, followed by a 1-week rest period. The product is supplied commercially in 150 mg and 500 mg tablets. The tablets are administered at the rate of about 1 to about 4 times a day during the treatment period.

Paclitaxel, or docetaxel generally are formulated as sterile solutions for injection, and routinely administered at doses of about 60 to 175 mg/m^2 , given intravenously, on a daily basis or intermittent basis. Paclitaxel may also be administered at a dose of 135-175 mg/m^2 intravenously over a 3-hour infusion or for docetaxel IV at a dosage of 60-

-13-

100 mg/m² for 1 hour. Alternatively, ionizing radiation may be administered as a single dose of from about 2.5 to 56 Gy. Ionizing radiation may be administered as a single dose repeated at long time intervals or divided into more frequent smaller doses. This cycle can be repeated for about every 4 to 8 weeks.

5 Cisplatin is formulated as a sterile solution for injection, and is routinely administered intravenously at a dose of approximately 20 mg/m² daily for 5 days or at 75-100 mg/m² every 4 weeks.

10 Carboplatin is formulated as a sterile powder that is reconstituted prior to IV injection, and is routinely administered intravenously at a dose of approximately 360 mg/m² every 4 weeks.

Topotecan is formulated as a sterile powder that is reconstituted prior to IV injection, and is routinely administered intravenously at a dose of approximately 1.5 mg/m² every 3 weeks

15 CPT-11 is formulated as a sterile liquid that is diluted prior to IV injection, and is routinely administered intravenously at a dose of 50-150 mg/m² weekly for 4 weeks, followed by a 2-week rest period.

20 Etoposide is formulated as a sterile liquid which is diluted prior to IV injection, and is routinely administered intravenously on several different treatment schedules including 120 mg/m² IV on days 1-3 repeated every 21 days, 50-100 mg/m² IV on days 1-5 every 2-4 weeks, 125-140 mg/m² on days 1, 3, 5 every 3-5 weeks. Dosing may also consist of etoposide tablets/capsules at 50 mg/m² for 21-days every 4-5 weeks.

25 Doxorubicin is formulated as a sterile powder that must be reconstituted and diluted prior to IV administration. Doxorubicin is administered intravenously at 60-75 mg/m² every 3 weeks, 15-20 mg/m² weekly, or 30 mg/m² on days 1 and 8 every 4 weeks.

Doses and administration schedules of these agents may vary in combination chemotherapy protocols. In addition, salts, other than those

-14-

specifically listed may be used in combination therapeutic protocols. Those skilled in the art will recognize that these combinations are exemplary only, and that related compounds or derivatives of these antineoplastic agents may be used in combination with the reversible or irreversible erb B tyrosine kinase inhibitor.

5 The combinations provided by this invention have been evaluated in vivo against several different in vivo tumor models. The combination experiments of CI-1033 with radiation were performed in two different in vivo tumor models. The combination chemotherapy experiments were performed using five different in vivo tumor models and seven different chemotherapeutic agents.

10 While the results exemplify the use of CI-1033, an irreversible PAN erb B tyrosine kinase inhibitor, similar results may be obtained with other agents that inhibit these kinases.

 CI-1033 was administered clinically in doses ranging from 50 mg to 750 mg/day when the duration of treatment was 14 consecutive days. The treatment
15 may be prolonged, with or without an off drug rest period. Lower doses of CI-1033 were used for 8 weeks of continuous daily therapy, followed by a 2-week 'drug holiday'. With CI-1033 alone, there was no evidence of cumulative toxicity following repeated courses and prolonged exposures to CI-1033. In preliminary studies with CI-1033 alone, responses included one partial response in a heavily
20 pretreated patient with NSCLC and a minor response in one patient each with renal cell cancer and NSCLC.

 The following detailed examples further establish the synergy between CI-1033 and either gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, doxorubicin, topotecan, CPT-11, capecitabine or ionizing radiation.
25 These Examples are exemplary only and are not intended to limit the scope of the invention.

-15-

EXAMPLE 1**Anticancer Effectiveness of Combination Chemotherapy with CI-1033 and Gemcitabine Against Orthotopically Implanted L3.6pl Human Pancreatic Carcinoma in Nude Mice.**

5 The synergistic combinations provided by this invention have been evaluated in standard chemotherapy studies using female immunodeficient nude mice. The combination of CI-1033 with gemcitabine was evaluated against an orthotopically implanted human pancreatic xenograft.

10 L3.6pl human pancreatic cancer cells were established from COLO 357 fast growing cells by injecting them into the pancreas of nude mice, with subsequent harvesting of hepatic metastases and re-implantation into the pancreas for three cycles. The resulting L3.6pl cells produce a significantly higher incidence of hepatic and lymph node metastases than the parental cells. Cells were maintained on plastic in Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM)
15 supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS), sodium pyruvate, non-essential amino acids, L-glutamine, and 2-fold vitamin solution GIBCO, Grand Island, NY), incubated in 5% CO₂- 95% air at 37 degrees C. Cultures were maintained for no more than 8-weeks after recovery from frozen stocks.

20 **Animals and orthotopic implantation of tumor cells.**

 Male athymic BALB/c nude mice were from the National Cancer Institute-Frederick Cancer Research and Development Center (Frederick, MD). Mice were housed and maintained in laminar flow cabinets under pathogen free conditions approved by the American Association for the Accreditation of
25 Laboratory Animal Care, and their use in these experiments approved by the Institutional Animal Care and Use Committee.

 To produce tumors, cells were harvested from subconfluent cultures by treatment with 0.25% trypsin and 0.2% EDTA. Trypsinization was stopped with medium containing 10% FBS, and the cells washed once with serum free medium
30 and resuspended in Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) at a concentration of 2×10^7 cells / mL. Only single cell suspensions with greater than 90% viability were used for injection. Mice (8-10 weeks of age) were anesthetized with

-16-

methoxyflurane, the pancreas exposed and 1×10^6 cells in 0.05 mL injected into the body of the pancreas. Incisions were closed with wound clips. Mice were sacrificed after 5-6 weeks of tumor growth. The size and weight of primary tumors and the incidence of lymph node and hepatic metastases were determined at the time of sacrifice.

Treatment of established human pancreatic carcinoma xenografts with CI-1033 and gemcitabine.

Mice were implanted with 1×10^6 L3.6pl human pancreatic carcinoma cells intrapancreatically on day 0. Therapy was initiated on day 7 post tumor cell implant. The duration of therapy was four weeks. Pancreas weight, tumor weight and incidence of metastasis were recorded at the time of terminal sacrifice.

Gemcitabine (125 mg/kg) was administered intraperitoneally in 0.5 mL saline twice weekly for 4-weeks. CI-1033 was administered orally, once daily, 5-days per week for 4-weeks at 30mg/kg (high dose) and 10 mg/kg (low dose). The study consisted of six treatment groups with a minimum of 10 mice per treatment group. Groups were control, gemcitabine alone, CI-1033 at 30 mg/kg alone, CI-1033 at 10 mg/kg alone, gemcitabine plus CI-1033 at 30 mg/kg, and gemcitabine plus CI-1033 at 10 mg/kg.

Control animals lost 17 % of their initial body weight by the end of the four week therapy period. At terminal sacrifice, the control animals had lost 24% of their initial weight. Weight loss in this group is attributed to pancreatic carcinoma progression. Tumor bearing animals treated with gemcitabine alone at 125 mg/kg twice weekly had a slight weight gain over the therapy period, but had an overall 4% loss of initial body weight at terminal sacrifice. Mice dosed with 10 and 30 mg/kg CI-1033 lost 6 and 9% of their initial body weight during therapy, respectively, but gained weight in the period between the end of therapy and terminal sacrifice. The CI-1033 (10 mg/kg) plus gemcitabine treated group lost 10% of initial body weight during therapy, but recovered the lost body weight after the end of therapy. At the end of the second week of dosing the CI-1033 (30 mg/kg) plus gemcitabine treatment group had a body weight loss of 16%. Because of the large weight loss this combination dosage group was given a drug

-17-

free holiday during therapy week three, with dosing reinitiated in week four of the study.

The trend in antitumor effectiveness was the same whether examining total pancreas mass or tumor volume. The combination groups showed improved efficacy compared to the groups treated with only gemcitabine or CI-1033 suggesting that the combination improved upon antitumor effectiveness over that obtained with single agent therapy. The rank order of therapeutic effectiveness was CI-1033 (30 mg/kg) plus gemcitabine > CI-1033 (10 mg/kg) plus gemcitabine > CI-1033 (30 mg/kg) = gemcitabine > CI-1033 (10 mg/kg). The rank order was the same when calculating percent T/C values based on tumor volume. None of these treatment regimens produced a reduction in lymph node metastases. However, CI-1033 appeared to reduce the number of hepatic metastases over that obtained with gemcitabine. The combination of CI-1033 and gemcitabine produced an antitumor effect that was superior to that produced by either of the single agents alone.

EXAMPLE 2

Anticancer Effectiveness of Combination Chemotherapy with CI-1033 and Paclitaxel Against Orthotopically Implanted 253J B-V Human Bladder Carcinoma in Nude Mice.

The synergistic combinations provided by this invention have been evaluated in standard chemotherapy studies using female immunodeficient nude mice. The combination of CI-1033 and paclitaxel was evaluated against an orthotopically implanted human transitional cell (bladder) xenograft. The highly metastatic human transitional cell carcinoma 253J B-V was maintained as a monolayer culture in modified Eagle's minimal essential medium supplemented with 10% fetal bovine serum, vitamins, sodium pyruvate, L-glutamine, and non-essential amino acids as described previously.

Animals and orthotopic implantation of tumor cells.

Male athymic BALB/c nude mice were from the National Cancer Institute-Frederick Cancer Research and Development Center (Frederick, MD).

-18-

Mice were housed and maintained in laminar flow cabinets under pathogen free conditions approved by the American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care, and their use in these experiments approved by the Institutional Animal Care and Use Committee.

5 To produce tumors, cells were harvested from subconfluent cultures by treatment with 0.25% trypsin and 0.2% EDTA. Trypsinization was stopped with medium containing 10% FBS, and the cells washed once with serum free medium and resuspended in Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) at a concentration of 2×10^7 cells /mL. Only single cell suspensions with greater than 90% viability
10 were used for injection. Mice (8-10 weeks of age) were anesthetized with methoxyflurane to effect, a lower midline incision made, and the bladder exposed. Viable tumor cells (1×10^6 cells in 0.05 mL) were injected into the wall of the bladder. Incisions were closed with wound clips. Mice were sacrificed after 6 weeks of tumor growth. The size and weight of primary bladder tumors
15 were recorded at the time of sacrifice.

Treatment of established human bladder carcinoma xenografts with CI-1033 and paclitaxel.

 Mice were implanted with 1×10^6 253J B-V human bladder carcinoma cells into the bladder wall on day 0. Therapy was initiated on Day 14 post cell
20 implant. The duration of therapy was 4 weeks. Bladder tumor weights were recorded at terminal sacrifice. Paclitaxel (8 mg/kg) was administered intraperitoneally in 0.5 mL on days 14, 20, and 27 post tumor cell implant. CI-1033 was administered orally, either once daily, 5-days per week for 4-weeks at 30mg/kg (high dose) and 10 mg/kg (low dose) or twice weekly for 4-weeks at 30
25 mg/kg. The first study consisted of six treatment groups with a minimum of 6 mice per treatment group. Groups were control, paclitaxel alone, CI-1033 at 30 mg/kg alone, CI-1033 at 10 mg/kg alone, paclitaxel plus CI-1033 at 30 mg/kg, and paclitaxel plus CI-1033 at 10 mg/kg. In the first study CI-1033 was administered orally 5-days per week for 4- weeks). The second study was also
30 composed of 6-groups with a minimum of 8 mice per group. Groups in the second study were control, paclitaxel alone, CI-1033 (30 mg/kg) alone dosed 5-



-19-

days per week, CI-1033 (30 mg/kg) dosed twice weekly, paclitaxel plus CI-1033 (30 mg/kg) 5-days per week, and paclitaxel plus CI-1033 (30 mg/kg) twice weekly.

5 Animals in the control groups of both of these studies lost between 1% to 7% of their initial body weight. Single agent therapy with either CI-1033 or paclitaxel induced no more than a 5% reduction in body weight, suggesting that single agent therapy lacked significant toxicity, based on weight loss. Weight loss in combination therapy groups was in the range of 2% to 6%, except for the daily CI-1033 (30 mg/kg) plus paclitaxel treatment group which lost 10% of initial
10 body weight during the first two weeks of therapy. This treatment group recovered a great deal of the weight lost during the last two weeks of therapy for a weight loss from initial dose to sacrifice of 3%. The weight loss in the combination groups suggest that combination therapy with CI-1033 plus paclitaxel did not potentiate toxicity over that observed with the single agents
15 alone on the doses and schedules used in these studies.

 The control group and the group dosed IP with 8mg/kg paclitaxel alone on days 14, 20 and 27 did not significantly reduce the bladder tumor mass. CI-1033 was administered orally on days 14-18, 21-25, 28-32 and 35-39 or on Days 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, and 38 at dosages of 10 or 30 mg/kg. In groups treated
20 with 10 or 30 mg/kg of CI-1033 alone the tumor mass (measured at terminal sacrifice) was reduced to 42% and 25%, respectively of that of the control group. When CI-1033 (at 10 or 30 mg/kg) was administered orally in combination with paclitaxel (8 mg/kg, IP), the tumor masses were further reduced to 22% and 14% of the control group tumor mass.

25 CI-1033 as a single agent either on a daily or intermittent treatment schedule was at least as effective as paclitaxel in both studies. Intermittent dosing of CI-1033 at 30 mg/kg was as effective as daily dosing at the same dose level.

 The combination of paclitaxel and 10 mg/kg or 30 mg/kg CI-1033 daily reduced tumor mass to a greater extent than either single agent alone, resulting in
30 percent T/C values of 25% and 14%, respectively. Results of the second study

-20-

suggested also that on both treatment schedules CI-1033 plus paclitaxel produced improved antitumor effectiveness over single agent therapy.

Overall, these data indicate that the combination of paclitaxel and CI-1033 was superior in reducing tumor mass than either agent administered as a single agent in these studies against the 253J B-V human bladder carcinoma.

CI-1033/docetaxel combination with sequential dosing

A number of preclinical studies indicate that a greater therapeutic effect can be obtained by combining inhibitors of the erbB family receptor tyrosine kinases with paclitaxel than by using either agent alone. This result has previously been reported for Iressa™ in several human tumor xenografts including the A431 human epidermoid, the LX-1 lung, the A549 lung and the GEO colon carcinomas. [Sirotnak, et al. Clin. Cancer Res.6:4885-92, 2000; Ciardiello, et al. Clin. Cancer Res.7:1459-65, 2001; Ciardiello, et al. Clin. Cancer Res.6:2053-63, 2000.] Monoclonal antibodies directed against individual receptors of the erbB family have also been shown to be effective in combination with this drug. Herceptin™, which specifically neutralizes erbB-2, enhanced the activity of paclitaxel *in vivo* against the BT-474 human breast carcinoma [Baselga J, et al., Cancer Res. 58:2825-31, 1998.] as well as in a variety of human tumor cell lines *in vitro* [Pegram, et al., Oncogene 18:2241-51, 1999.] and C-225, which is directed against the EGF receptor has been shown to enhance the antitumor effects of paclitaxel in the 253JB-V human bladder grown orthotopically in athymic nude mice. [Inoue, Clin. Cancer Res. 6:4874-84, 2000.]

However, none of the inhibitors of the erbB family tyrosine kinases described above are irreversible and are pan erbB tyrosine kinase inhibitors. CI-1033 has been shown above to enhance the therapeutic effects when used in combination with paclitaxel. Experiments described below demonstrate that a specific dose sequence enhances the activity of the two drugs in combination. *In vitro* experiments in which MDA-MB-453 human breast carcinoma cells were exposed to paclitaxel and CI-1033 either alone or in combination have shown an enhancement of paclitaxel-induced apoptosis where maximal effects were

-21-

dependent on exposure to paclitaxel first. In these experiments, a 3-day exposure to paclitaxel alone induced 23% of the cells to undergo apoptosis, whereas CI-1033 alone did not affect the apoptotic fraction. Combined simultaneous exposure to paclitaxel and CI-1033 resulted in only a marginal increase in cell death to 27%. However, if the paclitaxel was added first, followed by CI-1033 at 24 hours later, the apoptotic fraction was doubled to 47%. In contrast, if the cells were exposed to CI-1033 24 hours prior to paclitaxel, apoptosis was markedly suppressed to only 6%. *In vivo* efficacy tests in the A431 human tumor xenograft with CI-1033 in combination with paclitaxel have shown that initial treatment with paclitaxel first followed one day later with CI-1033 was a highly efficacious schedule in which the combination produced a greater therapeutic effect than either drug alone. Furthermore, the combination was well tolerated and there appeared to be no overlapping toxicities. These results are consistent with the enhanced activity of paclitaxel produced in combination with the EGF receptor antibody, C225, when the antibody was given 2 days after the chemotherapy. [Inoue, Clin. Cancer Res. 6:4874-84, 2000.]

The antitumor activity observed with combinations of the EGF receptor antibody C225 and topotecan showed clear sequence-dependence where the greatest effect was obtained when topotecan was given first followed one day later with the antibody. Activity was less when the two drugs were given simultaneously and markedly suppressed when C225 was given first. [Ciardiello, et al. Clin. Cancer Res. 5:909-16, 1999.]

Studies with CI-1033 have also shown marked sequence dependent effects with 2 additional drugs. Enhanced cell kill was observed *in vitro* by exposing cells initially to gemcitabine followed by CI-1033 [Nelson, et al., J. Biol. Chem. 276:14842-14847, 2001] similar to the paclitaxel studies described above. *In vivo* tests in the A431 human epidermoid carcinoma with CI-1033 have also shown striking sequence dependence with cis-platin, in which dosing CI-1033 subsequent to cis-platin provided a greater therapeutic effect but pre-dosing CI-1033 inhibited activity.

-22-

Collectively, these data imply that CI-1033 should not be given prior to the docetaxel and although simultaneous administration may provide benefit, the greatest antitumor effect can potentially be obtained by sequential dosing with prior treatment of docetaxel followed by CI-1033.

5.

EXAMPLE 3

Design of Growth Delay (T-C) Trials

The synergistic combinations provided by this invention have been evaluated in standard chemotherapy studies using female conventional
10 immunodeficient nude mice weighing 18 to 20 grams. On Day 0 of the test, each mouse was surgically implanted (subcutaneously) with a fragment of tumor weighing approximately 30 mg. The mice were weighed weekly, and tumor size (width and length in mm) were measured three times each week with standard calipers. Tumor mass for each animal was calculated according to the formula:

15
$$\text{mass} = \frac{(a \times b^2)}{2},$$

where "a" is width of the tumor in mm, and "b" is the length in mm. Evaluation of anticancer activity was evaluated based on the formula T-C, where "T" and "C" are the median time (in days) required for the treated and control (respectively) tumors to reach a pre-determined size of 750 mg (the "evaluation size"). CI-1033
20 was dissolved in 50 mM sodium lactate buffer, pH 4.0, and administered orally at various dosages in 0.5 mL volumes. Standard agents were diluted as described in the package inserts and administered at various dosage levels in 0.5 mL injections.

In each experiment, mice bearing established tumors were randomized into one of four treatment groups. One group served as control treatment groups.
25 Group 2 was further divided into four sub-groups, each of which received oral doses of CI-1033 at a specified level of active drug. The CI-1033 was administered according to the schedules indicated below. The third group was further divided into four subgroups, each of which received the designated standard agent by the route and schedules indicated below.

29

-23-

Group 4 was further subdivided into groups receiving combination therapy. Each dose of CI-1033 was evaluated with each dosage level of standard chemotherapeutic.

The data presented from the orthotopic tumor model studies In Examples 1 and 2 establish that the combination of CI-1033 and gemcitabine or paclitaxel is surprisingly active in reducing the rate of growth of tumors in animals. The ability of these agents when used together establish the combination to be superior as an antitumor agent than either of the agents used alone.

EXAMPLE 4

Tumor Growth Delay with CI-1033 in Combination with Docetaxel

Because the synergistic effects observed with the combination of CI-1033 and paclitaxel were so surprisingly dramatic, a tumor growth delay study with docetaxel and CI-1033 was conducted against a subcutaneously implanted human non-small cell lung cancer xenograft, H125. CI-1033 at 40, 10, 2.5, 0.7 and 0.2 mg/kg was administered PO on days 19-23 and 26-30 to mice having established H125 human cell lung carcinoma xenografts. Docetaxel at doses of 12, 8, and 5 mg/kg was administered IV on days 19, 23, and 27. The optimum tumor growth delays for CI-1033 and docetaxel as single agents were 11.7 and 35.7 days, respectively. Several of the groups given combination chemotherapy demonstrated tumor growth delays in excess of 35 days indicating an enhanced therapeutic benefit for the combination therapy comprising docetaxel and CI-1033. Figure 1 demonstrates the enhanced tumor growth delay accompanying treatment with CI-1033 and docetaxel. Complete responses were defined as tumors that decreased in mass by 100% during the study. Partial responses were defined as tumors that decreased in mass by at least 50% during the study. The number of partial and complete responses observed in animals receiving both therapeutic agents in this study was higher for those animals receiving combined therapy than for those receiving single agent therapy. However, the number of complete responses observed in animals receiving both therapeutic agents in this study was markedly elevated over those receiving single agents (13.3% vs 4% and

-24-

0). The combination of these two agents did not effect toxicity, lethality or weight loss.

EXAMPLE 5

Tumor Growth Delay with CI-1033 in Combination with Etoposide

5 The synergistic combinations provided by this invention have been evaluated in standard chemotherapy studies using female immunodeficient nude mice. The combination of CI-1033 and etoposide was evaluated against a subcutaneously implanted human non-small cell lung cancer xenograft, H125.

10 In one combination trial with CI-1033 and etoposide, CI-1033 at doses of 200, 124, and 77 mg/kg was administered 24 hours after each of 3 etoposide doses. Etoposide was administered IP at doses of 80, 50, and 31 mg/kg on days 12, 16 and 20. Etoposide was relatively ineffective in delaying the growth of H125 as a single agent at a maximum tolerated dose of 50 mg/kg in this trial while CI-1033 was very effective. The combination of etoposide at 50 mg/kg and CI-15 1033 at 77 mg/kg produced a superior effect in delaying tumor growth than that observed with either single agent administered alone. All other combination dosage regimens were no better than CI-1033 therapy alone. However, etoposide was well tolerated only at the lowest dose tested.

EXAMPLE 6

CI-1033 in Combination With Capecitabine

20 The synergistic combinations provided by this invention have been evaluated in standard chemotherapy studies using BALB/C female mice. The combination of CI-1033 and capecitabine was evaluated against a subcutaneously 25 implanted murine colon carcinoma, C26.

30 In one combination trial with CI-1033 and capecitabine, CI-1033 at doses of 40, 20, and 10 mg/kg was administered orally simultaneously with each capecitabine dose. Capecitabine was administered PO at doses of 750 and 500 mg/kg on days 14-16, 21-23, and 28-30. The optimum tumor growth delays for CI-1033 and capecitabine as single agents were 3.6 and 22.5 days, respectively. Several of the groups given combination chemotherapy demonstrated tumor

-25-

growth delays in excess of 22 days indicating an enhanced therapeutic benefit for the combination therapy comprising capecitabine and CI-1033.

Capecitabine caused 3/6 complete responses and 2/6 partial responses against C26 colon carcinoma as a single agent, while CI-1033 as a single agent was ineffective in this trial. The combination of capecitabine at 750 or 500 mg/kg and CI-1033 produced a greater than additive effect (14/36 (39%)) complete responses and (5/36 (14%)) partial responses. As single agents CI-1033 and capecitabine produced 0 and 8% tumor free survivors, respectively. Combinations of CI-1033 and capecitabine produced 16% tumor free survivors.

Thus, this experiment demonstrates that the combination of capecitabine and CI-1033 administered to mice bearing advanced murine colon 26/clone 10 produced superior anticancer effectiveness compared to either of the single agents alone.

EXAMPLE 7

CI-1033 in Combination With Cisplatin

The combination of CI-1033 and cisplatin was evaluated in immunodeficient female nude mice against a subcutaneously implanted human non-small cell lung cancer xenograft, H125.

CI-1033 at 40, 20, 10, 5 and 2.5mg/kg was administered PO on days 28-37 to mice having advanced OVCAR-5 Human Ovarian Cancer xenografts. Cisplatin at doses of 12, 6, 3, and 1.5 mg/kg was administered IV on days 28, 32, and 34. Neither cisplatin nor CI-1033 when administered alone produced meaningful anticancer effects against advanced OVCAR-5 human ovarian cancer xenografts. In this trial CI-1033 administered following cisplatin therapy provided superior anticancer effects against advanced OVCAR-5 than either single agent, i.e., for instance tumor growth delays (T-C's) greater than 18 days for combinations of CI-1033 at 5 and 10 mg/kg with 12 mg/kg Cisplatin (greater than 18 and 21 days, respectively) compared to cisplatin administered alone at this dose (10days).

-26-

A trial against A431 epidermoid carcinoma was designed to determine tumor sensitivity to cisplatin before and after a single dose of CI-1033. To assess the effect of drug scheduling in therapeutic protocols utilizing CI-1033 and cisplatin, a single dose of 6 mg/kg cisplatin was administered IP to mice bearing advanced A-431 xenografts of Day 16 posttumor implant either 24 hours prior to or after a single dose of either 100 or 200 mg/kg CI-1033. Tumor growth was assessed and the combination of cisplatin followed by CI-1033 produced a greater than additive effect as evidenced by an 11-13.5 day growth delay compared to that produced by cisplatin alone. Figure 4.

Similar results are obtained using CI-1033 and carboplatin using different dosing schedules.

EXAMPLE 8

CI-1033 in Combination With Topotecan

CI-1033 and topotecan were administered to immunodeficient female nude mice having established H125 human cell lung carcinoma xenografts. CI-1033 was administered orally at either 40, 20 or 10 mg/kg on days 32-35 and topotecan was administered IP at doses of 1.6, 1, and 0.62 mg/kg on days 26-30. The combination of CI-1033 and topotecan was evaluated against a H125 human cell lung carcinoma xenograft.

Both CI-1033 and topotecan produced meaningful anticancer effectiveness as measured by tumor growth delay against advanced H125 NSC lung xenografts. Anticancer effectiveness of the combinations were superior to that of either agent administered individually. There was no indication of potentiated toxicity.

Similar results occur with CPT-11, although the treatment schedules may be varied.

EXAMPLE 9

CI-1033 in Combination With Radiation Therapy

The synergistic combinations provided by this invention have been evaluated in a murine squamous cell carcinoma, SCC7 implanted subcutaneously

77

-27-

in C3H female mice in standard chemotherapy studies using a combination of CI-1033 and ionizing radiation.

Two studies were conducted. In both studies multiple doses of CI-1033 (40, 20, 10 and 5 mg/kg) were administered orally on days 7-18. Radiation was delivered as either a single dose or as multiple fractions over a 5-day period. In these trials, CI-1033 was administered 1 hour before radiation in both the single- and multiple-dose radiation protocols. In the single-dose radiation protocol against SCC-7, the tumors received either 5 or 10 Gy of radiation 1 hour after the first of 12 PO doses of CI-1033 on Day 7. In this trial the SCC-7 carcinoma was insensitive to CI-1033 therapy alone. Single doses of 10 and 5 Gy radiation produced tumor growth delays of 13.6 and 0.8 days, respectively. Combination therapy with radiation plus CI-1033 produced a superior antitumor effect over that obtained with either radiation or CI-1033 therapy alone (91% enhancement). The effect was more pronounced at the 10-Gy radiation dose, with the improved antitumor effect accompanied by an apparent increase in the number of complete and partial regressions.

A study combining multiple doses of radiation with multiple doses of CI-1033 was conducted against the Rif-1 sarcoma, based on the effectiveness of the single-dose radiation therapy protocol against SCC-7. This study evaluated the effectiveness of 5 daily doses of radiation administered 1 hour after each of 5 daily doses of CI-1033. As observed against SCC-7, CI-1033 was minimally effective against the Rif-1 sarcoma based on the 3.7-day tumor growth delay produced by the 5-day treatment schedule at the dose used in this study. Radiation at 5 Gy for 5 days produced a tumor growth delay of 28.5 days. Combination therapy with 5 Gy radiation plus CI-1033 produced a surprisingly superior effect compared to that observed with radiation alone (42% enhancement) indicating a superior anticancer effect with this clinically relevant fractionated irradiation schedule. Data representative of this effect is provided on Table I and Figure 2.

Similar enhancement of CI-1033 in combination with radiation was seen in LoVo tumors, a colon cancer model.

Table I. Antitumor Effect of CI-1033 in Combination With X-ray Against
SCC-7 Murine Squamous Cell Carcinoma

CI-1033		X-ray		Toxic Deaths	% Weight Change ^c	Antitumor Effect		
Dose ^a	Schedule	Dose ^b	Schedule			CR ^d	PR ^e	T-C ^f
40	PO ^g , D7-18			0/6	-2			0.9
20	PO, D7-18			0/6	-1			0.2
10	PO, D7-18			0/6	-1			1.3
0		10	TO ^g , D7	0/6	-15			13.6
40	PO, D7-18	10	TO, D7	0/6	-14	5/6		26.0
20	PO, D7-18	10	TO, D7	0/6	-15	2/6	1/6	20.4
10	PO, D7-18	10	TO, D7	0/6	-13		1/6	9.7
5	PO, D7-18	10	TO, D7	0/6	-15	2/6		11.1

Mice were implanted with 0.2 mL of a 10% tumor brei on Day 0.
Median control tumor mass at first treatment was 75 mg. The study was terminated on Day 44.

- ^a Dose is in mg/kg.
- ^b Dose is in Gray (Gy).
- ^c Maximum treatment-related weight loss, expressed as a percent of initial treatment group weight. A net weight gain is represented by a "+".
- ^d A complete response represents a tumor that decreased in mass by 100% during the study.
- ^e A partial response represents a tumor that decreased in mass by at least 50% during the study.
- ^f T-C is defined as the difference, in days, for the median treated and control tumors to reach a fixed evaluation size, 750 mg.
- ^g PO, oral therapy; TO, only tumor and adjacent tissues are irradiated, not the entire mouse.

5 These examples establish an unexpectedly favorable outcome in treating tumors with CI-1033 in combination therapy with a wide variety of antineoplastic chemotherapeutic agents, and with CI-1033 in combination therapy with ionizing radiation. Accordingly, this invention provides a method of treating susceptible neoplasms comprising administering CI-1033 in a therapeutic regimen with one or more other chemotherapeutic agents, pharmaceutically acceptable salts thereof, or ionizing radiation.

10 The combination of therapeutic agents may be packaged together. The package generally will include each active ingredient packaged separately, thereby avoiding any interaction between the agents prior to administration, as well as individually packaged buffers or diluents for each agent. If desired, the individually packaged drugs can be placed in a single carton as a kit, thereby providing convenience to the attending physician or medical attendant. Such a kit may contain two compartments comprising CI-1033 in one compartment and an antineoplastic agent in a second compartment. A kit having at least three compartments comprising CI-1033 in one compartment and two different antineoplastic agents (together with their separately packaged diluents or buffers,

15

98

-29-

in a second and third compartment, respectively, is also contemplated by this invention.

The susceptible neoplasms to be treated according to this invention include tumors having mutations or over expression of one or more of the erb B receptors.

5 Among the tumors meeting this criterion are solid tumors, especially advanced solid tumors and non-small cell lung cancer, squamous cell carcinoma, glioma, small cell lung carcinoma, endometrial cancer, thyroid cancer, melanoma, colorectal cancer, renal cell cancer, pancreatic cancer, head and neck cancer such as esophageal or cervical cancers, ovarian cancer, myeloma, prostate cancer, 10 sarcomas, chronic myelogenous leukemia and breast cancer.

-30-

CLAIMS

What is claimed is:

1. A method of treating cell proliferative diseases comprising administration in a therapeutic regimen of an inhibitor of at least one erb B tyrosine kinase and at least one antineoplastic agent selected from the group consisting of gemcitabine, paclitaxel, docetaxel, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, capecitabine, or pharmaceutically acceptable salts thereof, or ionizing radiation.
2. The method of Claim 1 wherein said inhibitor of the erbB tyrosine kinase is an irreversible inhibitor.
3. The method of Claim 1 wherein said inhibitor inhibits more than one erb B tyrosine kinase.
4. The method according to Claim 2 wherein said inhibitor is N-[4-(3-chloro-4-fluoro-phenylamino)-7-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-quinazolin-6-yl]-acrylamide.
5. The method of Claim 1 wherein said cell proliferative disease is selected from the group comprising cancer, psoriasis, restenosis, and benign proliferative disease.
6. The method according to Claim 1 wherein at least one said antineoplastic agent is gemcitabine or a pharmaceutically salt thereof.
7. The method according to Claim 6 wherein at least one said antineoplastic agent is a taxane or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
8. A combination according to Claim 1 wherein at least one said antineoplastic agent is paclitaxel or docetaxel.

g

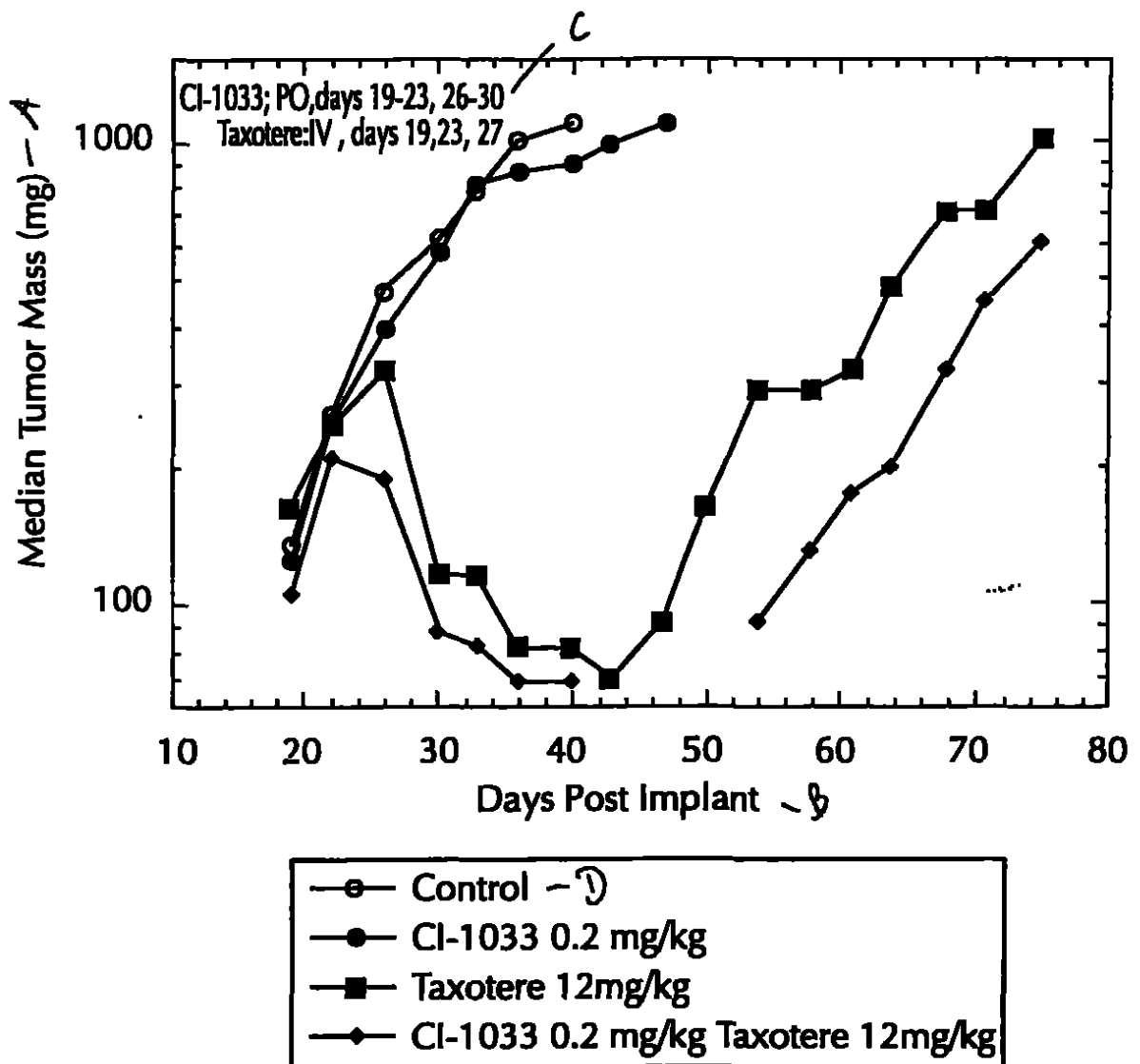
-31-

- 5 9. A method of treating a hyperproliferative cellular disorder comprising administering to a mammal in need of treatment an amount of at least one erbB tyrosine kinase inhibitor and at least one antineoplastic agent according to Claim 1 in an amount sufficient to inhibit cellular hyperproliferation.
- 10 10. The method of Claim 9 wherein said cancer is selected from the group comprising solid tumors, non-small cell lung cancer, squamous cell carcinoma, glioma, small cell lung carcinoma, endometrial cancer, thyroid cancer, melanoma, colorectal cancer, bladder cancer, renal cell cancer, pancreatic cancer, head and neck cancer such as esophageal or cervical cancers, ovarian cancer, myeloma, prostate cancer, sarcomas, chronic myelogenous leukemia and breast cancer.
11. A method of Claim 1 comprising administering CI-1033 in combination therapy with ionizing radiation.
- 15 12. A method of Claim 1 comprising administering CI-1033 in a therapeutic regimen with at least one antineoplastic agent selected from the group comprising gemcitabine, paclitaxel, taxotere, cisplatin, carboplatin, etoposide, adriamycin, topotecan, CPT-11, capecitabine or ionizing radiation.
- 20 13. A method according to Claim 2, wherein said antineoplastic agent is administered prior to the erbB tyrosine kinase inhibitor.
14. A method according to Claim 2, wherein the antineoplastic agent is administered at the same approximate time as the tyrosine kinase inhibitor.
- 25 15. A method according to Claim 2, wherein the antineoplastic agent is administered following the tyrosine kinase inhibitor.

20

1/4

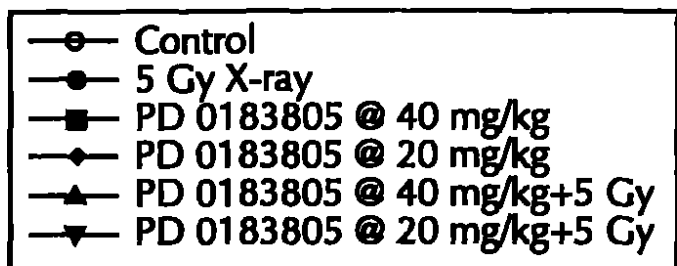
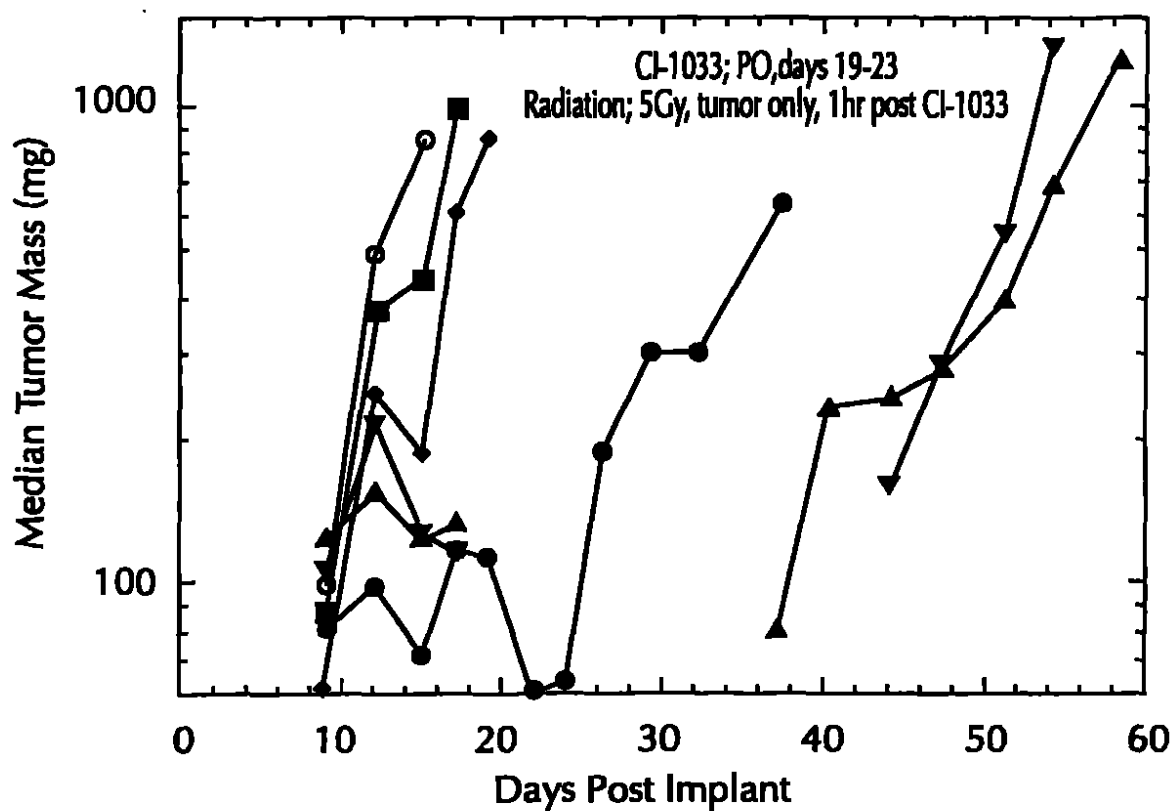
FIG. 1



31

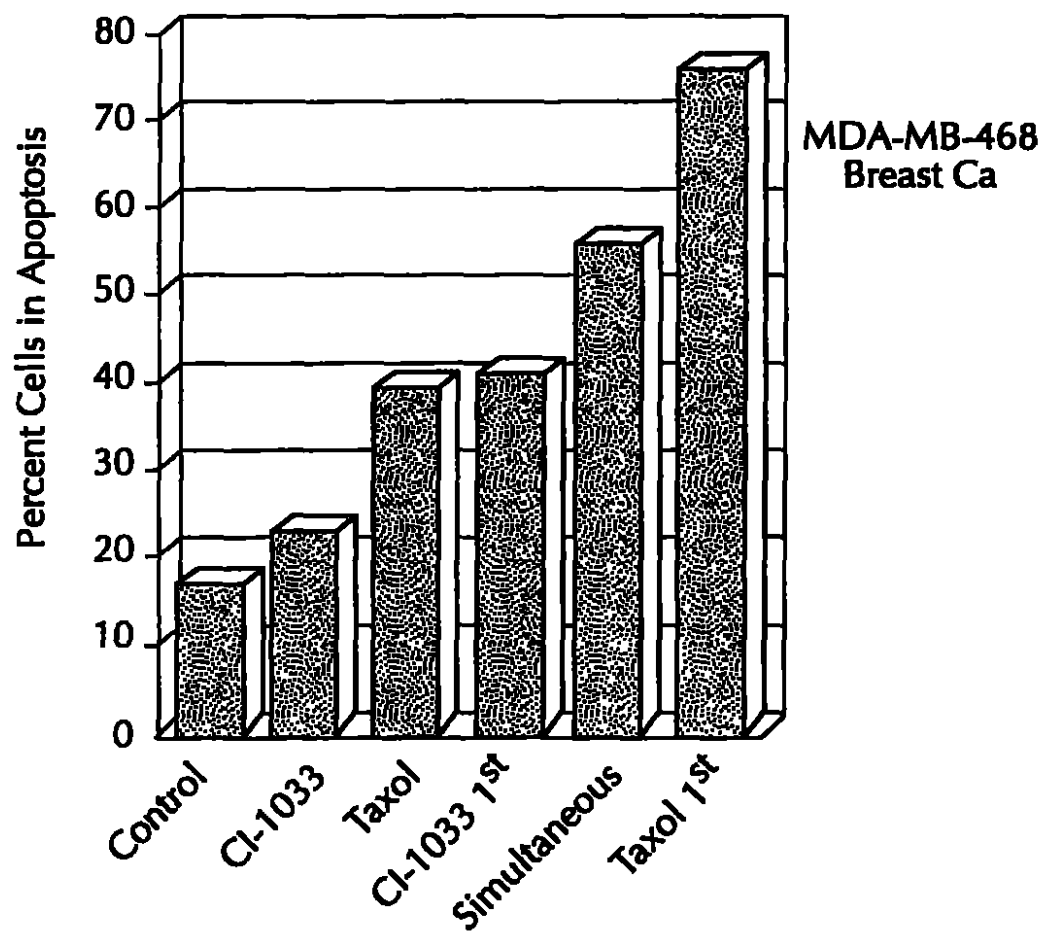
2/4

FIG. 2



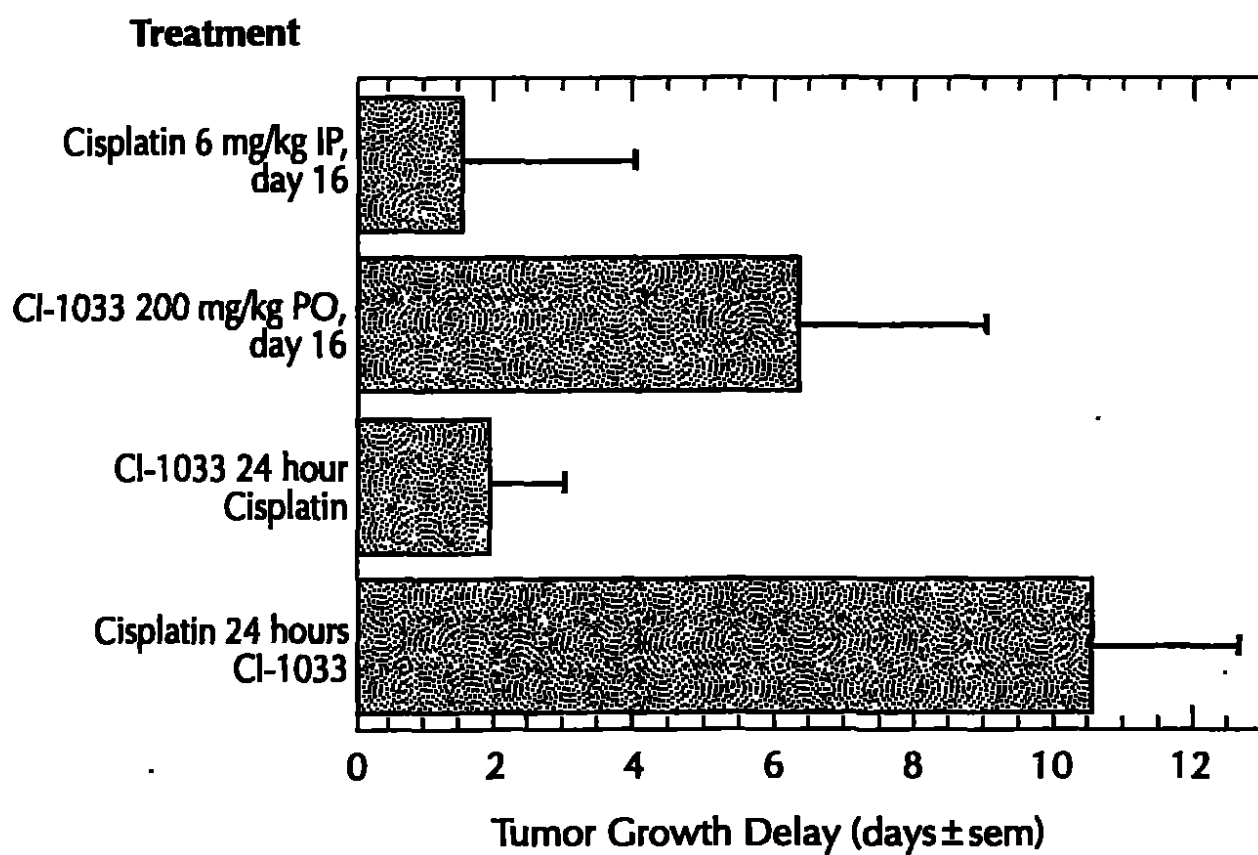
32

FIG. 3



33

FIG. 4



COMBINACIONES TERAPÉUTICAS DE INHIBIDORES DE QUINASA DE erb B Y TERAPIAS ANTINEOPLÁSICAS

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a un procedimiento para tratar trastornos proliferativos celulares utilizando un inhibidor de tirosina quinasa de receptor erb B junto con agentes y modalidades antineoplásicas convencionales. El uso de esta combinación de agentes en un protocolo terapéutico proporciona una eficacia inesperadamente mayor que emplear los agentes individuales por separado.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los estados patológicos resultantes de una inapropiada proliferación de células son una causa común de enfermedades humanas. La enfermedad benigna en mamíferos difiere de la enfermedad maligna (cáncer) principalmente en la incapacidad de extenderse de una parte del cuerpo a otra, y en su velocidad de crecimiento generalmente más lenta. Ambas pueden matar o incapacitar de otro modo a su víctima. Las adhesiones internas y cicatrización después de cirugía abdominal pueden conducir a la estrangulación intestinal y la muerte. La ceguera por diabetes mellitus es el resultado del crecimiento inapropiado de nuevos vasos sanguíneos dentro del ojo. Los neurofibromas benignos causan desfiguración. La psoriasis, una enfermedad dérmica, es el resultado de un crecimiento inapropiado de células

por lo demás normales. Los cánceres son una de las causas principales de muerte, aunque la quimioterapia del cáncer ha avanzado notablemente en los últimos años. Muchos tumores pueden tratarse eficazmente utilizando compuestos que son productos de origen natural o agentes sintéticos. Además, se utilizan eficazmente otras terapias del cáncer, tales como radiación ionizante, en el tratamiento de ciertos cánceres. La terapia del cáncer comprende a menudo el uso de una combinación de agentes, generalmente como medio para proporcionar mayores efectos terapéuticos y reducir los efectos tóxicos que se encuentran a menudo con los agentes individuales cuando se utilizan por separado.

La quimioterapia es también una base principal del tratamiento del cáncer y se utiliza rutinariamente con éxito frente a muchos tipos de cáncer y otros trastornos hiperproliferativos celulares. Sin embargo, ciertos tipos de cáncer no son susceptibles a los protocolos de quimioterapia que están actualmente en uso. Algunos tipos de tumores simplemente no responden a los procedimientos estándar de quimioterapia o responden durante un tiempo y después se vuelven insensibles, dando como resultado la recurrencia del cáncer. Son altamente deseables nuevos procedimientos que potencien los protocolos actuales de quimioterapia.

Se han utilizado terapéuticamente muchos agentes antineoplásicos para tratar cánceres. Entre los más ampliamente utilizados están gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, carboplatino, cisplatino, topotecán, CPT-11, etopósido, doxorubicina y capecitabina. Muchos de estos agentes tienen un efecto

terapéutico limitado. La mayoría de estos agentes deben utilizarse a dosis tan altas que son habituales graves efectos secundarios. Además de los agentes químicos observados anteriormente, la terapia de radiación se ha empleado exitosamente para detener la progresión de la enfermedad o causar la regresión del tumor.

La gemcitabina es el nombre genérico asignado a la 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina. Está comercialmente disponible en forma de la sal monohidrato, y en forma del isómero β . Es también conocida químicamente como 1-(4-amino-2-oxo-1H-pirimidin-1-il)-2-desoxi-2,2-difluororribosa. La gemcitabina se describe en las patentes de EE.UU. n° 4.808.614 y 5.464.826, que se incorporan a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar la gemcitabina para tratar neoplasmas sensibles. La formulación comercial de clorhidrato de gemcitabina como agente individual está indicada como un tratamiento de primera línea para pacientes con adenocarcinoma localmente avanzado (etapa II o etapa III no reseccionable) o metastásico (etapa IV) del páncreas o carcinoma de células pulmonares (NSCLC), y se utiliza habitualmente en pacientes tratados previamente con 5-fluorouracilo. Se utiliza también rutinariamente en combinación con otros agentes antineoplásicos conocidos, lo más principalmente con radiación ionizante. Hasta el momento no se han reseñado, sin embargo, combinaciones sinérgicas.

El paclitaxel es un producto natural inhibidor mitótico. Es un agente antimicrotubular que potencia el ensamblaje de los microtúbulos a partir de

anX

dímeros de tubulina y estabiliza los microtúbulos evitando la despolimerización. Esta estabilidad da como resultado la inhibición de la reorganización dinámica normal de la red de microtúbulos que es esencial para la interfase vital y las funciones celulares mitóticas. Además, el paclitaxel induce conjuntos o agrupaciones anormales de microtúbulos a lo largo del ciclo celular y ásteres múltiples de microtúbulos durante la mitosis. El paclitaxel está indicado principalmente para carcinoma de ovario y cáncer de mama, aunque es útil también en el tratamiento de otros cánceres. El paclitaxel se describe en las patentes de EE.UU. nº 5.496.804, 5.641.803, 5.670.537 y 6.510.398, que se incorporan a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar el paclitaxel para tratar neoplasmas sensibles. El uso de paclitaxel está generalmente acompañado de efectos secundarios indeseados, incluyendo reacciones de hipersensibilidad, hipotensión, bradicardia, hipertensión, náusea y vómitos, y reacciones en el sitio de inyección. El paclitaxel está comercialmente disponible como Taxol® (Bristol-Myers Squibb).

El docetaxel es un compuesto semisintético que pertenece a la familia de los taxoides. Es un agente antimicrotubular que potencia el ensamblaje de microtúbulos a partir de dímeros de tubulina y estabiliza los microtúbulos evitando la despolimerización. Esta estabilidad da como resultado la inhibición de la reorganización dinámica normal de la red de microtúbulos que es esencial para la interfase vital y las funciones celulares mitóticas. Además, el docetaxel induce conjuntos o agrupaciones anormales de microtúbulos por todo el ciclo celular y ásteres múltiples de microtúbulos durante la mitosis. El docetaxel está

indicado principalmente para cáncer de mama y cáncer de células pulmonares, aunque es útil también en el tratamiento de otros cánceres. El docetaxel se describe en las patentes de EE.UU. nº 4.814.470, 5.438.072, 5.698.582 y 5.714.512, que se incorporan a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar el docetaxel para tratar neoplasmas sensibles. El uso de docetaxel está generalmente acompañado de efectos secundarios indeseados, incluyendo reacciones de hipersensibilidad, hipotensión, bradicardia, hipertensión, náusea y vómitos, y reacciones en el sitio de inyección. El docetaxel trihidratado está comercialmente disponible como Taxotere® (Aventis Pharmaceuticals Products, Inc.).

Carboplatino y cisplatino son los nombres genéricos asignados al diamino[1,1-clclobutanodicarboxilato(2-)-0,0]-platino (SP-4-2) y *cis*-diaminodicloroplatino (II), respectivamente. Ambos están comercialmente disponibles como preparaciones para inyección IV. El carboplatino se describe en la patente de EE.UU. 4.657.927, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar el carboplatino para tratar neoplasmas sensibles. De forma similar, el cisplatino se describe en la patente alemana DE 2.318.020, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar el cisplatino para tratar neoplasmas sensibles. El carboplatino y el cisplatino alquilan el ADN y por tanto interfieren con la replicación y transcripción de ADN. El carboplatino y el cisplatino se utilizan en el tratamiento de cánceres de testículo, ovario, endometrio, cuello de la matriz, vejiga, cabeza y cuello, tracto gastrointestinal, pulmón, tejido blando y sarcomas óseos, y

linfomas no de Hodgkins. El uso de compuestos de platino está generalmente acompañado por diversos efectos secundarios, incluyendo mielosupresión, náusea y vómitos, anomalías tubulares renales, ototoxicidad y reacciones de hipersensibilidad.

El topotecán y el CPT-11 son los nombres genéricos asignados a Hycaptim® y Camptosar®. Estos compuestos son derivados de la campotecina. El nombre químico para el clorhidrato de topotecán es monoclóhidrato de (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-3,14-(4H,12H)-diona. El nombre químico para el CPT-11 es clorhidrato de (4S)-4,11-diethyl-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino)carboniloxi]-1H-pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-3,14-(4H,12H)-diona. Ambos están comercialmente disponibles como preparaciones para inyección IV. El topotecán se describe en la patente de EE.UU. 5.004.758, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar el topotecán para tratar neoplasmas sensibles. De forma similar, el CPT-11 se describe en la patente de EE.UU. 4.604.463, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar el CPT-11 para tratar neoplasmas sensibles. El topotecán y el CPT-11 interaccionan con la ADN topoisomerasa I, dando como resultado roturas monocatenarias y en última instancia bicatenarias en el ADN. El topotecán y el CPT-11 se utilizan en el tratamiento de cáncer de células pulmonares y cánceres de ovario, colorrectal y esofágico. El uso de análogos de campotecina está generalmente acompañado por diversos efectos secundarios incluyendo mielosupresión, náusea y vómitos, y reacciones de

HO

hipersensibilidad.

El etopósido o VP-16 son los nombres genéricos para epipodofilotoxina. El nombre químico para el etopósido es 9-[4,6,0-(*R*)-etiliden-(beta)-D-glucopiranosido] de 4'-desmetilepipodofilotoxina. El etopósido está comercialmente disponible en forma de cápsulas para administración oral o en forma de una solución para inyección IV. El etopósido se describe en la patente de EE.UU. 3.524.844, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar el etopósido para tratar neoplasmas sensibles. El etopósido interactúa con la ADN topoisomerasa II, dando como resultado roturas monocatenarias, y en última instancia bicatenarias, en el ADN. El etopósido se utiliza en el tratamiento de cánceres y de células pequeñas pulmonares, cánceres de células bacteriológicas y linfomas. El uso de etopósido está generalmente acompañado por diversos efectos secundarios incluyendo mielosupresión, náusea y vómitos, reacciones de hipersensibilidad y efectos mucocutáneos.

La doxorubicina es el nombre genérico para Adriamycin®. El nombre químico para la doxorubicina es clorhidrato de 10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi-(alfa)-L-*lixo*-hexopiranosil)oxi]-7,8,9, 10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-8-(hidroxilacetil)-1-metoxi-5,12-naftacenodiona (8*S*-*cis*). La doxorubicina está comercialmente disponible para inyección IV. La doxorubicina se describe en la patente de EE.UU. 3.590.028, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar la doxorubicina para tratar neoplasmas sensibles. La doxorubicina se une a

ácidos nucleicos, presuntamente mediante intercalación específica del núcleo plano de antraciclina con la doble hélice de ADN, dando como resultado una replicación celular anormal. La doxorubicina se utiliza en el tratamiento de cánceres de mama, vejiga, hígado, pulmón, próstata, estómago y tiroides; sarcomas óseos y de tejido blando; linfomas y leucemias; y tumores en la niñez. El uso de doxorubicina está generalmente acompañado por diversos efectos secundarios incluyendo mielosupresión, náusea y vómitos, efectos mucocutáneos y cardíacos.

La capecitabina es el nombre genérico para Xeloda®. El nombre químico para la capecitabina es 5'-desoxi-5-fluoro-*N*-[(pentiloxi)carbonil]citidina. La capecitabina está comercialmente disponible en forma de comprimidos para administración oral. La capecitabina se describe en las patentes de EE.UU. 4.966.891 y 5.472.949, que se incorporan a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo sintetizar, formular y utilizar la capecitabina para tratar neoplasmas sensibles. El fármaco se convierte enzimáticamente en 5-fluorouracilo (5-FU) *in vivo*. Tanto las células normales como las tumorales metabolizan el 5-FU a monofosfato de 5-fluoro-2'-desoxiuridina (FdUMP) y trifosfato de 5-fluorouridina (FUTP). Estos metabolitos causan lesión celular mediante dos mecanismos diferentes. En primer lugar, el FdUMP y el cofactor folato, tetrahidrofolato de *N*-5,10-metileno, se unen a la timidilato sintasa (TS) para formar un complejo ternario unido covalentemente. Esta unión inhibe la formación de timidilato a partir de 2'-desoxiuridilato. El timidilato es el precursor necesario del trifosfato de timidina, que es esencial para la síntesis de ADN, de modo que una deficiencia de este compuesto

W2

puede inhibir la división celular. En segundo lugar, las enzimas transcripcionales nucleares pueden incorporar erróneamente FUTP en lugar de trifosfato de uridina (UTP) durante la síntesis de ARN. Este error metabólico puede interferir con el procesamiento de ARN y la síntesis de proteínas. La capecitabina se utiliza en el tratamiento de cánceres de mama y colorrectal. El uso de capecitabina está generalmente acompañado por diversos efectos secundarios incluyendo diarrea, náusea, vómitos, mielosupresión, estomatitis y síndrome de mano-pie.

La terapia de radiación es, en muchos casos, la terapia de elección para el tratamiento de cánceres, incluyendo de esófago, de mama, de cabeza y cuello, de cerebro, de próstata y ciertas leucemias. Sin embargo, es bien conocido que la muerte incompleta de las células neoplásicas puede dar como resultado la recurrencia del cáncer incluso después de completar regímenes rigurosos de tratamiento con radiación. Es más, existen sugerencias de que se estimula la proliferación de algunas poblaciones celulares como resultado de la exposición a la radiación, anulando completamente el objetivo del tratamiento. Evidentemente, persiste la necesidad de procedimientos más eficaces de matar células neoplásicas, y un procedimiento para eliminar la aparición de proliferación celular en respuesta a la terapia de radiación sería altamente beneficioso.

Además, a menudo están asociados diversos efectos secundarios a la terapia de radiación, incluyendo fibrositis, mucocitis, leucopenia y náusea. El desarrollo de procedimientos de terapia de radiación que utilicen menores

exposiciones a la radiación, o menores dosis por exposición o ambos, y que sin embargo consigan niveles iguales o potenciados de actividad antineoplásica, sería altamente ventajoso.

El mecanismo o mecanismos celulares mediante los que las células tumorales se matan, sobreviven o se estimulan a proliferar después de la exposición a radiación ionizante no se comprenden totalmente. Algunos informes han demostrado que la radiación activa múltiples rutas de señalización en las células *in vitro*, que pueden conducir a una muerte celular aumentada o a una proliferación celular aumentada, dependiendo de la dosis y las condiciones de cultivo. [Verheij *et al.* (1996) Nature, 380, 75-79; Rosette y Karin (1996) Science 274, 1194-1197; Chmura *et al.* (1997) Cancer Res. 57, 1270-1275; Santana *et al.* (1996) Cell 86, 189-199; Kyriakis y Avruch (1996) Bioessays 18, 567-577; Xia *et al.* (1995) Science 270, 1326-1331; Kasid *et al.* (1996) Nature 382, 813-816]. Se ha mostrado que la activación mediada por radiación de esfingomielinasa ácida genera ceramida y posteriormente activa la ruta de la quinasa de la proteína activada por el estrés (SAP) (a veces designada en la bibliografía como la ruta de la quinasa de c-Jun NH.sub.2 terminal (JNK). Se ha propuesto que esta ruta desempeña un papel importante en la iniciación de la apoptosis (muerte celular) mediante radiación (Verheij *et al.*; Rosette *et al.*, Chmura *et al.*; Santana *et al.*, Kyriakis y Avruch; Xia *et al.*).

Con respecto a la respuesta celular a la radiación ionizante, se ha propuesto que está implicada otra diana celular. El receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF) se ha mostrado que se activa de forma

WU

dependiente de la dosis en respuesta a la radiación [Schmidt-Ullrich *et al.* (1996) Radiation Research, 145, 81-85; Schmidt-Ullrich *et al.* (1997) Oncogene 15, 1191-1197].

Entre los agentes quimioterapéuticos más nuevos que se están desarrollando hay entidades químicas específicas de diana. Puesto que el EGF se ha asociado a ciertos tipos de tumor y a la proliferación celular, se están desarrollando una serie de agentes que inhiben las tirosina quinasas de receptor de EGF. La familia de las tirosina quinasas de receptor de EGF incluye las quinasas de los receptores erb B erb B1, erb B2, erb B3 y erb B4. La mayoría de estos inhibidores de tirosina quinasas de erb B son inhibidores reversibles. Se unen al receptor y se liberan. Además, la mayoría de estos inhibidores de tirosina quinasa son específicos de sólo una de las quinasas de la familia de tirosina quinasas de receptor erb B. Sin embargo, las patentes de EE.UU. nº 6.344.455 y 6.344.459 describen inhibidores irreversibles de las tirosina quinasas de receptor erb B erb B1, erb B2, erb B3 y erb B4, concretamente inhibidores de tirosina quinasa de receptor erb B PAN. El inhibidor preferido de tirosina quinasa de erb B PAN es la *N*-[4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(3-morfolin-4-ilpropoxi)quinazolin-6-il]acrilamida. Es también conocida como CI-1033. Se describe en el documento WO 00/31048, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo preparar *N*-[4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(3-morfolin-4-ilpropoxi)quinazolin-6-il]acrilamida, cómo formularla en formas de dosificación y cómo utilizarla para tratar cánceres y otros trastornos proliferativos celulares.

SUMARIO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a una combinación sinérgica de agentes antineoplásicos, y a un procedimiento para tratar tumores que comprende administrar a un paciente un inhibidor de erb B en un régimen terapéutico con al menos un agente quimioterapéutico o con terapia por radiación. Preferiblemente, el inhibidor de erb B es un inhibidor irreversible de al menos un receptor de la familia de tirosina quinasas de erb B. Más preferiblemente, el inhibidor de erb B es un inhibidor de tirosina quinasa de erb B PAN. Lo más preferiblemente, el inhibidor de erb B es un inhibidor de tirosina quinasa de erb B PAN irreversible. El inhibidor irreversible preferido de tirosina quinasa de erb B PAN es *N*-[4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(3-morfolin-4-ilpropoxi)quinazolin-6-il]acrilamida (CI-1033). La invención proporciona más particularmente un régimen terapéutico que comprende, como un componente, CI-1033, y un segundo componente seleccionado del grupo constituido por gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11, capecitabina y radiación ionizante. La invención proporciona también un régimen terapéutico que comprende al menos un inhibidor de quinasa de erb B y al menos otro agente quimioterapéutico.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra la sinergia de CI-1033 y Taxotere® en xenoinjertos humanos de carcinoma de células pulmonares no pequeñas H125.

26

La Figura 2 muestra la sinergia de CI-1033 y la radiación en un sarcoma Rif-1 de murina.

La Figura 3 demuestra la dependencia del régimen de Taxol cuando se combina con CI-1033 en células de cáncer de mama MDA-MB-468.

La Figura 4 demuestra la dependencia del régimen *in vivo* observada cuando CI-1033 se combina con cisplatino.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Es un objeto de esta invención proporcionar un procedimiento para retardar el crecimiento o matar células hiperproliferativas, que comprende exponer las células hiperproliferativas a un inhibidor de al menos una quinasa de erb B en terapia de combinación con otro agente antineoplásico convencional. Preferiblemente, el inhibidor de quinasa de erb B es un inhibidor irreversible de quinasa de erb B. Más preferiblemente, el inhibidor de quinasa de erb B inhibe más de una quinasa de erb B. Es un objeto adicional de esta invención proporcionar un procedimiento para tratar trastornos hiperproliferativos celulares tales como, pero sin limitación, cáncer en mamíferos. Este procedimiento comprenderá administrar un agente letal (por ejemplo radiación ionizante, agentes quimioterapéuticos, calor, luz ultravioleta, luz roja de alta intensidad como se utiliza en terapia fotodinámica, etc.) en terapia de combinación con un inhibidor, preferiblemente un inhibidor irreversible de las tirosina quinasas de erb B. La administración de dicho

27

inhibidor de tirosina quinasa de erb B potencia la capacidad de la radiación o la quimioterapia o ambas, o de otros agentes letales, de causar la apoptosis de células cancerosas, estabilizando así la progresión de la enfermedad y reduciendo las recurrencias del cáncer.

La invención contempla el uso de cualquier inhibidor de tirosina quinasa de erb B PAN, y preferiblemente de un inhibidor irreversible de tirosina quinasa de erb B PAN. El inhibidor irreversible preferido de tirosina quinasa de erb B PAN es la *N*-[4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(3-morfolin-4-ilpropoxi)quinazolin-6-il]acrilamida, un inhibidor irreversible de erb B. Es también conocida como CI-1033. La CI-1033 se describe en el documento WO 00/31048, que se incorpora a la presente memoria como referencia por su exposición de cómo preparar la *N*-[4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(3-morfolin-4-ilpropoxi)quinazolin-6-il]acrilamida, cómo formularla en formas de dosificación y cómo utilizarla para tratar cánceres tales como de colon, mama, ovario, páncreas, próstata, pulmón y otros cánceres tales como adenocarcinomas y sarcomas.

La administración del inhibidor de tirosina quinasa de erb B PAN puede ser, por ejemplo, antes, después o durante el tratamiento con radiación o quimioterapia. Un experto en la técnica reconocerá que la cantidad de inhibidor de tirosina quinasa de erb B PAN a administrar será aquella cantidad suficiente para potenciar el efecto antineoplásico de la radiación y/o la quimioterapia. Dicha cantidad puede variar entre otras cosas dependiendo del género, edad, peso y afección del paciente, y debe determinarse caso por caso. La cantidad puede variar según el tamaño y el tipo de la neoplasia, así como del protocolo

Wb

de radiación o quimioterapia particular que se siga. Generalmente, una dosis adecuada es aquella que da como resultado una concentración de inhibidor en el sitio del tumor en el intervalo de 0,5 nM a 200 μ M, y más habitualmente de 20 nM a 80 nM. Se espera que concentraciones séricas de 40 nM a 150 nM sean suficientes en la mayoría de los casos. La administración puede ser oral, parenteral o tópica, y es probable que sea oral o intravenosa. El inhibidor puede administrarse en cualquiera de diversas formas, incluyendo comprimidos, píldoras, polvos, pastillas masticables, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosol (en forma de sólido o en un medio líquido), cápsulas de gelatina blanda o dura, supositorios, soluciones inyectables estériles, y polvos envasados estériles para administración oral o tópica.

Las composiciones útiles en la práctica de esta invención comprenden los ingredientes activos anteriores, o sales adecuadas de los mismos, junto con excipientes, diluyentes y vehículos habituales.

Un tratamiento preferido comprende CI-1033, utilizada junto con uno o más de gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11 o capecitabina. Otra combinación preferida es el uso de CI-1033 en un protocolo para el tratamiento de cánceres con radiación ionizante. En otra realización preferida, es un procedimiento de tratamiento de cánceres que comprende administrar CI-1033 en un protocolo con radiación ionizante y otro agente antineoplásico seleccionado del grupo constituido por gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino,

vea

etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11 o capecitabina.

La presente invención proporciona una única combinación de agentes antineoplásicos que exhibe un notable efecto sinérgico. La combinación utiliza un inhibidor irreversible de tirosina quinasa de erb B PAN junto con la administración de agentes citotóxicos tales como gemcitabina, paclitaxel, docetaxel o un protocolo para uso con terapia de radiación ionizante. Estas combinaciones son especialmente eficaces para tratar pacientes con tumores sólidos, especialmente cáncer de células pulmonares y otros tumores sólidos avanzados.

Un objeto de esta invención es proporcionar un procedimiento para tratar trastornos hiperproliferativos celulares con una combinación que comprende CI-1033 junto con al menos uno de gemcitabina, paclitaxel, taxótero, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11, capecitabina o radiación ionizante. La expresión trastorno hiperproliferativo celular incluye trastornos tales como psoriasis, cáncer y reestenosis. Un objeto adicional es proporcionar una composición que comprenda cantidades sinérgicas de CI-1033 y gemcitabina, cantidades sinérgicas de CI-1033 y paclitaxel, cantidades sinérgicas de CI-1033 y taxótero, cantidades sinérgicas de CI-1033 y cisplatino, cantidades sinérgicas de CI-1033 y carboplatino, cantidades sinérgicas de CI-1033 y etopósido, cantidades sinérgicas de CI-1033 y adriamicina, cantidades sinérgicas de CI-1033 y topotecán, cantidades sinérgicas de CI-1033 y CPT-11, cantidades sinérgicas de CI-1033 y capecitabina y una cantidad sinérgica de CI-1033 para utilizar con radiación ionizante.

En una realización adicional de la invención, los inventores proporcionan un procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar a un animal necesitado de tratamiento una cantidad eficaz de una combinación de CI-1033 y al menos una terapia seleccionada del grupo constituido por radiación ionizante, gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11 y capecitabina.

Un procedimiento preferido comprende el tratamiento de tumores sólidos con combinaciones que comprenden CI-1033 y modalidades terapéuticas antineoplásicas convencionales.

Un procedimiento preferido adicional emplea una cantidad antitumoral de CI-1033 y una cantidad eficaz de al menos uno de gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11 o capecitabina, o radiación ionizante para tratar cánceres sensibles, incluyendo cáncer de células pulmonares (NSCLC), cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, mielomas, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer pancreático y otros tumores sólidos. En otra realización, puede utilizarse CI-1033 en la presente invención en combinación con otras dos o más modalidades terapéuticas antineoplásicas.

Otra realización de la invención es un kit que comprende en un compartimiento una dosificación de CI-1033, y en otro compartimiento una dosificación de un agente seleccionado el grupo constituido por gemcitabina,

51

paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, doxorubicina, topotecán, CPT-11, capecitabina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En otra realización, el kit comprende una dosificación de CI-1033 y dosificaciones de al menos dos compuestos seleccionados del grupo constituido por gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11 o capecitabina. Se incluyen también en el kit Instrucciones para el uso de las combinaciones de la presente invención, incluyendo instrucciones de dosificación, el régimen de dosificación y la preparación y administración de los agentes utilizados en la combinación.

Los compuestos utilizados en el procedimiento de esta invención pueden administrarse en las dosis empleadas clínicamente de forma habitual. Dependiendo de la etapa de la enfermedad, el tipo de tumor y el estado general del mamífero necesitado de dicho tratamiento, pueden utilizarse dosis menores de cada una de las modalidades antineoplásicas que se administran convencionalmente para conseguir una eficacia similar frente al tumor que las que se utilizan convencionalmente en forma de un agente individual, disminuyendo también los efectos secundarios. Dichas dosis pueden calcularse de forma normal, por ejemplo por área superficial del cuerpo. La CI-1033 se administra por ejemplo a dosis de aproximadamente 10,0 mg a aproximadamente 200 mg para dosificación continua, preferiblemente de aproximadamente 50,0 mg a aproximadamente 200,0 mg. Idealmente, la CI-1033 se administrará a una dosis que producirá niveles plasmáticos de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 $\mu\text{g/ml}$. La CI-1033 se administra típicamente por vía oral, por ejemplo en forma de cápsulas que tienen

ingrediente activo en cantidades de 5, 25, 50, 75, 100 y 200 mg por cápsula. La CI-1033 se administra diariamente aproximadamente a los mismos niveles de dosis a lo largo de un periodo de tratamiento, típicamente durante 15 a 30 días. Como alternativa, la dosificación diaria de CI-1033 puede administrarse en dosis divididas durante un periodo de 24 horas. Pueden practicarse múltiples periodos de tratamiento, según dicte el médico que atienda y el paciente y el estado patológico particular que se esté tratando. La administración intravenosa de CI-1033 está también contemplada cuando se justifica por el estado médico del paciente o concuerda con otros tratamientos médicos simultáneos.

La gemcitabina se administra a dosis comparables a las utilizadas clínicamente de forma rutinaria. Por ejemplo, la dosis inicial de gemcitabina, típicamente en forma de la sal clorhidrato, es de aproximadamente 1000 mg/m^2 de área superficial corporal. La gemcitabina se formula rutinariamente en forma de una solución estéril y se administra por infusión intravenosa, generalmente durante un periodo de aproximadamente 30 minutos, con aproximadamente 2 a 4 dosis semanales, con series repetidas aproximadamente cada 28 a 30 días. La dosis de 1000 mg/m^2 puede administrarse durante hasta aproximadamente 7 semanas, según este régimen de tratamiento, o hasta que se observen efectos secundarios indeseables. Pueden utilizarse otras formas de sal si se desea, por ejemplo, bromhidrato, monofosfato, sulfato, malonato, citrato y succinato se preparan fácilmente.

La capecitabina, para monoterapia, se administra generalmente por vía



oral a una dosis de aproximadamente 2500 mg/m² diariamente durante 2 semanas, seguido de un periodo de descanso de una semana. El producto se suministra comercialmente en comprimidos de 150 mg y 500 mg. Los comprimidos se administran a una tasa de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 al día durante el periodo de tratamiento.

El paclitaxel, o docetaxel, se formulan generalmente en forma de soluciones estériles para inyección, y se administran rutinariamente a dosis de aproximadamente 60 a 175 mg/m², administradas por vía intravenosa, diaria o intermitentemente. El paclitaxel puede administrarse también a una dosis de 135-175 mg/m² por vía intravenosa durante una infusión de 3 horas o para docetaxel IV a una dosificación de 60-100 mg/m² durante 1 hora. Como alternativa, puede administrarse radiación ionizante en forma de una dosis individual de aproximadamente 2,5 a 56 Gy. La radiación ionizante puede administrarse en forma de una dosis individual repetida a largos intervalos de tiempo o dividida en dosis menores más frecuentes. Este ciclo puede repetirse durante aproximadamente cada 4 a 8 semanas.

El cisplatino se formula en forma de una solución estéril para inyección, y se administra rutinariamente por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 20 mg/m² diariamente durante 5 días o a 75-100 mg/m² cada 4 semanas.

El carboplatino se formula en forma de un polvo estéril que se reconstituye antes de la inyección IV, y se administra rutinariamente por vía

SH

intravenosa a una dosis de aproximadamente 360 mg/m² cada 4 semanas.

El topotecán se formula en forma de un polvo estéril que se reconstituye antes de la inyección IV, y se administra rutinariamente por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 1,5 mg/m² cada 3 semanas.

El CPT-11 se formula en forma de un líquido estéril que se diluye antes de la inyección IV, y se administra rutinariamente por vía intravenosa a una dosis de 50-150 mg/m² semanalmente durante 4 semanas, seguido de un periodo de descanso de 2 semanas.

El etopósido se formula en forma de un líquido estéril que se diluye antes de la inyección IV, y se administra rutinariamente por vía intravenosa en diversos regímenes de tratamiento diferentes, incluyendo 120 mg/m² IV los días 1-3 repetido cada 21 días, 50-100 mg/m² IV los días 1-5 cada 2-4 semanas, 125-140 mg/m² los días 1, 3, 5 cada 3-5 semanas. La dosificación puede estar constituida también por comprimidos/cápsulas de etopósido a 50 mg/m² durante 21 días cada 4-5 semanas.

La doxorubicina se formula en forma de un polvo estéril que debe reconstituirse y diluirse antes de la administración IV. La doxorubicina se administra por vía intravenosa a 60-75 mg/m² cada 3 semanas, 15-20 mg/m² semanalmente o 30 mg/m² los días 1 y 8 cada 4 semanas.

Las dosis y los regímenes de administración de estos agentes pueden

variar en protocolos de quimioterapia de combinación. Además, pueden utilizarse otras sales de las enumeradas específicamente en protocolos terapéuticos de combinación. Los expertos en la técnica reconocerán que estas combinaciones son sólo ilustrativas, y que pueden utilizarse compuestos relacionados o derivados de estos agentes antineoplásicos en combinación con el inhibidor reversible o irreversible de tirosina quinasa de erb B.

Las combinaciones proporcionadas por esta invención se han evaluado *in vivo* frente a diversos modelos tumorales *in vivo* diferentes. Los experimentos de combinación de CI-1033 con radiación se realizaron en dos modelos tumorales *in vivo* diferentes. Los experimentos de quimioterapia de combinación se realizaron utilizando cinco modelos tumorales *in vivo* diferentes y siete agentes quimioterapéuticos diferentes.

Aunque los resultados ilustran el uso de CI-1033, un inhibidor irreversible de tirosina quinasa de erb B PAN, pueden obtenerse resultados similares con otros agentes que inhiben estas quinasas.

La CI-1033 se administró clínicamente en dosis en el intervalo de 50 mg a 750 mg/día cuando la duración del tratamiento fue de 14 días consecutivos. El tratamiento puede prolongarse, con o sin un periodo de descanso sin fármaco. Se utilizaron dosis inferiores de CI-1033 durante 8 semanas de terapia diaria continua, seguida de 2 semanas de "vacaciones de fármaco". Con la CI-1033 por separado, no hubo evidencia de toxicidad acumulada después de repetidas series y prolongadas exposiciones a CI-1033. En

estudios preliminares con CI-1033 por separado, las respuestas incluían una respuesta parcial en un paciente con NSCLC fuertemente pretratado y una respuesta minoritaria en un paciente con cáncer de células renales y NSCLC.

Los siguientes ejemplos detallados establecen adicionalmente la sinergia entre CI-1033 y gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, doxorubicina, topotecán, CPT-11, capecitabina o radiación ionizante. Estos ejemplos son sólo ilustrativos y no se pretende que limiten el alcance de la invención.

EJEMPLO 1

Eficacia anticancerosa de la quimioterapia de combinación con CI-1033 y gemcitabina frente a carcinoma pancreático humano L3.6pl Implantado ortotópicamente en ratones desnudos

Se han evaluado las combinaciones sinérgicas proporcionadas por esta invención en estudios de quimioterapia estándar utilizando ratones desnudos hembra inmunodeficientes. La combinación de CI-1033 con gemcitabina se evaluó frente a un xenoinjerto pancreático humano implantado ortotópicamente.

Las células cancerosas pancreáticas humanas L3.6pl se establecieron a partir de células COLO 357 de crecimiento rápido, inyectándolas en el páncreas de ratones desnudos con posterior recogida de las metástasis hepáticas y reimplantación en el páncreas durante tres ciclos. Las células L3.6pl resultantes producen una incidencia significativamente mayor de metástasis hepáticas y de nódulos linfáticos que las células originales. Las células se mantuvieron en plástico en medio de Dulbecco modificado por Eagle

fx

(DMEM) suplementado con suero fetal bovino al 5% (FBS), piruvato de sodio, aminoácidos no esenciales, L-glutamina y una solución doble de vitaminas GIBCO, Grand Island, NY), se incubaron en 5% de CO₂/95% de aire a 37°C. Los cultivos se mantuvieron durante no más de 8 semanas después de la recuperación a partir de las soluciones madre congeladas.

Animales e Implantación ortotópica de células tumorales

Los ratones desnudos BALB/c macho atímicos eran del "National Cancer Institute-Frederick Cancer Research and Development Center" (Frederick, MD). Los ratones se alojaron y mantuvieron en cabinas de flujo laminar en condiciones exentas de patógenos aprobadas por la "American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care", y su uso en estos experimentos fue aprobado por el "Institutional Animal Care and Use Committee".

Para producir tumores, se recogieron células a partir de cultivos subconfluentes mediante tratamiento con 0,25% de tripsina y 0,2% de EDTA. La tripsinización se detuvo con medio que contenía 10% de FBS, y las células se lavaron una vez con medio exento de suero y se resuspendieron en solución salina equilibrada de Hank (HBSS) a una concentración de 2×10^7 células/ml. Sólo se utilizaron suspensiones celulares individuales con una viabilidad superior a un 90% para inyección. Los ratones (8-10 semanas de edad) se anestesiaron con metoxiflurano, se expuso el páncreas y se inyectaron 1×10^6 células en 0,05 ml en el cuerpo del páncreas. Las incisiones se cerraron con grapas quirúrgicas. Los ratones se sacrificaron después de 5-6 semanas de crecimiento tumoral. Se determinaron el tamaño y el peso de los tumores primarios y la incidencia de las metástasis de nódulos linfáticos y hepáticas en

el momento del sacrificio.

Tratamiento de xenoinjertos de carcinoma pancreático humano establecido con CI-1033 y gemcitabina

Se implantaron a los ratones intrapancreáticamente 1×10^6 células L3.6pl de carcinoma pancreático humano el día 0. La terapia se inició el día 7 después del implante de células tumorales. La duración de la terapia fue de 4 semanas. Se registraron el peso del páncreas, el peso del tumor y la incidencia de metástasis en el momento del sacrificio terminal. La gemcitabina (125 mg/kg) se administró por vía intraperitoneal en 0,5 ml de solución salina dos veces por semana durante 4 semanas. La CI-1033 se administró por vía oral una vez al día, 5 días por semana durante 4 semanas a 30 mg/kg (dosis alta) y a 10 mg/kg (dosis baja). El estudio consistió en seis grupos de tratamiento con un mínimo de 10 ratones por grupo de tratamiento. Los grupos fueron control, gemcitabina por separado, CI-1033 a 30 mg/kg por separado, CI-1033 a 10 mg/kg por separado, gemcitabina más CI-1033 a 30 mg/kg y gemcitabina más CI-1033 a 10 mg/kg.

Los animales control perdieron un 17% de su peso corporal inicial al final del periodo de terapia de cuatro semanas. En el sacrificio terminal, los animales control habían perdido un 24% de su peso inicial. La pérdida de peso en este grupo se atribuye a la progresión del carcinoma pancreático. Los animales que portaban tumor tratados con gemcitabina por separado a 125 mg/kg dos veces por semana tuvieron una ligera ganancia de peso durante el periodo de terapia, pero tuvieron una pérdida total de un 4% del peso corporal inicial en el sacrificio terminal. Los ratones administrados con 10 y 30 mg/kg de CI-1033 perdieron un

6 y un 9% de su peso corporal inicial durante la terapia, respectivamente, pero ganaron peso en el periodo entre el final de la terapia y el sacrificio terminal. El grupo tratado con CI-1033 (10 mg/kg) más gemcitabina perdió un 10% del peso corporal inicial durante la terapia, pero recuperó el peso perdido después del final de la terapia. Al final de la segunda semana de dosificación, el grupo de tratamiento con CI-1033 (30 mg/kg) más gemcitabina tuvo una pérdida de peso de un 16%. Debido a la gran pérdida de peso, a este grupo de dosificación de combinación se le concedieron unas vacaciones libres de fármaco durante la terapia en la tercera semana, reiniciando la dosificación en la cuarta semana del estudio.

La tendencia de la eficacia antitumoral fue la misma al examinar la masa pancreática total o el volumen tumoral. Los grupos de combinación mostraron una eficacia mejorada en comparación con los grupos tratados sólo con gemcitabina o CI-1033, sugiriendo que la combinación mejoraba la eficacia antitumoral frente a la obtenida con la terapia de agente individual. El orden jerárquico de eficacia terapéutica fue CI-1033 (30 mg/kg) más gemcitabina > CI-1033 (10 mg/kg) más gemcitabina > CI-1033 (30 mg/kg) = gemcitabina > CI-1033 (10 mg/kg). El orden jerárquico fue el mismo cuando se calcularon los valores porcentuales de T/C basándose en el volumen tumoral. Ninguno de los regímenes de tratamiento produjo una reducción de las metástasis de nódulos linfáticos. Sin embargo, la CI-1033 parecía reducir el número de metástasis hepáticas frente al obtenido con gemcitabina. La combinación de CI-1033 y gemcitabina produjo un efecto antitumoral que fue superior al producido por cualquiera de los agentes individuales por separado.

EJEMPLO 2

Eficacia anticancerosa de quimioterapia de combinación con CI-1033 y paclitaxel frente a carcinoma de vejiga humana 253J B-V implantado ortotópicamente en ratones desnudos

Se han evaluado las combinaciones sinérgicas proporcionadas por esta invención en estudios de quimioterapia estándar utilizando ratones desnudos hembra inmunodeficientes. La combinación de CI-1033 y paclitaxel se evaluó frente a un xenoinjerto de célula transicional humana (de vejiga) implantado ortotópicamente. Se mantuvo el carcinoma celular 253J B-V transicional humano altamente metastásico de un cultivo de monocapa en medio esencial mínimo de Tagle modificado suplementado con 10% de suero bovino fetal, vitaminas, piruvato de sodio, L-glutamina y aminoácidos no esenciales como se describe anteriormente.

Animales e Implantación ortotópica de células tumorales

Los ratones BALB/c desnudos macho atímicos eran del "National Cancer Institute-Frederick Cancer Research and Development Center" (Frederick, MD). Los ratones se alojaron y mantuvieron en cabinas de flujo laminar en condiciones exentas de patógenos aprobadas por la "American Association for the Accreditation of Laboratory Animal Care", y su uso en estos experimentos fue aprobado por el "Institutional Animal Care and Use Committee".

Para producir tumores, las células se recogieron a partir de cultivos subconfluentes mediante tratamiento con 0,25% de tripsina y 0,2% de EDTA. La tripsinización se detuvo con medio que contenía 10% de FBS; y las células

6

se lavaron una vez con medio exento de suero y se resuspendieron en solución salina equilibrada de Hanks (HBSS) a una concentración de 2×10^7 células/ml. Sólo se utilizaron para inyección suspensiones celulares individuales con una viabilidad mayor que un 90%. Los ratones (8-10 semanas de edad) se anestesiaron con metoxiflurano, se realizó una incisión de línea media inferior y se expuso la vejiga. Se inyectaron células tumorales viables (1×10^6 células en 0,05 ml) en la pared de la vejiga. Las incisiones se cerraron con grapas quirúrgicas. Los ratones se sacrificaron después de 6 semanas de crecimiento tumoral. Se registraron en el momento del sacrificio el tamaño y el peso de los tumores primarios de vejiga.

Tratamiento de xenoinjertos de carcinoma de vejiga humana establecidos con CI-1033 y paclitaxel

Se implantaron en los ratones con 1×10^6 células de carcinoma humano de vejiga 253J B-V en la pared de la vejiga el día 0. La terapia se inició el día 14 después del implante celular. La duración de la terapia fue de 4 semanas. Se registraron los pesos del tumor de vejiga en el sacrificio terminal. Se administró paclitaxel (8 mg/kg) por vía intraperitoneal en 0,5 ml los días 14, 20 y 27 después del implante de células tumorales. Se administró CI-1033 por vía oral, una vez al día 5 días por semana durante 4 semanas a 30 mg/kg (dosis alta) y 10 mg/kg (dosis baja), o bien dos veces por semana durante 4 semanas a 30 mg/kg. El primer estudio consistió en seis grupos de tratamiento con un mínimo de 6 ratones por grupo de tratamiento. Los grupos fueron control, paclitaxel por separado, CI-1033 a 30 mg/kg por separado, CI-1033 a 10 mg/kg por separado, paclitaxel más CI-1033 a 30 mg/kg y paclitaxel más CI-1033 a 10

mg/kg. En el primer estudio, la CI-1033 se administró por vía oral 5 días por semana durante 4 semanas. El segundo estudio estaba compuesto también por 6 grupos con un mínimo de 8 ratones por grupo. Los grupos en el segundo estudio fueron: control, paclitaxel por separado, CI-1033 (30 mg/kg) por separado dosificada 5 días por semana, CI-1033 (30 mg/kg) dosificada dos veces por semana, paclitaxel más CI-1033 (30 mg/kg) 5 días por semana y paclitaxel más CI-1033 (30 mg/kg) dos veces por semana.

Los animales en los grupos de control de ambos estudios perdieron entre un 1% y un 7% de su peso corporal inicial. La terapia con agente individual con CI-1033 o bien paclitaxel indujo no más de un 5% de reducción del peso corporal, sugiriendo que la terapia con agente individual carecía de toxicidad significativa, basándose en la pérdida de peso. La pérdida de peso en grupos de terapia de combinación estaba en el intervalo de 2% a 6%, excepto para el grupo de tratamiento diario de CI-1033 (30 mg/kg) más paclitaxel, que perdió un 10% de su peso corporal inicial durante las dos primeras semanas de la terapia. Este grupo de tratamiento recuperó una gran parte de la pérdida de peso durante las últimas dos semanas de terapia, para una pérdida de peso desde la dosis inicial hasta el sacrificio de un 3%. La pérdida de peso en los grupos de combinación sugiere que la terapia de combinación con CI-1033 más paclitaxel no potenció la toxicidad frente a la observada con los agentes individuales por separado a las dosis y con los regímenes utilizados en estos estudios.

El grupo de control y el grupo dosificado IP con 8 mg/kg de paclitaxel por

separado los días 14, 20 y 27 no redujeron significativamente la masa del tumor de vejiga. La CI-1033 se administró por vía oral los días 14-18, 21-25, 28-32 y 35-39 o los días 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35 y 38 a dosificaciones de 10 ó 30 mg/kg. En los grupos tratados con 10 ó 30 mg/kg de CI-1033 por separado, la masa tumoral (medida en el sacrificio terminal) se redujo a un 42% y un 25%, respectivamente, de la del grupo de control. Cuando se administró CI-1033 (a 10 ó 30 mg/kg) por vía oral en combinación con paclitaxel (8 mg/kg, IP), las masas tumorales se redujeron adicionalmente a un 22% y 14% de la masa tumoral del grupo de control.

La CI-1033 como agente individual en un régimen de tratamiento diario o intermitente fue al menos tan eficaz como el paclitaxel en ambos estudios. La dosificación intermitente de CI-1033 a 30 mg/kg fue tan eficaz como la dosificación diaria al mismo nivel de dosis.

La combinación de paclitaxel y 10 mg/kg ó 30 mg/kg de CI-1033 diaria redujo la masa tumoral en mayor extensión que el agente individual por separado, dando como resultado valores de T/C porcentuales de 25% y 14%, respectivamente. Los resultados del segundo estudio sugerían también que en ambos regímenes de tratamiento, CI-1033 más paclitaxel producían una eficacia antitumoral mejorada frente a la terapia de agente individual.

En general, estos datos indican que la combinación de paclitaxel y CI-1033 era superior para reducir la masa tumoral que cualquier agente administrado en forma de agente individual en estos estudios frente al

64

carcinoma humano de vejiga 253J B-V.

Combinación de CI-1033/docetaxel con dosificación secuencial

Una serie de estudios preclínicos indican que puede obtenerse un efecto terapéutico mayor combinando inhibidores de la familia de tirosina quinasas de receptor erb B con paclitaxel que utilizando cualquier agente por separado. Este resultado se ha reseñado anteriormente para IressaTM en diversos xenoinjertos tumorales humanos, incluyendo el epidermoide humano A431, los carcinomas pulmonar LX-1, pulmonar A549 y de colon GEO [Sirotnak *et al.*, Clin. Cancer Res. 6: 4885-4892, 2000; Ciardiello *et al.*, Clin. Cancer Res. 7: 1459-1465, 2001; Ciardiello *et al.*, Clin. Cancer Res. 6: 2053-2063, 2000]. Se ha mostrado que los anticuerpos monoclonales dirigidos hacia receptores individuales de la familia de erb B son también eficaces en combinación con este fármaco. El HerceptinTM, que neutraliza específicamente erb B-2, potenciaba la actividad del paclitaxel *in vivo* frente al carcinoma humano de mama BT-474 [Baselga J. *et al.*, Cancer Res. 58: 2825-2831, 1998], así como en una variedad de líneas celulares tumorales humanas *in vitro* [Pegram *et al.*, Oncogene 18: 2241-2251, 1999.] y C-225, que se dirige hacia el receptor de EGF que se ha mostrado que potencia los efectos antitumorales del paclitaxel en 253J B-V de vejiga humana crecido ortopópicamente en ratones desnudos atímicos [Inoue, Clin. Cancer Res. 6: 4874-4884, 2000].

Sin embargo, ninguno de los inhibidores de la familia de las tirosina quinasas de erb B descritos anteriormente es irreversible ni es inhibidor de tirosina quinasa erb B pan. La CI-1033 se ha mostrado anteriormente que

potencia los efectos terapéuticos cuando se utiliza en combinación con paclitaxel. Los experimentos descritos a continuación demuestran que una secuencia específica de dosis potencia la actividad de los dos fármacos en combinación. Los experimentos *in vitro* en los que se expusieron células de carcinoma humano de mama MDA-MB-453 a paclitaxel y CI-1033 por separado o en combinación han mostrado una potenciación de la apoptosis inducida por el paclitaxel, dependiendo los efectos máximos de la exposición primero a paclitaxel. En estos experimentos, una exposición de 3 días a paclitaxel por separado indujo a un 23% de las células a experimentar apoptosis, mientras que la CI-1033 por separado no afectó la fracción apoptótica. La exposición combinada simultánea a paclitaxel y CI-1033 dio sólo como resultado un aumento marginal de la muerte celular a 27%. Sin embargo, si el paclitaxel se añadía primero, seguido de la CI-1033 24 horas después, la fracción apoptótica se duplicó a un 47%. En contraposición, si las células se exponían a CI-1033 24 horas antes del paclitaxel, la apoptosis se suprimió notablemente a sólo un 6%. Los ensayos de eficacia *in vivo* en xenoinjerto tumoral humano A431 con CI-1033 en combinación con paclitaxel han mostrado que el tratamiento inicial con paclitaxel primero seguido un día después de CI-1033 era un régimen altamente eficaz en el que la combinación producía un efecto terapéutico mayor que cualquier fármaco por separado. Además, la combinación era bien tolerada y parecía no haber toxicidades superpuestas. Estos resultados son consistentes con la actividad potenciada del paclitaxel producida en combinación con el anticuerpo de receptor de EGF, C225, cuando el anticuerpo se administraba 2 días después de la quimioterapia [Inoue, Clin. Cancer Res. 6: 4874-4884, 2000].

La actividad antitumoral observada con combinaciones de anticuerpo de receptor de EGF C225 y topotecán mostró una clara dependencia de la secuencia, obteniéndose el efecto mayor cuando el topotecán se administró primero seguido un día después por el anticuerpo. La actividad fue menor cuando los dos fármacos se administraron simultáneamente y se suprimió notablemente cuando se administró primero C225 [Ciardiello *et al.*, Clin. Cancer Res. 5: 909-916, 1999].

Los estudios con CI-1033 han mostrado también notables efectos dependientes de la secuencia con 2 fármacos adicionales. Se observó una muerte celular potenciada *in vitro* al exponer células inicialmente a gemcitabina seguida de CI-1033 [Nelson *et al.*, J. Biol. Chem. 276: 14842-14847, 2001] de forma similar a los estudios de paclitaxel descritos anteriormente. Los ensayos *in vivo* en el carcinoma epidermoide humano A431 con CI-1033 han mostrado también una llamativa dependencia de la secuencia con cisplatino, en la que la dosificación de CI-1033 después de cisplatino proporcionó un efecto terapéutico mayor, pero la predosificación de CI-1033 inhibió la actividad.

Colectivamente, estos datos implican que la CI-1033 no debería administrarse antes del docetaxel y, aunque la administración simultánea puede proporcionar beneficios, puede obtenerse potencialmente el mayor efecto antitumoral mediante la dosificación secuencial con tratamiento previo de docetaxel seguido de CI-1033.

67

EJEMPLO 3**Diseño de ensayos de retardo de crecimiento (T-C)**

Se han evaluado las combinaciones sinérgicas proporcionadas por esta invención en estudios de quimioterapia estándar utilizando ratones desnudos inmunodeficientes hembra convencionales de 18 a 20 gramos de peso. El día 0 del ensayo, se implantó quirúrgicamente a cada ratón (subcutáneamente) un fragmento de tumor de aproximadamente 30 mg de peso. Los ratones se pesaron semanalmente, y se midió el tamaño tumoral (anchura y longitud en mm) tres veces cada semana con calibres estándar. La masa tumoral para cada animal se calculó según la fórmula:

$$masa = \frac{(a \times b^2)}{2}$$

en la que "a" es la anchura del tumor en mm, y "b" es la longitud en mm. La evaluación de la actividad anticancerosa se realizó basándose en la fórmula T-C, en la que "T" y "C" son el tiempo medio (en días) requerido para que los tumores tratados y control (respectivamente) alcancen un tamaño predeterminado de 750 mg (el "tamaño de evaluación"). La CI-1033 se disolvió en tampón lactato de sodio 50 mM, pH 4,0 y se administró por vía oral a diversas dosificaciones en volúmenes de 0,5 ml. Se diluyeron agentes estándar como se describen en los insertos del envase y se administraron a diversos niveles de dosificación en inyecciones de 0,5 ml.

En cada experimento, los ratones que portaban tumores establecidos se asignaron aleatoriamente a uno de los cuatro grupos de tratamiento. Un grupo sirvió como grupo de tratamiento control. El grupo 2 se dividió adicionalmente

en cuatro subgrupos, cada uno de los cuales recibió dosis orales de CI-1033 a un nivel especificado de fármaco activo. La CI-1033 se administró según los regímenes indicados a continuación. El tercer grupo se dividió adicionalmente en cuatro subgrupos, cada uno de los cuales recibió el agente estándar designado por la vía y con los regímenes indicados a continuación.

El grupo 4 se subdividió adicionalmente en grupos que recibían terapia de combinación. Cada dosis de CI-1033 se evaluó con cada nivel de dosificación de quimioterapia estándar.

Los datos presentados de los estudios de modelo de tumor ortotópico en los ejemplos 1 y 2 establecen que la combinación de CI-1033 y gemcitabina o paclitaxel es sorprendentemente activa en la reducción de la velocidad de crecimiento de tumores en animales. La capacidad de estos agentes cuando se utilizaron conjuntamente establece que la combinación es superior como agente antitumoral que cualquiera de los agentes utilizados por separado.

EJEMPLO 4

Retardo del crecimiento tumoral con CI-1033 en combinación con docetaxel

Debido a que los efectos sinérgicos observados con la combinación de CI-1033 y paclitaxel fueron tan sorprendentemente notables, se realizó un estudio de retardo del crecimiento tumoral con docetaxel y CI-1033 frente a un xenoinjerto de cáncer de células pulmonares humanas no pequeñas implantado subcutáneamente, H125. Se administró P.O CI-1033 a 40, 10, 2,5,

ca

0,7 y 0,2 mg/kg los días 19-23 y 26-30 a ratones con xenoinjertos de carcinoma de células pulmonares humanas H125. Se administró IV docetaxel a dosis de 12, 8 y 5 mg/kg los días 19, 23 y 27. Los retardos de crecimiento tumoral óptimos para CI-1033 y docetaxel como agentes individuales fueron 11,7 y 35,7 días, respectivamente. Varios de los grupos administrados con quimioterapia de combinación demostraron retardos del crecimiento tumoral superiores a 35 días, indicando un beneficio terapéutico potenciado para la terapia de combinación que comprende docetaxel y CI-1033. La Figura 1 demuestra el retardo del crecimiento tumoral potenciado que acompaña al tratamiento con CI-1033 y docetaxel. Las respuestas completas se definieron como tumores que reducían su masa en un 100% durante el estudio. Las respuestas parciales se definieron como tumores que reducen su masa en al menos un 50% durante el estudio. El número de respuestas parciales y completas observadas en animales que reciben ambos agentes terapéuticos en este estudio fue mayor para aquellos animales que recibieron terapia combinada que para aquellos que recibieron terapia de agente individual. Sin embargo, el número de respuestas completas observadas en animales que recibieron ambos agentes terapéuticos en este estudio fue notablemente elevada frente a aquellos que recibieron agentes individuales (13,3% frente a 4% y 0). La combinación de estos dos agentes no afectó a la toxicidad, letalidad o pérdida de peso.

EJEMPLO 5

Retardo del crecimiento tumoral con CI-1033 en combinación con etopósido

Se han evaluado las combinaciones sinérgicas proporcionadas por esta

invención en estudios de quimioterapia estándar utilizando ratones desnudos hembra inmunodeficientes. Se evaluó la combinación de CI-1033 y etopósido frente a un xenoinjerto de cáncer de células pulmonares humanas no pequeñas implantado subcutáneamente, H125.

En un ensayo de combinación con CI-1033 y etopósido, se administró CI-1033 a dosis de 200, 124 y 77 mg/kg cada 24 horas después de cada una de 3 dosis de etopósido. El etopósido se administró IP a dosis de 80, 50 y 31 mg/kg los días 12, 16 y 20. El etopósido fue relativamente ineficaz en el retardo del crecimiento de H125 como agente individual a una dosis máxima tolerada de 50 mg/kg en este ensayo, mientras que la CI-1033 fue muy eficaz. La combinación de etopósido a 50 mg/kg y CI-1033 a 77 mg/kg produjo un efecto superior en el retardo del crecimiento tumoral que el observado con cualquier agente individual administrado por separado. Todos los demás regímenes de dosificación de combinación no fueron mejores que la terapia con CI-1033 por separado. Sin embargo, el etopósido fue bien tolerado sólo a la dosis menor ensayada.

EJEMPLO 6

CI-1033 en combinación con capecitabina

Se han evaluado las combinaciones sinérgicas proporcionadas por esta invención en estudios de quimioterapia estándar utilizando ratones hembra BALB/C. Se evaluó la combinación de CI-1033 y capecitabina frente a carcinoma de colon de murina implantado subcutáneamente, C26.

71

En un ensayo de combinación con CI-1033 y capecitabina, se administró CI-1033 a dosis de 40, 20 y 10 mg/kg por vía oral simultáneamente a cada dosis de capecitabina. La capecitabina se administró P.O. a dosis de 750 y 500 mg/kg los días 14-16, 21-23 y 28-30. Los retardos de crecimiento tumoral óptimos para CI-1033 y capecitabina como agentes individuales fueron de 3,6 y 22,5 días, respectivamente. Varios de los grupos administrados con quimioterapia de combinación demostraron retardos de crecimiento tumoral superiores a 22 días, indicando un beneficio terapéutico potenciado para la terapia de combinación que comprende capecitabina y CI-1033.

La capecitabina causó 3/6 respuestas completas y 2/6 respuestas parciales frente a carcinomas de colon C26 como agente individual, mientras que la CI-1033 como agente individual fue ineficaz en este ensayo. La combinación de capecitabina a 750 ó 500 mg/kg y CI-1033 produjo un efecto mayor que el aditivo (14/36 (39%)) de respuestas completas y respuestas parciales (5/36 (14%)). Como agentes individuales, CI-1033 y capecitabina produjeron 0 y 8% de supervivientes exentos de tumores, respectivamente. Las combinaciones de CI-1033 y capecitabina produjeron 16% de supervivientes exentos de tumores.

Por tanto, este experimento demuestra que la combinación de capecitabina y CI-1033 administrada a ratones que portan el colon 26/clon 10 de murina avanzado produjo una eficacia anticancerosa superior en comparación con cualquiera de los agentes individuales por separado.

72

EJEMPLO 7

CI-1033 en combinación con cisplatino

Se evaluó la combinación de CI-1033 y cisplatino en ratones desnudos hembra inmunodeficientes frente a un xenoinjerto de cáncer de células pulmonares humanas no pequeñas implantado subcutáneamente, H125.

Se administró P.O. CI-1033 a 40, 20, 10, 5 y 2,5 mg/kg los días 28-37 a ratones con xenoinjertos de cáncer humano de ovario OVCAR-5 avanzado. Se administró IV cisplatino a dosis de 12, 6, 3 y 1,5 mg/kg los días 28, 32 y 34. Ni el cisplatino ni la CI-1033 cuando se administraron por separado produjeron efectos anticancerosos significativos frente a xenoinjertos de cáncer humano de ovario OVCAR-5 avanzado. En este ensayo, la CI-1033 administrada después de la terapia con cisplatino proporcionó efectos anticancerosos superiores frente a OVCAR-5 avanzado que cualquier agente individual, concretamente por ejemplo retardos de crecimiento tumoral (T-C) mayores de 18 días para combinaciones de CI-1033 a 5 y 10 mg/kg con 12 mg/kg de cisplatino (mayores de 18 y 21 días, respectivamente) en comparación con cisplatino administrado por separado a esta dosis (10 días).

Se diseñó un ensayo frente a carcinoma epidermoide A431 para determinar la sensibilidad tumoral al cisplatino antes y después de una dosis individual de CI-1033. Para evaluar el efecto del régimen de fármacos en los protocolos terapéuticos que utilizan CI-1033 y cisplatino, se administró IP una dosis individual de 6 mg/kg de cisplatino a ratones que portaban xenoinjertos A-431 avanzados el día 16 después del implante de tumor o bien 24 horas antes o bien después de una dosis individual de 100 ó 200 mg/kg de CI-1033. Se

evaluó el crecimiento tumoral, y la combinación de cisplatino seguido de CI-1033 produjo un efecto mayor que el aditivo como evidenció un retardo del crecimiento de 11-13,5 días en comparación con el producido por el cisplatino por separado, Figura 4.

Se obtienen resultados similares utilizando CI-1033 y carboplatino utilizando diferentes regímenes de dosificación.

EJEMPLO 8

CI-1033 en combinación con topotecán

Se administraron CI-1033 y topotecán a ratones hembra desnudos inmunodeficientes con xenoinjertos de carcinoma de células pulmonares humanas H125. Se administró CI-1033 por vía oral a 40, 20 ó 10 mg/kg los días 32-35 y se administró IP topotecán a dosis de 1,6, 1 y 0,62 mg/kg los días 26-30. La combinación de CI-1033 y topotecán se evaluó frente a un xenoinjerto de carcinoma de células pulmonares humanas H125.

Tanto CI-1033 como topotecán produjeron una eficacia anticancerosa significativa medida por el retardo del crecimiento tumoral frente a xenoinjertos pulmonares NSC H125 avanzados. La eficacia anticancerosa de las combinaciones fue superior a la de cualquier agente administrado individualmente. No hubo indicación de toxicidad potenciada.

Aparecen resultados similares con CPT-11, aunque los regímenes de tratamiento se pueden variar.

EJEMPLO 9

CI-1033 en combinación con terapia de radiación

Se han evaluado las combinaciones sinérgicas proporcionadas por esta invención en un carcinoma de células escamosas de murina, SCC7, implantado subcutáneamente en ratones hembra C3H en estudios de quimioterapia estándar utilizando una combinación de CI-1033 y radiación ionizante.

Se realizaron dos estudios. En ambos estudios, se administraron por vía oral dosis múltiples de CI-1033 (40, 20, 10 y 5 mg/kg) los días 7-18. La radiación se suministró en forma de una dosis individual o como fracciones múltiples durante un periodo de 5 días. En estos ensayos, se administró CI-1033 1 hora antes de la radiación en ambos protocolos de radiación de dosis individual y múltiple. En el protocolo de radiación de dosis individual frente a SCC-7, los tumores recibieron 5 ó 10 Gy de radiación 1 hora después de la primera de las 12 dosis P.O. de CI-1033 el día 7. En este ensayo, el carcinoma SCC7 fue insensible a la terapia con CI-1033 por separado. Las dosis individuales de 10 y 5 Gy de radiación produjeron retardos del crecimiento tumoral de 13,6 y 0,8 días, respectivamente. La terapia de combinación con radiación más CI-1033 produjo un efecto antitumoral mayor que el obtenido con terapia de radiación o CI-1033 por separado (91% de potenciación).

El efecto fue más pronunciado a la dosis de 10 Gy de radiación, estando acompañado el efecto antitumoral mejorado por un aumento aparente del número de regresiones completas y parciales.

Se realizó un estudio que combinaba dosis múltiples de radiación con dosis múltiples de CI-1033 frente a sarcoma Rif-1, basándose en la eficacia del protocolo de terapia de radiación de dosis individual frente a SCC-7. Este estudio evaluó la eficacia de 5 dosis diarias de radiación administradas 1 hora después de cada una de las 5 dosis diarias de CI-1033. Como se observó frente a SCC-7, la CI-1033 era mínimamente eficaz frente al sarcoma Rif-1 basándose en el retardo del crecimiento tumoral de 3,7 días producido por el régimen de tratamiento de 5 días a la dosis utilizada en este estudio. La radiación a 5 Gy durante 5 días produjo un retardo de crecimiento tumoral de 28,5 días. La terapia de combinación con 5 Gy de radiación más CI-1033 produjo un efecto sorprendentemente superior en comparación con el observado con la radiación por separado (42% de potenciación), indicando un efecto anticanceroso superior con este régimen de irradiación fraccionada clínicamente relevante. Los datos representativos de este efecto se proporcionan en la Tabla 1 y la Figura 2.

Se observó una potenciación similar de CI-1033 en combinación con radiación en tumores LoVo, un modelo de cáncer de colon.

26

Tabla 1. Efecto antitumoral de CI-1033 en combinación con rayos X frente a carcinoma de células escamosas de murina SCC-7

CI-1033		Rayos X		Muertes Tóxicas	% de cambio de peso ^c	Efecto antitumoral		
Dosis ^a	Régimen	Dosis ^b	Régimen			RC ^d	RP ^e	T-C ^f
40	P.O. ^g , D7-18			0/6	-2			0,9
20	P.O., D7-18			0/6	-1			0,2
10	P.O., D7-18			0/6	-1			1,3
0		10	TO ^g , D7	0/6	-15			13,6
40	P.O., D7-18	10	TO, D7	0/6	-14	5/6		26,0
20	P.O., D7-18	10	TO, D7	0/6	-15	2/6	1/6	20,4
10	P.O., D7-18	10	TO, D7	0/6	-13		1/6	9,7
5	P.O., D7-18	10	TO, D7	0/6	-15	2/6		11,1

Se implantó a los ratones 0,2 ml de una preparación de tejido blando tumoral finamente dividido al 10% el día 0

La masa tumoral control media en el primer tratamiento fue 75 mg. El estudio se terminó el día 44

^aLa dosis está en mg/kg

^bLa dosis está en Gray (Gy)

^cPérdida de peso máxima relacionada con el tratamiento, expresada como un porcentaje del peso del grupo de tratamiento inicial. La ganancia de peso neta se representa por una "+"

^dUna respuesta completa representa un tumor que redujo su masa un 100% durante el estudio

^eUna respuesta parcial representa un tumor que redujo su masa en al menos un 50% durante el estudio

^fT-C se define como la diferencia, en días, de las medias de los tumores tratados y control para alcanzar el tamaño de evaluación fijo de 750 mg

^gP.O., terapia oral; TO, se irradian sólo el tumor y tejidos adyacentes, no el ratón entero

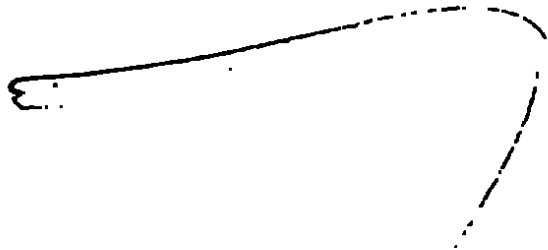
XX

Estos ejemplos establecen un resultado inesperadamente favorable en el tratamiento de tumores con CI-1033 en terapia de combinación con una amplia variedad de agentes quimioterapéuticos antineoplásicos, y con CI-1033 en terapia de combinación con radiación ionizante. En consecuencia, esta invención proporciona un procedimiento de tratar neoplasmas sensibles que comprende administrar CI-1033 en un régimen terapéutico con uno o más agentes quimioterapéuticos distintos, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos o radiación ionizante.

La combinación de agentes terapéuticos puede envasarse conjuntamente. El envase generalmente incluirá cada ingrediente activo envasado separadamente, evitando así cualquier interacción entre los agentes antes de la administración, así como envasar individualmente tampones o diluyentes para cada agente. Si se desea, los fármacos envasados individualmente pueden disponerse en una caja de cartón individual como un kit, proporcionando así comodidad al médico o personal médico que atienda. Dicho kit puede contener dos compartimientos que comprenden CI-1033 en un compartimiento y un agente antineoplásico en el segundo compartimiento. Un kit con al menos tres compartimientos que comprende CI-1033 en un compartimiento y dos agentes antineoplásicos diferentes (junto con sus diluyentes o tampones envasados separadamente) en un segundo y tercer compartimiento, respectivamente, está también contemplado por esta invención.

Los neoplasmas sensibles de tratarse según esta invención incluyen

tumores que tienen mutaciones o sobreexpresión de uno o más receptores erb
B. Entre los tumores que cumplen este criterio están tumores sólidos, especialmente tumores sólidos avanzados y cáncer de células pulmonares no pequeñas, carcinoma de células escamosas, glioma, carcinoma de células pulmonares pequeñas, cáncer de endometrio, cáncer de tiroides, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de células renales, cáncer pancreático, cáncer de cabeza y cuello tal como cánceres esofágico o cervical, cáncer de ovario, mieloma, cáncer de próstata, sarcomas, leucemia mielógena crónica y cáncer de mama.



Habiéndose descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

Reivindicaciones

1. Un procedimiento para tratar enfermedades proliferativas celulares que comprende la administración en un régimen terapéutico de un inhibidor de al menos una tirosina quinasa de erb B y al menos un agente antineoplásico seleccionado del grupo constituido por gemcitabina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11, capecitabina, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o radiación ionizante.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el citado inhibidor de tirosina quinasa de erb B es un inhibidor irreversible.

3. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que el citado inhibidor inhibe más de una tirosina quinasa de erb B.

4. El procedimiento de la reivindicación 2, en el que el citado inhibidor es la N-[4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-(3-morfolin-4-ilpropoxi)-quinazolin-6-il]acrilamida.

5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la citada enfermedad proliferativa celular se selecciona del grupo que comprende cáncer, psoriasis, reestenosis y enfermedad proliferativa benigna.



6. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que al menos uno de los citados agentes antineoplásicos es gemcitabina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

7. El procedimiento según la reivindicación 6, en el que al menos uno de los citados agentes antineoplásicos es un taxano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Una combinación según la reivindicación 1, en la que al menos uno de los citados agentes antineoplásicos es paclitaxel o docetaxel.

9. Un procedimiento para tratar un trastorno hiperproliferativo celular que comprende administrar a un mamífero necesitado de tratamiento una cantidad de al menos un inhibidor de tirosina quinasa de erb B y al menos un agente antineoplásico según la reivindicación 1, en una cantidad suficiente para inhibir la hiperproliferación celular.

10. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que el citado cáncer se selecciona del grupo que comprende tumores sólidos, cáncer de células pulmonares no pequeñas, carcinoma de células escamosas, glioma, carcinoma de células pulmonares pequeñas, cáncer de endometrio, cáncer de tiroides, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de vejiga, cáncer de células renales, cáncer pancreático, cáncer de cabeza y cuello tal como cánceres esofágico o cervical, cáncer de ovario, mieloma, cáncer de próstata, sarcomas, leucemia

mielógena crónica y cáncer de mama.

11. Un procedimiento de la reivindicación 1, que comprende administrar CI-1033 en terapia de combinación con radiación ionizante.

12. Un procedimiento de la reivindicación 1, que comprende administrar CI-1033 en un régimen terapéutico con al menos un agente antineoplásico seleccionado del grupo que comprende gemcitabina, paclitaxel, taxótero, cisplatino, carboplatino, etopósido, adriamicina, topotecán, CPT-11, capecitabina o radiación ionizante.

13. Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el citado agente antineoplásico se administra antes que el inhibidor de tirosina quinasa de erb B.

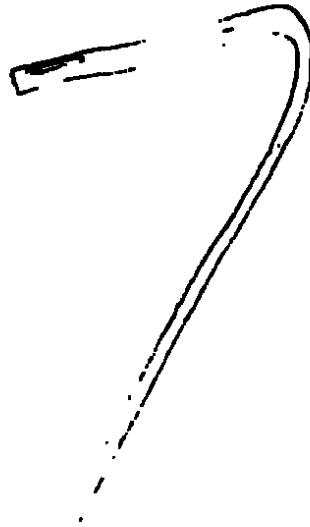
14. Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el agente antineoplásico se administra aproximadamente en el mismo momento que el inhibidor de tirosina quinasa.

15. Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el agente antineoplásico se administra después del inhibidor de tirosina quinasa.

82

RESUMEN

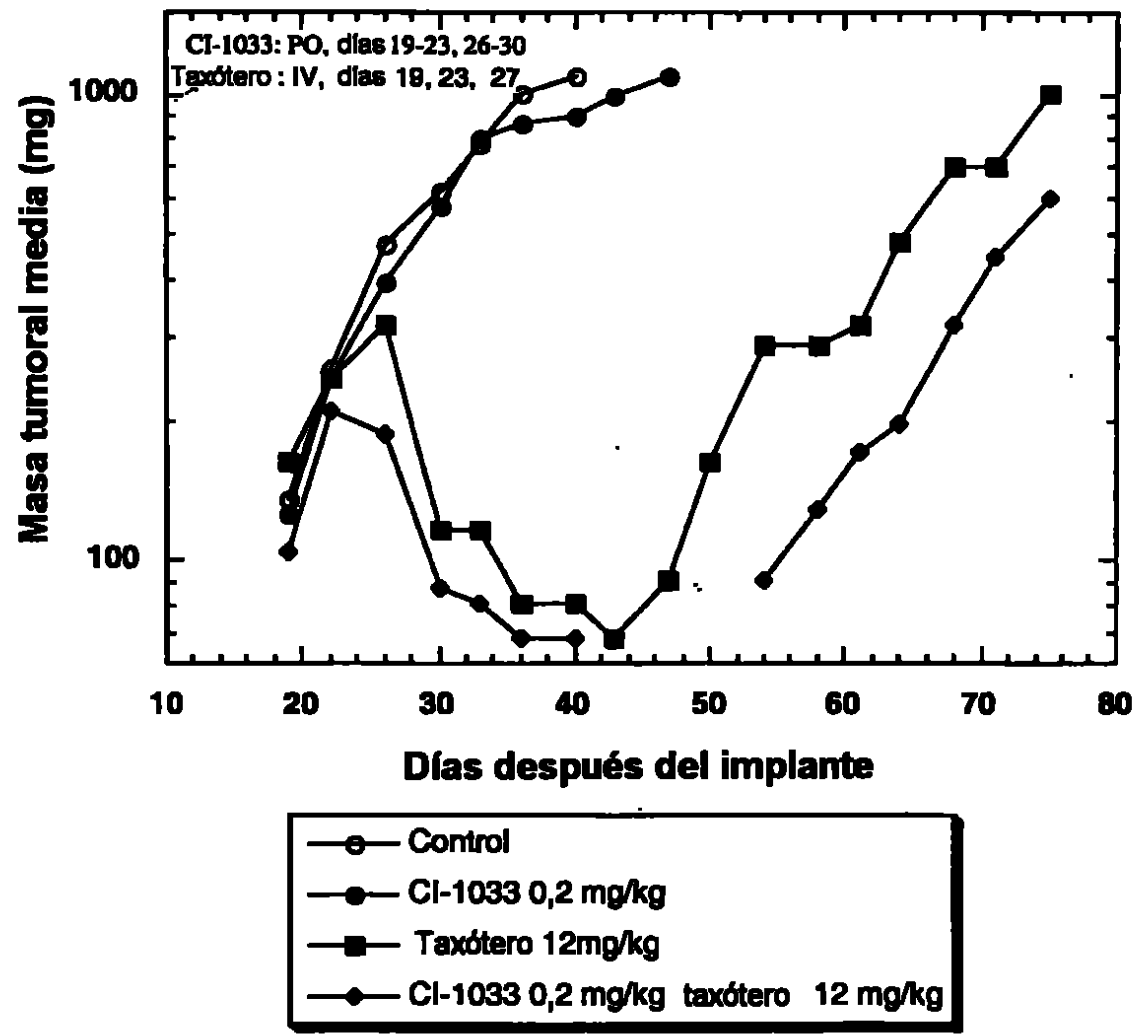
La administración de un inhibidor irreversible de tirosina quinasa tal como CI-1033 en combinación con uno o más agentes antineoplásicos, o radiación ionizante, es sinérgica para tratar el cáncer.



83

Figura 1

Terapia de combinación con CI-1033 y taxótero frente a xenoinjertos NSCLC H125 avanzados



84

Figura 2

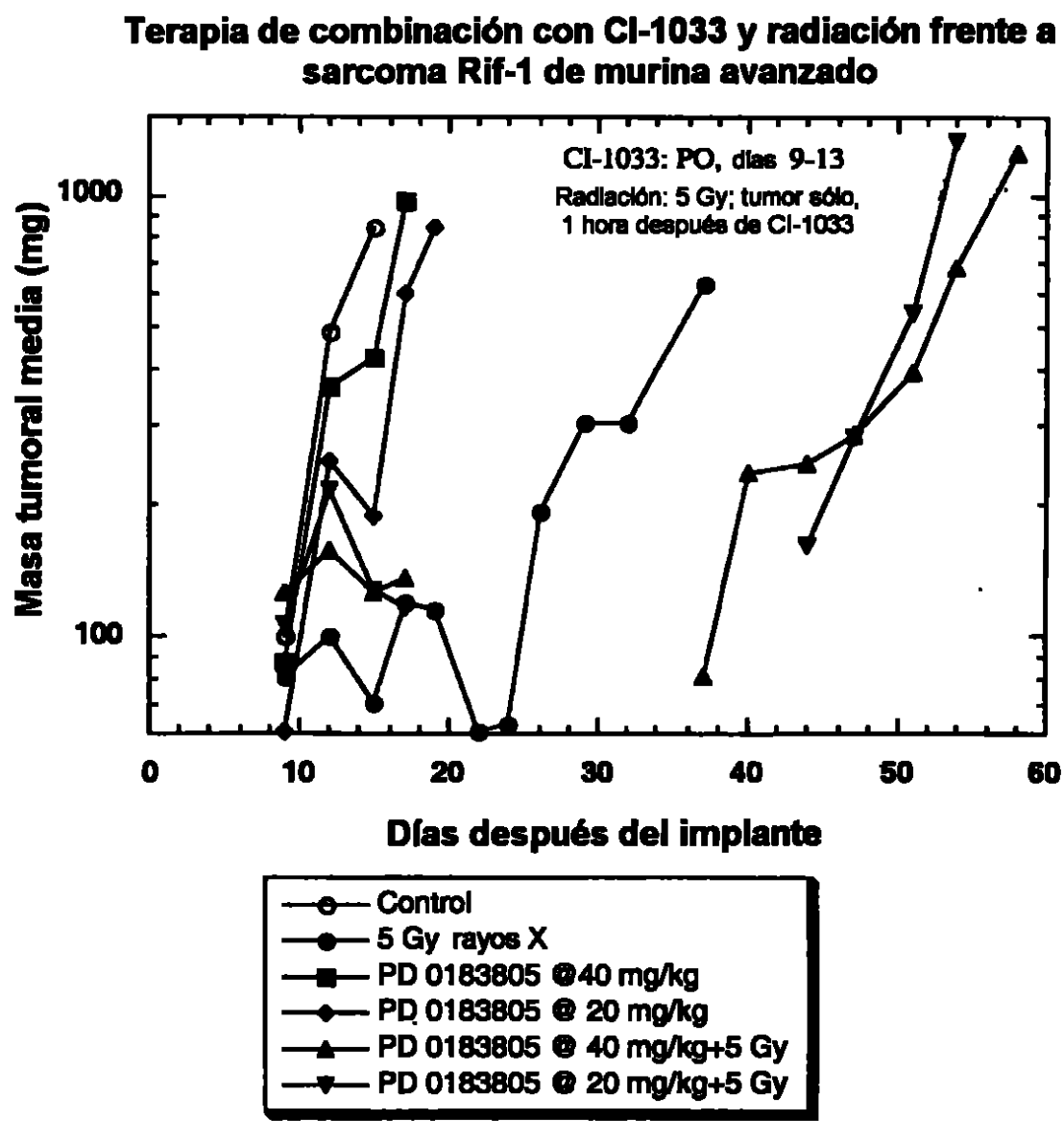
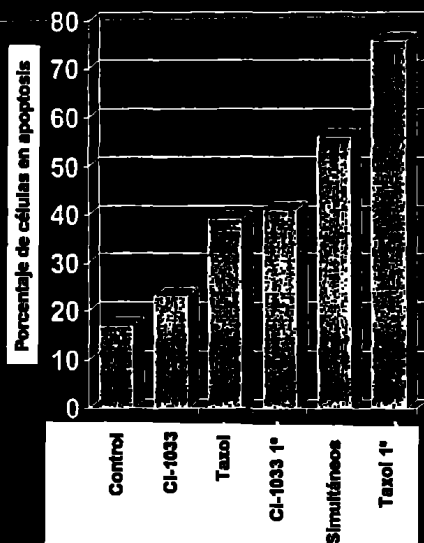


Figura 3

Dependencia del régimen preclínico de CI-1033 in vitro

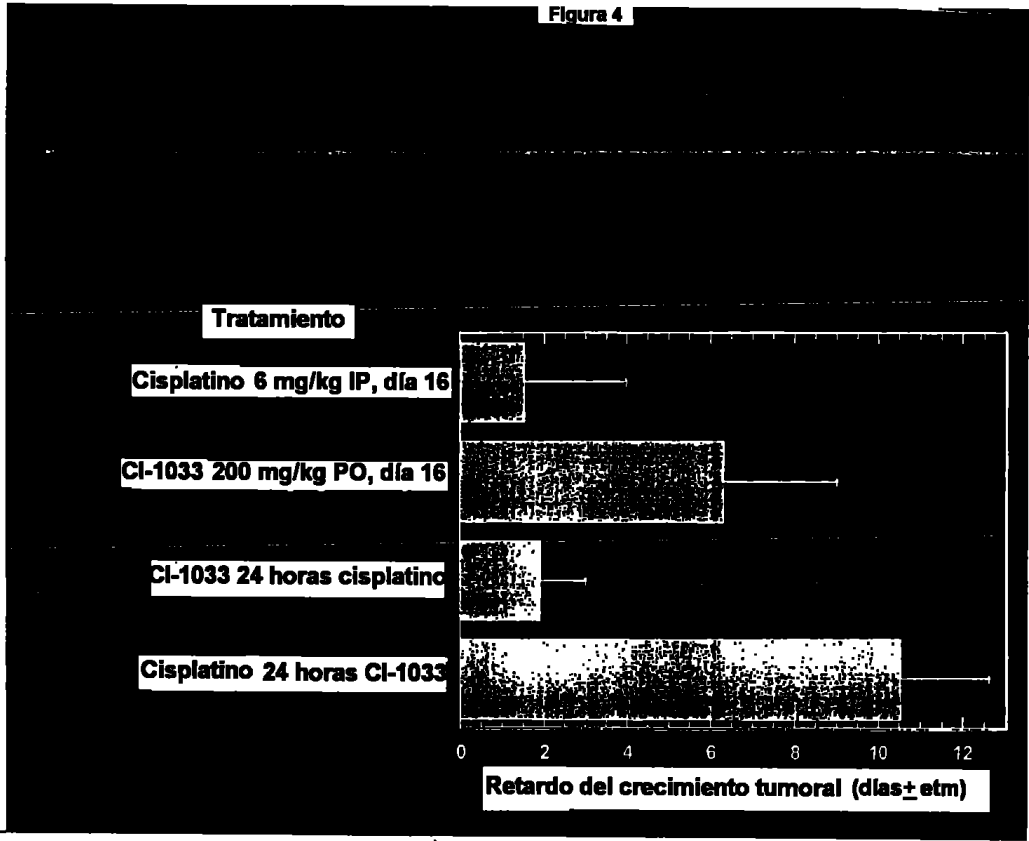
Los datos de cultivo celular sugirieron en primer lugar la dependencia del régimen del taxol cuando se combina con CI-1033



Cáncer de mama MDA-MB-468

[Handwritten signature]

Figura 4



53-

66

87

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
NOTIFICACIÓN DE TRANSMISIÓN DEL REPORTE DE EXAMEN
PRELIMINAR INTERNACIONAL
(PCT Regla 71.1)

De: AUTORIDAD DE REVISION PRELIMINAR INTERNACIONAL

Para:

Lumb, J. Trevor
PFIZER INC
201 Tabor Road
Morris Plains, New Jersey 07950
Estados Unidos de América.

Enviado vía e-mail el 12.01.05

Fecha de envío: 23.11.2004

Referencia del solicitante o representante: PC20553A

No. de Solicitud Internacional: PCT/IB03/03388

Fecha de presentación internacional: 28.07.2003

Fecha de prioridad: 07.08.2002

Solicitante: WARNER-LAMBERT COMPANY LLC.

1. Por la presente se notifica al solicitante que esta Autoridad de Revisión Preliminar Internacional transmite adjunto a la presente el reporte de examen preliminar internacional y sus anexos, si existen, existentes en la solicitud internacional.

2. Una copia del reporte y sus anexos, si los hay, serán transmitidos a la Oficina Internacional para dar comunicación a todas las Oficinas designadas.

3. Donde se requiera por cualquiera de las Oficinas designadas, la Oficina Internacional preparará una traducción al inglés del reporte (pero no de sus anexos) y transmitirá tal traducción a aquellas Oficinas.

4. RECORDATORIO

El solicitante deberá entrar en la fase nacional ante cada Oficina designada realizando ciertos actos (presentando traducciones y cancelando tarifas nacionales) dentro de 30 meses a partir de la fecha de prioridad (o después en algunas Oficinas) (Artículo 39 (1)) (ver también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional con el Formulario PCT/IB/301).

Donde se deba presentar una traducción de la solicitud internacional ante una Oficina designada, la traducción deberá contener una traducción de cualquier anexo del reporte de examen preliminar internacional. Es responsabilidad del solicitante preparar y presentar tal traducción directamente a cada Oficina designada.

Para más información con respecto a los plazos y requisitos de las Oficinas designadas, ver el Volumen II de la Guía del Solicitante PCT.

Se llama la atención del solicitante al Artículo 33(5), el cual estipula que los criterios de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial descritos en el Artículo 33(2) a (4) sirven meramente para propósitos del examen preliminar internacional y que “cualquier estado miembro puede aplicar criterios adicionales o diferentes para los propósitos de decidir si, en ese estado, los inventos reivindicados son patentables o no” (ver también Artículo 27(5)). Tales criterios adicionales pueden estar relacionados, por ejemplo, con excepciones a partir de la patentabilidad, requerimientos para permitir la divulgación, claridad y soporte para las reivindicaciones.

Nombre y dirección de correspondencia de la Autoridad de Revisión Preliminar Internacional:

Oficina de Patentes Europea

D-80298 – Munich

Tel: +49-89 2399 - 0, Tx: 523656 epmu d

Fax: +49-89 2399 – 4465.

Funcionario Autorizado: Sleex, C.

Tel: + 49 89 2399-8044

gh

REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
(PCT Artículo 36 y Regla 70)

Referencia del solicitante o representante: PC20553A
No. de Solicitud Internacional: PCT/IB03/03388
Fecha de presentación internacional: 28.07.2003
Fecha de prioridad: 07.08.2002
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o ambas, clasificación nacional e IPC:
A61K31/5377
Solicitante: WARNER-LAMBERT COMPANY LLC.

1. El reporte de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Revisión Preliminar Internacional y es transmitido al solicitante según el Artículo 36.

2. Este REPORTE consta de 7 hojas, incluyendo esta cubre hoja.

Este reporte también está acompañado de ANEXOS, es decir, hojas de la descripción, reivindicaciones, y/o dibujos los cuales han sido modificados y son la base para este reporte y/o hojas que contengan rectificaciones hechas ante esta Autoridad (ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas bajo el PCT).

Estos anexos constan de _hojas.

3. Este reporte contiene indicaciones con relación a los siguientes ítems:
- I. ☒ Base para el reporte
 - II. ☐ Prioridad
 - III. ☒ Ninguna opinión con respecto a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial.
 - IV. ☐ Falta de unidad inventiva
 - V. ☒ Declaración razonada según artículo 66.2(a) (ii) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial; citas y explicaciones soportando dicha declaración.
 - VI. ☐ Ciertos documentos citados
 - VII. ☐ Ciertos defectos en la solicitud internacional
 - VIII. ☐ Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional

Fecha de radicación de la demanda: 04.09.2003

Fecha de elaboración de este reporte: 23.11.2004

Nombre y dirección de correspondencia de la Autoridad de Revisión Preliminar Internacional:

Oficina de Patentes Europea

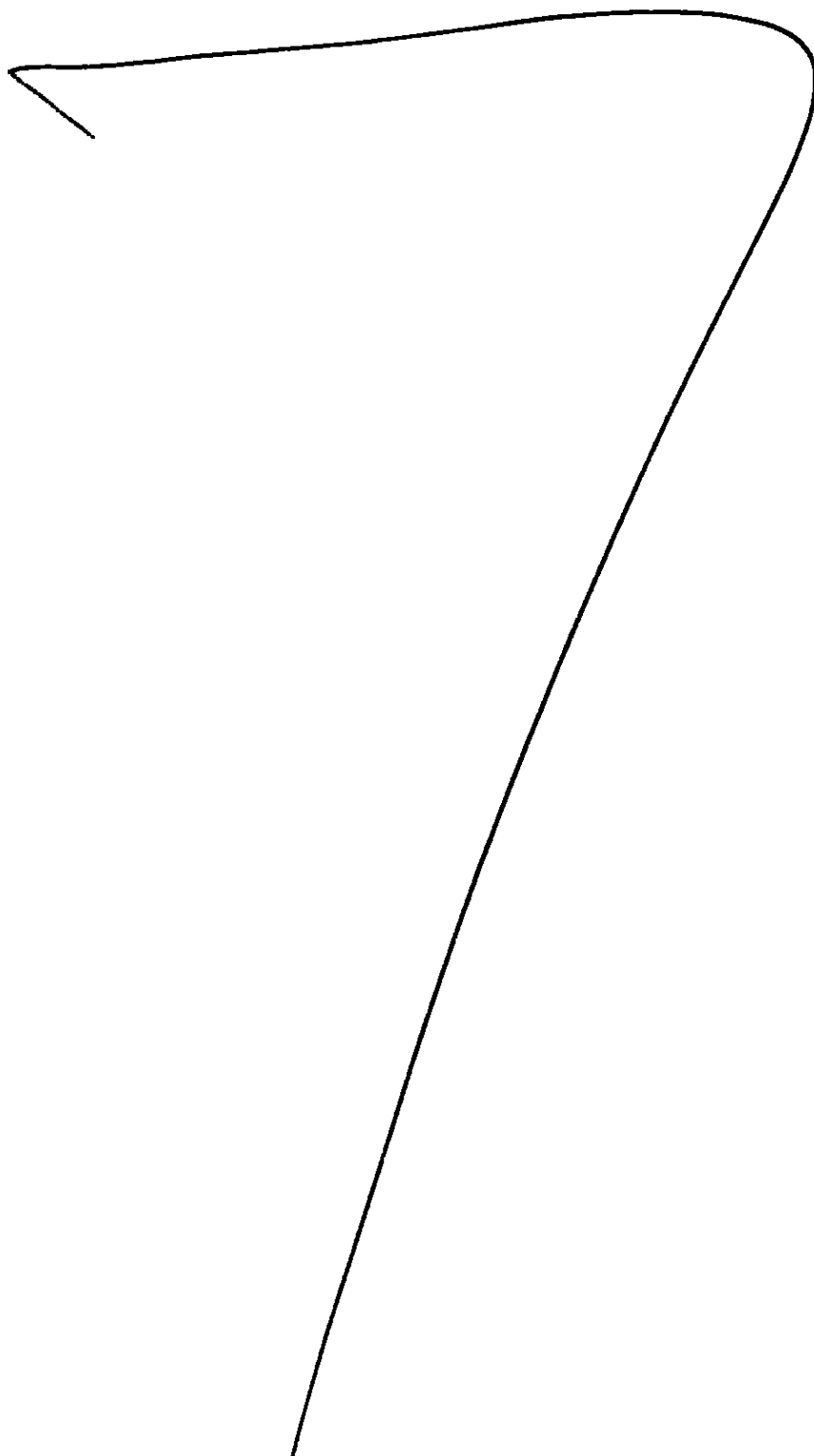
D-80298 -- Munich

Tel: +49-89 2399-0, Tx: 523656 epmu d

Fax: + 49-89 2399-4465

90

Funcionario Autorizado: Borst, M.
Tel: +49 89 2399-8648



al

REPORTE DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

No. de Solicitud Internacional: PCT/IB03/03388

I. Base del reporte

1. Con respecto a los elementos de la solicitud internacional (Hojas de reemplazo, entregadas a la Oficina receptora en respuesta a un requerimiento según el Artículo 14, son referidas en este reporte como "presentadas originalmente" y no están anexadas al presente puesto que no contienen enmiendas (Reglas 70.16 y 70.17)):

Descripción, páginas:

1-29 tal como se presentó originalmente

Reivindicaciones, Nos.:

1-15 tal como se presentó originalmente

Dibujos

1-4 tal como se presentó originalmente

2. Con respecto al idioma, todos los elementos marcados anteriormente estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el idioma en el cual fue presentada la solicitud internacional, a menos que se indique de otra manera bajo este punto.

Estos elementos estuvieron disponibles o fueron suministrados a esta Autoridad en el siguiente idioma: , el cual es:

- ☐ el idioma de una traducción suministrada con fines de la búsqueda internacional (bajo Regla 23.1(b)).
- ☐ el idioma de la publicación de la solicitud internacional (bajo Regla 48.3 (b)).
- ☐ el idioma de una traducción suministrada con fines del examen preliminar internacional (bajo Regla 55.2 y/o 55.3).

3. Con respecto a cualquier secuencia nucleótida y/o de amino ácidos divulgada en la solicitud internacional, el examen preliminar internacional fue realizado con base en el listado de secuencias:

- ☐ contenido en la solicitud internacional por escrito.
- ☐ presentado junto con la solicitud internacional en forma electrónica
- ☐ suministrado subsecuentemente a esta Autoridad por escrito
- ☐ suministrado subsecuentemente a esta Autoridad en forma electrónica

- 42
92
- ☐ Ha sido suministrada la declaración donde indica que el listado suministrado de secuencias escrito no va más allá de la divulgación encontrada en la solicitud internacional tal como se presentó
- ☐ Ha sido suministrada la declaración que indica que la información registrada en forma electrónica es idéntica al listado de secuencias escrito.

4. Las enmiendas han resultado en la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas:
- ☐ las reivindicaciones, Nos.:
- ☐ los dibujos, hojas:

5. Este reporte ha sido establecido como si no estuvieran hechas las enmiendas, puesto que se consideró que iban más allá de la divulgación tal como se presentó (Regla 70.2(c)).

(Cualquier hoja de reemplazo que contenga tales enmiendas debe referirse al ítem 1 y estar adjunto a este reporte.)

6. Observaciones adicionales, si son necesarias:

III. Ninguna formulación de opinión con respecto a la novedad, nivel inventivo, y aplicación industrial

1. Las preguntas con respecto a si el invento reivindicado parece ser novedoso, tener nivel inventivo (no ser obvio), o ser industrialmente aplicable no han sido examinadas con respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional,
- ☒ reivindicaciones Nos. 1-15 (ningún examen tiene solo aplicación industrial)

puesto que:

X dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. 1-15 se relacionan con el siguiente tema el cual no requiere examen preliminar internacional (especifique):

ver página adjunta

☐ la descripción, reivindicaciones, o dibujos (indique elementos en particular a continuación) o tales reivindicaciones Nos. están tan ambiguas que ninguna opinión significativa pudo formularse (especifique):

☐ las reivindicaciones, o dichas reivindicaciones No. están tan inapropiadamente soportadas que no se pudo formar una opinión significativa.

q3

☐ no se ha establecido ninguna búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos. 1-16 (en parte)

2. Un examen preliminar internacional significativo no puede efectuarse debido a que el listado de secuencias nucleótidas y/o de amino ácidos no cumple con el estándar suministrado en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas:

- ☐ la forma escrita no ha sido suministrada o no cumple con el estándar
- ☐ la forma electrónica no ha sido suministrada o no cumple con el estándar

V. Declaración razonada según el Artículo 35(2) con respecto a la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial: anterioridades y explicaciones que soportan tal declaración

1. Declaración

Novedad (N)	Si:	Reivindicaciones 2-4, 6, 11, 12, 15
	No:	Reivindicaciones 1,5, 7-10, 13, 14
Nivel Inventivo (NI)	Si:	Reivindicaciones
	No:	Reivindicaciones 1-15
Aplicación Industrial (AI)	Si:	Reivindicaciones -
	No:	Reivindicaciones

2. Anterioridades y explicaciones

ver hoja adjunta.

94

INFORME DEL EXAMEN Solicitud Internacional No. PCT/IB03/03388
PRELIMINAR INTERNACIONAL –
HOJA SEPARADA_____

Con Referencia al Ítem III

No establecimiento de opinión con relación a novedad, paso inventivo y aplicabilidad industrial

Asunto materia excluido del examen preliminar internacional (Regla 67.1 (iv)PCT)

Las Reivindicaciones 1-15 están dirigidas a un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia y, por consiguiente, se relaciona con el asunto materia considerado por esta Autoridad como amparado por las disposiciones de la Regla 67.1 (iv) PCT. Por consiguiente, no se formulará ninguna opinión conforme a la Sección V con respecto a la aplicabilidad industrial del objeto de estas reivindicaciones (Artículo 34(4)(a)(i) PCT).

En Relación con el Ítem V

Declaración razonada conforme a la Regla 66.2(a)(i) con relación a novedad, paso inventivo o aplicabilidad Industrial; citaciones y explicaciones que soportan esa declaración

**D1: CIARDIELLO F Y OTROS: "DROGAS RECEPTORAS CON FACTOR DE CRECIMIENTO ANTI-EPIDERMAL EN TERAPIA PARA EL CÁNCER"
OPINIÓN DE EXPERTOS SOBRE LAS DROGAS DE INVESTIGACIÓN,
PUBLICACIONES ASHLEY LTD., LONDRES, GRAN BRETAÑA, vol. 11, No.
6, Junio 2002 (2002-06), páginas 755-768, XP009014333 ISSN: 1354-3784**

CS

D2: ERLICHMAN CHARLES Y OTROS: "El inhibidor C11033 HER tirosina cinasa mejora la citotoxicidad de 7-etil-10-hidroxicamptotecin y topotecan inhibiendo el eflujo de la droga mediada por proteina para la resistencia del cáncer de mama "INVESTIGACIÓN DE CÁNCER, vol. 61, No. 2, 15 de enero de 2001 (2001-01-15), páginas 739-748, XP002257050 ISSN: 0008-5472

D3: GIESEG MICHAEL Y OTROS: "Prueba para quimiosensibilidad mejorada al receptor de factor de crecimiento epidermal en combinaciones de cisplatino y el nuevo inhibidor C11033 de tirosina cinasa irreversible" DROGAS ANTI-CÁNCER, vol. 12, No. 8, septiembre de 2001 (2001-09), páginas 683-690, XP009018643 ISSN: 0959-4973

D4: NELSON JAMES M Y OTROS: "Akt, MAPK (Erk1/2), y p38 actúan en concierto para promover apoptosis en respuesta a la inhibición de la familia receptora ErbB" PERIÓDICO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, vol. 276, No. 18, 4 de mayo de 2001 (2001-05-04), páginas 14842-14847, XP002257051 ISSN: 0021-9258

D5: RAO G S Y OTROS: "Radiosensibilización de células humanas de cáncer de mama mediante un novedoso inhibidor receptor de tirosina cinasa de la familia ErbB "PERIÓDICO INTERNACIONAL DE ONCOLOGÍA DE IRRADIACIÓN BIOLOGÍA FÍSICA, 1 de diciembre de 2000, ELSEVIER, Estados Unidos de América, vol. 48, No. 5, páginas 1519-1528, XP002257052 ISSN: 0360-3016

D6: ZHANG LING Y OTROS: "Sensibilización apoptótica en células cancerosas de pulmón no pequeñas a través de inhibición de tirosina cinasa: Posible papel para la

96

señalización de citocina y de cinasas de tirosina no receptoras como reguladores de activación caspasa y supervivencia de células de NSCLC "ACTUACIONES DE LA ASOCIACIÓN AMERICANA PARA INVESTIGACIÓN ANUAL DE CÁNCER, vol. 42, marzo de 2001 (2001-03). página 131, XP001154841 92º Asamblea Anual de la Asociación Americana para Investigación de Cáncer; Nueva Orleans, LA, Estados Unidos de América; marzo 24-28, 2001, marzo de 2001 ISSN: 0197-016X

D7: CIARDIELLO F Y OTROS: "efecto antitumorrífico y potenciación de actividad de drogas citotóxicas en células cancerígenas humanas mediante el ZD-1839 (Iressa), un receptor de factor de crecimiento epidermal – inhibidor selectivo de tirosina cinasa" INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CÁNCER 2000 ESTADOS UNIDOS, vol. 6, No. 5, 2000, páginas 2053-2063, XP002257053 ISSN: 1078-0432

D8: SLICHENMYER WILLIAM J Y OTROS: "CI-1033, un inhibidor de tirosina cinasa pan-erbB" SEMINARIOS EN ONCOLOGÍA, vol. 28, No. 5 Suplemento 16, octubre de 2001 (2001-10), páginas 80-85, XP009018657 ISSN: 0093-7754

1. Novedad (Artículo 33(2) PCT)

El asunto materia de las reivindicaciones actuales 1, 5, 7, 8, 9, 10, 13, 14 no es nuevo a la luz del D1.

El D1 (páginas 762 - 763, párrafo titulado "6. Inhibidores de tirosina cinasa receptores del factor de crecimiento epidermal de molécula pequeña: estudios clínicos) revela combinaciones de inhibidores de tirosina cinasa erbB, tales como el ZD1839 con terapias antineoplásticas, tales como carboplatin, paclitaxel, 5-FU,

27

gemcitabine, para el tratamiento del cáncer.

2. Paso inventivo (Artículo 33(3) PCT)

2.1. El asunto materia de las reivindicaciones actuales 1-6 y 9-14 no involucra un paso inventivo a la luz del D2-D5.

Se sabe que las combinaciones de C11033 con irinotecan, topotecan (D2: página 745-747, párrafo titulado "Discusión"), con cisplatino (D3: página 689, párrafo titulado "Conclusiones", tabla 1), con gemcitabina (D4: figura 2) y con radiación ionizante (D5: figura 5, 7) proporcionan efectos citotóxicos sinérgicos en líneas de células cancerosas. Por consiguiente, fue obvio a la luz de estos experimentos, que corresponden a aquellos suministrados con la solicitud archivada, utilizar esas combinaciones para el tratamiento del cáncer.

2.2. El asunto materia de las reivindicaciones actuales 7, 8 y 15 no involucra un paso inventivo puesto que el problema que se presenta no se soluciona para el alcance total de las reivindicaciones.

El asunto materia de las reivindicaciones del archivo está encaminado a combinaciones de inhibidores de tirosina cinasa erbB con terapias antineoplásicas. Como se conoce un efecto citotóxico para ambas, para los inhibidores de tirosina cinasa erbB así como para las terapias antineoplásicas, el problema a ser solucionado con la solicitud presentada es el de proporcionar terapias de combinación antineoplásicas sinérgicas.

El D4, (figura 2) muestra que el tratamiento de células MDA-MB-453 de Cáncer de Mama con C11033 seguido por gemcitabina no proporcionó un efecto que mejore la apoptosis. Por consiguiente, por lo menos para el caso de C11033 seguido por

98

gemcitabina, el problema de suministrar un efecto citotóxico sinérgico no se soluciona para el alcance completo de la reivindicación 15, en particular puesto que la solicitud presentada proporciona datos experimentales solamente para el tratamiento con gemcitabina seguida por CI1033.

Similarmente, el D6 (página 131) reporta que los inhibidores de tirosina cinasa erbB, tales como CI1033, no aumentaron significativamente la sensibilidad apoptótica al paclitaxel en células cancerosas de pulmón no pequeñas (NSCLC). Además, los datos experimentales presentados con la solicitud muestran un efecto sinérgico solamente para células cancerosas de la vejiga. Por consiguiente, al menos para el caso de tratar las NSCLC con una combinación de CI1033 y paclitaxel, el problema de suministrar un efecto citotóxico sinérgico no se soluciona para el alcance completo de las reivindicaciones 7 y 8.

2.3. El asunto materia de las reivindicaciones actuales 1-12, 14 no involucra un paso inventivo a la luz del D1 o del D8 en combinación con el D1 o D7.

Se sabe por el D1 (página 762, párrafo titulado "5.3 PD-183805/CI1033") o por el D8 (página 84, párrafo titulado "Conclusiones") que el CI1033 es eficaz en el tratamiento del cáncer. En contraste con el asunto materia de las reivindicaciones 1-12, 14, el D1 no revela combinación de CI1033 con paclitaxel, docetaxel, carboplatin, etoposida, adriamicin y capecitabina.

El problema técnico objetivo a ser solucionado a la luz del D1 era, por consiguiente, proporcionar combinaciones citotóxicas sinérgicas del CI1033.

Se conoce que el CI1033 es un inhibidor de tirosina cinasa EGFR. Además, en la técnica se sabe que otros inhibidores de tirosina cinasa EGFR, tales como el

99

ZD1839, proporcionan actividad antitumoral sinérgica cuando se combinan con paclitaxel, docetaxel, carboplatin, etoposida, adriamicin y 5-FU (D1: página 760-761, parágrafo titulado "5.1 ZD1839"; D7: figura 3, 4). Como la capecitabina es una prodroga de 5-FU, es claro que las combinaciones de ZD1839 y capecitabina también serán sinérgicas.

En vista de la actividad inhibidora equivalente de la tirosina cinasa EGFR de la ZD1839 y del C11033 fue obvio para la persona que conoce la técnica que las combinaciones de C11033 con paclitaxel, docetaxel, carboplatin, etoposida, adriamicin y capecitabina serán sinérgicas también.

Conclusión

No es aparente qué parte de la solicitud pueda servir como base para una reivindicación nueva permisible.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To:

Lumb, J. Trevor
PFIZER INC.
201 Tabor Road
Morris Plains, New Jersey 07950
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Attn: Nancy

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

resent by mail on 12.01.05

Date of mailing
(day/month/year)

23.11.2004

Applicant's or agent's file reference
PC20553A

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/IB 03/03388

International filing date (day/month/year)
28.07.2003

Priority date (day/month/year)
07.08.2002

Applicant
WARNER-LAMBERT COMPANY LLC

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

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

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

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

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

Name and mailing address of the international
preliminary examining authority:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2369 - 0 Tlx 623656 epmu d
Fax: +49 89 2369 - 4483

Authorized Officer

Sleex, C

Tel. +49 89 2399-8044



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT
(PCT Article 36 and Rule 70)

101

Applicant's or agent's file reference PC20553A		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEAA16)	
International application No. PCT/IB 03/03388	International filing date (day/month/year) 28.07.2003	Priority date (day/month/year) 07.08.2002	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC ABTK31/5377			
Applicant WARNER-LAMBERT COMPANY LLC			
1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 38. 2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.18 and Section 807 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of sheets.			
3. This report contains indications relating to the following items: I ☒ Basis of the opinion II ☐ Priority III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV ☐ Lack of unity of invention V ☒ Reasoned statement under Rule 66.2(a)(1) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI ☐ Certain documents cited VII ☐ Certain defects in the international application VIII ☐ Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 04.09.2003		Date of completion of this report 23.11.2004	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80293 Munich Tel. +49 89 2399-0 Tx: 823658 epmu d Fax: +49 89 2399-4455		Authorized Officer Borst, M Telephone No. +49 89 2399-5848 	

102

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**International application No. **PCT/IB 03/03388****I. Basis of the report**

1. With regard to the elements of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17):*

Description, Pages

1-29 as originally filed

Claims, Numbers

1-15 as originally filed

Drawings, Figures

1-4 as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

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

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:
- ☐ the drawings, sheets:

103

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**International application No. **PCT/IB 03/03388**

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

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

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application,

☒ claims Nos. 1-15 (no examination as to industrial applicability only)

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 1-15 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (specify):

see separate sheet

☐ the description, claims or drawings (indicate particular elements below) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (specify):

☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for the said claims Nos.

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the Standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the Standard.

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Yes: Claims	2-4,6,11,12,15
	No: Claims	1,5,7-10,13,14
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-15
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	-
	No: Claims	

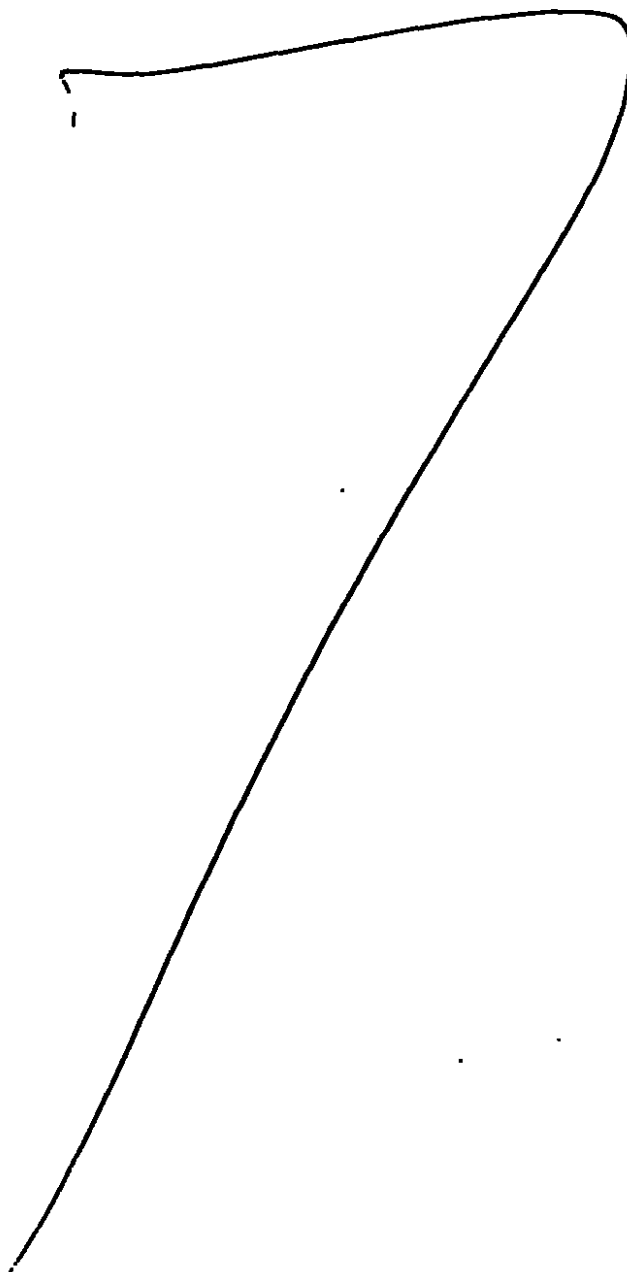
2. Citations and explanations

104

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/IB 03/03388**

see separate sheet



**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**International application No. PCT/IB 03/03386 **105****Re Item III****Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability****Subject-matter excluded from International preliminary examination
(Rule 67.1(iv) PCT)**

Claims 1-15 are directed to a method for the treatment of the human or animal body by therapy and, thus, relates to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 67.1(iv) PCT. Consequently, no opinion will be formulated under Section V with respect to industrial applicability of the subject-matter of these claims (Article 34(4)(a)(i) PCT).

Re Item V**Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

- D1: GIARDIELLO F ET AL: "ANTI-EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR DRUGS IN CANCER THERAPY" EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, ASHLEY PUBLICATIONS LTD., LONDON, GB, vol. 11, no. 6, June 2002 (2002-06), pages 755-766, XP009014333 ISSN: 1354-3784
- D2: ERLICHMAN CHARLES ET AL: "The HER tyrosine kinase inhibitor CI1033 enhances cytotoxicity of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin and topotecan by inhibiting breast cancer resistance protein-mediated drug efflux" CANCER RESEARCH, vol. 61, no. 2, 15 January 2001 (2001-01-15), pages 739-748, XP002257050 ISSN: 0008-5472
- D3: GIESEG MICHAEL A ET AL: "Evidence for epidermal growth factor receptor-enhanced chemosensitivity in combinations of cisplatin and the new irreversible tyrosine kinase inhibitor CI-1033" ANTI-CANCER DRUGS, vol. 12, no. 8, September 2001 (2001-09), pages 683-690, XP009018643 ISSN: 0859-4973
- D4: NELSON JAMES M ET AL: "Akt, MAPK (Erk1/2), and p38 act in concert to promote apoptosis in response to ErbB receptor family inhibition" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 276, no. 18, 4 May 2001 (2001-05-04), pages 14842-14847, XP002257051 ISSN: 0021-9258
- D5: RAO G S ET AL: "Radiosensitization of human breast cancer cells by a novel ErbB family receptor tyrosine kinase inhibitor" INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION ONCOLOGY BIOLOGY PHYSICS, 1 DEC. 2000, ELSEVIER, USA, vol. 48, no. 5, pages 1519-1528, XP002257052 ISSN: 0360-3016
- D6: ZHANG LING ET AL: "Apoptotic sensitization in non-small cell lung cancer cells through tyrosine kinase inhibition: Possible role for cytokine signaling and non-receptor tyrosine kinases as regulators of caspase activation and NSCLC cell survival" PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL, vol. 42, March 2001 (2001-03), page 131, XP001154841 92nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; New Orleans, LA, USA; March 24-

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/IB 03/03388

- 28, 2001, March, 2001 ISSN: 0197-016X
- D7: CIARDIELLO F ET AL: "Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor- selective tyrosine kinase inhibitor" CLINICAL CANCER RESEARCH 2000 UNITED STATES, vol. 6, no. 5, 2000, pages 2053-2063, XP002257053 ISSN: 1078-0432
- D8: SLICHENMYER WILLIAM J ET AL: "CI-1033, a pan-erbB tyrosine kinase inhibitor" SEMINARS IN ONCOLOGY, vol. 28, no. 5 Suppl. 16, October 2001 (2001-10), pages 80-85, XP009018657 ISSN: 0093-7754

1. Novelty (Article 33(2) PCT)

The subject-matter of present claims 1, 5, 7, 8, 9, 10, 13, 14 is not new in the light of D1.

D1 (page 762 - 763, paragraph entitled "6. Small molecule epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: clinical studies) discloses combinations of erbB tyrosine kinase inhibitors, such as ZD1839, with antineoplastic therapies, such as carboplatin, paclitaxel, 5-FU, gemcitabine, for the treatment of cancer.

2. Inventive step (Article 33(3) PCT)**2.1. The subject-matter of present claims 1-6, 9-14 does not involve an inventive step in the light of D2-D5.**

It is known that combinations of CI1033 with Irinotecan, topotecan (D2: page 745-747, paragraph entitled "Discussion"), with cisplatin (D3: page 689, paragraph entitled "Conclusions", table 1), with gemcitabine (D4: figure 2) and with ionizing radiation (D5: figure 5, 7) provide synergistic cytotoxic effects in cancer cell lines. Therefore, it was obvious in the light of these experiments, which correspond to those supplied with the application on file, to use said combinations for the treatment of cancer.

2.2. The subject-matter of present claims 7, 8 and 15 does not involve an inventive step, since the problem posed is not solved for the whole scope of the claims.

The subject-matter of the claims on file is directed to combinations of erbB tyrosine kinase inhibitors with antineoplastic therapies. Since a cytotoxic effect is known for both, for erbB tyrosine kinase inhibitors as well as for antineoplastic therapies, the problem to be solved with the application on file is to provide synergistic antineoplastic combination therapies.

D4 (figure 2) shows that treatment of MDA-MB-453 breast CA cells with CI1033 followed by gemcitabine did not provide an apoptosis-enhancing effect. Therefore, at

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/IB 03/03388

least for the case of C11033 followed by gemcitabine the problem of providing a synergistic cytotoxic effect is not solved for the complete scope of claim 15, in particular as the application of file provides experimental data only for the treatment with gemcitabine followed by C11033.

Similarly, D6 (page 131) reports that erbB tyrosine kinase inhibitors, such as C11033, did not significantly increase apoptotic sensitivity to paclitaxel in non small cell lung cancer cells (NSCLC). Moreover, the experimental data submitted with the application on file show a synergistic effect for bladder CA cells only. Thus, at least for the case of treating NSCLC with a combination of C11033 and paclitaxel, the problem of providing a synergistic cytotoxic effect is not solved for the complete scope of claims 7 and 8.

- 2.3. The subject-matter of present claims 1-12, 14 does not involve an inventive step in the light of D1 or D8 in combination with D1 or D7.

It is known from D1 (page 762, paragraph entitled "5.3 PD-183805/C11033") or D8 (page 84, paragraph entitled "Conclusions") that C11033 is effective in the treatment of cancer. In contrast to the subject-matter of claims 1-12, 14 D1 does not disclose combination of C11033 with paclitaxel, docetaxel, carboplatin, etoposide, adriamycin and capecitabine.

The objective technical problem to be solved in the light of D1 was, therefore, to provide synergistic cytotoxic combinations of C11033.

C11033 is known to be an EGFR tyrosine kinase inhibitor. Moreover, it is known in the art that other EGFR tyrosine kinase inhibitors, such as ZD1839, provide synergistic antitumour activity when combined with paclitaxel, docetaxel, carboplatin, etoposide, adriamycin and 5-FU (D1: page 760-761, paragraph entitled "5.1 ZD1839"; D7: figure 3, 4). Since capecitabine is a prodrug of 5-FU, it is clear that combinations of ZD1839 and capecitabine will be synergistic as well.

In view of the equivalent EGFR tyrosine kinase inhibiting activity of ZD1839 and C11033 it was obvious for the skilled person that combinations of C11033 with paclitaxel, docetaxel, carboplatin, etoposide, adriamycin and capecitabine will be synergistic as well.

Conclusion

It is not at present apparent which part of the application could serve as a basis for a new, allowable claim.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/IB 03/03388

108

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/5377 A61K31/337 A61K31/70 A61K33/24 A61P35/00

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

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

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

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CIARDIELLO F ET AL: "ANTI-EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR DRUGS IN CANCER THERAPY" EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, ASHLEY PUBLICATIONS LTD., LONDON, GB, vol. 11, no. 6, June 2002 (2002-06), pages 755-768, XP009014333 ISSN: 1354-3784 page 762 - 763, paragraph entitled "6. Small molecule epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: clinical studies	1,5,7-10,13,14
Y	page 760-761, paragraph entitled "5.1 ZD1839"	1-12,14
Y	page 762, paragraph entitled "5.3 PD-183805/CI1033"	1-12,14
-/-		

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

* Special categories of cited documents:

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

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

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

"O" document relating 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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 October 2003

Date of mailing of the international search report

23/10/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. 5518 Patentstr. 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-2018

Authorized officer

Borst, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB 03/03388

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ERLICHMAN CHARLES ET AL: "The HER tyrosine kinase inhibitor CI1033 enhances cytotoxicity of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin and topotecan by inhibiting breast cancer resistance protein-mediated drug efflux" CANCER RESEARCH, vol. 61, no. 2, 15 January 2001 (2001-01-15), pages 739-748, XP002257050 ISSN: 0008-5472 page 745-747, paragraph entitled "Discussion"	1-6,9-14
X	GIESEG MICHAEL A ET AL: "Evidence for epidermal growth factor receptor-enhanced chemosensitivity in combinations of cisplatin and the new irreversible tyrosine kinase inhibitor CI-1033" ANTI-CANCER DRUGS, vol. 12, no. 8, September 2001 (2001-09), pages 683-690, XP009018643 ISSN: 0959-4973 page 689, paragraph entitled "Conclusions", table 1	1-6,9-14
X	NELSON JAMES M ET AL: "Akt, MAPK (Erk1/2), and p38 act in concert to promote apoptosis in response to ErbB receptor family inhibition" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 276, no. 18, 4 May 2001 (2001-05-04), pages 14842-14847, XP002257051 ISSN: 0021-9258 figure 2	1-6,9-14
X		15
X	RAD G S ET AL: "Radiosensitization of human breast cancer cells by a novel ErbB family receptor tyrosine kinase inhibitor" INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION ONCOLOGY BIOLOGY PHYSICS, 1 DEC. 2000, ELSEVIER, USA, vol. 48, no. 5, pages 1519-1528, XP002257052 ISSN: 0360-3016 figure 5, 7	1-6,9-14
	-/-	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB 03/03388

109

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZHANG LING ET AL: "Apoptotic sensitization in non-small cell lung cancer cells through tyrosine kinase inhibition: Possible role for cytokine signaling and non-receptor tyrosine kinases as regulators of caspase activation and NSCLC cell survival" PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH ANNUAL, vol. 42, March 2001 (2001-03), page 131 XP001154841 92nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; New Orleans, LA, USA; March 24-28, 2001, March, 2001 ISSN: 0197-016X page 131	7,8
Y	CIARDIELLO F ET AL: "Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor-selective tyrosine kinase inhibitor" CLINICAL CANCER RESEARCH 2000 UNITED STATES, vol. 6, no. 5, 2000, pages 2053-2063, XP002257053 ISSN: 1078-0432 figure 3, 4	1-12,14
Y	SLICHENMYER WILLIAM J ET AL: "CI-1033, a pan-erbB tyrosine kinase inhibitor" SEMINARS IN ONCOLOGY, vol. 28, no. 5 Suppl. 16, October 2001 (2001-10), pages 80-85, XP009018657 ISSN: 0093-7754 page 84, paragraph entitled "Conclusions"	1-12,14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB 03/03388

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

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

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Rule 39.1(iv) PCT: Although claims 1-15 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

Remark on Protest

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

MO

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

PATENTE DE INVENCION

MODELO DE UTILIDAD

USUARIO RADICADOR

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.
- Descripción de la invención.
- Dibujos de ser estos pertinentes.
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.

(✓) ()
(✓) ()
(✓) ()
(✓) ()

COMPLETA ()

INCOMPLETA () ()

DISEÑO INDUSTRIAL ()

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.
- Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.
- Comprobante de pago de las tasas establecidas

() ()
() ()
() ()
() ()

COMPLETA ()

INCOMPLETA () ()

ESQUEMA DE TRAZADO ()

- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.
- Representación gráfica del esquema de trazado
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.

() ()
() ()
() ()
() ()

COMPLETA ()

INCOMPLETA () ()

Firma Responsable:

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Fecha Radicación: 05010076 00000000 Folios: 109
Fecha (ADM): 2005-02-04 16:55:30
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NNCI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES



2020
Bogotá DC

Doctor
CARLOS R. OLARTE
Apoderado
WARNER LAMBERT COMPANY LLC

REFERENCIA:	Radicación No.	05-10076
	Solicitud Internacional	PCT/IB2003/003388
	Fecha inicio fase nacional	07-03-2005
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio No.	194
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC 22 MAR. 2005'


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

202027

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 350 5220
E-mail: Info sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia