

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
9. März 2006 (09.03.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/024675 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
A61K 31/683 (2006.01) A61K 9/127 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)

(74) Anwalt: FITZNER, Uwe; Lintorfer Str. 10, 40878 Ratingen (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/054537

(22) Internationales Anmeldedatum:
29. August 2005 (29.08.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 042 718.6
3. September 2004 (03.09.2004) DE

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

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE GMBH** [DE/DE]; Weberstr. 5, 76133 Karlsruhe (DE). **KTB TUMORFORSCHUNGSGESELLSCHAFT MBH** [DE/DE]; Breisacher Strasse 117, 79106 Freiburg i. Br. (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **KRUG, Harald** [DE/DE]; Friedrichstrasse 53d, 76351 Linkenheim-Hochstetten (DE). **MASSING, Ulrich** [DE/DE]; Im Laimacker 53, 79249 Merzhausen (DE).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: USE OF ALKYLPHOSPHOLIPIDS FOR THE TREATMENT OF SOLID TUMOURS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON ALKYLPHOSPHOLIPIDEN ZUR BEHANDLUNG SOLIDER TUMORE

(57) Abstract: The invention relates to the use of a pharmaceutical preparation, containing alkylphospholipids (APL) of general formula (I), for the treatment of solid tumours, said pharmaceutical preparation as a novel liposomal formulation and novel alkylphospholipids (APL) of formula (II), (IIa) and (IIb) as active agents for the treatment of tumours.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung, enthaltend Alkylphospholipide (APL) der allgemeinen Formel (I) zur Behandlung solider Tumore, die genannte pharmazeutischen Zubereitung als neue liposomale Formulierung sowie neue Alkylphospholipide (APL) der Formel (II), (IIa) und (IIb) als Wirkstoff zur Behandlung von Tumoren.

WO 2006/024675 A1

VERWENDUNG VON ALKYLPHOSPHOLIPIDEN ZUR BEHANDLUNG SOLIDER TUMORE

5

Diese Anmeldung nimmt die Priorität der DE 10 2004 042 718.6-11 in Anspruch.

Die Erfindung betrifft die Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung, enthaltend Alkylphospholipide (APL) der allgemeinen Formel (I) zur Behandlung solider Tumore,
10 die genannte pharmazeutischen Zubereitung als neue liposomale Formulierung sowie neue Alkylphospholipide (APL) der Formeln (II), (IIa) und (IIb) als Wirkstoffe zur Behandlung von Tumoren.

Pharmazeutische Zubereitungen enthaltend bestimmte Alkylphospholipide (APL) der
15 allgemeinen Formel (I), die eine inhibitorische Wirkung auf die enzymatische Aktivität der Phospholipase A2 aufweisen sind aus der DE 42 34 130 A1 bekannt. Die Herstellung sowie die Verwendung einiger Alkylphospholipide (APL) der allgemeinen Formel (I) ist des weiteren auch in Massing et al. (Chem. Phys. Lipids, 1994, 69, 105-120) beschrieben.

20

Bestimmte synthetische Alkylphospholipide (APL) sind als antitumoral wirksam bekannt. Synthetische APL sind Analoga natürlich vorkommender Phospholipide, bei denen die natürlichen Carbonsäureesterbindungen durch Etherbindungen oder durch
Methylengruppen ersetzt oder vollständig entfernt wurden. Es sind auch Modifikationen
25 des polaren Kopfes dieser Lipide beschrieben worden. Die heute als antitumoral wirksam diskutierten APL sind meist Analoga des Lyso-Phosphatidylcholins.

Beispiele dafür sind Hexadecylphosphocholin (HePC), Edelfosin (Et-18-OCH₃, rac-2-methyl-1-octadecyl-glycero-(3)-phosphocholine) oder Ilmofosin (Thioanaloga des Edelfosins).

30 Klinische Studien bei denen APL (z.B. Hexadecylphosphocholin) systemisch (orale Applikation) zur Behandlung des Mammacarcinoms eingesetzt wurden, sind daran gescheitert, dass die notwendige zu applizierende Menge (für einen ausreichenden antitumoralen Effekt) zu nicht vertretbaren gastrointestinalen Nebenwirkungen geführt hat. Dementsprechend ist Hexadecylphosphocholin nur als Hautsalbe zur Behandlung von
35 Hautmetastasen des Mammacarcinoms zugelassen worden.

Ein ähnlichen Schicksal ist dem APL Et-18-OCH₃ (Edelfosin®) widerfahren. Auch hier hatten die klinischen Studien keinen Erfolg, die Substanz wird heute zum extracorporalen Purgung von Knochenmark eingesetzt.

Ein weiteres APL, deren Einführung in die Klinik gescheitert ist, ist das Ilmofofin
5 (Thioanaloga des Edelfosins).

Weitere Analoge natürlich vorkommender Phospholipide sind als antitumoral wirksam gegen leukämische Zellen aus Bonjouklian et al. (J. Med. Chem., 1986, 29, 2472-2477) oder Matzke et al. (Eur. J. Cell Biol., 2001, 80, 1-10) bekannt.

10

Im Gegensatz zu leukämischen Krebserkrankungen sind die Erfolgsaussichten bei der Therapie von soliden Tumoren heute immer noch schlecht, insbesondere die medikamentöse Krebstherapie trägt nur zu etwa 4 % der Heilungen bei. Ein noch
15 größeres Problem stellt speziell die Behandlung von Hirntumoren dar, da Wirkstoffe aufgrund der Blut-Hirnschranke nicht in notwendigen Mengen den Tumor erreichen können.

Ein zusätzliches Problem ist die Verhinderung der Wirkstoffanreicherung in Tumorgewebe und -zellen durch die sogenannte „Multi drug resistance“. Hierbei
20 transportieren p-Glycoproteine (p-Gp), die durch den Wirkstoff induziert wurden, die Wirkstoffe rasch wieder aus der Zelle heraus. Dieser Effekt stellt ein besonderes Problem bei der Behandlung von Hirntumoren dar, da die Kapillarendothelzellen des Hirns p-Gp grundsätzlich besonders hoch exprimieren (d.h. auch ohne Induktion durch
25 den Wirkstoff). Ein Beispiel für dieses Problem ist die schlechte Aufnahme des Wirkstoffs Paclitaxel in Hirntumoren (Fellner, S. et. al., 2002: Clin. Invest. 110; 1309).

Ein zusätzliches Problem beim Einsatz der meisten Zytostatika ist ihre mutagene Wirkung auch auf die gesunden Zellen von Patienten, welche auf einer direkten Wechselwirkung
30 des Zytostatikums mit der DNA dieser Zellen beruht.

Bisher haben sich APL zur Behandlung von soliden Tumoren und auch von Hirntumoren nicht durchsetzen können. Der wesentliche Grund dafür ist, daß für die Behandlung von soliden Tumoren deutlich höhere Wirkstoffspiegel benötigt werden, als es für das Abtöten
35 von leukämischen Zellen notwendig wäre, da leukämische Zellen viel empfindlicher gegen APL sind.

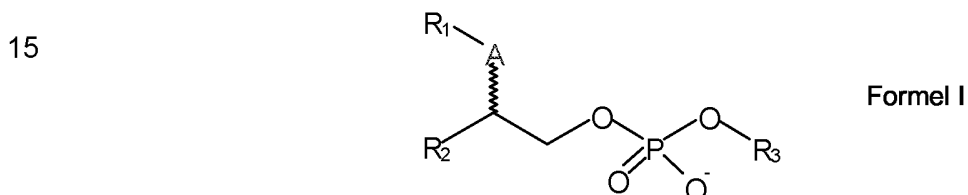
Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es pharmazeutische Zubereitungen zur Verfügung zu stellen, welche die oben genannten Probleme überwinden und zur Behandlung solider Tumore eingesetzt werden können.

Eine weitere Aufgabe ist es, neue APL zur Behandlung von Tumoren zur Verfügung zu stellen, die ein hohes antitumorales Wirkpotential besitzen.

Ferner ist es Aufgabe der vorliegenden Erfindung, pharmazeutische Zubereitungen und/oder neue synthetische Alkylphospholipide (APL) bereitzustellen, die eine gegenüber dem Stand der Technik verbesserte Wirksamkeit aufzeigen.

Des weiteren ist es Aufgabe pharmazeutische Zubereitungen zur Verfügung zu stellen, die eine hohes tumorspezifisches Wirkpotential besitzen.

Ein erfindungsgemäßer Lösungsansatz ist die Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung, enthaltend mindestens ein Alkylphospholipid der allgemeinen Formel (I)



wobei A für O oder NR⁴, wobei R⁴: H, C1-C20-Alkyl ist;

20 R¹ für H, C1-C20-Alkyl oder COR⁵, wobei R⁵: H oder C1-C20-Alkyl ist;

R² für ein C10-C22-Alkyl und

R³ für Cholin, Carbacholin, Serin, Inositol, H, Ethanolamin oder Glycerol

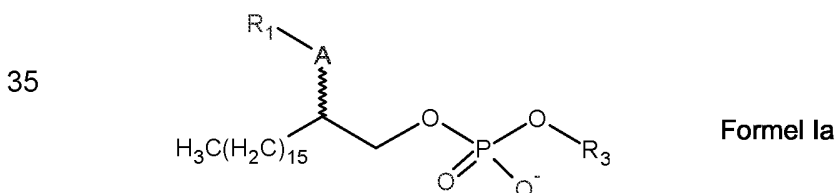
steht zur Behandlung solider Tumore.

25 Bevorzugt enthält die pharmazeutische Zubereitung Verbindungen der Formel I in denen A für NR⁴ und R¹ für H steht.

Ebenfalls bevorzugt sind pharmazeutische Zubereitungen enthaltend Verbindungen der Formel I in denen A für O und R¹ für H, Methyl oder COR⁵ mit R⁵ gleich Methyl steht, besonders bevorzugt R¹ für Methyl oder COCH₃ steht, insbesondere R¹ für

30 Methyl steht.

Weiterhin bevorzugt verwendet werden Alkylphospholipide der allgemeinen Formel (Ia):



wobei

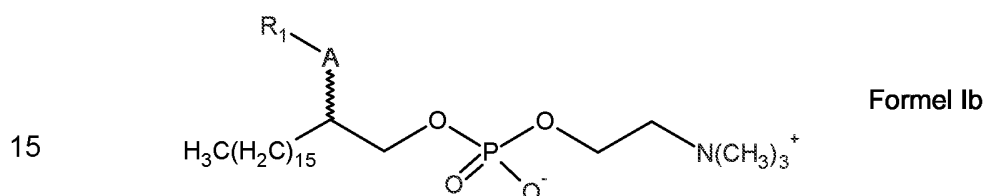
A für O oder NR^4 , wobei R^4 : H, C1-C20-Alkyl ist;

R^1 für H, C1-C20-Alkyl oder COR^5 , wobei R^5 : H oder C1-C20-Alkyl ist;

5 und R^3 für Cholin, Carbacholin, Serin, Inositol, H, Ethanolamin oder Glycerol steht.

Besonders bevorzugt werden Verbindungen der Formel I eingesetzt in denen R^3 für Cholin steht.

10 Insbesondere bevorzugt sind die pharmazeutische Zubereitung enthaltend Verbindungen der allgemeinen Formel (Ib):



wobei

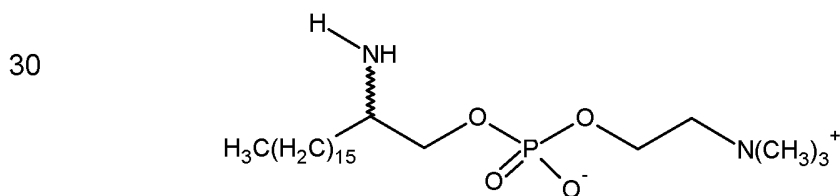
A für O oder NR^4 , wobei R^4 : H, C1-C20-Alkyl ist;

R^1 für H, C1-C20-Alkyl, oder COR^5 , wobei R^5 H oder C1-C20-Alkyl ist;

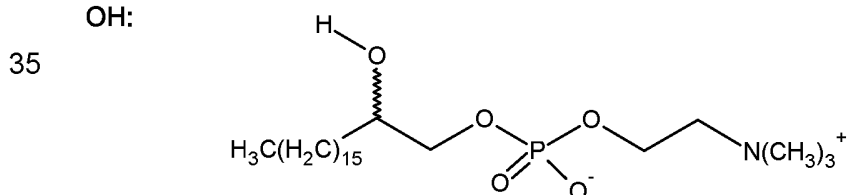
20 steht.

Des weiteren sind besonders pharmazeutische Zubereitungen enthaltend Verbindungen der Formel (Ib) bevorzugt, in denen die restlichen Substituenten A und R^1 folgende Bedeutung haben und gemäß diesen Substituenten bezeichnet werden wie folgt:

NH_2 :

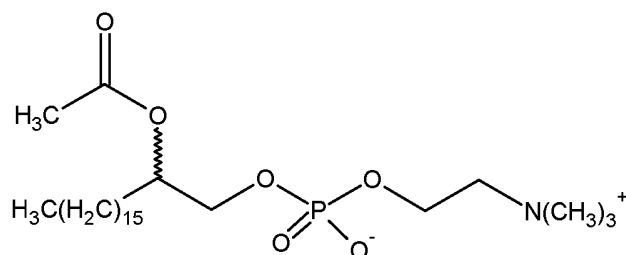


OH:



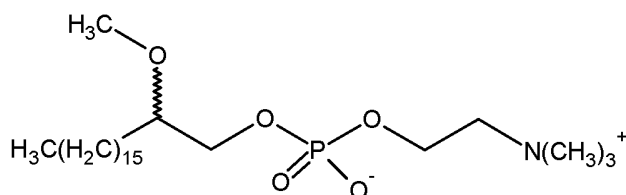
OC2:

5



OMe:

10



15

Die Verbindungen können in der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitung in der chemischen R- oder S-Konfiguration oder auch racemisch vorliegen. Die Angabe der Konfiguration ist Teil der abgekürzten Bezeichnung.

- 20 Besonders bevorzugt sind pharmazeutische Zubereitungen enthaltend folgende Verbindungen der Formel (Ib): S-NH₂, S-OH, S-OC₂, S-NC₂, rac-OMe, S-OMe, R-NH₂, R-OH, R-OC₂, R-NC₂, R-OMe, insbesondere rac-OMe.

- 25 Die Synthese der enantiomerenreinen Verbindungen der Formel (Ib) wird von Massing et al. in Chemistry and Physics of Lipids, 69, 105-120, 1994 beschrieben. Die Synthese der Verbindungen der Formel (I) erfolgt mittels analoger, dem Fachmann bekannter, Verfahren.

- 30 Die erfindungsgemäße Verwendung der APL hat überraschenderweise gezeigt, dass es Zellen bestimmter solider Tumoren gibt, bei denen deutlich geringere APL-Konzentrationen zu deren Abtöten ausreichen, als dies bisher für Zellen solider Tumoren bekannt war. Einige diese Verbindungen sind generell wirksamer als HePC, das einzige für die Tumorthherapie zugelassene APL (s.o.).

35

Die erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitungen enthaltend APL haben gegenüber klassischen Zytostatika folgende Vorteile:

APL sind keine Substrate für p-Gp (P-Glycoprotein, ursächlich an der „multi drug resistance“ MDRI von Tumorzellen beteiligt), eine Entgiftung der Zellen via Hochregulation von MDRI ist daher nicht möglich.

Außerdem können die als antitumoral beschriebenen Gruppen von APL ähnlich wie
5 Lysolipide einfach im Blut transportiert werden (z.B. an Albumin, als Micellen, in Lipoproteinen etc.). Diese lysolipidanaloge APL können durch Flip-Flop Zellmembranen durchdringen und so rasch in Gewebe und Zellen gelangen. Zudem können sie an Albumin oder an Lipoprotein gebunden von Gewebe/Zellen aufgenommen werden. Somit eignen sich die APL besonders gut als Wirkstoffe, insbesondere gegen solide Tumoren
10 sowie gegen Hirntumoren.

Ein weiterer Vorteil ist der Zielort der APL, der nachweislich an der Zellmembran liegt, wodurch eine mutagene Wirkung auf gesunde Zellen völlig vermieden wird.

Somit stellt die erfindungsgemäße Verwendung eine Möglichkeit dar, APL zur Therapie
15 APL-sensitiver solider Tumoren einzusetzen und damit die immanenten Nachteile klassischer Zytostatika zu umgehen (hohe mutagene Potenz, Substrate für MDR).

Erfindungsgemäß kann die pharmazeutische Zubereitung als Tablette, Salbe, Zäpfchen, Granulat, Injektionspräparat oder Aerosol vorliegen. Hierzu enthält die pharmazeutische
20 Zubereitung weitere Hilfsstoffe wie Trägerstoffe und Stabilisatoren.

Unter „Hilfsstoffen“ sind beispielsweise folgende Substanzen zu verstehen, die jedoch nicht limitierend für die vorliegende Erfindung sind: wasserunlösliche Hilfsstoffe oder Gemische davon, wie Lipide, u.a. Fettalkohole, z.B. Cetylalkohol, Stearylalkohol und Cetostearylalkohol; Glyceride, z.B. Glycerinmonostearat oder Gemische von Mono-,
25 Di- und Triglyceriden pflanzlicher Öle; hydrierte Öle, wie hydriertes Rizinusöl oder hydriertes Baumwollsaamenöl; Wachse, z.B. Bienenwachs oder Carnaubawachs; feste Kohlenwasserstoffe, z.B. Paraffin oder Erdwachs; Fettsäuren, z.B. Stearinsäure; gewisse Cellulosederivate, z.B. Ethylcellulose oder Acetylcellulose; Polymere oder Copolymere, wie Polyalkylene, z.B. Polyäthylen, Polyvinylverbindungen, z.B. Polyvinylchlorid oder Polyvinylacetat, sowie Vinylchlorid-Vinylacetat-Copolymere und Copolymere mit Crotonsäure, oder Polymere und Copolymere von Acrylaten und Methacrylaten, z.B. Copolymerisate von Acrylsäureester und Methacrylsäuremethylester; oder weitere Lösungsmittel, Emulgatoren oder Tenside, wie z.B. Polysorbat
30 80 oder Docusat.

Außer den genannten Hilfsstoffen und Wirkstoffen kann das erfindungsgemäße Mittel
35 zusätzlich Füll-, Spreng-, Binde- und Gleitmittel sowie Trägerstoffe enthalten, die auf die Wirkstoffabgabe keinen entscheidenden Einfluß haben. Beispiele sind u.a. Bentonit

(Aluminiumoxid-Siliciumoxid-Hydrat), Kieselsäure, Cellulose (üblicherweise mikrokristalline Cellulose) oder Cellulosederivate, z.B. Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose, Zucker, wie Lactose, Stärken, z.B. Maisstärke oder Derivate davon, z.B. Natriumcarboxymethylstärke, Stärkeleister, Phosphorsäuresalze, z.B. Di- oder Tricalciumphosphat, Gelatine, Stearinsäure oder geeignete Salze davon, z.B. Magnesiumstearat oder Calciumstearat, Talk, kolloidales Siliciumoxid und ähnliche Hilfsstoffe.

Als weitere Hilfsstoffe sind Konservierungsmittel, Antioxidanzien, Netzmittel, Lösungsvermittler, Stabilisatoren, Puffersubstanzen sowie gegebenenfalls Aroma- und/oder Farbstoffe zu berücksichtigen.

Ferner sind weitere Formulierungen möglich, wie sie zum Beispiel in „Arzneiformenlehre“, Ursula Schöffling, 4. Aufl., Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart 2003, beschrieben werden.

Ein besonders Problem bei einer Anwendung der APL gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) für therapeutische Zwecke ist der Umstand, daß (a) ihr therapeutisches Potential nicht nur von ihrer jeweiligen Struktur, sondern auch von ihren biophysikalischen Eigenschaften abhängt und sie als Lipide (b) schwierig zu applizieren sind. Eine besondere Herausforderung bei der Entwicklung moderner Medikamente ist zudem der Anspruch des sog. Drug Targetings (c), wobei die Wirkstoffe durch die gewählte Formulierung bevorzugt in den erkrankten Geweben/Zellen angereichert werden sollen.

(a) Die biophysikalischen Eigenschaften der Alkylphospholipide gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) hängen von den Resten R1, R2 und R3 ab und können denen von Lyso-Lipiden (niedrige CMC, (abgeleitet von engl.: critical micelle concentration)) als auch denen von zweikettigen Phospholipiden (hohe CMC, wie z.B. Lecithin) entsprechen. Die biophysikalischen Eigenschaften sind zunächst für eine gute Aufnahme (niedrige CMC) bzw. schlechte Aufnahme (hohe CMC) in Zellen verantwortlich und beeinflussen damit zeitnah den therapeutischen Erfolg. Andererseits ist die Verweildauer von Lipiden mit hoher CMC in zellulären Systemen höher, weil diese nicht rasch aus den Membranen entfernt werden können. Somit ist bei der Entwicklung von Arzneimitteln mit lipidischen Wirkstoffen insbesondere auf geeignete biophysikalische Eigenschaften zu achten.

(b) Ein weiteres Problem bei der Entwicklung von Arzneimitteln mit lipidischen Wirkstoffen ist, daß eine direkte Applikation der beschriebenen Verbindungen in aller Regel nicht möglich ist. Handelt es sich um Lyso-Lipid-Strukturen (niedrige CMC), so sind diese mizellar löslich. Bei i.v.-Injektionen verursachen diese Verbindungen

- hämolytische Effekte. Bei oraler Applikation stellt die rasche Aufnahme der Lipide mit niedriger CMC durch die Zellen des gastrointestinalen Traktes (GI) ein Problem dar, die Substanzen verursachen schwere GI-Nebenwirkungen. Im Prinzip handelt es sich hier um eine lokale Applikation der Lipide in den Magen/Darm-Trakt, die natürlich auch
- 5 therapeutisch genutzt werden kann. Handelt es sich um lecithin-ähnliche Lipide (hohe CMC), ist eine i.v.-Applikation (intravenös) nicht möglich, da die Verbindungen in keiner Weise wasserlöslich sind und zur Ausbildung von großen Aggregaten neigen (Gefahr von Thrombosen/Embolien) und biologisch nur begrenzt verfügbar sind. Die orale Applikation von Lipiden mit hoher CMC ist möglich, allerdings werden die Lipide über
- 10 die Lipoproteine transportiert und werden auf diese Art nicht unbedingt im erkrankten Gewebe akkumuliert (andererseits kann dieser Weg für ein entsprechendes Targeting, z.B. in der Leber, genutzt werden). GI-Nebenwirkungen (insbesondere bei den Inhibitoren der PLA2 [Phospholipase A2] durch Inhibition der pankreatischen PLA2) treten auch hier auf.
- 15 (c) Um ein möglichst gutes Ansprechen der jeweiligen Wirksubstanz gegen bestimmte Erkrankungen zu gewährleisten, sollten die Substanzen möglichst selektiv am Wirkort akkumuliert werden (Drug-Targeting, Verstärkung der Wirkung und Verringerung der Nebenwirkungen).
- 20 Diese Probleme konnten durch die Formulierung der Verbindungen gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) als Liposomen gelöst werden. Liposomen sind sphärische Gebilde, die aus Amphipilen aufgebaut sind. In wässrigen Lösungen entstehen Liposomen durch Selbstaggregation der Amphipilen, wobei sich eine Lipiddoppelschicht bildet, die einen wässrigen Innenraum einschließt.
- 25 In Abhängigkeit von physikalischen Parametern wie mechanischen Einflüssen, Druck, Temperatur und der Ionenkonzentration sowie der vorhandenen Lipide und Zusatzstoffe, bilden sich unilamellare, oligolamellare oder multilamellare Liposomen. Die Liposomen können abhängig von ihren Bestandteilen eine positive oder negative Überschlußladung tragen.
- 30 Liposomen können auch mit Wirkstoffen beladen werden, die je nach Lipophilie oder Hydrophilie in der Lipidschicht oder im wässrigen Innenraum der Liposomen eingeschlossen sind. Derartige Liposomen werden in diagnostischen Nachweisverfahren oder als therapeutische Mittel zum Transport von Wirkstoffen im Organismus oder als Wirkstoffdepot verwendet.
- 35 Die Eigenschaften der Liposomen, wie beispielsweise ihre Stabilität oder Lagerfähigkeit, werden wesentlich durch die in der Lipidschicht vorhandenen Substanzen bestimmt.

Zur Herstellung von Liposomen werden membranbildende Lipide, wie beispielsweise Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylglycerin (PG), Phosphatidylserin (PS), Phosphatidylinositol (PI) und Phosphatidylethanolamin (PE), Sphingomyelin, membranbildende Amphipile, wie beispielsweise Blockpolymere, Alkylester, -ether, amide von Zuckern, Diole und Polyole, Amine, Aminosäuren, Peptide und Zucker, Cholesterol sowie weitere Stoffe verwendet.

Auch weitere Lipide können eingesetzt werden, bei denen die oben beschriebenen Probleme bei der Applikation, Auswahl geeigneter Lipide für bestimmte Indikationen sowie dem Drug-Targeting umgangen werden.

Somit ist es möglich, durch das Einbringen der APL Alkylphospholipide gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) in neutrale Liposomen (mit neutraler Nettoladung, mit oder ohne Stealth-Komponenten - Stealth-Komponenten sind Strukturen auf der Liposomen-Oberfläche, bevorzugt Beschichtungen, die eine Immunreaktion verhindern, zum Beispiel Polyethylenglykolketten, PEG 2000) deren Tumor-Targeting und eine verbesserte antitumorale Wirkung zu erreichen.

Ferner kann durch das Einbringen der APL gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) in sog. VPG (Vesikuläre Phospholipid Gele) deren Tumor-Targeting und eine verbesserte antitumorale Wirkung erreicht werden.

Außerdem kann durch das Einbringen der APL gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) in Liposomen mit positiver Überschlußladung (Nettoladung) deren Tumorendothelzell-Targeting und damit eine verbesserte spezifische antitumorale Wirkung erreicht werden.

Des weiteren kann durch das Einbringen der APL gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) in Liposomen mit negativer Nettoladung (mit oder ohne Stealth-Komponenten) deren Tumor-Targeting und eine verbesserte antitumorale Wirkung erreicht werden.

In einer bevorzugten Ausführung der vorliegenden Erfindung enthält die pharmazeutische Zubereitung neben den Alkylphospholipiden der Formel I, Ia oder Ib weitere Lipide.

Bevorzugt stellt die pharmazeutische Zubereitung eine Lipidmischung mit neutraler Nettoladung dar.

In einer anderen bevorzugten Ausführungsform stellt die pharmazeutische Zubereitung eine Lipidmischung mit positiver Nettoladung dar.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform stellt die pharmazeutische Zubereitung bevorzugt eine Lipidmischung mit negativer Nettoladung dar.

5 Besonders bevorzugt enthält die pharmazeutische Zubereitung eine Komposition der zusätzlichen Lipide, die der Lipidkomposition des Surfactants angelehnt ist.

Hier ist das Lungen-Surfactant gemeint. Diese Lipidkomposition zeichnet sich (biophysikalisch) dadurch aus, daß sie die Oberflächenspannung des Wasserfilms in der Lunge (Aveolen) drastisch reduziert.

10 Natürliches Surfactant hat folgende Zusammensetzung: Phospholipide: ca. 81%, Surfactantproteine (SP-A, -B, -C, und -D): ca. 5,4 %; freie Fettsäuren: ca. 1,6%, Glyceride: ca. 0,6% und Cholesterol ca. 5,6%. Typische Merkmale der Zusammensetzung des Surfactants sind von der Phospholipidseite zudem der für biologische Systeme hohe Gehalt an gesättigten Glycerophospholipiden (insbesondere DPPC 1,2-Dipalmitoyl-sn-3-phosphatidylcholin, Hauptbestandteil, und DPPG 1,2-Dipalmitoyl-sn-3-phosphatidylglycerol, 15 5-15%).

Die erfindungsgemäßen Surfactant-like APL-Liposomen enthalten (Mol-%):

- 20 (a) bis 20 % APL, bevorzugt 2-18%, 5-15%, besonders bevorzugt 8 bis 12%, insbesondere 10%
- (b) 40-90% gesättigtes Phosphatidylcholin (DPPC oder hydriertes Ei/Soja-PC), bevorzugt 50-60%, besonders bevorzugt 70-80%
- (c) 5-15 % gesättigtes Phosphatidylglycerol (neg. geladenes Phospholipid, bevorzugt DPPG), bevorzugt 8-12%, insbesondere 10%
- 25 (d) bis 20 % Cholesterol,
- (e) bis 30 % nicht hydriertes Ei- oder Soja-PC
- (f) bis 10 % andere Phospholipide (PI, PE, PS)
- (g) gegebenenfalls Surfactantproteine (insbesondere SP-B und SP-C) bis zur natürlichen Konzentration.

30

Weiterhin ist es wesentlich, daß die erfindungsgemäßen Liposomen kein Sphingomyelin enthalten.

35 Bevorzugt erfolgt die Verabreichung der Liposomen als micellare Lösung in Puffer/Medium als isotonisches Gemisch. In einer Variante wird hierzu eine Phosphat-gepufferte isotonische Kochsalzlösung eingesetzt.

Ferner kann die Verabreichung unter Umgehung einer i.v. -Injektion/Infusion oder des gastro-intestinalen Traktes erfolgen, zum Beispiel als Injektion/direkte Instillation (Einzeldosis) in die Lunge oder auch die Infusion (kontinuierliche Gabe) in die Lunge. Dies kann auch ambulant erfolgen, ist aber insbesondere bei einer Beatmung des Patienten leicht möglich.

Dazu gibt es noch die Möglichkeit der Inhalation, d.h. die Gabe als Aerosol. Dies kann mit Liposomen in wäßrigem Milieu erfolgen oder durch Gabe der (gefrier-) getrockneter Lipide. Bei einer Lipidkomposition, die die Oberflächenspannung nicht erhöht wäre mehrere Applikationen am Tag möglich.

Die erfindungsgemäßen APL gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) sowie die erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitungen können ferner als Aktivatoren und Mediatoren von Zell-, Immun-, und Gentherapien eingesetzt werden.

Beispiel 1: Vergleich der APL-Wirkung an einer Mammacarzinom-Zelllinie und einer leukämischen Zelllinie:

In einer Studie wurden die IC₅₀ und die LD₅₀-Werte von verschiedenen APL des Lysolipid-Typs an HL-60-Zellen (leukämisch) und an MDA-MB-468-Zellen (Mammarcarzinom) untereinander und mit HePC verglichen. Es zeigte sich, daß die IC₅₀ und LD₅₀ Werte eines bestimmten APLs, S-OC2, bei beiden Zelllinien deutlich besser waren als HePC. Zudem zeigte sich ein spezifischer Effekt der Verbindungen S-OH/R-OH auf die metabolische Aktivität speziell bei MDA-Zellen. Die metabolische Aktivität dieser Mammarcarzinom-Zellen wurde um den Faktor 3-9 stärker gehemmt als bei Verwendung von HePC und ungefähr 10 mal stärker als bei den leukämischen HL-60 Zellen.

Beispiel 2: Colony-Assays mit soliden humanen Tumoren:

In einer weiteren Studie wurde die Wirkung von verschiedenen APL auf verschiedene humane Tumoren im sog. Colony-Assay untersucht. Bei diesem Assay werden Zellen aus humanem Tumormaterial in eine Agarschicht eingesät, wo sie, wenn sie nicht behandelt werden, zählbare Kolonien bilden. Antitumorale Wirkstoffe können die Kolonienzahl verringern. Die Effektivität wird meist in IC₇₀ Werten ausgedrückt. Der

Colony-Assay ist hinsichtlich seiner prognostischen Eigenschaften zwischen dem reinen Zellkulturexperiment und dem Tierexperiment anzusiedeln.

Im Test waren verschiedene humane, solide Tumoren (Blase, Head-Neck, 2 x Lunge, Ovarial und Nierenzell-Karzinome). Es zeigte sich, daß einige der APL deutlich
5 bessere antitumorale Wirkungen aufweisen als HePC (mittlere IC70: 28 µM): S-OC2: 6.7 µM; S-NC2: 4.7 µM; R-NH2: 9.7 µM; S-NH2: 4.3 µM; R-NC2: 7.3 µM und racOMe: 8.1µM

Insbesondere zeigte sich, daß die Tumoren nicht gleichmäßig empfindlich auf APL reagierten. So waren KB (Head-Neck-Tumoren) und ein Lungentumor extrem sensitiv
10 gegenüber APL.

Ein Vergleich der IC70-Werte der APL zwischen den verschiedenen Tumorzellen zeigte überraschend, daß bestimmte APL offensichtlich hoch selektiv bestimmte Zellen töten (d.h. das Verhältnis der höchsten und niedrigsten IC70-Werte eines bestimmten APLs an den verschiedenen Tumoren ist höher als 100).

15 Hochselektive APL sind : S-OC2: 124; S-OH: >100; S-NH2: >100, und racOMe: >150. Dies spricht für einen spezifischen Wirkmechanismus, der offensichtlich nur in bestimmten Tumorzellen zum Tragen kommt. HePC zeigt eine Sektivitäten von 50.

Zusammenfassend lassen diese Experimente die Aussage zu, dass APL mit einer
20 guten bis hohen antitumoralen Potenz (niedrige IC70-Werte) in Kombination mit einer hohen Selektivität als geeignete Kandidaten für eine erfolgreiche Therapie bestimmter Tumoren in Frage kommen. Solche Verbindungen könnten sein: racOMe, S-NH2; S-OC2, S-OH.

25

Beispiel 3: Bestätigung der oben beschriebenen Entdeckungen in vivo:

Um die im Colony-Assay gemachte Entdeckung in vivo zu verifizieren, wurde an einem humanen Tumoxenograft auf der Nacktmaus (Tumor: der gegenüber APL empfindliche Head-Neck-Tumor „KB“) die Wirkung von racOMe und S-NC2 verglichen.
30 racOMe war hochselektiv gegen KB Tumoren, S-NC2 hingegen nicht (vergleiche oben). Die Tiere wurden mit den beiden APL an Tag 1 und 8 (oral) mit 100 mg/kg behandelt. Bei dieser Dosierung traten keine toxischen Effekte auf, die Entwicklung des Körpergewichts war normal. Die Wirkung von racOMe mit einer Reduktion des
35 Tumorwachstums auf 19,4 % der Kontrolle war deutlich.

Beispiel 4: Antiangiogene Wirksamkeit von APL

In den o.g. in vitro Experimenten mit APL zeigten untersuchte Nierenzellkarzinom-Zellen nur eine durchschnittliche Sensitivität gegenüber APL. Um so überraschender war es, dass bei Tierexperimenten mit immunkompetenten Mäusen, in die ein Renca-Nierenzelltumor implantiert wurde, bei der Behandlung mit racOMe (50 µmol/kg/d, oral) eine deutliche Abnahme des Primärtumorgewichtes auf ca. 60 % der Kontrolle zu beobachten war, und die Zahl der Metastasen in der Lunge auf ca. 50 % und in den Lymphknoten auf ca. 20 % der Kontrolle abnahm. Dies deutet auf einen überraschenden antiangiogenen Effekt hin, der anschließend durch Experimente an HUVEC-Zellen erhärtet werden konnte: In einem SRB-Assay mit HUVEC-Zellen wurde die Wachstumshemmung unter racOMe mit der Wachstumshemmung unter TNP470, einem bekannten und starken Angiogenese-Inhibitor, verglichen. Der IC₅₀-Wert für racOMe lag bei 0.5 µM, während der IC₅₀-Wert von TNP470 bei ca. 25-30 µM lag.

Beispiel 5: Wirksamkeit von APL gegen Gliomablastome.

Gliomablastome sind als radio- und chemoresistente Krebszellen bekannt. Es wurde die Wirksamkeit von S-OC2 und von racOMe gegen drei verschiedene Gliomablastomzelllinien untersucht. Überraschenderweise waren die untersuchten APL gegen zwei der Zelltypen (LNT-229 und LN18) hoch wirksam mit LD₅₀-Werten von ca. <10 µM für LNT229 und <20 µM für LN-18. Beim dritten Zelltyp, LN-308, lag die Wirkung bei über 30 µM).

Die APL gemäß Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) sowie die erfindungsgemäßen pharmazeutische Zubereitungen stellen damit eine vielversprechende Wirkstoffgruppe zur selektiven Behandlung bestimmter Tumoren dar.

Beispiel 6: Herstellungsprotokoll Liposomen

Die APL und die für die Liposomenbildung notwendigen Lipide (z.B. die Lipidkomposition, wie sie unter „Surfactant-Liposomen“ beschrieben wurde) werden eingewogen und mit geeignetem organischen Lösungsmittel (z.B. Ethanol, 2-Propanol oder z.B. Chloroform/Methanol (2:1)) aufgenommen und in einen Rundkolben

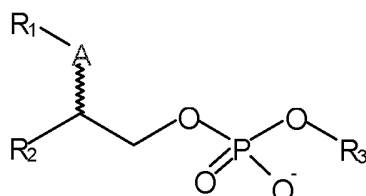
überführt. Das Lösungsmittel wird vorsichtig unter Vakuum und Rotation des Kolbens entfernt, bis ein glasiger Lipidfilm auf dem Glas entsteht. Lösungsmittelreste werden durch Anlegen von Hochvakuum über 24 h entfernt. Anschließend wird die erforderliche Menge an Flüssigkeit (z.B. physiologische Kochsalzlösung oder ein isotonischer Puffer) zugegeben, der Kolben auf eine Temperatur 5 °C höher als die Phasenübergangstemperatur des Lipides mit der höchsten Phasenübergangstemperatur erwärmt und der Kolben sanft geschüttelt (sog. Hand-Shaken-Liposomes). Anschließend wird die Liposomendispersion mit Ultraschall beschallt, bis kleine, unilamellare Vesikel (SUV) entstehen. Die Liposomengröße kann auch z.B. durch Extrusion eingestellt werden.

Alternativ können die Liposomen auch durch Hochdruckhomogenisation oder durch die Injektionsmethode hergestellt werden.

Patentanprüche

1. Verwendung einer pharmazeutischen Zubereitung, enthaltend mindestens ein Alkylphospholipid der allgemeinen Formel (I)

5



Formel I

10

wobei

A für O oder NR⁴,wobei R⁴: H, C1-C20-Alkyl ist;R¹ für H, C1-C20-Alkyl oder COR⁵,wobei R⁵: H oder C1-C20-Alkyl ist;

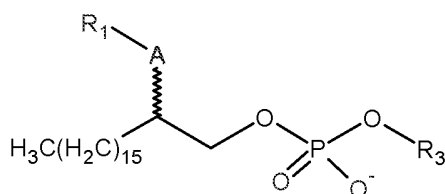
15

R² für ein C10-C22-Alkyl undR³ für Cholin, Carbacholin, Serin, Inositol, H, Ethanolamin oder Glycerol steht,

zur Behandlung solider Tumore.

2. Verwendung nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung mindestens ein Alkylphospholipid der allgemeinen Formel (Ia) enthält:

20



Formel Ia

30

wobei

A für O oder NR⁴,wobei R⁴: H, C1-C20-Alkyl ist;R¹ für H, C1-C20-Alkyl oder COR⁵,wobei R⁵: H oder C1-C20-Alkyl ist;

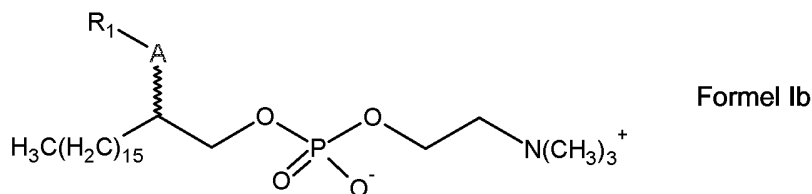
und

35

R³ für Cholin, Carbacholin, Serin, Inositol, H, Ethanolamin oder Glycerol steht.

3. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 2 dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung mindestens ein Alkylphospholipid der allgemeinen Formel (Ib):

5



10

enthält,

wobei

A für O oder NR⁴,wobei R⁴ H, C1-C20-Alkyl ist;R¹ für H, C1-C20-Alkyl, oder COR⁵,

15

wobei R⁵ H oder C1-C20-Alkyl ist;

steht.

4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3 dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Alkylphospholipid um das R-Enantiomer handelt.

20

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3 dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Alkylphospholipid um das S-Enantiomer handelt.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3 gekennzeichnet, daß es sich bei dem Alkylphospholipid um ein Racemat handelt.

25

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung neben den Alkylphospholipiden der Formel I, Ia oder Ib weitere Lipide enthält.

30

8. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung eine Lipidmischung mit neutraler Nettoladung darstellt.

35

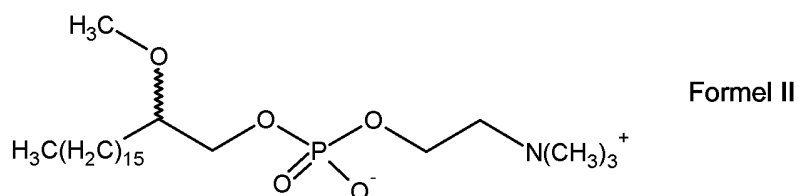
9. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung eine Lipidmischung mit positiver Nettoladung darstellt.

10. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutischen Zubereitung eine Lipidmischung mit negativer Nettoladung darstellt.
- 5
11. Verwendung nach einem der Ansprüche 6 bis 10 dadurch gekennzeichnet, daß die Komposition der zusätzlichen Lipide der Lipidkomposition des Surfactants angelehnt ist.
- 10
12. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11 dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutischen Zubereitung als Tablette, Salbe, Zäpfchen, Granulat, Injektionspräparat oder Aerosol vorliegt.
13. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 dadurch gekennzeichnet, daß
- 15
- die pharmazeutischen Zubereitung als liposomale Formulierung vorliegt.
14. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 zur Behandlung metastasierender Tumore.
- 20
15. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 14 zur Behandlung von SCLC (kleinzelliges Bronchialkarzinom) und/oder nSCLC ("non-small cell lung cancer") und/oder Lungenkrebs und/oder Blasenkrebs und/oder Brustkrebs und/oder Pankreaskrebs und/oder Hirntumoren.

25

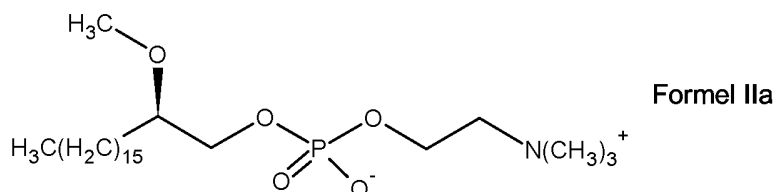
16. Alkylphospholipid (rac-OMe) der Formel (II):

30



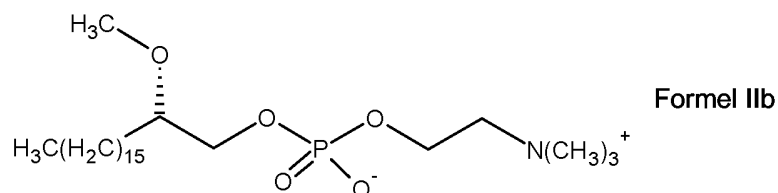
17. Alkylphospholipid (R-OMe) der Formel (IIa):

35



18. Alkylphospholipid (S-OMe) der Formel (IIb):

5



10

19. Verwendung der Alkylphospholipide gemäß Formel (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa) und/oder (IIb) zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung zur Therapie von soliden Tumoren.

20. Verwendung der Alkylphospholipide gemäß Anspruch 19 zur Therapie von metastasierenden Tumoren.

21. Pharmazeutische Zubereitung enthaltend Alkylphospholipide der Formel (II), (IIa) und/oder (IIb) gemäß Ansprüche 16 bis 18.

20

22. Liposomen enthaltend Alkylphospholipide der Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb).

23. Liposomen nach Anspruch 22 enthaltend

- (a) 0.1 bis 20 % APL der Formel (I), (Ia) und (Ib) sowie (II), (IIa) und (IIb) (besonders bevorzugt bis 10%)
 (b) 40-90% gesättigtes Phosphatidylcholin
 (c) 5-15 % gesättigtes Phosphatidylglycerol
 (d) 0 bis 20 % Cholesterol,
 (e) 0 bis 30 % nicht hydriertes Ei- oder Soja-PC
 (f) 0 bis 10 % andere Phospholipide und
 (g) gegebenenfalls Surfactantproteine (insbesondere SP-B und SP-C)

30

24. Liposomen nach Anspruch 22 oder 23 dadurch gekennzeichnet, daß sie die Oberflächenspannung des Wasserfilms in der Lunge (Aveolen) reduziert, bevorzugt um 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, besonders bevorzugt um 60%, 70%, 80%, insbesondere um 85%, 90%, 95% oder 99%.

35

25. Verwendung der Liposomen nach Anspruch 22, 23 oder 24 zur Behandlung von Tumoren, insbesondere soliden Tumoren.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/054537

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/683 A61K31/685 A61K9/127

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

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, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MASSING U ET AL: "Antitumoral effects of octadecylphosphocholine analogous" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 33, September 1997 (1997-09), page S175, XP004283631 ISSN: 0959-8049	1-25
Y	abstract ----- -/--	1-25

☒ 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 claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 November 2005

Date of mailing of the international search report

16/12/2005

Name and mailing address of the ISA

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

Authorized officer

Bendl, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/054537

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MATZKE A ET AL: "Killing tumour cells by alkylphosphocholines: Evidence for involvement of CD95" EUROPEAN JOURNAL OF CELL BIOLOGY, WISSENSCHAFTLICHE VERLAGSGESELLSCHAFT, STUTTGART,, DE, vol. 80, no. 1, January 2001 (2001-01), pages 1-10, XP004954766 ISSN: 0171-9335 page 1, paragraph 5 - page 2, left-hand column page 8, paragraph 3 -----	1-25
X	BONJOUKLIAN R. ET AL.: "Studies of the Antitumor Activity of (2-Alkoxyalkyl)- and (2-Alkoxyalkenyl)phosphocholines" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 29, no. 12, 1986, pages 2472-2477, XP002353207 cited in the application page 2473 page 2475, right-hand column, paragraph 3 page 2476 - page 2477 -----	1-25
Y	WO 03/028736 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V; EIBL, J) 10 April 2003 (2003-04-10) page 1, paragraph 1 -----	22-25
Y	MASSING U ET AL: "SYNTHESIS OF ENANTIOMERICALLY PURE 1-O-PHOSPHOCHOLINE-2-O- ACYL-OCTADECANE AND 1-O-PHOSPHOCHOLINE-2-N-ACYL-OCTADECANE" CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS, LIMERICK, IR, vol. 69, no. 2, 1994, pages 105-120, XP000980577 ISSN: 0009-3084 cited in the application page 107, right-hand column - page 109 -----	1-25
Y	DE 42 34 130 A1 (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN EV, 37073 GO) 14 April 1994 (1994-04-14) page 3 -----	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2005/054537

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:

Although claims 1-15, 20 and 25 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or 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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/054537

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 03028736	A	10-04-2003	DE	10148067 A1		17-04-2003
DE 4234130	A1	14-04-1994	AU	5150093 A		09-05-1994
			WO	9409014 A1		28-04-1994
			EP	0663918 A1		26-07-1995
			JP	8502735 T		26-03-1996

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/054537

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
A61K31/683 A61K31/685 A61K9/127

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

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

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	MASSING U ET AL: "Antitumoral effects of octadecylphosphocholine analogous" EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, Bd. 33, September 1997 (1997-09), Seite S175, XP004283631 ISSN: 0959-8049	1-25
Y	Zusammenfassung ----- -/--	1-25

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

9. November 2005

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

16/12/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

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

Bevollmächtigter Bediensteter

Bend1, E

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	MATZKE A ET AL: "Killing tumour cells by alkylphosphocholines: Evidence for involvement of CD95" EUROPEAN JOURNAL OF CELL BIOLOGY, WISSENSCHAFTLICHE VERLAGSGESELLSCHAFT, STUTTGART,, DE, Bd. 80, Nr. 1, Januar 2001 (2001-01), Seiten 1-10, XP004954766 ISSN: 0171-9335 Seite 1, Absatz 5 - Seite 2, linke Spalte Seite 8, Absatz 3	1-25
X	BONJOUKLIAN R. ET AL.: "Studies of the Antitumor Activity of (2-Alkoxyalkyl)- and (2-Alkoxyalkenyl)phosphocholines" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, Bd. 29, Nr. 12, 1986, Seiten 2472-2477, XP002353207 in der Anmeldung erwähnt Seite 2473 Seite 2475, rechte Spalte, Absatz 3 Seite 2476 - Seite 2477	1-25
Y	WO 03/028736 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V; EIBL, J) 10. April 2003 (2003-04-10) Seite 1, Absatz 1	22-25
Y	MASSING U ET AL: "SYNTHESIS OF ENANTIOMERICALLY PURE 1-O-PHOSPHOCHOLINE-2-O- ACYL-OCTADECANE AND 1-O-PHOSPHOCHOLINE-2-N-ACYL-OCTADECANE" CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS, LIMERICK, IR, Bd. 69, Nr. 2, 1994, Seiten 105-120, XP000980577 ISSN: 0009-3084 in der Anmeldung erwähnt Seite 107, rechte Spalte - Seite 109	1-25
Y	DE 42 34 130 A1 (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN EV, 37073 GO) 14. April 1994 (1994-04-14) Seite 3	1-25

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2005/054537

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. —
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 1–15, 20, 25 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/054537

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 03028736	A	10-04-2003	DE	10148067 A1	17-04-2003
DE 4234130	A1	14-04-1994	AU	5150093 A	09-05-1994
			WO	9409014 A1	28-04-1994
			EP	0663918 A1	26-07-1995
			JP	8502735 T	26-03-1996