

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
12 janvier 2017 (12.01.2017)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2017/006047 A1

(51) Classification internationale des brevets :
C07F 9/10 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/661 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3 Rue Michel Ange, 75794 Paris Cedex 16 (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2016/051702

(72) Inventeurs : **LAGARDE, Michel**; 10 rue des Vignes, 69150 Decines Charpieu (FR). **BERNOUD-HUBAC, Nathalie**; 11 allée des lauriers, 69480 Morance (FR). **GUI-CHARDANT, Michel**; 4 rue Eugène Collonge Allée B, 69370 St Didier Au Mont D'or (FR). **PICQ, Madeleine**; 154 Chemin Val Granger, 42800 Chateauneuf (FR). **PLAISANCIE, Pascale**; 22 rue des Glycines, 69500 Bron (FR).

(22) Date de dépôt international :
5 juillet 2016 (05.07.2016)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1556400 6 juillet 2015 (06.07.2015) FR

(74) Mandataires : **SARLIN, Laure** et al.; Cabinet Beau de Loménie, 51 Avenue Jean Jaurès, BP 7073, 69301 Lyon Cedex 07 (FR).

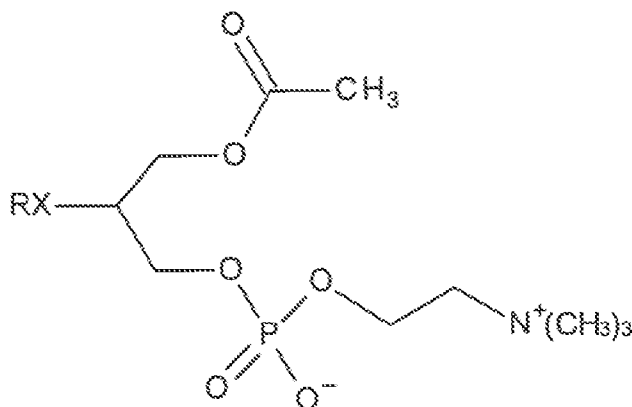
(71) Déposants : **INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON** [FR/FR]; 20, Avenue Albert Einstein, 69621 Villeurbanne Cedex (FR). **INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE** [FR/FR]; 147, rue de l'Université, 75007 Paris (FR). **INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE)** [FR/FR]; 101 Rue de Tolbiac, 75654 Paris Cedex 13 (FR). **UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I** [FR/FR]; 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title : 1-ALKYL,2-ACYLGLYCEROPHOSPHOCHOLINES FOR THE TREATMENT OF INFLAMMATION OR OF INTESTINAL CANCER

(54) Titre : 1-ACÉTYL,2-ACYLGLYCEROPHOSPHOCHOLINES, POUR LE TRAITEMENT D'UNE INFLAMMATION OU D'UN CANCER INTESTINAL



Formule (I)

(57) Abstract : The invention relates to a compound of formula (I): where X and R are defined in claim i, or a drug or pharmaceutical composition comprising such a compound of formula (I) or any pharmaceutically acceptable hydrates, salts or solvates thereof, in the form of a pure isomer or a mixture of isomers in any proportion, for the use thereof in treating intestinal cancer or intestinal inflammation.

(57) Abrégé : L'invention concerne un composé de formule (I); dans laquelle X et R sont définis à la revendication i, ou médicament ou composition pharmaceutique comprenant un tel composé de formule (I) ou un de ses hydrates, sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables, sous la forme d'un isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions, pour leur utilisation dans le traitement d'un cancer intestinal ou d'une inflammation intestinale.



WO 2017/006047 A1



SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) **États désignés** (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,

DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

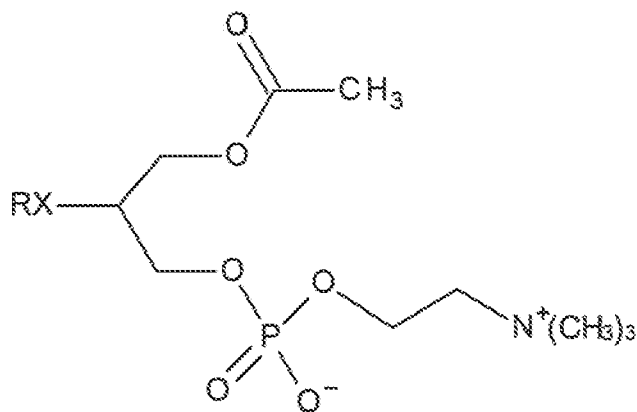
1-Acétyl, 2-acylglycérophosphocholines, pour le traitement d'une inflammation ou d'un cancer intestinal

La présente invention concerne une nouvelle utilisation thérapeutique de 1-acétyl,2-acylglycérophosphocholines spécifiques connues.

5 Les maladies inflammatoires intestinales et les cancers intestinaux touchent une grande partie de la population. A titre d'exemples de composés connus pour leurs applications intestinales anti-inflammatoires et/ou anti-tumorales, on peut citer, notamment, l'aspirine à faibles doses (ce dernier étant hémorragique à fortes doses), l'acide 5-amino-salicylique (dérivé de
10 l'aspirine) et les corticoïdes qui agissent selon des mécanismes d'action différents. Seule l'aspirine inhibe la cyclooxygénase II (COX II également nommée COX-2) en acétylant le site actif, ce qui empêche l'accès de l'acide arachidonique, donc la production de prostaglandines pro-inflammatoires. Par ailleurs, l'acide 5-amino-salicylique inhibe le chimiotactisme des
15 leucocytes et la synthèse de l'interleukine-8. Les corticoïdes, quant à eux, inhibent l'inflammation *via* une régulation négative de la transcription des cytokines pro-inflammatoires. L'action des corticoïdes se situe en amont, et sont donc susceptibles d'effets secondaires, notamment sur le système immunitaire.

20 Un des objectifs de l'invention est de fournir une alternative aux traitements déjà proposés pour les maladies inflammatoires intestinales et les cancers intestinaux qui ne présenterait pas, notamment, les risques d'effets secondaires sur le système immunitaire que présentent les corticoïdes.

25 Dans le cadre de l'invention, les inventeurs ont mis en évidence, de façon totalement inattendue, que la 1-acétyl-2-docosahexaénoyl-glycérophosphocholine (AceDoPC), et plus généralement qu'un composé de formule (I) :



Formule (I)

dans laquelle :

- X représente O, S ou NH, et
 - R représente un acyle gras insaturé comprenant au moins une double
- 5 liaison carbone-carbone, de préférence au moins deux doubles liaisons carbone-carbone ;
- ou un de ses hydrates, sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables, sous la forme d'un isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions,
- 10 pourrait être utilisé pour lutter et/ou prévenir une inflammation intestinale ou un cancer intestinal. A titre d'exemple d'inflammation intestinale, on peut citer les maladies inflammatoires intestinales chroniques, dont les colites ulcéreuses et la maladie de Crohn, les diverticuloses coliques,....

De tels composés étaient connus dans l'art antérieur et notamment

15 décrits dans les demandes WO 2013/037862 et WO 94/12170, mais pour des applications thérapeutiques toute autre, notamment pour une activité d'anti-agrégation plaquettaire, et en particulier pour leur effet contre les maladies cardiovasculaires, y compris l'athérosclérose et contre les insuffisances ou déficiences en acides gras essentiels, en particulier dans le cerveau, ou pour

20 une activité modulant ou inhibant l'activité du PAF.

Dans le cadre de l'invention, les inventeurs ont mis en évidence que les composés de formule (I), ou un de leurs hydrates, sels pharmaceutiquement acceptables ou solvats pharmaceutiquement acceptables, sous la forme d'un

isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions, pouvaient être utilisés, en tant que médicament ou agent actif, pour le traitement d'une inflammation intestinale ou d'un cancer intestinal.

Dans la définition des composés utilisés dans le cadre de l'invention, les termes utilisés ont les significations classiques reprises ci-après.

Par « isomère », on entend aussi bien un isomère optique, qu'un isomère géométrique. Dans la suite de la description, pour des questions de simplicité, on nommera composé de formule (I), un composé de formule (I) qu'il soit sous la forme d'un isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions, à moins qu'il n'en soit spécifié autrement notamment dans la définition du groupe acyle gras. Si besoin, les composés de formule (I) sont isolés sous forme d'isomères purs ou sous une forme enrichie en un isomère par les techniques classiques de séparation : on pourra utiliser, par exemple des recristallisations fractionnées, les techniques classiques de chromatographies.

Par « solvats », on entend une forme du composé associé à une ou plusieurs molécules de solvant, notamment utilisé lors de sa synthèse ou lors de sa purification, sans pour autant être en solution dans ce dernier. Le solvant en question sera pharmaceutiquement acceptable.

Les sels des composés de formule (I) selon la présente invention comprennent ceux avec des acides ou des bases, en fonction des substituants présents. On peut citer les sels pharmaceutiquement acceptables, tels que des sels de sodium, de potassium, de calcium.

Par « hydrates », on entend un composé sous forme hydratée. On peut citer, à titre d'exemple, les semi-hydrates, monohydrates et polyhydrates.

Par « acyle gras », on entend un acyle correspondant à un acide gras, c'est-à-dire à un acide carboxylique ayant une chaîne aliphatique linéaire, non-ramifiée, qui dans la définition des composés de formule (I) est insaturée. L'acyle gras dans la formule (I) peut, en particulier, comprendre de 4 à 28 atomes de carbone, en particulier de 12 à 28 atomes de carbone, de préférence de 16 à 26 atomes de carbone, et préférentiellement de 18 à 24 atomes de carbone.

Par « acyle gras insaturé », on entend un acyle gras comprenant au moins 1 double liaison carbone-carbone non conjuguées. Par « acyle gras polyinsaturé », on entend un acyle gras comprenant au moins 2 doubles liaisons carbone-carbone non conjuguées, en particulier au moins 2 doubles liaisons carbone-carbone séparées par un atome de carbone, et plus particulièrement dans lequel toutes les doubles liaisons sont séparées par un atome de carbone. Tout particulièrement, un acyle gras polyinsaturé comprend au moins 3 doubles liaisons carbone-carbone.

Par « acyle gras diène ou triène conjugué », on entend un acyle gras comprenant, en particulier :

- dans le cas des diènes, 2 doubles liaisons carbone-carbone conjuguées qui ont une configuration EE, EZ, ZE ou ZZ ou
- dans le cas des triènes, 3 doubles liaisons carbone-carbone conjuguées qui ont une configuration EZE, EEZ, ZEE, ZZE, ZEZ, EZZ, EEE ou ZZZ ; en particulier, l'acyle gras peut comprendre la structure $-\text{CH}(\text{OR}_a)-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{OR}_b)-$, dans laquelle :

* les doubles liaisons ont une configuration EZE, EEZ, ZEE, ZZE, ZEZ, EZZ, EEE ou ZZZ, en particulier EZE, et

* R_a et R_b représentent, indépendamment l'un de l'autre, H ou un groupe alkyle comprenant de 1 à 3 atomes de carbone.

Selon un mode de réalisation particulier, l'acyle gras insaturé présent dans la formule (I) des composés utilisés dans le cadre de l'invention, comprend au moins trois doubles liaisons carbone-carbone qui peuvent être conjuguées, tout particulièrement l'acyle gras comprend 3 doubles liaisons carbone-carbone ayant une configuration EZE.

Selon un autre mode de réalisation particulier, l'acide gras insaturé présent dans la formule (I) des composés utilisés dans le cadre de l'invention, comprend au moins deux, en particulier au moins trois, doubles liaisons carbone-carbone qui sont séparées par un atome de carbone. En particulier, l'acyle gras insaturé correspond à la chaîne acyle d'un acide gras n-3 (également nommé omega 3) ou n-6 (également nommé omega 6). Tout particulièrement, l'acyle gras est choisi parmi les acyles correspondant au

DHA (acide docosahexaénoïque), EPA (acide eicosapentaénoïque), DPA (acide docosapentaénoïque), ARA (acide arachidonique), LNA (acide alpha-linolénique) ou LA (acide linoléique).

Dans la formule (I), R est, de préférence, choisi parmi :

5 * les diènes ou triènes conjugués, notamment choisi parmi les diènes EE, ZZ, ZE et EZ, les diènes ZZ étant préférés, et les triènes EZE, EEZ, ZEE, ZZE, ZEZ, EZZ, EEE et ZZZ, les triènes EZE et ZZZ étant préférés,

10 * les acyles gras polyinsaturés comprenant 2, 3, 4, 5 ou 6 doubles liaisons carbone-carbone séparées par un atome de carbone, en particulier dans lesquels les doubles liaisons carbone-carbone sont toutes de configuration Z, et plus particulièrement l'acyle gras correspondant à un acide gras n-3 ou n-6,

* leurs dérivés, et leurs métabolites ;

15 en particulier, R représente un acyle gras triène EZE conjugué ou correspond à un acyle gras n-3 ou n-6, en particulier correspond à la partie acyle du DHA, aussi appelé acide docosahexaénoïque, à la partie acyle de l'EPA, aussi appelé acide eicosapentaénoïque, à la partie acyle du DPA, aussi appelé acide docosapentaénoïque, à la partie acyle de l'ARA, aussi appelé acide arachidonique, à la partie acyle du LNA, aussi appelé acide alpha-
20 linoléique, ou à la partie acyle du LA, aussi appelé acide linoléique.

Par « dérivés » d'un composé, on entend ledit composé substitué, en particulier par au moins un substituant choisi parmi les halogènes (chlore, brome, iode ou fluor), les groupes alkyle, en particulier les groupes alkyle en C₁-C₁₀, les groupes aryle, en particulier les groupes aryle en C₆-C₁₀, les
25 alkyléthers, les aryléthers, les alkylamines, les arylamines, les alkylthioéthers, les arylthioéthers, les alkylesters, les arylesters, les alkylamides et les arylamides.

Par « alkyle », on entend une chaîne hydrocarbonée, saturée, linéaire ou ramifiée. A titre d'exemple de groupe alkyle comprenant de 1 à 6 atomes
30 de carbone, nommés C₁-C₆, on peut citer, notamment, les groupes méthyle, éthyle, *n*-propyle, *iso*-propyle, *n*-butyle, *tert*-butyle, *sec*-butyle, *n*-pentyle, *n*-hexyle.

Par « aryle », on entend un carbocycle mono-, bi- ou polycyclique, comportant de préférence de 6 à 12 atomes de carbone, comprenant au moins un groupe aromatique, par exemple, un groupe phényle, cinnamyle ou naphthyle. Le phényle est le groupe aryle particulièrement préféré.

- 5 Par « métabolite », on entend un composé provenant du métabolisme, dans le corps d'un animal ou d'un être humain, ou au niveau cellulaire, de l'acide gras insaturé correspondant à un acyle gras insaturé tel que décrit dans le cadre de l'invention, ou d'un de ses dérivés.

Tout particulièrement, le composé de formule (I) utilisé dans le cadre
10 de l'invention est l'AceDoPC ou 1-acétyl-2-docosahexaénoyl-glycérophosphocholine, correspondant à la formule (I) dans laquelle $X = O$, R est l'acyle de l'acide docosahexaénoïque.

Les composés de formule (I) pourront être préparés selon la méthode décrite dans la demande WO 94/12170, ou selon le procédé décrit dans la
15 demande WO 2008/068413 ou des méthodes qui en dérivent.

La présente invention a pour objet les composés de formule (I) tels que définis dans le cadre de l'invention, ainsi que leurs sels, solvats pharmaceutiquement acceptables et hydrates, pour leur utilisation en tant que médicament pour le traitement d'une inflammation intestinale ou d'un
20 cancer intestinal. En particulier, de tels médicaments ou compositions sont destinés au traitement de l'être humain.

Le terme « traitement » désigne toute mesure thérapeutique, prophylactique, curative ou suppressive d'une maladie, affection ou désordre conduisant à un effet clinique souhaitable ou à tout effet bénéfique, incluant
25 notamment la suppression ou la diminution d'un ou plusieurs symptômes, la régression, le ralentissement ou la cessation de la progression de la maladie ou du désordre qui y est associé.

De par leur activité, les composés de formule (I) tels que définis dans le cadre de l'invention, ainsi que leurs sels, solvats pharmaceutiquement
30 acceptables et hydrates, peuvent être utilisés pour la fabrication d'un médicament, destinés à traiter une inflammation intestinale ou un cancer intestinal.

L'invention concerne également les méthodes de traitement d'une inflammation intestinale ou d'un cancer intestinal dans lesquelles une quantité efficace, et en particulier thérapeutiquement efficace, d'un composé de formule (I) tel que défini dans le cadre de l'invention, ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, solvats ou hydrates, est administré à un patient humain ou animal nécessitant un tel traitement.

Les composés de formule (I) ne sont pas cytotoxiques. De par leur activité, les composés de formule (I) tels que définis dans le cadre de l'invention, ainsi que leurs sels, solvats pharmaceutiquement acceptables et hydrates, peuvent être utilisés pour la fabrication d'un médicament destiné à traiter une inflammation intestinale ou un cancer intestinal.

Les compositions pharmaceutiques et médicaments, pour leur utilisation dans le traitement d'une inflammation intestinale ou d'un cancer intestinal, comprenant un composé de formule (I) tel que défini dans le cadre de l'invention, ou un de ses sels, solvats pharmaceutiquement acceptables ou hydrates, en association avec au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable, font également partie intégrante de l'invention. Dans de telles compositions, le composé de formule (I) tel que défini dans le cadre de l'invention, ou un de ses solvats ou sels pharmaceutiquement acceptables ou hydrates est présent en quantité thérapeutiquement efficace.

En particulier, le composé de formule (I) ou un de ses solvats ou sels pharmaceutiquement acceptables ou hydrates est la substance active de la composition pharmaceutique ou du médicament, c'est-à-dire la substance utilisée pour obtenir l'activité thérapeutique ou prophylactique sur l'inflammation intestinale ou le cancer intestinal concerné.

Par « quantité efficace », on désigne toute quantité d'une composition qui permet d'éviter l'apparition d'un ou plusieurs signes de l'affection que l'on souhaite prévenir (dans le cas d'un traitement prophylactique) ou améliore un ou plusieurs des paramètres caractéristiques de l'affection traitée (dans le cas d'un traitement curatif).

Par « quantité thérapeutiquement efficace », on désigne toute quantité d'une composition qui améliore un ou plusieurs des paramètres caractéristiques de l'affection traitée.

Afin d'obtenir l'effet souhaité, le composé selon l'invention sera présent
5 dans la composition ou le médicament à une dose efficace, et en particulier thérapeutiquement efficace. La dose de principe actif varie, par exemple, entre un nanogramme et un dixième de gramme par kg de poids du corps du patient auquel elle est administrée, et par jour.

De telles compositions pharmaceutiques administrables aux animaux et,
10 en particulier à l'homme, contiennent une dose efficace d'un composé de formule (I), ou d'un sel, d'un solvat ou d'un hydrate pharmaceutiquement acceptable de celui-ci, et un ou des excipients convenables selon notamment la Pharmacopée Européenne 7^{ème} édition. Les excipients présents dans les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont choisis selon la forme
15 pharmaceutique et le mode d'administration souhaités. Dans les compositions pharmaceutiques de la présente invention pour l'administration orale, sublinguale, sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, intrapéritonéale, intracartilage, topique, intratrachéale, intranasale, transdermique, rectale ou intraoculaire, les principes actifs de formule (I), ou
20 leurs solvats ou sels pharmaceutiquement acceptables ou hydrates éventuels, peuvent être administrés sous forme unitaire d'administration, en mélange avec des supports pharmaceutiques classiques, aux animaux et aux êtres humains pour le traitement du cancer intestinal ou de l'inflammation intestinale ciblée. Les formes unitaires d'administration appropriées
25 comprennent les formes par voie orale, telles que les comprimés, les gélules, les poudres, les granules et les solutions ou suspensions orales, les formes d'administration sublinguale, buccale, intra trachéale, intra nasale, les formes d'administration sous-cutanée, intramusculaire, intra cartilage ou intraveineuse et les formes d'administration rectale. Pour l'application
30 topique, on peut utiliser les composés selon l'invention dans des crèmes, pommades, patches ou lotions.

La composition ou le médicament peut comprendre outre le composé de formule (I), éventuellement un autre principe actif, au moins un excipient et/ou un support pharmaceutiquement acceptable, en particulier de l'eau. En particulier, la composition ou le médicament comprend un ou des excipients
5 permettant d'obtenir la formulation sous la forme souhaitée, par exemple de gélule, de granule, de comprimé, de gel, de suppositoire, de solution, de suspension, d'émulsion, de crème ...

En particulier, la composition, le médicament, l'utilisation ou la méthode selon l'invention peut impliquer une administration parentérale, en particulier
10 par voie intraveineuse ou intrapéritonéale, une administration orale et donc les compositions pharmaceutiques et médicaments adaptés à un tel mode d'administration sont préférés.

Lorsque l'on prépare une composition solide sous forme de comprimés, on mélange l'ingrédient actif principal avec un véhicule pharmaceutique, tel
15 que la gélatine, l'amidon, le lactose, le stéarate de magnésium, le talc, la gomme arabique ou analogues. On peut enrober les comprimés de saccharose, d'un dérivé cellulosique, ou d'autres matières appropriées ou encore, on peut les traiter de telle sorte qu'ils aient une activité prolongée ou retardée et qu'ils libèrent d'une façon continue une quantité prédéterminée
20 de principe actif.

On obtient une préparation en gélules en mélangeant l'ingrédient actif avec un diluant et en versant le mélange obtenu dans des gélules molles ou dures.

Les compositions pharmaceutiques contenant un composé de formule
25 (I), ou un de ses sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables ou hydrates, peuvent aussi se présenter sous forme liquide, par exemple, des solutions, des émulsions, des suspensions ou des sirops. Les supports liquides appropriés peuvent être, par exemple, l'eau, les solvants organiques tels que le glycérol ou les glycols, de même que leurs mélanges, dans des
30 proportions variées, dans l'eau.

Une préparation sous forme de sirop ou d'élixir ou pour l'administration sous forme de gouttes peut contenir l'ingrédient actif conjointement avec un

édulcorant acalorique, un antiseptique, ainsi qu'un agent donnant du goût et un colorant approprié. Les poudres ou les granules dispersibles dans l'eau peuvent contenir l'ingrédient actif en mélange avec des agents de dispersion ou des agents mouillants, ou des agents de mise en suspension, comme la polyvinylpyrrolidone, de même qu'avec des édulcorants ou des correcteurs de goût.

Selon un autre de ses aspects, l'invention a pour objet un composé de formule (I), ou un de ses sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables ou hydrates, une composition pharmaceutique ou médicament, comprenant un composé de formule (I) ou un de ses sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables ou hydrates tel que défini dans le cadre de l'invention, en association avec au moins un excipient pharmaceutiquement acceptable, pour son utilisation dans le traitement d'une maladie ou affection intestinale :

- où une diminution de l'expression et/ou de l'activité de la cyclooxygénase II (COX II) est souhaitée, et/ou

- où une diminution de l'expression de la BCL-2 et/ou de la HSP-27 est souhaitée, et/ou

- dans laquelle l'expression et/ou de l'activité de la cyclooxygénase II (COX II), et en particulier une forte expression et/ou activité de la COX II, contribue à l'état pathologique et/ou aux symptômes de la maladie ou de l'affection ;

ainsi que les composés de formule (I) tels que définis dans le cadre de l'invention, et leurs sels et solvats pharmaceutiquement acceptables et hydrates, pour leur utilisation dans la fabrication d'un médicament pour le traitement, en particulier chez l'être humain, d'une telle pathologie ou affection ;

et les méthodes de traitement d'une telle pathologie ou affection dans lesquelles une quantité efficace, et en particulier thérapeutiquement efficace, d'un composé de formule (I) tel que défini dans le cadre de l'invention, ou d'un de ses solvats ou sels pharmaceutiquement acceptables ou hydrates, est administré à un patient humain ou animal nécessitant un tel traitement.

D'une façon générale, toutes les variantes indiquées précédemment pour les composés (I) sont applicables *mutatis mutandis* aux médicaments, compositions, méthodes et utilisations mettant en œuvre ces composés.

Selon des modes de réalisation particuliers des compositions, médicaments, méthodes et utilisations selon l'invention, ladite composition, ledit médicament, ladite méthode ou ladite utilisation exclura l'utilisation de ladite composition ou dudit médicament pour une activité d'anti-agrégation plaquettaire, et en particulier pour son effet contre les maladies cardiovasculaires, y compris l'athérosclérose et contre les insuffisances ou déficiences en acides gras essentiels, en particulier dans le cerveau, notamment décrite dans la demande WO 94/12170, et pour une activité modulant ou inhibant l'activité du PAF, en particulier décrite dans la demande WO 3013/037862.

Les exemples ci-après permettent d'illustrer l'invention, mais n'ont aucun caractère limitatif.

Tests réalisés

L'AceDoPC est préparé selon le procédé décrit dans la demande WO 2008/068413, par trans-estérification de la position *sn-1* de 1-palmitoyl,2-docosahexaénoyl-glycérophosphocholine (PC-DHA), par une lipase en présence d'acétate de vinyle et en absence d'eau, permettant l'obtention directe d'AceDoPC. L'AceDoPC a été soumis aux tests suivants :

1. Cellules en culture.

La lignée cellulaire HT29 parentale (HT29p), dérivant d'un adénocarcinome colique, a été cultivée en monocouche jusqu'à 80% de confluence en milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) contenant 10% de Sérum de Veau Foetal (SVF) décomplémenté et 1% de Pénicilline-Streptomycine.

2. Tests avec la molécule AceDoPC.

La molécule a été testée en solution dans l'éthanol à 0,2%, comparativement aux contrôles cellulaires incubés avec la même concentration d'éthanol.

3. Prolifération cellulaire.

Elle a été testée par le taux d'incorporation du BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine), nucléoside synthétique de la thymidine, dans l'ADN nouvellement synthétisé par les cellules en cours de réplication.

5 4. Expressions protéiques.

L'expression des protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et HSP-27 ont été mesurées par immuno-empreinte (western blotting) avec un anticorps commercial spécifique fourni par la société Sigma-Aldrich selon la méthodologie recommandée par ce fournisseur.

10 L'activité anti-apoptotique de ces protéines a été établie dans la littérature :

pour Bcl-2 :

Expression of cell survival/death genes: Bcl-2 and Bax at the rate of colon cancer prognosis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1741 (2005) 25–29 Monika

15 Paul-Samojedny, Danuta Kokocińska, Arkadiusz Samojedny, Urszula Mazurek, Robert Partyka, Zbigniew Lorenz, Tadeusz Wilczok,

The Bcl 2 family: regulators of the cellular life-or-death switch *Nat. Rev., Cancer*, 2 (9) (2002), pp. 647–656. S. Cory, J.M. Adams,

20 Bcl-2 constitutively suppresses p53-dependent apoptosis in colorectal cancer cells. *Genes & Dev.* 2003. 17: 832-837. Ming Jiang and Jo Milner,

Pour HSP27 :

Heat shock protein 27 enhances the tumorigenicity of immunogenic rat colon carcinoma cell clones. *Cancer Res.* 1998 Dec 1;58(23):5495-9. Garrido C1,

Fromentin A, Bonnotte B, Favre N, Moutet M, Arrigo AP, Mehlen P, Solary E,

25 Apoptosis Versus Cell Differentiation: Role of Heat Shock Proteins HSP90, HSP70 and HSP27. *Prion* 2007, 1 (1), p53-60. David Lanneau, Aurelie de Thonel, Sebastien Maurel, Celine Didelot & Carmen Garrido.

30 L'expression de l'iso-forme inductible cyclo-oxygénase-2 (COX II) a été mesurée de la même manière avec un anticorps fourni par la société Abcam.

5. Mesure des prostaglandines.

Les prostaglandines D₂ et E₂ (nommées également PGE₂ et PGD₂) représentatives de la voie générale de biosynthèse des prostaglandines *in situ*, et prostaglandines pro-inflammatoires issues de (COX II), ont été mesurées par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), méthodologie utilisée par la plateforme IBISA de Lipidomique Fonctionnelle (IMBL-INSA de Lyon).

Ces prostaglandines ont été mesurées sur les cellules en culture et en présence des iso-formes de cyclo-oxygénases constitutive et inducible pures.

10

Résultats obtenus

La **Figure 1** présente l'évolution de l'expression protéique de COX II à différentes concentrations d'AceDoPC (1, 2 et 20 µM).

15 La **Figure 2** présente l'évolution de la sécrétion de PGE₂ en l'absence d'AceDoPC et à une concentration de 20 µM en AceDoPC.

La **Figure 3** présente l'évolution de la prolifération des cellules HT29P à différentes concentrations d'AceDoPC (1, 2, 20 et 100 µM).

20 La **Figure 4** présente l'évolution de l'expression protéique de Bcl-2 à différentes concentrations d'AceDoPC (1, 2 et 20 µM).

La **Figure 5** présente l'expression protéique de HSP-27 à différentes concentrations d'AceDoPC (1, 2 et 20 µM).

Sur ces figures, p : probabilité ou risque ; CT : contrôle qui a été fait sans AceDoPC, c'est-à-dire en présence de son solvant.

25 Les résultats présentés sur ces figures montrent que sur les cellules intestinales tumorales :

- l'expression protéique de la cyclo-oxygénase inducible COX II est diminuée d'environ 1/3 par 20 µM d'AceDoPC (**Fig. 1**),

30 - cette diminution par la même concentration d'AceDoPC passe à environ 80% en mesurant la PGE₂ issue de COX II (**Fig. 2**).

Ce résultat suggère une inhibition additionnelle de l'activité de COX II, résultat qui est en accord avec ceux présentés plus loin sur la COX II purifiée.

Les résultats présentés **Fig. 3 à 5** montrent :

- 5 - que la prolifération des cellules cancéreuses est inhibée d'environ 50% à une concentration de 100 μ M d'AceDoPC (**Fig. 3**),
 - l'expression protéique des deux protéines anti-apoptotiques Bcl-2 et HSP-27 est significative aux faibles concentrations d'AceDoPC (1 μ M sur les **Fig. 4 et 5** respectivement).

- 10 L'AceDoPC présente donc une activité anti proliférative sur les cellules cancéreuses, certainement liée à la sous expression des deux protéines anti-apoptotiques et à une diminution de l'expression de COX II.

- Les essais réalisés sur cyclo-oxygénase purifiée ont été menés pour comparer l'effet d'AceDoPC à son équivalent sans acétyl (1-lyso,2-DHA-PC)
15 et à son analogue acétylé sans DHA (1-acétyl,2oléoyl-PC), étant donné que le DHA est connu pour inhiber les COX purifiées (Rao GH, Radha E, White JG, 1983, 117(2) : 549-555). Les résultats sont présentés dans les **Tableaux 1 et 2** ci-après. Les résultats sont présentés en ng et représentent la somme de PGD2 + PGE2, puis la moyenne des trois mesures réalisées plus ou moins
20 SD (déviation ou erreur standard) est donnée.

Tableau 1 :

Effet des composés : 1-lyso,2-DHA-PC, 1-acétyl,2-oléoyl-PC et AceDoPC sur la protéine COX II recombinante humaine (40 unités de COX II /échantillon)

	Contrôle	1-lyso,2-DHA-PC (100 µM)	1-acetyl,2-oleoyl-PC (100 µM)	AceDoPC (100 µM)
	40.3	20.4	34.8	17.7
	35.9	17.7	23.1	16.2
	37.6	18.2	14.9	10.0
moyenne±SD	37.9±2.2 ^a	18.8±1.4 ^{b**}	24.3±10.0 ^b	14.6±4.1 ^{b**}
Inhibition		50.40%	35.88%	61.48%

5 Tableau 2 :

Effet des composés : 1-lyso-2-DHA-PC, 1-acétyl-2-oléoyl-PC et AceDoPC sur la protéine COX I de mouton (40 unités de COX I/échantillon)

	Contrôle	1-lyso,2-DHA-PC (100 µM)	1-acetyl,2-oleoyl-PC (100 µM)	AceDoPC (100 µM)
	77.1	40.7	71.2	30.8
	71.6	21.7	46.4	22.5
	47.0	25.2	43.7	19.8
moyenne±SD	65.2±1.0 ^a	29.2±10.1 ^{b**}	53.8±15.2 ^b	24.4±5.7 ^{b**}
Inhibition		55.21%	17.48%	62.58%

10 Les nombres portant la même lettre en exposant ne sont pas significativement différents les uns des autres ; a et b indiquent donc deux valeurs significativement différentes. Les astérisques permettent de préciser le niveau de signification.

* : p<0,05, **p<0,01 versus le contrôle. ANOVA (analyse de variance) suivi

15 par le test de Fischer.

Il apparaît :

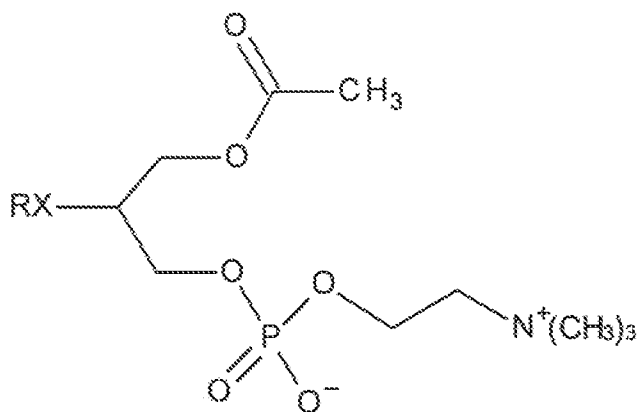
- une plus forte inhibition de COX II avec l'AceDoPC comparativement à la 1-lyso-2-DHA-PC, ce qui suggère un effet propre de l'acétyl. Dans le cas où le DHA est remplacé par un radical oléoyl, une plus faible inhibition est constatée comparativement aux deux autres composés testés.

- les résultats sont proches sur COX I (cyclo-oxygénase constitutive), avec cependant un moindre effet de la présence du radical acétyl dans 1-acétyl,2-oléoyl-PC. On note cependant que l'inhibition est plus forte envers COX II que COX I, ce qui est un avantage pour l'intestin.

Ces résultats suggèrent que l'AceDoPC serait capable d'acétyler des cibles protéiques en raison d'une possible activation du groupement acétyl, présent en position externe sur l'AceDoPC, ou plus généralement du groupement acétyl sur les composés de formule (I).

REVENDICATIONS

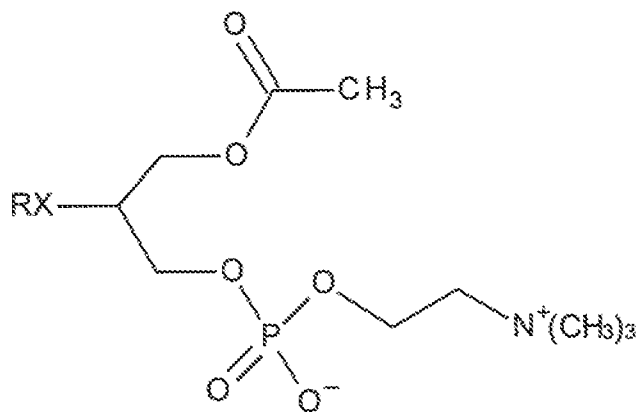
1 - Composé de formule (I) :



Formule (I)

- 5 dans laquelle :
- X représente O, S ou NH, et
 - R représente un acyle gras insaturé comprenant au moins une double liaison carbone-carbone, voire au moins deux doubles liaisons carbone-carbone ;
- 10 ou un de ses hydrates, sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables, sous la forme d'un isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions,
- ou médicament ou composition pharmaceutique comprenant un tel composé de formule (I) ou un de ses hydrates, sels ou solvats pharmaceutiquement
- 15 acceptables, sous la forme d'un isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions,
- pour son utilisation dans le traitement d'un cancer intestinal ou d'une inflammation intestinale.

2 - Composé de formule (I) :



Formule (I)

dans laquelle :

- X représente O, S ou NH, et
- 5 - R représente un acyle gras insaturé comprenant au moins une double liaison carbone-carbone, voire au moins deux doubles liaisons carbone-carbone ;
- ou un de ses hydrates, sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables, sous la forme d'un isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions,
- 10 ou médicament ou composition pharmaceutique comprenant un tel composé de formule (I) ou un de ses hydrates, sels ou solvats pharmaceutiquement acceptables, sous la forme d'un isomère pur ou d'un mélange d'isomères en toutes proportions,
- 15 pour son utilisation dans le traitement d'une maladie ou affection intestinale :
 - où une diminution de l'expression et/ou de l'activité de la cyclooxygénase II (COX II) est souhaitée, et/ou
 - où une diminution de l'expression de la Bcl-2 et/ou de la HSP-27 est souhaitée, et/ou
- 20 - dans laquelle l'expression et/ou de l'activité de la cyclooxygénase II (COX II), et en particulier une forte expression et/ou activité de la COX II, contribue à l'état pathologique et/ou aux symptômes de la maladie ou de l'affection.

3 - Composé, médicament ou composition pharmaceutique pour son utilisation, selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que R est choisi parmi :

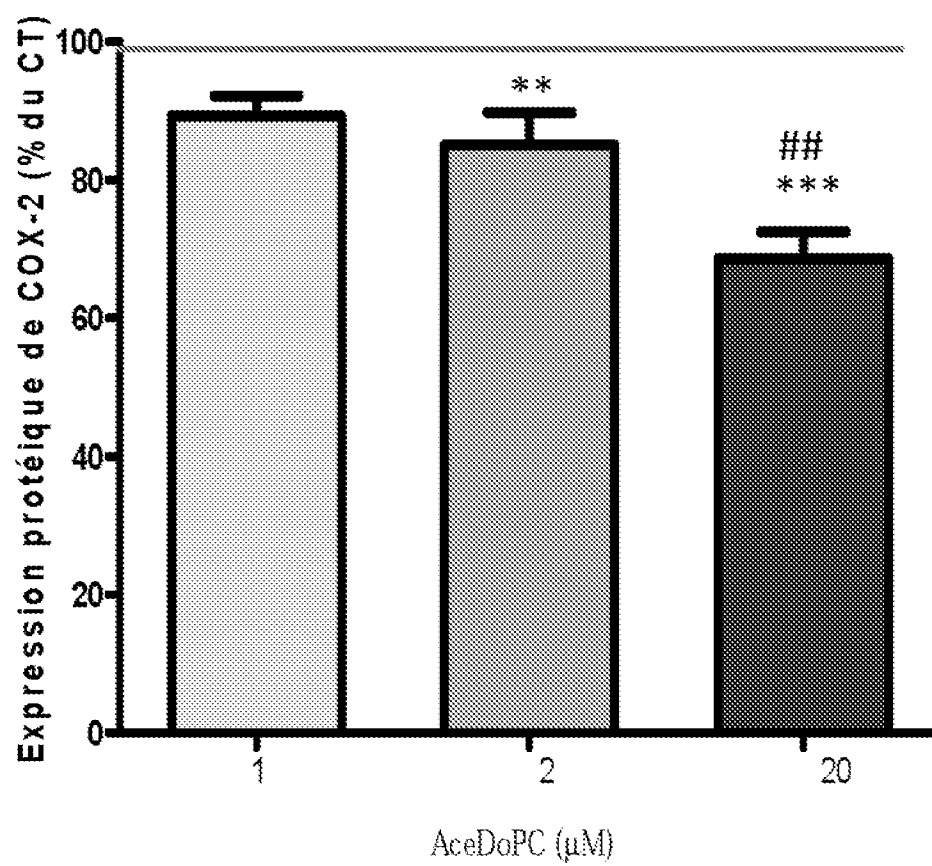
- * les diènes ou triènes conjugués, notamment choisi parmi les diènes EE, ZZ, ZE et EZ, les diènes ZZ étant préférés, et les triènes EZE, EEZ, ZEE, ZZE, ZEZ, EZZ, EEE et ZZZ, les triènes EZE et ZZZ étant préférés,
- * les acyles gras polyinsaturés comprenant 2, 3, 4, 5 ou 6 doubles liaisons carbone-carbone séparées par un atome de carbone, en particulier dans lesquels les doubles liaisons carbone-carbone sont toutes de configuration Z, et plus particulièrement l'acyle gras correspondant à un acide gras n-3 ou n-6,
- * leurs dérivés, et leurs métabolites.

4 - Composé, médicament ou composition pharmaceutique pour son utilisation, selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que R représente un acyle gras triène EZE conjugué ou correspond à la partie acyle du DHA, EPA, DPA, ARA, LNA ou LA.

5 - Composé, médicament ou composition pharmaceutique pour son utilisation, selon l'une des revendications 1 à 4 caractérisé en ce que le composé de formule (I) utilisé est le 1-acétyl-2-docosahexaénoyl-glycérophosphocholine.

6 - Composé, médicament ou composition pharmaceutique pour son utilisation, selon l'une des revendications 1 à 5, dans le traitement d'une maladie inflammatoire intestinale chronique, notamment pour le traitement de colites ulcéreuses ou de la maladie de Crohn, ou dans le traitement de diverticuloses coliques.

1/5



** $p < 0,01$ vs CT

*** $p < 0,001$ vs CT

$p < 0,001$ vs AceDoPC 1 μM

FIG.1

2/5

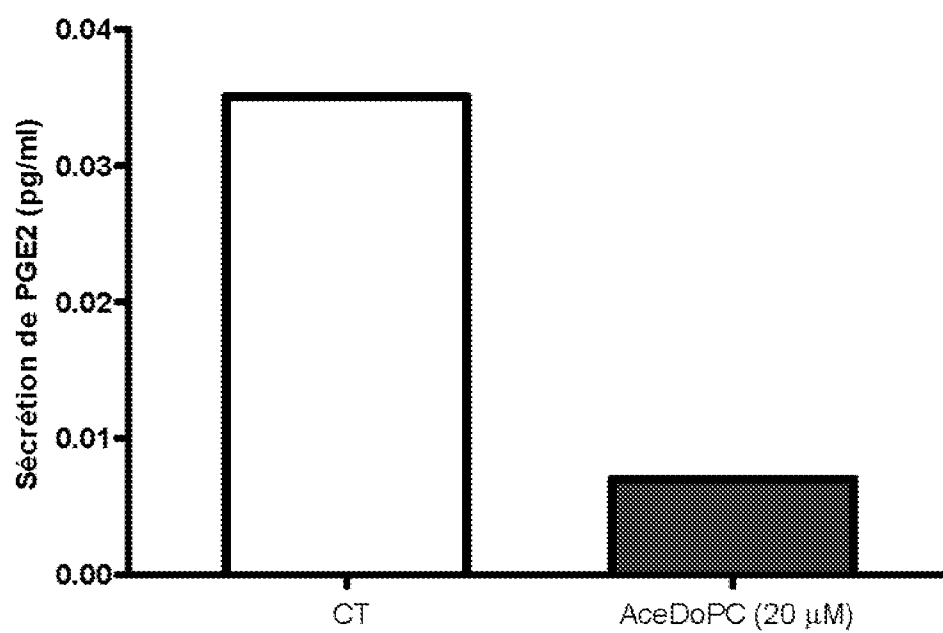
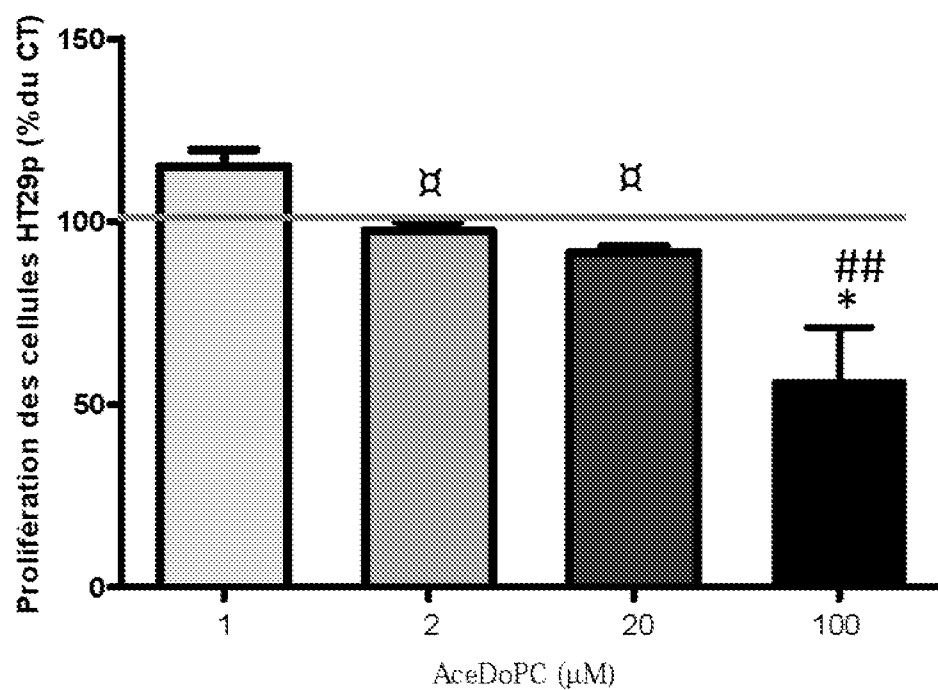


FIG.2

3/5



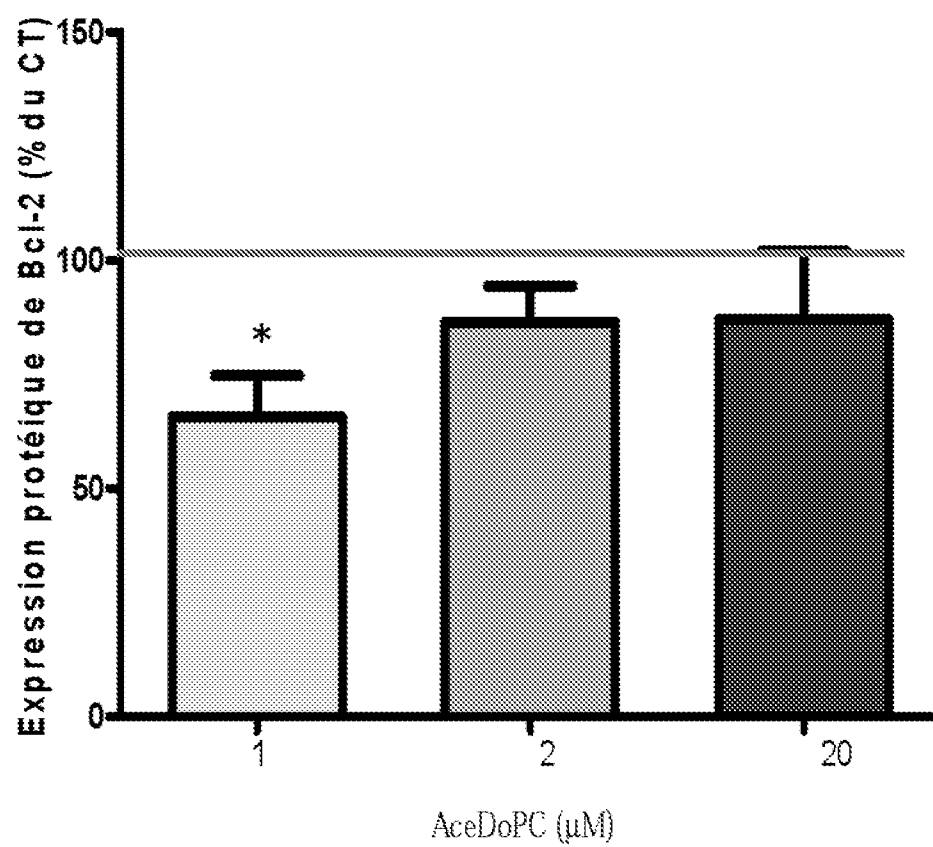
* $p < 0,05$ vs CT

✕ $p < 0,05$ vs AceDoPC 100 μM

$p < 0,01$ vs AceDoPC 1 μM

FIG.3

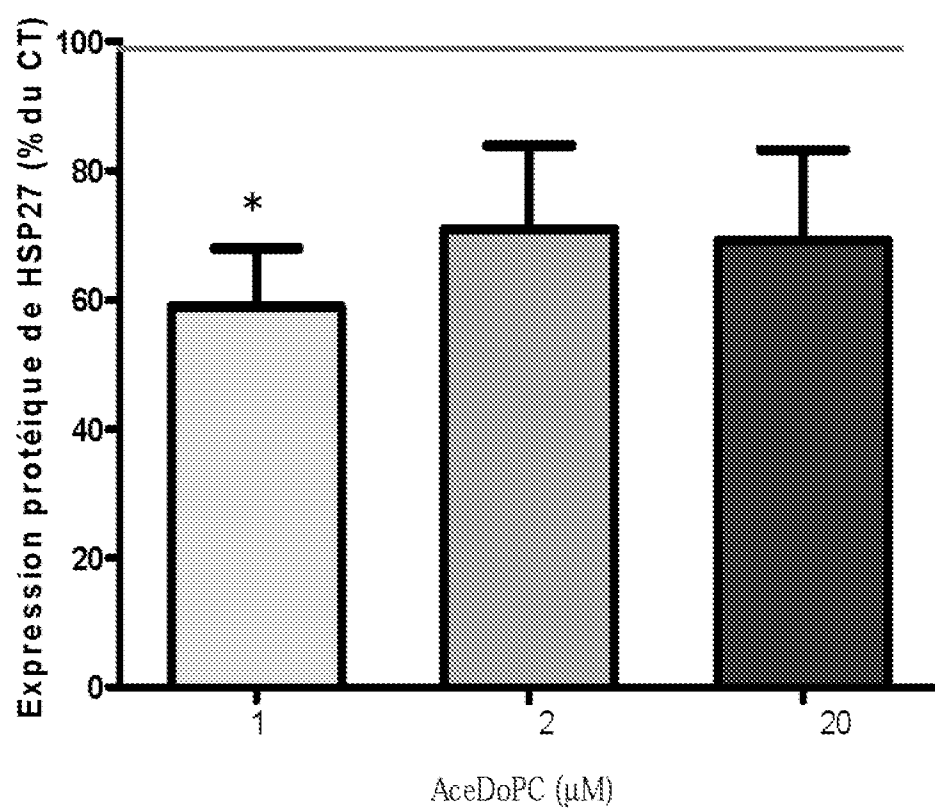
4/5



* $p < 0,05$ vs CT

FIG.4

5/5



* $p < 0,05$ vs CT

FIG.5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2016/051702

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07F9/10 A61K31/661 A61P35/00 A61P29/00
ADD.

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)
C07F A61K A61P

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 practicable, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	YUICHI NAKAMURA ET AL: "Siladenoserinols A-L: New Sulfonated Serinol Derivatives from a Tunicate as Inhibitors of p53-Hdm2 Interaction", ORGANIC LETTERS, vol. 15, no. 2, 18 January 2013 (2013-01-18), pages 322-325, XP55135766, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/o13032363 the whole document ----- -/--	1-6



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 September 2016

Date of mailing of the international search report

27/09/2016

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Diederer, Jeroen

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2016/051702

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SHARMILA PATEL ET AL: "Small-molecule inhibitors of the p53-HDM2 interaction for the treatment of cancer", EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, vol. 17, no. 12, 1 December 2008 (2008-12-01), pages 1865-1882, XP55301579, UK ISSN: 1354-3784, DOI: 10.1517/13543780802493366 the whole document -----	1-6
X	JP 2013 049655 A (UNIV KUMAMOTO; UNIV SAM RATULANGI) 14 March 2013 (2013-03-14) the whole document -----	1-6
A	WO 2005/011708 A1 (UNIV TEXAS [US]; DIAL ELIZABETH J [US]; LICHTENBERGER LENARD M [US]) 10 February 2005 (2005-02-10) paragraph [0003] - paragraph [0003] claims 1,4,11,14 -----	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2016/051702

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 2013049655	A	14-03-2013	NONE

WO 2005011708	A1	10-02-2005	AU 2004260696 A1 10-02-2005
			CA 2534241 A1 10-02-2005
			CN 1852721 A 25-10-2006
			CN 103143031 A 12-06-2013
			EP 1653975 A1 10-05-2006
			HK 1096298 A1 09-08-2013
			KR 20060054405 A 22-05-2006
			US 2005064025 A1 24-03-2005
			WO 2005011708 A1 10-02-2005

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2016/051702

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. C07F9/10 A61K31/661 A61P35/00 A61P29/00 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) C07F A61K A61P		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	YUICHI NAKAMURA ET AL: "Siladenoserinols A-L: New Sulfonated Serinol Derivatives from a Tunicate as Inhibitors of p53-Hdm2 Interaction", ORGANIC LETTERS, vol. 15, no. 2, 18 janvier 2013 (2013-01-18), pages 322-325, XP55135766, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/o13032363 le document en entier ----- -/--	1-6
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 20 septembre 2016		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 27/09/2016
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Diederren, Jeroen

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	SHARMILA PATEL ET AL: "Small-molecule inhibitors of the p53-HDM2 interaction for the treatment of cancer", EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, vol. 17, no. 12, 1 décembre 2008 (2008-12-01), pages 1865-1882, XP55301579, UK ISSN: 1354-3784, DOI: 10.1517/13543780802493366 le document en entier -----	1-6
X	JP 2013 049655 A (UNIV KUMAMOTO; UNIV SAM RATULANGI) 14 mars 2013 (2013-03-14) le document en entier -----	1-6
A	WO 2005/011708 A1 (UNIV TEXAS [US]; DIAL ELIZABETH J [US]; LICHTENBERGER LENARD M [US]) 10 février 2005 (2005-02-10) alinéa [0003] - alinéa [0003] revendications 1,4,11,14 -----	1-6

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2016/051702

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
JP 2013049655	A	14-03-2013	AUCUN	

WO 2005011708	A1	10-02-2005	AU 2004260696 A1	10-02-2005
			CA 2534241 A1	10-02-2005
			CN 1852721 A	25-10-2006
			CN 103143031 A	12-06-2013
			EP 1653975 A1	10-05-2006
			HK 1096298 A1	09-08-2013
			KR 20060054405 A	22-05-2006
			US 2005064025 A1	24-03-2005
			WO 2005011708 A1	10-02-2005
