



(19) REPUBLIKA HRVATSKA  
DRŽAVNI ZAVOD ZA  
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(10) Identifikator  
dokumenta:

HR P20050184 A2

HR P20050184 A2

## (12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>: A 61 K 31/685  
A 61 P 35/00

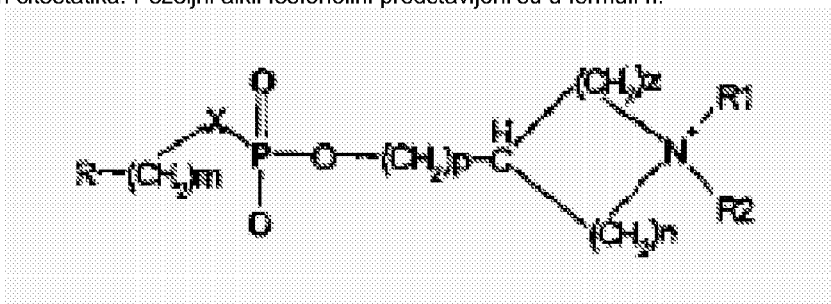
(21) Broj prijave u HR: P20050184A  
(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 25.02.2005.  
(43) Datum objave prijave patenta u HR: 30.04.2005.  
(86) Broj međunarodne prijave: PCT/EP03/008346  
Datum podnošenja međunarodne prijave: 29.07.2003.  
(87) Broj međunarodne objave: WO 04/012744  
Datum međunarodne objave: 12.02.2004.

(31) Broj prve prijave: 60/399,615 (32) Datum podnošenja prve prijave: 30.07.2002. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(71) Podnositelj prijave: Zentaris GmbH, Weismüllerstrasse 45, 60314 Frankfurt/Main, DE  
(72) Izumitelji: Jürgen Engel, Erlenweg 3, 63755 Alzenau, DE  
Günther Eckhard, Wingerstrasse 176, 63477 Maintal, DE  
Herbert Sindermann, Leipziger Ring 73, 63110 Rodgau, DE  
(74) Punomoćnik: Mladen Vukmir, Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: UPORABA ALKILFOSFOHOLINA U KOMBINACIJI S PROTUTUMORSKIM LIJEKOVIMA

(57) Sažetak: Izum se odnosi na uporabu alkil fosfoholina u kombinaciji s protutumorskim lijekovima za liječenje benignih i malignih tumorskih bolesti u ljudi i sisavaca. Alkil fosfoholini se mogu koristiti u novoj kombinaciji s jednim ili nekoliko odobrenih citostatika. Poželjni alkil fosfoholini predstavljeni su u formuli II.



HR P20050184 A2

## OPIS IZUMA

Alkilfosfoholini su novi razred organskih spojeva koji posjeduju različita antineoplastična djelovanja (M. Lohmeyer i R. Bittman; Antitumor ether lipids and alkylphosphocolines, *DOF*, 19 (11), 1021-1037 (1994)). Učinak alkilfosfoholina s tim u svezi može se temeljiti na različitim molekularnim i biokemijskim mehanizmima, od kojih se neki odvijaju na razini plazmatske opne stanica. Dobro je poznato kako alkilfosfoholini utječu na metabolizam inositola, interakciju s fosfolipazama ili inhibiciju protein kinaze C, pa stoga taj razred spojeva općenito utječe na transdukciju staničnih signala (K. Maly, F. Überall, C. Schubert, E. Kindler, J. Stekar, H. Brachwitz i H. H. Grunicke, Interference of new alkylphospholipid analogues with mitogenic signal transduction, *Anti-Cancer Drug Desig*, 10, 411-425 (1995)). Alkilfosfoholin perifosin posjeduje svojstva inhibicije rasta u odnosu na stanične linije raznih melanoma, kao i karcinoma CNS, pluća, kolona, prostate i dojke, s vrijednostima IC<sub>50</sub> u području od 0,2 – 20 μM (P. Hilgard, T. Klenner, J. Stekar, G. Nössner, B. Kutscher i J. Engel; D-21266, a New Heterocyclic Alkylphospholipid with Antitumor Activity, *Eur. J. Cancer*, 33 (3), 442-446 (1997)). Nadalje je poznato kako perifosin blokira stanice tumora u G<sub>1</sub>-S i G<sub>2</sub>-M fazi staničnog ciklusa (V. Patel, T. Lahusen, T. Sy, E. A. Sausville, J. S. Gutkind i A.M. Senderowicz; Perifosine, a Novel Alkylphospholipid, Induces p21<sup>Waf1</sup> Expression in Squamous Carcinoma Cells through a p53-independent Pathway, Leading to Loss in Cyclin-dependent Kinase Activity and Cell Cycle Arrest, *Cancer Research* 62, 1401-1409 (2002)).

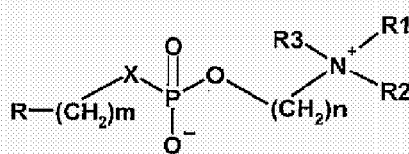
Poznato je kako se uporabom alkilfosfoholina prije ili nakon terapije zračenjem postižu sinergistički učinci u liječenju tumora (G. A. Ruitter, M. Verheijl, S. F. Zerp i W. J. van Blitterswijk; Alkyl-Lysophospholipids as Anticancer Agents and Enhancers of Radiation-Induced Apoptosis, *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 49 (2), 415-420, 2001). Također se navodi kako razni glicero-3-fosfolipidi, npr. ET-18-OCH<sub>3</sub>, u kombinaciji s različitim tvarima za interakciju s DNA ili sredstvima za vezanje tubulina, povećavaju protutumorsko djelovanje in vitro na linijama stanica različitih tumora (A. Nosedá, M. E. Berens, J. G. White i E. J. Modest; In vitro antiproliferative activity of combinations of ether lipid analogs and DNA-Interactive agents against human tumor cells, *Cancer Res.*, 48 (7), 1788-1791 (1988); P. Principe, H. Coulomb, C. Broquet i P. Braquet; Evaluation of combinations of antineoplastic ether phospholipids and chemotherapeutic drugs, *Anti-Cancer Drugs*, 3 (6), 577-587 (1992); P. Principe, H. Coulomb, J.-M. Mencia-Huerta, C. Broquet i P. Braquet; Synergistic cytotoxic effect of aza-alkylphospholipids in association with chemotherapeutic drugs, *J. Lipid Mediators Cell Signalling*, 10 (1-2), 171-173 (1994)).

Sada je neočekivano moguće pokazati kako su linearni alkilfosfoholini opće formule I i II prikladni za uporabu u kombinaciji sukladno predmetnom izumu s drugim lijekovima namijenjenim liječenju benignih i malignih onkosa u ljudi i sisavaca. U tom je smislu moguće koristiti spojeve opće formule I i II u kombinaciji sukladno predmetnom izumu s protutumorskim tvarima. Protutumorske tvari mogu biti alkilacijska sredstva, antimetaboliti, biljni alkaloidi, spojevi platine, tumorski antibiotici, te agonisti ili antagonisti prirodnih hormona. Protutumorske tvari se mogu izabrati od sljedećih tvari, bez ograničavanja: cisplatin, karboplatin, oksaliplatin, bleomicin, doksorubicin, metotreksat, paklitaksel, docetaksel, vinkristin, vinblastin, etopozid, tenipozid, ifosfamid, ciklofosfamid, 5-fluoruracil, fluarabin, gemcitabin i citarabin.

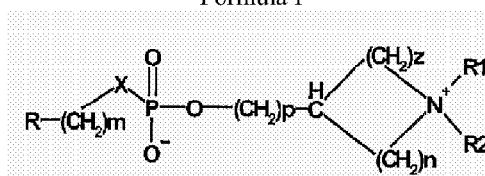
Štoviše, moguće je koristiti alkilfosfoholine opće formule I i II u kombinaciji koja se želi zaštititi s inhibitorima transdukcije signala u obliku inhibitora receptor i/ili citosolnih kinaza visoke i niske molekularne mase. Ti se inhibitori mogu, bez ograničavanja, odabrati između monoklonskih protutijela i heterocikličkih spojeva.

Alkilfosfoholini opće formule I i II na kojima se predmetni izum temelji mogu se rabiti u obliku gotovih lijekova.

Spojevi na kojima se predmetni izum temelji opisani su općim formulama I i II:



Formula I



Formula II

pri čemu, neovisno jedan od drugog:

n, m, p, z predstavljaju cijeli broj između 0 i 4;

X predstavlja O, S, NH;

R predstavlja H, ravnolančani ili razgranani (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>)-alkil radikal koji može biti zasićen ili nezasićen s jednom do tri dvostruke i/ili trostruke veze i može biti nesupstituiran ili po izboru supstituiran na istom ili na različitim C atomima s jednim, dva ili tri od sljedećih radikala: halogen, nitro, cijano, hidroksil, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoksi, amino, mono-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkilamino ili di-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkilamino.

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> predstavljaju, neovisno jedan od drugog, H, ravnolančani ili razgranani (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkil radikal, poželjno je metil i etil, (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)-cikloalkil radikal koji može biti nesupstituiran ili po izboru supstituiran na istom ili na različitim C atomima s jednim, dva ili tri od sljedećih radikala: halogen, nitro, cijano, hidroksil, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoksi, amino, mono-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkilamino ili di-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkilamino.

Sukladno sljedećem utjelovljenju predmetnog izuma, omogućen je postupak za nadzor tumora kod ljudi i sisavaca, koji uključuje davanje najmanje jednog od spojeva opće formule I i II na kojima se predmetni izum temelji čovjeku ili sisavcu u količini koja je učinkovita u liječenju tumora prije ili za vrijeme liječenja s odobrenim protutumorskim lijekovima.

Terapijski učinkovita doza, koju treba dati u svrhu liječenja, konkretnog spoja opće formule I i II na kojima se predmetni izum temelji ovisi, između ostalog, o prirodi i stadiju onkoze, dobi i spolu pojedinog bolesnika, načinu primjene i trajanju liječenja.

Spojevi na kojima se predmetni izum temelji mogu se davati kao gotov lijek u obliku tekućine, polukrute tvari ili u obliku krute tvari. Primjena se vrši na način koji je u svakom konkretnom slučaju prikladan, u obliku aerosola, oralnih prašaka, prašaka i epipastika, neobloženih tableta, obloženih tableta, emulzija, pjena, otopina, suspenzija, gelova, masti, pasta, pilula, pastila, kapsula ili supozitorija.

Primjerična utjelovljenja:

Primjena perifosina (D-21 266) u kombinaciji s cisplatinom

In vivo test: model raka dojke u štakora izazvan DMBA-om

Pokusna životinja: Sprague-Dawley štakor, ženka

Postupak: Rak dojke izazvan je jednom peroralnom dozom DMBA. Životinje su dobivale perifosin od dana 0 do dana 14, a pregledane su na dan 42. Težina mase tumora izračunana je palpacijom i usporedbom s plastičnim modelima. Početna težina se uzima kao 100%.

Primjena: Perifosin 14 x 6,81 mg/kg p.o.  
Cisplatin 4 x 1 mg/kg i.p.

Učinak: Smanjenje tumora je znatno veće i dulje uporabom kombiniranog tretmana u odnosu na pojedinačni tretman u svakom pojedinom slučaju.

| Tretman                            | Tumor<br>Početna težina [g] | Dan 21<br>Promjena u [%] | p test vs.<br>Kontrola |
|------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------|
| Kontrola                           | 1,0                         | 875                      | -                      |
| Perifosin (D-21266)                | 0,9                         | -25                      | < 0,001                |
| Cisplatin                          | 0,9                         | 410                      | 0,120                  |
| Perifosin (D-21266)<br>+ Cisplatin | 0,8                         | -75                      | < 0,001                |

Primjena perifosina u kombinaciji s ciklofosfamidom

In vivo test: model raka dojke u štakora izazvan DMBA-om

Pokusna životinja: Sprague-Dawley štakor, ženka

Postupak: Rak dojke izazvan je jednom dozom DMBA. Životinje su dobivale perifosin od dana 0 do dana 14, a pregledane su na dan 42. Težina tumorske mase izračunana je palpacijom i usporedbom s plastičnim modelima. Početna težina se uzima kao 100%.

Primjena: Perifosin 14 x 6,81 mg/kg p.o.  
Ciklofosamid 100 mg/kg, VZ 0, i.v.

Učinak: Smanjenje tumora je znatno veće i dulje uporabom kombiniranog tretmana u odnosu na pojedinačni tretman u svakom pojedinom slučaju.

5

| Tretman                            | Tumor<br>Početna težina [g] | Dan 21<br>Promjena u [%] | p test vs.<br>Kontrola |
|------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------|
| Kontrola                           | 1,0                         | 875                      | -                      |
| 10 Perifosin (D-21266)             | 0,9                         | -25                      | < 0,001                |
| Cisplatin                          | 0,9                         | 500                      | 0,011                  |
| Perifosin (D-21266)<br>+ Cisplatin | 0,8                         | -83,3                    | < 0,001                |

15 Primjena perifosina u kombinaciji s Adriamycinom

In vivo test: model raka dojke u štakora izazvan DMBA-om

Pokusna životinja: Sprague-Dawley štakor, ženka

20

Postupak: Rak dojke izazvan je jednom dozom DMBA. Životinje su dobivale perifosin od dana 0 do dana 14, a pregledane su na dan 42. Težina tumorske mase izračunana je palpacijom i usporedbom s plastičnim modelima. Početna težina se uzima kao 100%.

25 Primjena: Perifosin 14 x 6,81 mg/kg p.o.  
Adriamycin 4 x 2,15 mg/kg, VZ 0, i.p.

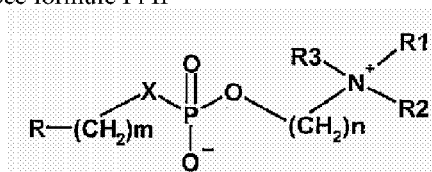
Učinak: Smanjenje tumora je znatno veće i dulje uporabom kombiniranog tretmana u odnosu na pojedinačni tretman u svakom pojedinom slučaju.

30

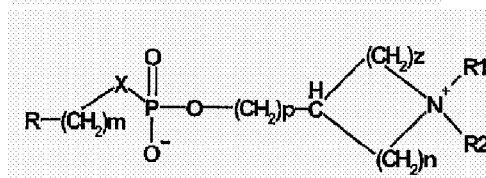
| Tretman                             | Tumor<br>Početna težina [g] | Dan 21<br>Promjena u [%] | p test vs.<br>Kontrola |
|-------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------|
| Kontrola                            | 1,0                         | 875                      | -                      |
| Perifosin (D-21266)                 | 0,9                         | -25                      | < 0,001                |
| 35 Adriamycin                       | 1,0                         | 781,3                    | 0,197                  |
| Perifosin (D-21266)<br>+ Adriamycin | 01,0                        | -70                      | < 0,001                |

## 40 PATENTNI ZAHTEVI

1. Uporaba alkilfosfoholina opće formule I i II



Formula I



Formula II

45

gdje, neovisno jedan od drugog:

n, m, p, z predstavlja cijeli broj između 0 i 4;

X predstavlja O, S, NH;

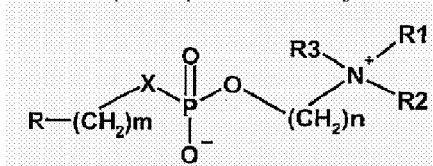
R predstavlja H, ravnolančani ili razgranani (C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>)-alkil radikal koji može biti zasićen ili nezasićen jednom do tri dvostruke i/ili trostruke veze i koji može biti nesupstituiran ili po izboru supstituiran na istom ili na različitom C atomu s jednim, dva ili više od sljedećih radikala: halogen, nitro, cijano, hidroksil, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoksi, amino, mono- (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkilamino ili di-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkilamino;

50

$R_1, R_2, R_3$  predstavljaju, neovisno jedan o drugom, H, ravnolančani ili razgranani ( $C_1-C_6$ )-alkil radikal, poželjno je metil i etil, ( $C_3-C_7$ )-cikloalkil radikal koji može biti nesupstituiran ili po izboru supstituiran na istom ili različitom C atomu s jednim, sva ili više od sljedećih radikala: halogen, nitro, cijano, hidroksil, ( $C_1-C_6$ )-alkoksi, amino, mono-

**naznačena time**, da je namijenjena proizvodnji gotovog lijeka za liječenje benignih i malignih onkoza prije i/ili tijekom liječenja s odobrenim protutumorskim lijekom.

2. Uporaba alkilfosfoholina opće formule I prema patentnom zahtjevu 1



Formula I

gdje, neovisno jedan od drugog:

$n$  predstavlja cijeli broj 1 ili 2;

$m$  predstavlja cijeli broj 1;

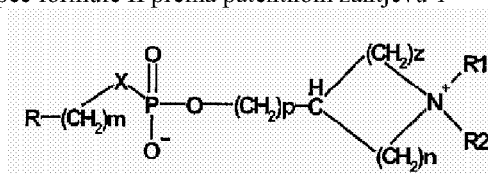
$X$  predstavlja O;

$R$  predstavlja H ili ravnolančani ili razgranani ( $C_1-C_{17}$ )-alkil radikal koji može biti zasićen ili nezasićen s jednom do tri dvostruke i/ili trostruke veze;

$R_1, R_2, R_3$  predstavljaju, neovisno jedan o drugom, H, ravnolančani ili razgranani ( $C_1-C_6$ )-alkil radikal, poželjno je metil i etil, ( $C_3-C_7$ )-cikloalkil radikal,

**naznačena time**, da je namijenjena proizvodnji gotovog lijeka za liječenje benignih i malignih onkoza prije i/ili tijekom liječenja s odobrenim protutumorskim lijekom.

3. Uporaba alkilfosfoholina opće formule II prema patentnom zahtjevu 1



Formula II

gdje, neovisno jedan od drugog:

$m, p$  predstavlja cijeli broj 1;

$n, z$  predstavlja cijeli broj 2;

$X$  predstavlja O;

$R$  predstavlja H, ravnolančani ili razgranani ( $C_1-C_{17}$ )-alkil radikal koji može biti zasićen ili nezasićen s jednom do tri dvostruke i/ili trostruke veze;

$R_1, R_2, R_3$  predstavljaju, neovisno jedan o drugom, H, ravnolančani ili razgranani ( $C_1-C_6$ )-alkil radikal, poželjno je metil i etil, ( $C_3-C_7$ )-cikloalkil radikal,

**naznačena time**, da je namijenjena proizvodnji gotovog lijeka za liječenje benignih i malignih onkoza prije i/ili tijekom liječenja s odobrenim protutumorskim lijekom.

4. Uporaba oktaecil 1,1-dimetilpiperidinio-4-il fosfata prema patentnom zahtjevu 1, **naznačena time**, da je namijenjena proizvodnji gotovog lijeka za liječenje benignih i malignih onkoza prije i/ili tijekom liječenja s odobrenim protutumorskim lijekom.
5. Uporaba alkilfosfoholina opće formule I i II prema patentnim zahtjevima 1 do 4, **naznačena time**, da odobreni protutumorski lijekovi mogu biti alkilacijska sredstva, antimetaboliti, biljni alkaloidi, spojevi platine, tumorski antibiotici, te agonisti ili antagonisti prirodnih hormona.
6. Uporaba prema patentnom zahtjevu 5, **naznačena time**, da protutumorski lijekovi mogu biti cisplatin, ciklofosfamid ili Adriamycin.
7. Uporaba alkilfosfoholina opće formule I i II prema patentnim zahtjevima 1 do 4, **naznačena time**, da odobreni antitumorski lijekovi mogu biti inhibitori signalne transdukcije u obliku inhibitora receptor kinaza i/ili citosolnih kinaza visoke ili niske molekularne mase.
8. Uporaba prema patentnom zahtjevu 7, **naznačena time**, da inhibitori mogu biti monoklonska protutijela ili heterociklički spojevi.
9. Uporaba alkilfosfoholina opće formule I i II prema patentnim zahtjevima 1 do 8, **naznačena time**, da se rabi terapijska doza koja je učinkovita za liječenje prije i/ili tijekom liječenja s odobrenim protutumorskim lijekom.
10. Uporaba alkilfosfoholina opće formule I i II prema patentnim zahtjevima 1 do 9, **naznačena time**, da je odobreni protutumorski lijek kombinacija različitih citostatika.
11. Uporaba alkilfosfoholina opće formule I i II prema patentnim zahtjevima 1 do 4, **naznačena time**, da je namijenjena proizvodnji gotovog lijeka za liječenje benignih i malignih onkoza prije i/ili tijekom liječenja s odobrenim protutumorskim lijekom, pri čemu gotov lijek sadrži uobičajene farmaceutske nosače, ekscipijense i/ili razrjeđivače kao dodatak alkilfosfoholinima formule I i II.

12. Gotov lijek, **naznačen time**, da sadrži najmanje jedan alkilfosfoholin opće formule I i II, a gdje je to prikladno, nosače i/ili ekscipijense za uporabu u liječenju benignih i malignih onkoza prije i/ili tijekom liječenja s odobrenim protutumorskim lijekom.

5

#### **SAŽETAK**

- Izum se odnosi na uporabu alkil fosfoholina u kombinaciji s protutumorskim lijekovima za liječenje benignih i malignih tumorskih bolesti u ljudi i sisavaca. Alkil fosfoholini se mogu koristiti u novoj kombinaciji s jednim ili nekoliko odobrenih citostatika. Poželjni alkil fosfoholini predstavljeni su u formuli II.
- 10