

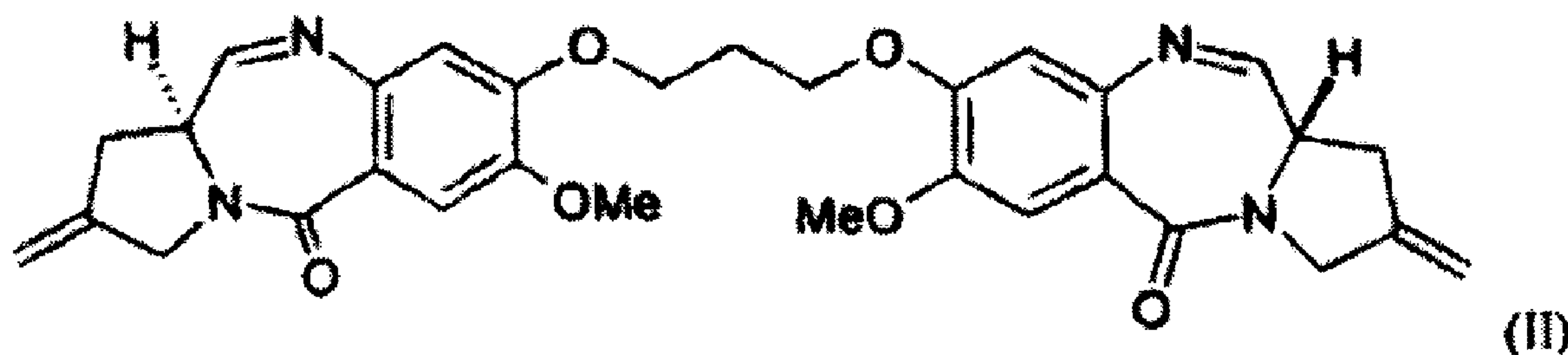


(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2005/04/26
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2005/11/10
(45) Date de délivrance/Issue Date: 2014/07/29
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2006/10/25
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2005/001025
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2005/105113
(30) Priorité/Priority: 2004/04/27 (FR0404424)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *A61K 31/7076* (2006.01),
A61K 31/5513 (2006.01), *A61P 35/00* (2006.01)
(72) Inventeurs/Inventors:
DELAVALT, PATRICK, FR;
PEPPER, CHRIS, GB
(73) Propriétaire/Owner:
IPSEN PHARMA S.A.S, FR
(74) Agent: GOUDREAU GAGE DUBUC

(54) Titre : COMPOSITION THERAPEUTIQUE CONTENANT AU MOINS UN DERIVE DE LA
PYRROLOBENZODIAZEPINE ET LA FLUDARABINE

(54) Title: THERAPEUTIC COMPOSITIONS CONTAINING AT LEAST ONE PYRROLOBENZODIAZEPINE DERIVATIVE
AND FLUDARABINE



(57) Abrégé/Abstract:

La présente invention concerne l'utilisation d'une composition thérapeutique comprenant au moins un dérivé de la pyrrolobenzodiazépine en combinaison avec la fludarabine pour le traitement du cancer et plus particulièrement des maladies hématologiques.



(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
10 novembre 2005 (10.11.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/105113 A2(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 31/7076, 31/5513, A61P 35/00(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2005/001025

(22) Date de dépôt international : 26 avril 2005 (26.04.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0404424 27 avril 2004 (27.04.2004) FR(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : SO-
CIE TE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'AP-
PLICATIONS SCIENTIFIQUES (S.C.R.A.S.) [S.A.S.]
[FR/FR]; 42, rue du Docteur Blanche, F-75016 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) :
DELAVault, Patrick [FR/FR]; 51, avenue Anatole
France, F-92700 Colombes (FR). PEPPER, Chris
[GB/GB]; 29 Brockhill Way, Penarth, Vale of Glamorgan
CF64 5QD (GB).(74) Mandataire : BOURGOUIN, André; IPSEN -
S.C.R.A.S., Direction de la Propriété Intellectuelle,
24, rue Erlanger, F-75781 Paris Cedex 16 (FR).(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : 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, 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) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, 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).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapportEn ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.(54) Title: THERAPEUTIC COMPOSITIONS CONTAINING AT LEAST ONE PYRROLOBENZODIAZEPINE DERIVATIVE
AND FLUDARABINE(54) Titre : COMPOSITION THERAPEUTIQUE CONTENANT AU MOINS UN DERIVE DE LA PYRROLOBENZODIAZE-
PINE ET LA FLUDARABINE(57) Abstract: The invention concerns the use of a therapeutic composition comprising at least one pyrrolbenzodiazepine derivative
combined with fludarabine for treating cancer and more particularly hematological diseases.(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation d'une composition thérapeutique comprenant au moins un dérivé de la
pyrrolbenzodiazépine en combinaison avec la fludarabine pour le traitement du cancer et plus particulièrement des maladies héma-
tologiques.

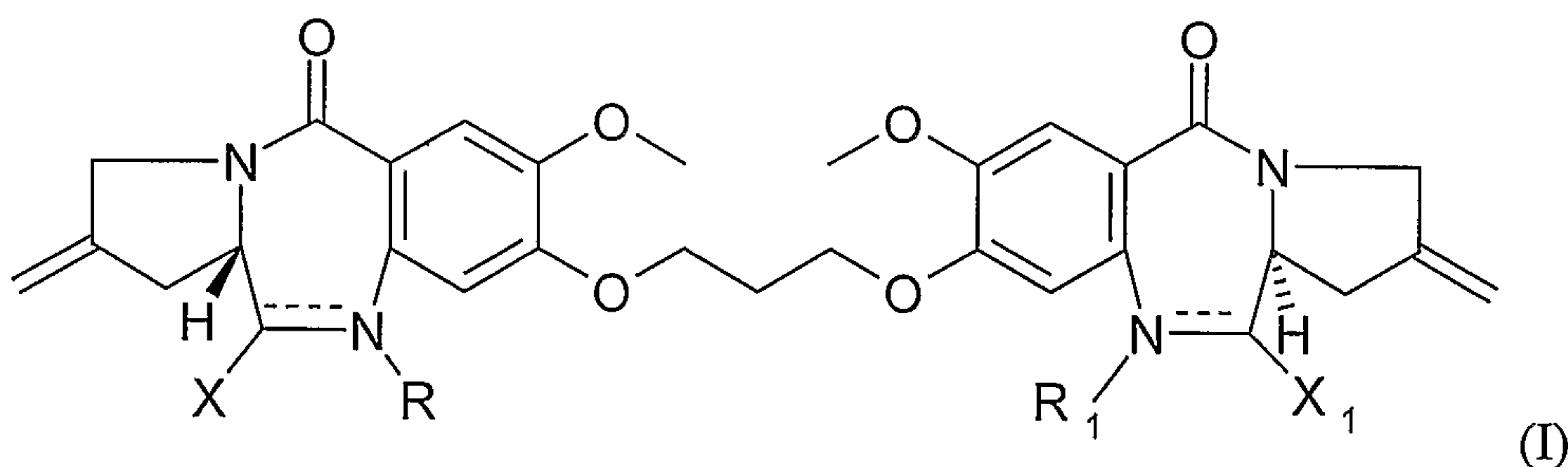
WO 2005/105113 A2

**Composition thérapeutique contenant au moins
un dérivé de la pyrrolobenzodiazépine et la fludarabine**

La présente invention concerne l'utilisation d'une composition thérapeutique comprenant au
5 moins un dérivé de la pyrrolobenzodiazépine en combinaison et en particulier en
combinaison synergique avec la fludarabine pour le traitement du cancer. Une telle
composition est particulièrement intéressante pour le traitement de certaines maladies
hématologiques. L'invention concerne également une méthode de traitement du cancer avec
10 le dérivé de la pyrrolobenzodiazépine en combinaison et en particulier en combinaison
synergique avec la fludarabine. Enfin la présente invention concerne un produit comprenant
un dérivé de la pyrrolobenzodiazépine et la fludarabine, en tant que produit de combinaison
et en particulier en tant que combinaison synergique pour une utilisation simultanée,
séparée ou étalée dans le temps, pour le traitement du cancer.

La chimiothérapie et plus particulièrement la chimiothérapie combinée reposant sur
15 l'association d'agents possédant un mécanisme d'action différent est un principe
thérapeutique établi aujourd'hui pour lutter contre le cancer. Ainsi la combinaison de
différents agents anti-tumoraux peut être une façon d'augmenter l'efficacité antitumorale
lorsqu'un effet synergique est révélé et/ou lorsqu'une baisse de toxicité est observée.

Dans la présente demande, l'expression "dérivé de la pyrrolobenzodiazépine" comprend le
20 produit de formule (I)



dans laquelle

les lignes en pointillé représentent une seconde liaison possible entre les atomes auxquels
elles se rattachent, et

- 2 -

quand une seconde liaison est présente entre le carbone auquel se rattache X et l'atome d'azote auquel se rattache R, alors R est absent et X représente l'hydrogène, ou

quand il n'y a pas de seconde liaison entre le carbone auquel se rattache X et l'atome d'azote auquel se rattache R, alors R représente l'hydrogène et X représente -OH,

5 et

quand une seconde liaison est présente entre le carbone auquel se rattache X₁ et l'atome d'azote auquel se rattache R₁, alors R₁ est absent et X₁ représente l'hydrogène, ou

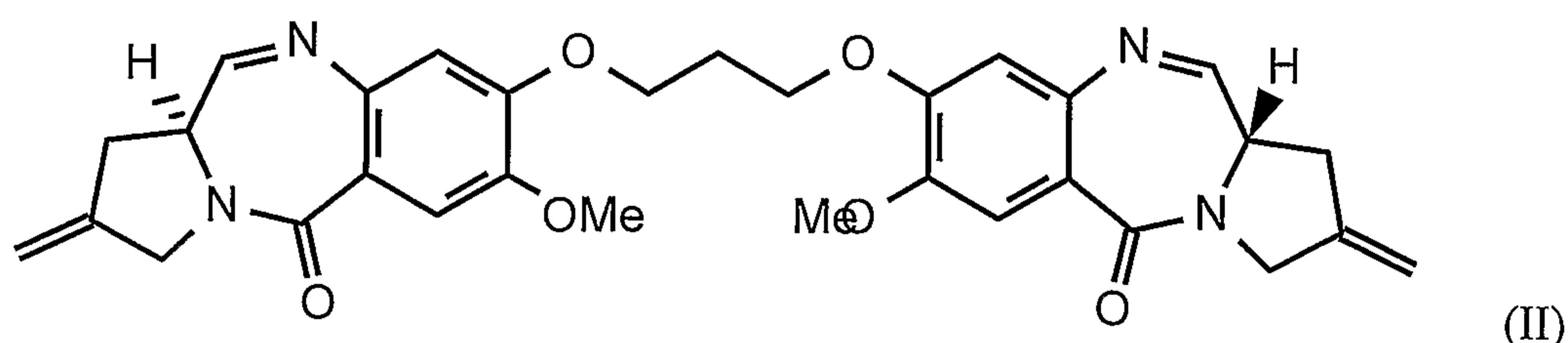
quand il n'y a pas de seconde liaison entre le carbone auquel se rattache X₁ et l'atome d'azote auquel se rattache R₁, alors R₁ représente l'hydrogène et X₁ représente -OH,

10 ou un sel d'addition avec un acide et/ou une forme solvatée et/ou une forme hydratée d'un tel composé, sous forme amorphe ou cristalline, sous forme racémique ou sous une forme optiquement active ou toutes combinaisons de ces formes,

et/ou tout composé qui peut générer dans des conditions physiologiques un des composés tels que définis ci-dessus,

15 et/ou tout mélange de quelques composés ou de tous les composés listés ci-dessus.

Une autre définition du "dérivé de la pyrrolobenzodiazépine" est la suivante : produit de formule (II)



et/ou un mono- et/ou bis-carbinol formé par addition d'eau ou d'alcool,

20 et/ou un sel d'addition avec un acide et/ou une forme solvatée et/ou une forme hydratée,

et/ou un sel d'addition avec un acide et/ou une forme solvatée et/ou une forme hydratée d'un tel composé, sous forme amorphe ou cristalline, sous forme racémique ou sous une forme optiquement active,

et/ou tout composé qui peut générer dans des conditions physiologiques un des composés tels que définis ci-dessus,

et/ou tout mélange de quelques composés ou de tous les composés listés ci-dessus.

Par la suite, le dérivé de la pyrrolobenzodiazépine tel que défini ci-dessus, sera appelé "dérivé PBD". Un tel dérivé PBD peut être préparé selon la méthode décrite dans WO 00/12508.

La fludarabine (commerciallement disponible en France sous le nom commercial Fludara®) est un produit dont les principales indications thérapeutiques sont les cancers lymphoïdes chroniques telles que leucémie lymphoïde chronique et lymphomes malins.

La présente se rapporte donc à l'utilisation d'une composition thérapeutique comprenant au moins le dérivé PBD en combinaison avec la fludarabine, pour la préparation d'un médicament pour le traitement du cancer.

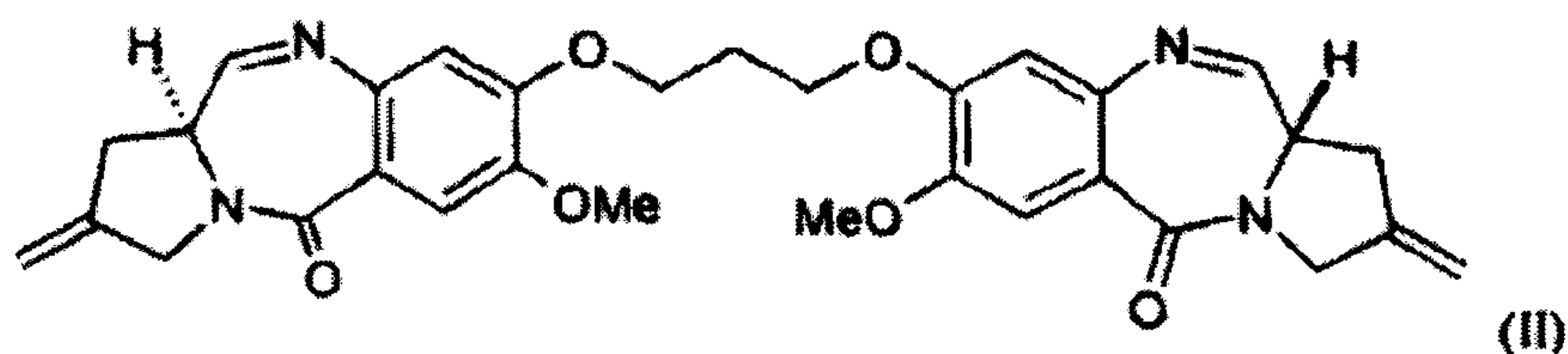
La présente invention se rapporte particulièrement à l'utilisation telle que définie ci-dessus, pour le traitement de maladies hématologiques, préférentiellement pour le traitement de leucémies et très préférentiellement pour la leucémie lymphoïde chronique.

L'invention se rapporte également à une méthode de traitement du cancer, ladite méthode comprenant l'administration à un patient d'une dose thérapeutiquement ou cliniquement efficace d'une composition thérapeutique comprenant au moins un premier composé qui est le dérivé PBD et un second composé qui est la fludarabine. De préférence, une telle composition est administrée pour le traitement de maladies hématologiques, de manière préférentielle pour le traitement des leucémies et de manière très préférentielle pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique.

Enfin, la présente invention se rapporte à un produit comprenant le dérivé PBD et la

fludarabine, en tant que produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, pour le traitement du cancer. Plus particulièrement, un produit selon la présente invention est adapté pour traiter les maladies hématologiques, de manière préférentielle pour traiter les leucémies et de manière très préférentielle la leucémie lymphoïde chronique.

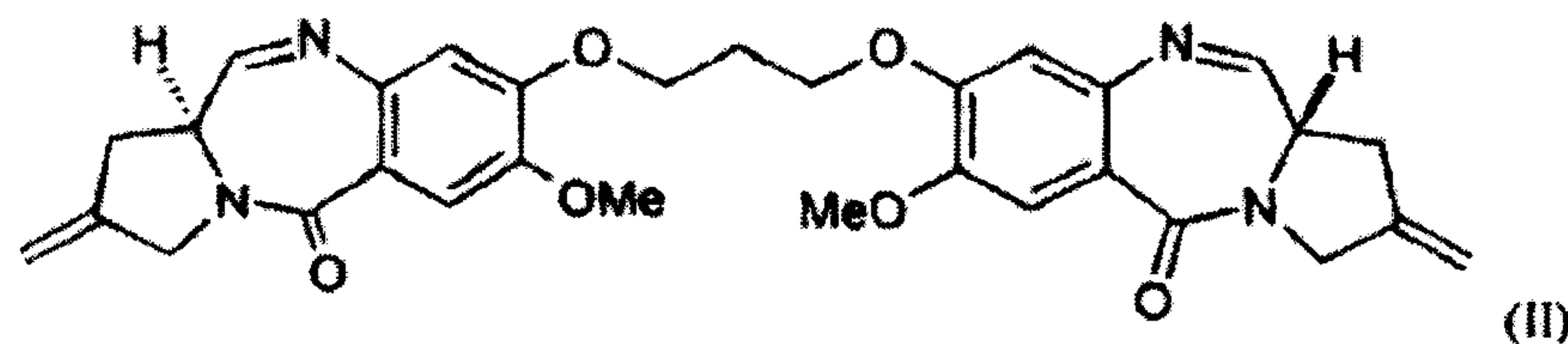
Selon un aspect, la présente invention se rapporte à l'utilisation du dérivé de la pyrrolobenzodiazépine de formule II (dérivé PBD)



un mono- ou bis-carbinol formé par réaction d'addition entre le dérivé PBD et l'eau ou un alcool; un sel d'addition formé par réaction entre le dérivé PBD et un acide; une forme solvatée ou une forme hydratée du dérivé PBD, dudit carbinol ou dudit sel d'addition; le dérivé PBD, ledit carbinol, ledit sel d'addition ou ladite forme solvatée ou hydratée sous forme amorphe ou cristalline, ou sous une forme optiquement active; ou un mélange de composés listés ci-dessus,

en combinaison avec la fludarabine, le ratio molaire dérivé PBD/fludarabine étant inférieur à 1/250, pour la préparation d'un médicament pour le traitement du cancer.

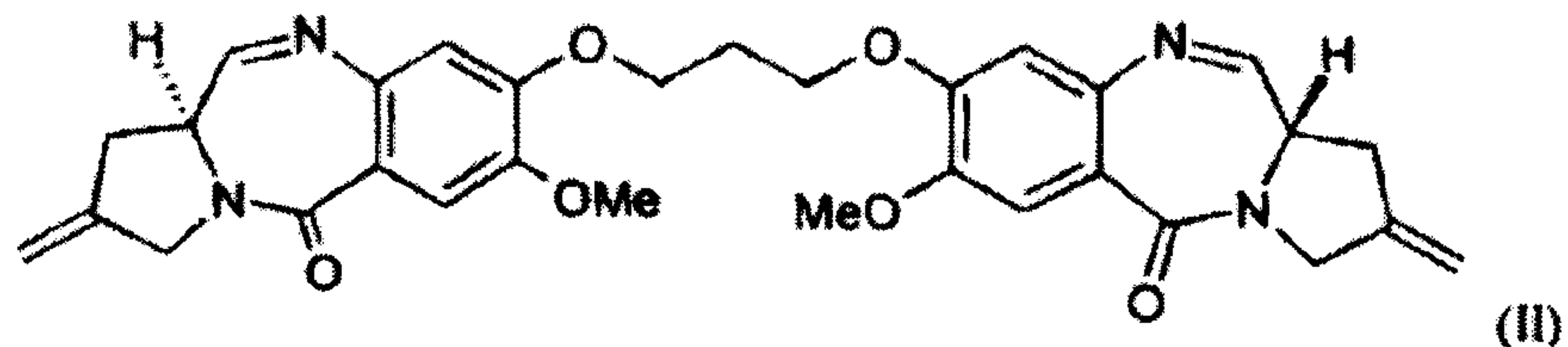
Selon un autre aspect, la présente invention se rapporte à l'utilisation du dérivé de la pyrrolobenzodiazépine de formule II (dérivé PBD)



un mono- ou bis-carbinol formé par réaction d'addition entre le dérivé PBD et l'eau ou un alcool; un sel d'addition formé par réaction entre le dérivé PBD et un acide; une forme solvatée ou une forme hydratée du dérivé PBD, dudit carbinol ou dudit sel d'addition; le dérivé PBD, ledit carbinol, ledit sel d'addition ou ladite forme solvatée

ou hydratée sous forme amorphe ou cristalline, ou sous une forme optiquement active; ou un mélange de composés listés ci-dessus, en combinaison avec la fludarabine, le ratio molaire dérivé PBD/fludarabine étant inférieur à 1/250, pour le traitement du cancer.

De plus, selon un autre aspect, la présente invention se rapporte à un produit comprenant le dérivé de la pyrrolobenzodiazepine de formule II (dérivé PBD)



un mono- ou bis-carbinol formé par réaction d'addition entre le dérivé PBD et l'eau ou un alcool; un sel d'addition formé par réaction entre le dérivé PBD et un acide; une forme solvatée ou une forme hydratée du dérivé PBD, dudit carbinol ou dudit sel d'addition; le dérivé PBD, ledit carbinol, ledit sel d'addition ou ladite forme solvatée ou hydratée sous forme amorphe ou cristalline, ou sous une forme optiquement active; ou un mélange de composés listés ci-dessus, et la fludarabine, le ratio molaire dérivé PBD/fludarabine étant inférieur à 1/250, en tant que produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, pour le traitement du cancer.

Une composition thérapeutique selon la présente invention consiste en la combinaison et en particulier une combinaison synergique du dérivé PBD et de la fludarabine dans laquelle le dérivé PBD et la fludarabine peuvent être présents sous une forme non séparée et peuvent donc être administrés simultanément, ou sous forme séparée et ainsi être administrés de façon simultanée ou séparée ou étalée dans le temps. Quand ils sont administrés séparément, le dérivé PBD peut être administré en premier ou en second, et respectivement la fludarabine en second ou en premier.

Une composition selon l'invention peut contenir des agents thérapeutiques autres que le dérivé PBD et la fludarabine. Ainsi, une composition selon la présente invention contient le dérivé PBD, la fludarabine et optionnellement au moins un autre agent thérapeutique. De préférence, une composition selon la présente invention contient le dérivé PBD, la fludarabine et un autre agent thérapeutique choisis parmi les anticorps

- 5a -

monoclonaux. Comme exemple d'anticorps monoclonaux, on peut citer le rituximab Rituxan® ou l'alemtuzumab (Campath®).

Des compositions thérapeutiques telles que définies ci-dessus comprennent des quantités thérapeutiquement efficaces du dérivé PBD et de la fludarabine, et des supports pharmaceutiquement acceptables pour former ensemble ou de façon séparée une (ou des) composition(s) liquide(s) telles que solutions ou suspensions, ou une (ou des) composition(s) solide(s) telles que comprimés, poudres.

Indépendamment de l'administration envisagée, c'est à dire de façon simultanée, séparée ou étalée dans le temps, les deux composés : le dérivé PBD et la fludarabine, peuvent être administrés par des voies d'administration identiques ou différentes. Ils peuvent être administrés par des voies d'administration identiques ou différentes lorsqu'ils sont présents sous forme séparée, et par voie d'administration identiques lorsqu'ils sont présents sous forme non séparée. De préférence, le dérivé PBD est administré par voie intraveineuse. La fludarabine est administrée par les voies traditionnellement recommandées. Les autres agents additionnels peuvent être administrés par les voies d'administration recommandées dans le traitement des cancers.

De préférence, le dérivé PBD peut être utilisé à une concentration comprise entre $1 \cdot 10^{-11} \text{M}$ et $1 \cdot 10^{-7} \text{M}$. De préférence également, la fludarabine peut être utilisée à une concentration comprise entre $1 \cdot 10^{-7} \text{M}$ et $1 \cdot 10^{-5} \text{M}$.

De préférence, le ratio molaire (dérivé PBD/fludarabine) est inférieur à 1/250 et plus préférentiellement aux environs de 1/100 et en particulier de 1/100.

Le dérivé PBD peut être administré par voie intraveineuse toutes les trois semaines à une dose comprise entre 1 et $150 \mu\text{g}/\text{m}^2$, et de préférence entre 10 et $100 \mu\text{g}/\text{m}^2$.

L'activité d'une composition selon la présente invention peut être déterminée selon les deux protocoles suivants : *in vitro* sur les cellules B-CLL humaines, *in vivo* sur des

- 5b -

modèles de leucémie, et par l'évaluation des lésions du DNA.

A moins qu'ils ne soient définis autrement, tous les termes techniques et scientifiques utilisés dans la présente demande ont la signification communément comprise par un spécialiste du domaine auquel appartient l'invention.

La figure 1 représente une courbe de l'effet dose-réponse pour les composés pris individuellement (dérivé PBD et fludarabine) ou en combinaison, avec un ratio molaire de 1/100.

La figure 2 représente une courbe de l'effet dose-réponse pour les composés pris individuellement (dérivé PBD et fludarabine) ou en combinaison, avec un ratio molaire de 1/250.

La figure 3 représente une courbe de l'effet dose-réponse pour les composés pris individuellement (dérivé PBD et fludarabine) ou en combinaison, avec un ratio molaire de 1/500.

Les exemples suivants sont présentés pour illustrer les procédures ci-dessus et ne doivent en aucun cas être considérés comme une limite à la portée de l'invention.

PARTIE EXPÉRIMENTALE :

Les fourchettes de doses utilisées dans cette étude sont les suivantes :

fludarabine : $1.10^{-7}M$ - $1.10^{-5}M$

dérivé PBD : $1.10^{-11}M$ - $1.10^{-7}M$

Dans le but d'établir la fourchette de dose appropriée pour chaque agent thérapeutique, on établit les courbes dose-réponse et les valeurs de DL_{50} sont calculées en utilisant une méthode d'analyse de régression non-linéaire (sigmoïdale).

- 6 -

Dans les expériences, les cellules de leucémie lymphoïde chronique B sont traitées avec différentes dilutions pour chacun des produits pris individuellement ou combinés mais alors avec un ratio molaire fixe.

L'analyse des effets de la combinaison des 2 composés est faite en utilisant la méthode de Chou et Talalay (Chou TC, Talalay P., Quantitative analysis of dose-effect relationships : the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv.Enzyme Regul. 1984 ; 22: 27-55). Cette méthode utilise les courbes dose-réponse pour chacun des composés et pour un ratio fixe des 2 composés en faisant varier leur concentration. Puis l'index de combinaison (IC) est calculé. Une valeur de IC inférieure à 1 indique une synergie, et une valeur de 1 ou supérieure à 1 suggère un effet additif ou un antagonisme respectivement.

Trois ratios molaires (dérivé PBD/fludarabine) sont ainsi définis : 1/100, 1/250 et 1/500. La valeur de l'index de combinaison obtenu pour chacun de ces ratios est la suivante :

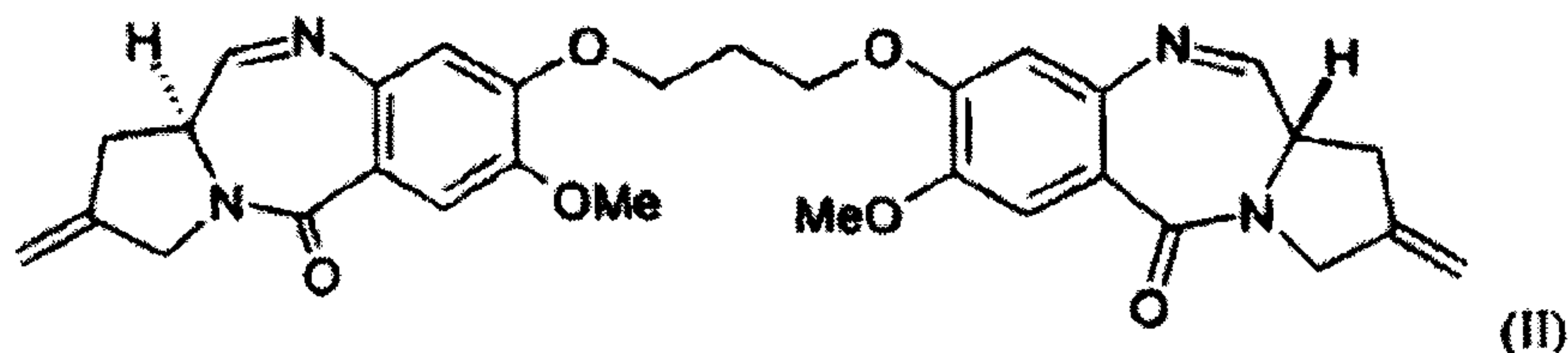
	Ratio molaire		
	1/100	1/250	1/500
IC	0,41	0,93	1,42

Les courbes de l'effet dose-réponse pour les composés pris individuellement (dérivé PBD et fludarabine) ou en combinaison, avec un ratio molaire fixe de 1/100, 1/250 et 1/500, sont représentées par les figures 1-3 respectivement (fa = fraction affectée (apoptose) ; fu = fraction non affectée (viable), log D = log de la concentration du produit).

On peut ainsi noter que le ratio molaire (dérivé PBD : fludarabine) (1/100) donne une valeur de l'index de combinaison de 0,41 ce qui montre qu'avec un tel ratio, la combinaison présente un effet synergique par opposition au ratio de 1/500 qui suggère plutôt un effet antagoniste.

REVENDEICATIONS

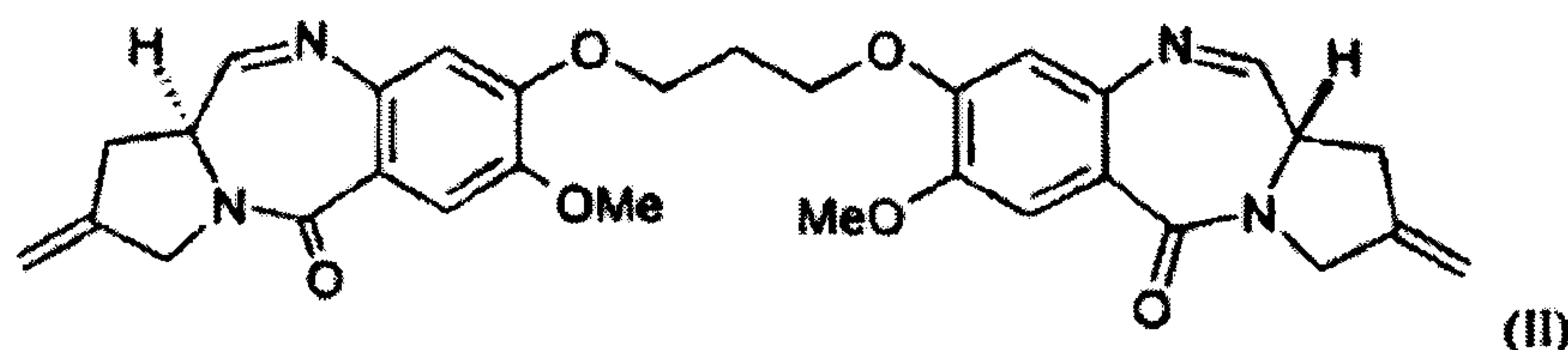
1. Utilisation du dérivé de la pyrrolobenzodiazepine de formule II (dérivé PBD)



un mono- ou bis-carbinol formé par réaction d'addition entre le dérivé PBD et l'eau ou un alcool; un sel d'addition formé par réaction entre le dérivé PBD et un acide; une forme solvatée ou une forme hydratée du dérivé PBD, dudit carbinol ou dudit sel d'addition; le dérivé PBD, ledit carbinol, ledit sel d'addition ou ladite forme solvatée ou hydratée sous forme amorphe ou cristalline, ou sous une forme optiquement active; ou un mélange de composés listés ci-dessus,

en combinaison avec la fludarabine, le ratio molaire dérivé PBD/fludarabine étant inférieur à 1/250, pour la préparation d'un médicament pour le traitement du cancer.

2. Utilisation du dérivé de la pyrrolobenzodiazepine de formule II (dérivé PBD)

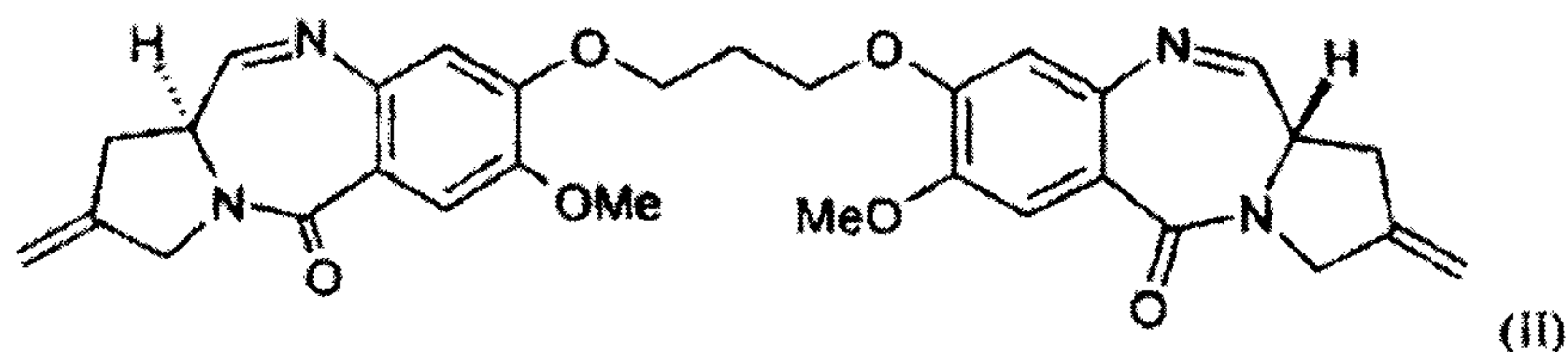


un mono- ou bis-carbinol formé par réaction d'addition entre le dérivé PBD et l'eau ou un alcool; un sel d'addition formé par réaction entre le dérivé PBD et un acide; une forme solvatée ou une forme hydratée du dérivé PBD, dudit carbinol ou dudit sel d'addition; le dérivé PBD, ledit carbinol, ledit sel d'addition ou ladite forme solvatée ou hydratée sous forme amorphe ou cristalline, ou sous une forme optiquement active; ou un mélange de composés listés ci-dessus,

en combinaison avec la fludarabine, le ratio molaire dérivé PBD/fludarabine étant inférieur à 1/250, pour le traitement du cancer.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, pour le traitement de maladies hématologiques.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour le traitement de leucémies.
5. Utilisation selon la revendication 4, pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans laquelle le dérivé PBD est utilisé à une concentration comprise entre 1.10^{-11} M et 1.10^{-7} M.
7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle la fludarabine est utilisée à une concentration comprise entre 1.10^{-7} M et 1.10^{-5} M.
8. Produit comprenant le dérivé de la pyrrolobenzodiazepine de formule II (dérivé PBD)



un mono- ou bis-carbinol formé par réaction d'addition entre le dérivé PBD et l'eau ou un alcool; un sel d'addition formé par réaction entre le dérivé PBD et un acide; une forme solvatée ou une forme hydratée du dérivé PBD, dudit carbinol ou dudit sel d'addition; le dérivé PBD, ledit carbinol, ledit sel d'addition ou ladite forme solvatée ou hydratée sous forme amorphe ou cristalline, ou sous une forme optiquement active; ou un mélange de composés listés ci-dessus,

et la fludarabine, le ratio molaire dérivé PBD/fludarabine étant inférieur à 1/250, pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, pour le traitement du cancer.

9. Produit selon la revendication 8, pour une utilisation simultanée.
10. Produit selon la revendication 8, pour une utilisation séparée.
11. Produit selon la revendication 8, pour une utilisation étalée dans le temps.
12. Produit selon l'une quelconque des revendications 8 à 11, pour le traitement de maladies hématologiques.

13. Produit selon l'une quelconque des revendications 8 à 12, pour le traitement des leucémies.

14. Produit selon la revendication 13, pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique.

15. Produit selon l'une quelconque des revendications 8 à 14, dans lequel le dérivé PBD est utilisé à une concentration comprise entre 1.10^{-11} M et 1.10^{-7} M.

16. Produit selon l'une quelconque des revendications 8 à 15, dans lequel la fludarabine est utilisée à une concentration comprise entre 1.10^{-7} M et 1.10^{-5} M.

1/1

Figure 1

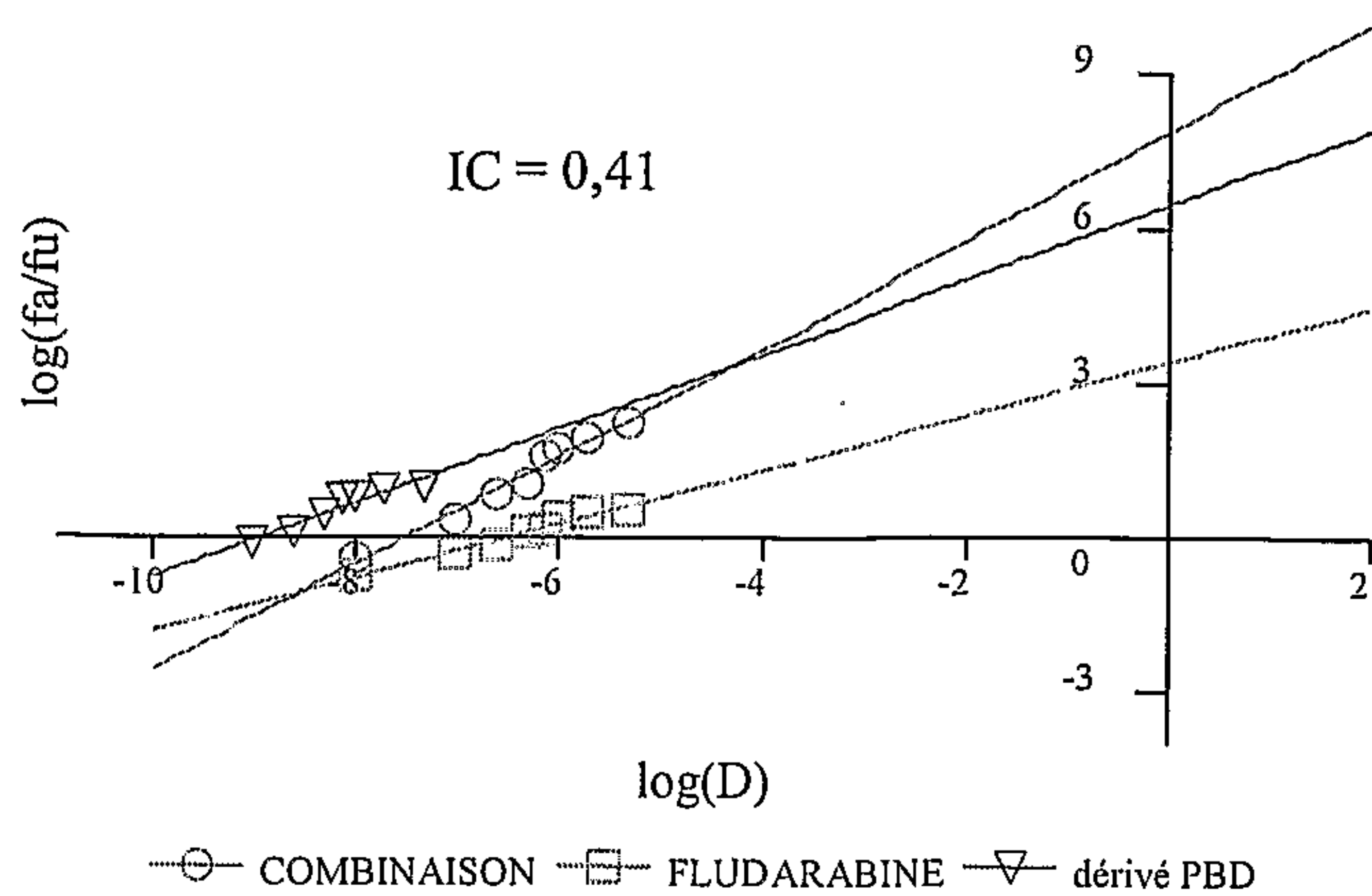


Figure 2

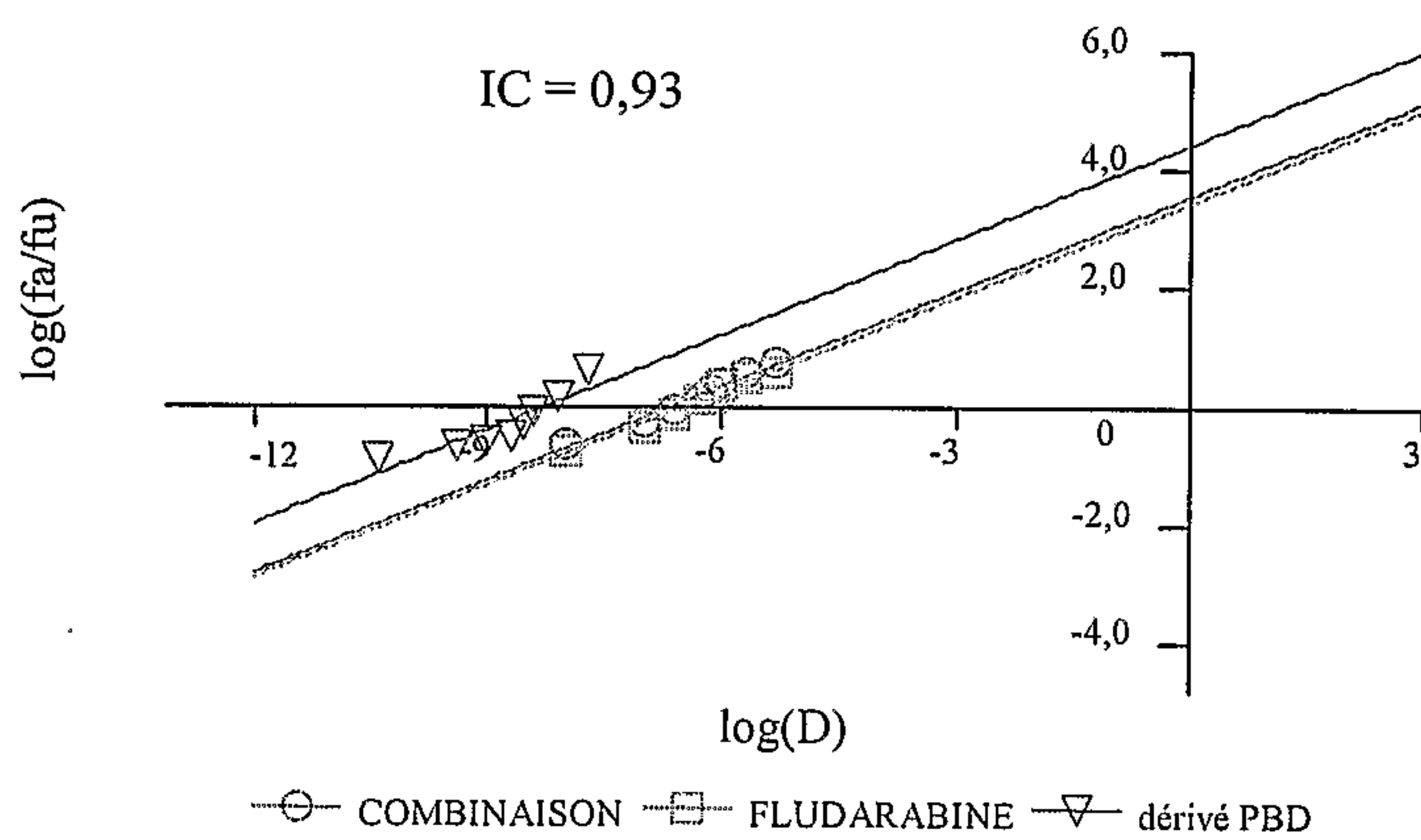
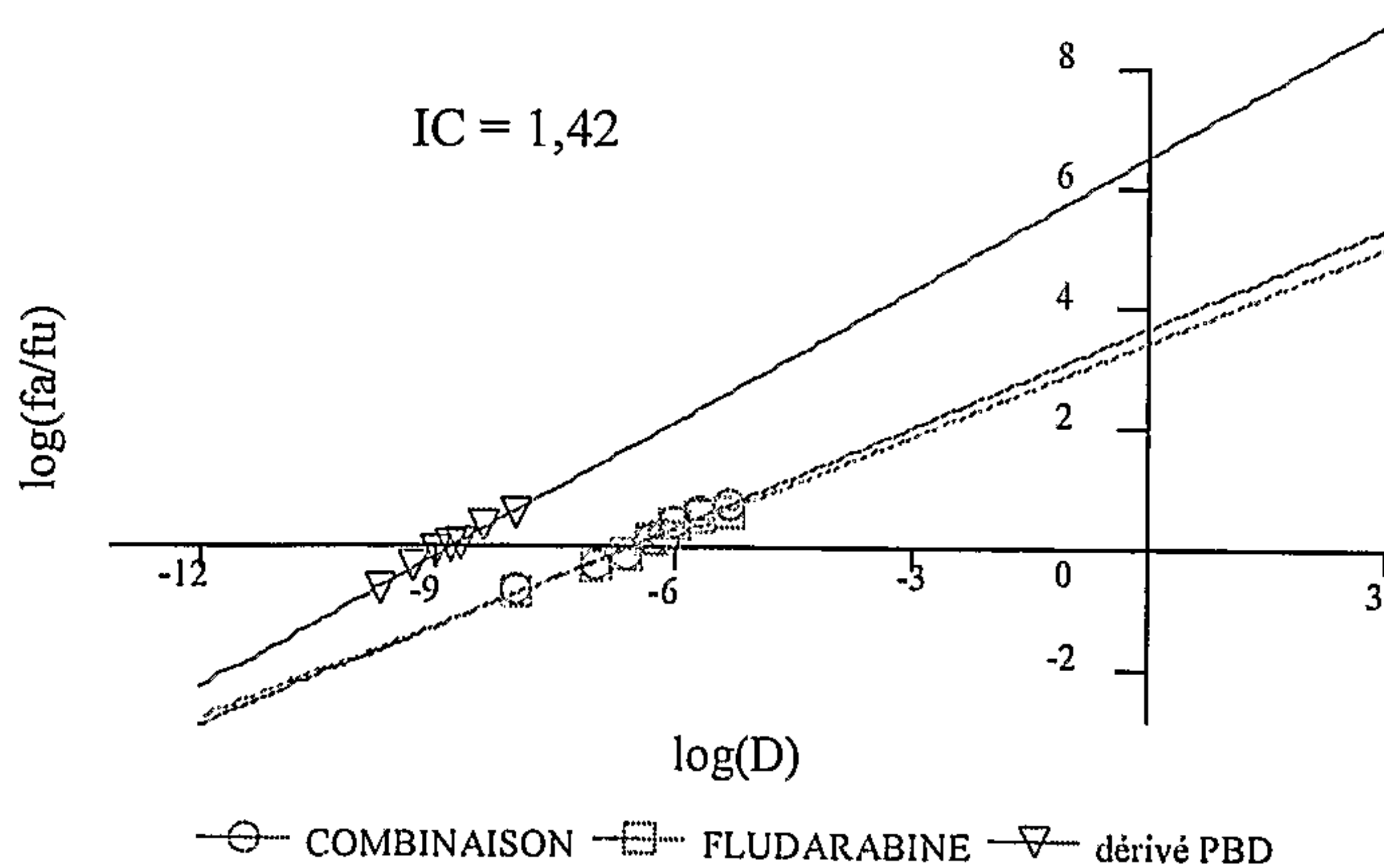
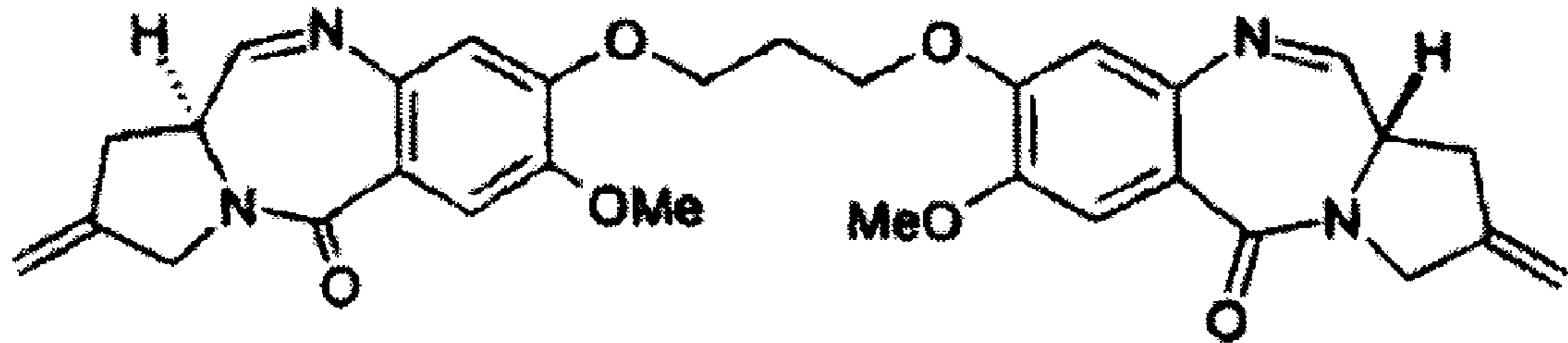


Figure 3





(11)