

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 27358 A1** (51) Cl. internationale : **A61P 35/00; A61K 33/36**
(43) Date de publication : **01.06.2005**

(21) N° Dépôt : **27939**

(22) Date de Dépôt : **08.11.2004**

(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT:
PCT/NL02/00231 10.04.2002

(71) Demandeur(s) :
• **YANG, YONG JIN, 254-4 SK TOWN HOUSE, KUMI-DONG, BUNDANG-GU, SEONGNAM-CITY KYONGGI-DO (KR)**
• **LEE, SANG BONG, 212-1103, DAELIM APT. CHOWEON NAUL, PYONGCHON-DONG, ANYANG CITY KYONGGI-DO (KR)**
• **Komipharm International Co., Ltd, 1 Ra-107, SHIHWA INDUSTRIAL COMPLEX, JUNGWANG-DONG, SHIHUNG CITY KYONGGI-DO (KR)**

(72) Inventeur(s) :
LEE, SANG BONG ; YANG, YONG JIN

(74) Mandataire :
TMP AGENTS

(54) Titre : **COMPOSITION PHARMACEUTIQUE COMPRENANT DE L'ARSENITE ET DESTINEE AU TRAITEMENT DE MALIGNITES.**

(57) Abrégé : L'INVENTION PORTE SUR UNE COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT D'UNE MALIGNITE SOLIDE CHOISIE DANS LE GROUPE TUMEUR DU COLON, TUMEUR GASTRIQUE, TUMEUR MAMMAIRE, TUMEUR OVARIENNE, TUMEUR DE LA PROSTATE, ET TUMEUR RENALE. CETTE COMPOSITION CONTIENT UN SEL DE META-ARSENITE (ASO2-) ET UN AUXILIAIRE PHARMACEUTIQUEMENT ACCEPTABLE. L'INVENTION PORTE AUSSI SUR SON UTILISATION ET SUR UN PROCÉDÉ DE TRAITEMENT.

A B R E G E

5 L'invention concerne une composition pharmaceutique pour le traitement de tumeurs solides malignes choisies dans le groupe formé par les tumeurs du colon, les tumeurs gastriques, les tumeurs mammaires, les tumeurs ovariennes, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein, ladite composition comprenant un sel de méta-arsénite (AsO_2^-) et un adjuvant pharmaceutique. L'invention concerne également l'utilisation de cette composition et un procédé de traitement.

COMPOSITION PHARMACEUTIQUE COMPRENANT DE L'ARSENITE ET
DESTINEE AU TRAITEMENT DE MALIGNITES.

La présente invention concerne une composition pharmaceutique contenant de l'arsenic pour de traitement de tumeurs malignes.

5 Des compositions pharmaceutiques contenant de l'arsenic sont connues pour le traitement des cancers. La revue de Waxman S. et al. (*The Oncologist* 6 (supplément 2), pages 3 - 10 (2001)), par exemple, décrit le disulfure d'arsenic, le trisulfure d'arsenic et le trioxyde d'arsenic, et l'utilisation de ladite composition comprenant un sel de méta-arsénite (AsO_2^-) et un adjuvant pharmaceutique.

10 En raison de leur toxicité inhérente et de l'apparition de bonnes alternatives, l'intérêt pour les composés à base d'arsenic est resté faible.

Le but de la présente invention est de proposer une composition pharmaceutique utilisable pour la thérapie anti-cancéreuse, qui permet le traitement de tumeurs solides. La composition pharmaceutique peut être utilisée pour le traitement de tumeurs solides contre lesquelles il n'existe actuellement aucun traitement, ou en tant qu'alternative de traitement ou traitement supplémentaire de telles tumeurs solides.

15 A cette fin, la composition pharmaceutique selon l'invention est caractérisée par le fait qu'il s'agit d'une composition pharmaceutique pour le traitement de tumeurs malignes solides choisies dans le groupe formé par les tumeurs du colon, les tumeurs gastriques, les tumeurs mammaires, les tumeurs ovariennes, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein, ladite composition comprenant un sel de méta-arsénite (AsO_2^-) et un adjuvant pharmaceutique.

20 On a constaté que les types de tumeurs indiqués ci-dessus sont étonnamment sensibles au sel de méta-arsénite. Le contre-ion du sel de méta-arsénite peut être n'importe quel contre-ion acceptable d'un point de vue pharmaceutique.

25 Dans l'article de Waxman, il est fait mention d'un article de Tarnowski G.S. et al. (*Cancer Research*, 26(2), pages 181-206 (1966)) où huit types de tumeurs sont examinés en relation avec 14 agents chimiques anti-tumoraux différents. L'arsénite de potassium affectait uniquement la croissance de tumeurs de type ascites d'Ehrlich. A propos de ce type de tumeur, il est indiqué qu'elle est plus sensible

30

dans les ascites que sous forme solide. Ceci souligne le caractère surprenant de la découverte de la présente invention.

Selon un mode de réalisation préféré, le sel est un sel d'un métal alcalin ou alcalino-terreux. Selon un mode de réalisation encore plus préféré, le sel de métal alcalin est un sel de sodium ou de potassium.

De tels sels sont facilement solubles et peuvent être obtenus facilement pour exercer leur effet anti-tumoral.

L'invention concerne également l'utilisation d'un sel de méta-arsénite (AsO_2^-) pour la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée au traitement de tumeurs malignes solides choisies dans le groupe formé par les tumeurs du colon, les tumeurs gastriques, les tumeurs mammaires, les tumeurs ovariennes, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein.

On a constaté que des tumeurs solides malignes appartenant au groupe des tumeurs du colon, des tumeurs mammaires, des tumeurs de la prostate et des tumeurs du rein étaient particulièrement sensibles.

Enfin, la présente invention concerne un procédé de traitement d'un patient humain souffrant d'une tumeur solide maligne choisie dans le groupe formé par les tumeurs du colon, les tumeurs gastriques, les tumeurs mammaires, les tumeurs ovariennes, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein, par administration d'une dose pharmaceutiquement efficace d'un sel de méta-arsénite (AsO_2^-).

La présente invention est maintenant illustrée en référence à l'exemple suivant non-limitatif de la portée de l'invention.

Exemple

On a fait croître différentes cellules tumorales humaines à 37 °C dans une atmosphère humidifiée (95 % d'air, 5 % de CO_2) en cultures mono-couches dans un milieu RPMI 1640 en présence de rouge de phénol (Life Technologies, Karlsruhe, Allemagne) enrichi avec 10 % de sérum de veau fœtal. Les cellules ont ensuite été exposées à une trypsine et maintenues ainsi pendant une semaine.

Essai de cytotoxicité

Un essai d'iodure de propidium modifié (basé sur l'article de W.A. Dengler *et al*, *Anti-Cancer Drugs*, 6, pages 522-532 (1995)) a été utilisé pour examiner l'activité anti-proliférative des composés étudiés. En bref, les cellules sont récoltées par trypsination à partir de cultures en phase

de croissance exponentielle dans un milieu RPMI 1640 enrichi avec 10 % de sérum de veau foetal, ont été comptées et mises sur plaque dans des plaques de microtitrage à 96 puits à fond plat (140 µl de suspension cellulaire, 8×10^4 cellules/ml). Après une période de récupération de 24 heures pour permettre aux cellules de reprendre leur croissance exponentielle, on ajoute dans les puits 10 µl de milieu de culture (6 puits témoins par plaque) ou de milieu de culture contenant le composé à tester. Chaque concentration de composé actif est effectuée en triple. Après 4 jours d'incubation, on remplace le milieu de culture par une solution aqueuse d'iodure de propidium (6 µg/ml). On maintient les plaques de microtitrage pendant 24 heures à -18 °C, ce qui aboutit à la mort de l'ensemble des cellules. Après décongélation des plaques, on mesure la fluorescence en utilisant un lecteur de microplaques Millipore Cytofluor 2350 (longueur d'onde d'excitation 530 nm, longueur d'onde d'émission 620 nm) afin de quantifier le nombre total de cellules. L'essai englobe les témoins non traités et les témoins positifs (5-FU et vindesine).

L'inhibition de la croissance est exprimée par le facteur cellules traitées/témoins x 100 (ou T/C%). Les valeurs de la IC₅₀ et IC₇₀ sont déterminées en traçant la concentration de composé en fonction du nombre de cellules. On calcule la valeur moyenne des IC₅₀ et IC₇₀ selon la formule suivante

$$IC_{50,70} \text{ moyenne} = \frac{\sum_{x=1}^n \log(IC_{50,70})_x}{10^n}$$

où x désigne une lignée de cellules tumorales particulière et n le nombre total de lignées cellulaires étudiées. Lorsqu'il était impossible de déterminer une IC₅₀ ou IC₇₀ pour la fourchette de concentrations étudiée, on a utilisé la concentration la plus faible ou la plus forte pour le calcul.

Les essais ont été considérés comme étant valides uniquement lorsque le témoin positif (5-FU) induisait une inhibition de la croissance tumorale T/C inférieure à 30 % et lorsque les cellules témoins traitées avec le véhicule avaient une intensité de fluorescence supérieure à 500 unités.

35

Résultats

5 Les résultats sont résumés dans le Tableau I, qui montre qu'en particulier les lignées de cellules tumorales de type tumeur gastrique, tumeur ovarienne et en particulier tumeur de la prostate, tumeur
10 mammaire, tumeur du rein et tumeur du colon étaient sensibles au méta-arsénite. En comparaison, la leucémie promyélocytaire, qui est connue pour répondre au trioxyde d'arsenic, présente une valeur IC₇₀ de 6,82 µg/ml. Ainsi, les cellules tumorales concernées par l'invention sont environ 2 à 20 fois plus sensibles au méta-arsénite selon la présente invention.

Tableau I

Tumeur	Lignée cellulaire	IC₇₀ (µg/ml)
Tumeur du colon	DLD1	0,48
Tumeur gastrique	GXF251L	3,08
Tumeur mammaire	MXAF401NL	0,32
Tumeur ovarienne	OVCAR3	3,02
Tumeur de la prostate	PC3	0,85
Tumeur du rein	RXF486L	0,63

REVENDEICATIONS

1. Composition pharmaceutique pour le traitement de tumeurs malignes solides choisies dans le groupe formé par les tumeurs du colon, les tumeurs gastriques, les tumeurs mammaires, les tumeurs ovariennes, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein, ladite composition comprenant un sel de méta-arsénite (AsO_2^-) et un adjuvant pharmaceutique.

2. Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée par le fait que le sel est un sel de métal alcalin ou alcalino-terreux.

3. Composition pharmaceutique selon la revendication 2, caractérisée par le fait que le sel de métal alcalin est un sel de potassium ou de sodium.

4. Utilisation d'un sel de méta-arsénite (AsO_2^-) pour la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée au traitement d'une tumeur solide maligne choisie parmi les tumeurs du colon, les tumeurs gastriques, les tumeurs mammaires, les tumeurs ovariennes, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein.

5. Utilisation selon la revendication 4, caractérisée par le fait que la tumeur solide maligne est choisie parmi les tumeurs du colon, les tumeurs mammaires, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein.

6. Procédé de traitement d'un être humain souffrant d'une tumeur solide maligne choisie dans le groupe formé par les tumeurs du colon, les tumeurs gastriques, les tumeurs mammaires, les tumeurs ovariennes, les tumeurs de la prostate et les tumeurs du rein, par administration d'une dose pharmaceutiquement efficace d'un sel de méta-arsénite (AsO_2^-).