



(12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 28949 B1**
- (51) Cl. internationale : **A61K 31/045; A61P 7/00; A61P 7/06**
- (43) Date de publication : **01.10.2007**
-
- (21) N° Dépôt : **29857**
- (22) Date de Dépôt : **27.04.2007**
- (30) Données de Priorité : **01.10.2004 US 60/614,478**
- (86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/CA2005/001490 29.09.2005**
- (71) Demandeur(s) : **PROMETIC BIOSCIENCES INC., 8168 Montview Road, Mont-Royal Quebec H4P 2L7 (CA)**
- (72) Inventeur(s) : **PENNEY, Christopher ; GAGNON, Lyne ; BARABE, Jean**
- (74) Mandataire : **ABU-GHAZALEH INTELLECTUAL PROPERTY (TMP AGENTS)**
-
- (54) Titre : **ALCOOLS GRAS DE LONGUEUR DE CHAÎNE MOYENNE EN TANT QUE STIMULATEURS DE L'HEMATOPOÏESE**
- (57) Abrégé : LA PRÉSENTE INVENTION A TRAIT À DES ALCOOLS GRAS DE LONGUEUR DE CHAÎNE MOYENNE TELS QUE L'OCTANOL, LE DÉCANOL, LE DODÉCANOL, OU LEURS ANALOGUES APTES À ÊTRE UTILISÉS EN TANT QUE STIMULATEUR DE L'HÉMATOPOÏÈSE, DE LA PROLIFÉRATION DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES, ET/OU DE LA PROLIFÉRATION D'UN OU DE PLUSIEURS SOUCHES DE GLOBULES ROUGES OU DE GLOBULES BLANCS (PAR EXEMPLE, ÉRYTHOCYTE, LEUCOCYTE, NEUTROPHILE, GRANULOCYTE, MÉGAKARYOCYTE, OU UNE COMBINAISON DE CEUX-CI). L'INVENTION A ÉGALEMENT TRAIT AU TRAITEMENT DE LA MYÉLOSUPPRESSION, NOTAMMENT, CELA INCLUT LE TRAITEMENT D'ANÉMIE ET/OU DE NEUTROPÉNIE ASSOCIÉE À LA CHIMIOTHÉRAPIE ET/OU LA RADIOTHÉRAPIE. EN OUTRE, L'ANÉMIE PROVOQUÉE PAR LA NÉPHROPATHIE CHRONIQUE OU LE TRAITEMENT DE PATIENTS INFECTÉS PAR LE VIH AVEC L'AZT (ZIDOVUDINE), OU D'AUTRES INHIBITEURS DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE, PEUVENT ÊTRE TRAITÉS. PAR

AILLEURS, LE NEUTROPÉNIE PROVOQUÉE PAR DES INFECTIONS, DES MALADIES HÉMATOLOGIQUES, OU DES DÉFICIENCES NUTRITIONNELLES PEUT ÊTRE TRAITÉE. L'INVENTION A ÉGALEMENT TRAIT À LA RÉDUCTION DE LA TOXICITÉ DE MÉDICAMENTS ET L'AMÉLIORATION DE L'EFFICACITÉ DES MÉDICAMENTS.

RESUME

La présente invention a trait à des alcools gras de longueur de chaîne moyenne tels que l'octanol, le décanol, le dodécanol, ou leurs analogues aptes à être utilisés en tant que stimulateur de l'hématopoïèse, de la prolifération de cellules souches hématopoïétiques, et/ou de la prolifération d'un ou de plusieurs souches de globules rouges ou de globules blancs (par exemple, érythrocyte, leucocyte, neutrophile, granulocyte, mégakaryocyte, ou une combinaison de ceux-ci). L'invention a également trait au traitement de la myélosuppression, notamment, cela inclut le traitement d'anémie et/ou de neutropénie associée à la chimiothérapie et/ou la radiothérapie. En outre, l'anémie provoquée par la néphropathie chronique ou le traitement de patients infectés par le VIH avec l'AZT (zidovudine), ou d'autres inhibiteurs de la transcriptase inverse, peuvent être traités. Par ailleurs, la neutropénie provoquée par des infections, des maladies hématologiques, ou des déficiences nutritionnelles peut être traitée. L'invention a également trait à la réduction de la toxicité de médicaments et l'amélioration de l'efficacité des médicaments.

ALCOOLS GRAS DE LONGUEUR DE CHAÎNE MOYENNE EN TANT QUE STIMULATEURS DE L'HEMATOPOÏÈSE**REFERENCE CROISEE AUX DEMANDES RELATIVES**

La présente demande revendique le bénéfice de la demande provisoire américaine No. 60/614,478, déposée le 1^{er} octobre 2004; dont les teneurs sont incorporées dans les présentes par référence.

DOMAINE D'APPLICATION DE L'INVENTION

La présente invention concerne le traitement de myélosuppression. En particulier, elle inclut le traitement de l'anémie et/ou de neutropénie associée à la chimiothérapie et/ou la radiothérapie. La présente invention peut trouver l'utilisation aussi pour le traitement de l'anémie provoquée par la néphropathie chronique ou le traitement des patients infectés par le VIH avec AZT (zidovudine) et/ou pour le traitement de la neutropénie provoquée par les infections, les maladies hématologiques, ou les déficiences nutritionnelles. La présente invention a également trait à la réduction de la toxicité de médicaments et l'amélioration de l'efficacité des médicaments. En particulier, la présente invention a trait à l'utilisation des alcools gras de longueur de chaîne moyenne tels que l'octanol, le décanol, le dodécanol, ou leurs analogues en tant que stimulateur de l'hématopoïèse, de la prolifération de cellules souches hématopoïétiques, et/ou de la prolifération d'un ou de plusieurs souches de globules rouges ou de globules blancs (par exemple, érythrocyte, leucocyte, neutrophile, granulocyte, mégakaryocyte, ou une combinaison de ceux-ci).

CONTEXTE DE L'INVENTION

La chimiothérapie se rapporte à l'utilisation des agents cytotoxiques tels que, entre d'autres, cyclophosphamide, doxorubicin, daunorubicin, vinblastine, vincristine, bleomycin, etoposide, topotecan, irinotecan, taxotere, taxol, 5-fluorouracil, methotrexate, gemcitabine, cisplatine, carboplatine, et chlorambucil pour éradiquer les cellules cancéreuses et les tumeurs. Cependant, ces agents ne sont pas spécifiques et, en particulier à des doses élevées, ils sont toxiques aux cellules en mitose rapidement et normales. Le rayonnement ionisant est aussi toxique aux cellules rapidement en mitose. Ceci mène souvent à divers effets secondaires aux patients qui subissent la chimiothérapie et la radiothérapie. La myélosuppression, une réduction sévère dans la production des globules blancs dans la moelle osseuse, est l'une des effets secondaires. Elle se caractérise par une anémie, leucopénie, neutropénie, agranulocytose, et thrombocytopénie. La neutropénie chronique sévère se caractérise également par une diminution sélective dans le nombre des neutrophiles circulants et une susceptibilité augmentée aux infections bactériennes.

Le fond du traitement du cancer par des médicaments chimiothérapeutiques doit conjuguer un mécanisme de cytotoxicité avec un mécanisme de sélectivité des cellules tumorales en prolifération élevée sur des cellules hôtes. Cependant, il est rare pour que les médicaments chimiothérapeutiques aient une telle sélectivité. La cytotoxicité des agents chimiothérapeutiques limite les doses administrables, affecte les cycles de traitement, et compromet sérieusement la qualité de vie du patient souffrant du cancer. Des inconvénients similaires affectent le traitement du cancer par la radiothérapie.

Bien que des autres tissus normaux puissent être compromis également, la moelle osseuse est particulièrement sensible aux traitements spécifiques de prolifération telle que la chimiothérapie ou la radiothérapie. La toxicité aigue et chronique de la moelle osseuse, qui est un effet secondaire commun des thérapies du cancer, mène à des diminutions dans les formules hématologiques et l'anémie, leucopénie, neutropénie, agranulocytose, et/ou thrombocytopénie. L'un des causes de tels effets est la diminution dans le nombre des cellules hématopoïétiques répliquatives (par exemple, les cellules souches pluripotentes et autres cellules souches) provoqué à la fois par l'effet létal des agents cytotoxiques ou la radiation sur ces cellules et par la différenciation des cellules souches provoquées par un mécanisme de retour induit par la déplétion de plusieurs compartiments matures de la moelle. La deuxième cause est une réduction dans la capacité d'auto renouvellement des cellules souches, qui est liée aussi à la fois aux effets directs (mutation) et indirects (vieillesse de la population des cellules souches) (Tubiana, M., et al., Radiotherapy and Oncology 29:1-17, 1993). Ainsi, les traitements du cancer aboutissent souvent à une diminution dans les globules rouges ou les érythrocytes et les globules blancs ou leucocytes (qui se composent principalement de neutrophiles) dans la circulation générale.

Les érythrocytes sont des cellules disk-like biconcaves non nucléaires qui contiennent de l'hémoglobine et sont essentiels pour le transport de l'oxygène. L'hémoglobine est un térapeptide qui contient quatre sites de liaison d'oxygène. L'anémie se rapporte à cette condition qui existe lorsqu'il y'a une réduction au-dessous de normal dans le nombre des érythrocytes, la quantité de l'hémoglobine, ou le volume du concentré de globules rouges dans le sang et caractérisée également par une détermination de l'hématocrite. L'hématocrite ou "le

volume des globules rouges" est considéré d'être un indicateur particulièrement fiable de l'anémie. Typiquement, chez les adultes normaux, les valeurs moyennes pour la numération des globules rouges ($10^6/\text{mm}^3$), l'hémoglobine (g/100 mL), et l'hématocrite (le volume du concentré de globules rouges dans mL/100 mL) pour les femmes et les mâles (au niveau de la mer) sont $4,8 \pm 0,6$ et $5,4 \pm 0,9$, $14,0 \pm 2,0$ et $16,0 \pm 2,0$, et $42,0 \pm 5,0$ et $47,0 \pm 5,0$, respectivement, tel que décrit dans Harrison's Principles of Internal Medicine, 8th Edition, Appendix-Table A-5, McGraw Hill (1977). Chez les humains normaux, les érythrocytes sont produits par la moelle osseuse et libérés dans la circulation, où ils survivent 120 jours approximativement. Ils sont enlevés par la suite par le système monocyte-phagocyte.

L'anémie est un symptôme de diverses maladies et troubles. Ainsi, l'anémie peut être classifiée en termes de son étiologie. Par exemple, l'anémie aplasique est caractérisée par l'absence de régénération des érythrocytes et sa résistance à la thérapie. Chez tels patients, il y a une diminution marquée dans la population de myéloïde, érythroïde, et dans les cellules souches thrombopoïétiques, qui aboutit à la pancytopenie. L'anémie hémolytique provoquée par la courte survie des érythrocytes et l'incapacité de la moelle osseuse à compenser sa demi-vie diminuée. Elle peut être héréditaire ou peut résulter de la chimiothérapie, l'infection, ou un processus auto-immune. L'anémie ferriprive désigne une forme d'anémie caractérisée par l'absence ou une réserve en fer, faible concentration en sidérémie, faible concentration en hémoglobine, ou faible hématocrite, etc. le manque de fer est la cause la plus commune de l'anémie. L'anémie pernicieuse, qui affecte plus généralement les adultes, résulte d'un manque de la muqueuse gastrique à sécréter le facteur intrinsèque, aboutissant à une malabsorption de la vitamine B 12. La drépanocytose résulte d'un déficit déterminé génétiquement dans la synthèse d'hémoglobine. Elle est caractérisée par la présence des érythrocytes en forme de faucille dans le sang. Les exemples précités sont seulement exemplaires parmi nombreuses différentes anémies connues à la médecine. Cependant, dans le contexte de cette invention, il est d'un intérêt particulier d'aborder l'anémie liée à l'utilisation de la chimiothérapie ou de la radiothérapie dans le traitement du cancer. Selon un rapport publié dans BioWorld Today (page 4; 23 juillet 2002), approximativement 1,2 millions de patients qui souffrent du cancer subiront une chimiothérapie cytotoxique aux Etats Unis d'Amérique cette année et environ 800.000 ou 67% d'entre eux deviendront anémiques. En plus, l'anémie est associée aussi à une insuffisance rénale terminale comme c'est le cas pour les patients qui nécessitent une dialyse régulière ou une transplantation du rein pour la survie. Ceci tombe dans l'ombre de l'insuffisance rénale chronique ou la situation clinique dans laquelle il y a une baisse habituellement irréversible et progressive dans la fonction de rein.

L'érythropoïétine (EPO) est une glycoprotéine a un poids moléculaire de 34.000 qui est produite dans le rein. La EPO stimule la division et la différenciation des souches érythroïdes commises dans la moelle osseuse (cellules BFU-E) et maintient la viabilité cellulaire (l'inhibition de apoptose des cellules BFU-E et CFU-E). Les effets biologiques de EPO sont le récepteur facilité. L'identité de l'acide aminé parmi les différents animaux est 92% entre la EPO humaine et la EPO de singe et 80% entre la EPO humaine et la EPO de la souris. Le premier stimulant de la biosynthèse de la EPO est l'hypoxie dans les tissus. Toutefois, comme peut être vu de ce qui précède, la EPO a un potentiel thérapeutique important pour le traitement de certaines anémies. Par exemple, la EPO peut être utilisée pour traiter l'anémie résultant d'une production endogène diminuée de EPO, qui peut résulter d'un rein endommagé ou non fonctionnel (par exemple, l'insuffisance chronique rénale tel que décrit ci-dessus). Alternativement, la EPO peut être utilisée pour traiter l'anémie résultant de la moelle osseuse endommagée et par la suite une diminution de la prolifération des souches d'érythrocytes (par exemple, les cellules BFU-E) qui résultent d'un traitement des patients qui souffrent du cancer par la chimiothérapie cytotoxique ou par la radiothérapie (tel que discuté aussi ci-dessus). Diverses formes de EPO recombinant sont disponibles sur le marché. Elles diffèrent par leur système d'expression utilisé pour leur fabrication et par leurs sites et degré de glycosylation de la protéine. L'époétine alpha est exprimée dans les cellules CHO et elle est disponible sous le nom commercial PROCRI[®], EPOGEN[®], ou EPREX[®]. Like EPO, l'époétine alpha a trois sites de glycosylation à liaison N aux résidus asparagines (Asn); Asn 19, Asn 33, et Asn 78. l'époétine beta est aussi N-glycosylé à trois sites. L'époétine omega est N-glycosylé à Asn 24, Asn 28, et Asn 83 et O-glycosylé partiellement à la sérine (Ser 126). Récemment, une version hyperglycosylée de la EPO a été approuvée qui contient cinq sites de glycosylation à liaison N. il s'agit d'une forme lente ou prolongée de l'époétine alpha disponible sous le nom commercial ARANESP[®]. La protéine présente une propriété biologique augmentée par rapport à la forme normale, à cause de sa demi-vie sérique approximativement trois fois plus longues. Cependant, l'utilisation de ces protéines glycosylées est chère et restreinte puisqu'elles doivent être produites par la technologie recombinante. Chez les individus qui possèdent des hémogrammes normaux, les neutrophiles constituent approximativement 60% des leucocytes totales (SI Units Conversion Guide, 66-67, 1992, N. Engl. J. Med. Books). Cependant, jusqu'à un chez trois patients qui reçoivent un traitement par la chimiothérapie pour le cancer peut souffrir de la neutropénie. La moyenne de dénombrement normal des neutrophiles chez les adultes humains sains est dans l'ordre de 4400 cellules/ μL , avec une fourchette de 1800 à 7700 cellules/ μL . Un dénombrement de 1.000 cellules/ μL à 500 cellules/ μL est une neutropénie modérée et un dénombrement de 500 cellules/ μL ou moins est une neutropénie sévère. Les patients dans des états myélosuppressive sont sujets à une infection et souffrent fréquemment des troubles de coagulation de sang, exigeant une hospitalisation. Le manque dans les neutrophiles et les plaquettes est la principale cause de morbidité et de mortalité suite au traitement du cancer et contribue à un coût élevé de la thérapie du cancer. Dans ces conditions sus indiquées, l'utilisation de tout agent capable d'inhiber l'apoptose des neutrophiles ou la stimulation de l'activation des neutrophiles et la mobilisation peuvent être une valeur thérapeutique. Les efforts pour rétablir le système immunitaire du patient

après la chimiothérapie impliquent l'utilisation des facteurs de croissance hématopoïétiques pour stimuler les cellules souches restantes pour proliférer et différencier dans les cellules matures attaquant l'infection.

Dans la greffe de moelle osseuse, un phénomène connu par "mobilisation" a été exploité pour retirer un plus grand nombre de cellules souches du sang périphérique. Ce procédé est utilisé actuellement pour la greffe de moelle osseuse autologue ou allogénique. Les facteurs de croissance sont utilisés pour augmenter le nombre des cellules souches périphériques pour être retirées avant la thérapie myéloablatrice et l'infusion des cellules souches.

La post-thérapie de la greffe de moelle osseuse peut contrer aussi la neutropénie. Cependant, ces traitements exigent 10 à 15 jours de traitement qui laisse les patients vulnérables à l'infection. Les agents capables de stimuler les cellules souches de la moelle osseuse peuvent faciliter et accélérer la prise de greffe des cellules souches écourtant ainsi la fenêtre neutropénique suite à la greffe de moelle osseuse.

Bien que les facteurs de croissance hématopoïétiques tel que le facteur de croissance hématopoïétique GM-CSF et le facteur de croissance hématopoïétique G-CSF puissent exercer telles actions, leur utilisation est coûteuse puisqu'ils doivent être produits par une technologie recombinante. Ces traitements améliorants post-thérapeutiques ne sont pas nécessaires si les patients sont "chimioprotecteurs" de la suppression immunitaire.

Par conséquent, il y a un besoin pour des nouvelles compositions et procédés afin de réduire les effets secondaires indésirables des états de myélosuppressive induits par la chimiothérapie et/ou la radiothérapie.

RÉSUMÉ DE L'INVENTION

La présente invention satisfait au besoin pour des agents chimioprotecteurs en fournissant un nouveau procédé pour la stimulation du système hématopoïétique chez un patient.

La présente invention fournit aussi un nouveau procédé pour traiter les effets myélosuppressives de la chimiothérapie, radiothérapie, ou toute autre situation dans laquelle la stimulation du système hématopoïétique peut être d'une valeur thérapeutique tel que, entre d'autres, l'anémie, la leucopénie, la neutropénie, l'agranulocytose, la thrombocytopénie, et/ou la greffe de moelle osseuse.

Selon ce procédé, une composition contenant un ou plusieurs alcools gras de longueur de chaîne moyenne (par exemple, l'octanol, le décanol, le dodécanol) ou leurs esters d'alcools dans un vecteur acceptable au plan pharmaceutique est administrée à un patient en une quantité efficace pour stimuler l'hématopoïèse. Ceci peut réduire significativement les effets secondaires de la chimiothérapie et la radiothérapie (par exemple, la myélosuppression).

L'objet de la présente invention concerne l'utilisation des alcools gras de longueur de chaîne moyenne (par exemple, l'octanol, le décanol, le dodécanol) ou leurs esters d'alkyle comme facteurs de stimulation d'hématopoïèse ou des agents chimioprotecteurs.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation des alcools gras de longueur de chaîne moyenne (par exemple, l'octanol, le décanol, le dodécanol) ou leurs esters d'alkyle pour le traitement de la myélosuppression résultant de la chimiothérapie ou la radiothérapie.

L'objet de la présente invention est de fournir un procédé efficace pour fournir la chimioprotection à un patient. Un autre objet de la présente invention est de fournir un procédé efficace pour augmenter l'efficacité de la chimiothérapie ou de la radiothérapie chez un patient.

Toujours un autre objet de la présente invention est de fournir un procédé efficace pour réduire ou éliminer l'anémie ou la neutropénie chez un patient induite par la chimiothérapie ou la radiothérapie.

Un autre objet de la présente invention est de fournir un procédé pour traiter la neutropénie résultant d'une maladie hématologique, ou une infection, ou une carence nutritionnelle, ou une neutropénie induite par des médicaments.

Encore un autre objet de la présente invention est de fournir un procédé pour traiter l'anémie résultant d'une insuffisance rénale chronique, ou une insuffisance rénale terminale, ou résultant d'une procédure médicale ou chirurgicale, ou une anémie induite par des médicaments.

Finalement, un autre objet de la présente invention est de fournir un procédé qui cause des effets minimaux ou non secondaires au patient.

Ces objets, traits et avantages et les autres de la présente invention deviendront apparent au après un examen de la description détaillée suivante et les revendications annexées.

DESCRIPTION BREVE DES DESSINS

La figure 1 présente l'effet de l'octanol ou le décanol sur la numération des globules blancs de la moelle osseuse.

La figure 2 présente l'effet de l'octanol, le décanol, ou le dodécanol sur la numération des globules blancs du sang périphérique.

La figure 3 présente l'effet de l'octanol, le décanol, ou le dodécanol sur la numération des globules rouges de la rate.

La Fig. 3A présente les effets de l'octanol et de dodécanol et la Fig. 3B présente les effets de l'octanol et de décanol.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

La chimiothérapie et la radiothérapie détruisent les cellules hématopoïétiques dans la moelle osseuse. Par la suite, le patient peut connaître une diminution sévère dans les érythrocytes, les plaquettes sanguines, et les neutrophiles. L'anémie aboutit à la fatigue, un manque de l'énergie et une insuffisance de respiration. La thrombocytopénie mène à un temps de coagulation prolongé et des troubles hémostatiques. La neutropénie mise le patient à un grand risque d'infection. La myélosuppression est un facteur limitant la dose dans le traitement du cancer.

La présente invention concerne un procédé de rétablissement du système hématopoïétique du patient. Les procédés actuels utilisés pour faire le même acte se servent des cytokines ou des facteurs de croissance de glycoprotéine. Par exemple, l'érythropoïétine peut être utilisée pour stimuler la prolifération et la maturation des cellules érythroïdes sensibles de la moelle osseuse. L'érythropoïétine est approuvée pour l'utilisation humaine pour le traitement de l'anémie le cas échéant: par exemple, l'anémie résultant de l'incapacité à produire un nombre suffisant des érythrocytes. Cependant, il y a des limitations qui limitent l'utilisation de l'érythropoïétine. En effet, plusieurs de ces limitations sont communes à l'utilisation médicale de glycoprotéine recombinante, cytokines – disponibilité, toxicité, et efficacité, spécialement pour l'utilisation chronique. Par exemple, certains patients traités par l'érythropoïétine humaine recombinante développent une réponse immunitaire à la glycoprotéine qui aboutit à une aplasie pure des globules rouges. Lorsque celle-ci se produit, l'anticorps développé à la protéine recombinante attaque aussi la protéine endogène ou équivalente du patient. Par la suite, le patient développe la plus mal anémie que avant le traitement par les médicaments.

Des autres facteurs de croissance hématopoïétiques peuvent être utilisés aussi pour rétablir le système hématopoïétique du patient qui inclut le facteur de croissance hématopoïétique G-CSF, le facteur de cellules souches (SCF), et facteur de croissance hématopoïétique GM-CSF. Le G-CSF et le GM-CSF peuvent écourter la période totale de la neutropénie et la thrombocytopénie mais il reste toujours une fenêtre importante pendant laquelle le patient est prédisposé à l'infection et il est déficient dans les capacités de coagulation de sang.

Les alcools gras de longueur de chaîne moyenne se rapporte aux alcools d'alkyle aliphatique ayant une chaîne de carbone de huit (C8, octanol ou alcool octadecyle), dix (C10, décanol ou alcool decyle), ou douze (C12, dodécanol ou alcool dodecyle). A la différence des alcools de longueur de chaîne plus courte, ces alcools sont mal solubles dans l'eau. Néanmoins, ces alcools gras de longueur de chaîne moyenne apprécient l'utilisation industrielle et sont trouvés dans un groupement de produits qui incluent les plastifiants, les solvants, les herbicides, les parfumes, et les agents de surface. D'une importance plus, les alcools de longueur de chaîne moyenne sont des matières non toxiques. Par exemple, selon la partie 172 de Code of Federal Regulations, l'Administration Américaine des Denrées Alimentaires et des Médicaments reconnaît que l'octanol, le décanol, et le dodécanol sont des additifs sauf pour l'utilisant dans l'alimentation. L'Enregistrement des Effets Toxiques des Substances Chimiques (National Institute for Occupational Safety and Health) rapporte une LD₅₀ (oral, rats) de 3,2 g/kg du poids du corps pour l'octanol et 4,7 g/kg du poids du corps pour le décanol, qui est essentiellement non toxique.

Jusqu'à les résultats inattendus décrits dans les présentes, l'efficacité des alcools de longueur de chaîne moyenne tel que l'octanol, le décanol, le dodécanol, ou leurs esters d'alkyle pour la stimulation de l'hématopoïèse et la production par la suite des érythrocytes et des neutrophiles à partir des cellules souches d'érythroïde et de

myéloïde a été inconnue. Une activité similaire a été décrite dans nos demandes internationales PCT/CA02/00535 et PCT/GB04/ 00457 dans lesquelles il a été décrit que les acides gras de chaîne moyenne et les triglycérides sont capable de stimuler l'hématopoïèse et la production par la suite des érythrocytes et des neutrophiles. La présente découverte est inattendue car, à la différence de l'art antérieur, c'est les dix et douze alcools de longueur de chaîne de carbone qui possèdent une activité biologique uniformément significative alors que dans l'art antérieur, c'était les huit et dix acides carboxyliques de longueur de chaîne de carbone qui ont l'activité biologique uniformément significative. Par conséquent, l'activité biologique significative est déterminée par plus que la capacité à tolérer un groupe principal polaire (par exemple, hydroxyle, carboxylate) à la fin de la chaîne d'hydrocarbure. En fait, un autre groupe principale polaire, une fraction d'aldéhyde, ont abouti à des composés qui ne sont pas capable à stimuler l'hématopoïèse. La présente invention peut stimuler l'hématopoïèse chez un mammifère, y compris l'humain en utilisant un ou plusieurs alcools gras de longueur de chaîne moyenne de la formule $H_3C(CH_2)_nOH$, où n est un nombre entier de 7 à 11, et leurs esters d'alkyle. Elle peut être utilisée pour traiter les effets myélosuppressive de la chimiothérapie, radiothérapie, ou toute autre situation dans laquelle la stimulation du système hématopoïétique peut être d'une valeur thérapeutique tel que, entre d'autres, l'anémie, la leucopénie, la neutropénie, l'agranulocytose, la thrombocytopenie, et/ou la greffe de moelle osseuse.

Une quantité efficace sur plan pharmacologique des alcools gras de longueur de chaîne moyenne et leurs esters d'alkyle est utilisée. Cette quantité efficace peut être déterminée en variant sa dose pour réaliser l'effet ou les effets thérapeutiques souhaités tel que, par exemple, la réduction des effets secondaires de la chimiothérapie et/ou la radiothérapie. Les alcools gras de longueur de chaîne moyenne et leurs esters d'alkyle en tant que ingrédients pharmaceutiques actifs peuvent être formulés dans une composition pharmaceutique avec un vecteur acceptable sur plan pharmaceutique.

Les exemples des conditions pathologiques qui peuvent être traités incluent, entre d'autres: la myélosuppression résultant de la chimiothérapie et/ou la radiothérapie, et l'anémie et l'immunosuppression par la suite; la neutropénie chronique ou transitoire résultant des maladies hématologiques telle que la neutropénie idiopathique chronique, ou des infections virales ou bactériennes, ou une insuffisance nutritionnelle, ou une neutropénie induite par les médicaments; l'anémie résultant de l'insuffisance rénale chronique, spécialement chez les patients avec une maladie rénale terminale, ou des procédures médicales telle que la chirurgie orthopédique ou l'utilisation des médicaments antirétroviraux. L'anémie ou la neutropénie induisent par la chimiothérapie et/ou la radiothérapie peut être réduite ou éliminée.

La chimioprotection d'un mammifère, y compris l'humain, peut être fournie aussi. L'efficacité de la chimiothérapie et la radiothérapie chez un mammifère, y compris l'humain, peut être augmentée ainsi et les effets secondaires évités. La chimiothérapie et/ou la radiothérapie, en combinaison avec la chimioprotection, peut accomplir un meilleur bienfait thérapeutique pour son destinataire.

Le traitement cause de préférence des effets minimums ou non secondaires à son destinataire. Dans un mode de réalisation préféré de la présente invention, c'est le décanol (l'alcool de longueur de dix chaînes de carbone) et/ou le dodécanol (l'alcool de longueur de douze chaînes de carbone) qui sont utilisés en tant que ingrédient pharmaceutique actif ou médicament. En plus, le cas échéant pour une préparation d'un médicament avec des propriétés physico-chimiques souhaités ou dans une forme de promédicament (par exemple, susceptible à des estérases non spécifiques), les esters d'alkyle de chaîne courte (un à quatre atomes de carbone) peuvent être préparés aussi pour l'utilisant en tant que médicament. Cependant, ceci n'exclut pas l'utilisation d'un alcool de longueur de huit chaînes de carbone moins actif biologiquement comme l'octanol ou un ester d'alkyle à chaîne courte où le composant acide est l'acide acétique, propionique, ou butyrique. Alternativement, il est même possible à préparer un ester d'alkyle qui est dérivé de la condensation d'alcool gras de longueur de chaîne moyenne avec un acide gras à chaîne moyenne. De même, d'autres modifications chimiques évidentes à toute personne qualifiée en la matière entrent dans le cadre du domaine de cette invention. Ces modifications évidentes incluent des autres formes de promédicament y compris les dérivés des alcools par attachement aux sucres, acides aminés, et peptides qui peuvent servir également pour améliorer la solubilité de l'alcool dans l'eau. Au sens opposé, un agent plus actif avec une solubilité réduite dans l'eau pourrait être obtenu par estérification de l'acide caprylique ou caprique avec les alcools gras de longueur de chaîne moyenne de cette invention.

La présente invention concerne l'utilisation des alcools gras de longueur de chaîne moyenne ou leurs esters d'alkyle comme activation d'hématopoïèse ou facteur de croissance et, plus particulièrement, comme un stimulateur de la production des cellules souches d'érythrocytes et des neutrophiles. Une fois utilisés dans la chimiothérapie et la radiothérapie, les alcools gras de longueur de chaîne moyenne sont administrés avant, pendant et/ou après le traitement afin de réduire la période de l'anémie et/ou la neutropénie et pour accélérer le remplissage du système hématopoïétique. En outre, il est possible d'utiliser une combinaison des alcools de longueur de chaîne moyenne avec leurs esters d'alkyle ou autres analogues à des points multiples relatifs au traitement par la chimiothérapie et/ou la radiothérapie. Alternativement, il est possible d'administrer la combinaison simultanément: avant, pendant et/ou après le traitement avec la chimiothérapie et/ou la radiothérapie. Dans l'anémie sévère ou la neutropénie, l'alcool gras de longueur de chaîne moyenne est utilisé comme agent thérapeutique. Les alcools gras de longueur de chaîne moyenne peuvent être utilisés aussi après

la greffe de la moelle osseuse afin de stimuler les cellules souches de la moelle osseuse en réduisant ainsi la période de temps de récupération de l'anémie ou de la neutropénie.

Comme indiqué dans les présentes, les alcools gras de longueur de chaîne moyenne tels que l'octanol, le décanol ou le dodécanol concernent une composition comportant l'ingrédient actif précité et un ou plusieurs vecteurs de médicaments acceptable sur plan pharmaceutique.

Comme décrit dans les présentes, le terme "vecteur de médicaments acceptable sur plan pharmaceutique" concerne une substance sans interférence avec les effets physiologiques des alcools gras de longueur de chaîne moyenne tel que l'octanol, le décanol ou le dodécanol qui est non toxique aux mammifères, y compris les humains.

L'octanol, le décanol ou le dodécanol de la présente invention peuvent être formulés en utilisant l'octanol, le décanol ou le dodécanol et les vecteurs de médicaments acceptables sur plan pharmaceutique par des procédés connus aux personnes qualifiées en la matière (Merck Index, Merck & Co., Rahway, NJ).

Ces compositions incluent, entre d'autres, les solides, les liquides, les huiles, les émulsions, les gels, les aérosols, les inhalants, les vaporisateurs, les capsules, les comprimés, les patchs, et les suppositoires.

Tous les procédés peuvent inclure l'étape de mettre en contact les ingrédients actifs en association avec le vecteur médicaments qui constitue un ou plusieurs ingrédients accessoires.

Comme utilisé dans les présentes, le terme "chimiothérapie" concerne un procédé de tuerie des cellules prolifératives en utilisant un agent cytotoxique. La phrase "après chimiothérapie" signifie à couvrir toutes les situations dans lesquelles la composition est administrée après l'administration d'un agent cytotoxique sans tenir en compte de toute son administration préalable et aussi sans tenir compte de la persistance de l'effet de l'agent cytotoxique administré.

Lorsque le procédé de l'invention est appliqué à la chimiothérapie, l'octanol, le décanol, ou le dodécanol peuvent être administrés avant, pendant, ou à la suite de la chimiothérapie (c'est-à-dire, avant, pendant ou à la suite de l'administration d'un agent cytotoxique). Par "agent cytotoxique" signifie un agent qui tue hautement les cellules en prolifération: par exemple, les cellules de tumeur, les cellules infectées par les virus, ou les cellules hématopoïétiques. Exemples d'un agent cytotoxique qui peut être utilisé pour pratiquer l'invention incluent, entre d'autres, le cyclophosphamide, le doxorubicine, le daunorubicine, le vinblastine, le vincristine, le bleomycine, l'etoposide, le topotecane, l'irinotecan, le taxotere, le taxol, le 5-fluorouracil, le methotrexate, la gemcitabine, le cisplatine, le carboplatine, le chlorambucil, et un agoniste des composés précités. Un agent cytotoxique peut être un agent antiviral: par exemple, AZT/zidovudine (c'est-à-dire, 3 -azido-3'-deoxythymidine) ou 3TC/lamivudine (c'est à dire, 3-thiacytidine).

Comme utilisés dans les présentes, le terme "chemoprotection" concerne la protection fournie un mammifère, y compris un humain, des effets toxiques résultant du traitement de mammifère avec un agent chimiothérapeutique. Le plus souvent, ce dernier est un agent cytotoxique dont l'effet thérapeutique résulte de sa capacité pour interférer ou inhiber certain aspect de la réplication d'ADN, la transcription d'ARN, ou la traduction subséquente d'une protéine. En conséquence, un agent chimioprotecteur concerne tout composé administré à un mammifère qui pourrait protéger le mammifère, ou faciliter la récupération du mammifère, des effets toxiques résultant du traitement du mammifère avec un agent thérapeutique.

L'anémie peut être diagnostiqué et sa sévérité peut être déterminée par une personne qualifiée en la matière. Le terme "anémie" peut concerner cette condition qui existe lorsqu'il y a une réduction au dessous de la normale dans le nombre des érythrocytes, la quantité de l'hémoglobine, ou le volume du concentré de globules rouges. Ces critères cliniques sont soumis à la variabilité.

Sans limitation, l'anémie peut résulter d'une réduction dans la masse des globules blancs circulants. L'efficacité du traitement peut être déterminé aussi par une personne qualifiée en la matière. Il peut fournir un effet palliative.

La neutropénie peut être diagnostiqué et sa sévérité peut être déterminée par une personne qualifiée en la matière. Le terme "neutropénie" peut concerner la condition qui existe lorsqu'il y a un traitement de réduction au dessous de normal dans le nombre des neutrophiles. Ces critères cliniques sont soumis à une variabilité. L'efficacité de traitement peut être déterminée aussi par une personne qualifiée en la matière. Il peut concerner un effet palliatif. Dans un mode de réalisation préféré, la composition pharmaceutique est en forme convenable pour l'administration orale, sublinguale, rectale, inhalation topique (pulvérisation nasale), intramusculaire, intradermique, sous cutanée, ou intraveineuse.

Il sera apprécié que la quantité d'une composition de l'invention exigée pour l'utilisation dans le traitement sera varié selon la voie d'administration, la nature de la condition qui est traitée, l'âge et la condition du patient, et sera par la suite à la discrétion du médecin traitant. La dose souhaitée peut être présentée commodément dans une simple dose ou en tant que doses réparties prises à des intervalles, par exemple en tant que deux doses, trois ou plus par jour selon le besoin pour effectuer ou provoquer le traitement. Le terme "traitement" ou "traitant" inclut toute thérapie de maladie ou infection existante et la prophylaxie de la maladie ou l'infection (par exemple, l'anémie, la neutropénie) chez un mammifère, y compris. Ceci inclut (a) la prévention de la maladie ou l'affection de se produire chez un patient qui peut être prédisposé à la maladie mais qui n'a pas été encore diagnostiqué comme l'ayant, (b) l'inhibition ou l'arrêt du développement de la maladie ou de l'affection et (c) soulager la maladie ou l'affection en entraînant sa régression ou l'amélioration d'un ou plusieurs symptômes.

Cependant il est possible que, pour l'utilisation dans le traitement médical, les alcools gras de longueur de chaîne moyenne tels que l'octanol, le décanol, ou le dodécanol peuvent être administrés comme des produits chimiques purs, il est préférable pour présenter l'ingrédient pharmaceutique actif comme formulation pharmaceutique ou composition. Une composition non toxique est formée par l'incorporation de tout des vecteurs de médicaments normalement employés tels que, par exemple entre d'autres, le mannitol, le lactose, le tréhalose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le talcum, la cellulose, le carboxyméthyle cellulose, le glucose, la gélatine, le sucrose, le glycérol, le carbonate de magnésium, la citrate de sodium, l'acétate de sodium, le chlorure de sodium, le phosphate de sodium, et la glycine.

Dans un mode de réalisation plus préféré de l'invention, la quantité de l'ingrédient actif administré est telle que la concentration dans le sang (libre et/ou liée à l'albumine sérique) est supérieure à 1 μ M. Dans des autres modes de réalisation, la concentration dans le sang peut être supérieure de 1 mM. Dans un autre mode de réalisation préféré de l'invention, il pourrait être nécessaire d'accomplir une concentration locale suffisante d'un ingrédient pharmaceutique actif pour obtenir un effet biologiquement ou médicalement efficace dans un tissu cible (par exemple, la moelle osseuse). Telle concentration relativement supérieure de l'ingrédient pharmaceutique peut être exigée, au moins dans le tissu cible, comme il peut être nécessaire pour l'octanol, le décanol, ou le dodécanol de la présente invention pour former une micelle ou une structure totale afin d'obtenir une réponse biologique. Une simple dose peut comprendre une quantité totale d'environ 1 g à environ 10 g de l'ingrédient actif (et toute de leurs gammes intermédiaires).

Dans un autre mode de réalisation, la composition pharmaceutique est en forme convenable pour l'administration entérale, par voie muqueuse (y compris sous lingual, pulmonaire, et rectale), parentérale (y compris intramusculaire, intradermique, sous cutanée, et intraveineuse), ou topique. Les formulations peuvent être, les cas échéants, présentées commodément dans des unités de dosage discrètes et peuvent être préparées par tout des procédés bien connus en l'art de pharmacie. Tous les procédés incluent l'étape de mettre en association l'ingrédient pharmaceutique actif avec les vecteurs de médicaments liquides ou répartir délicatement les vecteurs de médicaments solides ou les deux à la fois et ensuite, en cas de besoin, à former le produit dans la forme désirée. Si souhaité, les formulations décrites ci-dessus adaptées pour donner une libération contrôlée de l'ingrédient pharmaceutique actif peuvent être employées. Les formulations à libération contrôlée bien connues en la matière incluent l'utilisation des liposomes, les polymères biocompatibles, l'injection bolus, ou infusion continue.

Les alcools gras de longueur de chaîne moyenne peuvent être utilisés aussi en association avec des autres agents actifs sur plan thérapeutique tels que les agents anticancéreux cytotoxiques ou autres agents anticancéreux (les médicaments de régulation ou de modulation immunitaire ou des vaccins thérapeutiques ou des médicaments anti-angiogénèses, les acides gras de chaîne moyenne ou leurs triglycérides, etc.) ou des médicaments suppressives immunitaires (y compris les médicaments anti-inflammatoires). Les composants individuels de ces combinaisons peuvent être administrés soit de façon séquentielle soit simultanément dans des formulations pharmaceutiques séparées ou combinées. La combinaison désignée ci-dessus peut être présentée commodément pour l'utilisation dans la forme d'une formulation pharmaceutique et ainsi les formulations pharmaceutiques comportant la combinaison définie ci-dessus ensemble avec son vecteur de médicament acceptable sur plan pharmaceutique comprennent un aspect supplémentaire de l'invention. Alternativement, au moins une quantité efficace sur plan pharmacologique du facteur de croissance hématopoïétique humain (par exemple G-CSF ou GM-CSF) ou une érythropoïétine humaine peut être administrée simultanément ou séparément avec l'alcool gras de longueur de chaîne moyenne ou son ester d'alkyle. L'administration simultanée peut induire la quantité de facteur de croissance hématopoïétique ou l'érythropoïétine nécessaire pour stimuler l'hématopoïèse ou affecte de plus le facteur de croissance hématopoïétique ou l'érythropoïétine. L'administration séparée du facteur de croissance hématopoïétique ou l'érythropoïétine peut être avant et/ou après l'administration de l'alcool gras de longueur de chaîne moyenne ou son ester d'alkyle.

EXEMPLE

Ce qui suit illustre de plus la pratique de cette invention mais il est prévu d'être limité dans les présentes.

Les études de chimioprotection: l'induction in vivo de la prolifération de cellule immunitaire ou la protection par l'alcool gras de longueur de chaîne moyenne.

Des souris femelles C57BL/6, âgées de 6 à 8 semaines, ont été immunodéprimées par le traitement par 200 mg/kg de cyclophosphamide (CY) administré par voie intraveineuse au jour 0. Pour examiner l'effet immunoprotecteur de l'alcool gras de longueur de chaîne moyenne, les souris ont été prétraitées au jour -3, -2 et -1 par l'administration orale du composé. Les souris ont été sacrifiées au jour +5 par la ponction cardiaque et la dislocation cervicale. Après le sacrifice, les tissus ont été broyés dans un tampon PBS et les cellules ont été comptées dans un hématimètre.

On a observé une augmentation importante dans la numération des globules blancs de la moelle osseuse avec un traitement oral par le décanol (Fig. 1). De plus, certains animaux traités pour ramener "à un niveau de base " en termes de la numération des globules blancs de la moelle osseuse par rapport aux animaux non-immunosupprimés (témoin).

Il a été observé également une augmentation non importante dans la numération des globules rouges du sang périphérique avec l'octanol, le décanol, ou le dodécanol (Fig. 2). De plus, il a été observé une augmentation importante dans la numération des globules rouges de la rate avec le prétraitement oral avec l'octanol, le décanol, ou le dodécanol (Fig. 3).

Les Brevets, les demandes de brevets, et les autres publications cités dans les présentes sont incorporés par référence en totalité.

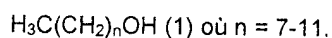
Toutes les modifications et substitutions qui arrivent dans le sens des revendications et la gamme de leurs équivalents légaux doivent être contenus dans leur domaine d'application. Une revendication en utilisant la transition "comportant " la mise à l'inclusion des autres éléments d'être dans le domaine d'application de la revendication; l'invention est aussi décrit par ces revendications en utilisant la phrase transitoire "composée essentiellement de " (c'est-à-dire, mise en circulation de l'inclusion des autres éléments d'être dans le domaine d'application de la revendication s'ils n'affectent pas matériellement l'opération de l'invention) et la transition "composée de" (c'est-à-dire, mise en circulation uniquement les éléments énumérés dans la revendication autre que les impuretés ou les activités sans importance qui sont associés d'habitude avec l'invention) au lieu du terme "composé". Chacun de ces trois transitions peut être utilisé pour revendiquer l'invention.

Il va de soi que un élément décrit dans cette spécification ne devrait pas être interprété en tant que limitation de l'invention revendiquée invention à moins qu'il soit explicitement exposé dans les réclamations. Ainsi, les revendications servent de base pour déterminer le domaine d'application de la protection légale accordée au lieu de la limitation dans la spécification qui est lue dans les revendications. En contraste, l'art antérieur est exclu explicitement de l'invention to jusqu'au degré des modes de réalisation spécifiques qui prévoiraient l'invention réclamée ou détruiraient la nouveauté.

D'ailleurs, aucun rapport particulier entre ou parmi les limitations d'une revendication est prévu à moins qu'une telle relation soit explicitement exposée dans la réclamation (par exemple, l'arrangement des composants dans une réclamation du produit ou séquence des étapes dans une revendication du procédé n'est pas une limitation de la revendication à moins qu'elle soit indiquée explicitement pour être ainsi). Toutes les combinaisons possibles et les permutations des éléments individuels décrits dans les présentes sont considérées d'être des aspects de l'invention; de la même façon, les généralisations de la description de l'invention sont considérées d'être une partie de l'invention. De ce qui précède, il serait évident à la personne qualifiée en la matière en la matière que l'invention peut être incorporée dans des autres formes spécifiques sans s'écarter de l'esprit ou des caractéristiques essentielles. Les modes d'application décrits, devraient être considérés uniquement à titre illustrative, non restrictifs, car le domaine d'application de la protection légale fournit pour l'invention sera indiqué par les revendications annexées plutôt que par ces spécifications.

IL EST REVENDIQUE :

1. Un procédé de stimulation de l'hématopoïèse chez un patient en besoin de traitement, ledit procédé comportant l'administration au patient précité d'une quantité pharmacologiquement efficace d'une composition consistant en ou moins en un composé décrit par la formule 1 :



2. Le procédé de la revendication 1, où ladite composition comporte au moins le décanol.
3. Le procédé de la revendication 1, où ladite composition comporte au moins le dodécanol.
4. Le procédé de la revendication 1, où au moins un composé de ladite composition est administré à une concentration supérieure à 1 μM dans le sang.
5. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite la myélosuppression résultant de la chimiothérapie chez ledit patient.
6. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite la myélosuppression résultant de la radiothérapie chez ledit patient.
7. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite la neutropénie résultant de la chimiothérapie chez ledit patient.
8. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite la neutropénie résultant de la radiothérapie chez ledit patient.
9. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite l'anémie résultant de la chimiothérapie chez ledit patient.
10. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite l'anémie résultant de la radiothérapie chez ledit patient.
11. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite la neutropénie résultant d'une maladie hématologique, ou une infection, ou une carence nutritionnelle, ou la neutropénie induite par le médicament chez ledit patient.
12. Le procédé de la revendication 1, où la stimulation de l'hématopoïèse traite l'anémie résultant de l'insuffisance rénale chronique, ou l'insuffisance rénale terminale, ou résultant d'une procédure médicale ou chirurgicale, ou une anémie induite par le médicament chez ledit patient.
13. Le procédé de la revendication 1 comportant de plus l'administration simultanée d'une quantité efficace sur plan pharmacologique d'un facteur de croissance hématopoïétique humain, où la quantité efficace sur plan pharmacologique du facteur de croissance hématopoïétique est réduite en présence d'au moins un composé.
14. Le procédé de la revendication 1 comportant de plus l'administration séparée d'une quantité efficace sur plan pharmacologique d'un facteur de croissance hématopoïétique humain, avant et/ou après l'administration d'au moins un composé, mais pas de l'administration simultanée.
15. Le procédé de la revendication 1 comportant de plus l'administration simultanée d'une quantité efficace sur plan pharmacologique d'une érythropoïétine humaine, où la quantité efficace sur plan pharmacologique de l'érythropoïétine est réduite en présence d'au moins un composé.
16. Le procédé de la revendication 1 comportant de plus l'administration séparée d'une quantité efficace sur plan pharmacologique d'une érythropoïétine humaine avant et/ou après l'administration d'au moins un composé, mais pas de l'administration simultanée.
17. L'utilisation d'au moins un composé pour la fabrication d'un médicament pour la stimulation d'hématopoïèse chez un patient en besoin de traitement, ces composés étant choisis à partir du groupe consistant en composés décrits par la formule 1:

$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ (1) où $n = 7-11$.

18. Une composition pour la stimulation d'hématopoïèse chez un patient en besoin de traitement, ladite composition comportant une quantité efficace sur plan pharmacologique d'une composition comportant au moins un composé décrit par la formule 1 :

$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ (1) où $n = 7-11$.

19. La composition de la revendication 18, où ladite composition comporte au moins le décanol.

20. La composition de la revendication 18, où ladite composition comporte au moins le dodécanol.

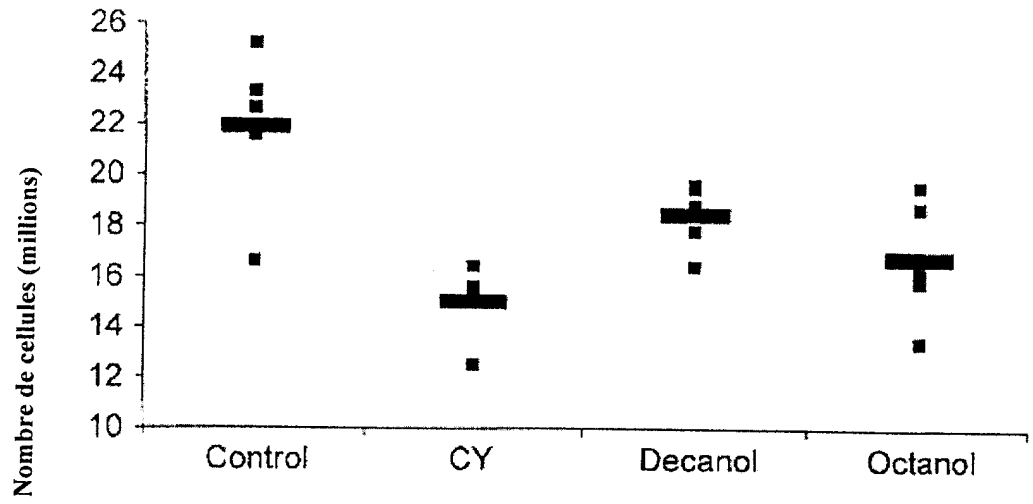


Fig. 1

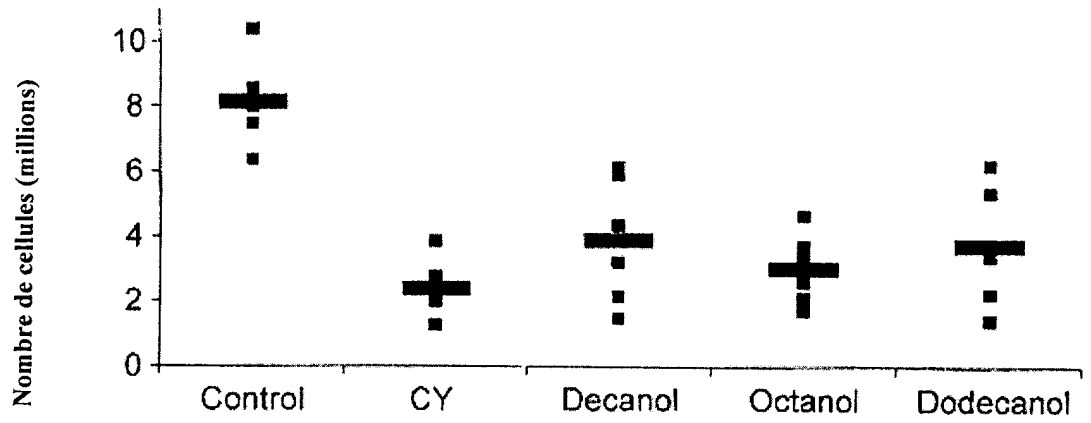


Fig. 2

2/2

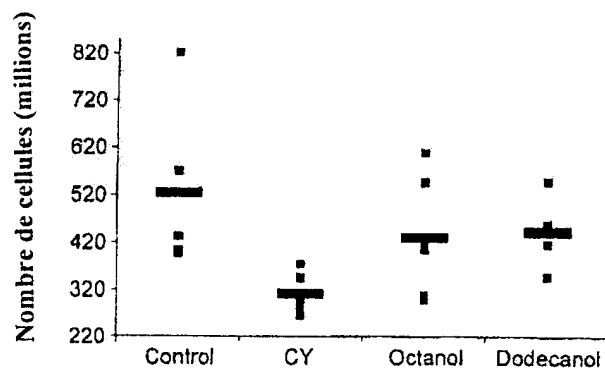


Fig. 3A

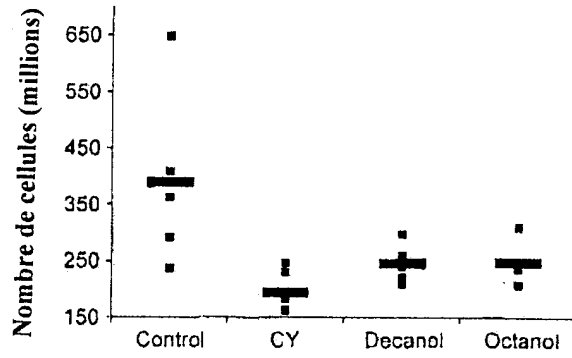


Fig. 3B