(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) **N° de publication :** **2 829 697**
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **01 11904**

(51) Int Cl[7] : **A 61 K 31/5685,** A 61 P 1/00

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 14.09.01.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 21.03.03 Bulletin 03/12.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire :** *Se reporter à la fin du présent fascicule*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

(71) **Demandeur(s) :** *LABORATOIRES MAYOLY SPINDLER* *Société anonyme* — FR et *SEMAN MICHEL* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** SEMAN MICHEL et CRITON MARC.

(73) **Titulaire(s) :**

(74) **Mandataire(s) :** CABINET ORES.

(54) DERIVES 7-HYDROXYLES ET 7-CETONIQUES DES HORMONES STEROIDES 3 BETA-HYDROXYLEES POUR LE TRAITEMENT DES MALADIES INFLAMMATOIRES OU FONCTIONNELLES DE L'INTESTIN.

(57) Utilisation de dérivés 7-hydroxylés et 7-cétoniques des hormones stéroïdes 3ß-hydroxylées pour la préparation d'un médicament destiné à traiter les maladies inflammatoires ou fonctionnelles de l'intestin.

FR 2 829 697 - A1

DERIVES 7-HYDROXYLES ET 7-CETONIQUES DES HORMONES STEROIDES 3β-HYDROXYLEES POUR LE TRAITEMENT DES MALADIES INFLAMMATOIRES OU FONCTIONNELLES DE L'INTESTIN

La présente invention concerne l'utilisation de dérivés 7-hydroxylés et 7-cétoniques des hormones stéroïdes 3β-hydroxylées pour la préparation d'un médicament destiné à traiter les maladies inflammatoires ou fonctionnelles de l'intestin.

Les maladies inflammatoires intestinales, et notamment la maladie de Crohn et la recto-colite hémorragique, sont des pathologies d'étiologie inconnue, dont l'incidence en France et dans de nombreux pays du monde ne cesse d'augmenter.

En règle générale, ce sont des pathologies chroniques dans lesquelles des poussées du processus inflammatoire, qui présentent parfois un réel caractère de gravité allant jusqu'à nécessiter l'hospitalisation du patient, alternent avec des phases de rémission plus ou moins prolongées.

Faute de savoir traiter la cause, l'attitude des thérapeutes face à ces maladies consiste à traiter les poussées évolutives de manière à obtenir, dans les meilleurs délais, la mise en rémission, puis d'éviter leur réapparition grâce à un traitement d'entretien. Pour ce faire, ils ont principalement recours à trois familles de composés :

- les glucocorticoïdes comme l'hydrocortisone (*Proctocort®*, *Colofoam®*), la bétaméthasone (*Betnesol®*), la prednisolone (*Solupred®*, *Cortancyl®*, *Hydrocortancyl®*), le tixocortol (*Rectovalone®*) et le budénoside (*Entocort®*), qui représentent aujourd'hui les médicaments de référence des maladies inflammatoires de l'intestin, mais qui sont essentiellement utilisés dans le traitement des poussées évolutives modérées à sévères compte tenu de leurs nombreux effets secondaires métaboliques, trophiques et immunitaires ;

- les dérivés de l'acide 5-aminosalicylique (5-ASA) comme la sulfasalazine (*Salazopyrine®*), la mésalazine (*Pentasa®*, *Rowasa®*) et l'olsalazine (*Dipentum®*), qui sont plutôt utilisés dans le traitement des poussées évolutives faibles à modérées ou en relais des glucocorticoïdes, une fois la mise en rémission obtenue ; et

- les immunodépresseurs comme l'azathioprine (*Imurel®*) et la 6-mercaptopurine (*Purinéthol®*), qui sont en général proposés dans les formes corticorésistantes ou corticodépendantes, ou pour éviter un acte chirurgical qui serait trop mutilant (dans le cas, par exemple, de lésions étendues de l'intestin grêle dans la maladie de Crohn).

Ces traitements anti-inflammatoires sont toujours associés à un traitement symptomatique destiné à soulager les manifestations fonctionnelles de ces pathologies, et notamment à l'administration d'antispasmodiques propres à réduire les douleurs abdominales.

Un certain nombre de travaux ayant montré que la déhydro-épiandrostérone (ou 3β-hydroxy-5-androstène-17-dione), plus connue sous le nom de DHEA, possèderait des propriétés immunomodulatrices (Daynes et *al.*, *Eur. J. Immunol.*, 1990, 20 : 793-802 ; Padgett et Loria, *J. Immunol.*, 1994, 153 : 1544-1552 ; Meikle et *al.*, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1992, 42 : 293-304), Straub et ses collaborateurs ont cherché à vérifier dans quelle mesure cette hormone stéroïde pouvait être impliquée dans les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans les maladies inflammatoires de l'intestin. C'est ainsi qu'ils ont mis en évidence que des patients souffrant d'une maladie de Crohn ou de colite ulcérative présentent des taux sériques en sulfate de DHEA – qui représente la forme circulante de la DHEA – notablement plus faibles que ceux trouvés chez des sujets sains (*Am. J. Gastroenterol.*, 1998, 93 : 2197-2202).

Ces observations ont été confirmées ultérieurement par De La Torre et *al.* (*Clin. Exp. Rheumatol.*, 1998, 16 : 579-582).

Parallèlement, Poynter et Daynes (*J. Biol. chem.*, 1998, 273 : 32833-32841) ont montré que la DHEA est capable d'inhiber différents médiateurs de l'inflammation comme le facteur nucléaire κB, l'interleukine 6 (IL-6) et l'interleukine 12 (IL-12) via le récepteur α activé par les proliférateurs des peroxysomes (PPARα).

L'ensemble de ces résultats a donc conduit Andus et *al.* (CD ROM, Abstracts & Itenerary Planner, DDW® AstraZeneca, 2000) à tester les effets d'une administration *per os* de DHEA chez 8 patients présentant une poussée de colite ulcérative réfractaire aux traitements classiques. Dans le cadre de ces essais, chaque patient a reçu quotidiennement 200 mg de DHEA en seule prise pendant 56 jours, en

plus de son traitement habituel, 6 patients étant déjà sous mésalazine (1,5-4 g/j), 2 sous budénoside (1,5-3 g/j), 1 sous azathioprine (150 mg/j) et 1 sous H15 et *E. coli Nissle* 1917 (100 mg/j). Une réduction significative de la poussée inflammatoire a été obtenue chez 5 patients allant, pour 3 d'entre eux, jusqu'à une mise en rémission. Par contre, aucun effet significatif de la DHEA sur l'inflammation n'a été observé chez les 3 autres patients.

En parallèle des travaux menés sur la DHEA, de nombreuses études ont également porté ces dix dernières années sur les dérivés 7-hydroxylés de la DHEA, et en particulier sur la 7α-hydroxy-DHEA (ou 3β,7α-dihydroxy-5-androstène-17-one) dont la présence a été révélée dans tout l'organisme, en particulier au niveau des organes barrières tels que la peau, le foie, l'intestin, la prostate et le cerveau.

Il est maintenant bien établi que les dérivés 7-hydroxylés de la DHEA, ainsi que ceux issus des autres hormones stéroïdes 3β-hydroxylées comme la pregnénolone (3β-hydroxy-5-pregnène-20-one ou PREG) et l'épiandrostérone (3β-hydroxy-5α-androstane-17-one ou ISOA) présentent une activité antiglucocorticoïde marquée (Morfin et *al.*, *IX Internat. Congr. Hormonal Steroids*, DALLAS, TX, USA, Congress Proceedings : poster D103, 1994 ; Morfin et *al.*, *Proceedings of the Second International Conference on Cortisol and Anti-cortisol*, Las Vegas, NV, USA : p38, 1997). Cette activité serait notamment à l'origine de leur aptitude à stimuler l'immunité cellulaire (Morfin et Courtray, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1994, 50 : 91-100 ; WO-A-94/08588 publiée le 28 avril 1994).

Le mécanisme par lequel les 7-hydroxystéroïdes exercent leur action antiglucocorticoïde n'a pas été encore élucidé. On sait qu'il n'existe pas de récepteur cytosolique pour la 7α-hydroxy-DHEA et que les 7α-hydroxystéroïdes n'interfèrent pas avec la liaison de la dexaméthasone au récepteur des glucocorticoïdes. Par contre, il semblerait que ces composés soient capables de diminuer l'incorporation nucléaire du récepteur glucocorticoïde activé par la dexaméthasone (Morfin et *al.*, ibid).

Quoi qu'il en soit, l'utilisation des dérivés 7-hydroxylés des hormones stéroïdes 3β-hydroxylés a été préconisée, notamment dans la demande Internationale WO 94/08588, dans toutes les indications thérapeutiques dans lesquelles une action contraire à celle des glucocorticoïdes est susceptible d'être

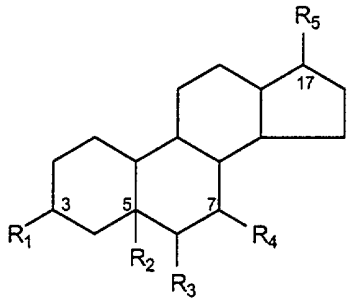
recherchée, et notamment dans le traitement des pathologies pour lesquelles les glucocorticoïdes sont classiquement déconseillés et celles liées à des effets secondaires de ces mêmes glucocorticoïdes (Syndrome de Cushing, tumeurs surrénaliennes, désordres de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, effets diabétogènes et immunosuppresseurs des glucocorticoïdes, atrophie musculaire, retards de cicatrisation, ulcères digestifs, ostéoporose, cataracte, infections opportunistes, dysménorrhées, ...).

Leur utilisation a également été proposée dans la prévention et le traitement du vieillissement cutané dont on sait qu'il est favorisé par les glucocorticoïdes (WO 98/40074 publiée le 17 septembre 1998).

Or, dans le cadre de leurs travaux, les Inventeurs ont constaté que les dérivés 7-hydroxylés et 7-cétoniques des hormones stéroïdes 3β-hydroxylées ont un effet antalgique supérieur à celui de la DHEA, doublé d'un effet anti-inflammatoire au moins équivalent à celui de cette dernière, ces deux effets étant, en outre, plus prononcés que ceux exercés par les composés classiquement utilisés dans les maladies inflammatoires de l'intestin comme la sulfasalazine.

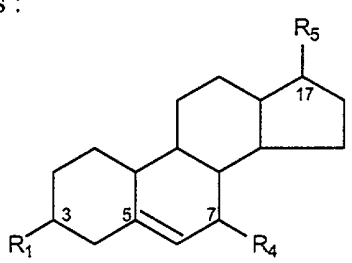
Ainsi, de manière paradoxale, ces dérivés, bien que présentant des activités antiglucocorticoïde et immunostimulatrice marquées, apparaissent présenter un réel intérêt dans le traitement des maladies inflammatoires de l'intestin comme la maladie de Crohn et la recto-colite hémorragique, ainsi que celui des maladies fonctionnelles intestinales, et en particulier du syndrome du colon irritable.

La présente invention a donc pour objet l'utilisation d'au moins un composé répondant à la formule (I) ci-après :



(I)

ou à la formule (II) ci-après :



(II)

dans lesquelles :

- R_1 représente un groupe hydroxyle, un groupe ester d'acide organique en C_1-C_{24}, linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, un groupe ester d'acide sulfurique ou d'acide phosphorique, un groupe éther carboné en C_1-C_{24}, linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, et comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi l'azote, l'oxygène, le soufre et le phosphore, ou encore un groupe éther d'hydrate de carbone en C_3-C_{100}, comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi l'azote, le soufre et le phosphore ;
- R_2 et R_3 représentent, lorsqu'ils sont présents, un atome d'hydrogène ;
- R_4 représente un atome d'oxygène ou un groupe hydroxyle ;
- R_5 représente un atome d'hydrogène ou d'oxygène, un groupe hydroxyle ou un groupe de formule : $-CH(OH)R_6$, $=C(OH)R_6$, $-COR_6$, $=CHR_6$ ou $-CH(R_6)R_7$ dans laquelle R_6 et R_7 représentent chacun un groupe alkyle en C_1-C_{10}, linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé ;

à la condition toutefois que R_1, R_4 et R_5 ne représentent pas tous les trois un groupe hydroxyle ;

pour la préparation d'un médicament pour le traitement des maladies inflammatoires ou fonctionnelles de l'intestin.

Conformément à l'invention, on utilise de préférence les composés répondant à la formule (I) ou à la formule (II) dans lesquelles R_1 représente un groupe hydroxyle, tandis que R_5 représente un atome d'oxygène ou un groupe $-COCH_3$. Ces composés correspondent notamment aux dérivés 7-hydroxylés et 7-cétoniques de l'ISOA auquel cas, dans la formule (I), R_5 représente un atome d'oxygène, de la PREG auquel cas, dans la formule (II), R_5 représente un groupe $-COCH_3$, et de la DHEA auquel cas, dans la formule (II), R_5 représente un atome d'oxygène.

Parmi ces dérivés, la 7α-hydroxy-DHEA dans laquelle le groupe hydroxyle porté par l'atome de carbone situé en position 7 du cycle stéroïde est axial, et la 7-oxo-DHEA (ou 3β-hydroxy-5-androstène-7,17-dione) sont particulièrement préférées.

Le médicament préparé conformément à l'invention peut comprendre un ou plusieurs composés de formule (I) ou de formule (II), éventuellement en association avec un autre principe actif propre à augmenter encore son efficacité thérapeutique, et un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables dont le choix sera fonction de la voie par laquelle on souhaite l'administrer et de la forme galénique sous laquelle on désire le présenter.

En effet, ce médicament est notablement susceptible d'être administré par les trois voies classiquement utilisées pour traiter des pathologies intestinales, à savoir la voie orale, la voie rectale qui est particulièrement utile lorsque ces pathologies sont localisées au niveau du rectum ou de la région rectosigmoïdienne, et la voie parentérale, notamment intramusculaire et intraveineuse, qui s'impose lorsque des doses élevées sont nécessaires ou lorsqu'il n'est pas possible de recourir à la voie orale, par exemple dans le cas de vomissements ou de troubles de la conscience.

Par ailleurs, de par leur nature à la fois hydrophile et lipophile, les composés de formule (I) et de formule (II) se prêtent à une utilisation sous de nombreuses formes galéniques tels que comprimés, gélules, granulés, solutions, suspensions, suppositoires, crèmes, gels, pommades ou mousses.

Dans tous les cas, le ou les composés de formule (I) ou de formule (II) sont avantageusement présents dans le médicament, lorsque celui-ci est destiné à être administré chez l'homme, en une quantité permettant l'administration d'une dose de composé(s) comprise entre 1 et 50 mg/jour et par kg de poids corporel et, de préférence, comprise entre 2 et 10 mg/jour et par kg de poids corporel, cette administration pouvant se faire en une ou plusieurs prises quotidiennes.

L'utilisation des dérivés 7-hydroxylés et 7-cétoniques des hormones stéroïdes 3β-hydroxylées pour la préparation d'un médicament destiné à traiter les pathologies inflammatoires ou fonctionnelles de l'intestin présentent de nombreux avantages. En effet, outre que ces dérivés ont des effets antalgiques et anti-inflammatoires véritablement intéressants, il a été montré qu'ils sont dénués d'activité andro-

génique et oestrogénique, contrairement à la DHEA qui est en partie métabolisée en hormones sexuelles. De plus, ils présentent une excellente tolérance.

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront à la lecture du complément de description qui suit et qui se réfère à des exemples de démonstration des effets antalgiques et anti-inflammatoires des dérivés 7-hydroxylés et 7-cétoniques des hormones stéroïdes 3β-hydroxylées. Il va de soi, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustrations de l'invention et n'en constituent nullement une limitation.

Exemple 1 : Efficacité comparée de la 7α-hydroxy-DHEA, de la 7-oxo-DHEA et de la DHEA sur les douleurs abdominales

Le pouvoir antalgique de la 7α-hydroxy-DHEA, de la 7-oxo-DHEA et de la DHEA a été évalué par un test classiquement utilisé pour apprécier l'effet antalgique d'une substance et qui consiste à rechercher si cette substance est apte, lorsqu'elle administrée par voie orale, à conférer une protection contre les crampes ou contorsions abdominales provoquées chez la souris par l'injection intrapéritonéale de phénylbenzoquinone.

Pour ce faire, 162 souris ICR mâles pesant 20 à 25 g chacune ont été réparties de manière aléatoire en 17 lots et, à l'exception des souris du lot 1 (30 souris) destinées à servir de témoins, ont reçu par voie orale :

- lot 2 (8 souris) : 100 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA
- lot 3 (4 souris) : 150 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA
- lot 4 (14 souris) : 200 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA
- lot 5 (4 souris) : 300 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA
- lot 6 (8 souris) : 400 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA
- lot 7 (8 souris) : 50 mg/kg de 7-oxo-DHEA
- lot 8 (12 souris) : 100 mg/kg de 7-oxo-DHEA
- lot 9 (4 souris) : 150 mg/kg de 7-oxo-DHEA
- lot 10 (16 souris) : 200 mg/kg de 7-oxo-DHEA
- lot 11 (4 souris) : 300 mg/kg de 7-oxo-DHEA
- lot 12 (12 souris) : 400 mg/kg de 7-oxo-DHEA
- lot 13 (8 souris) : 100 mg/kg de DHEA

- lot 14 (4 souris) : 150 mg/kg de DHEA
- lot 15 (14 souris) : 200 mg/kg de DHEA
- lot 16 (4 souris) : 300 mg/kg de DHEA
- lot 17 (8 souris) : 400 mg/kg de DHEA.

30 minutes après l'administration de ces traitements, 0,20 ml d'une solution aqueuse à 2 pour 10 000 de phénylbenzoquinone a été injectée à toutes les souris par voie intrapéritonéale.

Le nombre des crampes abdominales présentées par chacune des souris a été compté pendant 5 minutes à partir de la 6ème minute et jusqu'à la 11ème minute suivant l'injection de phénylbenzoquinone. Lors de ce comptage, seules ont été considérées comme positives, les crampes abdominales caractérisées par l'étirement des pattes postérieures et/ou le creusement des flancs après torsion.

On a déterminé, pour chaque lot de souris, la moyenne des crampes abdominales présentées par les souris, puis, pour les lots 2 à 17, un pourcentage P de protection par la formule : P = [(moyenne des crampes présentées par les souris du lot témoin – moyenne des crampes présentées par les souris du lot traité)/moyenne de crampes présentées par le lot témoin] x 100.

La Figure 1 représente, sous la forme de courbes, l'évolution de ce pourcentage de protection tel qu'obtenu après traitement par la 7α-hydroxy-DHEA (—■—), la 7-oxo-DHEA (—▲—) et par la DHEA (—◆—) en fonction de la dose administrée.

Cette Figure montre qu'à doses équivalentes, la 7α-hydroxy-DHEA et la 7-oxo-DHEA présentent systématiquement un effet antalgique supérieur à celui de la DHEA. Le meilleur effet antalgique est obtenu avec la 7α-hydroxy-DHEA, qui confère une protection quasi-maximale (95%) contre les crampes abdominales à la dose de 400 mg/kg. La protection maximale obtenue à la même dose est de 67% pour la 7-oxo-DHEA et chute à 55% pour la DHEA.

<u>Exemple 2</u> : Efficacité comparée de la 7α-hydroxy-DHEA, de la DHEA et de la sulfasalazine sur l'inflammation du colon

Le pouvoir anti-inflammatoire de la 7α-hydroxy-DHEA a été apprécié par un test visant à évaluer l'effet thérapeutique d'une administration orale de ce composé sur une inflammation du colon induite chez des rats par l'administration

intracolonique d'acide sulfonique de trinitrobenzène (TNBS), et a été comparé aux effets thérapeutiques obtenus, dans les mêmes conditions, par l'administration orale de sulfasalazine d'une part, et de DHEA d'autre part.

Pour ce faire, 72 rats Wistar mâles pesant chacun entre 220 et 240 g, préalablement mis à jeun pendant 48 heures, ont été répartis en 8 lots et ont été traités par voie orale comme suit :

- lot 1 (6 rats) : gel aqueux contenant 1% de carboxyméthylcellulose (CMC) 1 fois/jour de J0 à J4
- lot 2 (6 rats) : 100 mg/kg de sulfasalazine 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 3 (10 rats) : 50 mg/kg de DHEA 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 4 (10 rats) : 100 mg/kg de DHEA 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 5 (10 rats) : 200 mg/kg de DHEA 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 6 (10 rats) : 50 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 7 (10 rats) : 100 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 8 (10 rats) : 200 mg/kg de 7α-hydroxy-DHEA 1 fois par jour de J0 à J4

La sulfasalazine et la 7α-hydroxy-DHEA ont été administrées aux rats sous la forme de gels aqueux contenant 1% de CMC (PROLABO), tandis que la DHEA leur a été administrée sous la forme d'un gel aqueux contenant 5% de DMSO et 1% de CMC.

A J0 + 8 heures, les rats ont été anesthésiés à l'halothane et on leur a administré dans le colon 250 µl d'une solution constituée à 50% de sérum physiologique et à 50% d'éthanol et renfermant 30 mg de TNBS, au moyen d'un cathéter de 2 mm introduit dans l'anus sur une longueur de 8 cm. Ce traitement provoque en quelques jours des signes cliniques proches de ceux observés dans la maladie de Crohn et dans la recto-colite hémorragique.

Les rats ont été pesés quotidiennement pendant toute la durée de l'expérimentation.

A J4, les rats ont été euthanasiés à l'halothane. Les colons ont été prélevés sur une longueur de 8 cm allant du coude splénique jusqu'au rectum, rincés au sérum physiologique, coupés longitudinalement et examinés au microscope.

Les lésions ont été comptabilisées selon le score dit de Morris (Morris et *al.*, 1989, *Gastroenterology*, 96 : 795-803) après une double lecture en aveugle.

Les poids corporels des rats ont été analysés par un test *t* de Student. Les tests de normalité et d'homogénéité des variances (test de Levene), suivis de tests paramétriques ont été réalisés sur les scores des lésions.

La Figure 2 représente, sous la forme de courbes, l'évolution du poids corporel des rats du lot 1 témoin (—◆—) et des lots traités (lot 2 : —■— ; lot 3 : —▲— ; lot 4 : —□— ; lot 5 :- - - ■ - - - ; lot 6 : —○— ; lot 7 : - - - ● - - - ; lot 8 : —⁻—) en fonction du temps, tandis que la Figure 3 représente, sous la forme d'histogrammes, les scores des lésions obtenus pour ces mêmes rats.

La Figure 2 montre que le poids corporel des rats a évolué au cours du test de la même manière dans tous les lots, témoin ou traités, tandis que la Figure 3 montre que les rats traités par la sulfasalazine, la DHEA et la 7α-hydroxy-DHEA présentent des lésions significativement moins importantes que celles présentées par les rats du lot témoin.

Les scores des lésions les plus bas sont obtenus chez les rats traités par la DHEA et la 7α-hydroxy-DHEA dont les effets anti-inflammatoires apparaissent être équivalents à doses équivalentes.

<u>Exemple 3</u> : Efficacité comparée de la 7-oxo-DHEA et de la sulfasalazine sur l'inflammation du colon

Le pouvoir anti-inflammatoire de la 7-oxo-DHEA a été apprécié par le même test que celui décrit à l'exemple 2, et a été comparé à celui observé, dans les mêmes conditions, avec un traitement par la sulfasalazine.

70 rats Wistar mâles pesant chacun entre 220 et 240 g, préalablement mis à jeun pendant 48 heures, ont été répartis en 7 lots et ont été traités par voie orale comme suit :

- lot 1 (10 rats) : gel aqueux contenant 1% de CMC 1 fois/jour de J0 à J4
- lot 2 (10 rats) : 50 mg/kg de sulfasalazine 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 3 (10 rats) : 100 mg/kg de sulfasalazine 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 4 (10 rats) : 200 mg/kg de sulfasalazine 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 5 (10 rats) : 50 mg/kg de 7-oxo-DHEA 1 fois par jour de J0 à J4

- lot 6 (10 rats) : 100 mg/kg de 7-oxo-DHEA 1 fois par jour de J0 à J4
- lot 7 (10 rats) : 200 mg/kg de 7-oxo-DHEA 1 fois par jour de J0 à J4

Comme dans l'exemple 2, la sulfasalazine a été administrée aux rats sous la forme d'un gel aqueux contenant 1% de CMC, tandis que la 7-oxo-DHEA leur a été administrée sous la forme d'un gel aqueux contenant 5% de DMSO et 1% de CMC.

L'inflammation du colon a été induite dans les mêmes conditions que celles décrites dans l'exemple 2, à ceci près que les rats ont reçu une dose de TNBS moitié moindre que celle administrée dans cet exemple (15 mg versus 30 mg).

Puis le test a été poursuivi comme décrit dans l'exemple 2.

La Figure 4 représente, sous la forme de courbes, l'évolution du poids corporel des rats du lot 1 témoin (—◆—) et des lots traités (lot 2 : —■— ; lot 3 : —▲— ; lot 4 : —×— ; lot 5 : —✱— ; lot 6 : —●— ; lot 7 : —+—) en fonction du temps, tandis que la Figure 5 représente, sous la forme d'histogrammes, les scores des lésions obtenus pour ces mêmes rats.

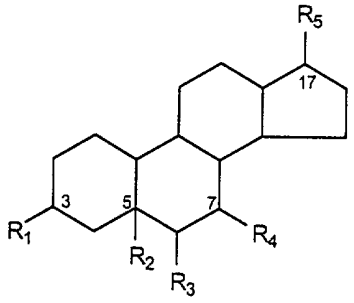
La Figure 4 montre que, là également, le poids corporel des rats a évolué au cours du test de la même manière dans tous les lots, témoin ou traités

Quant à la Figure 5, elle montre que les rats traités par la sulfasalazine et la 7-oxo-DHEA présentent des lésions significativement moins importantes que celles présentées par les rats du lot témoin. Les effets anti-inflammatoires de la sulfasalazine et de la 7-oxo-DHEA apparaissent être équivalents aux doses de 50 et 200 mg/kg et par jour.

Par contre, à la dose de 100 mg/kg et par jour, les effets anti-inflammatoires de la 7-oxo-DHEA sont significativement plus élevés que ceux de la sulfasalazine ($P<0,01$, test de Mann-Whitney).

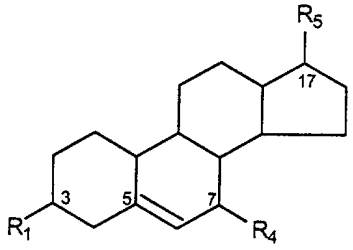
REVENDICATIONS

1. Utilisation d'au moins un composé répondant à la formule (I) ci-après :



(I)

ou à la formule (II) ci-après :



(II)

dans lesquelles :

- R_1 représente un groupe hydroxyle, un groupe ester d'acide organique en C_1-C_{24}, linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, un groupe ester d'acide sulfurique ou d'acide phosphorique, un groupe éther carboné en C_1-C_{24}, linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, et comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi l'azote, l'oxygène, le soufre et le phosphore, ou encore un groupe éther d'hydrate de carbone en C_3-C_{100}, comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi l'azote, le soufre et le phosphore ;
- R_2 et R_3 représentent un atome d'hydrogène ;
- R_4 représente un atome d'oxygène ou un groupe hydroxyle ; tandis que
- R_5 représente un atome d'hydrogène ou d'oxygène, un groupe hydroxyle ou un groupe de formule : $-CH(OH)R_6$, $=C(OH)R_6$, $-COR_6$, $=CHR_6$ ou $-CH(R_6)R_7$ dans laquelle R_6 et R_7 représentent chacun un groupe alkyle en C_1-C_{10}, linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé ;

à la condition toutefois que R_1, R_4 et R_5 ne représentent pas tous trois un groupe hydroxyle;

pour la préparation d'un médicament pour le traitement des maladies inflammatoires ou fonctionnelles de l'intestin.

2. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle, dans la formule (I) ou la formule (II), R_1 représente un groupe hydroxyle, tandis que R_5 représente un atome de carbone ou un groupe $-COCH_3$.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans laquelle le composé est choisi parmi la 7α-hydroxy-DHEA (3β,7α-dihydroxy-5-andro-stène-17-one) et la 7-oxo-DHEA (ou 3β-hydroxy-5-androstène-7,17-dione).

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle le composé est présent dans le médicament en une quantité adaptée à l'administration d'une dose dudit composé comprise entre 1 et 50 mg/jour et par kg de poids corporel, chez l'homme.

5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle le composé est présent dans le médicament en une quantité adaptée à l'administration d'une dose dudit composé comprise entre 2 et 10 mg/jour et par kg de poids corporel, chez l'homme.

6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle le médicament est destiné à traiter la maladie de Crohn ou la recto-colite hémorragique.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans laquelle le médicament est destiné à traiter le syndrome du colon irritable.

2829697

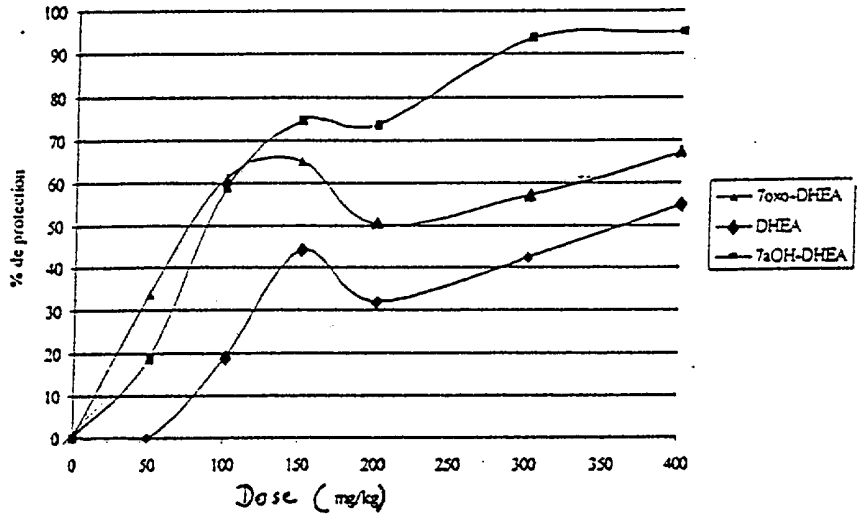


FIG. 1

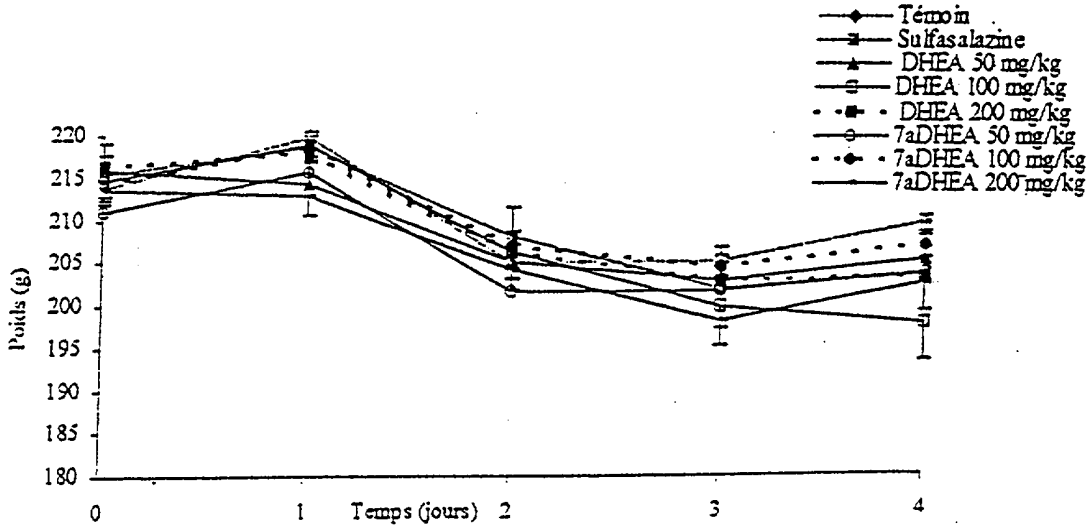


FIG. 2

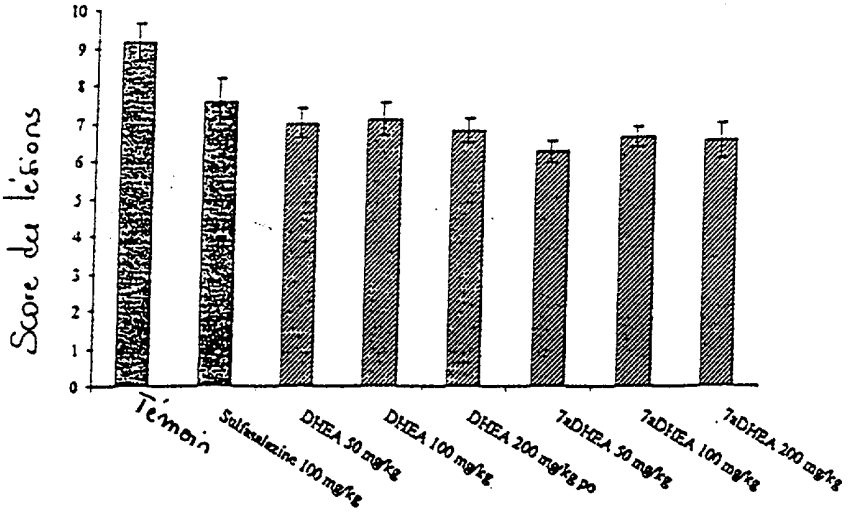


FIG. 3

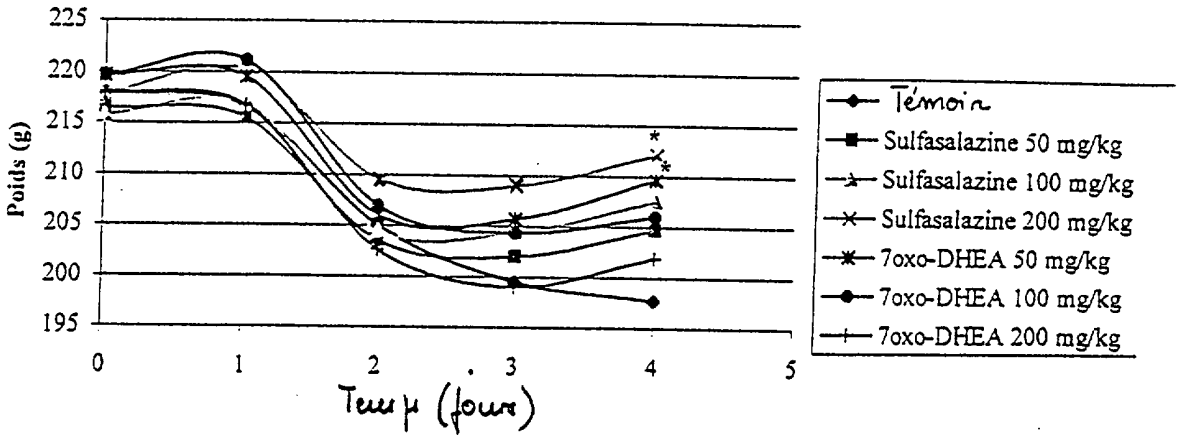

225
220
215
210
205
200
195
Poids (g)
0
1
2
3
4
5
Temps (jours)
Témoin
Sulfasalazine 50 mg/kg
Sulfasalazine 100 mg/kg
Sulfasalazine 200 mg/kg
7oxo-DHEA 50 mg/kg
7oxo-DHEA 100 mg/kg
7oxo-DHEA 200 mg/kg

FIG. 4

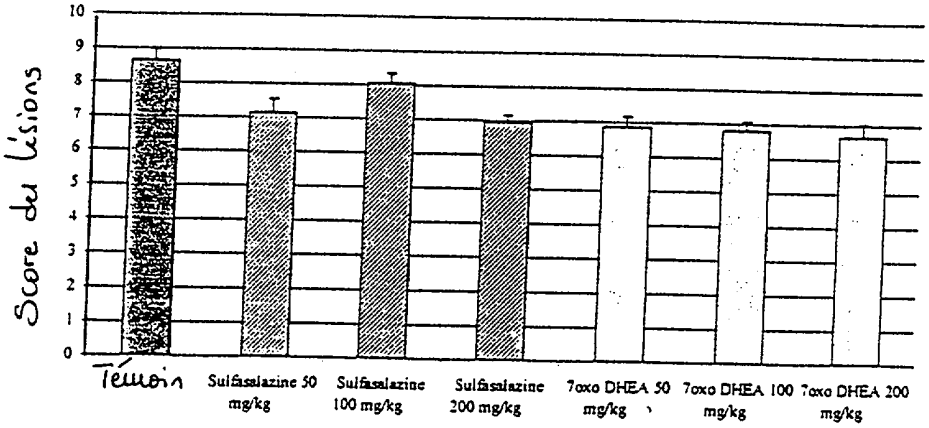

Score des lésions
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
Témoin
Sulfasalazine 50 mg/kg
Sulfasalazine 100 mg/kg
Sulfasalazine 200 mg/kg
7oxo DHEA 50 mg/kg
7oxo DHEA 100 mg/kg
7oxo DHEA 200 mg/kg

FIG. 5

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INPI
INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE 2829697
PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement national

FA 610556
FR 0111904

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WO 97 18816 A (CHILDRENS HOSP MEDICAL CENTER) 29 mai 1997 (1997-05-29) * abrégé * * page 4, ligne 19 - page 5, ligne 20 * * page 36, ligne 18 - page 38, ligne 3; revendications 1-7,25-31 *	1,2,4-7	A61K31/568 A61P1/00
X,D	WO 94 08588 A (CONSERVATOIRE NAT ARTS ;MORFIN ROBERT (FR)) 28 avril 1994 (1994-04-28) * abrégé * * page 6, alinéa 4 - page 7, alinéa 5 * * page 8, ligne 6-9; revendication 6; tableau 1 *	1,3-5	
X	WO 00 56757 A (HOLLIS EDEN PHARMACEUTICALS IN) 28 septembre 2000 (2000-09-28) * abrégé * * page 132, ligne 24-34; revendications 32,53,59-63 *	1-7	

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.Cl.7)
A61K

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
18 mars 2002	A. Jakobs

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

Numéro de la demande

FA 610556
FR 0111904

RECHERCHE INCOMPLÈTE
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE C

Certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche ou ont fait l'objet d'une recherche incomplète, à savoir:

Revendications ayant fait
l'objet de recherches complètes:
-

Revendications ayant fait
l'objet de recherches incomplètes:
1-7

Raison:

Les revendications 1-7 présentes ont trait à une très grande variété de composés/utilisations. Un fondement au sens de L'art. L.612-6 CPI et/ou un exposé au sens de l'art. L.612-5 CPI ne peut cependant être trouvé que pour un nombre très restreint de ces composés/utilisations revendiqué(e)s. Dans le cas présent, les revendications manquent à un tel point de fondement et l'exposé de l'invention dans la description est si limité qu'une recherche significative couvrant tout le spectre revendiqué est impossible. Par conséquent, la recherche a été limitée aux parties des revendications qui présentent un fondement et un exposé, c'est à dire les parties ayant trait à l'utilisation des composés spécifiquement mentionnés dans la revendication 3 en rapport avec les maladies inflammatoires de l'intestin et plus particulièrement la maladie de Crohn, la recto-colite, le syndrome du colon irritable.

Les revendications 1,2,4-7 ont fait l'objet d'une recherche (partielle) portant sur des composés répondant à la formule (I) ou (II) en considérant que ses formules comportaient une erreur dont la rectification s'impose à l'évidence, à savoir la présence de deux groupements méthyle en position 10 et en position 13 conformément aux structures des composés revendiqués dans la revendication 3 (7alpha-hydroxy-DHEA et 7-oxo-DHEA) qui portent également ces groupements méthyles.

Le terme "maladies fonctionnelles de l'intestin" n'a été recherché que dans le sens des "maladies inflammatoires de l'intestin" énoncées ci-dessus.

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0111904 FA 610556

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 18-03-2002
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 9718816	A	29-05-1997	US	5763435 A	09-06-1998
			AU	709594 B2	02-09-1999
			AU	7737796 A	11-06-1997
			BR	9611606 A	24-10-2000
			CA	2238040 A1	29-05-1997
			CN	1211185 A	17-03-1999
			EP	0871452 A2	21-10-1998
			JP	2000500764 T	25-01-2000
			NO	982281 A	08-07-1998
			PL	326931 A1	09-11-1998
			US	6251884 B1	26-06-2001
			WO	9718816 A2	29-05-1997
WO 9408588	A	28-04-1994	FR	2696934 A1	22-04-1994
			EP	0665752 A1	09-08-1995
			WO	9408588 A1	28-04-1994
			JP	8505124 T	04-06-1996
			US	5763433 A	09-06-1998
WO 0056757	A	28-09-2000	AU	1745300 A	19-06-2000
			AU	1923500 A	19-06-2000
			AU	3105200 A	19-06-2000
			AU	3919000 A	09-10-2000
			BR	0009476 A	19-02-2002
			BR	9915623 A	14-08-2001
			BR	9915644 A	07-08-2001
			CN	1328463 T	26-12-2001
			EP	1163256 A1	19-12-2001
			EP	1135138 A2	26-09-2001
			EP	1133287 A2	19-09-2001
			NO	20014588 A	21-11-2001
			WO	0056757 A1	28-09-2000
			WO	0032201 A2	08-06-2000
			WO	0032176 A2	08-06-2000
			WO	0032177 A2	08-06-2000

EPO FORM P0465