



MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

NUMERO DE PUBLICATION : 1004315A5

NUMERO DE DEPOT : 8800428

Classif. Internat.: A61K

Date de délivrance : 03 Novembre 1992

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d' invention, notamment l' article 22;

Vu l' arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d' invention, notamment l' article 28;

Vu le procès verbal dressé le 15 Avril 1988 à 15h00
à l' Office de la Propriété Industrielle

ARRETE :

ARTICLE 1.- Il est délivré à : COLTHURST LIMITED;PRENDERGAST Patrick Thomas Baybush Straffan, COUNTY KILDARE(IRLANDE);Baybush Straffan,COUNTY KILDARE (IRLANDE)

représenté(e)(s) par : VOSSWINKEL Philippe, BUREAU GEVERS S.A., Rue de Livourne 7 - B 1050 BRUXELLES.

un brevet d' invention d' une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : UTILISATION DE CERTAINS 17-CETOSTEROIDES POUR FABRIQUER UN MEDICAMENT POUR LE TRAITEMENT ET LA PREVENTION DES INFECTIONS RETROVIRALES.

INVENTEUR(S) : Prendergast Thomas Patrick, Baybush, Straffan, County Kildare (IE)

Priorité(s) 16.04.87 IE IEA 99787 27.08.87 IE IEA 228987

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l' invention, sans garantie du mérite de l' invention ou de l' exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 03 Novembre 1992
PAR DELEGATION SPECIALE :

WUYTS L
Directeur

- 1 -

"Utilisation de certains 17-cétostéroïdes pour fabriquer un médicament pour le traitement et la prévention des infections rétrovirales"

La présente invention concerne l'utilisation des certains 17-cétostéroïdes, éventuellement avec un immunomodulateur et/ou un agent antiviral, pour fabriquer un médicament pour le traitement et la prévention des

5 infections rétrovirales.

Plus particulièrement, l'invention concerne l'utilisation de certains 17-cétostéroïdes dans la prophylaxie et le traitement des infections rétrovirales ou d'une complication ou d'une conséquence de celles-ci,

10 notamment dans la prophylaxie et le traitement des infections rétrovirales conduisant à une déficience du système immunitaire entraînant le développement d'infections opportunistes et de certains cancers. L'invention concerne notamment l'utilisation des 17-cétostéroïdes

15 dans la prophylaxie et le traitement des infections rétrovirales semblant être responsables du syndrome immunodéficitaire acquis (SIDA) et de la maladie apparentée, le para-SIDA (ARC). Le SIDA et le para-SIDA semblent résulter d'une infection par le virus HIV (HUMAN

20 IMMUNODEFICIENCY VIRUS), des anticorps contre celui-ci étant présents dans le sérum de presque toutes les personnes pour lesquelles le diagnostic de SIDA ou de para-SIDA a été porté. Le virus LAV (Lymphadenopathy Associated Virus) et le virus HTLV-III (Human T-lympho-

25 tropic Virus Type III), de même que des rétrovirus apparentés, ont été isolés d'un grand nombre de patients atteints de SIDA. Tous ces virus ont en commun des caractéristiques importantes. On considère maintenant qu'HTLV-III et LAV sont des souches du même virus que

30 l'on a appelé HIV (Human Immunodeficiency Virus).

Le SIDA est une maladie caractérisée par une perte de l'immunité à médiation cellulaire et le développement d'infections opportunistes fréquentes et finalement mortelles. La définition permettant de porter le

35 diagnostic clinique du SIDA est l'apparition d'une

maladie permettant de prévoir une déficience de l'immunité à médiation cellulaire apparaissant chez un individu ne présentant aucune cause connue de diminution de la résistance à cette maladie" (Lane H.C. et Fauci A.S., 5 Ann. Rev. Immunol. 1985, 3, 477-500).

Le terme HIV tel qu'on l'utilise englobe les rétrovirus HIV-1 ou HIV-2 (Human Immunodeficiency Virus Type 1 et Human Immunodeficiency Virus Type 2) qui ont été découverts en 1983. L'HIV attaque, en en réduisant 10 le nombre, un sous-groupe des globules blancs du sang appelés lymphocytes T. Une molécule appelée CD4 est exprimée sur la surface cellulaire de ces lymphocytes T (ces cellules sont également appelées cellules T4). Ces lymphocytes, qui, pour la plupart, font partie du sous- 15 groupe fonctionnel défini comme auxiliaire/inducteur, constituent la majeure portion des cellules T matures. Un autre sous-groupe majeur des cellules T exprime la molécule CD8 sur la surface cellulaire (ces cellules sont également appelées cellules T8). La plupart de ces 20 cellules font partie du sous-groupe suppresseur/cytotoxique. Normalement, le rapport T4/T8 est de 1,5 à 2,0. Cependant, chez les patients atteints de SIDA, ce rapport est inversé par suite d'une diminution du nombre absolu des cellules T4, tandis que le nombre normal des 25 cellules T8 est généralement maintenu.

Les cellules T4 reconnaissent spécifiquement les antigènes qu'elles rencontrent dans l'organisme et prolifèrent par réaction avec eux et en même temps libèrent diverses protéines appelées lymphokines qui assurent la 30 régulation d'autres cellules du système immunitaire. Sur l'indication des cellules T4, les cellules lymphocytaires B reconnaissent les antigènes et secrètent des anticorps spécifiques pour neutraliser ou éliminer les bactéries ou virus antigéniques lorsqu'ils passent dans les 35 liquides de l'organisme entre les cellules. De façon

semblable, sur l'indication des cellules T4, les cellules T cytotoxiques ("T8") sont activées pour tuer les cellules infectées par des agents pathogènes intracellulaires. De plus, les cellules T4 modulent les activités
5 des cellules du système immunitaire appelées cellules tueuses naturelles et macrophages qui interviennent dans la réponse à l'infection et peut-être aux affections malignes à leur début.

Un phénomène critique précoce dans l'infection à
10 HIV comprend la fixation du virus par l'intermédiaire de la glycoprotéine de son enveloppe à un récepteur sur la surface d'une cellule T4 sensible, la molécule CD4. La molécule CD4 à la surface des cellules T4 semble caractériser les cellules cibles potentielles de l'HIV et
15 agir comme une molécule réceptrice qui fixe le virus et permet l'infection et la réplication virale ultérieure, de même que les conséquences cytopathogènes de l'infection virale.

L'immunodéficience du SIDA établit clairement
20 l'importance des lymphocytes T4. Par suite de la perte de ces cellules, les lymphocytes T restants des patients atteints de SIDA présentent une diminution ou une absence de réponse aux antigènes et assurent une production inférieure à la normale des facteurs immunorégulateurs essentiels. Par suite de la diminution de leur
25 nombre et de leur capacité fonctionnelle, les cellules T4 sont incapables de jouer leur rôle nécessaire en assurant la direction de la maturation des cellules B et des cellules T cytotoxiques. La capacité des patients
30 atteints de SIDA à élaborer des anticorps par réaction à de nouveaux antigènes est fortement compromise, bien que, paradoxalement, des taux élevés d'anticorps dirigés contre des antigènes précédemment rencontrés, y compris l'HIV, soient souvent présents dans les sérums des
35 patients (Institute of Medicine, National Academy of

Science, Confronting AIDS, Washington DC National Academy Press 1986, pages 37-44 et 177-199).

Actuellement, le SIDA et le para-SIDA sont principalement observés dans certains groupes à risques élevés, tels que les homosexuels, les drogués par injection intraveineuse et les personnes ayant reçu des transfusions multiples ou des produits dérivés du sang, tels que le facteur VIII. Les donateurs de sang font actuellement l'objet d'un dépistage systématique des anticorps anti-HIV et par conséquent, dans l'avenir, la propagation de l'HIV par les transfusions sanguines et les produits dérivés du sang ne devrait pas, espérons-le, contribuer à la transmission du SIDA. Le SIDA s'observe également de plus en plus dans la population hétérosexuelle.

Il est de plus en plus établi que l'infection des macrophages/monocytes est un facteur capital de la persistance et de la progression de l'infection par l'HIV, de l'amorce des lésions cérébrales observées dans le SIDA et dans le déclenchement de l'effondrement du système immunitaire, qui se manifeste finalement par une chute profonde des lymphocytes T4. Crowe et coll. ont démontré, en utilisant l'anticorps anti-HIV p24 que les monocytes/macrophages peuvent être infectés par l'HIV. Ils ont démontré que jusqu'à 70 % des cellules des donateurs individuels peuvent être infectées (AIDS Research and Human Retroviruses, Vol. 3, No.2, 1987, page 135). Nicholson et coll. ont proposé un effet induit par l'HTLV-III/LAV sur la fonction des monocytes plutôt que (ou en plus de) une déficience intrinsèque des cellules T survivantes pour expliquer les anomalies observées des déterminations relatives aux cellules T qui sont dépendantes des monocytes telles que la synthèse d'Ig induite par le mythogène pokeweed et les réactions prolifératives aux antigènes solubles. Ces

déterminations relatives aux cellules T ont été précédemment indiquées comme anormales, même lorsque la détermination porte sur des sous-groupes des cellules T (The Journal of Immunology, Vol. 137, No. 1, 1986, page 5 323).

Comme il est bien établi que le premier phénomène qui apparaît lorsqu'une matière étrangère (par exemple un virus) pénètre dans l'organisme est sa fixation par des phagocytes mononucléaires, il est concevable que ces cellules représentent une cible principale de l'HIV. Gartner et coll. ont montré que la production de virus par des macrophages infectés par HTLV III/LAV est importante et prolongée, ce qui indique que ces cellules peuvent jouer un rôle dans la dissémination et la persistance du virus. Ils ont démontré que la réplique-
10 tion d'HTLV-III/LAV dans les macrophages est intense dans les cas qu'ils ont évalués (Science, Vol. 233, 15 1986, page 215).

Salahuddin et coll. ont observé, qu'in vitro, les macrophages pulmonaires peuvent être infectés par HTLV-III et semblent être moins sensibles aux effets cytopathogènes de ce rétrovirus, ce qui suggère que les macrophages tissulaires peuvent être considérés comme des réservoirs potentiels d'HTLV-III in vivo (Blood, 20 Vol. 68, No. 1, 1986, page 281).

Ho D.D. et coll. ont observé que les monocytes/macrophages dérivant du sang normal sont sensibles à l'infection in vitro par l'HTLV-III (Human T Lymphotropic Virus III), l'agent étiologique du SIDA. De plus, l'HTLV-III a été récupéré à partir de monocytes/macrophages de patients infectés par ce virus. On a donc émis l'hypothèse que les monocytes/macrophages infectés par HTLV-III peuvent servir de véhicule pour la dissémination du virus aux organes cibles et de réservoir de la
30 persistance virale, comme cela a été observé pour
35

d'autres virus lents, tels que le virus du visna ou le virus de l'arthrite-encéphalite caprine (J. Clin. Invest., Vol. 77, 1986, page 1712).

Bien qu'un agent antiviral susceptible de tuer
5 tous les HIV infectieux ou d'inhiber complètement leur répllication (et possédant simultanément un profil de toxicité acceptable) soit très souhaitable, la situation actuelle est qu'on ne dispose pas d'un tel agent.

Grâce à la meilleure compréhension du rôle que
10 les macrophages peuvent jouer dans la pathogenèse du SIDA, il est évident qu'une stratégie antivirale efficace nécessite une approche permettant de traiter les macrophages infectés et d'inhiber l'infection de ces cellules. Actuellement, les seuls agents antiviraux
15 approuvés par la F.D.A. pour le traitement du SIDA sont l'azidothymidine (AZT) et l'iséthionate de pentamidine (PENTAM 300). Comme démontré ci-après, l'AZT est totalement inefficace pour inhiber l'infection des macrophages ou moduler la production d'HIV par les macrophages
20 infectés. L'administration d'AZT pendant des périodes prolongées s'est révélée provoquer des effets secondaires indésirables, tels qu'une anémie nécessitant une transfusion sanguine, une leucopénie et une neutropénie.

La grande majorité des composés antiviraux sont
25 des nucléosides, y compris par exemple l'AZT.

Beaucoup des 17-cétostéroïdes agissent comme des hormones et comprennent les hormones sexuelles ou leurs précurseurs et les hormones qui règlent le métabolisme. La déhydroépiandrostérone (DHEA) est un de ces 17-céto-
30 stéroïdes qui est un précurseur des androgènes et des oestrogènes et a de plus des effets métaboliques importants. Ces effets résultent de son activité inhibitrice d'enzymes telles que la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la NADH oxydase. De plus, la DHEA a un effet
35 inhibiteur sur l'activité mitotique et sur la perméabi-

lité des membranes (Jiri Sonka, Acta Universitatis Carolinae Medica Monographia LXXI - 1976). L'effet de la DHEA sur des enzymes, telles que la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la NADH oxydase, provoque principale-
5 ment une inhibition de la voie des pentoses et une inhibition du système du cytochrome, qui toutes deux limitent l'apport des constituants et de l'énergie nécessaires aux processus de biosynthèse, en particulier pour la croissance et la régénération des tissus. Une des conditions principales de la croissance est un apport approprié d'énergie (ATP) et de constituants pour la synthèse des acides nucléiques. La DHEA commande ces deux processus en tant qu'inhibiteur de la NADH oxydase et de la glucose-6-phosphate déshydrogénase. La DHEA s'est révélée inhiber certains troubles métaboliques et la
15 cirrhose du foie et réduire la douleur des cardiopathies ischémiques, en particulier de l'angine de poitrine, par limitation de la respiration tissulaire. La DHEA a été utilisée dans le traitement de la ménopause, de l'instabilité émotionnelle, de la dépression et du stress.
20

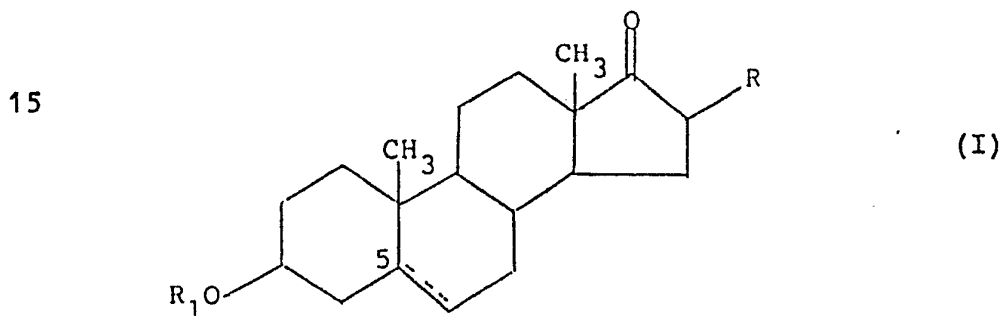
Les individus présentant une carence génétique en glucose-6-phosphate déshydrogénase possèdent une résistance relative au paludisme à falciparum et présentent un nombre bien plus faible de protozoaires dans
25 leurs érythrocytes que les sujets normaux (Motulski A.G. 1975 dans "The Role of Natural Selection in Human Evolution", Ed. Salzano S. Amsterdam, New Holland, p. 271 et Luzzato L. et coll., Science, 164, 839, 1969).

La DHEA et les composés apparentés sont capables
30 de réduire la capacité de former des colonies des cellules mononucléaires du sang périphérique humain infectées par le virus d'Epstein-Barr (un herpèsvirus) à des concentrations de 10-100 μ M (Carcinogenesis, Vol. 2, pp 883-886, 1981).

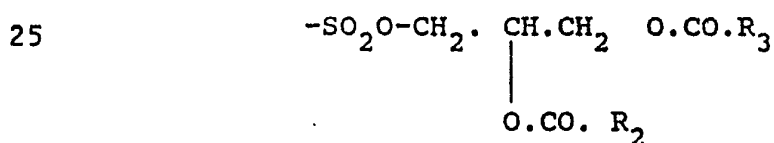
35 La DHEA inhibe également l'activation du complé-

ment et est donc utile dans la prophylaxie de l'oedème angioneurotique héréditaire (Hidvegi et coll., Complement 1 ; 201, 1984). La DHEA empêche également la formation d'autoanticorps dans le modèle murin du lupus érythémateux disséminé (LED) et beaucoup des caractéristiques du SIDA constitué sont considérées comme semblables à celles du LED (Lucas et coll., J. Clin. Invest., 75: 2091, 1985).

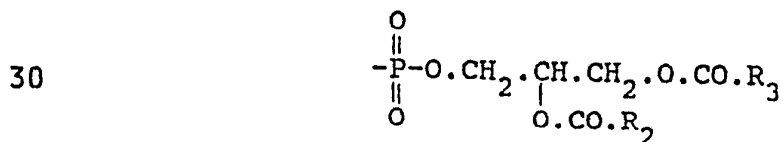
L'invention fournit donc un composé utile dans la prophylaxie et le traitement d'une infection rétrovirale ou d'une complication ou d'une conséquence de celle-ci, ce composé répondant à la formule générale (I)



20 dans laquelle R est un atome d'hydrogène ou de brome et R₁ est un atome d'hydrogène, un groupe SO₂OM, dans lequel M est un atome d'hydrogène ou de sodium, un groupe sulfatide

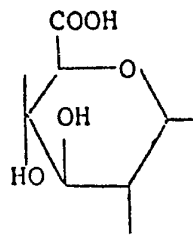


ou un groupe phosphatide



dans lesquels chacun de R₂ et R₃, qui peuvent être semblables ou différents, est un radical alkyle à chaîne droite ou ramifiée de 1 à 14 atomes de carbone,

35 ou un groupe glucuronide



5

Le trait discontinu représente une double liaison facultative et l'atome d'hydrogène de la position 5 est présent en la configuration α ou β , ou le composé comprend un mélange des deux configurations.

Lorsque R_1 est autre qu'un atome d'hydrogène, les composés sont des composés conjugués.

De préférence, dans le composé de formule (I), R et R_1 sont chacun un atome d'hydrogène. Un composé particulièrement préféré est la déhydroépiandrostérone, dans laquelle R et R_1 sont chacun un hydrogène et la double liaison est présente.

Dans un autre mode de réalisation de l'invention, le composé est la 16α -bromoépiandrostérone, dans laquelle R est Br, R_1 est H et la double liaison est présente. Dans encore un autre mode de réalisation de l'invention, le composé est l'étiocolanolone, dans laquelle R et R_1 sont chacun un atome d'hydrogène et la double liaison est absente.

D'autres composés préférés sont le sulfate de déhydroépiandrostérone, dans lequel R est H, R_1 est SO_2-OM , M est comme précédemment défini et la double liaison est présente, et la 5β -androstane- 3β -ol-17-one.

Sinon, le composé est choisi parmi les sulfatides, phosphatides ou glucuronide de déhydroépiandrostérone, où R est H et R_1 est un groupe sulfatide, phosphatide ou glucuronide, comme précédemment défini, et la double liaison est présente.

De plus, l'invention fournit une préparation pharmaceutique utile dans la prophylaxie et le traite-

35

ment d'une infection rétrovirale, ou d'une complication ou d'une conséquence de celle-ci, comprenant une quantité prophylactique ou thérapeutique efficace d'au moins un composé de formule (I) comme principe actif.

5 La composition pharmaceutique selon l'invention peut être administrée par voie locale ou générale. On entend par administration générale un mode ou une voie quelconque d'administration qui assure l'apparition de teneurs efficaces en principe actif dans le sang ou en
10 un site éloigné du site d'administration dudit principe actif.

 La composition pharmaceutique pour l'administration par voie générale selon l'invention peut être présentée pour l'administration entérale, parentérale ou
15 locale. En fait, ces trois types de présentation peuvent être utilisés simultanément pour assurer l'administration par voie générale du principe actif.

 Des présentations appropriées à l'administration orale comprennent les capsules de gélatine dures ou
20 molles, les dragées, les pilules, les comprimés, y compris les comprimés enrobés, les élixirs, les suspensions, les sirops ou les inhalations et les formes à libération contrôlée correspondantes.

 Les formes solides d'administration, en plus de
25 celles présentées pour l'administration orale, comprennent les suppositoires.

 Le composé de formule (I) peut également être administré sous forme d'un implant.

 Des présentations appropriées à l'administration
30 locale comprennent les crèmes, les gels, les gelées, les mucilages, les pâtes et les pommades. Les composés peuvent également être présentés pour l'administration transdermique, par exemple sous forme de timbres, afin d'assurer une administration générale.

35 Des solutions injectables appropriées comprennent

nent les solutions injectables par voie intraveineuse, sous-cutanée et intramusculaire.

Le composé de formule (I) peut également être administré sous forme d'une solution pour perfusion ou
5 d'une inhalation ou pulvérisation nasales.

Une composition pharmaceutique selon l'invention est administrée sous forme de doses unitaires comprenant de 1 à 1 000 mg de principe actif. De préférence, chaque dose unitaire comprend de 50 à 500 mg de principe actif.

10 Selon un mode de réalisation de l'invention, le composé de formule (I) est administré à raison de 1 à 10 doses unitaires par jour. L'administration du composé de formule (I) selon l'invention est poursuivie pendant une période d'au moins cinq jours et dans certains cas
15 peut être administrée pendant la vie entière du sujet.

L'invention concerne également l'utilisation d'un composé de formule (I) dans la fabrication d'un médicament pour l'emploi dans la prophylaxie ou le traitement d'une infection rétrovirale ou d'une complication
20 ou conséquence de celle-ci.

L'invention concerne également un procédé de traitement d'une infection rétrovirale chez un patient humain ou non-humain, comprenant l'administration à ce patient d'une quantité thérapeutique efficace d'une
25 composition pharmaceutique contenant un composé de formule (I).

L'invention concerne également un procédé de prophylaxie d'une infection rétrovirale chez un patient humain ou non-humain, comprenant l'administration à ce
30 patient d'une quantité prophylactique efficace d'une composition pharmaceutique contenant un composé de formule (I).

Les composés répondant à la formule (I) présentés et définis ci-dessus sont particulièrement utiles
35 pour la prophylaxie et le traitement d'une infection

provoquée par un HIV ou d'une complication ou conséquence de celle-ci.

5 Selon un autre aspect, l'invention concerne un procédé pour la prophylaxie et le traitement du SIDA chez un patient, qui comprend l'administration à ce patient d'une quantité prophylactique ou thérapeutique efficace d'un composé de formule (I) ou d'une composition pharmaceutique le contenant.

10 Egalement, selon un autre de ses aspects, l'invention concerne un procédé pour la prophylaxie et le traitement du para-SIDA (ARC) chez un patient, qui comprend l'administration à ce patient d'une quantité prophylactique ou thérapeutique efficace d'un composé de formule (I) ou d'une composition pharmaceutique le
15 contenant.

Les composés de formule (I) peuvent également être utilisés, simultanément ou en association avec un renforçateur ou immunomodulateur du système immunitaire, comme agent dans la prophylaxie et le traitement d'une
20 infection rétrovirale ou d'une complication ou conséquence de celle-ci. De la sorte, le renforçateur ou immunomodulateur peut être utilisé pour accroître la production des cellules T par la moëlle osseuse.

L'immunomodulateur peut être administré avant
25 ledit composé de formule (I) et en des quantités suffisantes pour stabiliser ou accroître préalablement la production des cellules T. En particulier, on administre l'immunomodulateur jusqu'à ce que le taux de production des cellules T4 se stabilise ou commence à augmenter.

30 Le composé de formule (I) et l'immunomodulateur peuvent être associés dans une forme unitaire d'administration ou être dans des formes d'administration distinctes.

35 Les renforçateurs ou immunomodulateurs appropriés du système immunitaire utiles selon l'invention

sont choisis parmi l'ABPP (Bropirimine) ; l'Ampligen (ARN à un défaut d'appariement) mis au point par DuPont/HEM Research ; l'anticorps anti- α -interféron humain fabriqué par Advance Biotherapy and Concepts ; un
5 anticorps anti-SIDA (Nisshon Food) ; l'AS-101 (immuno-stimulant à base de métal lourd) ; l'acide ascorbique et ses dérivés ; le β -interféron ; le Carrosyn (polymanno-acétate) ; le Ciamexon fabriqué par Boehringer Mannheim ; le Cyclosporin ; la cimétidine ; le CL246,
10 738 fabriqué par American Cyanamid ; le facteur de stimulation des colonies (CM-CSF) fabriqué par Sandoz and Genetics Institute ; le dinitrochlorobenzène (DNCB) ; l' α -interféron ; le γ -interféron ; un glucane ; l'Hyperimmue (γ -globuline) fabriqué par Bayer ;
15 l'IMREG-1 (dialysat leucocytaire) et l'IMREG-2 fabriqués par IMREG ; l'Immuthiol (diéthylthiocarbamate de sodium) fabriqué par l'Institut Mérieux ; l'Interleukin-1 et l'Interleukin-2 fabriqués par Cetus Corporation, Hoffmann-La Roche et Immunex ; l'isoprinosine (inosine
20 pranobex) ; le Krestin fabriqué par Sankyo ; le LC-9018 mis au point par Yakult ; le Lentinan fabriqué par Ajinomoto/Yamanouchi ; le LF-1695 fabriqué par Fournier, La MET-ENK (méthionine-enképhaline) fabriquée par TNI Pharmaceutical et Sygma Chemicals ; le Minophagen C ; le
25 MTP-PE (muramyltripeptide) fabriqué par Ciba-Geigy ; le Trexan (Naltrexone) fabriqué par DuPont ; le Neutropin ; l'immunomodulateur de l'ARN mis au point par Nippon Shingaku ; le shosaikoto et le ginseng ; le facteur humoral thymique, le TP-5 (Thymopentin) fabriqué par
30 Ortho Pharmaceuticals ; la fraction 5 et la fraction 1 de la thymosine ; la thymostimuline ; le TNF (facteur de nécrose tumorale) fabriqué par Genentech et les préparations de vitamines B.

La majorité des immunomodulateurs mentionnés
35 ci-dessus sont administrés par voie orale. Le dinitro-

chlorobenzène est normalement appliqué localement par badigeonnage de la peau du patient.

5 L'invention concerne donc également une composition pharmaceutique comprenant un composé de formule (I) avec une quantité efficace d'un renforçateur ou immunomodulateur du système immunitaire.

10 L'invention concerne également un composé de formule (I) pour l'utilisation concomitante ou en association avec un agent antiviral dans la prophylaxie et le traitement d'une infection rétrovirale ou d'une complication ou d'une conséquence de celle-ci.

15 Le composé de formule (I) et l'agent antiviral peuvent être combinés en une forme d'administration unique ou être dans des formes d'administration distinctes.

20 Les agents antiviraux appropriés comprennent l'AL-721 (mélange de lipides) fabriqué par Ethigen Corporation and Matrix Research Laboratories ; l'ester méthylique de l'amphotéricine B ; l'Ampligen (ARN à défaut d'appariement) mis au point par DuPont/HEM Research ; un anticorps anti-SIDA (Nisshon Food) ; l'AS-101 (immunostimulant à base de métal lourd) ; l'AZT (azidothymidine/Retrovir/Zidovudine) fabriquée par Burroughs Wellcome ; Le Betaseron (β -interféron) fabriqué par Triton Biosciences (Shell Oil) ; l'hydroxy-toluène butylé ; Le Carrosyn (polymannoacétate) ; la Castanospermine ; Le Contracan (dérivé d'acide stéarique) ; la Crème Pharmatex (contient du chlorure de benzalkonium) fabriquée par Pharmelac ; Le CS-87 (dérivé non substitué sur la position 5 de la Zidovudine) ; Le Cytovene (ganciclovir) fabriqué par Syntex Corporation ; la DDC (didésoxycytidine) fabriquée par Hoffmann-La Roche et d'autres analogues nucléosidiques ; Le sulfate de dextran ; la D-pénicillamine (3-mercapto-D-valine) 35 fabriquée par Carter-Wallis et Degussa Pharmaceutical ; Le Foscarnet (phosphonoformiate trisodique) fabriqué par

Astra AB ; l'acide fusidique fabriqué par Leo Lovens ;
la glycyrrhizine (un constituant de la racine de
réglisse) ; l'HPA-23 (ammonium-21-tungsto-9-antimoniate)
fabriqué par Rhône-Poulenc Santé ; l'agent antiviral à
5 virus immun humain mis au point par Porton Products
International ; l'Ornidyl (éflornithine) fabriqué par
Merrell Dow ; Le Nonoxinol ; L'iséthionate de pentami-
dine (PENTAM 300) fabriqué par Lypho Med ; Le Peptide T
(séquence octapeptidique) fabriqué par Peninsula Labora-
10 tories ; La phénytoïne fabriquée par Park-Davis
(Warner-Lambert Company) ; Le Ribavirin ; Le Rifabutin
(ansamycine) fabriqué par Adria Laboratories ; Le rST4
(T4 soluble recombinant) fabriqué par Biogen, Genentech
et Smith Kline & French , Le Trimetrexate fabriqué par
15 Warner-Lambert Company ; Le SK-818 (agent antiviral
dérivé du germanium) fabriqué par Sanwa Kagaku ; La
suramine et ses analogues fabriqués par Miles
Pharmaceuticals ; L'UA001 fabriqué par Ueno Fine Chemi-
cals Industry ; Le Wellferon (α -interféron) fabriqué par
20 Burroughs Wellcome ; Le Zovirex (acyclovir) fabriqué par
Burroughs Wellcome.

On notera que les agents antiviraux précités
comprennent certains des agents précédemment mentionnés
pour l'utilisation comme immunomodulateur avec un
25 composé de formule (I) selon l'invention. On sait par
exemple que l'isoprinosine agit comme un immunomoda-
teur et également possède des propriétés antivirales. Le
terme "agent antiviral" tel qu'on l'emploie ici comprend
les agents qui gênent la pénétration des rétrovirus dans
30 une cellule.

L'invention concerne également un composé de
formule (I) pour l'utilisation concomitante ou en asso-
ciation avec un médicament utile dans la prophylaxie et
le traitement des infections opportunistes associées au
35 SIDA.

Comme indiqué ci-après, les composés de formule (I) sont particulièrement appropriés à l'utilisation comme inhibiteur des rétrovirus, en particulier de l'HIV dans les macrophages.

5 Dans les dessins annexés :

La figure 1 est une représentation schématique du pourcentage d'effet cytopathogène en fonction de la concentration du médicament dans la lignée de cellules tumorales VB pour deux composés appelés A et B utilisés selon l'invention ;

10 La figure 2 est une représentation schématique du pourcentage d'expression de p24 en fonction de la concentration du médicament dans des lymphocytes activés du sang périphérique pour deux composés appelés A et B utilisés selon l'invention ;

15 La figure 3 est une représentation schématique du pourcentage d'expression de p24 en fonction de la concentration du médicament dans des macrophages humains pour deux composés appelés A et B utilisés selon l'invention ;

20 La figure 4 est une représentation schématique du pourcentage d'expression de p24 en fonction de la concentration du médicament dans des macrophages infectés par HIV pour deux composés appelés A et B utilisés selon l'invention ; et

25 La figure 5 est une représentation schématique du pourcentage d'expression de p24 en fonction de la concentration du médicament pour des macrophages humains présentant une infection chronique pour deux composés appelés A et B utilisés selon l'invention.

30 L'invention est de plus illustrée par les exemples suivants.

Dans les exemples 1 à 7 suivants, le composé A correspond à la déhydroépiandrosterone et le composé B correspond à la 16 α -bromoépiandrosterone.

Relativement aux exemples 1 à 7, les matières utilisées et les analyses et déterminations effectuées sont comme suit :

1. Source d'HIV : pour analyser les effets anti-
5 viraux dans les exemples 1 à 7, on utilise trois souches secondaires d'HIV : la souche HTLV-IIIB d'HIV, actuellement entretenue en culture tissulaire dans la lignée de cellules H9 ; l'isolat HIV-DV à faibles passages, une souche qui s'est révélée infecter les macrophages
10 humains ; et la souche ARV-2 HIV, isolée pour la première fois par le docteur Jay Levy de San Francisco. Ces trois souches virales ont été cultivées au Laboratoire de Culture Tissulaire de la Division d'Activité du SIDA de l'Hôpital Général de San Francisco, des titres
15 de 10^{-4} à 10^{-6} unité infectieuse/ml étant couramment obtenus.

2. Sources de cellules : la lignée de cellules VB utilisée dans l'exemple 1 est une lignée de cellules
20 de Lymphome T très sensible à l'infection par HIV et qui exprime des taux élevés de molécules de surface cellulaire CD4. Cette lignée cellulaire forme des syncytiums en deux jours après l'infection par toutes les souches d'HIV étudiées à ce jour. La lignée de cellules H9 est constituée de cellules T ALL sensibles à l'infection par
25 pratiquement toutes les souches d'HIV, mais qui cependant ne forment pas de cellules syncytiales. On l'utilise pour l'évaluation quantitative de l'infection en l'absence de formation de syncytium, l'infection étant évaluée quantitativement par des déterminations
30 d'immunofluorescence. La lignée des cellules HXB/H9 (exemple 6) consiste en une population de cellules H9 produisant chroniquement la souche HTLV-IIIB d'HIV et qui est utilisée dans les expériences de détermination des effets antiviraux sur des lignées cellulaires à
35 infection chronique. On prépare les macrophages humains

à partir de cellules mononucléaires du sang périphérique soit provenant d'une banque de sang sous forme d'une couche leucocytaire, soit sous forme d'une préparation obtenue par leucaphérèse. Crowe et coll., supra, ont mis
5 au point un système de détermination qui permet l'évaluation quantitative de l'infection à HIV et l'inhibition de l'infection par analyse immunocytofluorographique. Pour évaluer quantitativement l'infection à HIV des
10 macrophages, on cultive les macrophages dans des récipients de culture en Téflon (marque de fabrique), les macrophages étant entretenus en culture en suspension in vitro jusqu'à six mois. On effectue ensuite une coloration par immunofluorescence de la surface cellulaire et du cytoplasme pour évaluer quantitativement les anti-
15 gènes des macrophages par cytométrie en flux.

3. Cytométrie en flux : on utilise, pour l'analyse des échantillons infectés par HIV, un Ortho Cytofluorgraf II-S (marque de fabrique) ayant une cellule à écoulement munie d'une protection contre les
20 risques biologiques. On détecte les antigènes HIV p24 en utilisant un anti-p24 monoclonal de souris (DuPont) et on identifie les anticorps de souris en utilisant une IgG de chèvre anti-souris conjuguée à de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC).

25 4. Détection de l'antigène HIV p24 soluble : on mesure les antigènes p24 solubles avec un système de détection de l'antigène HIV Abbott.

5. Inhibition de l'infection aiguë : on utilise plusieurs déterminations pour évaluer l'inhibition de
30 l'infection aiguë : elles comprennent :

a) l'inhibition de la formation d'une cellule géante multinucléée dans les cellules VB à infection aiguë infectées à raison d'un virus par cellule et, deux jours après l'infection en présence ou non de diverses
35 concentrations de médicaments, détermination de la

formation des cellules géantes multinucléées. (On élimine le virus libre par lavage après un prétraitement d'incubation d'une heure à la température ambiante). L'anticorps monoclonal anti-Leu3a inhibe complètement la formation des cellules syncytiales et on l'utilise comme témoin positif de l'inhibition de l'infection. On isole également les surnageants et on détermine le taux d'antigène HIV p24. On mesure le virus infectieux dans les cultures traitées à l'aide d'une détermination syncytiale, comme décrit ci-dessus.

b) Bien que la lignée de cellules de lymphome T VB se comporte de façon semblable aux lymphocytes T CD4-positifs du sang périphérique en ce qui concerne les effets cytopathogènes provoqués par l'HIV, les expériences décrites ci-dessus ont été effectuées sur des lymphocytes activés par la phytohémagglutinine (PHA) pour déterminer si les lymphocytes étaient plus ou moins sensibles aux composés A et B que la lignée de cellules VB. Dans ce système de détermination, au moment où les cellules géantes multinucléées apparaissent dans les cultures de lymphocytes infectés, on analyse les surnageants pour déterminer la présence d'antigènes HIV p24 et on les titre sur des cellules indicatrices de lymphome VB pour déterminer le titre du virus infectieux présent en chaque point.

c) Pour déterminer si les composés A et B sont efficaces pour inhiber l'infection aiguë des macrophages, on expose des macrophages de culture en Téflon à raison de un virus par cellule à l'HIV-DV en présence ou non de diverses concentrations du médicament (exemples 3 à 5). Normalement, l'expression d'HIV atteint un maximum dans les macrophages humains environ dix jours après l'infection initiale. Donc, après une heure d'infection à la température ambiante suivie d'un lavage et d'une remise en suspension des macrophages à diverses concen-

trations de médicament, on colore les macrophages pour
rechercher la présence de l'antigène p24 au dixième
jour. On analyse les surnageants de culture de ces
macrophages pour rechercher la présence de p24 soluble
5 et du virus infectieux, comme décrit ci-dessus.

6. Analyse des cellules à infection chronique :
pour déterminer si les composés A et B sont efficaces
pour inhiber l'expression d'HIV dans les macrophages et
les cellules T à infection chronique, on effectue les
10 expériences suivantes. On soumet la lignée de cellules
T4 à infection chronique HXB/H9 à l'action de diverses
concentrations du médicament pendant quatre jours in
vitro. Au quatrième jour, on analyse les cellules HXB
pour rechercher la présence de p24 à l'intérieur du
15 cytoplasme et on analyse les surnageants pour rechercher
la présence du virus infectieux comme décrit ci-dessus.
On effectue ces mêmes expériences sur des macrophages
infectés in vitro et qui se sont révélés présenter une
infection chronique selon l'analyse cytofluorographique.

20 7. Analyse de la toxicité non spécifique pour
les cellules cibles avec les composés A et B. On expose
des lignées de cellules VB, H9 et HXB à différentes
concentrations des composés A et B, de même que des
macrophages humains normaux, pendant le temps où le
25 médicament est au contact de chaque lignée cellulaire,
comme décrit dans les déterminations ci-dessus. On
dénombre les cellules et on détermine le nombre des
cellules vivantes relativement aux cellules mortes par
l'exclusion du bleu Trypan. Ces analyses sont nécessai-
30 res pour déterminer un index thérapeutique entre les
effets toxiques non spécifiques sur les cellules décri-
tes par rapport aux effets antiviraux potentiels effica-
ces in vitro (exemple 6).

Exemple 1

35 Inhibition des effets cytopathogènes liés à HIV dans la

Lignée de cellules tumorales VB

On étudie les composés A et B pour déterminer l'inhibition de l'effet cytopathogène relatif aux cellules de lymphome T à diverses concentrations médicamenteuses après infection aiguë avec HIV pendant 48 heures. La figure 1 indique le pourcentage d'effet cytopathogène observé dans des cultures exposées à diverses concentrations des composés A et B. On voit que le composé B est plus actif pour inhiber la formation de cellules syncytiales multinucléées provoquée par HIV que le composé A. Les valeurs de l'effet cytopathogène illustrées par la figure 1 sont la moyenne de deux expériences. Deux expériences ultérieures utilisant les composés A et B après dilution dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) ont révélé un effet moins net. Il est possible que la diminution de l'effet notée dans les expériences ultérieures soit secondaire à des problèmes de stabilité du médicament. A la concentration molaire de 10^{-4} , le composé B semble extrêmement toxique pour la lignée des cellules de lymphome T VB, une caractéristique que l'on n'observe pas avec les lymphocytes normaux du sang périphérique ou les macrophages exposés à une concentration molaire de 10^{-4} du composé B comme indiqué ci-après dans les exemples 2 et 3.

25 Exemple 2Inhibition des effets cytopathogènes liés à HIV dans des lymphocytes activés du sang périphérique

Pour déterminer si les effets des composés A et B sur l'infection aiguë des cellules de lymphomes T VB qui apparaissent dans les lymphocytes du sang périphérique, on ajoute de l'HIV à raison d'un virus par cellule à des lymphocytes activés pendant 48 heures avec 2 µg/ml de PHA. Après l'infection initiale d'une heure, on lave les lymphocytes activés et on les remet en suspension pour les cultiver pendant une semaine. Des cel-

lules géantes multinucléées commencent à se former environ 7 jours après l'infection initiale et on recueille alors les surnageants des cultures pour y déterminer la présence des antigènes HIV p24. L'accumulation des anti-
5 gènes HIV p24 dans le surnageant illustre la production d'HIV par les cellules infectées. On notera sur la figure 2 que la production de l'antigène p24 est modérément inhibée à la concentration molaire de 10^{-4} des deux composés A et B et est légèrement moins inhibée à la
10 concentration molaire de 10^{-5} . Aucune toxicité notable n'est observée pour l'une ou l'autre des concentrations des médicaments avec les cultures de lymphocytes du sang périphérique.

Exemple 3

15 Inhibition de la production d'HIV dans les macrophages humains normaux

Pour déterminer si les composés A et B sont susceptibles d'inhiber activement l'infection des macrophages humains normaux, on étudie, avec un spectre de
20 concentrations des médicaments, l'inhibition de l'infection aiguë et l'inhibition de l'expression d'HIV dans des macrophages à infection chronique. La figure 3 indique la présence d'antigènes HIV p24 dans le surnageant des macrophages qui ont été infectés puis lavés et dont
25 on a laissé l'infection se poursuivre pendant une semaine. Après l'infection aiguë (une heure), on incube les cellules dans diverses concentrations des composés A et B et, 7 jours après l'infection initiale, on recueille les surnageants pour déterminer quantitative-
30 ment l'antigène p24. Dans une gamme très étendue de concentrations des médicaments (concentration molaire de 10^{-4} à 10^{-8}), on observe une diminution notable d'environ 50 % de la production des antigènes HIV p24. Des macrophages traités avec du DMSO (pour la concentra-
35 tion molaire du médicament de 10^{-4} , la concentration

finale du DMSO est de 0,05 %) aux concentrations requises pour dissoudre les composés A et B, on n'observe pas d'effets, donc ces effets sont apparemment secondaires aux actions des composés A et B.

5 Exemple 4

Inhibition de l'antigène HIV p24 dans des macrophages infectés par HIV

On analyse les cellules de l'expérience décrite dans l'exemple 3 et on analyse le cytoplasme pour déterminer la présence d'HIV p24 afin de déterminer directement si la production d'antigène HIV p24 est inhibée dans ces cellules infectées. La figure 4 illustre globalement trois expériences séparées utilisant des macrophages infectés de trois donneurs différents. On voit que la production cytoplasmique d'antigène HIV p24 est notablement inhibée à la concentration molaire de 10^{-4} par les deux médicaments et que le composé A est même actif à des dilutions molaires de 10^{-6} pour inhiber la production d'antigène HIV p24 dans les macrophages infectés. Donc, la diminution d'HIV p24 dans les surnageants infectés semble être associée à une diminution de la production d'antigène HIV p24 dans les macrophages infectés.

Exemple 5 (comparatif)

On répète les mêmes expériences que celles décrites dans l'exemple 4 avec l'AZT à des concentrations de 0,05 µg/ml à 50 µg/ml sans différence par rapport aux valeurs témoins. L'inhibition de l'antigène HIV p24 semble donc être spécifique, au moins dans cet essai, des composés A et B et ne pas constituer une caractéristique de l'AZT, même à des doses très élevées.

Exemple 6

Essai de l'activité antivirale sur la lignée de cellules HXB à infection chronique par HIV

35 On soumet, à une détermination des effets anti-

viraux des composés A et B, la lignée de cellules HXB à infection chronique par HIV et, en dehors de la mort des cellules provoquée par le composé B aux concentrations molaires de 10^{-4} , on n'observe pas d'inhibition spécifique de la production d'HIV ni des effets cytopathogènes dans la lignée de cellules de lymphomes à infection chronique.

Exemple 7

Essai de l'activité antivirale sur des macrophages à infection chronique à HIV

Comme les macrophages peuvent être infectés et produire de l'HIV pendant des périodes prolongées sans perte notable de la viabilité, on étudie des cellules à infection chronique, plus particulièrement une population présentant une positivité de l'antigène HIV entre 30 et 50 %, pour étudier l'inhibition de la production cytoplasmique de l'antigène HIV p24. La figure 5 indique les résultats de trois expériences séparées. On notera une certaine inhibition de la production de l'antigène HIV p24 pour les deux concentrations molaires de 10^{-4} et 10^{-5} des composés A et B, qui est cependant un peu inférieure à l'inhibition de l'infection aiguë des macrophages (figure 4). Ces valeurs suggèrent que la présence des composés A et B peut inhiber quelque peu la production d'antigène HIV p24 par des macrophages présentant une infection stable et une production chronique d'antigène.

Etudes de la toxicité

Dans toutes les expériences décrites dans les exemples 1 à 7, la seule toxicité appréciable est la toxicité du composé B à la concentration molaire de 10^{-4} relativement aux lignées de cellules tumorales. Aucune toxicité appréciable n'a été observée pour les macrophages normaux exposés à des concentrations molaires de 10^{-4} à 10^{-8} des composés A et B, pas plus qu'une toxi-

cité appreciable pour les lymphocytes du sang périphérique exposés aux mêmes concentrations de médicaments.

Conclusions

5 Les valeurs présentées dans les exemples 1 à 7 ci-dessus sont en accord avec les interprétations suivantes.

10 1. Les composés A et B semblent exercer un effet antiviral modéré dans les études d'infections aiguës portant sur les cellules de lymphome T et sur les lymphocytes. Par comparaison avec l'AZT, les composés A et B sont inférieurs par leurs effets antiviraux, car l'AZT assure une protection pratiquement complète des lymphocytes et des cellules de lymphome T contre l'infection aiguë à HIV (comme mesuré à une semaine) dans la gamme
15 de 1 µg d'AZT/mL de milieu de culture.

20 2. Les effets observés des composés A et B sur l'infection à HIV des macrophages sont plus significatifs que l'effet antiviral noté sur la lignée de cellules de lymphome T et les lymphocytes du sang périphérique. Les résultats obtenus dans les exemples 3 à 7 sont certainement significatifs au taux d'inhibition in vitro de l'infection à HIV des macrophages et d'inhibition de la production d'HIV des macrophages. Ces résultats sont reproductibles et on été répétés avec six donneurs séparés de monocytes/macrophages. L'inhibition de l'infection à HIV des macrophages est à ce jour une caractéristique relativement exceptionnelle d'un agent antiviral. Le fait que les composés A et B inhibent l'infection à HIV et l'expression d'HIV dans les macrophages suggère
30 qu'ils se révèlent utiles pour le traitement des sujets infectés par le SIDA.

Exemple 8

Utilisation du sulfate de déhydroépiandrostérone dans le traitement du SIDA

35 Le sulfate de déhydroépiandrostérone a été

divisé en doses unitaires de 300 mg et 100 mg et chaque dose unitaire a été introduite dans une capsule molle de gélatine.

5 A) On a traité comme suit un patient séropositif pour l'HIV et pour lequel le diagnostic de SIDA avait été porté. Pendant douze jours consécutifs, le patient a été traité par l'administration orale du composé encapsulé. Les onze premiers jours, une dose unitaire de 10 300 mg a été administrée une fois par jour. Le douzième jour, le patient a reçu une dose unitaire de 100 mg du composé.

B) Des essais ont été effectués pendant une période de 26 jours chez deux patients séropositifs pour l'HIV et pour lesquels le diagnostic de SIDA avait été 15 porté selon le protocole de traitement en douze jours exposé au paragraphe précédent, si ce n'est que le traitement n'a commencé qu'au cinquième jour.

Des échantillons de sang ont été prélevés aux patients à cinq occasions pendant la période de vingt- 20 six jours. Les premières analyses ont été effectuées chez chaque patient le premier jour et elles comprenaient la numération des cellules T1, T4 et T8 et la détermination de la vitesse de sédimentation. Le traitement a commencé le jour 5 et s'est poursuivi jusqu'au 25 jour 17. Du jour 5 au jour 16, chaque patient, comme précédemment exposé, a reçu une seule dose unitaire de 300 mg de sulfate de déhydroépiandrostérone et, le jour 17, 100 mg ont été administrés. Les analyses précitées ont été répétées chez chaque patient les jours 9, 17, 24 30 et 26. La numération des cellules T de chacun des patients X et Y s'est stabilisée par suite du traitement.

De plus, alors que le sulfate de déhydroépiandrostérone était administré par voie orale aux 35 patients, les lésions au voisinage de leur bouche et

d'autres parties de leur corps ont été traitées localement avec une crème contenant du sulfate de déhydroépiandrostérone. On a observé la disparition des lésions.

Exemple 9

5 Utilisation de la déhydroépiandrostérone dans le traitement du SIDA

Douze patients, tous connus comme séropositifs pour l'HIV et chez lesquels le diagnostic de SIDA avait été porté, ont été traités par la DHEA pendant une
10 période de six mois. La DHEA a été administrée sous forme de capsules dures de gélatine contenant 100 mg de DHEA à raison de 100 mg à 600 mg par jour. La grande majorité des patients ont reçu 500 mg par jour en doses divisées. Les patients étaient tous des hommes homo-
15 sexuels ou bisexuels ayant un âge moyen de 34,5 ans et un poids moyen de 69,6 kg.

Les manifestations cliniques antérieures et présentes de l'HIV comprenaient : une diarrhée inexplicée, un sarcome de Kaposi, un zona, une candidiase orale, une
20 lymphadénopathie, une leucoplasie villeuse orale, une perte de poids involontaire, des mycoses cutanées et des infections cutanées à staphylocoques.

Tous les patients étaient en un stade avancé du SIDA au début de l'essai et normalement une aggravation
25 de leur état ou même leur décès était prévu dans la période d'essai de six mois. Cependant, aucune détérioration sérieuse de l'état n'a été observée chez aucun des patients, quatre patients présentant en fait un gain de poids. Le patient 7 a pris 8 kg en cinq mois.

30 Les composés de formule (I), et notamment la déhydroépiandrostérone et ses dérivés précités, sont particulièrement avantageux dans le traitement des patients infectés par l'HIV. Les avantages particuliers de ces composés comprennent l'absence virtuelle de toxicité, la facilité d'administration et l'action excep-
35

tionnelle précitée sur le système des macrophages.

La déhydroépiandrostérone s'est révélée totalement dépourvue d'effets physiques, biochimiques ou hématologiques chez douze sujets ayant reçu des doses journalières atteignant 600 mg pendant six mois.

Par suite de l'action exceptionnelle de la déhydroépiandrostérone sur le système des macrophages, il est possible que son utilisation puisse accroître la survie moyenne des sujets infectés par l'HIV, dont la valeur calculée actuelle est de 8,3 ans à partir du moment de l'infection.

De plus, les composés de formule (I) peuvent être utilisés en combinaison synergique avec d'autres agents antiviraux, comme indiqué ci-dessus.

Sans pour cela se lier à une quelconque explication théorique de l'invention, il semble que, du fait que la déhydroépiandrostérone inhibe la glucose-6-phosphate déshydrogénase, entraînant une baisse du capital cellulaire de NADHP, les petites modifications de la biosynthèse des protéines dans la cellule qui en résultent puissent, en raison de la régulation complexe de l'expression du gène de l'HIV, entraîner des modifications notables de la production des protéines virales. Un exemple d'une telle protéine de régulation virale est l'art/trs qui est présente en très petite quantité dans les cellules infectées, mais qui est responsable de la régulation de l'épissage de l'ARN viral et par conséquent de la production de protéines virales.

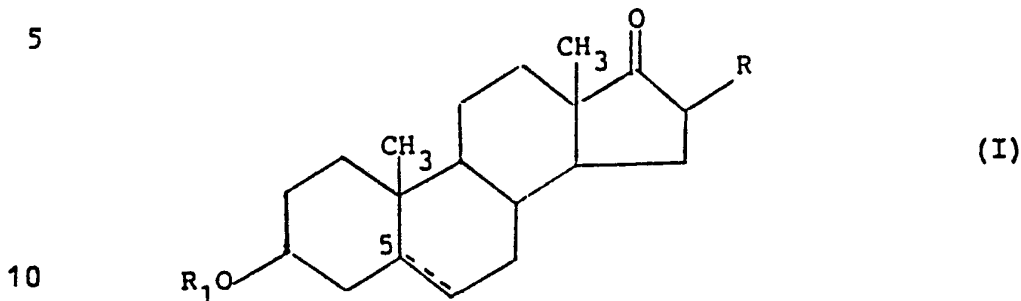
30

35

REVENDEICATIONS

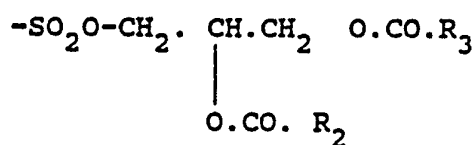
1. Utilisation d'un composé de formule générale

(I) :



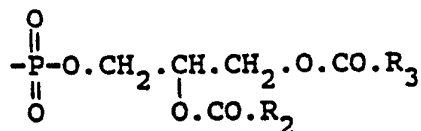
dans laquelle R est un atome d'hydrogène ou de brome et R₁ est un atome d'hydrogène, un groupe SO₂OM dans lequel M est un atome d'hydrogène ou de sodium, un groupe

15 sulfatide



ou un groupe phosphatide

20

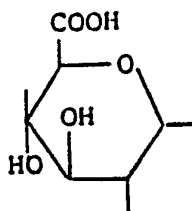


dans lesquels chaque R₂ et R₃, qui sont semblables ou différents, est un radical alkyle à chaîne droite ou

25

ou un groupe glucuronide

30



le trait discontinu représente une double liaison facultative et l'atome d'hydrogène de la position 5 est présent sous la configuration α ou β ou sous forme d'un

35

mélange des deux configurations, pour la fabrication d'un médicament utile dans le traitement d'une infection rétrovirale ou pour arrêter la progression d'une telle infection.

5 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que, dans le composé de formule (I), R et R₁ sont chacun un hydrogène.

 3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que le composé est la déhydroépiandrostérone, le composé dans lequel R et R₁ sont chacun un hydrogène et une double liaison est présente.

10 4. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le composé est la 16 α -bromoépiandrostérone, le composé dans lequel R est un atome de brome, R₁ est un atome d'hydrogène et la double liaison est présente.

15 5. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le composé est le sulfate de déhydroépiandrostérone.

20 6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que le médicament est présenté pour l'administration par voie générale.

 7. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 pour l'utilisation concomitante ou en association avec un immunomodulateur comme agent dans le traitement d'une infection rétrovirale ou pour arrêter la progression d'une telle infection.

 8. Agent selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'immunomodulateur est choisi parmi
30 L'Ampligen, un anticorps anti- α -interféron humain, un anticorps anti-SIDA, l'acide ascorbique et ses dérivés, la Bromopirimine, le Ciamexon, le Cyclosporin, la cimé-
tidine, le facteur de stimulation des colonies, le dinitrochlorobenzène, l' α -interféron, le β -interféron, le
35 γ -interféron, un glucanne, une γ -globuline, l'Interleu-

kin 1, l'Interleukin 2, l'isoprinosine, le Krestin, le Lentinan, la méthionine-enképhaline, le Minophagen C, le muramyltripeptide, la Naltrexone, le Neutropin, le polymannoacétate, un immunomodulateur d'ARN, le shosaikoto
5 et le ginseng, le diéthylthiocarbamate de sodium, le facteur humoral thymique, le Thymopentin, la fraction 5 de thymosine et la thymosine- α 1, la thymostimuline, le facteur de nécrose tumorale et les préparations de vitamine B.

10 9. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 pour l'utilisation concomitante ou en association avec un agent antiviral dans le traitement d'une infection rétrovirale ou pour arrêter la progression d'une telle infection.

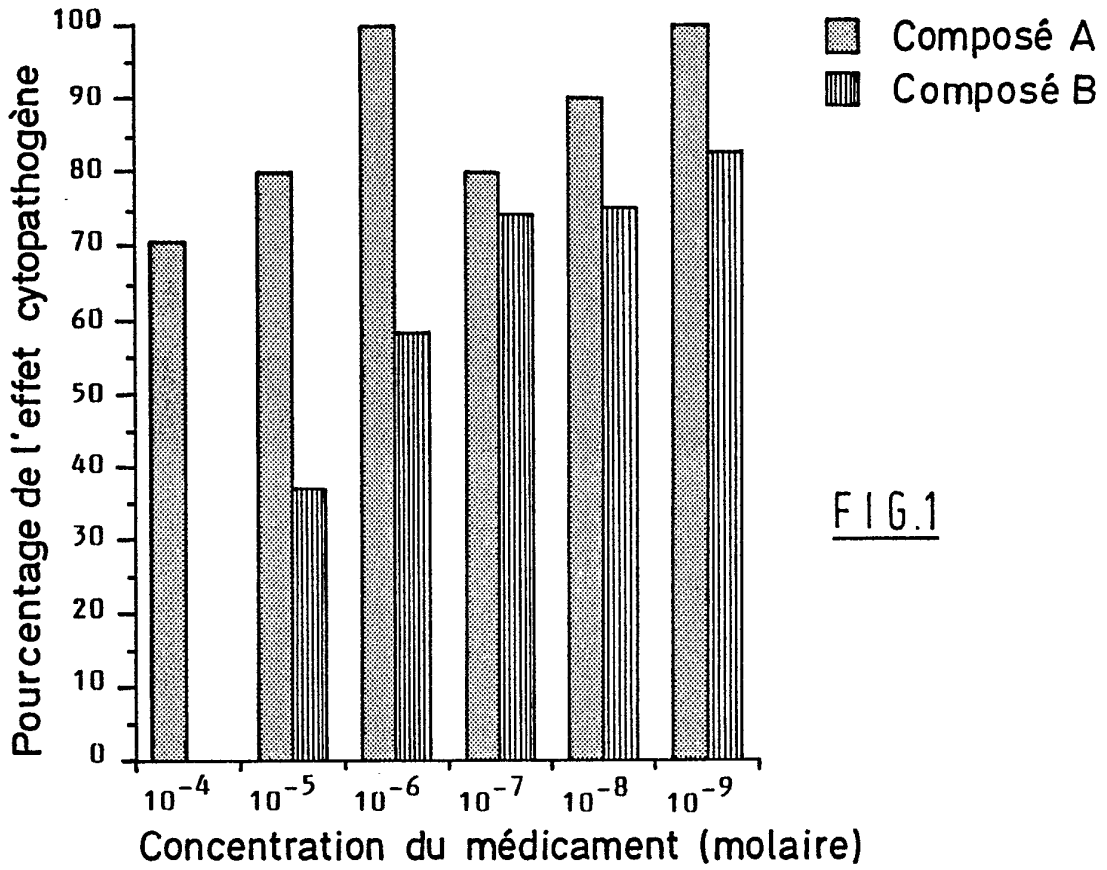
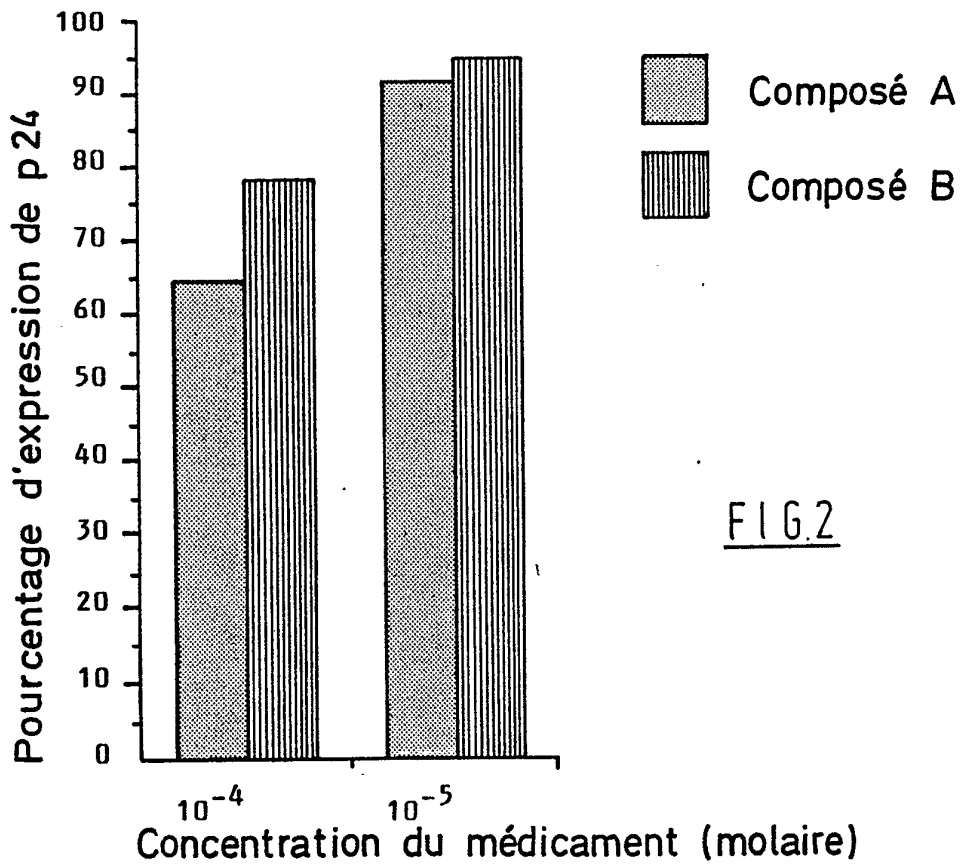
15 10. Agent selon la revendication 9, caractérisé en ce que l'agent antiviral est choisi parmi l'ester méthylique de l'amphotéricine B, l'ammonium-21-tungsto-9-antimoniate, l'Ampligen, un anticorps anti-SIDA, l'ansamycine, l'azidothymidine ou son dérivé non substitué sur la position 5, l'hydroxytoluène butylé, la
20 Castanospermine, le Cytovene, la didésoxyadénosine, la didésoxycytidine, le sulfate de dextran, l'éflornithine, le Foscarnet, l'acide fusidique, la glycyrrhizine, l' α -interféron, le β -interféron, le Nonoxinol, l'isé-
25 thionate de pentamidine, le Peptide T, la phénytoïne, le polymannoacétate, le Ribavirin, le T₄ recombinant soluble, le Trimétrexate, le Suramin et ses analogues.

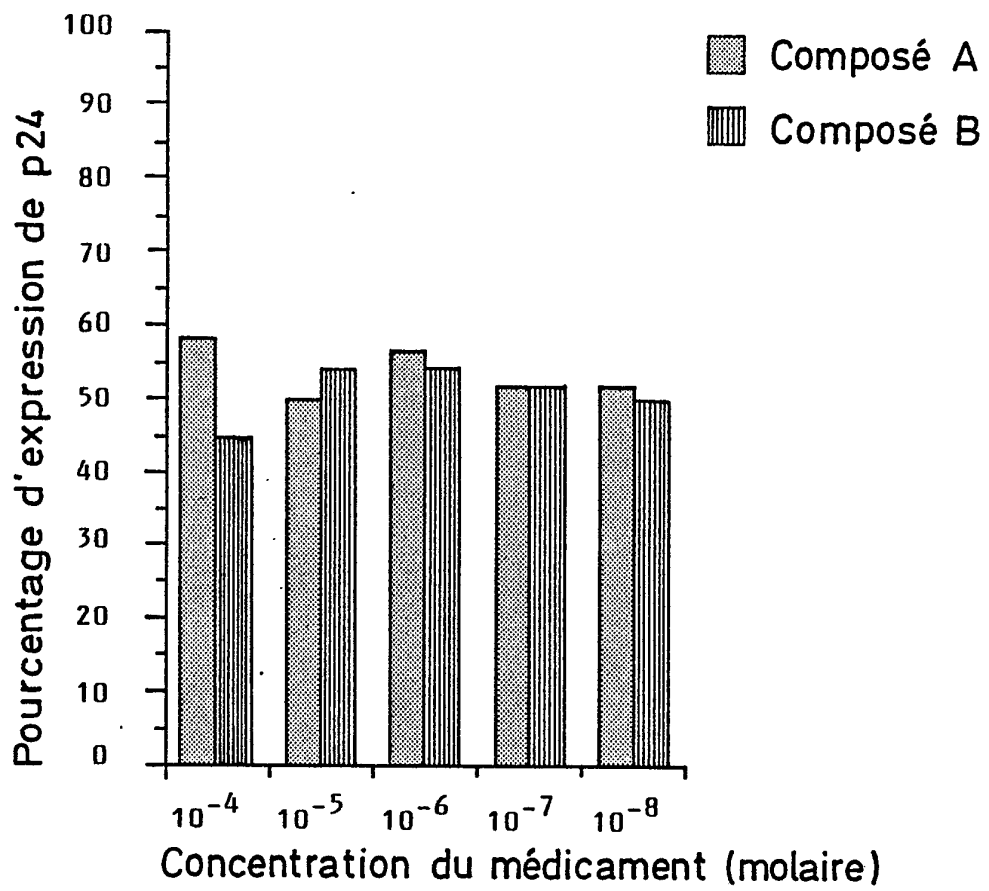
30 11. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 pour la fabrication d'un médicament pour l'emploi dans le traitement des infections à HIV ou pour arrêter la progression de telles infections.

35 12. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 pour la fabrication d'un médicament pour

le traitement du syndrome immunodéficientaire acquis (SIDA) ou pour arrêter la progression de ce syndrome.

5 13. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 pour la fabrication d'un médicament pour l'emploi dans le traitement du syndrome immunodéficientaire acquis para-SIDA (ARC) ou pour arrêter la progression de ce syndrome.

FIG.1FIG.2

FIG.3

- 35 -

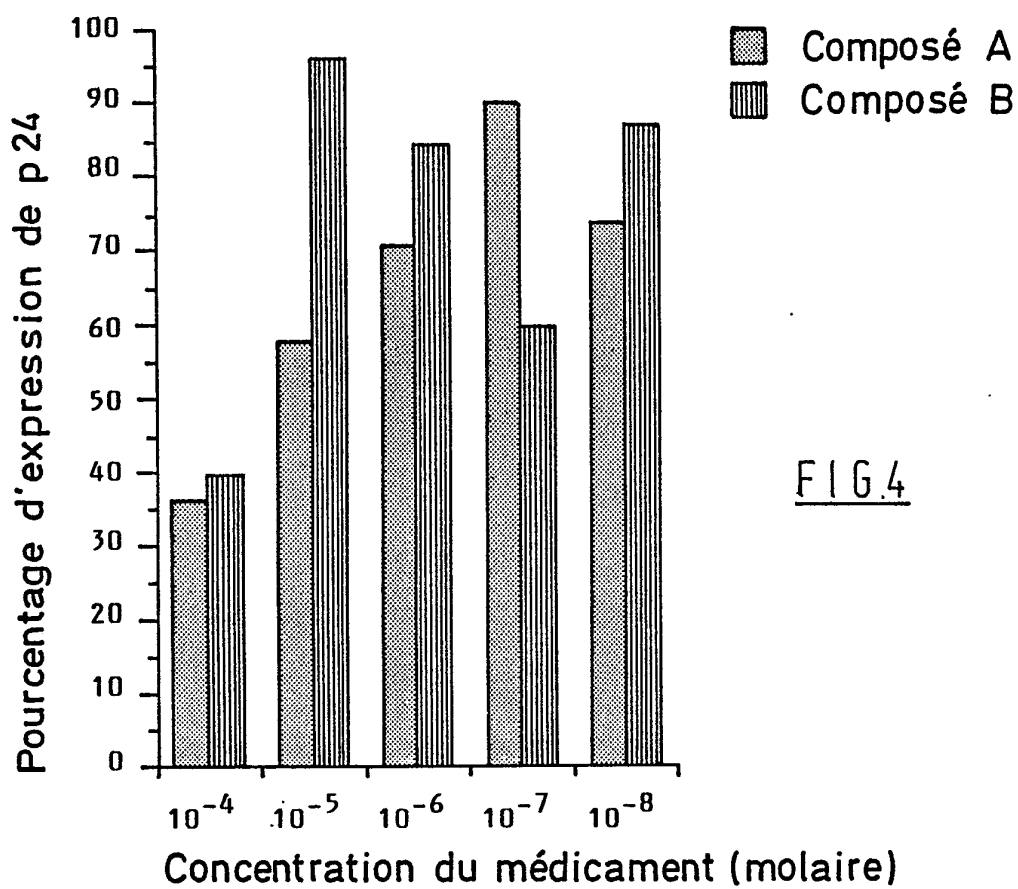


FIG.4

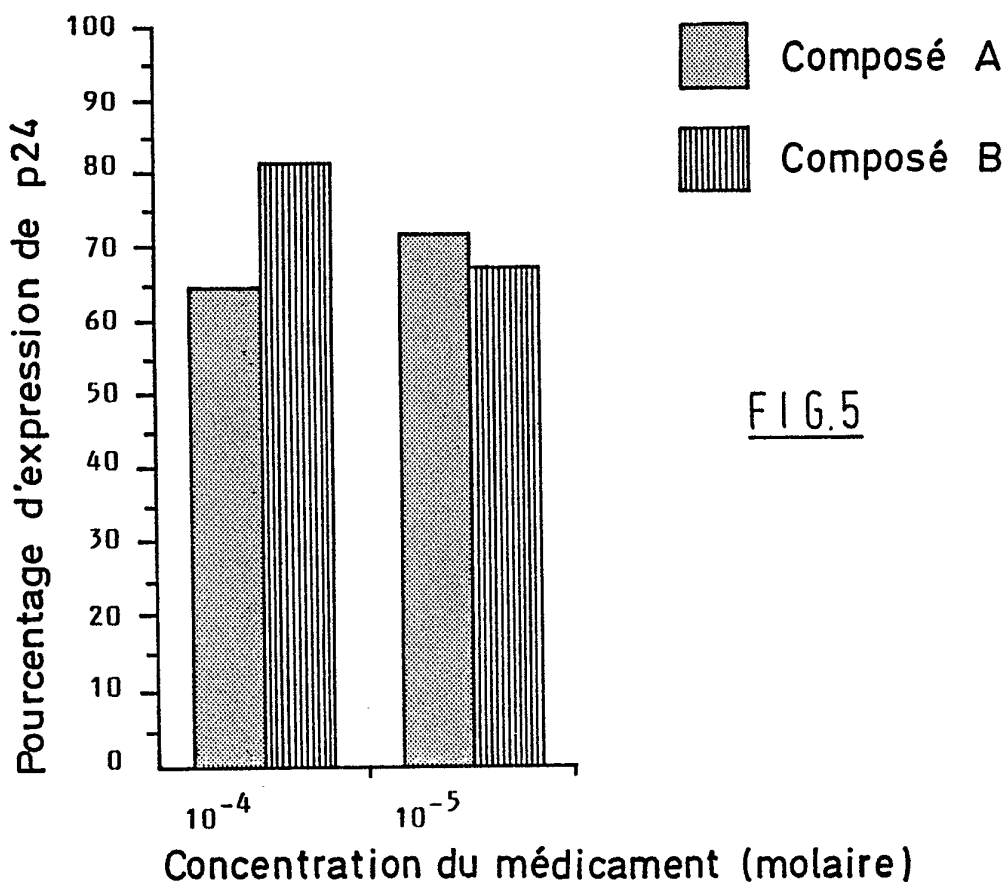


FIG.5



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BE 8800428
BO 929

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)
X,Y	JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, suppl. 9A, 12 janvier - 6 février 1985, page 119, abrégé no. 0294; Alan R. Liss, New York, US; H.G. BEDIGIAN et al.: "The effect of dehydroepiandrosterone on murine myeloid leukemic cells" * Abrégé *	1-13	A 61 K 31/565
P,Y	EP-A-0 222 385 (RESEARCH DEVELOPMENT CORP. OF JAPAN) * Abrégé; pages 2,3; revendications 1,3-5 *	1-13	
X	PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS, PART B, vol. 1, no. 2, 1975, pages 209-216; P. TOLENTINO et al.: "Androgens and antibody formation" * Pages 209,210,212-215 *	1-13	
X	VIROLOGY, vol. 83, no. 2, décembre 1977, pages 462-466, Academic Press, Inc., New York, US; J.W. GAUTSCH et al.: "Steroid hormones increase the growth of MuLV in rat tumor XC cells" * Abrégé; pages 462,464,466 *	1-13	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
D,X	CARCINOGENESIS, vol. 2, no. 7, 1981, pages 683-686, IRL Press, Ltd, Londres, GB; E. HENDERSON et al.: "Dehydroepiandrosterone and 16alpha-bromo-epiandrosterone: inhibitors of Epstein-Barr virus-induced transformation of human lymphocytes" * Abrégé; pages 683,685 *	1-13	A 61 K
		-/-	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
25-03-1992		KRAUTBAUER B.	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arriére-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

EPO FORM 1503 03.82 (P0448)

ABSENCE D'UNITE D'INVENTION

La présente demande ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir

1. Revendications :

2. Revendications :

3. Revendications :

4. Revendications :

Le présent rapport de recherche a été établi de façon complète pour les parties de la demande qui se rapportent à l'invention ou pluralité d'inventions mentionnée dans les revendications:

ETENDUE DE LA RECHERCHE

Compte tenu des documents considérés comme pertinents, le présent rapport de recherche a été établi de façon complète pour les parties de la demande qui se rapportent à l'invention ou pluralité d'inventions mentionnée en premier lieu dans les revendications, à savoir les revendications :

Les éléments figurant dans les

1. Revendications :

2. Revendications :

3. Revendications :

4. Revendications :

n'ont pas été pris en considération que dans le cadre de la recherche relative aux caractéristiques de l'invention ou de la pluralité d'inventions mentionnée en premier lieu dans les revendications



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale
Page 2

BE 8800428
BO 929

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS				
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)	
D,Y	J. CLIN. INVEST., vol. 75, juin 1985, pages 2091-2093, The American Society for Clinical Investigation, Inc., US; J.A. LUCAS et al.: "Prevention of autoantibody formation and prolonged survival in New Zealand black/New Zealand white F1 mice fed dehydroisoandrosterone" * Abrégé; article en entier *	1-13		
D,Y	COMPLEMENT I, 1984, pages 201-206, S. Karger AG, Basel, CH; T. HIDVEGI et al.: "Inhibition of the complement activation by an adrenal androgen, dehydroepiandrosterone" * Abrégé; pages 201,202,204,205 *	1-13		
P,A	NL-A-8 502 571 (AKZO N.V.) * Revendications 1,9 *	1-13		
T	JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY, vol. 26, no. 3, novembre 1988, pages 301-314, Alan R. Liss, Inc., New York, US; R.M. LORIA et al.: "Protection against acute lethal viral infections with the native steroid dehydroepiandrosterone (DHEA)" * Abrégé; pages 308-311 *	1-13		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
T	INT. CONF, AIDS, abrégé de conférence no. M.C.P.55, 4-9 juin 1989; R.F. SCHINAZI et al.: "Effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) in lymphocytes and macrophages infected with HIV-1" * Abrégé *	1-13		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur		
25-03-1992		KRAUTBAUER B.		
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>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</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>				

EPO FORM 1503 01.82 (P0446)

ABSENCE D'UNITE D'INVENTION

La présente demande ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir

1. Revendications :

2. Revendications :

3. Revendications :

4. Revendications :

Le présent rapport de recherche a été établi de façon complète pour les parties de la demande qui se rapportent à l'invention ou pluralité d'inventions mentionnée dans les revendications:

ETENDUE DE LA RECHERCHE

Compte tenu des documents considérés comme pertinents, le présent rapport de recherche a été établi de façon complète pour les parties de la demande qui se rapportent à l'invention ou pluralité d'inventions mentionnée en premier lieu dans les revendications, à savoir les revendications :

Les éléments figurant dans les

1. Revendications :

2. Revendications :

3. Revendications :

4. Revendications :

n'ont pas été pris en considération que dans le cadre de la recherche relative aux caractéristiques de l'invention ou de la pluralité d'inventions mentionnée en premier lieu dans les revendications



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale
Page 3

BE 8800428
BO 929

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)
T	BIOSIS: no. 41080488, 1990, pages 157-178, Walter de Gruyter & Co., Berlin, DE; R.F. SCHINAZI et al.: "Effect of dehydroepiandrosterone in lymphocytes and macrophages infected with human immunodeficiency viruses" * L' article en entier * -----	1-13	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
25-03-1992		KRAUTBAUER B.	
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>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</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

EPO FORM 1503 03.82 (P0448)

ABSENCE D'UNITE D'INVENTION

La présente demande ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir

- 1. Revendications :**
- 2. Revendications :**
- 3. Revendications :**
- 4. Revendications :**

Le présent rapport de recherche a été établi de façon complète pour les parties de la demande qui se rapportent à l'invention ou pluralité d'inventions mentionnée dans les revendications:

ETENDUE DE LA RECHERCHE

Compte tenu des documents considérés comme pertinents, le présent rapport de recherche a été établi de façon complète pour les parties de la demande qui se rapportent à l'invention ou pluralité d'inventions mentionnée en premier lieu dans les revendications, à savoir les revendications :

Les éléments figurant dans les

- 1. Revendications :**
- 2. Revendications :**
- 3. Revendications :**
- 4. Revendications :**

n'ont pas été pris en considération que dans le cadre de la recherche relative aux caractéristiques de l'invention ou de la pluralité d'inventions mentionnée en premier lieu dans les revendications

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BE 8800428
B0 929

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 14/04/92

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A- 0222385	20-05-87	JP-B- 2055406 JP-A- 62201819 US-A- 5026692	27-11-90 05-09-87 25-06-91
NL-A- 8502571	16-04-87	Aucun	