

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 80 18998

(54)

Médicament antiviral renfermant de la (β -D-arabinofurannosyl)-1 thymine.

(51)

Classification internationale (Int. Cl. ³). A 61 K 31/70 // C 07 H 19/06.

(22)

Date de dépôt..... 3 septembre 1980.

(33) (32) (31)

Priorité revendiquée : Japon, 5 septembre 1979, n° 112990/1979.

(41)

Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 10 du 6-3-1981.

(71)

Déposant : Société dite : YAMASA SHOYU KABUSHIKI KAISHA, société par actions de droit japonais, résidant au Japon.

(72)

Invention de : Haruhiko Machida.

(73)

Titulaire : *Idem* (71)

(74)

Mandataire : Cabinet Armengaud jeune, Casanova, Akerman, Lepeudry,
23, bd de Strasbourg, 75010 Paris.

La présente invention concerne, d'une façon générale, des agents antiviraux. Elle a trait plus particulièrement à un nouvel agent antiviral qui contient de la (β -D-arabinofurannosyl)-1 thymine comme substance douée
5 d'une activité thérapeutique et qui est présenté sous une forme pharmaceutique convenant pour l'absorption par le tractus digestif de l'homme ou de l'animal inférieur à traiter.

Parmi les agents antiviraux que l'on connaissait
10 jusqu'à présent on peut citer, comme exemples types, l'iodo-5 désoxy-2' uridine (que l'on désignera ci-dessous par l'abréviation "IDU") et la (β -D-arabinofurannosyl)-9 adénine (désignée ci-dessous par l'abréviation "ara-A"). L'IDU a cependant des effets secondaires, tels que le
15 tératisme, et on ne peut absolument pas dire qu'elle constitue un agent antiviral sûr. De même, l'ara-A inhibe fortement la croissance des cellules animales, notamment celles de l'homme, et il a également été dit à son propos qu'elle donne lieu à du tératisme, ce qui fait que sa
20 toxicité cause beaucoup de crainte lorsqu'on l'utilise comme médicament.

On connaît la grande activité antivirale qu'exerce in vitro la (β -D-arabinofurannosyl)-1 thymine (désignée ici par l'abréviation "ara-T") contre le virus de l'herpes
25 simplex (HSV) et l'herpes virus varicellae (VZV), ainsi que cela est décrit dans Virology, Vol. 65, p.294 à p.296 (1975); Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 12, p.243 à p.254 (1977); et Journal of Virology, Vol. 23, p.679 à p.684 (1977). En ce qui concerne l'activité anti-
30 virale in vivo de l'ara-T la seule indication qui ait été donnée, à la connaissance du présent inventeur, concerne un essai thérapeutique effectué sur des hamsters infectés par le virus de l'avortement des équidés (EAV) : on pourra consulter à ce propos Antimicrobial Agents and Chemotherapy,
35 Vol. 12, p.243 à p. 254 (1977); et Annals, New York Academy of Science, Vol. 284, p.342 à p. 350 (1977).

Les substances actives contre les virus à ADN dont on se sert actuellement pour les traitements ou les essais cliniques sont administrés par des voies autres que la voie orale, par exemple par injection intraveineuse, et il semble qu'aucune de ces substances ne soit efficace par la voie orale. On admet qu'un inhibiteur de la synthèse de l'ADN est moins efficace lorsqu'il est administré par la voie orale que par une autre voie. C'est pourquoi, pour étudier l'activité antivirale in vivo de l'ara-T on a également recours à une voie d'administration non orale, par exemple à l'administration intrapéritonéale, et on n'a jamais signalé son administration par la voie orale.

Ayant effectué différentes recherches dans le but de mettre au point des agents antiviraux très efficaces et malgré cela peu toxiques le présent inventeur a trouvé que l'ara-T fait preuve d'une plus grande activité antivirale et d'une plus faible toxicité lorsqu'elle est administrée par la voie orale que lorsqu'elle est administrée par une voie autre que la voie orale, et ainsi que le rapport de sa dose de tolérance à sa concentration efficace pour le traitement devient beaucoup plus grand. Il a en outre constaté que lorsque l'ara-T est administrée à la souris par la voie orale elle est absorbée par le système digestif et elle est retenue à une concentration très élevée dans le sang pendant un temps déterminé.

Par conséquent, administrer l'ara-T par la voie orale pour que cette substance soit absorbée dans le corps par le tractus digestif constitue une méthode très efficace pour le traitement d'infections causées par des virus à ADN ("désoxyvirus").

La présente invention repose sur ces découvertes. Plus précisément elle a trait à une nouvelle forme de présentation de l'ara-T servant à traiter des infections virales, telles que des infections causées par des virus à ADN, par absorption de l'ara-T par le tractus digestif.

La présente invention a pour objet un agent antiviral renfermant de la (β -D-arabinofurannosyl)-1 thymine

à titre de substance douée d'une activité thérapeutique, sous une forme de présentation pharmaceutique convenant pour l'absorption par le tractus digestif de l'homme ou de l'animal inférieur.

5 La nature, l'intérêt et d'autres caractères de la présente invention sont décrits plus en détail dans la description qui suit, qui commence par un exposé général de l'invention et se termine par des exemples d'essais relatifs au traitement, à la toxicité et au métabolisme.

10 Dans le présent mémoire, l'expression "forme de présentation pharmaceutique pour l'absorption par le tractus digestif" comprend les formulations dosées destinées à être administrées par la voie orale et celles qui sont destinées à être administrées par la voie rectale.

15 Les formulations pour la voie orale sont notamment des comprimés, des capsules, des capsules élastiques molles, des granulés, des granulés à libération lente, des grains fins, des poudres et des sirops. Les véhicules et additifs, tels qu'excipients, diluants, agents d'enrobage, 20 liants, adjuvants de désagréation, lubrifiants, stabilisants, parfums, colorants, agents desséchants, et autres, que l'on peut utiliser dans la préparation de ces formulations, seront choisis et mélangés judicieusement, en accord avec le type des formulations. On a recours aux 25 méthodes de formulation usuelles.

 Pour l'adulte la posologie journalière de l'ara-T dans l'agent administré per os est habituellement comprise entre 500 et 50 000 mg, de préférence entre 1 000 et 10 000 mg. Bien que la dose thérapeutique par unité pharmaceutique 30 varie avec le type de la méthode thérapeutique et du plan d'administration, elle est ordinairement comprise de préférence entre 100 et 500 mg.

 Les formulations destinées à l'administration par la voie rectale sont par exemple les suppositoires. 35 Pour préparer les suppositoires on utilise des bases usuelles et on a recours à des méthodes ordinaires.

Les exemples suivants, qui sont relatifs au traitement, à la toxicité et au métabolisme, illustrent la présente invention.

I. Essais de traitement.

- 5 A chacun des animaux d'un lot expérimental de 10 souris et d'un lot témoin de 20 souris (souris de la souche ICR-JCL, âgées de 4 semaines) on inocule dans le cerveau 10 DL₅₀ (dose létale 50 %) du virus de l'herpes simplex (HSV). On commence le traitement 4 jours après.
- 10 On observe pendant 21 jours l'état (vie ou mort) des souris. On traite le lot témoin par une solution saline tamponnée au phosphate (PBS), et on compare les temps de survie moyens (en jours) et les taux de survie moyens. Les résultats concernant les souris survivant 21 jours ou
- 15 davantage ne sont pas compris dans le calcul des temps de survie moyens, et l'essai de la différence significative par rapport au lot témoin est conforme à l'essai t. L'essai de la différence significative du taux de survie est conforme à l'essai exact de Fisher.
- 20 Dans chaque exemple d'essai on indique l'efficacité du traitement contre l'infection provoquée par HSV du type 1 (HSV-1). Mais il est confirmé que l'ara-T agit également contre l'infection provoquée par HSV du type 2, avec une efficacité du même ordre.

25 Expérience 1.

- En commençant 4 heures après l'infection par HSV-1, on administre l'ara-T par la voie orale toutes les 12 heures, à 9 reprises en tout. Comme le montrent les résultats consignés dans le tableau 1 on observe une im-
- 30 portante augmentation de la durée de vie (ADV) lorsque la quantité administrée est de 9 fois 100 mg/kg, et à la fois une augmentation significative de la durée de vie et du taux de survie lorsque les quantités administrées sont de 9 fois 200 mg/kg et davantage.

(voir tableau page suivante)

TABLEAU 1

	Quantité administrée (mg/kg x 9)	Rapport entre le nombre de survi- vants et le nombre total d'animaux traités	Temps de survie moyen (jours) + erreur type
5	0	1/18	4,0 ± 0,13
	100	3/9	8,0 ± 0,71 ^{b)}
	200	5/9 ^{a)}	7,5 ± 0,65 ^{b)}
10	400	5/9 ^{a)}	6,0 ± 1,08 ^{a)}
	800	7/9 ^{b)}	9,5 ± 0,50 ^{b)}

a) Valeur de probabilité $< 0,01$

b) Valeur de probabilité $< 0,001$.

Expérience 2.

- 15 En suivant le même plan de traitement qu'à l'exemple 1 on compare avec l'effet produit par l'administration intrapéritonéale. Ainsi que le montrent les résultats consignés dans le tableau 2 la quantité efficace minimale dans le cas de l'administration intrapéritonéale
- 20 est de 40 mg/kg x 9, alors que dans le cas de l'administration orale elle ne dépasse pas 27 mg/kg x 9. Ainsi, l'administration orale est beaucoup plus efficace que l'administration intrapéritonéale.

(voir tableau 2 page suivante)

TABLEAU 2

	Voie d'adminis- tration	Quantité admi- nistrée (mg/kg x 9)	Rapport du nombre de survivants au nombre total d'ani- maux traités	Temps de sur- vie moyen (jours) + erreur type
5				
	p.o.	0	0/9	4,3 ± 0,26
	(voie	27	2/9	6,6 ± 0,74 ^{b)}
10	orale)	40	2/9	7,6 ± 0,57 ^{c)}
		60	1/9	6,8 ± 0,48 ^{c)}
		90	3/9	7,4 ± 0,24 ^{c)}
	i.p.	0	0/10	4,7 ± 0,37
	(voie	27	0/10	5,7 ± 0,45
15	intra-	40	0/10	5,8 ± 0,33 ^{a)}
	péritonéale)	60	2/10	6,8 ± 0,56 ^{b)}
		90	2/10	6,8 ± 0,75 ^{a)}

a) Valeur de probabilité < 0,05

b) Valeur de probabilité < 0,01

20 c) Valeur de probabilité < 0,001.

Expérience 3.

25 Huit heures après l'infection par HSV-1 on effectue le traitement une fois seulement, et on examine l'efficacité dudit traitement. Comme le montrent les résultats du tableau 3 on n'observa pas d'augmentation du nombre de souris survivantes mais l'augmentation de la durée de vie est beaucoup plus grande dans le cas de l'administration orale que dans le cas de l'administration intra-péritonéale.

(voir tableau 3 page suivante)

TABLEAU 3

5	Voie d'administration	Quantité administrée (mg/kg)	Temps de survie moyen (jours) (lot traité/lot témoin)
	p.o.	400	1,35 ^{b)}
		800	1,67 ^{c)}
	i.p.	400	1,12
		800	1,24 ^{a)}

- 10 a) Valeur de probabilité $< 0,05$
 b) Valeur de probabilité $< 0,01$
 c) Valeur de probabilité $< 0,001$.

Expérience 4.

- En commençant 4 jours après l'infection par
 15 HSV-1 on administre l'ara-T toutes les 48 heures, et cela à 5 reprises en tout. Comme le montrent les résultats rassemblés dans le tableau 4, on observe une augmentation de la durée de vie avec chacune des doses, c'est-à-dire 100, 200 et 400 mg/kg par traitement, tandis que l'administration
 20 intrapéritonéale est inefficace, même à une dose de 400 mg/kg par traitement.

TABLEAU 4

25	Voie d'administration	Quantité administrée (mg/kg par traitement)	Rapport du nombre de survivants au nombre total d'animaux traités	Temps de survie moyen (jours) \pm erreur type
30	p.o.	100	1/10	5,8 \pm 0,6 ^{a)}
		200	1/10	6,1 \pm 0,6 ^{a)}
		400	0/10	5,8 \pm 0,5 ^{a)}
	i.p.	200	1/10	5,4 \pm 0,8
		400	0/10	5,0 \pm 0,5
	témoin	-	0/20	4,3 \pm 0,3

- 35 a) Valeur de probabilité $< 0,2$
 b) Valeur de probabilité $< 0,01$.

II. Expériences relatives à la toxicité.

A des doses thérapeutiques diverses on administre l'ara-T par la voie orale à certaines souris (souche ICR) et par la voie intrapéritonéale à d'autres souris de la même souche, que l'on veut soumettre à un essai de toxicité aiguë. On observe les souris pendant une semaine. Résultat : dans le cas de l'administration orale la DL_{50} est supérieure à 15 g/kg (aucun cas de mortalité parmi les 10 souris à la dose de 15 g/kg) et, dans le cas de l'administration intrapéritonéale, elle est supérieure à 10 g/kg (deux cas de mortalité parmi les 10 souris à la dose de 10 g/kg). On observe en outre une diminution du poids corporel et une atrophie thymique à la dose de 10 g/kg dans le cas de l'administration intrapéritonéale, alors qu'on n'observe aucun de ces deux phénomènes à la dose de 15 g/kg dans le cas de l'administration orale.

En outre, on administre des doses diverses d'ara-T à des souris âgées de 4 semaines, toutes les 12 heures, cela à 9 reprises, après quoi on examine pendant une semaine les souris qui ont été ainsi traitées. Les rapports observés entre la quantité administrée et le taux de mortalité sont indiqués dans le tableau 5.

TABLEAU 5

25	Voie d'administration	Quantité administrée (g/kg x 9)	Mortalité (nombre de morts/nombre total d'animaux traités)
	p.o.	1,5	0/5
		3	0/5
		6	1/5*
30	i.p.	1	0/5
		2	3/5*
		4	5/5*

* On observe une grande diminution du poids corporel.

III. Expériences relatives au métabolisme.

On effectue une étude en vue de déterminer si oui ou non l'ara-T qui a été administrée par la voie orale est réellement absorbée et amenée dans le sang.

- 5 On administre l'ara-T à des souris par la voie orale en une quantité de 200 mg/kg. Au bout d'un temps approprié on fait des prélèvements de sang dans le cœur des souris et on mesure la concentration de l'ara-T dans le plasma de chaque échantillon en utilisant un appareil
10 de chromatographie en phase liquide à grande vitesse. Les résultats ainsi obtenus sont consignés dans le tableau 6 ; chacune des valeurs mesurées est la moyenne provenant d'un lot de 4 souris. Ainsi que cela ressort du tableau 6, l'ara-T est bien absorbée par le tractus digestif et sa
15 concentration dans le sang augmente beaucoup. En outre, l'absorption se poursuit pendant une durée allant jusqu'à 2 heures après l'administration, et la concentration du sang en ara-T se maintient à un haut niveau pendant longtemps (la concentration inhibitrice minimale de l'ara-T
20 contre HSV in vitro est de 1 μ g/ml).

TABLEAU 6

	Nombre d'heures après l'administration	Concentration du sang en ara-T (μ g/ml)
	0,5	25
25	1	33
	2	21
	3	13
	4	12
	6	3
30	8	1

On voit, d'après la description qui précède, que l'agent antiviral de la présente invention, lorsqu'il est administré sous une forme pharmaceutique convenant pour l'absorption par le tractus digestif, renforce l'activité, déjà connue, de l'ara-T, diminue beaucoup la

10

toxicité de cette substance et est efficace dans le traitement d'infections provoquées par des virus à ADN, tels que le groupe des virus d'herpès, y compris HSV et VSV, chez les mammifères. On choisira judicieusement les formes

- 5 pharmaceutiques spécifiques de cet agent antiviral en fonction de divers facteurs tels que le type de l'infection à désoxyvirus, la gravité des symptômes et le plan d'administration. En outre la méthode de formulation correspondante pourra être choisie et exécutée facilement par
- 10 l'homme du métier.

Voici un exemple de formulation pharmaceutique de l'agent antiviral qui fait l'objet de la présente invention.

Exemple de formulation pharmaceutique (comprimé):

15	ara-T	200 mg
	lactose	191 mg
	amidon	50 mg
	poly-vinylpyrrolidone	5 mg
	stéarate de magnésium	4 mg

20 poids total 450 mg.

Il va de soi que l'agent antiviral de l'invention peut être associé à une autre substance douée d'une activité antivirale.

REVENDICATIONS

- 1.- Médicament antiviral, utilisable notamment pour le traitement d'infections causées par des virus à ADN chez l'homme ou chez l'animal, médicament caractérisé en ce qu'il contient de la (β -D-arabinofurannosyl)-1 thymine comme substance douée d'une activité thérapeutique et en ce qu'il est présenté sous une forme pharmaceutique permettant l'absorption par le tractus digestif de l'homme ou de l'animal.
- 10 2.- Médicament antiviral renfermant de la (β -D-arabinofurannosyl)-1 thymine comme substance douée d'une activité thérapeutique et un véhicule acceptable du point de vue pharmaceutique, pour l'administration par le tractus digestif de l'homme ou de l'animal.
- 15 3.- Médicament antiviral selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il est sous une forme convenant pour l'administration par la voie orale.
- 20 4.- Médicament antiviral selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il est sous une forme convenant pour l'administration par la voie rectale.