

①2

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 24.06.92.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 31.12.93 Bulletin 93/52.

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) : PIERRE FABRE MEDICAMENT —
FR.

⑦2 Inventeur(s) : Peeters Marie A. et Lejeune Jérôme.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Cabinet Regimbeau Martin Schrimpf
Warcoin Ahner.

⑤4 Utilisation de la guanosine, de ses précurseurs et ses dérivés pour la fabrication de médicaments destinés à
traiter les déficits fonctionnels cérébraux.

⑤7 L'invention concerne l'utilisation de la guanosine ainsi
que de ses précurseurs et dérivés pour la fabrication de
médicaments destinés au traitement des déficits fonction-
nels cérébraux tels que les syndromes chromosomiques
entraînant une débilité de l'intelligence tels que la trisomie
21 et la fragilité de l'X, les troubles du comportement sur-
venant au cours de maladies du système nerveux central tel-
les que la maladie d'Alzheimer, et les syndromes d'hyper-
activité, d'hyperréactivité, d'anxiété, ou de réactions
psychotiques ou autistiques.

FR 2 692 784 - A1



La présente invention concerne le domaine des médicaments destinés au traitement de divers déficits fonctionnels cérébraux.

Dans le cadre d'une analyse générale de la pathogénie des maladies métaboliques déterminant une débilité de l'intelligence, un certain
5 nombre de mécanismes chimiques indispensables au fonctionnement des neurones ont été analysés. Parmi ceux-ci, il semble que le métabolisme des monocarboneés joue un rôle primordial. En effet, la plupart des blocages enzymatiques provoquant une débilité de l'intelligence, sans lésion
10 primaire des constituants des membranes et des gaines et sans trouble majeur de l'embryogenèse cérébrale, présentent en commun un trouble des monocarboneés.

C'est ainsi que des dosages in vitro examinant la variation de l'indice mitotique en présence de divers métabolites et antimétabolites de la synthèse des purines, ont permis d'établir une corrélation très
15 significative avec divers syndromes chromosomiques. En particulier, il a ainsi pu être mis en évidence une augmentation très significative de l'indice mitotique de lymphocytes provenant de malades atteints du syndrome de l'X fragile, lorsqu'on ajoute au milieu de culture de la guanosine ou encore un précurseur ou un dérivé de la guanosine.

20 C'est pourquoi la présente invention concerne l'utilisation de la guanosine ainsi que de ses précurseurs et dérivés pour la fabrication de médicaments destinés au traitement des déficits fonctionnels cérébraux.

Les précurseurs et dérivés de la guanosine seront plus particulièrement choisis parmi les composés suivants : la guanine, le 3'-
25 monophosphate de guanosine, le 5'-monophosphate, le 5'-diphosphate et le 5'-triphosphate de guanosine, le 3',5'-monophosphate cyclique de guanosine, l'inosine, la xanthine, l'hypoxanthine, la xanthosine et l'acide 5'-inosinique.

Les médicaments entrant dans le cadre de la présente invention
30 sont en particulier destinés à assurer le traitement des syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence, telle que la trisomie 21 et la fragilité de l'X, ainsi que des troubles du comportement survenant au cours de maladies du système nerveux central, telle que la maladie d'Alzheimer. Ces médicaments peuvent également être destinés au
35 traitement de syndromes d'hyperactivité, d'hyperréactivité, d'anxiété, ou de réactions psychotiques ou autistiques.

D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture de la description détaillée faite ci-après, notamment en regard de quelques résultats expérimentaux.

5 Le syndrome de l'X fragile est la seconde cause chromosomique du retard mental et la cause la plus commune du retard mental familial. Le taux de mutation est élevé. L'incidence calculée est de 1 sur 1250 chez les hommes et de 1 sur 2000 chez les femmes. Ainsi, un diagnostic précis et précoce est important en vue d'un traitement spécifique.

10 Ce syndrome se caractérise par la présence d'un site fragile sur le bras long du chromosome X, en Xq27. Le retard mental est transmis selon le mode dominant lié à l'X avec pénétrance incomplète. Environ 30% des porteurs féminins hétérozygotes ont un retard mental et environ 20% des hommes transmetteurs ne présentent ni le site fragile, ni les symptômes cliniques. Le génotype et le phénotype ne sont donc pas en corrélation absolue.

15 Il a été observé que l'expression de ce site fragile in vitro dépendait de la composition du milieu de culture et que les déficiences en certains composés puriques pourraient favoriser l'expression du site fragile dans les lymphocytes.

20 Il a ainsi pu être déterminé qu'un défaut du métabolisme purique, qu'il soit primaire ou secondaire, pouvait jouer un rôle majeur dans divers syndromes du retard mental.

Exemple d'expérimentation in vitro avec la guanosine

25 On cultive vingt-huit échantillons de sang périphérique provenant de malades atteints du syndrome de l'X fragile (vingt-quatre hommes et quatre femmes retardés) pendant 72 heures dans le milieu TC199 (Seromed^R) additionné de sérum AB humain à 25%, phytohémagglutine C (IBF, France), pénicilline et streptomycine. La technique de culture, la récolte et l'examen microscopique sont effectués de manière classique en soi connue.

30 On ajoute également au début de la culture de la guanosine à une concentration de 3,1 mg/l.

35 On recueille les cultures lymphocytaires avec les techniques standards utilisées pour l'analyse chromosomique. On colore les lames au Giemsa et on les code. On fait lire un minimum de 3000 cellules par deux observateurs différents pour calculer l'indice mitotique, exprimé sous la forme du rapport : nombre de mitoses / nombre de cellules.

Vingt-six malades ne reçoivent pas de médicament au moment de la culture des lymphocytes.

Les témoins utilisés pour l'analyse sont les suivants : 135 adultes normaux, 79 malades atteints de trisomie 21, 10 malades atteints du syndrome du cri du chat et 68 malades atteints de retard mental (avec ou sans anomalies chromosomiques autres que celles mentionnées ci-dessus).

On analyse les résultats en comparant l'indice mitotique de chaque expérience à la propre culture témoin du malade et on exprime les résultats en pourcentage d'augmentation ou de diminution en pourcentage de l'indice mitotique. Les comparaisons statistiques entre les groupes se font sur la base du test t de Student. Les résultats de l'expérimentation in vitro sont consignés dans les tableaux I à III ci-après.

Il apparaît ainsi que l'addition de guanosine augmente de façon significative l'indice mitotique chez les malades atteints du syndrome de l'X fragile. Lorsqu'on compare à l'échantillon total de malades (malades atteints de retard mental de diverses étiologies et malades atteints du syndrome de Down), la différence est très significative ($0,01 < p < 0,005$); lorsqu'on compare au total des témoins, la différence n'est pas aussi marquée mais reste significative ($0,05 < p < 0,025$). Ceci semble être dû aux différences entre la réponse des hommes et des femmes à la guanosine (les témoins femmes augmentant leur indice mitotique significativement plus que les malades témoins masculins : $p = 0,025$). On affine donc l'analyse pour examiner les réponses chez les malades masculins seulement. On observe ainsi une différence très significative dans la réponse à la guanosine lorsqu'on compare les hommes atteints de l'X fragile à l'échantillon total des hommes ($p = 0,001$), aux témoins masculins normaux ($0,005 < p < 0,001$) ou aux hommes ayant des retards d'autres étiologies ($0,005 < p < 0,001$). La différence entre les hommes atteints de l'X fragile et les hommes atteints du syndrome de Down est significative ($p = 0,025$).

Pour tester la spécificité des modifications observées, on recherche les malades manifestant une augmentation de l'indice mitotique supérieure à 10% en présence de guanosine.

- 13/19 malades atteints d'X fragile présentent une augmentation de plus de 10% en présence de guanosine (tous les malades atteints de l'X fragile augmentent leur indice mitotique).

- 29/80 témoins normaux ($X = 6,5$; $0,02 < p < 0,01$)

- 7/29 témoins masculins normaux ($X=9,3$; $0,01 \ll p < 0,001$)

- 12/34 malades atteints de trisomie 21 ($X=5,4$; $p=0,02$). Il y a 7 femmes et 5 hommes; les 5 hommes ont tous des complications psychotiques.

5 - 17/58 malades atteints de retard mental ($X=9,2$; $0,01 \ll p < 0,0001$).

Il y a 7 femmes et 10 hommes. Il faut noter que 9 des 10 malades masculins présentent des complications psychiatriques associées. Plusieurs hommes présentant une augmentation de l'indice mitotique en présence de guanosine avaient été adressés à l'origine en vue d'une
10 recherche de Xqfra, sans que l'examen cytogénétique ait décelé une fragilité de l'X.

Des tests de fonctionnement thyroïdien chez des hommes atteints du syndrome de l'X fragile et chez des hommes atteints de retard mental lié à l'X ont montré des niveaux sériques basaux normaux d'hormones
15 thyroïdiennes et de TSH. La réponse à la TRH est moins nette que chez les sujets normaux. Etant donné que la liaison au récepteur THR peut être réglée de façon allostérique par les nucléotides de guanine, on peut raisonnablement faire l'hypothèse que, si les hommes atteints d'X fragile présentent un certain défaut sur la voie de la guanine, ceci pourrait
20 modifier la liaison en récepteur de THR et par conséquent la réponse à TSH.

L'effet des nucléotides de guanine sur les neurotransmetteurs du système nerveux central est extrêmement important. On ne sait pas si la guanosine est un neurotransmetteur comme l'adénosine, mais on sait que
25 les nucléotides de guanine modulent négativement la liaison agoniste aux récepteurs adrénergiques à la dopamine, muscarinique-cholinergique et aux opiacées. Les récepteurs à la phéncyclidine (PCP) sont également régulés par les nucléotides de guanine. En outre, les nucléotides de guanine jouent un rôle majeur dans le métabolisme de la ptérine (GPT et le
30 précurseur de la tétrahydrobioptérine), ainsi que dans la dynamique des microtubules (synthèse de la tubuline).

Le cAMP et le cGMP jouent un rôle unique dans la régulation des neurotransmetteurs et leur rapport semble être d'une importance clinique. De fait, il a été suggéré que ces deux nucléotides cycliques
35 régulent l'équilibre cholénergique-adrénergique.

Après la naissance, le métabolisme purique dans le système nerveux central est caractérisé par une diminution de la synthèse purique de novo, par une augmentation de l'activité d'hypoxanthine-phosphoribosyltransférase (HPRT) et par une absence d'activité de la xanthine oxydase. Par conséquent, le cerveau est largement dépendant des voies de récupération pour conserver le niveau de GTP. Le métabolisme essentiellement de novo pendant le développement du cerveau (croissance des neuroblastes et prolifération neurogliale) pourrait expliquer pourquoi les malades atteints d'X fragile ont une morphologie cérébrale sensiblement normale. La principale modification neuroanatomique documentée chez ces malades (ainsi que chez les malades atteints d'autisme) est l'hypoplasie du vermis postérieur.

Tout défaut métabolique le long de la voie de récupération des purines aurait des conséquences neurologiques et comportementales manifestes après cette période de prolifération neuroblastique et neurogliale. La période périnatale pendant laquelle la permutation génique et l'impression des récepteurs se produit est sensible à une "tératogénèse métabolique" tardive. Un défaut métabolique génétique faisant intervenir un gène ou un groupe de gènes normalement activés pendant cette période aura des répercussions importantes sur les récepteurs membranaires et sur le développement post-natal du cerveau. Il est intéressant de noter que l'analyse du néo-cortex chez les adultes atteints d'X fragile présente une morphologie dendritique spinale anormale suggérant une anomalie de la maturation dendritique postnatale.

Expérimentation clinique avec un précurseur de la guanosine, à savoir l'inosine

Quarante-six patients ont été traités pendant au moins 3 mois avec 21 résultats favorables dont deux spectaculaires et 25 résultats nuls, sans aucun trouble secondaire signalé :

- Trisomie 21 : sur 19 patients, huit réponses favorables dont deux quasiment spectaculaires chez des malades souffrant de graves troubles du comportement
- Syndrome 4p- : sur 2 patients, 2 résultats favorables
- Syndrome 18q- : sur 4 patients, 2 résultats favorables
- Syndrome de la fragilité de l'X : sur 11 patients, 7 résultats favorables
- Syndrome de Willi Prader : sur 2 patients, 2 résultats favorables

- Syndrome psychotique sans anomalie chromosomique : sur 5 patients, 5 résultats favorables
- Syndrome d'hyperactivité et d'hyperréactivité : sur 2 patients, 2 résultats favorables.

5 **Indications thérapeutiques**

Les effets enregistrés portant sur les troubles du comportement (anxiété, instabilité, agressivité et auto-agressivité, réactions psychotiques ou autistiques etc.), il apparaît que la guanosine et ses précurseurs et dérivés immédiats sont susceptibles de rééquilibrer le métabolisme purique perturbé dans de nombreux états de type psychotique. Pour la guanosine les doses prévisibles s'étendent de 5 à 150 mg/kg/jour, et pour les autres précurseurs et dérivés pré-cités, en particulier la xanthosine et l'inosine, les doses d'administration seront comprises entre 20 à 150 mg/kg/jour.

Les médicaments objets de la présente invention peuvent être préparés de manière classique et en soi parfaitement connue. Il peut en particulier s'agir de diverses formes de dosage de la guanosine et/ou de ses dérivés et précurseurs, notamment destinés à l'administration orale, par exemple des comprimés, gélules ou analogues.

Les maladies dont les complications de type psychiatrique sont susceptibles d'être améliorées par cette médication sont :

- les syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence (trisomie 21, fragilité de l'X, 4p-, 5p-, 18q- etc.)
- les syndromes de psychose régressive et les syndromes autistiques et, plus généralement, les troubles du comportement survenant au cours de graves maladies du système nerveux central, comme la maladie d'Alzheimer par exemple.

TABLEAU I

5 TAUX D'AUGMENTATION OU DE DIMINUTION DE
 L'INDICE MITOTIQUE
 5 CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE L'X FRAGILE,
 CHEZ LES TEMOINS, CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE RETARD
 MENTAL ET CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'AUTRES ETIOLOGIES

N : nombre de patients

10 M : pourcentage d'augmentation ou de diminution de l'indice mitotique

SD : déviation standard

t : t-test de Student

		GUANOSINE
15	Nombre total de patients atteints de Xqfra	N M SD 19 18,4 14,6
20	Echantillonnage total de patients	N M SD t p 215 2,8 24,3 2,74 0,01 < p < 0,005
25	Total du groupe contrôle	N M SD t p 80 5,6 24,4 2,17 0,05 < p < 0,025
30	Trisomie 21	N M SD t p 34 -2 30,6 2,68 p=0,01
35	Retard mental	N M SD t p 58 -2,6 20,4 4,1 p < 0,001

TABLEAU II

5
10
15
20
25
30
35
40

TAUX D'AUGMENTATION OU DE DIMINUTION DE
L'INDICE MITOTIQUE
CHEZ DES PATIENTS MALES ATTEINTS DU SYNDROME DE
L'X FRAGILE, CHEZ DES PATIENTS MALES ATTEINTS DE
RETARD MENTAL, CHEZ DES PATIENTS MALES ATTEINTS
D'AUTRES ETIOLOGIES ET DANS LE GROUPE DE
TEMOINS MALES

		GUANOSINE			
15	Nombre total de patients mâles atteints de Xqfra	N M SD	16 17,6 19,7		
	20	Echantillonnage total de patients mâles	N M SD t p	90 -1,4 21,8 3,3 p=0,001	
		25	Total du groupe contrôle mâle	N M SD t p	29 -1,5 19 3,35 0,005 < p < 0,001
30			Mâles atteints de trisomie 21	N M SD t p	17 -0,5 25,5 2,36 p=0,025
			35	Mâles atteints de retard mental	N M SD t p

TABLEAU III

TAUX D'AUGMENTATION OU DE DIMINUTION DE
L'INDICE MITOTIQUE
CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DU
SYNDROME DE L'X FRAGILE ET CHEZ DES
PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE DOWN

10			GUANOSINE
	Nombre total de patients atteints de Xqfra	N M SD	19 18,4 14,6
15	Echantillonnage de de patients atteints de trisomie 21 et psychotiques	N M SD t	8 13,4 31,3 NS
20	Patients atteints de trisomie 21 sans complications	N M SD t p	12 -14 21,1 4,94 p<<0,001
25	Mâles atteints du syndrome de l'X fragile	N M SD	16 17,6 15,7
	Mâles atteints de trisomie 21 et psychotiques	N M SD t	7 20,1 27,5 0,3
30	Mâles atteints de trisomie 21 et psychotiques	N M SD t p	7 -19 7,3 5,62 p<<0,001

REVENDICATIONS

1. Utilisation de la guanosine ainsi que de ses précurseurs et dérivés pour la fabrication de médicaments destinés au traitement des déficits fonctionnels cérébraux.

2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur de la guanosine est la guanine.

3. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur de la guanosine est l'inosine.

4. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est la xanthine.

5. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est l'hypoxanthine.

6. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est la xanthosine.

7. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le précurseur est l'acide 5'-inosinique.

8. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le dérivé de la guanosine est le 3'-monophosphate de guanosine.

9. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que les dérivés de la guanosine sont le 5'-monophosphate, le 5'-diphosphate et le 5'-triphosphate de guanosine.

10. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le dérivé de la guanosine est le 3',5'-monophosphate cyclique de guanosine.

11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement des syndromes chromosomiques entraînant une débilité de l'intelligence, telle que la trisomie 21 et la fragilité de l'X.

12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement des troubles du comportement survenant au cours de maladies du système nerveux central, telle que la maladie d'Alzheimer.

13. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que lesdits médicaments sont destinés au traitement de syndromes d'hyperactivité, d'hyperréactivité, d'anxiété, ou de réactions psychotiques ou autistiques.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

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

FR 9207721
FA 473195

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	JP-A-61 277 619 (OTSUKA PHARMACEUTICAL FACTORY INC.)(08-12-1986) * En entier * & PATENT ABSTRACTS OF JAPAN, vol. 11, no. 139 (C-420)(2586), 7 mai 1987 ---	1-13
X	WO-A-8 805 299 (FRANKHOF)(28-07-1988) * Abrégé; page 4, ligne 28 - page 5, ligne 7 * ---	1-13
X	FR-A- 5 084 (CENTRE D'ETUDES POUR L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE)(15-12-1965) * Pages 1-2 * ---	1-13
X	JP-A-41 000 136 (DENKI KAGAKU KOGYO K.K.)(06-01-1992) * En entier * & PATENT ABSTRACTS OF JAPAN, vol. 16, no. 140 (C-926)(5183), 8 avril 1992 ---	1-13
X	JP-A-41 000 137 (DENKI KAGAKU KOGYO K.K.)(06-01-1992) * En entier * & PATENT ABSTRACTS OF JAPAN, vol. 16, no. 140 (C-926)(5183), 8 avril 1992 -----	1-13
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		A 61 K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
19-10-1992		MAIR J.
<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 : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>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</p>		

EPO FORM 1503 03.82 (P0413)