

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

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

2 621 485

②1 N° d'enregistrement national :

87 13841

⑤1 Int Cl⁴ : A 61 K 31/335, 31/235 // A 61 K 35/78; C 07 D
303/16; C 07 C 69/88.

①2

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 7 octobre 1987.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 15 du 14 avril 1989.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦1 Demandeur(s) : INSTITUT KHIMII RASTITELNYKH VES-
CHESTV AKADEMII NAUK UZBEXKOI SSR. — SU.

⑦2 Inventeur(s) : Anvar Gafurovich Kurmukov ; Khafiza
Saidganievna Akhmedkhodzhaeva ; Makhamat Babadzha-
novich Sultanov ; Ashraf Ismailovich Saidkhodzhaev ;
Georgy Konstantinovich Nikonov ; Akhmed Umarovich
Mamatkhanov ; Mukhamed-Rishad Iskanderovich Sham-
sutdinov ; Talat Taibbekovich Shakirov.

⑦3 Titulaire(s) :

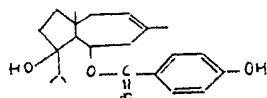
⑦4 Mandataire(s) : Cabinet Claude Rodhain.

⑤4 Médicament à action oestrogène.

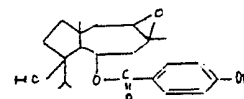
⑤7 Le domaine de l'invention concerne un médicament à
action oestrogène.

Le but de l'invention est de réaliser un médicament utilisable
dans le traitement des maladies dues à l'hypofonctionnement
ovarien, telles que l'aménorrhée primaire et secondaire, l'inferti-
lité par anovulation, la métrorragie dysfonctionnelle, et le faible
travail lors de l'accouchement.

Ce but est atteint à l'aide d'un médicament à action oestro-
gène, comprenant une substance active et un porteur pharma-
ceutique, caractérisé en ce qu'il comporte à titre de substance
active, un mélange d'hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 daucène
8,9 de formule suivante :



et d'hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 époxy-8,9 daucène de for-
mule suivante :



Ce médicament est plus particulièrement utilisable en
gynécologie.

FR 2 621 485 - A1

D

MEDICAMENT A ACTION OESTROGENE

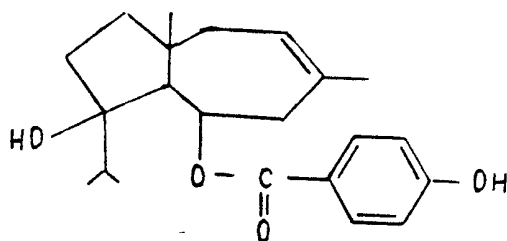
5 La présente invention concerne le domaine
médical, et plus particulièrement un nouveau médicament à
action oestrogène, trouvant son application en
gynécologie pour le traitement des maladies dues à
l'hypofonctionnement ovarien, telles que l'aménorrhée
primaire et secondaire, l'infertilité par anovulation, la
métrorragie dysfonctionnelle, un faible travail lors de
10 l'accouchement et autres.

On connaît et utilise largement différents
médicaments à action oestrogène, par exemple, l'oestrone,
les oestrogènes de synthèse, tels que le méso-3,4-di-(p-
hydroxyphényl)hexane (hexoestrol) ou le trans-3,4-di-(p-
15 hydroxyphényl)hexène-3 -diéthylstilboestrol) et autres.

Une large utilisation des oestrogènes de
synthèse au cours des dernières années a permis d'établir
la présence de nombreuses complications sérieuses à la
suite de leur application. Les produits susmentionnés
provoquent des perturbations génétiques et une
20 infécondité chez les descendants.

Pour cette raison actuellement dans de nombreux
pays la production industrielle des oestrogènes de
synthèse est réduite et on cherche activement leurs
succédanés naturels.

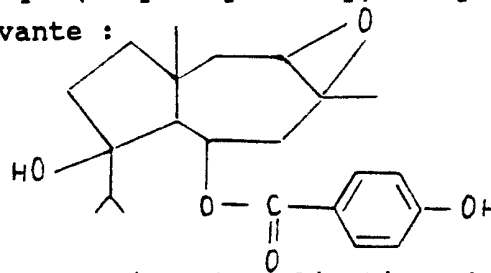
25 On trouve dans la littérature, (voir Chimie des
composés naturels N2, 1974, Editions "Fan", RSS
d'Ouzbekistan, pp. 166-170; Phytochemistry, 24, N3, 1985,
B.M. Fraga et al. "Carotane sesquiterpenes from Ferula
Lancerottensis", pp 501-504), la description de produits
30 tels que le hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 daucène-8,9 de
formule suivante :



5

et le hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 epoxy-8,9
daucane de formule suivante :

10



Cependant, le domaine d'application éventuel
desdits produits n'est pas connu.

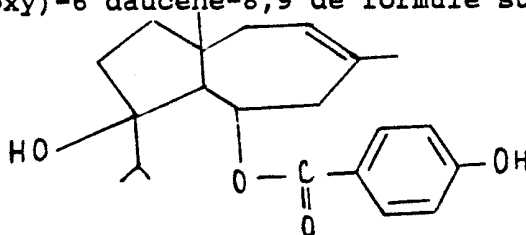
15

Le problème, posé dans la présente invention,
consiste en l'élaboration d'un nouveau médicament à
action oestrogène, possédant une haute activité et une
faible toxicité et ne provoquant pas d'effets
secondaires.

20

Ce problème est résolu par un médicament à
action oestrogène, comprenant une substance active et un
porteur pharmaceutique, caractérisé en ce qu'il comporte
à titre de substance active, un mélange de hydroxy-4(4'-
hydroxybenzoxy)-6 daucène-8,9 de formule suivante :

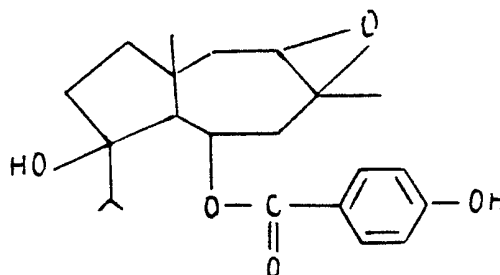
25



30

et de hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 epoxy-8,9
daucane de formule suivante :

35



5 Ce médicament peut être utilisé sous différentes formes pharmaceutiques, et de préférence sous forme de comprimés. Ce médicament contient de préférence la substance active à raison de 0,005 g par comprimé. A titre de porteur pharmaceutique on utilisera de préférence, un excipient tel que l'amidon ou la poudre de sucre.

10 La substance active du produit revendiqué représente un mélange d'esters, proches par leur structure, d'alcools sesquiterpènes avec l'acide p-benzoïque.

15 Les diverses formes de présentation du produit revendiqué (comprimés, suppositoires, pilules et autres) sont préparées d'après les méthodes connues. La substance active du produit revendiqué est extraite à partir de la matière première végétale provenant de différents types de fêrulle.

L'extraction de la substance active peut être réalisée comme suit.

20 On broit les racines et le tronc de la plante, on les soumet à l'extraction par un solvant organique, puis on concentre l'extrait obtenu et on le dissout dans de l'éther sulfurique, on élimine de la solution les acides organiques libres par de la potasse à 5%. On extrait les esters de la solution d'éther par une solution à 1% de potasse caustique. L'extrait alcalin est acidifié par de l'acide sulfurique jusqu'à un pH de 4,5, puis les esters sont extraits dans la solution acide par l'éther sulfurique. On distille l'éther, on introduit l'ensemble des esters dans une colonne à Silicagel. Par la suite on élue le produit désiré avec du chloroforme, on distille le chloroforme et on sèche le produit fini.

30 On obtient un mélange de hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 daucène-8,9 et de hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 epoxy-8,9 daucane, représentant un

35

produit pulvérulent de couleur jaune crème avec une odeur spécifique, qui est soluble dans les solutions alcalines, les huiles, difficilement soluble dans l'éthanol à 95% et insoluble dans l'eau.

-5 Le produit revendiqué présente une action oestrogène bien marquée. A la suite de son introduction dans l'organisme il provoque la prolifération de la muqueuse vaginale et de l'endomètre utérin. Le produit
10 revendiqué stimule l'évolution de l'utérus et des caractères sexuels féminins secondaires en cas de sous-évolution et abolit les désordres généraux qui surviennent à la suite de l'hypofonction des glandes sexuelles. Le produit revendiqué active le processus de
15 synthèse et de sécrétion de l'hormone lutéinisante et de l'hormone folliculo-stimulante dans l'hypophyse et stimule le processus de l'ovulation.

Lorsque ce produit est administré au début de la grossesse, il a une action contraceptive.

20 Le produit revendiqué administré per os s'absorbe bien à partir du tube digestif, il ne présente pas d'action irritante, il est peu toxique, ne possède pas de propriétés tératogènes et cancérigènes. Le produit revendiqué peut être utilisé dans l'infantilisme sexuel et la dysgénésie gonadique, dans l'aménorrhée primaire et
25 secondaire, l'infertilité conditionnée par anovulation, dans la métrorragie dysfonctionnelle dans un but d'hémostase, dans la grossesse prolongée pour préparer l'organisme à l'accouchement, dans l'écoulement prénatal des premières eaux, ainsi que pour l'inhibition de la
30 lactation chez les femmes après avortement dans le second ou troisième trimestre de la grossesse.

Le produit revendiqué a été soumis à des expériences chez les animaux et à des essais cliniques.

35 L'action oestrogène du produit revendiqué a été étudiée chez des rats femelles prépubertaires de 30 à 40 g. En utilisant des doses de 0,01-1 mg/kg, le produit

revendiqué provoque des phénomènes d'oestrus et accroît très significativement la masse de l'utérus des rates de 289 à 541% (avec liquide) et de 234 à 303% (sans liquide). En fonction de la dose administrée on constate un accroissement des ovaires de 4,1 à 13,1%. La DE_{2t} (dose efficace permettant de doubler la masse par rapport aux animaux témoins) du produit revendiqué est égale à 0,364 mg/kg, et celle du diéthylstilboestrol dans des conditions identiques d'expérience à 0,330 mg/kg.

10 L'action oestrogène du produit revendiqué se manifeste également dans les expériences portant sur des souris prépubertaires. Ici, on note une augmentation de la masse de l'utérus et on observe des modifications prolifératives dans l'organe.

15 L'étude de l'action oestrogène du produit revendiqué a également porté sur des rats et des souris castrés, les animaux entrant dans l'expérience étant ceux qui au cours des 3 semaines qui suivaient l'ovariectomie ne présentaient pas de perturbations cycliques sur les
20 frottis vaginaux. Les résultats de l'expérience figurent dans le tableau 1.

TABLEAU 1

les Activité oestrogène du produit revendiqué chez
souris prépubertaires et castrées

N°	PRODUIT	Dose :mg/kg:	Accroissement de la masse de l'utérus en % chez les	
			souris prépubertaires,	castrées
:-----:				
:par rapport				
:aux témoins P>< :				
1	2	3	4	5
1	:Produit :revendiqué:	:10,0 :	95	<0,001 :
2	:--"	:1,0 :	64	<0,001 :
3	:--"	:0,1 :	28	<0,05 :
4	:--"	:0,05 :	-	- :
5	:--"	:0,01 :	-	- :
6	:--"	:0,005:	-	- :

Suite du tableau 1

N°	Accroissement de la masse des ovaires en % chez les		Taux de souris castrées avec oestrus
	souris prépubertaires.	castrées	
:-----:			
:Par rapport aux témoins : P>< :			
1	6	7	8
1	8,7	: 0,25	: 100
2	9,7	: <0,02	: 100
3	3,7	: <0,5	: 50
4	-	: -	: 20
5	-	: -	: 10
6	-	: -	: 0

A la dose de 0,05 mg/kg le produit revendiqué provoquait l'oestrus chez 2 souris sur 10, soumises à l'expérience, à la dose de 0,1 mg/kg, chez 5 souris sur 10 et à la dose de 1 mg/kg, chez tous les animaux soumis à l'expérience.

L'effet oestrogène du produit revendiqué fut plus remarquable chez les rats castrés. Cet effet se développait déjà à la dose de 0,001 mg/kg. La DE₅₀ (dose

efficace chez 50% des animaux) du produit revendiqué est égale à 0,053 mg/kg, celle du diéthylstilboestrol à 0,042 mg/kg dans les mêmes conditions d'expérience.

A raison de 0,1 et 1 mg/kg le produit revendiqué perturbe le cycle sexuel chez les rats, ce qui se traduit par le prolongement dudit cycle aux dépens de la phase oestrale. Les résultats de cette expérience sont rapportés dans le tableau 2.

TABLEAU 2
Action du produit revendiqué sur le cycle sexuel des rats.

n°	:Produit	:Dose	:Durées (exprimées en jours)			
n°	:	:	:-----:			
n°	:	:mg/kg	:du cycle sexuel:	de	:	du
:	:	:	:	:	:l'oestrus:	repos
:	:	:	:	:	:	:
1	:Témoin	: -	:6,0±0,03	:	:1,2±0,00	:2,34±0,06
2	:Produit :revendiqué	: 0,1	:7,75±0,25	:	:3,28±0,28	:1,21±0,24
3	: P<>		:< 0,001	:	:<0,001	:<0,02
4	: Témoin	: -	:6,3±0,2	:	:1,18±0,18	:2,34±0,06
5	:Produit	: 1	:7,85±0,38	:	:3,23±0,25	:2,27±0,27
6	: P<>		< 0,02	:	:<0,001	:>0,5

Aux doses de 0,1 et 1 mg/kg, le produit revendiqué stimule le rut pendant 5 jours. Ainsi, dans le lot des animaux ayant reçus le produit, on a pu observer que 80% des femelles présentaient des frottis vaginaux avec des spermatozoïdes, entre le deuxième et le cinquième jour après la mise en contact avec les rats mâles. Chez les animaux du lot témoin le temps d'insémination durait 7 à 8 jours. L'examen des animaux sacrifiés au 19-e jour de la grossesse montra, que les femelles inséminées étaient pleines. Tous les embryons étaient vivants et normalement développés. Administré avant l'insémination, le produit revendiqué ne provoque pas de perturbation de la fertilité, accélère le délai de fécondation et de gestation.

5 Du 1 au 12^e jour de gestation, chez les animaux ayant reçu 1 mg/kg de produit revendiqué, on ne retrouvait dans la cavité des cornes utérines que les sites d'implantation sans embryons, et les ovaires portaient des corps jaunes.

10 Les données susmentionnées permettent de conclure, que les embryons des rats présentent une haute sensibilité à l'égard du produit revendiqué, particulièrement dans les premiers jours de la gestation. A la suite de l'administration du produit revendiqué entre le 8-e et le 16-e jour de la gestation, on observait chez les rats entre le 3^e et le 5^e jour d'administration, une excrétion sanguinolente durant 3 à 15 5 jours. L'autopsie établit, que parmi les 13 mères inséminées, 11 étaient pleines. Dans 4 cas, la cavité des cornes utérines ne contenait pas d'embryons et on retrouvait les sites d'implantation sous forme de petites 20 graines. Chez 4 autres rats il y avait des débris d'embryons et de placenta ainsi que quelques caillots sanguins. Chez 2 rats on retrouvait des embryons vivants mais sous-évolués, quelques uns d'entre eux présentant dans la partie dorsale des zones hémorragiques. Le sac embryonnaire était rempli de liquide séreux. Chez l'une 25 des rates, 3 embryons vivants se trouvaient dans l'une des cornes utérines, alors que dans l'autre il n'y avait que des sites d'implantation; les ovaires portaient des corps jaunes prononcés.

30 Dans le lot des animaux servant de témoins, sur 22 rates, 20 étaient pleines et la cavité des cornes utérines contenait des embryons d'évolution normale.

Le nombre d'embryons et de sites d'implantation correspondait à la quantité de corps jaunes.

35 Il fut établi, que l'administration unique du produit revendiqué à des doses sous-toxiques et toxiques (2000 mg/kg) au terme de la gestation n'agit pas sur l'évolution des embryons et sur le cours de la grossesse.

On étudia l'action du produit revendiqué sur l'accumulation des protéines dans les viscères des rats.

L'étude de l'action du produit revendiqué sur le métabolisme protéique dans les organes et le muscle strié porta sur des femelles prépubertaires et castrées. Le produit revendiqué était administré à raison de 1 mg/kg par voie buccale pendant 3 jours. Les résultats de cette étude montrent, que le produit revendiqué, à la dose de 1 mg/kg, agit chez les femelles prépubertaires et castrées de la même façon que l'hexoestrol et provoque une augmentation de la protéine totale dans l'utérus et le foie des animaux.

Les résultats de cette expérience figurent dans les tableaux 3 et 4.

TABLEAU 3

Action du produit suivant l'invention, sur l'accumulation de la protéine dans les viscères des rats castrées.

N°:Produit	:Protéine :	Protéine, :	Organes	:
:	:dans (%):	:	:	:
N°:	:l'organe, :	mg	:	:
1 :Témoins	:9,2±0,48 :	3,8±0,22	:utérus	:
2 :(eau	:17,2±0,39:	1088,0±35,6	:foie	:
3 :distillée)	:17,5±0,25:	35,7±1,6	:muscle tibial	:
:	:	:	:antérieur	:
4 :Produit sui-	:10,2±0,9 :	18,8±1,52	:utérus	:
5 :vant l'inven-	:17,6±0,43:	1319,0±55,2	:foie	:
6 :tion,	:17,3±0,18:	35,2±1,1	:m.tibial	:
:1 mg/kg	:	:	:antérieur	:
7 :Hexoestrol	:10,4±0,85:	14,5±1,12	:utérus	:
8 :1 mg/kg	:17,6±0,39:	1101,0±44,1	:foie	:
9 :	:17,5±0,32:	35,7±1,5	:m.tibial	:
:	:	:	:antérieur	:

le caractère et l'intensité de l'action du produit revendiqué sur le métabolisme dépend de l'état hormonal des animaux. L'administration du produit revendiqué aux animaux pubertaires ovariectomiés apporte un effet plus prononcé que chez les animaux prépubertaires.

TABLEAU 4
Action du produit revendiqué sur l'accumulation
de protéine dans l'utérus des femelles prépubertaires

N°N° :	Produit :	Protéine dans l'organe, % :	Protéine, mg :
1	:Témoins	:14,7±1,30	: 4,3±0,32
2	:Produit suivant l'invention, 1 mg/kg	:13,2±0,83	: 11,2±0,85
3	:Témoins	:14,7±1,30	: 4,3±0,32
4	:Hexoestrol, 1 mg/kg	:13,1±1,20	: 10,6±0,65

Compte tenu des modifications saisonnières du système endocrine nous avons étudié la relation entre l'effet pharmacologique du produit revendiqué et la saison de l'année. Les expériences ont été réalisées en comparaison avec un oestrogène de synthèse connu - l'hexoestrol. Les expériences ont porté sur 460 femelles prépubertaires âgées de 30 jours et d'une masse de 30 à 35 g. Les produits étudiés étaient administrés à raison de 1 mg/kg par jour, durant 3 jours. L'étude était réalisée au milieu de chaque mois. On évaluait l'effet oestrogène du produit revendiqué et de l'hexoestrol d'après l'accroissement de la masse de l'utérus et la teneur totale de protéine dans cet organe, étant donné que l'action des oestrogènes se caractérise par un accroissement précoce et significatif de cette composante dans l'utérus.

Comme en témoignent ces expériences, le produit revendiqué administré à la dose susmentionnée apporte un accroissement de la masse et du taux total de protéine de l'utérus à tous les mois de l'année, ce qui signifie qu'il confère un effet oestrogène prononcé durant toute l'année. Néanmoins, l'intensité de l'effet oestrogène varie suivant les différentes saisons de l'année, cette intensité étant moins prononcée en hiver et plus en automne. On remarque une relation inversement

5 proportionnelle nette entre la masse de l'utérus et son
taux de protéine, d'une part, et l'intensité de l'action
des deux produits, d'autre part. Au mois d'août, par
exemple, quand la masse de l'utérus des animaux témoins
était en moyenne égale à 28,1 mg, l'hexoestrol et le
produit revendiqué augmentaient cette masse jusqu'à 86,5
et 96,6 mg respectivement. Au mois d'octobre, quand la
10 masse de l'utérus des animaux témoins se réduisait
jusqu'à 20 mg, le produit revendiqué et l'hexoestrol
l'augmentait jusqu'à 85,2 et 92,5 mg respectivement.

En conséquence, les acrophases des
modifications annuelles de l'effet se situent au mois de
février (effet minimum) et au mois de novembre (effet
15 maximum).

Du mois de mars et jusqu'au mois de septembre
la force d'action de l'hexoestrol et du produit
revendiqué reste à un même niveau, puis est suivi d'un
accroissement de l'effet dudit produit de novembre à
20 février, et par la suite d'une réduction progressive de
cet effet.

Nous avons examiné l'action du produit
revendiqué sur le taux des hormones lutéinisantes et
folliculo-stimulantes dans le sérum sanguin et
25 l'hypophyse des animaux, soumis à l'expérience.

L'étude porta sur l'action de deux doses du
produit revendiqué (1 et 10 mg/kg), (en ingestion
buccale) sur le taux d'hormones susmentionnées dans le
sang et l'hypophyse des rats au cours des stades-clés du
30 cycle oestral, plus précisément au cours du dioestrus - 2
et du prooestrus. Les expériences furent réalisées chez
240 rats. Dans une première série d'expériences le
produit revendiqué était administré à raison de 10 mg/kg
dans une période précoce des stades-clés, c'est-à-dire à
35 9 heures du matin des stades de dioestrus-2 et de
prooestrus, et on évaluait les modifications du taux
d'hormone lutéinisante à des phases précoces après

l'administration dudit produit, à l'échéance de 3,6 et 24 heures. Dans une seconde série d'expériences le produit
5 revendiqué était administré avec un décalage de 6 heures, rapprochant le temps de son administration de la période de développement de l'onde préovulatoire de l'hormone lutéinisante dans le sang, l'évaluation des modifications du taux d'hormone étant réalisée à l'échéance de 18,24 et
10 42 heures après l'administration. Cette seconde série d'expériences fut élargie, par rapport à la première, par l'utilisation de deux doses de produit revendiqué (1 et 10 mg/kg), et par l'investigation au moyen de méthodes radio-immunologiques du taux sanguin et hypophysaire de deux gonadotropines - l'hormone lutéinisante et l'hormone
15 folliculo-stimulante.

Les résultats de la première série d'expériences montrent, que l'administration du produit revendiqué à 9 heures du matin dans le stade de
20 dioestrus-2 entraîne une hausse du niveau de l'hormone lutéinisante dans le sang, cette hausse atteignant une valeur statistiquement significative 3 heures et 24 heures après l'administration. Dans ces intervalles de temps le taux d'hormone lutéinisante dans le sang arrivait à $83,7 \pm 4,6$ ng/ml et $136,2 \pm 14,6$ ng/ml, ce qui est notablement plus élevé que les valeurs, obtenues chez les animaux témoins (respectivement $61,5 \pm 8,7$ ng/ml et $42,0 \pm 10,1$ ng/ml). Ainsi donc, l'administration du produit
25 revendiqué dans une phase précoce de la période clé du cycle oestral renforce le processus de sécrétion de l'hormone lutéinisante de l'hypophyse. Par ailleurs, l'étude du taux d'hormone dans l'hypophyse chez les animaux de cette série a également montré son accroissement dans le tissu glandulaire. Tout cela
30 témoigne de ce que le produit revendiqué outre l'activation de la sécrétion de l'hormone à partir de l'hypophyse, stimule également de façon nette la synthèse de ladite hormone. Notons que ces phénomènes ne
35

s'observent qu'à la suite de l'administration du produit à des heures matinales du stade de dioestrus-2, car administré à 9 heures du matin au stade de prooestrus il n'apporte pas de telles modifications. Les résultats de ces expériences figurent dans les tableaux 5 et 6.

TABLEAU 5

Caractéristiques des changements du taux d'hormone lutéinsante dans le sang à la suite de l'administration du produit revendiqué aux femelles en cycle à raison de 10 mg/kg, à 9 heures du matin des stades de dioestrus-2 et de prooestrus, le prélèvement des échantillons étant effectué dans des délais relativement courts après l'administration dudit produit (3, 6 et 24 heures)

NN:Délais de temps :		M+n	Période	d'administration	:
:après l'admi- :		:	-----	:	:
:nistration :		:	Témoins	A 9 h du matin du	:
:		:	:	stade dioestrus-2	:
1	2	3	4	5	
1 : 3 heures	:M+m	:	61,5±8,7	83,7±4,6	:
2 :	:P<>	:		<0,05	:
3 : 6 heures	:M+m	:	79,7±10,1	93,0±13,9	:
4 :	:P<>	:		>0,05	:
5 : 24 heures	:M+m	:	42,0±10,1	136,2±14,7	:
6 :	:P><	:		<0,001	:

NN	Période d'administration	
	Témoins	A 9 h. du matin du stade prooestrus
1 :	6	7 :
1 :	183,0±17,7	127,5±14,9
2 :		<0,05
3 :	165,0±26,6	122,1±16,1
4 :		>0,05
5 :	57,1±4,4	48,6±9,2
6 :		>0,05

TABLEAU 6

Caractéristiques des changements du taux d'hormone lutéinisante dans l'hypophyse à la suite de l'administration du produit revendiqué aux femelles en cycle, à raison de 10 mg/kg, à 9 heures du matin des stades dioestrus-2 et prooestrus, le prélèvement des échantillons étant effectué dans les délais relativement courts après l'administration dudit produit (3,6 et 24 heures)

NN	Délais de temps: M±m :		Temps de l'administration :	
	après l'admi- tration.	:	Témoins	A 9 h du matin du stade dioestrus-2
1	2	3	4	5
1	3 heures	:M±m	:1270,6±250,5	2058,2±209,0
2		:P><	:	<0,05
3	6 heures	:M±m	:1400,8±78,8	2680,0±433,9
4		:P><	:	<0,05
5	24 heures	:M±m	:2330,0±473,6	509,9±37,5
6		:P><	:	<0,001

Suite du tableau 6

NN	Temps de l'administration	
	Témoins	A 9 h du matin du stade prooestrus
1	6	7
1	1197,5±397,5	2178,8±294,9
2		<0,05
3	1625,0±319,7	2450,0±415,1
4		<0,05
5	569,8±37,7	634,8±98,3
6		<0,05

Le rapprochement du moment d'administration du produit revendiqué du moment de développement de l'onde préovulatoire de l'hormone lutéinisante montre, que ledit produit confère une action inhibitrice sur le processus de sécrétion avec manifestation de signes d'accumulation de l'hormone dans l'hypophyse.

De telle sorte, les expériences réalisées chez les femelles montrent, que la dose de 10 mg/kg du produit revendiqué, à des étapes précoces après son administration, renforce la synthèse de gonadotropine dans l'hypophyse et stimule sa sécrétion. Cela se manifeste particulièrement à la suite de l'administration matinale du produit revendiqué, dans le dioestrus-2, c'est-à-dire bien avant l'onde préovulatoire de l'hormone lutéinisante dans le sang. Le rapprochement du moment de l'administration par rapport au moment clé du cycle oestral inhibe le processus de sécrétion, alors que l'administration après l'onde des oestrogènes endogènes n'agit pratiquement pas sur le niveau de l'hormone lutéinisante, 18 et 24 heures après l'administration, mais l'augmente à l'échéance de 42 heures.

Le produit revendiqué administré à raison de 1 mg/kg à 15 heures dans le stade de dioestrus-2 élève la sécrétion de la gonadotropine à l'échéance de 18 heures (200,9±16,9 ng/ml) et la réduit à l'échéance de 42 heures

après l'administration ($20,9 \pm 3,2$ ng/ml), sans cependant modifier le niveau moyen de l'hormone lutéinisante dans l'hypophyse. L'administration du produit revendiqué, à 15 heures dans le stade de prooestrus, c'est-à-dire après l'onde critique de délivrance des oestrogènes endogènes, n'agit pratiquement pas sur le taux d'hormone dans le sang à l'échéance de 24 et 42 heures, mais réduit sa sécrétion 18 heures après l'administration ($20,8 \pm 2,3$ ng/ml). Le taux d'hormone lutéinisante dans l'hypophyse ne se modifie pas particulièrement dans ce cas, à l'exclusion du délai de 24 heures après l'administration à 15 heures dans le stade de prooestrus, du produit revendiqué.

Les investigations réalisées par la détermination du taux d'hormone folliculo-stimulante montrent, que le plus souvent, dans les mêmes conditions d'expérience, le taux d'hormone folliculo-stimulante s'accroît dans le sang, de même que son taux dans l'hypophyse. cet effet s'avère plus marqué pour la petite dose de 1 mg/kg du produit revendiqué que pour la dose de 10 mg/kg, mais à condition que l'administration soit plus précoce (dioestrus-2, à 15 heures). Par conséquent, le produit revendiqué stimule la synthèse et active la sécrétion de l'hormone folliculo-stimulante.

On étudia l'action du produit revendiqué sur le taux de progestérone et d'oestradiol dans le sang de rats en phase de cycle. Comme en témoignent les données de l'expérience, le produit revendiqué administré en une fois à raison de 1 mg/kg réduit le taux de progestérone dans le sang. Une plus forte dose du produit (10 mg/kg) hausse dans une première phase (18 heures après l'administration) le taux sanguin de l'hormone, alors que par la suite (24 et 42 heures) soit elle n'agit pas (lors de l'administration à 15 heures dans le dioestrus-2), soit elle réduit la concentration sanguine de progestérone (lors de l'administration à 15 heures dans

le prooestrus). Du fait qu'il possède un effet oestrogène, le produit revendiqué administré dans le stade de dioestrus-2 inhibe le plus souvent la sécrétion des oestrogènes endogènes à partir des ovaires.

Les résultats obtenus permettent d'avancer l'hypothèse, que les effets du produit revendiqué observés au niveau de l'utérus et des ovaires ne se réalisent pas par le biais des oestrogènes endogènes, mais sont indépendants.

Les expériences confirment que le produit revendiqué peut entrer en concurrence avec l'oestradiol endogène sur les sites récepteurs dans l'hypophyse et manifester par cela même son action biologique.

Le produit revendiqué a une faible toxicité aiguë. En cas d'administration per os, la DL_{50} est égale chez les souris à 2220 mg/kg, chez les rats à 4700 mg/kg. Dans des expériences portant sur des chiens et des rats le produit revendiqué s'est avéré inoffensif pour l'organisme à la suite d'une administration prolongée (un mois et 6 mois) à raison de 0,1 de 1 et de 10 mg/kg. Il n'a pas d'action pathologique sur le sang périphérique, la composition de l'urine et sur le tableau morphologique du cerveau et des viscères.

Comme en témoignent nos expériences, le produit revendiqué ne confère pas d'action tératogène et cancérigène, et n'a pas d'action sur le processus de la coagulation sanguine.

Les essais cliniques du produit revendiqué ont porté sur 468 femmes malades. Les groupes de témoins étaient représentés dans les différentes cliniques par des groupes parallèles de femmes malades, traitées par la microfolline (éthynyloestradiol) ou le diéthylstilboestrol. On étudia l'action du produit revendiqué sur l'infantilisme sexuel chez des fillettes de 12 à 16 ans. Avant le traitement toutes les patientes étaient soumises à un examen, comprenant : anthropométrie, tests

de diagnostic fonctionnel, détermination du développement sexuel par évaluation de l'état des organes sexuels externes (évolution des nymphes, coloration et "état succulent" des muqueuses vulvaires), vaginoscopie pour établir l'état du col utérin, US des organes du petit bassin, détermination de l'âge osseux. Le produit revendiqué était prescrit à une dose de 5 à 10 mg par jour en cures de 20 jours avec un total de 1 à 2 cures.

A la suite de la première cure on constatait chez les malades le durcissement des seins jusqu'au degré de puberté. L'examen externe des organes sexuels établissait "l'état succulent" des muqueuses vulvaires, à la vaginoscopie - le phénomène de pupille (+) et la présence de sécrétions muqueuses à partir du canal cervical. Après la première série de traitement (20 jours) chez l'une des filles parmi les 8 traitées on observa une réaction de type menstruel pendant 3 jours. Dans le groupe de malades témoins, souffrant de la même pathologie et traitées par la microfolline à 0,05 g durant 21 jours avec une pause de 10 jours on constata le même degré d'oestrogénisation que chez les patientes traitées par le produit revendiqué.

Cependant, la microfolline produisait des effets secondaires plus fréquents.

Le produit revendiqué conférait une action oestrogène sur l'organisme des patientes souffrant de différentes formes d'hypogonadisme féminin avec un effet mammotrope et une action sur l'endomètre.

L'effet mammotrope se manifestait au plus tôt à l'échéance des 3 à 6 mois de traitement continu. Chez toutes les malades on observait une réaction naturelle du type menstruation. En comparaison avec la microfolline le produit revendiqué exerçait une action plus douce et pratiquement sans effets secondaires.

Le produit revendiqué fut utilisé pour le traitement des patientes présentant un retard de

développement sexuel et traitées précédemment par la microfolline sans résultat. L'utilisation du produit revendiqué provoquait une augmentation du volume des seins, l'apparition de "l'état succulent" des muqueuses vulvaire et vaginale et une déviation de l'index menstruel à droite. Les tableaux 7, 8, 9 rapportent les résultats des essais thérapeutiques chez les patientes souffrant d'aménorrhée secondaire, d'oligoménorrhée, d'infécondité primaire et secondaire.

TABLEAU 7

Données de la mesure de la température basale avant et après le traitement par le produit revendiqué.

NN	Caractéristique de la courbe	Nombre de malades	
		Avant traitement	Après traitement
1	Cycle normal à deux phases	0	42
2	Insuffisance de la 2 ^e phase du cycle	20	30
3	Courbe monophasique	72	20
4	Nombre total de malades	92	92

TABLEAU 8

Données des investigations colpocytologiques.

NN	Caractéristique de la courbe	Nombre de malades	
		Avant traitement	Après traitement
1	Cycle normal à 2 phases	0	42
2	Insuffisance de la 2 ^e phase du cycle	16	18
3	Insuffisance de la 1 ^{re} et 2 ^e phase du cycle	6	14
4	Anovulation	70	18
5	Nombre total de malades	92	92

TABLEAU 9
Résultats des investigations hormonales.

NN	Hormones	Aménorrhée	
		Avant traitement	Après traitement
1	2	3	4
1	Hormone lutéinisante, ng/ml	18,4±5,3	9,8±4,3
2	FSH, ng/ml	4,05±0,7	3,5±1,2
3	Oestradiol, ng/ml	42,4±5,9	63,0±14,0
4	Progestérone, ng/ml	-	-

Suite du tableau 9.

NN	Oligoménorrhée		Cycle anovulatoire	
	Avant traitement	Au cours du traitement	Avant traitement	Au cours du traitement
1	11,0±2,6	19,1±4,9	8,5±2,6	11,0±2,7
2	2,3±0,9	1,5±0,8	3,3±0,2	4,0±0,3
3	82,0±12,6	130,0±9,5	95,3±13,5	114,7±13,7
4	-	-	3,8±0,9	15,6±2,0

Le traitement de 92 patientes souffrant des pathologies susmentionnées, à l'aide du produit revendiqué, apporta la restitution du cycle ovulatoire chez 45,6% d'entre elles, par ailleurs chez 20% de malades on observa l'ovulation, mais la seconde phase du cycle s'avéra insuffisante, et chez 15,2% de patientes avec anovulation on enregistra une insuffisance des deux phases du cycle.

Chez les patientes souffrant d'aménorrhée (19 cas), dans 63,1% des cas à la suite de la prescription du produit revendiqué on constata une réaction du type menstruation. A la suite du traitement de l'infécondité uniquement avec le produit revendiqué, la grossesse survint dans 12% des cas. Chez 42% des patientes la grossesse apparut à la suite d'un traitement associé du produit revendiqué avec en combinaison le clostilbegide

1-chlor-2-p(2-diéthylaminoéthoxy)-phényl-1,2-diphényl-éthylénocitrate) et la choriogonine.

5 Dans 32% des cas la grossesse s'acheva par un accouchement à terme, et dans 16% par un avortement spontané au cours du premier trimestre.

10 Le produit revendiqué exerçait un effet positif chez les malades présentant des dérèglements du cycle menstruel de différentes origines et des pathologies de l'endomètre. Ainsi, dans les hémorragies anovulatoires chez les femmes jeunes, le produit revendiqué administré à raison de 1 comprimé (5 mg) 4 fois par jour au cours de 2 à 3 mois en association avec des produits histogènes suivant le schéma généralement admis, aboutissait à une hémostasie oestrogène. Nous avons réussi à normaliser le cycle menstruel chez pratiquement toutes les malades.

15 Chez les patientes ayant une hémorragie utérine diffuse l'administration de 10 comprimés (de 5 mg) du produit revendiqué apportait en général l'arrêt de l'hémorragie.

20 Chez les patientes, opérées dans le passé pour un syndrome de Stein-Leventhal, et qui par la suite présentaient un hypofonctionnement des ovaires après la greffe sous-cutanée des ovaires, on prescrivait le produit revendiqué à raison de 2,5 à 5 mg une fois par jour au cours de 12 à 14 jours (1^{re} phase du cycle), dans le cas d'insuffisance du fonctionnement du transplant. L'effet obtenu était net : la température basale devenait diffuse, on remarquait "l'état succulent" des muqueuses du vagin, l'index caryopictotique s'élevait, et on observait une importante augmentation du taux d'hormones oestrogènes dans le sang et les urines. Parmi les femmes traitées 21% (14 femmes) devinrent enceintes. Dans le groupe analogue de malades servant de témoins, les patientes obtenaient la microfolline dans les mêmes conditions, selon le schéma thérapeutique généralement adopté. L'analyse comparative des résultats a montré une

25

30

35

5 activité identique du produit revendiqué et de la microfolline, néanmoins le produit revendiqué agissait de façon plus douce sur l'organe-cible que la microfolline et le diéthylstilboestrol. Le produit revendiqué est bien toléré par les patientes et n'a pratiquement pas d'effet secondaire.

10 L'évolution de l'action du produit revendiqué d'après les résultats de l'examen clinique, sur les différents maillons du système hypophyse-ovaires-utérus permet de conclure que ledit produit agit essentiellement au niveau des maillons périphériques du système reproducteur et des organes cibles. Ainsi, à la suite
15 d'une cure de traitement par le produit revendiqué on constatait l'accroissement des coefficients de saturation oestrogène de l'organisme d'après les tests de diagnostic fonctionnel, alors que le taux d'hormone folliculo-stimulante (avant le traitement $7,34 \pm 1,25$ ng/ml, au cours
20 du traitement $7,95 \pm 1,03$ ng/ml, $P > 0,5$) et celui de l'hormone lutéinisante (respectivement $8,22 \pm 0,45$ ng/ml et $8,06 \pm 0,81$ ng/ml, $P > 0,5$) ne se modifiaient pas de façon significative.

25 Ainsi donc, le produit revendiqué manifeste une action oestrogène marquée. Son utilisation est particulièrement efficace en ce qui concerne le retardement du développement sexuel. Il est également efficace en tant que moyen d'induction et de régulation du cycle menstruel, ainsi que lorsqu'il est utilisé à des fins d'hémostase. Il améliore la régénération de
30 l'endomètre dans les endométrites chroniques, réduit la lactostase chez les femmes après avortement au cours du second et troisième trimestres.

35 Le produit revendiqué ne présente pas d'action secondaire significative, possède une action douce et progressivement croissante, ce qui le distingue avantageusement des médicaments connus, à savoir le diéthylstilboestrol et la microfolline.

5 Le produit revendiqué peut être administré sous
différentes formes de présentation - comprimés,
suppositoires, pilules et autres. Les doses
d'administration et de cure sont établies de façon
individuelle en fonction du type de pathologie. La dose
thérapeutique est égale à 0,005 g, la dose
10 d'administration maximum à 0,02 g, et la dose journalière
maximum à 0,05 g. Le traitement dure de 15 jours à 9
mois.

Le produit revendiqué est bien toléré par les
malades et ne provoque pas d'effets secondaires.

15 Le produit revendiqué est contre-indiqué dans
les maladies du sein et les pathologies
hormonodépendantes des organes génitaux (limome de
l'utérus, endométriose).

20

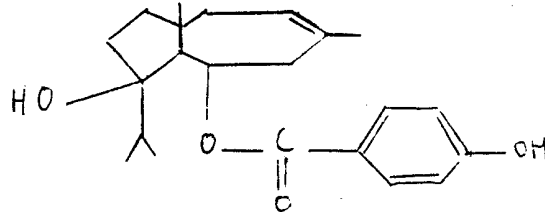
25

30

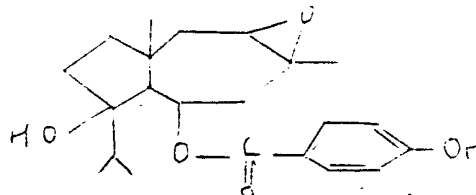
35

REVENDEICATIONS

1) Médicament à action oestrogène, comprenant une substance active et un porteur pharmaceutique, caractérisé en ce qu'il comporte à titre de substance active, un mélange d'hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 daucène 8,9 de formule suivante :



et d'hydroxy-4(4'-hydroxybenzoxy)-6 époxy-8,9 daucane de formule suivante :



2) Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il se présente sous forme de comprimé et que chaque comprimé contient la substance active à raison d'environ 0,005 grammes.

3) Médicament selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il comporte à titre de porteur pharmaceutique un excipient constitué par de l'amidon.

4) Médicament selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il comporte à titre de porteur pharmaceutique un excipient constitué par de la poudre de sucre.