

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
16 novembre 2006 (16.11.2006)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2006/120565 A2

(51) Classification internationale des brevets :

A61P 31/00 (2006.01) A61K 31/045 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01) A61K 31/05 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61K 31/4196 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/IB2006/001329

(22) Date de dépôt international : 15 mai 2006 (15.05.2006)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :

PCT/IB2005/001317 13 mai 2005 (13.05.2005) IB

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
ADVANCED SCIENTIFIC DEVELOPEMENTS
[MA/MA]; 10 Rue Louksous Quartier El Hana, 20200
CASABLANCA (MA).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : REMMAL,
Adnane [MA/MA]; Résidence Rachidia II, BP 6233
Adarissa, 30000 Fes (MA).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION

(54) Titre : COMPOSITION PHARMACEUTIQUE

(57) Abstract: The invention relates to a pharmaceutical composition. The inventive pharmaceutical composition comprises: at least one therapeutically-active substance which is selected from carveol, thymol, eugenol, borneol, carvacrol, alpha-ionone, beta-ionone and the isomers, derivatives and mixtures thereof; and at least one second therapeutically-active substance which is an antifungal agent. The invention is suitable for use in the pharmaceutical field.

(57) Abrégé : L'invention concerne une composition pharmaceutique. La composition pharmaceutique de l'invention comprend au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénole, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique. L'invention trouve application dans le domaine de la pharmacie.



WO 2006/120565 A2

Composition pharmaceutique

L'invention concerne une composition pharmaceutique comprenant deux substances thérapeutiquement actives dont l'une exerce une action de potentialisation sur l'autre, ainsi que l'utilisation de cette composition.

Il est connu que l'efficacité des agents thérapeutiques dépend des doses utilisées, ce qui oblige, dans le cas des résistances partielles à augmenter les doses des agents thérapeutiques pour atteindre l'efficacité recherchée. Cette augmentation de la dose conduit à des problèmes d'apparition d'effets secondaires indésirables et de toxicité aiguë ou chronique, pouvant compliquer considérablement l'état des patients traités.

Cette résistance partielle peut devenir une résistance totale. Dans ce cas, l'augmentation des doses n'a plus aucun effet thérapeutique bénéfique, seuls les effets de toxicité sont observés. Le traitement consiste alors à changer l'agent thérapeutique.

Cette cascade peut se répéter et conduire à la situation la plus grave : la résistance totale à de multiples agents thérapeutiques (multi-drug resistance).

Ainsi, en particulier, les malades immunodéprimés, deviennent de plus en plus difficiles à traiter et leur espérance de vie en est réduite d'autant. De plus, leur confort de vie est largement affecté par l'administration à hautes doses d'agents thérapeutiques.

L'invention a pour but de pallier ces problèmes en proposant d'associer au moins deux substances thérapeutiquement actives, dont l'une potentialise l'activité de l'autre, ce qui permet non seulement d'abaisser les doses de chaque substance thérapeutiquement active mais également de traiter les patients atteints d'infections à germes résistants.

A cet effet, l'invention propose une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend:

- au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères, dérivés et mélanges de ceux-ci, et

- au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique.

La première substance thérapeutique peut être obtenue par synthèse chimique ou à partir d'une source végétale.

5 De préférence, l'antifongique entrant dans la composition de l'invention est choisi parmi les polyènes, les imidazoles, les triazolés, les analogues nucléosidiques, les allylamines, les échinocandines, les sordarines, les morpholines, la griséofulvine, la ciclopiroxolamine, le sulfure de sélénium, et leurs mélanges.

10 Plus préférablement, l'agent antifongique est choisi parmi la nystatine, l'amphotéricine B, le kétoconazole, l'éconazole, le miconazole, le clotrimazole, le fluconazole, l'itraconazole, le voriconazole, le posaconazole, la 5-fluorocytosine, la naftafine, la terbinafine, la caspofongine, l'amorlfine, et leurs dérivés et mélanges.

15 Une composition antifongique tout particulièrement préférée est une composition dans laquelle la première substance thérapeutiquement active est le carvacrol ou l'eugénol, et l'antifongique est le fluconazole.

20 Une autre composition antifongique tout particulièrement préférée est une composition dans laquelle la première substance thérapeutiquement active est le carvacrol ou l'eugénol, et l'antifongique est choisi parmi le voriconazole, la caspofongine, l'itraconazole, la 5-fluorocytosine, et leurs mélanges.

25 L'invention propose également une trousse (kit) caractérisée en ce qu'elle contient au moins un premier récipient contenant une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et au moins un second récipient contenant une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique.

30 L'invention propose enfin une méthode de traitement d'une infection due à un champignon caractérisée en ce qu'on administre à un patient atteint d'une infection due à un champignon, de manière simultanée ou séquentielle, au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol,
35 le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et

dérivés et mélanges de ceux-ci, et au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique.

Dans cette méthode, de préférence, on administre de manière simultanée ou séquentielle à un patient atteint d'une infection due à un champignon entre 10 et 200 mg/kg de poids du patient/jour de ladite première substance thérapeutiquement active, et entre 2 et 100 mg/kg de poids du patient/jour de ladite seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique.

De préférence, dans cette méthode, ladite première substance thérapeutiquement active est choisie parmi le carvacrol, l'eugénol et le thymol et ladite seconde substance thérapeutiquement active est choisie parmi, le fluconazole, le voriconazole, l'itraconazole, la 5-fluorocytosine et la caspofongine, et leurs mélanges.

L'invention sera mieux comprise et d'autres buts et avantages de celle-ci apparaîtront plus clairement à la lecture de la description explicative qui suit et qui est faite en référence aux figures dans lesquelles :

- la figure 1 montre les résultats des tests cinétiques de l'action fongicide, sur une culture de *C.albicans*, du fluconazole seul, du carvacrol seul par rapport à une composition pharmaceutique selon l'invention contenant du fluconazole et du carvacrol, et
- la figure 2 montre les résultats des tests *in vivo* sur un modèle de candidose systémique chez des souris expérimentalement infectées et soit non traitées, soit traitées avec du fluconazole seul, soit traitées avec du carvacrol seul, soit traitées avec une composition pharmaceutique selon l'invention contenant du fluconazole et du carvacrol.

La composition pharmaceutique de l'invention comprend en tant que première substance thérapeutiquement active le thymol, l'eugénol, le carvacrol, le bornéol, le carvéol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et leurs dérivés et isomères ainsi que leurs mélanges éventuels.

Ces composés ont des propriétés antifongiques bien connues en eux-mêmes et doivent être purs.

Le thymol, l'eugénol, le carvacrol, le bornéol, le carvéol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone se trouvent en proportions variées dans différents extraits de plantes aromatiques, c'est-à-dire qu'ils peuvent être purifiés à

partir de ces plantes. Cependant, ils peuvent être tout simplement obtenus par synthèse chimique.

Or, les inventeurs ont maintenant découvert que ces composés ont un effet de potentialisation sur de nombreuses substances
5 thérapeutiquement actives dont les agents antifongiques connus et déjà utilisés en tant que médicaments spécifiques de cette spécialité.

La seconde substance thérapeutiquement active comprise dans la composition pharmaceutique de l'invention est donc un antifongique, qui est déjà connu en tant que tel et déjà utilisé en tant que médicament
10 spécifique de cette spécialité et dont l'activité est potentialisée.

Des exemples d'antifongiques connus et déjà utilisés en tant que médicaments spécifiques de cette spécialité qui peuvent être utilisés dans la composition pharmaceutique de l'invention, et dont l'effet sera potentialisé par la première substance pure thérapeutiquement active,
15 appartiennent à trois familles : la famille des pyrimidines représentées par la 5-fluorocytosine, la famille des azolés représentés par le fluconazole, le voriconazole, l'itraconazole et la famille des échinocandines représentées par la caspofongine.

Ces composés peuvent être utilisés seuls, ou en combinaison l'un avec l'autre. Leurs dérivés, s'ils ont une activité antifongique, sont également utilisables.
20

On préfère tout particulièrement le fluconazole, le voriconazole, la caspofongine et la 5-fluorocytosine utilisées en combinaison avec tout particulièrement le carvacrol, l'eugénol et/ou le thymol.

Bien entendu, la composition pharmaceutique de l'invention n'est pas limitée à l'utilisation des seuls antifongiques cités ci-dessus. En effet, étant donné l'effet potentialisateur exercé par la première substance thérapeutiquement active définie dans l'invention, d'autres antifongiques connus ou à venir pourront également être utilisés avec succès.
25

La composition pharmaceutique selon l'invention peut être formulée sous une forme adaptée pour une administration simultanée ou séquentielle desdites au moins première et seconde substances thérapeutiquement actives.
30

La forme galénique de la composition pharmaceutique de l'invention sera adaptée à son utilisation. Par exemple, elle pourra être
35

utilisée sous la forme de solution, de suspension, de cachet ou autres. Les compositions pour administration parentérale sont généralement des solutions ou des suspensions stériles pharmaceutiquement acceptables qui peuvent éventuellement être préparées extemporanément au moment de l'emploi.

Pour la préparation de solutions ou de suspensions non aqueuses, on peut utiliser des huiles végétales naturelles telles que l'huile d'olive, l'huile de sésame ou l'huile de paraffine ou les esters organiques injectables tels que l'oléate d'éthyle. Les solutions stériles aqueuses peuvent être constituées d'une solution des substances thérapeutiquement actives dans l'eau. Les solutions aqueuses conviennent pour l'administration intraveineuse dans la mesure où le pH est convenablement ajusté et où l'isotonicité est réalisée, par exemple par ajout d'une quantité suffisante de chlorure de sodium ou de glucose.

En effet, étant donné la structure chimique des antifongiques, et d'autre part, vu la structure chimique du carvéol, du carvacrol, du thymol, de l'eugénol, du bornéol, de l'alpha-ionone et de la bêta-ionone, on pense, mais sans vouloir être lié par cette théorie, que le carvéol, le carvacrol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone et leurs isomères, dérivés, et mélanges, interagissent avec les antifongiques, pour former des complexes ayant une structure qui diffuse plus facilement dans les liquides physiologiques de l'organisme et qui diffuse plus facilement dans le cytoplasme des cellules infectées ciblées.

Mais, il a été démontré que lorsque les différents éléments de la composition pharmaceutique de l'invention sont mélangés en présence de détergents tels que le Tween ou le Triton ou de dissolvants tels que l'éthanol et le DMSO (diméthyl sulphoxide), les molécules actives de la première et de la seconde substance thérapeutiquement active s'associent avec les molécules de détergents et de dissolvants et ne forment pas de complexe de potentialisation.

Or on a découvert que le complexe de potentialisation se forme lorsqu'on utilise une suspension aqueuse d'agar, en tant que moyen de dispersion par viscosité.

Ainsi, la composition pharmaceutique de la présente invention serait de préférence préparée sans détergent et sans solvant. Par

exemple, elle sera mise en suspension aqueuse rendue visqueuse par de l'agar à une concentration non gélifiante, par exemple de 1 à 5 grammes d'agar par litre de suspension.

La composition pharmaceutique de l'invention permet de traiter
5 des infections localisées ou systémiques à germes résistants avec des doses plus faibles de chacune desdites première et seconde substances thérapeutiquement actives que les doses nécessaires au traitement des mêmes infections à germes sensibles, par l'une ou l'autre de ces mêmes
10 dites première et seconde substances thérapeutiquement actives seules. En effet, la composition de l'invention permet d'utiliser des doses de ladite première substance thérapeutiquement active, lorsque en combinaison avec ladite seconde substance thérapeutiquement active, environ trois à dix fois inférieures à celles nécessaires lorsque ladite première substance thérapeutiquement active est utilisée seule et des
15 doses de ladite seconde substance thérapeutiquement active, lorsque en combinaison avec ladite première substance thérapeutiquement active, de deux à dix fois inférieures à celles nécessaires lorsque ladite seconde substance thérapeutiquement active est utilisée seule.

Ceci a pour conséquence d'offrir un traitement qui présente les
20 avantages suivants:

- efficacité contre les germes sensibles avec des doses très faibles,
- efficacité contre les germes résistants à un agent thérapeutique,
- efficacité contre les germes résistants à plusieurs agents thérapeutiques,
- 25 - lutte contre les phénomènes de récurrence,
- lutte contre les phénomènes de sélection de germes résistants.

Dans tous ces cas, il y a une diminution remarquable des risques de toxicité et/ou d'apparition d'effets secondaires indésirables bien connus de l'homme du métier, grâce à la potentialisation qui permet
30 l'administration de doses très faibles.

De plus, il en résulte une diminution du coût de production du traitement étant donné la faible quantité de principes actifs utilisés.

Les compositions pharmaceutiques de l'invention peuvent se présenter sous la forme de liposomes ou sous forme d'association avec
35 des supports tels que les cyclodextrines ou les polyéthyléneglycols.

Les compositions pharmaceutiques de l'invention représentent un moyen simple et efficace pour lutter contre les problèmes liés aux agents microbiens en général qui sont essentiellement la résistance aux agents thérapeutiques et la toxicité de ceux-ci générée par l'utilisation de fortes doses.

En effet, le carvéol, le thymol, l'éugénol, le bornéol, le carvacrol et leurs dérivés et, mélanges et isomères, sont des molécules simples n'ayant jamais été décrites comme ayant une toxicité quelconque et leur ajout ayant un effet potentialisateur sur la seconde substance thérapeutiquement active permet d'utiliser des doses beaucoup plus faibles de cette seconde substance thérapeutiquement active.

Le procédé de traitement des patients atteints d'une infection fongique consistera donc, dans une première variante, à administrer à ces patients la dose déterminée par le médecin de la composition pharmaceutique de l'invention contenant les doses appropriées de ladite au moins une première substance thérapeutiquement active, combinées aux doses appropriées de ladite au moins une seconde substance thérapeutiquement active, c'est-à-dire l'antifongique approprié.

Dans une seconde variante, le procédé de traitement des patients atteints d'une infection fongique consistera à administrer à ces patients séquentiellement la dose déterminée par le médecin de ladite au moins une première substance thérapeutiquement active, puis la dose appropriée de ladite au moins une seconde substance thérapeutiquement active, c'est-à-dire l'antifongique approprié, ou l'inverse.

A cet effet, l'invention propose une trousse contenant, au moins un premier récipient contenant une desdites premières substances thérapeutiquement actives, et au moins un second récipient contenant une desdites secondes substances thérapeutiquement actives.

Cette trousse permettra au personnel soignant de préparer à la demande soit un mélange, des doses appropriées, de(s) la première(s) substance thérapeutique voulue(s) et de(s) l'antifongique(s) voulu(s), pour une administration simultanée, soit d'administrer séquentiellement et de façon séparée la dose appropriée de ladite au moins une première substance thérapeutiquement active, puis la dose appropriée de ladite au moins une seconde substance thérapeutiquement active, c'est-à-dire

l'antifongique approprié, ou l'inverse. Cependant, on préférera utiliser un mélange pour utilisation simultanée pour permettre au complexe de potentialisation de se former et d'agir immédiatement dès l'administration au patient.

- 5 Pour mieux faire comprendre l'invention, on va maintenant décrire à titre d'exemples purement illustratifs et non limitatifs plusieurs modes de mise en oeuvre.

10 **EXEMPLE 1: Traitement de différentes souches de *Candida albicans* par le fluconazole potentialisé par le carvacrol (Fluc P)**

Tests in vitro : Détermination de la concentration minimale Fongicide (CMF) sur différentes souches de *Candida Albicans*

- 15 L'expérience a été menée avec plusieurs souches de *Candida Albicans* de sensibilités différentes isolées en milieu hospitalier au niveau buccal, vaginal et digestif. L'agent anti-fongique est le fluconazole qui est de la famille des dérivés azolés et qui fait partie des agents antifongiques les plus efficaces et les plus utilisés sur le marché. Une composition
20 pharmaceutique antifongique a été fabriquée en mélangeant le fluconazole à différentes concentrations avec le carvacrol à une concentration infra inhibitrice de 0,3 gramme pour 1 l de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée FLUC-P pour fluconazole potentialisé. Dans chaque cas, l'activité
25 antifongique a été testée soit avec du fluconazole seul, soit avec du carvacrol seul soit avec de la composition selon l'invention.

Le tableau 1 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale fongicide (CMF en µg/ml).

30

35

Tableau 1

<i>Candida albicans</i> en phase de croissance exponentielle	Fluconazole Seul	Composition selon l'invention	Carvacrol seul
	CMF ($\mu\text{g/ml}$)	CMF ($\mu\text{g/ml}$)	CMF ($\mu\text{g/ml}$)
Souche sensible	0,5	/	1000
Souche moyennement résistante	150	10	1000
Souche à forte résistance	>300	10	1000

Il apparaît du tableau 1 que la composition selon l'invention a une action fongicide remarquable sur ces souches de sensibilités variables, en comparaison au fluconazole seul ou au carvacrol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 1 que la composition de l'invention a une action fongicide remarquable sur ces souches de sensibilité variable, comparé au fluconazole seul ou au carvacrol seul.

En effet, on constate, qu'en utilisant une concentration de 0,3 mg/ml de carvacrol, soit environ une concentration environ 3 fois inférieure à la CMF du carvacrol seul, la concentration en fluconazole permettant d'obtenir une efficacité fongicide est de 15 à 30 fois inférieure à la CMF du fluconazole seul.

Tests cinétiques

Des tests cinétiques ont été aussi menés pour comparer les actions fongicides sur une souche de *C. Albicans* à forte résistance du fluconazole seul à une concentration de 300 $\mu\text{g/ml}$, du carvacrol seul à une concentration de 300 $\mu\text{g/ml}$ et de la composition selon l'invention contenant 150 $\mu\text{g/ml}$ de fluconazole et 300 $\mu\text{g/ml}$ de carvacrol. Le nombre d'unités formant colonie, noté UFC, est mesuré dans le temps.

Les résultats sont montrés en figure 1. Il apparaît clairement de la figure 1 que seule la composition selon l'invention a une action probante sur cette souche de forte résistance.

Tests in vivo :

Des lots de 15 souris ont été expérimentalement infectées par injection intraveineuse par 10 000 000 de cellules (Unités Formant
5 Colonie) de *Candida Albicans* moyennement résistantes au flucaonazole.

Le premier lot est constitué de souris témoins infectées non traitées.

Le deuxième lot est constitué de souris infectées et traitées par gavage, 24 h après l'infection, par du fluconazole seul à raison de
10 4 mg/jour par Kg de poids des animaux.

Le troisième lot est constitué de souris infectées et traitées par gavage, 24 h après l'infection, par du carvacrol seul à raison de 30 mg/jour par Kg de poids des animaux.

Le quatrième lot est constitué de souris infectées et traitées par gavage, 24 h après l'infection, à raison de 2 mg de fluconazole/kg de poids et 30 mg de carvacrol /kg de poids de souris.
15

Le traitement est de 7 jours pour les animaux qui restent en vie. On mesure dans le temps le pourcentage de souris survivantes. Les résultats de ces tests sont présentés en figure 2.

20 La figure 2 montre que seules les souris traitées avec la composition pharmaceutique sont encore vivantes dix jours après l'infection. Toutes les autres meurent entre le deuxième et le septième jour après l'infection.

La recherche de *Candida albicans* dans les organes des animaux morts pendant l'expérience (souris non traitées et souris traitées par le fluconazole seul ou le carvacrol seul) montre une forte charge du germe au niveau des reins, des poumons et de la moelle osseuse.
25

Par contre les animaux traités avec la composition selon l'invention sacrifiés entre 1 et 10 jours après l'arrêt du traitement montrent une absence du germe au niveau des poumons et de la moelle osseuse.
30

Au niveau des reins, deux animaux seulement portaient encore une très faible charge de *Candida albicans* équivalente à 5 % de la charge obtenue chez les animaux du lot témoin. Les autres animaux traités avec la composition selon l'invention n'avaient plus de charge fongique au
35 niveau des reins.

Là encore, il apparaît clairement que la potentialisation du fluconazole par le carvacrol, permet d'obtenir des résultats surprenants quant à la diminution de la concentration minimale fongicide et à la vitesse d'action *in vitro*.

5 Cette potentialisation est retrouvée *in vivo* sur un modèle d'infection systémique.

Or, l'infection systémique représente une des formes d'infections les plus sévères qui menacent le plus la vie des patients et les plus difficiles à traiter surtout en cas de récurrence avec des germes de plus en plus
10 résistants.

D'autres résultats montrent que la composition selon l'invention contenant du fluconazole et du carvacrol donne des effets thérapeutiques surprenants à des doses au moins deux fois plus faibles que les doses nécessaires pour traiter les infections expérimentales localisées (vaginale
15 et buccale), chez le rat et la souris.

EXEMPLE 2 : Traitement de différentes souches de *Candida albicans* par du voriconazole potentialisé par le carvacrol (Vorico-P)

20 L'expérience a été menée avec plusieurs souches de *Candida albicans* de sensibilités différentes isolées en milieu hospitalier. L'agent antifongique est le voriconazole qui est de la famille des azolés et qui fait partie des agents antifongiques les plus récemment mis sur le marché. Une
25 composition pharmaceutique antifongique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant le voriconazole à différentes concentrations avec le carvacrol à une concentration infra inhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Vorico-P, pour voriconazole potentialisé. Dans chaque cas, l'activité
30 antifongique a été testée soit avec du voriconazole seul, soit avec du carvacrol seul, soit avec la composition selon l'invention.

Le tableau 2 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration
35 minimale fongicide (CMF) en µg/ml.

Tableau 2

<i>Candida albicans</i> en phase de croissance exponentielle	Voriconazole seul	Vorico-P	Carvacrol seul
	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	CMF ($\mu\text{g/ml}$)	CMF ($\mu\text{g/ml}$)
Souche sensible	< 0,05	/	1000
Souche résistante	10	< 1	1000

Il apparaît du tableau 2 que la composition selon l'invention a une action fongicide remarquable sur la souche résistante au voriconazole en comparaison au voriconazole seul ou au carvacrol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 2 qu'en utilisant le carvacrol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 3,3 fois plus faible que la CMF du carvacrol seul, la concentration en voriconazole permettant d'obtenir une efficacité fongicide sur les souches résistantes est au moins dix fois inférieure à la concentration de voriconazole seul capable d'exercer une action fongistatique.

Ainsi, on constate que la potentialisation du voriconazole par le carvacrol permet non seulement de réduire considérablement la dose de voriconazole mais aussi de transformer son action fongistatique en une action fongicide.

EXEMPLE 3: Traitement de différentes souches de *Candida albicans* par de la caspofongine potentialisée par le carvacrol (Casp-P)

L'expérience a été menée avec plusieurs souches de *Candida albicans* de sensibilité différente isolées en milieu hospitalier. L'agent antifongique est la caspofongine qui est de la famille des échinocandines et qui fait partie des agent antifongiques les plus récemment mis sur le marché. Une composition pharmaceutique antifongique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant la caspofongine à différentes concentrations avec le carvacrol à une concentration infra inhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention

est notée Caspo-P, pour caspofongine potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antifongique a été testée soit avec de la caspofongine seule, soit avec du carvacrol seul, soit avec la composition selon l'invention.

- 5 Le tableau 3 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) en µg/ml.

Tableau 3

10

<i>Candida albicans</i> en phase de croissance exponentielle	caspofongine seule	Caspo-P	Carvacrol seul
	CMI (µg/ml)	CMF (µg/ml)	CMF (µg/ml)
Souche sensible	< 0,05	/	1000
Souche résistante	3	< 0,5	1000

Il apparaît du tableau 3 que la composition selon l'invention a une action fongicide remarquable sur la souche résistante en comparaison à la caspofongine seule ou au carvacrol seul.

- 15 En effet, on constate à la lecture du tableau 3 qu'en utilisant le carvacrol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 3,3 fois plus faible que la CMF du carvacrol seul, la concentration en caspofongine permettant d'obtenir une efficacité fongicide est au moins six fois inférieure à la concentration de caspofongine seule capable d'exercer une action
- 20 fongistatique.

Ainsi, on constate que la potentialisation de la caspofongine par le carvacrol permet non seulement de réduire considérablement la dose de caspofongine mais aussi de transformer son action fongistatique en une action fongicide.

25

EXEMPLE 4: Traitement de différentes souches de *Candida albicans* par de la 5-fluorocytosine potentialisée par l'eugénol, notée Fluoro-P

5 L'expérience a été menée avec plusieurs souches de *Candida albicans* de sensibilité différente isolées en milieu hospitalier. L'agent antifongique est la 5-fluorocytosine qui est de la famille des pyrimidines et qui fait partie des agents antifongiques les plus anciens. Une composition pharmaceutique antifongique selon l'invention a été fabriquée en
10 mélangeant la 5-fluorocytosine à différentes concentrations avec l'eugénol à une concentration infra inhibitrice de 0,5 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Fluoro-P, pour 5-fluorocytosine potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antifongique a été testée soit avec de la 5-fluorocytosine seule, soit avec de
15 l'eugénol seul, soit avec la composition selon l'invention.

Le tableau 4 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) en µg/ml.

20

Tableau 4

<i>Candida albicans</i> en phase de croissance exponentielle	5-fluorocytosine seule	Fluoro-P	Eugénol seul
	CMI (µg/ml)	CMF (µg/ml)	CMF (µg/ml)
Souche sensible	2,5	/	2000
Souche résistante	25	5	2000

25 Il apparaît du tableau 4 que la composition selon l'invention a une action fongicide remarquable sur la souche résistante en comparaison à la 5-fluorocytosine seule ou à l'eugénol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 4 qu'en utilisant l'eugénol à 0,5 mg/ml soit à une concentration quatre fois plus faible que la CMF de l'eugénol seul, la concentration en 5-fluorocytosine permettant

d'obtenir une efficacité fongicide est cinq fois inférieure à la concentration de 5-fluorocytosine seule capable d'exercer une action fongistatique.

Ainsi, on constate que la potentialisation de la 5-fluorocytosine par l'eugénol permet non seulement de réduire considérablement la dose de 5-fluorocytosine mais aussi de transformer son action fongistatique en une action fongicide.

EXEMPLE 5: Elargissement du spectre d'action du Fluconazole potentialisé par le carvacrol pour agir sur différentes souches d'*Aspergillus niger*

L'expérience a été menée avec plusieurs souches d'*Aspergillus niger* insensibles au fluconazole. L'agent antifongique est le fluconazole qui est de la famille des azolés et qui fait partie des agents antifongiques les plus utilisés. Le plus grand inconvénient du fluconazole est qu'il n'agit pas sur les infections dues à des champignons filamenteux. Les infections les plus courantes et les plus difficiles à traiter sont les aspergilloses dues au germes de la famille *Aspergillus sp.* Une composition pharmaceutique antifongique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant le fluconazole à différentes concentrations avec le carvacrol à une concentration infra inhibitrice de 0,25 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Fluc-P, pour fluconazole potentialisé. Dans chaque cas, l'activité antifongique a été testée soit avec de le fluconazole seul, soit avec de le carvacrol seul, soit avec la composition selon l'invention.

Le tableau 5 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) en µg/ml.

Tableau 5

<i>Candida albicans</i> en phase de croissance exponentielle	Fluconazole seul	Fluc-P	Carvacrol seul
	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	CMF ($\mu\text{g/ml}$)	CMF ($\mu\text{g/ml}$)
12 Différentes souches d' <i>Aspergillus niger</i>	> 1000	150	500

Il apparaît du tableau 5 que la composition selon l'invention a une action fongicide remarquable sur les souches d'*Aspergillus niger* en comparaison au fluconazole seul ou au carvacrol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 5 qu'en utilisant le carvacrol à 0,25 mg/ml soit à une concentration deux fois plus faible que la CMF du carvacrol seul mélangé avec le fluconazole à 150 $\mu\text{g/ml}$, nous arrivons à obtenir une efficacité fongicide remarquable que le fluconazole seul est incapable d'exercer même à la concentration de 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Ainsi, on constate que la potentialisation du fluconazole par le carvacrol permet non seulement de réduire considérablement la dose de fluconazole avec les espèces habituellement traitées au fluconazole, mais aussi d'élargir son spectre d'action aux champignons filamenteux du genre *aspergillus* normalement insensibles au fluconazole.

La méthode de traitement d'une affection fongique consistera à administrer, à un patient atteint d'une affection fongique, de manière simultanée ou séquentielle la dose déterminée par le médecin d'au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et la dose déterminée d'au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un agent antifongique.

Généralement, on administrera au patient atteint d'une affection due à des champignons, de manière simultanée ou séquentielle entre 1 et 3 000 mg/kg de poids du patient/jour d'au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le

bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et entre 1 et 20 mg/kg de poids du patient/jour d'au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un agent antifongique.

5 En effet, l'utilisation d'une quantité inférieure à 1 mg/kg de poids du patient/jour de ladite première substance thérapeutiquement active, en particulier du carvacrol, ne permet pas d'obtenir l'effet de potentialisation voulu.

10 En revanche, l'utilisation d'une quantité supérieure à 3 000 mg/kg de poids du patient/jour de ladite première substance thérapeutiquement active, en particulier du carvacrol, ne permet pas d'augmenter l'effet de potentialisation et rapproche des risques de toxicité.

15 De la même façon, l'utilisation d'une quantité inférieure à 1 mg/kg de poids du patient/jour de ladite seconde substance thérapeutiquement active qui est un agent antifongique, en particulier de fluconazole, ne permet pas d'obtenir l'effet thérapeutique voulu et l'utilisation d'une quantité supérieure à 20 mg/kg de poids du patient/jour, en particulier de fluconazole, ne permet pas d'améliorer l'effet thérapeutique et augmente le risque de toxicité.

20 Ainsi, de préférence, on administre à un patient atteint d'une affection due à des champignons, de manière simultanée ou séquentielle, 30 mg/kg de poids du patient/jour d'au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et 2 mg/kg de poids du patient/jour d'au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un agent antifongique.

30 Plus particulièrement, dans le cas d'une affection due à *Candida Albicans*, on administre au patient, de manière simultanée ou séquentielle :

- 30 mg/kg de poids du patient/jour de carvacrol, et
- 2 mg/kg de poids du patient/jour de fluconazole.

35 Bien entendu, l'invention n'est nullement limitée aux modes de réalisations qui ont été décrits et illustrés et qui n'ont été donnés qu'à titre d'exemples.

Au contraire, l'invention comprend tous les équivalents techniques des moyens décrits ainsi que leurs combinaisons si celles-ci sont effectuées suivant son esprit.

REVENDEICATIONS

1. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend :

- 5 - au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et
- au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un
10 antifongique.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que la première substance thérapeutique est obtenue par synthèse chimique ou à partir d'un composé naturel.

15

3. Composition selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que l'antifongique est choisi parmi les Pyrimidines en particulier la 5-fluorocytosine, la famille des azolés, en particulier le fluconazole, le voriconazole, l'itraconazole et la famille des échinocandines, en particulier
20 la caspofongine.

4. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'antifongique est choisi parmi la 5-fluorocytosine, le fluconazole, le voriconazole, l'itraconazole ou la
25 caspofongine.

5. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est le carvacrol et l'antifongique est le
30 fluconazole.

6. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est l'eugénol et l'antifongique est le fluconazole.

35

7. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est l'eugénol ou le carvacrol, et l'antifongique est choisi parmi le voriconazole, la 5-fluorocytisine, la caspofongine, et leurs mélanges.

5

8. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que lesdites première et seconde substances thérapeutiquement actives sont mises en suspension dans une solution aqueuse d'agar.

10

9. Trousse caractérisée en ce qu'elle contient :

- au moins un premier récipient contenant une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et
- au moins un second récipient contenant une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique.

15

10. Méthode de traitement d'une infection due à un champignon caractérisée en ce qu'on administre à un patient atteint d'une infection due à un champignon, de manière simultanée ou séquentielle:

20

- au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et

25

- au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique.

11. Méthode selon la revendication 10, caractérisée en ce qu'on administre de manière simultanée ou séquentielle, à un patient atteint d'une infection due à un champignon :

30

- entre 10 et 200 mg/kg de poids du patient/jour de ladite première substance thérapeutiquement active, et
- entre 2 et 100 mg/kg de poids du patient/jour de ladite seconde substance thérapeutiquement active qui est un antifongique.

35

12. Méthode selon la revendication 10 ou 11, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est choisie parmi le carvacrol, l'eugénol ou le thymol et ladite seconde substance thérapeutiquement active est le fluconazole, la caspofongine, le voriconazole ou la 5-fluorocytosine.

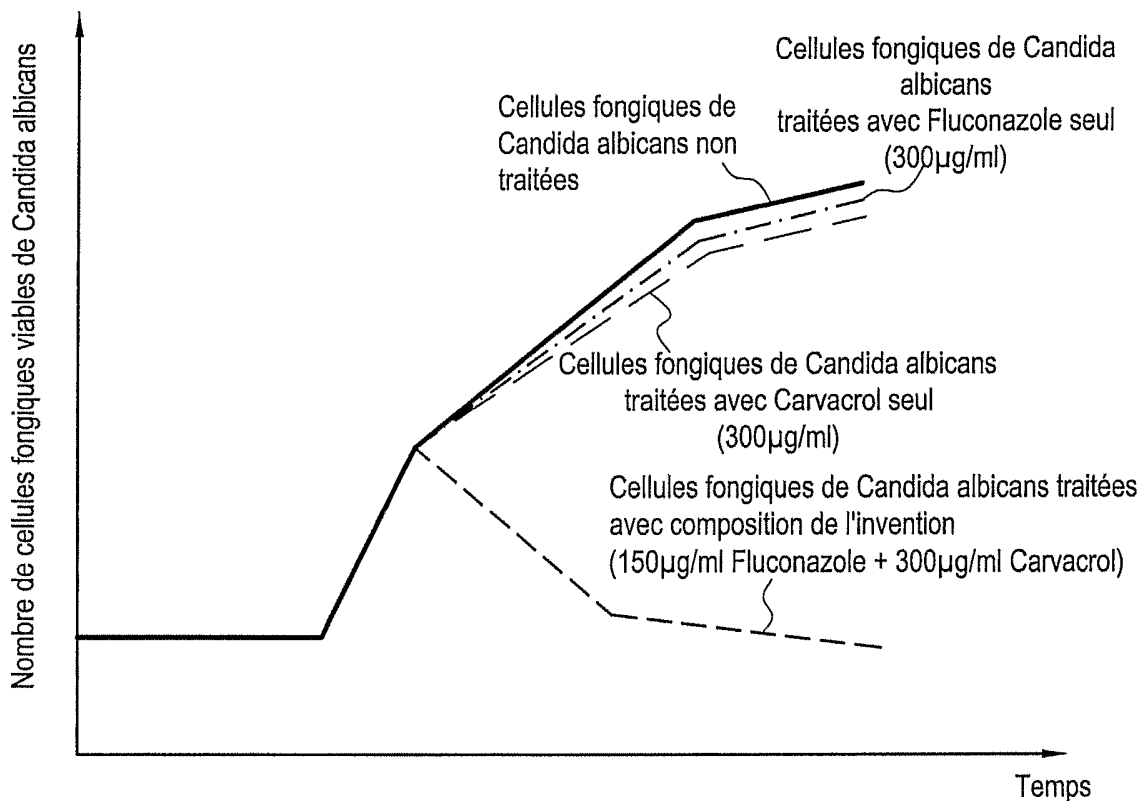


FIG.1

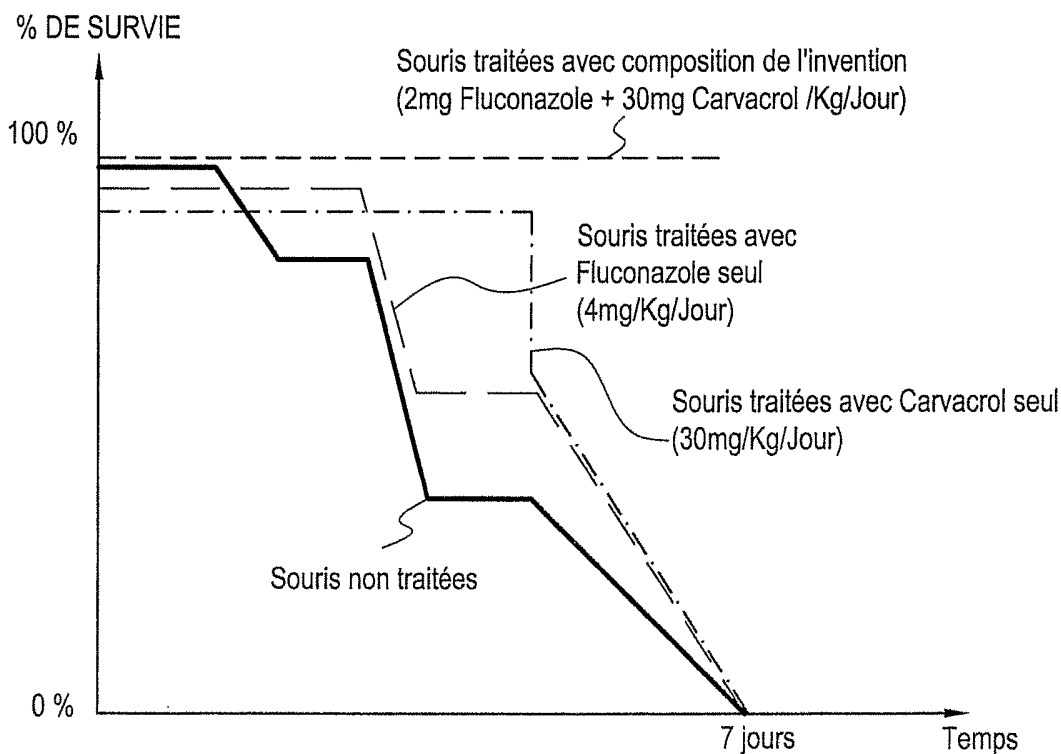


FIG.2