

①⑨ **RÉPUBLIQUE FRANÇAISE**
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① **N° de publication :** **2 595 571**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① **N° d'enregistrement national :** **87 01180**

⑤① **Int Cl⁴ :** **A 61 K 31/47, 31/48, 37/02.**

①② **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION** **A1**

②② **Date de dépôt :** 29 janvier 1987.

③③ **Priorité :** GB, 31 janvier 1986, n° 8602372.

④③ **Date de la mise à disposition du public de la
demande :** BOPI « Brevets » n° 38 du 18 septembre 1987.

⑥③ **Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :**

⑦① **Demandeur(s) :** *Société dite : SANDOZ S.A., Société par
actions. — CH.*

⑦② **Inventeur(s) :** Douglas Larson.

⑦③ **Titulaire(s) :**

⑦④ **Mandataire(s) :** Sandoz Huningue S.A.

⑤④ **Agents immuno-suppresseurs.**

⑤⑦ On a découvert que les quinoléines de faible poids moléculaire, par exemple les ergolines, présentent des propriétés immuno-suppressives. Ces quinoléines conviennent en particulier pour la préparation de compositions pharmaceutiques convenant pour une coadministration avec un autre agent immuno-suppresseur, afin de diminuer les effets secondaires provoqués par l'autre agent immuno-suppresseur.

FR 2 595 571 - A1

La présente invention se rapporte à des agents immuno-suppresseurs qui sont des dérivés de la quinoléine.

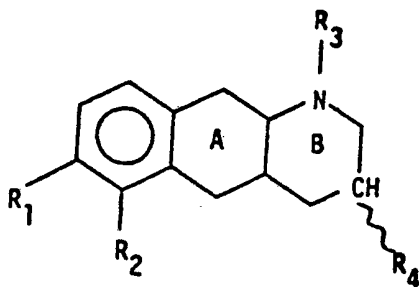
Il a maintenant été montré que les dérivés de la quinoléine de faible poids moléculaire présentent une
5 activité immuno-suppressive et peuvent être administrés seuls, ou, par exemple, administrés conjointement avec un agent immuno-suppresseur, par exemple une cyclosporine, ce qui permet de réduire le dosage de l'agent immuno-suppresseur.

10 Dans ce qui suit, ces dérivés de la quinoléine sont désignés comme étant les composés de l'invention. La présente invention propose, suivant l'un de ses aspects, l'utilisation d'un composé de l'invention dans la préparation d'une composition pharmaceutique immuno-
15 suppressive. Ces composés peuvent être utilisés, par exemple, sous la forme de bases libres ou sous la forme de sels d'addition d'acides pharmaceutiquement acceptables, par exemple, chlorhydrate, maléate ou mésylate.

Les composés de l'invention peuvent comprendre un
20 noyau comportant, par exemple, jusqu'à 4 cycles condensés, y compris la fraction quinoléine. Le noyau peut porter des substituants, par exemple, des chaînes latérales. Les composés sont de faible poids moléculaire en ce sens que chaque chaîne latérale ne contient pas de cycles condensés.

25 Comme exemples de dérivés de la quinoléine à faible poids moléculaire, on peut citer les benzoquinoléines, en particulier celles qui correspondent à la formule I

30



dans laquelle

les cycles condensés A et B sont à jonction trans et

R₁ et R₂ représentent, indépendamment l'un de l'autre, l'hydrogène ou un groupe hydroxy ou méthoxy, R₁ et R₂ ne pouvant représen-
 5 ter tous les deux l'hydrogène,

R₃ représente l'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁-C₄,

R₄ représente un groupe -COOH, -CH₂OR₅, -CH₂CN, -CON(R₆)R₇,
 -CH₂SR₈, -NHSO₂N(R₉)R₁₀ ou -NHCON(R₉)R₁₀,

R₅ représente l'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁-C₃,

10 R₇ représente l'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁-C₃, phényle ou pyridyle, ledit groupe phényle ou pyridyle étant éventuellement substitué par des halogènes ou des groupes méthyle ou méthoxy, ou bien

R₆ et R₇ représentent ensemble un groupe -(CH₂)₄-, -(CH₂)₅- ou

15 -(CH)₂-O-(CH₂)₂-,

R₈ représente un groupe alkyle en C₁-C₄ ou un groupe pyridyle, ledit groupe pyridyle étant éventuellement substitué par des halogènes ou des groupes méthyle ou méthoxy, et

R₉ et R₁₀ représentent, indépendamment l'un de l'autre, l'hydro-
 20 gène ou un groupe alkyle en C₁-C₃, ou bien représentent ensemble un groupe -(CH₂)₄- ou -(CH₂)₅-,

ainsi que les esters physiologiquement hydrolysables et acceptables de ces composés.

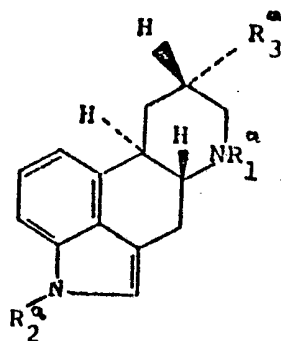
25 Ces composés sont connus et sont décrits par exemple dans la demande de brevet européen n° 77754, dont le contenu est incorporé dans la présente demande à titre de référence.

Parmi ces composés, le composé préféré est le N,N-diéthyl-N'-[(3 α ,4 α ,10 α)-1,2,3,4,4a,5,10,10a-octahydro-6-hydroxy-1-propyl-3-benzo[g]quinol[é]nyl] sulfamide, également connu sous le
 30 nom de CV (désigné ci-après composé A), utilisé de préférence sous forme de chlorhydrate.

Les composés préférés sont les dérivés de l'ergot à faible poids moléculaire, c'est-à-dire les composés qui ne comprennent pas de reste peptidique en position 8, plus précisément non ergopepti-

diques. Ils peuvent comporter en position 8 par exemple un groupe amino, par exemple un reste acylamino, uréido ou sulfamino, ou bien un reste thiométhyle qui peut être substitué par exemple par un ou, si nécessaire, deux groupes alkyle en C₁-C₄. Avantageusement, ces composés ont une simple liaison en position 9,10 du noyau ergoline.

Les composés préférés sont les 8 α -sulfamoylamino-ergolines. Ces composés peuvent avoir la structure de base répondant à la formule



Ia

dans laquelle

R₁^a représente entre autres un groupe alkyle en C₁-C₄,

R₂^a représente entre autres H ou un groupe alkyle en C₁-C₄,

R₃^a représente entre autres un groupe -NHSO₂N(alkyl en C₁-C₄)₂.

Les exemples préférés comprennent:

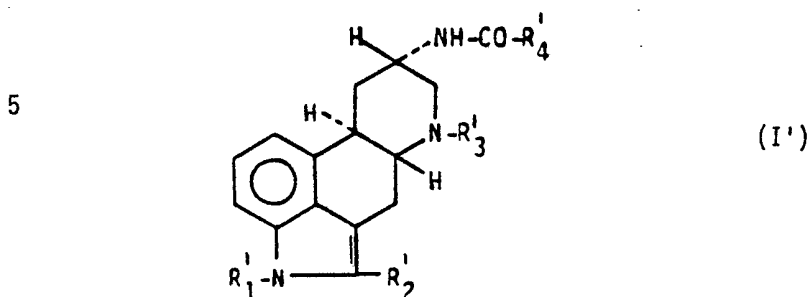
- a) la 1,6-diméthyl-8 α -(N,N-diméthylsulfamoylamino)-ergoline (également connue sous le nom de «Mesulergine», désignée ci-après composé B) ;
- b) la 6-n-propyl-8 α -(N,N-diéthylsulfamoylamino)-ergoline (N,N-diéthyl-N'-(6-propylergolin-8 α -yl)sulfamide), utilisée de préférence sous la forme de son chlorhydrate, également connue sous la dénomination «CQP», (désignée ci-après composé C);
- c) le N,N-diéthyl-N'-[(8 α)-1-éthyl-6-méthyl-ergolin-8-yl]-sulfamide, utilisé, de préférence, sous la forme de son chlorhydrate, (désigné ci-après composé D).

L'exemple que l'on préfère le plus est (b), c'est-à-dire le composé C.

D'autres composés préférés sont les suivants:

- 5 1) la 3-(9,10-didéhydro-6-méthyl-ergoline-8 α -yl)-1,1-diéthyl-urée (également connue sous le nom de Lisuride, utilisée de préférence sous forme d'hydrogénomaléate);
- 2) la 6-n-propyl-8 β -méthylthiométhyl-ergoline (également connue sous le nom de Pergolide, utilisée de préférence sous forme de mésylate);
- 10 3) le transhydrolisuride également connu sous le nom de Terguride et ayant la dénomination chimique 3-(6-méthyl-ergoline-8 α -yl)-1,1-diéthylurée, décrit par exemple dans les demandes de brevet allemand n° 3135305 et 3124714;
- 15 4) le 6-n-propyldihydro-lisuride, également connu sous le nom de proterguride et ayant la dénomination chimique 3-(6-n-propyl-ergoline-8 α -yl)-1,1-diéthyl-urée;
- 20 5) les dérivés substitués en position 6 et 2, par exemple les dérivés 6-n-propyl et/ou 2-méthyl ou 2-bromo du terguride, du lisuride et du proterguride, décrits par exemple dans les demandes de brevet européen n° 21206 et 160842 dont le contenu est incorporé dans la présente demande à titre de référence. Les exemples comprennent le 2-bromerguride, également connu sous le nom de 2-bromolisuride, utilisé de préférence sous forme de chlorhydrate;
- 25 6) la metergoline, ou ester benzylique de la (+)-N-(carboxy)-1-méthyl-9,10-dihydrolysergamine;
- 7) le dosergoside, ou N-(1S,2R,3E)-2-hydroxy-1-(hydroxyméthyl)-3-heptadécenyl)-6-méthylergoline-8- β -carboxamide;
- 30 8) le FCE-21336, ou 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl)-3-(6-allyl-ergoline-8'- β -carbonyl)-urée, utilisé de préférence sous forme de diphosphate;
- 9) le GYKI-32887, ou 6-méthyl-8-(N-mésyl-N-2-azidoéthyl)-ergolène, utilisé de préférence sous forme de bimaléate, décrit par exemple dans le brevet américain n° 4.299.836.

Un groupe de composés comprend les composés de formule



10 dans laquelle

R₁' représente l'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁-C₄,

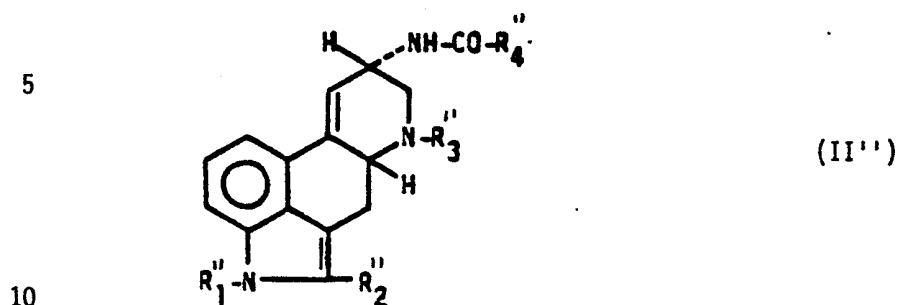
R₂' représente l'hydrogène, le chlore, le brome ou un groupe méthyle,

15 R₃' représente un groupe alkyle en C₁-C₅ ou un groupe alcényle en C₃-C₅ dans lequel la double liaison n'est pas située sur l'atome de carbone adjacent à l'atome d'azote, et

20 R₄' représente un groupe alkyle en C₃-C₇, cycloalkyle en C₃-C₇, adamantyle, phényle, phényle portant un ou plusieurs substituants choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₃, alcoxy en C₁-C₃, alkylthio en C₁-C₃, trifluorométhyle, hydroxy, nitro, amino, alkylamino en C₁-C₃ et di-(alkyl en C₁-C₃)-amino, ou bien un groupe phényle condensé à un hétérocycle non aromatique à 5 ou 6 chaînons comportant 1 ou 2 hétéroatomes choisis parmi l'oxygène et le soufre,

25 décrits dans le brevet britannique n° 2.152.507, dont le contenu est incorporé dans la présente demande à titre de référence, par exemple la (5R,8S,10R)-2,6-diméthyl-8α-pivaloylamino-ergoline (désignée ci-après composé E), utilisée de préférence sous forme de chlorhydrate, et le dérivé 2-chloro, la (5R,8S,10R)-2-chloro-6-
30 méthyl-8α-pivaloylamino-ergoline.

D'autres exemples de composés comprennent ceux correspondant à la formule



dans laquelle

R₁'' représente l'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁-C₄,

15 R₂'' représente l'hydrogène, le chlore, le brome ou un groupe méthyle,

R₃'' représente un groupe alkyle en C₁-C₅ ou un groupe alcényle en C₃-C₅ dans lequel la double liaison n'est pas située sur l'atome de carbone adjacent à l'atome d'azote, et

20 R₄'' représente un groupe alkyle en C₁-C₇, cycloalkyle en C₃-C₇, adamantyle, phényle, phényle portant un ou plusieurs substituants choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₃, alcoxy en C₁-C₃, alkylthio en C₁-C₃, trifluorométhyle, hydroxy, nitro, amino, alkylamino en C₁-C₃ et di-(alkyl en C₁-C₃)-amino, ou bien un groupe phényle condensé à un hétérocycle non aromatique à 5 ou 6 chaînons comportant 1 ou 2 hétéroatomes choisis

25 parmi l'oxygène et le soufre,

R₃'' et R₄'' ne pouvant représenter un groupe méthyle lorsque R₂'' représente l'hydrogène,

30 par exemple les composés dans lesquels R₁'' = H, R₂'' = Br ou en particulier CH₃, R₃'' = CH₃ et R₄'' = tert. butyle, décrits dans la demande de brevet britannique n° 2169291 A dont le contenu est incorporé dans la présente demande à titre de référence.

De nombreux composés mentionnés précédemment sont décrits comme inhibiteurs de la sécrétion de la prolactine, certains d'entre eux étant extrêmement puissants et ayant une longue durée d'action. L'activité des composés comme inhibiteurs de la sécrétion de la prolactine peut être déterminée au moyen des essais habituels, par exemple chez les rats mâles par une baisse des taux de prolactine basale dans le sérum.

L'activité des composés représentatifs est donnée ci-dessous:

10

Composé	ID ₅₀ mg/kg après 4 heures
---------	---------------------------------------

A	0,03
---	------

B	0,003
---	-------

15 C	0,001
------	-------

Un groupe de composés comprend des composés qui sont des agonistes D₂ sans aucune activité antagoniste. Un autre groupe de composés comprend ceux qui sont des agonistes de la sérotonine, par exemple, comme cela est indiqué dans les essais standard de liaisons in vitro et par activation de l'adénylate cyclase sensible au 5-HT de la douve du foie, selon la méthode de R. Markstein, «Effets neurochimiques de quelques dérivés de l'ergot : Une base pour leurs actions antiparkinson» («Neurochemical effects of some ergot derivatives: A basis for their antiparkinson actions»). «J. Neural transm. 51 : 39, (1981)».

Des exemples de ces composés comprennent le composé C et le pergolide. Le composé C, le pergolide et le 5-HT présentent des efficacités de, respectivement, 90, 80 et 100, et des pD₂ [log EC₅₀] de, respectivement 6,9, 6,9 et 7,7, dans cet essai sur l'adénylate cyclase stimulée par la sérotonine.

Comme indiqué ci-dessous, de façon surprenante, la puissance d'un composé de l'invention comme inhibiteur de la sécrétion de prolactine peut servir d'indication pour ce qui

est de la puissance de son effet immuno-suppresseur, mais, au moins avant la date de cette invention, il n'y a pas de preuve d'une corrélation directe entre leur aptitude à diminuer les taux de prolactine et leur effet immuno-suppresseur.

De fait, la puissance de ces composés comme inhibiteurs de la sécrétion de prolactine et leur longue durée d'action avec cette propriété peut très bien avoir masqué l'observation de leurs propriétés intéressantes dans d'autres directions, en particulier sur la base de l'expérimentation in vitro. On a effectué une expérimentation complète avec ces composés de l'invention et on a découvert qu'ils possèdent des propriétés immuno-suppressives particulièrement intéressantes, souvent à des doses inférieures à celles attendues.

Les composés de l'invention inhibent l'activité d'immuno-réponse comme indiqué dans les essais standards ex-vivo et in-vivo.

ESSAI 1: DEVELOPPEMENT DE CELLULES PRODUISANT DES ANTICORPS CHEZ LA SOURIS (ESSAI PFC)

Les composés de l'invention réduisent le titre en anticorps dirigés contre les SRBC (globules rouges de Mouton - Sheep red blood cells) dans les essais de cellules formant des plaques (PFC - plaque forming cell). Ces méthodes permettent de mesurer le nombre de lymphocytes spléniques formant des anticorps lytiques dirigés contre les SRBC et la distinction entre les cellules produisant des IgM et des IgG.

L'injection intraveineuse de SRBC (5×10^7) dans 0,2 ml, i.v. a servi de source d'antigène d'immunisation primaire dans les études sur la souris. Les souris, dans ces études, étaient des femelles C57 noires d'environ 20 grammes de poids corporel. Tous les animaux ont été prétraités avec les composés respectifs pendant un jour avant le traitement des SRBC et traités quotidiennement

ensuite à 11 h 00 sur un total de 6 jours. Les rates ont été retirées pour la détermination des nombres de PFC dirigés contre l'antigène SRBC.

Les cellules de rate ont été mises en suspension dans du Sérum Physiologique Equilibré tamponné à l'Hepes (Hepes-buffered Balanced Salt Solution - HBSS), lavées une fois, et remises en suspension dans un volume ajusté conformément au nombre attendu de cellules formant des plaques. La mesure directe du nombre de IgM-PFC a été accomplie par plaquage de 0,1 ml des cellules spléniques diluées avec 0,025 ml de SRBC (30%), 0,3 ml d'Agar (0,5% dans HBSS), et 0,025 ml de complément (sérum de cobaye) et plaquées sur des boîtes de Pétri. Une méthode indirecte de mesure de la quantité d'IgG-PFC a été effectuée avec un anticorps monoclonal dirigé contre les IgM (dilution 1:4) plus un antisérum polyspécifique anti-gamma (1:800) pour permettre la fixation du complément. Les lymphocytes spléniques provenant de chaque rate de souris ont été plaqués pour mesurer la quantité d'IgM- et IgG-PFC en duplicata. Toutes les plaques ont été incubées pendant 4 heures à 37°C et, ensuite, stockées pendant toute une nuit dans des chambres humidifiées à 4°C. Les plaques ont été comptées avec l'utilisation d'un dispositif de comptage des plaques.

Les résultats représentatifs sont les suivants:

ESSAI PFC

ESSAI A

30

TRAITEMENT	IgM	% par rapport	IgG	% par rapport
	(PFC x 10 ³	aux témoins	(PFC x 10 ³	aux témoins
	par rate)		par rate)	

	TEMOINS	195,6 $\pm 33,3$	---	46,2 $+ 11,6$	---
5	Cyclo- sporine*				
	36 mg/kg/ jour par	98,6 $\pm 18,2$	-49,6	24,4 $\pm 10,6$	-47,2
	injection sous-cutanée				
10	Composé A	87,0	-55,4	13,6	-71,6
	1,0 mg/kg/ jour par	$\pm 26,5$		$\pm 10,3$	
	injection sous-cutanée				
15					

* également connue sous le nom de ciclosporine et cyclosporine A

ESSAI B

	TRAITEMENT	IgM (PFC x 10 ³ par rate)	% par rapport aux témoins
5	TEMOINS	329,6	
	Cylosporine	180,9	-45%
10	60 mg/kg/jour par voie orale		
	Composé C	327,0	-1%
	1 mg/kg/jour par voie orale		
	Composé C	244,4	-26%
15	0,1 mg/kg/jour par voie orale		
	Composé C	167,2	-49%
	0,01 mg/kg/jour par voie orale		

20 Dans cet essai, le composé A, sur la base d'un dosage de 1 mg/kg/jour sur 6 jours, administré par voie s.c., présentait un effet du même ordre que celui de la Cyclosporine à 36 mg/kg/jour dans des conditions similaires.

25 Le composé C, à un dosage de 0,01 mg/kg/jour p.o. sur 6 jours, administré p.o., présentait un effet qui était du même ordre que celui de la Cyclosporine à 60 mg/kg/jour dans des conditions similaires. L'effet immuno-suppresseur du composé C a diminué à des dosages plus élevés. Le dosage des autres composés de l'invention peut être établi par une

30 expérimentation de routine, en gardant à l'esprit les puissances applicables d'inhibition de la sécrétion de

5 ESSAI 2: ESSAI DE REACTION LYMPHOCYTAIRE MIXTE CHEZ LA
SOURIS

1ère VARIANTE:

15 Des souris répondeantes (femelles Balb/c, âgées de
8-10 semaines) sont traitées par voie sous-cutanée pendant
cinq jours avec les composés de l'invention. Des nombres
égaux de lymphocytes stimulateurs murins (provenant de
souris, CBA, stimulatrices; lymphocytes irradiés in vitro
20 par 200 rad) et de lymphocytes effecteurs provenant des
animaux traités ou d'animaux témoins sont incubés pendant
cinq jours. La thymidine ³H incorporée dans l'ADN des
lymphocytes a été utilisée comme paramètre de la
prolifération cellulaire en réponse à un stimulus allogène.
25 [Voir S. S. Rich et al, «J. Exp. Medicine, (1974), 140,
1588-1693]».

Les résultats représentatifs obtenus sont les suivants:

	dpm x 10 ³ /10 cellules $\pm$ SD
5	
Témoins	131192 $\pm$ 12344
Composé E à raison de 5 mg/kg par voie sous-cutanée	103218 $\pm$ 21497

10 Ainsi, le Composé E a inhibé la réponse d'environ
21%. Les dosages pour les autres composés sont trouvés par
l'expérimentation, en gardant à l'esprit les puissances
relatives dans l'inhibition de la sécrétion de prolactine,
et que l'on peut ne pas observer d'activité immuno-
15 suppressive à des dosages faibles et à des dosages élevés.
Des exemples de plages sont, par exemple, de 1 à 10 mg/kg
s.c.

2ème VARIANTE:

20 De plus, les composés inhibent la capacité
d'immuno-réponse des lymphocytes effecteurs aux lymphocytes
histo-incompatibles (allogènes), dans une variante de
l'essai MLR (réaction lymphocytaire mixte) à deux voies
ci-dessus .

25 Des souris de deux souches histo-incompatibles
(Balb/c et CBA) (âgées de 6-8 semaines) ont été traitées une
fois par jour, par voie s.c., avec un composé de
l'invention, pendant au moins 7 jours. Les rates ont été
retirées 3 heures après la dernière administration du médi-
cament. L'essai MLR est effectué avec $0,5 \times 10^6$ cellules de
30 rate provenant des souris Balb/c et avec $0,5 \times 10^6$ cellules
de rates de souris CBA, ces dernières ayant été irradiées
par 2000 rads. Les cellules de rate des souris Balb-c sont
incubées avec les cellules de rate de CBA allogènes pendant
4 jours. De la thymidine radioactive est ajoutée et,
35 16 heures après, l'incorporation de la thymidine ³H dans
l'ADN des cellules de rate de souris a été mesurée.

Les résultats obtenus avec le composé C sont les suivants:

	Dose	Changement par rapport aux témoins
5	5 mg/kg	-20%
	0,5 mg/kg	-50%
	0,05 mg/kg	-71%
	(Cyclosporine	
	100 mg/kg)	-53%

10

Les dosages des autres composés sont trouvés par l'expérimentation, en gardant à l'esprit les puissances relatives dans l'inhibition de la sécrétion de prolactine, et qu'on peut ne pas observer d'activité immuno-suppressive à des dosages faibles et à des dosages élevés. Des exemples de plages sont, par exemple, de 0,01 à 10 mg/kg, par exemple de 0,01 à 1 mg/kg.

ESSAI 3: ARTHRITE D'ADJUVANT DE FREUND CHEZ LE RAT

20

Un modèle expérimental est un modèle rongeur de développement d'arthrite d'adjuvant auto-immune. On observe une inhibition du développement de l'arthrite d'adjuvant.

Dans une variante, *Mycobacterium Butyricum*, que l'on s'est procuré auprès de «Difco Laboratories», Détroit, Michigan, a été préparé dans une émulsion avec PHHVI à subliquidium de paraffine (Siegfried Zofringen, Suisse), à une concentration de 6 mg/ml. Pendant l'anesthésie à l'éther, un volume de 0,1 ml de cette émulsion a été injecté, avec une aiguille de 3,81 cm (1-½ pouce) de 21 g, par voie intra-cutanée, à la base de la queue de rats Sprague-Dawley mâles (d'environ 150-175 g). L'arthrite est survenue dans 95 à 100 % des pattes arrière des animaux témoins positifs. L'épaisseur du membre arrière (région mi-

30

tibiale) a été mesurée avec une jauge linéaire (Mitutoyo) couplée à un dispositif d'affichage digital électronique (Mitutoyo).

100% d'un groupe témoin a développé une arthrite d'adjuvant. Les composés de l'invention sont administrés au moyen d'une pompe osmotique à régime continu, par voie sous-cutanée, sur 7 jours ou 14 jours à des groupes de 5 animaux. La progression de l'arthrite et l'effet inhibiteur d'un composé représentatif, le composé B, à 0,1 mg/kg/jour sont les suivants:

Epaisseur du membre postérieur (mm)

15	Jour	Groupe témoin	Composé B pendant 7 jours	Composé B pendant 14 jours
	0	6,1	6,1	6,0
	3	6,2	6,2	6,2
	6	6,3	6,2	6,2
20	9	7,0	6,5	6,7
	12	7,7	6,9	7,7
	15	7,8	7,6	7,8
	18	8,9	7,9	7,9
	21	9,5	8,2	8,2

25 La dose des autres composés peut être établie par une expérimentation de routine, en gardant à l'esprit les puissances relatives de l'activité d'inhibition de la sécrétion de prolactine. Des exemples des doses vont de 0,1 à 1 mg/kg/jour, s.c.

ESSAI 4: GREFFE LOCALE VERSUS HOTE (GRAFT VERSUS HOST - GvH)CHEZ LE RAT

Des cellules de rate (environ 1×10^7) sont prélevées sur des rats Wistar/Furth (W/F), âgés de 5 6 semaines, et sont injectées dans la patte arrière gauche de rats F1 (F344 x WF) femelles, pesant environ 100g. Les rats avaient été traités quotidiennement par le composé, 7 jours avant l'injection, et ils sont traités quotidiennement pendant 3 jours après. La différence de poids entre les 10 nodosités lymphatiques gauches et droites est prise comme paramètre pour évaluer la réaction.

Les résultats obtenus avec des composés représentatifs sont les suivants:

	Poids des nodosités lymphatiques Témoins	Poids des nodosités lymphatiques Composé A 0,01 mg/kg/jour	Différence en %
15	env. 63 mg	env. 50 mg	-21%
20		Composé C 0,001 mg/kg/jour 24 mg	-28%
25	env. 33 mg	Composé C 0,01 mg/kg/jour 19 mg	-42%
30	env. 33 mg	Composé C 0,1 mg/kg/jour 18 mg	-45%
	env. 55 mg	Composé E 5 mg/kg/jour env. 39 mg	-41%

On notera que l'action du composé C varie en fonction de la dose administrée.

La dose des autres composés peut être établie par une expérimentation de routine, en gardant à l'esprit les puissances relatives de l'activité d'inhibition de la sécrétion de prolactine, et qu'on peut ne pas observer d'activité immuno-suppressive à des dosages faibles et à des dosages élevés. Des exemples de doses vont d'environ 0,001 à 5 mg/kg/jour.

10 ESSAI 5: TAUX DE BIOSYNTHESE CHEZ LE RAT

Les composés de l'invention inhibent le taux de biosynthèse d'un marqueur approprié pour hormones, mitogènes et composés, à savoir l'ornithine décarboxylase (ODC) dans le thymus, la rate, la moelle osseuse et l'hypophyse antérieure, par exemple, chez le rat stimulé immun.

Le marqueur utilisé dans cette étude pour déterminer le taux de biosynthèse des tissus lymphoïde et endocrine était l'ornithine décarboxylase (ODC), L'ODC, l'enzyme limitant le taux dans la biosynthèse des polyamines, sert de marqueur initial de la progression du cycle des cellules G₁ des tissus en prolifération et de la biosynthèse accrue dans les tissus sécréteurs, en réponse à des substances trophiques ou stimulantes. Il y a une activité maximale de l'ODC consécutive à une stimulation *in vivo* en l'espace de 4 heures - faisant de cette enzyme un marqueur intracellulaire utile pour comprendre la relation entre les agonistes et la réponse des tissus cibles. L'activité de l'ODC des tissus lymphoïdes semble se rapporter à une réponse fonctionnelle au système immun.

Dans une méthode d'essai typique, des rats mâles KFM (150-175 g) ont été traités par le composé de l'invention, un jour avant l'administration de l'adjuvant complet de Freund, d'une manière analogue à celle décrite ci-dessus. L'administration du composé a été répétée une fois par jour par la suite. Deux jours plus tard, les

animaux ont été décapités, les tissus retirés et congelés dans l'azote liquide. Les activités de l'ODC (pmol/30 mn/mg de protéine) sont mesurées. L'activité de l'ODC a été déterminée par la mesure de la libération de 14 CO_2 à partir de la L-(1- ^{14}C)-ornithine, comme décrit par Snyder et al. «Proc. Natl. Acad. Sci. 60:1420, 1968».

Les résultats obtenus avec le composé C sont les suivants:

10		Témoïn	Traitement à l'adjuvant de Freund	Composé C		
				0,01 mg/kg	0,1 mg/kg	0,5 mg/kg
15	Thymus	291,8	253,8	98,80	171,40	177,0
	SEM	32,95	24,33	24,15	19,48	53,70
	Rate	24,83	34,88	12,14	34,62	37,96
	SEM	3,77	6,54	1,83	5,35	11,89
	Nodosités lymphatiques	40,70	64,40	43,10	107,30	103,90
20	Moëlle épinière	37,20	27,10	17,40	45,80	43,40
	Médullo-surrénale	15,50	7,40	17,10	180,0	95,0
	Hypo-physe antérieure	170,40	151,30	32,60	33,70	41,20

Comme on peut le voir, le composé C, à des doses auxquelles il possède des propriétés immuno inhibitrices puissantes, par exemple 0,01 mg/kg, inhibe les taux de biosynthèse. A des doses plus élevées, le composé C a stimulé l'activité de l'ODC dans la médullo-surrénale, et l'effet immuno-suppresseur était moindre.

Les données sur la toxicité pour quelques-uns parmi les composés de l'invention ont été publiées. De telles données peuvent être déterminées par une expérimentation de routine.

- 5 DONNEES SUR LA TOXICITE pour les composés
 représentatifs
 PNET = Pas de niveau d'effet toxique. Les études
 approfondies ont été effectuées sur 7 ou 14 jours après
 administration, respectivement, i.v. ou p.o. sauf indication
10 contraire. .

Composé A: DL₅₀ aiguë (souris) 17 mg/kg i.v.
 357 mg/kg p.o.

- PNET (4 semaines) rats entre 0,2 et
 0,57 mg/kg/jour p.o.
15 PNET (4 semaines) chiens entre 0,02 et
 0,06 mg/kg/jour p.o.

Composé B: Analogue au composé E

- Composé C: DL₅₀ aiguë (souris) 45 mg/kg i.v. 69 mg/kg
20 p.o.
 PNET (4 semaines) rats 0,19 mg/kg/jour p.o.
 PNET (4 semaines) chiens 0,2 mg/kg/jour p.o.

Composé D: DL₅₀ aiguë (souris) 44 mg/kg i.v. 992 mg/kg
 p.o.

- 25 PNET (26 semaines) rats entre 5 et
 17 mg/kg/jour p.o.
 PNET (26 semaines) chiens entre
 0,3 mg/kg/jour p.o.

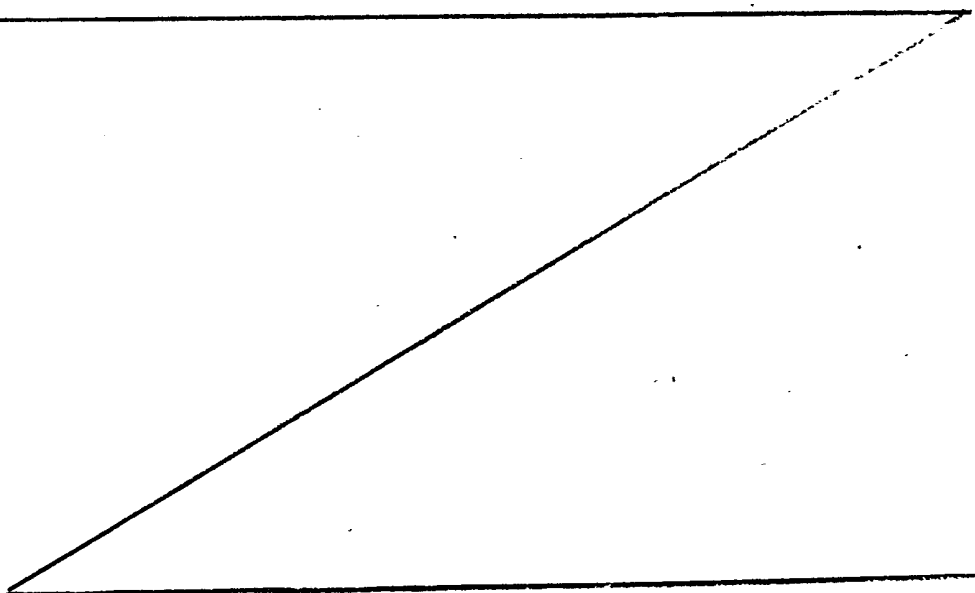
Composé E: Bien toléré sur 4 semaines, administré à des
30 chiens Beagle jusqu'à 3 mg/kg/jour p.o.

Grâce à leur activité immuno-

suppressive, vis-à-vis à la fois d'une immuno-réponse
primaire et d'une immuno-réponse secondaire, et vis-à-vis à
la fois des IgM- et IgG-PFC, les composés de l'invention
5 sont utiles pour la prophylaxie et le traitement de maladies
et d'états nécessitant une réduction de la réponse immune,
en particulier par médiation des cellules T et/ou B.
Ainsi, ils peuvent ainsi être utilisés pour supprimer la
prolifération des lymphocytes et des immunocytes, par
10 exemple en prévenant le rejet de greffes, par exemple des
greffes de la peau, de la moelle osseuse et du rein, en
traitant et en prévenant les maladies de greffe versus hôte
et, en particulier, dans le traitement des maladies auto-
immunes.

15 Les composés sont utiles non seulement dans les
maladies auto-immunes vasculaires, mais également dans une
pluralité de maladies auto-immunes concernant les tissus et
autres organes, et les plaquettes.

Les maladies auto-immunes spécifiques, pour
20 lesquelles les composés de l'invention sont utiles,
comprennent celles qui sont de nature spontanée, (par



exemple celles qui ne sont pas provoquées par un médicament). De telles maladies auto-immunes peuvent être caractérisées par des anticorps spécifiques. Elles comprennent toutes celles pour lesquelles un traitement par

5 la Cyclosporine a été proposé ou utilisé, par exemple, l'anémie aplastique, l'anémie de globules rouges purs, la thrombocytopénie idiopathique (par exemple, la thrombocytopénie aiguë idiopathique), le lupus érythémateux systémique, la polychondrite, la sclérodermie, la granulomatoses de

10 Wegener, la dermatomyosite, l'hépatite active chronique, la myasthénie gravis, le psoriasis, le syndrome de Steven-Johnson, la sprue, par exemple la sprue idiopathique, la maladie de Crohn, la maladie de Graves, l'ophtalmopathie de Graves, la sarcoïdose, la sclérose multiple, la cirrhose

15 biliaire primaire, le diabète juvénile primaire (Diabète de type I), l'uvéïte, par exemple l'uvéïte postérieure et l'uvéïte antérieure, le syndrome néphrotique, la glomérulonéphrite, la fibrose pulmonaire interstitielle et l'arthrite psoriasique.

20 Des indications particulièrement intéressantes comprennent le psoriasis et l'arthrite, la sclérose multiple, le Diabète de type I, la maladie de Graves, l'uvéïte et la myasthénie gravis.

Ils sont encore utiles pour le traitement des

25 états inflammatoires, par exemple l'arthrite et les maladies rhumatismales avec un composant auto-immun, et encore, pour le traitement des infections dues à des protozoaires, par exemple la malaria et la schistosomiase.

Pour les utilisations mentionnées ci-dessus, il va

30 de soi que la dose variera en fonction du mode d'administration, du composé employé, de l'état particulier à traiter et de la thérapie souhaitée. Cependant, en général, des résultats satisfaisants sont obtenus lorsque les composés sont administrés à un dosage suffisant pour produire une

35 inhibition continue et de longue durée de la sécrétion de prolactine, par exemple, allant jusqu'au-dessous de

2 nanogrammes de prolactine par ml de plasma sanguin, ou a des doses jusqu'à environ 2 fois supérieures, de façon à supprimer toute montée subite de prolactine. En effet, des doses jusqu'à une dizaine de fois inférieures aux doses d'inhibition de la prolactine sont indiquées comme étant efficaces dans l'indication immuno-suppressive.

Pour les composés de l'invention, une dose journalière appropriée sera comprise entre environ 0,001 et 10 mg (par exemple de 0,1 à 10 mg) par voie orale. Cette dose peut être avantageusement administrée par exemple en doses fractionnées jusqu'à 4 fois par jour ou de préférence sous une forme à libération prolongée. Les doses unitaires contiennent par exemple entre environ 0,0002 et environ 10 mg de substance active.

La dose exacte devant être administrée peut en outre varier en fonction de l'efficacité relative de la Cyclosporine A dans les essais précédents. Sur cette base, on a par exemple estimé que le composé A est à administrer à une dose comprise entre environ 0,1 et 1 mg par jour par voie orale, par exemple 0,5 mg.

Le composé préféré est le composé C. Il produit chez l'homme un effet inhibiteur de longue durée sur la sécrétion de la prolactine à raison de 0,01 mg à 0,03 mg par voie orale par jour. Les doses appropriées pour un effet immuno-suppresseur sont comprises entre 0,005 et 0,03 mg par voie orale.

Les composés de l'invention sous forme de base libre ou sous forme de sels d'addition d'acides pharmaceutiquement acceptables, peuvent être administrés sous forme d'une composition pharmaceutique. De telles compositions sont généralement connues et peuvent être préparées selon les méthodes classiques. Les composés peuvent être administrés par l'une quelconque des voies habituelles, en particulier par voie entérale, de préférence par voie orale, par exemple sous forme de gélules ou de comprimés, ou si nécessaire par voie parentérale, sous forme de solutions ou de suspensions injectables.

La composition d'une gélule contenant le composé A est par exemple la suivante:

5	Composé A sous forme de chlorhydrate	0,1092 mg
	(correspond à 0,1 mg de base)	
	Amidon de maïs	175,3908 mg
	Lactose (200 mailles)	120,0 mg
	Silice	1,5 mg
10	Stéarate de magnésium	<u>3,0 mg</u>
	Total	300 mg

La composition d'une gélule contenant le composé préféré de l'invention, à savoir le composé C, est par exemple la suivante:

15	Composé C sous forme de chlorhydrate	0,02725* mg
	Mannitol	107,47275 mg
	Amidon de maïs	80,0 mg
	Silice (marque Aerosil 200)	<u>0,5 mg</u>
20		188 mg

(* correspondant à 0,025 mg de base libre)

25

Les gélules contenant des quantités plus faibles en composé C, par exemple 0,005 mg, peuvent être préparées de manière analogue.

La présente invention fournit également un nouveau moyen de thérapie, comprenant l'administration conjuguée :

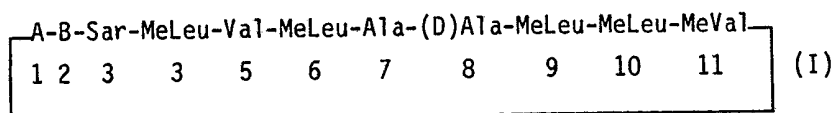
- i) d'un agent immuno-suppresseur, par exemple, une cyclosporine, en particulier, la Cyclosporine; et,
- 5 ii) d'un composé de l'invention.

Les agents immuno-suppresseurs comprennent l'azathioprine, le cyclophosphamide, des stéroïdes, par exemple la méthylprednisolone et le Ciamexon.

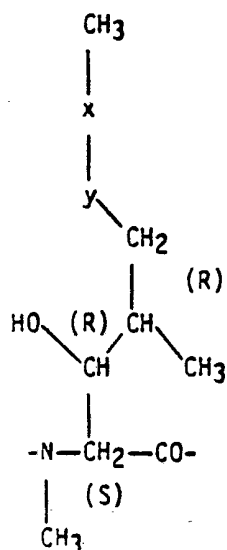
- Les cyclosporines appartiennent à une classe d'undéca-
- 10 peptides cycliques poly-N-méthylés qui possèdent d'intéressantes propriétés pharmacologiques, en particulier une activité immuno-suppressive, anti-inflammatoire et anti-parasitaire. La première des cyclosporines à avoir été isolée est la Cyclosporine, également connue comme cyclosporine A, dont la préparation et les propriétés
 - 15 sont décrites par exemple dans le brevet américain n° 4.117.118. Depuis la découverte de la Cyclosporine, un grand nombre de cyclosporines naturelles ont été isolées et identifiées et plusieurs autres cyclosporines non naturelles ont été préparées par voie synthétique ou semi-synthétique ou par application de techniques de
 - 20 culture modifiées. La classe des cyclosporines est constituée actuellement par un nombre substantiel de représentants et comprend par exemple les cyclosporines naturelles, la (Thr²)cyclosporine, la (Val²)-cyclosporine et la (Nva²)-cyclosporine (également connues respectivement comme cyclosporines C, D et G), ainsi que divers dé-
 - 25 rivés semi-synthétiques de celles-ci, tels que leurs dérivés dihydro (par exemple comme décrit dans les brevets américains n° 4.108.985, 4.210.581 et 4.220.641) y compris par exemple la (dihydro-MeBmt¹)-(Val²)-cyclosporine (également connue comme dihydrocyclosporine D), et d'autres cyclosporines naturelles et
 - 30 synthétiques telles que celles décrites dans la demande de brevet européen n° 58 134, par exemple la [(D)-Ser⁸]-cyclosporine.

Selon la nomenclature adoptée actuellement pour les cyclosporines, ces composés seront définis dans la présente description par référence à la structure de la cyclosporine, c'est-à-dire la

cyclosporine A. Selon cette nomenclature, on indique d'abord les restes de la molécule qui diffèrent de ceux présents dans la Cyclosporine et on accole le terme "cyclosporine" pour caractériser les autres restes qui sont identiques à ceux présents dans la Cyclosporine. La Cyclosporine répond à la formule I



dans laquelle A représente le reste -MeBmt-, c'est-à-dire le reste N-méthyl-(4R)-2E-4-butène-1-yl-4-méthyl-(L)-thréonyle, de formule II



dans laquelle -x-y- représente -CH=CH- (trans), et B représente un reste α -Abu-. Ainsi, la (Thr²)-cyclosporine (cyclosporine C) est le composé de formule I dans laquelle A a la signification donnée ci-

dessus et B signifie un reste -Thr-, et la (dihydro-MeBmt¹)-
(Val²)-cyclosporine (dihydrocyclosporine D) est le composé de for-
mule I dans laquelle A représente le reste -dihydro-MeBmt- de for-
mule II ci-dessus dans laquelle -x-y- représente -CH₂-CH₂-, et B
5 représente un reste -Val.

Comme composé principal de la classe, la
Cyclosporine a reçu jusqu'ici le plus d'attention. Le
domaine premier d'investigation clinique pour la
Cyclosporine a été celui en tant qu'agent immuno-
suppresseur, en particulier, en rapport avec son application
10 aux receveurs de greffes d'organes, par exemple de greffes
du coeur, du poumon, de greffes combinées coeur-poumon, de
greffes du foie, du rein, pancréatiques, de la moelle
osseuse, de la peau et de la cornée, et , en particulier,
les greffes d'organes allogènes. Dans ce domaine, la
15 Cyclosporine a atteint un succès et une réputation
remarquables, et elle est maintenant disponible dans le
commerce et largement employée en clinique.

Simultanément, l'applicabilité de la Cyclosporine
à diverses maladies auto-immunes et aux états inflamma-
20 toires, en particulier, aux états inflammatoires avec une
étiologie comprenant un composant auto-immun, tels que les
arthrites et les maladies rhumatismales, a été intensive et,
des rapports et des résultats in vitro, sur les modèles
animaux et sur des essais cliniques, sont largement répandus
25 dans la littérature.

Un autre domaine d'investigation a été l'applicabilité potentielle comme agents anti-parasitaires, en particulier, anti-protozoaires, les utilisations possibles suggérées comprenant le traitement de la malaria et le traitement de la schistosomiase.

D'autres cyclosporines présentent la même utilité pharmacologique d'ensemble que la Cyclosporine, et diverses propositions pour une application, en particulier dans l'une ou l'autre des indications identifiées ci-dessus, sont répandues dans la littérature.

Malgré la contribution de tout premier plan apportée par la Cyclosporine à la technique, en particulier dans le domaine de la chirurgie des greffes et malgré sa large acceptation et son large succès en clinique, une particularité négative évidente a été sa toxicité prétendue pour les organes, par exemple, l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité. En clinique, la néphrotoxicité s'est révélée généralement être de préoccupation plus courante, et, bien qu'il soit évident que, dans les cas relativement rares où un problème se pose, la néphrotoxicité soit de toute façon liée à la dose, réversible et n'évolue pas sous un traitement à long terme (cliniquement, un problème est seulement susceptible de se produire, si tant est qu'il s'en produise, dans la phase précoce de la thérapie par la Cyclosporine, par exemple immédiatement après la greffe, lorsque la différenciation entre rejet et néphrotoxicité est difficile), le moyen de réduire cet effet secondaire particulier et les autres effets secondaires apparentés de toxicité sur les organes, qui pourraient éventuellement se produire, serait manifestement d'intérêt majeur. Ainsi, en plus de rendre la thérapie par la Cyclosporine plus généralement acceptable, il réduirait les nécessités de contrôle, par exemple immédiatement après la greffe, ainsi que la nécessité occasionnelle d'employer une thérapie immuno-suppressive mixte (par exemple, l'alternance de

médicaments), par exemple, chez des patients présentant des réactions néphrotoxiques particulièrement marquées.

De façon similaire, bien que des cyclosporines particulières autres que la Cyclosporine aient été trouvées
5 comme présentant des effets secondaires considérablement moins toxiques, par exemple néphrotoxiques, que la Cyclosporine, ou, à vrai dire, comme étant généralement exemptes de telles réactions secondaires, dans la mesure où la toxicité sur les organes est, ou peut être, une
10 considération en relation avec leur application clinique, un moyen pour résoudre ce problème serait également d'un avantage considérable.

Des considérations analogues à celles discutées ci-dessus pour les cyclosporines s'appliquent aux autres
15 agents immuno-suppresseurs. L'administration conduit à des effets secondaires, par exemple, par des problèmes de toxicité, le lymphome, un abaissement du poids, etc.

Conformément à la présente invention, on a maintenant découvert, de façon surprenante, que l'efficacité
20 immuno-suppressive d'agents immuno-suppresseurs, par exemple, des cyclosporines, en particulier, la Cyclosporine, est, de façon inattendue et avantageuse, rehaussée par l'administration conjuguée des composés de l'invention. Plus particulièrement, on a découvert que l'administration
25 conjuguée d'agents immuno-suppresseurs et de composés de l'invention fournit, de façon inattendue, une puissance immuno-suppressive supérieure à la somme des puissances des composants individuels (synergisme ajoutant à la somme des effets des composants individuels).

30 L'administration conjuguée des composés de l'invention avec des agents immuno-suppresseurs fournit, en conséquence, un moyen permettant, une réduction significative des taux de l'agent immuno-suppresseur, agent immuno-suppresseur qui était sinon requis pour son utilité immuno-
35 suppressive, par exemple dans la suppression du rejet de greffes d'organes, dans le traitement des maladies auto-

immunes, de même que dans le traitement d'états inflammatoires avec une étiologie comprenant un composant auto-immun. En permettant de réduire le dosage de l'agent immuno-suppresseur, la présente invention présente

5 l'avantage le plus important de fournir un moyen pour éviter ou réduire les effets secondaires, par exemple les endommagements d'organes, consécutifs à l'administration de l'agent immuno-suppresseur pendant la thérapie immuno-suppressive.

10 Conformément à ce qui précède, la présente invention propose un procédé :

1. pour effectuer une immuno-suppression, par exemple:

15 1.1 pour empêcher le rejet de greffes, par exemple, chez des receveurs de greffes d'organes, par exemple, de n'importe quel type spécifique énoncé précédemment; ou,

20 1.2 pour le traitement des maladies auto-immunes, par exemple, pour le traitement de n'importe laquelle des maladies auto-immunes spécifiques énoncées précédemment; ou,

2. pour le traitement des états inflammatoires, en particulier, des états inflammatoires avec une étiologie comprenant un composant auto-immun, par exemple, l'arthrite et les maladies rhumatismales; ou,

25 3. pour le traitement d'infections dues à des protozoaires, par exemple pour le traitement de la malaria,

chez un sujet ayant besoin d'un tel traitement, ledit procédé consistant à administrer audit sujet une quantité
30 efficace :

a) d'agents immuno-suppresseurs, par exemple, une cyclosporine, par exemple, la cyclosporine, par exemple la cyclosporine G ou la Cyclosporine; et,

b) d'un composé de l'invention.

35 Si l'on tient compte de l'interaction synergique des composants a) et b) en ce qui concerne l'immuno-

suppression, les quantités de a) et de b) requises conformément au procédé particulier défini sous 1. ci-dessus ou, dans le cas d'un état avec une étiologie comprenant un composant auto-immun, conformément au procédé particulier

5 défini sous 2. ci-dessus, comprendront conjointement une quantité efficace du point de vue de l'immuno-suppression. De plus, lorsque la toxicité résiduelle sur les organes ou les autres effets secondaires de l'agent immuno-suppresseur est une considération [par exemple, malgré les dosages

10 diminués de a) requis en conséquence de l'administration de b)], la quantité de b) requise suffira convenablement à réduire cette toxicité résiduelle.

En ce qui concerne les procédés particuliers définis sous 2. et 3. ci-dessus, la quantité de a) requise

15 consistera, respectivement,

2. en une quantité efficace du point de vue anti-inflammatoire, et
3. en une quantité efficace du point de vue anti-protozaires,

20 et la quantité de b) requise sera une quantité suffisante pour réduire toute toxicité sur les organes, se produisant par ailleurs et étant attribuable à a).

Il sera évident que la présente invention peut être regardée tour à tour, comme un procédé de réduction de

25 la toxicité sur les organes, par exemple l'hépatotoxicité ou, en particulier, la néphrotoxicité d'un composant a) [c'est-à-dire pour la réduction de l'endommagement des organes, par exemple du foie ou, en particulier, l'endommagement du rein, provoqué par un composant a)] chez un sujet recevant

30 une thérapie avec a), comprenant l'administration d'un composant b).

L'interaction synergique entre les agents immuno-suppresseurs, par exemple la Cyclosporine, et les composés de l'invention, par exemple le Composé A, en ce qui concerne

35 l'activité immuno-suppressive, peut être démontrée dans des expériences cliniques et chez des modèles expérimentaux

animaux, par exemple, dans la réaction localisée greffe-versus-hôte chez le rat, accomplie conformément aux méthodes décrites par Ford et al., «Transplantation 10, 258-266 (1970)». Dans cette méthode expérimentale, le traitement
5 concomittant par un agent immuno-suppresseur, par exemple une cyclosporine, par exemple, la Cyclosporine, et par les composés de l'invention (le traitement par le composé de l'invention commençant avant l'inoculation avec des cellules stimulatrices) conduit à une inhibition de la réaction
10 greffe-versus-hôte qui est supérieure à la somme des activités observées lorsque les composés sont administrés individuellement.

De plus, la combinaison de a) et b) montre une réduction du titre en anticorps dirigés contre les globules
15 rouges de mouton dans l'essai I ci-dessus. Par exemple, l'administration de 36 mg/kg/jour s.c. de Cyclosporine avec 0,1 mg/kg/jour du composé A conduit à une réduction de 62,6% du titre en IgM et de 79,1% du titre en IgG. La combinaison de la Cyclosporine (60 mg/kg.jour p.o.) et du Composé C
20 (0,1 mg/kg/jour p.o.) conduit à une réduction de 63% du titre en IgM.

Des dosages appropriés des autres composés de l'invention peuvent être trouvés sur la base des puissances relatives de l'activité d'inhibition de la sécrétion de
25 prolactine. Des exemples de doses vont de 0,1 à 10 mg/kg/jour s.c.

Un essai supplémentaire pour montrer l'activité immuno-suppressive du mélange est le suivant :

30 ESSAI 6: GREFFE D'UN TISSU CARDIAQUE NEONATAL DANS LES OREILLES DE SOURIS.

Dans cet essai in-vivo, le temps de rejet d'un tissu cardiaque néonatal greffé a été accru par les composés de la présente invention.

35 Conformément à une méthode, on a pratiqué une petite incision à la base de l'oreille d'une souris

C 57 BL (H-2^b). On a utilisé des pinces brucelles épointées ou fines pour détacher la couche dorsale de peau à partir de la couche cartilagineuse, de façon à former un retrait. Une moitié d'un coeur prélevé sur une souris Balb/c (H-2^d),
5 Agée de 1 à 2 jours, a été ensuite insérée dans le retrait. 6 jours après la greffe et chaque semaine suivante, la survie de la greffe du coeur a été surveillée par des microélectrodes placées sur chaque côté de la greffe. Un enregistreur dynograft a été utilisé pour enregistrer
10 l'activité électrique émanant de la greffe. Le point ultime de survie de la greffe a été pris comme étant le moment où l'activité électrique était perdue. Des souris non traitées ont rejeté l'implant au bout de 8 ½ jours.

Dans ce modèle, on a considéré qu'une immuno-
15 suppression efficace s'était produite si le temps jusqu'au rejet était augmenté jusqu'à au moins 17 jours. Le temps jusqu'au rejet de l'allogreffe du coeur a été accru par les composés de l'invention lorsqu'ils ont été appliqués à une dose allant de 0,05 à 0,5 mg/kg s.c. avec une co-
20 administration de cyclosporine (18 mg/kg/jour s.c.). Avec le composé A à 0,05 mg/kg/jour, s.c., 50 pourcent des allogreffes du coeur dans un groupe de 10 animaux étaient actives au jour 17.

Conformément au procédé de la présente invention,
25 l'agent immuno-suppresseur et le composé de l'invention peuvent être administrés séparément et à des moments différents au cours de la thérapie ou de façon pratiquement concomittante. Ainsi, le traitement par le composé de l'invention peut commencer avant le traitement par l'agent
30 immuno-suppresseur, ou après le commencement du traitement par l'agent immuno-suppresseur, par exemple, après que la rémission de la maladie ait été effectuée. La présente invention doit être entendue comme englobant tous ces régimes de traitement et on doit interpréter en conséquence
35 le terme «administration conjointe». Dans la mise en oeuvre du procédé de l'invention, le commencement de l'administra-

tion du composé de l'invention avant le traitement par l'agent immuno-suppresseur peut être, dans certains cas et en fonction, par exemple, de l'objectif de la thérapie par l'agent immuno-suppresseur et de l'état du sujet à traiter, particulièrement avantageux. Ainsi, le commencement du traitement par le composé de l'invention, avec une avance allant jusqu'à 7 jours ou plus sur le traitement par l'agent immuno-suppresseur, peut procurer un effet pré-protecteur supplémentaire et bénéfique contre les effets secondaires de l'agent immuno-suppresseur, par exemple, la toxicité sur les organes, par exemple, la néphrotoxicité.

En variante, les agent immuno-suppresseurs peuvent être administrés à la dose normale avec le composé de la présente invention, et la dose de cyclosporine peut être réduite quelques semaines, par exemple 1 mois après le début de la thérapie avec le composé de l'invention.

Il va de soi que les doses d'agent immuno-suppresseur qui peuvent être administrées dans la mise en oeuvre du procédé de la présente invention, varieront en fonction, par exemple, de la cyclosporine particulière employée, du mode d'administration, de l'état à traiter (par exemple, si le traitement est appliqué à des fins d'immuno-suppression ou autrement, et, pour des fins d'immuno-suppression, s'il est ou non destiné à être utilisé en rapport avec, par exemple, une greffe d'organes, une greffe de moelle osseuse, ou pour le traitement d'une maladie auto-immune), de même qu'en fonction de l'effet désiré. De plus, le dosage demandera généralement un ajustement pour chaque patient, pour établir une concentration appropriée à long terme du médicament dans le sérum, par exemple, par l'administration d'une dose de départ ou de «charge» initiale quotidienne, avec un ajustement ultérieur de la dose (généralement une réduction de la dose) selon les taux dans le sérum, par exemple, comme déterminé par une surveillance régulière par RIA.

Cependant, en général, si un traitement immuno-suppresseur est requis (c'est-à-dire s'il y a une potentialisation d'activité par le composé de l'invention administré conjointement), des résultats satisfaisants sont obtenus par l'administration dans une plage de doses allant d'environ 1 à environ 25 mg/kg/jour (par exemple, dans le cas de la Cyclosporine, d'environ 5 à environ 15 mg/kg/jour), administrées au patient par voie orale en une seule fois, ou en doses réparties 2 ou 3 fois par jour. Si une administration i.v. est requise, par exemple une administration par perfusion (par exemple, dans la phase initiale du traitement), des doses plus faibles, par exemple de l'ordre d'environ 0,5 à environ 5 mg/kg/jour (par exemple, dans le cas de la Cyclosporine, d'environ 1 à environ 3 mg/kg/jour pour une dose de démarrage, ou jusqu'à environ 2 mg/kg/jour pour une dose d'entretien), sont généralement indiquées.

Si le traitement n'est pas effectué à des fins d'immuno-suppression, des résultats satisfaisants sont obtenus par l'administration dans une plage de doses allant d'environ 5 à environ 50 mg/kg/jour (par exemple, dans le cas de la Cyclosporine, allant d'environ 10 à environ 20 mg/kg/jour pendant la phase initiale de la thérapie, en réduisant à une dose d'entretien allant d'environ 5 à environ 10 mg/kg/jour), administrées au patient par voie orale, en une seule fois ou en doses réparties 2 ou 3 fois par jour. Si une administration i.v. est requise, par exemple une administration par perfusion (par exemple, dans la phase initiale du traitement), des dosages plus faibles, par exemple de l'ordre d'environ 1 à environ 10 mg/kg/jour (par exemple, dans le cas de la Cyclosporine, d'environ 3 à environ 5 mg/kg/jour pour une dose de démarrage, ou jusqu'à environ 2,5 mg/kg/jour pour une dose d'entretien), sont généralement indiquées.

Les doses du composé de l'invention qui sont à administrer dans la mise en oeuvre du procédé de la présente

invention varieront également, par exemple, en fonction des puissances relatives d'inhibition de la sécrétion de prolactine du composé choisi, du mode d'administration, de la thérapie par la cyclosporine appliquée (par exemple, si
5 un dosage de cyclosporine à des fins d'immuno-suppression ou autres est requis ou non), et la cyclosporine particulière employée. L'administration peut être entérale (par exemple orale) ou parentérale (par exemple. i. m.), ou bien le composé peut être administré sous une forme à libération
10 prolongée. Les doses pour les composés de l'invention, par exemple le composé C, sont telles que données ci-dessus pour une thérapie de vente. Pour le composé A, un dosage quotidien approprié pour une administration orale sera de l'ordre d'environ 0,1 à environ 1 mg/kg/jour, administré en
15 une seule fois ou en doses réparties 2 ou 3 fois par jour.

Les formes de dosage à la fois oral et parentéral pour les cyclosporines, par exemple la Cyclosporine, et pour les composés de l'invention, qui conviennent pour être utilisées dans la mise en oeuvre du procédé de l'invention,
20 sont connues dans la technique, par exemple par la demande de brevet britannique n° 2 015 339 B et elles sont disponibles dans le commerce.

Les indications préférées comprennent les greffes, le diabète de type I, l'uvéite postérieure, l'arthrite
25 rhumatoïde et le syndrome néphrotique.

Si on le désire, les formes de dosage en combinaison du composé de l'invention et de la cyclosporine peuvent être faites. Celles-ci peuvent être basées sur les formulations en solution buvable de cyclosporine, c'est-à-
30 dire,

200 mg de Cyclosporine

1 ml de mélange Labrafil M 1944 CS (tel que décrit dans le brevet britannique GB 2 015 339)/éthanol
(40:15 v/v)

0,4 ml d'huile d'olive ou d'huile de maïs

qui peuvent contenir un composé de l'invention sous la forme d' une base libre, par exemple, 0,1 mg du composé A ou 0,005 mg du composé C. Le mélange peut être employé comme solution buvable ou être introduit dans des capsules de

5 gélatine molle.

REVENDEICATIONS

- 1.- Utilisation d'une quinoléine de faible poids moléculaire pour la préparation d'une composition pharmaceutique immuno-suppressive.
- 2.- Utilisation d'une quinoléine de faible poids moléculaire pour la préparation d'une composition pharmaceutique qui convient pour la thérapie immuno-suppressive pour une co-administration avec un autre agent immuno-suppresseur.
- 3.- Utilisation d'une quinoléine de faible poids moléculaire pour la préparation d'une composition pharmaceutique convenant pour une co-administration avec un autre agent immuno-suppresseur, afin de diminuer les effets secondaires provoqués par cet autre agent immuno-suppresseur.
- 4.- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée par le fait que la composition pharmaceutique est destinée au traitement de l'un des états suivants: l'arthrite, la sclérose multiple, la myasthénie gravis et le psoriasis.
- 5.- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée par le fait que la quinoléine de faible poids moléculaire est un dérivé de l'ergoline de faible poids moléculaire.
- 6.- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée par le fait que la quinoléine est la 6-n-propyl-8 α -(N,N-diéthylsulfamoylamino)-ergoline.
- 7.- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée par le fait que la quinoléine est le N,N-diéthyl-N'-[(3 α ,4 α ,10 α)-1,2,3,4,4a,5,10,10a-octahydro-[6-hydroxy-1-propyl-3-benzo [g] quinoléinyl] sulfamide.
- 8.- Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée par le fait que la quinoléine est choisie parmi la (5R,8S,10R)-2,6-diméthyl-8 α -pivaloylamino-ergoline, le lisuride, le pergolide, le terguride, le proterguride, le 2-bromerguride, la metergoline, le dosergoside, FCE 21336 et GYK1 32887.

9.- Utilisation selon l'une des revendications 2 à 8, caractérisée par le fait que l'agent immuno-suppresseur est une cyclosporine.

5 10.- Utilisation selon l'une des revendications 2 à 8, caractérisée par le fait que l'agent immuno-suppresseur est la cyclosporine A.

11.- Composition pharmaceutique contenant une quinoléine de faible poids moléculaire et un agent immuno-suppresseur.