



(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2003/12/10
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2004/07/29
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2005/05/31
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2003/003654
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2004/062652
(30) Priorité/Priority: 2002/12/12 (02 15722) FR

(51) Cl.Int.⁷/Int.Cl.⁷ A61K 31/00, A61K 31/444, A61K 31/38,
A61P 25/28

(71) Demandeur/Applicant:
AVENTIS PHARMA S.A., FR

(72) Inventeurs/Inventors:
CANTON, THIERRY, FR;
PRADIER, LAURENT, FR;
BENAVIDES, JESUS, FR;
HEUER, HUBERT, DE;
SCHAEFER, HANS-LUDWIG, DE

(74) Agent: BERESKIN & PARR

(54) Titre : APPLICATION ET TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER
(54) Title: PREVENTION AND TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

(57) **Abrégé/Abstract:**

L'invention a pour objet l'application des inhibiteurs de recapture intestinale de l'acide biliaire pour la prévention et le traitement de la maladie d'Alzheimer, le cas échéant en association avec un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP sécrétases.



(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
29 juillet 2004 (29.07.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/062652 A1(51) Classification internationale des brevets⁷ :
A61K 31/00, 31/38, 31/444, A61P 25/28(74) Mandataire : **ROUSSEAU, Pierrick**; AVENTIS
PHARMA S.A., Direction Brevets, 20 Avenue Raymond
Aron, F-92165 ANTONY CEDEX (FR).(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/003654(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, 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, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(22) Date de dépôt international :
10 décembre 2003 (10.12.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02 15722 12 décembre 2002 (12.12.2002) FR(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).(71) Déposant : **AVENTIS PHARMA S.A.** [FR/FR]; 20 Av-
enue Raymond Aron, F-92160 ANTONY (FR).(72) Inventeurs: **CANTON, Thierry**; 29 Route de Chauff-
four, F-91580 ETRECHY (FR). **PRADIER, Laurent**;
23 Avenue Cambacérès, F-91370 VERRIERES (FR).
BENAVIDES, Jesus; 105 rue Anatole France, F-92290
CHATENAY MALABRY (FR). **HEUER, Hubert**; Am
Sportfeld 74, 55270 SCHWABENHEIM (DE). **SCHAE-
FER, Hans-Ludwig**; Steingasse 7, 65239 HOCHHEIM
(DE).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

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

(54) Title: PREVENTION AND TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

(54) Titre : APPLICATION ET TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

(57) Abstract: The invention concerns the use of biliary acid intestinal recapture inhibitors for preventing and treating Alzheimer's disease, optionally combined with a HMG-CoA reductase inhibitor, a cholesterol capture inhibitor, a cholesterol synthesis capture inhibitor or an APP secretase inhibitor.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet l'application des inhibiteurs de recapture intestinale de l'acide biliaire pour la prévention et le traitement de la maladie d'Alzheimer, le cas échéant en association avec un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP secrétases.



WO 2004/062652 A1

PREVENTION ET TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

La présente invention a pour objet l'application des
5 inhibiteurs de recapture intestinale des acides biliaires
pour la prévention et le traitement de la maladie
d'Alzheimer.

La maladie d'Alzheimer (AD) est une maladie neuro-
dégénérative progressive qui affecte une large proportion de
10 la population âgée. Cette maladie est caractérisée sur le
plan clinique par une perte de la mémoire et un déclin des
fonctions cognitives, sur le plan neuropathologique par la
présence dans le cerveau de dépôts neurofibrillaires
intracellulaires et de dépôts extracellulaires du peptide β -
15 amyloïde ($A\beta$) formant les plaques amyloïdes (Yankner BA
(1996) Neuron 16 : 921-932). A ces signes s'ajoutent un
nombre important d'autres changements anormaux incluant une
altération des systèmes immunitaires et inflammatoires ainsi
qu'une altération de la fonction mitochondriale pouvant
20 conduire à une augmentation du stress oxydatif, une
activation des mécanismes de l'apoptose et de manière ultime
à la mort cellulaire.

Les plaques amyloïdes sont majoritairement composées des
peptides $A\beta$ à 40 ou 42 résidus qui sont générés lors du
25 processus protéolytique de la protéine précurseur du peptide
 β -amyloïde (APP). Les dépôts extracellulaires de $A\beta$ sont
très spécifiques de l'AD et des désordres associés. Ils
représentent la caractéristique invariable de toutes les
formes de l'AD, incluant les formes familiales (FAD). Les
30 formes familiales précoces de la maladie (apparition entre 40
et 60 ans) sont dues à des mutations dans le gène de l'APP et
dans les gènes de la préséniline-1 (PS1) et de la
préséniline-2 (PS2). Les mutations dans ces trois gènes
induisent des changements dans la protéolyse de l'APP,
35 conduisant à une surproduction d' $A\beta$ et à l'apparition précoce
de la pathologie et des symptômes qui sont similaires à ceux
des formes sporadiques de l'AD. (Czech C., et al. (2000)
Progress in Neurobiology **60** : 361-382).

Un lien entre le cholestérol et la maladie d'Alzheimer a également été établi à partir d'études épidémiologiques et de résultats d'études biochimiques et de biologie cellulaire récentes (voir revue Hartmann, T. (2001) *TINS* **24** : S45-48).

5 Un taux de cholestérol élevé à l'âge adulte ainsi qu'une tension artérielle élevée accroissent significativement le risque de maladie d'Alzheimer (Kivipelto et al., 2001 *Br Med J.* **322** : 1447).

A l'opposé, un risque très diminué est enregistré dans
10 les populations sous traitement avec les agents hypocholestérolémiants type statines (Wolozin et al. (2000) *Arch Neurol.* **57** : 1439 ; Jick et al. (2000) *Lancet* **356** : 1627).

Le lien moléculaire semble avoir été récemment établi. *In vitro* et *in vivo*, un taux de cholestérol élevé augmente la
15 production du peptide A- β et accélère l'apparition de plaques amyloïdes (Sparks et al. (1994) *Exp. Neurol.* **126** : 88-94 ; Refolo et al. (2000) *Neurobiol. Dis.* **7** : 321-331 ; Puglielli et al. (2001) *Nat. Cell Biol.* **3** : 905 ; Shie et al. (2002). *Neuroreport* **13** : 455) tandis que les inhibiteurs de la voie
20 de synthèse du cholestérol les diminuent (Simons et al. (1998) *PNAS USA* **95** : 6460-6464 ; Faßbender et al. (2001) *PNAS USA* **98** : 5856, Refolo et al., (2001) *Neurobiol. Dis.* **8** : 890-899)

Dans le but de diminuer le taux de peptide β -amyloïde *in vivo*, et traiter, prévenir ou réduire la progression de la
25 maladie d'Alzheimer, il a donc été suggéré d'utiliser des inhibiteurs de la synthèse du cholestérol tels que ceux de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase (HMG CoA reductase), une enzyme impliquée dans la biosynthèse du
30 cholestérol, tels que décrits dans WO 00/28981 et notamment les statines telles que la simvastatin (Hartman, 2001 *TINS* **24** : S45-48).

Jusqu'à présent, il n'a pas été défini si l'effet thérapeutique des statines était dû à une action directe au
35 niveau du système nerveux central ou si elles agissaient par diminution du cholestérol plasmatique. En effet, un effet limité aux niveaux de cholestérol plasmatique semblait peu probable puisqu'il était généralement admis que le

cholestérol cérébral était indépendant du cholestérol plasmatique (Dietschy et Turley (2001) *Curr. Opin. Lipidol.* **12** : 105-112).

La demanderesse a mis en évidence qu'une classe
5 pharmacologique spécifique, les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires (Biliary Acid Reuptake Inhibitor ou BARI), qui permettent de diminuer le taux de cholestérol plasmatique en bloquant la recapture d'acides biliaires dans l'intestin, pouvait également diminuer les taux de peptide β -amyloïde
10 dans le cerveau.

Les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires ne sont pas absorbés, et leur site d'action est dans l'intestin où ils bloquent la recapture des acides biliaires excrétés, qui constituent une large source de précurseur de cholestérol.

15 Les résultats obtenus et décrits plus bas dans la partie expérimentale permettent de mettre en évidence qu'il est suffisant de diminuer les taux de cholestérol plasmatique pour diminuer les niveaux de peptide β -amyloïde dans le cerveau.

20 De manière surprenante, il a donc été démontré que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires (BARI) sont efficaces dans un modèle animal de la maladie d'Alzheimer en n'agissant que par l'intermédiaire de la régulation du taux plasmatique de cholestérol et en particulier en ne pénétrant
25 pas dans le cerveau, car il ne sont pas absorbés dans l'organisme.

Par prévention ou traitement de la maladie d'Alzheimer on entend la possibilité de prévenir ou retarder l'apparition et/ou la progression de la maladie d'Alzheimer.

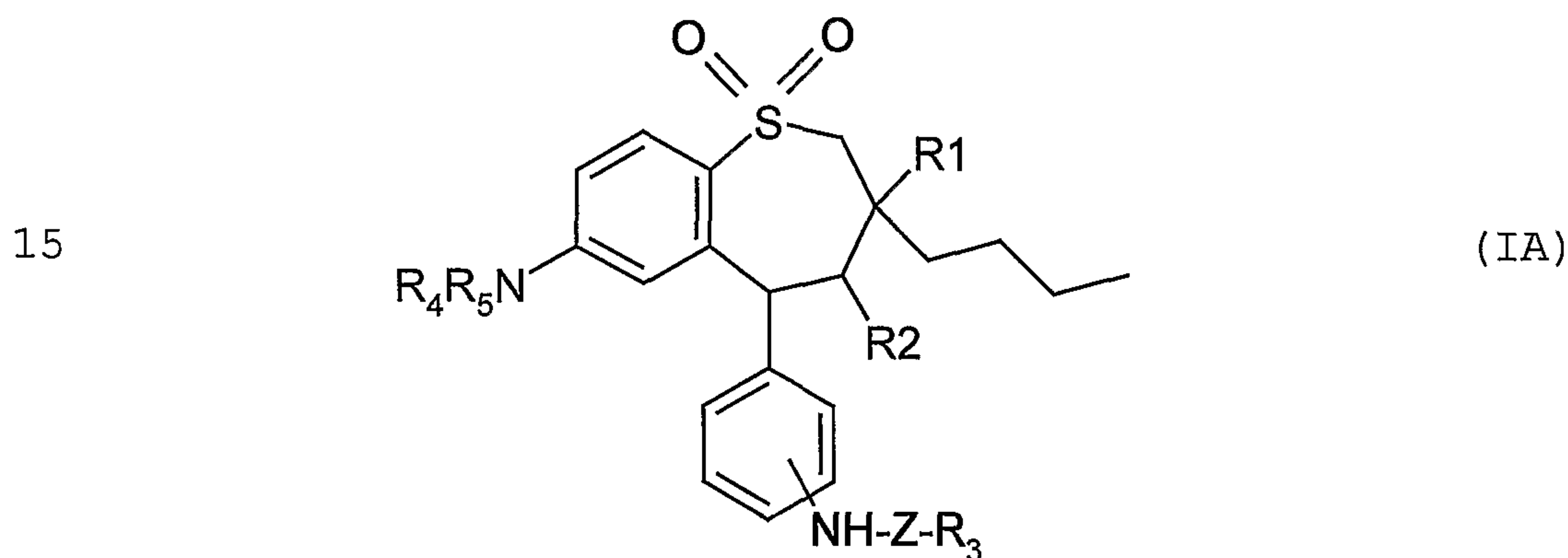
30 L'invention a donc pour objet l'application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.

De manière plus générale, l'invention a pour objet
35 l'application des composés ou mélange de composés qui diminuent les niveaux de cholestérol plasmatique sans nécessité d'être absorbés dans l'organisme après leur administration orale, pour prévenir ou traiter la maladie

d'Alzheimer.

Les molécules ayant une activité inhibitrice de recapture d'acides biliaires (BARI) sont notamment décrits dans les brevets US 6,221,897 et US 6,245,744.

5 L'invention a donc plus particulièrement pour objet l'application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont des
10 composés de formule (IA)



Dans laquelle :

R^1 représente, méthyle, éthyle, propyle ou butyle

R^2 représente H, OH, NH_2 , ou $NH-(C_1-C_6)$ alkyle

R^3 est un monosaccharide, bi-saccharides, tri-saccharides ou
25 quadri-saccharides, le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur des sucres ;

R^4 est méthyle, éthyle, propyle ou butyle

R^5 est méthyle, éthyle, propyle ou butyle

Z est $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle ; $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle-NH ;
30 $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle-O ; $(C=O)_n-(C_0-C_{16})$ -alkyle-(C=O)- ; ou une liaison covalente ;

n est 0 ou 1

m est 0 ou 1

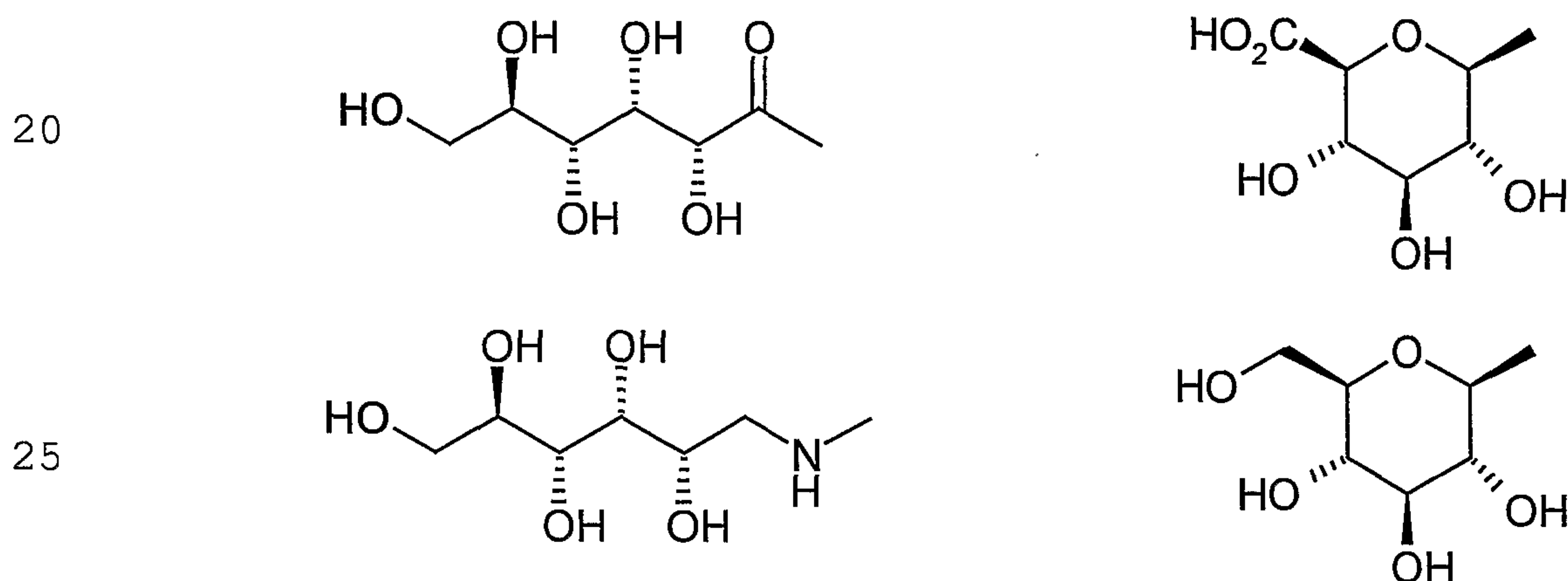
ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement
35 acceptables.

Par radical monosaccharide, on entend des polyalcools à 5, 6, 7 ou 8 atomes de carbone, comportant aussi des groupements carbonyles (cétonique ou aldéhydique), lesquels

le plus souvent n'existent pas à l'état libre mais sont combinés avec un ou des groupements hydroxyles de la même molécule, sous forme d'hémicétal ou d'hémicétal cyclique. Il peut s'agir de sucres à 5 atomes de carbone tels que le L-
 5 arabinose, le D-ribose, le déoxy-2 D-ribose et le D-xylose.

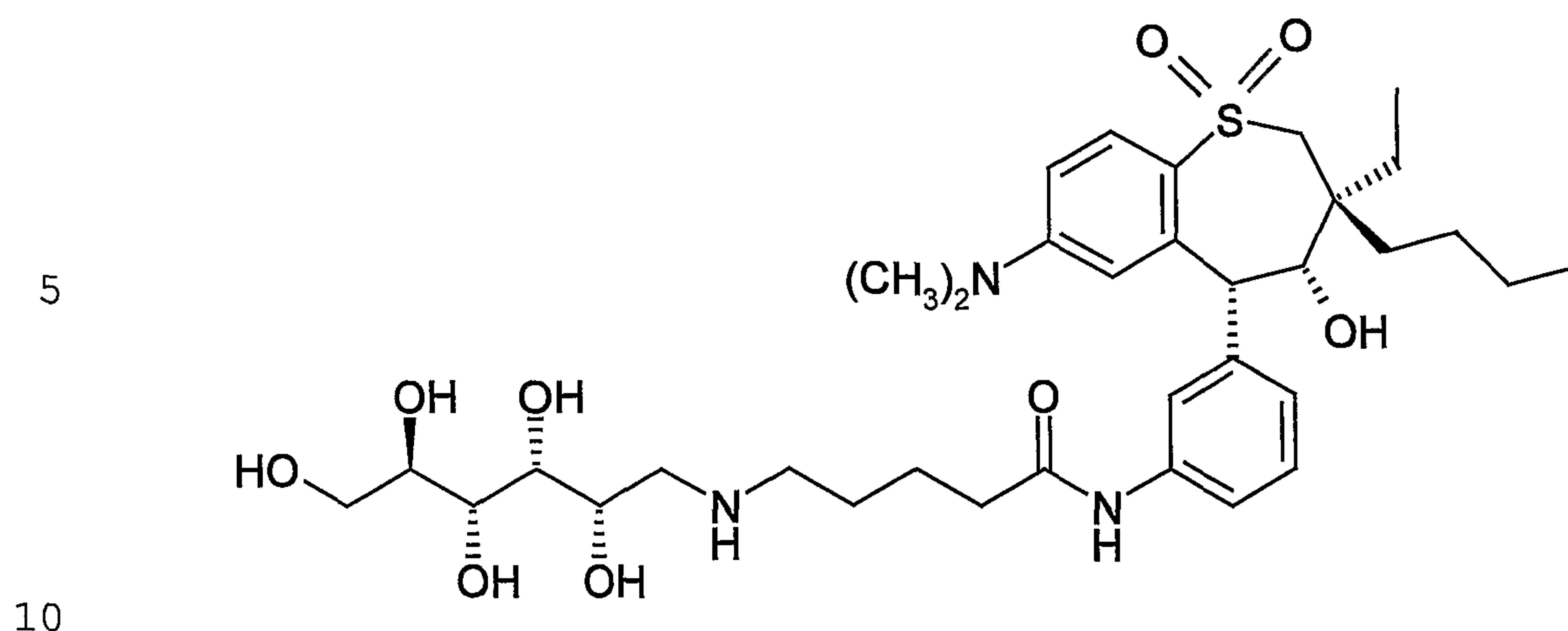
Ces sucres font partie de la série des pentoses (ou aldopentoses).

Il peut également s'agir des sucres à 6 carbones tels que le D-glucose, le D-fructose, le D-galactose et le D-
 10 mannose. Il peut également s'agir de l'érythrose, du glycéraldéhyde, du sédoheptulose, de la glucosamine, de la galactosamine, de l'acide glucoronique, de l'acide galacturonic, de l'acide gluconique, de l'acide galactonique, de l'acide mannonique, de la glucamine, du 3-amino-1,2-
 15 propanediol, de l'acide glucarique et de l'acide galactarique. Parmi les glucides préférés, on peut citer les radicaux suivants :



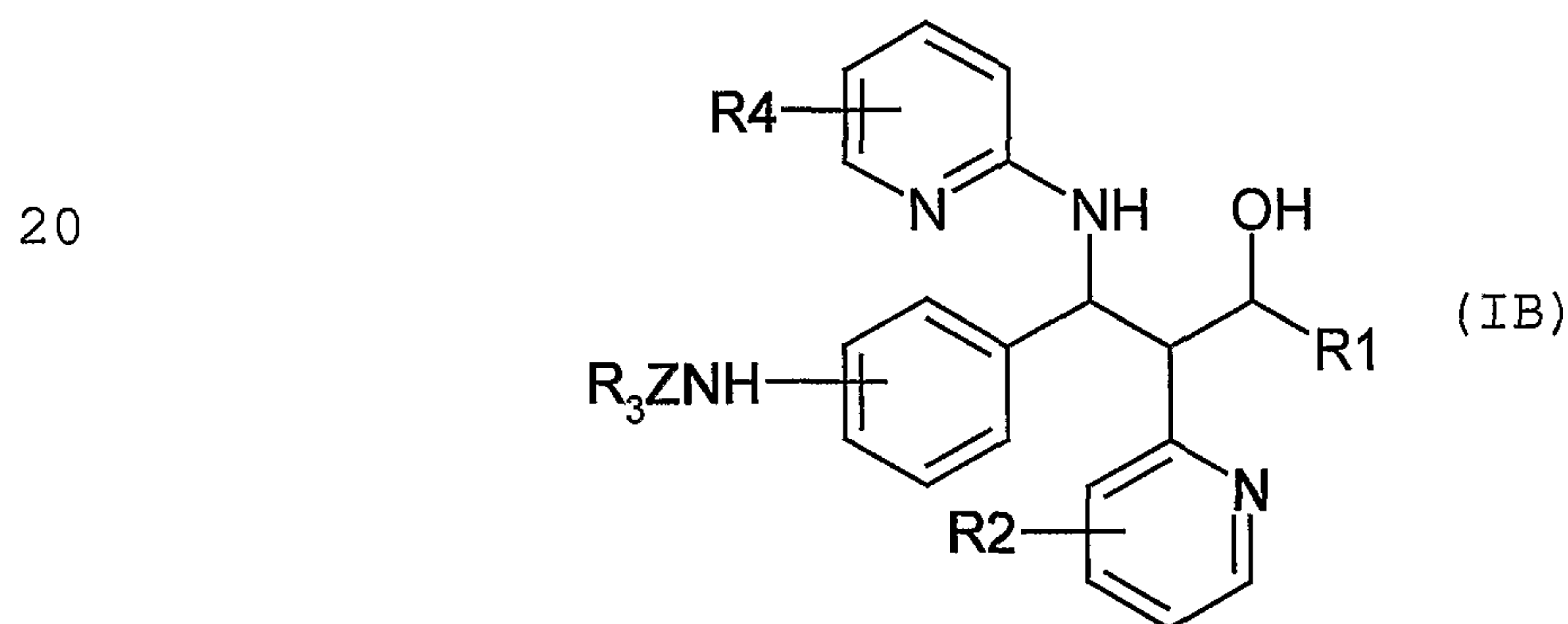
L'invention a tout particulièrement pour objet l'application d'un composé inhibiteur de recapture d'acides
 30 biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce que l'inhibiteur de recapture d'acides biliaires est le composé de formule (IA) (produit A) suivant :

6



L'invention a également plus particulièrement pour objet l'application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce

15 que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont des composés de formule (IB) :



dans laquelle R^1 est un radical phényle ou un groupement hétéroaryle non substitués ou substitués par un à trois radicaux indépendants choisis parmi F, Cl, Br, I, -OH, -CF₃, -

30 NO₂, -NHR⁹, -NR⁹R¹⁰, -CHO, -CO₂H, -CO₂R¹¹, -COR¹², -(C₁-C₆)-alkyl-OH, -(C₁-C₆)-alkyl-OH-phényl, -(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -(C₁-C₆)-alkyl-CN, -(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂H, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂R¹¹, -(C₁-C₆)-alkyl-COR¹², -O-(C₁-

35 C₆)-alkyl-OH, -O-(C₁-C₆)-alkyl(-OH)-phényl, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CN, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -O-(C₁-C₆)-N-S₃H, -S₂-CH₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-

O-(C₁-C₆)-alkyl-phényl, -(C₁-C₆)-alkylthio ou pyridyle, lesdits dérivés alkyles pouvant être substitués par un ou plusieurs atomes de fluor et les groupements phényles ou pyridyles pouvant être monosubstitués par méthyle, méthoxy ou

5 halogène ;

R² représente H, OH, -CH₂OH, -OMe, -CHO ou -NH₂

R³ est un résidu mono saccharide, di-saccharides, tri saccharides ou quadri-saccharides le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur

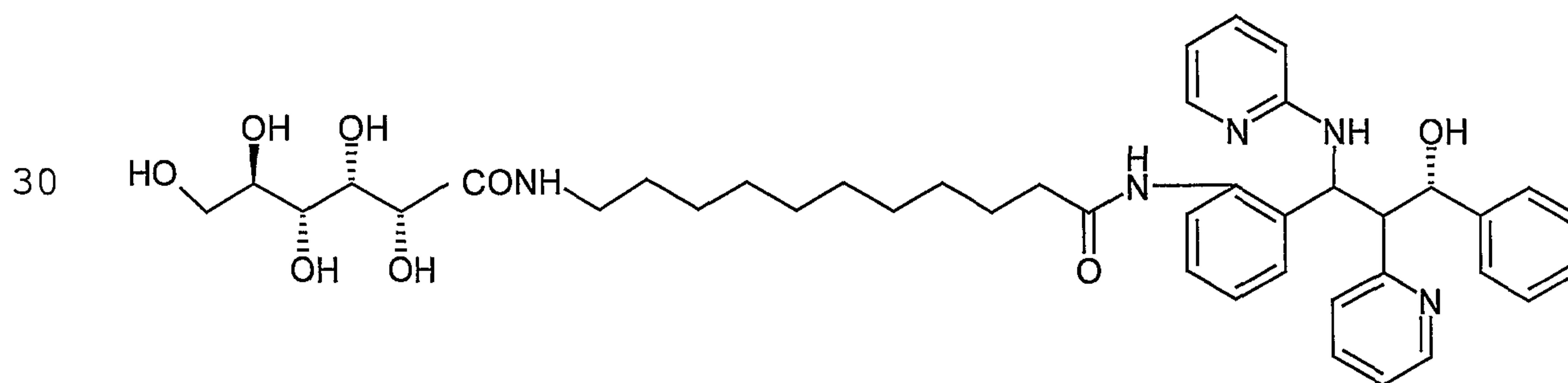
10 des sucres, HO-SO₂- ou (HO)₂-PO- ;

R⁴ est H, méthyle, F ou -OMe,

R⁹ à R¹² représentent indépendamment l'un de l'autre H ou -(C₁-C₈)-alkyle

Z représente une liaison covalente, un groupement -NH-(C₀-C₃₆)-alkyl-CO-, -O-(C₀-C₃₆)-alkyl-CO-, -(CO)_m-(C₀-C₃₆)-alkyl-(CO)_n-, un résidu d'acide aminé, un résidu de diacide aminé, étant entendu que le dit résidu d'acide aminé ou résidu de diacide aminé peut être mono ou polysubstitué par un groupe protecteur d'acide aminé, ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement acceptables.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'application d'un composé inhibiteur de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce que l'inhibiteur de recapture d'acides biliaires est le composé de formule (IB) (produit B) suivant :



35 Les préparations de ces composés sont décrites dans les brevets cités plus haut.

Les inhibiteur de recapture d'acides biliaires dans leur application selon l'invention peuvent être administrés tels

quels ou en association avec un ou plusieurs autres composés choisis parmi :

- les inhibiteurs de HMG-CoA reductase tels que les statines,

5 - les inhibiteurs de la capture de cholestérol,

- les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol et tout autre agent réduisant les taux de cholestérol plasmatique et/ou cérébral,

- les inhibiteurs des APP γ et β secrétases.

10 Parmi les inhibiteurs de la capture de cholestérol, on peut citer l'Ezetimibe. Parmi les inhibiteurs des APP γ et β secrétases, on peut citer les composés tels que décrits par H. Josien (2002, Current Opinion in Drug Disc. & dev 5 : 513-525) ou dans la revue générale de M.S. Wolfe, (2002, Nat. Rev. Drug. Discov. 1 : 859-866).

L'invention a donc également pour objet l'application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce que les

20 inhibiteur de recapture d'acides biliaires sont associés avec un ou plusieurs autres composés choisis parmi

a) les inhibiteurs de HMG-CoA réductase, ou

b) les inhibiteurs de la capture de cholestérol, ou

c) les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol, ou

25 d) les inhibiteurs des APP secrétases.

L'invention a donc également pour objet l'application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce que les

30 inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont associés avec un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteurs de la capture de cholestérol, un inhibiteurs de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP γ et β secrétases pour une administration simultanée, séparée ou étalée dans le

35 temps.

L'invention a également pour objet une méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer pour un patient ayant un risque de développer cette maladie ou étant

en cours de développement de la maladie comprenant l'administration à ce patient d'une quantité thérapeutique efficace d'un composé ayant une activité hypocholestérolémiante et ne pénétrant pas dans l'organisme après leur administration orale.

Plus précisément, l'invention a pour objet une méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer telle que définie précédemment caractérisée en ce que le composé ayant une activité hypocholestérolémiante et ne pénétrant pas dans l'organisme est un inhibiteur de recapture d'acides biliaires

Tout particulièrement, l'invention a pour objet une méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer pour un patient ayant un risque de développer cette maladie ou étant en cours de développer cette maladie comprenant l'administration à ce patient une quantité thérapeutiquement efficace d'un inhibiteur de recapture d'acides biliaires tel que défini par les formules (IA) et (IB) et en particulier le composé A ou le composé B.

Par ailleurs, l'invention a pour objet une méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer tel que définie plus haut caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont administrés en association avec un ou plusieurs composés choisis parmi un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP γ et β secrétases

Les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires peuvent être administrés sous la forme d'une préparation pharmaceutique (composition pharmaceutique) qui permet une administration par voie orale ou per-orale (par exemple sublinguale).

L'invention a donc pour objet l'application des inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont sous la forme de compositions pharmaceutiques administrables par voie orale.

Plus précisément, l'invention a pour objet l'application telle que définie précédemment caractérisé en ce que les compositions pharmaceutiques renferment une dose efficace d'au moins un composé inhibiteur de recapture d'acides biliaires ainsi qu'un ou plusieurs supports pharmaceutiquement inertes, et/ou un ou plusieurs additifs usuels permettant une administration par voie orale ou per orale.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention renferment normalement de 0,01 à 100 mg, et de préférence de 0,02 à 50 mg d'inhibiteur de recapture d'acides biliaires.

L'invention a donc plus particulièrement pour objet l'application des inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer caractérisée en ce que la composition pharmaceutique administrable par voie orale contient de 0,02 à 50 mg d'inhibiteurs de recapture d'acides biliaires.

Les compositions pharmaceutiques peuvent être administrés oralement, par exemple sous forme de pilules, de comprimés, de comprimés enrobés, de pelliculés, de granules, de gélules et capsules molles, de solutions, de sirops, d'émulsion, de suspension ou de mélange d'aérosol.

Les compositions pharmaceutiques sont préparées selon des méthodes connues en soi, des supports organiques ou inorganiques, pharmaceutiquement inertes étant additionnés aux inhibiteurs de recapture d'acides biliaires.

Pour la production de pilules, de comprimés, de comprimés enrobés et de capsules en gélatine dure, il est possible d'utiliser par exemple, du lactose, de l'amidon de maïs ou ses dérivés, du talc, de l'acide stéarique ou ses sels, etc.

Les véhicules appropriés pour la préparation de solutions, par exemple les émulsions ou les sirops sont par exemple l'eau, les alcools, le glycérol, les polyols, le sucrose, les sucres invertis, le glucose, les huiles végétales, etc. Les préparations pharmaceutiques contiennent normalement de 0,05 % à 90 % en poids d'inhibiteur de

recapture d'acides biliaires.

En plus des principes actifs et des supports, les préparations pharmaceutiques peuvent contenir des additifs tels que par exemple des diluants, des désintégrants, des
5 liants, des lubrifiants, des agents mouillant, des stabilisants, des émulsifiants, des conservateurs, des agents sucrant, des colorants des agents de flaveurs ou des aromatisants, des épaississants, des agents tampons, et aussi des solvants ou des solubilisants ou des agents pour obtenir
10 un effet retard et également des sels pour modifier la pression osmotique, des agents d'enrobage ou des antioxydants.

Les préparations pharmaceutiques peuvent également contenir deux ou plusieurs inhibiteurs de recapture d'acides
15 biliaires. En outre, en plus d'au moins un ou plusieurs inhibiteur de recapture d'acides biliaires, ils peuvent contenir au moins un ou plusieurs autres principes actifs utilisables à titre thérapeutique ou prophylactique tels que un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la
20 capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP γ et β sécrétases.

Lorsqu'on utilise les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires, les doses peuvent varier à l'intérieur de limites larges et doivent être fixées en fonction de la personne à
25 traiter. Ceci dépend par exemple du composé employé ou de la nature et de la sévérité de la maladie à traiter et si on se trouve dans des conditions graves ou chronique ou si on met en oeuvre un traitement prophylactique.

Dans le cas d'une administration par voie orale, la dose
30 quotidienne varie en général de 0,1 à 100 mg/kg et de préférence de 0,1 à 50 mg/kg, en particulier de 0,1 à 5 mg/kg. Par exemple pour un adulte de 75 kg on pourra envisager une dose quotidienne variant de 0,3 à 0,5 mg/kg.

La dose quotidienne peut être divisée, en particulier
35 dans le cas de l'administration de grande quantité de principe actif, en plusieurs, par exemple 2, 3 ou 4 parts. Le cas échéant, en fonction du comportement individuel, il peut être nécessaire d'administrer les différentes doses de

manière croissante ou décroissante.

Les tests *in vivo* du produit A sur la production du peptide amyloïde dans un modèle de souris transgéniques ont été mis en œuvre de la manière suivante :

5 a) Test experimental 1 (figure 1)

- Traitement des animaux

Le produit A sous forme de poudre a été mélangé au dosage de 0,01 % (poids/poids) avec l'aliment standard sous forme de poudre.

10 Des souris transgéniques Tg53 (surexprimant le transgène humain APP portant les mutations « Swedish » et « London », (2002 Wirths, et al. (2002). *Brain Pathol.* **12**, 275-286), femelles âgées de 8-10 semaines, ont été traitées pendant 3 semaines. Les souris étaient hébergées en cage individuelle
15 avec boisson à volonté. Chaque jour, 6 grammes d'aliment en poudre (supplémenté ou non avec le produit A) étaient distribués dans chaque cage. Deux groupes de 11 à 12 animaux (régime contrôlé ou supplémenté en produit A) ont été utilisés. A l'issue du traitement, un échantillon sanguin a
20 été prélevé et le taux de cholestérol plasmatique déterminé à l'aide d'un automate d'analyse biologique.

- Préparation des extraits cérébraux

Après euthanasie, le cerveau des souris a été prélevé et pesé. Le tissu a été homogénéisé individuellement sur glace à
25 l'aide d'un Potter dans 10 volumes (poids/volume) d'une solution tampon: 0,32 M sucrose, Tris-HCl 4 mM, pH 7,4 contenant un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Complete™, Roche Diagnostics). L'homogénat a ensuite été centrifugé à 50,000 x g, 2 h à 4°C et le surnageant prélevé pour
30 constituer la fraction soluble (Aβ soluble) de cerveau et a été conservé à -80°C.

Pour la mesure d'Aβ totale, un aliquot d'homogénat a été dénaturé par la Guanidine Hydrochloride 6M (concentration finale), suivi de 3 cycles de 15 minutes à 4°C
35 d'ultrasonification (Bandelin Electronique Sonorex Super RK 102K - Allemagne) pour solubiliser toutes les formes de peptide Aβ (fraction totale).

- Dosage du peptide amyloïde par la méthode d'immunoélectrochimiluminescence.

La concentration du peptide A β dans les fractions solubles ou solubles et insolubles du cerveau des souris transgéniques a été déterminée par immunoélectrochimiluminescence (Yang et al. (1994). *Biotechnology (NY)* **12**(2), 193-194) à l'aide de 2 anticorps monoclonaux de souris anti-peptide A β (4G8 et 6E10) et du lecteur Origen M8 Analyzer (IGEN Europe Inc. Oxford) suivant un protocole modifié d'après Khorkova et al. (*J. Neurosci. Methods* 82, 159-166 (1998)).

L'anticorps monoclonal 4G8 (Senetek PLC), reconnaissant l'épitope résidus 17-24 du peptide A β , est ruthénylé grâce à l'ester TAG-NHS suivant le protocole du fournisseur (IGEN Europe Inc., Oxford). Ru-4G8 et l'anticorps biotinylé 6E10, épitope 1-10 du peptide A β (Senetek PLC) sont mis en présence de la fraction soluble ou de la fraction totale de cerveau et les complexes tripartites Ru-4G8/A β /6E10-biot quantifiés par le lecteur Origen. Pour la fraction totale, la concentration en guanidine Hydrochloride est préalablement ramenée à 0.3M par dilution pour le dosage du peptide A β . Une gamme de peptide synthétique A β (Bachem) est utilisée pour calibrer chaque expérience. Le taux de peptide A β est calculé en nanogramme par g de poids initial de tissu cérébral.

25 - Résultat :

Comparé au groupe régime control, le groupe régime supplémenté en produit A (0,01 % de produit A appelé BARI dans la figure 1) a montré une baisse du taux cérébral de peptide A β soluble de 18 % [$15,45 \pm 0,71$ ng/g de tissu (n=11) comparé à $18,85 \pm 0,96$ ng/g de tissu (n=12), t test non apparié, p= 0,0103].

Le taux de cholestérol plasmatique était lui aussi diminué de 14 % [groupe régime supplémenté en produit A : $0,62 \pm 0,030$ g/l (n=11) comparé au groupe régime contrôle : $0,72 \pm 0,023$ g/l (n=12) ; t test non apparié p=0,0154] (Voir figure 1)

b) Test expérimental n° 2 (figures 2 et 3)

Dans une expérience utilisant des souris transgéniques femelles à 15.5 semaines d'âge à la fin du traitement et donc avec des taux de A β plus élevés dûs à l'âge, comparé au groupe régime control, le groupe régime supplémenté en produit A (0,01 %, nommé BARI dans les figures 2 à 4) a montré une baisse du taux cérébral de peptide A β soluble encore plus prononcée, de 40% [24,5 \pm 1,2 ng/g de tissu (n=8) comparé à 40,8 \pm 2,5 ng/g de tissu (n=7), t test non apparié, p= 0,0001] (Fig2). Les taux cérébraux de peptide A β total (incluant les formes solubles et les formes membranaires ou aggrégées du peptide A β) sont eux aussi fortement diminués de 46% [196,3 \pm 17,8 ng/g de tissu (n=8) comparé à 364,2 \pm 40,9 ng/g de tissu (n=7), t test non apparié, p= 0,0017] (Fig3). Cet effet sur le pool des formes totales d' A β est d'importance pour le traitement des patients atteints de maladie d'Alzheimer et qui ont des niveaux très élevés de peptide A β aggrégé au sein des plaques séniles.

Comme précédemment, le taux de cholestérol plasmatique était lui aussi diminué de 18 % [groupe régime supplémenté en produit A : 0,70 \pm 0,03 g/l (n=8) comparé au groupe régime contrôle : 0,85 \pm 0,03 g/l (n=7) ; t test non apparié p=0,0037]

c) Test expérimental n° 3 (figure 4)

Dans les mêmes conditions expérimentales, le traitement avec différentes doses de produit A, a révélé l'on pouvait diminuer jusqu'à, au moins, un facteur 100 la dose de produit A (soit un supplément du régime avec 0.0001%) tout en gardant l'effet de réduction sur les taux cérébraux de peptide A β totale. En effet les taux de A β totale était réduit de 21% pour 0.0001% de produit A [85,4 \pm 4,1 ng/g de tissu (n=8) comparé au groupe contrôle à 108,1 \pm 8,5 ng/g de tissu (n=10), t test non apparié, p= 0,04], de 20% pour 0.001% de

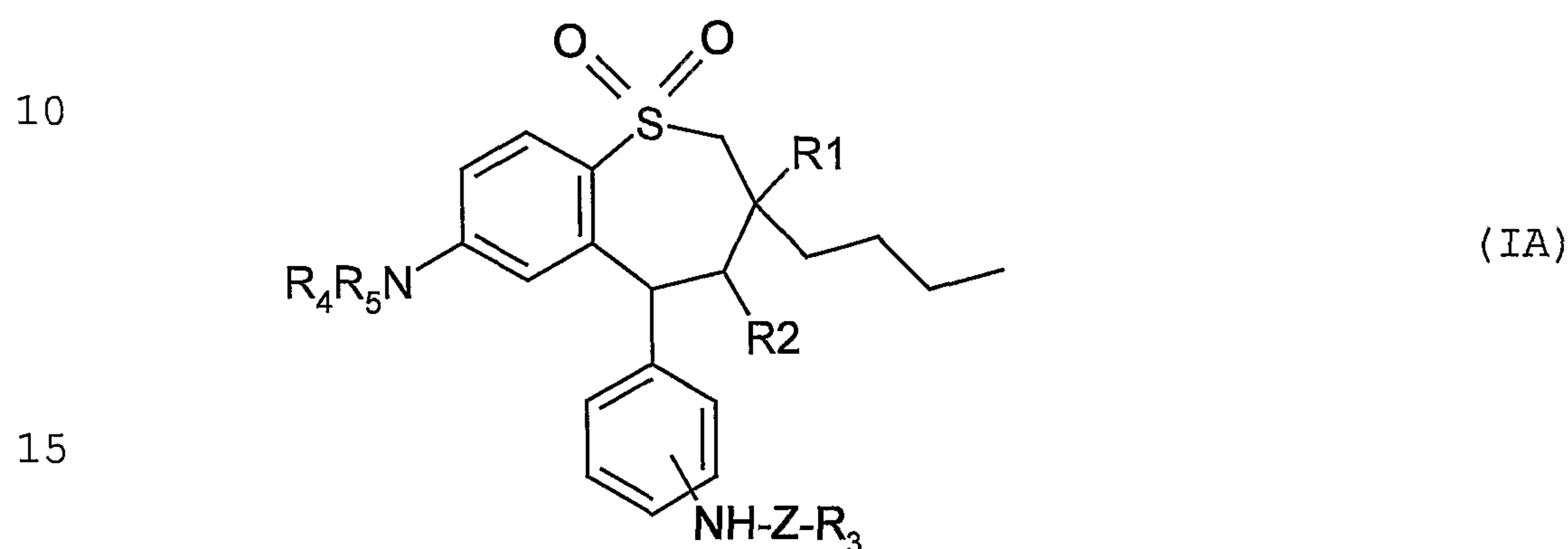
15

produit A [$86,5 \pm 5,9$ ng/g de tissu (n=10), $p= 0.050$] et de 16% pour 0.01% de produit A [$90,5 \pm 6,9$ ng/g de tissu (n=10), $p= 0.123$, ns] (Fig4).

REVENDICATIONS

1) Application des composés inhibiteurs de recapture d'acides biliaires pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.

2) Application selon la revendication 1 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont des composés de formule (IA) :



dans laquelle

20 R^1 représente, méthyle, éthyle, propyle ou butyle

R^2 représente H, OH, NH_2 , ou $NH-(C_1-C_6)alkyle$

R^3 est un radical saccharide, bi-saccharide, tri-saccharide ou quadri-saccharide, le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur des sucres ;

25 R^4 est méthyle, éthyle, propyle ou butyle

R^5 est méthyle, éthyle, propyle ou butyle

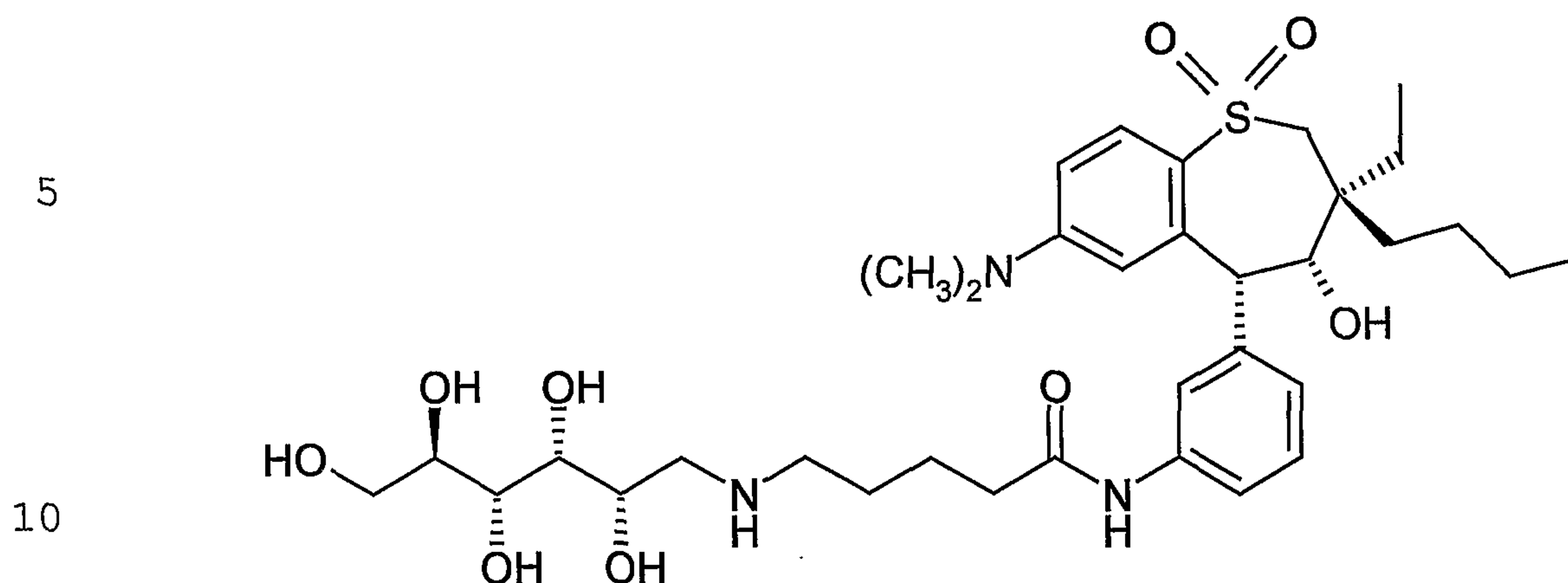
Z est $(C=O)_n-(C_0-C_{16})-alkyle$; $(C=O)_n-(C_0-C_{16})-alkyle-NH$; $(C=O)_n-(C_0-C_{16})-alkyle-O$; $(C=O)_n-(C_0-C_{16})-alkyle-(C=O)-$; ou une liaison covalente ;

30 n est égal à 0 ou 1

m est 0 ou 1

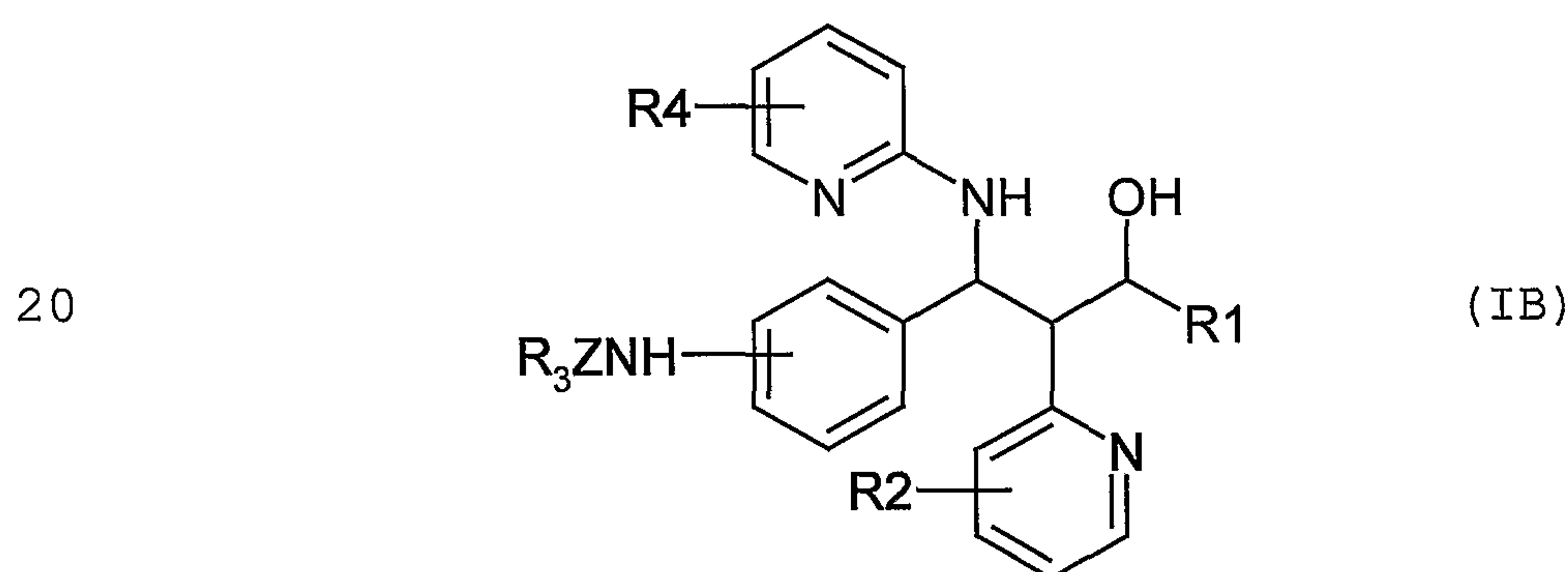
ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement acceptables.

3) Application selon la revendication 1 ou 2 caractérisée en ce que l'inhibiteur de recapture d'acides biliaires est le composé de formule (IA) suivant :



4) Application selon la revendication 1 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont des

15 composés de formule (IB) :



25 dans laquelle R^1 est un radical phényle ou un groupement hétéroaryle non substitués ou substitués par un à trois radicaux indépendants choisis parmi F, Cl, Br, I, -OH, -CF₃, -NO₂, -NHR⁹, -NR⁹R¹⁰, -CHO, -CO₂H, -CO₂R¹¹, -COR¹², -(C₁-C₆)-alkyl-OH, -(C₁-C₆)-alkyl-OH-phényl, -(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -(C₁-C₆)-alkyl-CN, -(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂H, -(C₁-C₆)-alkyl-CO₂R¹¹, -(C₁-C₆)-alkyl-COR¹², -O-(C₁-C₆)-alkyl-OH, -O-(C₁-C₆)-alkyl(-OH)-phényl, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CF₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NO₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CN, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NH₂, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NHR⁹, -O-(C₁-C₆)-alkyl-NR⁹R¹⁰, -O-(C₁-C₆)-alkyl-CHO, -O-(C₁-C₆)-N-S₃H, -S₂-CH₃, -O-(C₁-C₆)-alkyl-O-(C₁-C₆)-alkyl-phényl, -(C₁-C₆)-alkylthio ou pyridyle, lesdits dérivés alkyles pouvant être substitués par un ou plusieurs

atomes de fluor et les groupements phényles ou pyridyles pouvant être monosubstitués par méthyle, méthoxy ou halogène ;

R^2 représente H, OH, $-CH_2OH$, $-OMe$, $-CHO$ ou $-NH_2$

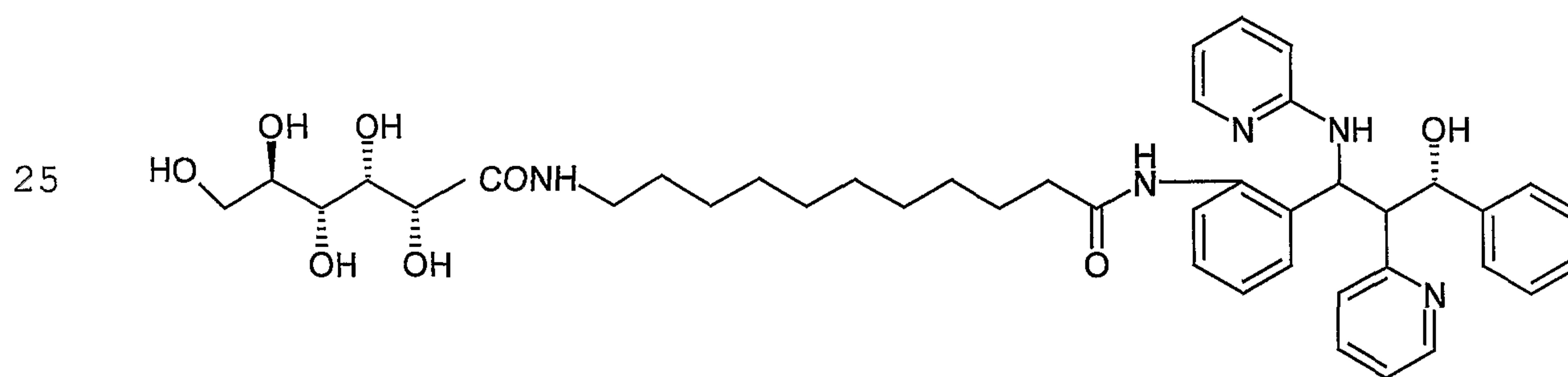
5 R^3 est un résidu saccharide, di-saccharide, tri-saccharide ou quadri-saccharide le dit radical étant non substitué ou mono ou polysubstitué par un groupe protecteur des sucres, $HO-SO_2-$ ou $(HO)_2-PO-$;

R^4 est H, méthyle, F ou $-OMe$,

10 R^9 à R^{12} représentent indépendamment l'un de l'autre H ou $-(C_1-C_8)-alkyle$

Z représente une liaison covalente, un groupement $-NH-(C_0-C_{36})-alkyl-CO-$, $-O-(C_0-C_{36})-alkyl-CO-$, $-(CO)_m-(C_0-C_{36})-alkyl-(CO)_n-$, un résidu d'acide aminé, un résidu de diacide aminé, 15 étant entendu que le dit résidu d'acide aminé ou résidu de diacide aminé peut être mono ou polysubstitué par un groupe protecteur d'acide aminé, ainsi que leurs sels d'additions pharmaceutiquement acceptables.

20 **5)** Application selon la revendication 1 ou 4 caractérisée en ce que l'inhibiteur de recapture d'acides biliaires est le composé de formule (IB) suivant :



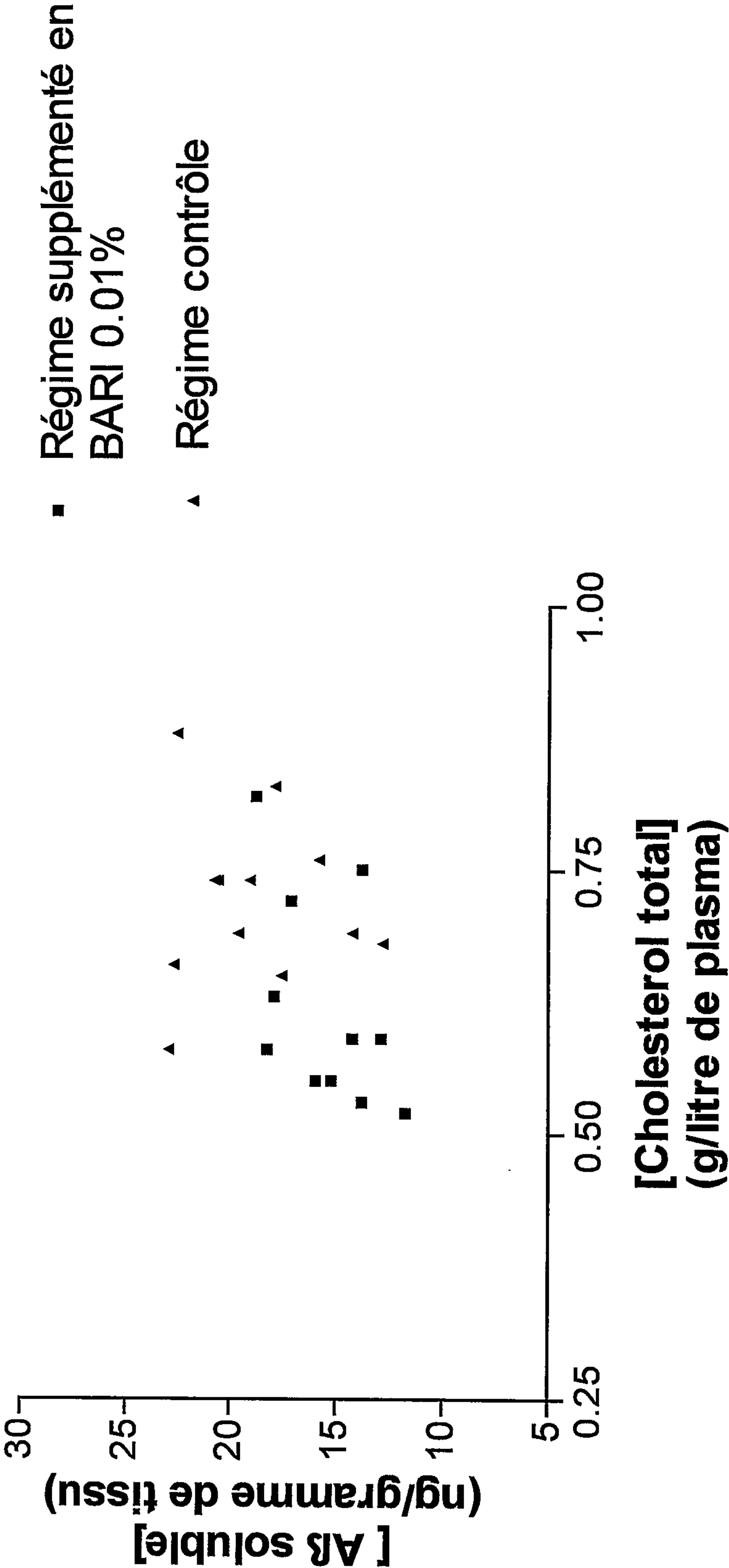
30 **6)** Application selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont sous la forme de compositions pharmaceutiques administrables par voie orale.

35 **7)** Application selon la revendication 6 caractérisée en ce que la composition pharmaceutique administrable par voie orale contient de 0,02 à 50 mg d'inhibiteurs de recapture d'acides biliaires.

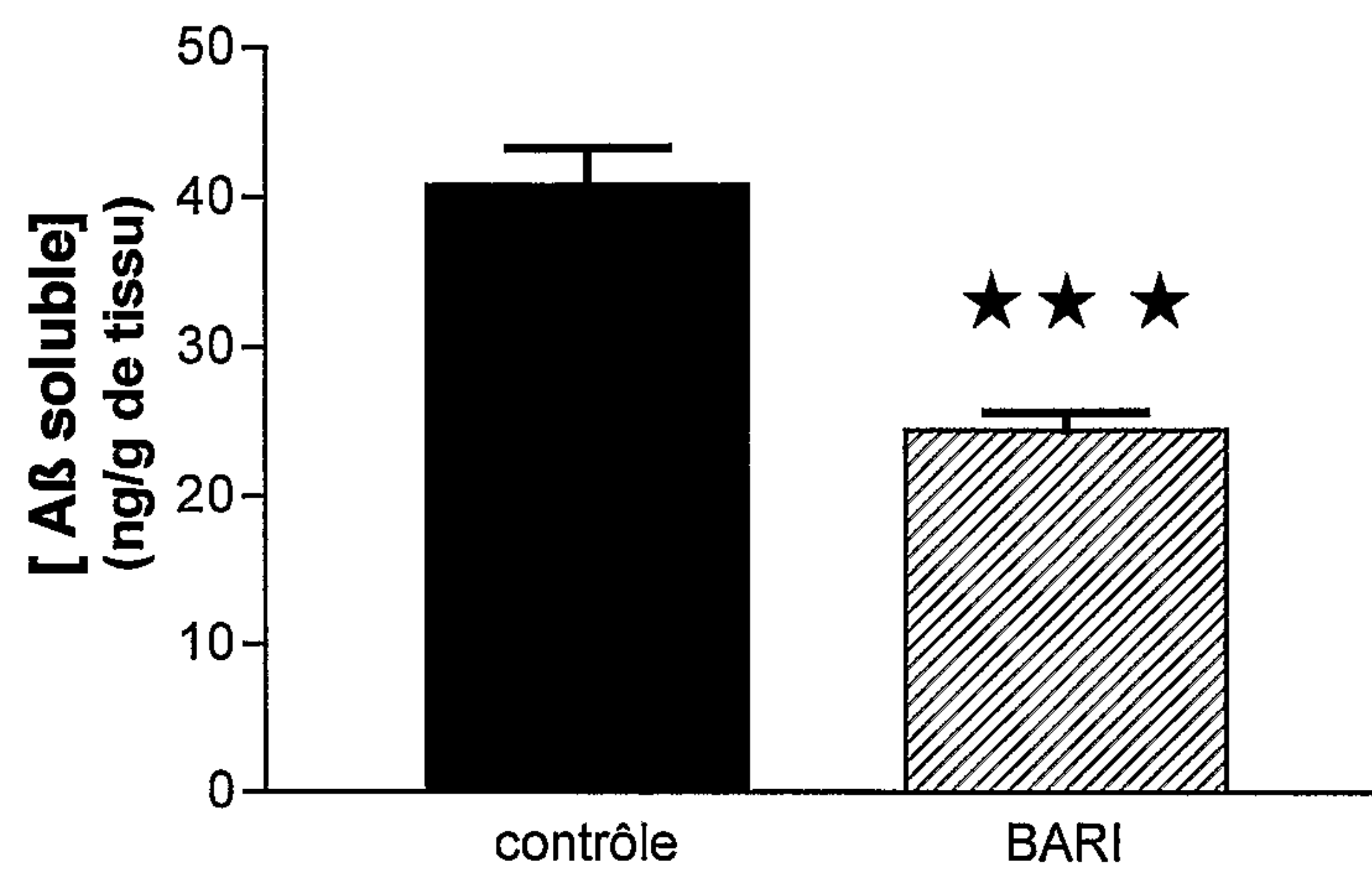
- 8)** Application telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisées en ce que un ou plusieurs inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont associés avec un ou plusieurs composés choisis parmi les inhibiteurs de HMG-CoA reductase, les inhibiteurs de la capture de cholestérol, les inhibiteurs de la synthèse de cholestérol ou les inhibiteurs des APP γ et β secrétases.
- 9)** Application selon la revendication 8, dans une administration simultanée, séparée ou étalée dans le temps des différents principes actifs.
- 10)** Application des composés qui diminuent les niveaux de cholestérol plasmatique sans nécessité d'être absorbés dans l'organisme après leur administration orale pour la préparation d'un médicament permettant de prévenir ou traiter la maladie d'Alzheimer.
- 11)** Méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer pour un patient ayant un risque de développer cette maladie ou étant en cours de développement de la maladie comprenant l'administration à ce patient d'une quantité thérapeutique efficace d'un composé ayant une activité hypocholestérolémiante et ne pénétrant pas dans l'organisme après leur administration orale.
- 12)** Méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer telle que définie à la revendication 11 caractérisée en ce que le composé ayant une activité hypocholestérolémiante et ne pénétrant pas dans l'organisme est un inhibiteur de recapture d'acides biliaires.
- 13)** Méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer telle que définie à la revendication 12 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires tels que ceux définis à l'une quelconque des revendications 2 à 5.
- 14)** Méthode de prévention ou de traitement de la maladie d'Alzheimer telle que définie à la revendication 12 ou 13 caractérisée en ce que les inhibiteurs de recapture d'acides biliaires sont administrés en association avec un ou

plusieurs composés choisis parmi un inhibiteur de HMG-CoA réductase, un inhibiteur de la capture de cholestérol, un inhibiteur de la synthèse de cholestérol ou un inhibiteur des APP γ et β secrétases.

FIGURE 1



2/4



[Aβ soluble] Moyenne ± ESM

contrôle : 40.84 ± 2.47 ng/g de tissu (n=7)

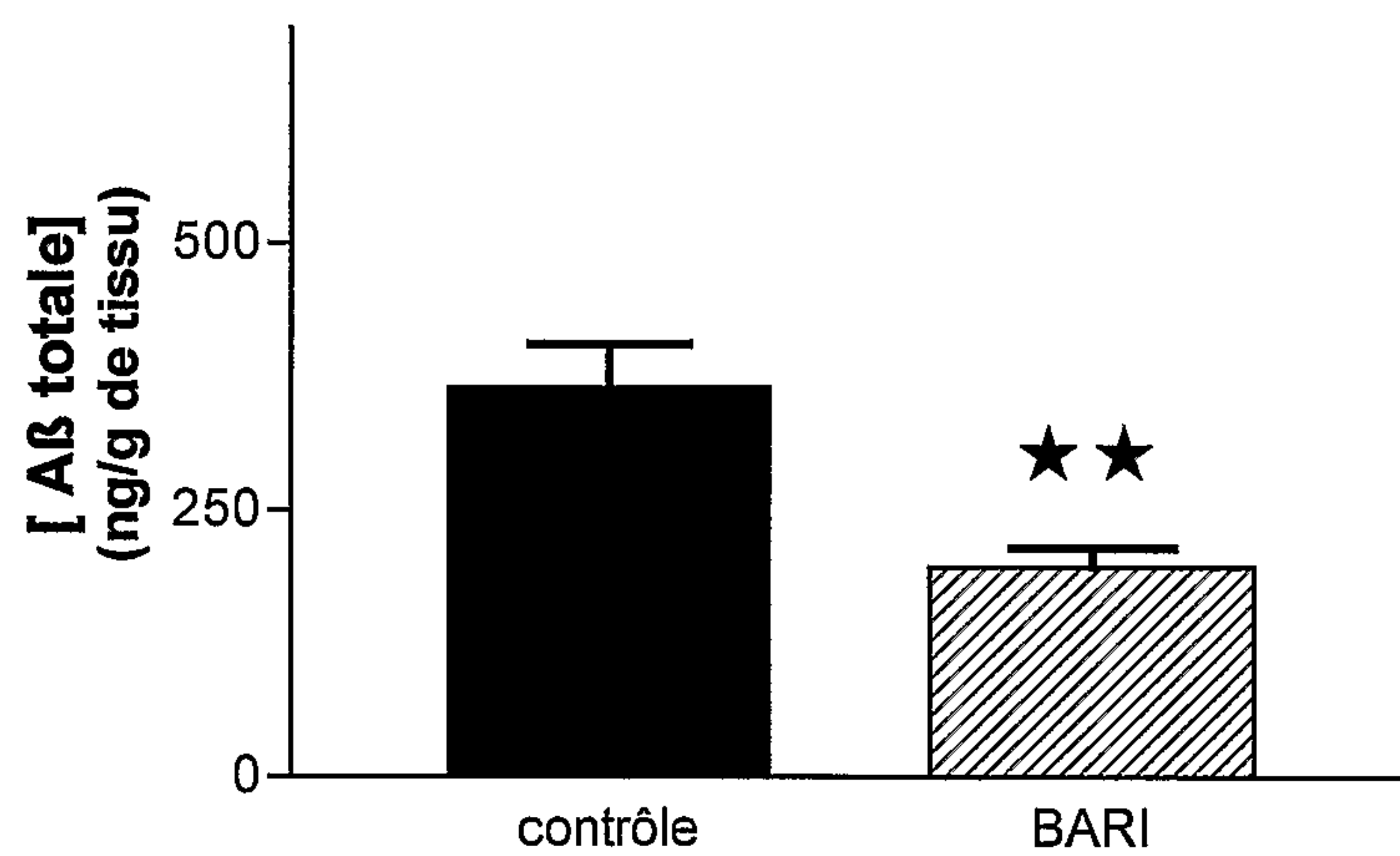
BARI 0.01% : 24.48 ± 1.23 ng/g de tissu (n=8)

† test non apparié p< 0.0001 ★ ★ ★

FIGURE 2

3/4

FIGURE 3



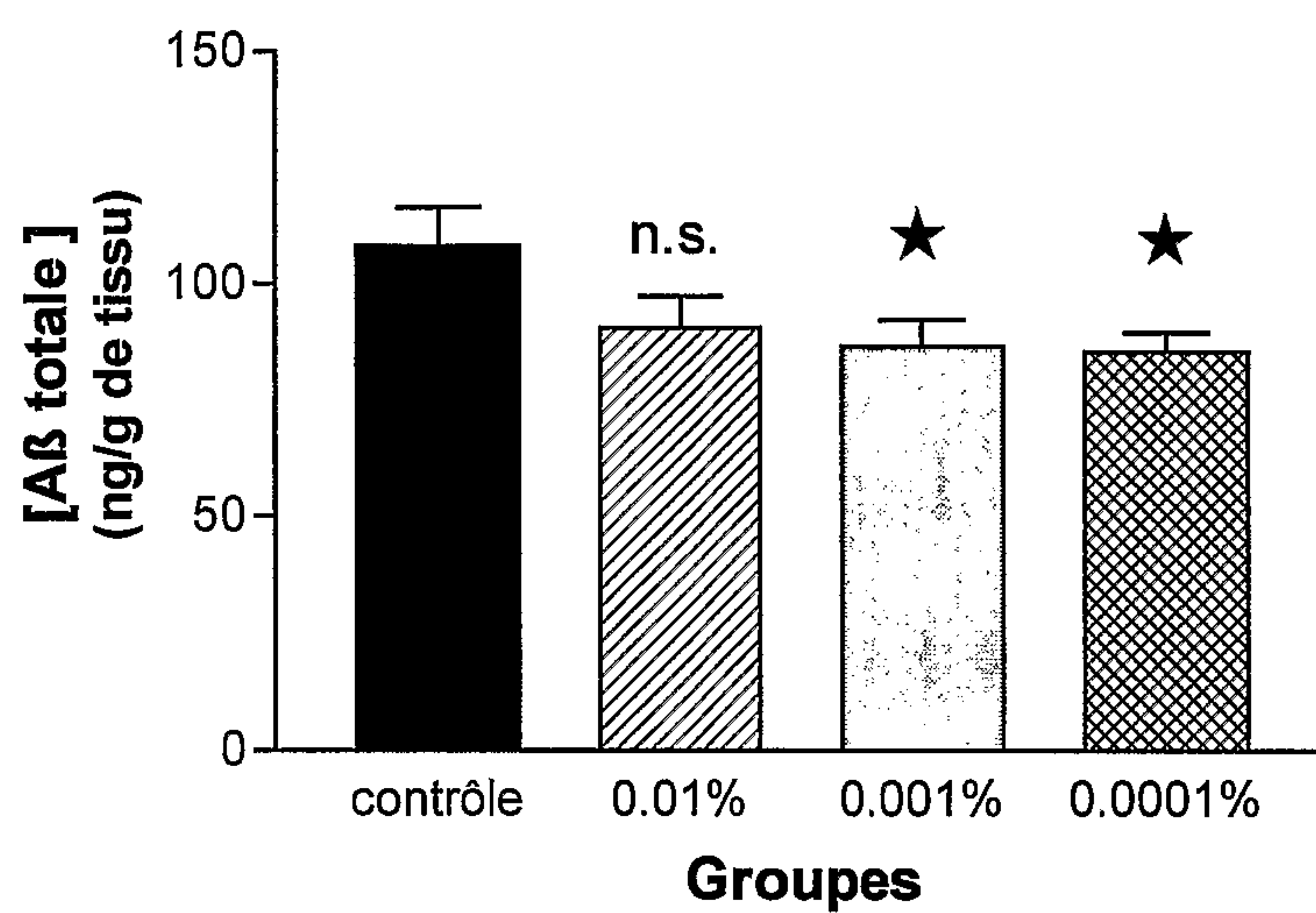
[Aβ totale] Moyenne ± ESM

contrôle : 364.2 ± 40.87 ng/g de tissu (n=7)

BARI 0.01% : 196.3 ± 17.84 ng/g de tissu (n=8)

† test non apparié p= 0.0017 ★★

FIGURE 4

**[Aβ totale] Moyenne ± ESM**

contrôle : 108.1 ± 8.5 ng/g de tissu (n=10)

BARI 0.01%: 90.5 ± 6.9 ng/g de tissu (n=10)

Vs contrôle: † test non apparié P=0.123 N.S.

BARI 0.001%: 86.5 ± 5.9 ng/g de tissu (n=10)

Vs contrôle: † test non apparié P=0.050 *

BARI 0.0001%: 85.4 ± 4.1 ng/g de tissu (n=8)

Vs contrôle: † test non apparié P=0.040 *