

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

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



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

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2006/120567 A2

(51) Classification internationale des brevets :
A61P 31/04 (2006.01) *A61K 31/05* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61K 31/43* (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2006/001350

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

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
PCT/IB2005/001313 13 mai 2005 (13.05.2005) IB

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **ADVANCED SCIENTIFIC DEVELOPMENTS** [MA/MA];
10 Rue Louksous, Quartier Longchamps, Casablanca,
20200 (MA).

(72) Inventeur; et

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

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

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

Publiée :

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

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

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION

(54) Titre : COMPOSITION PHARMACEUTIQUE

(57) Abstract: The invention relates to a pharmaceutical composition comprising at least one first active therapeutic substance selected among carveol, thymol, eugenol, borneol, carvacrol, alpha-ionone, beta-ionone, as well as isomers, derivatives and mixtures thereof, and comprising at least one second active therapeutic substance that is an antibiotic. The invention is for use in the field of pharmaceuticals.

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



WO 2006/120567 A2

Composition pharmaceutique

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5 De préférence, l'antibiotique entrant dans la composition de l'invention est choisi parmi les bêtalactamines, les céphalosporines, la fosfomycine, les glycopeptides, les polymyxines, les gramicidines, la tyrocidine, les aminosides, les macrolides, les lincosamides, les synergistines, les phénicolés, les tétracyclines, l'acide fusidique, les
10 oxazolidinones, les rifamycines, les quinolones, les fluoroquinolones, les produits nitrés, les sulfamides, la triméthoprine, et leurs mélanges.

Plus préférablement, l'agent antibactérien est choisi parmi les pénicillines, l'oxacilline, la cloxaciline, l'ampicilline, l'amoxicilline, la bacampicilline, la métampicilline, la pivampicilline, l'azlocilline, la
15 mezlocilline, la pipéracilline, la ticarcilline, le pivmécillinam, le sulbactam, le tazobactam, l'imipénème, la céfalexine, le céfadroxil, le céfador, la céfatrizine, la céfalotine, la céfapryine, la céfazoline, la céfoxitine, le céfamandole, le céfotétan, le céfuroxime, le céfotaxime, le céfsulodine, le céfopérazone, le céfotiam, la céftazidime, le céftriaxone, le céfixime, le
20 céfpodoxime, le céfépime, le latamoxef, l'aztréonam, la vancomycine, la vancocine, la téicoplanine, la polymyxine B, la colistine, la bacitracine, la tyrothricine, la streptomycine, la kanamycine, la tobramycine, l'amikacine, la sisomicine, la dibékacine, la nétilmicine, la spectinomycine, la spiramycine, l'érythromycine, la josamycine, la roxithromycine, la
25 clarithromycine, l'azithromycine, la lincomycine, la clindamycine, la virginiamycine, la pristinamycine, la dalfopristine-quinupristine, le chloramphénicol, le thiamphénicol, la tétracycline, la doxycycline, la minocycline, l'acide fusidique, la linézolide, la rifamycine, la rifampicine, l'acide nalidixique, l'acide oxolinique, l'acide pipémidique, la fluméquine, la
30 péfloxacin, la norfloxacin, l'ofloxacin, la ciprofloxacin, l'enoxacin, la sparfloxacin, la lévofloxacin, la moxifloxacin, la nitroxoline, le tilboquinol, la nitrofurantoïne, la nifuroxazide, la métronidazole, l'ornidazole, la sulfadiazine, le sulfaméthisol, le triméthoprine, l'isoniazide et leurs dérivés et mélanges. Ces antibiotiques, et plus particulièrement

l'amoxicilline, peuvent éventuellement être utilisés en combinaison avec l'acide clavulanique.

Une composition antibiotique tout particulièrement préférée est une composition dans laquelle la première substance thérapeutiquement active est le carvéol ou le carvacrol et l'antibiotique est l'amoxicilline ou la rifampicine.

Une autre composition antibiotique tout particulièrement préférée est une composition antibiotique dans laquelle ladite première substance thérapeutiquement active est le carvéol et l'antibiotique est l'ampicilline, le chloramphénicol, la tétracycline, la streptomycine, l'érythromycine, ou la polymixine B.

Encore une autre composition antibiotique tout particulièrement préférée est une composition antibiotique dans laquelle ladite première substance thérapeutiquement active est l'alpha-ionone ou la bêta-ionone et l'antibiotique est la céphazoline.

Toujours une autre composition antibiotique tout particulièrement préférée est une composition antibiotique dans laquelle ladite première substance thérapeutiquement active est le thymol et l'antibiotique est l'isoniazide.

Egalement, une composition antibiotique dans laquelle ladite première substance thérapeutiquement active est le carvacrol et l'antibiotique est l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique est tout particulièrement préférée.

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

L'invention propose enfin une méthode de traitement d'une infection due à une bactérie caractérisée en ce qu'on administre à un patient atteint d'une infection due à une bactérie, de manière simultanée ou séquentielle au moins une première substance thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le

carvacrol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone et les isomères et dérivés et mélanges de ceux-ci, et au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antibiotique.

5 Dans cette méthode, de préférence, on administre de manière simultanée ou séquentielle, à un patient atteint d'une infection due à une bactérie entre 10 et 200 mg/kg de poids du patient/jour de ladite première substance thérapeutiquement active, et entre 1 et 100 mg/kg de poids du patient/jour de ladite seconde substance thérapeutiquement active qui est un antibiotique.

10 De préférence, dans cette méthode, ladite première substance thérapeutiquement active est choisie parmi le carvacrol, le carvéol, l'eugénol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone et le thymol et ladite seconde substance thérapeutiquement active est choisie parmi l'amoxicilline, l'ampicilline, la streptomycine, l'érythromycine, la polymyxine B, le
15 chloramphénicol, la tétracycline, la rifampicine, l'isoniazide et la céphazoline.

L'invention sera mieux comprise et d'autres buts et avantages de celle-ci apparaîtront plus clairement à la lecture de la description explicative qui suit et qui est faite en référence à la figure unique
20 annexée qui représente les résultats du test *in vivo* réalisés sur des souris expérimentalement infectées avec *Klebsiella Pneumonia* à forte résistance, et soit non traitées, soit traitées avec de l'amoxicilline seule, soit traitées avec du carvéol seul, soit traitées avec une composition pharmaceutique antibactérienne selon l'invention contenant de l'amoxicilline et du carvéol.

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

Ces composés ont des propriétés antibiotiques bien connues en
30 eux-mêmes.

Le thymol, l'eugénol, le carvacrol, le bornéol et le carvéol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone se trouvent en proportions variées dans différents extraits de plantes aromatiques, c'est-à-dire qu'ils peuvent être purifiés à partir de ces plantes. Cependant, ils peuvent être tout simplement
35 obtenus par synthèse chimique.

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

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

- 10 Des exemples d'antibiotiques connus et déjà utilisés en tant que médicaments spécifiques de cette spécialité qui peuvent être utilisés dans la composition pharmaceutique de l'invention, et dont l'effet sera potentialisé par la première substance pure thérapeutiquement active, appartiennent à plusieurs familles : la famille des bêtalactamines représentées par l'amoxicilline et l'ampicilline, la famille des
15 cephalosporines représentées par la céphazoline, la famille des tétracyclines représentées par la chlortétracycline, la famille des rifamycines représentées par la rifampicine, la famille des peptidiques représentés par la polymixine, la famille des aminosides représentée par la streptomycine, la famille des phénicolés représentés par le
20 chloramphénicol, la famille des macrolides représentés par l'érythromycine.

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

- 25 On préfère tout particulièrement l'amoxicilline, éventuellement associée à l'acide clavulanique, l'ampicilline, la tétracycline, l'érythromycine, la streptomycine, le chloramphénicol, la rifampicine, l'isoniazide, la céphazoline, et la polymixine B utilisés en combinaison avec tout particulièrement le carvacrol, le carvéol, le thymol, l'alpha- et
30 la bêta-ionone.

Bien entendu, la composition pharmaceutique de l'invention n'est pas limitée à l'utilisation des seuls antibiotiques cités ci-dessus. En effet, étant donné l'effet potentialisateur exercé par la première substance thérapeutiquement active définie dans l'invention, d'autres

antibiotiques connus ou à venir pourront également être utilisés avec succès.

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

La forme galénique de la composition pharmaceutique de l'invention sera adaptée à son utilisation. Par exemple, elle pourra être utilisée sous la forme de solution, de suspension, de cachet ou autres.
10 Les compositions pour administration parentérale sont généralement des solutions ou des suspensions stériles pharmaceutiquement acceptables qui peuvent éventuellement être préparées extemporanément au moment de l'emploi.

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

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

Mais, il a été démontré que lorsque les différents éléments de la composition pharmaceutique de l'invention sont mélangés en présence de détergents tels que le Tween ou le Triton ou de dissolvants tels que
35 l'éthanol et le DMSO (diméthyl sulphoxide), les molécules actives de la

première et de la seconde substance thérapeutiquement active s'associent avec les molécules de détergents et de dissolvants et ne forment pas de complexe de potentialisation.

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

Ainsi, la composition pharmaceutique de la présente invention sera de préférence préparée sans détergent et sans solvant. Par exemple, elle sera mise en suspension aqueuse rendue visqueuse par de l'agar à une concentration non gélifiante, par exemple de 1 à 5 grammes d'agar par litre de suspension.

La composition pharmaceutique de l'invention permet de traiter des infections localisées ou systémiques à germes résistants avec des doses plus faibles de chacune desdites première et seconde substances thérapeutiquement actives que les doses nécessaires au traitement des mêmes infections à germes sensibles, par l'une ou l'autre de ces mêmes dites première et seconde substances thérapeutiquement actives seules. En effet, la composition de l'invention permet d'utiliser des doses de ladite première substance thérapeutiquement active, lorsque en combinaison avec ladite seconde substance thérapeutiquement active, environ trois à dix fois inférieures à celles nécessaires lorsque ladite première substance thérapeutiquement active est utilisée seule et des doses de ladite seconde substance thérapeutiquement active, lorsque en combinaison avec ladite première substance thérapeutiquement active, de 2 à 10 fois inférieures à celles nécessaires lorsque ladite seconde substance thérapeutiquement active est utilisée seule.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5 Cette trousse permettra au personnel soignant de préparer à la demande soit un mélange, des doses appropriées, de(s) la première(s) substance thérapeutique voulue(s) et de(s) l'antibiotique(s) voulu(s), pour une administration simultanée, soit d'administrer séquentiellement et de façon séparée la dose appropriée de ladite au moins une première
10 substance thérapeutiquement active, puis la dose appropriée de ladite au moins une seconde substance thérapeutiquement active, c'est-à-dire l'antibiotique approprié, ou l'inverse. Cependant, on préférera utiliser un mélange pour utilisation simultanée pour permettre au complexe de potentialisation de se former et d'agir immédiatement dès
15 l'administration au patient.

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

20 EXEMPLE 1 : • Traitement de différentes souches de bactéries par de l'amoxicilline potentialisée par le carvéol (Amox-P)

Test *in vitro* : Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) sur différentes souches de bactéries.

25 L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries à Gram négatif et à Gram positif de sensibilités différentes isolées en milieu hospitalier. L'antibiotique utilisé est l'amoxicilline qui fait parti des antibiotiques les plus utilisés et les plus efficaces.

30 Des compositions pharmaceutiques antibactériennes selon l'invention ont été fabriquées en mélangeant l'amoxicilline à différentes concentrations avec le carvéol à une concentration infra inhibitrice de 0,3 grammes pour un litre de solution ou d'excipient (équivalent à 0,3mg/ml) et on a déterminé la concentration minimale d'amoxicilline en
35 combinaison avec les 0,3 mg/ml de carvéol, pour obtenir une efficacité

bactéricide du mélange. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de l'amoxicilline seule, soit avec du carvéol seul, soit avec la composition selon l'invention.

- 5 Le tableau 1 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale bactéricide (CMB).

Tableau 1

Bactéries en phase de croissance exponentielle	Composition de l'invention	Composition de l'invention	Carvéol seul
	CMB (µg/ml)	CMB(µg/ml)	CMB (mg/ml)
<i>Escherichia coli</i>	>50	1	2
<i>Salmonella typhimurium</i>	>50	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>50	5	2
<i>Bacillus subtilis</i>	>50	1	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	>50	5	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	>50	1	2

10

Il apparaît clairement du tableau 1 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur ces souches de sensibilité variable comparées à l'amoxicilline seule ou au carvéol seul.

- 15 En effet, on constate à la lecture du tableau 1 que la composition de l'invention a une action bactéricide remarquable sur les différentes souches bactériennes testées comparées à l'amoxicilline seule ou au carvéol seul, et qu'en utilisant le carvacrol à 0,3 mg/ml soit à une concentration six fois plus faible que la CMB du carvéol seul, la concentration en amoxicilline permettant d'obtenir une efficacité bactericide est au moins dix fois

inférieure à la concentration d'amoxicilline seule capable d'exercer une action bactéricide.

Exemple 2

5

Tests in vivo:

Des lots de 10 souris expérimentalement infectées par voie intrapéritonéale par 1000 000 de cellules (Unités Formant Colonie) de
10 *klebsiella pneumoniae* résistante à l'amoxicilline.

Le premier lot est constitué de souris témoins infectées non traitées

Le deuxième lot est constitué de souris infectées et traitées 24h après l'infection (par gavage) par de l'amoxicilline seule à raison de 10 mg/jour par Kg de poids des animaux.

15 Le troisième lot est constitué de souris infectées et traitées 24h après l'infection (par gavage) par 120 mg/jour/kg de carvéol seul.

Le quatrième lot est constitué de souris infectées et traitées 24h après l'infection (par gavage) par la composition pharmaceutique (AMOX-P) selon l'invention à raison de 2 mg/kg /jour d'amoxicilline et de
20 120 mg/kg /jour de carvéol.

On mesure dans le temps le pourcentage de survie des souris. Les résultats de ces tests sont représentés en figure 1.

Cette figure montre les pourcentages de survie de chaque groupe de souris.

25 On voit que seules les souris traitées par la composition selon l'invention restent vivantes dix jours après l'infection.

Toutes les autres meurent entre le deuxième et le troisième jour après l'infection.

La recherche de *Klebsiella pneumoniae* dans les organes des
30 animaux morts pendant l'expérience (animaux témoins non traités et animaux traités à l'amoxicilline seule) montre une forte charge de germe au niveau des poumons, du rein et de la moelle osseuse. Par contre, tous les animaux traités avec la composition pharmaceutique de l'invention, sacrifiés sept jours après l'arrêt du traitement montrent une absence du
35 germe au niveau des poumons et de la moelle osseuse de la totalité des

animaux. Au niveau du rein, seuls trois animaux sur dix portaient encore une charge très faible de *Klebsiella pneumoniae* qui est équivalente à 10 % de la charge retrouvée chez les animaux témoins infectés non traités.

5 Par conséquent, il apparaît clairement que la potentialisation de l'amoxicilline par sa combinaison avec le carvéol dans cet exemple permet d'obtenir des résultats surprenants quant à la diminution de la Concentration Minimale Bactéricide *in vitro* et que cette potentialisation est retrouvée *in vivo* sur un modèle d'infection systémique.

10 Comme l'infection systémique représente une des formes d'infection qui menacent la vie des patients et les plus difficiles à traiter surtout qu'ils présentent des problèmes de récidence avec sélection de germes de plus en plus résistants, la composition pharmaceutique de l'invention présente des avantages certains.

15 La méthode de traitement d'une infection bactérienne consistera à administrer à un patient atteint d'une infection bactérienne, de manière simultanée ou séquentielle la dose déterminée par le médecin d'au moins une première substance pure thérapeutiquement active choisie parmi le carvéol, le thymol, l'eugénol, le bornéol, le carvacrol, l'alpha-ionone, la
20 bêta-ionone et les isomères, dérivés et mélanges de ceux-ci, et la dose déterminée d'au moins une seconde substance thérapeutiquement active qui est un antibiotique bien connu et déjà utilisé cliniquement en tant que médicament spécifique de cette spécialité.

Généralement, on administrera de manière simultanée ou
25 séquentielle, à un patient atteint d'une infection due à une bactérie entre 10 et 200 mg/kg de poids du patient/jour de ladite première substance thérapeutiquement active, et entre 1 et 100 mg/kg de poids du patient/jour de ladite seconde substance thérapeutiquement active qui est un antibiotique connu et déjà utilisé en tant que médicament
30 spécifique de cette spécialité.

**EXEMPLE 3 : Traitement de différentes souches de bactéries
par de l'ampicilline potentialisée par le carvéol (Ampi-P)**

L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries
5 résistantes isolées en milieu hospitalier. L'agent antibiotique est l'ampicilline
qui est de la famille des bêtalactamines et qui fait partie des agent
antibiotiques les plus utilisés. Une composition pharmaceutique antibiotique
selon l'invention a été fabriquée en mélangeant l'ampicilline à différentes
10 concentrations avec le carvéol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g
pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique
de l'invention est notée Ampi-P, pour Ampicilline potentialisée. Dans chaque
cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de l'ampicilline seule, soit
avec du carvéol seul, soit avec la composition selon l'invention.

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

Tableau 2

Bactéries en phase de croissance exponentielle	Ampicilline seule	Ampi-P	Carvéol seul
	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<i>Escherichia. coli</i>	> 50	5	2000
<i>Salmonella. tiphimurium</i>	> 50	1	2000
<i>Bacillus. subtilis</i>	> 50	10	2000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 50	5	2000

20

Il apparaît du tableau 2 que la composition selon l'invention a une
action bactéricide remarquable sur les souches de bactéries testées en
comparaison à l'ampicilline seule ou au carvéol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 3 qu'en utilisant le
25 carvéol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 6,6 fois plus faible que la CMB

du carvéol seul, la concentration en ampicilline permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est de cinq à cinquante fois inférieure à la concentration d'ampicilline seule capable d'exercer une action bactériostatique.

- 5 Ainsi, on constate que la potentialisation de l'ampicilline par le carvéol permet non seulement de réduire considérablement la dose d'ampicilline mais aussi d'obtenir une action bactéricide à faible dose.

10 **EXEMPLE 4: Traitement de différentes souches de bactéries par une céphalosporine potentialisée par l'alpha-ionone et la bêta-ionone (Cépha-P)**

 L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries résistantes isolées en milieu hospitalier. L'agent antibiotique est la
15 céphazoline qui est de la famille des céphalosporines, une autre classe de bêtalactamines et qui fait partie des agents antibiotiques les plus utilisés. Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant la céphazoline à différentes concentrations avec l'alpha-ionone ou la bêta-ionone à une concentration infrainhibitrice de 0,3
20 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Cépha-P, pour céphazoline potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de la céphazoline seule, soit avec de l'alpha-ionone ou la bêta-ionone seules, soit avec la composition selon l'invention.

25

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

30

35

Tableau 3

Bactéries en phase de croissance exponentielle	Céphazoline seule	Cépha-P alpha-ionone	Cépha-P bêta-ionone	Alpha-ionone seule	Bêta-ionone seule
	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<i>Escherichia. coli</i>	> 50	5	5	2000	2000
<i>Salmonella. tiphimurium</i>	> 50	5	5	2000	2000
<i>Bacillus. subtilis</i>	> 50	5	5	2000	2000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 50	5	5	2000	2000

Il apparaît du tableau 3 que les compositions selon l'invention ont une action bactéricide remarquable sur les souches de bactéries testées en comparaison à la céphazoline seule ou à l'alpha-ionone seule ou à la bêta-ionone seule.

En effet, on constate à la lecture du tableau 3 qu'en utilisant l'alpha ou la bêta-ionone à 0,3 mg/ml soit à une concentration 6,6 fois plus faible que la CMB de l'alpha- ou de la bêta-ionone seules, la concentration en céphazoline permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est au moins dix fois inférieure à la concentration de céphazoline seule capable d'exercer une action bactériostatique.

Ainsi, on constate que la potentialisation de la céphazoline par l'alpha- ou la bêta-ionone permet non seulement de réduire considérablement la dose de céphazoline mais aussi d'obtenir une action bactéricide à faible dose.

EXEMPLE 5: Traitement de différentes souches de bactéries par la polymyxine B potentialisée par le carvéol (plymix-P)

L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries résistantes isolées en milieu hospitalier. L'agent antibiotique est la polymyxine B qui est de la famille des peptides et qui fait partie des agent

antibiotiques les plus anciens. Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant la polymixine B à différentes concentrations avec le carvéol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée polymix-P, pour polymixine B potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de la polymixine B seule, soit avec du carvéol seul, soit avec la composition selon l'invention.

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

Tableau 4

Bactéries en phase de croissance exponentielle	polymixine B seule	Polymix-P	Carvéol seul
	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<i>Echerichia. coli</i>	> 50	10	2000
<i>Salmonella. tiphimurium</i>	25	10	2000
<i>Bacillus. subtilis</i>	> 50	5	2000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 50	5	2000

Il apparaît du tableau 4 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur les souches de bactéries testées en comparaison à la polymixine B seule ou au carvéol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 4 qu'en utilisant le carvéol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 6,6 fois plus faible que la CMB du carvéol seul, la concentration en polymixine B permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est 2,5 à dix fois inférieure à la concentration de polymixine B seule capable d'exercer une action bactéricide.

Ainsi, on constate que la potentialisation de la polymyxine B par le carvéol permet non seulement de réduire considérablement la dose de polymyxine B pour les bactéries résistantes à Gram négatif (*E. coli* et *S. typhimurium*) mais aussi d'élargir son spectre d'activité à des bactéries à Gram positif (*S. epidermidis*, *B. subtilis*) normalement insensibles à la polymyxine B.

EXEMPLE 6: Traitement de différentes souches de bactéries par le chloramphénicol potentialisé par le carvéol (Chloram-P)

10

L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries résistantes isolées en milieu hospitalier. L'agent antibiotique est le chloramphénicol qui est de la famille des phénicolés et qui fait partie des agents antibiotiques les plus anciens. Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant le chloramphénicol à différentes concentrations avec le carvéol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Chloram-P, pour chloramphénicol potentialisé. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec du chloramphénicol seul, soit avec du carvéol seul, soit avec la composition selon l'invention.

20

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

25

30

35

Tableau 5

Bactéries en phase de croissance exponentielle	Chloramphénicol seul	Chloram-P	Carvéol seul
	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	CMB ($\mu\text{g/ml}$)	CMB ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Escherichia. coli</i>	> 50	2	2000
<i>Salmonella. typhimurium</i>	> 50	1	2000
<i>Bacillus. subtilis</i>	> 50	5	2000
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 50	5	2000

Il apparaît du tableau 5 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur les souches de bactéries testées en comparaison au chloramphénicol seul ou au carvéol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 5 qu'en utilisant le carvéol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 6,6 fois plus faible que la CMB du carvéol seul, la concentration en chloramphénicol permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est dix à cinquante fois inférieure à la concentration de chloramphénicol seul capable d'exercer une action bactéricide.

Ainsi, on constate que la potentialisation du chloramphénicol par le carvéol permet non seulement de réduire considérablement la dose de chloramphénicol pour les bactéries résistantes à Gram négatif (*E. coli* et *S. typhimurium*) mais aussi d'exercer une action bactéricide sur des bactéries à Gram positif (*S. epidermidis*, *B. subtilis*) sur lesquelles l'action du chloramphénicol est normalement seulement bactériostatique.

EXEMPLE 7: Traitement de différentes souches de bactéries par la Chlortétracycline potentialisée par le carvéol (Tetra-P)

L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries résistantes isolées en milieu hospitalier. L'agent antibiotique est la chlortétracycline qui fait partie des agents antibiotiques les plus anciens.

Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant la chlortétracycline à différentes concentrations avec le carvéol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Tetra-P, pour chlortétracycline potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de la chlortétracycline seule, soit avec du carvéol seul, soit avec la composition selon l'invention.

Le tableau 6 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en µg/ml.

Tableau 6

Bactéries en phase de croissance exponentielle	Chlortétracycline seule	Tetra-P	Carvéol seul
	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<i>Escherichia. coli</i>	> 50	2	2000
<i>Salmonella. tiphimurium</i>	> 50	1	2000
<i>Bacillus. subtilis</i>	> 50	2	2000
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 50	2	2000

15

Il apparaît du tableau 6 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur les souches de bactéries testées en comparaison à la chlortétracycline seule ou au carvéol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 6 qu'en utilisant le carvéol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 6,6 fois plus faible que la CMB du carvéol seul, la concentration en chlortétracycline permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est vingt cinq à cinquante fois inférieure à la concentration de chlortétracycline seule capable d'exercer une action bactéricide.

20

Ainsi, on constate que la potentialisation de la tétracycline par le carvéol permet non seulement de réduire considérablement la dose de chlortétracycline mais aussi d'exercer une action bactéricide à très faible dose.

5

EXEMPLE 8: Traitement de différentes souches de bactéries par la Streptomycine potentialisée par le carvéol (Strepto-P)

L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries résistantes isolées en milieu hospitalier. L'agent antibiotique est la streptomycine membre important de la famille des aminosides qui fait partie des agents antibiotiques les plus importants. Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant la streptomycine à différentes concentrations avec le carvéol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Strepto-P, pour streptomycine potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de la streptomycine seule, soit avec du carvéol seul, soit avec la composition selon l'invention.

20

Le tableau 7 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en µg/ml.

25

Tableau 7

Bactéries en phase de croissance exponentielle	Streptomycine seule	Strepto-P	Carvéol seul
	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<i>Escherichia. coli</i>	> 50	5	2000
<i>Salmonella. tiphimurium</i>	> 50	5	2000
<i>Bacillus. subtilis</i>	> 50	5	2000
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 50	5	2000

Il apparaît du tableau 7 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur les souches de bactéries testées en comparaison à la streptomycine seule ou au carvéol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 7 qu'en utilisant le carvéol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 6,6 fois plus faible que la CMB du carvéol seul, la concentration en streptomycine permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est au moins dix fois inférieure à la concentration de streptomycine seule capable d'exercer une action bactéricide.

Ainsi, on constate que la potentialisation de la streptomycine par le carvéol permet non seulement de réduire considérablement la dose de streptomycine mais aussi d'exercer une action bactéricide à très faible dose.

EXEMPLE 9: Traitement de différentes souches de bactéries par l'érythromycine potentialisée par le carvéol (Erythro-P)

15

L'expérience a été menée avec plusieurs souches de bactéries résistantes isolées en milieu hospitalier. L'agent antibiotique est l'érythromycine membre important de la famille des macrolides qui fait partie des agents antibiotiques les plus importants. Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant l'érythromycine à différentes concentrations avec le carvéol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Erythro-P, pour érythromycine potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de l'érythromycine seule, soit avec du carvéol seul, soit avec la composition selon l'invention.

Le tableau 8 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en µg/ml.

Tableau 8

Bactéries en phase de croissance exponentielle	l'érythromycine seule	Erythro-P	Carvéol seul
	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	CMB ($\mu\text{g/ml}$)	CMB ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Escherichia. coli</i>	> 50	10	2000
<i>Salmonella. tiphimurium</i>	> 50	10	2000
<i>Bacillus. subtilis</i>	> 50	15	2000
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 50	25	2000

Il apparaît du tableau 8 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur les souches de bactéries testées en comparaison à l'érythromycine seule ou au carvéol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 8 qu'en utilisant le carvéol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 6,6 fois plus faible que la CMB du carvéol seul, la concentration en érythromycine permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est au moins 2 à cinq fois inférieure à la concentration d'érythromycine seule capable d'exercer une action bactéricide.

Ainsi, on constate que la potentialisation de l'érythromycine par le carvéol permet de réduire considérablement la dose d'érythromycine capable d'exercer une action bactéricide.

EXEMPLE 10: Traitement de différentes souches de mycobactéries par la rifampicine potentialisée par le carvacrol (Rifam-P)

L'expérience a été menée avec deux souches de mycobactéries résistantes isolées en milieu vétérinaire. L'agent antibiotique est la rifampicine membre important de la famille des antituberculeux. Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant la rifampicine à différentes concentrations avec le carvacrol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée

Rifam-P, pour rifampicine potentialisée. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de la rifampicine seule, soit avec du carvacrol seul, soit avec la composition selon l'invention.

- 5 Le tableau 9 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en µg/ml.

Tableau 9

10

Bactéries en phase de croissance exponentielle	Rifampicine seule	Rifam-P	Carvacrol seul
	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<i>Mycobacterium fleii</i>	> 75	2,5	1000
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	> 75	5	1000

Il apparaît du tableau 9 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur les souches de mycobactéries testées en comparaison à la rifampicine seule ou au carvacrol seul.

- 15 En effet, on constate à la lecture du tableau 9 qu'en utilisant le carvacrol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 3,3 fois plus faible que la CMB du carvacrol seul, la concentration en rifampicine permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est au moins 25 fois inférieure à la concentration de rifampicine seule capable d'exercer une action bactéricide.

- 20 Ainsi, on constate que la potentialisation de la rifampicine par le carvacrol permet de réduire considérablement la dose de rifampicine capable d'exercer une action bactéricide sur des mycobactéries à croissance rapide normalement insensible à la rifampicine.

25 **EXEMPLE 11: Traitement de différentes souches de mycobactéries par l'isoniazide potentialisé par le thymol (Izon-P)**

L'expérience a été menée avec deux souches de mycobactéries résistantes isolées en milieu vétérinaire. L'agent antibiotique est l'isoniazide

membre important de la famille des antituberculeux. Une composition pharmaceutique antibiotique selon l'invention a été fabriquée en mélangeant l'isoniazide à différentes concentrations avec le thymol à une concentration infrainhibitrice de 0,3 g pour un litre de solution ou d'excipient. Cette composition pharmaceutique de l'invention est notée Izon-P, pour isoniazide potentialisé. Dans chaque cas, l'activité antibiotique a été testée soit avec de l'isoniazide seul, soit avec du thymol seul, soit avec la composition selon l'invention.

Le tableau 10 ci-après donne les résultats de tests statiques qui mesurent la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en µg/ml.

Tableau 10

Bactéries en phase de croissance exponentielle	isoniazide seul	Izon-P	Carvacrol seul
	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	CMB (µg/ml)
<i>Mycobacterium fleii</i>	> 50	1	1000
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	> 50	2	1000

15

Il apparaît du tableau 10 que la composition selon l'invention a une action bactéricide remarquable sur les souches de mycobactéries testées en comparaison à l'isoniazide seul ou au thymol seul.

En effet, on constate à la lecture du tableau 10 qu'en utilisant le thymol à 0,3 mg/ml soit à une concentration 3,3 fois plus faible que la CMB du thymol seul, la concentration en isoniazide permettant d'obtenir une efficacité bactéricide est au moins 25 fois inférieure à la concentration d'isoniazide seul capable d'exercer une action bactéricide.

Ainsi, on constate que la potentialisation de l'isoniazide par le thymol permet de réduire considérablement la dose d'isoniazide capable d'exercer une action bactéricide sur des mycobactéries à croissance rapide normalement insensibles à l'isoniazide.

Exemple 12 : Sélection de mutants résistants en présence d'amoxicilline potentialisée par le carvacrol :

Dans le but de vérifier que la potentialisation selon l'invention permet
5 d'empêcher la sélection de mutants résistants, nous avons procédé à l'expérience suivante :

Des souches d'*Escherichia. coli* sensibles à l'amoxicilline à la
concentration de 5 µg/ml sont cultivées à une concentration infrainhibitrice
de 3µg/ml ensuite repiquées dans des milieux nutritifs (Muller Hinton)
10 contenant des concentrations de plus en plus grandes d'amoxicilline (4 puis
5 puis 6 µg/ml ...). La même opération est effectuée avec l'amoxicilline
potentialisée par du carvacrol à une concentration deux fois plus faible que
la CMI du carvacrol seul soit 500µg/ml. Le principe de cette expérience est
qu'à chaque repiquage, un mutant résistant à la nouvelle concentration
15 d'amoxicilline va se multiplier pour constituer une culture de souche plus
résistante que la culture à partir de laquelle le repiquage a été réalisé.

Le tableau 11 ci-après donne les résultats de cette expérience qui
montre la sélection de mutants de plus en plus résistants et le nombre de
20 repiquage nécessaire pour les obtenir.

Tableau 11

	Concentration initiale (µg/ml)	Nombre de repiquages	Concentration médiane (µg/ml)	Nombre de repiquages	Concentration finale (µg/ml)
Amoxicilline seule	3	4	17	9	50
Amoxicilline potentialisée	3	14	17	/	/

25 Il apparaît du tableau 11 que la composition selon l'invention
nécessite 14 repiquages progressifs pour sélectionner un mutant résistant à
la concentration de 17 µg/ml d'amox-P en partant de 3µg/ml, alors qu'avec
l'amoxicilline seule, des mutants résistants à 17µg/ml ont été obtenus en 4
repiquages seulement. Des mutants encore plus résistants allant jusqu'à

50 µg/ml d'amoxicilline seule ont été obtenus en 9 repiquages. Avec l'amox-P, aucun mutant résistant à une concentration supérieure à 17µg/ml n'a pu être sélectionné.

En effet, on constate à la lecture de ces résultats d'une part, qu'en utilisant le carvacrol à 0,5 mg/ml soit à une concentration deux fois plus faible que la CMI du carvacrol seul il est beaucoup plus difficile de sélectionner des mutants résistants (14 repiquages) à la composition de l'invention comparativement à l'amoxicilline seule (4 repiquages). D'autre part, la sélection de mutants résistant à l'amoxicilline seule continue de plus en plus facilement jusqu'à 50 µg/ml, concentration à laquelle l'expérience a été arrêtée, alors qu'en présence de la composition de l'invention, la sélection de mutants résistant a été plafonné à 17µg/ml.

Ainsi, on constate que la potentialisation de l'amoxicilline par le carvacrol permet de réduire considérablement la possibilité de sélectionner des mutants résistants.

Exemple 13 : Sélection de mutants résistants en présence de l'association amoxicilline et acide clavulanique potentialisée par le carvacrol :

L'association est réalisée aux proportions 1 gramme d'amoxicilline avec 0,125 gramme d'acide clavulanique.

Dans le but de vérifier que la potentialisation selon l'invention permet d'empêcher la sélection de mutants résistants, nous avons procédé à l'expérience suivante :

Des souches d'*Escherichia. coli* sensibles à l'association amoxicilline et acide clavulanique à la concentration de 5 µg/ml (d'amoxicilline) sont cultivées à une concentration infrainhibitrice de 3µg/ml ensuite repiquées dans des milieux nutritifs (Muller Hinton) contenant des concentrations de plus en plus grandes de l'association amoxicilline et acide clavulanique (4 puis 5 puis 6 µg/ml ...). La même opération est effectuée avec l'association amoxicilline et acide clavulanique potentialisée par du carvacrol à une concentration deux fois plus faible que la CMI du carvacrol seul soit 500µg/ml. Le principe de cette expérience est qu'à chaque repiquage, un mutant résistant à la nouvelle concentration de l'association amoxicilline et

acide clavulanique va se multiplier pour constituer une culture de souche plus résistante que la culture à partir de laquelle le repiquage a été réalisé.

Le tableau 12 ci-après donne les résultats de cette expérience qui montre la sélection de mutants de plus en plus résistants et le nombre de repiquages nécessaires pour les obtenir.

Tableau 12

	Concentration initiale (µg/ml)	Nombre de repiquages	Concentration médiane (µg/ml)	Nombre de repiquages	Concentration finale (µg/ml)
L'association amoxicilline et acide clavulanique seule	3	8	20	13	50
L'association amoxicilline et acide clavulanique potentialisée	3	17	20	/	/

10

Il apparaît du tableau 12 que la composition selon l'invention nécessite 17 repiquages progressifs pour sélectionner un mutant résistant à la concentration de 20 µg/ml en partant de 3 µg/ml, alors qu'avec l'association amoxicilline et acide clavulanique seule, des mutants résistants à 20 µg/ml ont été obtenus en 8 repiquages seulement. Des mutants encore plus résistants allant jusqu'à 50 µg/ml de l'association amoxicilline et acide clavulanique seule ont été obtenus en 13 repiquages. Avec la composition de l'invention, aucun mutant résistant à une concentration supérieure à 20 µg/ml n'a pu être sélectionné.

En effet, on constate à la lecture de ces résultats d'une part, qu'en utilisant le carvacrol à 0,5 mg/ml soit à une concentration deux fois plus faible que la CMI du carvacrol seul il est beaucoup plus difficile de sélectionner des mutants résistants (17 repiquages) à la composition de l'invention comparativement à l'association amoxicilline et acide clavulanique seule (8 repiquages). D'autre part, la sélection de mutants résistant à l'association amoxicilline et acide clavulanique seule continue de

20
25

plus en plus facilement jusqu'à 50µg/ml à laquelle nous avons choisi d'arrêter l'expérience, alors qu'en présence de la composition de l'invention, la sélection de mutants résistant a été plafonné à 20 µg/ml.

5 Ainsi, on constate que la potentialisation de l'association amoxicilline et acide clavulanique par le carvacrol permet de réduire considérablement la possibilité de sélectionner des mutants résistants.

10 Il apparaît clairement des tous les exemples ci-dessus, que la potentialisation des antibiotiques par les dites premières substances thérapeutiquement actives permet de diminuer les doses nécessaires pour combattre les bactéries résistantes, d'élargir le spectre d'activité des antibiotiques, de transformer l'action bactériostatique en action bactéricide et de rendre beaucoup plus difficile la possibilité de sélectionner des mutants résistants.

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

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

REVENDEICATIONS

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

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

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

15

3. Composition selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que l'antibiotique est choisi parmi l'amoxicilline, l'ampicilline, la céphazoline, la tétracycline, la chlortétracycline, la rifampicine, la polymixine B, la streptomycine, le chloramphénicol, l'érythromycine,
20 l'acide clavulanique, et l'isoniazide.

4. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est le carvacrol ou le carvéol et l'antibiotique est
25 l'amoxicilline ou rifampicine.

5. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est le carvéol et l'antibiotique est choisi parmi l'ampicilline, le
30 chloramphénicol, la tétracycline, la streptomycine, l'érythromycine, et la polymixine B.

6. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement

active est l'alpha-ionone ou la bêta-ionone et l'antibiotique est la céphazoline.

7. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est le thymol et l'antibiotique est isoniazide.

8. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est le carvacrol et l'antibiotique est l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique.

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

10. Trousse caractérisée en ce qu'elle contient :

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

25

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

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

35

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

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

13. Méthode selon la revendication 11 ou 12, caractérisée en ce que ladite première substance thérapeutiquement active est choisie parmi le carvacrol, l'eugénol, le thymol, l'alpha-ionone, la bêta-ionone, le carvéol, parmi l'amoxicilline, l'ampicilline, la streptomycine, l'érythromycine, la polymixine B, le chloramphénicol, la tétracycline, la rifampicine, l'isoniazide, la céphazoline et l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique.

1/1

