

(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
8 juin 2017 (08.06.2017)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2017/093322 A1

- (51) Classification internationale des brevets :
A61K 31/662 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2016/079285
- (22) Date de dépôt international :
30 novembre 2016 (30.11.2016)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
1561598 30 novembre 2015 (30.11.2015) FR
- (71) Déposant : PHARMALEADS [FR/FR]; 11, rue Watt,
75013 Paris (FR).
- (72) Inventeurs : PORAS, Hervé; 8 Chemin des Princes,
78870 Bailly (FR). WURM, Michel; 12 bis avenue Au-
guste Rouzaud, 63130 Royat (FR). MELIK PARSADA-
NIANTZ, Stéphane; 10bis rue Jean Pigeon, 94220 Cha-
renton le Pont (FR). REAUX-LE GOAZIGO, Annabelle;
29 avenue de la République, 94700 Maison Alfort (FR).
- (74) Mandataire : REGIMBEAU; 20, rue de Chazelles, 75847
Paris Cedex 17 (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv))

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : AMINOPHOSPHINIC DERIVATIVES FOR PREVENTING AND TREATING EYE PAIN

(54) Titre : DÉRIVÉS AMINOPHOSPHINIQUES POUR LA PRÉVENTION ET LE TRAITEMENT DES DOULEURS OCULAIRES

(57) Abstract : The invention relates to formula (I) compounds $R_1\text{-NH-CH(R}_2\text{)-P(=O)(OH)-CH}_2\text{-C(R}_3\text{)(R}_4\text{)-CONH-C(R}_5\text{)(R}_6\text{)-CO-OR}_7$ for the use thereof in treating and/or preventing eye pain.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet des composés de formule (I) $R_1\text{-NH-CH(R}_2\text{)-P(=O)(OH)-CH}_2\text{-C(R}_3\text{)(R}_4\text{)-CONH-C(R}_5\text{)(R}_6\text{)-COOR}_7$ pour leur utilisation dans le traitement et/ou la prévention des douleurs oculaires.



WO 2017/093322 A1

Dérivés aminophosphiniques pour la prévention et le traitement des douleurs oculaires

5 La présente invention se rapporte à la prévention et au traitement des douleurs oculaires.

La douleur est une réponse nociceptive liée à des stimulations locales dans le corps. La perception de la douleur au niveau du système nerveux central nécessite la
10 transmission de stimuli douloureux par les fibres nerveuses périphériques. Lors d'une stimulation au niveau des tissus, qu'elle soit thermique, mécanique ou chimique, des signaux électrochimiques sont transmis depuis les terminaisons sensorielles nerveuses vers la colonne vertébrale, et de là vers le cerveau où la douleur est ressentie.

Il existe différents types de douleur, d'origines très variées dont le traitement est
15 radicalement différent selon le type de douleur et son étiologie.

La douleur oculaire est une forme particulière de douleur qui apparaît dans de nombreuses conditions, comme par exemple un traumatisme accidentel, une intervention chirurgicale, une uvéite, le syndrome de l'œil sec ou bien encore lors de neuropathies dues au diabète.

20 Les médicaments couramment utilisés pour traiter les douleurs oculaires sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens, par voie topique ou générale, les analgésiques par voie générale, les anesthésiques locaux, ou, dans les cas extrêmes, les opiacés par voie générale. Ces traitements présentent une efficacité limitée et des effets secondaires locaux systémiques. Les anesthésiques locaux agissent sur la douleur en
25 inhibant directement la transmission nerveuse. Leur usage est limité à une administration brève sous contrôle médical car leur mécanisme d'action induit des effets inhibiteurs au niveau cellulaire dans les fibroblastes ou bien encore les cellules neuronales environnantes. C'est pourquoi, même si la sensation de douleur peut être atténuée par les anesthésiques locaux, la cicatrisation et la physiologie des tissus
30 peuvent être altérés. Il est donc important de découvrir d'autres agents analgésiques, sans activité anesthésique, efficaces et bien tolérés lorsqu'ils sont appliqués en topique dans l'œil douloureux.

Les opiacés comme le sulfate de morphine, sont utilisés par voie générale pour le traitement de la douleur oculaire sévère, mais ils présentent de nombreux effets

indésirables comme la sédation, les nausées, la constipation, la dépression respiratoire, qui limitent considérablement leur utilisation notamment dans les douleurs oculaires chroniques.

Il a été démontré que l'administration topique de morphine soulageait les douleurs associées aux lésions de la cornée chez le chien (Stiles et al. (2003) *Am. J. Vet. Res.*, 64, 813-818) et le rat (Wenk et al. (2003) *Pain*, 105, 455-465) sans causer de retard de cicatrisation de la plaie de la cornée (Stiles et al. (2003) *Am. J. Vet. Res.*, 64, 813-818).

La perception, la transmission et la régulation des influx nociceptifs sont sous la dépendance de plusieurs neurotransmetteurs, et en particulier les enképhalines (Met-enképhaline et Leu-enképhaline). Celles-ci sont des pentapeptides, opioïdes endogènes, initialement trouvés dans le cerveau de mammifères (Hugues et al. (1975) *Nature*, 258, 577-580). Elles se lient principalement à deux classes de récepteurs, les récepteurs opioïdes μ et δ (Lord et al. (1977) *Nature*, 267, 495-499) dont les fonctions et les localisations sont différentes (Waksman et al. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 83, 1523-1527).

Les propriétés antinociceptives des enképhalines ont été démontrées après administration par voie intracérébroventriculaire d'enképhalines exogènes (Belluzi et al. (1976) *Nature*, 260, 625-626). Cependant cette réponse est très fugace à cause d'une métabolisation très rapide de ces peptides par des enzymes. Des analogues d'enképhalines synthétiques, modifiés pour les rendre résistants à la dégradation enzymatique ont montré des propriétés antinociceptives égales à celles de la morphine, mais ont également présenté les mêmes effets secondaires indésirables que la morphine.

D'autre part, on sait que les enképhalines (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met et Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu) sont physiologiquement inactivées par deux métallopeptidases à zinc, la néprilysine (EC 3.4.24.11, NEP) qui clive la liaison Gly³-Phe⁴ (Malfroy et al. (1978) *Nature*, 276, 523-526) et l'aminopeptidase N (EC 3.4.11.2, APN) qui coupe la liaison Tyr¹-Gly² de ces peptides. (Waksman et al. (1985) *Eur. J. Pharmacol.*, 117, 233-243; revue dans Roques et al. (1993) *Pharmacol. Rev.*, 45, 87-146).

L'inhibition de ces deux activités enzymatiques, en protégeant complètement les enképhalines (Bourgoin et al. (1986) *J. Pharm. Exp. Ther.*, 238, 360-366), révèlent les activités pharmacologiques et en particulier analgésiques et antidépressives

(Roques (2000) *Trends Pharmacol. Sci.*, 21, 475-483; Jutkiewicz et al. (2007) *CNS Drugs Reviews*, 13, 192-205) des opioïdes endogènes, les enképhalines.

Des dérivés aminophosphiniques, « vrais » inhibiteurs mixtes, c'est-à-dire inhibant conjointement l'APN et la NEP, ont été décrit dans de précédents brevets et publications (WO9818803; WO2010010106; Chen et al. (2000) *J. Med. Chem.*, 43, 1398-1408; Chen et al. (2001) *J. Med. Chem.*, 44, 3523-3530; Le Guen et al. (2003) *Pain*, 104, 139-148; Bonnard et al. (2015) *Pharmacol. Res. Persp.*, 3(2), e00116, doi: 10.1002/prp2.116).

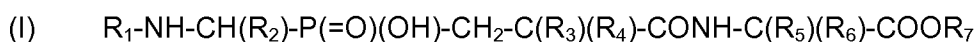
Une bonne activité antinociceptive, avec une longue durée d'action, a été démontrée sur de nombreux modèles animaux de nociception après administration orale et/ou iv (Chen et al. (2000) *J. Med. Chem.*, 43, 1398-1408; Chen et al. (2001) *J. Med. Chem.*, 44, 3523-3530; Le Guen et al. (2003) *Pain*, 104, 139-148; Bonnard et al. (2015) *Pharmacol. Res. Persp.*, 3(2), e00116, doi: 10.1002/prp2.116).

L'utilisation de ces composés comme analgésiques topiques oculaires n'a jamais été décrite ou suggérée.

Il n'a également jamais été démontré que des prodrogues d'inhibiteurs mixtes de NEP et d'APN pouvaient s'hydrolyser pour donner un composé capable d'atteindre sa cible permettant ainsi une réponse analgésique de longue durée.

L'un des objets de cette invention est donc de fournir de nouveaux composés de type aminophosphiniques capables d'inhiber conjointement les deux activités enzymatiques (néprilysine et aminopeptidase N) responsables de la dégradation des enképhalines, ces derniers pouvant avoir une action dans le cadre de douleurs oculaires.

L'invention a plus particulièrement pour objet des composés répondant à la formule (I) :



Dans laquelle :

R₁ représente

- un hydrogène
- un groupement (acyloxy)alkyl carbamate $-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R''$ dans lequel R et R' représentent, indépendamment l'un de l'autre, un hydrogène, un groupement alkyle et R'' représente un groupement alkyle.

R₂ représente :

- une chaîne hydrocarbonée, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée comportant de 1 à 6 atomes de carbone

R₃ et R₄ représentent indépendamment l'un de l'autre:

- un hydrogène
- 5 - un groupement phényle ou benzyle, éventuellement substitué sur le noyau phényle par :
 - * 1 à 5 atomes d'halogènes notamment le fluor ou le brome.
 - * un radical OH, SH, OR'' ou SR'', R'' ayant la même définition que précédemment.
- 10 * un groupement amino éventuellement mono- ou di-substitué par un groupement aliphatique, cyclique ou linéaire, de 1 à 6 atomes de carbone.
 - * un groupement trifluorométhyle
 - * un groupement aromatique ou hétéroaromatique à 5 ou 6 atomes
- 15 - un groupement hétéroaromatique à 5 ou 6 atomes, contenant 1 ou 2 hétéroatome(s) pris parmi l'oxygène, l'azote ou le soufre, les atomes de soufre et d'azote pouvant être oxydés sous forme de S-oxyde ou de N-oxyde.
 - un méthylène substitué par un hétérocycle à 5 ou 6 atomes, aromatique ou saturé, l'hétéroatome étant un oxygène, un azote ou un soufre, les atomes d'azote et de soufre pouvant être oxydés sous forme N-oxyde ou de S-oxyde
- 20 R₃ et R₄ ne représentent pas simultanément un atome d'hydrogène.
- R₅ et R₆ représentent indépendamment l'un de l'autre
 - un atome d'hydrogène
 - une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée de 1 à 6 atomes de carbone
- 25 R₇ représente
 - un hydrogène
 - un radical CH₂COOR''' ou CH(CH₃)COOR''', R''' représentant
 - * une chaîne hydrocarbonée saturée de 1 à 6 atomes de carbone, éventuellement substituée par un groupement alkoxy de C₁ à C₃,
- 30 * un groupement cycloalkyle de C₅ à C₈
 - * un groupement phényle, benzyle, hétéroaromatique ou alkyl hétéroaromatique.
 - un groupement CH(R)O-C(O)OR' ou CH(R)OC(O)R' dans lesquels R et R' ont les mêmes définitions que précédemment;

ou un sel pharmaceutiquement acceptable de ces composés pour leur utilisation dans le traitement et/ou la prévention des douleurs oculaires.

Les composés selon l'invention peuvent avantageusement être utilisés pour prévenir
5 ou soulager une douleur oculaire, en particulier le syndrome de l'œil sec.

Les composés selon l'invention peuvent avantageusement être utilisés pour prévenir ou traiter les douleurs neuropathiques de la cornée, en particulier l'hyperalgésie neuropathique.

10 Douleur oculaire

Les douleurs neuropathiques présentent des causes périphériques, centrales et peuvent spécifiquement affecter la cornée de l'œil. Les causes des neuropathies sont nombreuses, mais trouvent toujours leur origine dans la souffrance ou la détérioration de fibres nerveuses, dues à des incisions chirurgicales, un traumatisme, des virus
15 (zona), des troubles métaboliques (diabète), des médicaments neurotoxiques ou une inflammation chronique. Les médicaments actuels sont peu efficaces, ce qui rend indispensable la découverte et le développement de nouveaux composés.

L'hyperalgésie neuropathique de la cornée relève d'un dysfonctionnement du système de perception et de contrôle de la douleur au niveau de la cornée. Elle
20 s'associe à une gêne fonctionnelle marquée et à une sensibilité persistante accrue de la cornée (sensibilisation périphérique) en l'absence de traumatisme manifeste ou de stimuli nocifs (revue dans Belmonte et al. (2004) *Exp. Eye Res.*, 78(3), 513-525; Rosenthal & Borsook (2012) *Ocul. Surf.*, 10(1), 2-14; Rosenthal et al. (2009) *Ocul. Surf.*, 7(1), 28-40).

L'excitation continue des nerfs de la cornée à la suite de lésions ou de l'irritation de celle-ci libère des neuropeptides et des médiateurs de l'inflammation qui augmentent la réaction inflammatoire (inflammation neurogène) conduisant ainsi à l'hyperalgésie. L'hypersensibilité cornéenne, la neuro-inflammation, la douleur et la photophobie sont rapportées chez des patients après chirurgie de l'œil ou après une
30 exposition chimique ou toxique, y compris l'utilisation répétée de chlorure de benzalkonium, conservateur habituel des collyres. La douleur neuropathique cornéenne est également une conséquence de troubles oculaires, désignée de manière générale comme syndrome de l'œil sec. Cela comprend les causes immunologiques non infectieuses telles que le syndrome de Goujerot-Sjögren ou le

lupus systémique ainsi que le zona ophtalmique du à *Herpesvirus zoster* (revue dans Rosenthal & Borsook (2012) *Ocul. Surf.*, 10(1), 2-14; Yawn et al. (2013) *Mayo Clin. Proc.*, 88(6), 562-570). Jusqu'à 20% des adultes âgés de 45 ans ou plus sont touchés par le syndrome de l'œil sec, ce qui représente un problème de santé majeur avec des
5 conséquences économiques et sociales lourdes (revue dans Friedman (2010) *Curr. Opin. Ophthalmol.*, 21(4), 310-316; Pfugfelder (2008) *J. Manag. Care*, 14 (3 Suppl), S102-S106).

Dans de très nombreux cas, le syndrome de l'œil sec est réfractaire au traitement et il n'existe pas de réelle corrélation entre symptômes et signes associés.
10 Par exemple, alors que l'hyperalgésie de la cornée inflammatoire, en raison de la dessiccation de la surface oculaire (évaporation de l'œil sec), est la forme la plus commune de l'hyperalgésie neuropathique de la cornée, de nombreux patients présentant des symptômes de sécheresse oculaire n'ont pas de signes objectifs d'œil sec (réduction du volume lacrymal), ou d'érosions cornéennes superficielles. En outre,
15 la neuropathie peut parfois précéder des altérations du film lacrymal (Rosenthal & Borsook (2012) *Ocul. Surf.*, 10(1), 2-14; Rosenthal et al. (2009), *Ocul. Surf.*, 7(1), 28-40).

Les composés prescrits pour les douleurs neuropathiques de la cornée comprennent une grande variété de composés distincts tels que les opiacés, les anti-
20 inflammatoires non-stéroïdiens, les inhibiteurs des canaux sodiques (anesthésiques locaux), les antiépileptiques, les antidépresseurs tricycliques et les analogues de GABA. Cet arsenal reste cependant insuffisant et la nature complexe de la douleur cornéenne neuropathique est mise en évidence par le fait qu'il n'existe pas de traitement connu unique efficace sur les différents symptômes. De plus, les effets
25 secondaires de nombreux agents actuellement prescrits limitent la fenêtre thérapeutique. La douleur neuropathique inflammatoire de la cornée représente donc un besoin thérapeutique non satisfait (Rosenthal & Borsook (2012) *Ocul. Surf.*, 10(1), 2-14; Rosenthal et al. (2009) *Ocul. Surf.*, 7(1), 28-40).

30 Composés selon l'invention :

Dans la présente invention, on entend par « pharmaceutiquement acceptable » ce qui est utile dans la préparation d'une composition pharmaceutique qui est généralement

sûr, non toxique et ni biologiquement ni autrement non souhaitable et qui est acceptable pour une utilisation vétérinaire de même que pharmaceutique humaine.

Par « sels pharmaceutiquement acceptables » d'un composé, on entend désigner dans la présente invention des sels qui sont pharmaceutiquement acceptables, comme
5 défini ici, et qui possèdent l'activité pharmacologique souhaitée du composé parent. Dans le cadre de la présente invention, il s'agit de sels d'addition obtenus avec une base minérale ou organique. Ainsi, le sel formé correspond :

- soit au remplacement d'un proton acide par un ion métallique, par exemple un ion de métal alcalin (Na^+ , K^+ ou Li^+ par exemple), un ion de métal alcalino-terreux
10 (comme Ca^{2+} ou Mg^{2+}) ou un ion d'aluminium,
- soit à la coordination de ce proton acide avec une base organique ou inorganique.

Les bases organiques acceptables comprennent des amines telles que l'ammoniaque, la diéthanolamine, l'éthanolamine, la N-méthylglucamine, la triéthanolamine, la
15 triéthylamine, la trométhamine et similaires. Les bases inorganiques acceptables comprennent l'hydroxyde d'aluminium, l'hydroxyde de calcium, l'hydroxyde de lithium (lithine), l'hydroxyde de potassium (potasse), le carbonate de sodium et l'hydroxyde de sodium (soude).

Avantageusement, les sels pharmaceutiquement acceptables des composés de
20 l'invention seront des sels d'addition obtenus avec une base minérale ou organique pharmaceutiquement acceptable, telle que la lithine, la soude, la potasse, l'ammoniaque, une amine tertiaire de formule $\text{NR}_a\text{R}_b\text{R}_c$, où R_a , R_b et R_c représentent, indépendamment les uns de autres, un groupe alkyle tel que défini ci-dessous, comme la triéthylamine, ou encore un aminoacide basique tel que la lysine ou l'arginine et
25 leurs dérivés.

Par « insaturé », on entend, au sens de la présente invention, que la chaîne hydrocarbonée comprend une ou plusieurs insaturation(s). Par « insaturation », on entend, au sens de la présente invention, une double ou une triple liaison.

30 Par « atome d'halogène », on entend, au sens de la présente invention, un atome de fluor, de chlore, de brome ou d'iode. Avantageusement, il s'agit d'un atome de fluor, de brome ou de chlore. Encore avantageusement, il s'agit d'un atome de fluor ou de brome, et de préférence de fluor.

Par groupe « amino », on entend, au sens de la présente invention, un groupe de formule $-NR^*R^{**}$, où R^* et R^{**} représentent, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène ou un groupe hydrocarboné saturé ou insaturé, linéaire, ramifié ou cyclique, comportant de 1 à 6, de préférence de 1 à 4, atomes de carbone, ou R^* et
5 R^{**} forment ensemble, avec l'atome d'azote qui les porte, un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons, saturé ou non, et ne comportant pas d'autre hétéroatome que l'azote qui porte les deux radicaux R^* et R^{**} . En particulier, le groupe amino peut être un groupe $-NH_2$, $-NHMe$, $-NHEt$, $-NHPr$, $NHiPr$, $-NHBu$, $-NHiBu$, $-NHtBu$, pipéridinyle ou pyrrolidinyle.

10 Par groupement « aromatique », on entend, au sens de la présente invention, un groupement aromatique, comportant de préférence de 5 à 10 atomes de carbone, sauf mention contraire, et comprenant un ou plusieurs cycles accolés, comme par exemple un groupement phényle ou naphthyle. Avantageusement, il s'agit du phényle.

Par groupement « hétéroaromatique », on entend, au sens de la présente invention,
15 tout groupe aromatique tel que défini ci-dessus dans lequel un ou plusieurs atome(s) de carbone a(ont) été remplacé(s) par un ou plusieurs hétéroatome(s), avantageusement 1 à 4 et, encore plus avantageusement 1 à 2, tels que par exemple des atomes de soufre, azote ou oxygène, les atomes de soufre et d'azote pouvant être éventuellement oxydé sous forme de S-oxyde ou de N-oxyde. Des exemples de
20 groupes hétéroaromatique sont les groupes furyle, thiényle, pyrrolyle, pyridinyle, pyrimidyle, pyrazolyle, imidazolyle, tétrazolyle ou encore indyle.

Par « cycle hétéroaromatique à 5 ou 6 atomes », on entend, au sens de la présente invention, un groupe hétéroaromatique tel que défini ci-dessus ne comportant qu'un seul cycle à 5 ou 6 atomes. Il s'agit notamment d'un groupe thiényle, pyrrolyle,
25 pyridinyle, pyrimidyle, pyrazolyle, imidazolyle ou encore tétrazolyle.

Par « hétérocycle », on entend, au sens de la présente invention, un cycle hydrocarboné, avantageusement à 5 ou 6 atomes, dont un ou plusieurs atome(s) de carbone a(ont) été remplacé(s) par un ou plusieurs hétéroatome(s), avantageusement 1 à 4 et, encore plus avantageusement 1 à 2, tels que par exemple des atomes de
30 soufre, azote ou oxygène, les atomes de soufre et d'azote pouvant être éventuellement oxydés sous forme de N-oxyde et de S-oxyde. Sauf mention contraire, ce cycle pourra être saturé ou aromatique.

Dans le cas où le ou les hétéroatome(s) est (sont) choisi(s) parmi l'azote et le soufre, l'hétérocycle peut être en particulier un groupe : pipéridinyle, pyrrolidinyle, pyrrolyle,

thiényle, pyrrazolyle, imidazolyle, pyridinyle, pyridazinyle, pyrimidinyle, pipérazinye, thiadiazolyle, tétrahydrothiényle ou encore thiazolyle.

Par « alkyle », on entend, au sens de la présente invention, une chaîne hydrocarbonée saturée, linéaire ou ramifiée, comportant de 1 à 4 atomes de carbone, sauf mention
5 contraire. Il s'agit en particulier des groupes méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, iso-butyle, sec-butyle, tert butyle, n-pentyle, n-hexyle.

Par « cycloalkyle », on entend, au sens de la présente invention, un cycle hydrocarboné saturé comportant de 5 à 8 atomes de carbone, en particulier le groupe cyclohexyle, cyclopentyle ou cycloheptyle.

10

Par « alkylehétéroaromatique », on entend, au sens de la présente invention, un groupe hétéroaromatique tel que défini ci-dessus lié à la molécule par l'intermédiaire d'un groupe alkyle tel que défini ci-dessus. Il s'agit en particulier d'un groupe thénylméthyle ou furylméthyle.

15

Dans une première variante, R_1 représente un groupement (acyloxy)alkyl carbamate – $C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R''$. En particulier, R_1 représente un groupement – $C(=O)-O-CHMe-OC(=O)-CHMe_2$.

Dans une deuxième variante, R_1 représente un atome d'hydrogène.

20

De manière également avantageuse, le radical R_2 représente une chaîne hydrocarbonée, saturée, linéaire ou ramifiée, comportant de 1 à 4 atomes de carbone. De préférence, le radical R_2 représente un groupe méthyle.

25 Selon une variante avantageuse de l'invention, R_3 représente un atome d'hydrogène et R_4 est tel que défini précédemment. Avantageusement, R_3 représente un atome d'hydrogène et R_4 représente un groupe benzyle éventuellement substitué par 1 à 5 atome(s) d'halogène tel(s) que le fluor ou le brome, un phényle ou un groupement hétéroaromatique à 5 ou 6 chaînons. En particulier, R_3 représente un atome
30 d'hydrogène et R_4 représente un groupe benzyle substitué, en position para, par un atome d'halogène, tel qu'un atome de brome, ou par un phényle.

De manière également avantageuse, le radical R_5 représente un atome d'hydrogène.

De manière également avantageuse, le radical R_6 représente un groupement alkyle tel qu'un groupement méthyle.

De manière également avantageuse, le radical R_7 représente un atome d'hydrogène
5 ou un benzyle.

Selon une variante avantageuse de l'invention, les radicaux ont la signification suivante:

- R_1 représente un groupe $-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R''$ dans lequel R
10 représente un atome d'hydrogène et R' et R'' représentent un groupe alkyle ;
- R_2 représente un groupe alkyle,
- R_3 représente un atome d'hydrogène ;
- R_4 représente un groupe benzyle substitué en position para par un atome
d'halogène (brome) ou par un phényle ;
- 15 - R_5 représente un atome d'hydrogène ;
- R_6 représente un groupe alkyle ;
- R_7 représente un atome d'hydrogène.

Selon un mode de réalisation particulier, le composé de l'invention est choisi parmi les
20 composés suivants :

Ester benzylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

25 Acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Ester éthylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

30 Ester éthoxycarbonyloxy de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Ester benzylique de l'acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Ester benzylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

10 Acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Ester éthylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

15 Ester éthoxycarbonyloxy de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

20 Ester benzylique de l'acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

25 Ester éthylique de l'acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Les composés de formule (I) ont été décrits comme inhibiteurs doubles de l'APN et de la NEP et présentent des activités analgésiques dans de nombreux modèles de douleurs centrales ou périphériques après une administration intraveineuse ou orale (Chen et al. (2000) *J. Med. Chem.*, 43, 1398-1408; Bonnard et al. (2015) *Pharmacol. Res. Persp.*, 3(2), e00116, doi: 10.1002/prp2.116).

Les composés de formule (I) peuvent être synthétisés, par exemple, par des méthodes décrites dans : FR 2 755 135 et FR 2 934 267 . Le composé 1, par

exemple, peut être synthétisé comme décrit dans Chen et al. (2000) *J. Med. Chem.*, 43, 1398-1408 et le composé 2, par exemple, peut être synthétisé comme décrit dans Bonnard et al. (2015) *Pharmacol. Res. Persp.*, 3(2), e00116, doi: 10.1002/prp2.116.

Les composés de formule (I) sont formulés en accord avec des méthodes
5 décrites par l'homme de l'art, en particulier pour la voie d'administration désirée.

En particulier, les composés sont formulés sous la forme d'une composition ophtalmique, en particulier de collyres, pommades ophtalmiques, gels ophtalmiques, ou inserts ophtalmiques

De manière préférentielle, les compositions administrées de la présente
10 invention seront formulées comme solutions, suspensions ou autre dosage pour administration topique, en particulier une administration oculaire. Par conséquent, de telles compositions sont formulées de sorte à respecter : une bonne tolérance (en particulier pH acceptable), une osmolarité physiologique. Il est en outre préférable que les compositions soient stériles et formulées de sorte à éviter une contamination
15 bactérienne en cours d'utilisation. Les solutions ophtalmiques sont avantageusement limpides, caractérisées par une absence de particules. Les suspensions sont avantageusement caractérisées par une taille des particules inférieure à 25 µm. A titre de formulations galéniques pour administration oculaire, on peut notamment citer :

- Les collyres : sous la forme de solutions, suspensions, émulsions stériles,
20 contenant un ou plusieurs principes actifs. On préfère les solvants ou mélange de solvants aqueux ou hydrosolubles. Les collyres peuvent être conditionnés en emballage multidoses ou unidoses.
- Les pommades ophtalmiques, c'est-à-dire des préparations semi-solides, stériles, destinées à être appliquées sur la conjonctive, contenant un ou
25 plusieurs principes actifs et des excipients appropriés (vaseline, paraffine liquide).
- Les gels ophtalmiques, c'est-à-dire des préparations semi-solides, stériles, destinées à être appliquées sur la conjonctive, contenant un ou plusieurs principes actifs et des excipients appropriés. L'excipient est
30 avantageusement un polymère hydrophile gélifiant en présence d'eau (carbomère, carbopol®, acide polyacrylique).
- Les Inserts ophtalmiques, c'est-à-dire des préparations solides ou semi-solides stériles, destinées à être insérées dans le sac conjonctival. Ils sont en général constitués d'un réservoir de principe actif encastré dans une

matrice entourée d'une membrane permettant de contrôler la libération. Le principe actif est libéré progressivement.

Les solutions aqueuses seront utilisées de préférence car elles sont plus facilement formulées, et il est également plus facile pour un patient de s'administrer
5 une telle composition à l'aide d'une instillation de 1 ou 2 gouttes de la solution dans l'œil affecté. Malgré tout, la composition pourra également être une suspension, un gel visqueux ou semi-visqueux ou d'autres types de compositions solides ou semi-solides.

Le véhicule utilisé de préférence pour les formulations ophtalmiques de la présente invention est l'eau milliQ, et de manière préférentielle une solution saline
10 physiologique. Afin d'éviter toute dérive du pH pendant le stockage, le pH d'une telle solution sera de préférence maintenu entre 5,5 et 8, et de manière préférentielle entre 6,5 et 7,2, avec le tampon approprié tels que des tampons acétates, citrates, phosphates ou borates. Les formulations pourront également contenir les conventionnels, acceptable pharmaceutiquement, conservateurs, stabilisants et/ou
15 composés favorisant la pénétration.

Ainsi, la composition ophtalmique est avantageusement une solution aqueuse, ayant avantageusement un pH allant de 5,5 à 8.

Les compositions administrées en accord avec les méthodes décrites dans la présente invention contiennent une quantité active pour une utilisation ophtalmique
20 d'un composé de formule (I). Cela signifie une quantité suffisante pour prévenir ou soulager une douleur oculaire. Généralement, les compositions décrites dans la présente invention contiendront de 0,01% à 3% (poids/volume) d'un composé de formule (I). De préférence, les compositions de la présente invention contiendront de 0,1 à 1% (poids/volume) d'un composé de formule (I). Ainsi, la composition
25 ophtalmique comprend avantageusement de 0,01% à 3% en poids par volume dudit composé de formule (I), plus avantageusement de 0,1% à 1% en poids par volume.

La composition administrée pourra également contenir d'autres ingrédients variés tels que, mais non de manière exhaustive, des surfactants, des agents influant
30 sur l'osmolarité, des tampons, des conservateurs, des co-solvants ou des agents augmentant la viscosité.

Différents composés influençant l'osmolarité peuvent être utilisés pour ajuster l'osmolarité d'une solution afin de se rapprocher de la composition des larmes naturelles. Par exemple, le chlorure de sodium, le chlorure de potassium, le chlorure

de magnésium, le chlorure de calcium, le dextrose et/ou le mannitol peuvent être utilisés afin de se rapprocher de l'osmolarité physiologique (de manière générale de l'ordre de 150-450 mOsm et de manière préférentielle 250-350 mOsm).

Les agents conservateurs qui peuvent être utilisés dans les formulations ophtalmiques de la présente invention peuvent être, mais ne sont pas limités à, du chlorure de benzalconium, du chlorobutanol, du bromure de benzododecinium, du methyl parabène, du propyl parabène, du thimerosal, de l'acétate phenylmercurique et du nitrate phenylmercurique. De tels conservateurs sont généralement utilisés à une dose de 0,001 à 1,0% poids/volume.

Les agents agissant sur la viscosité qui peuvent être utilisés dans les formulations ophtalmiques de la présente invention peuvent être, mais ne sont pas limités à, des polyols monomériques, de la povidone, de l'hydroxypropylmethyl cellulose, des poloxamers, de la carboxymethyl cellulose, des carbomères ou de l'hydroxyethylcellulose, des dextrans comme le dextran 70, des protéines solubles dans l'eau comme la gélatine ...

Les agents agissant sur la pénétration qui peuvent être utilisés sont par exemple, des solvants organiques comme le dimethylsulfoxyde ou autres sulfoxydes, la diméthylacétamide et les pyrrolidones; certains composés amides d'amines hétérocycliques, des glycols (ex propyleneglycol); des carbonates de propylène; de l'acide oléique; des amines alkylées et autres sels ammonium dérivés; des agents de surface variés anioniques, cationiques ou non-ioniques etc ...

Dans un mode de réalisation préféré, une formulation de la présente invention comprend une cyclodextrine, telle que l'hydroxypropyl bêta-cyclodextrine ou bien encore la sulfobutyl ether bêta-cyclodextrine, ou du sodium de polystyrène sulfonate.

Ainsi, la composition ophtalmique comprend avantageusement en outre cyclodextrine, telle que l'hydroxypropyl bêta-cyclodextrine ou bien encore la sulfobutyl ether bêta-cyclodextrine, ou du sodium de polystyrène sulfonate.

Exemple activité pharmacologique

30

a) Test à la capsaïcine

Afin d'étudier l'activité pharmacologique de la présente invention dans le cas des douleurs oculaires, les composés de formule (I) ont été testés sur le modèle de la douleur oculaire induite par la capsaïcine.

Dans ce modèle, précédemment utilisé dans la littérature (Gonzalez et al. (1993) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 34(12), 3329-3335), chez les lapins adultes, le nombre de mouvements de la paupière, le degré d'ouverture palpébrale, la réponse myotique et une vasodilatation conjonctivale évoquée par une instillation bilatérale de 30 microlitres de la capsaïcine (33 mM) ont été mesurées à des moments différents après administration d'un médicament. Pour cela les réponses à ce test dans les yeux prétraités avec différents inhibiteurs calciques (le diltiazem, le vérapamil ou la nifédipine) ont été comparées à ceux qui avaient reçu uniquement le véhicule. Par exemple, le diltiazem à des doses de 1 à 28 mM, administré 15 minutes avant l'application de la capsaïcine, a diminué de manière significative les mouvements de grattage, d'hyperémie conjonctivale, la fermeture de l'œil et la concentration élevée de protéine aqueuse induite par la capsaïcine. Ces résultats suggèrent que pour une activité douloureuse induite par la capsaïcine, le diltiazem diminue celle-ci ainsi que l'inflammation neurogène et qu'il peut être utile à la fois comme un analgésique et comme un agent anti-inflammatoire de l'œil.

Il a également été montré que les réponses contractiles à la capsaïcine étaient partiellement inhibées par la morphine (5 X 100 µM) (Zhang et al. (1984) *Exp. Eye Res.*, 38, 153-163).

De la même manière chez le rat, l'application topique d'une goutte du sulfate de morphine (5µM) atténue le clignotement des yeux dépendamment de la concentration induite par la capsaïcine. Cependant, la morphine n'a aucun effet sur le clignotant sur la cornée de rat sain, non enflammée. Aussi bien les effets analgésiques et anti-inflammatoires de la morphine ont été bloqués par l'administration préalable d'antagonistes des récepteurs opioïdes comme la naloxone, le CTAP et le naltrindole. La morphine agit sur les récepteurs opioïdes mu et delta situés dans la cornée de rat pour atténuer l'inflammation et l'hyperalgésie (Zhang et al. (2003) *Pain*, 105, 455-65).

30

1) Traitement « acute »

Un test comparable à celui précédemment décrit a été utilisé (Gonzalez et al. (1993) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 34(12), 3329-3335) pour évaluer les composés de

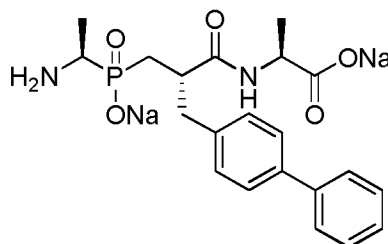
formule (I) de la présente invention chez des lapins blancs albinos de Nouvelle Zélande avec comme contrôle positif un antagoniste TRPV1, la capsazepine instillée à 5mM (8 animaux par groupe) en comparaison du véhicule seul, NaCl 0,9% (3 animaux).

5 La procédure suivie et le timing étaient les suivants:

Jour	Temps	Procédure	Examen oculaire
-		Examen clinique général, poids	Evaluation de l'hyperémie conjonctive Mesure de l'ouverture palpébrale
D0	15 min avant induction	Examen clinique général Administration du produit test, contrôle et de référence (50 µL dans l'œil droit pour le produit test et le contrôle et 30µL dans l'œil droit pour le produit de référence)	Evaluation de l'hyperémie conjonctive
	Juste avant induction	-	Evaluation de l'hyperémie conjonctive Mesure de l'ouverture palpébrale
	0	Induction de la douleur oculaire avec capsaïcine (30 µL dans l'œil droit)	-
	1 min	-	Evaluation de l'hyperémie conjonctive Mesure de l'ouverture palpébrale
	5 min		
	10 min		
	15 min		
	20 min		
	25 min		
	30 min		
	40 min		
	50 min		
	60 min		
	-		-

Exemple 1:

Effet analgésique du **composé 1 (10 mM)** dans le modèle de la douleur oculaire induit par la capsaïcine (33 mM)



Composé 1

5

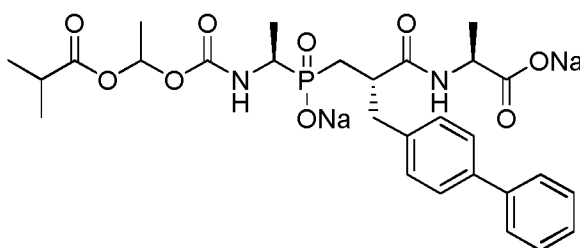
Les résultats sont reportés sur la figure 1 représentant le degré d'ouverture palpébrale, en mm, lors du pré-test, juste avant l'induction de la douleur puis à 5, 10, 15, 20, 25 et 30 min après induction de la douleur.

- 10 Histogrammes gris : la solution administrée comprend NaCl 0,9%
 Histogrammes noirs : la solution administrée comprend 10 mM de composé 1

Exemple 2:

Effet analgésique du **composé 2 (10 mM)** dans le modèle de la douleur oculaire induit par la capsaïcine (33 mM)

15



Composé 2

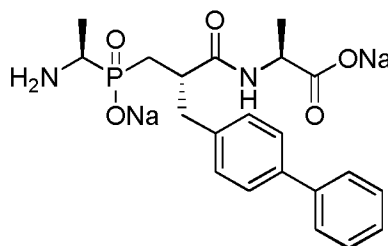
- 20 Les résultats sont reportés sur la figure 2 représentant le degré d'ouverture palpébrale, en mm, lors du pré-test, juste avant l'induction de la douleur puis à 5, 10, 15, 20, 25 et 30 min après induction de la douleur.

Histogrammes gris : la solution administrée comprend NaCl 0,9%

Histogrammes noirs : la solution administrée comprend 10 mM de composé 2

Exemple 3:

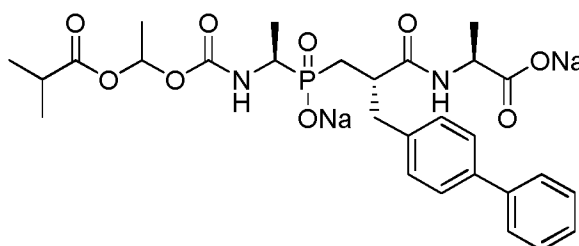
- Évaluation de la douleur de la cornée en observant l'hyperémie conjonctivale après l'induction de la douleur (une seule instillation de capsaïcine 1% (33 mM) dans l'œil droit) chez les lapins albinos. Prétraitement par **le composé à tester**, 15 min avant instillation par la capsaïcine.

**Composé 1**

- Les résultats sont reportés sur la figure 3 représentant l'hyperémie conjonctivale (échelle : 0-3) lors du pré-test, juste avant l'induction de la douleur puis à 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 et 60 min après induction de la douleur.
- Histogrammes blancs : la solution administrée comprend NaCl 0,9%
- Histogrammes noirs : la solution administrée comprend 5 mM de capsazépine (produit contrôle de référence)
- Histogrammes gris : la solution administrée comprend 10 mM de **composé 1**

Exemple 4:

- Évaluation de la douleur de la cornée en observant l'hyperémie conjonctivale après l'induction de la douleur (une seule instillation de capsaïcine 1% (33 mM) dans l'œil droit) chez les lapins albinos. Prétraitement par **le composé à tester**, 15 min avant instillation par la capsaïcine.

**Composé 2**

Les résultats sont reportés sur la figure 4 représentant l'hyperémie conjonctivale (échelle : 0-3) lors du pré-test, juste avant l'induction de la douleur puis à 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 et 60 min après induction de la douleur.

Histogrammes blancs : la solution administrée comprend NaCl 0,9%

- 5 Histogrammes noirs : la solution administrée comprend 5 mM de capsazépine (produit contrôle de référence)

Histogrammes gris : la solution administrée comprend 10 mM de **composé 2**.

- 10 Dans nos conditions expérimentales, une seule instillation du **composé 1** ou du **composé 2** à 10 mM a montré un effet analgésique suite à l'induction de la douleur par la capsaïcine, sur l'hyperémie conjonctivale et l'ouverture de la fente palpébrale, supérieure au produit de référence, la capsazépine.

2) Traitement « chronique »

- 15 Les composés de formule I de la présente invention ont également été testés, chez des souris mâles C57BL/6 (JANVIER LABS) âgés de 8 semaines, sur un test à la capsaïcine (100 μ M) après un traitement biquotidien pendant 5 jours de composé de formule I sur une cornée préalablement lésée (avec tréphine de 1,5 mm de diamètre).

Exemple 5

- 20 Effet analgésique du **composé 2** dans le modèle de la douleur oculaire induit par la capsaïcine (100 μ M)

Une lésion épithéliale cornéenne a été réalisée sur la cornée droite de souris mâles C57BL/6 (JANVIER LABS) à l'aide d'une tréphine de 1,5 mm de diamètre. Une fois les animaux opérés, un traitement topique biquotidien, pendant 4 jours, est réalisé au PBS

- 25 1x (5 animaux par groupe) ou avec le **composé 2** à 10 mM (5 animaux par groupe).

Au jour 4, 15 min après la dernière instillation, de la capsaïcine 100 μ M est instillée et l'analyse comportementale est réalisée.

Les résultats obtenus correspondant à la lésion à la tréphine seule avant capsaïcine sont représentés sur la figure 5 (axe des ordonnées : temps de fermeture palpébrale en secondes).

Les résultats obtenus après application de la capsaïcine sont représentés sur la figure 5 6.

Dans ces conditions expérimentales, un traitement chronique par le **composé 2** à 10 mM a montré un effet analgésique très significatif (temps cumulé de fermeture palpébral plus court), par rapport au groupe contrôle recevant du PBS, suite à l'induction de la douleur dans le test à la capsaïcine (100 µM).

10 a) Lésion cornéenne à l'aide d'une tréphine chez la souris

Lors de ce test, la désépithélialisation de l'épithélium cornéen de l'œil gauche de la souris est réalisée à l'aide d'une tréphine de 1,5 mm de diamètre. Cette chirurgie est réalisée sous un microscope opératoire. Cet acte dure au maximum 3 minutes par animal. La profondeur et la superficie de la désépithélialisation de la cornée est 15 standardisée et est ensuite contrôlée par un examen à la lampe à fente. L'avantage de cet outil chirurgical est la standardisation de la lésion.

Des souris mâles C57BL/6 ainsi traitées, âgées de 8 semaines, reçoivent un traitement biquotidien pendant 5 jours de composé de formule I ou de PBS avant l'application de la capsaïcine.

20 Exemple 6

Une douleur supplémentaire est induite par la capsaïcine (100 µM).

La sensibilité (allodynie) mécanique cornéenne a été mesurée à l'aide de filaments de Von Frey, 5 jours après traitement, sur des souris traitées avec le **composé 1** (10mM),

le **composé 2** (10mM) ou pour le groupe contrôle par du PBS 1X (n= 5 animaux par groupe).

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 6 (axe des ordonnées : poids du filament de Von Frey en g). L'histogramme de gauche (noir) représente la réponse des
5 souris traitées avec du PBS, l'histogramme du milieu représente la réponse des souris traitées avec le **composé 1** et l'histogramme de droite représente la réponse des souris traitées avec le **composé 2**.

Un traitement topique biquotidien de 5 jours avec le **composé 1** ou le **composé 2**, sur une cornée préalablement lésée (tréphine de 1,5 mm de diamètre), induit une
10 diminution significative, lors de la mesure avec les filaments de Von Frey, de la sensibilité mécanique (ce qui se traduit par un poids plus élevé acceptable du filament) en comparaison avec les résultats obtenus chez des souris contrôles traitées avec du PBS1x (n=5 souris par groupe).

15 **b) Kératite induite par instillation chronique de chlorure de benzalkonium (BAC) à 0,2%**

L'instillation chronique de chlorure de benzalkonium à 0,2% induit une inflammation chronique de la cornée avec génération de douleur oculaire (Launay et al. (2016) *Neurobiol. Dis.*, 88 16-28). Ce modèle a été utilisé comme modèle de kératite
20 chimique.

Exemple 7

Etude de la sensibilité cornéenne chez des souris traitées bi-quotidiennement avec le **composé 2** pendant 5 jours préalablement traitées au BAC 0,2 % pendant 6 jours

La sensibilité cornéenne mécanique des souris mâles C57BL/6, traitées au BAC 0,2 % pendant 6 jours, puis bi-quotidiennement avec le **composé 2** pendant 5 jours, a été évaluée à différents temps par les filaments de Von Frey, par rapport à un groupe contrôle recevant bi-quotidiennement du PBS 1X (n = 10 animaux par groupe).

- 5 L'utilisation des filaments de Von Frey (appliqués au centre de la cornée sur animal vigile) est tout à fait réalisable pour mesurer une allodynie mécanique cornéenne chez la souris. Dans un contexte de sécheresse oculaire, il se produit une allodynie mécanique chez le patient : le simple fait de fermer la paupière induit une sensation douloureuse. Enfin, ce test comportemental est celui qui se rapproche le plus de celui
- 10 utilisé en clinique humaine (Cochet Bonnet) pour mesurer la sensibilité mécanique cornéenne.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 7 (axe des ordonnées : poids du filament de Von Frey en g). L'histogramme de gauche représente la réponse des souris traitées avec du PBS, tandis que l'histogramme de droite représente la réponse

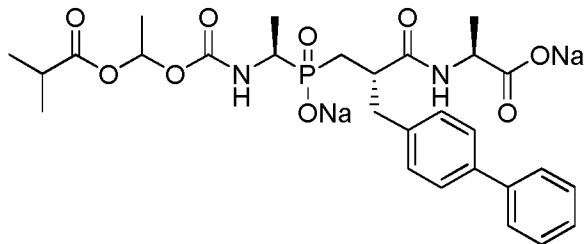
15 des souris traitées avec le **composé 2**. La figure 7 montre que l'allodynie mécanique induite par le BAC 0,2% est significativement réduite (seuil de sensibilité augmenté) en présence du **composé 2** (10 mM).

c) Modèle inflammatoire induit par du lipopolysaccharide (LPS) chez la

20 souris

Le lipopolysaccharide bactérien (LPS, endotoxine) est un puissant stimulateur de réponses inflammatoires qui contribue à des kératites microbiennes et aux ulcérations de la cornée (Khatri et al. 2002 *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, 43 2278-2284).

Exemple 8



Composé 2

Effet du **composé 2** dans un modèle inflammatoire induit par du LPS (50 µg).

Une lésion épithéliale cornéenne (scratch) est réalisée avec une tréphine (diamètre 1,5 mm) chez la souris, suivie par un traitement topique au LPS (50 µg, deux administrations aux 1^{er} et 4^{ème} jour) puis un traitement chronique biquotidien pendant 5 jours au PBS 1X (groupe contrôle) ou avec le **composé 2** (10 mM) (n= 6 animaux par groupe), suivi par une instillation de capsaïcine (100µM) au 5^{ème} jour.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 8 (axe des ordonnées : temps de fermeture palpébrale en secondes). L'histogramme de gauche représente la réponse des souris traitées avec du PBS, tandis que l'histogramme de droite représente la réponse des souris traitées avec le **composé 2**.

Dans ces conditions expérimentales de kératite bactérienne induite par le LPS, un traitement chronique par le **composé 2** à 10 mM montre donc un effet analgésique très significatif (temps cumulé de fermeture de la fente palpébrale plus court), par rapport au groupe contrôle recevant du PBS.

REVENDICATIONS

1. Composés répondant à la formule (I) :

5 (I) $R_1\text{-NH-CH(R}_2\text{)-P(=O)(OH)-CH}_2\text{-C(R}_3\text{)(R}_4\text{)-CONH-C(R}_5\text{)(R}_6\text{)-COOR}_7$

Dans laquelle :

R_1 représente

- un hydrogène
- un groupement (acyloxy)alkyl carbamate $\text{-C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R''}$
- 10 dans lequel R et R' représentent, indépendamment l'un de l'autre, un hydrogène, un groupement alkyle et R'' représente un groupement alkyle.

R_2 représente :

- une chaîne hydrocarbonée, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée comportant de 1 à 6 atomes de carbone

15 R_3 et R_4 représentent indépendamment l'un de l'autre:

- un hydrogène
- un groupement phényle ou benzyle, éventuellement substitué sur le noyau phényle par :
 - * 1 à 5 atomes d'halogènes notamment le fluor ou le brome.
 - 20 * un radical OH, SH, OR'' ou SR'', R'' ayant la même définition que précédemment.

* un groupement amino éventuellement mono- ou di-substitué par un groupement aliphatique, cyclique ou linéaire, de 1 à 6 atomes de carbone.

* un groupement trifluorométhyle

25 * un groupement aromatique ou hétéroaromatique à 5 ou 6 atomes

– un groupement hétéroaromatique à 5 ou 6 atomes, contenant 1 ou 2 hétéroatome(s) pris parmi l'oxygène, l'azote ou le soufre, les atomes de soufre et d'azote pouvant être oxydés sous forme de S-oxyde ou de N-oxyde.

- un méthylène substitué par un hétérocycle à 5 ou 6 atomes, aromatique ou
- 30 saturé, l'hétéroatome étant un oxygène, un azote ou un soufre, les atomes d'azote et de soufre pouvant être oxydés sous forme N-oxyde ou de S-oxyde.

R_3 et R_4 ne représentent pas simultanément un atome d'hydrogène

R_5 et R_6 représentent indépendamment l'un de l'autre

- un atome d'hydrogène

- une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée de 1 à 6 atomes de carbone

R₇ représente

- un hydrogène
- 5 - un radical CH₂COOR''' ou CH(CH₃)COOR''', R''' représentant
 - *une chaîne hydrocarbonée saturée de 1 à 6 atomes de carbone, éventuellement substituée par un groupement alkoxy de C₁ à C₃,
 - *un groupement cycloalkyle de C₅ à C₈
 - *un groupement phényle, benzyle, hétéroaromatique ou alkyl
- 10 hétéroaromatique.
- un groupement CH(R)O-C(O)OR' ou CH(R)OC(O)R' dans lesquels R et R' ont les mêmes définitions que précédemment ;
- ou un sel pharmaceutiquement acceptable de ces composés pour leur utilisation dans le traitement et/ou la prévention des douleurs oculaires.

15

2. Composé pour son utilisation selon la revendication 1, pour prévenir ou soulager une douleur oculaire, en particulier le syndrome de l'œil sec.

20

3. Composé pour son utilisation selon la revendication 1 ou 2, pour prévenir ou traiter les douleurs neuropathiques de la cornée, en particulier l'hyperalgésie neuropathique.

4. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que R₁ représente un groupement (acyloxy)alkyl carbamate -C(=O)-O-C(R)(R')-OC(=O)-R''.

25

5. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que R₁ représente un groupement -C(=O)-O-CHMe-OC(=O)-CHMe₂.

30

6. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que R₃ représente un atome d'hydrogène.

7. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que R₄ représente groupe benzyle éventuellement substitué par 1 à 5 atome(s) d'halogène tel(s) que le fluor ou le brome, un phényle ou un groupement hétéroaromatique à 5 ou 6 chaînons.

5

8. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que R₅ représente un atome d'hydrogène.

9. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que R₆ représente un groupement alkyle tel qu'un groupement méthyle.

10

10. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que R₇ représente un atome d'hydrogène.

15

11. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les composés suivants :

20

Ester benzylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

25

Ester éthylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Ester éthoxycarbonyloxy de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

30

Ester benzylique de l'acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(1-isobutyryloxy-éthoxycarbonylamino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

5 Ester benzylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

10 Ester éthylique de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(1amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Ester éthoxycarbonyloxy de l'acide 2-(2-Biphényl-4-ylméthyl-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

15

Ester benzylique de l'acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

20 Acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

Ester éthylique de l'acide 2-(2-(4-Bromo-benzyl)-3-{hydroxy-[1-(amino)-éthyl]-phosphinoyl}-propionylamino)-propionique

25 12. Composé pour son utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, formulé sous la forme d'une composition ophtalmique, en particulier de collyres, pommades ophtalmiques, gels ophtalmiques, ou inserts ophtalmiques.

30 13. Composé pour son utilisation selon la revendication 12, caractérisé en ce que la composition ophtalmique comprend de 0,01% à 3% en poids par volume dudit composé de formule (I), avantageusement de 0,1% à 1% en poids par volume.

14. Composé pour son utilisation selon la revendication 12 ou 13, caractérisé en ce que la composition ophtalmique est une solution aqueuse, ayant avantageusement un pH allant de 5,5 à 8.
- 5 15. Composé pour son utilisation selon la revendication 12 à 14, caractérisé en ce que la composition ophtalmique comprend en outre cyclodextrine, telle que l'hydroxypropyl béta-cyclodextrine ou bien encore la sulfobutyl ether béta-cyclodextrine, ou du sodium de polystyrène sulfonate.

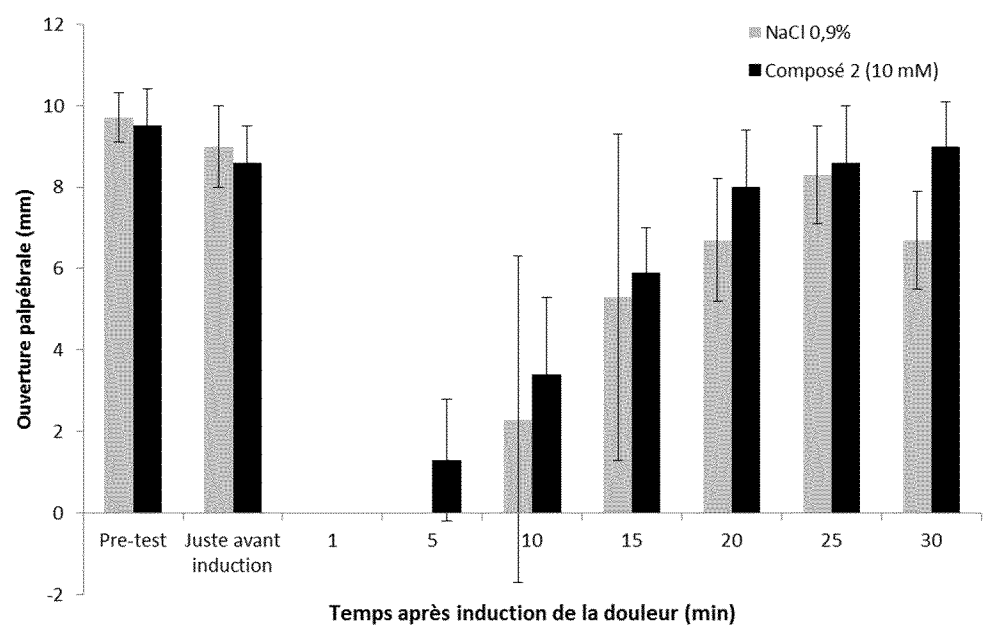


Fig. 1

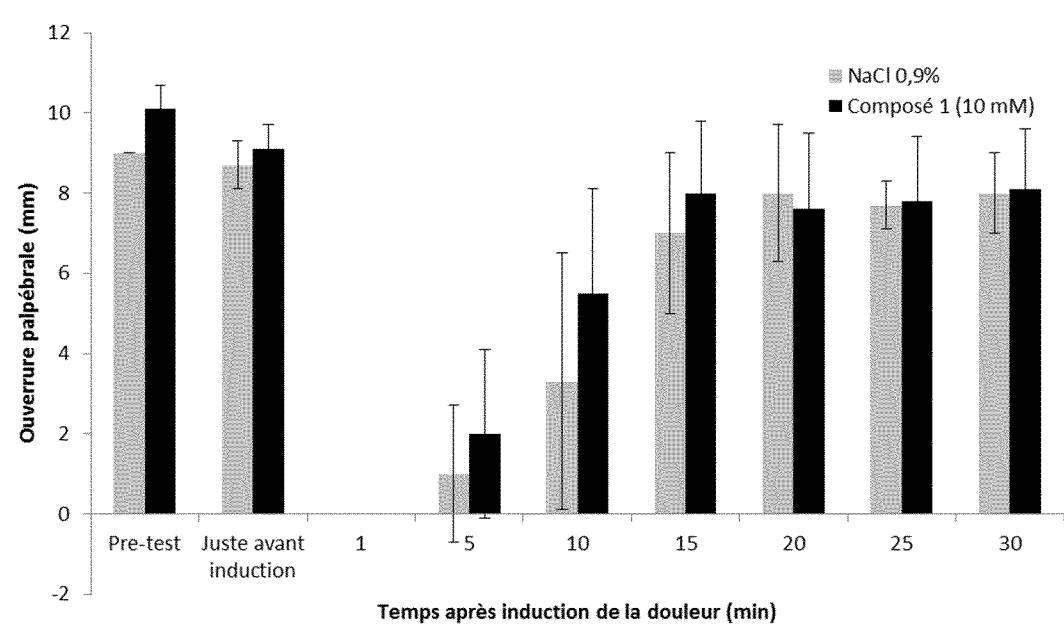


Fig. 2

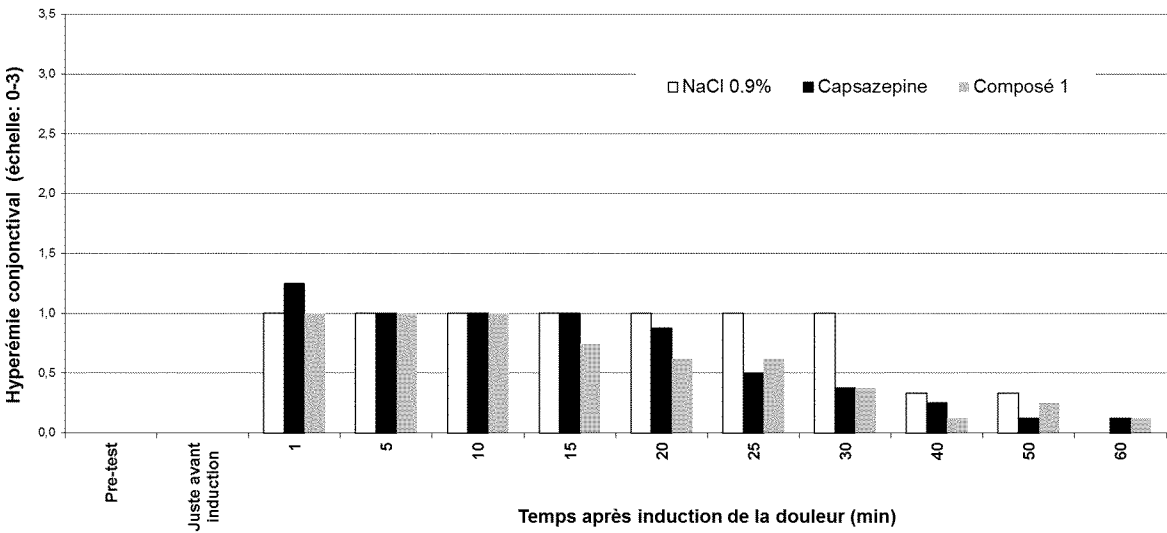


Fig. 3

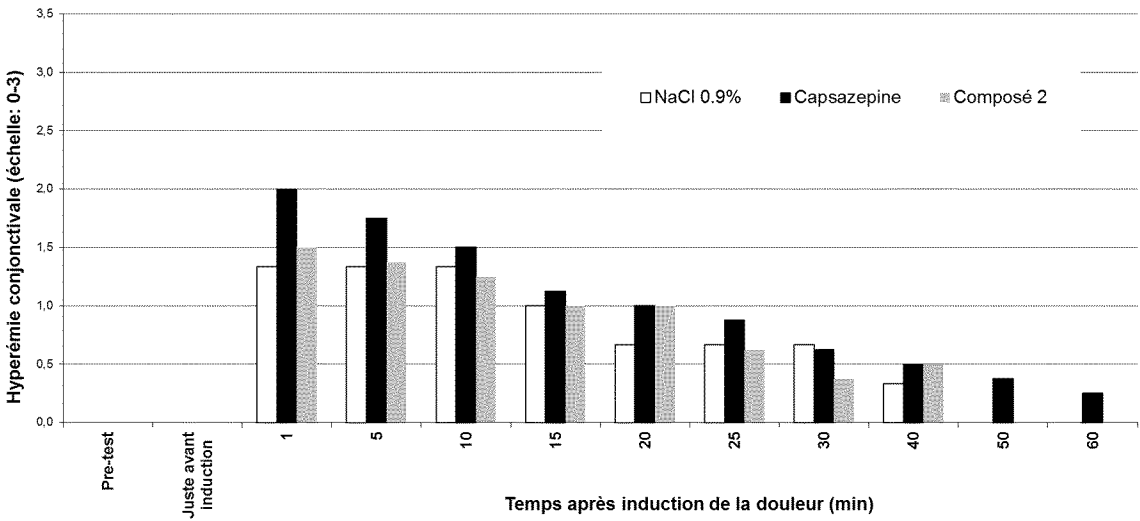


Fig. 4

3/4

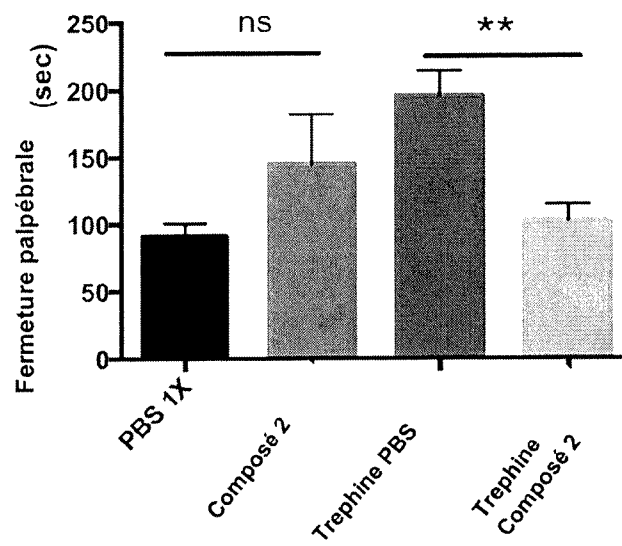


Fig. 5

Filaments de Von Frey J5

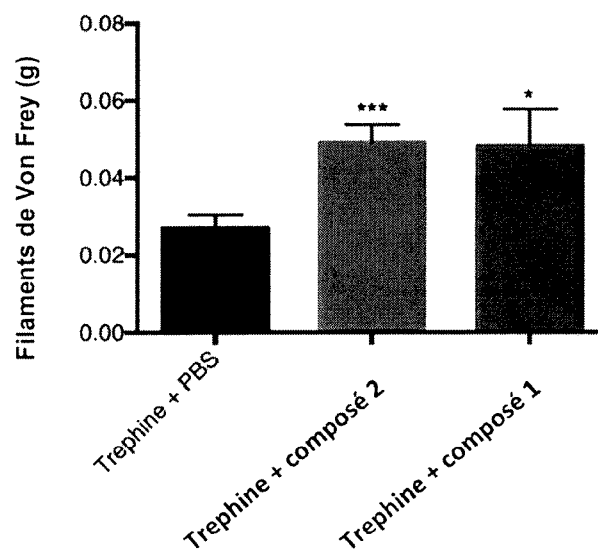


Fig. 6

4/4

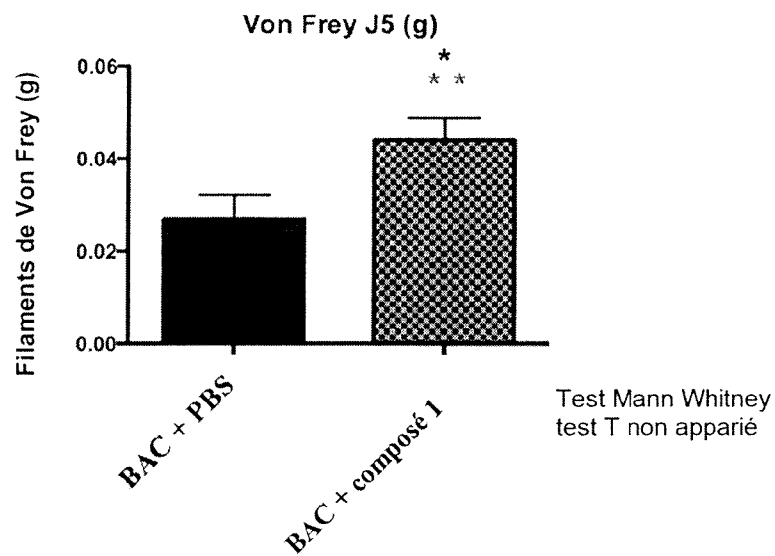


Fig. 7

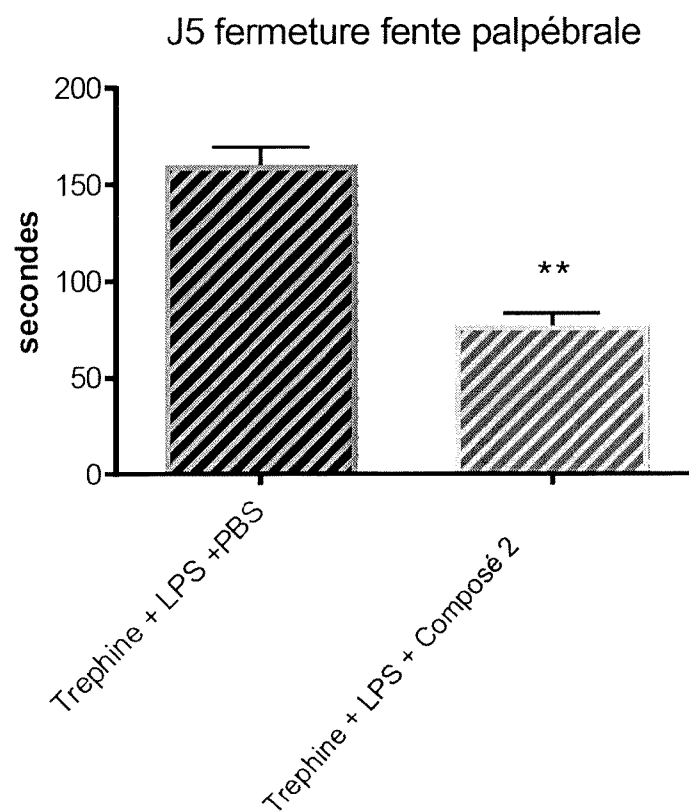


Fig. 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/079285

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/662 A61P27/02 A61K9/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ROQUES ET AL.: "INHIBITING THE BREAKDOWN OF ENDOGENOUS OPIOIDS AND CANNABINOIDS TO ALLEVIATE PAIN", NATURE REVIEW DRUG DISCOVERY, vol. 11, April 2012 (2012-04), pages 292-310, XP002759357, page 299; figure 3; compounds PL254, PL265 page 306, column G., line 1 ----- -/--	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 February 2017

Date of mailing of the international search report

24/02/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Trifilieff-Riolo, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/079285

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ANONYMOUS: "PHARMALEADS ANNOUNCES PROMISING PHASE I RESULTS OF PL-37", 29 November 2011 (2011-11-29), XP002759358, Retrieved from the Internet: URL:https://integrity.thomson-pharma.com/i ntegrity/xmlxsl/pk_ref_list.xml_related_re f_to?p_id=753516&p_origen=PRO&p_tsearch=#l ink [retrieved on 2016-07-28] the whole document -----</p>	1-15

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2016/079285

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61K31/662 A61P27/02 A61K9/00 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	ROQUES ET AL.: "INHIBITING THE BREAKDOWN OF ENDOGENOUS OPIOIDS AND CANNABINOIDS TO ALLEVIATE PAIN", NATURE REVIEW DRUG DISCOVERY, vol. 11, avril 2012 (2012-04), pages 292-310, XP002759357, page 299; figure 3; composés PL254, PL265 page 306, colonne G., ligne 1 ----- -/--	1-15
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents </div> <div> <input type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div> </div>		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée	"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets	
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
14 février 2017	24/02/2017	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Trifilieff-Riolo, S

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>ANONYMOUS: "PHARMALEADS ANNOUNCES PROMISING PHASE I RESULTS OF PL-37", , 29 novembre 2011 (2011-11-29), XP002759358, Extrait de l'Internet: URL:https://integrity.thomson-pharma.com/integrity/xmlxsl/pk_ref_list.xml_related_ref_to?p_id=753516&p_origen=PRO&p_tsearch=#link [extrait le 2016-07-28] le document en entier -----</p>	1-15