RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication : **2 465 484**
(A n'utiliser que pour les commandes de reproduction).

A1

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

(21) **N° 79 23590**

(54) **Extrait végétal à propriétés antidiabétiques et son procédé de préparation.**

(51) Classification internationale (Int. Cl. ³). **A 61 K 35/78.**

(22) Date de dépôt..... 21 septembre 1979.
(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 13 du 27-3-1981.

(71) Déposant : RATSIMAMANGA Suzanne, née URWERG, résidant en France.

(72) Invention de : Suzanne Ratsimamanga.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Lavoix,
2, place d'Estienne-d'Orves, 75441 Paris Cedex 09.

La présente invention a pour objet un médicament actif sur le métabolisme glucidique et lipidique, se traduisant notamment par une activité antidiabétique et hypolipémiante et ayant également une activité contre la cataracte, contenant comme principe actif, un nouveau complexe mixte polyphénolique et stérolique extrait des graines et écorces de Eugenia Jambolana Lamarck et d'autres variétés voisines de Eugenia, ainsi que de l'écorce interne (cambium) de Anacardium Occidentale L.

Eugenia Jambolana Lamarck est un arbre appartenant à la famille des myrtacées. Il est également désigné sous les noms suivants : Eugenia Jambolanum, Myrtus Cuminis Linné, Syzygium Jambolanum de Candolle, Eugenia Cumini Bruce, Syzygium Cumini Skeels, Jambolan.

A Madagascar, son nom vernaculaire est Rotra ou Rotravazaha.

Les autres variétés de Eugenia utilisables sont : Eugenia Parkeri Bak., Eugenia Hovarum H. Perrier, Eugenia Condensata Bak., Eugenia Emirnensis Bak., Eugenia Coursiana H. Perrier, Eugenia Danguyana H. Perrier variété Rotranala H. Perrier, Eugenia Sakalavorum H. Perrier.

Anacardium Occidentale L. est un arbre appartenant à la famille des anacardiacées, tribu des mangiférées.

A Madagascar, son nom vernaculaire est Mahabibo.

La connaissance empirique de l'utilisation des graines brutes broyées ou sous forme d'infusion de Eugenia Jambolana Lamarck dans le traitement des symptômes se rapportant au diabète, notamment la polyurie et la polydipsie, est ancienne, mais aucun produit actif dépourvu de toxicité n'a jamais été commercialisé.

Des auteurs qui ont tenté de montrer le pouvoir hypoglycémiant ou antidiabétique de différents organes de Eugenia Jambolana Lamarck n'ont jamais décrit le mode de préparation et les caractéristiques des principes actifs

qu'ils ont utilisés.

La présente invention a pour but de fournir un nouveau médicament à base d'un complexe mixte polyphénolique et stérolique contenant toute l'activité antidiabétique mais exempt des molécules toxiques de l'extrait brut, responsables de troubles du transit intestinal et de manifestations inflammatoires au niveau du tube digestif et d'hyperglycémie transitoire.

Ce nouveau médicament possède d'importantes propriétés antidiabétiques résultant à la fois de ses propriétés hypoglycémiante, hypolipémiante, amaigrissante et anorexigène et une activité contre la cataracte.

Le médicament suivant l'invention est remarquable notamment en ce qu'il contient à titre de principe actif un complexe mixte polyphénolique et stérolique extrait soit des graines et des écorces provenant des branches, du tronc et des racines de Eugenia Jambolana Lamarck et des autres variétés de Eugenia énumérées ci-dessus, soit de l'écorce interne (cambium) de Anacardium Occidentale L.

L'extrait végétal selon l'invention est caractérisé en ce qu'il contient un complexe mixte polyphénolique et stérolique préparé à partir de graines ou d'écorces de Eugenia Jambolana Lamarck ou d'autres variétés voisines de Eugenia, ou d'écorce interne (cambium) de Anarcadium Occidentale L, par traitement à l'eau, sous chauffage de la matière de départ broyée, afin d'éliminer les fractions hydrosolubles indésirables, filtration de la suspension obtenue, puis extraction du gâteau de filtration à l'aide d'un solvant organique tout d'abord à froid puis sous chauffage, filtration de l'insoluble et évaporation à sec du solvant organique pour obtenir l'extrait contenant le complexe mixte polyphénolique et stérolique.

L'extraction des molécules agissant synergique-

quement dans le traitement du diabète est réalisée en deux étapes essentielles successives : d'une part, élimination par extraction à l'eau et sous chauffage des molécules à caractère fortement polaire grâce à leur hydrosolubilité, d'autre part, reprise de la partie insoluble restant au moyen d'un solvant organique autorisant un large regroupement des molécules de polarité différente, notamment un alcanol inférieur tel que l'éthanol.

La préparation du principe actif du médicament de l'invention est réalisée selon le protocole suivant : les divers organes de la plante, graines et écorces sont déshydratés à 95 % par passage d'air chaud pulsé (température maximale 60°C) et conservés en containers étanches à l'abri de la lumière, ils sont broyés avant préparation et tamisés à 160 (selon la norme NF x 11 - 501).

L'extraction première est réalisée par l'eau distillée. 100 kg de poudre sont extraits par 300 litres d'eau portés à 80°C en trente minutes. Cette température étant atteinte, sans cesser d'agiter, on procède au refroidissement de la suspension à la température de 20 à 25°C (maximum). On procède alors à une filtration rapide suivie d'un pressage modéré du marc. On procède ensuite à l'extraction des molécules constituant l'extrait antidiabétique. Le gâteau de filtration issu du traitement précédent, pesant de 110 à 115 kg, est mis à macérer 48 heures à température ambiante dans 200 litres d'alcool éthylique à 95° G.L. L'alcool est chauffé en fin de macération, puis maintenu à ébullition 60 minutes. On effectue ensuite une filtration à chaud puis un pressage de l'insoluble. La solution obtenue est évaporée à sec sous pression réduite à température inférieure à 55°C pour obtenir l'extrait cherché.

Le rendement d'obtention de l'extrait sec est de 8 à 9,5 % par rapport au produit de départ sec et broyé et constitue la fraction active dans le traitement du diabète.

Le principe actif du médicament se présente sous forme d'une poudre de couleur brun-rouge, de saveur astringente, d'odeur légèrement aromatique. La solubilité du principe actif à 20° C est de 63 à 70 % dans l'eau, 36 à 42 % dans l'alcool, inférieure à 0,1 % dans le chloroforme. Le pH de 1 g d'extrait dilué dans 20 ml d'eau distillée est compris entre 3,5 et 4,5.

ETUDE CHROMATOGRAPHIQUE DU COMPLEXE DIABETIQUE

Le complexe mis au point se compose d'un ensemble de molécules agissant en synergie et constitué pour l'essentiel de corps appartenant principalement aux groupes des stérols et des polyphénols.

1 - Le complexe total est chromatographié sur couche mince de polyamide au moyen d'éluants ternaires tels que butanol/acide acétique/eau.

Dans le système 30/55/15, sont élués principalement les composés phénoliques : aglycones et hétérosides. Le complexe est ainsi identifié par des molécules simultanément révélables au moyen de plusieurs réactifs de caractérisation tels que le sel de bleu acide B en milieu OH^-, MnO_4K en milieu OH^-, Cl_2Fe. Leurs Rf sont respectivement de 0,22 - 0,35 - 0,54 - 0,88 - 0,96. L'hydrolyse de la fraction polaire isolée, effectuée au moyen de HCl, donne les Rf de 0,22 - 0,35 - 0,54 - 0,73. Le Rf 0,54 sert de référence et est identifié à l'acide gallique.

2 - Les molécules entrant dans la composition du complexe étant de polarités différentes, on procède à l'extraction hexanique des stérols, avant séparation chromatographique sur couche mince de silice G.

Les réactifs orthophosphorique et phosphomolybdique , le réactif para-toluène sulfonique, le T.T.C., le réactif de Millon modifié, le chlorure de benzoyle permettent la caractérisation de 5 molécules principales ayant pour Rf : 0,37 - 0,39 - 0,53 - 0,86.

Le sitostérol de Rf 0,53 est considéré comme molécule de référence.

SPECTROMETRIE U.V.

λ max. = 277,5 mμ $\quad E^{0,10\ g/l}_{1\ cm} = 1,012$ (méthanol)

λ max. = 226 mμ $\quad E^{0,10\ g/l}_{1\ cm} = 0,801$ (méthanol)

Le médicament de l'invention est habituellement présenté pour l'administration par voie orale sous forme de doses unitaires de poudre d'extrait antidiabétique, chaque dose étant ensachée dans un sachet étanche et scellé.

En raison de sa très faible toxicité, les doses journalières administrées pourront varier selon les cas cliniques traités de 1 g à 6 g d'extrait antidiabétique par jour.

Les doses unitaires de poudre d'extrait antidiabétique sont présentées sous forme de sachets individuels contenant de 0,5 à 3 g et en particulier 1 ou 2 g d'extrait.

D'autres formes pharmaceutiques du médicament telles que comprimés, comprimés dragéifiés, cachets, gelules , soluté buvable, peuvent être réalisées. La préparation de ces formulations est effectuée de manière classique pour la fabrication de ces formes pharmaceutiques.

Le principe actif du médicament de l'invention possède de remarquables propriétés antidiabétiques, hypolipémiantes et réductrices de l'excès pondéral , des propriétés anorexigènes et contre la cataracte mises en évidence par les résultats des essais pharmacologiques et cliniques donnés ci-dessous après les résultats des essais toxicologiques.

A - ETUDE TOXICOLOGIQUE

Cette étude a porté sur la toxicité aigüe, la toxicité chronique, la toxicité retardée, la tolérance générale.

Les essais effectués sur les souris, les rats

et les lapins ont permis de constater que le médicament de l'invention administré aussi bien par voie buccale qu'intrapéritonéale ne présente aucun effet toxique et qu'il est parfaitement toléré.

La DL_{50} pour la voie orale chez la souris est, à titre indicatif, de 5,5 g/kg de poids corporel.

B - ETUDE PHARMACOLOGIQUE

1 - L'action hypoglycémiante

Elle a été montrée par l'action de l'extrait antidiabétique sur l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale du lapin normal.

Le lapin est mis en surcharge glucidique par une dose de 1 g/kg de poids corporel de glucose et reçoit simultanément l'extrait antidiabétique. Les glycémies sont mesurées toutes les trente minutes pendant deux heures.

On constate dans ces conditions expérimentales une baisse de 20 % de la glycémie aux temps 60, 90 et 120 minutes de l'épreuve.

2 - Absence d'action sur la glycémie de base de l'animal normal

L'extrait antidiabétique administré pendant une période prolongée chez le rat normal n'apporte aucune modification de la glycémie de base.

3 - L'action antidiabétique

Elle a été mise en évidence dans le cas de diabètes expérimentaux et dans le cas de diabètes spontanés. Les diabètes expérimentaux ont été déterminés par l'alloxane chez le rat et la souris.

Le médicament de l'invention administré quotidiennement à des rats ou à des souris rendus diabétiques par l'alloxane détermine une importante baisse de la glycémie pouvant même selon les doses utilisées ramener la glycémie à des chiffres normaux après deux mois de traitement.

Il y a également une disparition de la glycosu-

rie et une diminution de la mortalité.

Les diabètes spontanés sont celui du psammomys obesus ou rat de désert et celui de la souris obèse et diabétique (db^+).

Chez le psammomys obesus rongeur des régions sub-désertiques devenant diabétique dès qu'il est soustrait à son biotope naturel, l'administration de l'extrait antidiabétique à titre préventif empêche l'apparition des signes de diabète; la glycémie reste normale, la glycosurie n'apparaît pas. Donné à titre curatif après deux mois d'évolution du diabète, il détermine un retour de la glycémie aux alentours de la normale avec disparition de la glycosurie. Dans les deux cas, il permet une longévité normale et la reproduction des animaux.

Chez la souris obèse et diabétique (db^+) le médicament de l'invention donné pendant près de deux mois abaisse d'une manière importante la glycémie et fait disparaître la glycosurie.

4 - <u>Effets sur la polyurie, la polydipsie et la polyphagie</u>

Chez les animaux diabétiques (diabète expérimental ou spontané) il a été observé lors de l'ensemble des expériences une diminution de la polydipsie, de la polyurie et de la polyphagie.

5 - <u>Effet anorexigène</u>

L'extrait antidiabétique exerce chez le rat normal un pouvoir anorexigène important équivalent à celui du tartrate de D-amphétamine lorsqu'il est administré par voie intrapéritonéale. Par voie buccale, l'effet anorexigène ne peut être observé qu'à doses élevées.

6 - <u>Action sur la cataracte du psammomys</u> (rat du désert)

L'administration préventive ou après deux mois d'évolution du diabète, de l'extrait antidiabétique, permet de constater l'absence d'apparition ou une régression progressive de la cataracte du psammomys obesus. Il ne semble pas

que d'autres thérapeutiques anti-diabétiques exercent cette activité sur la cataracte qui apparaît donc tout-à-fait originale.

7 - Action sur la réduction du poids

L'extrait antidiabétique détermine une réduction du poids aussi bien chez la souris obèse et diabétique que chez son témoin hétérozygote normal. On observe dans les deux cas une diminution de la prise alimentaire.

8 - Recherche d'effets secondaires

Il n'a pas été mis en évidence d'effet secondaire du produit notamment sur le transit intestinal, le système cardiovasculaire et la pression artérielle, la diurèse et l'élimination des électrolytes de l'animal normal.

Les résultats de ces essais montrent que le médicament de l'invention :

a - possède des propriétés antidiabétiques remarquables sans exercer d'effet hypoglycémiant sur la glycémie de base du sujet normal,

b - est susceptible de corriger les hyperlipémies, de réduire les surcharges pondérales et d'exercer un effet anorexigène,

c - exerce une activité tout-à-fait originale de régression ou de prévention de la cataracte.

L'étude précédente a mis en évidence les propriétés pharmacologiques du médicament de l'invention qui, dépourvu d'actions secondaires venant diminuer son efficacité, peut être avantageusement utilisé en thérapeutique humaine, comme le démontre l'étude clinique suivante.

C - ETUDE CLINIQUE

Administré à des malades diabétiques, le médicament de l'invention s'est montré d'une efficacité remarquable. Son action thérapeutique a été jugée sur la régression des signes cliniques du diabète et l'amélioration des constantes biologiques.

Administré à des malades présentant une hyperlipémie ou un état de surcharge pondérale, l'efficacité a été très bonne également.

Observation n° 1

Mme RAS..., 49 ans, présente un diabète pléthorique jamais traité, avec polydypsie, polyurie, polyphagie, asthénie, somnolence, obésité : 71 kg pour une taille de 1 m 54. Glycémie 2,23 g/l, glycosurie 32 g/l, cholestérolémie 3,07 g/l.

Après 30 semaines de traitement par 3 sachets de 1 g de principe actif par jour, associé à un régime hypoglucidique modéré, on assiste à une régression des signes cliniques. Glycémie 0,96 g/l, glycosurie négative, cholestérolémie 2,07 g/l, poids 63 kg (perte de 8 kg). Tolérance excellente.

Observation n° 2

Mr RAM..., 66 ans, diabétique depuis 11 ans, a été traité à plusieurs reprises par l'insuline et divers antidiabatiques oraux. Le traitement est abandonné depuis six mois. Il existe une aggravation des symptômes du diabète, notamment de l'asthénie et surtout il existe une cataracté diabétique bilatérale incomplète. Glycémie 1,92 g/l, glycosurie 20 g/l, présence de corps cétoniques dans les urines, cholestérolémie 3,10 g/l.

Après un traitement de 30 semaines par 3 sachets de 1 g par jour associé à une restriction glucidique modérée, il y a amélioration des signes cliniques et de l'état général. Glycémie 0,93 g/l, glycosurie négative, disparition de la cétonurie, cholestérolémie 2,18 g/l, mais ce qui est particulièrement remarquable c'est la régression de la cataracte constatée par l'amélioration de l'état visuel du malade et les examens ophtalmomogiques. Tolérance excellente.

Observation n° 3

Mme RASOE..., 53 ans, présente un diabète pléthorique, découvert 6 mois auparavant, jamais traité. Elle se plaint d'asthénie, polydypsie, polyurie, polyphagie; il existe une obésité, 66 kg pour une taille de 1 m 51. Glycémie 1,70 g/l, glycosurie 15 g/l, cholestérolémie 3,27 g/l.

Après 13 semaines de traitement par 3 sachets de 1 g par jour, sans régime associé (le régime est refusé par la malade), on assiste à une régression des signes cliniques notamment de l'asthénie. Glycémie 0,97 g/l, glycosurie négative, cholestérolémie 2,42 g/l, poids 61 kg (perte de 5 kg). Tolérance excellente.

Observation n° 4

Mr. AND..., 52 ans, est diabétique depuis 2 ans 1/2. Il a été traité par un antidiabétique oral qui a été abandonné depuis un an. Il existe une aggravation des symptômes. Le malade se plaint d'une grande asthénie avec impuissance sexuelle. Glycémie 1,60 g/l, glycosurie 26 g/l, présence de corps cétoniques dans les urines.

Après 9 semaines de traitement par 3 sachets de 1 g par jour, associé à une restriction glucidique modérée, on assiste à une amélioration de l'état général avec reprise d'une certaine activité sexuelle. Glycémie 0,98 g/l, glycosurie négative, cétonurie négative. Tolérance excellente.

Observation n° 5

Mme RAL..., 40 ans, présente un diabète depuis 6 ans traité par l'insuline pendant quelques mois, puis par des antidiabétiques oraux pendant un an. La malade se plaint de polyurie, polydypsie, asthénie. Glycémie 1,46 g/l, glycosurie 14 g/l, cholestérolémie 4,32 g/l.

Après 10 semaines de traitement par 3 sachets de 1 g par jour associé à un régime hypoglucidique modéré, on assiste à une regression des signes cliniques notamment de l'asthénie. Glycémie 0,99 g/l, glycosurie négative, cholestérolémie 2,70 g/l. Tolérance excellente.

Observation n° 6

Mr. RALI..., 40 ans, présente un diabète depuis 3 ans stabilisé par le N.N. diméthyl biguanide. La glycémie est de 1 g/l. On substitue au N.N. diméthyl biguanide le médicament de l'invention à la dose de 2 sachets de 1 g par jour. Après 7 semaines de traitement, la glycémie n'a pas varié, elle est de 0,98 g/l. Tolérance excellente.

Observation n° 7

Mr. RAV..., 56 ans, présente un diabète depuis 8 ans traité par l'insuline puis par le chlorpropamide qui stabilise la glycosurie à 1,12 g/l. On substitue au chlorpropamide le médicament de l'invention à la dose de 3 sachets de 1 g par jour. Après 4 semaines de traitement, la glycémie n'a pas varié, elle est de 1,05 g/l. Tolérance excellente.

Observation n° 8

Mme TAR..., 21 ans, présente un diabète insulino-dépendant traité par l'insuline depuis de nombreuses années à la dose de 45 unités par jour. L'addition progressive du médicament de l'invention à l'insuline à raison de 3 sachets de 1 g par jour permet de réduire à 25 unités la dose d'insuline. Tolérance excellente.

Observation n° 9

Mme MAN..., 57 ans, présente une surcharge pondérale importante avec hyperlipémie et hyperphagie. Son poids est de 87 kg pour une taille de 1 m 59. Cholestérolémie 3,40 g/l, triglycéridémie 1,96 g/l. Après 14 semaines de traitement à raison de 3 sachets de 1 g par jour, on assiste à une diminution de poids de 11 kg, à une baisse de la cholestérolémie 2,61 g/l et de la triglycéridémie 1,27 g/l. Tolérance excellente. La malade constate un effet anorexigène du produit.

Observation n° 10

Mme RAVE..., 49 ans, présente une surcharge pondérale avec hyperlipémie et hyperphagie. Son poids est de 74 kg pour

une taille de 1 m 54. Cholestérolémie 3,15 g/l. Triglycéridémie 1,76 g/l. Après 10 semaines de traitement à raison de 3 sachets de 1 g par jour, il y a une diminution de poids de 7 kg, une baisse de la cholestérolémie 2,54 g/l et de la triglycéridémie 1,15 g/l. Tolérance excellente. La malade constate un effet anorexigène du produit.

Les résultats de l'étude clinique montrent que:

1. Le médicament de l'invention est bien toléré sur le plan clinique.

2. La tolérance biologique est satisfaisante : le produit n'a aucun retentissement hématologique, rénal ou hépatique décelable.

3. Le produit abaisse la glycémie chez le sujet diabétique sans cependant exposer le malade à un risque d'hypoglycémie lorsqu'il est utilisé comme seul traitement du diabète. C'est un antidiabétique vrai.

4. L'efficacité clinique est excellente dans le traitement du diabète non insulino-dépendant de l'adulte et du vieillard (diabète de l'obèse, diabète de la cinquantaine, diabète pléthorique); en complément de l'insulinothérapie dans le diabète insulino-traité, le diabète instable, le diabète insulinorésistant.

Le produit est également efficace dans le traitement des surcharges pondérales, dans le traitement des hyperlipémies (hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie); il exerce un effet anorexigène dans les cas d'hyperphagie avec surcharge pondérale.

Enfin, il s'est montré efficace dans le traitement de la cataracte notamment de la cataracte diabétique. Cette dernière activité est tout-à-fait originale du médicament de l'invention.

REVENDICATIONS

1. Extrait végétal, caractérisé en ce qu'il contient un complexe mixte polyphénolique et stérolique préparé à partir de graines ou d'écorces de Eugenia Jambolana Lamarck ou d'autres variétés voisines de Eugenia ou d'écorce interne (cambium) de Anacardium Occidentale L, par traitement à l'eau sous chauffage de la matière de départ broyée afin d'éliminer les fractions hydrosolubles indésirables, filtration de la suspension obtenue, puis extraction du gâteau de filtration à l'aide d'un solvant organique tout d'abord à froid puis sous chauffage, filtration de l'insoluble et évaporation à sec du solvant organique pour obtenir l'extrait contenant le complexe mixte polyphénolique et stérolique.

2. Extrait végétal selon la revendication 1, caractérisé en ce que le solvant organique est un alcanol inférieur, notamment l'éthanol.

3. Extrait végétal selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il présente deux absorptions caractéristiques dans l'ultra-violet à 277,5 et 226 mμ ($E_{1\ cm}^{0,1°/oo}$ = 1,012 et 0,801 respectivement), des Rf caractéristiques à la chromatographie en couche mince de polyamide avec éluant ternaire butanol/acide acétique/eau (30/55/15) de 0,22, 0,35, 0,54, 0,88 et 0,96.

4. Médicament ayant notamment des activités antidiabétique, hypoglycémiante, hypolipémiante, amaigrissante, anorexigène et contre la cataracte, caractérisé en ce qu'il contient à titre de principe actif un extrait végétal selon la revendication 1.

5. Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est présenté sous une forme appropriée à l'administration orale, le principe actif étant éventuellement associé à des excipients pharmaceutiques.

6. Médicament selon la revendication 4 ou 5, caractérisé en ce qu'il est présenté sous forme de doses unitaires contenant de 0,5 à 3 g de principe actif.