

(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
13 juillet 2006 (13.07.2006)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2006/072639 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 38/13 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2006/050140

(22) Date de dépôt international :
10 janvier 2006 (10.01.2006)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
05000357.3 10 janvier 2005 (10.01.2005) EP

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **DEBIO-
PHARM S.A.** [CH/CH]; Ch. Messidor 5-7, CH-1006 Lau-
sanne (CH).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **SCAL-
FARO, Pietro** [CH/CH]; 24, Av. Montagibert, CH-1005

Lausanne (CH). **DUMONT, Jean-maurice** [CH/CH]; Ch.
De Pierraz-portay 20, CH-1009 Pully (CH). **VUAGNI-
AUX, Grégoire** [CH/CH]; 8, Rue Orient-ville, CH-1005
Lausanne (CH).

(74) Mandataire : **GROSFILLIER, Philippe**; c/o Andre
Roland S.A., Avenue Tissot 15 Case Postale 1255,
CH-1001 Lausanne (CH).

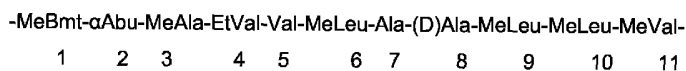
(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KM, KN, KP, KR, KZ, LC, 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,

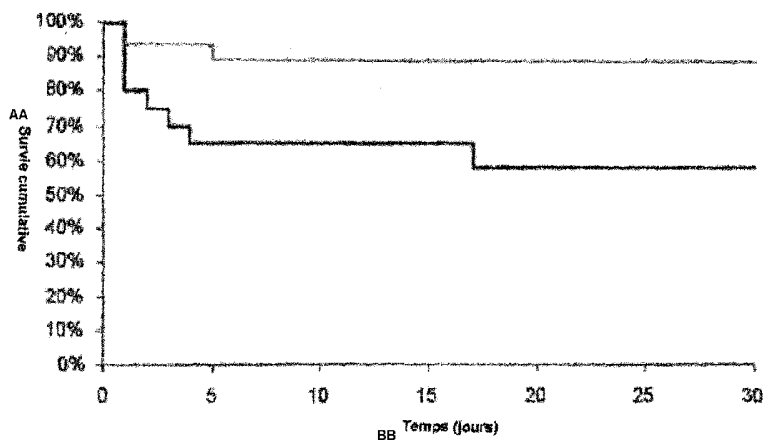
[Suite sur la page suivante]

(54) Title: USE OF A CYCLIC UNDECAPEPTIDE FOR THE PREPARATION OF A MEDICAMENT FOR ADMINISTRA-
TION DURING MYOCARDIAL ISCHAEMIC EVENTS

(54) Titre : UTILISATION D'UN UNDECAPEPTIDE CYCLIQUE POUR LA PREPARATION D'UN MÉDICAMENT ADMI-
NISTRABLE LORS DE SITUATIONS ISCHEMIQUES MYOCARDIQUES



(I)



AA... CUMULATIVE SURVIVAL
BB... TIME (DAYS)

(57) Abstract: The invention relates to the use of a cyclic undecapeptide, with the structure in formula (I), for the preparation of a
medicament for administration during a myocardial ischaemic event.

[Suite sur la page suivante]

WO 2006/072639 A1



GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (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 :

— avec rapport de recherche internationale

— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

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.

Utilisation d'un undécapeptide cyclique pour la préparation d'un médicament administrable lors de situations ischémiques myocardiques

La présente invention concerne l'utilisation d'un undécapeptide cyclique
5 pour la préparation d'un médicament administrable lors d'une situation d'ischémie myocardique.

Les ischémies myocardiques sont définies comme un déséquilibre entre
besoins et apports en oxygène. Ce déséquilibre conduit à un désordre de la
10 fonction cardiaque. Les ischémies myocardiques sont, dans la grande majorité des cas, causées par une insuffisance de la circulation sanguine vers le tissu musculaire cardiaque, privant ou diminuant drastiquement ainsi les cellules myocardiques en apport d'oxygène. Ces ischémies peuvent être dues à l'obstruction d'un vaisseau (thrombose) ou à la réduction du diamètre interne d'une
15 artère (sténose) ou à une diminution du flux sanguin coronarien (hypoperfusion) tel que dans les états d'insuffisance circulatoire lors d'un sepsis sévère avec choc endotoxinémique. En ce qui concerne le sepsis sévère, il entraîne également un dysfonctionnement hémodynamique avec une dépression myocardique directe.

20 La reperfusion se définit comme le rétablissement d'une circulation sanguine adéquate au sein d'un tissu ischémique permettant d'atteindre à nouveau l'équilibre entre besoins et apports en oxygène. La reperfusion lors d'interruption complète du flux sanguin coronarien est effectuée par désobstruction de l'artère occluse.

25

Les infarctus sont consécutifs à des ischémies. Le terme d'infarctus définit un foyer circonscrit de nécrose tissulaire. Ainsi, l'infarctus du myocarde entraîne la destruction d'une partie du cœur du fait de la mort des cellules du muscle cardiaque.

30

L'infarctus du myocarde est une maladie malheureusement très fréquente. A titre d'exemple, en France, environ 180'000 à 200'000 personnes par an sont affectés par cette maladie prédominante chez l'homme. Elle apparaît, en priorité, chez les sujets ayant des facteurs de risques cardiovasculaires tels que la

consommation de tabac, l'obésité, un diabète, l'hyperlipidémie ou une hypertension artérielle.

5 Lors de sepsis sévère une hypoperfusion myocardique est accompagnée d'une dépression myocardique directe. A l'heure actuelle, il n'est pas clair quel mécanisme est prédominant (hypoperfusion ou dépression myocardique par des cytokines circulants) conduisant à une diminution de la fonction du myocarde. Néanmoins, il est bien connu que le patient avec sepsis sévère souffre souvent d'une défaillance cardiovasculaire avec dysfonctionnement myocardique.

10

L'infarctus aigu du myocarde ("Acute Myocardial Infarction", "AMI") constitue une urgence cardiologique absolue qui implique une prise en charge par des services médicaux et hospitaliers spécialisés avec un traitement de la phase aiguë ayant pour but de reperfusionner le muscle cardiaque ischémique et de prévenir
15 et/ou limiter les complications possibles liées à l'infarctus entraînant fréquemment le décès des patients dans les premières heures ou les premiers jours.

L'étendue de l'infarctus du myocarde est un élément déterminant pour la récupération fonctionnelle contractile du myocarde et du pronostic à long terme
20 des patients.

Bien que la reperfusion protège incontestablement des cellules myocardiennes de la mort cellulaire causée par la persistance de l'ischémie, elle s'accompagne aussi d'effets délétères sur la fonction contractile (sidération
25 myocardique), le rythme cardiaque (survenue d'arythmies) et la perfusion tissulaire ("no-reflow"). Des données récentes indiquent même que la reperfusion peut aussi paradoxalement tuer une partie des cellules reperfusionnées (nécrose de reperfusion).

Lors de la reperfusion de l'infarctus du myocarde, des médicaments appartenant à des classes thérapeutiques différentes telles que, par exemple,
30 celles des inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire comme l'acide acétylsalicylique, celle des bêta-bloquants, celle des inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ou celle des statines ont un apport bénéfique sur le pronostic des patients. Toutefois, aucun de ces médicaments ou d'autres médicaments disponibles actuellement

administrés lors de la reperfusion n'est pas capable de limiter la taille de l'infarctus du myocarde.

5 En revanche, la répétition d'épisodes d'ischémie-reperfusion de durée brève (ne provoquant pas par eux-mêmes de lésion cellulaire irréversible) réalisée soit avant ("pré-conditionnement"), soit après ("post-conditionnement") la période d'ischémie responsable de l'infarctus, ont montré *in vivo* un effet protecteur endogène et une limitation de la taille de l'infarctus. Cependant, les thérapies de pré-conditionnement ne sont pas applicables en clinique aux patients AMI pour
10 des raisons physiopathologiques et pratiques. Quant aux traitements de post-conditionnement, ils ne s'appliquent qu'à un nombre limité de patients présentant un infarctus aigu du myocarde, comme ceux pouvant être traités par angioplastie coronaire transluminale percutanée.

15 Bien que les mécanismes cellulaires et enzymatiques impliqués dans les lésions nécrotiques du myocarde dues à une ischémie-reperfusion ne soient pas complètement élucidés, Di Lisa et al. sont d'avis, dans J. Biol. Chem., 2001, 276(4), 2571-2575, que l'ouverture de pores situés dans la membrane interne de la mitochondrie, appelés pores de transition de perméabilité mitochondriale
20 ("Mitochondrial Permeability Transition Pore", MPTP) joue un rôle prépondérant dans la mort des cellules du myocarde lors de reperfusion après ischémie. Ainsi, une action inhibitrice directe ou indirecte de l'ouverture de ces MPTP par un médicament tel que la Cyclosporine A conduit à une diminution de l'effet délétère des phénomènes induits par une ischémie-reperfusion sur la viabilité du tissu
25 cardiaque.

Cependant deux points suggèrent qu'une simple inhibition du MPTP, bien que nécessaire, n'est pas suffisante pour obtenir un effet protecteur du myocarde dans les situations d'ischémie-reperfusion susmentionnées. D'une part, il existe
30 des inhibiteurs du MPTP comme le glutathion, qui présente un effet additif avec la Cyclosporine A sur l'inhibition du MPTP. Cependant, une protection des phénomènes induits par l'ischémie-reperfusion n'est néanmoins pas obtenue ou alors uniquement si le traitement est associé à d'autres facteurs protecteurs tel l'entraînement de la fonction contractile du myocarde. D'autre part, la chronologie

d'administration proposée par différents auteurs dans les modèles expérimentaux est questionnable pour obtenir des effets bénéfiques induits par l'inhibition du MPTP. L'administration proposée dans beaucoup de modèles expérimentaux correspond à une perfusion continue du cœur avant, pendant et après la période d'ischémie, se poursuivant pendant toute ou partie de la phase de reperfusion. Cet aspect d'administration n'est pas applicable tel quel en clinique et le mode d'administration optimal n'est pas connu.

Ainsi, de nouvelles thérapies adjuvantes qui doivent être administrées pendant la reperfusion, qui ont pour effet cardioprotecteur de limiter la taille de la nécrose du myocarde et d'améliorer sa fonction, sont nécessaires dans le traitement de certaines situations d'ischémie-reperfusion myocardique, en particulier lors d'un infarctus aigu du myocarde et/ou d'une dépression et dysfonctionnement du myocarde dus à un sepsis sévère.

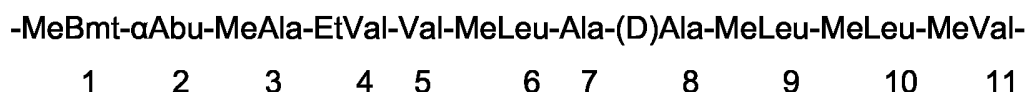
De plus, la fenêtre de temps pendant laquelle le médicament est administré est importante. L'administration du médicament doit débiter impérativement avant la reperfusion, et se poursuivre éventuellement au cours de celle-ci, afin d'obtenir le bénéfice escompté en terme de limitation de la taille de l'infarctus du myocarde, de la récupération contractile musculaire et de la survie du patient.

Le but de la présente invention est de mettre à la disposition du clinicien une médication lui permettant de traiter certaines situations d'ischémies myocardiques, en particulier lors d'un infarctus aigu et/ou suite à un sepsis sévère, dans le traitement adjuvant à la reperfusion myocardique et qui a pour effet de limiter la taille de l'infarctus et d'améliorer sa fonction.

Il a été trouvé, de manière très surprenante, que ce but peut être atteint par l'utilisation d'un undécapeptide cyclique particulier.

Ainsi, la présente invention a pour objet l'utilisation d'un undécapeptide

cyclique ayant la structure de formule (I)



5

Formule (I)

pour la préparation d'un médicament administrable lors d'une situation d'ischémie myocardique.

10

La structure chimique du undécapeptide cyclique de formule (I) ayant un certain nombre de points communs avec celle de la Cyclosporine A, sa formule est donnée en utilisant la nomenclature habituellement utilisée pour caractériser cette Cyclosporine A. Selon cette nomenclature, MeBmt est l'abréviation de l'acide aminé N-méthyl-(4R)-4-but-2E-èn-1-yl-4-méthyl -(L)thréonine, α Abu celle de l'acide L- α -aminobutyrique, MeAla celle de la N-méthyl-L-alanine, EtVal celle de la N-éthyl-L-valine, Val celle de la valine, MeLeu celle de la N-méthyl-L-Leucine, Ala celle de la L-alanine, (D)Ala celle de la D-alanine et MeVal celle de la N-méthyl-L-valine. La numérotation habituellement utilisée pour caractériser la position respective de chacun des acides aminés constituant la Cyclosporine A est également utilisée pour définir la structure du undécapeptide cyclique de formule (I). Toujours en référence à la Cyclosporine A, l'undécapeptide cyclique de formule (I) peut être également appelé [MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA.

L'undécapeptide cyclique ayant la structure de formule (I) et sa préparation ont été décrits par J.F. Guichoux dans "De nouveaux analogues de Cyclosporin A comme agent anti-HIV-1", Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne, 2002, et par R. Wenger et al. dans la demande de brevet internationale WO 00/01715 et le numéro de registre qui lui a été attribué par Chemical Abstracts Service est CAS RN 254435-95-5.

30

Ce produit, ainsi que certains de ses analogues structuraux, sont présentés dans ces publications comme ayant une forte activité pour inhiber l'action du virus de l'immunodéficience humaine, agent viral responsable du SIDA, tout en ne

présentant pas les propriétés immunosuppressives bien connues de la Cyclosporine A. De plus, un potentiel neuroprotecteur lui est aussi reconnu, en particulier l'inhibition du MPTP de mitochondries isolées du cerveau, par Hansson et al. dans J. Bioenerg. Biomembr., 2004, 36, 407-413.

5

Les situations d'ischémies myocardiques, au cours desquelles le undécapeptide cyclique de formule (I) peut être administré, résultent de la diminution ou de l'arrêt de la circulation sanguine myocardique, ayant pour conséquence, entre autre, une réduction ou l'arrêt de l'apport d'oxygène vers cet
10 organe nécessitant un rétablissement du flux sanguin ou une reperfusion cardiaque. Ces situations d'ischémie peuvent se manifester par des dysfonctionnements cardiaques détectables entre autre par écho- et électrocardiographie. Ce phénomène conduit à des lésions cellulaires cardiaques détectables entre autre par mesures des marqueurs biologiques tels que les
15 enzymes cardiaque, l'imagerie médicale telle que échographie, scintigraphie nucléaire, ou résonance magnétique nucléaire.

Une ischémie myocardique aiguë, sub-aiguë ou chronique peut être provoquée par, ou être associée à, une variété de facteurs ou maladies. Parmi ces
20 facteurs ou maladies, on peut citer à titre d'exemple l'infarctus aigu du myocarde, l'angine de poitrine, l'angor instable, les maladies athéromateuses avec thrombo-embolie, les vasospasmes, les anévrysmes des petites et moyennes artères et des grands vaisseaux, l'hypotension artérielle due à une maladie du cœur ou systémique incluant des infections graves tel un sepsis sévère avec ou sans choc
25 septique ou des réactions allergiques, une hypotension due à l'effet de un ou plusieurs médicaments, drogues, poisons, produits toxiques.

De plus, on peut également citer à titre d'exemple les hypoperfusions secondaires faisant suite à l'une ou l'autre des maladies ou situations suivantes:
30 diabète sucré, hyperlipidémie, thromboangéite oblitérante ou maladie de Buerger, syndrome de Takayasu, syphilis cardiovasculaire, désordre des tissus conjonctifs tels que la maladie de Raynaud, phlegmatia caerulea dolens ou phlébite bleue de Grégoire, traumatisme des vaisseaux sanguins incluant les traumatismes iatrogéniques tels que des actes de chirurgie ou de transplantations d'organe,

opérations du cœur et des grands vaisseaux avec ou sans recours aux techniques de circulation extracorporelle. Ces actes incluent également à titre d'exemple l'insertion chirurgicale d'implants, de dispositifs, de greffes, de prothèses ou tout autre dispositif ou produit biomédical, en particulier cardiologiques. Une liste non-

5 limitative des organes ou tissus dans lesquels peuvent se présenter ces situations ischémiques comprend le cœur, le cerveau, les reins, les extrémités, la rate, le foie, l'estomac et le système gastro-intestinale incluant le petit intestin, le colon et le rectum, les poumons et les voies respiratoires, les yeux, la peau, les muscles, le pancréas, la prostate, la moelle osseuse, les glandes endocrines.

10

L'utilisation du undécapeptide cyclique de formule (I) est particulièrement appropriée pour le traitement de situations d'ischémie myocardique, pour le traitement d'une hypoperfusion-reperfusion myocardique, en particulier lors de la survenue d'un infarctus aigu du myocarde et/ou de dysfonctionnement cardiaque

15 lors de sepsis sévère.

Lors de l'utilisation du undécapeptide cyclique de formule (I), le traitement des situations liées aux ischémiques myocardiques consiste à administrer au sujet ledit undécapeptide cyclique préalablement et/ou pendant le rétablissement du

20 flux sanguin ou à une perfusion en adéquation avec les besoins en oxygène dans le cœur ou le tissu cardiaque. Ainsi, la circulation sanguine est rétablie par une reperfusion obtenue mécaniquement par angioplastie coronaire et/ou médicalement à la suite d'un traitement de fibrinolyse et/ou à la suite de mesures de réanimation médicamenteuse. L'undécapeptide cyclique de formule (I) est

25 administré de préférence préalablement à ladite reperfusion. Dans ce cas, le début de l'administration s'échelonne au cours d'une période allant, de préférence, de la trentième minute précédant la reperfusion, de préférence encore au cours des 10 minutes précédant cette reperfusion, de préférence encore au cours des 5 minutes précédant cette reperfusion, de préférence encore au cours de la minute

30 précédant cette reperfusion, jusqu'au moment de la réouverture de l'artère et/ou depuis le rétablissement du flux sanguin.

Lorsqu'il s'agit d'un traitement d'un sepsis, le début de l'administration dudit undécapeptide cyclique de formule (I) se passe dans une période allant, de

préférence, au plus tôt lors de la déclaration de ce sepsis et, de préférence, au plus tard 72 heures.

La préparation pharmaceutique comprenant le dérivé est administrée par
5 voie intraveineuse, intra-artérielle, intra-coronarienne, ou intra-myocardique de
préférence en bolus et/ou suivi en perfusion continue pendant les dix heures qui
suivent le début de la reperfusion. L'administration de la préparation
pharmaceutique en perfusion continue peut alors se faire par voie intra-veineuse,
ou par voie intra-artérielle.

10

Lorsque le rétablissement du flux sanguin est initié par voie
médicamenteuse, l'administration du undécapeptide cyclique de formule (I) peut
se faire séparément et/ou préalablement ou de façon concomitante à cette
administration médicamenteuse et peut se poursuivre au cours de cette
15 administration médicamenteuse puis pendant les dix heures qui suivent le
rétablissement du flux sanguin. La préparation pharmaceutique comprenant
l'undécapeptide cyclique de formule (I) peut alors être administrée en dose unique
par voie intra-veineuse, de préférence en bolus, puis elle peut se poursuivre en
perfusion continue pendant les dix heures qui suivent le début de la reperfusion.

20

La composition pharmaceutique comprenant l'undécapeptide cyclique de
formule (I) comme composé actif se présente sous forme de solution, de
dispersion, ou sous forme de formulations de dépôts injectables. Ces formulations
peuvent comprendre le composé actif sous forme de nano-cristaux, de micelles,
25 d'émulsions lipidiques, de microémulsions ou de suspensions nanoparticulaires.
Les compositions pharmaceutiques pour solutions injectables comprennent ledit
undécapeptide en combinaison avec au moins un véhicule pharmaceutique
acceptable. Avant l'administration, les compositions concentrées sont combinées
avec des diluants appropriés, comprenant au moins un excipient, tel que un agent
30 isotonique, un tampon ou un autre agent contrôlant le pH, et un conservateur. Ces
excipients peuvent être ajoutés pour le maintien de la composition, d'un intervalle
de pH d'environ 5.5 à environ 8.5 et de l'osmolarité d'environ 280 à environ
400 mosm/L. De manière générale, les formulations habituellement utilisées pour

la préparation d'un médicament à base de Cyclosporine A sont également appropriées pour mettre en oeuvre la présente invention.

5 L'utilisation du undécapeptide cyclique de formule (I) peut également se faire en complément d'un traitement anti-angineux standard (bêta-bloquant, dérivé nitré retard, antagoniste calcique, antiplaquettaire) et/ou d'un traitement du choc septique. L'administration du undécapeptide est alors soit concomitante ou soit séquentielle avec au moins un second composé actif dans lesdits traitements.

10 De préférence, lors du traitement d'une ischémie-reperfusion myocardique, l'undécapeptide cyclique de formule (I) est administré à une dose allant de 0,1 mg/kg à 30 mg/kg, de préférence de 0,1 mg/kg à 20 mg/kg.

15 Le spécialiste sait établir la modalité d'administration, tant en ce qui concerne la chronologie, le mode d'administration ou la dose, de sorte qu'une concentration efficace du undécapeptide cyclique atteigne le tissu cardiaque hypoperfusé dès les premières secondes de la reperfusion.

20 L'invention et tous ses effets seront expliqués en détail à l'aide du dessin et des exemples.

Dans le dessin:

25 - la Fig. 1 représente les courbes de survie d'un modèle d'ischémie-reperfusion chez la souris et l'influence du undécapeptide cyclique de formule (I) sur la période de post-infarctus. La courbe noire représente le taux de survie au cours du temps des souris traitées avec le véhicule pharmaceutique seul après reperfusion et la courbe claire des souris traitées avec le undécapeptide de l'invention; et

30 - la Fig. 2 représente les courbes de survie d'un modèle de choc septique chez la souris et l'influence du undécapeptide cyclique de formule (I) sur la période post-septique. La courbe avec les triangles représente le taux de survie au cours du temps des souris traitées avec du sérum physiologique uniquement après induction

du choc septique et la courbe avec les carrés, les souris traitées avec le undécapeptide de l'invention.

Au cours des exemples qui suivent, la formulation suivante a été utilisée:

5	undécapeptide cyclique de formule (I)	35 mg/ml
	cremophor EL	650 mg/ml,
	éthanol	261 mg/ml

10 Exemple 1: Modèle d'ischémie-réperfusion chez le lapin - Effet cardioprotecteur du undécapeptide cyclique de formule (I)

Le but de cette étude est de tester l'effet cardioprotecteur du undécapeptide cyclique de formule (I), autrement appelé [MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA, en terme de réduction de la taille de l'infarctus du myocarde mesuré 4 heures après la
15 survenue de l'infarctus.

Après trachéotomie et ventilation par l'air ambiant, une thorotomie est réalisée dans le quatrième espace intercostal gauche. Une branche marginale de l'artère coronaire circonflexe gauche est ligaturée à l'aide d'un fil de soie à
20 suture 3.0. Pendant l'intervention, la température, la fréquence cardiaque et la pression sanguine sont contrôlées. Après 30 minutes d'occlusion, la ligature est levée (reperfusion) et les animaux sont maintenus pendant 4 heures dans une atmosphère contrôlée, avant euthanasie.

25 Un groupe d'animaux reçoit le véhicule pharmaceutique de [MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA, un autre groupe est traité par [MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA par voie intraveineuse sous forme d'injection unique respectivement de 20 mg/kg, une minute avant la levée de la ligature. Quatre heures après la reperfusion, l'artère coronaire est brièvement ré-occluse et un colorant bleu est injecté par voie
30 intraveineuse de façon à déterminer la zone à risque. Les animaux sont anesthésiés et le cœur excisé est coupé en 5 à 6 fines tranches qui sont pesées. La surface basale de ces tranches est photographiée. L'incubation de ces tranches dans du 2,3,5-triphenyltetrazolium pendant 5 minutes à 37°C permet de différencier les zones du myocarde vivantes (rouge brique) et nécrosées (jaune

pâle). Les tranches sont photographiées. Les aires des zones à risque et du myocarde infarcté ou aire de nécroses sont déterminées par planimétrie. La taille de l'infarctus et de la zone à risque sont calculées et exprimées en pourcentage du poids du ventricule gauche.

5

Tableau 1: Taille de l'infarctus du myocarde déterminée par le rapport des aires de nécroses (AN) sur les aires des zones à risques (AR) en pourcentage. SD représente la déviation standard.

Composé	Nombre d'animaux par groupe	Taille de l'infarctus (AN/AR \pm SD) [%]
Véhicule pharmaceutique	10	49 \pm 9.5
[MeAla]3-[EtVal]4-CsA	8	29 \pm 6.0

10 Il a été constaté que l'utilisation de [MeAla]3-[EtVal]4-CsA permet d'obtenir une diminution de la taille de l'infarctus dans la zone à risque de l'ordre de 40% par rapport aux animaux n'ayant reçu que le véhicule pharmaceutique.

15 Exemple 2: Modèle d'ischémie-reperfusion chez la souris – Influence de [MeAla]3-[EtVal]4-CsA sur la période post-infarctus (remodelage ventriculaire et survie)

Après anesthésie, les souris sont intubées et ventilées par un ventilateur à rongeur. La température rectale est contrôlée et maintenue à 38°-39°C. Après sternotomie, l'artère interventriculaire antérieure est ligaturée par un fil en polypropylène 8-0. L'ischémie est visualisée par l'apparition de l'élévation du segment ST sur l'ECG (électrocardiogramme) et la pâleur du myocarde. Après 25 minutes d'occlusion, la ligature est levée et la reperfusion contrôlée par inspection visuelle et disparition du sus-décalage du segment ST. La paroi thoracique est fermée par suture et les souris maintenues dans une atmosphère à température contrôlée.

Un groupe d'animaux reçoit le véhicule de [MeAla]3-[EtVal]4-CsA; un autre groupe est traité par [MeAla]3-[EtVal]4-CsA par voie intraveineuse (injection unique à 10 mg/kg), 3 minutes avant la levée de la ligature. Les animaux sont suivis pendant 30 jours et la mortalité rapportée pour chaque groupe.

5

Quatre semaines après la reperfusion, le remodelage du ventricule gauche est étudié par échocardiographie-Doppler et la fraction d'éjection du ventricule gauche est mesurée.

10

Dans un groupe d'animaux ayant subi 25 minutes d'occlusion coronaire suivies de 24 heures de reperfusion, la zone à risque et la taille de l'infarctus sont déterminées. Après une brève ré-occlusion de l'interventriculaire antérieure, un colorant bleu est injecté via la veine cave de façon à déterminer la zone à risque. Les animaux sont anesthésiés et le cœur excisé. Le ventricule est coupé en 5

15 fines tranches et photographié. L'incubation de ces tranches dans du 2,3,5-triphenyltetrazolium pendant 15 minutes à 37°C permet de différencier les zones du myocarde vivantes (rouge brique) et nécrosées (jaune pâle). Les tranches sont photographiées. Les aires des zones à risque et du myocarde infarci sont déterminées par planimétrie. La taille de l'infarctus et de la zone à risque sont

20 calculées et exprimées en pourcentage du poids du ventricule gauche.

Tableau 2: Taille de l'infarctus du myocarde déterminée par le rapport des aires de nécroses (AN) sur les aires des zones à risques (AR) en pourcentage 24 heure après reperfusion. SD représente la déviation standard.

Composé	Nombre d'animaux par groupe	Taille de l'infarctus (AN/AR \pm SD) [%]
Véhicule pharmaceutique	10	61.4 \pm 5.8
[MeAla]3-[EtVal]4-CsA	7	32.1 \pm 7.3

25

Tableau 3: Remodelage du ventricule gauche étudié par échocardiographie-Doppler: fraction d'éjection du ventricule gauche 4 semaines après la reperfusion. SD représente la déviation standard.

Composé	Nombre d'animaux par groupe	Fraction d'éjection du ventricule gauche \pm SD [%]
Véhicule pharmaceutique	10	62 \pm 12
[MeAla]3-[EtVal]4-CsA	14	77 \pm 6

5 Il a été constaté que l'utilisation de [MeAla]3-[EtVal]4-CsA permet d'obtenir une diminution de la taille de l'infarctus dans la zone à risque de l'ordre de 50% (Tableau 2). De plus, il a été relevé une diminution du taux de mortalité à 4 semaines (Fig. 1) ainsi qu'une meilleure fonction myocardique exprimée par une augmentation de la fraction d'éjection (Tableau 3).

10

Il est trouvé de manière surprenante que ces effets bénéfiques pour une même dose de composé actif ne sont pas obtenus lorsque l'administration du undécapeptide de l'invention est effectuée trop prématurément ou trop tardivement par rapport à la reperfusion.

15

Exemple 3: Modèle de choc septique chez la souris – Influence de [MeAla]3-[EtVal]4-CsA sur la survie des souris septicémiques avec un dysfonctionnement myocardique.

20

Après anesthésie des souris, une péritonite par ligature et ponction cœcale est induite comme suit: réalisation d'une laparotomie médiane, extériorisation du caecum et ponction unique de celui-ci au dessous de la valve iléocaecale avec un aiguille de 21-gauge. Le caecum est replacé dans la cavité abdominale qui est ensuite suturée en 2 plans. Après réveil, les souris reçoivent par injection parentérale de l'antalgique nalbuphine.

25

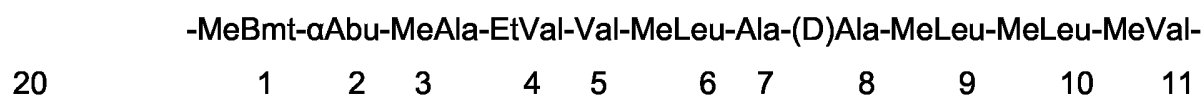
Un groupe d'animaux reçoit du sérum physiologique (groupe contrôle); un autre groupe est traité par [MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA à raison de 10 mg/kg par injection parentérale juste après induction chirurgicale du choc septique. Les animaux sont suivis pendant 4 jours et la mortalité rapportée pour chaque groupe.

5

La Fig. 2 représente l'amélioration de la survie des souris septicémiques traitées avec [MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA par rapport aux animaux du groupe contrôle. 72 heures après induction du sepsis et début du traitement, le taux de survie pour les animaux traités est d'environ 60% par rapport aux animaux du groupe contrôle dont 100% de mortalité est atteinte en 36 heures. Cet effet s'explique
10 essentiellement par l'effet cardioprotecteur de [MeAla]³-[EtVal]⁴-CsA sur le dysfonctionnement myocardique.

15 Revendications

1. Utilisation d'un undécapeptide cyclique ayant la structure de formule (I)



Formule (I)

25 pour la préparation d'un médicament administrable lors d'une situation d'ischémie myocardique.

2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite situation se manifeste par un dysfonctionnement cardiaque.

30 3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que ledit dysfonctionnement cardiaque est la conséquence de lésions cellulaires cardiaques.

35 4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ladite situation d'ischémie myocardique se rencontre parmi le groupe des maladies suivantes: l'infarctus aigu du myocarde, l'angine de poitrine, l'angor instable, les maladies athéromateuses avec thrombo-embolie, les vasospasmes, les anévrysmes des petites et moyennes artères et des grands vaisseaux, l'hypotension artérielle due à une maladie du cœur ou systémique,

40 incluant des infections graves tel un sepsis sévère avec ou sans choc septique ou des réactions allergiques, une hypotension due à l'effet de un ou plusieurs médicaments, drogues, poisons, produits toxiques.

45 5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la circulation sanguine est rétablie par une reperfusion obtenue mécaniquement par angioplastie coronaire et/ou médicalement à la suite d'un traitement de fibrinolyse et/ou à la suite de mesures de réanimation

médicamenteuse, et en ce que ledit undécapeptide cyclique de formule (I) est administré préalablement à ladite reperfusion.

50

6. Utilisation selon la revendication 5, caractérisée en ce que le début de l'administration dudit undécapeptide cyclique de formule (I) s'échelonne au cours d'une période allant de la trentième minute précédant la reperfusion jusqu'au moment de la réouverture de l'artère et/ou depuis le rétablissement du flux sanguin.

55

7. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que le début de l'administration dudit undécapeptide cyclique de formule (I) se passe dans période allant au plus tôt lors de la déclaration du sepsis et au plus tard 72 heures.

60

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit undécapeptide cyclique de formule (I) est administré à une dose allant de 0,1 mg/kg à 30 mg/kg.

65

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit undécapeptide cyclique de formule (I) est co-administré ou administré séparément avec au moins un second composé actif dans le traitement anti-angineux et/ou anti-septique.

70

10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit undécapeptide cyclique de formule (I) est administré par voie intraveineuse ou intra-artérielle ou intra-coronarienne.

75

Fig. 1

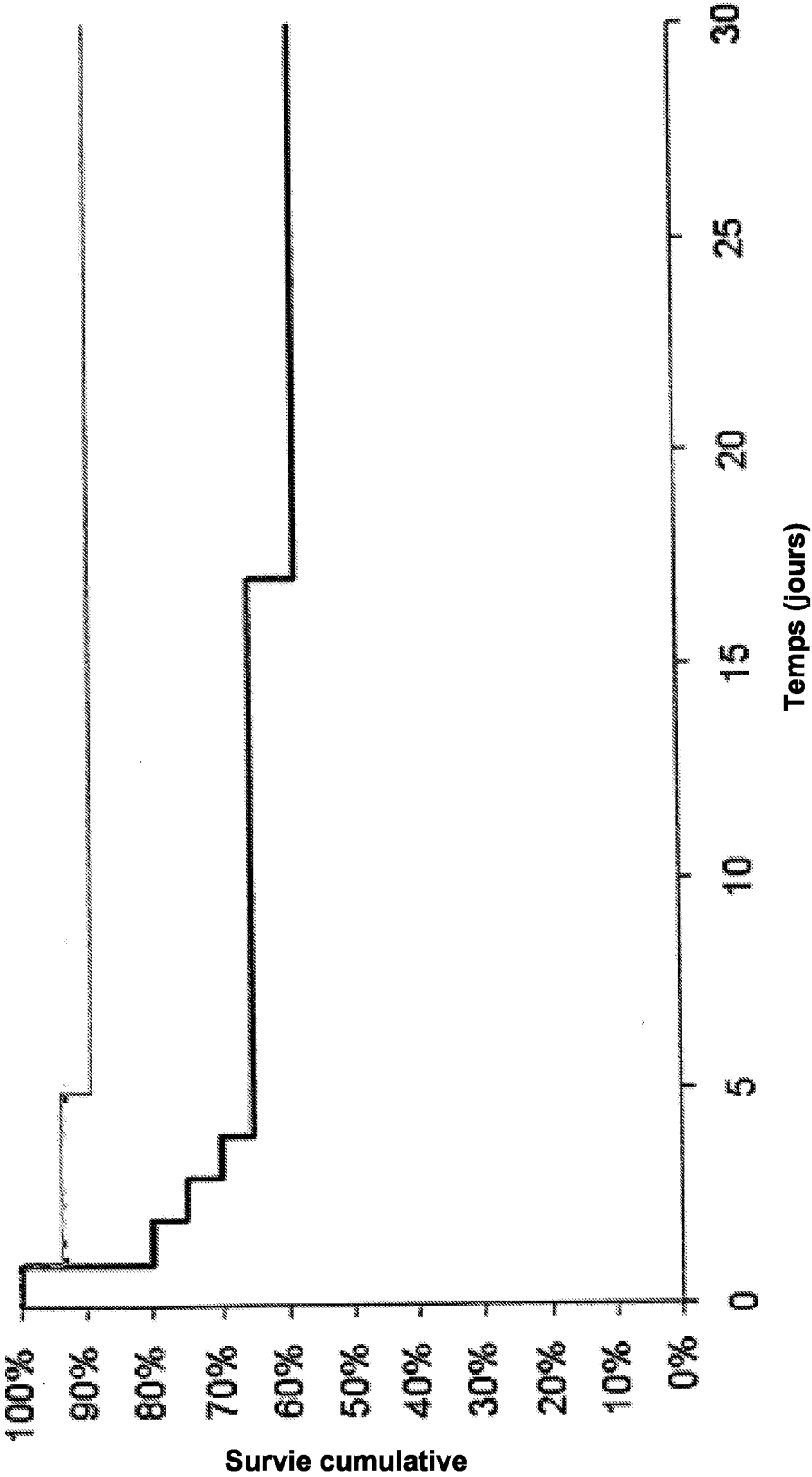
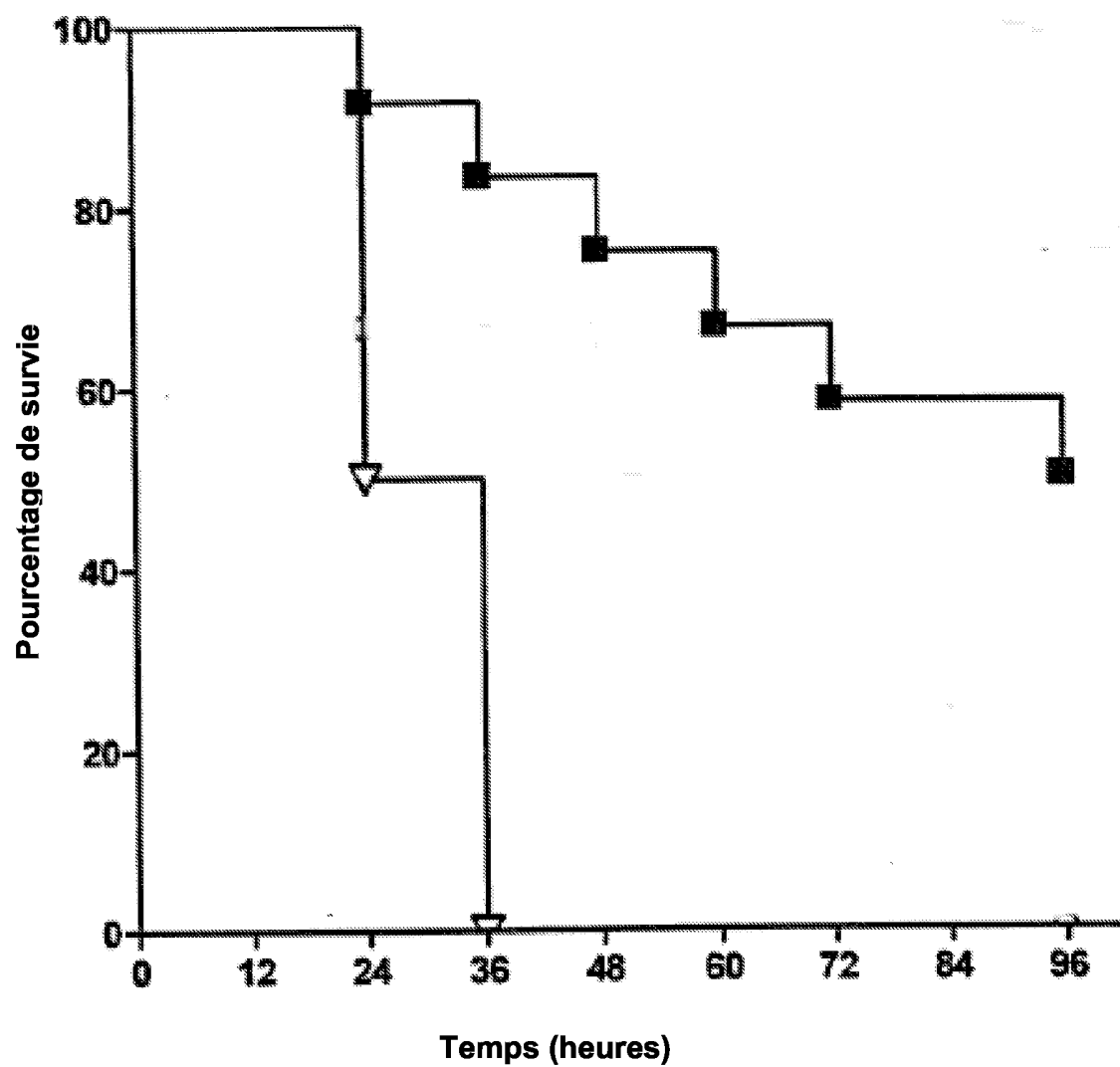


Fig. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/050140

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K38/13 A61P9/10

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 practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, COMPENDEX, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DI LISA FABIO ET AL: "Opening of the mitochondrial permeability transition pore causes depletion of mitochondrial and cytosolic NAD ⁺ and is a causative event in the death of myocytes in postischemic reperfusion of the heart" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 276, no. 4, 26 January 2001 (2001-01-26), pages 2571-2575, XP002330700 ISSN: 0021-9258 page 2573; figure 3 page 2574, column 1, paragraph 3 - column 2, paragraph 1 ----- -/--	1-10



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 document 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

16 May 2006

Date of mailing of the international search report

01/06/2006

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bochelen, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/050140

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>HANSSON M J ET AL: "The nonimmunosuppressive cyclosporin analogs NIM811 and UNIL025 display nanomolar potencies on permeability transition in brain-derived mitochondria" JOURNAL OF BIOENERGETICS AND BIOMEMBRANES, PLENUM PUBLISHING, NEW YORK, NY, US, vol. 36, no. 4, August 2004 (2004-08), pages 407-413, XP002330699 ISSN: 0145-479X page 411, column 1, paragraph 2; figure 2</p>	1-10
Y	<p>NIEMANN CLAUS U ET AL: "Close association between the reduction in myocardial energy metabolism and infarct size: Dose-response assessment of cyclosporine" JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, vol. 302, no. 3, September 2002 (2002-09), pages 1123-1128, XP002381017 ISSN: 0022-3565 page 1125, column 2 - page 1126, column 1; figure 2</p>	1-10
Y	<p>HAUSENLOY DEREK J ET AL: "Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: A new paradigm for myocardial preconditioning?" CARDIOVASCULAR RESEARCH, vol. 55, no. 3, 15 August 2002 (2002-08-15), pages 534-543, XP002381018 ISSN: 0008-6363 page 537, column 2 - page 538, column 1; figure 4</p>	1-10
A	<p>WO 00/01715 A (DEBIOPHARM S.A; WENGER, ROLAND, M; MUTTER, MANFRED; RUCKLE, THOMAS) 13 January 2000 (2000-01-13) cited in the application page 16; table III</p>	1-10
A	<p>US 6 790 935 B1 (MUTTER MANFRED ET AL) 14 September 2004 (2004-09-14) the whole document</p>	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/050140

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0001715	A	13-01-2000	AT 312843 T	15-12-2005
			AU 759480 B2	17-04-2003
			AU 4385699 A	24-01-2000
			BR 9911724 A	20-03-2001
			CA 2335903 A1	13-01-2000
			CN 1308635 A	15-08-2001
			DK 1091975 T3	18-04-2006
			EP 1091975 A1	18-04-2001
			JP 2002519434 T	02-07-2002
			MX PA00013019 A	14-07-2003
			US 6927208 B1	09-08-2005
US 6790935	B1	14-09-2004	AU 2125300 A	25-08-2000
			EP 1150999 A1	07-11-2001
			WO 0046239 A1	10-08-2000

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2006/050140

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. A61K38/13 A61P9/10

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, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, COMPENDEX, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>DI LISA FABIO ET AL: "Opening of the mitochondrial permeability transition pore causes depletion of mitochondrial and cytosolic NAD⁺ and is a causative event in the death of myocytes in postischemic reperfusion of the heart"</p> <p>JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 276, no. 4, 26 janvier 2001 (2001-01-26), pages 2571-2575, XP002330700</p> <p>ISSN: 0021-9258</p> <p>page 2573; figure 3</p> <p>page 2574, colonne 1, alinéa 3 - colonne 2, alinéa 1</p> <p style="text-align: center;">----- -/--</p>	1-10

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* 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

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

16 mai 2006

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

01/06/2006

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, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Bochelen, D

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2006/050140

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>HANSSON M J ET AL: "The nonimmunosuppressive cyclosporin analogs NIM811 and UNIL025 display nanomolar potencies on permeability transition in brain-derived mitochondria"</p> <p>JOURNAL OF BIOENERGETICS AND BIOMEMBRANES, PLENUM PUBLISHING, NEW YORK, NY, US, vol. 36, no. 4, août 2004 (2004-08), pages 407-413, XP002330699</p> <p>ISSN: 0145-479X</p> <p>page 411, colonne 1, alinéa 2; figure 2</p> <p>-----</p>	1-10
Y	<p>NIEMANN CLAUS U ET AL: "Close association between the reduction in myocardial energy metabolism and infarct size: Dose-response assessment of cyclosporine"</p> <p>JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, vol. 302, no. 3, septembre 2002 (2002-09), pages 1123-1128, XP002381017</p> <p>ISSN: 0022-3565</p> <p>page 1125, colonne 2 - page 1126, colonne 1; figure 2</p> <p>-----</p>	1-10
Y	<p>HAUSENLOY DEREK J ET AL: "Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: A new paradigm for myocardial preconditioning?"</p> <p>CARDIOVASCULAR RESEARCH, vol. 55, no. 3, 15 août 2002 (2002-08-15), pages 534-543, XP002381018</p> <p>ISSN: 0008-6363</p> <p>page 537, colonne 2 - page 538, colonne 1; figure 4</p> <p>-----</p>	1-10
A	<p>WO 00/01715 A (DEBIOPHARM S.A; WENGER, ROLAND, M; MUTTER, MANFRED; RUCKLE, THOMAS) 13 janvier 2000 (2000-01-13)</p> <p>cité dans la demande</p> <p>page 16; tableau III</p> <p>-----</p>	1-10
A	<p>US 6 790 935 B1 (MUTTER MANFRED ET AL)</p> <p>14 septembre 2004 (2004-09-14)</p> <p>le document en entier</p> <p>-----</p>	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale n°

PCT/EP2006/050140

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0001715	A	13-01-2000	AT 312843 T	15-12-2005
			AU 759480 B2	17-04-2003
			AU 4385699 A	24-01-2000
			BR 9911724 A	20-03-2001
			CA 2335903 A1	13-01-2000
			CN 1308635 A	15-08-2001
			DK 1091975 T3	18-04-2006
			EP 1091975 A1	18-04-2001
			JP 2002519434 T	02-07-2002
			MX PA00013019 A	14-07-2003
			US 6927208 B1	09-08-2005
US 6790935	B1	14-09-2004	AU 2125300 A	25-08-2000
			EP 1150999 A1	07-11-2001
			WO 0046239 A1	10-08-2000