



cabinet beau de loménie

CONSEILS EN PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE, BREVETS, MARQUES ET MODELES
MANDATAIRES AGREES AUPRES DE L'OFFICE EUROPEEN DES BREVETS

Paris, le 22 novembre 1988

LABORATOIRES DOLISOS
A l'attention du Docteur DORFMAN
62, Rue Beaubourg
75003 PARIS

PH. DESCOURTIEUX
Ing. Civ. Gl. Mme - C.B.I.

A. COMBE

Ing. ENSIC Doct. de Sc. - C.B.I.

H. HASENRADER

Ing. Mines LOEBEN - ENSPM - C.B.I.

G. DASSAS

Doct. en Droit de la Propr. Ind.

J. J. JOLY

Ing. ESE - C.B.I.

GERANTS ASSOCIES

5, RUE D'AMSTERDAM
75008 PARIS
TÉL. (1) 42.80.64.68
TÉLEX 650476 (PARIS)
COPIEUR (1) 48.74.37.60
CCP 1422 47X PARIS

BUREAU DE LYON
99, GRANDE-RUE
DE LA GUILLOTIERE
69007 LYON
TÉL. 78.72.40.46
TÉLEX 300159
C. ROPITAL BONVARLET
Ingénieur - C.B.I.

BUREAU DE MARSEILLE
14, RUE RAPHAEL
13008 MARSEILLE
TÉL. 91.76.55.30
TÉLEX 420604
H. AZAIS
Ing. Civ. Mines - C.B.I.
R. MORETTI
Diplômé CEIPI

Vos réf.

Nos réf. 03/MLR/SMB - H 20 669 - cas 1

Messieurs,

Comme suite à vos instructions, nous avons l'avantage de vous informer que nous avons déposé votre demande de brevet dans les conditions suivantes :

AU NOM DE: LABORATOIRES DOLISOS

TITRE: Nouvelle utilisation d'Euphorbia Hirta en thérapeutique (analgésique)

PAYS: FRANCE

N° DE DÉPÔT: 88 15 032

DATE DE DÉPÔT: 18 novembre 1988

OBSERVATIONS: } La procédure d'examen a été déclenchée au moment du dépôt

PIECES JOINTES : texte tel que déposé
récépissé de dépôt
note de débit

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 30 630 244

Cote : B 1 VIII M

18 SEP. 1990

Veillez agréer, Messieurs, nos sincères salutations.


Martine LE ROUX



cabinet beau de loménie

CONSEILS DE PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE, BREVETS, MARQUES ET MODÈLES
MANDATAIRES AGRÉÉS AUPRÈS DE L'OFFICE EUROPÉEN DES BREVETS

PH. DESCOURTIEUX

Ing. Civ. Gle. Mme - C.B.I.

A. COMBE

Ing. ENSIC Doct. des Sc. - C.B.I.

H. HASENRADER

Ing. Mines LEOBEN - ENSPM - C.B.I.

G. DASSAS

Doct. en Droit de la Propr. Ind.

J. J. JOLY

Ing. ESE - C.B.I.

ASSOCIÉS

55, RUE D'AMSTERDAM

75008 PARIS

TÉL. (1) 42.80.64.68

TÉLEX 650476 (PARIS)

ÉLÉCOPIEUR (1) 48.74.37.60

CCP 1422 47X PARIS

BUREAU DE LYON

99, GRANDE-RUE

DE LA GUILLOTIÈRE

69007 LYON

TÉL. 78.72.40.48

TÉLEX 300159

C. HOPITAL BONVARLET

Ingénieur - C.B.I.

J.M. THIBAUT

M.S.T. Angers CEIP

BUREAU DE MARSEILLE

14, RUE RAPHAËL

13008 MARSEILLE

TÉL. 91.76.55.30

TÉLEX 420604

H. AZAÏS

Ing. Civ. Mines - C.B.I.

R. MORETTI

Diplômé CEIP

BUREAU DE LILLE

104, RUE NATIONALE

59800 LILLE

TÉL. 20.54.10.54

TÉLEX 120552 P

TÉLÉCOPIEUR 20.57.96.96

J.C. HENNION

Ing. H.E.I. - CEIP

Demande de Brevet d'Invention

AU NOM DE : LABORATOIRES DOLISOS

TITRE : Nouvelle utilisation d'Euphorbia Hirta en thérapeutique (analgésique)

TITRE ABREGÉ : EUPHORBIA HIRTA analgésique

PAYS : FRANCE

N° DE DEPOT : 88 15 032

DATE DE DEPOT : 18 novembre 1988

OBSERVATIONS :

BREVET D'INVENTION

Titre : Nouvelle utilisation d'EUPHORBIA HIRTA L. en thérapeutique.

Inventeurs : LANHERS Marie-Claire
FLEURENTIN Jacques
CABALION Pierre
PELT Jean-Marie

Déposant : LABORATOIRE DOLISOS

ABREGE

La présente invention a pour objet l'utilisation d'EUPHORBIA HIRTA L. pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées au traitement symptomatique des affections douloureuses.

03/MLR/SMB

H 20 669 cas 1

BREVET D'INVENTION

Titre : Nouvelle utilisation d'EUPHORBIA HIR A.L. en thérapeutique.

Inventeurs : LANHERS Marie-Claire
FLEURENTIN Jacques
CABALION Pierre
PELT Jean-Marie

Déposant : LABORATOIRES DOLISOS

Nouvelle utilisation d'EUPHORBIA HIRTA L. en thérapeutique.

La présente invention a trait à une nouvelle utilisation en thérapeutique de la plante EUPHORBIA HIRTA L. (synonyme :
05 EUPHORBIA PILULIFERA).

Cette plante est une euphorbiacée appartenant à la sous section des Hypericifoliae selon les études chimiotaxonomiques.

EUPHORBIA HIRTA occupe déjà une place privilégiée dans diverses pharmacopées, notamment d'Asie orientale et d'Afrique
10 tropicale.

Elle est utilisée sous diverses formes, pour traiter de nombreuses affections, en particulier, gastrointestinales, hépatiques, cardiaques, respiratoires, génitales. Diverses parties de la plante peuvent être utilisées (plante entière, parties
15 aériennes, racines, sommités fleuries, feuilles, latex), de diverses façons (en usage externe ou interne, plante fraîche ou cuite, macérat, décocté...).

Les indications thérapeutiques traditionnelles, attribuées à la plante entière, administrée sous forme de décoction en usage interne, sont :
20

- diarrhées, coliques - amoebiose, helminthiase - lithiase rénale - ictère - asthme, bronchite, toux - troubles du sommeil - fièvre - troubles de la lactation, dysménorrhée.

On a notamment décrit dans la demande de brevet
25 FR 2 607 006 l'utilisation d'EUPHORBIA HIRTA comme cicatrisant et/ou désinfectant intestinal.

Cette plante est également indiquée en homéopathie dans le traitement de la dysenterie et des affections respiratoires, telles que l'asthme. Elle est, dans ce cas particulier, utilisée
30 sous forme de préparation hydroalcoolique (teinture mère).

La Demanderesse préconise présentement une nouvelle utilisation d'EUPHORBIA HIRTA, pour l'obtention de nouveaux analgésiques.

Elle a, en effet, mis en évidence les propriétés
35 analgésiques d'EUPHORBIA HIRTA.

Plus précisément, la présente invention concerne l'utilisation d'EUPHORBIA HIRTA L. pour la préparation de compositions pharmaceutiques, destinées au traitement symptomatique des affections douloureuses.

05 Aux fins de l'invention -obtention de nouveaux analgésiques- on peut utiliser toutes les parties de la plante.

Le (ou les) principe(s) actif(s) selon l'invention n'a (ont) pas, à ce jour, été identifié(s).

10 Toutefois, le (ou les) dit(s) principe(s) actif(s), selon l'invention, paraît (paraissent) présent(s), à plus ou moins forte concentration, dans toutes les parties de la plante.

Avantageusement, on utilise, pour la préparation des compositions pharmaceutiques selon l'invention, la plante entière.

15 Celle-ci, ou une partie de celle-ci, est de préférence préalablement séchée et réduite en poudre.

On peut utiliser, selon l'invention, ladite plante ou des parties de celle-ci, sous différentes formes, notamment sous forme de poudre fine ou sous forme d'extraits.

20 Lesdits extraits peuvent être obtenus avec différents solvants d'extraction et/ou dans diverses conditions d'extraction.

Il s'agit avantageusement d'extraits aqueux, hydroalcooliques ou alcooliques. On peut aussi utiliser, selon l'invention, des extraits glycéroalcooliques ou glycérohydroalcooliques...

25 Lesdits extraits hydroalcooliques ou alcooliques peuvent notamment être préparés conformément à la méthode décrite à la Pharmacopée Française : la plante, séchée ou pas, est mise en suspension dans le solvant ; le mélange est écrasé, le jus récupéré.

30 De préférence, on utilise selon l'invention des extraits aqueux, préparés à partir de la plante entière, séchée puis réduite en poudre ; lesdits extraits aqueux étant obtenus par infusion-macération. La plante entière, séchée, réduite en poudre -avantageusement les particules présentent alors un diamètre inférieur à 1,5 mm- est jetée dans de l'eau bouillante puis macère. La macération se déroule avantageusement aux environs de 40°C, pendant 7 à 24 heures.

35

L'utilisation d'autres solvants et la mise en oeuvre de l'extraction dans d'autres conditions ne doivent pas être écartées, dans la mesure où le (ou les) principe(s) actif(s), selon l'invention, n'est (ne sont) pas encore identifié(s).

05 La plante EUPHORBIA HIRTA ou des parties de celle-ci, sous forme de poudre ou d'extraits, peuvent être utilisées selon l'invention, tel que ou après avoir subi un traitement type lyophilisation, nébulisation...

10 On utilise avantageusement des lyophilisats ou nébulisats d'extraits aqueux.

A titre illustratif, la Demanderesse décrit ci-après le mode de préparation d'un extrait aqueux d'EUPHORBIA HIRTA, plante dont elle a mis en évidence les propriétés analgésiques.

15 La plante utilisée provenait des Nouvelles Hébrides. La plante entière, séchée, est préalablement réduite en poudre fine (particules d'un diamètre inférieur à 1,5 mm). Elle est ensuite jetée dans de l'eau distillée bouillante, à raison de 60 g de plante sèche pour 600 ml d'eau.

20 Après agitation, la préparation est placée à l'étuve, à 44°C, pendant 24 heures.

Le macérat aqueux ainsi obtenu est filtré sur Büchner.

Il est ensuite lyophilisé. On obtient alors une poudre ocre que l'on conserve dans des flacons munis d'un bouchon dessiccateur, à l'abri de la lumière.

25 Le rendement de l'extraction est généralement proche de 14 % (10 - 17 %).

La Demanderesse a, sur lesdits extraits, mené une étude pharmacologique, résumée ci-après.

30 L'activité analgésique d'EUPHORBIA HIRTA chez la souris a été évaluée au moyen de deux tests : test du writhing, test de la plaque chauffante. L'effet de la naloxone, antagoniste morphinique, a été également étudié.

a) Test du writhing

35 La technique est inspirée de la méthode de Siegmund (1957) décrite dans la revue J. Pharmacol. Expil. Ther. vol. 119,

page 453. Les lots étaient composés de 10 souris mâles Swiss âgées de 7 à 9 semaines, à l'exception des témoins (lots de 20). Les produits sont administrés par voie i.p. 30 min avant l'injection i.p. d'acide acétique à 1,2 %. EUPHORBIA HIRTA est administrée aux doses de 12,5 - 20 - 25 - 50 - 100 - 200 et 400 mg/kg ; quatre produits de référence sont testés : le clorazépate dipotassique (Tranxène® Clin-Midy) à la dose de 40 mg/kg, l'acétylsalicylate de lysine (Aspégic® , Synthelabo) à la dose de 68 mg/kg, le paracétamol (Pro-Dafalgan® , Upsa) à la dose de 68 mg/kg et le sulfate de morphine, à raison de 1,15 mg/kg ; les animaux témoins reçoivent le solvant (NaCl 0,9 %) dans les mêmes conditions.

Le paramètre pris en compte est le nombre total de contorsions et/ou d'étirement des pattes postérieures. La DE₅₀ est évaluée par la méthode de Lichtfield et Wilcoxon (1949) décrite dans la revue J. Pharmacol. vol. 13, pages 99 à 113.

Les résultats obtenus sont reportés dans le Tableau I ci-après :

TABLEAU I
(Nombre de contorsions)

LOTS en mg/kg	Témoin NaCl	EH 12,5	EH 20	EH 25	EH 50	EH 100	EH 200	EH 400
Moyenne	50,4	41,1	23,3	18	19,7	11,3	6,6	5,8
Ecart-type	5,2	5,7	4,6	1,5	1,6	2,2	1	1,8
%/Témoins		-18%	-54%	-64%	-61%	-78%	-87%	-88%

** p < 0,01

La DE₅₀ est estimée à 25 mg/kg (24,4 - 25,4).

L'influence des produits de référence vis-à-vis d'une douleur induite par l'acide acétique par rapport aux mêmes témoins est la suivante : - 24 % pour le clorazépate dipotassique, - 58 %

pour l'acétylsalicylate de lysine, - 60 % pour le paracétamol et - 68 % pour le sulfate de morphine.

b) Test de la plaque chauffante

05 La méthode est inspirée de Janssen et Jagueneau, décrite par Boissier et coll. (1956) dans la revue Anesthésie et analgésie, vol. 13, pages 569 à 574. Deux mesures préalables à 10 min d'intervalle sont effectuées pour déterminer le temps de réaction individuel ; EUPHORBIA HIRTA est injectée aux doses de 12,5 - 25 - 50 - 100 - 200 et 400 mg/kg, 30 min avant le test ;
10 quatre produits de référence sont testés : le clorazébate dipotassique (Tranxène® Clin-Midy) aux doses de 20 et 40 mg/kg, l'acétylsalicylate de lysine (Aspégic® , Synthelabo) à la dose de 68 mg/kg, le paracétamol (Pro-Dafalgan® , Upsa) à la dose de 68 mg/kg et le sulfate de morphine aux doses de 1,15 - 2,30 - 4,60 et
15 9,20 mg/kg ; les animaux sont pris comme leur propre témoin.

Deux paramètres sont étudiés :

• Le pourcentage de variation du seuil douloureux, calculé selon le rapport :

$$20 \quad \frac{T \text{ avant traitement} - T \text{ après traitement}}{T \text{ avant traitement}} \times 100$$

(T correspond au temps moyen de réaction)

25 • Le pourcentage d'animaux présentant une analgésie positive ; l'analgésie est considérée comme positive, si le T après traitement est au moins le double de T avant traitement. La DE_{50} est évaluée de la même façon que précédemment par la méthode de Lichtfield et Wilcoxon (1949).

Les résultats obtenus sont reportés dans le Tableau II ci-après :

TABLEAU II

(Pourcentage de variation et d'analgésie positive)

05	LOTS en mg/kg	E.HIRTA 12,5		E.HIRTA 25		E.HIRTA 50		E.HIRTA 100		E.HIRTA 200		E.HIRTA 400	
		A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P
10	Moyenne en secondes	4,4	5,4	5,5	8,3 **	4,9	7,1 *	5,1	9 ***	5	9,8 ***	4,6	10,4 ***
	Ecart-type	0,3	0,4	0,4	0,9	0,4	0,7	0,3	0,7	0,3	0,7	0,2	0,9
15	% Variation		23		51		45		77		96		126
	% analg. +		10		30		20		40		55		70

A = avant traitement P = après traitement

20 * p < 0,05 ** p < 0,01 *** p < 0,001.

La DE₅₀ est estimée à 141 mg/kg (138,6 - 143,5).

Sur ce modèle, l'influence des produits de référence vis-à-vis du pourcentage de variation du temps de réaction est la suivante : le clorzébate dipotassique augmente significativement le temps de réaction aux 2 doses testées (43 % pour 20 mg/kg et 35 % pour 40 mg/kg) ainsi que le sulfate de morphine aux doses de 2,30 (40 %) - 4,60 (46 %) et 9,20 (84 %). L'acétylsalicylate de lysine et le paracétamol à 68 mg/kg n'exercent aucune protection (respectivement - 11 % et - 4 %).

30 c) Effet de la naloxone sur le test de la plaque chauffante

La naloxone N (Narcan® , Ciba-Geigy, Bâle) est injectée par voie sous-cutanée à raison de 1 mg/kg, 15 min avant l'injection d'EUPHORBIA HIRTA (200 mg/kg) et le sulfate de morphine (10 mg/kg). Le lot témoin naloxone reçoit le solvant (NaCl à 0,9 %).

35 Les résultats obtenus sont reportés dans le Tableau III ci-après :

TABLEAU III

(Pourcentage de variation et d'analgésie positive après naloxone)

LOTS	Témoin naloxone		Morphine 10 mg/kg		E. HIRTA 200 mg/kg	
	A	P	A	P	A	P
Moyenne	5,3	4,7	4,9	5,5	5,3	5,2
Ecart-type	0,3	0,5	0,2	0,3	0,2	0,3
% variation		-11%		+12%		-2%
% analgésie +		0%		0%		0%

La naloxone antagonise l'effet de EUPHORBIA HIRTA et de la morphine à la dose de 1 mg/kg sur le test de la plaque chauffante.

Des études toxicologiques ont également été menées.

a) Détermination de la DL₅₀ chez la souris après administration aigüe

par voie intra-péritonéale : les extraits aqueux d'EUPHORBIA HIRTA ont été administrés par voie i.p., à des lots de souris mâles Swiss, âgées de 7 à 9 semaines. La toxicité a été relevée pendant les 72 h suivant l'administration. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau IV ci-après.

TABLEAU IV

	Doses (g/kg)	Mortalité (%)
	7	20
	8	40
	10	60
10	11	60
	11,5	80
	12	90
	12,5	80
	13	90
15	14	100
	15	80
	17	100

20

La DL_{50} est estimée à 8,82 g/kg (8,79 - 8,85).

par voie orale : administrée aux doses de 3, 6 et 9 mg/kg à des souris Swiss de 7 à 9 semaines, EUPHORBIA HIRTA n'entraîne aucune mortalité. L'évolution pondérale n'est pas modifiée. Il en est de même de l'activité spontanée des animaux.

25

b) Administration chez l'homme

Comme indiqué ci-dessus, EUPHORBIA HIRTA a déjà été administrée, sous différentes formes.

30

Ainsi, un décocté lyophilisé d'EUPHORBIA HIRTA, administré par voie orale à la dose journalière de 10 g durant 3 jours a été bien toléré au cours d'un essai thérapeutique chez des malades atteints d'amibiase intestinale (Dalil M. : Essai thérapeutique d'un décocté lyophilisé d'EUPHORBIA HIRTA L. (MBAL) dans le traitement ambulatoire de l'amibiase intestinale - Thèse d'état de Docteur en Pharmacie, 1984, Université DAKAR, Faculté de Médecine et de Pharmacie, 70 p).

35

Pour l'utilisation d'EUPHORBIA HIRTA selon l'invention, on conditionne la poudre de plante ou l'extrait de celle-ci, éventuellement sous forme de lyophilisat ou de nébulisat, de façon classique. On peut notamment préparer diverses formulations galéniques, administrables par différentes voies en faisant intervenir des excipients, couramment utilisés dans l'industrie pharmaceutique.

Pour l'administration par voie orale : on peut préparer des comprimés, des gélules, des solutés... pour l'administration par voie externe : des pommades, collyres... pour l'administration par voie rectale : des suppositoires... par voie gynécologique : des ovules...

On peut également préparer des ampoules injectables par voie intraveineuse.

La préparation de ces diverses formes galéniques est à la portée de l'homme de métier.

La posologie peut varier dans de larges proportions, en particulier suivant le type et la gravité de l'affection à traiter et suivant le mode d'administration.

On peut, à titre indicatif, la chiffrer à 1,75 g par jour.

A titre d'exemple, on peut indiquer la préparation galénique suivante :

COMPRIMES à 300 mg comprenant :

25	. Lyophilisat de l'extrait aqueux d'EUPHORBIA HIRTA préparé selon le mode opératoire décrit ci-dessus	175 mg
	. Stéarate de magnésium	2 mg
	. Ac-Di-Sol	6 mg
	. Lactose fast flo	117 mg

La posologie est évaluée à titre indicatif, de 8 à 12 comprimés par jour.

REVENDEICATIONS

- 05 1. Utilisation d'EUPHORBIA HIRTA L. pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées au traitement symptomatique des affections douloureuses.
2. Utilisation selon la revendication 1 d'EUPHORBIA HIRTA, plante entière.
3. Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 2, d'extraits d'EUPHORBIA HIRTA.
- 10 4. Utilisation selon la revendication 3, caractérisé en ce que lesdits extraits sont des extraits aqueux, alcooliques ou hydroalcooliques.
- 15 5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, d'un extrait aqueux d'EUPHORBIA HIRTA obtenu par infusion-macération d'une poudre préparée à partir de la plante entière séchée.
6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, de lyophilisats ou de nébulisats préparés à partir d'EUPHORBIA HIRTA.
- 20 7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, pour la préparation de comprimés, dosés à 175 mg de lyophilisat d'un extrait aqueux d'EUPHORBIA HIRTA.