

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication : **MA 27683 A1**
(43) Date de publication : **02.01.2006**
(51) Cl. internationale : **A61K 31/205; A61K 31/519;
A61K 31/4985; A61P 15/00;
A61P 15/10**

(21) N° Dépôt :
27608

(22) Date de Dépôt :
05.04.2004

(30) Données de Priorité :
07.09.2001 LV P-01-00134

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/LV02/00004 04.03.2002

(71) Demandeur(s) :
• **KALVINSH IVARS, libieshu 25, LV-5052, IKSHKILE (LV)**
• **VEVERIS, MARIS, VEJAVAS 10/2, APT.20, LV-1035, RIGA (LV)**
• **BIRMANS ANATOLIJS, Hospitalu 8-35, LV-1013, Riga (LV)**

(72) Inventeur(s) :
kALVINSH, Ivars ; VEVERIS, Maris ; BIRMANS, Anatolijs

(74) Mandataire :
TMP AGENTS

(54) Titre : **COMPOSITION PHARMACEUTIQUE CONTENANT DE LA GAMMA-BUTYROBETAINE.**

803758
1/2

COMPOSITION PHARMACEUTIQUE CONTENANT DE LA GAMMA-BUTYROBETAINE

La présente invention se rapporte à une seconde utilisation médicale d'un agent pharmaceutique connu et une composition le comprenant, particulièrement pour normaliser et stimuler l'activité sexuelle et la potence chez les mammifères. L'invention présente de nouveaux effets de substances connues, présentant en combinaison des niveaux imprévus d'activité pharmacologique. En particulier, une composition pharmaceutique est présentée, comprenant des ingrédients actifs de la gamma-butyrobétaine (GBB) en combinaison avec 3-(2,2,2-triméthylhydrazinium)propionate (THP) ou l'inhibiteur de phosphodiesterase.

GBB (actinine), un intermédiaire dans la synthèse de la carnitine chez les organismes mammifères, a été initialement caractérisé comme une substance toxique, induisant la tachypnée, la salivation et la, la mydriase, la vasoconstriction et l'arrêt cardiaque en diastole (Linneweh W. Z Physiol Chem., 1929; 42:181). D'autres recherches ont démontré que la toxicité de GBB est extrêmement faible (LD = 7000 mg/kg subc.) (Rotzsch W, Lorenz I, Strack E. Acta biol med ger 1959; 3:28-36).

Les effets cardiovasculaires de la GBB ont été comparés à ceux de l'acétylcholine (Hosein EA, McLennan H. Pharmacological action of gamma-butyrobétaine. Nature 1959; 183:328), mais l'auteur a désavoué les données par la suite, qui a en effet investigué les effets du méthyl ester de la GBB. Un autre chercheur a soutenu que la GBB est inerte du point de vue pharmacologique (Hosein EA, Proulx P. Isolation and probable functions of betaine esters in brain metabolism. Nature 1960 ; 187:321. Burgen ASV, Hobiger F. Brit J Pharmacol. 1949 ; 4:229. Strack E, Foesterling K. Z Physiol Chem. 1, 953; 295:377). Au contraire, des propriétés radicales de récupération (Akahira M, Hara A, Abiko Y. Effect of Met-88, A gamma-butyrobétaine hydroxylase inhibitor, on myocardial derangements induced by hydrogen peroxide in the isolated perfused rat heart. Fundam Clin Pharmacol. 1997; 11 (4):356) et cardioprotective activity (Kalvins I, Veveris M. Latvian patent Nr. 11727) ont été démontrées par la suite en relation à la GBB. Il a été également révélé que la composition pharmaceutique contenant de la GBB en tant que principe actif est utile pour le traitement de l'insuffisance de la carnitine (Cavazza C. Pharmaceutical Composition comprising gamma-butyrobétaine. Demande de brevet GB 2 091 101 (1982)). Il n'existe pas de données relatives à l'influence de la GBB sur l'activité sexuelle et la virilité chez les mammifères.

Le 3-(2,2,2-Triméthylhydrazinium)propionate (THP) est également connu en tant que Mildronate ou Quaterine de médicament (Brevet du RU 2105992). Il interfère avec la biosynthèse de la carnitine et, par conséquent, limite le transport de l'acide gras à longue chaîne à travers les membranes mitochondriales (Simkhovich BZ, Shutenko ZV, Meirena DV et al. 3-(2, 2,2-triméthylhydrazinium)propionate (THP)- a novel Y-butyrobétaine inhibitor with cardioprotective properties. Biochem Pharmacol 1988 ; 37:195). Il a ainsi trouvé une application en tant que correcteur métabolique dans les cas de maladies ischémiques de différentes origines et de cytoprotecteur dans les conditions d'hypoxie.

Une composition pharmaceutique pour le traitement des maladies cardiovasculaires, contenant 3-(2,2,2-triméthylhydrazinium)propionate et la gamma-butyrobétaine a été révélée par le brevet letton LV 11728.

Cependant, il n'y a pas de données relatives à l'influence du 3-(2,2,2-triméthylhydrazinium)propionate (THP) ou ses combinaisons avec d'autres substances sur l'activité sexuelle et la virilité chez les mammifères.

Nous avons découvert de manière surprenante que la gamma-butyrobetaine et/ou THP provoque une activité sexuelle substantielle et de longue durée chez les animaux de laboratoire. De plus, la combinaison des deux substances produit une augmentation plus prolongée et plus importante de la pression intracaverneuse que chacune des substances constitutives séparément. En sus, la GBB ou sa combinaison avec le THP, exercent une influence positive sur la pression intracaverneuse, induite par la stimulation réfectoire. Ainsi nous avons inopinément découvert que la GBB ou sa combinaison avec le THP sont utiles pour la stimulation de l'activité sexuelle aussi bien que la virilité chez les mammifères. Cette activité ne peut pas être attribuée aux effets connus de la GBB et/ou le THP sur la rotation des acides gras ou d'autres effets physiologiques connus desdites substances.

Les effets pharmacologiques de la GBB, du THP et de leur combinaison sur l'activité sexuelle chez les mammifères a fait l'objet de recherches par un modèle sur la base du comportement d'accouplement chez un rat en état de dépression physiologique.

Des expériences ont été réalisées sur des rats Wistar adultes des deux sexes avec un poids corporel initial de 300 à 330 g. Au cours de l'expérience, les animaux ont été maintenus dans des cageots standards en groupes de 6. La nourriture a été un repas normalisé R70 (LABFOR, Lactamin AB, Sweden). La température de la chambre a été maintenue à 21 à 23 °C, l'humidité relative à 65 + 10% dans un cycle de 12 heures de lumière/obscurité. Au cours d'une semaine avant l'expérience il a été établi que la moyenne de consommation de l'eau par rat était de 8,2 à 12% (moyenne - 10%) de leur masse corporelle.

Les rats mâles ont été distribués aléatoirement sur 4 groupes, chacun de 6 animaux, et alimenté pendant 6 semaines avec la solutions aqueuse suivante : Groupe 1 (Groupe de Contrôle) – eau potable sans autre additif; Groupe 2 (Groupe GBB)-eau potable avec de la gamma-butyrobetaine y ajoutée (0,015% du poids), résultant en une moyenne journalière de prise de gamma-butyrobetaine de 15 mg/kg ; Groupe 3 (Groupe THP)- eau potable avec du THP y ajouté (0,06% du poids), résultant en une moyenne journalière de prise de THP de 60 mg/kg; Groupe 4 (Groupe GBB + THP)- eau potable avec du THP y ajouté (0,06% du poids) et gamma-butyrobetaine (0,015% du poids), résultant en une moyenne quotidienne de prise de THP de 60 mg/kg et de prise de gamma-butyrobetaine de 15 mg/kg.

L'activité d'accouplement des rat mâles a été testée quatre fois : après une semaine, après quatre semaines, après six semaines et 48 à 50 heures après l'interruption de la prise de la substance, quand tous les animaux ont reçue de l'eau potable sans additif.

Les tests ont été réalisés entre 10:00 et 12:00. Six rats mâles d'un groupe ont été placés dans un cageot (boîte) propre bien éclairé. Après 5 minutes de la période d'adaptation, 2 rats femelles ont été placées dans la boîte pour 10 minutes. Pour chaque rat mâle les données suivantes ont été collectées: 1) Intensité d'accouplement (nombre d'accouplements au cours de la période d'exposition); 2) la période d'excitation avec un enregistrement séparé du temps de retard – le temps écoulé jusqu'à ce que le rat mâle manifeste l'intérêt au rat femelle et le nombre de tentative d'approche/montée au cours de la période d' exposition; 3) la période post coitale – le comportement des rats mâles au cours de la période de 5 minutes après l'enlèvement des femelles. Le comportement post coital a été caractérisé par les marques suivantes : 0 – l'animal est passif, il s'allonge; 1- le rat est calme, pansage; 2 – le rat est mobile, en rut; 3 – l'animal est actif, agressif.

Les rats femelles utilisées on été en phase d'oestrus, induite par injection i.p. de 0,2 ml 0,1% de dipropionate estradiol 48 heures avant le test.

Il n'y a eu aucun changement significatif de dans la consommation de l'eau attribuable aux substances expérimentales, alors que le comportement sexuel des rats dans les groupes expérimentaux a été substantiellement différents de celui du groupe de contrôle.

Déjà une semaine après l'expérience, les animaux recevant la GBB ou la GBB+THP ont présenté un intérêt sexuel plus important et une activité dans les contacts sexuels ainsi qu'une période d'agitation post coïtal plus longue. L'application continue de la GBB a résulté en l'augmentation de l'activité sexuelle, reflétée par une intensité d'accouplement plus importante, alors que le rut et l'activité générale des animaux a déjà été moins influencée (Tableau 1-4).

Tableau 1. L'influence des agents thérapeutiques sur le nombre des tentatives de montée des rats mâles

Durée de thérapie	1 semaine	4 semaines	6 semaines	Post thérapie
Contrôle	1,8 ± 0,8	2,2 ± 0,5	2,3 ± 0,5	2,7 ± 0,5
GBB	3,8* ± 0,4	3,7 ± 0,7	3,3 ± 0,6	3,2 ± 0,5
THP	2,7 ± 0,6	3,0 ± 0,7	3,7 ± 0,5	3,4 ± 0,7
THP + GBB	3,8* ± 0,4	4,0* ± 0,4	3,7 ± 0,5	4,2* ± 0,4

*) p < 0,05 v.s. contrôle

Tableau 2. L'influence des agents thérapeutiques sur le temps de retard avant les tentatives de montée (en minutes)

Durée de thérapie	1 semaine	4 semaines	6 semaines	Post thérapie
Contrôle	5,8 ± 1,4	3,8 ± 0,8	4,7 ± 1,1	3,5 ± 0,7
GBB	3,7 ± 0,9	1,8* ± 0,4	2,8 ± 0,9	2,6 ± 0,6
THP	5,3 ± 1,0	3,0 ± 0,5	2,3 ± 0,5	2,4 ± 0,7
THP + GBB	3,5 ± 0,6	1,6* ± 0,4	1,8 ± 0,4	1,7* ± 0,4

*) p < 0,05 v.s. contrôle

Tableau 3. L'influence des agents thérapeutiques sur le nombre d'accouplements

Durée de thérapie	1 semaine	4 semaines	6 semaines	Post thérapie
Contrôle	0,3 ± 0,3	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2
GBB	0,8 ± 0,3	1,3 ± 0,5	1,2* ± 0,2	0,7 ± 0,2
THP	0,5 ± 0,3	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,3	1,0 ± 0,3
THP + GBB	0,8 ± 0,3	0,8* ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,2* ± 0,2

*) p < 0,05 v.s. contrôle

Tableau 4. L'influence des agents thérapeutiques sur la période d'agitation post coïtale chez les rats mâles

Durée de thérapie	1 semaine	4 semaines	6 semaines	Post thérapie
Contrôle	0,8 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,2 ± 0,3	1,5 ± 0,4
GBB	2,0* ± 0,4	1,2 ± 0,3	1,5 ± 0,4	1,2 ± 0,3
THP	1,0 ± 0,4	1,4 ± 0,5	1,8 ± 0,3	1,2 ± 0,4

THP + GBB	2,0* ± 0,4	1,4 ± 0,5	1,7 ± 0,3	1,8 ± 0,8
-----------	------------	-----------	-----------	-----------

*) p < 0,05 v.s. contrôle

L'utilisation de la GBB en combinaison avec le THP résulte en un intérêt sexuel et une activité d'accouplement augmentés au cours de toute la période de l'expérience. Après l'interruption du médicament, seul le groupe GBB + THP a présenté une activité d'accouplement plus importante en comparaison avec le groupe de contrôle.

Ainsi, nous avons démontré de manière expérimentale que la GBB seule et en combinaison avec le THP après une période de traitement de six semaines produit une augmentation importante et durable de l'activité d'accouplement chez les rats mâles. En plus, nous avons découvert une augmentation surprenante de l'efficacité de la combinaison de deux substances en comparaison avec leur activité quand elles sont utilisées de manière séparée.

Dans des expériences supplémentaires, les nouvelles compositions ont été comparées avec le stimulateur de virilité connue : la papavérine (Sarosdy MF, Hudnall CH, Erickson DR, Hardin TC, Novicki DE. A prospective double-blind trial of intracorporeal papaverine versus prostaglandin E 1 in treatment of impotence. J Urol, 1989; 141:551) qui est un stimulateur d'érection efficace à l'injection intracorporelle.

Les rats mâles adultes, pesant 300 à 410 g ont été utilisés. L'influence des substances expérimentales sur l'érection du pénis a été évaluée en utilisant le mode expérimental, où les changements de la pression intracorporelle ont été mesurés (Chen KK et al. J Urol, 1992; 147:1124).

Les rats ont été anesthésiés par le pentobarbital de sodium (50 mg/kg i.p. plus 8 mg/kg/h i. v. supplémentaires). La température du corps a été maintenue à 37 à 37,4 °C (contrôle rectal) par une lampe de chauffage. Un tube endotrachéal a été inséré pour assurer une respiration adéquate sous anesthésie. L'aiguille numéro 25 remplie de saline héparinisée a été connectée avec le transducteur de pression et introduite dans le pénis corpus cavernosum. La pression intracaverneuse et un fil II standard sur ECG ont été continuellement enregistrés sur physiographe DMP-4B (Narco Bio-Systems, USA). Dans certaines expériences la pression artérielle dans l'artère carotide commune a été également enregistrée.

L'effet des substances expérimentales a été déterminé sur la route d'introduction intraveineuse aussi bien que sur la route d'introduction intracaverneuse. Pour l'injection intracorporelle, les substances ont été dissoutes dans une solution NaCl (0,9%) isotonique et la dose introduite dans 0,05 ml du liquide. L'hydrochlorure de papavérine, utilisé dans les cliniques pour le test de virilité, a servi de standard positif (injection intracaverneuse de 0,2 mg par rat; intraveineuse de 2,0 mg/kg). La gamma-butyrobétaine (GBB) a été introduite séparément et en combinaison avec le THP ou l'inhibiteur de phosphodiesterase, en particulier, sildenafil.

La gamma-butyrobétaine (GBB) (injection intracaverneuse de 0,02 à 0,1 mg par rat, souvent 0,05 mg par rat; intraveineuse de 2,0 mg/kg) et le THP (injection intracaverneuse de 0,2 mg par rat; intraveineuse de 10,0 mg/kg) ont été introduits séparément et en tant que combinaison (GBB+THP).

Le sildenafil (injection intracaverneuse de 0,15 mg par rat, intraveineuse de 3,0 mg/kg) a été introduit séparément et en combinaison (GBB + sildenafil).

Il a été découvert que l'injection intracaverneuse du GBB produit une augmentation de la pression intracorporelle prononcée dépendante de la dose mais relativement à court terme (Tableau 5).

Tableau 5. L'influence des injections intracaverneuses des agents thérapeutiques sur la pression intracorporelle chez les rats narcotiques

Agent thérapeutique	Dose	Augmentation de la pression intracorporelle		Durée d'effet
	mg	mmHg	% de papavérine ***	Min
GBB	0,02	11,25** ± 3,3	30,6	3,0* ± 0,7
GBB	0,05	31,5 ± 5,1	85,7	4,3* ± 0,9
THP	0,2	2,7** ± 1,5	7,3	0,8** ± 0,4
THAP + GBB	0,2 + 0,05	40,0 ± 5,6	108,8	10,4 ± 2,0
Sildenafil	0,15	38,5 ± 7,3	104,8	7,5 ± 2,7
Sildenafil + GBB	0,15 + 0,05	25,2 ± 8,4	95,8	17,6* ± 4,3
Papavérine	0,2	36,75 ± 4,1	100	8,8 ± 1,4

*) $p < 0,05$ v.s. papavérine. **) $p < 0,01$ v.s. papavérine.

***) en % de l'augmentation produit par la papavérine

Le THP n'a pas produit de changements significatifs de la pression intracorporelle. L'activité de la GBB au cours de ce test a été inférieure à celle de la papavérine. De manière surprenante, l'effet de la combinaison de la GBB et du THP ou le sildenafil a été égal ou supérieur à celui de la papavérine. Aussi bien l'effet produit par la combinaison que sa durée ont été supérieures à ceux induits par chacun des ingrédients séparément.

Puisque l'injection intracaverneuse n'est pas populaire en raison des inconvénients au patient, la voie intraveineuse a été sélectionnée pour plus d'évaluation.

Il a été démontré que la papavérine intraveineuse et le THP présentent peu d'effet sur la pression intracorporelle alors que GBB et la combinaison GBB - THP sont hautement efficaces dans l'augmentation de la pression intracorporelle (Tableau 6).

Il est important de noter que la combinaison GBB - THP et la GBB en plus du sildenafil maintienne ses effet 2,25 fois ou même, de manière correspondante, 5,46 fois plus longtemps que la GBB seule. Il est également essentiel de noter que seule la combinaison GBB - THP a induit une réponse positive pour la réflexion de la stimulation du pénis résultant en une augmentation de la pression intracorporelle, une réponse atypique pour les animaux narcotiques.

Tableau 6. L'influence des injections intraveineuse des agents thérapeutiques sur la pression intracaverneuses chez les rats narcotisés

Agent	GBB	THP	THP + GBB	Sildenafil	Sildenafil + GBB	Papavérine
Augmentation réflexoire de la pression intracaverneuse (mm Hg)	7,3* ± 2,0	2,7 ± 1,2	21,7* ± 10,4	11,8* ± 3,6	7,3* ± 2,1	0,3 ± 0,3

Changements de la pression intraveineuse (mm Hg)	22,0* ± 3,6	1,3 ± 0,9	29,7** ± 4,3	12,3* ± 4,8	28,4* ± 7,9	0,6* ± 0,6
Durée de l'effet	2,8 ± 0,7	7,3* ± 2,0	6,3** ± 1,9	2,5* ± 1,1	15,3* ± 4,2	0,9* ± 0,9

*) p < 0,05 v.s. papavérine

**) p < 0,01 v.s. papavérine

Ainsi, il a été démontré que les compositions pharmaceutiques contenant la GBB ou une de ses combinaison avec le THP ou le sildenafil ont produit une augmentation de la pression intracorporelle non seulement par injection intracaverneuse, mais également, au contraire de la papavérine, par voie intraveineuse. Nous avons démontré que l'efficacité suprenante de la composition comprenant une combinaison de la de la GBB et le THP et la GBB plus le sildenafil dans l'induction d'une augmentation de la pression intracorporelle la durée d'effet imprévue, en comparaison avec chacun des composants de la combinaison utilisé seul, ainsi que restauration de la réponse positive du reflex à la stimulation mécanique du pénis.

En considération des effets positifs des substances présentées oralement, ils sont utiles pour la stimulation de l'activité sexuelle et de l'érection aussi bien dans une condition normale que dans une condition de dépression physiologique de la fonction of érectile, étant introduites aussi bien par voie entérale que par voie parentérale.

Dans les cas où les ingrédients actifs sont administrés par voie parentérale par injections ou oralement par gouttes, sirop ou boisson, la composition pharmaceutique contient la combinaison de la gamma-butyrobetaine avec le THP ou la gamma-butyrobetaine avec le sildenafil dans la quantité globale de 0,5 à 40% du poids total de la forme pharmaceutique et l'eau distillée, une solution saline physiologique, une solution de glucose ou une solution tampon en tant que solvant acceptable du point de vue pharmaceutique.

Dans les cas où la combinaison des ingrédients actifs est administrée sous forme de comprimés, capelets, capsules, pilules, granules, ou poudres, la composition pharmaceutique contient la combinaison de la gamma-butyrobetaine avec THP ou la gamma-butyrobetaine avec le dans une quantité globale de 0,5 à 5 g du poids par unité de dosage de comprimé, capelet, capsule, pilule, granule, or poudre.

Dans les cas où les ingrédients actifs sont administrés par voie transcutanée, topique, sublinguale, intrauretrale ou intranasale, leur contenu et de 0,5 à 40% du poids total de la forme pharmaceutique.

La composition pharmaceutique, en plus, peut inclure d'autres agents pharmaceutiques tels que d'autres inhibiteurs phosphodiésterases du type V (vardenafil, tadalafil et liés).

Revendications

1. Utilisation de la gamma-butyrobetaine en tant que base libre ou sel acceptable du point de pharmaceutique dans la production d'un médicament pour la normalisation et la stimulation de l'activité sexuelle et la virilité chez les mammifères.
2. Une composition pharmaceutique pour la stimulation de l'activité sexuelle et la virilité chez les mammifères comprenant la gamma-butyrobetaine en association avec un diluent ou transporteur acceptable du point de vue pharmaceutique.
3. La composition pharmaceutique de la revendication 2 comprenant en plus le 3-(2,2,2-triméthylehydrazinium)-propionate en tant que base libre ou sel acceptable du point de vue pharmaceutique.
4. La composition pharmaceutique de la revendication 2 comprenant en plus un inhibiteur de phosphodiesterase.
5. La composition pharmaceutique de la revendication 4 dont l'inhibiteur de phosphodiesterase et un inhibiteur du type V.
6. La composition pharmaceutique de la revendication 5 dont l'inhibiteur de phosphodiesterase du type V est sélectionné d'un groupe consistant en le sildenafil, le vardenafil, le tadalafil et liés.
7. L'utilisation de la composition pharmaceutique de l'une des revendications de 2 à 6 dans la production d'un médicament pour la normalisation et la stimulation de l'activité sexuelle et la virilité chez les mammifères.

Résumé

Une nouvelle utilisation médicale de la gamma-butyrobétaine est révélée. Sont également révélées les compositions pharmaceutiques contenant la gamma-butyrobétaine ou sa combinaison avec le 3-(2,2,2-triméthylehydrazinium)-propionate ou le sildénafil pour application par voie orale, parentérale, sous-cutanée, transdermique, topique, sublinguale, intraurétrales, intranasale ou rectale, utile pour la stimulation de l'activité sexuelle et la virilité chez les mammifères. Les compositions révélées, quand appliquées oralement pendant six semaines aux rats mâles non narcotiques, augmentent significativement leurs activités sexuelles, diminuant le temps d'excitation, augmentant le nombre d'accouplements et le nombre des tentatives de montée. Quand appliquées par voie intracaverneuse, lesdites compositions augmentent la pression intracorporelle et la durée d'érection et restaurent l'érection réflexe chez les animaux narcotiques.