

ROYAUME DU MAROC  
-----  
OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ (19)  
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE  
-----



المملكة المغربية  
-----  
المكتب المغربي  
للملكية الصناعية والتجارية  
-----

## (12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 29145 B1**  
(43) Date de publication : **02.01.2008**  
(51) Cl. internationale : **A61K 31/00; A61K 31/4166;  
A61Q 19/06; A61K 31/4545;  
A61P 3/04; A61K 31/444**

---

(21) N° Dépôt :  
**30067**

(22) Date de Dépôt :  
**12.07.2007**

(30) Données de Priorité :  
**14.12.2004 IT MI2004A002371**

(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT:  
**PCT/EP2005/013041 06.12.2005**

(71) Demandeur(s) :  
**MENARINI RICERCHÉ S.p.A., Via Tito Speri, 10 I-00040 Pomezia (IT)**

(72) Inventeur(s) :  
**GIULIANI, Sandro ; GIOLITTI, Alessandro ; LANDINI, Massimiliana**

(74) Mandataire :  
**ABU-GHAZALEH INTELLECTUAL PROPERTY (TMP AGENTS)**

---

(54) Titre : **PRÉPARATIONS PHARMACEUTIQUES POUR LE TRAITEMENT DE LA CELLULITE**

(57) Abrégé : LA PRÉSENTE INVENTION DÉCRIT DES PRÉPARATIONS PHARMACEUTIQUES POUR ADMINISTRATION LOCALE OU POUR EMPLOI DANS LE CADRE D'UNE MÉSOTHÉRAPIE, AINSI QUE LEUR UTILISATION DANS LE TRAITEMENT DE LA CELLULITE. LESDITES PRÉPARATIONS CONTIENNENT UN INHIBITEUR DE PDE3 AU TITRE DE PRINCIPE ACTIF.

**ABREGE**

**COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES POUR LE TRAITEMENT DE  
LA CELLULITE**

5

Sont révélées des compositions pharmaceutiques pour l'administration topique ou pour l'utilisation dans la mésothérapie, contenant un inhibiteur de PDE3 comme substance active, et leur utilisation dans le traitement de la cellulite.

^

COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES POUR LE TRAITEMENT DE  
LA CELLULITE

La présente invention concerne des formulations pharmaceutiques pour le traitement topique ou mésothérapeutique de la cellulite, qui contiennent en tant que substance active un inhibiteur de PDE3, éventuellement associé à d'autres substances ayant une activité anti-cellulite.

5           **Contexte de l'invention**

Cellulite, ou "panniculopathie oedémato-fibroscléreuse", est un trouble qui affecte l'hypoderme, un tissu situé au-dessous du derme, qui a une nature principalement adipeuse. La cellulite affecte presque exclusivement les femmes, et est souffert par approximativement 80 à 85% de la population  
10 féminine post-adolescente. Le tissu adipeux sous-cutané représente 25% de la masse corporelle chez les femmes, et a 3 fonctions de base : a) il assure la protection physique et mécanique ; b) il libère des substances de lipide et de protéine impliquées dans le métabolisme de lipide ; et c) il a une action d'endocrine et de paracrine.

15           Statistiquement, ce défaut affecte la majorité de femmes caucasiennes. Le problème est beaucoup moins fréquent chez les femmes d'autres races. Les femmes les plus susceptibles au trouble sont les femmes "méditerranéennes", généralement en raison du fait que leur sécrétion d'hormone est plus riche en oestrogènes.

20           Même les femmes minces tendent à présenter plus d'accumulations adipeuses marquées sur les cuisses.

Certains facteurs s'y mêlent défavorablement, entraînant des changements locaux qui affectent la microcirculation de la masse adipeuse. Avec le temps, ceci mène à des dysfonctions anatomiques et fonctionnelles du système vasculaire du  
25 tissu, qui produit des problèmes affectant l'hypoderme et la couche

immédiatement au-dessus d'elle, à savoir le derme.

La cellulite est provoquée par la dégénération de la microcirculation du tissu adipeux, avec le changement conséquent de ses fonctions métaboliques les plus importantes.

5 La conséquence évidente de cette dégénération de tissu est une augmentation du volume des cellules adipeuses, la rétention de liquide et de la stagnation de fluide dans les espaces intercellulaires.

10 Cellulite peut avoir des causes génétiques (prédisposition familiale), constitutionnelles, hormonales et vasculaires, souvent aggravées par un style de vie sédentaire, le stress, l'affection hépatique, le régime alimentaire pauvre, les troubles intestinaux ou les troubles caractérisés par la rétention liquide marquée.

15 Les déséquilibres hormonaux (les hormones d'affection ovarienne, pituitaire et thyroïde) sont la cause de la cellulite ; en raison de l'action des oestrogènes et de leurs effets sur la microcirculation, les femmes sont prédisposée à cette condition, particulièrement pendant la puberté, la grossesse et la période pré-ménopause, quand l'activité des hormones ovariens est à son plus haut niveau.

20 La susceptibilité à la cellulite est donc principalement basée sur les hormones plutôt que génétique.

Il y a un dimorphisme sexuel clair dans les caractéristiques structurelles du tissu connectif sous-cutané qui prédispose les femmes à développer les extrusions irrégulières du tissu adipeux caractéristiques de la cellulite dans le derme. Il a été suggéré que la prépondérance d'activité antilipolytique (le récepteur  $\alpha_2$  adrénergique dépendant) chez la femme comparée au tissu adipeux sous-cutané masculin peut favoriser de gros dépôts accrus dans les cuisses, et par conséquent l'aspect de la cellulite (Rosenbaum et al., Plastic and Reconstructive Surgery, 101(7) : 1934-1939, 1998).

D'ailleurs, la réponse lipolytique aux catécholamines des adipocytes provenant du tissu adipeux sous-cutané des fesses, des hanches ou du secteur fémoral est inférieure à celle du tissu adipeux viscéral (Lafontan et Berlan, TIPS, 24 : 276-283, 2003), qui cause une prédisposition à l'accumulation du  
5 tissu adipeux dans ces secteurs.

A présent, la cellulite est généralement traitée par :

*- des remèdes hysiques*

Des techniques telles que l'électrolipolyse et la thérapie de laser, l'ionophorèse, la thérapie d'ultrasons et la thérapie plus récents de l'ozone  
10 actuellement sont largement répandues en plus des techniques de massage ; cependant, aucune de ces techniques ne résout le problème à la racine.

*- les suppléments alimentaires*

De nombreux suppléments alimentaires sont disponibles sur le marché (les sels minéraux, particulièrement le potassium, les vitamines, les "brûleurs  
15 de graisse" ou les extraits diurétiques de plantes, les régulateurs d'intestins et les bioflavonoïdes) qui prétendent augmenter le métabolisme, améliorer la circulation, protéger contre les dommages cellulaires et réduire l'absorption de graisse ; cependant, on ne connaît aucune épreuve clinique valable qui confirme l'efficacité de ces suppléments alimentaires pour le traitement de la  
20 cellulite.

*- les produitsarmacologiquement actifs*

Selon une étude publiée dans le J. européen de la dermatologie 10(8) 596-603, 2000, le constituant actif le plus commun dans les 32 produits de cellulite analysés est la caféine, présente dans 14 produits pharmaceutiques.

25 D'autres composés généralement utilisés sont :

a) L'aminophylline, en raison de sa capacité d'augmenter le cAMP et la lipolyse ; des résultats favorables aussi bien que défavorables au sujet de son action anticellulite ont été publiés.

b) la levothyroxine, qui exploite la capacité des hormones thyroïde d'augmenter le métabolisme. En raison de la dose élevée de la levothyroxine, l'absorption systémique peut se produire, avec les effets conséquents de cardiostimulation et d'interférence avec la thyroïde, qui sont particulièrement nocifs chez les patients hyperthyroïdiens.

c) L'escin, en raison de sa capacité héparinoïde vasoprotectrice.

- *La mésothérapie*

Cette technique implique des injections intradermiques locales de médicaments normalement administrés par voie systémique. Elle permet à une petite quantité du produit d'être injecté directement dans l'emplacement de la cellulite ; la technique est donc non systémique et pas très invasive. Un effet thérapeutique à long terme peut être obtenu avec la mésothérapie parce que l'absorption du médicament au niveau cutané est lente. Les composés actuellement utilisés dans la mésothérapie pour le traitement de la cellulite sont le coenzyme A, la phosphatidylcholine, l'aminophylline, l'escin et les produits homéopathiques.

L'adipocyte est une cellule qui modifie facilement ses dimensions : avec la lipogenèse son volume augmente, et avec la lipolyse son volume diminue.

La lipogenèse est produite par la LPL (la lipoprotéine lipase) : les adipocytes à côté des capillaires synthétisent et libèrent la LPL, qui hydrolyse les triglycérides (TG) présentes dans la lipoprotéine à une densité très faible (VLDL) et dans les kilométries. Le glycérol et les acides gras sont libérés, capturés par les adipocytes, et estérifiés dans des triglycérides.

La lipolyse est produite par la lipase sensible aux hormones (HSL) : elle hydrolyse les TGs présents dans les adipocytes dans les acides gras libres et le glycérol. L'enzyme actif est phosphorylé par la protéine kinase A cAMP dépendante.

La synthèse de cAMP est dépendante de deux systèmes enzymatiques

opposés

d) la cyclase d'adénylate, qui transforme le triphosphate d'adénosine en cAMP. Il est négativement régulé par les récepteurs  $\alpha_2$  adrénergiques et positivement par les récepteurs  $\beta$  adrénergiques

5 e) la phosphodiesterase, qui décompose cAMP en AMP inactif sur HSL. Cette activité est inhibée par la caféine, la théophylline et l'aminophylline.

En sus, l'adipocyte sécrète de nombreux facteurs tels que le la leptine (facteur de satiété), les facteurs angiogéniques (angiotensinogènes), les  
10 prostaglandines  $PGE_2$  (propriétés d'antilipolyse) et  $PGI_2$  (différentiation cellulaire), l'acide lysophosphatidique (prolifération cellulaire) et les stéroïdes.

#### *Stratégies de traitement*

Le développement des bases pharmacologiques pour le traitement de la cellulite a traversé un certain nombre d'étapes. Dans les années 80, l'inhibition  
15 de la phosphodiesterase (PDE) avec de la xanthine (caféine) a été utilisée. Dans les années 90, le problème a été abordé en cherchant à améliorer l'insuffisance vénolymphatique avec des extraits de plantes ayant un drainage et une activité anti-oedémateuse (les flavonoïdes et les saponosides). Plus récemment, une tentative a été faite pour restructurer le tissu connectif avec  
20 des constituants des enzymes extracellulaires de matrice et de dégradation.

L'approche thérapeutique la plus prometteuse, cependant, semble être celle conçue pour augmenter le métabolisme et la lipolyse d'adipocyte.

La lipolyse peut être induite par : a) la stimulation des récepteurs  $\beta$  adrénergiques ; b) l'inhibition des récepteurs d'adénosine ou  $\alpha_2$  adrénergiques  
25 ; c) l'inhibition de la phosphodiesterase.

Une série d'épreuves cliniques a évalué les effets de l'application locale d'un stimulant  $\beta$  adrénergique (isoprenaline), un antagoniste  $\alpha_2$  adrénergique (yohimbine) et un inhibiteur de phosphodiesterase (aminophylline). Les

résultats démontrent qu'une réduction en graisse localisée peut être obtenue de manière pharmacologique, sans suivre un régime ou faire de l'exercice (Greenway et al., *Obes res.*, 3 : 561S-568S, 1995).

5 La stimulation du récepteur  $\beta$  adrénergique augmente la concentration de cAMP dans les cellules adipeuses, stimulant de ce fait la lipolyse. Une autre manière d'augmenter cAMP est de prévenir sa dégradation en inhibant la phosphodiesterase d'enzymes.

10 Les inhibiteurs de PDE les plus communs (caféine, théophylline et aminophylline) sont insuffisants en raison de leur faible spécificité et leur faible capacité d'être topique absorbés. PDE3, et particulièrement PDE3B, sont présents dans les adipocytes humains ; il semble par conséquent nécessaire d'inhiber ces sous-types d'enzymes sélectivement pour obtenir un effet limité au tissu adipeux.

Brevets déposés dans le sujet :

15 EP692250 sur l'utilisation des flavones pour améliorer la microcirculation GB1588501, FR2797765, EP1261310 et EP1259221 concernant l'utilisation cosmétique de la xanthine pour activer la lipase.

20 Des informations fournies ci-dessus, il est évident que l'activité lipolytique est essentielle, mais non suffisante, pour le traitement de la cellulite. Les traitements qui ont été utilisés jusqu'ici, en utilisant souvent des inhibiteurs de phosphodiesterase tels que la xanthine, n'ont donné entière satisfaction. Ainsi, le besoin de nouveaux traitements efficaces pour ce changement morphologique multifactoriel de graisse sous-cutanée est fortement senti.

25 Un groupe d'aryldihydropyridazones et d'aryldiméthylpyrazolones en tant qu'inhibiteurs sélectifs de PDE3B potentiellement utiles dans le traitement de l'obésité est décrit dans *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (2003), 13, 3983-3987.



**Description de l'invention**

Il a été maintenant constaté que les inhibiteurs de PDE3 (phosphodiesterase-3), en particulier les inhibiteurs de l'isoforme PDE3B, qui est principalement exprimé dans le tissu adipeux humain, sont étonnamment  
5 efficaces contre la cellulite.

En conséquence, l'invention fournit l'utilisation d'un PDE3, de préférence un inhibiteur de PDE3B pour préparer une composition pharmaceutique pour le traitement topique ou mésothérapeutique de la cellulite.

10 Parmi les inhibiteurs de PDE3, les composés d'anagrélide, de cilostazol, de pimobendan, de milrinone, d'amrinone, d'olprinone, d'enoximone, de cilostamide, de vesnarinone, de trequinsin et leurs sels acceptables sur le plan pharmaceutique sont préférés. Milrinone, trequinsin et cilostamide sont particulièrement préférables.

15 Un nouveau groupe d'inhibiteurs PDE3 préférés selon la présente invention sont les composés décrits dans Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, (2003), 13, 3983-3987 ; en particulier les composés :

- 1) 6-[4-(2-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-5-methyl-4,5-dihydro-2-*H*-pyridazin-3-one (composé 8a)
- 20 2) 3-{2-[4-(4,4-Dimethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1-*H*-pyrazol-3-yl)-2,3-difluoro-phenylamino]-6-oxo-cyclohex-1-enylmethyl}-benzonitrile (composé 18n)
- 3) 5-{4-[2-(2,6-Dichloro-benzyl)-3-oxo-cyclohex-1-enylamino]-2-fluoro-phenyl}-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one  
25 (composé 18h)
- 4) 5-[4-(2-benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one (composé 18a)
- 5) 5-{4-[2-(3-nitro-benzyl)-3-oxo-cyclohex-1-enylamino]-2-fluoro-

A/

phenyl}-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one (composé 18f)

- 6) 6-[4-(2-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-2-fluoro-phenyl]-  
5-methyl-4,5-dihydro-2-*H*-pyridazin-3-one (composé 14l)

Comme utilisé dans les présentes, le terme "topique" signifie conçu pour ou  
5 comportant l'application et l'action locales. Les compositions topiques sont de  
préférence sous forme de crème, crème non huileuse, onguent, formulations  
huileuses et non huileuses, gel, spray-gel et patch. Pour l'usage dans la  
mésothérapie, les compositions devraient être sous une forme appropriée à  
l'injection intradermique locale, de préférence sous forme de solutions  
10 injectables.

La substance active est présente dans des concentrations s'échelonnant  
de 0,1 à 3%, de préférence de 1 à 2% basés sur le poids total de la composition  
pour les formes topiques et de 0,1 à 1% du poids pour les formes injectables  
pour l'usage dans la mésothérapie. En plus des inhibiteurs de PDE3, les  
15 compositions selon l'invention peuvent contenir un composé, un mélange de  
composés ou un extrait actif sur la microcirculation, de préférence une  
saponine ou une flavone ou extraits les contenant. Les plus préférés sont les  
extraits de *Ginkgo biloba*, de l'arnica, de l'ananas, du quai de dong (*Angelica  
siniensis*), *Centella asiatica*, et de l'escin de saponine.

20 Le composé, l'extrait ou le mélange des substances actives sur la  
microcirculation sont contenus dans la composition à une concentration de 0,1  
à 4%.

Les compositions selon la présente invention peuvent en sus contenir  
des excipients acceptables sur le plan pharmaceutique, tels que les adjuvants,  
25 en particulier l'eau ou les alcools (éthanol), les vitamines, en particulier le  
tocophérol, le palmitate de dexpanthénol ou de rétinol, les agents  
épaississants, les conservateurs, les colloïdes protecteurs, les hydratants, les  
parfums, les électrolytes, les parfums, les agents gélifiants, les agents pour

augmenter la perméabilité de la peau, les polymères ou les copolymères, les émulsifiants, les agents stabilisants d'émulsion et d'autres excipients acceptables sur le plan pharmaceutique.

Les conservateurs préférés sont des substances avec une faible allergénicité tel que l'alcool éthylique ou l'alcool benzylique.

Les formulations topiques peuvent contenir les dérivés insaturés d'acide oléique, tels que l'acide 10trans-12cis linoléique.

Les agents gélifiants particulièrement appropriés sont le carbomère, plus préférablement le carbomère 940, le polyacrylamide isoparaffin-laureth-7, la gomme de xanthane, le carrageenine, la gomme arabique, la gomme de guar, le gel d'agar, les alginates et le méthylhydroxycellulose, le carboxyméthylcellulose, la cellulose hydroxypropylique, le méthylcellulose hydroxypropylique, l'hydroxyéthylcellulose, l'éthylcellulose, les polyacrylates, le polivinylalcool, le polyvinylpyrrolidone, la silice colloïdale. L'urée et le panthenol sont des exemples des hydratants selon l'invention.

Les techniques pour la préparation des compositions pharmaceutiques de la présente invention sont connues aux personnes expérimentées en la matière et sont décrites par exemple dans Remington's Pharmaceutical Sciences, XVIII Ed. Mack Publishing Co.

Les formulations pharmaceutiques contenant un inhibiteur de PDE3, comme décrit ci-dessus, sont commodément utilisées pour le traitement topique de la cellulite chez l'homme, de préférence chez la femme.

Les exemples suivants illustrent l'invention en plus de détails.

### EXEMPLES

#### EXEMPLE 1. Crème non huileuse (% du poids)

*Substance active :*

Amrinone	1
Escin	2

*Excipients :*

	Monostéarate de glycéryl	8
	Macrogol céstéaryl éther	2,5
	Pétrolatum liquide	2
5	Pétrolatum blanc	2
	Myristate d'isopropyle	4
	Alcool de myristyle	3
	Esters d'acide p-hydroxybenzoïque	0,3
	Eau dépurée q.s. pour	100 g

10 **EXEMPLE 1.2***Substance active :*

- Milrinone 1

*Excipients :*

	Alccol de céstéaryle	4,5
15	Monostéarate de glycéryl	8,0
	Pétrolatum liquide	2
	Pétrolatum blanc	2
	Dimethicone	0,30
	Myristate d'isopropyle	1
20	Alcool de myristyle	3
	Huiles essentielles	q.s.
	Eau dépurée q.s. pour	100 g

**EXEMPLE 1.3***Substance active :*

25 Trequinsine 2

*Excipients :*

Acide oléique 5,0  
Stéarate de macrogol 40 9,0

	Alccol de cétostéaryle	6,0
	Butyl hydroxyanisole	0,02
	Trometamol	0,1
	Dimethicone	0,3
5	Carbopol 980	0,3
	Propylène glycol	20,0
	Sulfite de sodium	0,1
	Huiles essentielles	q.s.
	Eau dépurée q.s. pour	100 g
10	<b>EXEMPLE 2. Gel hydroalcoolique gel (% de poids)</b>	
	<i>Substance active :</i>	
	Milrinone	2
	<i>Excipients :</i>	
	Carbomère	1,5
15	Alcool éthylique 96° EP	40 ml
	Huiles essentielles	q.s.
	Triéthanolamine	q.s. pour ajuster le pH
	Eau dépurée q.s. pour	100 g
20	<b>EXEMPLE 3. Crème lipophile (% de poids)</b>	
	<i>Substance active :</i>	
	Amrinone	1
	<i>Excipients :</i>	
	Diisostéarate de polyglycéryl-3	4
25	Oléate de glycéryl	2
	Cire d'abeille	7
	Ether de dicapryle	10
	Laurate d'héxyldécanol/héxyldécyl	10



	Glycérine 85%	5
	Sulfate de magnésium 7H <sub>2</sub> O	1
	Esters d'acide p-Hydroxybenzoïque	0,1
	Huiles essentielles	q.s.
5	Eau dépurée q.s. pour	100 g

**EXEMPLE 4. Crème non huileuse** (% de poids)

*Substance active :*

3-{2-[4-(4,4-Dimethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1-*H*-pyrazol-3-yl)-2,3-difluoro-phenylamino]-6-oxo-cyclohex-1-enylmethyl}-benzonnitrile: 1

10 *Excipients :*

	Acide oléique	5,0
	Stéarate de macrogol 40	9,0
	Alccol de cétostéaryle	6,0
	Hydroxyanisole butylique	0,02
15	Trometamol	0,1
	Dimeticone	0,3
	Carbopol 980	0,3
	Propylène glycol	20,0
	Sulfite de sodium	0,1
20	Eau dépurée q.s. pour	100g

Les substances actives suivantes peuvent être formulées en tant que crèmes non huileuses suivant l'exemple 4 :

6-[4-(2-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-5-methyl-4,5-dihydro-2-*H*-pyridazin-3-one ;

25 5-{4-[2-(2,6-Dichloro-benzyl)-3-oxo-cyclohex-1-enylamino]-2-fluoro-phenyl}-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;

5-[4-(2-benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;

^

5- $\{4-[2-(3\text{-nitro-benzyl})-3\text{-oxo-cyclohex-1-enylamino}]-2\text{-fluoro-phenyl}\}$ -4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;

6- $[4-(2\text{-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino})-2\text{-fluoro-phenyl}]-5\text{-methyl-4,5-dihydro-2-H-pyridazin-3-one}$ .

5 **EXEMPLE 5: Solution injectable pour la mésothérapie (fiole de 5 ml) (les quantités sont exprimées en mg/ml) :**

*Substance active :*

Milrinone 5

*Excipients :*

10 Métabisulfite de sodium, acide lactique 0,2 à 0,5

Eau dépurée q.s. pour 5 ml

**EXEMPLE 6: Test d'efficacité**

La cellulite est un problème avec une étiologie multifactorielle, dans laquelle la lipogenèse joue un rôle crucial. La détermination *in vitro* de l'activité lipolytique est donc un facteur essentiel dans le criblage initial des médicaments anticellulite potentiels, même si totalement insuffisante pour l'identification d'un candidat final. Un essai *in vitro* de l'activité lipolytique doit donc être associé à un essai qui évalue l'efficacité *in vivo*.

Essais *In vitro*

20 • La détermination du glycérol extracellulaire produit par la lipolyse des triglycérides d'adipocyte.

L'essai *in vitro* de la lipolyse a été effectué sur les adipocytes humains obtenus à partir des cultures primaires de leurs progéniteurs, preadipocytes (Promocell), en induisant la différenciation. La différenciation réelle d'adipocyte a été établie en analysant la déshydrogénase de glycérol-3-phosphate (une enzyme exprimée en adipocytes mûrs, mais pas en preadipocytes) et les lipides accumulés au niveau intracellulaire, avec de l'huile Red O (Sigma).

The PDE3 inhibitors were preincubated with the adipocytes at various

concentrations for 15 min; 10 nM of isoprenalin, able to induce weak stimulation of lipolysis (25% of the maximum response obtained with isoprenalin 1  $\mu$ M), was then added. After 4 h the culture medium was removed, and the quantity of intracellular lipids accumulated in each well was determined with Oil Red O.

L'activité lipolytique a été évaluée en déterminant le glycérol libéré dans le milieu extracellulaire après l'hydrolyse de triglycéride.

Dans cet essai, les formulations avec les inhibiteurs de PDE3, y compris les inhibiteurs sélectifs de PDE3B selon l'invention, se sont avérés comparables ou plus efficaces que les formulations semblables contenant les inhibiteurs non-sélectifs de PDE (caféine, théophylline).

*Effet de certains inhibiteurs de PDE sur la libération de glycérol, stimulée par 10 nM d'isoprenaline, dans les adipocytes humains cultivés*

15

---

% AUGMENTATION DE LA LIPOLYSE

10  $\mu$ M

---

	Amrinone	20 $\pm$ 6
	Anagrélide	114 $\pm$ 11
20	Cilostazol	31 $\pm$ 9
	Enoximone	65 $\pm$ 4
	Milrinone	151 $\pm$ 16
	Pimobendan	159 $\pm$ 22
	Trequinsine	276 $\pm$ 59
25	Théophylline	5 $\pm$ 4
	Cafféine	10 $\pm$ 5

---

• Détermination de la production de cAMP dans les adipocytes

cAMP est un messager intracellulaire, dont les niveaux dépendent sur

^ -



sa synthèse (activité de cyclase d'adénylate) et sa séparation (activité de phosphodiesterase). Les adipocytes sont transférés à une solution saline à laquelle des agents lipolytiques (activateurs de cyclase d'adénylate), les agents antilipolytiques (activateurs de phosphodiesterase) et les inhibiteurs de PDE3  
5 sont ajoutés. Après une période appropriée d'incubation, le procédé est interrompu et cAMP formé dans les cellules est extrait. L'extrait de cellules est lyophilisé, puis pris et analysé avec l'enzyme colorimétrique d'immunoassai (EIA) disponible sur le marché (Amersham, Cayman). Les niveaux de cAMP sont déterminés selon les instructions du fournisseur. Dans  
10 cet essai, les formulations avec les antagonistes de PDE3 selon la présente invention se sont avérés plus efficaces que les formulations semblables contenant les inhibiteurs non sélectifs de PDE (caféine, aminophylline).

#### Essais In vivo

10 femmes adultes en bonne santé présentant une cellulite évidente dans  
15 la partie externe supérieure des cuisses ont été examinés.

Chaque patiente s'est servi de son propre contrôle pour l'évaluation de l'efficacité et de la sécurité. La crème contenant le constituant actif (Milrinone de 1%) a été répandue sur la partie externe d'une cuisse, alors que la crème de base (sans constituant actif) était étendue dans le même secteur de l'autre  
20 cuisse, de manière aléatoire.

Le traitement avec approximativement 2 à 3 cm de crème, massés pendant 2 à 3 minutes jusqu'à absorption, ont été répétés deux fois par jour chaque jour pendant 2 mois.

Pendant l'essai, les patients n'ont pas suivi un programme d'exercice et  
25 n'ont été soumis à aucune restriction de régime.

La circonférence de chaque cuisse a été mesurée périodiquement, deux tiers de la distance entre le genou et le trochanter le plus grand, jusqu'à la fin du traitement. La réduction de la circonférence de la cuisse traitée de manière pharmacologique comparée à

la cuisse non traitée était de  $2,9 \pm 0,7$  cm, avec une gamme de 1,3 à 4,7 cm.

A la fin de la période d'observation, la détermination de PDE3 dans le sang n'a pas détecté la présence du composé.

**REVENDICATIONS**

1. Composition pharmaceutique pour administration topique, contenant un inhibiteur de PDE3 en tant que substance active, pour l'usage dans le traitement de la cellulite.
2. Composition pharmaceutique selon la revendication 1, contenant un inhibiteur de l'isoforme PDE3B en tant que substance active.
3. Composition selon les revendications 1 à 2, où ledit inhibiteur est choisi dans le groupe se composant de l'anagrélide, le cilostazol, le pimobendan, le milrinone, l'amrinone, l'olprinone, l'énoximone, le cilostamide, le vesnarinone et la trequinsine.
4. Composition selon la revendication 3, où ledit inhibiteur est le milrinone, le cilostamide ou la trequinsine.
5. Composition selon les revendications 1 ou 2, où ledit inhibiteur est choisi dans le groupe se composant de :
  - a) 6-[4-(2-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-5-methyl-4,5-dihydro-2-*H*-pyridazin-3-one ;
  - b) 3-{2-[4-(4,4-Dimethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1-*H*-pyrazol-3-yl)-2,3-difluoro-phenylamino]-6-oxo-cyclohex-1-enylmethyl}-benzonitrile ;
  - c) 5-{4-[2-(2,6-Dichloro-benzyl)-3-oxo-cyclohex-1-enylamino]-2-fluoro-phenyl}-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;
  - d) 5-[4-(2-benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;
  - e) 5-{4-[2-(3-nitro-benzyl)-3-oxo-cyclohex-1-enylamino]-2-fluoro-phenyl}-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;
  - f) 6-[4-(2-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-2-fluoro-phenyl]-5-methyl-4,5-dihydro-2-*H*-pyridazin-3-one.
6. Composition selon les revendications 1 à 5, qui est sous forme de gel,

gel spray, crème, crème non huileuse, formulation d'huile-non-huile, onguent ou plâtre collant.

7. Composition selon les revendications 1 à 5, qui est sous une forme appropriée à l'injection intradermique locale ou la mésothérapie.
- 5 8. Composition selon la revendication 7, qui est sous forme de solution injectable.
9. Composition selon les revendications 1 à 8, où la quantité de substance active est de 0,1 à 3% du poids.
- 10 10. Composition selon les revendications 6 et 9, où ladite quantité est de 1 à 2% du poids.
11. Composition selon les revendications 7 à 9, où ladite quantité est de 0,1 à 1% du poids.
12. Composition selon les revendications 1 à 11, contenant en outre un composé, un mélange de substances ou un extrait actif sur la microcirculation.
- 15 13. Composition selon la revendication 12, contenant un extrait de arnica, de Ginkgo biloba, d'ananas, de quai de dong (*Angelica sinensis*) ou de *Centella asiatica*.
14. Composition selon la revendication 12, où ledit composé est une saponine ou une flavone.
- 20 15. Composition selon la revendication 14, où ledit composé est l'escin.
16. Composition selon les revendications 12 à 15, où le composé, le mélange de substances ou l'extrait actif sur la microcirculation est présent à une concentration s'échelonnant entre 0,1 et 4% du poids.
17. Utilisation d'un inhibiteur de PDE3 pour la préparation de composition  
25 pharmaceutique pour le traitement topique ou mésothérapeutique de la cellulite.
18. Utilisation selon la revendication 17 d'un inhibiteur de PDE3B choisi dans le groupe se composant de l'anagrélide, le cilostazol, le pimobendan, le

milrinone, l'amrinone, l'olprinone, l'énoximone, le cilostamide, le vesnarinone, la tréquinsine.

19. Utilisation selon la revendication 17 d'un inhibiteur de PDE3B choisi dans le groupe se composant de :

- 5 a) 6-[4-(2-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-5-methyl-4,5-dihydro-2-*H*-pyridazin-3-one ;
- b) 3-{2-[4-(4,4-Dimethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1-*H*-pyrazol-3-yl)-2,3-difluoro-phenylamino]-6-oxo-cyclohex-1-enylmethyl}-benzonitrile ;
- c) 5-{4-[2-(2,6-Dichloro-benzyl)-3-oxo-cyclohex-1-enylamino]-2-  
10 fluoro-phenyl}-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;
- d) 5-[4-(2-benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-phenyl]-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;
- e) 5-{4-[2-(3-nitro-benzyl)-3-oxo-cyclohex-1-enylamino]-2-fluoro-phenyl}-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one ;
- 15 f) 6-[4-(2-Benzyl-3-oxo-cyclohex-1-enylamino)-2-fluoro-phenyl]-5-methyl-4,5-dihydro-2-*H*-pyridazin-3-one.