



## (12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 31933 B1** (51) Cl. internationale : **A23L 1/00; A61K 31/11**  
(43) Date de publication : **01.12.2010**

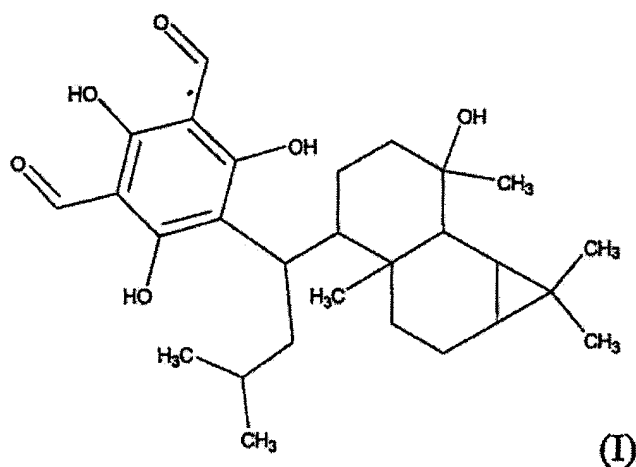
- 
- (21) N° Dépôt : **32944**  
(22) Date de Dépôt : **22.06.2010**  
(30) Données de Priorité : **18.01.2008 FR 0800276**  
(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/FR2009/000038 13.01.2009**  
(71) Demandeur(s) : **PIERRE FABRE MEDICAMENT, 45 PLACE ABEL GANCE 92100 BOULOGNE (FR)**  
(72) Inventeur(s) : **FIORINI-PUYBARET, Christel ; JOULIA, Philippe**  
(74) Mandataire : **CABINET PATENTMARK**

- 
- (54) Titre : **5-[1'-(DECAHYDRO-7-HYDROXY-1,1,3A,7-TETRAMETHYL-1H-CYCLOPROPA[A]NAPHTALEN-4-YL) -3'-METHYLBUTYL]-2,4,6-TRIHYDROXY-1,3-BENZENEDICARBOXALDEHYDE EN TANT QUE MEDICAMENTS**  
(57) Abrégé : LA PRÉSENTE INVENTION CONCERNE LES NOUVEAUX COMPOSÉS DE FORMULE (I) AINSI QUE LEUR UTILISATION EN TANT QUE MÉDICAMENTS. PRÉFÉRENTIELLEMENT, LESDITS COMPOSÉS SONT UTILISÉS POUR LA PRÉPARATION D'UN MÉDICAMENT OU D'UN COMPLÉMENT ALIMENTAIRE DESTINÉ AU TRAITEMENT ET/OU À LA PRÉVENTION DES AFFECTIONS OU PATHOLOGIES DÉCOULANT D'UN DÉSORDRE DE LA RECAPTURE DES NEUROMÉDIATEURS SUIVANTS : DOPAMINE, SÉROTONINE ET/OU NORADRÉNALINE

## ABREGE DESCRIPTIF

5-[1'-(DECAHYDRO-7-HYDROXY-1,1,3A,7-TETRAMETHYL-  
1H-CYCLOPROPA[A]NAPHTALEN-4-YL)-3'-METHYLBUTYL]  
-2,4,6-TRIHYDROXY-1,3-BENZENEDICARBOXALDEHYDE  
EN TANT QUE MEDICAMENTS

La présente invention concerne les nouveaux composés de formule (I) ainsi que leur utilisation en tant que médicaments. Préférentiellement, lesdits composés sont utilisés pour la préparation d'un médicament ou d'un complément alimentaire destiné au traitement et/ou à la prévention des affections ou pathologies découlant d'un désordre de la recapture des neuromédiateurs suivants : dopamine, sérotonine et/ou noradrénaline.

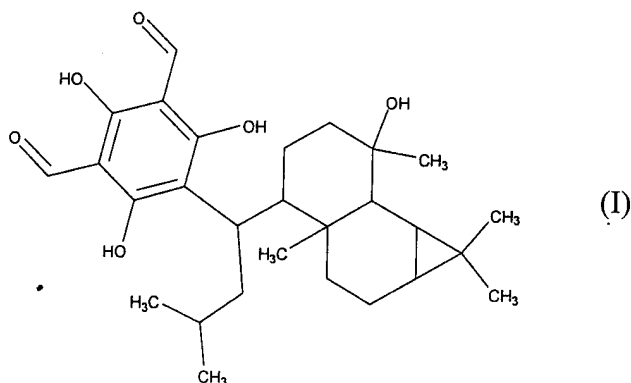


**5-[1'-(DECAHYDRO-7-HYDROXY-1,1,3A,7-TETRAMETHYL-1H-CYCLOPROPA[A]NAPHTALEN-4-YL)-3'-METHYLBUTYL]-2,4,6-TRIHYDROXY-1,3-BENZENEDICARBOXALDEHYDE  
EN TANT QUE MEDICAMENTS**

5

La présente invention concerne les nouveaux composés de formule (I), appartenant à la famille des macrocarpals, ainsi que leur utilisation en tant que médicaments. Préférentiellement, lesdits composés sont utilisés pour la préparation d'un médicament ou d'un complément alimentaire destiné au traitement et/ou à la prévention des affections ou pathologies découlant d'un désordre de la recapture des neuromédiateurs suivants : dopamine, sérotonine et/ou noradrénaline.

10



Les macrocarpals sont des composés de la famille chimique des acylphloroglucinols. Dans le règne végétal, ils sont principalement présents dans différentes espèces du genre Eucalyptus.

15

Des propriétés cosmétiques viennent d'être décrites pour, entre autres, les macrocarpals L et M (JP 2001055325 et SHIBUYA Y. et al, 2001 - Isolation and structure determination of new Macrocarpals from a Herbal Medicine, Eucalyptus globulus Leaf - *Natural Medicines* 55 (1), 28-31).

20

Menant des recherches actives sur des inhibiteurs de la recapture de neuromédiateurs, la Demanderesse a constaté de manière particulièrement surprenante, que de nouveaux composés de la famille des macrocarpals et plus particulièrement le macrocarpal L et M présentaient des propriétés pharmacologiques dans ce domaine.

25

Un des objets de la présente invention est de fournir de nouveaux composés chimiques de formule (I) pour lesquels des applications thérapeutiques peuvent être envisagées.

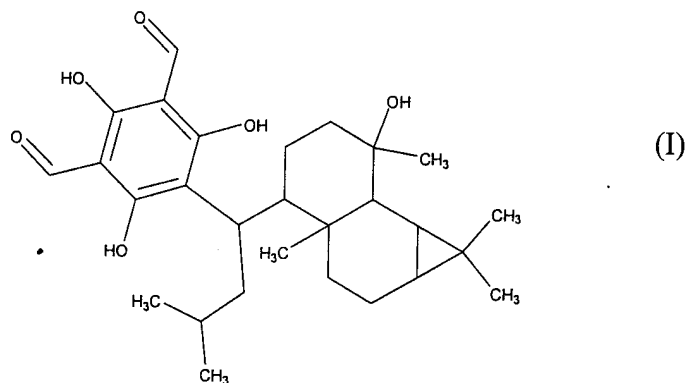
*fec*

La présente invention concerne donc également lesdits composés de formule (I) en tant que médicaments, ainsi que des compositions pharmaceutiques ou des compléments alimentaires comprenant en tant que principe actif au moins un composé de formule (I).

5 Enfin, un autre objet de la présente invention est l'utilisation desdits composés (I) pour le traitement et/ou la prévention des affections ou pathologies neurologiques, psychiatriques et troubles associés, des troubles somatiques fonctionnels, de l'obésité, du surpoids et des dépendances aux substances addictives, découlant d'un désordre de la recapture de la dopamine et/ou de la sérotonine et/ou de la noradrénaline.

10

Les composés selon la présente invention répondent à la formule générale (I) suivante :



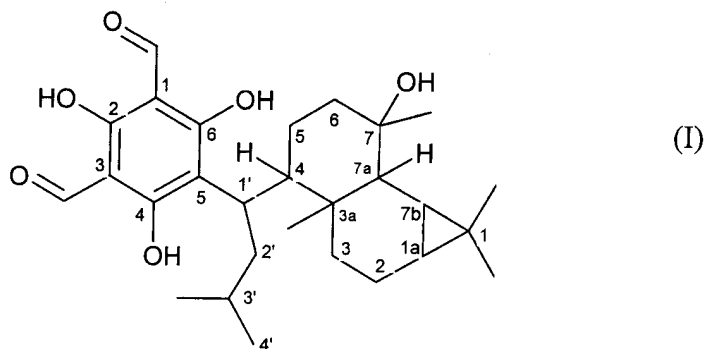
Formule brute :  $C_{28}H_{40}O_6$

Masse moléculaire : 472 g/mol

15

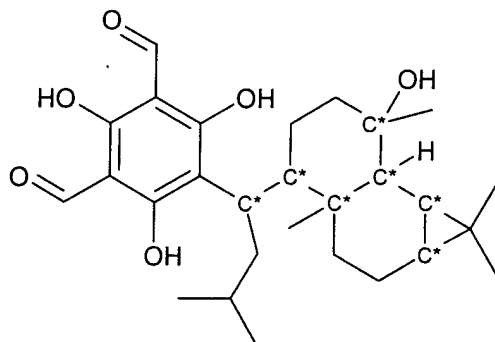
Par « composés de formule (I) », on entend au sens de la présente invention : l'ensemble des formes énantiomères et diastéréoisomères du 5-[1'-(decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetraméthyl-1H-cyclopropa[a]naphtalén-4-yl)-3'-méthylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde, ainsi que leurs mélanges.

20 Ci-dessous, la Demanderesse précise la numérotation des carbones utilisée :



*frej*

Cette formule (I) comprend 7 carbones asymétriques schématisé par « C\* » dans la formule ci-dessous :



La présente invention couvre les nouveaux composés répondant à la formule (I) à l'exception des deux formes suivantes :

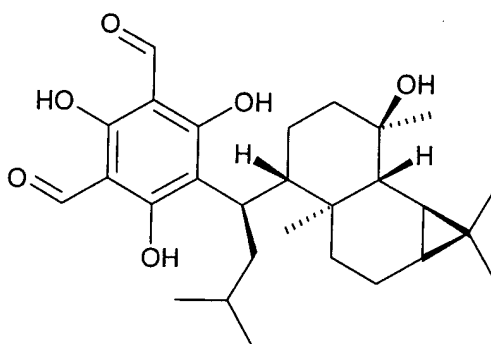
- 5 • 5-[(1'R)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde ; et
- 10 • 5-[(1'S)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde.

Un autre objet de la présente invention vise les composés de formule (I) tels que définis en page précédente pour lesquels une première application thérapeutique vient d'être établi par la Demanderesse.

Ces composés de formule (I), utilisés seuls ou en mélange, en tant que médicaments sont donc également décrits dans la présente invention.

Préférentiellement, lesdits composés (I) en tant que médicaments selon l'invention sont choisis parmi le groupe constitué de :

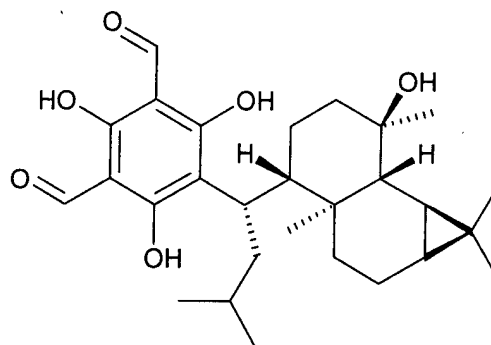
- 20 • 5-[(1'R)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde ; de formule ci-après :



(Macrocarpal L)

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'fuy'.

- 5-[(1'S)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde ; de formule ci-après :



(Macrocarpal M)

- 5
- 5-[(1'R)-1'-[(1aR,3aS,4S,7R,7aR,7bR)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde ; et
  - 5-[(1'S)-1'-[(1aR,3aS,4S,7R,7aR,7bR)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde ;
- 10

utilisés seuls ou en mélange.

Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention, les composés de formule (I) sont obtenus à partir d'un extrait végétal. Avantageusement, l'extrait végétal est issu d'un *Eucalyptus*.

- 15
- Par « *Eucalyptus* », on entend au sens de la présente invention les espèces appartenant de préférence aux sous-genres *Eudesmia*, *Symphomyrtus* et *Corymbia* et plus particulièrement les espèces suivantes : *Eucalyptus globulus* L., *Eucalyptus pulverulenta* Sims, *Eucalyptus kartzoffiana* L. A. S. Johnson 1 Blaxell, *Eucalyptus macrocarpa* Hook., *Eucalyptus cinerea* F. Muell.ex Benth., *Eucalyptus dorrigoensis* (Blakely) L.A.S. Johnson 1 K. D. Hill, *Eucalyptus leptopoda* Benth., *Eucalyptus occidentalis* Endl., *Eucalyptus viridis* R. T. Baker, *Eucalyptus polybractea* R.T. Baker et *Eucalyptus smithii* R.T. Baker.
- 20

Ces exemples illustrent la présente invention sans toutefois en limiter la portée.

- De façon avantageuse, l'extrait d'*Eucalyptus* est obtenu à partir des feuilles, fleurs, fruits, graines, tiges ou du tronc d'*Eucalyptus* ; et préférentiellement des feuilles d'*Eucalyptus*.
- 25

La présente invention concerne également des compositions pharmaceutiques ou compléments alimentaires comprenant, en tant que principe actif, au moins un composé

de formule (I). Préférentiellement, les composés de formule (I) sont incorporés sous forme d'extraits de plante les contenant.

Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention, la fraction massique en composé (I) selon l'invention, et préférentiellement en macrocarpal L ou macrocarpal M dans un extrait d'Eucalyptus est supérieure à 0,05% et strictement inférieure à 90%.

Ledit extrait végétal dont l'extrait d'Eucalyptus peut être obtenu par un procédé d'extraction réalisé à partir d'étapes classiques connues de l'homme du métier.

Les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, les tiges ou le tronc d'Eucalyptus (Eucalyptus sp.) ou un mélange de ces parties sont broyées puis extraites avec un solvant organique pouvant être un alcane (pentane, hexane, heptane, octane, cyclohexane), un éther oxyde (tétrahydrofurane, dioxane, diéthyl éther), un ester (acétate d'éthyle, acétate d'isopropyle), un alcool (méthanol, éthanol, propanol, isopropanol, butanol, octanol), une cétone (méthyléthylcétone, méthylisobutylcétone), un hydrocarbure halogéné (chloroforme, dichlorométhane) ou un mélange d'eau et de solvant(s) organique(s) miscible(s) à l'eau (un mélange hydro-alcoolique par exemple).

L'extraction est réalisée dans un ratio plante/solvant compris entre environ 1/1 et environ 1/20 et peut être renouvelée 2 à 3 fois. La température du solvant d'extraction peut être égale à la température ambiante ou supérieure, pouvant atteindre la température d'ébullition du solvant engagé. Le temps de contact de la plante avec le solvant est compris entre environ 30 min et environ 72 heures.

On procède ensuite à une séparation solide/liquide, la plante étant séparée du solvant par filtration ou centrifugation.

Le filtrat obtenu peut être soit :

- mis à sec directement par évaporation totale du solvant d'extraction et constituer l'extrait final ;
- soit plus ou moins concentré. Dans le cas d'un solvant d'extraction mixte (mélange hydro-alcoolique par exemple), la concentration se poursuit jusqu'à l'évaporation du solvant organique présent. Dans le cas d'un solvant organique, une quantité d'eau est additionnée au concentrat obtenu. Une étape de purification liquide-liquide est réalisée en additionnant à la phase aqueuse un solvant non miscible pouvant être un alcane (de l'hexane par exemple), un éther oxyde (diéthyl éther par exemple), un ester (acétate d'éthyle par exemple), un alcool (butanol par exemple), une cétone (méthyléthylcétone par exemple) ou un

hydrocarbure halogéné (chloroforme par exemple). Une, deux ou trois extractions liquide-liquide sont réalisées. Les phases organiques réunies peuvent être séchées sur sulfate de sodium avant la mise à sec.

5 Les solutions obtenues sont concentrées sous vide et à une température comprise entre la température ambiante et la température d'ébullition.

Le séchage de l'extrait final est réalisé par lyophilisation ou par des moyens de séchage plus classiques connus de l'homme du métier (nébulisation, étuve ...).

Préférentiellement, les températures de séchage ne dépassent pas 60°C environ.

10 L'extrait peut être stabilisé par addition d'un antioxydant comme par exemple l'acide ascorbique, l'acide citrique à des quantités comprises entre environ 0,05 et environ 1 g pour 100 g d'extrait sec.

L'extrait ainsi obtenu comprend une fraction massique en composé de formule (I) supérieure à 0,05% et strictement inférieure à 5%, préférentiellement ladite fraction massique est d'environ 0,8%.

15 L'extrait précédemment obtenu peut être enrichi en composés de formule (I) et plus particulièrement en macrocarpal L ou macrocarpal M.

Par « extrait d'Eucalyptus enrichi en macrocarpal L ou M », on entend au sens de la présente invention un extrait d'Eucalyptus dont la fraction massique en macrocarpal L ou M est supérieure ou égale à 5 % et strictement inférieure à 90 %, préférentiellement supérieure ou égale à 5 % et inférieure à 50 %, plus préférentiellement supérieure ou égale à 5 % et inférieure à 30 % et encore plus préférentiellement supérieure ou égale à 5 % et inférieure à 15 %.

Le procédé d'obtention dudit extrait consiste en les étapes suivantes :

- 25
- broyage de feuilles et/ou de fleurs et/ou de fruits et/ou de graines et/ou de tiges et/ou de tronc d'Eucalyptus ;
  - au moins une extraction avec un solvant organique ou un mélange d'eau et de solvant(s) organique(s) miscible(s) à l'eau.

30 L'extraction est réalisée dans un ratio plante/solvant compris entre environ 1/1 et environ 1/20 et peut être renouvelée 2 à 3 fois. La température du solvant d'extraction peut être égale à la température ambiante ou supérieure, pouvant atteindre la température d'ébullition du solvant engagé. Le temps de contact de la plante avec le solvant est compris entre environ 30 min et environ 72 heures.



De façon préférée, le solvant est choisi dans le groupe composé un alcane (pentane, hexane, heptane, octane, cyclohexane), un éther oxyde (tétrahydrofurane, dioxane, diéthyl éther), un ester (acétate d'éthyle, acétate d'isopropyle), un alcool (méthanol, éthanol, propanol, isopropanol, butanol, octanol), une cétone (méthyléthylcétone, méthylisobutylcétone), un hydrocarbure halogéné (chloroforme, dichlorométhane) ou un mélange d'eau et de solvants organiques miscibles à l'eau (un mélange hydro-alcoolique par exemple).

Préférentiellement, le solvant d'extraction est du dichlorométhane ou de l'acétate d'isopropyle.

- Dans le cas d'un solvant d'extraction miscible avec de l'eau, le filtrat est mis à sec puis dissous dans un solvant non miscible à l'eau.

Dans le cas d'un solvant non miscible avec l'eau, le filtrat est concentré.

- Séparation solide/liquide par des techniques connues de l'homme du métier.

Dans un mode de réalisation préférée de l'invention, une ou plusieurs extractions liquide-liquide sont réalisées par addition d'une base, préférentiellement du carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Les phases aqueuses basiques réunies sont acidifiées par addition d'acide, préférentiellement l'acide chlorhydrique (HCl) puis extraites par une à plusieurs extractions liquide-liquide réalisées avec un solvant non miscible avec de l'eau.

Avantageusement, l'acidification conduit à l'obtention d'un pH environ égal à 1.

Les phases organiques réunies peuvent être séchées sur sulfate de sodium puis concentrées sous vide à une température variant de la température ambiante à celle d'ébullition.

Le concentrat est séché par des moyens de séchage classiques (nébulisation, étuve ...) à des températures ne dépassant pas  $60^\circ\text{C}$  de préférence et constitue l'extrait enrichi en macrocarpal L ou macrocarpal M. Cet extrait peut être stabilisé par addition d'un antioxydant comme par exemple l'acide ascorbique ou l'acide citrique à des quantités comprises entre 0,05 à 1 g pour 100 g d'extrait sec.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, le solvant d'extraction peut être un fluide supercritique.

Les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, les tiges ou le tronc d'Eucalyptus (*Eucalyptus* sp.) ou un mélange de ces parties sont broyées ou non, puis extraites avec un fluide supercritique pouvant être du dioxyde de carbone.

Une première extraction par du CO<sub>2</sub> supercritique, préférentiellement, est réalisée dans les conditions suivantes:

- la température du fluide est comprise entre environ 40°C et environ 80°C, et préférentiellement entre environ 40°C et environ 60°C ;
- 5 - sa pression est comprise entre environ 80 bars et environ 250 bars, et préférentiellement entre environ 100 bars et environ 200 bars ;
- la durée d'extraction est comprise entre 1 heure environ et 6 heures environ ;
- le débit du fluide sera adapté par l'Homme du Métier en fonction de la quantité de matière à extraire et de la taille de l'autoclave utilisé. De façon préférée, le
- 10 débit de CO<sub>2</sub> utilisé dans le procédé selon la présente invention est compris entre 2 à 15 kg / heure, avantageusement 8 à 12 kg / heure ;
  - pour une quantité de plante comprise entre 200 et 1000 grammes, préférentiellement 500 grammes environ,
  - et pour un autoclave de capacité comprise entre 2 et 10 litres,
  - 15 préférentiellement de capacité de 5 litres environ.

Lors de cette première étape d'extraction, il est possible d'ajouter un co-solvant organique, de la famille des alcools (dont l'éthanol), des éthers oxyde, des esters ou un mélange de deux ou plusieurs de ces solvants.

La plante ainsi extraite peut ensuite être soumise à une deuxième extraction de

20 façon optionnelle. Le fluide d'extraction est, préférentiellement, le CO<sub>2</sub> supercritique avec ou sans co-solvant. Les conditions opératoires sont :

- la température du fluide est comprise entre environ 40°C et environ 80°C, et préférentiellement entre environ 40°C et environ 60°C ;
- sa pression est comprise entre environ 80 bars et environ 250 bars, et
- 25 préférentiellement entre environ 100 bars et environ 200 bars ;
- le débit du fluide est compris entre 2 à 15 kg / heure, avantageusement 8 à 12 kg / heure ;
  - pour une quantité de plante comprise entre 200 et 1000 grammes, préférentiellement 500 grammes environ,
  - 30 ▪ et pour un autoclave de capacité comprise entre 2 et 10 litres, préférentiellement de capacité de 5 litres environ.

Avantageusement, l'extraction est réalisée dans un ratio massique plante/co-solvant compris entre environ 1/0,1 et 1/5.



Cette deuxième étape d'extraction peut être renouvelée si nécessaire. La durée d'extraction est comprise entre environ 1 heure et environ 3 heures par étape d'extraction additionnelle.

On procède ensuite à l'évaporation de l'extrait obtenu.

- 5 L'Homme du Métier adaptera les conditions opératoires de ce procédé par fluide supercritique pour obtenir un extrait d'Eucalyptus plus ou moins enrichi.

Le séchage de l'extrait final est réalisé par lyophilisation ou par des moyens de séchage plus classiques connus de l'homme du métier (nébulisation, étuve, ...). Préférentiellement, les températures de séchage ne dépassent pas 60°C environ.

- 10 L'extrait peut être stabilisé par addition d'un antioxydant comme par exemple l'acide ascorbique, l'acide citrique à des quantités comprises entre environ 0,05 et environ 1 g pour 100 g d'extrait sec.

De façon préférée, lesdits composés (I), dont le macrocarpal L et le macrocarpal M peuvent être isolés à partir d'un extrait végétal. Préférentiellement, l'extrait végétal est un

- 15 extrait d'Eucalyptus.

Les techniques permettant leur purification sont des techniques chromatographiques classiques pour l'homme de métier. Les extraits sont fractionnés sur colonne préparative ayant pour phase stationnaire une phase inverse, de préférence Symetry Shield®, 5µm (Waters) et pour phase mobile, un mélange acétonitrile / eau / acide trifluoroacétique

- 20 dans les proportions 95 / 5 / 0,1%.

La pureté en composé de formule (I) d'une telle fraction est supérieure ou égale à 90%.

Préférentiellement, la pureté en macrocarpal L ou en macrocarpal M d'une telle fraction est supérieure ou égale à 90%.

- 25 La demanderesse a montré l'influence des composés de formule (I) selon l'invention sur la recapture de neuromédiateurs.

Au sens de la présente invention, on entend par « neuromédiateurs » : la dopamine et/ou la sérotonine et/ou la noradrénaline.

- 30 De par ses propriétés pharmacologiques d'inhibiteur de la recapture de ces neuromédiateurs, lesdits composés de formule (I) sont particulièrement utiles à la préparation d'un médicament ou complément alimentaire destiné à traiter et/ou à prévenir de nombreuses affections ou pathologies résultant d'un manque de dopamine et/ou sérotonine et/ou noradrénaline.



Parmi les affections ou pathologies pouvant être traitées et/ou prévenues à l'aide d'au moins un composé de formule (I) selon la présente invention, il convient de citer à titre d'exemples illustratifs et non limitatifs :

- les maladies, affections ou troubles neurologiques :

5 telles que les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, Chorée de Huntington, maladie de Parkinson, accidents vasculaires cérébraux, traumatisme crânien), la sclérose latérale amyotrophique, les démences séniles, les démences fronto-temporales, les démences vasculaires, la migraine, les douleurs neuropathiques d'origine centrale ;

- les maladies, affections ou troubles psychiatriques :

10 telles que la dépression (endogène, résistante, réactive ou iatrogène), l'état dépressif, la schizophrénie, le trouble bipolaire, l'anxiété généralisée, les maladies liées au stress, les attaques de panique, les troubles obsessionnels compulsifs, les syndromes de stress post-traumatiques, les troubles de l'attention et de l'hyperactivité, les troubles de conduites alimentaires (notamment la boulimie, l'anorexie), la phobie (notamment l'agoraphobie),  
15 l'autisme ;

- les troubles de la mémoire, de l'attention et de la vigilance associés aux maladies, affections ou troubles neurologiques et psychiatriques ;

- les troubles somatiques fonctionnels :

tels que le syndrome de fatigue chronique, la fibromyalgie, le syndrome du colon  
20 irritable, les reflux gastro-oesophagiens, la perte de la libido, les troubles de l'érection, les incontinences urinaires.

- l'obésité, le surpoids ;

- la dépendance aux substances addictives :

notamment la nicotine, l'alcool, les opiacées, les cannabinoïdes, les psychostimulants.

25 En effet, le médicament ou le complément alimentaire selon l'invention est avantageusement destiné :

• à traiter la dépendance aux substances addictives ; et plus particulièrement lors de l'étape préalable à l'arrêt du tabac en contribuant entre autres à la réduction de la consommation et/ou à la réduction de symptômes associés tels que les états  
30 anxieux et/ou dépressifs.

• à induire un sevrage à la nicotine, à l'alcool, aux opiacées, aux cannabinoïdes, aux psychostimulants ; et permettre ainsi l'arrêt de la consommation.

• à prévenir la rechute chez des sujets abstinents et à maintenir l'abstinence ;



- à prévenir et/ou réduire les symptômes associés au sevrage à la nicotine, à l'alcool, aux opiacées, aux cannabinoïdes, aux psychostimulants tels que les états anxieux et/ou dépressifs.

5

L'homme du métier pourra reconnaître d'autres pathologies dont le traitement nécessite une telle inhibition. La Demanderesse précise ici, de façon non restrictive, quelques références bibliographiques qui rappellent le lien entre des pathologies et leur traitement à l'aide d'un inhibiteur triple de recapture de dopamine et/ou sérotonine et/ou noradrénaline. Un exemple de chaque « groupe » a été relevé.

La dopamine, la sérotonine et la noradrénaline concourent au développement et à la survie des neurones (Lauder J.M., Trends Neurosci, 1993, 16; 233). Certaines pathologies neurologiques comme la maladie de Parkinson (Hornykiewicz O., Adv Cytopharmacol. 1971, 1; 369) résulte d'une déficience en dopamine; des inhibiteurs de monoamine oxydases, qui augmentent les taux de dopamine, sérotonine et noradrénaline sont utilisés pour traiter la maladie de Parkinson et d'autres affections neurologiques (Ebadi M., Curr Drug Targets. 2006, 7; 1513). Les composés de formule (I) selon la présente invention peuvent donc être avantageusement utilisés dans le traitement de ces maladies neurologiques.

20

La dépression est une pathologie fréquente de l'humeur, caractérisée par des sentiments de la tristesse intense, de pensées pessimistes, d'auto-dépréciation, souvent accompagnée de la perte d'allant, d'enthousiasme et de libido. L'incapacité de ressentir du plaisir d'expériences normalement agréables, également connue sous le nom d'anhédonie, est également considérée comme un symptôme fréquent dans la dépression. La dépression est actuellement traitée par des inhibiteurs sélectifs de la recapture de sérotonine, tels que fluoxétine, citalopram ou paroxétine, des inhibiteurs sélectifs de la recapture de noradrénaline tels que réboxétine, ou encore des inhibiteurs mixtes de la recapture de sérotonine et noradrénaline tels que milnacipran ou venlafaxine. Cependant, un rôle important a été attribué aux neurones dopaminergiques projetant à une région de cerveau appelée le noyau accumbens, dans le plaisir et la motivation (Koob G.F. Sem. Neurosci. 1992, 4, 139 ; Salamone J.D. Behav. Brain Res. 1994, 61, 117). Les symptômes de la dépression peuvent donc être avantageusement traités par un inhibiteur

30

de la recapture de la dopamine, de la sérotonine et de la noradrénaline tel qu'un composé de la formule (I) selon la présente invention.

L'absorption de substances addictives dont la nicotine augmente les taux extracellulaires de dopamine dans le striatum ventral chez l'animal (Di Chiara G et Imperato A., Proc Natl Acad Sci U S A. 1988, 85 ; 5274) et l'homme (Brody et al., Am J Psychiatry, 2004, 161 ; 1211). Le sevrage tabagique peut s'accompagner d'un syndrome dépressif (Wilhelm K et al., Drug Alcohol Rev, 2006, 25 ; 97). Les composés de formule (I) selon la présente invention peuvent donc être avantageusement utilisés comme traitement de substitution aux substances addictives, telles que la nicotine, et pour  
10 prévenir ou traiter le syndrome dépressif associé au sevrage.

Les troubles fonctionnels, encore appelés somatotropes, sont des troubles qui concernent les grandes fonctions physiologiques, et qui ne seraient pas dus à des lésions organiques mais à la manière de fonctionner des organes (foie, coeur...). Les troubles somatiques fonctionnels peuvent être à l'origine d'une maladie qui se déclarera ultérieurement. Parmi ces troubles, la fibromyalgie est un trouble associant douleurs  
15 diffuses ou localisées, fatigue chronique, symptômes dépressifs, troubles de mémoire et de concentration (Rooks DS., Curr Opin Rheumatol. 2007, 19; 111). Les symptômes de la fibromyalgie sont traités par des inhibiteurs de recapture mixtes noradrénaline/sérotonine (Viton O., Hum Psychopharmacol. 2004, 19 Suppl 1:S27).  
20 L'addition d'une composante favorisant le tonus dopaminergique, comme un composé de formule (I) selon la présente invention est avantageux pour la préparation d'un médicament ou complément alimentaire destiné à traiter et/ou prévenir les troubles somatiques fonctionnels.

25 De façon avantageuse, ledit médicament se présente sous une forme orale, injectable ou transdermique.

Avantageusement, la forme orale est choisie parmi le groupe composé de comprimé, gélule, capsule, des préparations liquides telles que des sirops, des solutions buvables ou des poudres pour suspensions buvables.

30 De façon avantageuse, ledit complément alimentaire (ou nutraceutique ou diététique) est conditionné sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-



gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité.

L'invention sera mieux comprise à l'aide des exemples suivants, qui toutefois  
5 n'en limitent pas la portée.

**Exemple 1** : Préparation de macrocarpal L à partir d'un extrait d'*Eucalyptus globulus*

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont broyées puis extraites par 5 volumes de dichlorométhane. L'extraction est réalisée deux fois à reflux pendant 1 heure.

10 On procède ensuite à une filtration sous vide. Les filtrats réunis sont concentrés jusqu'à 2 volumes.

Trois extractions liquide-liquide sont réalisées par addition d'un volume de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 0,1 M.

Les phases aqueuses basiques réunies sont acidifiées par addition d'acide chlorhydrique  
15 (HCl) 1 M jusqu'à l'obtention d'un pH environ égal à 1 puis extraites par 3 extractions liquide-liquide avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont séchées sur sulfate de sodium puis concentrées et mises à sec sous vide à 60°C maximum. Le résidu sec obtenu renferme une fraction massique de macrocarpal L de 1,5% . L'extrait ainsi obtenu  
20 est fractionné sur une colonne de silice avec un gradient discontinu de toluène / acétone variant dans les proportions suivantes : toluène 100% , toluène / acétone : 99/1 , acétone 100% . La fraction toluène / acétone : 99 / 1 contenant le macrocarpal L est évaporée , séchée puis purifiée sur une colonne préparative ayant pour phase stationnaire une phase inverse, Symetry Shield<sup>®</sup>, 5 $\mu\text{m}$  (Waters) et pour phase mobile, un mélange acétonitrile / eau / acide trifluoroacétique dans les proportions 25 / 75 / 0,1%.

25 La pureté en macrocarpal L de la fraction obtenue est d'environ 97%.

Les données RMN de la molécule isolée sont les suivantes:

1H NMR (500 MHz, PYRIDINE-*d*5)  $\delta$  ppm 0.62 (t,  $J=8.54$  Hz, 1 H) 0.91 (dd,  $J=9.16$ ,  
5.80 Hz, 1 H) 0.97 (d,  $J=6.41$  Hz, 3 H) 0.99 - 1.05 (m, 1 H) 1.06 (d,  $J=6.10$  Hz, 3 H) 1.10  
30 (s, 3 H) 1.11 (s, 3 H) 1.24 (s, 3 H) 1.42 - 1.46 (m, 1 H) 1.44 (s, 3 H) 1.50 - 1.65 (m, 3 H)  
1.66 - 1.77 (m, 2 H) 1.90 (td,  $J=13.12$ , 3.36 Hz, 1 H) 1.92 - 2.02 (m, 1 H) 2.07 (dt,  
 $J=12.28$ , 3.01 Hz, 1 H) 2.13 - 2.24 (m, 2 H) 2.74 (td,  $J=12.21$ , 3.05 Hz, 1 H) 3.86 (dt,  
 $J=11.37$ , 4.54 Hz, 1 H) 10.56 (s, 1 H) 10.57 (s, 1 H) 13C NMR (125 MHz, PYRIDINE-

d5)  $\delta$  ppm 16.3, 16.5, 17.1, 17.8, 19.2, 22.3, 22.4, 24.4, 25.0, 25.7, 27.8, 30.1, 32.3, 39.0, 39.3, 44.9, 45.4, 52.3, 54.0, 72.2, 107.0, 107.6, 107.8, 171.6, 172.1, 173.0, 192.2, 192.4

**Exemple 2 : Détermination de la concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>) du macrocarpal L préparé selon l'exemple 1 sur la recapture des neuromédiateurs comparativement à celle de l'hyperforine.**

Les tests de capture ont été réalisés *in vitro* sur des synapses de rats.

**1) Evaluation de la recapture de la sérotonine (ou 5-HT)**

Le protocole utilisé pour cette évaluation est celui décrit dans Perovic, S. and Muller W.E.G., 1995 – Pharmacological profile of hypericum extract : effect on serotonin uptake by postsynaptic receptors, *Arzneim-Forsch. Drug Res.*, 45 : 1145-1148.

Le principe en est le suivant :

les synapses issues de cerveaux de rat sont mises à incuber pendant 15 min à 37°C avec 0,1  $\mu$ Ci [<sup>3</sup>H]-sérotonine en présence ou en absence (contrôle) du composé préparé selon l'exemple 1 ou de l'imipramine (référence) dans un tampon contenant 118 mM de NaCl, 5mM de KCl, 2,5 mM MgSO<sub>4</sub>, 1,2mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mM de NaHCO<sub>3</sub>, 11 mM de glucose, 10  $\mu$ M d'EGTA et 50  $\mu$ M d'acide ascorbique (PH=7.4).

L'activité basale est déterminée en incubant le même mélange pendant 15 min à 37°C en présence de 10  $\mu$ M d'imipramine pour bloquer la recapture.

A la suite de l'incubation, les échantillons sont filtrés rapidement sous vide à travers des filtres en fibre de verre (GB/B, Packard) et rincés deux fois avec du tampon d'incubation glacé pour éliminer la [<sup>3</sup>H]-sérotonine libre. Les filtres sont séchés et la radioactivité retenue est mesurée par un compteur de scintillation (Topcount, Packard) en utilisant un cocktail de scintillation (Microscint O, Packard).

**2) Evaluation de la recapture de la dopamine (ou DA)**

Le protocole utilisé pour cette évaluation est celui décrit dans Janowsky A. Berger P., Vocci F., Labarca R., Skolnick P., and Paul S.M., 1996 – Characterization of sodium-dependent [<sup>3</sup>H]GBR-12935 binding in brain : a radioligand for selective labelling of the dopamine transport complex, *J. Neurochem.*, 46, 1272-1276.

Le principe en est le suivant :

le milieu synaptique (synapses de *striatum* de rat) est mis à incuber pendant 15 min à 37°C avec 0,1  $\mu$ Ci [<sup>3</sup>H]-DA en présence ou en absence (contrôle) du composé préparé



selon l'exemple 1 ou de GBR 12909 (référence) dans la solution tampon (cf. recapture de la sérotonine).

L'activité basale est déterminée en incubant le même mélange pendant 15 min à 37°C en présence de 10 µM de GBR 12909 pour bloquer la recapture.

- 5 A la suite de l'incubation, les échantillons sont filtrés rapidement sous vide à travers des filtres en fibre de verre (GB/B, Packard) et rincés deux fois avec du tampon d'incubation glacé pour éliminer la [<sup>3</sup>H]-dopamine libre. Les filtres sont séchés et la radioactivité retenue est mesurée par un compteur de scintillation (Topcount, Packard) en utilisant un cocktail de scintillation (Microscint O, Packard).

### 10 3) Evaluation de la recapture de la noradrénaline (ou NE)

Le protocole utilisé pour cette évaluation est celui décrit dans Perovic , S. and Muller W.E.G., 1995 – Pharmacological profile of hypericum extract : effect on serotonin uptake by postsynaptic receptors, *Arzneim-Forsch. Drug Res.*, 45 : 1145-1148.

Le principe en est le suivant :

- 15 le milieu synaptique (synapses d'hypothalamus de rat) est mis à incuber pendant 20 min à 37°C avec 0,1 µCi [<sup>3</sup>H]-NE en présence ou en absence (contrôle) du composé préparé selon l'exemple 1 ou de la protriptyline (référence) dans la solution tampon (cf. recapture de la sérotonine).

- 20 L'activité basale est déterminée en incubant le même mélange pendant 20 min à 37°C en présence de 10 µM de protriptyline pour bloquer la recapture.

- A la suite de l'incubation, les échantillons sont filtrés rapidement sous vide à travers des filtres en fibre de verre (GB/B, Packard) et rincés deux fois avec du tampon d'incubation glacé pour éliminer la [<sup>3</sup>H]-NE libre. Les filtres sont séchés et la radioactivité retenue est mesurée par un compteur de scintillation (Topcount, Packard) en utilisant un cocktail de scintillation (Microscint O, Packard).
- 25

### 4) Résultats :

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de recapture du neuromédiateur évalué.

- 30 Ces différents protocoles ont été répétés pour différentes concentrations en composé préparé selon l'exemple 1 et en hyperforine.

Les courbes d'inhibition obtenues ont permis d'obtenir les valeurs CI50 ci-après :

Test	CI50 ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ de solution)	
	Macrocarpal L	Hyperforine
Recapture de la sérotonine	1,8	0,89
Recapture de la noradrénaline	3,1	0,79
Recapture de la dopamine	1,0	0,23

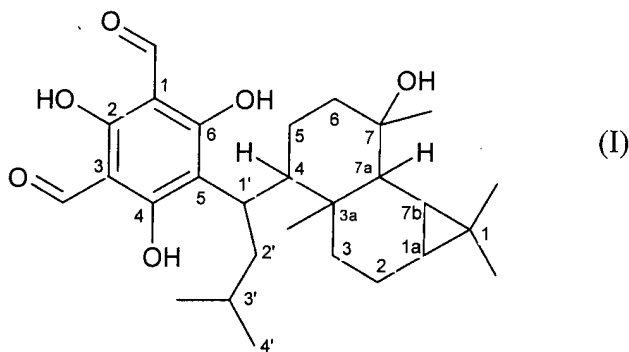
Tableau 1 : Détermination de la concentration inhibitrice à 50% ( $CI_{50}$ ) du composé selon la présente invention et de l'hyperforine sur la recapture de la sérotonine, de la noradrénaline et de la dopamine

5

Ces résultats ont permis de mettre en évidence que le composé de formule (I) selon la présente invention est porteur de l'activité d'inhibition de la recapture de neuromédiateurs.

REVENDICATIONS

1. Composés de formule (I)



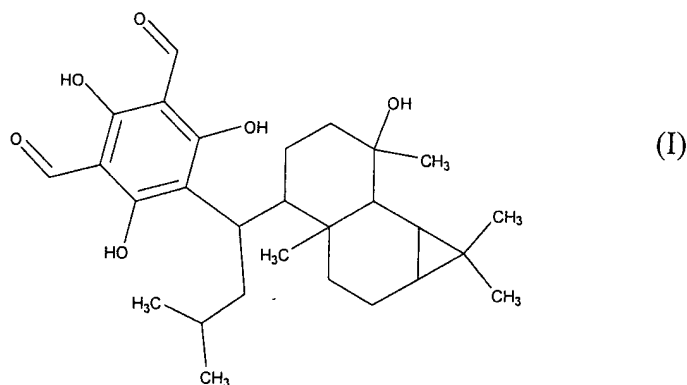
5 étant entendu que les formes suivantes sont exclues :

- 5-[(1'R)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde ; et
- 5-[(1'S)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-

10

tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde.

2. Composés de formule (I)



15

à titre de médicaments.

3. Un composé selon la revendication 2 sélectionné parmi

- 5-[(1'R)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde ; et

20

*Handwritten signature*

- 5-[(1'S)-1'-[(1aS,3aS,4S,7R,7aR,7bS)-decahydro-7-hydroxy-1,1,3a,7-tetramethyl-1H-cyclopropa[a]naphtalen-4-yl]-3'-methylbutyl]-2,4,6-trihydroxy-1,3-benzenedicarboxaldehyde.

- 5 4. Composés selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisé en ce qu'ils sont obtenus à partir d'un extrait végétal.
- 10 5. Composés selon la revendication 4, caractérisée en ce que l'extrait végétal est issu d'un Eucalyptus choisi parmi les espèces appartenant aux sous-genres *Eudesmia*, *Symphomyrtus* et *Corymbia* et les espèces suivantes : *Eucalyptus globulus* L., *Eucalyptus pulverulenta* Sims, *Eucalyptus kartzoffiana* L. A. S. Johnson 1 Blaxell, *Eucalyptus macrocarpa* Hook., *Eucalyptus cinerea* F. Muell.ex Benth., *Eucalyptus dorrigoensis* (Blakely) L.A.S. Johnson 1 K. D. Hill, *Eucalyptus leptopoda* Benth., *Eucalyptus occidentalis* Endl., *Eucalyptus viridis* R. T. Baker, 15 *Eucalyptus polybractea* R.T. Baker et *Eucalyptus smithii* R.T. Baker.
- 20 6. Composés selon la revendication 5 caractérisée en ce que l'extrait d'Eucalyptus est choisi parmi le groupe composé d'un extrait de feuilles, de fleurs, de fruits, de graines, de tiges et de tronc d'Eucalyptus.
- 25 7. Composition pharmaceutique ou complément alimentaire comprenant, en tant que principe actif, au moins un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 2 à 6 en combinaison avec un véhicule acceptable.
- 30 8. Composition pharmaceutique ou complément alimentaire selon la revendication 7 caractérisé en ce qu'elle comprend un extrait d'Eucalyptus dont la fraction massique en composé de formule (I) est supérieure à 0,05% et strictement inférieure à 90%.
9. Utilisation d'au moins un composé de formule (I) selon l'une quelconque des revendications 2 à 6 pour la préparation d'un médicament ou d'un complément alimentaire destiné au traitement et/ou à la prévention des affections ou pathologies neurologiques, psychiatriques et troubles associés, des troubles

somatiques fonctionnels, de l'obésité, du surpoids et des dépendances aux substances addictives, découlant d'un désordre de la recapture de la dopamine et/ou de la sérotonine et/ou de la noradrénaline.

- 5 10. Utilisation selon la revendication 9 caractérisée en ce que le traitement et/ou la prévention desdites affections ou pathologies neurologiques, psychiatriques et troubles associés, des troubles somatiques fonctionnels, de l'obésité, du surpoids et des dépendances aux substances addictives consiste en une inhibition de la recapture de la dopamine et/ou de la sérotonine et/ou de la noradrénaline.
- 10 11. Utilisation selon la revendication 9 caractérisée en ce que la pathologie ou l'affection neurologique, psychiatrique ou trouble associé, le trouble somatique fonctionnel ou la dépendance aux substances addictives est sélectionnée dans le groupe comprenant :
- 15 - les maladies neurologiques telles que les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, Chorée de Huntington, maladie de Parkinson, accidents vasculaires cérébraux, traumatisme crânien), la sclérose latérale amyotrophique, les démences séniles, les démences fronto-temporales, les démences vasculaires, la migraine, les douleurs neuropathiques
- 20 d'origine centrale.
- les maladies psychiatriques telles que la dépression (endogène, résistante, réactive ou iatrogène), l'état dépressif, la schizophrénie, le trouble bipolaire, l'anxiété généralisée, les maladies liées au stress, les attaques
- 25 de panique, les troubles obsessionnels compulsifs, les syndromes de stress post-traumatiques, les troubles de l'attention et de l'hyperactivité, les troubles de conduites alimentaires (notamment la boulimie, l'anorexie), la phobie (notamment l'agoraphobie), l'autisme;
- 30 - les troubles de la mémoire, de l'attention, et de la vigilance associés aux pathologies neurologiques ou troubles psychiatriques ;
- les troubles somatiques fonctionnels tels que le syndrome de fatigue chronique, la fibromyalgie, le syndrome du colon irritable, les reflux



gastro-oesophagiens, la perte de la libido, les troubles de l'érection, les incontinences urinaires.

- 5 - les dépendances aux substances addictives notamment à la nicotine, à l'alcool, aux opiacées, aux cannabinoïdes, aux psychostimulants.

12. Utilisation selon la revendication 9 caractérisée en ce que le médicament est sous forme orale, injectable ou transdermique.

