



(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication :
MA 35698 B1

(51) Cl. internationale :
A61K 36/00

(43) Date de publication :
01.12.2014

(21) N° Dépôt :
35915

(22) Date de Dépôt :
16.05.2013

(71) Demandeur(s) :
**UNIVERSITE MOHAMMED V SOUISSI, ANGLE AVENUE ALLAL EL FASSI ET MFADEL
CHERKAOUI AL IRFANE 8007. N.U RABAT (MA)**

(72) Inventeur(s) :
HAMID Benziane ; Bruno E'douard ; Frederic Flocard

(74) Mandataire :
FATIMA ZAOUI

(54) Titre : **Nouvelle Composition du 3,4-diaminopyridin pour le traitement de la fatigabilité musculaire associée à des troubles neurovégétatifs.**

(57) Abrégé : L'objet de l'invention concerne une nouvelle composition du 3,4-diaminopyridine (3,4-dap) la rendant stable et homogène, préparée sous forme de gélule pour traiter et maîtriser l'évolution du syndrome paranéoplasique myasthénique de Lambert-Eaton, caractérisé par une fatigabilité musculaire associée à des troubles neurovégétatifs. Ce médicament est aussi utilisé dans la fatigabilité de la sclérose en plaques, dans le botulisme et les syndromes myasthéniques congénitaux et dans les troubles d'Alzheimer. La nouveauté intéresse aussi le protocole de dosage du principe actif et des excipients. La nouvelle composition du 3,4-DAP le mélange est délivré sous forme de gélule, comprimé ou suspension buvable, ou autres formes galéniques.

L'abrégé

L'objet de l'invention concerne une nouvelle composition du 3,4-diaminopyridine (3,4-dap) la rendant stable et homogène, préparée sous forme de gélule pour traiter et maîtriser l'évolution du syndrome paranéoplasique myasthénique de Lambert-Eaton, caractérisé par une fatigabilité musculaire associée à des troubles neurovégétatifs

Ce médicament est aussi utilisé dans la fatigabilité de la sclérose en plaques, dans le botulisme et les syndromes myasthéniques congénitaux et dans les troubles d'Alzheimer.

La nouveauté intéresse aussi le protocole de dosage du principe actif et des excipients. La nouvelle composition du 3,4-DAP le mélange est délivré sous forme de gélule, comprimé ou suspension buvable, ou autres formes galéniques.

Titre : Nouvelle composition du 3,4-diaminopyridine pour le traitement de la fatigabilité musculaire associée à des troubles neurovégétatifs

La description

L'invention concerne une nouvelle composition du 3,4-diaminopyridine (3,4-dap) la rendant stable homogène et à 5 ans, préparée sous forme de gélule pour traiter et maîtriser l'évolution du syndrome paranéoplasique myasthénique de Lambert-Eaton, caractérisé par une fatigabilité musculaire associée à des troubles neurovégétatifs.

Ce médicament est aussi utilisé dans la fatigabilité de la sclérose en plaques, dans le botulisme et les syndromes myasthéniques congénitaux et dans les troubles d'Alzheimer.

Les traitements médicamenteux des pathologies du syndrome paranéoplasique myasthénique de Lambert-Eaton, de la sclérose en plaques, le botulisme, les syndromes myasthéniques congénitaux et dans les troubles de Alzheimer et pour lesquelles un effet bénéfique a été rapporté, font appel à l'association plasmaphèreses-immunoglobulines, à la corticothérapie et à l'azathioprine, Ce traitement est cependant contraignant et souvent mal toléré par les patients ; de plus l'effet positif des plasmaphèreses est malheureusement limité dans le temps.

De plus l'utilisation de la molécule 3,4-diaminopyridine (3,4-dap) souvent prescrite dans ces cas ne s'appuie pas sur une posologie définie dans le syndrome de Lambert-Eaton. Bevert et Jost préconisent l'utilisation d'une posologie moyenne de 40mg/j (15-60mg/j), en trois à quatre prises.

Notre étude montre l'intérêt de réaliser des préparations magistrales adaptées au besoin de chaque patient. Il apparaît donc nécessaire d'effectuer des ajustements posologiques fins et d'entreprendre des études plus importantes pour déterminer les raisons de cette réponse individuelle particulière. Notre invention préconise l'utilisation d'un composé caractérisé par une concentration du principe actif par dose dans l'intervalle de 2,5 à 5 mg par prise quatre à huit fois par jour selon la fatigue ressentie par le patient.

La 3,4-dap est prescrite en deuxième intention à une dose maximale qui varie entre 60 et 100mg/jour, en raison de ses nombreux effets indésirables centraux (nausées, anxiété, convulsions...), périphériques (paresthésie essentiellement) et du système nerveux autonome (froideur des extrémités, palpitation, troubles de la vision, toux, hypersécrétion bronchique).

De ce fait ce composé pharmaceutique peut comprendre d'autres principes actifs.

Différents excipients ont été testés (carboxy méthyl cellulose, amidon de blé, stéarate de magnésium et le carmin de cochenille E-120), en distinguant deux types de préparation :

binaire (2 excipients en plus du principe actif) et ternaire (3 excipients en plus du principe actif). Les gélules utilisées sont de petite taille (N°4 correspondant à un volume de 0,22 ml). Etant donné que la 3,4-dap est constituée d'un cycle pyridine et de deux groupements amines, le dosage du principe actif a été réalisé, sur 10 gélules de chaque lot, par spectrophotométrie uv-visible, ROUESSAC F., ROUESSAC A. 2000. Le lot est considéré conforme lorsque la teneur moyenne en principe actif se situe entre 85 et 115 %. Si plus de 3 gélules se tiennent en dehors de la fourchette 75-125%, le lot est rejeté (Deutscher Arzneimittel Codex 8th 1986. 3,4-Diaminopyridin, D025).

La nouvelle composition du 3,4-DAP pour la préparation d'un composé pharmaceutique comprend :

- le carmin,
- l'amidon de blé,
- le carboxyméthyl cellulose ou le stéarate de magnésium

en spécifiant le grammage de chaque composé on assure la stabilité de la préparation sur une durée 5ans à température ambiante,

Ce nouveau composé de formule 3,4-DAP et d'un sel pharmaceutiquement compatible de celui-ci, en tant que principe actif pour la préparation d'une composition pharmaceutique pour le traitement de la fatigabilité musculaire associée à des troubles neurovégétatifs chez l'homme.

L'étude de stabilité de cette préparation a été effectuée dans les limites de températures comprises entre 5 et 60 °C, prenant ainsi en compte les conditions habituelles de conservation et celles de vieillissement accéléré [14]. Pour cela nous avons utilisé la chambre froide de la pharmacie (5±1°C), une étuve à flux d'air (20-220°C ± 2°C). Les essais de stabilité effectués dans nos séries n'ont pas mis en évidence de dégradation (SANDERS D.B., MASSEY J.M., SANDERS I.L., EDWARDS L.J.2000), significative du produit fini entre 4 et 40 °C sur une durée de 6 mois.

Ces résultats ne semblent pas en accord avec ceux de Sanders , qui, lors d'un essai clinique a choisi le lactose comme excipient. Les gélules de 3,4-diaminopyridine (3,4- dap+lactose) dosées à 10 et 20 mg, ont été conservées à -20°C; le choix de ce mode de conservation semblant éviter l'interaction principe actif-excipient. Ces difficultés de conservation peuvent être évitées au patient en remplaçant le lactose par l'amidon de blé et en ajoutant le stéarate de magnésium pour améliorer les propriétés rhéologiques du mélange final.

Sur sa note d'information [AGEPS. Note d'information concernant

l'utilisation de Octobre 2002], l'Agence Générale des Equipements et des Produits de Santé (AGEPS), sans proposer de formule de préparation, attire l'attention des professionnels de santé sur le risque d'interaction de la 3,4-dap avec le magnésium par un mécanisme ionique transmembranaire. La teneur du stéarate de magnésium par gélule est de 1,5 mg en moyenne. Cette quantité étant très faible pour avoir un effet notable.

Cette nouvelle composition n'est pas commercialisée industriellement. Nous l'avons préparé à l'hôpital et soumis donc au statut de préparation hospitalière. Lors d'un essai de formulation, on a opté pour la forme galénique gélule, en raison des caractéristiques du principe actif (poudre cristalline), de la simplicité de la fabrication et de la facilité à réaliser un titrage posologique

Préparation des gélules de 3,4-diaminopyridine

Le choix des excipients s'est orienté vers des matières premières dont la granulométrie est proche de celle de la 3,4-DAP. Ces excipients sont fournis par un établissement pharmaceutique (lactose, carboxyméthyl cellulose, amidon de blé). Le carmin de cochenille E-120 a été incorporé pour servir d'indicateur visuel d'homogénéité de la poudre. Le stéarate de magnésium a été ensuite utilisé pour améliorer l'écoulement. Les capsules sont des enveloppes en gélatine N° 4. Le principe actif a été fourni par l'Agence générale d'Equipements et de Produits de santé, les excipients et les gélules par la Cooper. Dans le cadre des Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière, les excipients ont fait l'objet d'identification selon les méthodes décrites par la Pharmacopée européenne 4e édition. La 3,4-DAP a été identifiée selon les réactions décrites à la Pharmacopée Allemande 8e édition (monographie 3,4-diaminopyridine).

Les essais de formulation ont porté sur des gélules qsp 0,22 ml, préparées successivement, à partir de six formulations différentes :

- 3,4-DAP, carmin et lactose (F1).
- 3,4-DAP, carmin et carboxy méthyl cellulose (F2).
- 3,4-DAP, carmin et amidon de blé (F3).
- 3,4-DAP, carmin et lactose + stéarate de magnésium (F4).
- 3,4-DAP, carmin et carboxyméthyl cellulose + stéarate de magnésium (F5).
- 3,4-DAP, carmin et amidon de blé + stéarate de magnésium (F6).

Toutes ces formules ne sont pas efficaces, seule la F6 montre une activité positives sur les signes cliniques des maladies caractérisée par la fatiguabilité.

La préparation des gélules a fait appel à un gélulier semi-automatique permettant de réaliser un lot de 100 gélules à la fois, selon le même mode opératoire, avec le même matériel

et par les mêmes personnes. La posologie doit être adaptée à chaque patient, en absence de la possibilité d'effectuer un suivi thérapeutique (dosage tissulaire du médicament), la titration posologique se fait sur la base de la clinique et l'examen électromyographique. Les premières administrations feront appel à des gélules faiblement dosées (2,5 à 5 mg de principe actif par gélule). Ces doses peuvent être augmentées en fonction de la tolérance du patient [BEVER C.T., ANDERSON P.A., LESLIE J., PANITCH H.S., DHIB J., KHAN O.A. et] 1996 9 TIME R.W., MASSEY J.M., SANDERS D.B. 2000).

La nouvelle composition du 3,4-DAP varie entre: 0,1 à 0,5 mg pour le carmin, 5 à 7 mg pour l'amidon de blé, et de 1 à 2 mg pour le stéarate de magnésium pour une gélule de 0,22 ml de volume,

La dite La nouvelle composition du 3,4-DAP doit respecter la succession des étapes, d'abord la dose du principe actif suivie de l'indicateur coloré (Carmin de COCHNILLE) ensuite l'amidon de blé et enfin le stéarate de magnésium. Le processus du mélange d'homogénéisation respecte la durée de 20 à 30 minutes.

Contrôle d'uniformité de masse

Le contrôle d'uniformité de masse des capsules à enveloppe dure a été réalisé par pesée individuelle de 20 gélules à l'aide d'une balance électronique type Sartorius ($e = 1 \text{ mg}$, $d = 0,1 \text{ mg}$) et d'un logiciel paramétré selon les recommandations de la Pharmacopée européenne 4^e édition (Capstool version 1.1, mars 1998). Elle admet les gélules dont la masse moyenne est comprise entre 40 mg et 300 mg, 10 % d'écart limite de la masse moyenne. La masse d'aucune unité ne peut s'écarter du plus du double de ce pourcentage.

Contrôle de la teneur en principe actif

Constituée d'un cycle pyridine et de deux groupements amines (fig. 1), la 3,4 DAP se présente sous forme d'une poudre très peu soluble dans l'eau et l'éthanol, facilement soluble dans le méthanol et pratiquement insoluble dans l'éther. Sa structure lui confère un maximum d'absorption à 292 nm en milieu méthanolique (fig. 2).

Le contrôle de la teneur en ce principe actif est réalisé sur dix gélules, dosées individuellement, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Cary 1 Bio Variant®). Le contenu de chaque gélule est mis en solution dans du méthanol pour analyse (Carlo Erba®). La solution est filtrée sur un filtre en papier N°4 (type Wathman), le filtrat est recueilli (solution S0). Un ml de la solution S0 est alors dilué dans 10 ml du méthanol (solution S1). Le spectre est enregistré entre 200 nm et 400 nm, avec une vitesse de balayage de 100 nm/min

et un intervalle d'échantillonnage de 2 nm. La lecture de l'absorbance s'effectue à 292 nm. Une droite d'étalonnage est établie à partir de trois concentrations de 3,4-DAP à 40 mg/l, 20 mg/l et 10 mg/l. La répétabilité et la reproductibilité ont été testées sur dix échantillons. L'interférence excipient-principe actif a été analysée, via l'étude des spectres d'absorbance de différentes solutions de carmin et d'excipients.

Le lot est considéré conforme, lorsque la teneur moyenne en principe actif se situe entre 85-115 %. Lorsque plus de trois gélules se trouvent en dehors de cet intervalle et/ou lorsque plus d'une gélule se situe en dehors de la fourchette 75 %-125 %, le lot est rejeté [Pharmacopée Européenne 4e édition, Strasbourg 2002 : 215.].

Ce nouveau protocole de dosage du principe actif fait appel à la spectrophotométrie UV - Visible en milieu méthanolique, après filtration où la vitesse de balayage est maintenue fixe

Contrôle d'uniformité de masse

Les essais d'uniformité de masse effectués sur les six formulations différentes ont écarté d'office les mélanges ne contenant qu'un seul excipient (en plus du carmin). Il s'agit des formulations binaires (F1-F3) :

- F1 : masse moyenne du contenu : 0,0877 g (min : 0,070 g, max : 0,1122 g). Trois gélules se situent en dehors de l'intervalle de $\pm 10\%$ (0,10 g, 0,1122 g, 0,070 g) ;
- F2 : masse moyenne du contenu : 1,256 g (min : 1,1262 g, max : 1,6012 g). Deux gélules s'écartent de $\pm 20\%$ (1,5080 g, 1,6012 g) ;

Contrôle de la teneur en principe actif

Le contrôle de la teneur en principe actif n'est envisagé que pour les formulations conformes sur le plan d'uniformité de masse : — Formulation F4 : L'essai de la teneur en 3,4-DAP dans le lot F4 montre une teneur moyenne de 3,05 mg (2,40-3,52 mg). Cinq gélules se situent en dehors de la fourchette 85-115 % soit (2,12-2,87 mg) et trois gélules se situent en dehors de l'intervalle 75-125 %.

Formulation F6 : le dosage individuel de dix gélules de 3,4-DAP prélevées au hasard sur le gélulier semi-automatique, montre une teneur moyenne de 2,33 mg (1,90-2,33 mg). Trois unités se situent en dehors de la fourchette 85-115 % [18] (1,90 ; 1,97 et 1,97 mg). Aucune gélule ne se situe en dehors de l'intervalle 75-125 % [18].

Notre composé caractérisée par une composition pharmaceutique qui peut comprendre en outre un ou plusieurs excipients compatibles inoffensifs toxicologiquement avec une dose à 2,5 mg

Essai de stabilité

Aux températures comprises entre 4°C et 40 °C

L'étude de stabilité des gélules de 3,4-DAP à 2,5 mg, entre 4 °C et 40 °C, montre que leur composition n'est pas modifiée trois mois après leur fabrication. En effet :

— l'observation visuelle des solutions, préparées à partir des dites gélules, ainsi conservées pendant 3 mois n'a pas mis en évidence de coloration, précipitation ou cristallisation anormales ;

— le spectre d'absorption reste inchangé ;

— le dosage par spectrophotométrie UV-visible, du principe actif, ne varie pas significativement (5 %).

Aussi avons nous choisi, pour notre préparation hospitalière, une durée de conservation de deux mois entre 4 °C et 40 °C.

Aux températures supérieures à 40 °C, les gélules de 3,4-DAP dosées à 2,5 mg n'ont pas connu de dégradation significative, après deux mois de conservation dans différentes températures expérimentales allant jusqu'à 60 °C. Si le séjour à 60 °C est égale ou dépasse trois mois la poudre contenue dans les gélules devient brunâtre. Le spectre d'absorption est nettement modifié et la teneur moyenne par gélule du principe diminue jusqu'à 33 % (1,67 mg).

Étude de la stabilité du produit fini

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature de données sur la stabilité de la 3,4-DAP, hormis certaines indications figurants sur l'emballage même de ce principe actif (notamment une durée de validité de deux ans, conditionnement en flacon de verre brun, une étiquette liste I, avec la mention : « Conserver le conditionnement primaire soigneusement fermé et à l'abri de la lumière »). Trois lots de 100 gélules ont servi à cette étude. Nous avons donc opté pour un essai de stabilité dans les limites de températures comprises entre 5 et 60°C, prenant ainsi en compte les conditions habituelles de conservation et celle du vieillissement accéléré.

L'essai de stabilité a montré une bonne conservation du produit fini dans les limites extrêmes des conditions normales d'emploi. L'évaluation clinique et électromyographique a mis en évidence un effet bénéfique de cette préparation hospitalière.

L'apport de notre invention est que le procédé de stabilisation découle de la formulation 3,4 diaminopyridine, carmin de cochenille E-120, amidon de Blé, Stéarate de magnésium et dure 5 ans à la température ambiante (25°C). La nouvelle composition du 3,4-DAP le mélange est délivré sous forme de gélule, comprimé ou suspension buvable, ou autres formes galéniques

Les revendications

1. La nouvelle composition du 3,4-DAP pour la préparation d'un composé pharmaceutique pour le traitement de la fatigabilité musculaire associée à des troubles neurovégétatifs chez l'homme comprenant :

- le carmin,
- l'amidon de blé,
- le carboxymethyl cellulose ou le stéarate de magnésium

Caractérisée en ce que le nouveau dosage de chaque composé assure la stabilité de la préparation sur une durée 5ans à température ambiante,

2. La nouvelle composition du 3,4-DAP selon la revendication 1, **caractérisée en ce que** la quantité des excipients varie entre: 0,1 à 0,5 mg pour le carmin, 5à7mg pour l'amidon de blé, et de 1à 2mg pour le stéarate de magnésium pour une gélule de 0,22ml de volume,

3. La nouvelle composition du 3,4-DAP selon la revendication 1 et 2, **caractérisée en ce que** le mode opératoire respecte la succession des étapes, d'abord la dose du principe actif suivie de l'indicateur coloré (Carmin de COCHNILLE) ensuite l'amidon de blé et enfin le stéarate de magnésium,

4. La nouvelle composition du 3,4-DAP selon la revendication 1,2 et 3 **caractérisée en ce que** le processus du mélange d'homogénéisation respecte une durée de 20 à 30 minutes,

5. La nouvelle composition du 3,4-DAP selon la revendication 1,2,3 et 4, **caractérisée en ce que** ce mélange est délivré sous forme de gélule, comprimé ou suspension buvable.

Annexes

Liste des figures

- 1- structure chimique de la 3-4 diaminopyridine $C_5H_7N_3$ P=109,1
- 2- spectre d'absorption de la 3-4 diaminopyridine dans le méthanol
- 3- uniformité de masse des gélules la 3-4 diaminopyridine 2,5 mg
- 4- essai d'uniformité de masse des gélules la 3-4 diaminopyridine 2,5 mg



