



(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication : **MA 36992 B1** (51) Cl. internationale : **A61K 36/00**

(43) Date de publication :
29.07.2016

(21) N° Dépôt :
36992

(22) Date de Dépôt :
08.05.2014

(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) :
CHERAH YAHIA ; DOUDACH LATIFA ; ABBES FAOUZI ; MEDDAH BOUCHRA

(74) Mandataire :
ZAOUI FATIMA

(54) Titre : **nouvelle composition pharmaceutique d'extrait aqueux d'un mélange de six
plantes a effet sedatif**

(57) Abrégé : Notre invention est une composition d'un extrait aqueux à base d'un mélange de six plantes, Cuminumcyminum, Lanadulaveraaugustifolia, Rosmarinusofficinalis, Litseacitrata oucubeba, PimpimellaAnisum et Foeniculumvulgare pour son application en tant que médicament sédatif et contre toutes les formes des états psychotiques et les affections qui y sont liées. Selon l'invention, cette composition présente une activité sédativ a action antipsychotique symptomatique et en provoquant la mise au repos du SNC, ce mélange augmente l'efficacité du GABA (récepteurs couplés à un ionophore chlorique) intervenant sur ce neurotransmetteur grâce à certaines interactions allostériques. Le GABA a pour propriété principale d'inhiber les autres systèmes monoaminergiques (non adrénergiques, dopaminergique, serotoninergique) ce qui permettrait d'expliquer, au moins partiellement, l'action plutôt sédativ, de cet agoniste

Revendications

1. Composition d'un extrait aqueux d'un mélange comprenant au moins six plantes :
Cuminum cyminum , Lanandula vera augustifolia, Rosmarinus officinalis, Litsea citrata
ou cubeba, Pimpimella Anisum et Foeniculum vulgare

Caractérisé en ce que la dite composition produit un effet sédatif sur l'homme et l'animal.

2. Composition selon la revendication 1 caractérisée en ce qu'elle est présentée sous forme de poudre pour dilution ou sirop, obtenue par atomisation ou séchage ou lyophilisation à partir de l'extrait aqueux.

3. Composition selon la revendication 1,2 caractérisée en ce l'extrait aqueux de mélange est obtenu à partir de quantités égales en poids de l'ensemble des plantes par rapport au poids total de la composition ou du médicament.

TITRE : NOUVELLE COMPOSITION PHARMACEUTIQUE D'EXTRAIT AQUEUX D'UN MELANGE DE SIX PLANTES A EFFET SEDATIF

30 DEC 2015

Description

Découvrir de nouvelles molécules thérapeutiques est une quête de tous les jours, effectuée par les industries pharmaceutiques et certains laboratoires publics. Depuis des millénaires, l'homme profite des ressources de la nature pour se soigner, la biodiversité du patrimoine végétal est ainsi une source sans pareil de découvertes pouvant enrichir la thérapeutique.

Le Maroc, par la richesse, la diversité et les originalités de sa flore, occupe une place importante au niveau du bassin méditerranéen offrant ainsi aux chercheurs l'opportunité de trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques importantes. Conscient de la valeur clinique, pharmaceutique et économique des médicaments à base de plantes, le Maroc a mis en place des stratégies visant le développement et la valorisation de ce secteur. La valorisation thérapeutique des plantes médicinales par recherche de nouvelles propriétés médicales peut offrir une réelle opportunité de développement au Maroc. En effet, le Maroc dispose d'un savoir-faire ancestral pour la médication par les plantes qui mérite d'être apprécié scientifiquement.

Disposant donc des originalités floristiques importantes et d'une plate forme spécialisée en matière de criblage de molécules bioactives nous visons par notre invention de valoriser les plantes aromatiques et médicinales en contribuant à la recherche de nouvelles préparations thérapeutiques naturelles. A l'échelle nationale, cette invention s'inscrit parfaitement dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales, par mise au point de nouvelles propriétés pharmacologiques et, intègre également l'imminente stratégie de l'OMS, encourageant vivement l'utilisation des médicaments traditionnels à base de plantes. Notre étude apporte une originalité dans la comparaison de la toxicité et l'activité sédatrice d'un mélange de six plantes in vivo selon les directives européennes. La dose létale 50 chez les souris par voie intrapéritonéale L'utilisation traditionnelle de mélange pour une indication préventive ou thérapeutique semble a priori justifiée en guise de son innocuité ce qui est aussi montré au cours de cette étude et que la DL₅₀ du mélange dépassait 2000 mg/kg de poids corporel d'une souris

L'observation fortuite de la sédation des animaux lors de l'administration de l'extrait de mélange nous a orienté vers l'évaluation de ce volet neuropharmacologique. ce mélange présente un effet pharmacologique sur le système nerveux central, il provoque une perte de la capacité de rétablissement et l'inhibition du désir d'évasion et de fuite, l'inhibition de la curiosité et la réaction de l'exploration chez l'animal. Par rapport au clobazam, le mélange de plantes présente une sédation comparable selon les tests relatifs à l'étude du réflexe et de la psychovigilance.

Le but de l'invention est de proposer une nouvelle composition pharmaceutique qui produit selon les doses utilisés, un sommeil plus ou moins physiologique, ainsi que comme traitement ou prévention contre toutes les formes des états psychotiques et les affections qui y sont liées

et qui sont caractérisées par leur aptitude à produire une symptomatologie neurologique, extrapyramidale et neuroendocrinienne. Le déposant a constaté, de façon surprenante, qu'un extrait aqueux d'un mélange de six plantes était utilisable en tant que composition pharmaceutique ou diététique pour le traitement des états psychotiques, aiguës ou chroniques, organiques ou fonctionnels et les délires aigus ainsi d'autres psychoses hallucinatoires chroniques.

L'invention a ainsi pour objet une composition pharmaceutique et/ou diététique renfermant un extrait aqueux au moins de la plante *nigella sativa* associé notamment avec d'autres plantes de feuilles d'*olea europaea*. Le terme extrait aqueux est ici à prendre au sens d'un extrait obtenu par l'eau mais non par l'alcool ou par une huile. La présente invention est différente de toutes les autres inventions utilisant un extrait aqueux de plusieurs plantes en association avec des propriétés sédatives toutes les formulations pharmaceutiques décrites sont faites soit avec les extraits totaux d'une seule plante, soit les extraits organiques ou huileux. Aucune de ces compositions ne sont faites à partir des seuls extraits aqueux. Plusieurs articles scientifiques décrivent aussi l'utilisation des extraits huileux ou totaux des d'une plante du mélange comme sédative.

Matériel et méthodes

Extraction des plantes

6 plantes ont été choisies pour leur usage fréquent en médecine traditionnelle dans le traitement de l'insomnie qui sont : *Cuminum cyminum*, *Lanandula vera augustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Lippia citriodora*, *Pimpinella Anisum* et *Foeniculum vulgare*. Notre étude ethnopharmacologique a porté sur des informations exhaustives sur les plantes et leurs parties utilisées ainsi que la dose préparée et recommandées par les herboristes. Inspiré de la méthode traditionnelle, les plantes à étudier sont finement broyées. La poudre obtenue de chaque plante a été utilisée en même quantité (30g) pour la préparation d'une infusion aqueuse. Rendement de l'extraction aqueuse 5 % (w/w).

Sélection de l'espèce animale

L'étude a été portée sur des rongeurs essentiellement des souris EOPS swiss adultes mâles et femelles d'environ 20 à 30 g de poids corporel. Ils ont été élevés dans des conditions standards de laboratoire : l'eau du robinet, une nourriture régulière, un cycle de 12h/12h de lumière/obscurité et une température de 21 - 23°C. Les animaux ont été traités selon les directives du Journal Officiel de la Communauté Européenne (JOCE) au sujet du soin et de l'utilisation des animaux de laboratoire. Les souris sont mises à jeun préalable de 18 heures avant l'administration du produit.

Essais Toxicologiques

L'étude toxicologique est réalisée selon la méthode des Lignes directrices OCDE 423. Les animaux, d'un poids moyen de 20 à 30 g et âgés d'environ trois mois sont mis à jeun la veille de l'expérience. Pour la dose initiale on a choisi 2 000 mg/kg pour laquelle on peut s'attendre à observer de la mortalité parmi quelques-uns des animaux traités. L'essai est réalisé sur 3 lots de 3 souris sur Le mélange des plantes à tester est solubilisé dans l'eau physiologique puis administré par voie Intraperitoniale et orale en une seule dose. Les animaux témoins reçoivent quant à eux le solvant sans extrait de plante. Les animaux doivent être observés individuellement au moins une fois pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement. Toutes les observations sont enregistrées de façon systématique pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de la substance ainsi que le suivi du poids individuel de chaque animal.

Activité sédative

L'étude de l'effet sédatif de l'extrait du mélange de 6 plantes a été réalisée chez des souris swiss par voie IP. Les essais pharmacologiques comportaient une panoplie de tests :

➤ Test de la traction (test de l'équilibre)

Ce test consiste à suspendre les souris par les pattes antérieures à un fil métallique tendu horizontalement. Une souris normale qui ne parvient pas à effectuer un rétablissement qui amène au moins une des pattes postérieure à toucher le fil, est considérée comme soumise à une action sédatif. Saisir l'une après l'autre les souris par la peau du dos et la queue et présenter le fil à leur pattes antérieures. L'animal normal effectue son rétablissement immédiatement : la réaction est positive.

Dans le cas contraire, la réaction est dite négative. Aussi, on note le comportement des animaux à la barre fixe selon le traitement (l'animal reste suspendu ou refuse la barre), et le nombre de réactions négatives observées pour chaque lot

➤ Test de la cheminée

Qui a pour but d'étudier le comportement de l'animal, la vigilance et le désir de fuite suite à un emprisonnement dans une enceinte.

Ce test consiste à placer verticalement une souris dans une éprouvette en verre de 30 cm de longueur, une souris normale tente de remonter généralement en une dizaine de secondes, les souris sont considérées comme ayant répondu au test lorsqu'elles effectuent la montée du cylindre en moins de 30 secondes.

Au cours de ce test, on calcule :

- Le nombre de souris ayant répondu au test.
- Le temps moyen mis par les animaux pour remonter
- Le tube de verre (maximum 60 secondes).

➤ Test de la blanche à trous

Cet essai permet de mettre en évidence l'action inhibitrice psycholeptique sur une des composantes du comportement d'investigation : la réaction d'exploration, réaction en rapport à la fois avec la curiosité et avec le désir de fuite de l'animal.

Les souris sont déposées une à une au centre d'une planche de 40x40 cm et de 1,8 cm d'épaisseur, où sont percés 16 trous de 3 cm de diamètre, régulièrement espacés. La planche est disposée de façon que les trous apparaissent sans fond. On compte le nombre de fois où la souris plonge la tête dans un des trous.

Le nombre de trous explorés est relevé au bout de 1, 2, 3, 4 et 5 minutes. Les moyennes sont calculées pour chaque minute et pour l'ensemble des 5 minutes.

Pour chaque test, trois lots homogènes de cinq souris sont utilisées :

- Lot 1 : Lot Témoin de souris recevant l'eau distillée par voie intrapéritonéale.
- Lot 2 : Lot de référence, les souris ont reçu le clobazam 20mg/kg par voie intrapéritonéale., médicament ayant une action sédative, appartenant à la famille des benzodiazépines.
- Lot 3 : Lot Essai, les souris ont reçu l'extrait aqueux du mélange des plantes à une dose de 200mg/Kg par voie intrapéritonéale.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS 9.0. le calcul des variables quantitatifs a été réalisé en utilisant les moyennes et l'écart-type. L'ANOVA one-way a été utilisé pour la comparaison de plusieurs groupes et le test de Bonferroni. La limite de la signification statistique a été fixée à $p < 0.05$.

Résultats

La Toxicité aiguë

Pour chaque lot d'animaux et durant les 14 jours, l'évolution du poids était variable au cours de la pesée quotidienne des souris ; généralement, les souris avaient un bon état général. A une dose de 2000 mg/kg, l'extrait du mélange n'a entraîné aucune mortalité par voie intrapéritonéale ni par voie orale. Selon le système de classification global harmonisé (SGH) ce produit est classé catégorie 5 ou non classé, dont la DL 50 est supérieure à 5000 mg/kg.

Activité sédative

Tous les résultats sont exprimés par rapport au lot témoin et par rapport au lot de référence.

Test de traction: le temps de rétablissement du lot des souris est nettement allongé après l'administration de produit testé par rapport au lot des souris témoins. En plus, la plupart des souris traitées ont subi des chutes (tableau I).

Test de la cheminée: chez les animaux traités par le produit testé, on note une perte de l'initiative et de la curiosité. Nous avons observés que les souris ayant reçu les extraits sont calmes, moins agités, restent allongés et yeux fermés.

Ainsi, nous avons noté une perte de l'initiative, de la curiosité et un manque de redressement quand elles sont introduites dans la cheminée. Ils ont mis un temps moyen supérieur à 30 s pour remonter le tube.

Test de la planche à trous: le produit testé diminue le nombre cumulatif de trous explorés (en rapport avec la curiosité) et le nombre d'espaces parcourus entre deux trous (en rapport avec l'activité motrice). Le traitement par l'extrait du mélange a donc diminué chez les souris la capacité de l'exploration de trous et également l'activité de parcourir la planche.

Le nombre moyen de trous visités est réduit par rapport à celui exploré par les souris témoins. Après administration du produit, les souris ne se déplacent que dans les trous qui leur sont juxtaposés, et finissent par devenir sans motif de curiosité.

Les huiles essentielles et extraits des plantes sont connues pour leurs effets anticonvulsifs, sédatif, hypnotique, antidépresseur et sont utilisées pour traiter les « crises de nerfs », tension nerveuse et dépression. Les propriétés sédatives de mélange a ici été mises en évidence par son influence sur le temps de rétablissement et la perte de l'initiative et de la curiosité chez la souris. Parailleurs, les benzodiazépines sont dépresseurs du système nerveux central, elles sont utilisées pour contrôler les désordres du sommeil comme l'insomnie; elles agissent en se liant au récepteur GABA de type A couplé a un ionophore. Elles réduisent le temps d'apparition du sommeil et diminuent également l'activité exploratrice de l'animal. Il est admis que l'activité locomotrice résulte de l'activation du cerveau, et se manifeste par une excitation des neurones incluant différents mécanismes neurochimiques et une augmentation du métabolisme cérébral. Ainsi, il serait possible que l'activité sédatif de l'extrait soit médiée par la voie GABA ergique, la modulation de la transmission GABA ergique étant impliquée dans une sédation profonde chez la souris. L'action inhibitrice du GABA consiste en l'ouverture des canaux chlorure pour permettre l'hyperpolarisation de la membrane, entraînant une dépression du SNC et induisant une activité sédatif. Le glutamate et le GABA sont quantitativement les plus important excitateurs et inhibiteurs neurotransmetteurs au niveau cérébral chez les mammifères. Les récepteurs de ces neurotransmetteurs seraient des cibles importantes des médicaments psychotropiques.

En conclusion cette présente étude indique un effet central marquant suite à l'activité psychotrope de mélange de plantes testé qui montre des effets sédatifs, vis-à-vis du produit de référence. Par rapport aux souris témoins, les souris traités par l'extrait montrent un retard de réactivité, un manque de curiosité et de vigilance, cette réponse est assez similaire à celle de l'effet du médicament de référence ; le clobazam à 20 mg/kg, l'animal devient donc moins réactif aux incitations du milieu extérieur et se laisse gagner par la sédation.

Abrégé

Notre invention est une composition d'un extrait aqueux à base d'un mélange de six plantes, *Cuminum cyminum*, *Lanandula vera augustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Litsea citrata* ou *cubeba*, *Pimpinella Anisum* et *Foeniculum vulgare* pour son application en tant que médicament sédatif et contre toutes les formes des états psychotiques et les affections qui y sont liées. Selon l'invention, cette composition présente une activité sédatrice à action antipsychotique symptomatique et en provoquant la mise au repos du SNC, ce mélange augmente l'efficacité du GABA (récepteurs couplés à un ionophore chlorique) intervenant sur ce neurotransmetteur grâce à certaines interactions allostériques. Le GABA a pour propriété principale d'inhiber les autres systèmes monoaminergiques (non adrénérgiques, dopaminergique, serotoninergique) ce qui permettrait d'expliquer, au moins partiellement, l'action plutôt sédatrice, de cet agoniste.

Liste des figures et des tableaux**Tableau 0 : : Plantes et indications thérapeutiques****Tableau 1: Action sédatrice de l'extrait de plantes par voie intrapéritonéale à la dose de 200mg/kg**

Tableau 0

Nom	Nom Botanique	Nom local	Partie utilisée	Biochimie	Propriétés	Indications
Yumin	Cuminum cyminum	kammûn	Fruits	Monoterpènes, Sesquiterpènes, Alcools terp./monoterpénol les Monoterpénals, Aldéhydes aromatiques, Coumarines	Anti-inflammatoire, Calmant, Sédatif, Antispasmodique, Tonique et stimulant digestif	Problèmes viscéraux inflammatoires Dyspepsies, aérophagie
avande ne	Lanandula vera augustifolia	khzama	Sommités fleuries	Linalol, Lavandulol, Acétate de linalyle, acétate de terpényle	Antispasmodique puissant, Calmant, sédatif, Cicatrisant et régénérateur cutané, Antalgique	Maladies de la peau, Vergéture, plaies, Acné, Affections des voies respiratoires, Troubles digestifs,
romarin	Rosmarinus officinalis	âzîr	Feuilles	pinènes, 1,8 cinéole (17-25%), camphre (12,5-22%), bornéol	Antibactérien, Fongicide, anticatarrhal, expectorante, Mucolytique	Infections des voies respiratoires, cystites, Dyspepsie, Poux, Peaus sèches, Rides, Cellulite
anis vert	Pimpinella Anisum	habbat hlâwa	Fruits	Polysaccharides, des flavonoïdes et de l'E-anéthol	Digestion lente ou difficile, Ballonnements, Érucations, Flatulences et gaz intestinaux, Toux diverses (bronchite, rhume, asthme), Stimuler le système immunitaire,	Apéritif, cholagogue, stomachique Aérophagie, digestion difficile Antispasmodique pédiatrique

36992B1

enouil	Foeniculum vulgare	nâfa' beldi	Fruits	Glucides, Vitamine C, Bêta carotène, Vitamine B9. Minéraux et oligo-éléments : fer, potassium, phosphore, calcium, magnésium	Météorisme (ballonnements), Aérophagie, Lithiase urinaire (pierres ou calculs), Règles difficiles ou insuffisantes, Affections des bronches et pulmonaires, Rhume et grippe, Douleurs gastriques, Vomissements nerveux, Parasites intestinaux,	Traitement des embarras gastroduodénaux et de l'ictère, Galactogène et carminatif Antispasmodique pédiatrique
erveine	Lippia citriodora	Lwîza	Feuilles	Flavonoïdes Acides-phénol Linalol, terpinéol, cinéole et de caryophyllène	Antispasmodique pédiatrique, eupéptique, Sédatif	En infusion tisane digestive et sédative Très utilisé chez les nourrissons

36992B1

MA

Tableau 1

Tests Comportementaux		Témoin	Clobazam 20mg/kg	Extrait de Plante 200mg/kg
Cheminée	Temps pour sortir de tube	$8 \pm 0,5$ secondes n = 5	t > 2 min n = 5	t > 2 min* n = 5
Planche à trous	Nombre moyen de trous explorés en 5 minutes	10 ± 1 n = 5	$0 \pm 0,0$ n = 5	$1 \pm 0,0^*$ n = 5
Traction	Tm Rt	$0 \pm 0s$ n = 5	$9 \pm 1s$ n = 5	$10 \pm 0.8^*$ n = 5

Tm Rt : temps moyen de rétablissement