

(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 58654 A1** (51) Cl. internationale : **C07D 261/12; C07D 261/12**
- (43) Date de publication : **28.06.2024**
-
- (21) N° Dépôt : **58654**
- (22) Date de Dépôt : **01.12.2022**
- (71) Demandeur(s) : **Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Route d'Immouzer BP 2626, 30000 FES (MA)**
- (72) Inventeur(s) : **Bencheikh Rachid ; Mahou Youssef ; Chda Alae**
- (74) Mandataire : **IBNSOUDA Saad**
-
- (54) Titre : **Composition vasodilatatrice et anti-hypertensive à base d'un extrait non-cannabinoïdique du Cannabis sativa et son procédé de préparation**
- (57) Abrégé : La présente invention concerne une composition à base d'un extrait non-cannabinoïdique ayant un effet vasodilatateur et donc anti-hypertensif, obtenue à partir du Cannabis sativa du rif marocain, ainsi que son procédé de préparation. Cette préparation riche en composés phénoliques détient un effet anti-hypertensif vasodilatateur cholinomimétique ce qui lui confère un usage prometteur contre l'hypertension artérielle.

Titre : Composition vasodilatatrice et anti-hypertensive à base d'un extrait non-cannabinoidique du Cannabis sativa et son procédé de préparation

Abrégé

La présente invention concerne une composition à base d'un extrait non-cannabinoidique ayant un effet vasodilatateur et donc anti-hypertensif, obtenue à partir du Cannabis sativa du rif marocain, ainsi que son procédé de préparation. Cette préparation riche en composés phénoliques détient un effet anti-hypertensif vasodilatateur cholinomimétique ce qui lui confère un usage prometteur contre l'hypertension artérielle.

Titre : Composition vasodilatatrice et anti-hypertensive à base d'un extrait non-cannabinoïdique du Cannabis sativa et son procédé de préparation

Description

▪ **Domaine technique**

La présente invention concerne le domaine pharmaceutique, et plus particulièrement les médicaments vasodilatateurs et/ou anti-hypertensifs à base de plantes.

▪ **Description de l'état de l'art antérieur**

En raison de l'impact global de l'hypertension en chiffre de mortalité et de morbidité, de nombreuses études ont été menées afin de trouver des médicaments antihypertenseurs et des nouvelles alternatives thérapeutiques. Il existe différents types de médicaments antihypertenseurs, parmi eux les vasodilatateurs tels que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, les inhibiteurs calciques et les dérivés nitrés qui régulent la pression artérielle, notamment par leurs actions sur la résistance vasculaire périphérique (Niaz et al., 2017). Ces médicaments antihypertenseurs auraient également des effets secondaires indésirables (Shi et al., 2017, Pal et Shukla, 2003). La phytothérapie pourrait être une voie alternative proposant des médicaments à base de plantes qui peuvent être peu coûteux et avec moins d'effets secondaires.

De nombreux brevets ont rapporté un effet vasodilatateur des plantes médicinales :

Un extrait de la plante *Dendropanax morbifera* a été breveté comme une composition pharmaceutique et complément alimentaire vasodilatateur pour prévenir, améliorer ou traiter les maladies vasculaires (KR20170024845 20170224).

Un extrait de la plante *Ulmus macrocarpa* en tant que principe actif a été breveté comme une composition pharmaceutique pour dilater les vaisseaux sanguins (KR20070132164).

Un extrait des racines de *Saururus chinensis* a été également breveté en tant qu'une composition ayant l'effet de réduction de la pression sanguine par relaxation vasculaire (WO2008082268).

Le cannabis est l'une des plantes médicinales le plus anciennement utilisées. Il est connu pour son potentiel thérapeutique dans les maladies associées à l'inflammation, les troubles gastro-intestinaux, le stress oxydatif, les maladies neurodégénératives et les maladies métaboliques (Izzo et al., 2009, Booz et al., 2012). Les cannabinoïdes sont une famille de molécules

spécifiques au Cannabis qui peuvent exercer leurs effets biologiques principalement en interagissant avec les récepteurs cannabinoïdes endogènes. Récemment, un grand intérêt pharmaceutique pour cette plante s'est adressé aux cannabinoïdes non psychoactifs, grâce à leurs nouvelles applications thérapeutiques. Toutefois, le Cannabis sativa contient d'autres métabolites secondaires non-cannabinoïdes tels que les polyphénols, les terpénoïdes, les glucides, les acides gras saturés et insaturés (Andre et al., 2016) qui peuvent également avoir des effets pharmacologiques bénéfiques. Ces métabolites secondaires non-cannabinoïdes peuvent provoquer directement des effets pharmacologiques. En effet, le brevet (US20070308074) décrit un polyphénol qui peut être utilisé dans la fabrication d'un complément alimentaire ou d'un médicament pour le traitement prophylactique ou thérapeutique de la dysfonction endothéliale ou du syndrome métabolique et d'autres séquelles vasculaires. Un autre brevet (CN201010177251) décrit une application médicale des flavonoïdes des feuilles d'Actinidia kolomicta préparée ayant des effets de prévention et de traitement remarquables sur la démence vasculaire, en utilisant plus de 40 % de kaempféride-7-O-(4"-O-acétyl-rhamnosyl)-3-O-rutinoside. Les métabolites secondaires non-cannabinoïdes peuvent également agir en synergie avec des molécules cannabinoïdes. En effet, la combinaison de différents métabolites secondaires du Cannabis sativa augmenterait les propriétés thérapeutiques (Russo et al, 2012). Par conséquent, des extraits du Cannabis sativa peuvent avoir de meilleurs effets pharmacologiques que des composés individuels.

Un extrait de la plante Cannabis sativa contenant au moins un cannabinoïde a été breveté pour le traitement de troubles hypertensifs par administration sous-muqueuse (US20100772140)

▪ **Exposé de l'invention**

L'hypertension artérielle est l'une des causes les plus importantes de mortalité dans le monde, car une pression artérielle élevée est considérée comme le principal facteur de risque de maladie coronarienne et de ses complications telles que l'insuffisance cardiaque, les accidents vasculaires cérébraux et les complications rénales (Abegaz et al. 2017).

Le cannabis a récemment connu un regain d'intérêt en raison de ses applications polyvalentes, c'est en effet un trésor de composés phytochimiques. De nombreux produits chimiques sont produits dans le cannabis par le biais du métabolisme secondaire. Ils comprennent des cannabinoïdes, des terpènes et des composés phénoliques (Flores-Sanchez et Verpoorte, 2008). Bien que les propriétés pharmacologiques des cannabinoïdes ont été largement étudiées et

soient les plus reconnues, les autres composants n'ont rien à leur envier, car ils ont également été associés à de puissantes propriétés bénéfiques pour la santé. Une attention supplémentaire est maintenant portée sur les composants non-cannabinoïdes actifs du cannabis, qui peuvent agir en synergie et contribuer au pouvoir pharmacologique de l'extrait de cannabis à base médicinale (Russo, 2011).

La présente invention concerne une composition à usage pharmaceutique, il s'agit d'un extrait dépourvu des cannabinoïdes ayant un effet vasodilatateur et/ou anti-hypertensif à partir du Cannabis sativa. Localement, un effet vasodilatateur peut être bénéfique pour l'érection par exemple, Il est également envisagé lors d'AVC, de troubles cognitifs ou pour **soulager le syndrome de Raynaud**, entre autres. In vivo, cet effet vasodilatateur contribuera à contrer l'hypertension et l'insuffisance cardiaque.

Un autre volet de l'invention concerne le procédé d'obtention de ladite composition de l'extrait éthanolique qui se fait par extraction séquentielle au Soxhlet avec quatre solvants qui sont dans l'ordre : l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et l'éthanol.

L'avantage que présente cette invention c'est que l'extrait est non-cannabinoïdique et n'induit donc pas de dépendance et ne présente pas de toxicité en plus de ses effets anti-hypertensif, et vasodilatateur.

Brève description des figures

La figure 1 compare l'effet vasodilatateur de quatre extraits séquentiels obtenus, respectivement, par l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, et l'éthanol, ces extraits ont été testés sur le lit artériel mésentérique isolé du rat, pré-contracté par la phényléphrine.

La figure 2 montre l'effet de quatre semaines de traitement oral par L-NAME seul et par LNAME en association avec l'extrait, sur la pression artérielle systolique des rats.

- **Description détaillée de l'invention**

La présente invention concerne une composition à usage pharmaceutique qui comporte un extrait ethanologique séquentiel non-cannabinoïdique à base du Cannabis sativa (plant femelle dépourvue de trichomes (Riche en THC).

Ladite composition comporte néophytadiène, squalène, β -sitostérol, apigénine et de dérivés de la lutéoline.

Ces molécules ont été déterminées par chromatographie liquide à haute performance, et par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

La composition objet de la présente invention possède un effet anti-hypertensif prouvé in-vivo, un effet vasodilatateur prouvé in-vitro, dont le mécanisme d'action est semblable à celui de l'acétylcholine.

Selon l'invention, cette composition a aussi la caractéristique de la non toxicité, elle n'induit pas une toxicité aigüe cher les rats.

Un autre volet de l'invention concerne le procédé d'obtention de ladite composition qui comporte les étapes suivantes :

- Récolte et séchage des plants femelles du Cannabis sativa après maturation.
- Séparation des trichomes et des graines par battage et tamisage.
- Extraction séquentielle du résidu de la plante par Soxhlet.
- Récupération de l'extrait ethanologique après séparation de l'éthanol par lyophilisation.

En effet, après la récolte et le séchage du Cannabis sativa, seules les feuilles et les fleurs de la plante femelle asséchée ont été utilisées, sans trichomes ni graines. Les trichomes et les graines riches en cannabinoïdes ont été auparavant éliminés avec battage et tamisage. Ensuite, une extraction au Soxhlet a été effectuée de façon séquentielle, en utilisant des solvants de polarité croissante. L'extraction est terminée lorsque le solvant à l'intérieur du Soxhlet devient clair. Dans notre cas, l'extraction dure environ 12h pour chaque solvant. Les solvants utilisés étaient l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, et l'éthanol, ce dernier est connu par son affinité aux polyphénols dont le rôle antioxydant et vasodilatateur est important.

L'extraction au Soxhlet a été retenue comme technique d'extraction car elle favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale. Enfin l'extrait

ethanolique récupéré est séparé du solvant par la lyophilisation pour obtenir un extrait sec qui va être conservé à environ -20°C jusqu'à utilisation.

Exemple 1 : Étude de l'effet anti hypertensif

L'effet anti hypertensif que possède ledit extrait a été mis en évidence chez des rats hypertendu par de la L-NAME (N ω -Nitro-L-arginine méthyl ester hydrochlorate), qui est un inhibiteur de la NO synthase (NOS). Des rats ont été traités par voie orale chaque jour pendant quatre semaines et leur pression systolique a été mesurée au bout de chaque semaine. Le groupe témoin n'a rien reçu, le groupe L-NAME a reçu 32mg/Kg/jour du L-NAME, et le groupe L-NAME+Extrait a été co-traité avec 32 mg/Kg/jour du L-NAME et 125 mg/Kg/jour de l'extrait. Les résultats reflètent une différence significative entre les rats hypertendus traités par l'extrait et les rats hypertendus non traité par l'extrait et confirment son potentiel effet anti hypertensif (figure 1).

Exemple 2 : Étude de l'effet vasodilatateur

L'effet vasodilatateur que possède ledit extrait a été mis en évidence sur le lit artériel mésentérique isolé des rats. Des doses allant de 0,01 mg à 0,5 mg ont été testées sur le lit artériel mésentérique pré-contracté avec de la phényléphrine pour induire une pression de perfusion de 80–100 mmHg. Une diminution de la pression de perfusion en dessous du plateau après une injection d'extraits de Cannabis sativa a été considérée comme une vasodilatation. Les quatre extraits de Cannabis sativa ont induit une vasodilatation dose-dépendante sur le lit artériel mésentérique en diminuant sa pression de perfusion. La plus forte diminution de la pression de perfusion causée par les extraits était celle de l'extrait obtenu par l'éthanol, suivie par celui de l'hexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle. Sur toutes les fractions examinées, l'extrait ethanolique a causé l'effet le plus prononcé, (figure 2).

Après le traitement oral par l'extrait ethanolique, les rats ont été observés pendant quatre heures, pendant cette période nous n'avons pas notés aucun décès ou un changement dans le comportement général, comme l'hyperactivité, la sédation, la convulsion, dyspnée, ou le saignement.

Cette composition montre donc un effet vasodilatateur significatif pendant les investigations qui ont été réalisés in vitro sur le lit artériel mésentérique isolé du rat. Cet extrait a été retenu pour qu'il soit administré oralement chez des rats hypertendus pour confirmer son effet anti-hypertensif potentiel. Les résultats ont mis en évidence l'effet anti-hypertensif que possède cet

extrait ce qui lui permettrait d'être utilisé en prophylaxie ou en thérapie contre l'hypertension artérielle.

- **Application industrielle**

La présente invention peut être appliquée pour la fabrication des médicaments ou des compléments alimentaires vasodilatateurs et antihypertensifs à base de plantes.

Revendications

1. Composition à usage pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comporte un extrait éthanolique séquentiel non-cannabinoïdique à base du Cannabis sativa.
2. Composition à usage pharmaceutique, selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit extrait comporte de néophytadiène, de squalène, de β -sitostérol, d'apigénine et des dérivés de la lutéoline.
3. Composition à usage médical ou pharmaceutique, selon les revendications 1 et 2, caractérisée en ce qu'elle possède un effet anti-hypertensif prouvé in-vivo.
4. Composition à usage pharmaceutique, selon les revendications 1, 2 et 3, caractérisée en ce qu'elle possède un effet vasodilatateur prouvé in-vitro.
5. Composition à usage pharmaceutique, selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit extrait possède un effet vasculaire dont le mécanisme d'action est semblable à celui de l'acétylcholine.
6. Composition à usage pharmaceutique, selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que cet extrait n'induit pas une toxicité aigüe chez les rats.
7. Procédé d'obtention de ladite composition des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'il se passe selon les étapes suivantes :
 - Récolte et séchage de la plante femelle du Cannabis sativa après maturation ;
 - Séparation des trichomes et des graines par battage et tamisage ;
 - Extraction séquentielle du résidu de la plante par Soxhlet ; et
 - Récupération de l'extrait éthanolique après séparation de l'éthanol par lyophilisation.
8. Procédé d'obtention de ladite composition selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'étape de l'extraction séquentielle se fait en utilisant successivement l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, et l'éthanol.

Dessins

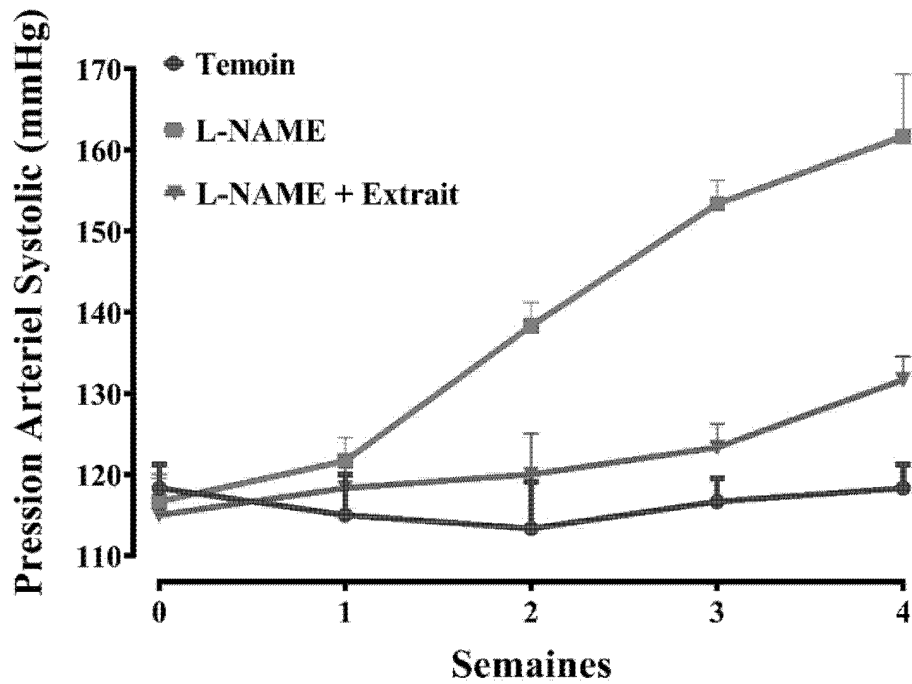


Figure 1

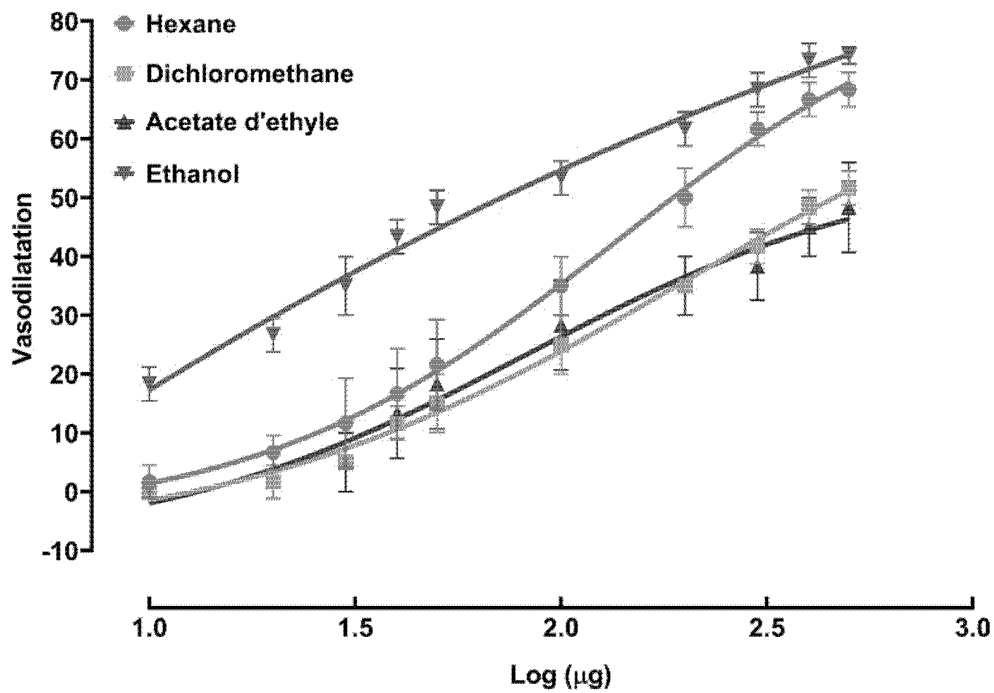


Figure 2

**RAPPORT DE RECHERCHE
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée
par la loi 23-13)

Renseignements relatifs à la demande	
N° de la demande : 58654	Date de dépôt : 01/12/2022
Déposant : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah	
Intitulé de l'invention : Composition vasodilatatrice et anti-hypertensive à base d'un extrait non-cannabinoïdique du Cannabis sativa et son procédé de préparation	
Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.	
Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site http://worldwide.espacenet.com , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.	
Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :	
Partie 1 : Considérations générales	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés	
Partie 2 : Rapport de recherche	
Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté <input type="checkbox"/> Cadre 5 : Défaut d'unité d'invention <input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle	
Examineur: BASMA SADIKI	Date d'établissement du rapport : 14/03/2023
Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00	

Partie 1 : Considérations générales**Cadre 1 : base du présent rapport**

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description
6 Pages
- Revendications
8
- Planches de dessin
1 Pages

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : C 07D 261/12

CPC : C 07D 261/12

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, IEEE, ORBIT

Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
A	US2018104213 A1 ; KUBBY STEVEN WYNN [US]; 20180419	1-8
A	US10052339B2 ; BODYBIO INC [US]; 2018-08-21	1-8
A	Radwan MM, Chandra S, Gul S, ElSohly MA. « Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis ». <i>Molecules</i> . 2021 May 8; 26(9):2774. doi: 10.3390/molecules26092774. PMID: 34066753; PMCID: PMC8125862. Lien : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8125862/	1-8
A	CN110179861 A ; LUAN YUNPENG ; 2019-08-30 L'ensemble du document	1-8
A	US2022226407A1; FAMENITY CO LTD [KR]; 2022-07-21	1-8
A	Atakan Z. « Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals ». <i>Ther Adv Psychopharmacol</i> . 2012 Dec;2(6):241-54. doi: 10.1177/2045125312457586. PMID: 23983983; PMCID: PMC3736954. Lien : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3736954/ Document entier, tableau 1	1-8

***Catégories spéciales de documents cités :**

-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
 -« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
 -« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
 -« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs
 -« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité**Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté**

La revendication 1 n'est pas claire au sens de l'article 35 de la loi 17-97 modifiée et complétée par la loi 23-13. Celle-ci définit la composition pharmaceutique par le terme « extrait éthanoïque non cannabinoïde » qui est un terme large et peut porter sur des composés non découverts. Le déposant doit déterminer les constituants de la composition et non leur nature.

Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle

Nouveauté	Revendications 1-8	Oui
	Revendications aucune	Non
Activité inventive	Revendications 1-8	Oui
	Revendications aucune	Non
Application Industrielle	Revendications 1-8	Oui
	Revendications aucune	Non

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1 : US2018104213

D2 : US10052339B2

D2 : Radwan MM, Chandra S, Gul S, ElSohly MA. « Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis ».

1. Nouveauté

Aucun des documents cités ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques faisant l'objet de la présente demande. Alors, l'objet de celles-ci est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

2. Activité inventive

Le document D1 est considéré comme étant l'état de la technique le plus proche à l'objet de la présente demande. Il divulgue une composition pharmaceutique à base de cannabis pour le traitement de troubles hypertensifs par administration sous-muqueuse comprenant une

base pharmaceutiquement acceptable et une quantité efficace d'au moins un cannabinoïde ou endocannabinoïde contenant un extrait de la plante Cannabis Sativa, sous-espèce Sativa et Cannabis Sativa, et procédés du traitement de l'hypertension primaire et secondaire.

L'objet de la première revendication diffère de D1 en ce que la composition comprend les extraits non-cannabinoïdes.

Le problème est alors considéré comme la fourniture d'une composition pharmaceutique alternative.

La solution proposée pour résoudre le problème est considérée inventive. En effet, il n'aurait pas été évident pour l'homme du métier d'arriver à la solution de la présente demande sans faire preuve d'esprit inventif pour les raisons énumérées en dessous :

1. Les documents cités en dessus sont silencieux sur l'utilisation des extraits non-cannabinoïdiens pour leur utilisation thérapeutique, d'autant plus pour l'état pathologique hypertensif.
2. Même que le document D2 divulgue l'effet synergique d'une combinaison de l'acétylcholine et les composés cannabinoïdes et D3 divulgue l'utilisation des extraits de neophytadiene et lutéoline mais aucun ne divulgue l'utilisation thérapeutique de la neophytadiene et lutéoline ou l'utilisation des extraits non cannabinoïdes dans cette combinaison thérapeutique.
3. Aucun des documents cités de l'état de ne divulgue la composition pharmaceutique revendiquée (neophytadiene, squalène, apigenine et lutéoline).

Par conséquent, l'objet des revendications 1-8 implique une activité inventive au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

3. Application industrielle

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.