159159

G00001

UTILISATION DE DERIVES DE BIGUANIDE POUR FABRIQUER UN MEDICAMENT AYANT UN EFFET CICATRISANT

La présente invention concerne la cicatrisation des plaies. Elle concerne en particulier l'utilisation de dérivés de biguanide ou de leurs sels pharmaceutiquement acceptables, avantageusement la metformine, pour fabriquer un médicament ayant un effet cicatrisant.

La cicatrisation des plaies ou des dommages apparentés de différents types de tissus dépend généralement de la prolifération de nouveaux tissus épithéliaux, endothéliaux et conjonctifs. Elle met donc en jeu une série d'événements coordonnés, cellulaires et moléculaires. Elle peut être retardée ou modifiée par des perturbations métaboliques qui accompagnent certaines maladies de longue durée telles qu'insuffisance veineuse, artérite, diabète et même par certaines thérapies.

Le marché pharmaceutique offre actuellement de nombreuses préparations topiques recommandées pour la cicatrisation des plaies. En fait, leur action résulte de la complémentarité des différents produits qui les composent et qui leur confèrent, dans une certaine limite, leur propriété cicatrisante. Elles protègent les plaies du milieu environnant par un pansement antiseptique. Elles stimulent le développement de la vascularisation et régulent l'épidermisation. Ces formes topiques sont constituées principalement d'un mélange lipidique (lanoline, vaseline, glycérine...) dans lequel sont ajoutés des acides (salicylique, benzoïque, malique), des minéraux (oxyde de zinc, de titane) ou des halogénures (iodure d'amidon).

Certaines contiennent également du collagène, du fibrinogène, du protéolysat enzymatique de sérum (apport d'acides aminés) ou encore des vitamines (vitamine A) ou des hormones (acétate de chloro-4 testostérone).

Il existe également une pommade (Madécasol® tulgras des Laboratoires SYNTEX) dont l'action cicatrisante est apportée par l'addition d'un mélange de trois triterpènes extraits de racines de la plante *Centella asiatica* (TCEA). Ces composés exercent leur propriété en stimulant la biosynthèse du

collagène et de glycoaminoglycannes. Cependant, ces extraits peuvent provoquer également chez les patients des allergies de contact.

Il est connu qu'une des complications du diabète réside dans l'apparition d'affections cutanées telles que les ulcères (voir angiodermites nécrotiques ulcéreuses) ou de dermatoses perforantes que les médicaments classiques utilisés lors des traitements du diabète ne parviennent ni à contrôler ni à soigner.

Des compositions pharmaceutiques à base de biguanides sont également déjà connues. Mais elles ne sont utilisées que dans le traitement de certaines formes de diabète, et principalement du diabète du type II non insulino-dépendant, comme agents antihyperglycémiants qui favorisent le retour à l'équilibre glycémique. La metformine est le dérivé de biguanide le plus utilisé dans ce type de traitement.

La posologie journalière est comprise entre 500 mg et 3 g suivant le taux de la glycémie du diabétique. La metformine a une marge thérapeutique élevée chez l'homme et est considérée comme un médicament bien toléré.

L'effet antihyperglycémique de la metformine serait dû d'une part à l'augmentation de l'activité de l'insuline endogène et d'autre part à l'action de la metformine à travers des mécanismes indépendants de l'insuline. En effet, l'action de la metformine se traduit par la diminution de l'absorption intestinale du glucose, l'augmentation de l'absorption cellulaire du glucose sanguin et la diminution de la production du glucose par le foie (suppression de la néoglucogenèse) ainsi que la quantité d'insuline nécessaire pour normaliser la glycémie. Ces effets résultent, en partie, du pouvoir de la metformine à amplifier l'action de l'insuline existante par une augmentation de l'activité de l'enzyme tyrosine kinase du récepteur de l'insuline, ce qui déclenche la cascade de signalisation "post-récepteur".

La demande de brevet FR 2 213 778 décrit de nouvelles compositions destinées au traitement des maladies cutanées proliférantes et pouvant contenir un dérivé de biguanide : la phenformine. Les maladies cutanées proliférantes sont des maladies bénignes et malignes de la peau qui sont caractérisées par une prolifération excessive chronique des cellules de l'épiderme, du derme ou de leurs inclusions. Les compositions décrites

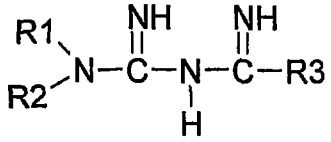
dans cette demande de brevet réduisent cette prolifération excessive et n'ont donc pas un action cicatrisante, c'est à dire d'accélération de la croissance tissulaire.

Or, les inventeurs de la présente invention ont mis en évidence de façon surprenante que des dérivés de biguanide et en particulier la metformine possèdent également de fortes propriétés cicatrisantes, c'est à dire une activité stimulante vis-à-vis d'un phénomène physiologique complexe caractérisé entre autre par une croissance cellulaire accrue au niveau de la plaie. Cette prolifération transitoire se produit en réponse à la perte de l'intégrité cutanée et assure la réparation de tissu profond et la reconstitution de l'épiderme au niveau des plaies.

Ainsi, l'application topique de ce composé sous forme de pommade induit une guérison rapide et de longue durée d'ulcères de jambe chez des sujets diabétiques et la répétition de l'application topique du principe actif renforce cet effet. De plus, la metformine accélère également la cicatrisation des plaies atones chez des sujets non diabétiques.

Compte tenu des difficultés rencontrées pour maîtriser la qualité des produits naturels cicatrisants et du nombre d'étapes fastidieuses nécessaires pour isoler ces composés, les dérivés de biguanide, dont la synthèse est simple, totale et rapide, se présentent comme des principes actifs très intéressants.

La présente invention concerne donc l'utilisation de dérivés de biguanide de formule générale I suivante :



(I)

dans laquelle :

les groupes R1 et R2 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C_1-C_7, un groupe cycloalkyle, un

hétérocycle, un groupe alcényle en C_2-C_7, un groupe aryle, un groupe aralkyle, un groupe aryloxylalkyle ou un groupe hétéroaryle,

ou R1 et R2 pris ensemble représentent un alkylène en C_2-C_7 pouvant contenir un ou plusieurs hétéroatomes,

et le groupe R3 représente une amine primaire, secondaire ou tertiaire,

ou de leurs sels pharmaceutiquement acceptables pour fabriquer un médicament ayant un effet cicatrisant, ledit médicament étant sous une forme pharmaceutique à usage topique. Avantageusement ce médicament est destiné à être appliqué sur la peau.

Par le terme de « groupe alkyle en C_1-C_7 », on entend au sens de la présente invention tout groupe alkyle en C_1-C_7, linéaire ou ramifié, substitué ou non, comme par exemple les groupes méthyle, éthyle, propyle, isopropyle ou butyle ainsi que leurs isomères.

Par le terme de « groupe cycloalkyle », on entend au sens de la présente invention tout groupe cycloalkyle contenant de 3 à 7 atomes de carbones, comme par exemple le groupe cyclohéxanyle.

Par le terme de « hétérocycle », on entend au sens de la présente invention tout cycle contenant de 3 à 7 atomes, un ou plusieurs d'entre eux étant un hétéroatome tel que par exemple l'atome d'azote, d'oxygène ou de soufre, les autres étant des atomes de carbones.

Par le terme de « groupe alcényle en C_2-C_7 », on entend au sens de la présente invention tout groupe alcényle en C_2-C_7, linéaire ou ramifié, substitué ou non, tel que les groupes vinyle ou allyle.

Par le terme de « groupe aryle », on entend au sens de la présente invention tout groupe aromatique hydrocarboné tel que par exemple le groupe phényle, qui peut contenir un ou plusieurs substituants, comme par exemple, un groupe alkyle en C_1-C_7 tel que défini ci-dessus, un groupe alcényle en C_2-C_7 tel que défini ci-dessus, ou un halogène.

Par le terme de « groupe aralkyle », on entend au sens de la présente invention tout groupe aryle tel que défini ci-dessus lié par l'intermédiaire d'un alkyle tel que défini ci-dessus. Avantageusement, dans le cas où le groupe alkyle représente CH_2, le groupe aryle un groupe

phényle, ce groupe phényle est substitué de la façon définie ci-dessus et dans le cas où le groupe alkyle ne représente pas CH_2, le groupe aryle est tel que défini ci-dessus, avantageusement un groupe phényle.

Par le terme de« groupe aryloxyalkyle», on entend au sens de la présente invention tout groupe aryle tel que défini ci-dessus lié par l'intermédiaire d'un groupe oxyalkyle dont le reste alkyle est tel que défini ci-dessus.

Par le terme de « groupe hétéroaryle », on entend au sens de la présente invention tout groupe aromatique hydrocarboné contenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que par exemple des atomes de soufre, azote ou oxygène, et pouvant porter un ou plusieurs substituants, comme par exemple, un groupe alkyle en C_1-C_7 tel que défini ci-dessus, un groupe alcényle en C_2-C_7 tel que défini ci-dessus ou un halogène. Des exemples de groupes hétéroaryle sont les groupes furyle, isoxazyle, pyridyle, pyrimidyle.

Par le terme de « groupe alkylène en C_2-C_7 », on entend au sens de la présente invention tout groupe alkylène en C_2-C_7 tels que par exemple les groupes éthylène, triméthylène, tétraméthylène ou pentaméthylène.

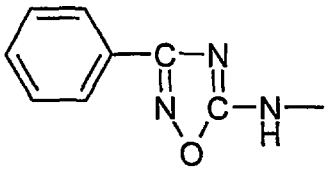
Par le terme « de sel pharmaceutiquement acceptable », on entend au sens de la présente invention tout sel préparé à partir de tout acide non toxique pharmaceutiquement acceptable, y compris les acides organiques et inorganiques. De tels acides incluent l'acide acétique, benzènesulfonique, benzoïque, citrique, éthanesulfonique, fumarique, gluconique, glutamique, bromhydrique, chlorhydrique, lactique, maléique, malique, mandélique, méthanesulfonique, mucique, nitrique, palmoïque, pantothénique, phosphorique, succinique, tartarique et paratoluènesulfonique. Avantageusement, on utilise l'acide chlorhydrique.

Par le terme de « forme pharmaceutique à usage topique », on entend au sens de la présente invention toute forme pharmaceutique destinée à être appliquée sur la surface de la plaie, en particulier sur la peau ou les muqueuses extérieures ou intérieures, et qui agit localement. En particulier, le médicament peut se présenter sous une forme du type huile, crème, mousse, liniment, lotion, pommade, liquide, gel, lait, poudre ou spray. Les formes peuvent être à véhicule monophasique constituées d'un

gel neutre d'hydroxypropylcellulose ou d'un gel chargé formé de carboxyméthylcellulose de sodium. On peut également préparer des crèmes, formes à véhicule biphasique, comportant une phase hydrophile dispersée dans une phase lipophile. Avantageusement, le médicament se présente sous la forme d'un gel ou d'une pommade. De façon avantageuse, le médicament peut se présenter sous la forme d'un pansement actif, ledit pansement étant constitué par un support sur lequel est imprégné ou supporté le ou les dérivés de biguanide, avantageusement sous la forme d'un gel ou d'une pommade. En particulier le pansement actif est constitué par l'association d'un pansement hydrocolloïde et d'un ou des dérivés de biguanide.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention les groupes R1 et R2 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C_1-C_7, un groupe cycloalkyle, un hétérocycle, un groupe alcényle en C_2-C_7, un groupe aryloxylalkyle ou un groupe hétéroaryle.

Dans un autre mode de réalisation particulier de l'invention, le groupe R3 représente l'amine secondaire de formule suivante :



Avantageusement, le dérivé de biguanide utilisé est la metformine, de façon encore plus avantageuse sous la forme d'un chlorhydrate.

Dans un exemple particulier, le médicament contient de 0,02 à 2% en poids du dérivé de biguanide de formule générale I ou de son sel pharmaceutiquement acceptable et un excipient approprié. Ces excipients peuvent être choisis parmi des composés présentant une bonne compatibilité avec ces principes actifs. Il s'agit par exemple des polymères hydrosolubles de type polymère naturel, tels les polysaccharides (gomme xanthane, gomme de caroube, peptine...) ou polypeptides, des dérivés cellulosiques type méthylcellulose, hydroxypropylcellulose, hydroxypropyl-

méthylcellulose ou encore des polymères synthétiques, polaxamers, carbomers, PVA ou PVP.

Enfin, il est à la portée de tout homme de l'art d'ajouter dans ces médicaments divers excipients par exemple des cosolvants comme l'éthanol, le glycérol, l'alcool benzylique, des humectants (glycérol), des agents facilitant la diffusion (transcurol, urée), ou encore des conservateurs anti-bactériens (p-hydroxybenzoate de méthyle à 0,15%).

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, les dérivés de biguanides ou leurs sels pharmaceutiquement acceptables sont combinés avec au moins un autre principe actif. Ce dernier peut être par exemple du type agent antibiotique, antifongique ou antiviral ce qui permet d'accélérer la cicatrisation des tissus endommagés et infectés, simultanément ou en coordination avec le traitement de l'infection sous-jacente.

Ce principe actif peut également constituer en un autre agent améliorant la cicatrisation tel que par exemple le facteur de croissance épidermial, le facteur de croissance de fibroblastes, le facteur de croissance dérivé des plaquettes, etc...

Les dérivés de biguanide de formule générale I et leurs sels pharmaceutiquement acceptables, en particulier la metformine, avantageusement sous forme de chlorhydrate, peuvent donc améliorer la cicatrisation de tout type de plaies ou lésions. Ces plaies ou lésions peuvent être du type incisions chirurgicales, brûlures thermiques, chimiques ou provoquées par une irradiation, abrasions, lacérations, amputations, ulcères ischémiques ou de décubitus, lésions ou ulcères de la bouche ou les lésions de la cornée, et en particulier celles occasionnées par une intervention chirurgicale réalisée chez des sujets diminués, âgés, traités par radio- ou chimiothérapie, ou diabétiques. Il en est de même de l'ensemble des dermatoses observées chez les malades dont la circulation cutanée est déficiente (lésions érythémateuses, vascularites) et de l'ensemble des plaies observées chez les sujets diabétiques. Les compositions pharmaceutiques et médicaments selon l'invention apparaissent comme

bénéfiques également dans la thérapie des nécroses tissulaires, post-thrombotiques par exemple.

Les exemples ci-après de compositions selon l'invention sont donnés à titre d'illustration et sans caractère limitatif.

EXEMPLES

Plusieurs formes pharmaceutiques ont été préparées sans agent conservateur. Les pourcentages sont exprimés en poids.

Exemple de formulation 1 :

Metformine : 1% en poids par rapport au poids de gel.

Gel neutre d'hydroxypropylcellulose (Klucel d'Aqualon type 99 MF EP) à 2,9% : complément à 100%.

Exemple de formulation 2 :

Metformine : 1% en poids par rapport au poids de gel.

Gel chargé de carboxyméthylcellulose de sodium (Aqualon) à 4,5% : complément à 100%.

Exemple de formulation 3 :

Metformine : 1% en poids par rapport à la phase lipophile.

Emulsion d'hydrocérine (excipient gras de chez Roc® contenant de la vaseline, de l'huile de paraffine, des triglycérides, des éthers de polyoxyéthylène et de la cérisine) à 33% (H/L : phase hydrophile dispersée dans une phase lipophile) : complément à 100%.

La préparation de cette émulsion est effectuée à 73°C en versant l'eau dans laquelle la metformine a été solubilisée dans la phase grasse et en agitant jusqu'à refroidissement.

D'autres objets et avantages de l'invention deviendront apparents pour l'homme du métier à partir de la description détaillée ci-dessous et par le biais de référence aux dessins illustratifs suivants.

La figure 1 représente l'effet d'une pommade selon l'exemple de formulation 3 comprenant de la metformine à 1 % en poids par rapport à la phase lipophile sur la cicatrisation cutanée.

La figure 2 représente l'étude « dose-réponse » d'une pommade selon l'exemple de formulation 3 comprenant de la metformine à différentes concentrations sur la cicatrisation cutanée.

La figure 3 représente la surface relative occupée par les trousseaux de collagène dans le tissu de granulation à J4 selon le pourcentage de metformine présent dans la pommade selon l'exemple de formulation 3.

L'efficacité de la metformine a été testée *in vivo* sur des plaies cutanées reproduisant une ulcération. Le pseudo-ulcère a été produit chez des rats Zucker *fa/fa* de 14 semaines par perte de matière de forme circulaire de 8 mm de diamètre réalisée par « punch » jusqu'au plancher musculaire. Le traitement quotidien de la plaie par la metformine contenue dans une pommade selon l'exemple de formulation 3 à différentes concentrations de metformine a conduit systématiquement à une amélioration significative de la cicatrisation. La vitesse de la cicatrisation a été évaluée en déterminant la surface des plaies par une vidéo-caméra couplée à un ordinateur équipé d'un logiciel d'analyse d'images.

Le traitement des plaies pendant 10 jours (J0-J10) par la pommade selon l'exemple de formulation 3 comprenant de la metformine à la concentration de 1 % en poids par rapport à la phase lipophile a permis de montrer sur le plan macroscopique une diminution importante de la surface des plaies traitées par rapport aux plaies contrôles (Fig. 1). L'évaluation de la cicatrisation sur le plan microscopique à J5 et J10 indique une augmentation de la qualité du tissu cicatriciel dans les plaies traitées avec la pommade selon l'exemple de formulation 3 comprenant de la metformine (tissu de granulation mieux développé, réépidermisation plus avancée). De plus, la metformine à la concentration de 1 % en poids par rapport à la phase lipophile semble également exercer un effet sur la néovascularisation. Cet effet se manifeste à J5 à travers une densité de

capillaires sanguins plus importante sur les bords de la plaie des rats traités par rapport aux rats témoins.

Les résultats d'une étude comparative « dose-réponse » réalisée avec une pommade selon l'exemple de formulation 3 comprenant de la metformine aux concentrations 0,02%, 0,1% , 1% et 2% en poids par rapport à la phase lipophile révèlent un effet cicatrisant pour toutes les concentrations testées. Pour les quatre concentrations de metformine utilisées, la fermeture des plaies traitées est plus rapide par rapport aux plaies témoins non traitées (Fig. 2).

Les résultats de l'analyse microscopique des coupes histologiques des plaies sont rassemblés dans le tableau 1 suivant.

Tableau 1. Effet de différentes concentrations de metformine en poids par rapport à la phase lipophile dans une pommade selon l'exemple de formulation 3 sur la formation de l'épiderme (biopsie prélévée au tiers de la plaie)

Témoin	J4	J6	J8	J10
1	-	-	±	+
2	-	-	+	+
3	-	-	+	+
4	-	±	+	+
5	-	+	+	+
6	-	+	+	+
Moyenne relative	0 %	50 %	100 %	100 %

Pommade comprenant 0,02 % de metformine	J4	J6	J8	J10
1	±	+	+	+
2	-	+	+	+
3	+	+	+	+
4	-	+	+	+
Moyenne relative	50 %	100 %	100 %	100 %

Pommade comprenant 0,1 % de metformine	J4	J6	J8	J10
1	-	+	+	+
2	-	±	+	+
3	-	+	+	+
4	-	+	+	+
Moyenne relative	0 %	100 %	100 %	100 %

Pommade comprenant 1 % de metformine	J4	J6	J8	J10
1	-	+	+	+
2	-	±	+	+
3	±	±	+	+
4	-	+	+	+
Moyenne relative	25 %	100 %	100 %	100 %

Pommade comprenant 2 % de metformine	J4	J6	J8	J10
1	-	+	+	+
2	-	-	-	+
3	-	+	+	+
4	±	±	±	+
Moyenne relative	25 %	75 %	75 %	100 %

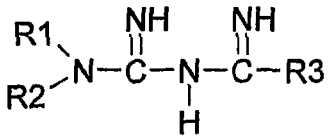
- : absence d'épiderme
+ : présence d'épiderme
± : présence d'épiderme sur une partie de la biopsie

Ces résultats indiquent clairement une accélération de l'épidermisation chez les animaux traités par la metformine aux différentes concentrations par rapport aux animaux témoins non traités.

D'autre part, le traitement des plaies avec la metformine augmente significativement la vitesse de maturation du tissu de granulation, ce qui se traduit entre autres par une augmentation de la densité de collagène (Fig.3).

REVENDICATIONS

1. Utilisation de dérivés de biguanide de formule générale I suivante :



(I)

dans laquelle :

les groupes R1 et R2 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C_1-C_7, un groupe cycloalkyle, un hétérocycle, un groupe alcényle en C_2-C_7, un groupe aryle, un groupe aralkyle, un groupe aryloxylalkyle ou un groupe hétéroaryle

ou R1 et R2 pris ensemble représentent un alkylène en C_2-C_7 pouvant contenir un ou plusieurs hétéroatomes

et le groupe R3 représente une amine primaire, secondaire ou tertiaire

ou de leurs sels pharmaceutiquement acceptables pour fabriquer un médicament ayant un effet cicatrisant, ledit médicament étant sous une forme pharmaceutique à usage topique.

2. Utilisation selon la revendication 1 pour fabriquer un médicament ayant un effet cicatrisant sous une forme pharmaceutique à usage topique destinée à être appliquée sur la peau, avantageusement sous la forme de pommade, éventuellement supporté ou imprégné sur un pansement de façon à constituer un pansement actif.

3. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes pour fabriquer un médicament ayant un effet cicatrisant sur les plaies des sujets diabétiques.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que les groupes R1 et R2 représentent, indépendamment l'un de l'autre, un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C_1-C_7, un groupe cycloalkyle, un hétérocycle, un groupe alcényle en C_2-C_7, un groupe aryloxylalkyle ou un groupe hétéroaryle.

5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que le dérivé de biguanide utilisé est la metformine, avantageusement sous la forme d'un chlorhydrate.

6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que les dérivés de biguanides ou leurs sels pharmaceutiquement acceptables sont combinés avec au moins un autre principe actif.