

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 487 677

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21) **N° 81 14856**

(54) Procédé de dépilation d'animaux.

(51) Classification internationale (Int. Cl. 3). A 61 K 37/02; C 07 G 7/00.

(22) Date de dépôt 30 juillet 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : Australie, 4 août 1980, n° PE 4852/80.

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 5 du 5-2-1982.

(71) Déposant : Société dite : COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANIZATION, résidant en Australie.

(72) Invention de : B. A. Panaretto, G. P. M. Moore et D. M. Robertson.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Beau de Loménie,
55, rue d'Amsterdam, 75008 Paris.

La présente invention concerne la dépilation d'animaux par des moyens chimiques.

Le brevet australien n° 492923 et la demande de brevet australien n° 59755/80 au nom de la demanderesse décrivent l'utilisation de composés tels que la mimosine et divers phtalimidino-pentanes pour faciliter la dépilation des moutons. Leur effet est de retarder la croissance de la laine, de sorte que, selon la dose, il se crée une zone de faiblesse dans les fibres de laine, ou bien la toison tombe, ces deux conditions pouvant faciliter la récolte mécanique de la laine par une main-d'œuvre non spécialisée.

Cependant, l'utilisation à grande échelle de ces agents ne serait pas sans poser de problème, parce que les doses minimales pour la tonte sont très voisines des doses auxquelles il peut se produire des troubles métaboliques graves.

L'invention repose sur la découverte que certaines substances d'origine animale agissent sur les fibres de la laine ou du poil de manière semblable aux composés ci-dessus mentionnés, mais peuvent être administrées en sûreté dans une large gamme de doses. Une substance caractéristique, isolable des glandes salivaires de la souris mâle, est connue sous le nom de facteur de croissance épidermique ou FCE. On sait, depuis de nombreuses années, que le FCE peut inhiber la vitesse de croissance de l'organisme et ralentir la croissance du poil lorsqu'on l'injecte à des souriceaux nouveaux-nés, mais son aptitude à régler la croissance de la laine n'a pas été indiquée précédemment.

Le FCE est un polypeptide à 53 aminoacides (FCE 1-53). Bien que l'invention concerne en particulier le FCE, les composés qui peuvent être dénommés "analogues du FCE" présentent des propriétés semblables et peuvent être utilisés au lieu du FCE comme agents de tonte. De même que le FCE humain, le terme "anologue du FCE" utilisé dans la présente description désigne les substances suivantes de l'homme, du mouton et d'autres espèces : urogastrone (URO) et ses fragments, en particulier URO 1-47, URO 1-52, FCE 1-47, FCE 1-48 et FCE 1-51. Plus généralement, le terme comprend tous les dérivés synthétiques et naturels de la famille de polypeptides FCE qui contiennent une suite d'aminoacides (ou de succédanés d'aminoacides) efficaces pour régler la croissance du poil.

En conséquence, dans son aspect le plus large, l'invention concerne un procédé pour la dépilation des animaux, qui consiste à administrer aux animaux du FCE ou un de ses analogues.

Dans la présente description, le terme "dépilation" signifie

5 l'enlèvement de la laine ou du poil à des animaux qui sont dans une phase métabolique de production active de fibres de laine ou de poil.

Les agents de dépilation selon l'invention peuvent être administrés de diverses manières, mais de préférence par voie sous-cutanée et on peut mettre au point des programmes d'administration satisfaisant les exigences des moyens particuliers de récolte. Bien que l'invention soit applicable à de nombreuses espèces animales telles que moutons, chèvres et lapins, elle est principalement décrite ci-après en référence aux moutons.

15 Un moyen de définir le degré d'affaiblissement de la fibre de laine est la référence à la force d'arrachage (N/ktex) nécessaire pour enlever la toison. Des procédés pour effectuer cette mesure sont décrits par A. J. Gordon, Aust. J. of Exp. Agric. Anim. Husb. 20, pages 40-49, et Moore et coll. Search, 12, pages 128-129.

20 La demanderesse a trouvé que, pour la plupart des techniques de récolte qui peuvent être envisagés, si une fibre peut être enlevée avec une force d'arrachage comprise entre 2 et 6 N/ktex, la tonte peut être effectuée sans provoquer de blessure ou de fatigue inacceptable chez l'animal.

25 Un autre aspect de l'invention est donc un procédé de tonte qui consiste à administrer au mouton du FCE ou un de ses analogues en quantité suffisante pour réduire la force moyenne d'arrachage de la fibre à 6 N/ktex ou moins.

On a trouvé que la perfusion sous-cutanée est

30 un moyen particulièrement satisfaisant pour administrer le FCE à des doses efficaces. Par exemple, dans des essais indiqués ci-après, la perfusion de FCE à des taux ne dépassant pas $0,16 \text{ mg de FCE/kg}^{0,75}$ ($\text{kg}^{0,75} = \text{poids corporel métabolique}$) permet nettement d'enlever facilement la toison aux animaux traités. Dans ces expériences,

35 l'administration se fait au moyen d'une sonde placée sous la peau. D'autres techniques envisageables comprennent, par exemple, la

perfusion par libération lente à partir d'une capsule ou analogue implantée, l'injection sous-cutanée ou l'administration orale.

L'invention est décrite plus en détail ci-après en référence à des essais dans lesquels on a soumis à divers traitements un certain nombre de moutons mérinos adultes.

Préparation des produits

On prépare le FCE à partir des glandes sous-maxillaires de souris mâles adultes par la méthode de Savage et Cohen (J. Biol. Chem., 247, pages 7609-7611).

10 On prépare le dérivé FCE 1-45 par digestion tryptique du peptide intact de la manière suivante : on fait digérer environ 25 mg de FCE dans un faible volume de tampon au phosphate 0,05 M à pH 7 par la trypsine (50 γ, Worthington Biochemical Corporation, traitée par la L-(1-tosylamido-2-phényléméthyl)chlorométhylcétone ou TPCK) pendant 4 h à 15 37°C. Ensuite, on ajoute encore 50 γ et on répète l'incubation. Le produit digéré est dialysé pendant une nuit à 10°C dans une membrane Spectra-Por 6 (poids moléculaire moyen 1 000) et le produit dialysé est lyophilisé en vue du stockage jusqu'à son utilisation.

Animaux

20 Des moutons mérinos adultes sont placés à l'abri dans des parcs individuels ou des cages métaboliques. On offre aux animaux une ration d'entretien de 600 g d'un mélange en "pellets" (petits comprimés cylindriques) de 60% de luzerne et 40% d'avoine en un repas par jour. On donne de l'eau à boire à volonté.

Administration par perfusion sous-cutanée

On prépare les moutons pour des expériences de perfusion par l'insertion d'une sonde de polyéthylène sous la peau, de manière que l'orifice se trouve au voisinage du centre d'une zone tatouée de 10 x 10 cm sur la région moyenne du côté droit du corps. L'agent de tonte est dissous dans une solution stérile de sérum physiologique et celle-ci est perfusée au moyen d'une pompe Harvard fournissant un débit de 0,030 ml/min. Les animaux témoins reçoivent une perfusion de la solution de sérum physiologique seule. Les résultats obtenus sont indiqués en détail dans le tableau ci-après. De manière générale, cependant, on observe que la perfusion de quantités supérieures à environ 0,25 mg de FCE/kg^{0,75} entraîne

la chute de toute la toison en environ 7 jours. Avec des perfusions de moins de 0,25 mg de FCE/kg^{0,75}, les toisons restent, mais les fibres peuvent être facilement enlevées à la main.

Les quantités de laine récoltées sur la zone tatouée de quelques animaux sont indiquées dans la figure unique du dessin annexé, dans laquelle les différentes courbes ont les significations suivantes :

- mouton n° 1; Δ—Δ mouton n° 3;
- ▲—▲ mouton n° 7; □----□ mouton n° 12;
- 10 ●—● mouton n° 17; ○----○ valeurs moyennes pour les témoins traités au sérum physiologique

A des doses telles que 0,74 et 1,86 mg de FCE/kg^{0,75}, la production de laine baisse jusqu'à près de zéro 2 semaines après le début de la perfusion. Le retour aux valeurs avant perfusion est observé 2 semaines plus tard. A des doses plus faibles, l'inhibition de la croissance de la laine est notablement moindre, l'effet maximal enregistré étant d'environ 80% d'inhibition de la croissance de la laine. Ceci se produit environ 4 semaines après la perfusion, mais 20 la croissance normale de la laine est atteinte environ 2 semaines après.

On trouve que les perfusions du péptide analogue FCE 1-45 donnent des résultats étroitement semblables.

Pendant le cours des essais ci-dessus, on prélève sur les animaux choisis des échantillons de sang à intervalles d'environ 30 min après le début du traitement. Une corrélation entre les déterminations radioimmunologiques des concentrations de FCE dans le plasma et les forces nécessaires ultérieurement pour arracher la laine de la peau du mouton montrent l'intérêt d'établir une concentration en FCE dans le plasma d'au moins environ 10 ng/ml pendant une durée d'au moins environ 15 h pour modifier suffisamment la croissance de la laine afin que la toison puisse être facilement enlevée à la main.

T A B L E A U
Perfusion sous-cutanée de FCE, FCE 1-45 ou de sérum physiologique.

Mouton n°	Traitement	Poids corporel (kg)	Dose de FCE		Durée de perfusion (h)	Force d'arrachage (N/ktex)	Résultat
			Total	mg/kg 0,75			
1	FCE	36,3	27,5	1,86	66	12,2	0,1
2	Sérum physiologique	37,0	-	-	66	10,4	9,0
3	FCE	41,0	11,7	0,74	28	8,9	0
4	FCE	-	11,7	-	28	3,4	0,3 (7e jour)
5	FCE	-	10,0	-	28	4,1	0,2 (6e jour)
6	sérum physiologique	41,0	-	-	28	14,3	-
7	FCE	49,0	5,8	0,32	28	7,5	0,4
8	FCE	47,6	4,7	0,26	28	21,3	2,1
9	FCE	47,4	4,7	0,26	28	12,5	1,4
10	FCE	42,0	4,7	0,28	26,5	7,6	0,1
11	sérum physiologique	48,0	-	-	28	6,0	7,5
12	FCE	45,4	2,9	0,17	28	6,6	0,6
13	FCE	30,6	2,4	0,19	25	11,3	2,1
14	FCE	29,4	2,0	0,16	26,5	9,3	1,5
15	sérum physiologique	40,1	-	-	28	3,1	5,8
16	FCE	-	1,0	-	28	5,5	3,6
17	FCE	40,8	1,0	0,06	28	10,6	8,7
18	sérum physiologique	38,6	-	-	28	8,5	6,6
19	FCE	31,8	5,0	0,37	7	7,0	0,4
20	FCE	41,0	5,0	0,31	7	17,9	1,0
21	FCE	41,9	5,0	0,30	7	11,4	0,8
22	FCE	45,0	5,0	0,29	7	9,0	1,0
23	FCE	50,6	5,0	0,26	7	12,7	2,8
24	FCE	28,6	2,4	0,20	48	14,8	3,2
25	FCE	28,4	2,4	0,19	48	11,7	2,4
26	FCE 1-45	42,0	4,9	0,30	26,5	5,6	0,3
27	FCE 1-45	-	1,0	-	28	4,1	3,1

Il est entendu que l'invention n'est pas limitée aux modes de réalisation préférés décrits ci-dessus à titre d'illustration et que l'homme de l'art peut y apporter diverses modifications et divers changements sans toutefois s'écartez du cadre et
5 de l'esprit de l'invention.

REVENDEICATIONS

- 1 - Procédé pour la dépilation d'animaux, caractérisé en ce qu'il consiste à administrer à ces animaux le facteur de croissance épidermique ou FCE ou ses analogues.
- 5 2 - Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'analogue du FCE est une urogastrone.
- 3 - Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'on administre le FCE ou son analogue à une dose suffisante pour réduire la force de dépilation à 6 N/ktex ou moins.
- 10 4 - Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'on administre le FCE ou son analogue à une dose suffisante pour établir une concentration en FCE dans le plasma d'au moins environ 10 ng/ml pendant au moins environ 15 h.
- 15 5 - Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la dose de FCE ou de son analogue est d'au moins 0,25 mg/kg^{0,75}.
- 20 6 - Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le FCE ou son analogue est administré par voie sous-cutanée.
- 7 - Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'animal est un mouton.
- 8 - Application du FCE ou d'un de ses analogues pour la dépilation des animaux.

