PCT ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets [5] : C07D 473/16, 487/04 — A1

(11) Numéro de publication internationale: WO 94/13668

(43) Date de publication internationale: 23 juin 1994 (23.06.94)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR93/01211

(22) Date de dépôt international: 9 décembre 1993 (09.12.93)

(30) Données relatives à la priorité:
92/14913 11 décembre 1992 (11.12.92) FR

(71) Déposant *(pour tous les Etats désignés sauf US)*: ADIR ET COMPAGNIE [FR/FR]; 1, rue Carle-Hébert, F-92415 Courbevoie Cédex (FR).

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants *(US seulement)*: REGNIER, Gilbert [FR/FR]; Demeure du Plessis, 27, avenue du Plessis, F-92290 Chatenay-Malabry (FR). DHAINAUT, Alain [FR/FR]; 7, rue des Guipières, F-78400 Chatou (FR). ATASSI, Ghanem [BE/FR]; 4, rue Joséphine, F-92400 Saint-Cloud (FR). PIERRE, Alain [FR/FR]; 52, rue de Montval, F-78160 Marly-le-Roi (FR).

(74) Mandataire: REVERBORI, Marcelle; ADIR, 1, rue Carle Hébert, F-92415 Courbevoie Cédex (FR).

(81) Etats désignés: AU, CA, JP, NZ, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

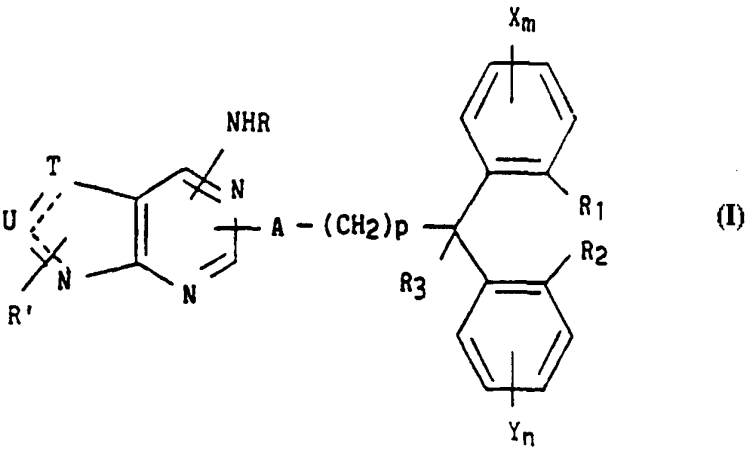
Publiée
Avec rapport de recherche internationale.

(54) Title: NOVEL BICYCLIC PYRIMIDINE COMPOUNDS, METHOD FOR PREPARING SAME AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING SAID COMPOUNDS

(54) Titre: NOUVEAUX COMPOSES BICYCLIQUES DE PYRIMIDINE, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET LES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES LES RENFERMANT

(57) Abstract

Novel bicyclic pyrimidine compounds for use as drugs and having formula (I). Said novel compounds and physiologically tolerable salts thereof may be used in therapeutics, particularly for suppressing tumour cell resistance to antineoplastic agents.



(I)

(57) Abrégé

Nouveaux composés bicyclique de pyrimidine utilisables comme médicaments et répondant à la formule (I). Ces nouveaux composés et leurs sels physiologiquement tolérables peuvent être utilisés en thérapeutique, notamment pour supprimer la résistance des cellules tumorales aux agents anti-cancéreux.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	**GB**	Royaume-Uni	**MR**	Mauritanie
AU	Australie	**GE**	Géorgie	**MW**	Malawi
BB	Barbade	**GN**	Guinée	**NE**	Niger
BE	Belgique	**GR**	Grèce	**NL**	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	**HU**	Hongrie	**NO**	Norvège
BG	Bulgarie	**IE**	Irlande	**NZ**	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	**IT**	Italie	**PL**	Pologne
BR	Brésil	**JP**	Japon	**PT**	Portugal
BY	Bélarus	**KE**	Kenya	**RO**	Roumanie
CA	Canada	**KG**	Kirghizistan	**RU**	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	**KP**	République populaire démocratique de Corée	**SD**	Soudan
CG	Congo			**SE**	Suède
CH	Suisse	**KR**	République de Corée	**SI**	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	**KZ**	Kazakhstan	**SK**	Slovaquie
CM	Cameroun	**LI**	Liechtenstein	**SN**	Sénégal
CN	Chine	**LK**	Sri Lanka	**TD**	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	**LU**	Luxembourg	**TG**	Togo
CZ	République tchèque	**LV**	Lettonie	**TJ**	Tadjikistan
DE	Allemagne	**MC**	Monaco	**TT**	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	**MD**	République de Moldova	**UA**	Ukraine
ES	Espagne	**MG**	Madagascar	**US**	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	**ML**	Mali	**UZ**	Ouzbékistan
FR	France	**MN**	Mongolie	**VN**	Viet Nam
GA	Gabon				

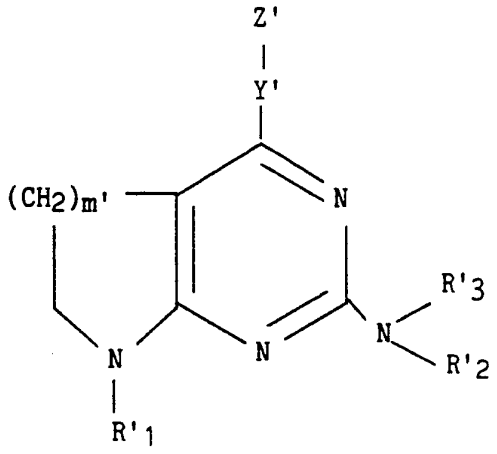
NOUVEAUX COMPOSES BICYCLIQUES DE PYRIMIDINE, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET LES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES LES RENFERMANT

Domaine technique

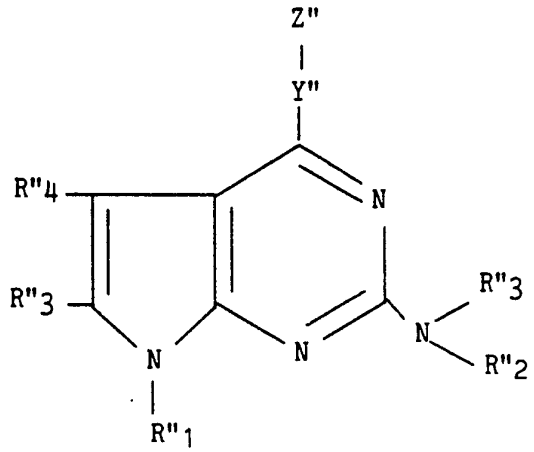
La présente invention a pour objet de nouveaux composés bicycliques de pyrimidine, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques les renfermant.

Tecnhique antérieure

L'état antérieur de la technique dans le domaine pharmaceutique est illustré notamment par les demandes de brevet européen publiées sous les n° 0 495 982 A_1 et 0 514 540 A_1 qui concernent respectivement des composés de formule :



et

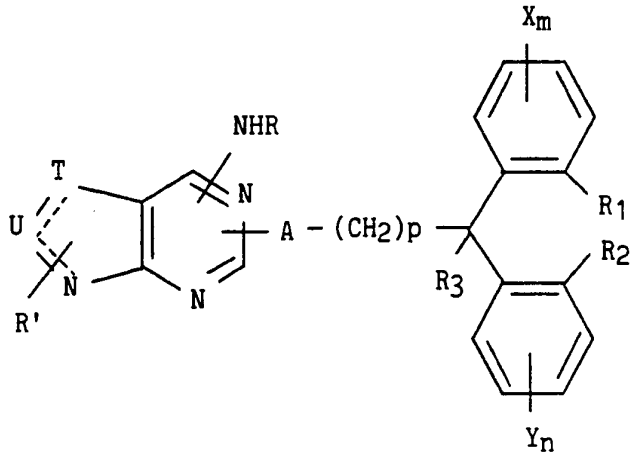


lesquelles formules diffèrent essentiellement des composés de la présente invention par la signification des substituants -Y'-Z' et Y"-Z" sur le noyau pyrimidine, et par leur activité pharmacologique- ces dits produits de l'art antérieur étant actifs contre l'hypoxémie associée aux maladies respiratoires alors que les composés de la présente invention réversent

partiellement ou totalement la résistance des cellules tumorales aux agents anti-cancéreux.

Exposé de l'invention

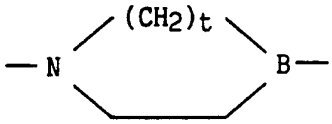
Elle concerne particulièrement les composés bicycliques de pyrimidine de formule I :



(I)

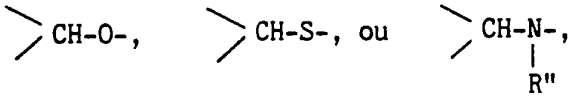
dans laquelle :

- T et U, identiques ou différents, représentent chacun un radical -CH- ou un atome d'azote de façon à former avec le groupe pyrimidinyle un hétérocycle choisi parmi les : purine, pyrazolo[3,4-d]pyrimidine, pyrrolo[2,3-d]pyrimidine et 1,2,3-triazolo[4,5-d]pyrimidine ;
- R et R', identiques ou différents représentent chacun un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone ou un radical alkényle ayant de 2 à 5 atomes de carbone, chacun en chaîne droite ou ramifiée ;
- A représente un radical hétéromonocyclique de formule :



dans laquelle :

- B représente un radical de formule :

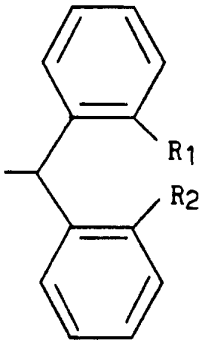


dans lequel R" est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée et

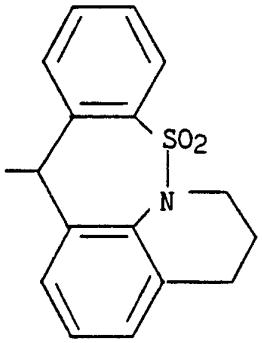
- t représente un nombre entier de 1 à 3 ;

- p prend les valeurs zéro ou un ;

- X et Y, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un radical alkyle ou alkoxy ayant chacun de 1 à 5 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ;
- m et n, identiques ou différents, représentent chacun un nombre entier de 1 à 3 ;
- R_1 et R_2, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée, ou représentent ensemble une liaison simple, un atome d'oxygène ou de soufre, un radical $-(CH_2)r-$ dans lequel r représente un nombre entier de 1 à 3, un radical $-CH=CH-$, $-O-CH_2-$, $-S-CH_2-$, $-SO_2-CH_2-$, $-CO-CH_2-$, $-CO-N(R''')-$, ou $-SO_2-N(R''')-$ dans lesquelles R''' représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée, ou R_1 et R_2 représentent ensemble le radical $-SO_2-N(CH_2-CH_2-CH_2-)-$ dont le CH_2 terminal est relié au carbone le plus proche du cycle benzénique adjacent de façon à ce que l'ensemble :



forme le radical tétracyclique de formule :



; et

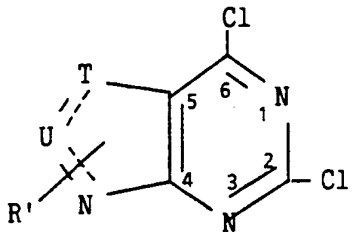
- R_3 représente un atome d'hydrogène ou un radical phényle ;

ainsi que les composés chiraux et leurs énantiomères.

La présente invention a également pour objet le procédé de préparation des composés de formule I caractérisé en ce que :

l'on condense :

- un composé chloré de formule II :



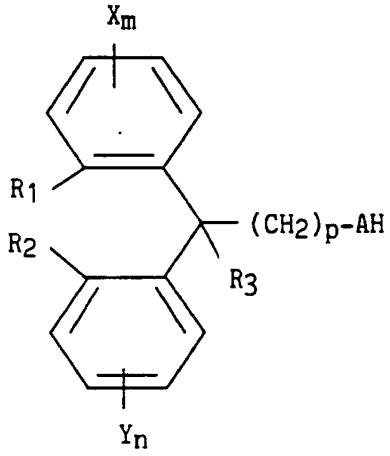
(II)

dans laquelle T, U et R' ont les significations précédemment définies,

avec l'amine de formule :

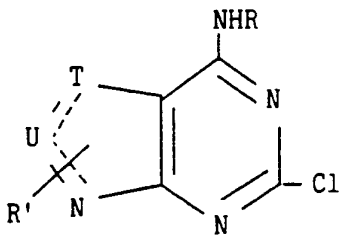
$$RNH_2 \qquad (III)$$

ou



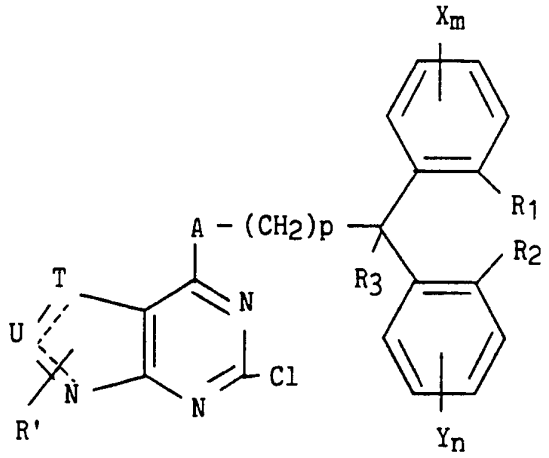
(IV)

que l'on veut fixer en position 6, (R, X, Y, m, n, R_1, R_2, R_3, p et A étant, dans ces formules, tels que précédemment définis)
puis l'on condense le produit ainsi obtenu, selon le cas de formule :



(V)

ou



(VI)

avec l'autre amine de formule III ou IV que l'on veut fixer en position 2 -l'ordre de réactivité des amines sur les dérivés dichlorés II étant connu [cf. Heterocyclic compounds Part II, Ed. DJ Brown, Wiley-Interscience (1971) Chapter V, p 160].

Il est particulièrement avantageux de réaliser ces condensations successives comme suit :

La réaction du composé II avec l'amine que l'on veut fixer en position 6 est réalisée dans un solvant polaire tel que, par exemple, un alcool contenant de 2 à 5 atomes de carbone, le diméthylformamide ou le diméthylacétamide à une température voisine de 60 °C, en présence d'un accepteur de l'hydracide formé au cours de la réaction ; cet accepteur pouvant être par exemple, la triéthylamine ou un excès de l'amine utilisée pour la réaction.

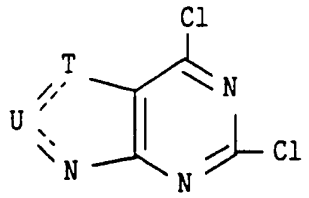
Le produit de condensation ainsi obtenu est alors condensé avec l'autre amine (à fixer en position 2) dans un solvant polaire du même type que celui utilisé pour la condensation précédente, en opérant dans un autoclave à une température de 130 à 150 °C, en présence d'un accepteur de l'hydracide formé au cours de la réaction ; cet accepteur étant par exemple la triéthylamine ou un excès de l'amine servant à la réaction.

Les matières premières de formule II ont été préparées à partir de composés dichlorés connus tels que :

- le 2,4-dichloropyrrolo[2,3-d]pyrimidine, (cf ROBINS R.K et coll, JACS (1984) 106, 6379) ;
- le 5,7-dichlorotriazolo[4,5-d]pyrimidine (cf BITTERLI P., ERLENMEYER H., Helv Chem. Acta (1951) 34, 835), et

- le 4,6-dichloropyrazolo[3,4-d]pyrimidine, (cf ROBINS R.K, JACS (1957) 79, 6407).

Ces composés dichlorés qui répondent à la formule :



sont alors mis à réagir avec avec un alcool de formule :

R'-OH

dans laquelle R' a la signification précédemment définie, selon la méthode de Mitsunobu -Synthesis (1981), 1, par analogie avec M. IWAKAWA et coll., Can. J. Chem. (1978) 56, 326, et TOYOTA A. et coll., Chem Pharm. Bull. (1992), 40, 1039 -pour donner les matières premières de formule II.

Dans certains cas, on peut obtenir des isomères de substitution que l'on peut séparer par chromatographie.

Les composés de formule I peuvent être transformés en sels d'addition avec les acides, sels qui font, à ce titre, partie de la présente invention. Comme acides utilisables pour la formation de ces sels, on peut citer par exemple, dans la série inorganique, les acides chlorhydrique, bromhydrique, sulfurique, nitrique, phosphorique, et dans la série organique, les acides acétique, propionique, maléique, fumarique, tartrique, oxalique, benzoïque, méthane sulfonique et iséthionique.

Les composés de formule I peuvent être purifiés par des méthodes physiques telles que recristallisation des bases ou des sels, chromatographie (en particulier chromatographie flash sur silice 35-70µ en éluant avec l'acétate d'éthyle ou les systèmes CH_2Cl_2-méthanol ou CH_2Cl_2-acétone), ou chimiques telles que formation de sels d'addition avec des acides et décomposition de ces sels par des agents alcalins.

Les composés de formule I et leurs sels d'addition physiologiquement tolérables possèdent des propriétés pharmacologiques et thérapeutiques intéressantes et en particulier réversent partiellement ou totalement la résistance des cellules tumorales aux agents anti-cancéreux, ce qui permet de les utiliser comme adjuvants dans le traitement des cancers, dans le

but de diminuer ou supprimer la résistance des cellules tumorales aux agents anticancéreux.

La présente invention a également pour objet les compositions pharmaceutiques contenant comme principe actif, un composé de formule I ou un de ses sels physiologiquement tolérable, mélangé ou associé à un excipient pharmaceutique approprié.

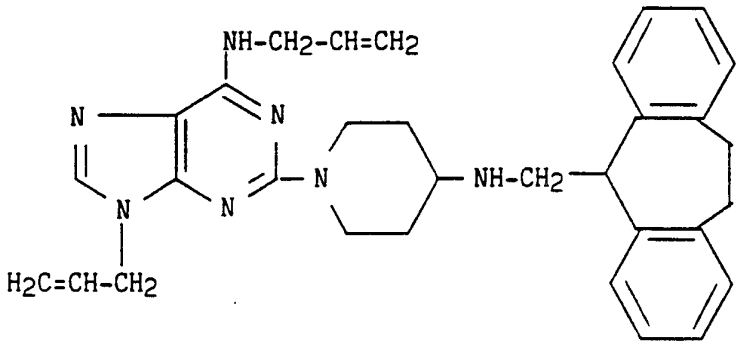
Les compositions pharmaceutiques ainsi obtenues se présentent généralement sous forme dosée et peuvent contenir de 0,1 à 1000 mg de principe actif. Elles peuvent revêtir, par exemple, la forme de comprimés, dragées, gélules, suppositoires, solutions injectables ou buvables et être administrées par la voie orale, rectale ou parentérale.

La posologie varie notablement selon l'âge et le poids du patient, la voie d'administration, la nature de la maladie et les traitements associés et s'échelonne de 0,1 à 1000 mg de principe actif par prise.

Les exemples suivants illustrent l'invention. Les points de fusion sont déterminés au tube capillaire (cap) ou à la platine chauffante de Kofler (K).

Exemple 1

9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino}purine.



A une solution de 1,15 g de 2,6-dichloro-9-allylpurine dans 15 ml d'éthanol, on ajoute 0,75 ml d'allylamine et agite le mélange pendant 1 heure à température ordinaire, puis on le chauffe à 50 °C pendant 30

minutes. Après évaporation du solvant, on reprend le mélange avec CH_2Cl_2-H_2O, décante et évapore le solvant. Le résidu est recristallisé dans l'éthanol.

On obtient 1 g de 2-chloro-6-allylamino-9-allylpurine fondant à 110-112 °C. On dissout 0,85 g de ce composé dans 20 ml de butanol et à la solution obtenue, on ajoute 1,04 g de 4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridine (huile), 0,5 g de K_2CO_3 et 0,1 g d'iodure de potassium, et chauffe le mélange à reflux pendant 10 heures.

Ensuite, on concentre le mélange réactionnel et reprend le résidu par CH_2Cl_2-H_2O.

On décante, puis évapore la phase organique et chromatographie le résidu en éluant avec l'acétate d'éthyle.

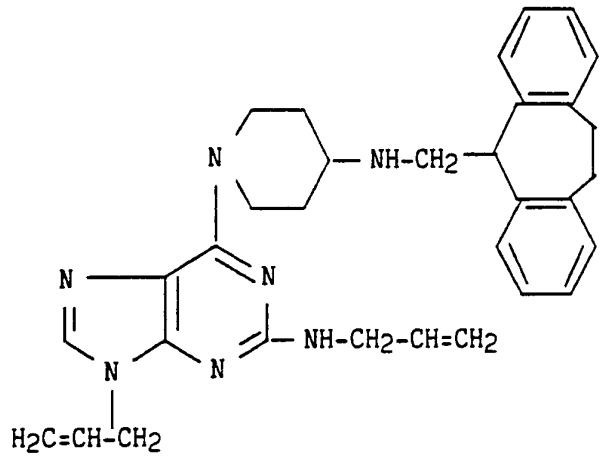
On isole 0,6 g de 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d]cycloheptén-5-yl]méthylamino]pipéridino}purine, sous forme de cristaux fondant (cap) à 142-144 °C.

La 9-allyl-2,6-dichloropurine de départ a été préparée en faisant réagir l'alcool allylique et la 2,6-dichloropurine dans le tétrahydrofurane, selon la méthode de Mitsunobu.

L'amine de départ a été préparée par débenzylation de la pipéridine correspondante fondant à 78-81 °C, elle-même préparée par réduction alkylative, avec NaBH3CN dans le méthanol d'un mélange de 1-benzylpipéridone et du chlorhydrate de (10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamine fondant (cap) à 275-280 °C.

Exemple 2

9-allyl-2-allylamino-6-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl) méthylamino]pipéridino}purine.



A une solution de 1,15 g de 9-allyl-2,6-dichloropurine dans 20 ml d'éthanol, on ajoute 3 g de 4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cylcloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridine et agite le mélange pendant 3 heures à température ambiante, puis pendant 30 minutes à 50 °C.

Le mélange est ensuite traité comme décrit dans l'exemple 1. Le résidu obtenu est recristallisé dans l'éther.

On obtient 1,8 g de cristaux blancs fondant (cap) à 146-148 °C.

En opérant comme dans l'exemple 1, à partir de 1,8 g du dérivé de la 2-chloropurine ainsi obtenu dissout dans 20 ml de butanol, chauffé à 150 °C en présence de 0,6 ml d'allylamine, on obtient 0,7 g de 9-allyl-2-allylamino-6-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl) méthylamino]pipéridino}purine, sous forme de produit résineux dont le difumarate, recristallisé dans l'éthanol fond (cap) à 191-194 °C.

Exemple 3 à 28

En appliquant la méthode décrite dans les exemples précédents, ont été préparés les dérivés suivants :

3) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[2,2-bis(4-fluorophényl)éthylamino] pipéridino}purine, PF (cap) : 143-145 °C.

4) 9-allyl-2-allylamino-6-{4-[2,2-bis(4-fluorophényl)éthylamino] pipéridino}purine, PF (cap) du dimaléate correspondant : 151-152 °C.

5) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(6,11-dihydrodibenzo[b,e]oxépin-11-yl) méthylamino]pipéridino}purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 240 °C.

6) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl) méthylamino]pipéridino}purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 250 °C.

7) 6-allylamino-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl) méthylamino]pipéridino}-9-propylpurine, P.F (K) du fumarate correspondant 237 °C.

8) 9-allyl-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl) méthylamino]pipéridino}-6-propylaminopurine, P.F. (K) du fumarate correspondant : 213 °C.

9) 1-allyl-4-allylamino-6-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino}pyrazolo[3,4-d]pyrimidine, P.F (cap) du fumarate correspondant : > 230 °C avec décomposition.

10) 7-allyl-4-allylamino-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino}pyrrolo[2,3-d]pyrimidine, P.F (cap) du fumarate correspondant : 160-163 °C.

11) 3-allyl-7-allylamino-5-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino}-1,2,3-triazolo(4,5-d)pyrimidine, P.F. (cap) du fumarate correspondant : 159-162 °C.

12) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(2,2-diphényléthyl) amino]pipéridino} purine, P.F (K) : 150 °C.

13) 9-allyl-6-allylamino 2-{4-[(3-chloro-6-méthyl-5,5-dioxo-6,11-dihydrodibenzo)[c,f][1,2]thiazépin-11-yl) méthylamino] pipéridino} purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 174 °C.

14) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(2-méthoxy-10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d] cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino}purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 205 °C.

15) (+) (R) ou (S) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(3-chloro-6-méthyl-5,5-dioxo-6,11-dihydrodibenzo)[c,f][1,2]thiazépin-11-yl)amino]pipéridino} purine, P.F (K) du dichlorhydrate correspondant : 174 °C.

16) (-) (R) ou (S) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(3-chloro-6-méthyl-5,5-dioxo-6,11-dihydrodibenzo)[c,f][1,2]thiazépin-11-yl)amino] pipéridino}purine, P.F (K) du dichlorhydrate correspondant : 210 °C.

17) 9-allyl-2-allylamino-6-{4-[(3-chloro-6-méthyl-5,5-dioxo-6,11-dihydrodibenzo)[c,f][1,2]thiazépin-11-yl)méthylamino] pipéridino} purine, P.F (K) du dichlorhydrate correspondant : 210 °C.

18) 9-allyl-2-allylamino-6-{4-[(6,11-dihydro-dibenzo[b,e]oxépin-11-yl)méthylamino]pipéridino} purine, P.F (K) du difumarate correspondant : 186 °C.

19) 9-allyl-2-allylamino-6-{4-[(2-méthoxy-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-yl)méthylamino]pipéridino} purine, P.F (K) du difumarate correspondant : 188 °C.

20) 9-allyl-2-allylamino-6-{4-[(5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthyl amino]pipéridino} purine, P.F (K) du difumarate correspondant : 200 °C.

21) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(11-méthyl-10,10-dioxo-5,11-dihydro-10-thia-11-aza-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)amino]pipéridino} purine, P.F (K) : 182 °C.

22) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(10,10-dioxo-11-propyl-5,11-dihydro-10-thia-11-aza-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino} purine, P.F (K) : 165 °C.

23) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(2,3,4-triméthoxy-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino} purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 170 °C.

24) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(6,11-dihydro dibenzo[b,e]oxépin-11-yl)amino]pipéridino} purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 223 °C.

25) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(5,11-dihydro-6-oxo dibenzo[b,e]azépin-11-yl)méthylamino]pipéridino} purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 240 °C.

26) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)amino]pipéridino} purine, P.F (K) : 114 °C.

27) 9-allyl-2-allylamino-6-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)amino]pipéridino} purine, P.F (K) du fumarate correspondant : 170 °C.

28) 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(2,2,2-triphényl éthyl)amino]pipéridino} purine, P.F (K) : 175 °C.

Exemple 29 : ETUDE PHARMACOLOGIQUE

La résistance aux agents anticancéreux est un obstacle majeur à l'efficacité des drogues antitumorales. Parmi les différents types de résistance, la "Multidrug Resistance" (MDR) est particulièrement intéressante, puisqu'elle est induite par des composés d'origine naturelle, actifs contre les tumeurs solides (Anthracyclines, Vinca alcaloides, Epipodophyllotoxines par exemple) et qu'elle est très fréquente dans certains cancers (colon par ex.). Les cellules tumorales, lorsqu'elles sont exposées in vitro ou in vivo à l'une de ces drogues, deviennent résistantes, à divers degrés, à l'ensemble de ces composés. Le phénomène de résistance est dû à l'action d'une protéine membranaire inductible, la P-gP 170, dont le rôle est d'augmenter l'efflux du cytotoxique, donc de diminuer sa concentration intracellulaire, d'où la perte de sensibilité de ces cellules à la drogue.

Des médicaments, utilisés dans d'autres pathologies, sont connus pour réverser, partiellement ou totalement, cette résistance (Tsuruo T., Mechanisms of multidrug resistance and implications for therapy. Int. J. Cancer Res., 79, 285-296,1988 ; Rothenberg, M. and Ling V., Multidrug resistance : molecular biology and clinical relevance, J.N.C.I.,81, 907-910, 1989 ; Gottesman M.M. and Pastan, I., Resistance to multiple chemotherapeutic agents in human cancer cells, Trends Pharmacol. Sci, 9, 54-58, 1989 ; Endicott J.A. and Ling V., The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance, Annu. Rev. Biochem., 58, 137-171, 1989.).

L'agent modulateur, lorsqu'il est ajouté en même temps que le cytotoxique, diminue, ou supprime totalement la résistance de type MDR. Certains médicaments, comme le vérapamil, l'amiodarone ou la cyclosporine ont été utilisés en clinique pour lever cette résistance, mais leurs propriétés pharmacologiques intrinsèques et leurs toxicités limitent considérablement leur utilisation. D'où l'intérêt de la recherche de composés réversant le phénotype MDR tout en étant dépourvus d'autres propriétés pharmacologiques et de toxicité.

L'étude pharmacologique des composés de la présente invention a consisté tout d'abord en une évaluation in vitro effectuée sur des cellules résistantes.

Le paramètre mesuré est la cytotoxicité de la drogue antitumorale, quantifiée en absence et en présence du composé reversant .

On a également mesuré l'effet des produits sur la concentration intracellulaire du cytotoxique.

En effet, les composés connus pour réverser la MDR agissent en augmentant la concentration intracellulaire en cytotoxique. Cet effet est la conséquence de l'inhibition de l'action de la P-gP 170 responsable de l'efflux de la drogue.

Cette étude a été complétée par une étude in vivo, en utilisant une leucémie murine résistante à la vincristine (P388/VCR) et en associant les produits à la vincristine.

Matériel et méthodes :

1) Activité in vitro

Cytotoxicité

Deux lignées cellulaires résistantes ont été utilisées :

- une lignée de poumon de hamster chinois, DC-3F/AD, dont la résistance a été induite par l'actinomycine D. Son facteur de résistance est supérieur à 10 000, c'est donc une lignée extrêmement résistante ;
- et une lignée humaine, issue d'un carcinome épidermoïde de la bouche, KB-A1 dont la résistance a été induite par l'adriamycine. Son facteur de résistance est d'environ 300.

Ces deux lignées sont résistantes également aux Vinca alcaloïdes (Vincristine et Vinblastine).

Les cellules sont cultivées dans du milieu de culture (RPMI 1640) complet contenant 10 % de sérum de veau foetal, 2 mM de glutamine ; 50 unités/ml de pénicilline, 50 ug/ml de streptomycine, 10 mM d'Hepes.

Les cellules sont réparties dans des microplaques et exposées au composé cytotoxique (Actinomycine D ou adriamycine) à 9 concentrations (dilutions sériées de 2 en 2). Les produits testés pour leur capacité à réverser la MDR sont ajoutés en même temps que le cytotoxique.

Les cellules sont ensuite incubées pendant 4 jours. Le nombre de cellules viables est ensuite quantifié par un essai colorimétrique, le Microculture Tétrazolium Assay (Carmichael J., DeGraff W.G., Gazdar A.F., Minna J.D.

and Mitchell J.R. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay : assessment of chemosensitivity testing, Cancer Res, 47, 936-942, 1987.). Les résultats sont exprimés en IC50, concentration en cytotoxique qui inhibe à 50 % la prolifération des cellules traitées par rapport au témoin.

Les résultats sont exprimés en facteur de réversion (FR), avec

$$FR = \frac{\text{IC50 cytotoxique seul}}{\text{IC50 cytotoxique en présence du composé réversant}}$$

Cytométrie en flux

Certains composés anticancéreux comme l'adriamycine (ADR) ont la propriété d'être fluorescents après excitation par une source lumineuse de longueur d'onde connue.

Par la mesure de cette fluorescence, il est ainsi possible de mesurer de façon relative la concentration intracellulaire en ADR. La cytométrie en flux (CMF) est un outil de choix pour effectuer ce type de mesure et ainsi déterminer rapidement si certains composés actifs agissent en augmentant la concentration intracellulaire en ADR.

La lignée cellulaire résistante utilisée est KB-A1.

Les cellules 500.10^3 par ml ont été exposées simultanément à l'ADR à une concentration fixe (50µM) et aux composés testés à différentes concentrations. Après 5 heures d'incubation, l'accumulation de l'ADR intra-cellulaire a été évaluée par CMF. Les analyses ont été réalisées sur un cytomètre en flux ATC3000 (BRUKER-FRANCE) équipé d'un laser argon 2025 (SPECTRA-PHISICS-FRANCE) optimisé à 488 nm pour une puissance de 600 mW.

L'analyse de chacun des échantillons a été effectuée sur un total de 10 000 cellules à une vitesse de 1 000 cellules par seconde.

Les résultats ont été collectés sous forme d'histogrammes linéaires de la fluorescence de l'ADR intra-cellulaire.

Expression des résultats : Pour chacun des histogrammes, le canal moyen (MEAN) de fluorescence a été déterminé par le système informatique de l'appareil. Pour toutes les expériences :

- un contrôle négatif (cellules sans ADR) a fixé le seuil d'autofluorescence.

- un contrôle positif (cellules avec ADR) a déterminé la valeur MEAN=MN1.
- les tubes "tests" (cellules avec ADR et avec produit) ont déterminé pour chacun des produits et à chacune des concentrations les valeurs MEAN = MN2.

Les résultats sont exprimés sous forme de variations de la moyenne de fluorescence obtenue pour chacun des tubes "tests" (MN2) par rapport à la moyenne de fluorescence obtenue avec le contrôle positif (MN1) : VAR-MEAN = MN2-MN1. Le paramètre exprimé est donc l'augmentation de la fluorescence de l'ADR en présence des composés testés.

2) Activité in vivo

Activité antitumorale

La lignée sensible parentale P388 (leucémie murine) et la sous-lignée résistante à la vincristine, P388/VCR, ont été fournies par le NCI (Frederick, USA). Les cellules tumorales (10^6 cellules) ont été inoculées au jour zéro dans la cavité péritonéale à des souris B6D2F1 femelles (Iffa Credo, France) pesant de 18 à 20 g (groupes de 8 à 10 animaux).

Dans le cas d'une administration i.p des produits à tester, les animaux ont reçu aux jours 1, 5 et 9 :

- une administration de produit à tester de la présente invention à raison de 25, 50 ou 75 mg/kg par voie i.p.,

puis

- 30 à 60 minutes après, une administration de vincristine (pris comme agent anti-tumoral de référence) à raison de 0,50 mg/kg par voie i.p.

Dans le cas d'une administration p.o des produits à tester, les animaux ont reçu aux jours 1, 2, 3, 4 :

- une administration de produit à tester de la présente invention à raison de 100 mg/kg par voie orale, puis
- 30 à 60 minutes après une administration de vincristine à raison de 0,25 mg/kg par voie i.p.

L'activité anti-tumorale est exprimée en :

$$\frac{T}{C}\ \% = \frac{\text{Temps de survie médian des animaux traités}}{\text{Temps de survie médian des animaux contrôles}} \times 100$$

L'activité du composé réversant est exprimée en T/V :

$$\frac{T}{V} = \frac{\text{Temps de survie médian des animaux traités par l'association VCR + produit réversant}}{\text{Temps de survie médian des animaux traités par la VCR seule}}$$

Résultats :

1) Activité in vitro

Le tableau 1 donne les valeurs des facteurs de réversion obtenus avec les différents composés avec la lignée DC-3F/AD ainsi que l'augmentation de la fluorescence de l'ADR (VAR-MEAN) obtenue avec les différents composés sur la lignée KB-A1. Les produits sont beaucoup plus actifs que les produits de référence.

Le tableau 2 donne les valeurs des facteurs de réversion obtenus avec les différents composés avec la lignée KB-A1. Les composés de l'invention sont très actifs, certains même beaucoup plus actifs que les produits de référence, et réversent totalement la résistance de KB-A1, (lignée cancéreuse humaine) pour l'adriamycine.

2) Activité in vivo

Le tableau 3 montre l'augmentation de l'activité antitumorale in vivo de la vincristine obtenue avec deux composés représentatifs de la présente invention.

Les produits des exemples 1 et 2 de l'invention administrés i.p augmentent considérablement l'activité antitumorale de la vincristine pour une tumeur résistante, la vincristine ayant alors la même activité que pour une tumeur sensible.

Le tableau 4 montre l'activité antitumorale de produits de la présente invention, administrés p.o, sur la lignée P388/VCR.

Les produits de l'invention sont très actifs même lorsqu'ils sont administrés par voie orale. Les produits les plus actifs restaurent totalement l'activité antitumorale de la vincristine.

ACTIVITE IN VITRO

Tableau 1

PRODUITS	FACTEUR DE REVERSION 5µM DC-3F/AD	ACCUMULATION INTRACELLULAIRE EN ADRIAMYCINE VAR-MEAN à 5µM KB-A1
PRODUITS DE REFERENCE		
Verapamil	3	13
Cyclosporine A	4	23
PRODUITS DES EXEMPLES		
1	5173	110
2	3368	111

Tableau 2

PRODUITS	FACTEUR DE REVERSION 5µM KB-A1
PRODUITS DE REFERENCE	
Verapamil	26
Cyclosporine A	285
PRODUITS DES EXEMPLES	
5	572
9	192
12	450
13	458
19	309
21	330
23	339
25	521
28	464

ACTIVITE IN VIVO

Tableau 3 : Augmentation de l'activité antitumorale de la VCR par les produits de la présente invention administrés i.p sur la lignée P388/VCR

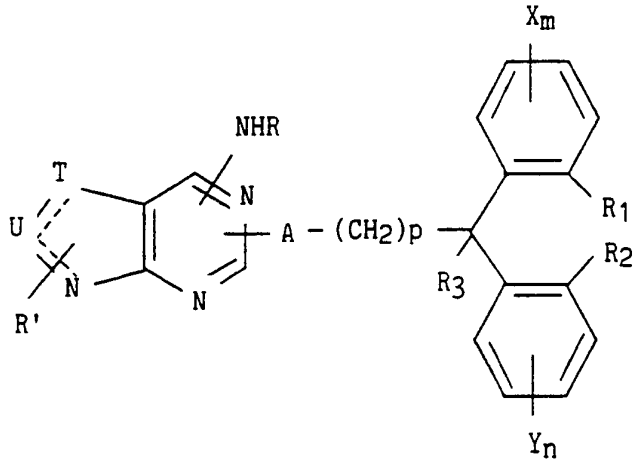
PRODUITS TESTES	DOSE (mg/kg) i.p	T/C %	T/V
Aucun produit (VCR seule)	-	140	1
Exemple 1	25	215	1,54
	50	239	1,71
	75	176	1,26
Exemple 2	25	192	1,37
	50	224	1,60
	75	235	1,68

Tableau 4 : Augmentation de l'activité antitumorale de la VCR par les produits de la présente invention administrés, p.o sur la lignée P 388/VCR

PRODUITS TESTES	DOSE (mg/kg) p.o	T/C	T/V
Aucun produit (VCR seule)	-	121	1
Produits des exemples			
1	100	209	1,73
2	"	172	1,42
3	"	203	1,68
5	"	196	1,62
6	"	188	1,55
9	"	161	1,33
12	"	192	1,59
14	"	202	1,67
15	"	157	1,30

REVENDICATIONS

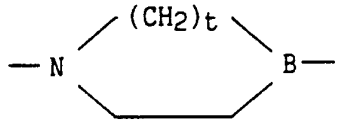
1- les composés bicycliques de pyrimidine de formule I :



(I)

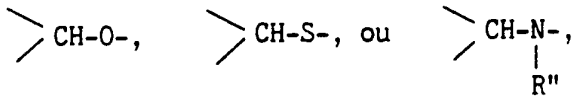
dans laquelle :

- T et U, identiques ou différents, représentent chacun un radical -CH- ou un atome d'azote de façon à former avec le groupe pyrimidinyle un hétérocycle choisi parmi les : purine, pyrazolo[3,4-d]pyrimidine, pyrrolo[2,3-d]pyrimidine et 1,2,3-triazolo[4,5-d]pyrimidine ;
- R et R', identiques ou différents représentent chacun un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone ou un radical alkényle ayant de 2 à 5 atomes de carbone, chacun en chaîne droite ou ramifiée ;
- A représente un radical hétéromonocyclique de formule :



dans laquelle :

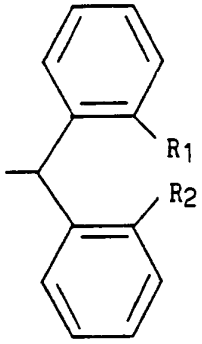
- B représente un radical de formule :



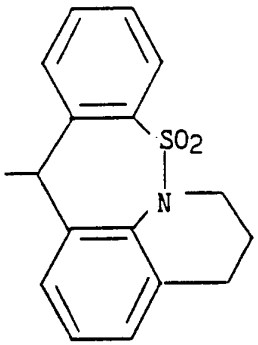
dans lequel R" est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée et

- t représente un nombre entier de 1 à 3 ;
- p prend les valeurs zéro ou un ;
- X et Y, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou d'halogène ou un radical alkyle ou alkoxy ayant chacun de 1 à 5 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ;
- m et n, identiques ou différents, représentent chacun un nombre entier de 1 à 3 ;

- R_1 et R_2, identiques ou différents, représentent chacun un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée, ou représentent ensemble une liaison simple, un atome d'oxygène ou de soufre, un radical $-(CH_2)r-$ dans lequel r représente un nombre entier de 1 à 3, un radical $-CH=CH-$, $-O-CH_2-$, $-S-CH_2-$, $-SO_2-CH_2-$, $-CO-CH_2-$, $-CO-N-$ (R'"), ou $-SO_2-N-$ (R'") dans lesquelles R'" représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle ayant de 1 à 5 atomes de carbone en chaine droite ou ramifiée, ou R_1 et R_2 représentent ensemble le radical $-SO_2-N-(CH_2-CH_2-CH_2-)$ dont le CH_2 terminal est relié au carbone le plus proche du cycle benzénique adjacent de façon à ce que l'ensemble :



forme le radical tétracyclique de formule :



; et

- R_3 représente un atome d'hydrogène ou un radical phényle ;

ainsi que les composés chiraux et leurs énantiomères,
et leurs sels physiologiquement tolérables avec des acides appropriés.

2- Un composé de la revendication 1 qui est la 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]dicycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino} purine.

3- Un composé de la revendication 1 qui est la 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[2,2-bis(4-fluorophényl)éthylamino]pipéridino}purine.

4- Un composé de la revendication 1 qui est la 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(6,11-dihydrodibenzo[b,e]oxépin-11-yl)méthylamino]pipéridino}purine, et son fumarate correspondant.

5- Un composé de la revendication 1 qui est la 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino}purine, et son fumarate correspondant.

6- Un composé de la revendication 1 qui est la 1-allyl-4-allylamino-6-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino} pyrazolo[3,4-d]pyrimidine et son fumarate correspondant.

7- Un composé de la revendication 1 qui est la 7-allyl-4-allylamino-2-{4-[(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino]pipéridino} pyrrolo[2,3-d]pyrimidine et son fumarate correspondant.

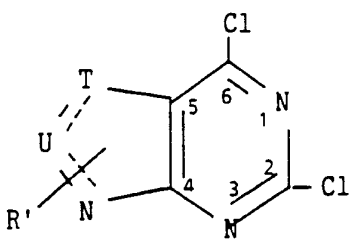
8- Un composé de la revendication 1 qui est la 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(2,2-diphényléthyl)amino]pipéridino}purine.

9- Un composé de la revendication 1 qui est la 9-allyl-6-allylamino-2-{4-[(2-méthoxy-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptén-5-yl)méthylamino] pipéridino}purine et son fumarate correspondant.

10- Le procédé de préparation des composés de la revendication 1 caractérisé en ce que :

l'on condense :

- un composé chloré de formule II :



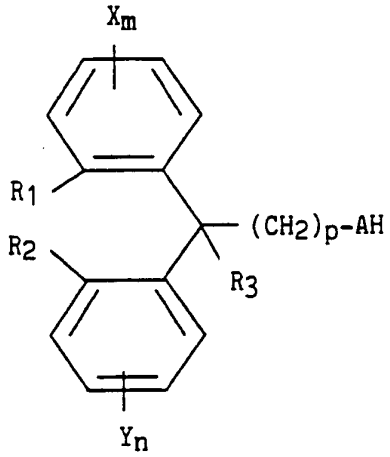
(II)

dans laquelle T, U et R' ont les significations définies dans la revendication 1,

avec l'amine de formule :

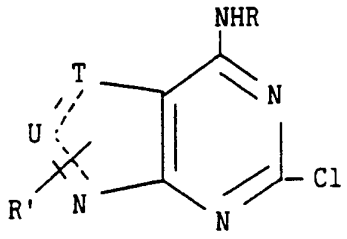
$$RNH_2 \qquad (III)$$

ou



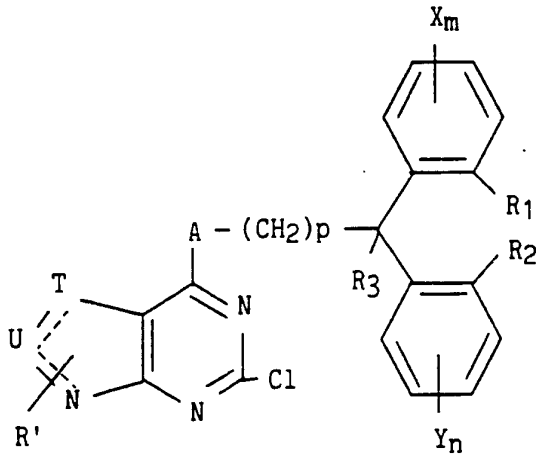
(IV)

que l'on veut fixer en position 6, (R, X, Y, m, n, R_1, R_2, R_3, p et A étant, dans ces formules, tels que définis dans la revendication 1) puis l'on condense le produit ainsi obtenu, selon le cas de formule :



(V)

ou



(VI)

avec l'autre amine de formule III ou IV que l'on veut fixer en position 2, (T, U, R, R', A, p, X, Y, m, n, R_1, R_2 et R_3 ayant dans ces formules les significations définies dans la revendication 1).

11- Les compositions pharmaceutiques, utilisables pour supprimer la résistance des cellules tumorales aux agents anti-cancéreux, contenant comme principe actif un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiques appropriés.

12- Une méthode pour traiter un mammifère dont l'état nécessite la suppression de la résistance des cellules tumorales aux agents anti-cancéreux qui consiste à administrer au dit mammifère la dose active de composé de la revendication 1 nécessaire pour effectuer la dite suppression chez le mammifère concerné.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte onal Application No
PCT/FR 93/01211

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 C07D473/16 C07D487/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 5 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP,A,0 514 540 (TEIJIN LIMITED) 25 November 1992 cited in the application see page 39 - page 41; claims	1-11
A	EP,A,0 495 982 (TEIJIN LIMITED) 29 July 1992 cited in the application see page 52 - page 55; claims	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
28 February 1994	- 9. 03. 94

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Luyten, H

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/FR 93/01211

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Although claim 12 relates to a method for treating (diagnostic method applied to) the human or animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the product (composition).

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int ional Application No
PCT/FR 93/01211

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-0514540	25-11-92	AU-B-	641183	16-09-93
		AU-A-	6400190	18-04-91
		CA-A-	2065434	20-03-91
		WO-A-	9104254	04-04-91
EP-A-0495982	29-07-92	AU-B-	645504	20-01-94
		AU-A-	6522090	16-05-91
		CA-A-	2067221	12-04-91
		WO-A-	9105784	02-05-91

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der e Internationale No
PCT/FR 93/01211

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 5 C07D473/16 C07D487/04

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 5 C07D

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP,A,0 514 540 (TEIJIN LIMITED) 25 Novembre 1992 cité dans la demande voir page 39 - page 41; revendications ---	1-11
A	EP,A,0 495 982 (TEIJIN LIMITED) 29 Juillet 1992 cité dans la demande voir page 52 - page 55; revendications -----	1-11

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"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

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

1

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
28 Février 1994	- 9. 03. 94

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Luyten, H

emande internationale n°

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR93/01211

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n°s
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
Bien que la revendication 12 concerne une méthode de traitement du (méthode de diagnostic appliqué au) corps human/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit (à la composition).

2. ☐ Les revendications n°s
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

3. ☐ Les revendications n°s
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°s:

4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couvertes par les revendications n°s:

Remarque quant à la réserve

☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.

☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs a... ..nembres de familles de brevets

Der le Internationale No
PCT/FR 93/01211

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
EP-A-0514540	25-11-92	AU-B-	641183	16-09-93
		AU-A-	6400190	18-04-91
		CA-A-	2065434	20-03-91
		WO-A-	9104254	04-04-91
EP-A-0495982	29-07-92	AU-B-	645504	20-01-94
		AU-A-	6522090	16-05-91
		CA-A-	2067221	12-04-91
		WO-A-	9105784	02-05-91