

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

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : G06F 17/50		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/35598
			(43) Date de publication internationale: 15 juillet 1999 (15.07.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02909 (22) Date de dépôt international: 29 décembre 1998 (29.12.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/16706 30 décembre 1997 (30.12.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): SYNT:EM (S.A.) [FR/FR]; Parc Scientifique, Georges Besse, F-30000 Nîmes (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): GRASSY, Gérard [FR/FR]; 32, rue du Pradas, F-34470 Pérols (FR). KAC-ZOREK, Michel [FR/FR]; Synt:Em (S.A.), 145, allée Charles Babbage, F-30900 Nîmes (FR). LAHANA, Roger [FR/FR]; Synt:Em (S.A.), 145, allée Charles Babbage, F-30900 Nîmes (FR). YASRI, Abdelaziz [FR/FR]; Synt:Em (S.A.), 145, allée Charles Babbage, F-30900 Nîmes (FR). (74) Mandataire: BREESE, Pierre; Breese-Majerowicz, 3, avenue de l'Opéra, F-75001 Paris (FR).		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i>	
(54) Title: METHOD FOR PROVIDING, IDENTIFYING AND DESCRIBING MOLECULES CAPABLE OF HAVING A REQUIRED ACTIVITY, IN PARTICULAR IN PHARMACOLOGY AND MOLECULES RESULTING FROM SAID METHOD (54) Titre: PROCEDE POUR PREVOIR, IDENTIFIER ET DECRIRE DES MOLECULES SUSCEPTIBLES DE PRESENTER UN COMPORTEMENT RECHERCHE, NOTAMMENT DANS LE DOMAINE DE LA PHARMACIE ET MOLECULES OBTENUES PAR CE PROCEDE (57) Abstract The invention concerns a computer-assisted method for providing, identifying and describing molecules having a required activity, in particular in pharmacology, comprising a modelling step, a step for constituting a combinatorial bank and a step for selecting potentially interesting molecules, including a step of dynamic filtering of the candidate molecules representative of the conformation-varying stresses which the molecules must observe to have said activity. (57) Abrégé La présente invention concerne un procédé assisté par ordinateur pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, mettant en oeuvre une étape de modélisation moléculaire, une étape de constitution d'une banque combinatoire et une étape de sélection des molécules potentiellement intéressantes, comportant une étape de filtration des molécules candidates par un filtre dynamique représentatif des contraintes de variations conformationnelles que doivent respecter les molécules pour présenter ladite activité.			

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.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

PROCÉDÉ POUR PRÉVOIR, IDENTIFIER ET DECRIRE DES MOLECULES
SUSCEPTIBLES DE PRÉSENTER UN COMPORTEMENT RECHERCHÉ,
NOTAMMENT DANS LE DOMAINE DE LA PHARMACIE ET MOLECULES OBTENUES
PAR CE PROCEDE.

5

L'invention concerne la modélisation moléculaire.

Elle a pour objet un nouveau procédé utilisant un certain
nombre de molécules de départ, notamment mais non seulement par
chimie combinatoire virtuelle, pour prévoir, identifier et
10 décrire des molécules susceptibles de présenter un comportement
recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie.

On sait que la recherche de nouvelles molécules actives,
notamment dans le domaine de la pharmacie, nécessite la synthèse
d'un très grand nombre de molécules qu'il faudra ensuite tester
15 in vitro ou in vivo. Dans le meilleur des cas, seul un très
petit nombre de ces molécules se révélera actif.

Pour tenter de rationaliser la recherche de nouvelles
molécules actives on a eu l'idée de recourir à la modélisation
moléculaire en utilisant des bases de données informatisées. Les
20 résultats obtenus avec les techniques de ce type qui sont
connues jusqu'à présent, ne sont pas toujours satisfaisants, en
particulier en raison d'une définition insuffisante des
paramètres et des critères d'activité.

La présente invention a pour but de remédier, au moins en
25 partie, à ces inconvénients.

Ce but est atteint selon l'invention qui offre un procédé
pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un
comportement recherché, lequel procédé est basé sur la
conception assistée par ordinateur et le criblage, également
30 assisté par ordinateur, de banques combinatoires virtuelles. Ce
procédé utilise différents descripteurs topologiques, de forme,
chimiques, physiques etc. en combinaison avec une nouvelle
analyse des trajectoires de dynamique moléculaire. Le terme de
"comportement" signifie une "activité" au sens biologique ou
35 pharmacologique, lorsque les molécules concernent des secteurs
d'application pharmaceutique, ou une "propriété" au sens
physico-chimique, lorsque les molécules concernent des secteurs

d'applications non pharmaceutiques, par exemple des matériaux tels que des polymères.

Plus précisément, l'invention a pour objet un procédé assisté par ordinateur pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, lequel procédé comprend essentiellement les étapes successives consistant à :

1) réaliser une base d'apprentissage à partir d'structures moléculaires voisines connues composées d'une part de structures moléculaires actives connues pour présenter l'activité recherchée et d'autre part de structures moléculaires inactives connues pour être dépourvues de cette activité ou pour présenter une activité recherchée faible, en utilisant des descripteurs appropriés ;

2) générer une série de structures moléculaires, préférentiellement de structures moléculaires voisines, notamment par explosion combinatoire, à partir de la base d'apprentissage ;

3) effectuer un criblage des molécules ainsi générées sur la base de l'enrichissement, en termes de diversité moléculaire, apporté par chaque molécule vis-à-vis des descripteurs choisis ;

4) soumettre les molécules ainsi retenues à des filtres statiques représentatifs des contraintes de variations structurelles, physico-chimiques et moléculaires auxquelles doivent répondre les molécules pour être actives et, éventuellement, synthétiser et tester les molécules sélectionnées ;

5) soumettre les molécules les plus prometteuses ainsi sélectionnées à un filtre dynamique représentatif des contraintes de variation conformationnelle que doivent respecter les molécules pour être actives ;

6) synthétiser et tester les molécules ainsi sélectionnées ;

7) si le résultat escompté n'est pas obtenu, ou s'il n'est obtenu que partiellement, répéter les étapes 3) à 6) en modifiant les filtres.

L'invention concerne également une molécule qui n'était pas antérieurement connue pour présenter un comportement recherché caractérisé en ce qu'elle occupe un espace conformationnel identique ou très voisin de l'espace conformationnel d'une molécule de référence au moins, la molécule de référence étant préalablement connue pour présenter le comportement recherché. La notion de "très voisin" s'apprécie en fonction de l'ensemble des espaces conformationnels correspondant aux molécules testées. Seront par exemple considérés comme "très voisins" les 10% d'espaces conformationnels les plus proches de l'espace conformationnel des molécules de références.

Lorsque le procédé s'appuie sur une pluralité de molécules de références, on considérera comme "très voisins" les espaces conformationnels des molécules de référence.

Pour réaliser une base d'apprentissage, on utilise des descripteurs variés qui peuvent être toutes sortes de propriétés quantitatives et/ou semi-quantitatives. Par exemple, comme cela est connu de l'homme du métier, à partir de la représentation graphique d'une molécule, en d'autres termes une représentation en deux dimensions, ou représentation 2D, d'un composé chimique, on peut déduire un ensemble de valeurs numériques appelées "descripteurs topologiques". On peut en outre utiliser des descripteurs reflétant certaines propriétés physico-chimiques comme par exemple le caractère lipophile, ou lipophilie, qui est exprimé en tant que $\log P$, P étant le coefficient de partition du composé considéré entre l'eau et le n-octanol, ou la réfractivité molaire. On peut en outre utiliser des descripteurs numériques représentant des formes moléculaires.

Les techniques classiquement utilisées dans les corrélations quantitatives de structure-activité (Quantitative Structure Activity Relationships : QSAR) sont basées sur l'hypothèse que si une molécule présente un comportement biologique donné, toutes les informations nécessaires pour la caractériser se fondent fortement sur sa structure, c'est-à-dire ses atomes, ses liaisons et ses formes. Contrairement au paradigme QSAR linéaire classique dans lequel l'activité

biologique peut être exprimée sous la forme d'une combinaison linéaire de descripteurs pertinents, la Demanderesse utilise un paradigme de représentation d'informations ou mappage variable, non linéaire, dans lequel l'activité est une fonction non
5 linéaire de descripteurs structuraux, topologiques et moléculaires.

Selon l'invention, on analyse un ensemble de descripteurs pour les composés actifs, en opposition aux composés inactifs, ce qui permet la définition de filtres pour faire la différence
10 entre les deux classes de molécules [G. Grassy & al., J. Mol. Graphics, vol. 13, page 356 (1995)].

Si l'échantillon d'apprentissage correspond à des tests *in vivo*, le jeu de filtres décrit les conditions d'activité *in vivo*. Dans le cas des tests *in vitro*, le jeu de filtres décrit
15 les conditions d'activité *in vitro*.

Un filtre est défini par la plage de variation d'un descripteur donné pour tous les composés actifs connus lorsqu'on la compare à la plage de variation du même descripteur pour tous les composés inactifs connus.

20 Si la plage "active" recouvre totalement la plage "inactive", le filtre ne sert à rien, ce qui revient à dire que la variation de ce descripteur particulier n'a pas de relation avec l'activité biologique.

Si la plage "active" ne recouvre pas totalement la plage
25 "inactive", toute molécule présentant pour ce descripteur une valeur qui tombe dans une zone de la plage "active" qui ne recouvre pas la zone "inactive" aura une forte probabilité d'être active aussi.

Les aptitudes à la prédiction de ce type d'approche sont
30 améliorées par l'utilisation de plusieurs filtres, préférentiellement 10 à 30, chacun représentant une manière différente de quantifier les propriétés structurales et physico-chimiques d'une molécule.

Ces filtres, une fois établis, peuvent être utilisés pour
35 cribler des composés virtuels générés pendant une explosion combinatoire, c'est-à-dire tous les composés obtenus par exemple en branchant une liste de substituants sur des parties

prédéterminées d'un noyau structurel appelé synthon. Les composés les plus prometteurs, à savoir ceux qui satisfont à toutes les contraintes définies par les filtres, sont ensuite synthétisés par synthèse chimique ou par génie génétique, ou encore par tout autre moyen, et testés dans des essais biologiques.

Les molécules inactives que l'on avait prédites actives contiennent des caractéristiques inexplorées qui sont déterminantes pour l'activité. De telles propriétés sont utilisées pour la définition de filtres additionnels et, après quelques répétitions, le processus de criblage virtuel peut être utilisé pour l'identification exacte de composés présentant les propriétés recherchées.

En pratique, à partir des structures de départ dont l'activité peut être mesurée *in vitro* et/ou *in vivo*, on réalise une "base d'apprentissage" en déterminant les différents paramètres physico-chimiques, structuraux et moléculaires permettant de décrire les molécules actives et les molécules inactives.

Ces paramètres sont représentés sous forme de plages de variations, ou "contraintes", en fonction des classes d'activité. Un jeu ou ensemble de contraintes définit un filtre.

La qualité des descripteurs choisis est contrôlée en termes de variabilité, ainsi que le choix des descripteurs à utiliser et l'intercorrélation entre les descripteurs retenus.

Ceci peut être réalisé en utilisant un logiciel conçu par R. Lahana, le logiciel ANODA (ANalysis Of Data) qui associe à une chimiothèque une "carte de visite" simple en termes de descripteurs de base et d'analyse en composantes principales. Différentes techniques de sélection des descripteurs telles qu'analyses de variabilité, d'intercorrélation, de représentativité (régressions, réseaux de neurones, algorithmes génétiques) sont mises en oeuvre.

Une explosion combinatoire est générée à partir de la base d'apprentissage et en prenant en compte les conditions de variation utiles pour chaque position variable. Pour ce faire,

il est possible d'utiliser des bases de données de substituants définis par leur structure et les descripteurs qui en découlent.

L'explosion combinatoire peut être générée en utilisant du logiciel LEGION de la société TRIPOS ou un autre logiciel conçu par R. Lahana, le logiciel COMBEX qui crée une telle explosion à partir d'un répartiteur ("scaffold") ou d'une séquence consensus, et d'une liste de contraintes sur chacun des points de substitution. Un langage de commande de type SQL (Standard Query Language) permet de combiner à volonté toutes sortes de conditions de sélection des substituants.

Pour chaque combinaison générée, il est possible de vérifier l'enrichissement en terme de diversité moléculaire apportée par la molécule créée vis-à-vis des descripteurs choisis. Si cet enrichissement est suffisant, la molécule est conservée, sinon elle est rejetée.

L'enrichissement en terme de diversité moléculaire peut être vérifié au moyen d'un logiciel conçu par R. Lahana, le logiciel DIVERSER qui permet d'effectuer une évaluation quantitative de la diversité moléculaire présentée par une chimiothèque quelconque, même si les molécules qui la composent sont hautement flexibles et si cette chimiothèque est purement virtuelle. Ce logiciel permet de comparer des banques en terme de diversité, de caractériser des "trous" de diversité dans une banque, de concevoir rationnellement des banques minimales ayant une diversité maximale. Les techniques de sélection peuvent être par exemple la classification hiérarchique (clusters), des partitions, la conception uniforme (uniform design), le tirage aléatoire, etc.

Les filtres "statiques", c'est-à-dire ceux qui ne dépendent pas de la variabilité conformationnelle des molécules, décrivent les intervalles des valeurs structurales, physico-chimiques, moléculaires, auxquels les molécules doivent correspondre afin d'être actives. En utilisant ces filtres statiques, on déduit les molécules ayant le plus de chances d'être actives. Ces molécules sont éventuellement synthétisées et testées pour l'activité recherchée.

Dans cette étape, on peut utiliser un logiciel conçu par G. Grassy, le logiciel VARIMAP qui établit des filtres statiques à partir de descripteurs obtenus par TSAR qui est un logiciel commercialisé par Oxford Molecular Group Oxford (Royaume-Uni) et dont les auteurs initiaux sont G. Grassy et R. Lahana.

Les candidats les plus prometteurs sélectionnés au moyen des filtres statiques sont ensuite soumis à un filtre dynamique, c'est-à-dire représentatif des contraintes de variation conformationnelle que doivent respecter les molécules générées pour avoir des chances d'être actives, par comparaison avec celles de la base d'apprentissage.

Ce filtrage dynamique peut être effectuée au moyen d'un logiciel nouvellement conçu par G. Grassy, le logiciel MULTIDYN qui permet, à partir de trajectoires de dynamique moléculaire, de caractériser les espaces conformationnels de molécules quelconques. Les conformations bioactives des molécules en question sont ainsi mises en évidence.

Les molécules retenues sont ensuite synthétisées et testées.

Si l'activité biologique trouvée ne répond pas ou ne répond que partiellement aux critères attendus, les étapes de vérification de l'enrichissement en terme de diversité moléculaire, de filtrage statique, de filtrage dynamique, de synthèse et d'essais sont répétées.

Si on trouve que des molécules répondent aux critères biologiques fixés, le but est atteint.

Le procédé selon l'invention permet donc de définir de nouvelles molécules actives par un processus entièrement rationnel n'utilisant à aucun moment d'hypothèse sur leur mécanisme d'action possible ou sur leur récepteur éventuel.

Le procédé selon l'invention a été mis en oeuvre avec succès dans des domaines de pharmaco-modulation de molécules afin d'améliorer les performances de ces molécules *in vitro* et surtout *in vivo*.

L'exemple détaillé de mise en oeuvre qui suit sert à illustrer et mieux expliquer l'invention.

EXEMPLE

Obtention de nouveaux composés immuno-modulateurs

On a récemment montré que le peptide 2702.75-84 (peptide dérivé du HLA-B2702, acides aminés 75 à 84) prolonge, chez la souris, la survie après une allo-greffe du
5 coeur. (Transplantation, vol. 59, page 455 (1995)).

L'administration du peptide 2702.75-84 à raison de 80 mg/kg/jour pendant 10 jours après la transplantation de coeurs B6 chez des receveurs CBA prolonge la survie à l'allo-greffe de coeur jusqu'à 11,4 ± 2,6 (n=8) jours comparés à 8,2 ± 1,2
10 jours chez les animaux témoins non traités (p<0,01). Aucun effet sur la survie à la greffe n'a été observé après une thérapie avec le peptide 2702.75-84 à des doses inférieures.

L'activité *in vivo* de plusieurs peptides (n=19) dérivés du peptide 2702.75-84 et d'autres séquences MHC/HLA a été évaluée
15 de façon similaire. Les peptides testés comprenaient des peptides de types acides aminés D et L. Certains peptides différaient du peptide 2702.75-84 sur jusqu'à six positions d'acides aminés, d'autres avaient une séquence inversée.

Tous ces peptides dont les séquences sont représentées
20 dans le tableau I qui suit, ont été synthétisés en utilisant la chimie F-moc/tBu puis testés.

Les études de réponse aux doses sur des souris ayant reçu une allo-greffe de coeur ont été effectuées en utilisant des peptides sous la forme acétate, purifiés à plus de 90% par
25 chromatographie liquide haute performance (HPLC).

La transplantation cardiaque hétérotrope abdominale a été effectuée comme décrit précédemment J. Thorac. Cardiovasc. Surg., vol. 7, page 225 (1969).

Des souris CBA receveuses de coeurs C57B1/6 ont été
30 traitées quotidiennement avec différentes doses de peptide après la transplantation d'organe. Les peptides étaient dissous dans du DMSO et dilués dans du PBS (concentration finale en DMSO 10%) avant l'administration intrapéritonéale. Les animaux ont été traités à partir du jour de la transplantation jusqu'au 9ème
35 jour. La survie à la greffe a été surveillée quotidiennement par palpation directe et le rejet a été défini comme la fin de la contractilité cardiaque palpable. La signification statistique de

la prolongation de survie à l'allo-greffe du coeur a été calculée en utilisant le test de Mann-Whitney.

5 La thérapie des receveurs de coeur de souris allo-greffe avec certains de ces peptides (n=9 ; en gras dans le tableau I qui suit) a permis une prolongation significative de la survie à la greffe, alors que les autres n'avaient pas d'effets significatifs.

Les structures des peptides utilisés et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau I qui suit.

TABLEAU I

Séquence peptidique	HLA/MHC	MSTSD
Non traité		7,5 1,1
RENLRIALRY	B2702	11,4 2,6
YRLAIRLNER	-	12,1 2,8
renlrialry	-	11,4 4,1
yrlairlner	-	13,2 2,7
RVNLRIALRY	-	11,5 0,5
YRLAIRLNVR	-	12,5 1,6
rvnlrialry	-	13,1 3,9
yrlairlnvr	-	12,2 2,9
NLRIALRYYW	-	11,6 1,3
RVNLRITALRY	Kk	8,5 0,7
RVDLRTLRLRY	Dk	7,0 0,5
RVDKRTLRLGY	Kb	7,8 1,0
RVSLRNLLGY	Db	8,0 0,5
RESLRLRLGY	07	7,5 0,7
REDLRTLRLRY	B2705	7,7 1,2
ENLRIALR	-	8,5 0,7
renlpialry	-	9,5 2,4
RVNLRRTLRLRY	E	8,0 0,5
RMNLQTLRLGY	G	7,5 0,7

L'ensemble des 19 peptides a été utilisé comme base d'apprentissage pour définir la stratégie de conception rationnelle.

Bien que cet ensemble de départ soit très petit, il a permis, comme le démontre la distinction initiale entre les composés actifs et les composés inactifs, une définition efficace des contraintes.

Initialement, 27 descripteurs indépendants de la conformation ont été calculés pour chaque peptide (voir le Tableau II ci-après).

Les descripteurs physico-chimiques et topologiques ont été générés par le logiciel TSAR V2.31 (Oxford Molecular Group, Oxford, Royaume-Uni).

Ces 27 descripteurs comprenaient le moment dipolaire, calculé sur la base d'une conformation totalement développée de chaque peptide. L'analyse statistique a montré que 14 descripteurs étaient intercorrélés. Par conséquent, ils n'étaient pas utiles pour la définition de contraintes qui différencient entre les peptides actifs et les inactifs. Les 13 autres descripteurs, indépendants de la conformation, ont été utilisés pour construire un filtre statique pour le criblage d'une bibliothèque combinatoire virtuelle comme décrit plus loin.

TABLEAU II

Les 27 descripteurs topologiques
et physicochimiques utilisés

Propriété	Nature	Inclus/exclu
<i>Masse molaire</i>	<i>Physique</i>	<i>Exclu</i>
Volume ellipsoïdal	Forme	Inclus
Volume moléculaire	Forme	Inclus
Réfractivité molaire	Topologique	Inclus
Lipophilie (LogP)	Topologique	Inclus
<i>Kappa 1</i>	<i>Topologique</i>	<i>Exclu</i>
<i>Kappa 2</i>	<i>Topologique</i>	<i>Exclu</i>
<i>Kappa 3</i>	<i>Topologique</i>	<i>Exclu</i>
<i>Kappa Alpha 1</i>	<i>Topologique</i>	<i>Exclu</i>
Kappa Alpha 2	Topologique	Inclus
<i>Kappa Alpha 3</i>	<i>Topologique</i>	<i>Exclu</i>
Flexibilité	Topologique	Inclus
Kier Chi V4	Topologique	Inclus
<i>Indice Randic</i>	<i>Topologique</i>	<i>Exclu</i>
Indice Balaban	Topologique	Inclus
<i>Indice Wiener</i>	<i>Topologique</i>	<i>Exclu</i>
<i>Somme état E</i>	<i>Physique</i>	<i>Exclu</i>

Moment dipolaire	Physique	Inclus
<i>Nombre d'atomes de C</i>	<i>Chimique</i>	<i>Exclu</i>
Nombre d'atomes de O	Chimique	Inclus
Nombre d'atomes de N	Chimique	Inclus
<i>Nombre d'atomes de H</i>	<i>Chimique</i>	<i>Exclu</i>
<i>Nombre total d'atomes</i>	<i>Chimique</i>	<i>Exclu</i>
<i>Nombre de groupes méthyle</i>	<i>Chimique</i>	<i>Exclu</i>
Nombre de groupes éthyle	Chimique	Inclus
<i>Nombre de groupes amino</i>	<i>Chimique</i>	<i>Exclu</i>
Nombre de groupes hydroxy	Chimique	Inclus

Les descripteurs topologiques listés ci-dessus ont été utilisés pour calculer les filtres statiques. Treize descripteurs (en écriture droite), ont fourni des informations sur les caractéristiques des peptides ayant une activité immuno-

5 modulatrice et ont été utilisés pour définir des contraintes pour cribler une bibliothèque combinatoire virtuelle. Les quatorze autres descripteurs se sont révélés être intercorrélés et ont été exclus de l'analyse.

10 En utilisant le programme COMBEX (Synt:em, Nîmes, France), on a généré une explosion combinatoire basée sur une séquence consensus RXXXRXXXXY, dérivée de l'ensemble d'apprentissage, après alignement de toutes les séquences actives et inactives. Cette séquence a laissé 7 positions, les positions représentées

15 par "X", pour effectuer des mutations afin de créer la bibliothèque.

Toutes les molécules ont été générées en utilisant la convention SMILES puis converties en une structure 3D en utilisant le logiciel CORINA (Oxford Molecular Group, Oxford,

20 Royaume-Uni).

Initialement, des acides aminés tant naturels que non naturels étaient compris dans la base de données de substituants. Tous les acides aminés étaient décrits en termes de propriétés physico-chimiques (lipophilie, basicité,

25 aromaticité, etc.) et également par des descripteurs topologiques (analyse de Kier, indice Balaban, etc.). En

utilisant 35 acides aminés, cela conduisait à 357 combinaisons, soit 64 milliards de composés, ce qui était encore trop important pour la capacité de l'ordinateur utilisé.

5 Afin de diminuer ce nombre, quelques données supplémentaires telles que la distribution de la lipophilie, ont été prises en compte. En fait, la structure du composé "conducteur" (2702.75-84) présentait deux domaines lipophiles séparés par des résidus hydrophiles. Ceci suggérait qu'une telle distribution était importante pour l'activité. Afin de respecter
10 cette distribution, la Demanderesse a décidé d'utiliser, pour chacune des 7 positions, la liste suivante d'acides aminés : V, I, T, W, L, nL (nL = norleucine). Ainsi, le nombre des composés de la bibliothèque a été ramené à 67 combinaisons, soit 279 936 composés.

15 Pour cribler la bibliothèque combinatoire virtuelle, on a calculé "au vol", pour chaque structure générée par le logiciel COMBEX, l'ensemble correspondant de propriétés. Ces propriétés ont été analysées en utilisant les filtres statiques et les filtres dynamiques prédéfinis, basés sur les contraintes et on
20 n'a retenu que les composés satisfaisant à toutes les contraintes.

Les filtres statiques, obtenus par les plages de variation des descripteurs retenus étaient basés sur l'ensemble de contraintes indépendantes de la conformation défini en utilisant
25 l'ensemble d'apprentissage de composés actifs et inactifs. Ils ont été conçus en utilisant le logiciel VARIMAP (Synt:em, Nîmes, France).

En criblant la bibliothèque de 279 936 composés avec ces filtres statiques, on a identifié 26 peptides qui satisfaisaient
30 à toutes les contraintes. Parmi ceux-ci les peptides ont été étudiés du point de vue de leurs espaces conformationnels (filtre dynamique) et en particulier 5, appelés respectivement RDP1257, RDP1258, RDP1259, RDP1271 et RDP1277 ont été étudiés.

Le caractère flexible des peptides a été analysé en
35 utilisant des simulations de dynamique moléculaire (MD).

Les simulations MD des peptides solvatés avec des conditions périodiques ont été effectuées en utilisant le

logiciel AMBER 4.1 (Oxford Molecular Group, Oxford, Royaume-Uni). Il utilisait une durée de 1015 ps pour chaque peptide solvate. La constante diélectrique été réglée sur l'unité. La température du système a été initialement portée progressivement de 10 à 300 K, sur une période de 15 ps. Pendant la simulation, on a maintenu une température constante de 300 ± 10 K en couplant à un bain extérieur avec une durée de relaxation de 0,1 ps. Le "pas" temporel choisi était de 1 fs. Le temps de calcul était approximativement de 0,5 h par ps. On a utilisé une coupure "basée sur les résidus" de 10 Å pour toutes les interactions non liées. La liste des paires non liées était remise à jour toutes les 10 fs et les coordonnées étaient recueillies chaque ps pendant les trajectoires, ce qui a donné un ensemble de 1015 conformations pour chaque trajectoire. Dans toutes les trajectoires, aucune contrainte n'a été appliquée aux atomes et aucun "terme parasite" n'a été utilisé dans l'expression d'énergie.

Chaque conformation a été représentée par un descripteur de forme appelé le vecteur d'autocorrélation 3D ci-après "3D-ACV" [Eur. J. Med. Chem.- Chim. Theor., vol. 19, page 61 (1984)]. Un ensemble de 3D-ACV a été calculé pour chaque série de conformations obtenues par dynamique moléculaire (MD) puis traité en utilisant les statistiques à plusieurs variables [Trends in QSAR and Molecular modelling 92 ESCOM Publishers, page 216 (1993)]. Ceci a été réalisé en trois étapes principales (i à iii):

(i) Pour une conformation donnée de la molécule étudiée, ici un peptide, le descripteur 3D-ACV correspondant a été calculé comme suit. Les distances entre toutes les paires d'atomes ont été calculées. La distribution de ces distances était un vecteur dont chaque "boîte" (bin) était la somme de paires d'atomes dans une gamme spécifique de séparation interatomique, c'est-à-dire où deux atomes donnés étaient séparés par une distance comprise entre $(r-1)$ et r Å. Dans ce travail, le pas était égal à 1 Å. Évidemment, la moindre modification de la conformation de ladite molécule aboutit à un changement de la distribution des distances interatomiques, donc

à une modification du 3D-ACV. Par conséquent, ce descripteur est l'un des plus efficaces pour représenter les formes conformationnelles des molécules.

(ii) Une trajectoire MD est l'ensemble des conformations adoptées par une molécule donnée pendant la simulation MD. Pour chaque conformation, le 3D-ACV correspondant a été calculé "au vol" et mémorisé. Ce 3D-ACV multiple, fonction du temps est un descripteur du comportement dynamique de ladite molécule.

(iii) Pour la comparaison des 3D-ACV multiples représentant les trajectoires de l'ensemble de molécules analysé, on a appliqué une analyse de composants principaux (PCA) à chacun de ces 3D-ACV multiples. Cette transformation a réduit les dimensions de l'ensemble de données à un nombre plus faible (dans le cas présent, un espace 2D) et a aussi permis la projection de toutes les trajectoires de toutes les molécules sur un plan. Dans cet espace réduit, chaque molécule est représentée par un ensemble de points, c'est-à-dire ses conformations pendant toute la durée de la simulation MD, ce qui représente son espace conformationnel. Les molécules pouvaient ensuite être comparées l'une à l'autre en termes d'espaces conformationnels. Les analyses des trajectoires et des espaces conformationnels ont été calculés au moyen du logiciel MULTIDYN (Synt:em, Nîmes, France).

Par utilisation d'un filtre dynamique pour cribler les peptides en termes d'espaces conformationnels, il est apparu que 4 de ces 5 peptides occupaient le même espace conformationnel ou un espace très similaire mais que l'un, le RDP1277, était différent de ce point de vue.

Ces 5 peptides ont été synthétisés et testés dans des essais biologiques de survie à l'allo-greffe du coeur.

A une dose de 10 mg/kg/jour, tous ces peptides, sauf le RDP1277, étaient actifs *in vivo*. Aucune prolongation significative de survie à la greffe n'a été observée après la thérapie avec le RDP1277 (MST = 9,0 1,4). En revanche, la thérapie avec tous les autres peptides a permis une prolongation significative de la survie à la greffe, allant de 11 à 13 jours.

Des essais supplémentaires avec le peptide RDP1258 à des doses de 1 à 10 mg/kg/jour ont révélé une efficacité accrue de la thérapie aux doses inférieures. A une dose de 1 mg/kg/jour, 30% des souris ayant reçu une allo-greffe de coeur et traitées par le RDP1258 on survécu pendant plus de 100 jours, alors que le peptide de référence, 2705.75-84, prolongeait la survie à l'allo-greffe de coeur après une thérapie à raison de 80 mg/kg/jour, tandis qu'aucun effet n'était observé aux doses inférieures. De plus, aucune survie de longue durée à la greffe n'a été induite par une thérapie utilisant ce peptide de référence.

La stratégie selon l'invention a donc bien permis de concevoir de façon rationnelle plusieurs composés bioactifs dont l'activité s'est révélée supérieure à celle des molécules actives de la base d'apprentissage.

REVENDICATIONS

1. Procédé assisté par ordinateur pour
prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un
comportement recherché, notamment dans le domaine de la
pharmacie, mettant en oeuvre une étape de modélisation
moléculaire, une étape de constitution d'une banque combinatoire
et une étape de sélection des molécules potentiellement
intéressantes, caractérisé en ce qu'il comporte une étape de
filtration des molécules candidates par un filtre dynamique
représentatif des contraintes de variations conformationnelles
que doivent respecter les molécules pour présenter ladite
activité ou par un filtre statique représentatif d'une pluralité
de descripteurs.

2. Procédé assisté par ordinateur pour
prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un
comportement recherché, notamment dans le domaine de la
pharmacie, selon la revendication 1 caractérisé en ce qu'il
comporte une étape préalable de filtrage statique pour réduire
le nombre de molécules candidates et pour une étape ultérieure
de filtration dynamique.

3. Procédé assisté par ordinateur pour prévoir,
identifier et décrire des molécules ayant un comportement
recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend
essentiellement les étapes successives consistant à :

1) réaliser une base d'apprentissage à partir d'une
famille de structures moléculaires connues composée d'une part
de structures moléculaires actives présentant l'activité
recherchée et d'autre part de structures moléculaires inactives
connues dépourvues de cette activité, ou comme présentant une
activité faible, en utilisant des descripteurs appropriés ;

2) générer une explosion combinatoire de molécules à
partir de la base d'apprentissage ;

3) effectuer un criblage des molécules ainsi
générées sur la base de l'enrichissement, en termes de diversité

moléculaire, apporté par chaque molécule vis-à-vis des descripteurs choisis ;

4) soumettre les molécules ainsi retenues à des filtres statiques représentatifs des contraintes de variations structurelles, physico-chimiques et moléculaires auxquelles doivent répondre les molécules pour être actives et, éventuellement, synthétiser et tester les molécules sélectionnées;

5) soumettre les molécules les plus prometteuses ainsi sélectionnées à un filtre dynamique représentatif des contraintes de variation conformationnelle que doivent respecter les molécules pour être actives ;

6) synthétiser et tester les molécules ainsi sélectionnées.

4. Procédé assisté par ordinateur pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, selon la revendication 3, caractérisé en ce que, si le résultat escompté n'est pas obtenu, ou s'il n'est obtenu que partiellement, les étapes 3) à 6) sont répétées en modifiant les filtres.

5. Procédé assisté par ordinateur pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, selon la revendication 3 ou 4, caractérisé en ce que le filtrage dynamique peut être effectuée au moyen d'un logiciel qui permet, à partir de trajectoires de dynamique moléculaire, de caractériser les espaces conformationnels de molécules quelconques.

6. Procédé assisté par ordinateur pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, le filtrage dynamique met en oeuvre le descripteur de forme constitué par le vecteur d'autocorrélation 3D (3D-ACV).

7. Procédé assisté par ordinateur pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, selon la

revendication 6, caractérisé en ce que le filtrage dynamique consiste à calculer un ensemble de 3D-ACV pour chaque série de conformations obtenues par dynamique moléculaire (MD) puis traité en utilisant les statistiques à plusieurs variables en

5 trois étapes principales (i à iii):

(i) Pour une conformation donnée de la molécule étudiée, on calcule le descripteur 3D-ACV correspondant par détermination des distances entre toutes les paires d'atomes et de la distribution de ces distances formant un vecteur dont chaque

10 "boîte" (bin) est la somme de paires d'atomes dans une gamme spécifique de séparation interatomique,

(ii) On calcule et on mémorise pour chaque conformation, le 3D-ACV multiple correspondant "au vol" ;

(iii) On procède à une analyse de composants

15 principaux (PCA) à chacun de ces 3D-ACV multiples.

8. Procédé assisté par ordinateur pour prévoir, identifier et décrire des molécules ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, selon la revendication 5, caractérisé en ce que le filtre statique met en

20 oeuvre des descripteurs physico-chimiques et topologiques dont une partie au moins est choisie parmi les descripteurs cités dans le tableau II.

9. Molécule ayant un comportement recherché, notamment dans le domaine de la pharmacie, conçue par le procédé conforme à l'une au moins des revendications précédentes.

25

10. Molécule qui n'était pas antérieurement connue pour présenter un comportement recherché, caractérisé en ce qu'elle occupe un espace conformationnel identique ou très voisin de l'espace conformationnel d'une molécule de référence

30 au moins, la molécule de référence étant préalablement connue pour présenter le comportement recherché.

11. Molécule qui n'était pas antérieurement connue pour présenter un comportement recherché, caractérisé en ce qu'elle présente des plages de variation des descripteurs

35 statiques identique ou très voisin des plages de variation des descripteurs statiques d'une molécule de référence au moins, la

molécule de référence étant préalablement connue pour présenter le comportement recherché.

12. Molécule qui n'était pas antérieurement connue pour présenter un comportement recherché, selon la revendication 5 10 et 11 caractérisé en ce qu'elle occupe un espace conformationnel identique ou très voisin de l'espace conformationnel d'une molécule de référence au moins, la molécule de référence étant préalablement connue pour présenter le comportement recherché et en ce qu'elle présente des plages 10 de variation des descripteurs statiques identique ou très voisin des plages de variation des descripteurs statiques d'une molécule de référence au moins, la molécule de référence étant préalablement connue pour présenter le comportement recherché.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 98/02909

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 G06F17/50

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 6 G06F

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 practicable, 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.
X	WO 97 27559 A (PATTERSON DAVID E ; CRAMER RICHARD D (US); CLARK ROBERT D (US); FER) 31 July : 1997	1,9
A	see page 12, line 15 - page 15, line 2 see page 96, line 3 - page 97, line 17 ---	2-4
Y	GRASSY G ET AL: "Structure-activity relationships of steroids with mineralocorticoid activity" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY. CHIMICA TERAPEUTICA, vol. 32, no. 11, November 1997, page 869-879 XP004100670	1,6,9
A	see page 872, column 1, line 4 - page 873, column 2, line 9: table 2 --- -/--	2-5,7,8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family 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

19 April 1999 (19.04.99)

Date of mailing of the international search report

18 May 1999 (18.05.99)

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Guingale, A

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 98/02909

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	YASRI ET AL: "rational choice of molecular dynamics simulation parameters through the use of the three-dimensional autocorrelation method : application to calmodulin flexibility study" PROTEIN ENGINEERING., vol. 9, no. 11, Novembre 1996, pages 959-976, XP002078077 ENGLAND GB	1,6,9
A	see page 960, column 2, line 18 - page 962, column 2, line 31 see page 971, column 1, line 36 - page 973, column 2, line 17; figure 2 ---	2-5,7,8
A	GRASSY ET AL: "statistical analysis and shape recognition : applications to md simulations, conformational analysis and structure-activity relationships" TRENDS QSAR MOL. MODELL. PROC.EUR.SYMP. STRUCT.-ACT.RELAT.,1992, pages 216-219, XP002078078 see whole document -----	1,5-7,9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 98/02909

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.: 10-12
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:

No search was carried out concerning the subject matter of Claims 10-12 characterized by a very wide scope and very ill-defined with too little detail.
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.

Information on patent family members

PCT/FR 98/02909

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De l'Office International No
PCT/FR 98/02909

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 G06F17/50

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 6 G06F

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 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
X	WO 97 27559 A (PATTERSON DAVID E ; CRAMER RICHARD D (US); CLARK ROBERT D (US); FER) 31 juillet 1997	1,9
A	voir page 12, ligne 15 - page 15, ligne 2 voir page 96, ligne 3 - page 97, ligne 17	2-4
Y	GRASSY G ET AL: "Structure-activity relationships of steroids with mineralocorticoid activity" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY. CHIMICA THERAPEUTICA, vol. 32, no. 11, novembre 1997, page 869-879 XP004100670	1,6,9
A	voir page 872, colonne 1, ligne 4 - page 873, colonne 2, ligne 9; tableau 2 --- -/--	2-5,7,8



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

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

19 avril 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

18.05.99

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
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

Fonctionnaire autorisé

Guingale, A

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

D. 1de Internationale No

PCT/FR 98/02909

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	YASRI ET AL: "rational choice of molecular dynamics simulation parameters through the use of the three-dimensional autocorrelation method : application to calmodulin flexibility study" PROTEIN ENGINEERING., vol. 9, no. 11, novembre 1996, pages 959-976, XP002078077 ENGLAND GB	1,6,9
A	voir page 960, colonne 2, ligne 18 - page 962, colonne 2, ligne 31 voir page 971, colonne 1, ligne 36 - page 973, colonne 2, ligne 17; figure 2 -----	2-5,7,8
A	GRASSY ET AL: "statistical analysis and shape recognition : applications to md simulations, conformational analysis and structure-activity relationships" TRENDS QSAR MOL. MODELL. PROC.EUR.SYMP. STRUCT.-ACT.RELAT.,1992, pages 216-219, XP002078078 voir le document en entier -----	1,5-7,9

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

L. ande internationale n°
PCT/FR 98/02909

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^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☒ Les revendications n^{os} 10-12 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:
Les revendications 10-12 caractérisées par une étendue très large et par une définition très peu précise et détaillée n'ont pas été cherchées
3. ☐ Les revendications n^{os} 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^{os}
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 couverte par les revendications n^{os}

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 aux membres de familles de brevets

D .nde Internationale No

PCT/FR 98/02909

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9727559 A	31-07-1997	AU 1847997 A EP 0892963 A	20-08-1997 27-01-1999