



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

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>A61K 7/48</b>		A1	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 97/02807</b> (43) Date de publication internationale: 30 janvier 1997 (30.01.97)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR96/01051</p> <p>(22) Date de dépôt international: 5 juillet 1996 (05.07.96)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 95/08242 7 juillet 1995 (07.07.95) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): C 3 D [FR/FR]; 7, onzième avenue, F-60260 Lamorlaye (FR).</p> <p>(72) Inventeur; et</p> <p>(75) Inventeur/Déposant (US seulement): DAMPEIROU, Christian [FR/FR]; 9, rue Sennéfontaine, F-60000 Allonne (FR).</p> <p>(74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Régime-beau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: CN, JP, KR, US.</p> <p><b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i></p>	

(54) Title: DEPIGMENTING COSMETIC SKIN-CARE COMPOSITION AND USE THEREOF

(54) Titre: COMPOSITION DERMOCOSMETIQUE DEPIGMENTANTE ET SON UTILISATION

## (57) Abstract

A cosmetic skin-care composition containing as the active principle a depigmentationally active combination of (a) an acidic mixture including (i) at least one  $\alpha$ -hydroxylated acid or a derivative thereof, with the exception of ascorbic acid, and (ii) at least one compound selected from the group which consists of kojic acid, caffeic acid, azelaic acid, aminobutyric acid, fusaric acid, 5-hydroxy 2-hydroxymethyl- $\gamma$ -pyridone, and derivatives thereof; and (b) at least one active component of a plant extract from at least one plant selected from white mulberry, liquorice, skull cap, grapefruit, birch, heather, strawberry tree, bearberry, lemon, lettuce, oarweed, cucumber, ginseng, hop, sweet corn, feverfew, sage, soya, elder, spirulina, lime, ferocious aloe, yukinoshita, bloodwort, hoelen, wood rose,  $\alpha$ -orizanol, burnet, ginkgo biloba, tanlex VB and eclipsa Alba, with the proviso that when the composition contains kojic acid and a liquorice extract, it contains at least one other plant extract component. The use of said composition for preparing a drug or in a cosmetic method is also disclosed.

## (57) Abrégé

La présente invention concerne une composition dermocosmétique, caractérisée en ce qu'elle contient à titre de principe actif une association à activité dépigmentante: (a) d'un mélange acide comprenant (i) au moins un acide  $\alpha$ -hydroxylé ou un de ses dérivés, à l'exclusion de l'acide ascorbique; (ii) au moins un composé choisi dans le groupe comprenant: acide kojique, acide caféïque, acide azélaïque, acide aminobutyrique, acide fusarique, 5-hydroxy 2-hydroxymethyl- $\gamma$ -pyridone, et leurs dérivés; (b) d'au moins un composant actif d'un extrait végétal d'au moins une plante choisie parmi: murier blanc, réglisse, scutellaria, pamplemousse, bouleau, bruyère, arbousier, busserole, citron, laitue, laminaire, concombre, ginseng, houblon, maïs, matricaire, sauge, soja, sureau, spiruline, tilleul, aloe ferox, yukinoshita, sanguisorba, hoelen, rose fruit,  $\alpha$ -orizanol, burnet, gingko biloba, tanlex VB, eclipsa Alba, à la condition que lorsque la composition contient de l'acide kojique et un extrait de réglisse, elle contient au moins un autre composant d'extrait végétal. L'invention concerne également l'utilisation de la composition pour la préparation d'un médicament ou d'une méthode cosmétique.

***UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION***

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

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

## COMPOSITION DERMOCOSMETIQUE DEPIGMENTANTE ET SON UTILISATION

La présente invention se rapporte à des compositions présentant une activité dépigmentante et à leurs applications.

Les taches brunes sont des hyperpigmentations localisées provoquées par un excès de mélanine.

5 Les taches mélانيques cutanées qui s'accentuent ou apparaissent avec l'âge sont ressenties comme un désagrément esthétique, toujours mal supporté sur le plan psychologique.

Selon leur origine, les hyperpigmentations sont classées en deux grands groupes :

10

- Hyperpigmentation liée à une hyperactivité ou à une prolifération mélanocytaire

a) Les Ephélides

15

Communément appelées taches de rousseurs, elles apparaissent durant l'enfance, particulièrement sur les peaux claires et se trouvent préférentiellement sur les parties découvertes de l'épiderme. Elles s'intensifient après les expositions solaires.

20

Histologiquement, le nombre de mélanocytes est normal mais la quantité de mélanine est augmentée.

b) Lentigine ou lentigo solaire

25

Ce sont des taches arrondies et planes de très petite taille de teinte allant du jaune brun au noir apparaissant durant l'enfance. Il est pratiquement impossible de les différencier des éphélides lorsqu'elles ne sont pas de couleur très foncée.

c) Lentigo sénile

30

Ce sont des taches brunes apparaissant sur le dos des mains, les avant-bras et sur le visage après la cinquantaine. Histologiquement, on note une hyperpigmentation mélanyque de la couche basale de l'épiderme avec accroissement du nombre des mélanocytes.

d) Mélasma

35

C'est une nappe pigmentée s'étendant de façon presque toujours symétrique sur le front et les joues apparaissant plus volontiers

chez les femmes brunes. Il peut apparaître dans trois cas :

- durant la grossesse, c'est le chloasma,
- durant la prise d'oestroprogestatifs,
- de manière idiopathique.

5

- Hyperpigmentation par incontinence pigmentaire :

Hyperpigmentation consécutive à une photo sensibilisation

C'est la classique dermatose en "breloque" ou dermite des parfums.

10 Ce sont des taches brunes plus ou moins foncées disposées en trainées ou en coulées aux endroits où sont appliqués les parfums et les cosmétiques avant une exposition solaire. Elles disparaissent progressivement et spontanément en plusieurs mois.

15 Il existe donc un besoin pour une composition ayant une activité dépigmentante à faible concentration, présentant une bonne tolérance cutanée.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet, une composition dermo-cosmétique, caractérisée en ce qu'elle contient à titre de principe actif une association à activité dépigmentante :

20 - (a) d'un mélange acide comprenant (i) au moins un acide  $\alpha$ -hydroxylé ou un de ses dérivés,

(ii) au moins un composé choisi dans le groupe comprenant : acide kojique, acide caféïque, acide azélaïque, acide aminobutyrique, acide fusarique, 5-hydroxy 2-hydroxyméthyl- $\gamma$ -pyridone, et leurs dérivés ;

25 - (b) d'au moins un composant actif d'un extrait végétal d'au moins une plante choisie parmi : murier blanc, réglisse, scutellaria, pamplemousse, bouleau, bruyère, arbousier, busserole, citron, laitue, laminaire, concombre, ginseng, houblon, maïs, matricaire, sauge, soja, sureau, spiruline, tilleul, aloe ferox, yukinoshita, sanguisorba, hoelen, rose fruit, 30  $\alpha$ -orizanol, burnet, gingko biloba, tanlex VB, eclipsa Alba, à la condition que lorsque la composition contient de l'acide kojique et un extrait de réglisse, elle contient au moins un autre composant d'extrait végétal.

35 De préférence, l'acide ascorbique sera exclu des acides utilisables mentionnés en (a).

Parmi les dérivés des acides (i) et (ii) il faut citer les sels notamment les sels alcalins ou alcalino terreux et en particulier les sels d'ammonium. Parmi les dérivés on peut également citer les esters notamment les esters avec les polyols par exemple les sucres.

5 On peut notamment envisager des co-esters de deux dérivés acide sur un même polyol.

Parmi les acides  $\alpha$ -hydroxylés utilisables il faut citer l'acide malique, l'acide citrique, l'acide lactique et l'acide glycolique ; la concentration est avantageusement comprise entre 0,1 et 45% par rapport 10 au poids total de la composition.

Des acides (ii) donnant des résultats particulièrement avantageux selon l'invention sont l'acide kojique, l'acide caféique ou la 5-hydroxy 2-hydroxyméthyl- $\gamma$ -pyridone, ce dernier composé étant plus particulièrement préféré. On emploiera donc de préférence ces composés 15 ou leurs sels, seuls ou en mélange, pour constituer la partie acide non  $\alpha$ -hydroxylée des compositions dépigmentantes.

Des associations particulièrement avantageuses sont celles comprenant un mélange d'acide kojique, burnet et Eclipsa alba. Celui-ci peut être combiné avec des acides  $\alpha$ -hydroxylés et éventuellement d'autres 20 composants d'extraits végétaux.

Le composant actif d'un extrait végétal peut être obtenu par extraction à partir de la plante ou d'une partie de la plante mais il peut être possible également d'obtenir ce composant par synthèse chimique lorsque celui-ci a été identifié. Cette synthèse peut être totale ou être une 25 hémisynthèse.

Le composant actif est de préférence apporté par un extrait végétal, obtenu à partir de murier blanc, réglisse, scutellaria, pamplemousse, bouleau, bruyère, arbousier, busserole, laitue, soja, aloe ferox, yukinoshita, rose fruit, burnet, et/ou eclipsa Alba.

30 Lorsqu'ils sont obtenus par extraction, les principes actifs d'extraits végétaux peuvent être obtenus par une étape d'extraction en milieu hydroalcoolique à partir des tiges, des feuilles et/ou des racines de plantes. Dans la plupart des cas, l'extrait hydroalcoolique contenant le principe actif et d'autres composants pourra être utilisé tel quel, mais il est 35 bien entendu possible de supprimer de cet extrait les composants inutiles ou néfastes s'il en existe et ce par des méthodes connues telles que précipitation sélective, extraction par solvant et/ou chromatographie.

La composition du principe actif peut varier très largement en fonction de l'activité des deux fractions en particulier en fonction de l'activité du composant actif végétal, c'est ainsi que le mélange acide peut constituer de 0,1 à 99% en poids du principe actif, l'extrait végétal en 5 constituants le complément.

De préférence, le rapport en poids entre la partie acide et le composant actif d'un extrait végétal est compris entre 50/50 et 70/30.

Les compositions selon la présente invention peuvent contenir d'autres principes actifs dont il n'est pas tenu compte dans les 10 pourcentages précédents.

Ainsi, selon l'un des aspects de l'invention, la composition peut contenir en outre au moins un composé choisi parmi les céramides, les macromolécules vectorisantes ou composant améliorant la pénétration.

15 Comme cela a été mentionné précédemment, le mélange acide peut au moins être partiellement greffé sur des sucroesters.

La concentration en actifs dans la composition finale sera de préférence comprise entre 1 et 20%

Une composition conforme à l'invention présente notamment la formule suivante :

20 Acide kojique de 1 à 15%

Acide glycolique de 20 à 30%

et de 20 à 35% d'extraits végétaux provenant de Tanlex VB, Yukinoshita, Naringine, Sohakuhi Bg, Murier blanc, Citron Bg,  
et le complément en excipient acceptable pour cette composition.

25 Enfin, la mélanine protège la peau des effets nocifs des rayons UV. Compte tenu du fait que les compositions selon l'invention réduisent la production de mélanine, il est intéressant d'ajouter dans la formulation cosmétique des agents de protection solaire très efficaces afin d'éviter les dommages encourus par une peau exposée au soleil sans protection.

30 Ces agents de protection solaire peuvent être des filtres organiques et/ou minéraux connus de l'homme du métier. Parmi ces derniers on peut citer les particules d'oxyde métallique, notamment de titane, fer, cérium, aluminium, etc, ou de talc.

35 Le choix du type de filtre retenu, sa teneur et le cas échéant sa granulométrie seront déterminés par la consistance finale désirée de la composition.

Les compositions selon l'invention peuvent se présenter sous forme notamment de lotion, gel, émulsion, crème, onguent et contiennent des excipients pharmaceutiquement et/ou cosmétologiquement acceptables appropriés. Parmi ces excipients, on peut citer les conservateurs, anti-5 oxydants, colorants, parfums, tensio-actifs, épaississants connus de l'homme du métier. Elles peuvent également contenir des adjuvants d'activité et/ou un autre principe actif.

Les exemples qui suivent sont destinés à illustrer l'invention sans aucunement en limiter la portée.

10 Dans ces exemples on se référera aux figures suivantes :

Figure 1 : Appréciation macroscopique des effets dépigmentants de différentes compositions.

Figure 2 : Influence des traitements sur l'aspect pigmentaire de la zone d'application à l'examen histologique.

15 Figure 3 : Efficacité comparée des divers traitements dépigmentants.

Exemple 1 : Préparation d'une composition selon l'invention

20 Le principe actif à la composition suivante :

		%	
	Acide kojique	10	Partie acide
25	EDTA	0,5	
	Sulfite de Na	0,3	(i) 38,5
	Métabisulfite de Na	0,3	
	Acide glycolique	28,5	
	Tanlex VB	2	
30	Yukinoshita	1	Extraits
	Naringine (ext du pamplemousse)	0,75	végétaux
	Sohakuhi Bg	7,5	(ii) 26,75
	Murier blanc	13	
	Citron Bg	2,5	
35	H <sub>2</sub> O	0,5	

Mode opératoire

Dans une part d'eau dissoudre les conservateurs et l'acide glycolique puis l'acide kojique, chauffer à 75° et ajouter lentement la 5 partie (ii).

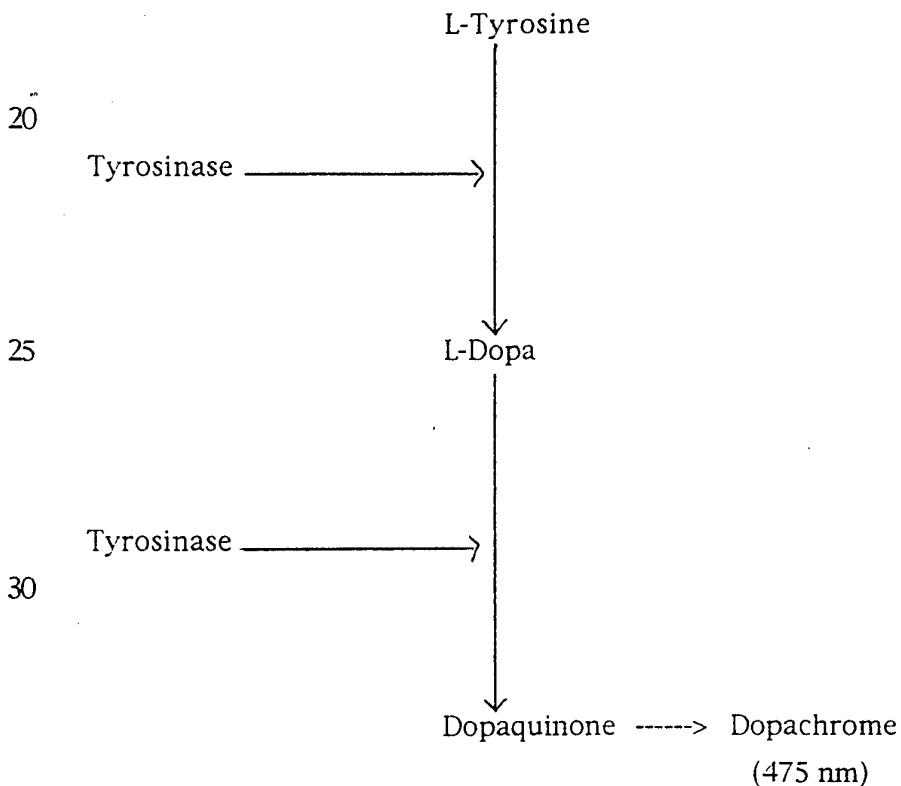
La composition de l'exemple 1 sera appelée Bruni Clear dans la suite des exemples.

10 **Exemple 2: Etude comparative in vitro de l'action de différents produits sur l'activité de la tyrosinase**

Etude des actifs en absence d'UV et d'oxygène singulet

1. Principe du test

15 La tyrosinase est capable de catalyser les réactions suivantes :



Or, l'une des hypothèses par lesquelles on n'entend nullement limiter l'invention, est que la composition selon l'invention se comporte comme un inhibiteur pluri-fonctionnel de la tyrosinase, grâce à une synergie entre ses différents constituants. En effet, les deux premières 5 étapes de la synthèse de mélanine consistent en l'action de la tyrosinase sur la tyrosine puis la L-Dopa. L'inhibition de l'activité de la tyrosinase bloque donc la formation de la mélanine.

10 L'un des intérêts de la composition selon l'invention est qu'elle agit comme un inhibiteur compétitif, qui bloque la réaction enzymatique de façon réversible, car elle ne modifie pas la structure de l'enzyme mais est seulement en concurrence avec les substrats naturels tyrosinase ou dopa.

Le test suivant permet donc de mesurer l'inhibition de la tyrosinase en dosant le dopachrome qui est un composé coloré que l'on peut doser en spectroscopie à 475 nm.

15 Afin d'étudier l'influence de certains composés sur l'activité enzymatique de la tyrosinase, on réalise une cinétique enzymatique.

La réaction est réalisée à 25° C en tampon phosphate pH 7. La tyrosinase est mise en présence de son substrat L-Dopa ; au milieu réactionnel on peut ajouter la molécule à étudier.

20 On compare ensuite la variation de densité optique par minute de l'essai (en présence de la molécule à étudier) à celle du témoin (sans molécule).

On en déduit l'influence de la molécule sur l'activité de la tyrosinase.

25 Les résultats sont alors exprimés en pourcentage d'activité, sachant que le témoin représente 100% d'activité.

## 2. Protocole

	Blanc	Témoin	Essai
30 PBS	1 ml	1 ml	0,8 ml
L-Dopa 10-3M	0,125 ml	0,125 ml	0,125 ml
Echantillon	0,200 ml	/	0,200 ml
35 Tyrosinase 600 U/ml	/	0,125 ml	0,125 ml

On suit l'apparition du dopachrome à 475 nm pendant trois minutes.

3. Résultats d'inhibition de la tyrosinase in-vitro.

	Echantillon	Concentration testée	% d'activité	% d'inhibition
5	Témoin		100	0
10	Santoline	3,33 mg/ml	252	0
	" "	6,66 mg/ml	299	0
15	bergamote	3,33 mg/ml	115	0
	" "	6,66 mg/ml	105	0
20	Acide kojique	10 mg/ml	20	80
	" "	1 mg/ml	29	71
25	Palmitate d'ascorbyle	1 mg/ml	34	66
	Hydroquinone	4 mg/ml	241,9	0
30	" "	8 mg/ml	229,41	0
	" "	16 mg/ml	112,53	0

	Produit de référence M	50 mg/ml	36,68	63,32
5	“ “	25 mg/ml	69,94	30,06
	“ “	17 mg/ml	76,21	23,79
10	Bruni clear R	0,10 mg/ml	36	64
	“ “	0,20 mg/ml	24	76
	“ “	0,5 mg/ml	2	98
15	“ “	1 mg/ml	0,6	99,4
	“ “	5 mg/ml	0	100
20	“ “	25 mg/ml	0	100
	“ “	50 mg/ml	0	100

M : Mélawhite actif de Pentapharm, composition non divulguée.

## Exemple 3

Formule d'une crème Bruni clear à 10%

	%
5	
Actif (selon l'exemple 1)	10
Stabilisant antioxydant	0,25
Gamma orizanol	0,8
10 Lécitine	1
Avocadine	4
Squalène	2
H Paraffine	4,25
Acide stéarique	2,5
15 Propylène glycol	5
Phénonique	0,25
Norgel	5
H <sub>2</sub> O	QSP

20

**Exemple 4: Etude de l'activité dépigmentante d'une crème contenant Bruni clear à 10% versus hydroquinone à 5 %**

25 Des crèmes ont été préparées selon l'exemple 3, et en remplaçant dans la formule de l'exemple 3 l'actif par respectivement de l'hydroquinone à 5% et de l'acide kojique à 1,5%, seul le pourcentage d'eau variant.

30 L'étude réalisée par la Cecma (Centre d'Etude et d'Exploitation de Cosmétiques, de Médicaments et d'Aliments) a eu pour objectif d'apprécier chez la souris pigmentée l'efficacité de deux nouvelles crèmes dépigmentantes référencées Bruni clear<sup>®</sup> et AK 1,5% comparativement à un témoin + constitué d'hydroquinone à 5% et à une crème de référence prélevée sur le marché.

35

D'un point de vue macroscopique, la crème Bruni clear® a présenté la meilleure efficacité dépigmentante devant le témoin +, le produit de référence et la crème AK 1,5.

Par ailleurs, sur le plan histologique, la crème Bruni clear® s'est 5 avérée aussi active que le témoin + et significativement supérieure à la crème AK 1,5% et au produit de référence.

Au vu de ces résultats, on peut considérer que la crème Bruni clear® est dotée d'une activité dépigmentante au moins équivalente à celle du témoin + et, en tout cas, supérieure à l'autre formulation testée et 10 au produit de référence.

Il est à noter que la tolérance de la crème Bruni clear® est en outre apparue bonne puisqu'aucune lésion cutanée importante n'a été enregistrée après 12 semaines d'application.

Il est également à noter que la législation interdit l'usage de 15 l'hydroquinone à des doses supérieures à 2%.

#### Exemple 5 : Etude de l'activité dépigmentante chez la souris

##### 1. Matériels et Méthodes

20

###### 1.1. Animaux

L'étude a été réalisée chez des souris pigmentées mâles de souche C<sub>3</sub>H provenant du Centre de Recherche et d'Elevage des Oncins IFFA CREDO, B.P. 0109, 69592 l'Arbresle CEDEX. Ces animaux n'avaient fait l'objet 25 d'aucun autre essai auparavant et leur poids moyen était d'environ 20 g au début de l'expérimentation.

###### 1.2. Conditions d'encagement et d'alimentation

Une semaine avant l'essai, les animaux ont été placés dans des cages 30 en polypropylène pourvues de sciures dépoussiérées, dans des conditions d'habitat standardisées (température de 20 ± 2° C, lumière 12 heures sur 24), et ont reçu nourriture (aliment spécifique pour rongeurs sous forme de granulés n° 404, U.A.R., 7, rue Galliéni, 91360 Villemoison-sur-Orge) et eau du réseau de distribution publique à satiété.

35

### 1.3. Mode opératoire

#### Préparation et constitution des lots d'animaux

Les animaux ont été répartis par randomisation en quatre lots de 6,  
5 de la façon suivante :

- Lot 1 ou lot témoin ® : constitué de 6 animaux traités par une émulsion huile/eau contenant 5% d'hydroquinone,
- 10 • Lot 2 : constitué de 6 animaux traités par le produit CD 1, c'est-à-dire Bruni clear ®,
- Lot 3 : constitué de 6 animaux traités par le produit CD 2, c'est-à-dire de l'acide kojique à 1 %,
- 15 • Lot 4 : constitué de 6 animaux traités par une spécialité de référence prélevée directement sur le marché (Dépigmenten ®, lot n° 10405).

Un cinquième lot, constitué de 4 animaux traités par une préparation placebo à base de vaseline, a servi de témoin de pigmentation normale pour l'appréciation des effets des différents traitements.

#### Traitements

Les animaux ont été traités 6 jours par semaine durant 12 semaines consécutives par une application d'une quantité convenable des préparations à tester sur la peau de la queue, suivie d'un massage doux destiné à assurer la pénétration des principes actifs.

#### Examens pratiqués

- 30
- a) Appréciation macroscopique de l'intensité de la dépigmentation

Régulièrement au cours de l'étude (1 fois par semaine) et au terme de celle-ci, les zones d'application ont été observées et l'intensité de la pigmentation appréciée en aveugle à l'aide de l'échelle d'évaluation numérique suivante :

Evaluation numérique de l'intensité de la dépigmentation à l'examen macroscopique :

	. Aucune dépigmentation	0
5	. Dépigmentation incertaine	1
	. Présence de petites taches de dépigmentation bien nettes	2
	. Dépigmentation moyenne avec persistance de foyers de coloration normale	3
10	. Dépigmentation modérément forte avec perte uniforme de la coloration de la peau	4
	. Dépigmentation totale (peau blanche)	5

b) Appréciation de la tolérance locale :

15 Parallèlement aux examens précédents, l'état de la peau au niveau des zones d'application a été observé afin d'estimer la tolérance cutanée des produits expérimentés.

c) Examen histologique :

20 A l'issue de l'essai, après les observations macroscopiques, les animaux ont été sacrifiés puis une biopsie cutanée a été réalisée au niveau des sites d'application.

25 L'examen des préparations histologiques a été pratiqué en aveugle par un expérimentateur ignorant l'ordre d'attribution des traitements aux animaux.

#### 1.4. Expression des résultats et analyses statistiques

30 Appréciation macroscopique

Les cotations macroscopiques effectuées à chaque examen ont été analysées globalement au moyen du test non paramétrique de Kruskal-Wallis.

### Lecture des résultats histologiques

Chez des souris n'ayant reçu aucun traitement actif, il a été noté, au grossissement x 40, la présence de structures en anneaux bordées par des formations pilaires. Il a été dénombré entre 52 et 106 de ces anneaux par 5 coupe examinée.

Pour l'interprétation des résultats, il a été considéré que l'aspect pigmenté normal d'un anneau était formé d'une accumulation de mélanocytes dans les couches basales de l'épithélium, avec une migration de pigments mélaniques à travers la couche cornée et une reprise 10 pigmentaire modérée, sous forme de rares mélanophages dans le derme sous-jacent.

Pour évaluer la pigmentation, il a été procédé à :

1. la comptabilisation du nombre total d'anneaux à étudier ;
2. la comptabilisation du nombre d'anneaux présentant une pigmentation 15 normale sur la base des critères susmentionnés ;
3. la comptabilisation du nombre d'anneaux ne présentant, à l'inverse, aucune pigmentation ;
4. la déduction, dans un dernier temps, du nombre d'anneaux hypopigmentés.

20 L'apigmentation a été définie par l'absence complète de mélanocytes et de pigments dans un anneau ou crête épithéliale

L'hypopigmentation s'est avérée variable mais a pu être caractérisée par une nette raréfaction des mélanocytes dans les couches basales, par l'absence de migration de pigments à travers les couches 25 cornées et par une reprise pigmentaire parfois plus abondante dans le derme sous-jacent.

La méthode d'interprétation a consisté à apprécier, pour chacune des préparations les pourcentages de crêtes présentant :

1. une pigmentation normale,
2. une pigmentation partielle,
3. une pigmentation nulle.

Des cotations (C) ont ensuite été attribuées aux crêtes en fonction des modifications de pigmentation observées à l'aide de l'échelle numérique ci-dessous :

Evaluation numérique de la pigmentation des crêtes cutanées à l'examen histologique :

	. Pigmentation normale	0
5	. Pigmentation partielle	1
	. Pigmentation nulle	2

Un indice de dépigmentation a alors été calculé pour chaque préparation, correspondant à la somme des cotations divisée par le nombre 10 de crêtes observé.

$$I_D = \frac{\sum C_i}{N}$$

15 Ci = cotation individuelle des anneaux

N = nombre total d'anneaux

Après avoir vérifié la normalité de la distribution au sein de chaque groupe de traitement, les valeurs obtenues ont été comparées par une analyse de variance complétée par un test de Duncan afin de déterminer le 20 degré de significativité des écarts entre les valeurs moyennes.

#### Significativité

La signification des différents tests statistiques mis en oeuvre a été retenue pour  $p \leq 0,05$ .

25

#### 2. Résultats

##### 2.1. Observations macroscopiques

30 L'évolution au cours du temps des valeurs moyennes de chaque groupe d'animaux a été représentée sur la figure 1. L'examen de celle-ci montre que l'effet dépigmentant se manifeste, de façon plus ou moins nette, au bout de 3 semaines, quel que soit le traitement. On observe ensuite

la persistance d'une dépigmentation faible voire incertaine durant environ 6 semaines. C'est à partir de ce moment que les effets dépigmentants apparaissent plus significatifs, en particulier pour la crème CD 1 et le témoin  $\oplus$ , qui se différencient alors des deux autres 5 traitements d'un point de vue statistique. Les effets s'intensifient encore entre la 10ème et la 11ème semaine (pour tous les traitements). Au cours de la dernière semaine de traitement, seule la crème CD 1 a amélioré la dépigmentation cutanée.

#### 10 2.2. Analyse histologique

La figure 2 montre l'influence des traitements sur l'aspect pigmentaire de la zone d'application. On peut constater que les préparations du groupe témoin  $\oplus$  et du groupe traité par la crème CD 1 15 présentent un plus grand nombre de crêtes épithéliales apigmentées et hypopigmentées par rapport aux préparations des deux autres groupes d'animaux.

La comparaison des indices moyens de dépigmentation (figure 3) 20 révèle une efficacité nettement supérieure (+ 70 à 80 %) pour la crème CD1 et le témoin  $\oplus$ , comparativement à la crème CD 2 et au produit de référence testé simultanément. Ces résultats corroborent parfaitement les observations macroscopiques.

#### 2.3. Tolérance locale

25 Lors des examens macroscopiques, aucun signe d'intolérance n'a été enregistré tout au long de l'essai.

Toutefois, à l'examen histologique, il a été noté, chez une souris du groupe témoin  $\oplus$  et une souris du groupe CD 1 une parakératose en surface, 30 avec une accumulation de polynucléaires. Il a également été constaté une hyperacanthose importante avec une parakératose chez deux animaux traités par le produit de référence. Un de ces deux animaux présentait, de surcroît, un effacement des plis et des anneaux cutanés.

### 3. Conclusions

La présente étude a eu pour objectif d'apprécier chez la souris pigmentée l'efficacité de deux nouvelles crèmes dépigmentantes référencées CD 1 et CD 2 comparativement à un témoin + constitué 5 d'hydroquinone à 5% et à une crème de référence prélevée sur le marché.

D'un point de vue macroscopique, la crème CD 1 a présenté la meilleure efficacité dépigmentante devant le témoin +, le produit de référence et la crème CD 2.

Par ailleurs, sur le plan histologique, la crème CD 1 s'est avérée 10 aussi active que le témoin + et significativement supérieure à la crème CD 2 et au produit de référence.

Au vu de ces résultats, on peut considérer que la crème CD 1 est dotée 15 d'une activité dépigmentante au moins équivalente à celle du témoin + et, en tout cas, supérieure à l'autre formulation testée (CD 2) et au produit de référence.

Il est à noter que la tolérance de la crème CD 1 est en outre apparue bonne puisqu'aucune lésion cutanée importante n'a été enregistrée après 12 semaines d'applications.

## 20 Exemple 6 : Etude chez l'homme

### 1. Critères de sélection

#### Critères d'inclusion

25 Patients âgés de 18 à 75 ans, porteurs de cloasma, de lentigo sénile, de taches pigmentaires acquises au visage ou à d'autres parties découvertes.

#### Critères d'exclusion

30

- taches pigmentées congénitales
- exposition solaire concomitante
- exposition sous appareil UV
- prise de médicaments photosensibilisants, tels que : tétracycline, 35 phénothiazines.

**Modalité du traitement**

Placébo CMP versus crème CD1-MS1, avec une même répartition (9 patients dans chaque groupe), même tube.

5 Deux applications par jour sur les taches pendant 60 jours. Le rythme des examens a été J0, J21, J45, J60.

Les critères d'évaluation ont été basés sur des observations cliniques et avis du patient et sur un suivi médical avec avis de l'investigateur.

**10 Evaluation de l'efficacité**

Contrôles au moyen d'une échelle analogique graduée comme suit :

**Cotation à J0 (état de base)**

15 6 = +++++ = très forte pigmentation  
5 = +++++ = forte pigmentation  
4 = +++ = pigmentation moyenne  
3 = ++ = pigmentation faible  
2 = + = très faible pigmentation  
20 1 = ± = pigmentation à peine visible  
0 = 0 = pigmentation nulle

**Cotation à J21, J45, J60**

6 = dépigmentation nulle  
5 = dépigmentation incertaine  
4 = dépigmentation moyenne  
3 = dépigmentation bonne  
2 = dépigmentation très bonne  
1 = dépigmentation excellente  
0 = dépigmentation excellente sans aucune tache visible

**Evaluation de la tolérance**

25 Contrôles au moyen de feuilles d'observations cliniques sur certains phénomènes (irritation, rougeurs, brûlures, picotements, desquamation, allergies).

30 0 = tolérance excellente  
1 = tolérance bonne  
2 = tolérance faible  
3 = tolérance mauvaise

### Expression des résultats et analyses statistiques

Les cotations enregistrées pour l'efficacité à chaque examen ont été analysées globalement au moyen du test non paramétrique de Wilcoxon.

#### 5 2. Résultats

##### Analyse de l'efficacité du traitement

Les résultats chiffrés de l'évaluation de l'intensité de la dépigmentation sont consignés dans le tableau ci-dessous. L'examen de 10 celui-ci montre que l'effet dépigmentant se manifeste, de façon nette, au bout de 21 jours de traitement. On observe ensuite une augmentation de l'intensité de la dépigmentation jusqu'au 45ème jour. C'est à partir de ce moment que les effets dépigmentants apparaissent le plus significatif par rapport à J0 ( $p \leq 0,01$ ).

Tableau 1 : Evaluation de la dépigmentation chez les patients traités par la crème CD1-MS1

Pathologie	: Patient n° :	Jours de traitement		
Dyschromic du cou	: 1	: 4	: 3	: 1
Dyschromie du visage	: 2	: 6	: 3	: 2
Dyschromie résiduelle des jambes	: 3	: 5	: 4	: 3
Chloasma de la grossesse	: 4	: 3	: 1	: -
Dyschromie du visage	: 5	: 3	: 2	: 0
Dyschromie bilatérale des pieds	: 6	: 4	: 3	: 1
Dyschromie généralisée de type Addison	: 7	: 4	: 2	: 1
Séquelles dyschromiques de zona ophtalmique	: 8	: 3	: 1	: -
Dyschromie secondaire à un pityriasis (rose de Gilbert)	: 9	: 3	: 1	: 0
Médiane	: 4,0	: 2,0**	: 1,0**	

Test de Wilcoxon par rapport à J0

p 0,05  
p 0,01  
p 0,001  
\* \* \*

D'une façon générale, la majorité des patients ne sont pas revenus à la dernière consultation (J = 60 jours), car dans tous les cas, les lésions initiales avaient quasiment disparues dès le 45ème jour du traitement.

Dans le groupe placebo, tous les patients ont interrompu leur 5 traitement dès les premiers jours de traitement par manque total d'efficacité. La grande différence d'efficacité entre le groupe traité et le groupe placebo a eu pour conséquence de lever le double aveugle par la connaissance quasi-immédiate du groupe actif et du groupe placebo.

#### 10 Analyse de la tolérance locale

Les résultats de la tolérance du traitement au niveau de la zone d'application ainsi obtenus ont été dans l'ensemble excellents. L'absence 15 d'irritation, de rougeur, de picotements, d'allergie, de douleur, du brûlure et de desquamation durant toute la durée du traitement atteste de la très bonne tolérance à long terme de la crème Bruni clear ®.

#### LEGENDE DES FIGURES

##### 20 Figure 1

Les astérisques indiquent les différences statistiquement significatives. Chaque point correspond à la moyenne des cotations individuelles pour 6 animaux.

##### 25 Figure 2

Les subdivisions à l'intérieur de chaque barre représentent les proportions de crêtes cutanées de pigmentation différente.

##### 30 Figure 3

Chaque barre représente la moyenne des valeurs individuelles affectée de l'écart type pour 6 animaux.

REVENDICATIONS

1. Composition dermo-cosmétique, caractérisée en ce qu'elle  
5 contient à titre de principe actif une association à activité dépigmentante :  
- (a) d'un mélange acide comprenant (i) au moins un acide  $\alpha$ -hydroxylé  
ou un de ses dérivés, à l'exclusion de l'acide ascorbique,

10 (ii) au moins un composé choisi  
dans le groupe comprenant : acide kojique, acide caféique, acide azélaïque,  
acide aminobutyrique, acide fusarique, 5-hydroxy 2-hydroxyméthyl- $\gamma$ -  
pyridone, et leurs dérivés ;

15 - (b) d'au moins un composant actif d'un extrait végétal d'au moins une  
plante choisie parmi : murier blanc, réglisse, scutellaria, pamplemousse,  
bouleau, bruyère, arbousier, busserole, citron, laitue, laminaire,  
concombre, ginseng, houblon, maïs, matricaire, sauge, soja, sureau,  
spiruline, tilleul, aloe ferox, yukinoshita, sanguisorba, hoelen, rose fruit,  
 $\alpha$ -orizanol, burnet, gingko biloba, tanlex VB, eclipsa Alba,  
à la condition que lorsque la composition contient de l'acide kojique et un  
20 extrait de réglisse, elle contient au moins un autre composant d'extrait  
végétal.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que  
l'acide  $\alpha$ -hydroxylé est choisi dans le groupe comprenant : acide malique,  
acide citrique, acide lactique et acide glycolique et leurs sels.

3. Composition selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en  
25 ce que la concentration en acide  $\alpha$ -hydroxylé est comprise entre 0,1 et 45%  
par rapport au poids total de la composition.

4. Composition selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en  
ce que le composant actif d'un extrait végétal est obtenu par une étape  
d'extraction en milieu hydroalcoolique à partir des tiges, des feuilles et/ou  
30 des racines de plantes.

5. Composition selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en  
ce que le mélange acide constitue 0,1 à 99% en poids du principe actif.

6. Composition selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en  
ce que le rapport en poids entre le mélange acide et les composants actifs  
35 d'un extrait végétal est compris entre 50/50 et 70/30.

7. Composition selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que le mélange acide, pour sa partie (ii) est constitué d'un produit choisi parmi l'acide kojique, l'acide caféïque, la 5- hydroxy 2-hydroxyméthyl- $\gamma$ -pyridone, leurs sels et/ou leurs mélanges.

5 8. Composition selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce qu'elle contient en outre au moins un composé choisi parmi les céramides, les macromolécules vectorisantes.

10 9. Composition selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le mélange acide est au moins partiellement greffé sur des sucroesters.

10 10. Composition selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce qu'elle a la formule suivante :

Acide kojique de 1 à 15%

Acide glycolique de 20 à 30%

15 et de 20 à 35% d'extraits végétaux provenant de Tanlex VB, Yukinoshita, Naringine, Sohakuhi Bg, Murier blanc, Citron Bg,  
et le complément en excipient acceptable pour cette composition.

11. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 10, pour la préparation d'un médicament utile pour le traitement des 20 hyperpigmentations.

12. Utilisation d'une composition selon la revendication 11, caractérisée en ce que le médicament est utile pour le traitement des éphélides, lentigines, lentigo, mélasma et des dermatoses pigmentées dues au soleil.

25 13. Méthode de traitement cosmétique pour améliorer l'aspect des peaux présentant une pigmentation irrégulière, caractérisée en ce qu'on applique localement une composition selon l'une des revendications 1 à 10.

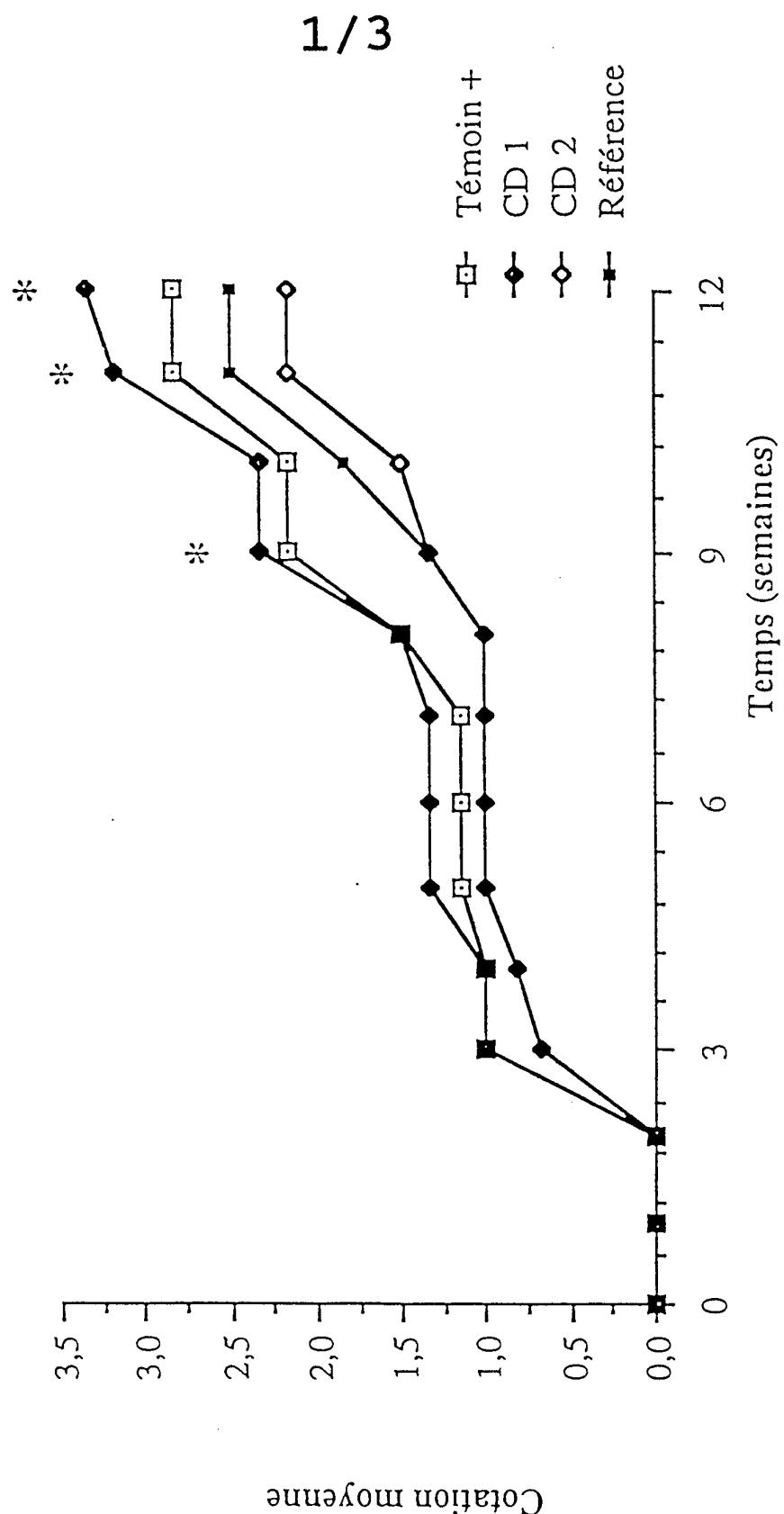


FIG. 1

2 / 3

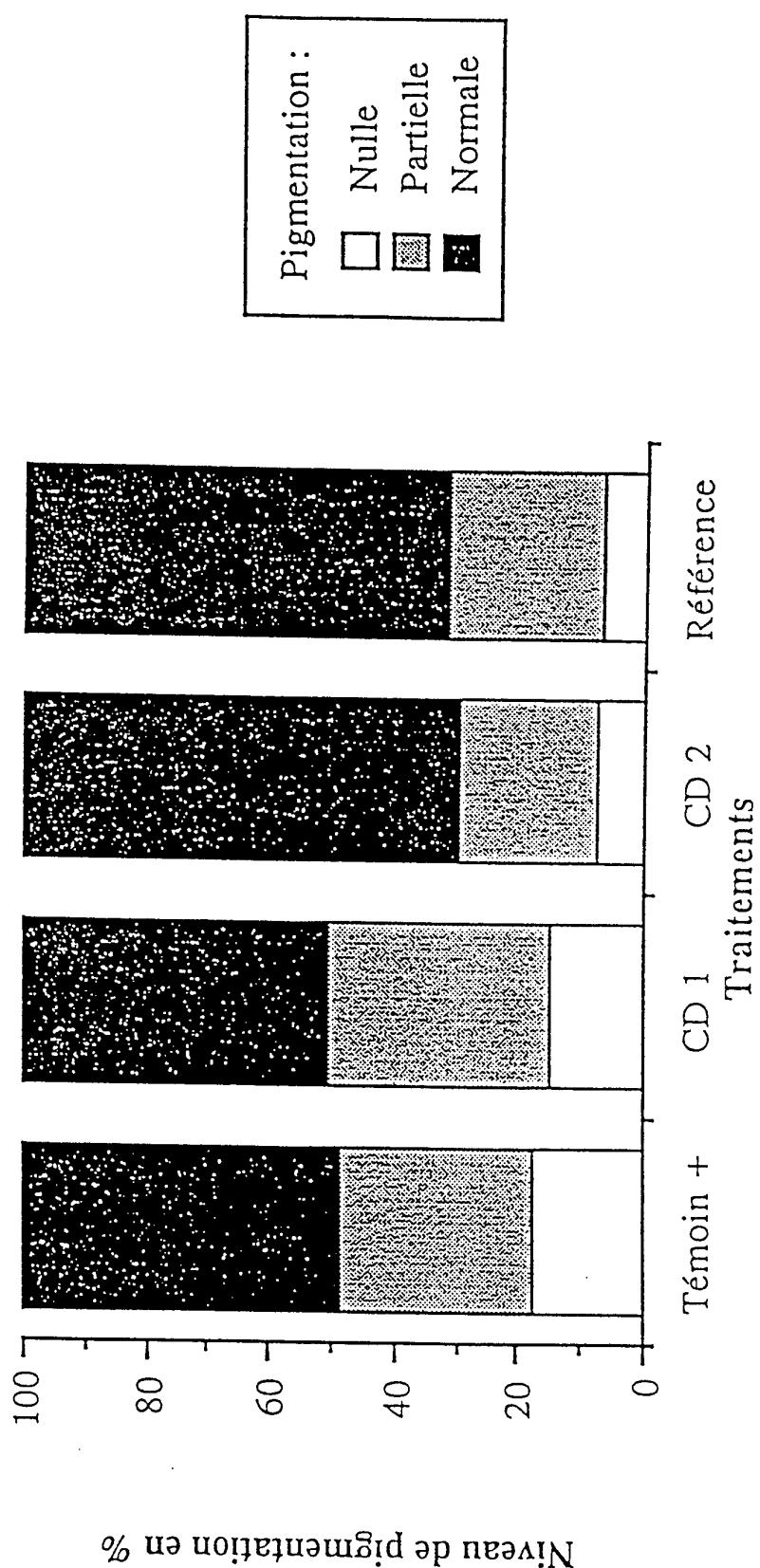
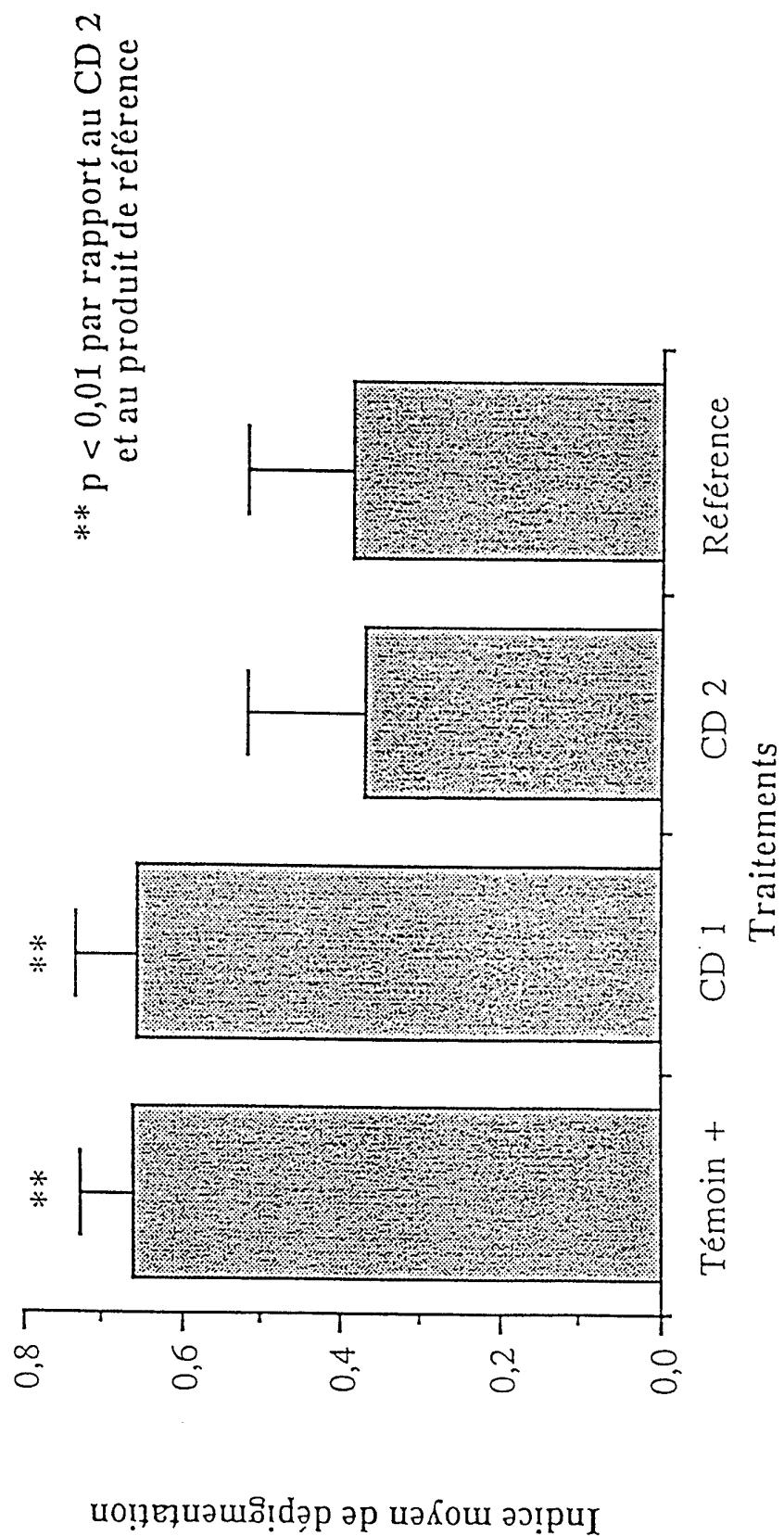


FIG. 2

3/3



Indice moyen de dépigmentation

FIG. 3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No  
PCT/FR 96/01051

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 6 A61K7/48

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 A61K

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,P	GB,A,2 287 405 (FISCHER PHARMACEUTICALS LTD) 20 September 1995 see claims 1-10 see page 3, line 1 - line 11 see page 12; example 7 see page 14; example 10 ---	1-13
A	GB,A,2 259 014 (FISCHER PHARMACEUTICAL LTD) 3 March 1993 see claims 1-4,6-8,10,11 see examples 17,18 ---	1-13 -/-

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

24 October 1996

Date of mailing of the international search report

12.11.96

Name and mailing address of the ISA

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

Authorized officer

Siatou, E

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In international Application No  
PCT/FR 96/01051

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DATABASE WPI Week 9518 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 95-136783 XP002016758 & JP,A,07 061 915 (SANSEI SEIYAKU KK) , 7 March 1995 see abstract ---	1-5,7, 11-13
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 14, no. 180 (C-708) [4123] & JP,A,02 028105 (KAWAKEN FINE CHEM CO LTD), 30 January 1990, see abstract ---	1-5,7, 11-13
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 14, no. 208 (C-714) [4151] , 27 April 1990 & JP,A,02 045408 (KANSAI PAINT CO LTD), 15 February 1990, see abstract ---	1-13
A	EP,A,0 296 923 (MOET-HENNESSY RECHERCHE) 28 December 1988 see claims 1-15 ---	1-13
A	WO,A,91 05543 (L'OREAL) 2 May 1991 see claims 1-5,7,10-12,14,16-19 -----	1-13

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

Int. Application No

PCT/FR 96/01051

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
GB-A-2287405	20-09-95	DE-A- 19509434 FR-A- 2717386		21-09-95 22-09-95
GB-A-2259014	03-03-93	AU-B- 654030 AU-A- 2122092 CA-A- 2076467 DE-A- 4227806 ES-A- 2050074 FR-A- 2680466 PT-A- 100800		20-10-94 25-02-93 24-02-93 25-02-93 01-05-94 26-02-93 28-02-94
EP-A-296923	28-12-88	FR-A- 2616328 DE-A- 3874428 ES-T- 2052755 WO-A- 8809654 JP-T- 3501843 US-A- 5164182		16-12-88 15-10-92 16-07-94 15-12-88 25-04-91 17-11-92
WO-A-9105543	02-05-91	FR-A- 2653336 AU-B- 638768 AU-A- 6628890 BE-A- 1003833 CA-A- 2044269 CH-A- 682129 EP-A- 0450040 ES-A- 2085192 GB-A,B 2244005 IT-B- 1251741 JP-T- 4502476 US-A- 5164185		26-04-91 08-07-93 16-05-91 23-06-92 21-04-91 30-07-93 09-10-91 16-05-96 20-11-91 23-05-95 07-05-92 17-11-92

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document internationale No  
PCT/FR 96/01051

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 A61K7/48

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 A61K

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, P	GB,A,2 287 405 (FISCHER PHARMACEUTICALS LTD) 20 Septembre 1995 voir revendications 1-10 voir page 3, ligne 1 - ligne 11 voir page 12; exemple 7 voir page 14; exemple 10 ---	1-13
A	GB,A,2 259 014 (FISCHER PHARMACEUTICAL LTD) 3 Mars 1993 voir revendications 1-4,6-8,10,11 voir exemples 17,18 ---	1-13

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

24 Octobre 1996

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

12.11.96

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

Siatou, E

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

De.	Re Internationale No
PCT/FR 96/01051	

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	DATABASE WPI Week 9518 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 95-136783 XP002016758 & JP,A,07 061 915 (SANSEI SEIYAKU KK) , 7 Mars 1995 voir abrégé ---	1-5,7, 11-13
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 14, no. 180 (C-708) [4123] & JP,A,02 028105 (KAWAKEN FINE CHEM CO LTD), 30 Janvier 1990, voir abrégé ---	1-5,7, 11-13
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 14, no. 208 (C-714) [4151] , 27 Avril 1990 & JP,A,02 045408 (KANSAI PAINT CO LTD), 15 Février 1990, voir abrégé ---	1-13
A	EP,A,0 296 923 (MOET-HENNESSY RECHERCHE) 28 Décembre 1988 voir revendications 1-15 ---	1-13
A	WO,A,91 05543 (L'OREAL) 2 Mai 1991 voir revendications 1-5,7,10-12,14,16-19 -----	1-13

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Document Internationale No

PCT/FR 96/01051

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
GB-A-2287405	20-09-95	DE-A- 19509434 FR-A- 2717386		21-09-95 22-09-95
GB-A-2259014	03-03-93	AU-B- 654030 AU-A- 2122092 CA-A- 2076467 DE-A- 4227806 ES-A- 2050074 FR-A- 2680466 PT-A- 100800		20-10-94 25-02-93 24-02-93 25-02-93 01-05-94 26-02-93 28-02-94
EP-A-296923	28-12-88	FR-A- 2616328 DE-A- 3874428 ES-T- 2052755 WO-A- 8809654 JP-T- 3501843 US-A- 5164182		16-12-88 15-10-92 16-07-94 15-12-88 25-04-91 17-11-92
WO-A-9105543	02-05-91	FR-A- 2653336 AU-B- 638768 AU-A- 6628890 BE-A- 1003833 CA-A- 2044269 CH-A- 682129 EP-A- 0450040 ES-A- 2085192 GB-A, B 2244005 IT-B- 1251741 JP-T- 4502476 US-A- 5164185		26-04-91 08-07-93 16-05-91 23-06-92 21-04-91 30-07-93 09-10-91 16-05-96 20-11-91 23-05-95 07-05-92 17-11-92