

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
17 janvier 2002 (17.01.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/03960 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : A61K 9/16

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR01/02159

(22) Date de dépôt international : 5 juillet 2001 (05.07.2001)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

00/08902

7 juillet 2000 (07.07.2000)

FR

(71) Déposants et

(72) Inventeurs : MAINCENT, Philippe [FR/FR]; 12, rue de Nomeny, F-54000 Nancy (FR). UBRICH, Nathalie [FR/FR]; 7, rue Saint-Lambert, F-54000 Nancy (FR). VI-GNERON, Claude [FR/FR]; 12, rue Jacquinot, F-54000 Nancy (FR).

(74) Mandataires : MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17 (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, 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, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasiatique (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, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.



WO 02/03960 A1

(54) Title: PARTICULATE VECTORS FOR IMPROVING ORAL ABSORPTION OF ACTIVE PRINCIPLES

(54) Titre : VECTEURS PARTICULAIRES DESTINÉS À AMÉLIORER L'ABSORPTION ORALE DE PRINCIPES ACTIFS

(57) Abstract: The invention concerns particulate vectors designed to improve oral absorption of active principles, characterised in that they consist of a polymeric matrix comprising at least a biodegradable polymer associated with at least a polycationic polymer.

(57) Abrégé : Vecteurs particuliers destinés à améliorer l'absorption orale de principes actifs, caractérisés en ce qu'ils sont formés d'une matrice polymérique comprenant au moins un polymère biodégradable associé à au moins un polymère polycationique.

Vecteurs particuliers destinés à améliorer l'absorption orale de principes actifs.

La présente invention concerne des vecteurs particuliers destinés à augmenter l'absorption des principes actifs après administration par voie orale chez l'homme ou l'animal.

Il est actuellement admis que la plupart des principes actifs qui seront utilisés dans les 30 prochaines années n'ont pas encore été découverts. De plus les études prospectives s'accordent pour penser que la majorité de ces futurs principes actifs, issus des techniques de génie biologique, seront des peptides et/ou des protéines. Ces nouvelles drogues seront extrêmement actives avec des doses efficaces qui seront de l'ordre du microgramme ou moins. Quelques drogues, principalement des peptides, sont déjà sur le marché nord américain ou européen (analogues de la LH/RH, hormone de croissance, streptokinase, anticorps...). Plus d'une centaine de peptides et de protéines sont actuellement en cours d'essais cliniques chez l'homme.

Les peptides et les protéines, actuellement sur le marché, présentent un certain nombre d'inconvénients qui limitent leur emploi chez l'homme :

- la seule voie d'administration est la voie parentérale (intraveineuse, sous cutanée, intramusculaire) et
- leur demi-vie d'élimination dans l'organisme est brève, ce qui exige des administrations multiples.

Il n'existe pas actuellement de formes pharmaceutiques permettant l'administration orale des protéines et des peptides alors que des formes multiparticulaires, destinées à la voie parentérale sont présentes sur le marché depuis plusieurs années (Enantone® des laboratoires Takeda, Sandostatine® des laboratoires Novartis).

L'absence de formes destinées à la voie orale s'explique par la sensibilité des peptides et protéines aux sucs digestifs qui dégradent les médicaments protéiques de la même façon que les protéines alimentaires; il en résulte une absence pratiquement totale d'absorption due à la destruction initiale. La

voie orale étant la voie la plus commune et la plus facilement acceptée chez l'homme, la mise au point d'une forme permettant de protéger les peptides et les protéines de l'inactivation par les sucs digestifs tout en permettant l'absorption gastro-intestinale représenterait une avancée thérapeutique majeure en ce début de siècle.

C'est en raison de cette inactivation par les enzymes protéolytiques du tractus gastro-intestinal que l'insuline, un peptide de 51 acides aminés, est administrée depuis presque 80 ans par voie parentérale. Certains essais d'amélioration de l'absorption des peptides et des protéines par voie orale ont été effectués. Plusieurs travaux de la littérature citent par exemple une augmentation de l'absorption de l'insuline par voie orale quand cette dernière est incorporée dans des nanocapsules de poly(isobutyrcyanoacrylate) (MICHEL C., et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, (1991), 1-5 ; DAMGE C., et al. *Diabetes*, **37**, (1988), 246-251). Ces nanocapsules ont une structure vésiculaire correspondant à des nanogouttelettes d'huile entourée par une très fine membrane du polymère. Cependant le polymère choisi est connu pour son caractère toxique au niveau cellulaire ce qui ne peut permettre d'envisager une administration répétée pendant plusieurs années. De même, la présence d'huile dans le cœur des nanocapsules poserait, au long terme, des problèmes de toxicité au niveau des sites d'administration qui ne permettent pas d'envisager la mise sur le marché de nanocapsules d'insuline. D'autre part, l'effet hypoglycémiant n'est observé qu'au bout de 2 jours probablement dû à un franchissement très limité des particules à travers la muqueuse intestinale et une libération lente de l'insuline. Des nanoparticules d'insuline préparées avec le même polymère (polyalkylcyanoacrylate) et administrées par voie orale n'ont montré aucune activité hypoglycémiant (COUVREUR P. *et al.*, *Acta Pharm. Technol.*, **26**, (1980), 220-222).

De même, l'administration par voie orale de la ciclosporine est erratique et éminemment variable malgré la mise au point d'une forme pharmaceutique microémulsion (Neoral®, des laboratoires Novartis). La mise au point de

nanoparticules de ciclosporine n'a actuellement pas permis d'augmenter la biodisponibilité orale de ce principe actif qui reste limitée à moins de 5% (FORD J., *et al.* Int. J. Pharm., **183**, (1999), 3-6).

5 L'héparine est utilisée depuis une cinquantaine d'années dans la prévention et le traitement de la maladie thromboembolique, mais présente l'inconvénient d'être particulièrement hémorragique et de nécessiter une stricte surveillance biologique et clinique. En dehors d'anomalies fonctionnelles de l'hémostase qui entraînent un état d'hypercoagulabilité (déficit congénital ou acquis en anti-thrombine III, cofacteur II, protéines C
10 et S), on note différents facteurs de risque de la maladie thromboembolique définie comme un ensemble de troubles de l'hémostase conduisant à la formation de caillot de fibrine ou de clous plaquettaires dans la lumière d'un vaisseau sanguin.

15 Ces facteurs de risque liés au patient sont :

- l'âge : la maladie atteint plus de 50% des sujets âgés de plus de 40 ans
- le sexe : fréquence de la maladie plus élevée chez la femme de moins de 40 ans, et surtout pendant la grossesse
- 20 • l'obésité
- la prise d'oestroprogestatifs
- le tabagisme
- l'hypertension artérielle
- le diabète
- 25 • l'hypercholestérolémie
- l'alitement qui favorise la stase
- les varices
- l'insuffisance cardiaque
- l'intervention chirurgicale : la fréquence de la maladie augmente en
30 situation post-chirurgicale.

L'héparine est un mucopolysaccharide anionique sulfaté naturel constitué d'unités osidiques de D glucosamines et d'acides glucuroniques ou iduroniques, synthétisé par les mastocytes et extrait industriellement du poumon de boeuf ou de l'intestin de porc. Glucosamines et acides uroniques pouvant être substitués par des groupements sulfates ou acétyls déterminent ainsi une dizaine d'unités osidiques différentes. Ces différents motifs se répartissent de manière très cohérente, définissant trois régions intramoléculaires dont l'une d'entre elles est une structure pentasaccharidique, site d'action entre l'héparine et l'antithrombine III. En se liant à l'antithrombine III, l'héparine catalyse l'inactivation de plusieurs facteurs de coagulation, la thrombine et le facteur Xa en particulier. Il en résulte un allongement du temps de coagulation mesuré par le temps de céphaline activée. L'héparine est en fait une substance très hétérogène puisqu'elle comprend une mosaïque de molécules à chaîne saccharidique de poids moléculaire compris entre 2 500 et 40 000 daltons. Les chaînes polysaccharidiques de l'héparine naturelle peuvent être fractionnées par divers procédés (chromatographie, hydrolyse chimique et enzymatique), permettant d'obtenir des héparines de bas poids moléculaire (HBPM) dotées de propriétés originales qui les distinguent de l'héparine non fractionnée. Pour le praticien, les propriétés les plus importantes sont une demi-vie environ deux fois plus longue, un effet anticoagulant faible ou absent, une plus grande facilité d'administration par voie sous-cutanée, une meilleure tolérance locale, un faible pouvoir hémorragique et une pharmacocinétique plus longue.

L'administration de l'héparine se fait actuellement par voie parentérale, soit par voie intraveineuse ou sous-cutanée. Ce type d'administration est cependant contraignant et peut poser des problèmes d'observance pour les patients. De plus, une fois injectée par voie intraveineuse, l'héparine est

rapidement éliminée de la circulation sanguine, et une dose importante doit être administrée à intervalles réguliers pour obtenir une action anticoagulante efficace, ce qui est souvent accompagné de saignements anormaux ou de complications telle qu'une thrombopénie.

5

Aussi, la possibilité d'administrer l'héparine par voie orale aurait en effet un impact important dans bon nombre de cas cliniques du domaine cardio-vasculaire.

10 Or, de par sa structure, l'héparine apparaît comme une molécule de haut poids moléculaire et comportant une forte densité de charges. Elle ne peut donc pas franchir aisément la barrière digestive après administration par voie orale.

15 Aussi, l'héparine administrée par voie orale n'est pas absorbée au niveau du tractus gastro-intestinal, et perd son activité anticoagulante en milieu acide (Morton et *al.*, Int. J. Pharm., **9**, (1981), 321-335, Doutremepuich et *al.*, Seminars in Thrombosis and Hemostasis, **11** (3), (1985), 323-325). La stratégie utilisée a alors consisté à combler le manque d'absorption/activité
20 anticoagulante par une augmentation importante de la dose administrée.

Ainsi, des études antérieures ont mis en évidence qu'après administration orale chez l'homme d'une grande quantité d'héparine en solution (40 000 UI, soit entre 10 et 17 fois la dose classiquement administrée par voie
25 intraveineuse toutes les deux heures), seule une faible quantité est absorbée au niveau digestif et distribuée dans le sang. De plus, l'activité

anticoagulante mesurée par le test du temps de céphaline activée (TCA) est très faible (Baughman et *al.*, *Circulation*, **16**, (1998), 1610-1615). De même chez l'homme, après administration par voie orale d'héparine de bas poids moléculaire (HBPM), aucune activité n'a été observée dans le plasma (Dryjski et *al.*, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **2**, (1989), 188-192).

De nombreuses modifications chimiques de l'héparine et la préparation de différentes formulations ont été envisagées pour améliorer la biodisponibilité de l'héparine après administration par voie orale.

Dans un premier temps, des essais ont consisté à étudier des modifications de la structure de l'héparine (héparines de source différente, plus ou moins fragmentées, jusqu'à l'apparition des héparines de bas poids moléculaire).

Des solutions ont été préparées en complexant l'héparine avec des adjuvants tels que la lysine, la spermine ou la glycine, de façon à diminuer l'ionisation de l'héparine. Après administration orale, ces solutions ont montré une faible absorption de l'héparine (Tidball et *al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**, (1962), 713-715).

Des solutions de sels acides de l'héparine ont également été préparées en associant à l'héparine des sels de sodium de l'acide éthylène diaminetétraacétique ou des sels biliaires (Morton et *al.*, *Int. J. Pharm.*, **9**, (1981), 321-335).

Des émulsions huile dans eau (H/E) ou des solutions micellaires de sels de monooléine destinés à augmenter l'absorption de l'héparine ont également été envisagées (Taniguchi et *al.*, *Int. J. Pharm.*, **4**, (1980), 219-228).

Des solutions de propylène glycol contenant de l'héparine et des composés dérivés de la N-acylation de l'acide aminé aromatique, l'acide 4-aminophénylbutyrique, ont démontré une amélioration de l'absorption gastrointestinale et de la biodisponibilité de l'héparine après administration

orale à des rats et des singes (Leone-Bay et *al.*, *J. Controlled Red.*, **50**, (1998), 41-49).

Bien que ces différentes solutions d'héparine (Tidball et *al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**, (1962), 713-715, Morton et *al.*, *Int. J. Pharm.*, **9**, (1981), 321-335, Taniguchi et *al.*, *Int. J. Pharm.*, **4**, (1980), 219-228 et Leone-Bay et *al.*, *J. Controlled Red.*, **50**, (1998), 41-49) aient permis, pour la plupart, d'améliorer l'absorption gastro-intestinale de l'héparine, l'effet anticoagulant observé est beaucoup plus faible et de durée inférieure à celui obtenu après administration par voie sous-cutanée pour des posologies très largement supérieures. De plus, le statut toxicopharmacologique des promoteurs d'absorption et des excipients utilisés compromet le succès de ces formulations.

Des gélules gastrorésistantes d'héparine ont été administrées à des lapins et une faible activité anti-Xa plasmatique (0,15 UI/ml) est observée entre la 2^e et la 4^e heure. Cependant, là encore, des doses très importantes d'héparine (15 000 UI anti-Xa/kg) sont administrées (Doutremepuich et *al.*, *Thérapie*, **39**, (1984), 147-152).

D'autres travaux ont consisté à chercher à optimiser l'absorption de l'héparine, et de ce fait, l'effet thérapeutique recherché. Cette nouvelle étape a été marquée par la fabrication de systèmes d'administration des médicaments, tels que les liposomes et les microparticules, qui ont permis d'envisager d'encapsuler l'héparine. Ces techniques d'encapsulation utilisées pour les enzymes, les médicaments et les hormones font que ces molécules restent plus longtemps dans la circulation sanguine que lorsqu'elles sont sous forme libre, du fait de leur relargage progressif à partir des systèmes polymériques et à la protection que ces derniers leur confèrent vis-à-vis de la

dégradation enzymatique (Couvreur et *al.*, Drug Del. Rev., **10**, (1993), 141-162.

Des liposomes ont également été préparés et administrés à des chiens ; une
5 absorption intestinale du principe actif a été observée, mais une faible
activité biologique a été détectée alors que des doses toujours extrêmement
importantes d'héparine étaient administrées (500 000 UI) (Ueno et *al.*,
Chem. Pharm. Bull., **30** (6), (1982), 2245-2247).

10 Enfin, des microsphères composées d'acides aminés condensés
thermiquement ont aussi été développées (Santiago et *al.*, Proceed. Intern.
Symp. Control. Rel. Mater., **19**, (1992), 514-515 et Santiago et *al.*, Proceed.
Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., **20**, (1993), 300-301). Dans ce
dernier cas la particule obtenue, dont la taille est comprise entre 0,5 et 10
15 μm , est appelée protéinoïde. Leur administration orale à des rats et des
singes a permis de conclure à une absorption de l'héparine au niveau
intestinal; ces résultats prometteurs se heurtent cependant à trois obstacles
importants. Tout d'abord, l'activité biologique de l'héparine ne se manifeste
qu'au maximum pendant 90 minutes. De plus, l'activité biologique a été
20 obtenue chez le rat pour des doses plus de 10 fois supérieures à celles
utilisées chez l'homme par voie parentérale. Enfin, les très nombreuses
recherches actuelles d'immunisation par voie orale reposent sur le
phénomène de capture, par les plaques de Peyer, de microparticules
chargées en antigènes et dont la taille est comprise entre 1 et 10 μm . Dans
25 ces conditions, les protéinoïdes utilisés pourraient induire un phénomène
immunoallergique compromettant l'administration répétée de ces particules.

Les systèmes polymériques ont fait également l'objet de nombreuses études.
Ainsi, Yang et *al.*, (J. Control. Rel., **60**, (1999), 269-277) ont préparé des
30 microparticules d'héparine à base uniquement de polymères d'acide lactique

et d'acide glycolique (PLGA) dans le but d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses des vaisseaux sanguins lors d'une étude in vitro (Yang et *al.*, J. Control. Rel., **60**, (1999), 269-277). Les microparticules, fabriquées par une technique de nébulisation (*spray-drying*), ont une taille très faible
5 (entre 3 et 9 μm). La libération de l'héparine in vitro est très lente (entre 10 et 40 jours), ce qui est incompatible avec une administration orale pour laquelle le temps de transit est de l'ordre de 24 à 48 h.

Toutefois, tous ces essais utilisent des doses très importantes d'héparine par
10 rapport à ce qui est classiquement utilisé chez l'homme en thérapeutique. Aussi existe-t-il encore un besoin de mettre à la disposition des patients, un système d'administration qui augmente l'absorption des principes actifs, notamment de l'héparine, après administration orale et permet d'administrer lesdits principes actifs à des concentrations moins élevées diminuant ainsi les
15 effets secondaires néfastes.

Or, les inventeurs ont montré de manière surprenante, et inattendue au regard de la perméation de grosses molécules à travers la barrière gastrointestinale, que des vecteurs particuliers comprenant une matrice
20 polymérique à base d'un mélange de polymère biodégradable non entérique et d'un polymère polycationique non entérique permettent d'administrer par voie orale des quantités de principes actifs, notamment d'héparine proches de celles classiquement utilisées par voie parentérale.

25 Aussi, la présente invention a pour objet des vecteurs particuliers destinés à améliorer l'absorption orale de principes actifs, formés d'une matrice polymérique comprenant au moins un polymère biodégradable associé à au moins un polymère polycationique.

Au sens de la présente invention, les polymères biodégradables et les polymères polycationiques peuvent être gastro-résistants (entériques) ou non.

Dans un autre mode particulier de réalisation de l'invention, la matrice polymérique est telle que le pourcentage du polymère polycationique varie
5 entre 1 et 99% par rapport au polymère biodégradable.

Dans un autre mode particulier de réalisation de l'invention le polymère biodégradable et le polymère polycationique sont présents en quantité
10 équivalente.

Avantageusement, le polymère biodégradable non entérique est choisi dans le groupe constitué par les polyesters, notamment les polymères de l'acide lactique, les copolymères de l'acide lactique et de l'acide glycolique (PLGA),
15 la poly- ϵ -caprolactone (PCL), les polyanhydrides, les poly(amides), les poly(uréthanes), les poly(carbonates), les poly(acétals), les poly(orthoesters), et les polymères naturels (collagène, polysaccharides...).

Avantageusement, le polymère polycationique est choisi dans le groupe
20 constitué par les dérivés de la cellulose, les copolymères d'esters des acides acryliques et méthacrylique commercialisés par le firme Rhöm GmbH sous le nom d'Eudragit® et plus particulièrement les polyesters de l'acide méthacrylique avec une faible proportion de chlorure de triméthylammonioéthyle méthacrylate (Eudragit® RS) ou une proportion plus
25 importante de chlorure de triméthylammonioéthyle méthacrylate (Eudragit® RL), le chitosane et ses dérivés et la polylysine.

Dans un mode particulièrement avantageux de l'invention, le polymère biodégradable est soit PCL, soit PLGA le poids moléculaire desdits polymères
30 étant compris entre 2 000 et 100 000.

Dans un mode particulier de réalisation selon l'invention, les vecteurs particulières se présentent soit sous forme de nanoparticules dont le diamètre est compris entre 50 et 1000 nm, de préférence entre 200 et 400 nm, soit sous forme de microparticules dont le diamètre est compris entre 1 et 1000 μm , de préférence entre 50 et 200 μm .

Selon l'invention, la matrice polymérique peut comprendre en outre une ou plusieurs substances choisies dans le groupe comprenant les polymères entériques, les agents tensioactifs et les substances hydrosolubles ou liposolubles.

Dans un mode particulier de réalisation de l'invention, le principe actif est choisi dans le groupe constitué par l'héparine et les produits apparentés, les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) et les produits apparentés, les peptides et les protéines, notamment l'insuline, la ciclosporine, les oligonucléotides antisens, l'ADN et l'hormone de croissance.

Dans un autre mode particulier de réalisation de l'invention, le vecteur particulière permettant d'injecter l'héparine standard à une dose comprises entre 2 000 UI et 20 000 UI/jour et l'HBPM à une dose comprise entre 600 UI et 4 200 UI/jour.

La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique qui contient un vecteur particulière tel que décrit précédemment en association avec tout excipient pharmaceutiquement acceptable.

Les compositions peuvent être utilisées une ou plusieurs fois par jour, sous toutes les formes adaptées à l'administration orale, notamment sous forme de gélules, de comprimés, de granulés, de sachets ou de lyophilisat.

- 5 Les compositions selon l'invention permettent d'administrer les principes actifs à des doses équivalentes à environ 1 à 10 fois la dose utilisée par voie parentérale. De tels vecteurs permettent de supprimer les inconvénients de la voie parentérale (stérilisation du médicament, douleur au point d'injection, angoisse du patient, risque d'infection, nombre de points d'injection limité).
- 10 Ils évitent en outre, comme c'est souvent le cas par voie orale, d'administrer des doses très importantes de principes actifs puisque les principes actifs sont utilisés à une dose équivalente à celle utilisée classiquement par voie intraveineuse ou très légèrement supérieure, au maximum 10 fois, de préférence 1 à 3 fois la dite dose.
- 15 D'autre part, l'emploi de polymères considérés comme biocompatibles (biodégradables et/ou non biodégradables) est une garantie de l'absence de toxicité desdites particules.
- 20 De façon inattendue, les vecteurs particuliers selon l'invention permettent en outre d'obtenir une action plus prolongée que l'administration d'une dose similaire en solution administrée par voie intraveineuse, alors qu'il est connu que les doses administrées par voie orale doivent souvent être largement supérieures aux doses administrées par voie intraveineuse pour pouvoir
- 25 exercer leur activité, en raison des pertes en principe actif occasionnées par leur séjour dans le tractus gastro-intestinal (pH acide de l'estomac, enzymes, sécrétions diverses, premier passage hépatique ...).

Conformément à l'invention, les vecteurs particuliers peuvent être préparés

30 par toute méthode connues de l'homme du métier. On peut citer à titre

d'exemple la méthode de préparation par émulsification et évaporation de solvant telle que décrite par Alex et *al.*, (*J. Microencapsulation*, **7** (3), (1990), 347-355). D'autres méthodes peuvent également être envisagées notamment la nébulisation (*spray-drying*), l'enrobage et l'extrusion.

5

Les exemples et les figures qui suivent illustrent l'invention sans toutefois la limiter.

La figure 1 illustre l'activité biologique de l'héparine déterminée par le temps de céphaline activée après administration orale de microparticules d'héparine préparées à partir du mélange de polymères Eudragit® RS/PLGA dans des proportions (1/1) selon le mode opératoire de l'exemple 1 et administrées
10 selon le mode opératoire de l'exemple 9.

La figure 2 illustre l'héparinémie après administration orale de nanoparticules d'héparine préparées à partir du mélange de polymères Eudragit® RL/PCL dans des proportions (1/1) selon le mode opératoire de l'exemple 1 et administrées selon le mode opératoire de l'exemple 9.
15

La figure 3 illustre la cinétique de la glycémie induite par une administration de 2 g de glucose administré par voie orale, 4 heures après l'administration orale de nanoparticules d'insuline préparées selon le mode opératoire de l'exemple 10 (vierges = rats non traités; ins = rats traités par nanoparticules selon l'invention).
20

La figure 4 illustre la cinétique de la glycémie induite par une administration de 2 g de glucose administré par voie orale, 8 heures après l'administration orale de nanoparticules d'insuline préparées selon le mode opératoire de l'exemple 10 (vierges = rats non traités; ins = rats traités par nanoparticules selon l'invention).
25

Exemple 1: Préparation de vecteurs particuliers contenant de l'héparine (microparticules)

La solution d'héparine standard ou de bas poids moléculaire (1 ml, 5 000 UI) est émulsionnée sous agitation magnétique pendant 3 min (500 rpm) dans
5 une solution de dichlorométhane (10 ml) contenant le polymère ou le mélange de polymères (250 mg). Cette première émulsion (eau/huile) est ensuite versée dans un volume d'eau (1500 ml) contenant un agent tensioactif, l'alcool polyvinylique (0,1% degré d'hydrolyse 88 %), permettant
10 d'obtenir sous agitation mécanique (2000 tours/min) une seconde émulsion eau/huile/eau. Après 2 heures d'agitation, la précipitation des gouttelettes dispersées est obtenue après évaporation du solvant. Les microparticules polymères ainsi obtenues sont ensuite isolées par filtration. Les particules ont une taille moyenne de 150 μm .

Exemple 2: Préparation de vecteurs particuliers contenant de l'héparine et de la gélatine A (microparticules)

On procède selon l'exemple 1 avec addition de gélatine A (0,5%) dans la solution d'héparine.

Exemple 3: Préparation de vecteurs particuliers contenant de l'héparine et du chlorure de sodium (microparticules)

On procède selon l'exemple 1 avec addition de NaCl (0,2%) dans la solution d'héparine.

Exemple 4: Préparation de vecteurs particuliers contenant de l'héparine (nanoparticules)

La solution d'héparine standard ou de bas poids moléculaire (1 ml, 5 000 UI) est émulsionnée à l'aide d'une sonde à ultra-sons pendant 3 min dans une
25 solution de dichlorométhane (10 ml) contenant le polymère ou le mélange de polymères (250 mg). Cette première émulsion (eau/huile) est ensuite versée
30

dans un volume d'eau (200 ml) contenant un agent tensioactif, l'alcool polyvinylique (0,1%), permettant d'obtenir par homogénéisation sous pression (homogénéisateur à filière) une seconde émulsion eau/huile/eau. Après 3 minutes de cisaillement, l'agitation est arrêtée et le solvant est évaporé de la suspension colloïdale dans un évaporateur sous pression réduite, entraînant la formation de nanoparticules polymères en suspension dans l'eau. La suspension des nanoparticules est lavée 3 fois par centrifugation (25000 g). Cette suspension peut être utilisée telle quelle ou lyophilisée. Les particules ont une taille moyenne de 250 nm.

10

Exemple 5: Préparation de vecteurs particuliers contenant de l'héparine et de la gélatine A (nanoparticules)

On procède selon l'exemple 4 avec addition de gélatine A (0,5%) dans la solution d'héparine.

15

Exemple 6: Préparation de vecteurs particuliers contenant de l'héparine et du chlorure de sodium (nanoparticules)

On procède selon l'exemple 4 avec addition de NaCl (0,2%) dans la solution d'héparine.

20

Exemple 7: Caractérisation physico-chimiques des particules

Des microparticules et des nanoparticules sont préparées selon les modes opératoires des exemples 1 à 6 et contiennent au total 0,25 g de polymères ou de mélange de polymères.

25 Les caractéristiques pour les microparticules sont rassemblées dans le tableau 1 comme étant la moyenne de 3 essais (moyenne \pm écart-type).

Les caractéristiques pour les nanoparticules sont rassemblées dans le tableau 2 comme étant la moyenne de 4 essais (moyenne \pm écart-type).

30 La charge en principe actif (exprimée en pourcentage et en UI d'héparine/gramme de polymère) dans et/ou sur lesdites particules est

déterminée par une méthode colorimétrique validée avec une solution d'Azure II dans le cas de l'héparine standard non fractionnée et par néphélogéométrie dans le cas des HBPM (héparine de bas poids moléculaire).

5 Le diamètre des microparticules et des nanoparticules a été obtenu par les moyens classiques de diffraction/diffusion de la lumière connues de l'homme du métier.

Le potentiel de surface des nanoparticules a été déterminé par électrophorèse laser.

Les résultats montrent que la technique de fabrication est très reproductible.

10

Pour les microparticules et les nanoparticules préparées uniquement avec un polymère biodégradable, les taux d'incorporation de l'héparine sont faibles, ce qui exigerait, même si on supposait une absorption, des quantités trop importantes et incompatibles de particules (de l'ordre de plusieurs grammes en une seule administration).

15

En revanche, les microparticules selon l'invention présentent un taux d'incorporation suffisant pour permettre d'administrer des quantités compatibles de particules.

20

Tableau 1

Type de polymère Quantité = 0,25 g	Taux d'incorporation		Taille moyenne (μm)
	%	UI/g de polymère	
Eudragit®RS PO ^a	49,29 \pm 4,03	9952 \pm 798,1	96,23
Eudragit® RL PO ^a	79,89 \pm 3,45	15956 \pm 687,6	79,76
PCL ^a	23,55 \pm 3,51	4566 \pm 699,7	128,33
PLGA ^a	26,81 \pm 3,76	1929 \pm 160,9	125,16
PCL/PLGA (1/1) ^a	17,52 \pm 4,69	3506 \pm 928,8	82,04
RS/RL (1/1) ^a	66,59 \pm 1,54	13307 \pm 303,1	88,07
RS/RL/PLGA (1/1/2) ^b	45,13 \pm 2,85	8984 \pm 568,7	71,07
RS/PLGA (1/1) ^b	52,48 \pm 4,17	10517 \pm 908,2	86,98
RL/PLGA (1/1) ^b	63,79 \pm 3,95	12752 \pm 785,3	128,51
RS/RL/PCL (1/1/2) ^b	40,39 \pm 2,42	8126 \pm 508,7	104,38
RS/PCL (1/1) ^b	36,27 \pm 3,72	7277 \pm 722,0	129,36
RL/PCL (1/1) ^b	45,16 \pm 2,13	9032 \pm 466,7	103,45
RS/gélatine A (5%) ^a	66,63 \pm 4,06	13323 \pm 811,2	123,64
RS/NaCl (2%) ^a	16,40 \pm 2,41	3186 \pm 394,6	84,99
RS/gélatine B (5%) ^a	46,31 \pm 1,54	9260 \pm 299,9	80,40
PCL/gélatine A (5%) ^a	57,96 \pm 4,73	11577 \pm 928,4	201,04
PCL/NaCl (2%) ^a	17,09 \pm 1,90	3416 \pm 377,5	90,89
PCL/gélatine B (5%) ^a	24,08 \pm 2,72	4826 \pm 536,7	124,96
PLGA/gélatine A (5%) ^a	58,71 \pm 3,94	11735 \pm 786,8	282,24
PLGA/NaCl (2%) ^a	22,59 \pm 3,34	4517 \pm 666,1	107,97
PLGA/gélatine B (5%) ^a	37,51 \pm 2,41	7505 \pm 491,6	130,43

^a exemples comparatifs ^b exemples selon invention

Tableau 2

Type de polymère Quantité = 0.25 g	Héparine encapsulée en UI/g de polymère (%)	Potentiel de surface (mV)	Taille (nm) (polydispersité)
Eudragit® RL ^a	19477 ± 490,2 (97,38 ± 2,45)	-38,8 ± 2,4	265,7 ± 8,22 (0,102)
Eudragit® RS ^a	11825 ± 139,6 (59,13 ± 0,71)	-22,4 ± 0,45	268,5 ± 15,83 (0,110)
PCL ^a	1673 ± 208,8 (8,36 ± 1,06)	-1,6 ± 0,22	285,3 ± 9,92 (0,064)
PLGA ^a	2792 ± 800,5 (13,97 ± 4,01)	-4,5 ± 0,07	266,5 ± 4,00 (0,058)
RS/PLGA (1/1) ^b	7101 ± 430,9 (35,53 ± 2,15)	-17,3 ± 1,35	273,4 ± 7,37 (0,083)
RL/PLGA (1/1) ^b	9752 ± 720,8 (48,78 ± 3,60)	-37,2 ± 3,30	268,9 ± 8,13 (0,10)
RS/RL/PLGA ^b (1/1/2)	7498 ± 138,4 (37,55 ± 0,69)	-30,7 ± 2,02	275,4 ± 3,41 (0,074)
RS/PCL (1/1) ^b	5657 ± 324,0 (28,30 ± 1,61)	-20,0 ± 0,67	285,9 ± 5,88 (0,07)
RL/PCL (1/1) ^b	10663 ± 320,6 (53,36 ± 1,64)	-33,6 ± 1,93	303,6 ± 3,49 (0,086)
RS/RL/PCL (1/1/2) ^b	7645 ± 588,4 (38,25 ± 2,94)	-29,9 ± 0,39	295,0 ± 4,34 (0,088)
RS/RL ^a	14287 ± 448,3 (71,44 ± 2,21)	-35,7 ± 1,94	269,6 ± 7,07 (0,088)
PCL/PLGA ^a	853 ± 158,4 (4,26 ± 0,79)	2,5 ± 0,38	264,9 ± 0,61 (0,061)
RS/gélatine A ^a	11891 ± 741,2 (59,43 ± 3,42)	-18,6 ± 1,21	279,9 ± 3,12 (0,099)
PCL/gélatine A ^a	7414 ± 870,4 (37,04 ± 4,35)	-2,58 ± 0,23	284,4 ± 3,90 (0,091)
PLGA/gélatine A ^a	8533 ± 701,7 (41,31 ± 3,51)	-4,4 ± 0,31	274,4 ± 3,22 (0,073)

^a exemples comparatifs^b exemples selon invention

Exemple 8: Quantité d'héparine libérée *in vitro*

L'activité biologique de l'héparine encapsulée puis libérée des particules préparées selon les exemples 1 à 6 a été déterminée par une méthode chronométrique (TCA, temps de céphaline activée ; kit C.K. Prest®,
5 Diagnostica Stago) et une méthode chromogénique (activité anti-Xa ; kit Stachrom® Heparin, Diagnostica Stago) selon les instructions du fabricant.

Les résultats obtenus montrent que les valeurs obtenues pour la quantité d'héparine libérée sont identiques par les deux méthodes, ce qui confirme que l'héparine a conservé son activité biologique après encapsulation.

10

Exemple 9: Etude *in vivo* après administration orale à des lapins

Les résultats sont donnés dans les figures 1 et 2.

Des gélules contenant les particules polymères d'héparine préparées selon les exemples 1 à 6 à partir de 250 mg de polymères ou de mélanges de
15 polymères sont administrées en dose unique, 2 000 UI pour l'héparine standard, 600 UI pour l'HBPM à des lapins à jeun depuis 12 heures. Des prélèvements sanguins (500 µl) sont effectués au temps T₀ et à des temps réguliers au niveau de la veine externe de l'oreille. Après centrifugation de
chaque échantillon sanguin à 7 000 g pendant 8 min, le temps de céphaline
20 activée ou l'activité anti-Xa sont déterminés comme indiqué dans l'exemple 8.

De façon inattendue, en administration unique par voie orale, et avec une concentration de 20 à 250 fois plus faible en principe actif que celles utilisées
25 dans l'état antérieur de la technique [2 000 UI d'héparine alors que les autres travaux publiés font état de doses allant de 40 000, 60 000 à 90 000 toutes les 8 heures pendant 5 jours (Baugham, Proceed, Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., **26**, (1999), 4) jusqu'à 500 000 UI (Ueno et *al.*, Chem. Pharm., **30** (6), (1982), 2245-2247)], les particules

d'héparine préparées selon la présente invention augmentent de façon significative et prolongée le temps de coagulation.

En revanche, après administration orale de microparticules ou nanoparticules préparées uniquement à partir de polymères biodégradables (PLGA, PCL...), aucune absorption de l'héparine standard n'a été constatée. Après administration orale de microparticules ou nanoparticules préparées uniquement à partir de polymères non biodégradables (Eudragit® RL, Eudragit® RS) aucune absorption de l'héparine standard n'a été observée.

10

Ainsi les vecteurs particulaires d'héparine de la présente invention permettent d'administrer par voie orale des doses pratiquement équivalentes à celles administrées actuellement chez l'homme par voie intraveineuse et sous-cutanée, tout en assurant une efficacité prolongée du principe actif.

15

Exemple 10: Préparation de vecteurs particulaires contenant de l'insuline (nanoparticules)

La solution d'insuline est émulsionnée à l'aide d'une sonde à ultrasons pendant 30 secondes dans une solution de dichlorométhane contenant le mélange de polymères (250 mg).

20

Cette première émulsion eau/huile est ensuite versée dans un volume d'eau (40 ml) contenant un tensioactif, l'alcool polyvinylique (0,1%) et émulsionnée à l'aide d'une sonde à ultrasons pendant 1 minute, obtenant ainsi une seconde émulsion eau/huile/eau.

25

Le solvant organique est ensuite évaporé à l'aide d'un évaporateur sous pression réduite, entraînant la formation des nanoparticules. La suspension colloïdale est centrifugée pendant 30 minutes (42 000 g), le surnageant est

éliminé et les nanoparticules sont remises en suspension dans l'eau et utilisées telles quelles. Les particules ont une taille moyenne de 350 nm.

Exemple 11: Etude *in vivo* après administration orale à des rats diabétiques de nanoparticules d'insuline

Les résultats sont représentés par les figures 3 e 4.

La suspension de nanoparticules d'insuline préparée selon l'exemple 10 est administrée par voie orale en dose unique (100 UI/kg) à des rats rendus diabétiques par administration de streptozacine et à jeun depuis 12 heures.

Un test d'hyperglycémie provoqué (2g de glucose administrés par voie orale) est effectué 4 et 8 heures après administration orale des nanoparticules. Des prélèvements sanguins sont effectués au temps T_0 et à des temps réguliers au niveau de la veine de la queue. La glycémie et l'insulinémie sont déterminées pour chaque échantillon sanguin.

15

De façon inattendue, après administration unique par voie orale, les particules d'insuline préparées selon la présente invention diminuent de façon significative la glycémie.

20 Parallèlement, on observe une augmentation de l'insulinémie.

REVENDICATIONS

1. Vecteurs particuliers destinés à améliorer l'absorption orale de principes actifs, caractérisés en ce qu'ils sont formés d'une matrice polymérique comprenant au moins un polymère biodégradable associé à au moins un polymère polycationique.
5
2. Vecteurs particuliers selon la revendication 1, caractérisés en ce que le pourcentage du polymère polycationique varie entre 1 et 99% par rapport au polymère biodégradable non entérique.
10
3. Vecteurs particuliers selon la revendication 2, caractérisés en ce que le polymère biodégradable et le polymère polycationique sont présents en quantité équivalente.
15
4. Vecteurs particuliers selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que le polymère biodégradable non entérique est choisi dans le groupe constitué par les polyesters, notamment les polymères de l'acide lactique, les copolymères de l'acide lactique et de l'acide glycolique (PLGA), la poly- ϵ -caprolactone (PCL) et les polyanhydrides, les poly(amides), les poly(uréthanes), les poly(carbonates), les poly(acétals), les poly(orthoesters) et les polymères naturels.
20
5. Vecteurs particuliers selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisés en ce que le polymère polycationique est choisi dans le groupe constitué par les dérivés de la cellulose, les copolymères d'esters des acides acryliques et méthacrylique commercialisés par le firme Rhöm GmbH sous le nom d'Eudragit® et plus particulièrement les polyesters de l'acide méthacrylique avec une faible proportion de chlorure de triméthylammonioéthyle méthacrylate (Eudragit® RS) ou une proportion plus
25
30

importante de chlorure de triméthylammonioéthyle méthacrylate (Eudragit® RL), le chitosane et ses dérivés et la polylysine.

6. Vecteurs particuliers selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisés en ce qu'ils se présentent sous forme de nanoparticules ou de microparticules.
7. Vecteurs particuliers selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisés en ce qu'ils comprennent en outre une ou plusieurs substances choisies dans le groupe comprenant les polymères entériques et les substances hydrosolubles ou liposolubles.
8. Vecteurs particuliers selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisés en ce que le principe actif est choisi parmi l'héparine et les produits apparentés, les héparines de bas poids moléculaire et les produits apparentés.
9. Vecteurs particuliers selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisés en ce que le principe actif est l'insuline.
10. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient au moins un vecteur particulier selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, en association avec tout excipient pharmaceutiquement acceptable.
11. Composition pharmaceutique selon la revendication 10, caractérisée en ce qu'elle permet l'administration par voie orale de l'héparine standard à une dose comprise entre 2 000 UI et 20 000 UI/jour ou de l'HBPM à une dose comprise entre 600 UI et 4 200 UI/jour.

Figure 1

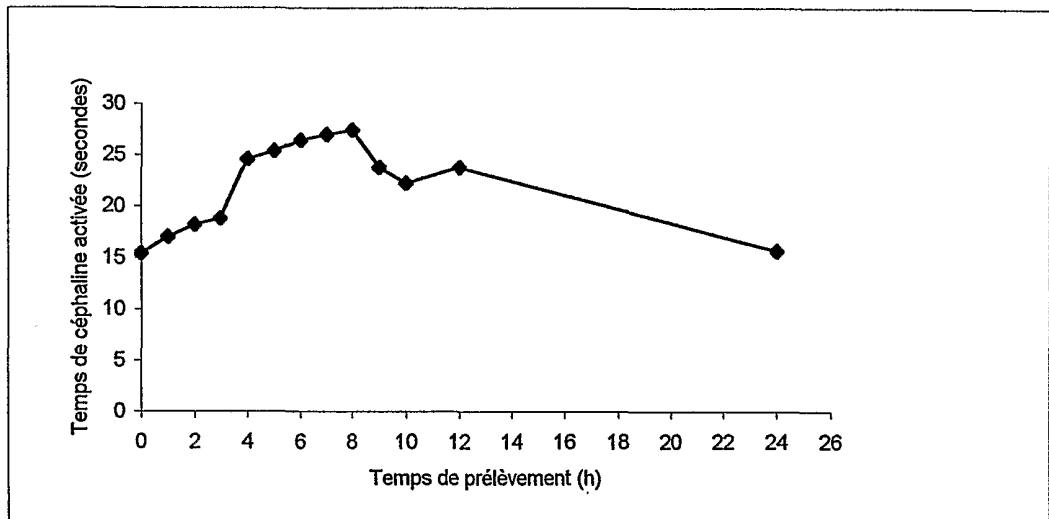
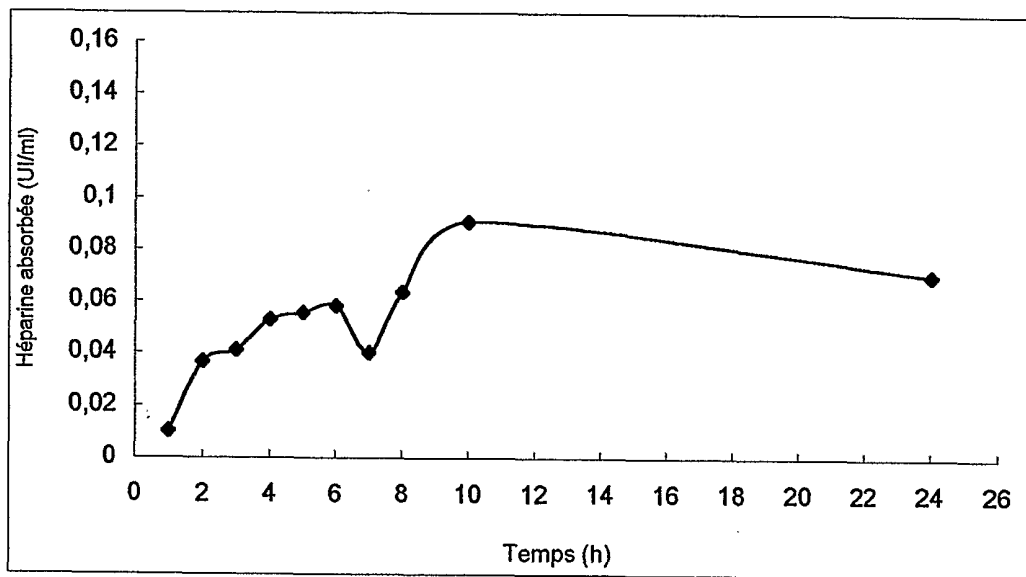


Figure 2



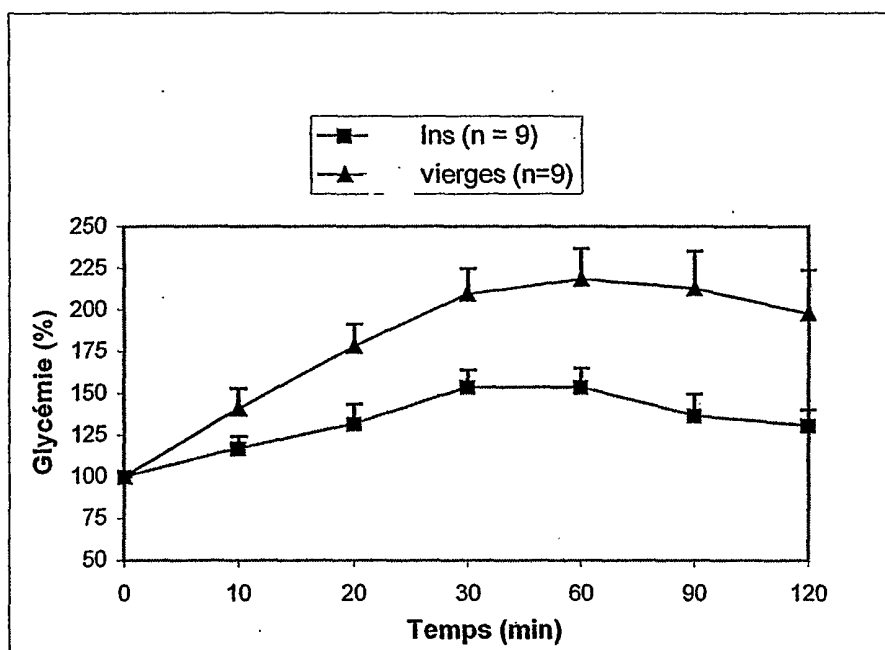


Figure 3

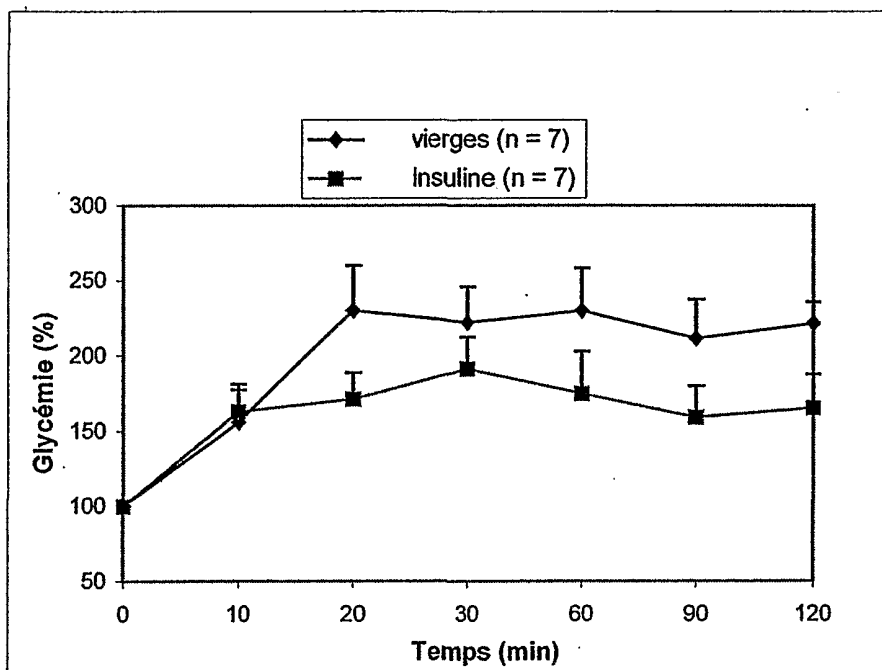


Figure 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/02159

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K9/16		
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 7 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) WPI Data, PAJ, EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96 28143 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 19 September 1996 (1996-09-19) page 1, line 8 - line 10 page 13; line 23 - line 28 page 14; table 1 claims 1,10	1,2,4,6, 7,9
X	WO 92 11844 A (ENZYTECH, INC.) 23 July 1992 (1992-07-23) page 12 -page 13; examples 3,4	1,2,4-6, 9
A	FR 2 769 853 A (LABORATOIRES PROGRAPHARM S.A.) 23 April 1999 (1999-04-23) page 10 -page 11; example 2	1-7,9
A	WO 94 14420 A (EMISPHERE TECHNOLOGIES, INC.) 7 July 1994 (1994-07-07) page 10, line 10 - line 13	1-11
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 5 November 2001		Date of mailing of the international search report 13/11/2001
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 Benz, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/02159

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9628143	A	19-09-1996	DE 19513659 A1	12-09-1996
			DE 19542837 A1	22-05-1997
			AT 201983 T	15-06-2001
			AU 5004196 A	02-10-1996
			CA 2214889 A1	19-09-1996
			DE 59607089 D1	19-07-2001
			DK 814778 T3	17-09-2001
			WO 9628143 A1	19-09-1996
			EP 0814778 A1	07-01-1998
			ES 2159726 T3	16-10-2001
			JP 11501642 T	09-02-1999
WO 9211844	A	23-07-1992	AU 653771 B2	13-10-1994
			AU 9165291 A	17-08-1992
			CA 2099376 A1	04-07-1992
			EP 0565618 A1	20-10-1993
			JP 7503700 T	20-04-1995
			WO 9211844 A1	23-07-1992
FR 2769853	A	23-04-1999	FR 2769853 A1	23-04-1999
			AU 9751298 A	10-05-1999
			EP 0966270 A1	29-12-1999
			WO 9920254 A1	29-04-1999
			FR 2769854 A1	23-04-1999
			JP 2001507044 T	29-05-2001
WO 9414420	A	07-07-1994	US 5401516 A	28-03-1995
			AU 6017194 A	19-07-1994
			AU 6668594 A	08-11-1994
			CA 2151818 A1	07-07-1994
			CA 2160692 A1	27-10-1994
			CN 1094611 A	09-11-1994
			EP 0674507 A1	04-10-1995
			EP 0696192 A1	14-02-1996
			JP 8507043 T	30-07-1996
			JP 8509231 T	01-10-1996
			MX 9400166 A1	29-07-1994
			WO 9414420 A1	07-07-1994
			WO 9423702 A1	27-10-1994
			US 5540939 A	30-07-1996
			US 5972387 A	26-10-1999
			ZA 9309608 A	24-08-1994
			ZW 17893 A1	27-07-1994

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

D le internationale No
FCI/FR 01/02159

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 A61K9/16		
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 7 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 réalisable, termes de recherche utilisés) WPI Data, PAJ, EPO-Internal		
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 96 28143 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 19 septembre 1996 (1996-09-19) page 1, ligne 8 - ligne 10 page 13, ligne 23 - ligne 28 page 14; tableau 1 revendications 1,10 ---	1,2,4,6, 7,9
X	WO 92 11844 A (ENZYTECH, INC.) 23 juillet 1992 (1992-07-23) page 12 -page 13; exemples 3,4 ---	1,2,4-6, 9
A	FR 2 769 853 A (LABORATOIRES PROGRAPHARM S.A.) 23 avril 1999 (1999-04-23) page 10 -page 11; exemple 2 ---	1-7,9
A	WO 94 14420 A (EMISPHERE TECHNOLOGIES, INC.) 7 juillet 1994 (1994-07-07) page 10, ligne 10 - ligne 13 -----	1-11
<input type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		
<input checked="" type="checkbox"/> 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 5 novembre 2001		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 13/11/2001
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 Benz, K

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Date de la Recherche Internationale No

FR 01/02159

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 9628143	A	19-09-1996	DE	19513659 A1	12-09-1996
			DE	19542837 A1	22-05-1997
			AT	201983 T	15-06-2001
			AU	5004196 A	02-10-1996
			CA	2214889 A1	19-09-1996
			DE	59607089 D1	19-07-2001
			DK	814778 T3	17-09-2001
			WO	9628143 A1	19-09-1996
			EP	0814778 A1	07-01-1998
			ES	2159726 T3	16-10-2001
			JP	11501642 T	09-02-1999
WO 9211844	A	23-07-1992	AU	653771 B2	13-10-1994
			AU	9165291 A	17-08-1992
			CA	2099376 A1	04-07-1992
			EP	0565618 A1	20-10-1993
			JP	7503700 T	20-04-1995
			WO	9211844 A1	23-07-1992
FR 2769853	A	23-04-1999	FR	2769853 A1	23-04-1999
			AU	9751298 A	10-05-1999
			EP	0966270 A1	29-12-1999
			WO	9920254 A1	29-04-1999
			FR	2769854 A1	23-04-1999
			JP	2001507044 T	29-05-2001
WO 9414420	A	07-07-1994	US	5401516 A	28-03-1995
			AU	6017194 A	19-07-1994
			AU	6668594 A	08-11-1994
			CA	2151818 A1	07-07-1994
			CA	2160692 A1	27-10-1994
			CN	1094611 A	09-11-1994
			EP	0674507 A1	04-10-1995
			EP	0696192 A1	14-02-1996
			JP	8507043 T	30-07-1996
			JP	8509231 T	01-10-1996
			MX	9400166 A1	29-07-1994
			WO	9414420 A1	07-07-1994
			WO	9423702 A1	27-10-1994
			US	5540939 A	30-07-1996
			US	5972387 A	26-10-1999
			ZA	9309608 A	24-08-1994
ZW	17893 A1	27-07-1994			