(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
15 juillet 2010 (15.07.2010)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2010/079284 A1

(51) Classification internationale des brevets :
C07K 14/47 (2006.01) *A61K 38/43* (2006.01)
C07K 5/08 (2006.01) *A61K 8/64* (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2010/000006

(22) Date de dépôt international :
7 janvier 2010 (07.01.2010)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0900066 9 janvier 2009 (09.01.2009) FR

(71) Déposant *(pour tous les États désignés sauf US)* : **ISP INVESTMENTS INC.** [US/US]; 300 Delaware Avenue, Suite 303, Wilmington, DE 19801 (US).

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants *(pour US seulement)* : **DAL FARRA, Claude** [FR/US]; 6 Old Pilgrims Way, Kerhonkson, NY 12446 (US). **DOMLOGE, Nouha** [FR/FR]; 10, traverse du Barri, F-06560 Valbonne (FR). **BOTTO, Jean-Marie** [FR/FR]; 1, passage du Square, F-06560 Valbonne (FR). **IMBERT, Isabelle** [FR/FR]; 65, rue du Faubourg du Temple, F-75010 Paris (FR).

(74) Mandataire : **SOCIETE D'EXTRACTION DES PRINCIPES ACTIFS S.A. (ISP VINCIENCE)**; 655, route du Pin Montard, F-06410 Biot (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— *relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17.iii))*

— *relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv))*

Publiée :

— *avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))*

— *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues (règle 48.2.h))*

— *avec tous renseignements communiqués par le déposant concernant une ou plusieurs revendications de priorité (règle 26bis.2.d))*

(54) **Title** : NOVEL ANTI-AGEING PEPTIDES AND COSMETIC AND/OR PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING SAME

(54) **Titre** : NOUVEAUX PEPTIDES ANTI-AGE ET COMPOSITION COSMETIQUE ET/OU PHARMACEUTIQUE LES CONTENANT

(57) **Abstract** : The present invention relates to peptide compounds of general formula (I) $R_1(AA)_n$-X_1-Ser-Thr-Pro-X_2-$(AA)_P$-R_2, intended to restore the circadian rhythm and to resynchronize the biological clock of skin cells. In addition, the present invention relates to a cosmetic or pharmaceutical composition comprising at least one peptide of general formula (I), in a cosmetically or dermatologically acceptable medium, and to the use thereof for reducing dysfunctions caused by jetlag and/or night work and preventing or treating the cutaneous signs of ageing. Finally, the invention relates to a cosmetic treatment method intended to restore the circadian rhythm and to resynchronize the biological clock of cells.

(57) **Abrégé** : La présente invention se rapporte à des composés peptidiques de formule générale (I) $R_1(AA)_n$- X_1 - Ser - Thr - Pro - X_2 - $(AA)_P$ - R_2 destinés à restaurer le rythme circadien et à resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau. En outre, la présente invention concerne, d'une part, une composition cosmétique ou pharmaceutique, comprenant au moins un peptide de formule générale (I), dans un milieu cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable et, d'autre part, son utilisation pour réduire les dysfonctionnements causés par le décalage horaire et/ou le travail de nuit et prévenir ou traiter les signes cutanés du vieillissement. Enfin, l'invention porte sur un procédé de traitement cosmétique destiné restaurer le rythme circadien et à resynchroniser l'horloge biologique des cellules.

WO 2010/079284 A1

NOUVEAUX PEPTIDES ANTI-AGE ET COMPOSITION COSMETIQUE ET/OU PHARMACEUTIQUE LES CONTENANT

La présente invention se situe dans les domaines de la cosmétique et de la dermopharmacie. La présente invention se rapporte à des composés peptidiques de formule générale (I) R_1-$(AA)_n$- X_1 – Ser – Thr – Pro – X_2 – $(AA)_p$ – R_2 destinés à restaurer le rythme circadien et à resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau, ainsi que leurs utilisations en cosmétique et/ou pharmaceutique afin de prévenir et corriger les effets du vieillissement.

La fonction première de l'épiderme, est de constituer une barrière entre l'environnement extérieur et le milieu intérieur. C'est la couche la plus externe de l'épiderme, *le stratum corneum*, qui assure cette fonction. Il est composé de kératinocytes au stade ultime de leur différenciation, les cornéocytes, scellés les uns aux autre par un épais ciment intercellulaire, à la fois souple et imperméable. Cette barrière physique qu'est la peau permet au corps humain de se protéger de nombreux types d'agressions. Ces agressions peuvent avoir diverses origines intrinsèques, telles que le vieillissement chronologique ou encore des modifications biochimiques qui ont lieu lors d'états de fatigue, de stress, de changements hormonaux comme lors de la grossesse.... D'autres agressions elles, ont une origine extrinsèque, telle que la pollution, le soleil, les maladies.....En réponse à ces agressions, l'aspect de la peau est modifié et l'on voit apparaître alors des rides et ridules, des taches d'hyper ou d'hypo-pigmentation, une sècheresse voire une déshydratation de la peau, un amincissement de l'épiderme, une élastose, des imperfections, des taches de vieillesse.... Ces modifications sont dues à l'altération des fonctions de renouvellement cellulaire, de cohésion cellulaire, de synthèse de collagène, d'élastine et d'autres protéines et conduisent finalement à une diminution des qualités de barrière protectrice de la peau et à un aspect peu esthétique de celle-ci.

La peau comme tous les autres organes, est soumise à l'influence de variations périodiques. Elle est le siège d'une organisation cohérente de rythmes circadiens et nycthéméraux modulant divers cycles biologiques, le plus souvent de grande amplitude

(F. Henry et al., Rev Med Liege; 57 : 10 : 661-665). Ces rythmes cutanés chez l'homme suggèrent que le jour, la peau privilégie diverses fonctions protectrices vis-à-vis de l'environnement. En soirée et la nuit, elle favorise son renouvellement cellulaire et divers processus métaboliques de synthèse.

Un sujet en bonne santé, dont l'organisme vit en harmonie avec son environnement, présente une synchronisation de ses rythmes biologiques. En revanche, des perturbations des rythmes biologiques peuvent apparaître dans un certain nombre de conditions dites de désynchronisation (Reinberg et Touitou, 1996). Une désynchronisation est un état où deux variables rythmiques (ou plus), antérieurement synchronisées, ont cessé de présenter les mêmes relations de fréquence et/ou d'acrophase et montrent des relations temporelles différentes des relations habituelles. La désynchronisation peut être d'origine externe, elle dépend alors des modifications de l'environnement et se retrouve, par exemple, lors d'un vol trans- méridien de cinq fuseaux horaires (phénomène du jet-lag) ou dans le travail de nuit. La désynchronisation d'origine interne, quant à elle, ne dépend pas des facteurs de l'environnement. On la retrouve dans le vieillissement ou dans un certain nombre de maladies telles que la dépression ou certains cancers. Ces troubles de la désynchronisation peuvent être corrigés par divers traitements : par exemple l'administration de lumière forte pour traiter la dépression saisonnière, ou encore l'administration de mélatonine (Dijk et coll., 1995 ; Eastman et Miescke, 1990 ; Palm et coll., 1991 ; Shochat et coll., 1998 ; Touitou et coll., 1998). En cosmétique, il est bien connu que l'efficacité d'un soin peut être optimisée selon le moment de la journée durant lequel il est administré. Par exemple, les crèmes de jour permettent de protéger la peau des agressions extérieures durant la journée, alors que les crèmes de nuit permettent à la peau de réparer les dommages subis pendant la journée par augmentation du renouvellement et du métabolisme cellulaires. En outre, il a été démontré que le vieillissement s'accompagne d'une modification des rythmes biologiques, avec une diminution de l'amplitude et une tendance à l'avance de phase (Weinert D., Chronobiol. Int. 2000 ; 17 :261-83). De plus, il a été montré que l'horloge circadienne était altérée par ce même vieillissement. Cependant, aucun traitement ne permet, à l'heure actuelle, à la peau de « réinitialiser » ou encore de relancer son cycle circadien, ni de resynchroniser son horloge biologique.

Un tel traitement permettrait ainsi d'aider la peau à se remettre d'un décalage horaire, d'un travail de nuit, ou encore de lutter contre les signes dus au vieillissement.

De manière surprenante, la Demanderesse a découvert que des composés peptidiques de formule générale suivante R_1-$(AA)_n$- X_1 –Ser – Thr – Pro – X_2 – $(AA)_p$ – R_2, avaient la propriété de restaurer le rythme circadien et de resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau. Aucun document de l'art antérieur ne décrit de tels composés peptidiques permettant d'obtenir de tels effets. Par ailleurs, ces composés peptidiques sont caractérisés par le fait qu'ils sont des agents activateurs de la protéine Clock (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput) et ce de manière directe ou indirecte, qui est impliquée dans la régulation du cycle circadien. Par conséquent, la présente invention a pour objet des composés peptidiques activateurs de Clock ainsi que leur utilisation dans des compositions cosmétiques et pharmaceutiques afin de restaurer le rythme circadien et de resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau ou encore de prévenir ou corriger les signes dus au vieillissement.

On sait depuis longtemps que l'horloge circadienne est contrôlée par une boucle négative de régulation impliquant un ensemble de gènes, notamment les gènes Per-1 (Period), Clock et BMAL-1 (Brain and Muscle ARNt-like Protein). Jusqu'à présent, dans l'art antérieur, de nombreuses applications ont déjà été proposées quant à l'utilisation des nucléotides et/ou de protéines issues des gènes Clock, Per-1 ou BMAL-1. On peut citer par exemple le brevet US 6 291 429 qui décrit l'utilisation du produit du gène Clock pour la resynchronisation du cycle du sommeil ou de processus physiologiques ou endocriniens, la resynchronisation du corps après un décalage horaire.... Cependant, aucun document de l'art antérieur ne décrit l'utilisation de peptides spécifiques activateurs de Clock pour restaurer l'horloge biologique interne de la peau.

La présente invention a pour premier objet des composés peptidiques de formule (I) suivante

$$R_1\text{-}(AA)_n\text{-}\ X_1 - Ser - Thr - Pro - X_2 - (AA)_p - R_2$$

Dans laquelle,

X_1 représente une thréonine, une sérine, ou est égal à zéro,

X_2 représente une isoleucine, une leucine, une valine, une alanine, une glycine, ou est égal à zéro,

AA représente un acide aminé quelconque à l'exception de la proline, ou un de ses dérivés, et n et p sont des nombres entiers compris entre 0 et 4,

R_1 représente la fonction amine primaire de l'acide aminé N-terminal, libre ou substituée par un groupement protecteur pouvant être choisi parmi un groupement acétyle, un groupement benzoyle, un groupement tosyle ou un groupement benzyloxycarbonyle,

R_2 représente le groupe hydroxyle de la fonction carboxyle de l'acide aminé C-terminal, substituée par un groupement protecteur pouvant être choisi parmi une chaîne alkyle de C_1 à C_{20}, ou un groupement NH2, NHY ou NYY avec Y représentant une chaîne alkyle de C_1 à C_4,

ladite séquence de formule générale (I) étant constituée de 3 à 13 résidus d'acides aminés,

ladite séquence de formule générale (I) pouvant comprendre des substitutions des acides aminés X_1 et X_2 par d'autres acides aminés chimiquement équivalents, caractérisé en ce qu'il permet de restaurer le rythme circadien et resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau.

La présente invention a pour second objet une composition cosmétique comprenant des composés peptidiques de formule générale (I).

La présente invention a pour troisième objet l'utilisation d'une composition cosmétique comprenant des composés peptidiques de formule générale (I).

Enfin, la présente invention a pour quatrième objet un procédé de traitement cosmétique à l'aide d'une composition comprenant des composés peptidiques de formule générale (I).

Le premier objet de l'invention se rapporte à un composé peptidique de formule générale (I) suivante :

Dans laquelle,

$$R_1\text{-}(AA)_n\text{-}\ X_1 - Ser - Thr - Pro - X_2 - (AA)_p - R_2$$

Dans laquelle,

X_1 représente une thréonine, une sérine, ou est égal à zéro,

X_2 représente une isoleucine, une leucine, une valine, une alanine, une glycine, ou est égal à zéro,

AA représente un acide aminé quelconque à l'exception de la proline, ou un de ses dérivés, et n et p sont des nombres entiers compris entre 0 et 4,

R_1 représente la fonction amine primaire de l'acide aminé N-terminal, libre ou substituée par un groupement protecteur pouvant être choisi parmi un groupement acétyle, un groupement benzoyle, un groupement tosyle ou un groupement benzyloxycarbonyle,

R_2 représente le groupe hydroxyle de la fonction carboxyle de l'acide aminé C-terminal, substituée par un groupement protecteur pouvant être choisi parmi une chaîne alkyle de C_1 à C_{20}, ou un groupement NH2, NHY ou NYY avec Y représentant une chaîne alkyle de C_1 à C_4,

ladite séquence de formule générale (I) étant constituée de 3 à 13 résidus d'acides aminés,

ladite séquence de formule générale (I) pouvant comprendre des substitutions des acides aminés X_1 et X_2 par d'autres acides aminés chimiquement équivalents, caractérisé en ce qu'il permet de restaurer le rythme circadien et resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau.

Le composé peptidique selon l'invention est caractérisé en ce qu'il est activateur des produits des gènes du rythme circadien. Par « gènes du rythme circadien » on entend les gènes Clock, Per-1 et BMAL-1.

De façon à améliorer la résistance à la dégradation, il peut être nécessaire d'utiliser une forme protégée du peptide selon l'invention. La forme de protection doit évidemment être une forme biologiquement compatible et doit être compatible avec une utilisation dans le domaine des cosmétiques ou de la pharmacie. De nombreuses formes de protection biologiquement compatibles peuvent être envisagées. Elles sont

bien connues de l'homme du métier comme, par exemple, l'acétylation des extrémités amino-terminales. Ou encore, on utilise, pour la protection de la fonction hydroxyle de l'extrémité carboxy-terminale, une amidation par un groupement NYY avec Y représentant une chaîne alkyle de C_1 à C_4, ou l'estérification par un groupement alkyle. Il est également possible de protéger les deux extrémités du peptide. Ainsi, dans un mode de réalisation particulier, le composé peptidique est protégé par une acétylation de l'extrémité amino-terminale.

Préférentiellement, le composé peptidique présente l'une des séquences suivantes :

(SEQ ID n°1) Tyr – Val - Ser – Thr – Pro – Tyr– Asn– NH_2

(SEQ ID n°2) Val - Ser – Thr – Pro –Glu – NH_2

(SEQ ID n°3) Ser – Thr – Pro – NH_2

(SEQ ID n°4) Leu -His – Ser – Thr – Pro – NH_2

(SEQ ID n°5) Arg -His – Ser – Thr – Pro –Glu – NH_2

(SEQ ID n°6) His – Ser – Thr – Pro –Glu - NH_2

Dans un mode de réalisation particulier, la séquence du composé peptidique est la séquence SEQ ID n°3, c'est-à-dire Ser – Thr – Pro – NH_2.

Dans un autre mode de réalisation, la séquence du composé peptidique est la séquence SEQ ID n°4, c'est-à-dire Leu -His – Ser – Thr – Pro – NH_2.

Ainsi, l'invention concerne un composé peptidique tel que défini précédemment, caractérisé par le fait que le peptide de séquence SEQ ID n°1 à SEQ ID n°6 est sous forme protégée de façon simple ou double.

L'invention concerne aussi des formes homologues de ces séquences. Le terme « homologue » désigne, selon l'invention, toute séquence peptidique identique à au moins 50%, ou de préférence au moins 80%, et encore plus préférentiellement à au moins 90% de ladite séquence peptidique, choisie parmi les séquences SEQ ID n° 1 à SEQ ID n° 6. Par « séquence peptidique identique à au moins X% », on entend désigner un pourcentage d'identité entre les résidus d'acides aminés des deux séquences à comparer, obtenu après l'alignement optimal des deux séquences. L'alignement optimal est obtenu à l'aide d'algorithmes d'homologies locales tels que ceux utilisés par les logiciels informatiques BLAST P ou T BLAST N disponibles sur le site NCBI.

Le terme « homologue » peut également désigner un peptide qui diffère de la séquence d'un peptide de séquence SEQ ID n° 1 à SEQ ID n° 6 par la substitution d'acides aminés chimiquement équivalents, c'est-à-dire par la substitution d'un résidu par un autre possédant les mêmes caractéristiques. Ainsi, les substitutions classiques se font entre Ala, Val, Leu et Ile ; entre Ser et Thr ; entre les résidus acides Asp et Glu ; entre Asn et Gln ; et entre les résidus basiques Lys et Arg ; ou entre les résidus aromatiques Phe et Tyr.

Le terme « peptide » ou « composé peptidique » désigne un enchaînement de deux ou plusieurs acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques ou par des liaisons peptidiques modifiées.

Par « peptide » ou « composé peptidique », il faut entendre le peptide naturel ou synthétique de l'invention tel que décrit ci-dessus, ou au moins l'un de ses fragments, qu'il soit obtenu par protéolyse ou de manière synthétique, ou encore tout peptide naturel ou synthétique dont la séquence est totalement ou partiellement constituée par la séquence du peptide précédemment décrit.

Le peptide de formule générale (I) selon l'invention peut être obtenu soit par synthèse chimique classique (en phase solide ou en phase homogène liquide), soit par synthèse enzymatique (Kullman et al., J. Biol. Chem. 1980, 225, 8234), à partir d'acides aminés constitutifs ou de leurs dérivés.

Le peptide selon l'invention peut être d'origine naturelle ou synthétique. Préférentiellement selon l'invention, le peptide est obtenu par synthèse chimique.

Enfin, le principe actif peut être un peptide unique, un mélange de peptides ou de dérivés peptidiques et/ou constitués de dérivés d'acides aminés.

Le composé peptidique selon l'invention peut être utilisé à titre de médicament.

Le second objet de la présente invention se rapporte à des compositions cosmétiques comprenant ledit composé peptidique de formule générale (I). De manière préférée, les compositions selon l'invention se présentent sous une forme adaptée à l'application par voie topique comprenant un milieu cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable. Par « cosmétiquement ou dermatologiquement acceptable », on entend des milieux qui conviennent à une utilisation en contact avec la peau ou les phanères

humains, sans risque de toxicité, d'incompatibilité, d'instabilité, de réponse allergique et autres. Préférentiellement, ledit composé peptidique est présent dans la composition à une concentration comprise entre 0,0005 et 500 ppm environ, et préférentiellement à une concentration comprise entre 0,01 et 5 ppm. Dans les compositions selon l'invention, le composé peptidique est préalablement solubilisé dans un ou plusieurs solvants cosmétiquement ou dermatologiquement acceptables, comme l'eau, le glycérol, l'éthanol, le propylène glycol, le butylène glycol, le dipropylène glycol, les diglycols éthoxylés ou propoxylés, les polyols cycliques, la vaseline, une huile végétale ou tout mélange de ces solvants.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux, le principe actif selon l'invention est préalablement solubilisé dans un vecteur cosmétique ou pharmaceutique comme les liposomes ou adsorbé sur des polymères organiques poudreux, des supports minéraux comme les talcs et bentonites, et plus généralement solubilisé dans, ou fixé sur, tout vecteur physiologiquement acceptable.

Les compositions destinées à être appliquées sur la peau peuvent se présenter sous forme de solution aqueuse ou hydro- alcoolique, d'émulsion eau dans huile ou huile dans eau, de microémulsion, de gel aqueux ou anhydre, de sérum, ou encore de dispersion de vésicules, de patch, de crème, de spray, d'onguent, de pommade, de lotions, de colloïde, de solution, de suspension ou autres. Les compositions peuvent aussi être appliquées sur les phanères sous forme de shampoing, de teinture ou de mascara à appliquer au pinceau ou au peigne, en particulier sur les cils, les sourcils ou les cheveux, ou encore de soins pour les ongles tels que les vernis.

Dans un mode de réalisation particulier, la composition selon l'invention contient en outre, au moins un autre principe actif favorisant l'action dudit principe actif peptidique. On peut citer, de manière non limitative, les classes d'ingrédients suivantes : d'autres agents actifs peptidiques, des extraits de végétaux, des agents cicatrisants, anti-âge, anti-rides, apaisants, anti-radicalaire, anti-UV, des agents stimulant la synthèse de macromolécules dermiques ou le métabolisme énergétique, des agents hydratants, anti-bactériens, anti-fongiques, anti-inflammatoires, anesthésiques, des agents modulants la différenciation, la pigmentation ou la dépigmentation cutanée, des agents stimulants la pousse des ongles ou des cheveux.... Préférentiellement, on

utilisera un agent anti-radicalaire ou antioxydant, ou un agent stimulant la synthèse de macromolécules dermiques, ou encore un agent stimulant le métabolisme énergétique.

En outre, des additifs tels que des agents épaississants, émulsifiants, humectants, émollients, des parfums, des antioxydants, des agents filmogènes, chélatants, séquestrants, conditionnants....peuvent être ajoutés à la composition.

Dans tous les cas, l'homme de métier veillera à ce que ces adjuvants ainsi que leurs proportions soient choisis de telle manière à ne pas nuire aux propriétés avantageuses recherchées de la composition selon l'invention. Ces adjuvants peuvent, par exemple, correspondre à 0,01 à 20 % du poids total de la composition. Lorsque la composition de l'invention est une émulsion, la phase grasse peut représenter de 5 à 80 % en poids et de préférence de 5 à 50 % en poids par rapport au poids total de la composition. Les émulsionnants et co-émulsionnants utilisés dans la composition seront choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine considéré. Par exemple, ils peuvent être utilisés en une proportion allant de 0,3 à 30 % en poids, par rapport au poids total de la composition.

Un troisième objet de la présente invention se rapporte à l'utilisation du composé peptidique en tant que principe actif activateur de Clock. On entend par peptide « activateur de Clock», tout peptide ou dérivé biologiquement actif capable d'augmenter l'activité de Clock, soit par augmentation de la synthèse protéique de Clock (par modulation directe ou indirecte de l'expression génique de Clock) soit par d'autres processus biologiques tels que la stabilisation de la protéine Clock ou encore la stabilisation des transcrits d'ARN messager.

Un autre objet de la présente invention se rapporte à l'utilisation d'une composition selon ladite invention pour restaurer le rythme circadien et resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau.

Une réalisation particulière de l'invention est l'utilisation d'une composition pour activer le renouvellement cellulaire et stimuler le métabolisme cellulaire. Plus particulièrement, l'invention consiste en l'utilisation d'une composition pour réduire

les dysfonctionnements causés par le décalage horaire et/ou le travail de nuit. Avantageusement, l'invention concerne l'utilisation dudit composé peptidique dans une composition destinée à respecter la chronobiologie cutanée notamment par une application en soin cosmétique la nuit.

Une autre réalisation de l'invention consiste en l'utilisation d'une composition pour prévenir ou traiter les signes cutanés du vieillissement. Les « signes cutanés du vieillissement » incluent, mais ne se limitent pas à, toutes les manifestations visibles sur la peau causés par le vieillissement. On entend notamment, les rides, ridules, crevasses, pores élargis, imperfections, perte de fermeté, décoloration, tâches de vieillesse, kératoses, perte de collagène, et autres changements du derme et de l'épiderme....Par « signes cutanés du vieillissement », on entend également toutes modifications de l'aspect extérieur de la peau et des phanères dues au vieillissement comme, par exemple, les rugosités superficielles de la couche cornée, les rides et ridules, mais également toute modification interne de la peau qui ne se traduit pas systématiquement par un aspect extérieur modifié comme, par exemple, l'amincissement du derme ou toute autre dégradation interne de la peau consécutive à une exposition aux rayonnements ultraviolets (UV). Plus particulièrement, l'invention se rapporte à l'utilisation de la composition telle que décrite précédemment afin de réduire les signes de fatigue de la peau.

Un autre objet de l'invention concerne l'utilisation d'une quantité efficace de principe actif peptidique selon l'invention, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir ou à lutter contre les pathologies liées aux dysfonctionnements du rythme circadien.

Un dernier objet de la présente invention se rapporte à un procédé de traitement cosmétique caractérisé en ce que l'on applique topiquement sur la peau ou les phanères à traiter une composition contenant une quantité efficace de principe actif peptidique pour restaurer le rythme circadien et resynchroniser l'horloge biologique des cellules.

Par ailleurs, ce procédé de traitement cosmétique est caractérisé en ce que la composition est appliquée avant le coucher de façon à respecter le rythme circadien de

la peau pour obtenir un effet anti-vieillissant sur la peau. En effet, durant la nuit, la peau privilégie des fonctions de renouvellement ainsi que des processus métaboliques de synthèse. Par conséquent, l'application de la composition telle que revendiquée, en respectant le rythme biologique de la peau permet d'obtenir un effet anti-vieillissant, stimulant le renouvellement cellulaire, régénérant et réduisant ainsi les signes du vieillissement.

Les exemples suivants décrivent et démontrent l'efficacité de composés peptidiques tels que décrits selon l'invention. Les formulations cosmétiques citées sont représentatives de l'invention mais sont données uniquement à titre d'illustration et ne doivent pas être interprétés comme des limitations de la présente invention.

Exemple 1 : Mise en évidence de l'effet activateur du peptide SEQ ID n°2 sur l'expression de la protéine Clock sur des fibroblastes en culture.

Une étude de l'effet activateur du peptide SEQ ID n°2, a été réalisée en évaluant l'expression des protéines Clock en western blot sur des fibroblastes en culture. La technique de western blotting est une méthode semi-quantitative qui permet d'apprécier le taux de protéines Clock dans les cellules.

Protocole

Des fibroblastes en cultures sont cultivés dans des boîtes de diamètre 100 mm à 37°C dans une atmosphère humidifiée contenant 5% de CO2 pendant 18 h en présence ou non du peptide SEQ ID n°2, dilué 1% (à partir d'une solution 10^{-4}M). Les cellules sont rincées puis détachées du support à l'aide d'un tampon d'extraction (20mM TRIS, 150mM NaCl, 10mM EDTA, 0.2% Triton X10) en présence d'un cocktail d'inhibiteurs de protéases (Sigma). Les protéines ainsi extraites, sont centrifugées à 4°C à 10000 rpm pendant 10 minutes avant d'être dosées par le kit de dosages des protéines BCA (Pierce). Les .lysats cellulaires sont mélangés à un tampon de dénaturation et soumis à une électrophorèse SDS-PAGE. Le gel utilisé est un Nupage 4-12% (invitrogen). Les protéines sont enfin transférées sur une membrane de nitrocellulose (Pal corporation). Les membranes sont saturées dans du PBS-lait 5%, 0,1% tween 20, 2 h à température ambiante, puis incubées à 4°C toute la nuit avec un anticorps primaire anti-Clock au

1/1000ème (ABcam) suivie d'une incubation avec un anticorps secondaire anti-lapin Iggy-peroxydase dilué au 1/5000ème. La révélation est effectuée par un substrat chimioluminescent. L'évaluation quantitative des protéines présentes dans les cellules est effectuée grâce au logiciel chemiimager (Alpha innotech Corporation USA). La quantité des protéines est exprimée en pourcentage d'intensité lumineuse comparée à la condition contrôle qui n'a pas eu le traitement.

Résultats :

Les résultats obtenus montrent que le traitement par le peptide SEQ ID n°2, dilué à 1% augmente de façon significative la protéine Clock dans les fibroblastes en culture. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Intensité (%)	Expérience 1
Contrôle non traités	100 %
1% traitement	154%

L'expérience a été réalisée plusieurs fois et démontre par le test statistique du t Student que l'augmentation de l'expression de la protéine Clock est significative (p = 0,0445).

Conclusion :

Le peptide SEQ ID n°2 permet d'augmenter l'expression de la protéine Clock sur des cellules dermiques en culture.

Exemple 2 : Mise en évidence de l'effet activateur du peptide SEQ ID n°3 sur l'expression de la protéine Clock, Per-1 et BMAL-1 sur des biopsies de peau.

Une étude de l'effet activateur du peptide SEQ ID n°3, a été réalisée en évaluant l'expression de la protéine Clock, Per-1 et BMAL-1 sur des biopsies de peaux *ex vivo*.

Protocole

Des études ex vivo par immunomarquage ont permis de mettre en évidence l'expression de la protéine Clock, Per-1, et BMAL-1 sur des échantillons de peau. Des échantillons de peau humaine, sont mis en culture à l'interface air/liquide. Le peptide

SEQ ID n°3 dilué à 1% (à partir d'une solution 10^{-4}M).est appliqué de façon topique sur ces échantillons pendant 48 h.

Des échantillons de peau non traitées par le peptide SEQ ID n°3 servent de contrôle. Les échantillons de peaux sont fixés au formaldéhyde 10% et inclus dans la paraffine. Des coupes de 3 µm sont réalisées au microtome. L'immunomarquage est effectué après un déparaffinage et un démasquage des sites antigéniques. L'immunomarquage s'effectue pour la protéine Clock, par un anticorps (ABcam) dilué au 1/250ème et un anticorps secondaire au 1/50ème couplé à un fluorochrome.

L'immunomarquage s'effectue pour la protéine Per-1, par un anticorps polyclonal (Cosmobio) dilué au 1/100ème et un anticorps secondaire au 1/50ème couplé à un fluorochrome.

L'immunomarquage s'effectue pour la protéine BMAL-1, par un anticorps polyclonal (Aviva Systems Biology) dilué au 1/120ème et un anticorps secondaire au 1/50ème couplé à un fluorochrome.

Les lames sont alors montées dans un milieu adéquat et observées au microscope à épifluorescence (Nikon Eclipse E600).

Résultats :

Les résultats obtenus montrent que les peaux traitées avec le peptide SEQ ID n°3 expriment des quantités de protéine Clock, Per-1 et BMAL-1 supérieures aux peaux non traitées.

L'évaluation semi-quantitative du marquage est effectuée par observation microscopique et résumée dans le tableau ci-dessous.

	Non traité	Traité par peptide SEQ ID n°3 dilué à 1%
Marquage protéine Clock	+/-	+
Marquage protéine PER-1	+	+++
Marquage BMAL-1	+	+++

Conclusion :

L'administration de peptide SEQ ID n°3 permet d'augmenter l'expression des protéines Clock, Per-1 et BMAL-1sur une peau irradiée et traitée.

Exemple 3 : Mise en évidence de l'effet activateur du peptide SEQ ID n°3 sur l'expression de la protéine Clock, sur des biopsies de peau au cours du vieillissement

Une étude de l'effet activateur du peptide SEQ ID n°3, a été réalisée en évaluant l'expression de la protéine Clock sur des modèles de peaux, vieillis artificiellement en culture. L'analyse s'est effectuée après 62 h et 134 h de culture.

Protocole

Des études ex vivo par immunomarquage ont permis de mettre en évidence l'expression de la protéine Clock, sur des échantillons de peau vieillis en culture. Des échantillons de peau humaine, sont mis en culture à l'interface air/liquide, pendant 62 h et 134 h. Le peptide SEQ ID n°1 dilué à 1% (à partir d'une solution 10^{-4}M).est appliqué de façon topique sur ces échantillons à raison de 2 fois par jour pendant le temps de l'expérience.

Des échantillons de peau non traitées par le peptide SEQ ID n°3 servent de contrôle. Les échantillons de peaux sont fixés au formaldéhyde 10% et inclus dans la paraffine. Des coupes de 3 µm sont réalisées au microtome. L'immunomarquage est effectué après un déparaffinage et un démasquage des sites antigéniques. L'immunomarquage s'effectue pour la protéine Clock, par un anticorps anti-rabbit (ABcam) dilué au 1/250ème et un anticorps secondaire au 1/50ème couplé à un fluorochrome.

Les lames sont alors montées dans un milieu adéquat et observées au microscope à épifluorescence (Nikon Eclipse E600).

Résultats :

Les résultats obtenus montrent que le marquage de la protéine Clock (essentiellement épidermique) est augmenté après 62 heures de culture, par rapport aux lames témoins non traitées. Cette augmentation perdure dans le temps puisqu'au bout de 134 heures, le marquage de la protéine Clock est fortement augmenté par rapport aux peaux témoins non traitées. Le tableau ci-dessous donne une évaluation visuelle du marquage.

	Non traité	Traité par peptide SEQ ID n°3 dilué à 1%
Marquage protéine Clock 62 h	+	++
Marquage protéine Clock 134 h	-	++

Conclusion :

L'application du composé peptidique SEQ ID n°3 permet d'augmenter l'expression de la protéine Clock sur des biopsies de peau traitées et vieillies artificiellement en culture.

Exemple 4 : Mise en évidence de l'effet anti-vieillissement du peptide SEQ ID n°3 sur des fibroblastes en culture.

Une étude de l'effet anti-vieillissement du peptide SEQ ID n°3, a été réalisée en évaluant l'activité de la béta-galactosidase sur des fibroblastes en culture à court et long terme. En effet, la béta-galactosidase est connue pour être présente dans les cellules sénescentes alors qu'on ne trouve pas d'activité béta-galactosidase dans les cellules pré-sénescentes, quiescentes ou immortelles.

Protocole

Des fibroblastes en cultures dans des labteck 8 puits sont maintenus 2 semaines (effet court terme) ou 7 semaines (effet long terme) en présence ou non du peptide SEQ ID n°3, dilué 1% (à partir d'une solution 10^{-4}M). Le traitement est effectué une fois par jour. Les cellules non traitées mais maintenues en culture pendant 2 ou 7 semaines selon les besoins de l'expérience servent de contrôle. Le jour du marquage, les cellules sont rincées, fixées dans un mélange (2% glutaraldéhyde – 2% formaldéhyde) pendant 3 minutes. Les cellules sont rincées et on applique 300 µl de (5-bromo-4-chloro-3 indolyl b-D-galactosidase) appelé communément X-gal (substrat de la béta-galactosidase). L'incubation s'effectue 24 h dans l'incubateur à CO2, puis les cellules sont rincées et la labteck est rapidement montée dans un milieu adéquat. L'observation s'effectue au microscope à transmission. Le principe est simple, lorsque les cellules sont sénescentes et contiennent la béta-galactosidase, le substrat X-gal est clivé en un produit bleu insoluble.

Résultats :

L'activité béta-galactosidase est mesurée dans les cellules témoins non traitées par une coloration de celles-ci en bleues. L'activité béta-galactosidase est fortement réduite dans les cellules traitées par le peptide SEQ ID n°3. Cet effet est observé à la fois dans les cellules traitées à court terme (2 semaines d'expérience) mais également à long terme lorsque les cellules sont traitées pendant 7 semaines consécutives.

Conclusion :

L'administration du peptide SEQ ID n°3 permet de mettre en évidence un effet anti-vieillissement sur des fibroblastes en culture vieillis artificiellement pendant 2 ou 7 semaines.

Exemple 5 : Préparation d'une crème anti-âge

Noms commerciaux	*Noms INCI*	*% massique*
	Phase A	
Montanov 68	Cetearyl Alcohol (and) Cetearyl Glucoside	6,00
Squalane	Squalane	3,00
Cetiol SB 45	Butyrospermum Parkii (Shea Butter)	2,00
Waglinol 250	Cetearyl Ethylhexanoate	3,00
Amerchol L- 101	Mineral Oil (and) Lanolin Alcohol	2,00
Abil 350	Dimethicone	1,50
BHT	BHT	0,01
Coenzyme Q10	Ubiquinone	0,10
	Phase B	
Huile d'Avocat	Persea Gratissima (Avocado) Oil	1,25
Phenonip	Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Ethylparaben (and) Butylparaben (and) Propylparaben (and)	0,75

Noms commerciaux	*Noms INCI*	*% massique*
	Isobutylparaben	
	Phase C	
Eau déminéralisée	Aqua (Water)	qsp
Butylene Glycol	Butylene Glycol	2,00
Glucam E10	Methyl Gluceth-10	1,00
Allantoin	Allantoin	0,15
Carbopol Ultrez 10	Carbomer	0,20
	Phase D	
TEA	Triethanolamine	0,18
	Phase E	
Peptide SEQ ID n° 2		1 ppm
GP4G	Water (and) Artemia Extract	1,50
Collaxyl	Water (and) Butylene Glycol (and) Hexapeptide-9	3,00
	Phase F	
Parfum	Parfum (Fragrance)	qsp
Colorant		qsp

Mode Opératoire :

Préparer et fondre la phase A à 65-70°C. Chauffer la phase C à 65-70°C. La phase B est ajoutée à la phase A juste avant d'émulsionner A dans B. A environ 45°C, le carbomer est neutralisé par addition de la phase D. La phase E est ensuite additionnée sous légère agitation et le refroidissement est poursuivi jusqu'à 25°C. La phase F est alors additionnée si souhaité.

REVENDICATIONS

1. Composé peptidique de formule générale suivante (I) :

$$R_1\text{-}(AA)_n\text{-}\ X_1\ \text{–Ser – Thr – Pro –}\ X_2\ \text{–}\ (AA)_p\ \text{–}\ R_2$$

Dans laquelle,

X_1 représente une thréonine, une sérine, ou est égal à zéro,

X_2 représente une isoleucine, une leucine, une valine, une alanine, une glycine, ou est égal à zéro,

AA représente un acide aminé quelconque à l'exception de la proline, ou un de ses dérivés, et n et p sont des nombres entiers compris entre 0 et 4,

R_1 représente la fonction amine primaire de l'acide aminé N-terminal, libre ou substituée par un groupement protecteur pouvant être choisi parmi un groupement acétyle, un groupement benzoyle, un groupement tosyle ou un groupement benzyloxycarbonyle,

R_2 représente le groupe hydroxyle de la fonction carboxyle de l'acide aminé C-terminal, substituée par un groupement protecteur pouvant être choisi parmi une chaîne alkyle de C_1 à C_{20}, ou un groupement NH2, NHY ou NYY avec Y représentant une chaîne alkyle de C_1 à C_4,

ladite séquence de formule générale (I) étant constituée de 3 à 13 résidus d'acides aminés,

ladite séquence de formule générale (I) pouvant comprendre des substitutions des acides aminés X_1 et X_2 par d'autres acides aminés chimiquement équivalents, caractérisé en ce qu'il permet de restaurer le rythme circadien et resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau.

2. Composé peptidique selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est protégé par une acétylation de l'extrémité amino-terminale.

3. Composé peptidique selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce qu'il correspond à une des formules suivantes :

(SEQ ID n°1) Tyr – Val - Ser – Thr – Pro – Tyr– Asn– NH_2

(SEQ ID n°2) Val - Ser – Thr – Pro –Glu – NH_2

(SEQ ID n°3) Ser – Thr – Pro – NH_2

(SEQ ID n°4) Leu -His – Ser – Thr – Pro – NH_2

(SEQ ID n°5) Arg -His – Ser – Thr – Pro –Glu – NH_2

(SEQ ID n°6) His – Ser – Thr – Pro –Glu - NH_2

4. Composé peptidique selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce qu'il est utilisé à titre de médicament.

5. Composition cosmétique comprenant à titre de principe actif ledit composé peptidique selon l'une des revendications 1 à 3.

6. Composition cosmétique selon la revendication 5, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme adaptée à l'application par voie topique comprenant un milieu cosmétiquement acceptable.

7. Composition selon l'une des revendications 5 ou 6, caractérisée en ce que ledit composé peptidique est présent dans la composition à une concentration comprise entre 0,0005 et 500 ppm environ, et préférentiellement à une concentration comprise entre 0,01 et 5 ppm.

8. Composition selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, caractérisée en ce que ledit principe actif peptidique est solubilisé dans un ou plusieurs solvants, comme l'eau, le glycérol, l'éthanol, le propylène glycol, le butylène glycol, le dipropylène glycol, les diglycols éthoxylés ou propoxylés, les polyols cycliques, la vaseline, une huile végétale ou tout mélange de ces solvants.

9. Composition selon l'une quelconque des revendications 5 à 8, caractérisée en ce qu'elle contient en outre, au moins un autre principe actif favorisant l'action dudit principe actif peptidique.

10. Composition selon la revendication 9, caractérisée en ce que ledit principe actif est un agent anti-radicalaire ou antioxydant, ou un agent stimulant la synthèse de macromolécules dermiques, ou encore un agent stimulant le métabolisme énergétique.

11. Utilisation d'un composé peptidique tel que défini dans l'une des revendications 1 à 3, en tant que principe actif activateur de Clock.

12. Utilisation d'une composition cosmétique contenant ledit composé peptidique tel que défini dans l'une des revendications 1 à 3 et un milieu cosmétiquement acceptable pour restaurer le rythme circadien et de resynchroniser l'horloge biologique des cellules de la peau

13. Utilisation selon la revendication 12, caractérisée en ce que ladite composition permet d'activer le renouvellement cellulaire et de stimuler le métabolisme cellulaire.

14. Utilisation d'une composition selon la revendication 12, caractérisée en ce que ladite composition permet réduire les dysfonctionnements causés par le décalage horaire et/ou le travail de nuit.

15. Utilisation d'une composition selon la revendication 12, caractérisée en ce que ladite composition est destinée à respecter la chronobiologie cutanée notamment par une application en soin cosmétique la nuit.

16. Utilisation d'une composition selon la revendication 12, caractérisée en ce que ladite composition permet de prévenir ou de traiter les signes cutanés du vieillissement, et de réduire les signes de fatigue de la peau.

17. Utilisation d'une quantité efficace de principe actif peptidique, tel que défini dans l'une des revendications 1 à 4, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir ou à lutter contre les pathologies liées aux dysfonctionnements du rythme circadien.

18. Procédé de traitement cosmétique caractérisé en ce que l'on applique topiquement sur la peau ou les phanères à traiter, une composition contenant une quantité efficace de principe actif peptidique, tel que défini dans l'une des revendications 1 à 3, pour restaurer le rythme circadien et de resynchroniser l'horloge biologique des cellules.

19. Procédé de traitement cosmétique, tel que défini dans la revendication précédente, caractérisé en ce que la composition est appliquée avant le coucher de façon à respecter le rythme circadien de la peau.

20. Procédé de traitement cosmétique, tel que défini dans l'une des revendications 18 ou 19, caractérisé en ce que la composition est appliquée avant le coucher afin de prévenir ou de traiter les signes cutanés du vieillissement.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2010/000006

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/47 C07K5/08 A61K38/43 A61K8/64
ADD.

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)
C07K 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)
EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, CHEM ABS Data, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HIRAYAMA JUN ET AL: "Structural and functional features of transcription factors controlling the circadian clock" CURRENT OPINION IN GENETICS & DEVELOPMENT, vol. 15, no. 5, October 2005 (2005-10), pages 548-556, XP002545453 ISSN: 0959-437X the whole document page 555, left-hand column, paragraph 1; figure 3; table 1	1-20
A	WO 99/57137 A (HARVARD COLLEGE [US]; WEITZ CHARLES J [US]; GEKAKIS NICHOLAS [US]; STA) 11 November 1999 (1999-11-11)	1-20
A	EP 1 864 997 A (SONY CORP [JP]) 12 December 2007 (2007-12-12)	1-20

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11 May 2010	26/05/2010

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Cervigni, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2010/000006

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KONDRATOV ROMAN V: "A role of the circadian system and circadian proteins in aging" AGEING RESEARCH REVIEWS, vol. 6, no. 1, May 2007 (2007-05), pages 12-27, XP002545454 ISSN: 1568-1637	1-20
A	TANIOKA MIKI ET AL: "Molecular Clocks in Mouse Skin" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, [Online] vol. 129, no. 5, 27 November 2008 (2008-11-27), pages 1225-1231, XP002545455 ISSN: 0022-202X	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/FR2010/000006

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9957137 A	11-11-1999	AU 3976099 A	23-11-1999
EP 1864997 A	12-12-2007	CN 101151274 A	26-03-2008
		JP 2006273760 A	12-10-2006
		WO 2006104099 A1	05-10-2006
		KR 20080000574 A	02-01-2008
		US 2009292111 A1	26-11-2009

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2010/000006

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. C07K14/47 C07K5/08 A61K38/43 A61K8/64
ADD.

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)
C07K 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)
EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, CHEM ABS Data, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	HIRAYAMA JUN ET AL: "Structural and functional features of transcription factors controlling the circadian clock" CURRENT OPINION IN GENETICS & DEVELOPMENT, vol. 15, no. 5, octobre 2005 (2005-10), pages 548-556, XP002545453 ISSN: 0959-437X le document en entier page 555, colonne de gauche, alinéa 1; figure 3; tableau 1	1-20
A	WO 99/57137 A (HARVARD COLLEGE [US]; WEITZ CHARLES J [US]; GEKAKIS NICHOLAS [US]; STA) 11 novembre 1999 (1999-11-11)	1-20
A	EP 1 864 997 A (SONY CORP [JP]) 12 décembre 2007 (2007-12-12)	1-20

-/--

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] 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	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
11 mai 2010	26/05/2010

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

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2010/000006

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	KONDRATOV ROMAN V: "A role of the circadian system and circadian proteins in aging" AGEING RESEARCH REVIEWS, vol. 6, no. 1, mai 2007 (2007-05), pages 12-27, XP002545454 ISSN: 1568-1637	1-20
A	TANIOKA MIKI ET AL: "Molecular Clocks in Mouse Skin" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, [Online] vol. 129, no. 5, 27 novembre 2008 (2008-11-27), pages 1225-1231, XP002545455 ISSN: 0022-202X	1-20

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/FR2010/000006

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9957137 A	11-11-1999	AU 3976099 A	23-11-1999
EP 1864997 A	12-12-2007	CN 101151274 A	26-03-2008
		JP 2006273760 A	12-10-2006
		WO 2006104099 A1	05-10-2006
		KR 20080000574 A	02-01-2008
		US 2009292111 A1	26-11-2009