

②2 Date de dépôt : 05.03.10.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 09.09.11 Bulletin 11/36.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS - Etablissement
public — FR et UNIVERSITE DE RENNES 1 — FR.

⑦2 Inventeur(s) : BOUSTIE JOEL, GALIBERT-ANNE
MARIE-DOMINIQUE, LOHEZIC-LE DEVEHAT
FRANCOISE, CHOLLET-KRUGLER MARYLENE et
TOMASI SOPHIE.

⑦3 Titulaire(s) : CENTRE NATIONAL DE LA RECHER-
CHE SCIENTIFIQUE - CNRS - Etablissement public,
UNIVERSITE DE RENNES 1.

⑦4 Mandataire(s) : CABINET PLASSERAUD.

⑤4 ACIDES PARACONIQUES COMME ACTIVATEURS DE PIGMENTATION.

⑤7 L'invention se rapporte à un mélange comprenant de
l'acide protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses
diastéréoisomères ou l'un de ses dérivés, et de l'acide li-
chestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses énantiomè-
res ou l'un de ses dérivés, pour son utilisation pour stimuler
la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

L'invention se rapporte également à des dérivés d'acide
lichestérinique de formule (A).



Acides paraconiques comme activateurs de pigmentation

5 L'invention se rapporte à un mélange comprenant de l'acide protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou l'un de ses dérivés, et de l'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés, pour son utilisation pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

10 L'invention se rapporte également à des composés de formule (A), et leur utilisation pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

15 La couleur de la peau humaine et de ses phanères (cheveux, ongles, poils...) est fonction de différents facteurs et notamment des saisons de l'année, de la race, du sexe et de l'âge. Elle est principalement déterminée par la concentration de mélanine produite par les mélanocytes. Les mélanocytes sont les cellules spécialisées qui, par l'intermédiaire d'organelles particuliers, les mélanosomes, synthétisent la mélanine.

20 On sait que dans la plupart des populations la coloration brune de la peau ou le maintien d'une coloration constante de la chevelure sont des aspirations importantes. Il existe par ailleurs des maladies de la pigmentation, comme par exemple le vitiligo qui est une maladie auto-immune et qui se caractérise par l'apparition de plaques blanches sur la peau liées à un défaut de pigmentation.

25 Il existe donc un réel besoin de disposer d'un produit facilitant et/ou améliorant la pigmentation de la peau et/ou de ses phanères.

30 A cet égard, de nombreuses solutions dans le domaine de la coloration artificielle ont été apportées. En effet, des colorants exogènes ont été synthétisés et sont sensés donner à la peau et/ou aux cheveux une coloration la plus proche possible de la coloration naturelle.

35 D'excellents résultats sont certes obtenus par les solutions proposées dans l'art antérieur, mais il n'en demeure pas moins que la stimulation de la pigmentation de la peau ou de ses phanères par la voie naturelle (mélanogénèse) reste la voie idéale de pigmentation. La découverte de

substances ayant un effet sur la pigmentation de la peau ou de ses phanères
reste un objectif majeur de la recherche dans ce domaine.

5 De manière surprenante, les inventeurs ont maintenant découvert que
certains composés dérivés de lichen stimulent la voie naturelle de
mélanogénèse et donc favorisent la pigmentation de la peau ou de ses
phanères.

10 Ainsi, l'invention a pour objet un mélange comprenant (i) de l'acide
protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou
l'un de ses dérivés, et (ii) de l'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un
de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés (ci-après « mélange »), le ratio
pondéral (i) : (ii) étant compris entre 1 : 4 et 4 : 1, pour son utilisation comme
médicament.

15 En particulier, l'invention a pour objet un mélange comprenant (i) de l'acide
protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou
l'un de ses dérivés, et (ii) de l'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un
de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés (ci-après « mélange »), le ratio
pondéral (i) : (ii) étant compris entre 1 : 4 et 4 : 1, pour son utilisation pour
20 stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères. De préférence, le
mélange dans le ratio pondéral indiqué est utilisé pour traiter les désordres
hypopigmentaires.

L'invention a également pour objet l'utilisation dudit mélange pour préparer
un médicament pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères,
25 de préférence pour traiter les désordres hypopigmentaires.

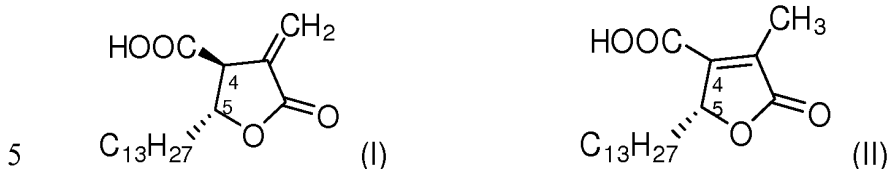
Le mélange selon l'invention peut en outre comprendre de l'acide
dihydrolichestérinique, notamment l'acide roccellarique.

30 Par « phanères », on entend notamment les cheveux, les poils et les ongles.

Dans la présente demande, on entend par « acide protolichestérinique »
l'acide (+)-protolichestérinique, et par « acide lichestérinique » l'acide (+)-
lichestérinique.

35

L'acide (+)-protolichestérinique et l'acide (+)-lichestérinique sont des acides paraconiques (i.e. possédant un cycle α -méthylène- γ -lactone β -substitué par une fonction acide) de formule respective (I) et (II) suivante :



Ces composés sont extraits de lichens, et notamment du lichen *Cetraria islandica* Ach. ou lichen d'Islande.

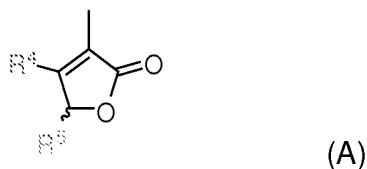
10 L'acide (+)-protolichestérinique (formule (I)) est de configuration $4S,5R$ grâce aux deux carbones asymétriques en positions 4 et 5 du cycle.

L'acide (+)-lichestérinique (formule (II)) est de configuration $5R$ grâce au carbone asymétrique en position 5 du cycle, la double liaison est de type endo.

15 Par « sels » de l'acide protolichestérinique ou de l'acide lichestérinique, on entend les sels de ces composés avec des métaux alcalins tels que le sodium, le potassium ou le lithium, mais aussi les sels de ces composés avec des ions ammonium.

20 Par « diastéréoisomères » de l'acide protolichestérinique, on entend notamment le diastéréoisomère $4R,5S$ de l'acide protolichestérinique. Par « énantiomère » de l'acide lichestérinique, on entend le dérivé énantiomère $5S$ de l'acide lichestérinique.

25 Par « dérivés » de l'acide protolichestérinique ou de l'acide lichestérinique, on entend les esters de ces composés avec le méthanol ou l'éthanol, mais aussi les composés de formule (A) suivante, leurs sels et leurs énantiomères :



30

dans laquelle R^4 représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone, un radical phényle non substitué (Ph), un

radical phénéthyle non substitué (PhCH_2CH_2) ou le groupe COOR où $\text{R} =$ Na, K, Li, NH_4 , H, méthyle ou éthyle,
 et R^5 est choisi parmi un atome d'hydrogène, un radical alkyle en C_1 à C_{13}
 linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, PhCH_2 , PhCH_2CH_2 et $(\text{CH}_2)_{13}\text{COR}^6$ où $\text{R}^6 =$
 5 OCH_3 , OH ou CH_3 , étant entendu que lorsque R^4 représente COOH , alors R^5
 est différent du radical alkyle linéaire $\text{C}_{13}\text{H}_{27}$.

Dans la présente invention, sauf mention contraire, par « radical alkyle ayant
 de 1 à 6 atomes de carbone », on entend les radicaux méthyle, éthyle,
 10 isopropyle, n-propyle, n-butyle, t-butyle et i-butyle. De préférence, le radical
 alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone est un radical n-butyle.

Par « radical alkyle en C_1 à C_{13} linéaire ou ramifié », on entend un radical
 alkyle ayant de 1 à 13 atomes de carbone linéaire ou ramifié, tel que
 15 notamment les radicaux pentyle, nonyle ou tridécyle.

Le mélange selon l'invention est utilisé pour stimuler la pigmentation de la
 peau et/ou des phanères. De préférence, le mélange selon l'invention est
 utilisé pour traiter les désordres hypopigmentaires.

20 Par désordres hypopigmentaires, on entend de préférence le vitiligo, les
 maladies hypopigmentaires génétiques, le pityriasis versicolor, les
 hypopigmentations post-inflammatoires, les hypopigmentations ou
 dépigmentations dues à des greffes de peau, les hypopigmentations ou
 dépigmentations photo-induites, les hypopigmentations ou dépigmentations
 25 post-cicatrisation, les hypopigmentations ou dépigmentations dues au
 vieillissement et la dépigmentation des cheveux.

Le vitiligo est caractérisé par l'apparition de taches blanches sur la peau. Il
 existe deux formes principales : la forme « généralisée » se caractérise par
 30 des plaques à peu près symétriques par rapport à l'axe médian du corps et
 représente presque les neuf dixième des cas. La forme segmentaire est un
 peu plus fréquente chez l'enfant, surtout au niveau du visage, avec une
 progression plus rapide. Dans les stades tardifs, une dépigmentation des
 poils ou des cheveux peut être vue. Cette maladie ne provoque pas de
 35 douleurs physiques mais peut poser des contrariétés d'ordre esthétique.

Par maladies hypopigmentaires génétiques, on entend notamment l'albinisme, le piébalisme (caractérisé par une mèche blanche frontale) ou encore le Xeroderma pigmentosum.

5 L'albinisme est une maladie génétique caractérisée par une absence de pigmentation de la peau, des poils, des cheveux, des yeux, due à l'absence de mélanine. Cette maladie est connue sous plusieurs formes possibles: l'albinisme partiel (Albinisme oculaire) ou l'albinisme total (Albinisme oculocutané). Les albinos ont une vision déficiente et sont sujets à des cancers de la peau s'ils ne sont pas protégés du soleil.

10 Le piébalisme est une maladie autosomique dominante rare. Il se caractérise par une achromie triangulaire ou losangique frontale avec une mèche blanche frontale.

Le Xeroderma pigmentosum, ou maladie dite « des enfants de la Lune », est une maladie génétique autosomique rare qui touche environ 3000 à 4000
15 personnes à travers le monde. Cette maladie pigmentaire épithéliomateuse qui se développe pendant l'enfance augmente d'un facteur 1000 le risque de cancers cutanés multiples. Les enfants atteints de cette pathologie sont extrêmement sensibles à la lumière solaire et ne peuvent survivre qu'au prix de précautions extrêmes.

20 Le pityriasis versicolor est une affection bénigne et fréquente provoquée par la prolifération excessive d'un champignon qui appartient au groupe des levures du genre *Malassezia*. Les levures du genre *Malassezia* résident à la surface de la peau humaine normale et peuvent, chez certains patients,
25 provoquer le pityriasis versicolor, qui se traduit par des taches pigmentées ou dépigmentées du tronc.

Les hypopigmentations post-inflammatoires font suite à certaines atteintes inflammatoires (en particulier les dermatoses bulleuses), aux brûlures et aux
30 infections cutanées, et apparaît sur les cicatrices et les zones de peau atrophique. Bien que la pigmentation soit diminuée, la peau n'est pas nécessairement blanc ivoire et peut finir par se repigmenter spontanément.

De préférence, le désordre hypopigmentaire est le vitiligo.

35 Le mélange selon l'invention comprend (i) de l'acide protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou l'un de ses dérivés, et

(ii) de l'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés, dans un ratio pondéral respectif (i) : (ii) compris entre 1 : 4 et 4 : 1, de préférence compris entre 2 : 3 et 3 : 1, plus préférentiellement compris entre 1 : 1 et 5 : 2.

5

De préférence, le mélange selon l'invention comprend de 20 à 80 % en poids par rapport au poids total du mélange d'acide protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou l'un de ses dérivés, de préférence de 40 % à 60 % en poids.

10

De préférence, le mélange selon l'invention comprend de 20 à 80 % en poids par rapport au poids total du mélange d'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés, de préférence de 40% à 60% en poids.

15

Les ratios pondéraux spécifiques d'acide protolichestérinique, son sel, son diastéréoisomère ou son dérivé et d'acide lichestérinique, son sel, son énantiomère ou son dérivé, tels que décrits ci-dessus, ont un effet synergique stimulant la pigmentation de la peau et/ou des phanères, comme démontré à l'exemple 1.

20

Par « effet synergique » ou « synergie », on entend que le mélange d'acide protolichestérinique, son sel, son diastéréoisomère ou son dérivé et d'acide lichestérinique, son sel, son énantiomère ou son dérivé selon l'invention, a une activité pigmentante supérieure à la somme de l'activité pigmentante de chaque composé pris isolément.

25

De préférence, le mélange selon l'invention comprend de l'acide protolichestérinique et de l'acide lichestérinique.

30

Lorsque le mélange comprend de l'acide dihydrolichestérinique, il comprend cet acide en une quantité comprise entre 1 et 15% en poids par rapport au poids total du mélange, de préférence comprise entre 3 et 10% en poids, de préférence comprise entre 3 et 7% en poids par rapport au poids total du mélange.

35

De préférence, le mélange selon l'invention comprend de l'acide protolichestérinique, de l'acide lichestérinique et de l'acide dihydrolichestérinique.

De préférence, le mélange selon l'invention est constitué de 50 à 70%
5 d'acide protolichestérinique, de 20 à 40% d'acide lichestérinique, et de 3 à 10% d'acide dihydrolichestérinique, les pourcentages étant exprimés en poids par rapport au poids total du mélange.

Le mélange selon l'invention peut être administré par le biais d'une
10 composition par voie orale, par voie systémique ou par voie topique par application sur la peau et/ou les phanères.

Selon le mode d'administration, la composition comprenant le mélange selon l'invention peut se présenter sous toutes les formes galéniques.

De préférence, le mélange selon l'invention est compris dans une
15 composition qui est administrée par voie topique sur la peau et/ou les phanères.

L'acide protolichestérinique, son sel, son diastéréoisomère ou son dérivé selon l'invention, et l'acide lichestérinique, son sel, son énantiomère ou son dérivé selon l'invention peuvent être conditionnés ensemble dans une même
20 composition, ou bien de manière séparée sous forme d'un kit dont les composants seront mélangés extemporanément.

Par voie orale, les compositions peuvent se présenter sous forme de
25 comprimés, de gélules, de dragées, de sirops, de suspensions, de solutions, de poudres, de granulés, d'émulsions, de microsphères ou nanosphères ou vésicules lipidiques ou polymériques permettant une libération contrôlée.

Pour une application topique sur la peau, la composition peut avoir la forme
30 notamment de solution aqueuse ou huileuse ou de dispersion du type lotion ou sérum ; d'émulsion de consistance liquide ou semi-liquide du type lait, obtenue par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse (H/E) ou inversement (E/H) ; d'émulsion de consistance molle du type crème ; de
35 gel aqueux ou anhydre ; ou encore de microcapsules ou microparticules, ou de dispersions vésiculaires de type ionique et/ou non ionique. Ces

compositions sont préparées selon les méthodes usuelles connues de l'homme de l'art.

5 Pour une application topique sur les cheveux, la composition peut avoir la forme de solutions aqueuses, alcooliques ou hydroalcooliques ; de gels ; d'émulsions ; de mousses ; ou encore sous forme de compositions pour aérosol comprenant également un agent propulseur sous pression. La composition selon l'invention peut aussi être une composition de soin capillaire, et notamment un shampooing, une lotion traitante, une crème ou 10 un gel coiffant, ou encore une lotion ou un gel antichute.

Pour une application par voie systémique, la composition peut se présenter sous forme de solution aqueuse ou huileuse ou sous forme de sérum.

15 La composition comprenant le mélange selon l'invention peut comprendre notamment une phase grasse, un émulsionnant, un solvant, un propénétrant ou encore un gélifiant (lipophile ou hydrophile).

20 Lorsque la composition comprend une phase grasse, cette dernière comprend au moins une huile ou une cire.

Comme huiles ou cires utilisables dans l'invention, on peut citer les huiles minérales (huile de vaseline), les huiles végétales (fraction liquide du beurre de karité, huile de tournesol), les huiles animales (perhydrosqualène), les huiles de synthèse (huile de Purcellin), les huiles ou cires siliconées 25 (cyclométhicone), les huiles fluorées (perfluoropolyéthers), les cires d'abeille, de carnauba ou de paraffine, ainsi que les alcools gras et les acides gras (acide stéarique).

30 La composition peut également comprendre au moins un émulsionnant. Cet émulsionnant peut être anionique, cationique, non ionique ou amphotère.

Comme solvants utilisables selon l'invention, on peut citer les alcools inférieurs, notamment l'éthanol et l'isopropanol, et les propylènes glycols.

35 Comme propénétrants utilisables selon l'invention, on peut citer les glycols, notamment le 1,2-propanediol (ou propylène glycol) et les polyéthylènes glycols.

Comme gélifiants hydrophiles utilisables dans l'invention, on peut citer les polymères carboxyvinylques (carbomer), les copolymères acryliques tels que les copolymères d'acrylates/alkylacrylates, les polyacrylamides, les polysaccharides tels que l'hydroxypropylcellulose, les gommages naturelles et les argiles, et, comme gélifiants lipophiles, on peut citer les argiles modifiées comme les bentones, les sels métalliques d'acides gras comme les stéarates d'aluminium et la silice hydrophobe, l'éthylcellulose, le polyéthylène.

10 Selon l'invention la composition peut associer le mélange à d'autres agents actifs.

Parmi ces agents actifs, on peut citer à titre d'exemple:

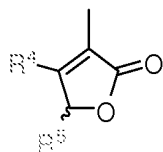
- les agents autobronzants comme la dihydroxyacétone (DHA) ou l'érythrulose;
- 15 - les agents améliorant l'activité sur la repousse et/ou sur le freinage de la chute des cheveux, et ayant déjà été décrits pour cette activité comme par exemple le minoxidil, l'aminexil, les esters d'acide nicotinique, dont notamment le nicotinate de tocophérol, le nicotinate de benzyle et les nicotinates d'alkyles en C1-C6 comme les nicotinates de méthyle ou d'hexyle;
- 20 - les agents anti-inflammatoires stéroïdiens, tels que l'hydrocortisone, le valérate de bétaméthasone ou le propionate de clobétasol, ou les agents anti-inflammatoires non-stéroïdiens comme par exemple l'ibuprofène et ses sels, le diclofénac et ses sels, l'acide acétylsalicylique, l'acétaminophène ou l'acide glycyrrhizique;
- 25 - les agents antifongiques tels que le kétoconazole, le sulfure de sélénium, l'itraconazole ou le fluconazole;
- les agents antiprurigineux comme la thénaldine, la triméprazine ou la cyproheptadine.

30 La composition peut comprendre également des adjuvants classiques, tels que les conservateurs, les antioxydants, les parfums, les charges, les absorbeurs d'odeur et les matières colorantes.

Les quantités de ces différents adjuvants sont celles classiquement utilisées, et par exemple de 0,01 % à 20 % en poids par rapport au poids total de la composition.

35

En plus du mélange ci-dessus et ses applications, l'invention a également pour objet un composé de formule (A), son sel ou son énantiomère :



(A)

- 5 dans laquelle R^4 représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone, un radical phényle non substitué, un radical phénéthyle non substitué ou un groupe COOR où $R = Na, K, Li$ ou NH_4, H , méthyle ou éthyle, étant entendu que :
- 10 lorsque R^4 représente un atome d'hydrogène, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_{10} ou C_{12} linéaire ou ramifié, $CH_2C\equiv CH$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- lorsque R^4 représente un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone, de préférence un radical n-butyle, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle
- 15 en C_2, C_3 ou C_5 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, $PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- lorsque R^4 représente un radical phénéthyle non substitué, alors R^5 est choisi parmi H, un radical alkyle en C_1 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, $PhCH_2$, $PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- 20 lorsque R^4 représente un radical phényle non substitué, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_3 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, $PhCH_2$, $PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- lorsque R^4 représente COONa, alors R^5 est choisi parmi H, un radical alkyle en C_1 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, $PhCH_2$, $PhCH_2CH_2$ et
- 25 $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- lorsque R^4 représente COOH, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_2 à C_4 ou C_6, C_7, C_9, C_{10} ou C_{12} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, $PhCH_2$, $PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3$ ou OH ;
- lorsque R^4 représente $COOCH_3$, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en
- 30 C_2 à C_4 ou C_6 à C_{12} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , $PhCH_2$, $PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3$ ou OH ; et
- lorsque R^4 représente $COOCH_2CH_3$, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_2 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, $PhCH_2$, $PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 .

De tels composés peuvent être incorporés dans une composition pharmaceutique ; aussi l'invention a pour objet une composition pharmaceutique comprenant, dans un véhicule physiologiquement acceptable, au moins un tel composé.

5

Par « véhicule physiologiquement acceptable », on entend un véhicule compatible avec la peau, les muqueuses et les phanères.

10

L'invention a également pour objet un composé de formule (A), son sel ou son énantiomère, dans laquelle R^4 représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone, notamment un radical n-butyle, un radical phényle non substitué, un radical phénéthyle non substitué ou le groupe COOR où $R = Na, K, Li, NH_4, H$, méthyle ou éthyle, et R^5 est choisi parmi un atome d'hydrogène, un radical alkyle en C_1 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, $PhCH_2$, $PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 , étant entendu que lorsque R^4 représente $COOH$, alors R^5 est différent du radical alkyle linéaire $C_{13}H_{27}$,

15

pour son utilisation comme médicament. De préférence, un tel dérivé est utilisé pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

20

Plusieurs procédés seront envisagés selon la nature des radicaux R^4 et R^5 des composés de formule (A). Le procédé ci-dessous décrit à la fois la synthèse énantiosélective des composés de formule (A) mais aussi la synthèse du dérivé protolichestérinique correspondant avec $R^4 = COOR$ où $R = Na, H, CH_3$ ou C_2H_5 et $R^5 =$ radical alkyle C_1 - C_{13} linéaire ou ramifié :

25

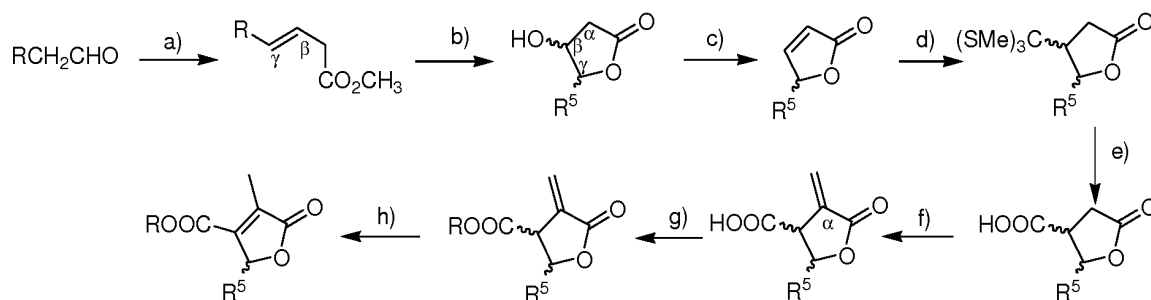
Il s'agit d'une synthèse énantiosélective en 8 étapes dont les 6 premières (étapes **a-f**) sont décrites par S. Braukmüller et R. Brückner, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2110-2118. L'énantiocontrôle est imposé par les étapes **b** et **d**. La condensation de l'aldéhyde sur l'hydrogénomalonate de méthyle (étape **a**) conduit à un ester carboxylique *trans* β,γ -insaturé. Une dihydroxylation asymétrique de Sharpless permet l'obtention d'une β -hydroxy- γ -lactone énantiopure (étape **b**). Après déshydratation (étape **c**) et une *trans*-addition sélective du tris(méthylthio)méthane (étape **d**), le composé est converti en acide paraconique (étape **e**). L' α -activation en présence de carbonate de méthyle magnésium suivie d'une méthylénation decarboxylative conduit au

30

35

dérivé de l'acide (+) ou (-) protolichestérinique (étape **f**). Une estérification (étape **g**) suivie d'une isomérisation de la double liaison exo en endo en présence de quantité catalytique de chlorure de rhodium conduit à certains dérivés de formule (A) (étape **h**).

5



- 10 **a)** $HOOCCH_2CO_2C_2H_5$ (1.0 eq), NEt_3 (1.0 eq), $90^\circ C$, 3 h;
b) AD mix- α ® ou AD mix- β ®, $MeSO_2NH_2$ (1.0 eq), $t-BuOH/H_2O$ (1:1), $0^\circ C$, 40 h ;
c) $MsCl$ (1.1 eq), NEt_3 (2.1 eq), CH_2Cl_2 , $0^\circ C$, 15 min;
d) $HC(SMe)_3$ (1.1 eq), THF, $-78^\circ C$, $nBuLi$ (1.1 eq), 2–2.5 h; addition du furanone, 1.5–2 h;.
15 **e)** HgO (5.0 eq), THF/ H_2O (4:1), $BF_3 \cdot OEt_2$ (15 eq), TA 2.5 h ;
f) (i) $MeOMg[O(C=O)Ome]$ (38 eq) dans le DMF, $135-140^\circ C$, 70 h, isolement du brut ; (ii) brut, $HOAc/NaOAc/formalin$ (= 35–40% aq. Solution of formaldehyde)/N-methylaniline (excès; 4:0.03:3:1), TA., 2 h;
20 **g)** CH_3OH (1.0 eq) ou C_2H_5OH (1.0 eq), H_2SO_4 (1 eq), CH_2Cl_2 , 18 h;
h) si $R = H$: NEt_3 , DMF, 18h, si $R = CH_3, C_2H_5$: $RhCl_3 \cdot x H_2O$ (0.1 eq), $EtOH/H_2O$ (10:1), $65^\circ C$, 18h.

- 25 L'invention a également pour objet l'utilisation cosmétique d'un mélange comprenant (i) de l'acide protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou l'un de ses dérivés, et (ii) de l'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés, dans un ratio pondéral (i) : (ii) compris entre 1 : 4 et 4 : 1, comme agent pour
30 stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

L'invention a enfin pour objet l'utilisation cosmétique d'un composé de formule (A) comme agent pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

5 Bien entendu, l'homme du métier veille à ne pas introduire des composés dans la composition utilisée dans la présente invention d'une manière telle que ces derniers contreviennent à l'effet technique désiré, objet de la présente invention.

10 On va maintenant donner à titre d'illustration des exemples qui ne sauraient limiter en aucune façon la portée de l'invention.

15 **EXEMPLE 1 : Activité pigmentante in vitro du mélange d'acide protolichestérinique (APL (+)) et d'acide lichestérinique (AL (+))**

Protocole : Le contenu en mélanine des cellules B16 murine est déterminé par spectrophotométrie.

Les cellules sontensemencées en boîte de Pétri de 10 cm à une densité de

20 1×10^6 par boîte et sont traitées toutes les 24 heures pendant 72 heures, avec la dose définie de molécule lichénique purifiée, solubilisée dans du DMSO. Après dilution la concentration finale de DMSO n'excède pas 0.1% ce qui correspond à la solution témoin indiquée DMSO dans la figure 1.

Après traitement, les cellules sont lavées 2 fois avec du PBS et récupérées

25 par un traitement à la trypsine. Le nombre de cellules récupérées est estimé par comptage à l'aide d'un hémodécomètre. Une fraction est utilisée pour déterminer le contenu en mélanine et une seconde pour la concentration en protéine. Le contenu en mélanine est déterminé par l'absorbance à 405 nm (VersaMax Microplate Reader, Molecular Devices, USA) de la solution

30 cellulaire après solubilisation de la mélanine par de la soude 1M, pendant 15min à 80°C. La concentration en protéine est déterminée selon le protocole du kit « DC Protein Assay » développé par les laboratoires Bio-Rad, USA. Pour chaque échantillon traité, le contenu en mélanine est rapporté à la quantité de protéine et exprimé en pourcentage par rapport à la

35 situation contrôle (solution DMSO seule). Chaque mesure est réalisée en triplicata et chaque expérience est réalisée indépendamment un minimum de 3 fois.

La Figure 1 rassemble les résultats. Cette figure 1 montre le contenu en mélanine des cellules B16 traitées pendant 72h en présence de molécules lichéniques purifiées (APL (+) et AL(+)) ou semi-purifiées (précipité =
 5 Mélange APL/AL/acide roccellarique, ci-après ADL : 65/30/5 en poids, donc ratio pondéral de 13 : 6 : 1) et d'un témoin positif, l'acide glycyrrhizique
 En abscisse figurent les molécules testées avec leurs concentrations exprimées en μM .
 En ordonnée, le contenu en mélanine est exprimé en pourcentage par
 10 rapport au témoin (DMSO seul = concentration de 0.1%).

Les résultats montrent que :

- l'acide protolichestérinique seul à $0,5\mu\text{M}$ a un effet dépigmentant (72% de pigmentation par rapport au contrôle, soit 28% de dépigmentation) ;
- 15 - l'acide lichestérinique seul à $5\mu\text{M}$ a un effet pro-pigmentant modéré (26% de pigmentation) ;
- le mélange d'acide protolichestérinique et d'acide lichestérinique a un effet pro-pigmentant important (85% de pigmentation), qui est opposé à celui de
 20 l'acide protolichestérinique seul, et 3 à 4 fois plus important que celui de l'acide lichestérinique seul.

Les résultats obtenus démontrent donc l'activité synergique du mélange selon l'invention.

25

EXEMPLE 2 : Evaluation in vitro de l'activité tyrosinase induite par le mélange d'acide protolichestérinique et d'acide lichestérinique

30 Protocole : L'activité enzymatique de l'enzyme tyrosinase endogène est déterminée par la mesure à 450 nm de la quantité de substrat DOPA oxydé en DOPAchrome. Comme précédemment les cellules sontensemencées en boîte de Pétri de 10 cm à une densité de 1×10^6 par boîte et sont traitées toutes les 24 heures pendant 72 heures, avec la dose définie de molécule
 35 lichénique purifiée et solubilisée dans du DMSO. Après dilution la concentration finale de DMSO n'excède pas 0.1%, ce qui correspond à la solution contrôle où aucun produit n'a été ajouté. Après traitement, les

cellules sont lavées 2 fois avec du PBS et récupérées par un traitement à la trypsine. Le nombre de cellules récupérées est estimé par comptage à l'aide d'un hémocytomètre. La lyse des cellules est obtenue par addition d'une solution de Triton X-100 (1% dans du PBS 1x). Un millilitre d'une solution de L-DOPA (1ml à 10mM), préparée extemporanément est additionné à chaque échantillon de lysat cellulaire (400 µl) et incubé dans le noir à 37°C sur une cinétique de temps de 30 min à 8h. La quantité de DOPAchrome formé est mesurée par spectrophotométrie à 450nm (Labsystems multiskan RC). La quantité de DOPAchrome formée corrèle avec l'activité enzymatique de l'enzyme tyrosinase. Chaque mesure est réalisée en triplicata et chaque expérience est réalisée indépendamment un minimum de 3 fois.

La Figure 2 rassemble les résultats. Cette figure 2 correspond à la mesure de l'activité enzymatique de l'enzyme tyrosinase endogène en présence de l'acide lichestérinique, du mélange APL/AL/ADL : 65/30/5 – ratio pondéral de 13 : 6 : 1 – (= mixture), de l'acide glycyrrizique (témoin positif) et avec le solvant de dilution seul (= contrôle).

En abscisse figure le temps de contact des produits avant la mesure de DOPAchrome formé pour chacun des essais.

En ordonnée, le pourcentage de DOPAchrome généré par rapport au témoin (DMSO seul à 0.1%), reflète l'activité enzymatique de la tyrosinase.

Pour chaque temps (30min, 1h, 4h et 8h), les premiers histogrammes correspondent au contrôle, les deuxièmes à l'acide glycyrrhizique, les troisièmes au mélange APL/AL/ADL (65/30/5), et les quatrièmes à l'acide lichestérinique seul.

EXEMPLE 3 : Evaluation in vivo de l'activité pigmentante du mélange d'acide protolichestérinique et d'acide lichestérinique

L'activité pigmentante du mélange d'acide protolichestérinique, d'acide lichestérinique et d'acide roccellarique (ratio pondéral 13 : 6 : 1) a été évaluée in vivo par application topique.

Protocole : Application topique du mélange d'acide protolichestérinique, d'acide lichestérinique et d'acide roccellarique à raison de deux applications par jour sur une période de trois semaines. Le mélange d'acide

protolichestérinique, d'acide lichestérinique et d'acide roccellarique est en solution à une concentration finale de 5µM, dans du propylène glycol. L'analyse par RT-PCR quantitative est réalisée selon les protocoles validés par le laboratoire (Corre et al JID 2005, Mouchet et al soumis), à l'aide de la technologie SYBR Green TM PCR Master Mix (Applied Biosystems) et le 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Le niveau de transcrits des gènes étudiés est déterminé par la méthode des delta-deltaCt. Il s'agit d'une quantification relative par rapport au contrôle interne (le 18S) et la situation contrôle (excipient seul).

Les résultats sont présentés aux Figures 3A et 3B.

En figure 3A est illustrée l'induction de la pigmentation après application topique sur souris de fond génétique C57BL/6N – 129Sv1/J préalablement rasée sur la partie dorsale (2 applications 3 fois par semaine), du mélange d'acide protolichestérinique, d'acide lichestérinique et d'acide roccellarique (65/30/5) sur la partie dorsale en « o » et du contrôle (excipient seul) en « @ ».

La figure 3B montre l'analyse par RT-PCR quantitative des niveaux de transcrits de gènes impliqués dans le processus de pigmentation, après application topique du mélange d'acide protolichestérinique, d'acide lichestérinique et d'acide roccellarique (ratio pondéral 13 : 6 : 1). En abscisse figurent les transcrits des gènes testés. En ordonnée, le niveau de transcrit de la zone « o » est exprimé en niveau d'induction par rapport à la situation contrôle « @ » (excipient seul) et après normalisation par le contrôle interne (18S).

Les gènes testés codent pour des enzymes de la pigmentation (Tyr : Tyrosinase, Dct : Dopachrome tautomerase, TRP1 : tyrosinase related protein 1) ; pour des acteurs amonts de la pigmentation (POMC : Proopiomelanocortine, MC1R : melanocortin receptor 1); des facteurs de transcription impliqués dans la régulation de l'expression des gènes de la pigmentation (USF1 : Upstream Stimulating Factor 1) et pour un gène de la réponse aux dommages de l'ADN (GADD45). Seuls les transcrits des gènes de la pigmentation, Tyr, Trp1, Dct, et MC1R sont significativement augmentés. Le transcrit du gène GADD45 n'est pas affecté.

EXEMPLE 4 : Formulation selon l'invention

- 5 On prépare un mélange d'acide protolichestérinique, d'acide lichestérinique et d'acide dihydrolichestérinique (ou roccelarique) dans un ratio pondéral respectif 13 : 6 : 1.
- Ce mélange est incorporé dans du propylène glycol (ou 1,2-propanediol) à une concentration finale de 5 μ M.

10

REVENDEICATIONS

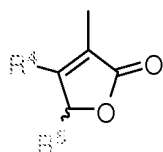
- 5 1. Mélange comprenant (i) de l'acide protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou l'un de ses dérivés, et (ii) de l'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés, dans un ratio pondéral (i) : (ii) compris entre 1 : 4 et 4 : 1, pour son utilisation comme médicament.
- 10 2. Mélange selon la revendication 1, pour son utilisation pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.
- 15 3. Mélange selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que le ratio pondéral (i) : (ii) est compris entre 2 : 3 et 3 : 1, plus préférentiellement compris entre 1 : 1 et 5 : 2.
- 20 4. Mélange selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il comprend (i) de l'acide protolichestérinique ou son sel de sodium, son sel de potassium, son sel de lithium, son sel d'ammonium, ou son diastéréoisomère *4R,5S* ou l'un de ses dérivés, et (ii) de l'acide lichestérinique ou son sel de sodium, son sel de potassium, son sel de lithium, son sel d'ammonium, ou son énantiomère *5S* ou l'un de ses dérivés.
- 25 5. Mélange selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il comprend de l'acide protolichestérinique et de l'acide lichestérinique.
- 30 6. Mélange selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend en outre de l'acide dihydrolichestérinique.
- 35 7. Mélange selon l'une des revendications 1 à 6, pour son utilisation dans le traitement d'un désordre choisi parmi le vitiligo, les maladies hypopigmentaires génétiques, le pityriasis versicolor, les hypopigmentations post-inflammatoires, les hypopigmentations ou dépigmentations dues à des greffes de peau, les hypopigmentations ou dépigmentations photo-induites, les hypopigmentations ou dépigmentations post-cicatrisation, les hypopigmentations ou

dépigmentations dues au vieillissement et la dépigmentation des cheveux.

- 5 8. Utilisation cosmétique d'un mélange comprenant (i) de l'acide protolichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses diastéréoisomères ou l'un de ses dérivés, et (ii) de l'acide lichestérinique ou l'un de ses sels ou l'un de ses énantiomères ou l'un de ses dérivés, dans un ratio pondéral compris entre 1 : 4 et 4 : 1, comme agent pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

10

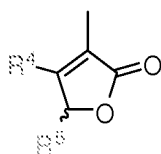
9. Composé choisi parmi les composés de formule suivante (A), leurs sels et leurs énantiomères :



(A)

- 15 dans laquelle R^4 représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone, un radical phényle non substitué, un radical phénéthyle non substitué ou un groupe COOR où $R = Na, K$ ou Li ou NH_4, H , méthyle ou éthyle, étant entendu que :
- 20 lorsque R^4 représente un atome d'hydrogène, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_{10} ou C_{12} linéaire ou ramifié, CH_2CCH et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- lorsque R^4 représente un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone, de préférence un radical n-butyle, alors R^5 est choisi parmi un radical
- 25 alkyle en C_2, C_3 ou C_5 à C_{13} linéaire ou ramifié, $CH_2CCH, Ph, PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- lorsque R^4 représente un radical phénéthyle non substitué, alors R^5 est choisi parmi H , un radical alkyle en C_1 à C_{13} linéaire ou ramifié, $CH_2CCH, Ph, PhCH_2, PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;
- 30 lorsque R^4 représente un radical phényle non substitué, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_3 à C_{13} linéaire ou ramifié, $CH_2CCH, Ph, PhCH_2, PhCH_2CH_2$ et $(CH_2)_{13}COR^6$ où $R^6 = OCH_3, OH$ ou CH_3 ;

- lorsque R^4 représente COONa , alors R^5 est choisi parmi H, un radical alkyle en C_1 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, PhCH_2 , PhCH_2CH_2 et $(\text{CH}_2)_{13}\text{COR}^6$ où $R^6 = \text{OCH}_3$, OH ou CH_3 ;
- lorsque R^4 représente COOH , alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_2 à C_4 ou C_6 , C_7 , C_9 , C_{10} ou C_{12} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, PhCH_2 , PhCH_2CH_2 et $(\text{CH}_2)_{13}\text{COR}^6$ où $R^6 = \text{OCH}_3$ ou OH ;
- lorsque R^4 représente COOCH_3 , alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_2 à C_4 ou C_6 à C_{12} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , PhCH_2 , PhCH_2CH_2 et $(\text{CH}_2)_{13}\text{COR}^6$ où $R^6 = \text{OCH}_3$ ou OH ; et
- lorsque R^4 représente $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, alors R^5 est choisi parmi un radical alkyle en C_2 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, PhCH_2 , PhCH_2CH_2 et $(\text{CH}_2)_{13}\text{COR}^6$ où $R^6 = \text{OCH}_3$, OH ou CH_3 .
10. Composé selon la revendication 9, caractérisé en ce que le radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone est choisi parmi les radicaux méthyle, éthyle, isopropyle, n-propyle, n-butyle, i-butyle et t-butyle, de préférence un radical n-butyle.
11. Composition pharmaceutique comprenant, dans un véhicule physiologiquement acceptable, au moins un composé selon la revendication 9 ou 10.
12. Composé choisi parmi les dérivés de formule (A), leurs sels et leurs énantiomères :



(A)

- dans laquelle R^4 représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone, un radical phényle non substitué, un radical phénéthyle non substitué ou le groupe COOR , où $R = \text{Na}$, K , Li , NH_4 , H, méthyle ou éthyle,
- et R^5 est choisi parmi un atome d'hydrogène, un radical alkyle en C_1 à C_{13} linéaire ou ramifié, CH_2CCH , Ph, PhCH_2 , PhCH_2CH_2 et $(\text{CH}_2)_{13}\text{COR}^6$ où $R^6 = \text{OCH}_3$, OH ou CH_3 ,

étant entendu que lorsque R^4 représente COOH , alors R^5 est différent du radical alkyle linéaire $\text{C}_{13}\text{H}_{27}$, pour son utilisation comme médicament.

- 5 13. Composé selon la revendication 12 pour son utilisation pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.
- 10 14. Utilisation cosmétique d'un composé selon l'une des revendications 9 ou 10 comme agent pour stimuler la pigmentation de la peau et/ou des phanères.

1/3

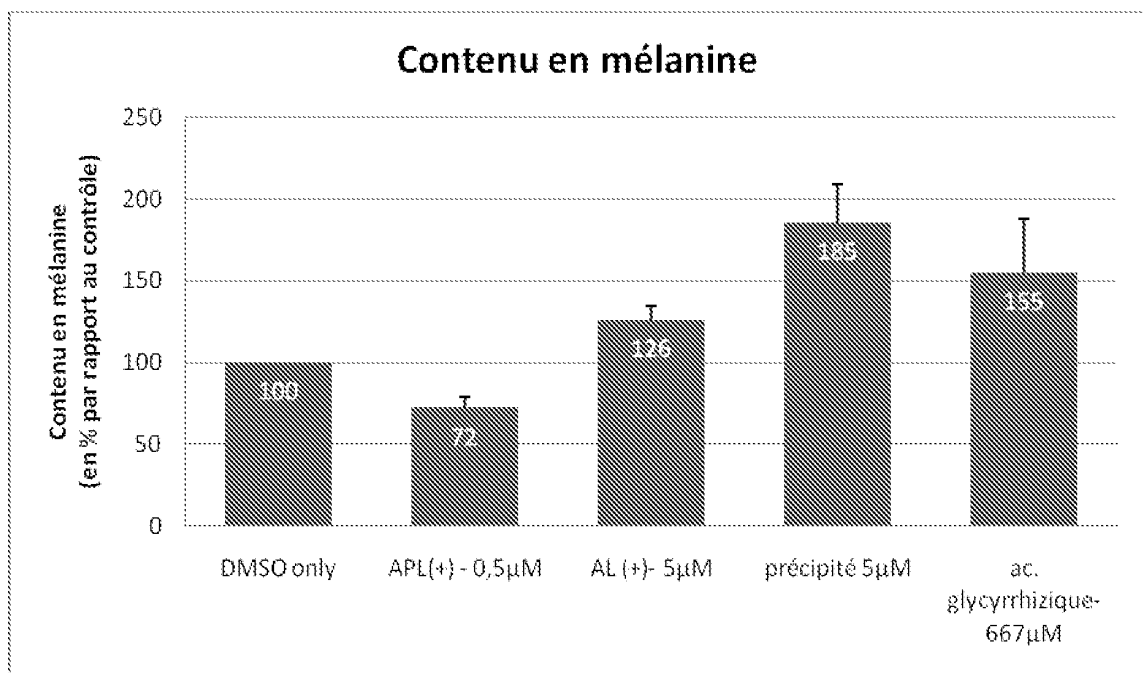


Figure 1

2/3

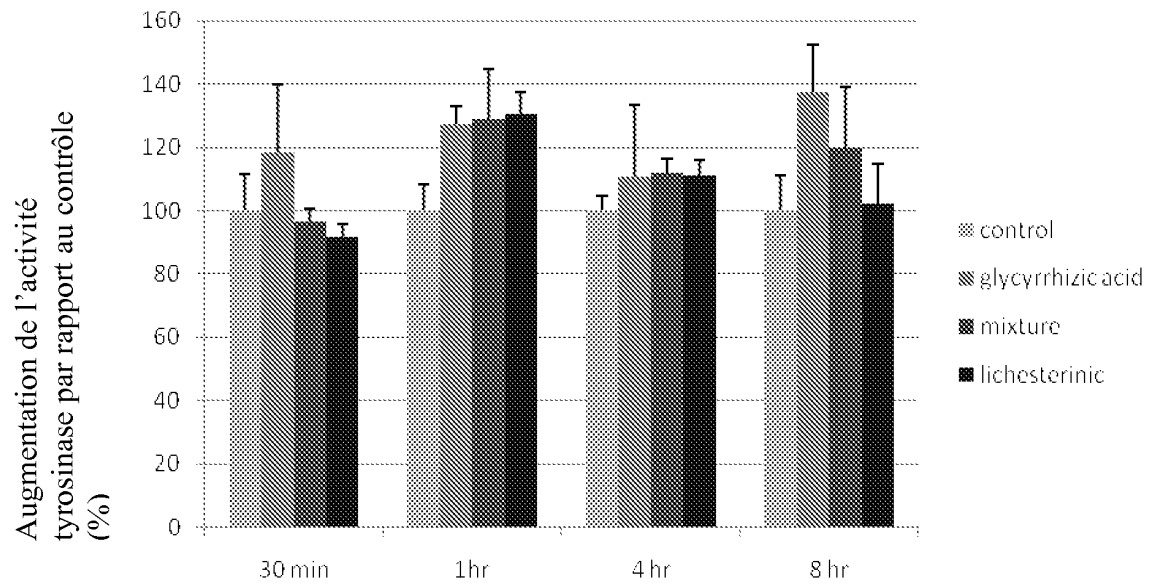


Figure 2

5

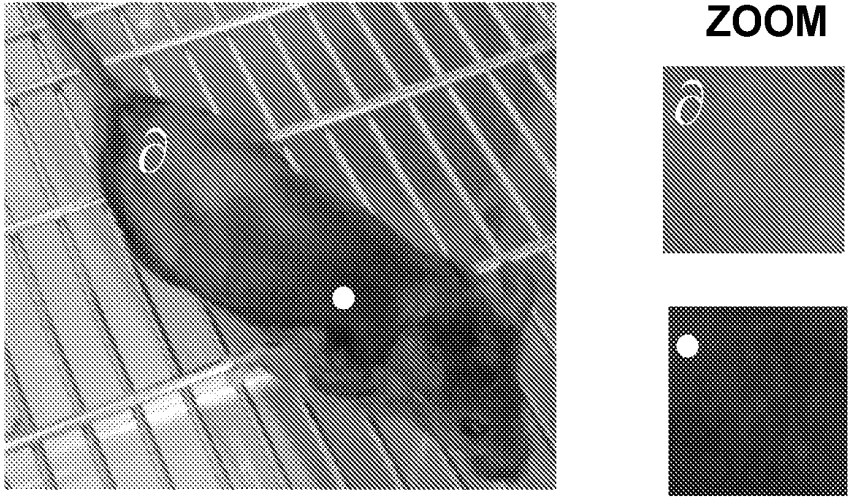


Figure 3A

10

15

20

25

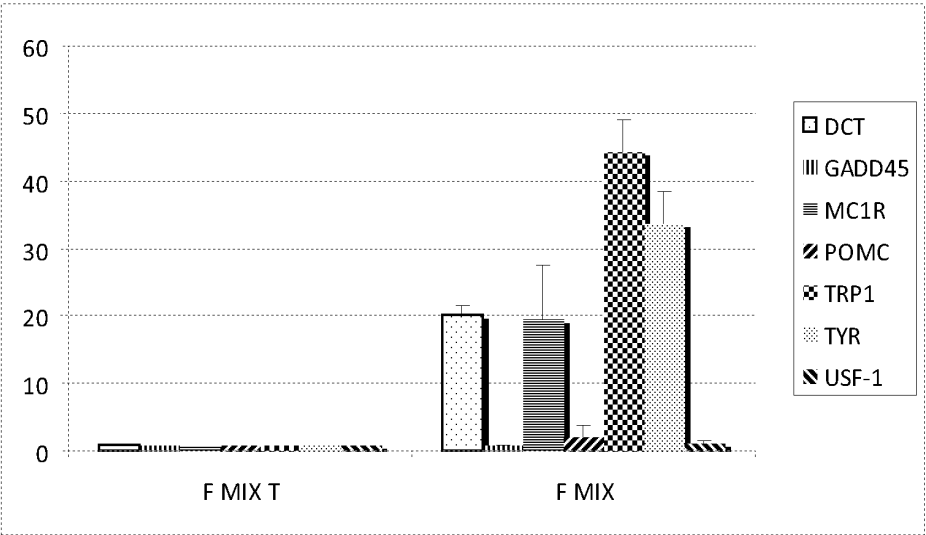


Figure 3B



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 735350
FR 1051622

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	MULLER K: "Pharmaceutically relevant metabolites from lichens" APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY 2001 DE LNKD- DOI:10.1007/S002530100684, vol. 56, no. 1-2, 2001, pages 9-16, XP002602593 ISSN: 0175-7598 * page 10, colonne 2, alinéa 1 - alinéa 4 *	1	C07D307/58 A61K31/341 A61K8/49 A61Q19/04 A61P17/00 A61K31/365+M C07D307/33 C07D307/36
X	CAVALLITO C J ET AL: "Lactone aliphatic acids as antibacterial agents" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY 1948 LNKD- DOI:10.1021/JA01191A052, vol. 70, no. 11, 1948, pages 3724-3726, XP002602594 ISSN: 0002-7863 * page 1, colonne 1, alinéa 1 - page 2, colonne 1 * ----- -/--	1	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K C07D
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
28 septembre 2010		Leherte, Chantal	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 735350
FR 1051622

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	Liberge G.: "Synthèse de molécules nouvelles à potentialités thérapeutiques dans le traitement des troubles du métabolisme (diabète, obésité, prise alimentaire) et du cancer"[Online] 29 octobre 2004 (2004-10-29), pages 1-67,151-155, XP002602595 Université des Sciences et Technologies de Lille - Thèse Extrait de l'Internet: URL:https://iris.univ-lille1.fr/dspace/bitstream/1908/781/1/50376-2004-99-100.pdf> [extrait le 2010-09-16] * page 32; tableau 4 * * page 33, alinéa 5 - page 34 * * page 39, alinéa 1 - alinéa 2 * * page 50; tableau 1 * * page 58 * * page 153 *	9-12	
X	WO 2004/006835 A2 (FASGEN LLC [US]; UNIV JOHNS HOPKINS [US]; KUHADJA FRANCIS P [US]; MEDG) 22 janvier 2004 (2004-01-22) * page 17, ligne 6 - ligne 14; revendications 22, 35 *	9-12	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
28 septembre 2010		Leherte, Chantal	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1051622 FA 735350

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **28-09-2010**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2004006835 A2	22-01-2004	AU 2003248810 A1	02-02-2004
		CA 2491183 A1	22-01-2004
		CN 1705478 A	07-12-2005
		CN 101633650 A	27-01-2010
		EP 1534263 A2	01-06-2005
		HK 1086485 A1	31-12-2009
		JP 2005533107 T	04-11-2005
		KR 20050072670 A	12-07-2005
		MX PA05000152 A	24-10-2005
		ZA 200500203 A	30-09-2009
