

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 727 412

②① N° d'enregistrement national : **94 14229**

⑤① Int Cl[®] : C 07 D 311/72, C 12 P 7/64, A 61 K 7/46, 31/355

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 28.11.94.

③⑦ Priorité :

⑦① Demandeur(s) : LABORATOIRES DE BIOLOGIE
VEGETALE YVES ROCHER — FR et PROSPECTION
DE LA FILIERE LIPIDES — FR.

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : 31.05.96 Bulletin 96/22.

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

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

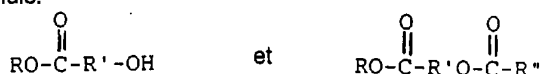
⑦② Inventeur(s) : YVERGNAUX FLORENT, BONNEFOY
ISABELLE, CALLEGARI JEAN PIERRE, COUTABLE
JOCELYN, SCOTT DE MARTINVILLE ANNE MARIE
et KHAIAT ALAIN.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire : CABINET LAVOIX.

⑤④ COMPOSES DE TYPE HYDROXYESTER ET DERIVES, PROCEDE DE PREPARATION ET APPLICATIONS.

⑤⑦ L'invention concerne des composés contenant un,
deux ou trois principes actifs. Ces composés ont pour for-
mule:



dans laquelle

le radical R correspond au fragment R d'un principe actif
de type alcool organique de formule ROH, et

le radical R' correspond au fragment R' d'un hydroxy-
acide de formule HO-R'-COOH, ledit hydroxyacide repré-
sentant éventuellement un principe actif et,

le radical R'' correspond au fragment R'' d'un principe ac-
tif de type acide gras de formule R'' COOH, où R'' repré-
sente une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée, li-
néaire ou ramifiée en C₈-C₃₀,

lesdits principes actifs étant d'origine naturelle ou de syn-
thèse, chimique ou enzymatique.

Ces composés trouvent une application notamment dans
le domaine pharmaceutique et cosmétique.

FR 2 727 412 - A1



La présente invention concerne des composés à un ou deux principes actifs, de type hydroxyester, leur procédé de préparation ainsi que des compositions les contenant.

5 Selon un autre aspect, l'invention concerne des composés à deux ou trois principes actifs, de type diester, pouvant être obtenus à partir des composés de type hydroxyester de l'invention, leur procédé de préparation ainsi que des compositions les contenant.

10 Les composés de type diester de l'invention, à deux ou trois principes actifs, peuvent être préparés simplement à partir d'un premier principe actif de type alcool organique, d'un hydroxyacide représentant éventuellement un second principe actif et d'un dernier
15 principe actif de type acide gras. Les composés de type hydroxyester de l'invention, à un ou deux principes actifs, résultent par exemple de la condensation du premier principe actif de type alcool organique sur un hydroxyacide représentant éventuellement un second
20 principe actif.

Par principe actif, on entend selon l'invention, des composé utilisés comme ingrédients lors de la préparation de compositions pharmaceutiques, parapharmaceutiques, cosmétiques, de parfums ou bien de compositions
25 tions destinées à l'industrie agro-alimentaire, à l'exception des composés faisant fonction de charge, diluant ou véhicule dans la mesure où ces derniers composés ne présentent aucune activité particulière.

Les composés de l'invention répondent à un
30 besoin de l'état de la technique :

En effet, on a longtemps déploré l'oxydation

de nombreux ingrédients couramment utilisés dans les domaines pharmaceutiques, parapharmaceutiques, cosmétiques, les domaines de l'agro-alimentaire et des parfums, et plus encore l'oxydation des principes actifs de type
 5 acide gras polyinsaturé.

Une telle oxydation des principes actifs limite l'aptitude au stockage de ces ingrédients et conduit à la préparation de compositions également peu stables à l'oxydation, c'est-à-dire devant être conser-
 10 vées sous vide et rapidement utilisées après mise à l'air.

Suite à de nombreuses recherches, les inventeurs ont pu mettre au point les composés de l'invention, lesquels sont dotés d'une excellente stabi-
 15 lité à l'oxydation. Parmi ces composés, ceux réunissant deux, voire trois principes actifs sont plus particulièrement avantageux dans la mesure où ils permettent la préparation de compositions homogènes tout en favorisant l'accessibilité de chaque principe actif au niveau du
 20 point d'application ou du site de traitement ciblé.

L'invention vise donc en premier lieu des composés à un ou deux principes actifs, de type hydroxyester, de formule I



dans laquelle

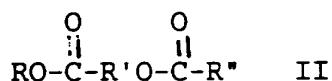
le radical R correspond au fragment R d'un principe actif de type alcool organique de formule ROH, et,

le radical R' correspond au fragment R' d'un hydroxyacide
 30 de formule

$\text{HO}-\text{R}'-\text{COOH}$, ledit hydroxyacide représentant éventuellement un principe actif,

lesdits principes actifs étant d'origine naturelle ou de synthèse, chimique ou enzymatique.

L'invention vise également des composés à deux ou trois principes actifs, de type diester de
5 formule II



dans laquelle R et R' ont la même définition que ci-dessus et le radical R'' correspond au fragment R'' d'un
10 principe actif de type acide gras de formule R''COOH où R'' représente une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée, en C₈-C₃₀, de préférence C₁₅-C₂₂, mieux encore C₁₈-C₂₂, ledit principe actif étant
15 d'origine naturelle ou de synthèse, chimique ou enzymatique.

Il doit être entendu que l'expression principe actif telle qu'utilisée dans le cadre de l'invention se rapporte à tout type d'ingrédient susceptible d'être incorporé à une composition pharmaceutique,
20 parapharmaceutique ou cosmétique, à un parfum ou bien encore à une composition destinée à l'industrie agro-alimentaire. Seuls ne sont pas englobés par cette expression, les ingrédients de type solvant, diluant ou charge. Comme exemples de principes actifs, on peut citer
25 les composés présentant une activité pharmacologique ou cosmétique, les arômes, les colorants et les vitamines mais également les additifs de type lubrifiant, édulcorant, stabilisant, correcteur de goût, agent de gonflement, adoucissant, antioxydant, filtre solaire, gélifiant,
30 fiant, conservateur, hydratant, émollient, calmant, restructurant, rafraîchissant, nourrissant et similaires.

Les principes actifs utilisés selon l'invention tout en répondant à cette définition sont en outre

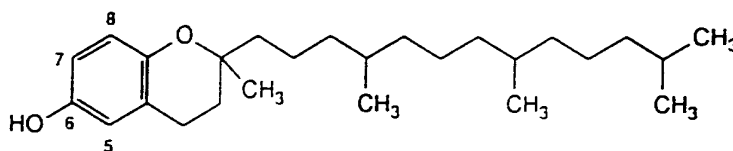
caractérisés par leur structure chimique : ne sont en effet sélectionnés que les principes actifs de type alcool organique, de type hydroxyacide et de type acide gras en C_8-C_{30} .

5 Aucune limitation supplémentaire concernant la nature desdits principes actifs n'est préconisée dans l'invention, ceux-ci pouvant être d'origine naturelle ou de synthèse.

10 Selon l'invention, l'alcool de formule ROH dont dérivent les composés de formule I et II est un principe actif mono- ou polyhydroxylé. En guise d'alcool organique, on peut citer les stérols, l'alcool benzylique et ses dérivés, certains de ces composés étant utilisables comme conservateurs anti-microbien.

Des exemples d'alcools organiques monohydroxylés sont les vitamines D, E et leurs dérivés.

20 Parmi les dérivés de la vitamine E, on compte notamment les alcools organiques communément désignés sous le nom de tocophérols ; ainsi on distingue l' α -tocophérol ou vitamine E (5,7,8-triméthyltolcol), le β -tocophérol (5,8-diméthyltolcol), le γ -tocophérol (7,8-diméthyltolcol) et le δ -tocophérol (8-méthyltolcol). Pour fixer les idées, la formule du tocol est rappelée ci-dessous :

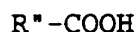


30

Comme autres dérivés de la vitamine E, on peut signaler les tocotriénols, lesquels diffèrent des tocophérols en ce que leur chaîne latérale hydrocarbonée

est insaturée. Ces derniers composés (tocophérols et tocotriénols) sont habituellement utilisés en tant qu'anti-oxydants.

En guise de principe actif de type acide gras, on utilisera avantageusement les acide gras de formule



dans lesquels R^* est une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée, saturée ou insaturée en C_8-C_{30} , de préférence en $C_{15}-C_{22}$, mieux encore en $C_{18}-C_{22}$.

On citera comme exemples d'acides gras saturés les acide laurique, palmitique, stéarique et myristique et comme exemples d'acides gras insaturés, les acides linolénique, linoléïque, oléïque, élaïdique et érucique ainsi que leurs dérivés, en notant toutefois une nette préférence pour les acides gras de type polyinsaturé.

Concernant les composés de type hydroxyacide, il convient de préciser que le terme hydroxyacide tel qu'utilisé dans l'invention désigne à la fois les α -hydroxyacides, les lactones et les composés organiques porteurs d'une fonction hydroxyle et d'une fonction carboxyle dans lesquels la cyclisation en lactone est thermodynamiquement défavorisée pour des raisons stériques ou autres.

Comme exemples d'hydroxyacides, on peut citer l'acide junipérique et les hydroxyacides dérivés de la cascade acide arachidonique.

En tant qu'hydroxyacides préférés de l'invention, on peut mentionner l'acide glycolique de formule $HO-CH_2-COOH$, la γ -butyrolactone, la δ -valérolactone et l' ϵ -caprolactone et de façon plus générale les α -hy-

droxyacides de formule $\text{HO-CR}_1(\text{R}_2)\text{-COOH}$, dans laquelle R_1 et R_2 sont des radicaux $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyle, $(\text{C}_6\text{-C}_{18})$ aryle, $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl- $(\text{C}_6\text{-C}_{18})$ aryle, $(\text{C}_6\text{-C}_{18})$ aryl- $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyle, dans lesquels les chaînes alkyles sont linéaires ou ramifiées
5 et les groupes aryles sont substitués ou non par un ou plusieurs groupes choisis parmi $(\text{C}_1\text{-C}_5)$ alkyle, $(\text{C}_1\text{-C}_5)$ alkoxy, $-\text{CF}_3$, $-\text{NO}_2$, amino, $(\text{C}_1\text{-C}_5)$ alkylamino, di- $(\text{C}_1\text{-C}_5)$ alkylamino, halogène et hydroxyle.

Un autre groupe préféré d'hydroxyacides est
10 constitué des composés de formule $\text{HO-CR}_1(\text{R}_2)\text{-COOH}$ dans laquelle R_1 et R_2 sont des groupes alkyle linéaires ou ramifiés en $\text{C}_5\text{-C}_{10}$, de préférence en $\text{C}_6\text{-C}_8$.

Les procédés de préparation des composés de l'invention de type hydroxyester et diester, exposés ci-
15 dessous, constituent un autre objet de l'invention.

Les composés de type hydroxyester résultent notamment de la condensation d'un principe actif de type alcool organique avec un hydroxyacide.

La condensation directe de ces deux composés
20 peut conduire cependant à la formation du sous-produit d'auto-condensation de l'hydroxyacide. De fait, l'expérience montre que la fonction hydroxyle libre de l'hydroxyacide entre en compétition avec la fonction hydroxyle réactive de l'alcool organique, ce qui a pour
25 effet de réduire le rendement réactionnel. De façon à pallier cet inconvénient, on peut ainsi prévoir la protection préalable de la fonction hydroxyle de l'hydroxyacide.

Pour ce faire, il est possible d'utiliser
30 l'une quelconque des méthodes de protection décrites dans l'état de la technique. On trouvera un compte-rendu exhaustif de ces méthodes dans l'ouvrage de T.W.GREENE intitulé "protective groups, 2nd edition 1991" publié

chez Wiley intersciences, New-York et bien connu de l'homme du métier.

Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, la fonction hydroxyle en question est protégée sous forme d'éther.

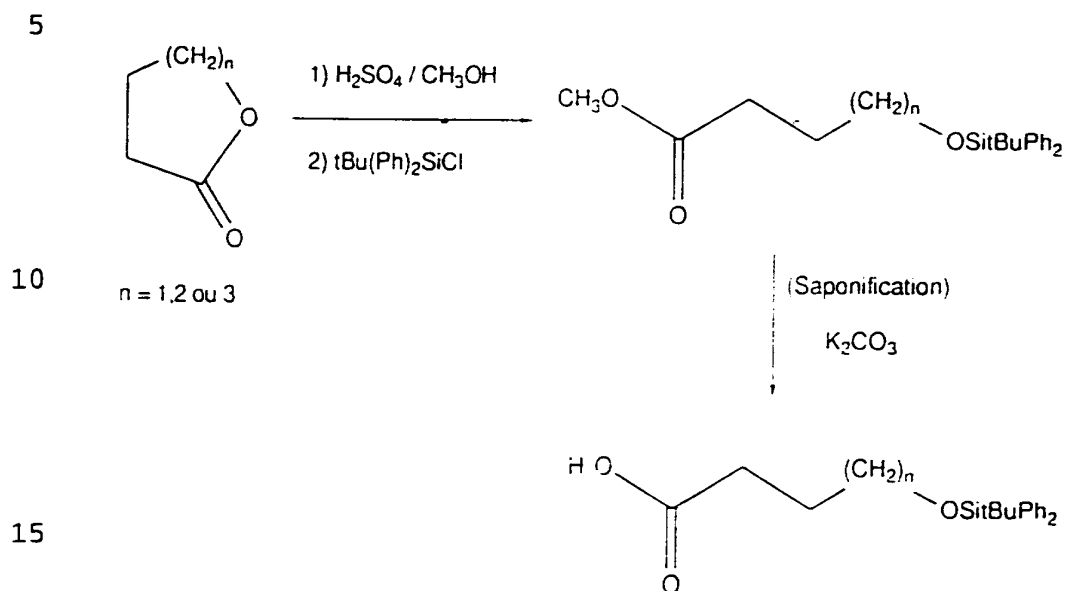
Dans le cas particulier où l'hydroxyacide est l'acide glycolique, la protection de la fonction hydroxyle avant estérification est très fortement recommandée. On risque en effet une polymérisation de l'acide glycolique non protégé, lors de la réaction de condensation avec l'alcool organique. Ceci est notamment le cas lorsque l'alcool utilisé est le tocophérol.

Dans ce cas précis, (estérification de l'acide glycolique par le tocophérol), la mise en oeuvre d'une réaction d'estérification par voie enzymatique n'est pas non plus envisageable sans protection préalable de la fonction hydroxyle. En effet, de nombreux travaux antérieurs ont mis en évidence de nombreuses difficultés dans l'approche enzymatique de l'estérification de noyaux phénoliques. On se rapportera à ce propos à un article paru dans Biochim. Biophys. Acta, 1979, 575, 156. Il semblerait que des phénomènes d'inhibition aient été constatés en présence de noyaux phénoliques (cf. Williams A.H. dans "Enzyme chemistry of phenolic compounds" 1963, 87-95 ; J.B. Bridham, Ed. Pergamon, London ; et Biomass and Bioenergy, 1992, 3,369).

En l'occurrence, les inventeurs ont obtenu d'excellents résultats en préparant l'éther silylé de l'acide glycolique. Pour ce faire, on peut suivre le procédé proposé par S. Hanessian et P. Lavallée dans Can. J. Chem., 1975,53,2975.

Dans le cas où l'hydroxyacide utilisé est sous forme de lactone, la protection de la fonction

hydroxyle masquée est également préférable. Celle-ci peut être avantageusement réalisée par formation de l'éther silylé, par exemple selon le schéma réactionnel suivant:



Il est clair que cette réaction de protection passe par l'ouverture du cycle lactonique, par exemple par action de H_2SO_4 dans le méthanol. L'ouverture du cycle lactonique peut cependant être effectuée de diverses manières. On se rapportera pour ce faire à *synthesis* 1983, 11, 942.

Dans le cas d'un alcool organique polyhydroxylé une protection des fonctions hydroxyles ne prenant pas part à la réaction est également souhaitable.

La réaction d'estérification proprement dite est réalisée de façon conventionnelle par un des nombreux procédés décrits dans la littérature et connus de l'homme du métier, soit par voie chimique, soit par voie enzymatique.

Parmi les procédés de synthèses procédant par

voie chimique on préfère ceux dans lesquels l'estérification a lieu en présence d'un agent déshydratant tel que la dicyclohexylcarbodiimide, le dichlorophosphate de phényle PhOPOCl_2 , l'isocyanate de chlorosulfonyl ClSO_2NCO , des chlorosilanes, le N,N'-carbonyl-diimidazole ou les systèmes chloroformate d'alkyle/triéthylamine, 2-chloro-1,3,5-trinitrobenzène/pyridine, dicyclohexylcarbodiimide/aminopyridine, sels de pyridinium/tributylamine, chlorure de mésyle/triéthylamine, phosphine/ CCl_4 /triéthylamine et mieux encore le système dicyclohexylcarbodiimide/4-diméthylaminopyridine (DCC/4-DMAP).

Les hydroesters de l'invention sont soit isolés directement à l'issue de l'estérification de l'hydroxyacide par l'alcool organique soit après déprotection de la fonction hydroxyle du produit d'estérification. Dans le cas d'un alcool organique de départ, polyhydroxylé, on opérera à la déprotection sélective de la seule fonction hydroxyle du produit d'estérification rattachée à la partie issue de l'hydroxyacide.

Les conditions opératoires de la réaction de déprotection de ladite fonction hydroxyle dépendent du type de groupe protecteur utilisé, et pour une déprotection sélective, de la nature des différents groupes protecteurs en présence. Ces conditions opératoires seront facilement déterminées par l'homme du métier, celles-ci étant décrites dans la littérature : T.W. GREENE, "protective group" 2nd edition, 1991, Wiley intersciences, New York. A titre d'exemple, la fonction hydroxyle protégée sous forme d'éther silylé est régénérée par action de fluorure de tétrabutylammonium.

L'invention concerne donc un procédé pour la préparation de composés de type hydroxyester à un ou deux

principes actifs, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

- (i) faire réagir la fonction carboxyle d'un hydroxyacide choisi parmi un hydroxyacide à fonction hydroxyle libre, un hydroxyacide à fonction hydroxyle protégée et un hydroxyacide sous forme de lactone, avec la fonction hydroxyle d'un principe actif de type alcool organique, et
- (ii) déprotéger, le cas échéant, la fonction hydroxyle du composé obtenu à l'étape (i).

Les composés de l'invention de type diester, à deux ou trois principes actifs, peuvent être préparés à partir des composés de l'invention de type hydroxyester par réaction de la fonction hydroxyle libre du composé de type hydroxyester, avec la fonction carboxyle d'un principe actif de type acide gras.

Cette réaction d'estérification peut être conduite par voie chimique ou par voie enzymatique.

Dans le cas de synthèse par voie chimique, on peut utiliser l'une des méthodes connues de l'état de la technique, et plus particulièrement, celles discutées ci-dessus pour la préparation des composés de l'invention de type hydroxyester. Habituellement, une quantité équimolaire de l'acide gras est mise à réagir avec l'alcool, la température étant maintenue entre -10°C et la température ambiante. L'intérêt de cette technique est d'être simple, rapide et efficace.

Cependant, selon un mode préféré de réalisation, cette réaction d'estérification est effectuée par catalyse enzymatique, plus particulièrement lorsque des acides gras polyinsaturés sont concernés. Dans le cas de l'acide oléique de telles réactions enzymatiques ont été étudiées : l'article de G. LAZAR, A. WEISS et R.D.

SCHMID, World Conf. Emerging Technol. Fats Oils Ind. Meeting date 1985, 346-354 est particulièrement intéressant.

En tant qu'enzymes, les auteurs préconisent
5 l'utilisation de lipases d'origine animale, telles que la lipase pancréatique de porc ou issues de microorganismes, telles que la lipase de *Pseudomonas fluorescens* ou la lipase de *Mucor miehei*. De préférence, on sélectionnera la lipase de *Pseudomonas fluorescens*.

10 Le nombre d'unités enzymatiques optimal varie en fonction de la lipase utilisée. A titre indicatif, on peut citer les lipases suivantes disponibles dans le commerce :

- la lipase pancréatique de porc (à 2000
15 unités) ;
- la lipase de *Pseudomonas Fluorescens* (à 1 400 ou 900 unités) ;
- la lipase de *Mucor miehei* (à 900 unités).

Dans ces conditions, il est possible d'utiliser une quantité équimolaire d'acide gras par rapport
20 au composé à deux principes actifs de l'invention portant la fonction hydroxyle libre.

La température réactionnelle est de même avantageusement maintenue entre 30 et 50°C suivant
25 l'enzyme utilisée.

Les rendements obtenus oscillent entre 70 et 100 %.

Afin d'évaluer la stabilité à l'oxydation des composés de l'invention une étude d'oxydabilité au rancimat a été conduite.
30

Le rancimat sert à déterminer la stabilité à l'oxydation. L'analyse de cette stabilité est appliquée

aux huiles et graisses et à toutes matières contenant de l'huile ou de la graisse.

Le rancimat se compose du module de commande et du module humide.

5 Le module humide sert à la dégradation des échantillons qui sont soumis à une température élevée, à un courant d'oxygène atmosphérique. Les huiles et graisses produisent alors des acides organiques. Ces produits de décomposition sont collectés dans un réci-
10 pient rempli d'eau distillée et sont mesurés en continu par un capteur enregistrant la conductivité. (Plus l'échantillon se dégrade, plus la conductivité augmente).

 Le module de commande exécute les contrôles et analyse des fonctions qui se déroulent dans le module
15 humide.

 Plusieurs paramètres sont analysés :

 - le temps d'induction caractérise la stabilité à l'oxydation des échantillons. Ce temps correspond au moment où l'échantillon commence à se dégrader de
20 façon significative;

 - le temps de stabilité correspond au temps écoulé avant qu'une valeur de la conductivité de 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ne soit mesurée. Cela fournit un renseignement sur la vitesse de dégradation des échantillons;

25 - la modification de la conductivité en 5 heures complète le renseignement précédent sur la vitesse de dégradation.

 Dans un premier temps, l'étude de la stabilité de cinq de nos échantillons est effectuée à 60°C
30 (tableau 1) avec un débit d'air de 6 litres par heure pendant 18 heures.

TABEAU 1

5	Echantillons	Temps d'induction	Temps de stabilité	Variation de conductivité après 5 h	Variation de conductivité après 18 h
	Acide γ -linoléique	3,33 h	6,80 h	23,0 $\mu\text{S/cm}$	200 $\mu\text{S/cm}$
10	2-hydroxy-éthanoate d' α -toco-phéryle	-	-	0 $\mu\text{S/cm}$	0 à 3 $\mu\text{S/cm}$
15	4-hydroxy-butanoate d' α -toco-phéryle	-	-	0 $\mu\text{S/cm}$	0 à 3 $\mu\text{S/cm}$
20	5-hydroxy-pentanoate d' α -toco-phéryle	-	-	0 $\mu\text{S/cm}$	0 à 3 $\mu\text{S/cm}$
25	6-hydroxy-hexanoate d' α -toco-phéryle	-	-	0 $\mu\text{S/cm}$	0 à 3 $\mu\text{S/cm}$

Une conductivité de 200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ correspond à une dégradation totale de l'échantillon.

Les résultats obtenus montrent que l'acide γ -linolénique est le seul à se dégrader à 60°C. Les hydroxyesters de l'invention apparaissent quant à eux
5 comme très stables à cette température et avec ce débit d'air.

Une deuxième série d'expérience est réalisée à 98°C avec un débit d'air de 6 litres/heure (tableau 2)
10 selon les normes agonir 1993 qui concernent les essais accélérés d'oxydabilité pour les corps gras d'origine animale ou végétale. Cette expérience est aussi connue sous le nom de test de SWIFT modifié.

TABEAU 2

5	Echantillons	Temps d'induction	Temps de stabilité	Variation de conductivité après 5 h	Variation de conductivité après 22 h*
	Acide γ -linoléinique	0,55 h	2,70 h	80,3 $\mu\text{S/cm}$	200 $\mu\text{S/cm}$ après 11 h
10	Av. γ -linoléinique +vit.E libre	4,15 h	14,7 h	7,4 $\mu\text{S/cm}$	167 $\mu\text{S/cm}$
	γ -linoléinate de glycolate de vit. E	-	15,3 h	17,5 $\mu\text{S/cm}$	72 $\mu\text{S/m}$
15	γ -linoléinate de butanoate de vit. E	-	-	11,0 $\mu\text{S/cm}$	51 $\mu\text{S/cm}$
20	γ -linoléinate de pentanoate de vit. E	-	-	7,8 $\mu\text{S/cm}$	38 $\mu\text{S/cm}$
	γ -linoléinate d'hexanoate de vit. E	-	-	1,2 $\mu\text{S/cm}$	6 $\mu\text{S/cm}$

25 * sauf pour les échantillons d'acide γ -linoléinique.

Une conductivité de 200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ correspond à une dégradation totale de l'échantillon.

Plusieurs enseignements intéressants sont à retenir de cette expérience.

5 L'acide γ linolénique libre se dégrade très rapidement dans ces conditions. L'adjonction de vitamine E libre stabilise notablement l'acide gras. Après 5 heures, la conductivité est de 80 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour l'acide et de 7,4 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en présence d' α -tocophérol.

10 Pendant cette période, le γ -linolénate de glycolate de vitamine E, le γ -linolénate de butanoate de vitamine E subissent une oxydation du même ordre que l'échantillon avec la vitamine E et l'acide gras libre.

Cependant, lorsque l' α -tocophérol libre ne
15 joue plus son rôle d'antioxydant (après 7 heures), la dégradation de l'acide gras libre devient très rapide (7,4 $\mu\text{S}/\text{cm}$ après 5 heures et 167 $\mu\text{S}/\text{cm}$ après 22 heures). Parallèlement, la dégradation des divers esters se fait régulièrement mais très lentement (exemple du γ -linolé-
20 nate de pentanoate d' α -tocophéryle 7,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$ après 5 heures et 38 $\mu\text{S}/\text{cm}$ après 22 heures).

Après 22 heures de réaction, l'acide gras libre est totalement dégradé. Dans les conditions précédentes, le témoin contenant l'acide γ -linolénique libre
25 et l' α -tocophérol libre est presque totalement oxydé alors que les esters de vitamine E ne sont pas ou très peu dégradés. En effet, si deux esters (le γ -linolénate de glycolate de vitamine E et le γ -linolénate de butanoate de vitamine E) ont subi une légère oxydation, le
30 γ -linolénate de pentanoate de vitamine E est très peu

affecté dans ces conditions alors que le γ -linolénate d'hexanoate de vitamine E ne présente pas de détérioration.

Ces résultats montrent clairement la plus
5 grande stabilité à l'oxydation des composés de l'invention de type diester et de type hydroxyester.

L'invention vise également des compositions pharmaceutiques, parapharmaceutiques ou cosmétiques, des compositions utilisables en industrie agro-alimentaire
10 et des parfums comprenant à titre de principe actif l'un au moins des composés de l'invention.

Les compositions pharmaceutique, parapharmaceutique ou cosmétique de la présente invention conviennent pour l'administration orale, sublinguale, sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, topique,
15 intratrachéale, intranasale, transdermique ou rectale. Les formes d'administration appropriées comprennent les formes par voie orale telles que les comprimés, les gélules, les poudres, les granules et les solutions ou
20 suspensions orales, les formes d'administration sublinguale, buccale, intratrachéale, intranasale, les formes d'administration sous-cutanée, intramusculaire ou intraveineuse et les formes d'administration rectale. Pour l'application topique, on peut utiliser les composés
25 selon l'invention dans des crèmes, pommades ou lotions.

La dose de principe actif administré dépend de l'effet prophylactique, thérapeutique ou cosmétique désiré.

Lorsqu'on prépare une composition solide sous
30 forme de comprimés, on mélange l'ingrédient actif

principal avec un véhicule pharmaceutique tel que la gélatine, l'amidon, le lactose, le stéarate de magnésium, le talc, la gomme arabique ou analogues. On peut enrober les comprimés de saccharose, d'un dérivé cellulosique, ou d'autres matières appropriées ou encore on peut les traiter de telle sorte qu'ils aient une activité prolongée ou retardée et qu'ils libèrent d'une façon continue une quantité prédéterminée de principe actif.

On obtient une préparation en gélules en mélangeant l'ingrédient actif avec un diluant et en versant le mélange obtenu dans des gélules molles ou dures.

Une préparation sous forme de sirop ou d'élixir ou pour l'administration sous forme de gouttes peut contenir l'ingrédient actif conjointement avec un édulcorant, acalorique de préférence, du méthylparaben et du propylparaben comme antiseptique, ainsi qu'un agent donnant du goût et un colorant approprié.

Les poudres ou les granules dispersibles dans l'eau peuvent contenir l'ingrédient actif en mélange avec des agents de dispersion ou des agents mouillants, ou des agents de mise en suspension, comme la polyvinylpyrrolidone, de même qu'avec des édulcorants ou des correcteurs du goût.

Pour une administration rectale, on recourt à des suppositoires qui sont préparés avec des liants fondant à la température rectale, par exemple du beurre de cacao ou des polyéthylèneglycols.

Pour une administration parentérale, on utilise des suspensions aqueuses, des solutions salines

isotoniques ou des solutions stériles et injectables qui contiennent des agents de dispersion et/ou des mouillants pharmacologiquement compatibles, par exemple le propylène-glycol ou le butylène-glycol.

5 Le principe actif peut être formulé également sous forme de microcapsules, éventuellement avec un ou plusieurs supports ou additifs.

 Les compositions de l'invention utilisables dans l'industrie des parfums ou l'industrie agroalimentaire se présentent sous forme de poudres, gels, granules
10 ou solutions.

 Les exemples de synthèse suivants sont donnés uniquement à titre illustratif de la présente invention et ne doivent en aucun cas être considérés comme limitatifs de la portée de celle-ci.
15

Dans chaque cas, les molécules isolées ont été caractérisées par leur R_f, leur spectre infra-rouge réalisé sur un spectromètre à transformée de Fourier NICOLET MODEL 205 IRFT, leur spectre de résonnance magnétique nucléaire protons obtenu à partir d'un appareil à transformée de Fourier JEOL FX 90 Q, leur spectre de masse réalisé sur un spectromètre de masse FINNIGAN MAT-INCOS 500EX.
20

25 **Exemple 1**

SYNTHÈSE DU GLYCOLATE D' α -TOCOPHEROL :

Etape (a) : préparation de l'éther de tert-butyl-diphényl silylé de l'acide glycolique.

La protection de la fonction hydroxyle de l'acide glycolique (FLUKA) est effectuée selon la méthode de
30

Hanessian S. et Lavallée P. (Can. J. Chem., **1975**, 53, 2-975).

Etape (b) : préparation de l'éther silylé du glycolate d' α -tocophérol

5 4,5 mMoles de l'éther silylé obtenu à l'étape (a) et 4,72 mMoles (1,05 équiv.) d' α -tocophérol (ALDRICH) sont mis en solution dans 30 ml de dichlorométhane (JANSSEN). Le milieu réactionnel est refroidi à -10°C puis 4,95 ml (1,1 équiv.) d'une solution molaire de dicyclohexylcarbodiimide dans le dichlorométhane (JANSSEN) sont ajoutés ainsi
10 que 0,45 mMole(0,1 équiv.) de 4-diméthylaminopyridine (JANSSEN). Après 12 heures de réaction à température ambiante le précipité blanc de dicyclohexylurée est filtré sur un verre fritté. Le di-chlorométhane est
15 éliminé sous vide et l'ester brut formé sous forme d'huile jaune clair est utilisé directement dans l'étape suivante.

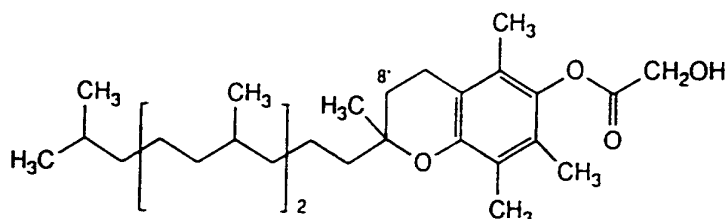
Etape (c) : préparation du glycolate d' α -tocophérol.

20 4,5 mMoles du composé obtenu à l'étape (b) sont mis en solution sous azote dans 50 ml de tétrahydrofurane anhydre (FLUKA). Le milieu réactionnel est alors refroidi à -20°C et 0,5 ml (2 équiv.) d'acide acétique (JANSSEN) puis 13,35 ml (3 équiv.) d'une solution molaire de fluorure de tétrabutyl ammonium dans le tétrahydrofurane (JANSSEN) sont ajoutés. On laisse revenir lentement
25 à température ambiante. La réaction est suivie par chromatographie analytique sur couches minces. (Plaques MERCK en aluminium recouvertes de gel de silice 60 F 254 d'épaisseur 0,2 mm). Les agents de révélation sont la
30 lumière UV 325 nm ou une solution éthanolique d'anisaldé-

hyde (FLUKA). Après 4 heures, on stoppe la réaction en évaporant sous vide le solvant. Une purification par flash chromatographie sur colonne de silice (granulométrie 0,040 à 0,063 mm) est effectuée en utilisant un gradient de solvant éther diéthylique/hexane qui varie de 20/80 à 70/30.

Le rendement global pour ces trois étapes est de 86 %.

Caractérisation de l'hydroxy-2-éthanoate d' α -tocophéryle ou glycolate d' α -tocophéryle obtenu :



- Huile jaune clair
- $R_f = 0,12$ (éther diéthylique/Hexane 50/50)
- IR(film ; vcm^{-1}) : 3444(large,OH) ; 1750 (C=O) ; 1581(C=C).

-RMN¹H(90 MHz., CDCl₃, δ) : 4,47 (s ; 2H ; CH₂OH) ; 2,59 (t ; 2H ; H₇ ; $J_{7,8} = 5,5$) ; 2,09(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 2,00(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,96 (s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,78 (t ; 2H ; H₈ ; $J_{7,8} = 5,5$) ; 1,65 à 0,82 (m ; 37H ; H de la chaîne latérale de l' α -tocophérol et OH).

Exemple 2

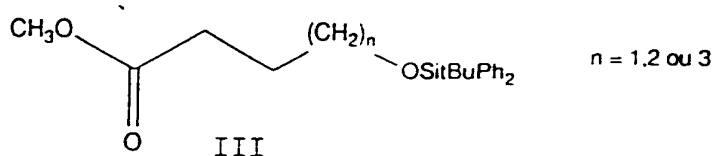
Cet exemple concerne la préparation d'hydroxyesters du

tocophérol à partir de lactones.

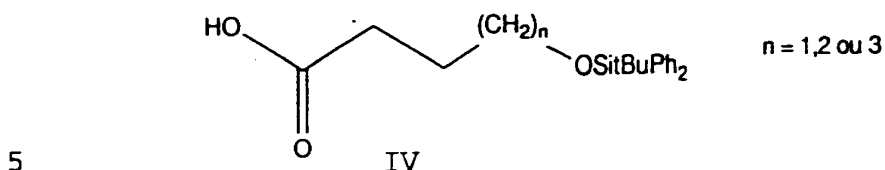
Le procédé général de synthèse suivi comprend les étapes (a) à (c) décrites ci-après.

Etape (a) : préparation d'un hydroxyacide hydroxy-protégé:

Le cycle lactonique est ouvert en milieu acide selon le procédé de E. BOSONE, P. FARINA et G. GUAZI (synthesis, 1983, 11, 942). Puis, la fonction hydroxyle de l'hydroxyacide est protégée par formation de l'éther silylé de formule générale III (Hanessian. S, LAVALLEE.P, Can. J. Chem. 1975,53,2975) :



L'ester méthylique III (5mmoles) est mis en solution dans un mélange de méthanol (55 ml) (CARLO ERBA) et d'eau (19 ml). Il est ajouté 6,81 g de K_2CO_3 (10 équiv.) (JANSSEN). Après 48 heures de réaction, le milieu est acidifié (pH = 1) par une solution aqueuse 0,5M d'acide oxalique puis est dilué par une solution aqueuse saturée en NaCl et extrait à l'éther diéthylique (CARLO ERBA). La phase organique est lavée à trois reprises par une solution diluée en NaCl, séchée sur $MgSO_4$ (JANSSEN) et concentrée au rotavapor. On obtient l'acide de formule IV sous forme d'huile suffisamment pur pour être utilisé directement dans l'étape suivante (Rendement de 82 à 98% selon la molécule de départ).



Etape (b) : Préparation de l'hydroxyester d' α -tocophérol O-silylé :

10 4,5 mMoles de l'acide précédent et 4,72 mMoles (1,05 équiv.) d' α -tocophérol (ALDRICH) sont mis en solution dans 30 ml de dichlorométhane (JANSSEN). Le milieu réactionnel est refroidi à -10°C puis 4,95 ml (1.1 équiv.) d'une solution molaire de dicyclohexylcarbodiimide dans le dichlorométhane (JANSSEN) sont ajoutés ainsi

15 que 0,45 mMole (0,1 équiv.) de 4-diméthylaminopyridine (JANSSEN). Après 12 heures de réaction à température ambiante le précipité blanc de dicyclohexylurée est filtré sur un verre fritté. Le dichlorométhane est

20 éliminé sous vide et l'ester brut formé sous forme d'huile jaune clair est utilisé directement dans l'étape suivante.

Etape (c) :

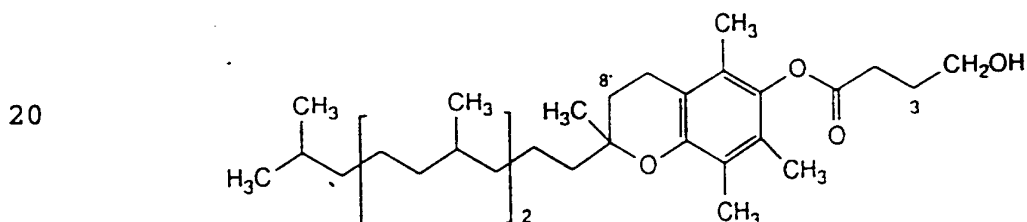
25 4,5 mMoles de l'éther silylé précédent sont mis en solution sous azote dans 50 ml de tétrahydrofurane anhydre (FLUKA). Le milieu réactionnel est alors refroidi à -20°C et 0,5 ml (2 équiv.) d'acide acétique puis 13,35 ml (3 équiv.) d'une solution molaire de fluorure de tétrabutyl ammonium dans le tétrahydrofurane (JANSSEN)

30 sont ajoutés. On laisse revenir lentement à température

ambiante. La réaction est suivie par chromatographie analytique sur couches minces. (Plaques MERCK en aluminium recouvertes de gel de silice 60 F 254 d'épaisseur 0,2 mm). Les agents de révélation sont la lumière UV 325 nm ou une solution éthanolique d'anisaldéhyde (FLUKA).
 5 après 4 heures, on stoppe la réaction en évaporant sous vide le solvant. Une purification par flash chromatographie sur colonne de silice (granulométrie 0,040 à 0,063 mm) (MERCK) est effectuée en utilisant un gradient de
 10 solvant éther diéthylique/hexane qui varie de 20/80/ à 70/30.

Le rendement global pour ces trois étapes varie de 71 à 78 % selon la longueur de la chaîne carbonée.

En utilisant le mode opératoire décrit
 15 ci-dessus ont été synthétisés les trois composés suivant:
 a) hydroxy-4-butanoate d' α -tocophéryle



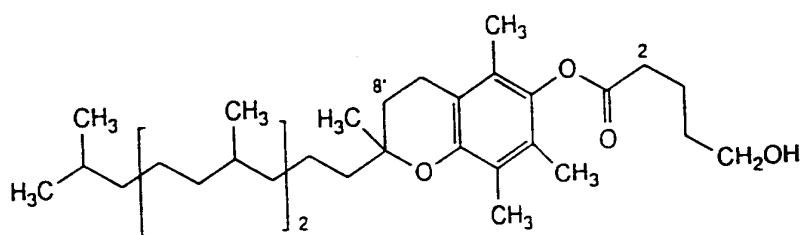
- 25 - Huile jaune clair
 - Rf = 0,25 (éther diéthylique/Hexane : 50/50)
 - IR(film ; vcm^{-1}) : 3451(large,OH) ; 1757(C=O) ; 1581(faible,C=C).
 -RMN¹H(90 MHz., CDCl₃, δ) : 3,77 (t ; 2H ; H₄ ; J_{3,4}=6,1) ;
 30 2,77 à 2,50 (m ; 4H ; H₂ et H₇.) ; 2,09(s ; 3H ; CH₃ porté

par le noyau aromatique) ; 2,01(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,97 (s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,87 à 0,83 (m ; 41H ; H de la chaîne latérale de l' α -tocophérol H₈., H₃ et OH.

5

b) hydroxy-5-pentanoate d' α -tocophéryle

10



- Huile jaune pâle

15

- R_f = 0,27 (éther diéthylique/Hexane : 50/50)

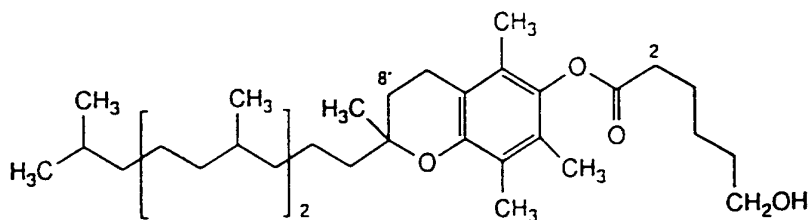
- IR(film ; vcm^{-1}) : 3402(large,OH) ; 1764(C=O) ; 1580(faible,C=C).

20

-RMN¹H(90 MHz., CDCl₃, δ) : 3,70 (t ; 2H ; H₅ ; J_{4,5}=6,2) ; 2,72 à 2,52 (m ; 4H ; H₂ et H₇.) ; 2,09(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 2,00(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,97 (s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,87 à 0,83 (m ; 43H ; H de la chaîne latérale de l' α -tocophérol H₈., H₃, H₄ et OH.

c) hydroxy-6-hexanoate d' α -tocophéryle

25



30

- Huile jaune clair
 - Rf = 0,31 (éther diéthylique/Hexane : 50/50)
 - IR(film ; vcm^{-1}) : 3360(large,OH) ; 1750(C=O) ; 1581(f-
aible,C=C) .
- 5 -RMN¹H(90 MHz., CDCl₃, δ) : 3,64 (t ; 2H ; H₆ ; J_{5,6}=6,3) ;
2,70 à 2,52 (m ; 4H ; H₂ et H₇,) ; 2,09(s ; 3H ; CH₃ porté
par le noyau aromatique) ; 2,00(s ; 3H ; CH₃ porté par le
noyau aromatique) ; 1,97 (s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau
aromatique) ; 1,87 à 0,90 (m ; 45H ; H de la chaîne
latérale de l' α -tocophérol H₈, H₃, H₄, H₅ et OH).
- 10

Exemple 3

Cet exemple concerne l'estérification d'acides gras par
des hydroxyesters d' α -tocophérol.

- 15 Le procédé général suivant a été utilisé pour la synthèse
enzymatique des diesters préparés :
- A l'abri de la lumière, 5 mMoles d'acide gras (SIGMA) et
5 mMoles d'hydroxyesters de vitamine E (léq.) sont mis
en solution dans 20 ml d'isooctane. 5000 u de lipase de
20 *Pseudomonas fluorescens*, SAM-2(EC 3.1.1.3., FLUKA) sont
ajoutés et le milieu réactionnel est porté à 50°C. La
réaction est suivie par chromatographie analytique sur
couches minces. (Plaques MERCK en aluminium recouvertes
de gel de silice 60F 254 d'épaisseur 0,2 mm). Les agents
25 de révélation sont la lumière UV 325 nm ou une solution
éthanolique d'anisaldéhyde (FLUKA). Lorsque la réaction
ne semble plus évoluer ou que les réactifs de départ ont
disparu, (entre 18 et 40 heures) on effectue une centri-
fugation à 2000g et le surnageant est déposé sur une
30 courte colonne de silice (granulométrie 0,040 à 0,063 mm)

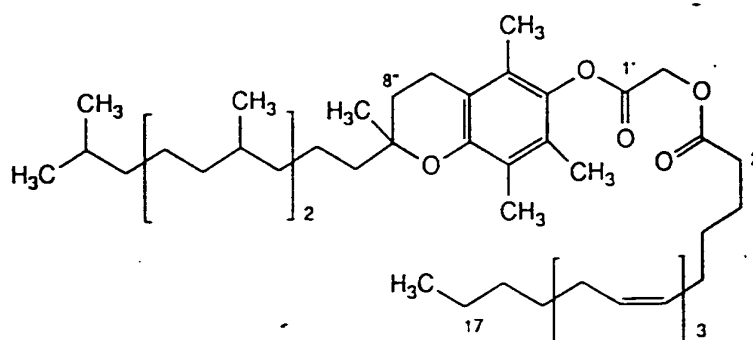
(MERCK). Une rapide filtration est effectuée. Le solvant utilisé est un mélange éther diéthylique/hexane dont la proportion varie selon le Rf de l'ester attendu. Le filtrat est contrôlé par chromatographie sur couche mince. Le solvant est alors éliminé sous vide.

Les rendements indiqués dans chaque cas sont ceux obtenus après purification.

Au cours de cette purification l'acide gras et l'alcool résiduels restent sur la colonne de silice. (Cependant il est ensuite possible de récupérer ces molécules par élution de la colonne à l'éther diéthylique.

De cette façon, ont pu être synthétisés les composés suivants :

a) γ -linolénate de glycolate d' α -tocophéryle ou γ -linolénate d'éthanoate d' α -tocophéryle



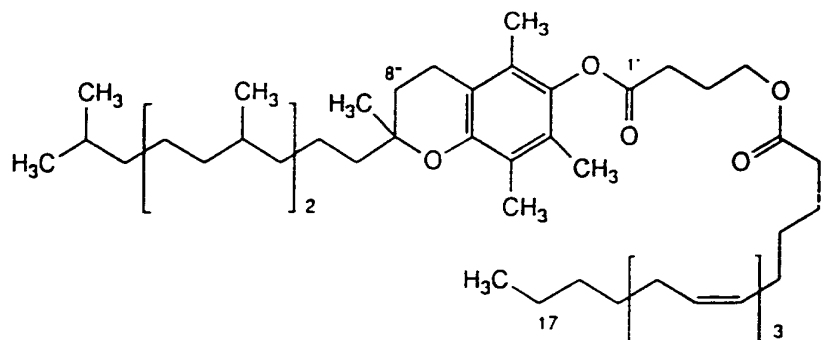
- Rendement : à partir de pseudomonas fluorescens à 1400 u = 92%; à partir de pseudomonas fluorescens à 900 u = 85%

- Masse moléculaire : 749,18

- liquide visqueux jaune clair

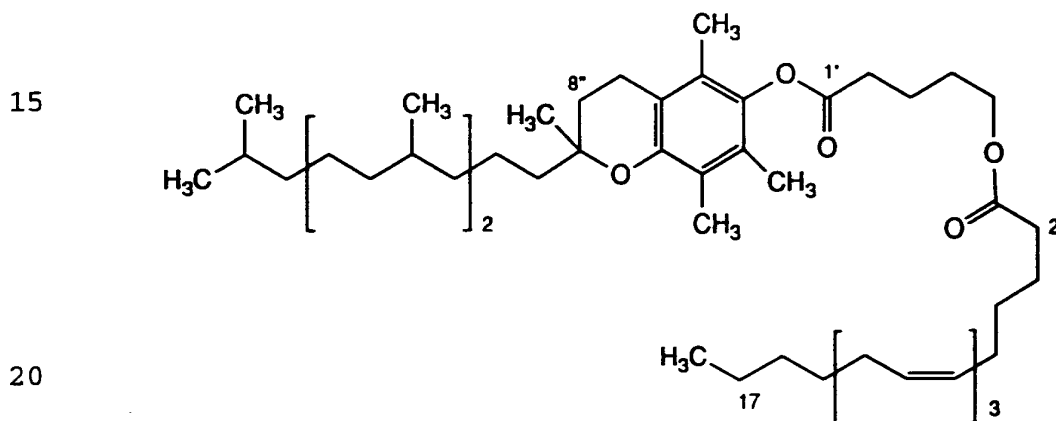
- Rf = 0,38 (éther diéthylique/hexane : 20/80)
- IR(film ; vcm^{-1}) : 1754 (C = O)
- RMN¹H(90 MHz ; CDCl_3 ; δ) : 5,35(m ; 6H ; H_6 , H_7 , H_9 , H_{10} , H_{12} et H_{13}) ; 4,88(s ; 2H ; H_2 .) ; 2,81 à 2,37(m ; 8H ; H_2 , H_8 , H_{11} et H_7 .) ; 2,08(s ; 3H ; CH_3 porté par le noyau aromatique) ; 2,02(s ; 3H ; CH_3 porté par le noyau aromatique) ; 1,98 (s ; 3H ; CH_3 porté par le noyau aromatique) ; 1,82 à 0,82 (m ; 55H ; H_3 à H_5 , H_{14} à H_{18} , H_8 et H de la chaîne latérale de l' α -tocophérol).
- Spectrométrie de masse (impact électronique, principaux ions fragments) : [] : m/z(I) : $[\text{M}-\text{H}]^+$: 747(5) ; 430(100) ; 165(8).

b) γ -linolénate de butanoate d' α -tocophéryle



- Rendement : à partir de pseudomonas fluorescens à 1400 u = 92% ; à partir de pseudomonas fluorescens à 900 u = 82%
- Masse moléculaire : 777,23
- huile jaune clair très épaisse
- Rf = 0,42 (éther diéthylique/hexane : 20/80)

- IR(film ; vcm^{-1}) : 1757 (C=O) ; 1580 (C=C).
 - RMN¹H(90 MHz ; CDCl₃ ; δ) : 5,35(m ; 6H ; H₆, H₇, H₉, H₁₀, - H₁₂ et H₁₃) ; 4,19(t ; 2H ; H₄, J_{3,4} = 5,8) ; 2,81 à 2,26(m ; 10H ; H₂, H₈, H₁₁, H₂ et H₇.) ; 2,08(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 2,00(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,96 (s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,73 à 0,82 (m ; 57H ; H₃ à H₅, H₁₄ à H₁₈, H₃, H₈ et H de la chaîne latérale de l' α -tocophérol).
 - Spectrométrie de masse (ionisation chimique, NH₃, m/z, intensité relative) : [M + NH₄⁺] : 794(100) ; 431(17).
- c) γ -linolénate de pentanoate d' α -tocophéryle

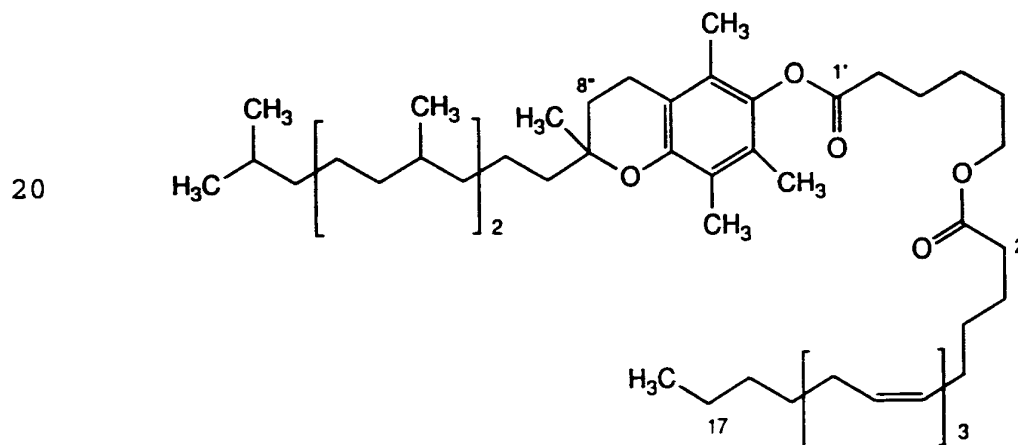


- Rendement : à partir de pseudomonas fluorescens à 1400 u = 98% ; à partir de pseudomonas fluorescens à 900 u = 82%
- Masse moléculaire : 791,26
- liquide visqueux jaune clair

- Rf = 0,54 (éther diéthylique/hexane : 20/80)
 - IR(film ; vcm^{-1}) : 1754 et 1739(C=O) ; 1580(faible ;C=C) .

- RMN¹H(90 MHz ; CDCl₃ ; δ) : 5,35(m ; 6H ; H₆, H₇,H₉,H₁₀, -
 5 H₁₂ et H₁₃) ; 4,12(t ; 2H ; H₅ ; J_{4',5'} = 5,8) ; 2,81 à 2,25
 (m ; 10H ; H₂,H₈,H₁₁,H₂. et H₇.) ; 2,08 (s ; 3H; CH₃ porté
 par le noyau aromatique) ; 1,99(s ; 3H ; CH₃ porté par
 le noyau aromatique) ; 1,95 (s ; 3H ; CH₃ porté par le
 noyau aromatique) ; 1,82 à 0,82 (m ; 59H ; H₃ à H₅, H₁₄ à
 10 H₁₈, H₄.,H₈. et H de la chaîne latérale de l' α -tocophérol) .
 - Spectrométrie de masse (impact électronique, principaux
 ions fragments) : [] : m/z(I) : [M+.] : 790(1) ; [M-H]⁺
 : 789(1) ; 430(100) ; 165 (34) ; 163
 (16) ; 149(42);147(12);56(13);

15 d) γ -linolénate d'hexanoate d' α -tocophéryle



- Rendement : à partir de pseudomonas fluorescens à 1400
 u = 95% à partir de pseudomonas fluorescens à 900 u = 92%

30 - Masse moléculaire : 804,66

- huile visqueuse jaune clair
- Rf = 0,58 (éther diéthylique/hexane 20/80)
- IR(film ; vcm^{-1}) : 1757 et 1743(C=O) ; 1581(faible ; C=C) .
- 5 - RMN¹H(90 MHz ; CDCl₃ ; δ) : 5,36(m ; 6H ; H₆, H₇, H₉, H₁₀, H₁₂ et H₁₃) ; 4,09(t ; 2H ; H₆ ; J_{5,6} = 5,6) ; 2,81 à 2,22(m ; 10H ; H₂, H₈, H₁₁, H₂ et H₇) ; 2,08(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 2,00(s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,97 (s ; 3H ; CH₃ porté par le noyau aromatique) ; 1,83 à 0,80 (m ; 61H ; H₃ à H₅, H₁₄ à H₁₈, H₃ à H₅, H₈ et H de la chaîne latérale de l' α -tocophérol) .
- Spectrométrie de masse (ionisation chimique, NH₃, m/z, intensité relative) : [M+ H₄⁺] : 822(100);431(87);366(31)

15

Exemple 4

En utilisant le mode opératoire illustré à l'exemple 3, on a préparé les diesters de formule II résultant de l'estérification des acides α - et γ -linolénique, des
 20 acides érucique et élaïdique avec le 6-hydroxyhexanoate d' α -tocophéryle.

Ces mêmes diesters ont été ensuite préparés en présence de lipase pancréatique de porc. En ce cas,
 25 un procédé de synthèse analogue à celui de l'exemple 3 a été mis en oeuvre si ce n'est que la lipase pancréatique de porc a été substituée à la lipase de *Pseudomonas fluorescens*

Acide gras	L.P.P. ¹ 2000u	Lipase de <i>Pseu- domonas fluores- cens</i> 1 400u
Acide γ -linolé- nique	82 %	95 %
Acide α -linolé- nique	88 %	92 %
Acide érucique	86 %	93 %
Acide élaïdique	79 %	85 %

L.P.P. = lipase pancréatique de porc

Exemple 5

Cet exemple rapporte la synthèse des diesters de formule II résultant de l'estérification de l'acide γ -linoléinique avec l'acide 2-hydroxy-éthanoïque, l'acide 4-hydroxy-butanoïque, l'acide 5-hydroxy-pentanoïque et l'acide 6-hydroxy-hexanoïque.

Ces composés ont été synthétisés d'abord par voie enzymatique en présence de lipase *Pseudomonas Fluorescens* ou de lipase de *Mucor miehei*, ou de lipase pancréatique de porc.

Puis, ces mêmes composés ont été préparés par

voie chimique en utilisant le procédé classique d'estérification en présence du système DCC/4-DMAP(dicyclohexylcarbodiimide/4-diméthylaminopyridine), lequel est rappelé ci-dessous.

5 10 mMoles d'acide gras sont mis en solution dans 20 ml de dichlorométhane (JANSSEN). 10 mMoles (1éq.) d'hydroxyesters sont ajoutés ainsi que 61 mg (0,5 mMole; 0,05 éq.) de 4-diméthylaminopyridine (JANSSEN). La température du milieu réactionnel est abaissée à -10°C
10 et 11 ml (1,1 éq.) de dicyclohexylcarbodiimide molaire dans le dichlorométhane (JANSSEN) sont additionnés. Après 16 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré pour éliminer la dicyclohexylurée formée. Le solvant est évaporé sous vide. Après chromatographie sur
15 colonne de silice (granulométrie 0,040 à 0,063 mm) (MERCK), (solvants d'élution : éther diéthylique/éther de pétrole dont les proportions varient selon les Rf des composés à séparer), les fractions contenant l'ester sont rassemblées et le solvant est évaporé sous vide.

20 Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant:

	Hydroxy ester (1mMole)	Voie chimi- que	L.P.P.* 2000u	Lipase de <i>P- seudomonas fluorescens</i> 1400u 900u	Lipase de <i>Mucor mie- hei</i> <i>900u</i>
5	2-hydroxy éthanoate d'α-toco- phéryle	96 %	78 %	92 % 85%	77 %
10	4-hydroxy butanoate d'α-toco- phéryle	90 %	79 %	92 % 82%	81 %
15	5-hydroxy pentanoate d'α-toco- phéryle	93 %	80 %	98% 82 %	78 %
20	6-hydroxy hexanoate d'α-toco- phéryle	98 %	82 %	95% 92%	86 %

* L.P.P. = lipase pancréatique de porc

REVENDICATIONS

1. Composé à un ou deux principes actifs, de type hydroxyester, de formule :



dans laquelle

le radical R correspond au fragment R d'un principe actif de type alcool organique de formule ROH, et

10 le radical R' correspond au fragment R' d'un hydroxyacide de formule

HO-R'-COOH, ledit hydroxyacide représentant éventuellement un principe actif, lesdits principes actifs étant d'origine naturelle ou de synthèse, chimique
15 ou enzymatique.

2. Composé à deux ou trois principes actifs, de type diester, de formule



dans laquelle

le radical R correspond au fragment R d'un principe actif de type alcool organique de formule ROH, et

25 le radical R' correspond au fragment R' d'un hydroxyacide de formule

HO-R'-COOH, ledit hydroxyacide représentant éventuellement un principe actif et,
le radical R'' correspond au fragment R'' d'un principe
30 actif de type acide gras de formule R'' COOH, où R''

représente une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée en C_8-C_{30} , lesdits principes actifs étant d'origine naturelle ou de synthèse, chimique ou enzymatique.

5 3. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que le principe actif de type hydroxyacide est un α -hydroxyacide.

 4. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le principe
10 actif de type alcool organique est un tocophérol, un tocotriénol, un alcool benzylique ou un stérol.

 5. Composé selon la revendication 2, caractérisé en ce que le principe actif de type acide gras est un acide gras polyinsaturé.

15 6. Procédé pour la préparation de composés à un ou deux principes actifs selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

(i) faire réagir la fonction carboxyle d'un hydroxyacide
20 choisi parmi un hydroxyacide à fonction hydroxyle libre, un hydroxyacide à fonction hydroxyle protégée et un hydroxyacide sous forme de lactone, avec la fonction hydroxyle d'un principe actif de type alcool organique, et

25 (ii) déprotéger, le cas échéant la fonction hydroxyle du composé obtenu à l'étape (i).

 7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'à l'étape (i) l'hydroxyacide est un hydroxyacide à fonction hydroxyle protégée, notamment
30 sous forme d'éther ou d'éther silylé.

8. Procédé pour la préparation de composés à deux ou trois principes actifs selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à :

5 (i) faire réagir la fonction carboxyle d'un hydroxyacide choisi parmi un hydroxyacide à fonction hydroxyle libre, un hydroxyacide à fonction hydroxyle protégée et un hydroxyacide sous forme de lactone, avec la fonction hydroxyle d'un principe actif de type alcool
10 organique,

(ii) déprotéger, le cas échéant la fonction hydroxyle du composé obtenu à l'étape (i), et

(iii) faire réagir la fonction hydroxyle libre de l'hydroxyester résultant avec la fonction
15 carboxyle d'un principe actif de type acide gras.

9. Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'à l'étape (iii) la réaction est effectuée par catalyse enzymatique.

10. Composition pharmaceutique, parapharmaceutique ou cosmétique caractérisée en ce qu'elle
20 comprend au moins un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5.

11. Parfum caractérisé en ce qu'il comprend au moins un composé selon l'une quelconque des revendica-
25 tions 1 à 5.

12. Composition utilisable en industrie agro-alimentaire, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5.

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 77, no. 15, 1972, Columbus, Ohio, US; abstract no. 96744j, T.TATSUTA. 'RELATION BETWEEN CHEMICAL STRUCTURE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF VITAMINE.II.TOCOPHERYL ESTERS.' page 7 ; * abrégé *	1
X	& VITAMINS, vol.45, no.5, 1972, JAPAN pages 247 - 252 ---	1
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 109, no. 30, 1988, Columbus, Ohio, US; abstract no. 73692f, page 719 ; * abrégé *	1,2,10
A	& JP-A-62 187 470 (ARAKAWA-CHOTARO) 15 Août 1987 ---	1,10
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 117, no. 62, 1992, Columbus, Ohio, US; abstract no. 219739r, page 495 ; * abrégé *	1,2,10
A	& JP-A-04 149 114 (KANEBO) 22 Mai 1992 ---	1,10
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 73, no. 27, 1970, Columbus, Ohio, US; abstract no. 77055m, page 353 ; * abrégé *	1,2,10
A	& JP-A-7 021 711 (EISAI) 22 Juillet 1970 -----	1,2,10
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
14 Juillet 1995		Francois, J
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>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 ----- A : membre de la même famille, document correspondant</p>		