

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication : **2 853 318**

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **03 04282**

⑤① Int Cl⁷ : C 07 J 13/00, C 07 J 9/00, 75/00, A 61 K 31/5685, 7/
48, A 61 P 17/00

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 07.04.03.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 08.10.04 Bulletin 04/41.

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

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : MAYOLY SPINDLER Société ano-
nyme — FR.

⑦② Inventeur(s) : CRITON MARC, GLOUX DAMIEN et
MONTERO JEAN LOUIS.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET ORES.

⑤④ NOUVEAUX PROCÉDES DE PRÉPARATION DE DÉRIVÉS DE LA DHEA.

⑤⑦ Procédé de préparation de dérivés de la DHEA, tels
que la 7-oxo-DHEA et la 7-hydroxy-DHEA, à partir de la
DHEA elle-même.

FR 2 853 318 - A1



L'invention se rapporte à de nouveaux procédés de préparation de dérivés de la DHEA à partir de la DHEA elle-même.

L'invention se rapporte notamment à de nouveaux procédés de préparation de la 7- α -hydroxy déhydro-épiandrostérone (7- α -OH-DHEA), de la 7- β -hydroxy déhydro-épiandrostérone (7- β -OH-DHEA), de la 7-oxo-déhydroépiandrostérone (7-oxo-DHEA).

La DHEA est un stéroïde naturel produit essentiellement par les glandes corticosurrénales. La DHEA administrée par voie topique ou orale est connue pour sa capacité à promouvoir la kératinisation de l'épiderme (JP-07 196 467).

Par ailleurs, il a été démontré son rôle dans la lutte contre l'aspect papyracé de la peau (FR 00/00349), sa capacité à moduler la pigmentation de la peau et des cheveux (FR 99/12773) et son action contre l'atrophie de l'épiderme (FR 00/06154). Bien que ces propriétés en fassent un candidat de choix comme actif cosmétique ou dermatologique, l'utilisation thérapeutique de la DHEA a révélé des effets secondaires indésirables en particulier chez la femme, en tant que précurseur potentiel des hormones androgènes.

Parmi les métabolites de la DHEA, une attention particulière a été portée ces dernières années aux 7 (α et β)-OH-DHEA et à la 7-oxo-DHEA. En effet, il a été démontré que ces métabolites sont dénués de l'effet hormonal de la DHEA et présentent des actions pharmacologiques et cosmétiques intéressantes. Les dérivés 7 hydroxylés augmentent la prolifération des fibroblastes et la viabilité des kératinocytes et sont dotés d'une activité antiradicalaire (WO 98/40074).

Plusieurs documents décrivent la production de la 7 α -OH-DHEA par voie chimique et son utilisation dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (WO 94/03176), comme stimulateur de l'immunité (WO 93/20696, WO 94/031765, WO 94/08588, WO 96/35428), comme agent anti-glucocorticoïde (WO 94/08588), pour le traitement de l'obésité (WO 92/03925), pour le traitement du diabète et de certains cancers (US-4,898,694).

La 7-oxo-DHEA présente elle aussi des propriétés pharmacologiques et cosmétiques mais sans les effets hormonaux de la DHEA. Elle a été décrite comme étant efficace dans la modulation du système immunitaire (US-5,292,730 ; US-5,585,371 ; US-5,641,766), le traitement de la maladie d'Alzheimer (US-5,707,983) et le traitement du syndrome VIH (US-5,885,977) et pour favoriser la perte de poids (US-5,296,481 et US-5,807,848).

De plus, il est fait mention dans le document WO 99/25333 de l'utilisation topique de la 7-oxo-DHEA pour le traitement prophylactique et curatif du

lupus érythémateux.

Par ailleurs, les propriétés pharmacologiques de ces composés en dermatologie et/ou en cosmétique ont conduit de nombreuses équipes à les utiliser en association avec des molécules bio actives utilisées en cosmétiques telles que les α -hydroxyacides, les β -hydroxyacides, les α -cétoacides, les β -cétoacides et les rétinoïdes (FR 2 799 649-A1 et FR 2 818 133-A1).

Ces différentes données montrent bien l'intérêt qu'il y aurait à proposer de nouveaux procédés d'obtention de la 7α -OH DHEA, de la 7β -OH DHEA, de la 7-oxo DHEA.

10 Parmi les documents qui rapportent un procédé de synthèse de la 7-OH DHEA on peut citer : FR 2 771 105-A1, FR 2 793 491-A1, WO-A1-94/03176, WO-A1-92/03925 et FR 2 820 745-A1.

Le document FR 2 771 105-A1 décrit un procédé pour la préparation de la 7α -OH-DHEA par bioconversion à partir de *Fusarium moniliforme*. Toutefois, 15 les toxines sécrétées par ce dernier peuvent se révéler très dangereuses pour l'homme.

Le document FR 2 793 491-A1 a pour objet l'obtention en deux étapes de la 7α -OH-DHEA. L'oxydation allylique de la 3-O-acétyl-DHEA à l'aide de catalyseurs de cuivre et d'un perester (tert-butylperbenzoate) conduit au diester (3 β -acétate, 7α -benzoate-déhydroxyandrost-5ène-17-one) sous forme de l'isomère α 20 stéréospécifiquement pur. Ce dernier après traitement avec du méthanolate de sodium conduit à la 7α -OH-DHEA.

Les documents WO-A1-94/03176 et WO-A1-92/03925 décrivent un procédé en 4 étapes à partir du 3 β -acétate de DHEA. Ce procédé consiste en une bromation allylique qui conduit au mélange instable des isomères 7α et 7β -bromo. 25 Ladite bromation étant suivie d'une isomérisation sélective en faveur de l'isomère 7α -bromo DHEA qui est ensuite hydrolysé à l'aide d'acide acétique et d'acétate d'argent pour conduire, après déprotection de la position 3, à la 7α -OH-DHEA.

Le document FR 2 820 745-A1 propose des procédés de synthèse en 3 et 5 étapes. La synthèse en 3 étapes consiste à effectuer une oxydation sur la position allylique de la 3-O-acétyl-DHEA pour obtenir le dérivé 3 acétylé de la 7-oxo 30 DHEA.

Toutefois il subsiste le besoin d'un procédé d'obtention de la 7α -OH-DHEA, de la 7β -OH-DHEA et de la 7-oxo-DHEA qui soit doté de meilleurs rendements par rapport aux procédés de l'art antérieur.

35 On cherche à obtenir ces produits par voie de synthèse simple, facilement extrapolable à l'échelle industrielle, donnant des produits faciles à purifier.

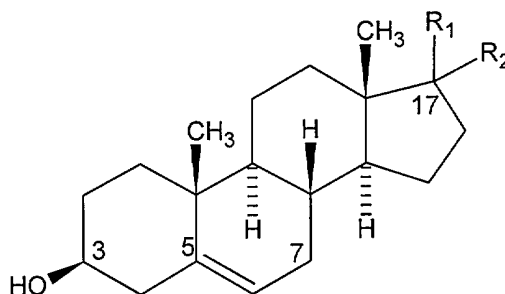
En outre, dans le cas de la 7- α -hydroxy-DHEA et de la 7- β -hydroxy-DHEA, on souhaite pouvoir obtenir l'un ou l'autre produit avec une diastéréosélectivité satisfaisante, ne nécessitant pas d'étape d'élimination du diastéréoisomère minoritaire.

C'est le but de la présente invention qui a pour objet de nouveaux procédés de synthèse de dérivés de la DHEA, ces procédés utilisant comme produit de départ la DHEA.

La figure 1 illustre un procédé qui permet d'obtenir la 7-oxo-DHEA en quatre étapes à partir de la DHEA :

(1) Dans une première étape facultative, on protège éventuellement la fonction cétone en position 17 de la DHEA par un groupement protecteur approprié.

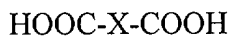
On obtient le composé de formule (I) :



(I)

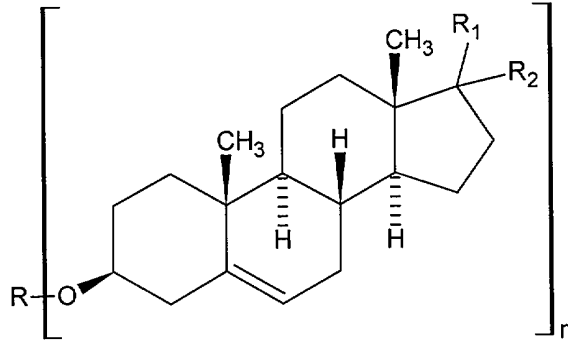
dans laquelle R_1 , R_2 pris ensemble représentent un groupement =O (cas où l'on ne protège pas la fonction cétone) ou R_1 , R_2 pris ensemble représentent un groupement -O-W-O-, dans lequel W représente un groupement alkyle en C_2 - C_8 , linéaire ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,

(2) Dans une seconde étape, on prépare l'hémiester ($n=1$) ou le diester ($n=2$) entre l'alcool en position 3 du composé (I) et un diacide choisi parmi ceux répondant à la formule (II) :



(II)

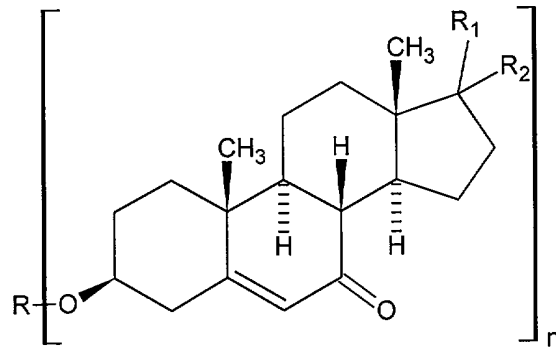
dans laquelle X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C_2 - C_{20} , saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C_6 - C_{20} , les aralkyles en C_8 - C_{20} . Cet ester (hémi- ou di-) répond à la formule (III) :



(III)

dans laquelle n , R_1 et R_2 ont la même signification que ci-dessus et soit R représente $-OC-X-CO-$ (cas où $n=2$), soit R représente $HOOC-X-CO$ (cas où $n=1$) ;

- 5 (3) Dans une troisième étape, on effectue une oxydation allylique sur le carbone en position 7 de façon à obtenir la cétone de formule (IV) :



(IV)

dans laquelle n , R_1 , R_2 et R ont la même signification que ci-dessus ;

- 10 (4) Dans une quatrième étape, on ôte les groupes protecteurs de la cétone en position 17 (éventuellement) et de l'alcool en position 3 pour obtenir la 7-oxo-DHEA (2).

15 Lorsque l'on souhaite simplement obtenir la 7-oxo-DHEA, la protection de la cétone en position 17 (étape 1), et sa déprotection subséquente (étape 4), ne sont pas nécessaires.

Le procédé de l'invention se distingue des procédés de l'art antérieur notamment en ce que l'on utilise un hémioester ou un di-ester (III) d'un diacide de formule (II) et de la DHEA.

20 L'utilisation de ces esters (III) présente plusieurs avantages par rapport aux composés de l'art antérieur :

- de meilleurs rendements d'oxydation

- des produits intermédiaires plus faciles à purifier, ces produits étant généralement obtenus par recristallisation.
- l'allongement de la chaîne en position 3 encombre la face β et permet d'augmenter la diastérosélectivité de la réduction de dérivés 7-oxo en 7 β hydroxy par NaBH₄ sans nécessairement ajouter du chlorure cérique (CeCl₃).
- Lorsque R représente HOOC-X-CO, dans le cadre d'une stratégie de synthèses supportées, ce groupement peut aisément être fixé sur un support solide. Cette méthodologie présente l'avantage de favoriser l'élimination des réactifs en excès et donc de faciliter l'étape de purification.

Selon l'invention, la DHEA (1) est tout d'abord protégée facultativement en position 17, de préférence sous forme d'un acétal cyclique.

Par exemple R₁, R₂=-O-CH₂-CH₂-O-

Avantageusement, la DHEA (1) est traitée par de l'éthylène glycol, à reflux du toluène, en présence d'acide paratoluène sulfonique en utilisant un dispositif de Dean Stark. Le produit protégé est obtenu par recristallisation dans une solution alcoolique (méthanol ou éthanol par exemple).

Selon une autre variante de l'invention, l'acétalisation en position 17 de la DHEA peut être omise. Dans ce cas R₁, R₂ pris ensemble représentent =O. C'est le cas en particulier lorsque la synthèse s'arrête à l'oxydation en position 7 de la DHEA.

De façon générale, la seconde étape du procédé représenté par la figure 1 se fait dans le cas où n=1 par traitement d'un composé de formule (I) par un équivalent molaire d'un acide dicarboxylique, sous forme d'acide ou sous une forme activée telle que chlorure d'acide ou anhydride d'acide.

Parmi les acides di-carboxyliques utilisables dans la présente invention, on peut citer par exemple :

L'acide succinique, l'acide glutarique, l'acide subérique, l'acide maléique, l'acide phtalique, qui sont avantageusement employés sous forme d'anhydrides ;

L'acide isophtalique, l'acide téréphtalique, l'acide 1,2-phénylène diacétique, l'acide 1,3-phénylène diacétique, l'acide 1,4-phénylène diacétique, qui sont avantageusement employés sous forme de mono chlorure d'acide.

Lorsque n=2, on procède de la même façon en utilisant 2 équivalents molaires de dérivé de DHEA (I) par mole de diacide (II).

Dans tous les cas, le produit (III) est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice.

Les produits répondant à la formule (III) dans laquelle

- n=1, 2
- 5 - R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈ linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement W représente -CH₂-CH₂-
- R représente un groupement de formule (II bis)



dans laquelle

m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

- 15 X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀, étant entendu que lorsque n=1, X est distinct de -(CH₂)₂- et de -(CH₂)₆,

20 sont des produits nouveaux, et constituent un autre objet de l'invention. Ces produits sont des intermédiaires permettant d'accéder à des dérivés de la DHEA avec de bons rendements et un procédé facilement industrialisable.

La troisième étape du procédé illustré par la figure 1 est l'oxydation en position 7 (allylique) du cycle de la DHEA.

25 L'oxydation allylique est une réaction bien connue en chimie organique. Certaines des méthodes utilisées souffrent de faibles rendements, de conditions de mise en œuvre délicates (conditions réactionnelles, t°, traitement...), de l'utilisation de réactifs coûteux et/ou écologiquement et physiologiquement indésirables, tels que le chrome.

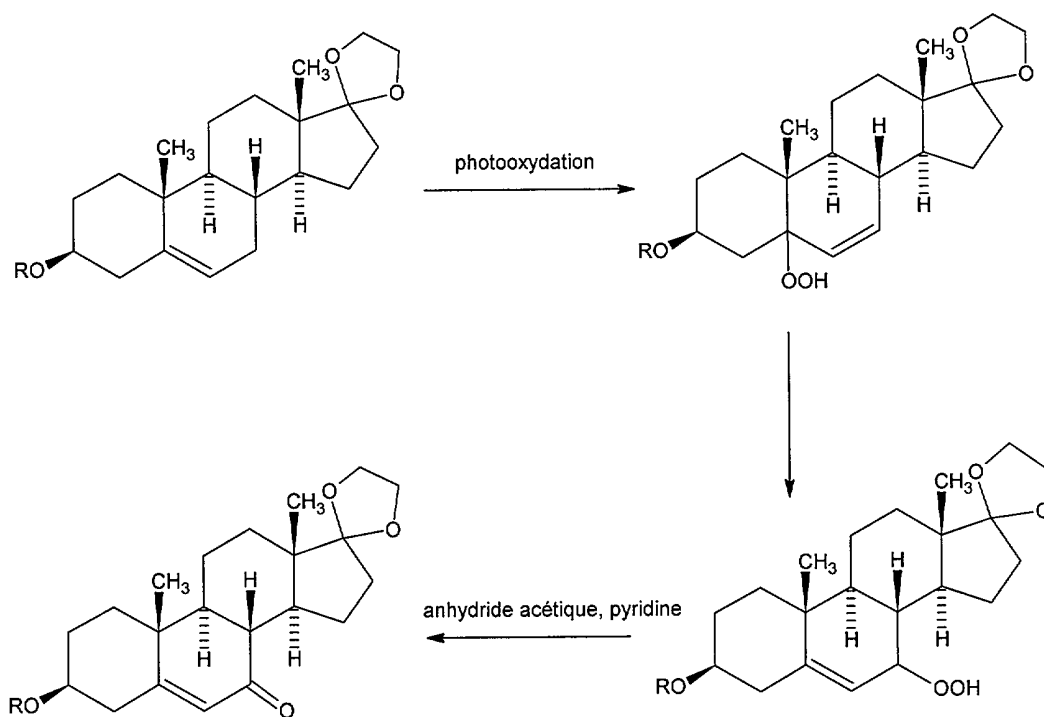
30 Aussi, la présente invention propose un procédé d'oxydation dans un solvant organique en utilisant l'oxygène, des photons et un sensibilisateur photochimique.

Les composés de formule (III) subissent une oxydation allylique par photo oxydation à l'aide d'une lampe et sous barbotage d'oxygène (ou d'air comprimé) en présence de rose de Bengale.

35 De préférence on utilise une lampe au sodium. On obtient ainsi le 5-hydroperoxyde correspondant, qui est aisément converti en 7-hydroperoxyde puis en 7-oxo par traitement par du CuCl₂ dans de la pyridine ou, avantagement, par de

l'anhydride acétique dans de la pyridine, comme illustré sur le schéma 1 ci-dessous.

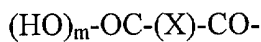
SCHEMA 1



Par ailleurs, selon une variante de l'invention, une deuxième forme
 5 d'exécution de la réaction d'oxydation en position allylique des composés de formule (III) peut être effectuée en utilisant de la N-hydroxyphtalimide sous barbotage d'oxygène ou d'air comprimé, tel que décrit dans les documents US 5,030,739 et « Steroids », 1998, **63(3)**, pp 158-165.

Les produits répondant à la formule (IV) dans laquelle

- 10
- n=1, 2
 - R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement W représente -CH₂-CH₂-
 - 15 - R représente un groupement de formule (II bis)



(II bis)

dans laquelle :

- 20 m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,
 X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les

aralkyles en C₈-C₂₀,

sont des produits nouveaux, et constituent un autre objet de l'invention.

Le composé (IV) peut ensuite être déprotégé de façon classique par traitement au méthanolate de sodium dans le méthanol (déprotection du groupe protecteur R de l'alcool en position 3) et éventuellement traitement par une solution d'acide perchlorique (déprotection de la cétone en position 17 lorsque celle-ci a été protégée).

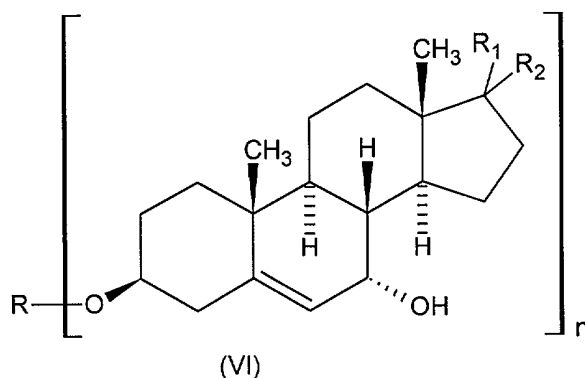
On obtient ainsi la 7-oxo-DHEA (2).

Selon une variante de l'invention illustrée par la figure 2, on peut utiliser la cétone de formule (IV) pour préparer la 7- α -OH-DHEA (4) et la 7- β -OH-DHEA (3).

Les composés de formule (IV) dont la position 17 est protégée par un acétal (R₁, R₂ représentent -O-W-O-), peuvent être réduits diastéroselectivement par du Lithium tri-*sec*-butylborohydride, connu sous le nom commercial de L-Selectride®, à basse température pour conduire aux dérivés 7 α OH correspondants qui répondent à la formule (VI) (étape 6). La position 17 peut être ultérieurement déprotégée de façon connue.

Les produits répondant à la formule (VI) :

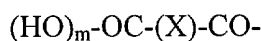
20



dans laquelle

- n=1, 2
- R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement W représente -CH₂-CH₂-
- R représente un groupement de formule (II bis)

25



(II bis)

dans laquelle :

m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

X représente un groupement choisi parmi les alkyles en

5 C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀,

sont des produits nouveaux, et constituent un autre objet de l'invention.

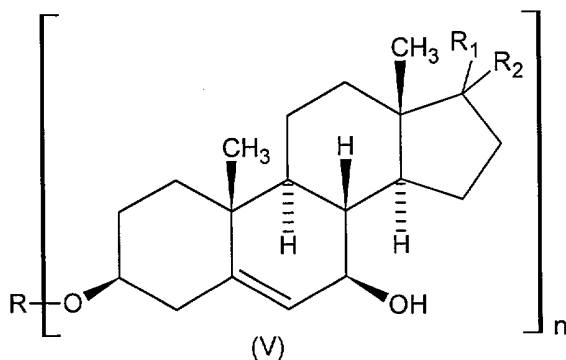
10 Les composés de formule (VI) sont déprotégés en position 3 par trans-estérification par traitement avec du méthanolate de sodium dans le méthanol.

La déprotection de l'acétal en position 17 est réalisée par traitement par une solution d'acide perchlorique et permet l'obtention de la 7 α OH DHEA (4).

15 Selon une autre variante, les composés de formule (IV) et dont la fonction 17 est protégée (R₁, R₂ représentent -O-W-O-), peuvent être réduits diastéréosélectivement par traitement par NaBH₄ en présence de chlorure cérique pour conduire aux dérivés 7 β hydroxylés de formule (V) (étape 5). La position 17 peut être ultérieurement déprotégée de façon connue.

Les produits répondant à la formule (V) :

20



dans laquelle

- 25
- n=1, 2
 - R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement W représente -CH₂-CH₂-,
 - R représente un groupement de formule (II bis)
(HO)_m-OC-(X)-CO-

(II bis)

dans laquelle :

m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-
 5 C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryyles en C₆-C₂₀, les
 aralkyles en C₈-C₂₀,

sont des produits nouveaux, et constituent un autre objet de
 l'invention.

La déprotection de l'acétal en position 17 et de l'ester en position 3
 10 conduit à la 7 β -OH-DHEA (3).

Selon encore une autre variante de l'invention, les composés de
 formule (V) peuvent subir une inversion de configuration pour conduire aux dérivés
 7 α hydroxy ou ester de formule (VI) et inversement. Pour ce faire, la présente
 invention propose deux voies :

15 La première voie, selon une application de la réaction de Mitsunobu,
 met en œuvre une inversion de configuration du 7 β hydroxyle en 7 α hydroxyle, ou
 l'inverse, à l'aide du système diéthyl azodicarboxylate / triphénylphosphine et d'acide
 carboxylique (et plus particulièrement l'acide para nitro benzoïque) ou le système
 N,N,N',N'-tétraméthylazodicarboxamide et la tributyl phosphine en présence d'acide
 20 para méthoxy benzoïque.

Ces systèmes sont choisis pour favoriser la réaction d'inversion.
 Enfin, la déprotection ultérieure en milieu méthanolate puis acide perchlorique permet
 la déprotection des positions 3 et 17.

25 Plus généralement, l'acide para méthoxybenzoïque peut être
 remplacé par un acide carboxylique choisi parmi ceux répondant à la formule R₅CO₂H
 où R₅ peut être choisi parmi les composés répondant à la formule R₄Ph, R₄ étant choisi
 parmi H-, NO₂-, CH₃O-, CN-, Cl-, Br-, F- et R₅ peut également être choisi parmi le
 groupe constitué de : CH₃-, ClCH₂-, Cl₂CH-, Cl₃C-, CH₃CH₂-.

30 Une autre voie de préparation de la 7 α OH DHEA par inversion de
 dérivés 7 β peut être employée dans le procédé de l'invention. Elle consiste à
 introduire un bon groupement partant en position 7 du 7 β OH, à l'aide du chlorure de
 méthane sulfonyl (MsCl), du chlorure de para toluène sulfonyl (TsCl) ou du chlorure
 de trifluorométhane sulfonyl (TfCl) puis d'effectuer une inversion de Walden par une
 substitution nucléophile de type SN₂ en milieu basique (OH⁻) (étape 7).

35 Alternativement, le groupement partant peut être déplacé par le sel
 alcalin d'un acide carboxylique (césium, sodium ou potassium) pour conduire au

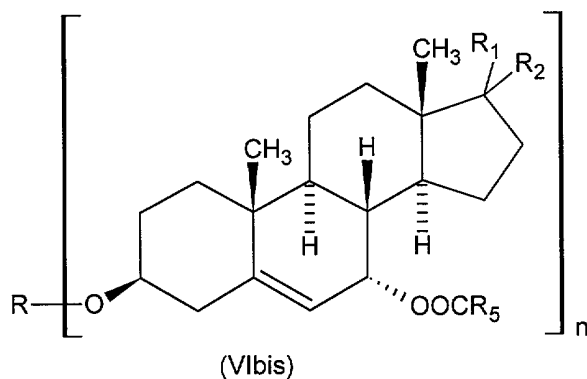
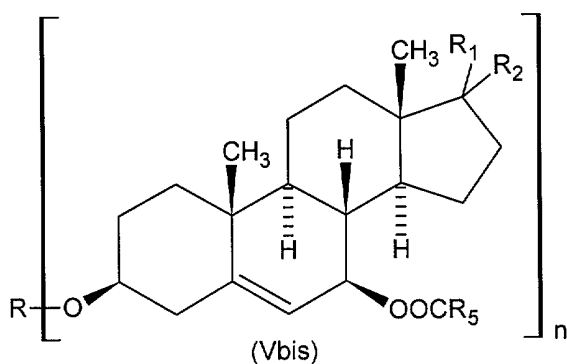
diester correspondant. L'acide carboxylique sera choisi parmi des composé répondant à la formule R_5CO_2H , où R_5 peut être choisi parmi les composés répondant à la formule R_4Ph , dans lequel R_4 pourra être choisi parmi, H-, NO_2 -, CH_3O -, CN -, Cl-, Br-, F- et R_5 peut également être choisi parmi le groupe constitué de : CH_3 -, $ClCH_2$ -,

5 Cl_2CH -, Cl_3C -, CH_3CH_2 -.

Dans ces conditions, la réaction pourra être conduite classiquement ou être accélérée par activation ultrasonore.

Les composés intermédiaires dans les réactions de Mitsunobu peuvent être représentés par les formules Vbis et VIbis ci-dessous :

10



15

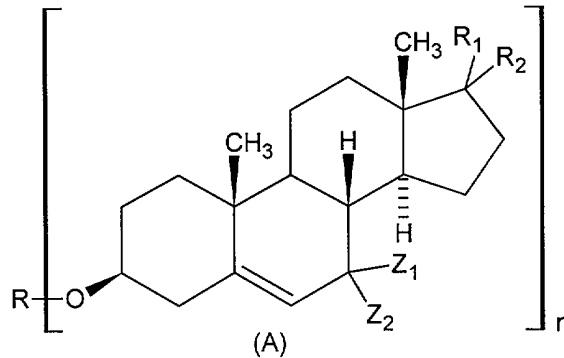
dans lesquelles les groupements R, R_1 , R_2 , R_5 et l'entier n ont la même signification que ci-dessus. Ce sont également des composés nouveaux qui constituent un autre objet de l'invention.

20 Les composés de formule (VI) sont déprotégés par transestérification par traitement par du méthanolate de sodium dans le méthanol (étape 8).

La déprotection du carbonyl en position 17 protégé par un acétal est réalisée par traitement par une solution d'acide perchlorique et permet ainsi

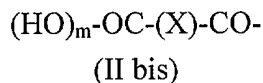
l'obtention de la 7 α OH DHEA.

L'ensemble des composés de formule (III) (IV), (V), (Vbis), (VI) et (VIbis) peut être regroupé sous une seule formule (A) :



dans laquelle

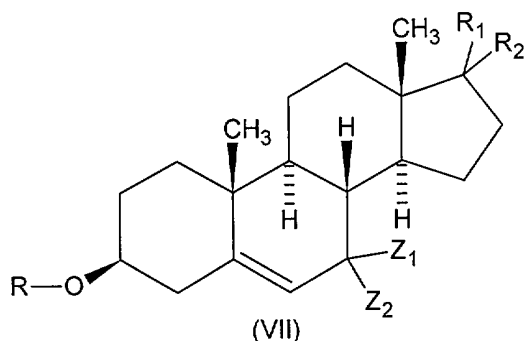
- 10
- n=1, 2
 - R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement W représente -CH₂-CH₂-,
 - Z₁, Z₂ représentent =O, (H,OH) ou (H,H), (H, R₅CO₂-), R₅ étant choisi parmi les composés répondant à la formule R₄Ph, R₄ étant choisi parmi H-, NO₂-, CH₃O-, CN-, Cl-, Br-, F- et R₅ pouvant également être choisi parmi le groupe constitué de : CH₃-, ClCH₂-, Cl₂CH-, Cl₃C-, CH₃CH₂- ;
 - R représente un groupement de formule (II bis)



20 dans laquelle :

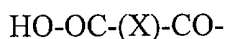
- m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,
 - X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀, étant entendu que lorsque n=1 et Z₁, Z₂ représente (H,H), X est
- 25 distinct de -(CH₂)₂- et de -(CH₂)₆-.

Selon la présente invention, les composés répondant à la formule (VII) :



dans laquelle

- R_1, R_2 représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C_2-C_8 , linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement R_1, R_2 représente -O-CH₂-CH₂-O-,
- R représente un groupement de formule (II ter)



(II ter)

dans laquelle X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C_2-C_{20} , saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C_6-C_{20} , les aralkyles en C_8-C_{20} .

Z_1, Z_2 représentent =O, (H, -OH) ou (H,H), et qui répondent à la formule (A) dans le cas où $n=1$, peuvent être utilisés pour la préparation d'autres composés actifs utilisables notamment en cosmétique.

Les composés de formules (VII) correspondent aux hémiesters (cas où $n=1$) de formule (III), (IV), (V) et (VI).

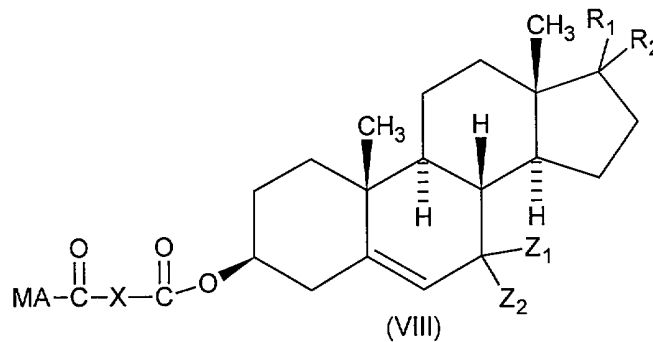
Les composés de formule (VII) comportent une fonction acide carboxylique qui peut être utilisée pour réaliser un couplage sur une autre molécule qui peut être choisie notamment parmi les principes actifs de cosmétique comprenant au moins une fonction susceptible de former une liaison covalente avec la fonction acide carboxylique. C'est le cas par exemple du rétinol, des α hydroxyacides, des α céto acides.

De façon générale, on greffe sur la molécule (VII) par l'intermédiaire de sa fonction acide carboxylique une molécule active en cosmétique ou en dermatologie comportant au moins une fonction alcool ou une fonction amine de façon à former soit une fonction ester soit une fonction amide. Si la molécule active comporte d'autres fonctionnalités susceptibles de réagir lors du couplage avec la molécule (VII) celles-ci sont avantageusement protégés à l'aide d'un groupe

protecteur approprié selon des méthodes bien connues de l'homme du métier (cas des α hydroxy acides par exemple).

Dans le cas où la molécule (VII) comporte également une fonctionnalité susceptible d'interférer avec cette réaction de couplage, celle-ci est
 5 avantageusement protégée à l'aide d'un groupement protecteur approprié (cas où $(Z_1, Z_2)=(H, OH)$).

Cette réaction conduit avantageusement aux molécules de formule (VIII) :



10

dans laquelle R_1 , R_2 , Z_1 , Z_2 et X ont la même signification que ci-dessus, et MA désigne une molécule active en cosmétique, comme par exemple le rétinol pour ses propriétés cosmétiques (anti-rides, anti-vieillessement), des α hydroxy acides ou des α céto acides pour leurs propriétés exfoliantes, l' α -bisabolol pour ses
 15 propriétés anti-inflammatoires, le tout *trans* farnesol pour ses propriétés bactériostatiques, l' α -tocophérol pour ses propriétés anti-oxydantes, un acide aminé comme notamment les acides aminés naturels.

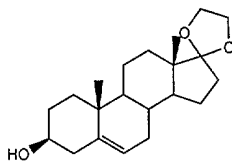
L'invention a en outre pour objet les compositions cosmétiques et/ou dermatologiques comprenant au moins un composé de formule (VIII) dans un support
 20 cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.

De telles compositions sont destinées notamment à prévenir et/ou retarder et/ou traiter l'apparition des signes du vieillissement cutané.

PARTIE EXPERIMENTALE

Préparation du 3 β -hydroxy-17,17-éthylènedioxy DHEA

5

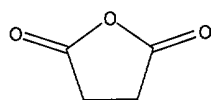


A une solution de DHEA (50 g, 0.173 mol) dans du toluène (170 ml) placée dans un tricol surmonté d'un Dean Stark et d'un réfrigérant, on ajoute de l'acide paratoluène sulfonique (0.29 g, 1.5 mmol) et de l'éthylène glycol (65 ml, 1.17 mol) et on porte l'ensemble à reflux. Le mélange réactionnel est laissé 4 heures sous agitation, on laisse revenir à température ambiante, puis on ajoute du bicarbonate de sodium (100 mg). L'éthylène glycol résiduel est éliminé par simple décantation et la phase organique est concentrée. L'huile résultante est reprise par de l'acétate d'éthyle (300 ml). La phase organique est lavée 2 fois par une solution saturée en chlorure de sodium et 2 fois par de l'eau. Après séchage sur MgSO₄, elle est concentrée et le précipité obtenu est recristallisé dans un minimum d'éthanol.

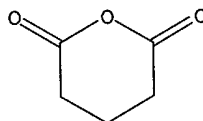
Rf 0.19 (hexane/acétate d'éthyle 8 :2)
 Point de fusion : 164-166 °C
 IR : 3500-3300 cm⁻¹, ν OH libre et lié ; 2900 cm⁻¹, ν CH₂ ; 1660 cm⁻¹, ν C=C

¹H RMN (CDCl₃, 200 MHz) : δ 5.35 ppm (d, 1H, H en C-6), 3.95 ppm (dd, 4H, H du dioxolane), 3.55 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.15 à 2.4 ppm (m, 19H, H en C-1, C-2, C-4, C-7, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.05 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18).

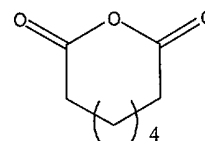
A- Héli estérification de la DHEA à partir d'anhydrides (succinique, glutarique, maléique, subérique et phtalique)



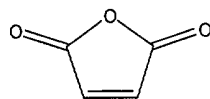
anh. succinique



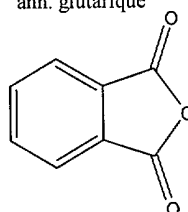
anh. glutarique



anh. subérique



anh. maléique



anh. phtalique

Le couplage entre l'anhydride subérique et la DHEA est décrit dans

5 *l'article :*

J. Org Chem, 1987, 52(16), 3573-3578

Le couplage entre l'anhydride succinique et la DHEA est décrit dans

l'article :

Steroids, 1998, 63(3), 158-165

10

1- Première méthode :

A une solution de DHEA (10 g – 1 eq - 34.69 mmole) dans 100 ml de dichlorométhane est ajoutée de la diméthyl amino pyridine (DMAP) (12.7 g - 3 eq - 104.09 mmole) et de l'anhydride succinique (10.41 g / 9.63 ml - 3 eq – 104.09

15

mmole). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 12 heures, puis versé dans de l'eau et extrait 3 fois avec du dichlorométhane.

La phase organique est lavée avec une solution d'HCl à 5%, par une solution saturée en sel de sodium, séchée sur du sulfate de sodium puis concentrée sous vide.

20

Le brut résultant est purifié par recristallisation dans le mélange méthanol/acétone pour conduire à l'hémi ester correspondant avec un rendement de 68%.

Rf : 0.36 Hexane/AcOEt/Ac acétique 6 :4 :0.1

25

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 5.4 ppm (d, 1H, H en C-6), 4.6 ppm (m, 1H, H en C-3), 2.65 ppm (dd, 4H, H du succinate), 1.15 à 2.6 ppm (m, 19H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.05 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18)

L'hémi ester de l'acide glutarique est obtenu de manière similaire avec un rendement de 54 %.

^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 5.4 ppm (d, 1H, H en C-6), 4.6 ppm (m, 1H, H en C-3), 2.65 ppm (dd, 4H), 1.67 ppm (m, 4H) 1.15 à 2.6 ppm (m, 19H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.05 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18).

5 L'hémi ester de l'acide maléique est obtenu après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane/EtOAc/AcOH - 6 : 4 : 0.1). Rdt 85 %

^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 6.45 ppm (d, 1H, H de l'anhydride maleique), 6.35 ppm (d, 1H, H de l'anhydride maleique), 5.45 ppm (d, 1H, H en C-6, $J_{67}=4.8$ Hz), 4.8 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.15 à 2.6 ppm (m, 21H, H en C-1, C-2, C-4, C-7, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16).

L'hémi ester de l'acide 1,2-benzoïque est obtenu de manière similaire avec un rendement de 47 %.

15 ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 8.25 ppm (dd, 1H,), 8.20 ppm (dd, 1H,), 7.71 ppm (m, 2H), 5.45 ppm (d, 1H, H en C-6, $J_{67}=4.8$ Hz), 4.8 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.15 à 2.6 ppm (m, 21H, H en C-1, C-2, C-4, C-7, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16)

2-Seconde méthode :

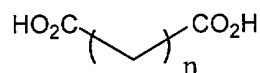
20 A une solution de DHEA (10 g - 1 eq - 34.69 mmole) dans 50 ml de pyridine (fraîchement distillée) est ajouté de l'anhydride succinique (17.35 g / 16.06 ml - 5 eq - 173.48 mmole). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 12 heures, puis versé dans de l'eau et extrait 3 fois avec du dichlorométhane.

25 La phase organique est lavée avec une solution d'HCl à 5%, par une solution saturée en sel de sodium, séchée sur du sulfate de sodium puis concentrée sous vide. Le brut résultant est purifié par recristallisation dans le mélange méthanol / acétone pour conduire à l'hémi ester correspondant avec un rendement de 72 %.

L'hémi ester de l'acide subérique est obtenu de manière similaire après chromatographie sur colonne de gel de silice (éther) puis recristallisé dans le système EtOAc/hexane. Rdt =39 %

30

B- Hémi estérification de la DHEA à partir de diacides :



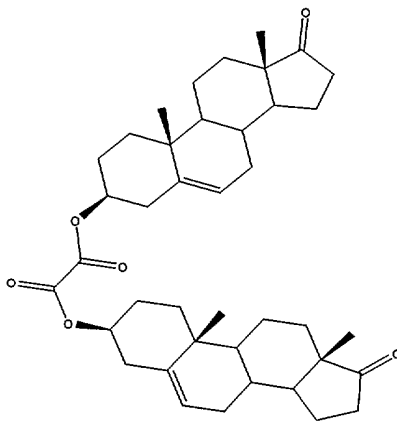
n =1, 4-8, 10

L'acide adipique (5 g - 1 eq - 34.21 mmole) en solution dans 50 ml de pyridine est traité par du chlorure de para toluène sulfonyl (11.91 g - 0.9 eq - 31.2 mmole). L'ensemble est laissé sous agitation à 0°C pendant 30 minutes. Au mélange réactionnel résultant est ajoutée goutte à goutte la DHEA (2.81 g - 0.28 eq - 9.77 mmole) en solution dans 60 ml de pyridine. Après 4 heures d'agitation à température ambiante, 250 ml d'eau sont ajoutés au mélange réactionnel et l'ensemble est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution d'HCl à 5%, par une solution saturée en sel de sodium, séchée sur du sulfate de sodium puis concentrée sous vide. Le brut résultant est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane / EtOAc / AcOH - 6 : 4 : 0.1) pour conduire à l'hémi ester correspondant avec un rendement de 92 %.

Les autres diacides sont traités de la même manière pour conduire quasi quantitativement aux hémi esters correspondants.

C- Préparation des di-esters de DHEA :

1- Première méthode : à partir de chlorure d'oxalyle



20

A une solution de DHEA (5 g - 1 eq - 17.34 mmole) dans 20 ml de pyridine est ajouté, goutte à goutte, et à 0°C, le chlorure d'oxalyle (1.09 g - 0.5 eq - 8.67 mmole). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 2 heures, puis versé dans de l'eau. Le précipité est lavé avec de l'eau puis avec de l'heptane.

Le brut résultant est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane / AcOEt 8:2). Rdt : 54 %.

^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 5.45 ppm (d, 2H, H en C-6 et en C-6'), 4.75 ppm (m, 2H, H en C-3 et en C-3'), 1.15 à 2.6 ppm (m, 38H, H en C-1, C-1', C-2, C-2', C-4, C-4', C-7, C-7', C-8, C-8', C-9, C-9', C-11, C-11', C-12, C-12', C-14, C-14', C-15, C-15', C-16 et C-16'), 1.05 ppm (s, 6H, H en C-19 et C-19'), 0.9 ppm (s, 6H, H en C-18 et C-18').

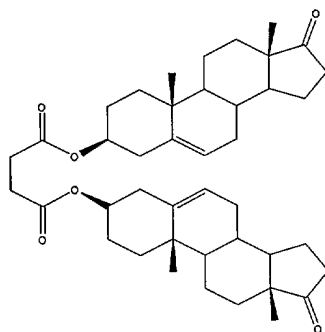
Spectre de masse : FAB^+ $[\text{M}+\text{H}]^+=631$ et $[\text{M}+\text{Na}]^+=653$.

2- Deuxième méthode : à partir des héli esters préparés aux § A et

B :

10 Cette méthodologie est basée sur l'estérification de la position 3 de la DHEA avec des héli esters de DHEA en présence de N, N'-carbonyldiimidazole.

Exemple



15 L'héli succinate de DHEA (1 g - 1 eq - 2.57 mmole) et le N, N'-carbonyldiimidazole (0.83 g - 2 eq - 5.14 mmole) sont mis en solution dans 60 ml de THF anhydre et l'ensemble est laissé à température ambiante et sous agitation pendant 12 heures. La DHEA (3.7 g - 5 eq - 12.85 mmole) est alors ajoutée puis l'ensemble est porté au reflux pendant huit heures.

20 Le mélange réactionnel est ensuite refroidi, dilué avec 200 ml d'eau puis extrait avec du chloroforme. La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée avec du sulfate de sodium puis concentrée sous vide. Le brut résultant est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane / AcOEt 97.5 / 2.5) puis recristallisé dans du méthanol pour conduire au diester correspondant avec un rendement de 24 %

25 Rf : 0.32 Hexane /acétate d'éthyle : 9/1)

30 ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 5.4 ppm (dd, 2H, H en C-6 et en C-6'), 3.75 ppm (m, 2H, H en C-3 et en C-3'), 2.55 ppm (dd, 4H, H du succinate), 1.1 à 2.45 ppm (m, 38H, H en C-1, C-1', C-2, C-2', C-4, C-4', C-7, C-7', C-8, C-8', C-9, C-9', C-11, C-11', C-12, C-12', C-14, C-14', C-15, C-15', C-16 et C-16'), 1.05 ppm (s, 6H, H en C-19 et C-19'), 0.9 ppm (s, 6H, H en C-18 et C-18').

Alternativement à cette technique, le dimère peut être obtenu par traitement de l'hémi ester de DHEA avec du chlorure de thionyle et de la DHEA.

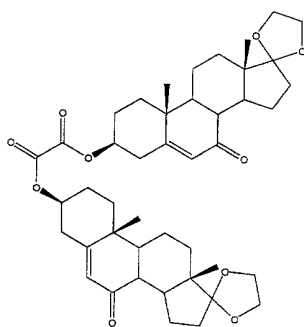
A une solution d'hémi succinate de DHEA (1 g - 1 eq - 2.57 mmole) dans 20 ml de tétrachlorure de carbone est ajouté du chlorure de thionyle (0.9 g - 3 eq - 7.71 mmole). L'ensemble est porté à reflux pendant 2 à 3 heures. Après refroidissement, le milieu est concentré sous vide. Le brut résultant est traité par de la DHEA (1.11 g - 1.5 eq - 3.855 mmole) en solution dans 50 ml de dichlorométhane puis est laissé sous agitation et à température ambiante toute une nuit.

Le milieu réactionnel est versé dans une solution aqueuse à 5% de bicarbonate de sodium. Les deux phases sont séparées, la phase aqueuse est lavée avec 100 ml de dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec de l'eau, séchées sur sulfate de sodium puis concentrées sous vide. Le brut résultant est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane / AcOEt 97.5 / 2.5) puis recristallisé dans du méthanol pour conduire au diester correspondant avec un rendement de 32 %

OXYDATION ALLYLIQUE

1) Par photo oxydation:

Préparation du 3 β ,3 β' -O-oxalyl-bis-(7-oxo-17,17-éthylènedioxy-DHEA)



Le 3 β ,3 β' -O-oxalyl-bis-(17,17-éthylènedioxy)-DHEA (? g - ? mmol) est solubilisé dans 50 ml de pyridine en présence de rose de bengale (30 mg). Le mélange réactionnel est irradié avec une lampe au sodium (400 w) sous un courant continu d'air comprimé, sous agitation et avec un système de réfrigération réglé à 10 °C. Après 96 heures le mélange réactionnel est refroidi et on ajoute de l'anhydride acétique (7,5 ml - 0.166 mol). La réaction est laissée sous agitation et à température

ambiante pendant une nuit. En fin de réaction la pyridine est concentrée sous vide. Le brut résultant est repris avec de l'acétate d'éthyle (20 ml) puis lavé avec de l'eau, puis avec une solution saturée en chlorure de sodium, et la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis concentré sous vide. Une recrystallisation dans un minimum d'éthanol permet d'obtenir le 3 β ,3 β' -O-oxalyl-bis-(7-oxo-17,17-éthylènedioxy)-DHEA avec un rendement de ?%.

^1H RMN (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 5.7 ppm (d, 2H, H en C-6), 3.75 ppm (m, 2H, H en C-3), 3.9 ppm (s, 8H, H du dioxolane), 1.3 à 2.5 ppm (m, 34H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.25 ppm (s, 6H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 6H, H en C-18).

FAB $^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 747$ et $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 769$.

^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 5.7 ppm (d, 1H, H en C-6), 3.7 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.3 à 2.9 ppm (m, 17H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.2 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18)

2) Oxydation en utilisant de la N-hydroxyphthalimide

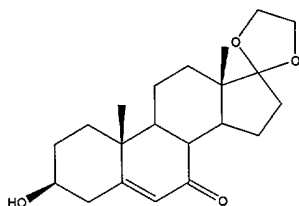
Le 3 β -O-acétyl- 17,17-éthylènedioxy-DHEA (50 g – 134 mmol) en solution dans un mélange acétate d'éthyle/acétone (250/250 ml) est placé dans un réacteur muni d'un réfrigérant. Après ajout et solubilisation de la N-hydroxyphthalimide (21.8 g, 9.38 mmol), on ajoute et on porte à reflux le milieu réactionnel pendant 5 jours sous un flux constant d'air comprimé. En fin de réaction, les solvants sont concentrés et le milieu est repris dans du toluène froid. Le précipité de N-hydroxyphthalimide est filtré et le filtrat est lavé par une solution saturée en bicarbonate de sodium, par une solution en chlorure de sodium puis finalement par de l'eau. La phase organique est séchée sur du sulfate de magnésium puis concentrée sous vide. Le brut résultant est repris avec de la pyridine (150 ml) puis est ajouté goutte à goutte de l'anhydride acétique (75 ml). La réaction est laissée sous agitation et à température ambiante pendant 15 heures. En fin de réaction, la pyridine est concentrée sous vide, le brut résultant est repris avec de l'acétate d'éthyle (100 ml), la phase organique est lavée deux fois avec de l'eau, deux fois avec une solution saturée en chlorure de sodium, elle est séchée sur sulfate de magnésium, puis concentrée sous vide. Une recrystallisation dans un minimum de méthanol permet d'obtenir le produit souhaité avec un rendement de 44%

^1H RMN (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 5.7 ppm (d, 1H, H en C-6), 3.75 ppm (m, 1H, H en C-3), 3.9 ppm (s, 4H, H du dioxolane), 2.1 ppm (s, 3H, -O-CO-

CH_3), 1.3 à 2.5 ppm (m, 17H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.25 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18).

Déprotection des dérivés 7-oxo :

Les composés de formule (IV) sont dans un premier temps
5 déprotégés par traitement avec du méthanolate de sodium dans le méthanol pour conduire au dérivé 3 β hydroxy 7-oxo 17 dioxolane DHEA



Déprotection du diester 3,3'-oxalyl-bis-(7-oxo-17,17-éthylènedioxy-DHEA)

10 Le 3 β ,3 β '-oxalyl-bis-(7-oxo-17,17-éthylènedioxy-DHEA) (5 g – 6.7 mmol) est repris avec du méthanol (50 ml), l'ensemble est refroidi à 4°C et on ajoute du méthanolate de sodium (MeONa) (0.76 g- 20 mmol). Après 4 heures on ajoute de l'eau et on extrait avec de l'acétate d'éthyle (100 ml). La phase organique est lavée
15 plusieurs fois avec une solution saturée en chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée sous vide pour conduire au produit attendu après recristallisation dans un minimum d'éthanol.

Rf = 0.68 (acétate d'éthyle)

Rdt 34%

20 ^1H RMN (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 5.7 ppm (d, 1H, H en C-6), 3.9 ppm (m, 4H, H de la fonction dioxolane), 3.7 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.3 à 2.8 ppm (m, 17H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-14, C-15, C-16), 1.2 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18).

Dans un deuxième temps la position 17 est déprotégée pour conduire à la 3 β -hydroxy 7-oxo DHEA.

25 Le dérivé 3 β -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA (1.5 g – 0.43 mmol) est dissous dans 38 ml d'acétone, est ensuite ajouté 67.5 ml d'eau et 21.5 ml d'une solution aqueuse à 0.1% en acide perchlorique. Le mélange réactionnel est laissé 20 heures sous agitation et à température ambiante. En fin de réaction, une solution à 5% en bicarbonate de sodium est ajoutée (100 ml). L'acétone est chassée
30 sous vide et la phase aqueuse est extraite par du dichlorométhane (3 x 10 ml). La phase

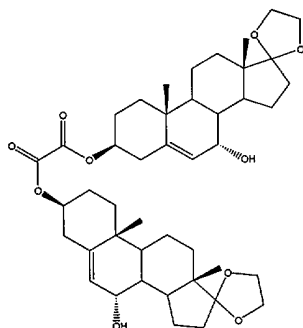
organique est concentrée sous vide et le brut résultant est recristallisé dans du méthanol pour conduire au produit désiré avec un rendement de 65%.

REDUCTION DIASTEREOSELECTIVE

5

Obtention de dérivés 7 α hydroxylés

Préparation du 3 β ,3 β' -oxalyl-bis-(7 α -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA)



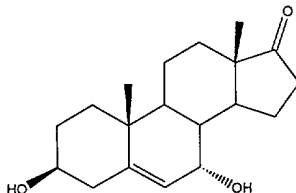
10

A une solution de 3 β ,3 β' -oxalyl-bis-(7-oxo-17,17-éthylènedioxy-DHEA) (5 g – 6.7 mmol) dans 60 ml de THF refroidie à -78°C est ajouté goutte à goutte et sous atmosphère inerte 14.74 ml de L-selectride® (1M dans le THF). Après 2 heures de réaction, le mélange réactionnel est amené à 0°C et on ajoute de l'eau lentement et sous agitation. Le milieu est dilué avec de l'éther. Les phases aqueuse et organique sont séparées, puis la phase organique est lavée avec une solution saturée en chlorure de sodium, séchée sur sulfate de magnésium. Le brut résultant peut être utilisé tel quel pour l'étape de saponification par le méthanolate de sodium ou purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (Hexane / acétate d'éthyle : 7/3)

20

^1H RMN (CDCl_3 , 250 MHz) : δ 5.65 ppm (d, 2H, H en C-6), 3.75 ppm (m, 2H, H en C-3), 3.9 ppm (s, 10H, H dioxolane + H-7), 1.3 à 2.5 ppm (m, 34H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.25 ppm (s, 6H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 6H, H en C-18).

Déprotection des positions 3 et 17



25

Le 3 β ,3 β' -oxalyl-bis-(7 α -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA) est désacétylé selon le traitement au méthanolate de sodium déjà décrit pour conduire au dérivé 3 β -hydroxy-7 α -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA qui après traitement est engagé dans la déprotection finale à l'acide perchlorique pour conduire à la 3 β -

5 hydroxy-7 α -hydroxy-DHEA avec un rendement de 54% (à partir du dérivé 7-oxo)
 Rf : 0.17 (hexane / acétate d'éthyle 7 :3)
 Point de fusion : 187-189 °C
 CLHP: 9 min (gradient : acétonitrile/méthanol/eau 15/20/65 à acétonitrile 100)

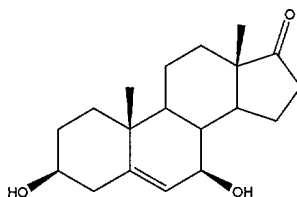
10 ^1H RMN (CD_3OD , 250 MHz) : δ 5.6 ppm (d, 1H, H en C-6), 3.9 ppm (t, 1H, H en C-7 α), 3.5 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.1 à 2.6 ppm (m, 17H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.05 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18).

Obtention de dérivés 7 β hydroxylés

15 **Préparation du 3 β ,3 β' -oxalyl-bis-(7 β -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA)**

A une solution de 3 β ,3 β' -oxalyl-bis-(7-oxo-17,17-éthylènedioxy-DHEA) (5 g – 6.7 mmol) dans du THF (14 ml), refroidie à -5°C, est ajoutée goutte à goutte une solution de $\text{CeCl}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (2.49 g – 6.7 mmol) dans du méthanol (32.5 ml).
 20 Après environ 5 minutes d'agitation est ajouté NaBH_4 (0.5 g – 13.4 mmol) en plusieurs fois. Après 15 minutes de réaction à -5 °C, on ajoute lentement de l'acétone (15 ml). On laisse le milieu réactionnel revenir à température ambiante puis on le concentre sous vide. Le brut résultant peut être utilisé tel quel pour l'étape de saponification par le méthanolate de sodium ou purifié par chromatographie sur
 25 colonne de gel de silice (Hexane / acétate d'éthyle : 7/3)

Déprotection des positions 3 et 17



30 Le 3 β ,3 β' -oxalyl-bis-(7 β -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA) est désacétylé selon le traitement au méthanolate de sodium déjà décrit pour conduire au dérivé 3 β -hydroxy-7 β -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA qui après la déprotection

finale à l'acide perchlorique conduit à la 3 β -hydroxy-7 β -hydroxy-DHEA avec un rendement de 58% (à partir du dérivé 7-oxo)

Rf : 0.27 (hexane / acétate d'éthyle 7 :3)

CLHP: 7.7 min (gradient : acétonitrile/méthanol/eau 15/20/65 à
5 acétonitrile 100)

^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 5.3 ppm (d, 1H, H en C-6), 3.95 ppm (dd 1H, H en C-7 β), 3.55 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.15 à 2.55 ppm (m, 17H, H en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.1 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18).

10 **INVERSION DE CONFIGURATION du 7 β en 7 α**

Réaction de Mitsunobu

Préparation du 3 β -O-hémisuccinate 7 β -O-(p-nitro)benzoate 17,17-éthylènedioxy-DHEA

A une solution de 3 β -O-hémisuccinate 7 β -hydroxy-17,17-
15 éthylènedioxy-DHEA (2 g – 4.75 mmol), de triphénylphosphine (6.3 g - 23.75 mmol) et d'acide para nitrobenzoïque (3.95 g – 23.75 mmol) dans le benzène (50 ml) est ajoutée goutte à goutte et à température ambiante une solution de diéthylazodicarboxylate (3.71 ml - 23.75 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 18 heures. Le solvant est ensuite concentré sous vide et le brut résultant est
20 purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane/acétate d'éthyle/acide acétique 8:2:0.1). Rdt 34%

^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) : δ 8.35 ppm (dd, 2H, H du cycle aromatique), 8.24 ppm (dd, 3H, H du cycle aromatique), 5.75 ppm (d, 1H, H en C-6), 5.35 ppm (dd, 1H, H en C-7), 4.65 ppm (m, 1H, H en C-3), 1.15 à 2.5 ppm (m, 17H, H
25 en C-1, C-2, C-4, C-8, C-9, C-11, C-12, C-14, C-15, C-16), 1.1 ppm (s, 3H, H en C-19), 0.9 ppm (s, 3H, H en C-18).

La déprotection des positions 3 et 7 en milieu méthanolique, suivi de la déprotection de la position 17 conduit à la 3 β -hydroxy-7 α -hydroxy-DHEA avec un rendement de 72%

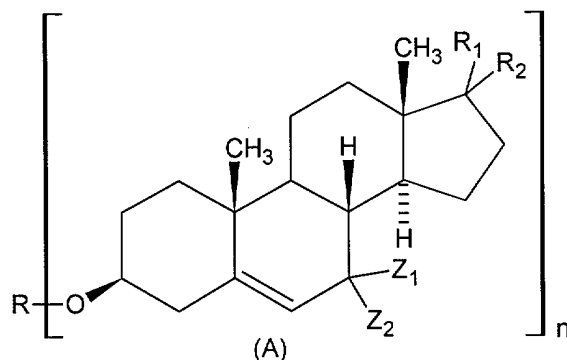
30 **Inversion de Walden**

Préparation du 3 β -O-hémisuccinate 7 β -O-mésyl 17,17-éthylènedioxy-DHEA

A une solution de 3 β -O-hémisuccinate 7 β -hydroxy-17,17-éthylènedioxy-DHEA (2 g – 4.75 mmol) dans du dichlorométhane (100 ml) (triéthylamine (13.5 ml – 96.58 mmol) est ajouté le chlorure de méthane sulfonyl (11.06 g – 96.58 mmol). Le milieu est laissé sous agitation pendant 5 jours à 4°C. Le
5 solvant est concentré sous vide puis repris avec un mélange méthanol/eau/THF (3/10/10 – 50 ml) auquel est ajouté du KOH (5 g - 100 mmol). L'ensemble est porté à reflux pendant 24 heures. On laisse revenir à température ambiante, le milieu est concentré sous vide pour chasser les solvants volatils, redilué avec de l'eau puis extrait avec du dichlorométhane. La phase organique est lavée avec de l'eau, avec une
10 solution aqueuse à 5% d'acide acétique puis avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis concentrée sous vide. Le brut résultant est directement engagé dans l'étape de déprotection de la position 17 pour conduire à la 3 β -hydroxy-7 α -hydroxy-DHEA après chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane/acétate d'éthyle/ 1:9 puis
15 0:10). Rdt 23%

REVENDICATIONS

5 1. Composé caractérisé en ce qu'il répond à la formule (A) :



dans laquelle

- n=1, 2
- 10 - R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement W représente -CH₂-CH₂-,
- Z₁, Z₂ représentent =O, (H,OH) ou (H,H), (H, R₅CO₂-), R₅ étant
15 choisi parmi les composés répondant à la formule R₄Ph, R₄ étant choisi parmi H-, NO₂-, CH₃O-, CN-, Cl-, Br-, F- et R₅ pouvant également être choisi parmi le groupe constitué de : CH₃-, ClCH₂-, Cl₂CH-, Cl₃C-, CH₃CH₂- ;
- R représente un groupement de formule (II bis)



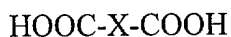
dans laquelle :

- m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,
- X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-
25 C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀, étant entendu que lorsque n=1 et Z₁, Z₂ représente (H,H), X est distinct de -(CH₂)₂- et de -(CH₂)₆-.

2. Procédé de synthèse de dérivés de la DHEA, ce procédé utilisant comme produit de départ la DHEA, ce procédé étant caractérisé en ce que :

(1) Dans une première étape, on protège éventuellement la fonction cétone en position 17 de la DHEA par un groupement protecteur,

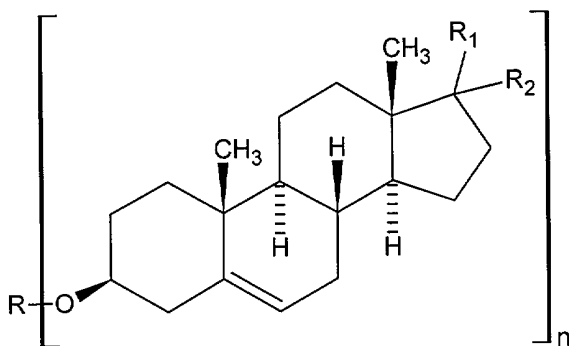
(2) Dans une seconde étape, on prépare l'hémiester (n=1) ou le diester (n=2) entre l'alcool en position 3 du composé obtenu à l'étape (1) et un acide dicarboxylique choisi parmi ceux répondant à la formule (II) :



(II)

de façon à obtenir un composé selon la revendication 1 répondant à la formule (III) :

10



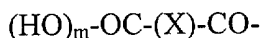
(III)

dans laquelle :

n représente un entier choisi parmi 1 et 2 ;

15 R₁, R₂ représentent un groupement =O ou un groupement -O-W-O-, dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;

R représente un groupement de formule (II bis)



(II bis)

20

dans laquelle :

m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀.

25

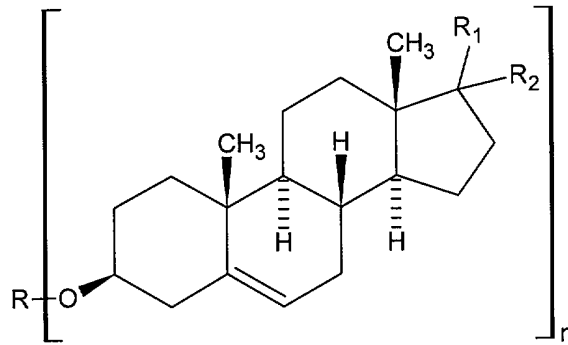
3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que la DHEA est protégée en position 17 sous forme d'un acétal cyclique par traitement avec de l'éthylène glycol, à reflux du toluène, en présence d'acide paratoluène sulfonique en utilisant un dispositif de Dean Stark.

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 et 3, caractérisé en ce que l'acide di-carboxylique est choisi parmi :

l'acide succinique, l'acide glutarique, l'acide subérique, l'acide maléique, l'acide phtalique ; l'acide isophtalique, l'acide téréphtalique, l'acide 1,2-phénylène diacétique, l'acide 1,3-phénylène diacétique, l'acide 1,4-phénylène diacétique.

5. Produit selon la revendication 1, susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (III) :

10



(III)

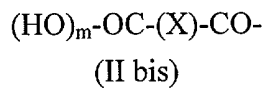
dans laquelle :

n représente un entier choisi parmi 1 et 2 ;

R₁, R₂ représentent un groupement =O ou un groupement -O-W-O dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé

15

R représente un groupement de formule (II bis)



20

dans laquelle :

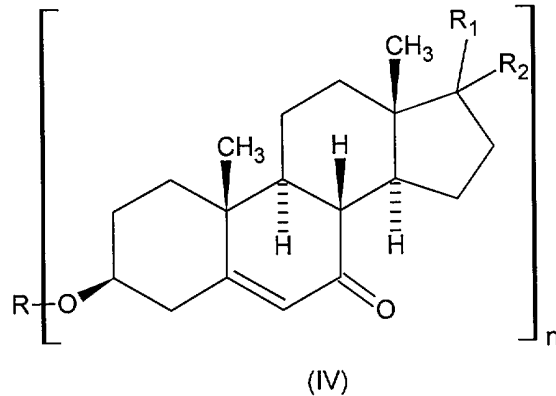
m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀, étant entendu que lorsque n=1, X est distinct de -(CH₂)₂- et de -(CH₂)₆-.

25

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisé en ce qu'il comporte en outre une étape d'oxydation allylique sur le carbone en position 7 du composé répondant à la formule (III) de façon à obtenir la

cétone de formule (IV) :



dans laquelle :

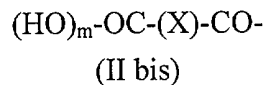
5

n représente un entier choisi parmi 1 et 2 ;

R_1 , R_2 représentent un groupement =O ou un groupement -O-W-O-, dans lequel W représente un groupement alkyle en C_2 - C_8 , linéaire ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;

R représente un groupement de formule (II bis)

10



dans laquelle :

m représente 0 lorsque $n=2$ et m représente 1 lorsque $n=1$,

15 X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C_2 - C_{20} , saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C_6 - C_{20} , les aralkyles en C_8 - C_{20} .

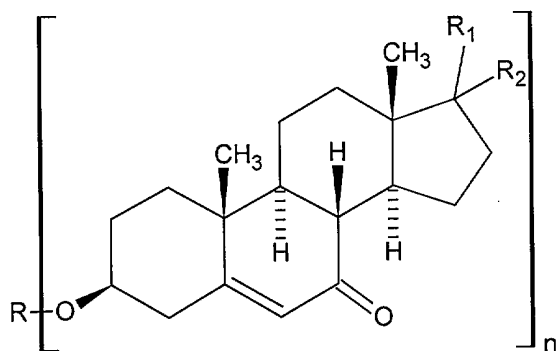
20 7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que le composé de formule (III) est traité par photo oxydation à l'aide d'une lampe et sous barbotage d'oxygène ou d'air comprimé en présence de rose de Bengal, puis traitement par de l'anhydride acétique dans la pyridine.

8. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que le composé de formule (III) est traité par de la N-hydroxyphthalimide sous barbotage d'oxygène ou d'air comprimé.

25 9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, de préparation de la 7-oxo-DHEA, caractérisé en ce qu'il comporte en outre une étape au cours de laquelle le composé de formule (IV) est traité de façon à ôter les groupes protecteurs de l'alcool en position 3 et éventuellement de la cétone en position 17.

10. Composé selon la revendication 1, susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendication 6 à 8, caractérisé en ce qu'il

répond à la formule (IV) :



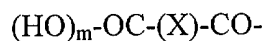
(IV)

5

dans laquelle

- n=1, 2
- R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique saturé ou insaturé
- R représente un groupement de formule (II bis)

10



(II bis)

dans laquelle :

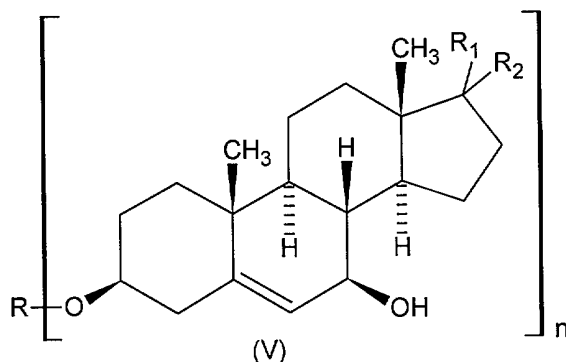
m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

15

X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀.

20

11. Procédé selon la revendication 6, de préparation d'un dérivé de la DHEA, caractérisé en ce qu'il comporte en outre une étape au cours de laquelle le composé de formule (IV) est réduit diastéréosélectivement pour conduire au dérivé 7β OH répondant à la formule (V) :



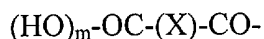
dans laquelle :

n représente un entier choisi parmi 1 et 2 ;

R₁, R₂ représentent un groupement =O ou un groupement -O-W-O-,

5 dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;

R représente un groupement de formule (II bis)



(II bis)

10 dans laquelle :

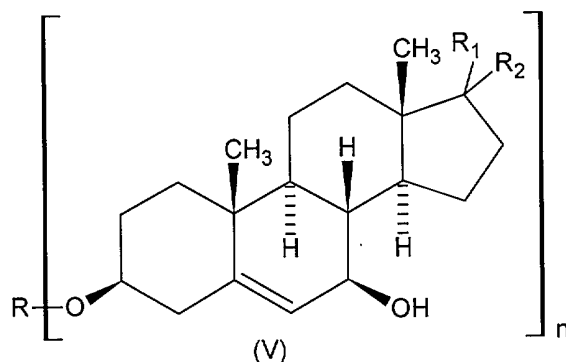
m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀.

15 12. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que la réduction est faite par traitement par NaBH₄ en présence de chlorure cérique.

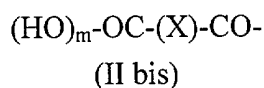
20 13. Procédé selon la revendication 11 ou la revendication 12, de préparation de la 7-β-OH-DHEA, caractérisé en ce qu'il comporte en outre une étape au cours de laquelle on déprotège l'acétal en position 17 et l'ester en position 3 du composé de formule (V).

14. Composé selon la revendication 1 susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 11 à 13, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (V) :



dans laquelle

- $n=1, 2$
- R_1, R_2 représentent =O ou un groupement -O-W-O dans lequel W représente un groupement alkyle en C_2-C_8 , linéaire, ramifié ou cyclique saturé ou insaturé,
- R représente un groupement de formule (II bis)



10

dans laquelle :

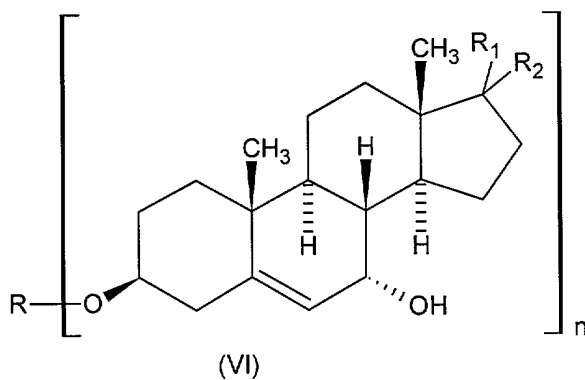
m représente 0 lorsque $n=2$ et m représente 1 lorsque $n=1$,

X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C_2-C_{20} , saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C_6-C_{20} , les aralkyles en C_8-C_{20} .

15

15. Procédé selon la revendication 11, de préparation d'un dérivé de la DHEA, caractérisé en ce qu'il comporte en outre une étape au cours de laquelle le composé de formule (V) est traité selon la méthode de Walden ou la méthode de Mitsunobu pour donner un composé 7α OH répondant à la formule (VI) :

20

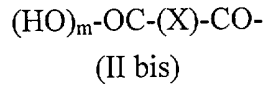


dans laquelle :

n représente un entier choisi parmi 1 et 2 ;

R₁, R₂ représentent un groupement =O ou un groupement -O-W-O-, dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;

5 R représente un groupement de formule (II bis)

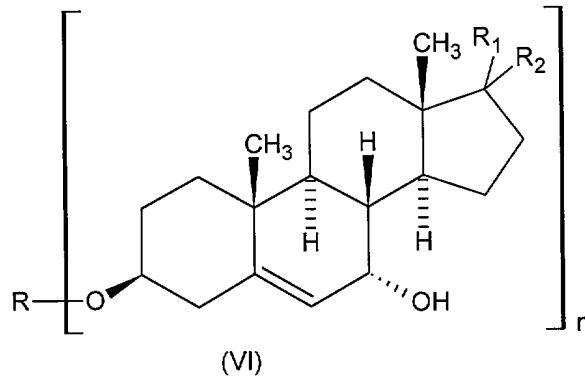


dans laquelle :

m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

10 X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀.

15 16. Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, de préparation d'un dérivé de la DHEA, caractérisé en ce qu'il comporte une étape au cours de laquelle le composé de formule (IV) est réduit diastéréosélectivement pour conduire au dérivé 7α OH répondant à la formule (VI) :

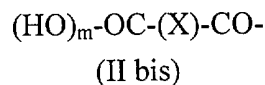


dans laquelle :

20 n représente un entier choisi parmi 1 et 2 ;

R₁, R₂ représentent un groupement =O ou un groupement -O-W-O-, dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;

25 R représente un groupement de formule (II bis)



dans laquelle :

m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,

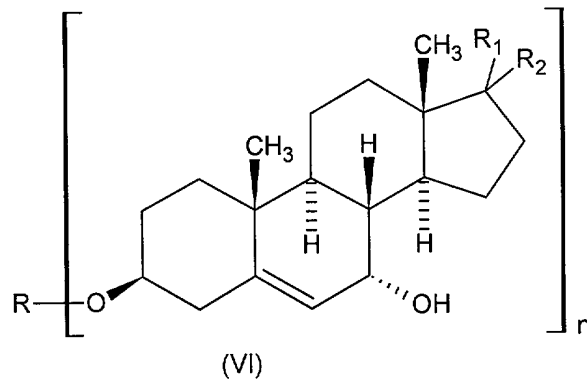
X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-

C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀.

17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé en ce que la réduction est faite à l'aide de Lithium tri-*sec*-butylborohydride

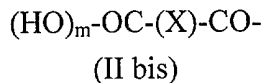
5 18. Procédé selon la revendication 15 ou la revendication 16, de préparation de la 7- α -OH-DHEA, caractérisé en ce qu'il comporte en outre une étape au cours de laquelle on déprotège l'acétal en position 17 et l'ester en position 3 du composé de formule (VI).

10 19. Composé selon la revendication 1, susceptible d'être obtenu par le procédé selon la revendication 16 ou la revendication 17, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (VI) :



15 dans laquelle

- n=1, 2
- R₁, R₂ représentent =O ou un groupement -O-W-O dans lequel W représente un groupement alkyle en C₂-C₈, linéaire, ramifié ou cyclique saturé ou insaturé
- R représente un groupement de formule (II bis)

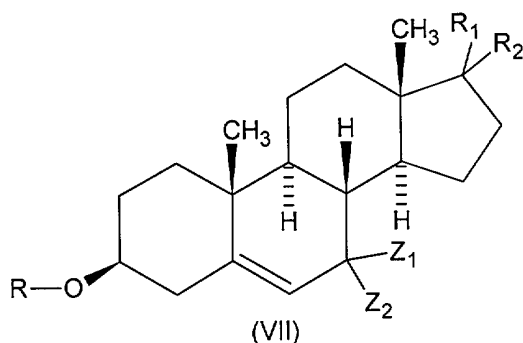


dans laquelle :

25 m représente 0 lorsque n=2 et m représente 1 lorsque n=1,
X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C₂-C₂₀, saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C₆-C₂₀, les aralkyles en C₈-C₂₀.

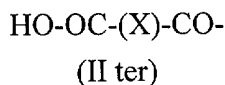
20. Procédé de préparation d'un dérivé de la DHEA, selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, 6 à 8, 11 à 12 et 15 à 17, ce procédé étant

caractérisé en ce qu'il comporte une étape au cours de laquelle on fait réagir un composé répondant à la formule (VII) :



5 dans laquelle

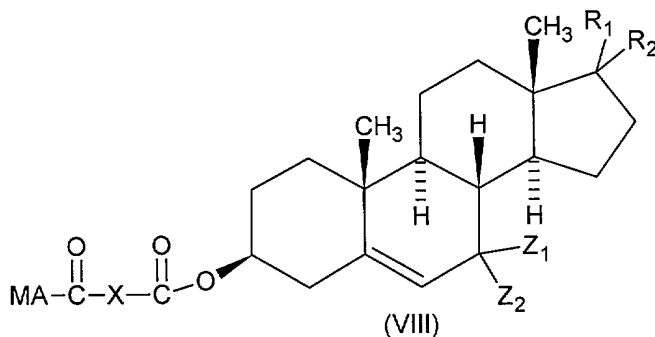
- R_1, R_2 représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C_2-C_8 , linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ; préférentiellement R_1, R_2 représente -O-CH₂-CH₂-O-,
- 10 - R représente un groupement de formule (II ter)



15 dans laquelle X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C_2-C_{20} , saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C_6-C_{20} , les aralkyles en C_8-C_{20} .

- Z_1, Z_2 représentent =O, (H, -OH) ou (H,H), par l'intermédiaire de sa fonction acide carboxylique avec une molécule active en cosmétique ou en dermatologie comportant au moins une fonction alcool ou une fonction amine de façon à former soit une fonction ester soit une
- 20 fonction amide.

21. Composé susceptible d'être obtenu par le procédé selon la revendication 20, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (VIII) :



dans laquelle :

- R_1, R_2 représentent =O ou un groupement -O-W-O- dans lequel W représente un groupement alkyle en C_2-C_8 , linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;
 5 -O-CH₂-CH₂-O-,
 préférentiellement R_1, R_2 représente
- X représente un groupement choisi parmi les alkyles en C_2-C_{20} , saturés ou insaturés, linéaires, ramifiés ou cycliques, les aryles en C_6-C_{20} , les aralkyles en C_8-C_{20} ,
- Z_1, Z_2 représentent =O, (H, -OH) ou (H,H),
- 10 - MA désigne une molécule active en cosmétique, choisie parmi le rétinol, un α hydroxy acide, un α céto acide, l' α -bisabolol, le tout *trans* farnesol, l' α -tocophérol, un acide aminé naturel.

22. Compositions cosmétiques et/ou dermatologiques comprenant au moins un composé de formule (VIII) selon la revendication 21 dans un support
 15 cosmétiquement et/ou dermatologiquement acceptable.

23. Utilisation d'un composé répondant à la formule (VIII) selon la revendication 21, pour la préparation d'une composition cosmétique ou dermatologique destinée à prévenir et/ou retarder et/ou traiter l'apparition des signes du vieillissement cutané.

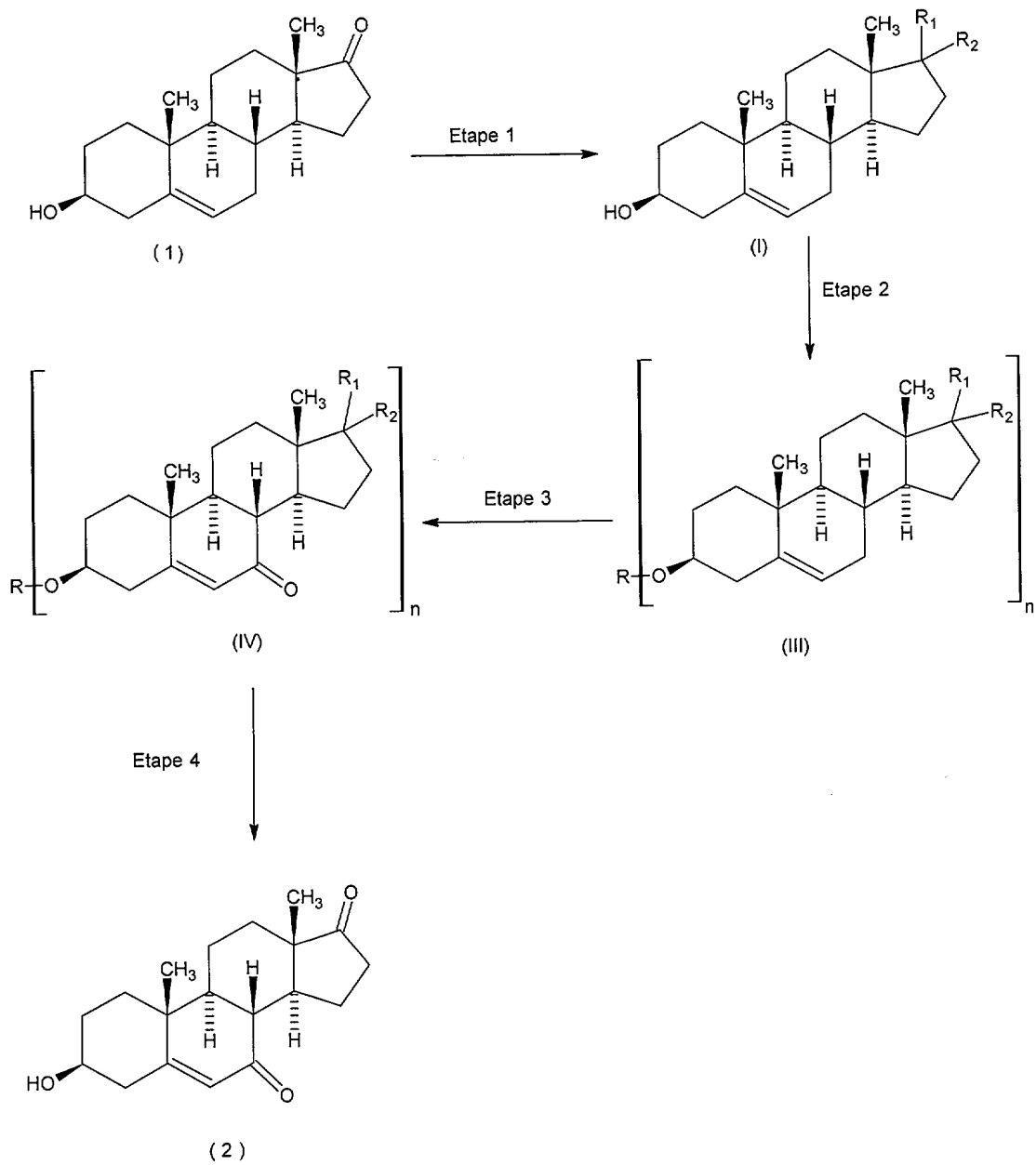


FIGURE 1

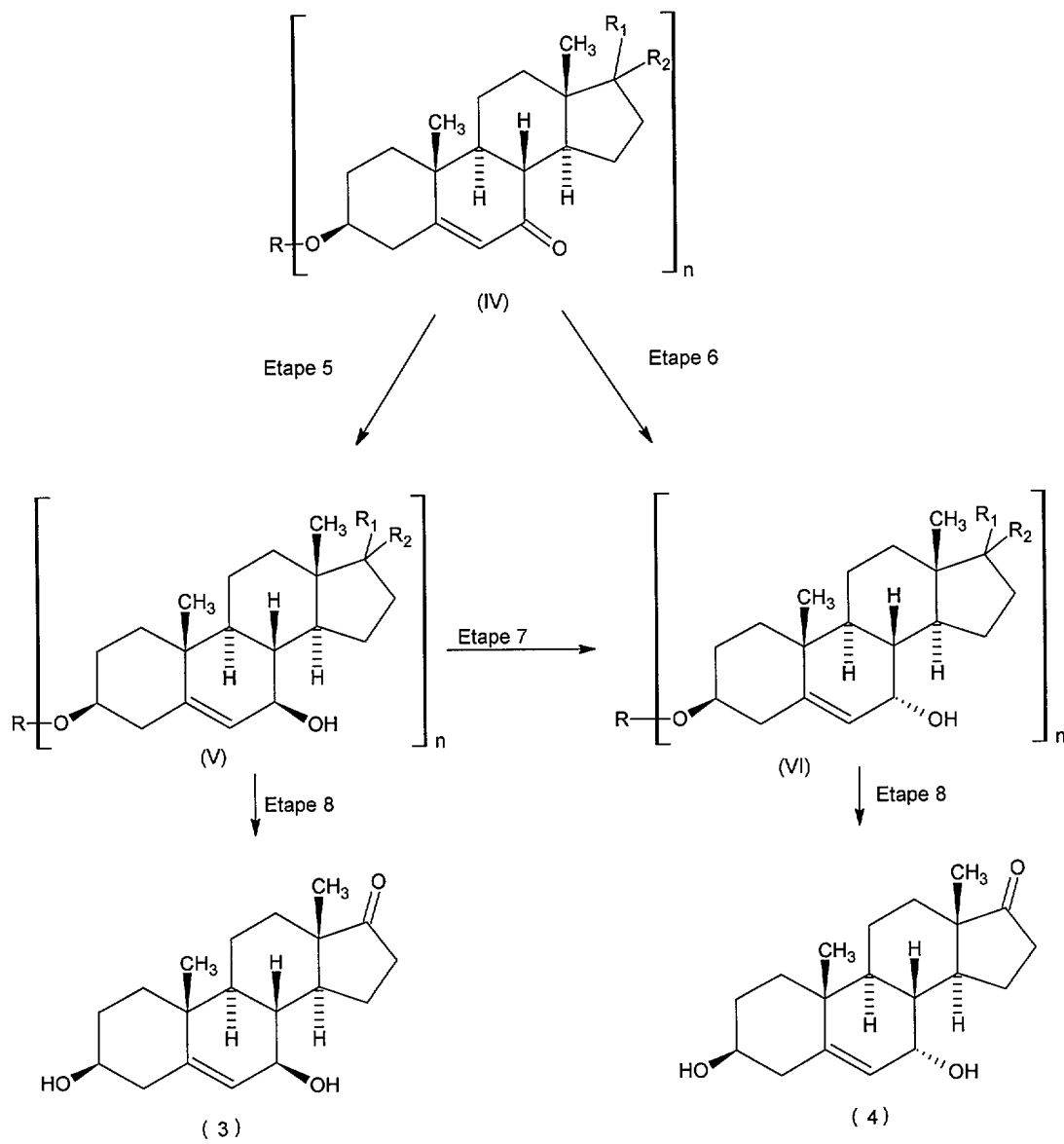


FIGURE 2

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	WO 2003 002124 A (ZHONGSHAN UNIVERSITY, PEOP. REP. CHINA; XI'AN DISAI BIOLOGY PHARMACEUTI) 9 janvier 2003 (2003-01-09) * page 2; revendication 1 *	1-23	C07J13/00 C07J9/00 C07J75/00 A61K31/568 A61K7/48 A61P17/00
A	WO 02 064614 A (CAVEZZA ALEXANDRE ; WOHLFROMM VALERIE (FR); DALKO MARIA (FR); OREAL) 22 août 2002 (2002-08-22) * revendications; exemples *		
A	WO 01 72767 A (GALEY JEAN BAPTISTE ; DALKO MARIA (FR); OREAL (FR)) 4 octobre 2001 (2001-10-04) * revendications *	1-23	
A	WO 97 10255 A (ESTEE LAUDER INC) 20 mars 1997 (1997-03-20) * page 4 - page 8 *	1-23	
A	EP 0 555 845 A (MITSUBISHI CHEM IND) 18 août 1993 (1993-08-18) * page 38; exemple 12 *	1-23	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
D,A	LARDY, HENRY ET AL: "Ergosteroids II: biologically active metabolites and synthetic derivative of dehydroepiandrosterone" STEROIDS (1998), 63(3), 158-165 , XP002264107 * le document en entier *	1-23	C07J A61K A61P
	-/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
8 décembre 2003		Fazzi, R	
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	

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

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		
A	ADAMCZYK, MACIEJ ET AL: "Characterization of Protein-Hapten Conjugates. 1. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry of Immuno BSA-Hapten Conjugates and Comparison with Other Characterization Methods" BIOCONJUGATE CHEMISTRY (1994), 5(6), 631-5 , XP002264108 * page 633; exemple 9; tableau 1 * ---	1-23	
A	PETTIT, GEORGE R. ET AL: "Steroids and related natural products. 104. Bufadienolides. 36. Synthesis of bufalitoxin and bufotoxin" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY (1987), 52(16), 3573-8 , XP002264109 * page 3575; exemples 12B,13B,14 * -----	1-23	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
		8 décembre 2003	Fazzi, R
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>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</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 & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

1

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0304282 FA 633501**

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 08-12-2003

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 2003002124 A	09-01-2003	CN 1348764 A	15-05-2002
		WO 03002124 A1	09-01-2003

WO 02064614 A	22-08-2002	FR 2820745 A1	16-08-2002
		EP 1362057 A1	19-11-2003
		WO 02064614 A1	22-08-2002

WO 0172767 A	04-10-2001	FR 2806725 A1	28-09-2001
		AU 4427801 A	08-10-2001
		WO 0172767 A1	04-10-2001

WO 9710255 A	20-03-1997	US 5736537 A	07-04-1998
		AT 195527 T	15-09-2000
		AU 712977 B2	18-11-1999
		AU 6966996 A	01-04-1997
		CA 2231781 A1	20-03-1997
		DE 69609868 D1	21-09-2000
		DE 69609868 T2	15-03-2001
		EP 0876391 A1	11-11-1998
		ES 2151180 T3	16-12-2000
		HK 1015794 A1	12-01-2001
		US 6025347 A	15-02-2000
		WO 9710255 A1	20-03-1997
		US 6284750 B1	04-09-2001
		ZA 9607704 A	27-05-1997

EP 0555845 A	18-08-1993	CA 2089194 A1	15-08-1993
		EP 0555845 A2	18-08-1993
		JP 2746041 B2	28-04-1998
		JP 5286993 A	02-11-1993
		US 5391776 A	21-02-1995

EPO FORM P0485