

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) Nº de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 904 935

(21) Nº d'enregistrement national : 06 07382

(51) Int Cl⁸ : A 61 K 31/216 (2006.01), A 61 P 3/00

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 18.08.06.

(30) Priorité :

(43) Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.02.08 Bulletin 08/08.

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

(60) Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

(71) Demandeur(s) : CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) Etablisse-
ment public à caractère scientifique et technologique —
FR.

(72) Inventeur(s) : ANDARY CLAUDE, RIBES GERARD
et TOUSCH DIDIER.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) : REGIMBEAU.

(54) COMPOSITION ANTIDIABETIQUE APTE A STIMULER LA SECRÉTION D'INSULINE ET DESTINÉE AU
TRAITEMENT DU DIABÈTE DE TYPE 2 (DIABÈTE NON INSULINO-DEPENDANT).

(57) La présente invention se rapporte à une composition
antidiabétique capable de provoquer une stimulation de la
sécrétion d'insuline et d'être donc utilisée comme traitement
du diabète de type 2, non insulino-dépendant.

FR 2 904 935 - A1



La présente invention se rapporte à une composition antidiabétique capable de provoquer une stimulation de la sécrétion d'insuline et d'être donc utilisée comme 5 traitement du diabète de type 2, non insulino-dépendant.

Il est reconnu que le diabète touche actuellement plusieurs millions d'individus dans le monde. Le nombre de personnes diabétiques atteindrait 300 millions en 2025 (1). Par conséquent le diabète constitue un problème majeur de santé publique.

10 On distingue actuellement plusieurs sortes de diabète-sucré :

- le diabète de type 1, insulino-dépendant,
- le diabète de type 2, non insulino-dépendant

15 Le diabète de type 2 (diabète non insulino-dépendant) est de loin le plus fréquent (environ 90% des cas) Autrefois appelé diabète de l'âge mûr, ce type de diabète survient principalement chez l'adulte de plus de 40 ans présentant, dans 80% des cas, une obésité ou du moins un excès pondéral. Au début de la maladie, la production d'insuline par le pancréas peut être anormale : soit excessive, soit diminuée.

20 Chez les patients atteints du diabète de type 2, deux altérations métaboliques sont principalement la cause d'une élévation de la glycémie (hyperglycémie) :

- 1- Un déficit insulinique (donc pancréatique) à la réponse endocrine au glucose.
- 2- Un déficit de l'action de l'insuline sur les tissus périphériques (insulino-résistance) : muscles et tissus adipeux principalement (effet extra-pancréatique).

25 Cette altération de la réponse insulinique au glucose peut donc être due à deux causes suivant les stades de la maladie:

soit une trop faible sécrétion d'insuline sous l'effet du glucose, soit une hypersécrétion d'insuline afin de compenser la diminution de son action sur les tissus cibles.

- Le diabète de type 2 est traité au départ par des mesures hygiéno-diététiques et
- 5 notamment par la perte d'excès de poids. L'étape suivante est le traitement pharmacologique par des antidiabétiques oraux : des substances qui agissent en stimulant la sécrétion d'insuline (insulino-stimulantes) afin de compenser le déficit : ce sont principalement les sulfonylurées et les glinides (qui agissent principalement sur le canal potassique, ATP dépendant).
- 10 L'autre alternative thérapeutique est d'agir pour améliorer l'action de l'insuline (insulino-sensibilisateur). Deux groupes de substances sont reconnues : les biguanides (la metformine) et les glitazones (Rosi-, Tro-, Pio-glitazones).
- Si tout ceci échoue, une insulinothérapie ponctuellement substitutive peut s'avérer nécessaire pour maintenir une glycémie normale.
- 15 Les substances principales capables de stimuler la sécrétion d'insuline (insulino-stimulant) sont les sulfamides hypoglycémiants (sulfonylurées) ou les substances apparentées (glinides). Ces substances qui agissent principalement sur le canal potassique ATP dépendant de la cellule β pancréatique présentent toutefois un certain nombre d'inconvénients.
- 20 Ainsi, suivant la posologie et la susceptibilité des personnes il peut en résulter notamment chez les personnes âgées, des hypoglycémies par excès de sécrétion d'insuline. Ceci peut conduire à un coma hypoglycémique.
- Pour remédier à ces inconvénients, les chercheurs se sont orientés vers d'autres alternatives pharmacologiques de substances insulino-stimulantes agissant sur d'autres
- 25 cibles que le canal potassique ATP dépendant, c'est-à-dire modulatrices de la sécrétion d'insuline en fonction du taux de glucose circulant, évitant ainsi les complications telles que les hypoglycémies post-traitement. En particulier, la recherche de nouvelles molécules pharmacologiques actives s'oriente de plus en plus vers les substances naturelles, extraites de plantes (2).

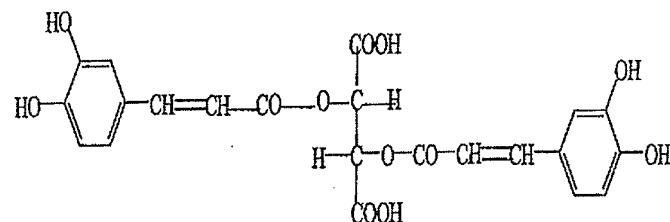
Ainsi, cette recherche de composés naturels a permis de mettre en évidence des composés phénoliques dérivés de l'acide cafïique comme l'acide chlorogénique purifié à partir de nombreuses plantes.

Cet acide chlorogénique agit au niveau hépatique donc extrapancréatique est réputé agir 5 au niveau de la néoglucogénèse hépatique. En effet, l'acide chlorogénique possède une activité inhibitrice de la glucose-6-phosphatase (3), essentiellement hépatique, et permet donc une meilleure captation hépatique du glucose puis une meilleure tolérance au glucose. L'acide chlorogénique n'a pas d'action directe sur le pancréas endocrine et ne possède donc pas une action insulino-stimulante mais possède une action insulino-10 sensibilisatrices permettant de lutter contre l'insulino-résistance des tissus périphériques.

L'insulino-résistance est la résistance de l'organisme aux effets biologiques hypoglycémiants de l'insuline. De ce fait, ces composés insulino sensibilisant sont utilisés pour des patients souffrant d'une telle résistance à l'insuline.

15 Cependant aucune substance phénolique naturelle ou de synthèse dérivée de l'acide cafïique n'a été décrite aujourd'hui comme insulino-stimulant de la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas.

20 Les inventeurs de la présente invention ont extrait de plantes, et purifié, l'acide chicorique (acide dicaféoyl-tartrique) dont la formule est la suivante:



L'acide chicorique qui est un diester cafïique de l'acide tartrique, entre dans la catégorie des combinaisons naturelles des acides hydroxy-cinnamiques qui possèdent de nombreuses vertus médicinales telles que des activités comme anti-oxydante, anti-virale

ou anti-cancéreuse (4,5,6). Ces combinaisons purifiées à l'origine dans le café particulièrement riche en dérivés cinnamiques ont été très largement étudiées. L'acide chicorique peut se trouver sous forme de trois isomères selon l'isométrie de l'acide tartrique: l'acide dicaféoyl-(2S, 3S)-(+)-tartrique, l'acide dicaféoyl-(2R,3R)-(-)tartrique et l'acide dicaféoyl-méso-tartrique (7).

5 L'acide chicorique est présent chez de nombreuses espèces végétales appartenant plus particulièrement aux familles suivantes: Fabaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Equisetaceae ou Potamogetonaceae ou autres, telles que par exemple la chicorée (*Cichorium intybus*), l'échinacée (*Echinacea purpurea*), l'arachide (*Arachis hypogaea*), la prèle (*Equisetum arvense*), le pissenlit (*Taraxacum officinalis*), la laitue (*Lactuca sativa*) ou la posidonie (Posidonia oceanica). C'est souvent le composé majoritaire de toutes les espèces et familles de plantes précitées qui peuvent donc servir à l'extraction et la purification de cette substance.

10 15 L'acide chicorique peut donc être isolé et purifié à partir de plantes telles que décrites ci-dessus. Un exemple de procédé de production et isolement d'acide chicorique naturel à partir de Chicorée sauvage (*Cichorium pumilum*, *C. eu-endivia* ou *C. intybus*) est donné ci après.

20 Après séchage et broyage la poudre de chicorée est extraite par de l'eau à ébullition pendant 20 minutes. Après refroidissement l'extrait est concentré sous vide entre 30°C et 40°C. Ce nouvel extrait est déposé sur une colonne adsorbante (type Duolite S 761 ou XAD 761 ou autre adsorbant de même type) qui aura été lavée et activée au préalable. Une première élution à l'eau légèrement acidifiée (pH 4) permet de séparer les sucres, les acides organiques et autres petites molécules non aromatiques, tout en laissant adsorbées les molécules organiques aromatiques à fonctions phénoliques ou carbonylées. 25 Le décrochage de ces dernières molécules se fait avec un mélange: éthanol-eau (80: 20), Les extraits obtenus, enrichis en acide chicorique, sont concentrés et lyophilisés.

30 La purification de cette molécule, à partir de la poudre lyophilisée, se fait par chromatographie liquide sur colonne de cellulose à moyenne pression (CLMP). Le solvant d'élution est de l'acide acétique à 0,10 ou 0,15 % dans l'eau. Les fractions les plus riches en acide chicorique sont regroupées, concentrées et cet extrait est purifié par

une chromatographie sur colonne de Fractogel TSK RW 40 (F). L'élution est alors réalisée par de l'eau suivie d'un gradient d'éthanol dans l'eau. Les fractions contenant l'acide chicorique pur sont lyophilisées.

D'autres procédés d'obtention d'acide chicorique sont décrits dans « Scarpati et al. (8) :

- 5 « Chicoric Acid (Dicaffeyltartaric acid) : Its isolation from Chicory and synthesis » Tetrahedron, 1958, Vol. 4, pp. 43-48 pour l'obtention d'acide chicorique naturel, ou dans la demande WO03/029183 pour l'obtention d'acide chicorique synthétique.

De manière surprenante et inattendue, les inventeurs ont montré que l'acide chicorique 10 extrait de plantes présente des propriétés insulino-stimulantes, non canal potassique, ATP dépendant, et on obtenu des résultats significatifs dans la prévention et le traitement du diabète, en particulier non insulino-dépendant. L'acide chicorique peut donc être une bonne alternative innovante dans le traitement du diabète et évitera donc les complications dues au traitement par les sulfonylurées comme des hypoglycémies 15 post-traitement.

Ainsi, un objet selon la présente invention concerne une composition insulino-stimulante caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que substance active au moins de l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites.

20 De manière préférée selon l'invention, l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites est sous la forme d'un des isomères acide dicaféoyl (+), (-) ou mésotartrique.

De manière préférée selon l'invention l'un des métabolites de l'acide chicorique est l'acide monocafeoyl-tartrique, l'acide caféique, l'acide tartrique, l'acide férulique, l'acide dihydrocaféique, l'acide m-hydroxyphénylpropionique, l'acide 25 dihydroxyphenylacétique, le 4-vinylcatechol, ou le 4-ethylcatechol.

De manière préférée selon l'invention l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites est d'origine naturelle ou synthétique.

De manière encore plus préférée selon l'invention, l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites est d'origine végétale. Avantageusement, l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites est obtenu à partir de plantes appartenant à la famille des Asteraceae, des Lamiaceae, des Fabaceae, d'Equisetaceae ou de Potamogetonaceae avantageusement les 5 chicorées sauvages (ex : *Cichorium intybus*) ou cultivées (ex : le chicon ou endive).

Par Asteraceae, on entend selon la présente invention la famille des Asteraceae (ou Astéracées ou Composées) qui est une famille de plantes dicotylédones. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes dans cette famille.

10 De manière préférée, les genres préférés dans cette famille pour l'obtention d'acide chicorique selon la présente invention sont :

- *Lactuca*, les laitues.
- *Cichorium*, les chicorées dont le chicon (ou endive).
- *Cynara*, l'artichaut.
- 15 • *Taraxacum*, le pissenlit.
- *Tragopogon*, le salsifis.
- *Echinacea*, l'échinacée.
- *Lapsana*.

20 De manière préférée, les genres préférés dans cette famille pour l'obtention d'acide chicorique selon la présente invention sont :

Par Lamiaceae on entend selon la présente invention la famille des Lamiaceae (ou Lamiacées ou Labiées) qui est une famille de plantes dicotylédones, 25 De manière préférée, les genres préférés dans cette famille pour l'obtention d'acide chicorique selon la présente invention sont :

- *Lavendula*, la lavande
- *Orthosiphon aristus*, l'orthosifon

- *Scutellaria*, la scutellaire
- *Teucrium*

5 Par Fabaceae, on entend selon la présente invention la famille des Fabaceae (ou fabacées ou légumineuses) qui est une famille de plantes dicotylédones. Ce sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes.

De manière préférée, les genres préférés dans cette famille pour l'obtention d'acide chicorique selon la présente invention sont :

- 10
- les Papilionoidées ou Faboideae;
 - les Caesalpinioidées;
 - les Mimosoidées.

De manière préférée, les genres préférés dans cette famille pour l'obtention d'acide chicorique selon la présente invention sont :

- 15
- *Arachis hypogea*, l'arachide

Par Potamogetonaceae, on entend selon la présente invention la famille des Potamogetonaceae qui est une famille de plantes monocotylédones aquatiques.

20 De manière préférée, le genre préféré dans cette famille pour l'obtention d'acide chicorique selon la présente invention sont :

- *Posidonia*, la posidonie

Par Equisetaceae, on entend selon la présente invention la famille des Equisetaceae qui est une famille de plantes Ptéridophytes. De manière préférée, le genre préféré dans cette famille pour l'obtention de l'acide chicorique selon la présente invention sont :

- 25
- *Equisetum arvense*, la prêle

Selon un aspect de la présente invention, la composition se présente sous la forme d'un complément alimentaire pour la prévention du diabète, avantageusement le diabète non insulino dépendant.

De manière avantageuse, la composition selon la présente invention comprend 5 à 30 mg/Kg d'acide chicorique ou moins de 5 à 30 mg/Kg de l'un de ses métabolites par prise.

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation de l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites pour la préparation d'une composition destinée à stimuler la sécrétion d'insuline, chez un sujet diabétique.

La stimulation de la sécrétion d'insuline, entraîne une amélioration de la tolérance au glucose.

De ce fait, la présente invention concerne également l'utilisation de ladite composition pour améliorer la tolérance au glucose.

15 De plus, la stimulation de la sécrétion d'insuline ainsi que l'amélioration de la tolérance au glucose permet entre autre de prévenir ou traiter le diabète, en particulier le diabète non insulino dépendant.

Ainsi, la présente invention concerne également l'utilisation de ladite composition pour la prévention ou le traitement du diabète, avantageusement le diabète non insulino dépendant.

Selon la présente invention, l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites, utilisé pour la préparation de la composition pour stimuler la sécrétion d'insuline et améliorer la tolérance au glucose pour prévenir et/ou traiter le diabète, est sous la forme d'un des isomères acide dicaféoyl (-), (+) ou mésotartrique.

25 De manière préférée selon l'invention l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites, utilisé pour la préparation de la composition pour stimuler la sécrétion d'insuline, améliorer la tolérance au glucose pour prévenir et/ou traiter le diabète est d'origine naturelle ou synthétique.

De manière encore plus préférée selon l'invention, l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites, utilisé pour la préparation de la composition pour stimuler la sécrétion d'insuline et améliorer la tolérance au glucose et/ou prévenir ou traiter le diabète est d'origine végétale ou de synthèse. Avantageusement, l'acide chicorique ou l'un de ses 5 métabolites est obtenu à partir d'Asteraceae, de Lamiaceae, de Fabaceae, d'Equisetaceae ou de Potamogetonaceae, avantageusement les chicorées sauvages (ex : Cicorium intybus) ou cultivée.

Un autre objet de la présente invention concerne une composition alimentaire 10 caractérisée en ce qu'elle comprend au moins de l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites.

De manière préférée selon l'invention, l'acide chicorique est sous la forme d'un des isomères acide dicaféoyl (+), (-) ou méso-tartrique et/ou l'un de ses métabolites de la composition alimentaire.

15 De manière préférée selon l'invention l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites de la composition alimentaire est d'origine naturelle ou synthétique.

De manière encore plus préférée selon l'invention, l'acide chicorique et/ou l'un de ses 20 métabolites de la composition alimentaire est d'origine végétale. Avantageusement, l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites de la composition alimentaire est obtenu à partir d'Asteraceae, de Lamiaceae ou de Fabaceae, avantageusement les chicorées sauvages ou cultivées.

De manière avantageuse selon l'invention, la composition alimentaire est un complément nutritionnel.

Par complément nutritionnel on entend selon la présente invention, et reprenant la 25 définition de la directive 2002/46/CE du Parlement européen et du Conseil du 10 juin 2002, une denrée alimentaire dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constitue une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les 30 comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les

ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité. Il est à noter que la présente invention, destinée au marché mondial comprend également la définition américaine du complément nutritionnel 5 couvrant « tout produit destiné à supplémer une alimentation et qui contient un ou plusieurs ingrédients alimentaires spécifiés (vitamines, tisanes, plantes, acides aminés, un concentré, un extrait, un métabolite ou toute combinaison de ces derniers ingrédients) de façon à en augmenter la consommation quotidienne».

10 La composition alimentaire selon l'invention est sous la forme d'une poudre, d'une capsule, d'un comprimé, d'une solution, d'un concentré, d'un sirop, d'une suspension, ou d'une dispersion. De manière préférée, la composition alimentaire selon l'invention est sous la forme de comprimés, poudre, capsules, pilules.

15 De manière avantageuse selon l'invention, la composition alimentaire est ajoutée à un produit alimentaire.

De manière avantageuse, la composition alimentaire est ajoutée lors de la préparation du produit alimentaire, ou juste avant consommation du produit alimentaire. Par exemple, la composition alimentaire se présente sous la forme de poudre à saupoudrer sur un aliment prêt à consommer.

20 De manière préférée selon l'invention, la composition alimentaire comprend 200 à 600 mg/L d'acide chicorique et/ou au moins de 200 à 600 mg de l'un de ses métabolites par prise et pour un individu de 60 Kg.

25 Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation d'une composition alimentaire telle que décrite ci-dessus pour la prévention du diabète, avantageusement le diabète non insulino dépendant, et/ou l'amélioration de la tolérance au glucose.

Légende des figures

Figure 1 : Démonstration de l'effet direct insulino-stimulant de l'acide chicorique (SAT2) sur la cellule β isolée de type INS 1E

Figure 2 : Effet insulino-stimulant de l'acide chicorique (SAT2) sur des îlots de Langerhans isolés de rat incubés.

5 **Figure 3 :** Effet de l'injection intrapéritonéale (IP) d'acide chicorique (SAT2) lors d'une épreuve d'hyperglycémie provoquée (lg/kg IP) chez le rat normal éveillé.

A- Cinétiques de l'insulinémie après l'injection.

B- Aires sous la courbe (ASC) de l'insulinémie lors des 30 premières minutes après l'injection.

10 Chaque cinétique représente une moyenne de 8 animaux.

EXEMPLES

15 L'acide chicorique obtenu par le procédé décrit ci-avant (et appelé SAT2 dans nos exemples) est utilisé pour des tests pharmacologiques permettant d'objectiver une activité insulino-stimulante à potentialité antidiabétique. Ces tests ont été effectués *in vitro* sur des cultures de cellules β pancréatiques issues de pancréas de rat et sur des îlots de Langerhans isolés à partir de pancréas de rat ainsi que sur un test *in vivo* chez le rat.

20 Dans les trois exemples rapportés ci-dessous, la concentration d'insuline sécrétée a été évaluée par un système de quantification mis au point par la société Cis Bio International et les inventeurs, utilisant le principe de FRET (9): Insulin Kit.

25 La glycémie a été dosée par méthode enzymatique en utilisant un kit commercial (Boehringer, Mannheim, Germany). Les résultats ont été soumis à une analyse de variance suivie du test de comparaison multiple.

Exemple 1 : Investigation au niveau de la cellule β en culture (figure 1).

Les cellules β en culture sont des cellules INS 1E issues d'insulinome de rat, mises en culture dans un milieu RPMI 1640 complet. L'intérêt de ces cellules est qu'elles augmentent leur sécrétion d'insuline en fonction de la concentration de glucose dans le milieu (10) et ceci même si ces dernières sont totalement déconnectées de leur 5 environnement physiologique.

Les cellules sont cultivées dans le milieu RPMI à 10% de sérum de veau foetal (SVF) et à 11mM glucose (additionné de pénicilline et streptomycine à 100 μ g/mL chacun (antibiotiques), de β -mercaptoéthanol à 50 μ M et de sodium pyruvate à 1mM).

Quatre jours après l'ensemencement des cellules sur des plaques 24 puits, le milieu de 10 culture est éliminé et remplacé par du milieu RPMI + 10% de SVF sans glucose. Les cellules sont remises à incuber à 37°C durant 12 heures. Lavées 2 fois avec 1 mL de milieu de Krebs-Ringer sans glucose, les cellules sont mises pendant 90 minutes dans du milieu Krebs-Ringer enrichi en glucose avec ou sans SAT2 (aux concentrations de 10 et 50 μ g/mL.)

15 La figure 1 montre que les cellules INS 1E utilisées sont parfaitement fonctionnelles puisqu'une augmentation de la concentration en glucose dans le milieu de culture de 3 à 5 mM stimule chez ces cellules la sécrétion d'insuline de + 89% ($p<0,01$).

Conformément à la présente invention, cette expérience démontre que l'addition de 20 10 μ g/mL (24,5 μ M) de SAT2 dans le milieu contenant 3 mM de glucose (incubation de 90 minutes) permet une augmentation significative de la sécrétion d'insuline (+ 81%, $p<0,01$). Sur les cellules INS 1E, une telle stimulation de sécrétion d'insuline induite par SAT2 en présence de glucose à 3 mM est équivalente à celle obtenue sur ces cellules lors de l'augmentation de glucose de 3 à 5 mM. Une stimulation de sécrétion 25 d'insuline équivalente est obtenue dans un milieu à 3 mM de glucose mais en présence de 50 μ g/mL (122 μ M) de SAT2 soit une concentration cinq fois supérieure à l'expérience précédente; ceci suggère que SAT2 atteint très rapidement une stimulation maximale qui est très inférieure à la stimulation obtenue en présence de 200 μ M de tolbutamide (sulfonylurée), concentration classiquement utilisée.

Cette stimulation de la sécrétion d'insuline par SAT2 doit permettre d'éviter les hypoglycémies, effet latéral fréquemment observé lors d'un traitement par les sulfonylurées.

5 **Exemple 2: Investigation au niveau des îlots de Langerhans isolés à partir de pancréas de rat (figure 2).**

Les îlots de Langerhans constituent la partie endocrine du pancréas et contiennent principalement des cellules β qui sécrètent l'insuline. Les îlots de Langerhans de 10 pancréas de rat sont isolés par digestion du pancréas à l'aide de la collagénase selon une méthode adaptée de celle de Lacy et al. (11).

Les îlots ont été séparés des autres éléments du digestat, prélevés sous une loupe binoculaire puis déposés dans des tubes d'incubation. Sur des îlots de rat Wistar normaux incubés dans un tampon Krebs-Ringer avec ou sans SAT2 en présence d'une 15 concentration de glucose de 8,3 mM pendant une heure, nous avons recherché l'effet de différentes concentrations d'acide chicorique sur la sécrétion d'insuline.

Il a été vérifié que les îlots obtenus étaient fonctionnels puisque l'augmentation de la concentration de glucose (de 8,3 à 16,7 mM) induit une stimulation de la sécrétion 20 d'insuline (+ 58%, $p<0,05$). L'addition d'une concentration de 10 $\mu\text{g/mL}$ d'acide chicorique (SAT 2) lorsque les îlots sont incubés en présence de 8,3mM de glucose déclenche une augmentation de la sécrétion d'insuline (+ 21%).

Une stimulation supérieure est observée lors de l'ajout de SAT 2 à la concentration de 50 $\mu\text{g/mL}$ (+ 68%, $p<0,01$) pour la même concentration de glucose (8,3 mM).

Cette addition d'acide chicorique provoque une élévation de la sécrétion d'insuline 25 semblable à celle obtenue lors de l'augmentation du glucose seul (à 16,7 mM).

Exemple 3: Expérimentation chez le rat Wistar normal éveillé (figure 3).

L'effet de l'administration d'acide chicorique chez le rat a été testé lors d'une épreuve 30 d'hyperglycémie provoquée (1g glucose/kg de poids vif). Les animaux ont reçu une

seule injection intrapéritonéale, soit de glucose seul, soit de glucose plus de l'acide chicorique à la dose de 5mg/kg de poids vif.

Nos résultats démontrent que l'addition d'acide chicorique au glucose a pour effet d'améliorer la réponse insulinique au glucose des animaux. Cette augmentation de 5 l'hyperinsulinémie provoquée par le sucre apparaît lors des 30 premières minutes après l'injection. Le calcul de l'aire sous la courbe (ASC) pendant ces 30 minutes révèle une stimulation de la sécrétion d'insuline clairement supérieure en présence d'acide chicorique (SAT2) ($p<0,01$).

Références:

- (1) Zimmet P., KG. Alberti, and J. Shaw. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414: 782—787, 2001
- 5 (2) Broca C., R. Gross, P. Petit, Y. Sauvaire, M. Manteghetti, M. Tournier, P. Masiello, R. Gomis and G. Ribes. 4-Hydroxyisoleucine: experimental evidence of its insulinotropic and antidiabeti properties. *The American Physiological Society* E617-623, 1999
- (3) Hemmerle H., H.-J. Burger, P. Below, G. Schubert, R. Rippel, P. W. Schindler, E. 10 Paulus and A. W. Herling. Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. *J Med. Chem.*, 40, 137-145, 1997
- (4) King P.J., G. Ma, W. Mia, Q. Jia, B.R. McDougall, M.G. Reinecke, C. Cornell, J.Kuan, T.R.Kim, W.E.J.R. Robinson, K.Zhu, M.L. Cordeiro, J. Atienza, S.A. Chow, 15 H.H. Lo, J.G. Chung, R. Ejzemberg, MH. Da Silva, L. Pinto, WB. Mors, Y. Jiang, K. Satoh, K. Kusama, S. Watanabe and H. Sakamagi, Structure-activity relationships: analogues of the dicaffeoylquinic and dicaffeoyltartric acides as a potent inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase and replication. *J. Med. Chem.*, 42: 497-509, 1999
- 20 (5) Facino R.M., M. Carini, G. Aldini, L. Saibene, P. Pietta and P. Mauri. Echinacoside and caffeoyl conjugates protect collagen from free radical-induced degradation: a potentiel use of Echinacea extracts in the prevention of skin photodamage. *Planta Med.* 61:510-514, 1995
- (6) Dalby-Brown L, H. Barsett, A.K. Landbo, A.S. Meyer and P. Molgaard. Synergistic 25 antioxidative effects of alkamides, caffeic acid derivatives, and polysaccharide fractions from Echinacea purpurea on in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *J Agric Food Chem.*, Nov 30;53(24):9413-23, 2005
- (7) Zaho H. and TR. Burke. Facile syntheses of (2R, 3R)-(-)- and (2S, 3S)-(+)-chicoric acids. *Synthetic Communications*, 28:737-740, 1998
- 30 (8) Scarpati ML. and G. Oriente. Chicoric acid (dicaffeoyltartric acid):its isolation from chicory (*Cichorium intybus*) and synthesis. *Tetrahedron*, 4:43-48, 1958

- (9) Claret E. et al., abstract, congrès The Society for Biomolecular Screening, Sept 11-15, Orlando, Floride, 2004
- (10) Sekine N, Fasolato C, Pralong WF, Theler JM, Wollheim CB. Glucose-induced insulin secretion in INS- 1 cells depends on factors present in fetal calf serum and rat islet-conditioned medium. *Diabetes* 46(9):1424-33, 1997
- 5 (11) Lacy P. E., and M. Kostianovsky. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 16: 35-39, 1967

Revendications:

- 5 1. Composition insulino-stimulante caractérisée en ce qu'elle comprend, en tant que substance active au moins de l'acide chicorique et/ou au moins l'un de ses métabolites.
- 10 2. Composition insulino-stimulante selon la revendication 1 caractérisée en ce que l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites est sous la forme d'un des isomères acide dicafeoyl (+), (-) ou méso-tartrique .
- 15 3. Composition insulino-stimulante selon la revendication 1 ou 2 caractérisée en ce que les métabolites de l'acide chicorique sont l'acide monocafeoyl-tartrique, l'acide caféique, l'acide tartrique, l'acide férulique, l'acide dihydrocaféique, l'acide *m*-hydroxyphénylpropionique, le 4-vinylcatechol, ou le 4-ethylcatechol.
- 20 4. Composition insulino-stimulante selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisée en ce que l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites est d'origine naturelle ou synthétique.
- 25 5. Composition insulino-stimulante selon la revendication 4 caractérisée en ce que l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites est d'origine végétale.
6. Composition insulino-stimulante selon la revendication 5 caractérisée en ce que l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites est obtenu à partir de plantes appartenant à la famille des Asteraceae, des Lamiaceae, des Fabaceae, d'Equisetaceae ou de Potamogetonaceae, avantageusement les chicorées sauvages ou cultivée.
7. Composition insulino-stimulante selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 caractérisée en ce qu'elle est sous la forme d'un complément alimentaire pour la prévention du diabète, avantageusement le diabète non insulino dépendant.

8. Composition insulino-stimulante selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisée en ce qu'elle comprend de 5 à 30 mg/Kg d'acide chicorique et/ou de moins de 5 à 30 mg/Kg de l'un de ses métabolites par prise.
9. Utilisation de l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites pour la préparation d'une composition destinée à stimuler la sécrétion d'insuline.
10. Utilisation selon la revendication 9, caractérisée en ce que la composition est destinée à améliorer la tolérance au glucose
11. Utilisation selon les revendications 9 ou 10, caractérisée en ce que la composition est destinée à la prévention ou au traitement du diabète, avantageusement le diabète non insulino dépendant.
12. Utilisation selon les revendications 9 à 11 caractérisée en ce que l'acide chicorique ou l'un de ses métabolites comprend un acide (-), (+) ou mésotartrique.
13. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 9 à 12 caractérisée en ce que l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites est d'origine naturelle ou synthétique.
14. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 9 à 13 caractérisée en ce que l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites est d'origine végétale.
15. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 9 à 14 caractérisée en ce que l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites est obtenu à partir de plantes appartenant à la famille des Asteraceae, des Lamiaceae, des Fabaceae, d'Equisetaceae ou de Potamogetonaceae,, avantageusement les chicorées sauvages ou cultivée.
16. Composition alimentaire caractérisée en ce qu'elle comprend au moins de l'acide chicorique et/ou l'un de ses métabolites.
17. Composition alimentaire selon la revendication 16 caractérisée en ce qu'il s'agit d'un complément nutritionnel.

18. Composition alimentaire selon les revendications 16 ou 17 caractérisée en ce qu'elle est sous la forme d'une poudre, d'une capsule, d'un comprimé, d'une solution, d'un concentré, d'un sirop, d'une suspension, ou d'une dispersion.
19. Composition alimentaire l'une quelconque des revendications 16 à 18 caractérisée en ce qu'elle est ajoutée à un produit alimentaire.
20. Composition alimentaire l'une quelconque des revendications 16 à 19 caractérisée en ce qu'elle comprend 200 à 600 mg d'acide chicorique et/ou moins de 200 à 600 mg de l'un de ses métabolites par prise et pour un individu de 60 Kg.
- 10 21. Utilisation de la composition alimentaire selon l'une quelconque des revendications 16 à 20 pour la prévention du diabète, avantageusement le diabète non insulino-dépendant et/ou l'amélioration de la tolérance au glucose.

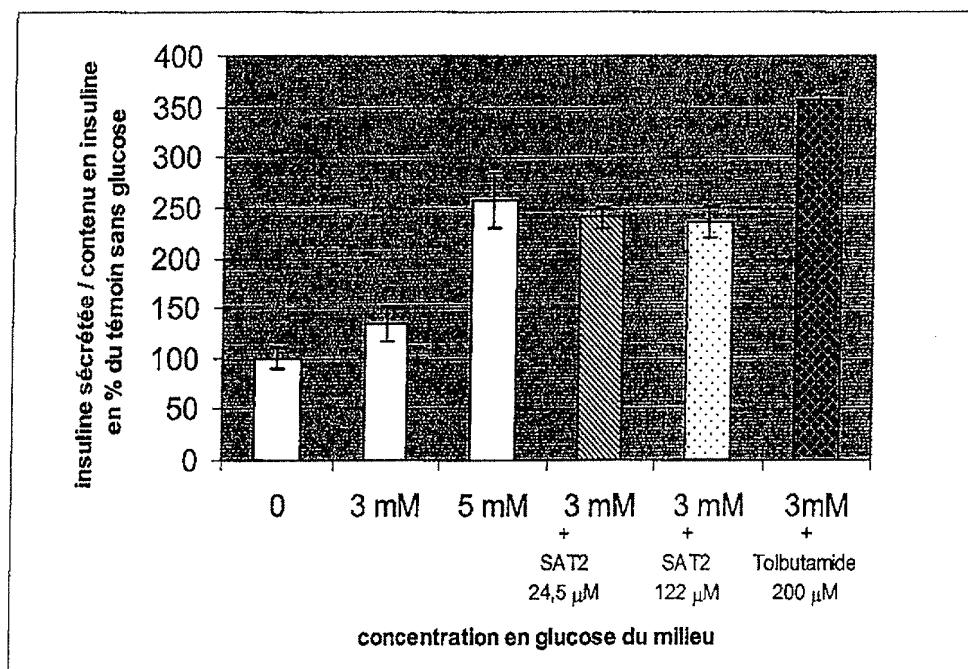


Figure 1

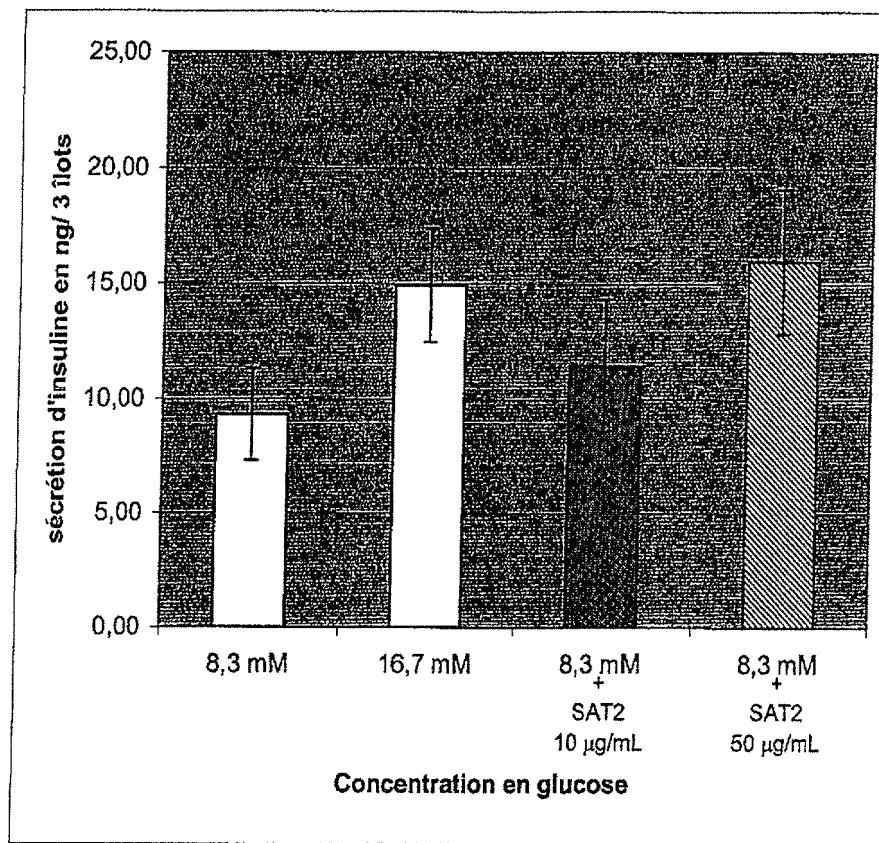


Figure 2

3/3

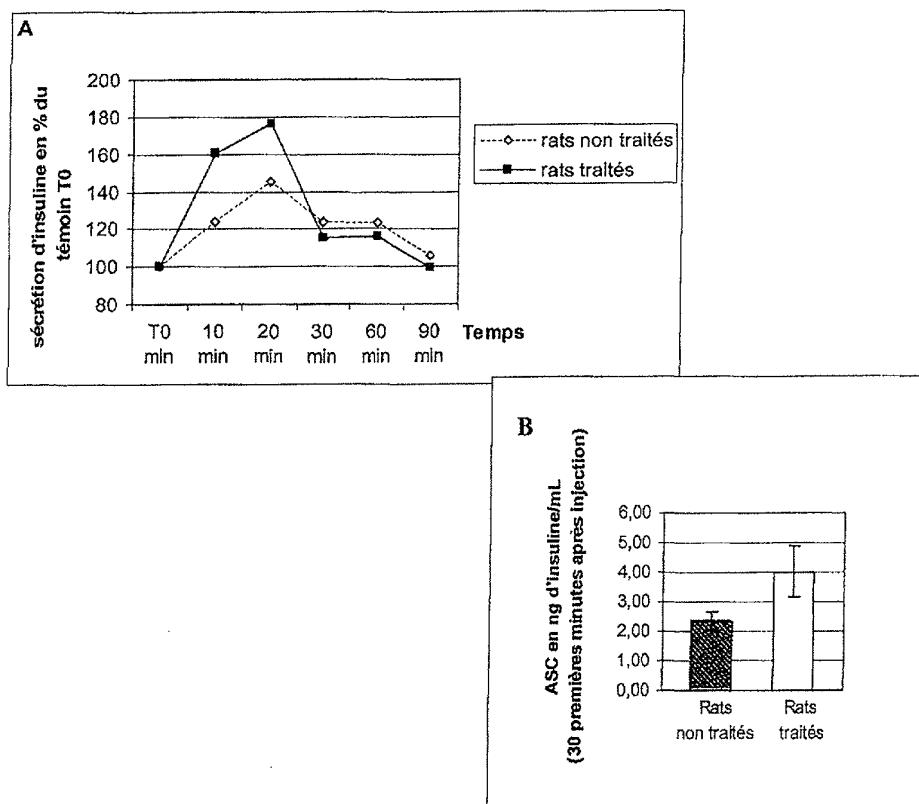


Figure 3

**RAPPORT DE RECHERCHE
 PRÉLIMINAIRE**
N° d'enregistrement
 nationalFA 684282
 FR 0607382établi sur la base des dernières revendications
 déposées avant le commencement de la recherche

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	<p>NOMURA EISAKU ET AL: "Synthesis of amide compounds of ferulic acid, and their stimulatory effects on insulin secretion in vitro." <i>BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY</i>, vol. 11, no. 17, 15 août 2003 (2003-08-15), pages 3807-3813, XP002425367 ISSN: 0968-0896</p> <p>* page 3807, colonne 2, alinéa 1 - page 3808, colonne 2, alinéa 1 *</p> <p>* page 3809, colonne 1, alinéa 2 *</p> <p>* figures 1,3 *</p> <p>* page 3810, colonne 1, alinéa 1 *</p> <p>-----</p>	1,3-5,7, 9-11,13, 14,16, 17,19,21			
X	<p>OHNISHI M ET AL: "Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-Ay mice" <i>BIOFACTORS</i>, vol. 21, no. 1-4, 2004, pages 315-319, XP008076266 ISSN: 0951-6433</p> <p>* abrégé *</p> <p>* page 315, alinéa 1 - page 316, alinéa 4 *</p> <p>* page 316, dernier alinéa - page 319, alinéa 2 *</p> <p>* figures 1,2 *</p> <p>-----</p>	1,3-5,7, 9-11,13, 14,16, 17,19,21	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">A61K</div>		
3		-/-			
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur			
20 mars 2007		Cielen, Elsie			
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS					
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire					
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant					

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement
nationalFA 684282
FR 0607382

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	<p>DATABASE WPI 10 novembre 2005 (2005-11-10), Derwent Publications Ltd., London, GB; Class 057,page 8, AN 2005-763566 XP002425373</p> <p>TAGASHIRA EIJIRO ET AL.: "Cardiovascular disease medicine and health food" & JP 2005 314435 A (TAGASHIRA EIJIRO) 10 novembre 2005 (2005-11-10) * abrégé *</p> <p>-----</p> <p>DATABASE WPI 25 septembre 2002 (2002-09-25), Derwent Publications Ltd., London, GB; Class 033,page 3, AN 2003-345667 XP002425374</p> <p>CHIKUNO T ET AL.: "Hypoglycemic agent" & JP 2002 275058 A (MORISHITA H ET AL.) 25 septembre 2002 (2002-09-25) * abrégé *</p> <p>-----</p> <p>JUNG UN JU ET AL: "Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice" JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, vol. 318, no. 2, août 2006 (2006-08), pages 476-483 URL, XP008076265 ISSN: 0022-3565 * abrégé * * page 477, colonne 1, alinéa 1-3 * * page 478, colonne 2, alinéas 3,4 * * figure 1 * * tableau 1 * * page 480, colonne 2, alinéa 2 * * page 481, colonne 2, alinéa 3 - page 482, colonne 1, alinéa 1 * * page 482, colonne 2, alinéa 2 * -----</p> <p>-----</p>	1,3-5, 7-11,13, 14,16-21			
X		1,3-5,7, 9-11,13, 14,16, 17,19,21			
X		1,3,4,7, 9-11,13, 16,17, 19,21	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)		
3					
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)	Date d'achèvement de la recherche	Examinateur			
	20 mars 2007	Cielen, Elsie			
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS					
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire					
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant					

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement
nationalFA 684282
FR 0607382

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	HSU FENG-LIN ET AL: "Caffeic acid as active principle from the fruit of Xanthium strumarium to lower plasma glucose in diabetic rats" PLANTA MEDICA, vol. 66, no. 3, avril 2000 (2000-04), pages 228-230, XP008076263 ISSN: 0032-0943 * abrégé * * page 228, colonne 1, alinéa 1 * * page 228, colonne 2, dernier alinéa - page 229, colonne 1, alinéa 3 * * page 229, colonne 2, alinéa 3 - page 230, colonne 1, alinéa 1 * * figures 1,2 *	1,3,4, 10,11,13			
X	DE 19 49 822 A1 (SEDLACEK FERDINAND) 15 avril 1971 (1971-04-15) * page 2, alinéa 3-6 * * revendication 1 *	1,3,4,7, 9-11,13, 16-19,21	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)		
X	DATABASE WPI 2 août 1986 (1986-08-02), Derwent Publications Ltd., London, GB; Class 863,page 7, AN 1986-242356 XP002425375 FUWA T. ET AL.: "Antidiabetic" & JP 61 171418 A (WAKUNAGA SEIYAKU KK) 2 août 1986 (1986-08-02) * abrégé *	1,3,4, 7-13, 16-20			
-----		-/-			
3					
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur			
20 mars 2007		Cielen, Elsie			
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS					
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire					
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant					

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement
nationalFA 684282
FR 0607382

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	DATABASE WPI 22 avril 2003 (2003-04-22), Derwent Publications Ltd., London, GB; Class 036,page 3, AN 2003-666734 XP002425376 KANO H. ET AL.: "Food composition having inhibitory action on postprandial elevation of blood glucose." & JP 2003 116486 A (MEIJI MILK PROD CO LTD) 22 avril 2003 (2003-04-22) * abrégé *	1,3,4,7, 9-13,16, 17,19	
X	----- MATSUI T ET AL: "Anti-hyperglycemic potential of natural products" MINI-REVIEWS IN MEDICINAL CHEMISTRY 2006 NETHERLANDS, vol. 6, no. 3, 2006, pages 349-356, XP008076264 ISSN: 1389-5575 * abrégé * * page 350, colonne 1, alinéa 1 * * page 353, colonne 2, alinéa 1 * * figure 4 *	1,3,4,7, 9-11,13, 16,17, 19,21	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)
X	----- FR 2 638 967 A1 (ANDARY CLAUDE [FR]) 18 mai 1990 (1990-05-18) * page 1, ligne 1-30 * * page 2, ligne 26-31 * * page 5, ligne 14-24 * * revendications 1,4 *	1,4-8, 16-20	
X	----- WO 02/064536 A (AGRONOMIQUE INST NAT RECH [FR]; SCALIME FRANCE [FR]; GOUZY PASCALE [FR]) 22 août 2002 (2002-08-22) * page 4, ligne 21-26 * * page 7, ligne 28 - page 8, ligne 3 * * page 8, ligne 31-33 * * page 15, ligne 25-29 * * revendications 24,25,31 *	1,3-7, 16,17,19	
		-/-	
3	Date d'achèvement de la recherche	Examinateur	
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)	20 mars 2007	Cielen, Elsie	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		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	
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			

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement
nationalFA 684282
FR 0607382

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 03/029183 A (UNIV BORDEAUX I [FR]; QUIDEAU STEPHANE [FR]; LAMIDEY ANNE-MARIE [FR];) 10 avril 2003 (2003-04-10) * page 1, ligne 4-29 * * page 7, ligne 4-12 * * page 8, ligne 25 - page 9, ligne 4 * * revendications 18-21 * -----	1,2,4,7, 16,17,19	
X	EP 1 559 421 A (KAO CORP [JP]) 3 août 2005 (2005-08-03) * page 3, alinéas 12,15-19 * * page 4, alinéa 22-25 * * page 5, alinéas 38,40,41,43 * * revendication 1 * -----	1,3-8, 16-20	
X	WO 00/15215 A (KOREA RESEARCH INST OF BIOSCIE [KR]) 23 mars 2000 (2000-03-23) * page 1, ligne 6-16 * * page 4, ligne 11 - page 5, ligne 4 * * page 6, ligne 11 - page 8, ligne 19 * * page 9, ligne 5-29 * * exemples 7, Formulation1-3 * * revendications 1,4,6,7,10-14,17,18 * -----	1,3-8, 16-20	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)
X	STADLER, RICHARD H. ET AL: "The inhibitory effects of coffee on radical-mediated oxidation and mutagenicity" MUTATION RESEARCH, 308(2), 177-90 CODEN: MUREAV; ISSN: 0027-5107, 1994, XP002425368 * abrégé * * page 178, colonne 2, alinéa 1 * * tableaux 1,2 * * page 187, colonne 2, dernier alinéa * ----- -/-	1,3-5,7, 16-19	
3	Date d'achèvement de la recherche 20 mars 2007	Examinateur Cielen, Elsie	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		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	
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)			

**RAPPORT DE RECHERCHE
 PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications
 déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement
nationalFA 684282
FR 0607382

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	<p>BAILLY FABRICE ET AL: "Anti-HIV activities of natural antioxidant caffeic acid derivatives: Toward an antiviral supplementation diet" <i>CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY</i>, vol. 12, no. 15, 2005, pages 1811-1818, XP008076705 ISSN: 0929-8673 * abrégé; figure 2 * * page 1815, colonne 2, alinéa 2 - page 1816, colonne 1, dernier alinéa * -----</p>		
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)	
3			
EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)	Date d'achèvement de la recherche	Examinateur	
	20 mars 2007	Cielen, Elsie	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		<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>	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0607382 FA 684282**

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 **20-03-2007**

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
JP 2005314435	A	10-11-2005	AUCUN		
JP 2002275058	A	25-09-2002	AUCUN		
DE 1949822	A1	15-04-1971	AUCUN		
JP 61171418	A	02-08-1986	AUCUN		
JP 2003116486	A	22-04-2003	AUCUN		
FR 2638967	A1	18-05-1990	AUCUN		
WO 02064536	A	22-08-2002	CA EP FR MX NZ US	2437970 A1 1362021 A1 2820738 A1 PA03007216 A 527545 A 2002187207 A1	22-08-2002 19-11-2003 16-08-2002 14-02-2005 27-08-2004 12-12-2002
WO 03029183	A	10-04-2003	FR	2830251 A1	04-04-2003
EP 1559421	A	03-08-2005	AU WO KR US	2003261903 A1 2004041265 A1 20050073611 A 2006035971 A1	07-06-2004 21-05-2004 14-07-2005 16-02-2006
WO 0015215	A	23-03-2000	CA CN DE DE EP JP US	2344053 A1 1317961 A 69916632 D1 69916632 T2 1113790 A1 2002524505 T 6313171 B1	23-03-2000 17-10-2001 27-05-2004 21-04-2005 11-07-2001 06-08-2002 06-11-2001