



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets ⁵ : A61K 37/22, 9/107, 9/127</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 93/09805 (43) Date de publication internationale: 27 mai 1993 (27.05.93)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR92/01048 (22) Date de dépôt international: 12 novembre 1992 (12.11.92) (30) Données relatives à la priorité: 91/14081 15 novembre 1991 (15.11.91) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LABORATOIRES INOCOSM [FR/FR]; 45, chemin de la Justice, F-92297 Châtenay-Malabry Cédex (FR). (72) Inventeur; et (75) Inventeur/Déposant (US seulement) : GOSSIOUX, Pierre [FR/FR]; 5, rue Lasserre, F-92130 Issy-les-Moulineaux (FR). (74) Mandataire: HERRBURGER, Pierre; Cabinet Herrburger, 115, bd Haussmann, F-75008 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AT, AU, BB, BG, BR, CA, CH, CS, DE, DK, ES, FI, GB, HU, JP, KP, KR, LK, LU, MG, MN, MW, NL, NO, PL, RO, RU, SD, SE, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i></p>
<p>(54) Title: POLAR LIPID COMPOSITION OF PLANT ORIGIN (54) Titre: COMPOSITION LIPIDIQUE POLAIRE D'ORIGINE VEGETALE (57) Abstract Polar lipid composition of plant origin for conveying an active agent and/or making it penetrate into a target cell, the composition being characterized in that it is comprised of an injectable, intra-articular, topical or ingestible aqueous emulsion of a polar lipid mixture rich in phospholipids, in glycolipids and in ceramides, having a composition which is substantially similar to that of the polar lipid constituents of lipid cytomembranes of cells and obtained from a plant compound such as cereal flour or an extract such as bran or lipids extracted from cereals by means of chlorinated solvents. (57) Abrégé Composition lipidique polaire d'origine végétale permettant de véhiculer un agent actif et/ou de le faire pénétrer dans une cellule cible, caractérisée en ce qu'elle est constituée par une émulsion aqueuse injectable, intra-articulaire, topique ou ingérable d'un mélange lipidique polaire riche en phospholipides, en glycolipides et en céramides, ayant une composition essentiellement identique à celle des constituants lipidiques polaires des cytomembranes lipidiques des cellules et obtenu à partir d'un composé végétal tel que de la farine de céréales ou un extrait tel que du son ou des lipides extraits de céréales par des solvants chlorés.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FR	France	MR	Mauritanie
AU	Australie	GA	Gabon	MW	Malawi
BB	Barbade	GB	Royaume-Uni	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	GN	Guinée	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	PL	Pologne
BJ	Bénin	IE	Irlande	PT	Portugal
BR	B Brésil	IT	Italie	RO	Roumanie
CA	Canada	JP	Japon	RU	Fédération de Russie
CF	République Centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SK	République slovaque
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SN	Sénégal
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SU	Union soviétique
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TG	Togo
DE	Allemagne	MG	Madagascar	UA	Ukraine
DK	Danemark	MI	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
ES	Espagne	MN	Mongolie	VN	Viet Nam
FI	Finlande				

COMPOSITION LIPIDIQUE POLAIRE D'ORIGINE VEGETALE

La présente invention concerne une
5 composition lipidique polaire d'origine végétale
permettant de véhiculer un agent actif et/ou de le
faire pénétrer dans une cellule cible.

Pour des raisons d'ordre écologique, on
cherche actuellement à protéger au maximum les animaux
10 et à éviter autant que possible de les utiliser au
niveau du laboratoire : cette tendance actuelle,
encouragée par les diverses ligues pour la protection
des bêtes, fait que les produits d'origine animale
sont de plus en plus mal acceptés.

15 Indépendamment de ces préoccupations d'ordre
philosophique, le développement des produits provenant
du règne animal pourrait se trouver freiné dans
l'avenir : en effet, ces dernières années, on a vu
apparaître dans le règne animal, et en particulier
20 chez les ruminants, des virus de type prion qui
attaquent le cerveau et les tissus nerveux et sont
responsables d'atteintes neurologiques extrêmement
graves.

Or, il n'est pas exclu que de tels virus
25 soient susceptibles de se propager chez les humains ;

on craint que leur développement puisse avoir des conséquences dramatiques.

Compte tenu de cette incertitude, il existe actuellement un préjugé à l'encontre des produits
5 provenant du règne animal.

Il est en particulier à noter que certains produits extraits des tissus nerveux d'origine bovine ont, d'ores et déjà, été interdits par la Pharmacie Centrale des Hôpitaux de Paris.

10 Cette contrainte nouvelle est source de difficultés liées au fait que les produits d'origine animale se trouvent déjà dans un état partiellement ou totalement synthétisés, tandis que l'utilisation de produits végétaux exige toujours des manipulations
15 complémentaires pouvant s'avérer longues et coûteuses.

Compte tenu de ce contexte, les chercheurs exerçant dans des domaines tels que la dermatologie ou la pharmacologie tentent de plus en plus à utiliser des produits provenant du règne végétal ou des
20 produits d'origine marine en remplacement des produits animaux, et ce, malgré les difficultés accrues ainsi rencontrées.

Ces recherches ont abouti, conformément au document WO-A-92 00 182, à la mise au point d'un
25 procédé nouveau permettant d'obtenir - à partir d'un composé végétal tel que de la farine de céréale ou un extrait tel que du son, ou encore des lipides extraits de céréale par des solvants chlorés - un mélange lipidique riche en phospholipides, glycolipides et
30 céramides, et en particulier, un mélange lipidique de base ayant la composition pondérale suivante :

	- Céramides	90 %
	- Lécithines	5 %
35	- Galactolipides	5 %.

Il a déjà été proposé d'utiliser ce mélange lipidique de base dans des domaines tels que la cosmétologie ou la dermatologie.

On a maintenant découvert, conformément à l'invention, que le mélange lipidique de base d'origine exclusivement végétale susmentionné peut avoir de nombreuses et importantes autres applications, en particulier dans le domaine de la pharmacologie.

Les biologistes savent, depuis déjà de nombreuses années, que toutes les cellules du règne animal sont entourées de membranes plasmiques qui constituent des barrières à perméabilité sélective ; ces cytomembranes dont la texture est largement constante, sont essentiellement constituées par une double couche continue de molécules lipidiques disposées parallèlement entre-elles et réunies par leurs groupes hydrophobes, dans laquelle diverses protéines membranaires sont encastrées.

Différents constituants entrent dans la composition de ces doubles couches lipidiques de la membrane plasmique et, notamment, des huiles non polaires, ou des constituants polaires dont il existe trois classes principales :

- les phospholipides tels que la lécithine,
- les glycolipides ou galactolipides,
- les céramides, les sphingolipides et les glycosphingolipides.

Chaque type de cellule a une composition en constituants lipidiques polaires qui lui est particulière, et les spécialistes ont pu établir des gammes de compositions propres à chaque type de cellule.

Le tableau ci-dessous donne à titre d'exemple les compositions lipidiques approximatives de différentes membranes cellulaires.

5
10
15
20
25
30
35

Lipides (% en poids)	Membrane plasmique hépatique	Membrane plasmique des érythrocytes	Myéline	Mitochondrie (membranes interne et externe)	Réticulum endoplasmique	E. Coli
Cholestérol	17	23	22	3	6	0
Phosphatidyl- éthanolamine	7	18	15	35	17	70
Phosphatidylsérine	4	7	9	2	5	traces
Phosphatidylcholine	24	17	10	39	40	0
Sphingomyéline	19	18	8	0	5	0
Glycolipides	7	3	28	traces	traces	0
Autres	22	13	8	21	27	30

Les chercheurs ont pu prouver que les constituants polaires des cytomembranes lipidiques ont un rôle déterminant sur la perméabilité cellulaire et donc influent sur les possibilités de pénétration des agents actifs à l'intérieur des cellules.

Or, conformément à l'invention, on s'est rendu compte que le mélange lipidique de base susmentionné a une composition largement identique à celle des constituants lipidiques polaires entrant dans la composition des doubles couches lipidiques des membranes plasmiques, et, que, à partir de ce mélange de base, il est possible de fabriquer, par fractionnements successifs, un mélange lipidique "second" dont la composition est identique à celle qui est propre à un type donné de cellules.

L'idée à la base de l'invention est d'utiliser cette identité pour fabriquer, à partir du mélange lipidique polaire de base, une composition dans laquelle on reconstitue la formule lipidique des cytomembranes lipidiques pour véhiculer un agent actif ou faciliter sa pénétration dans une cellule cible.

A cet effet, l'invention se rapporte à une composition lipidique polaire d'origine végétale caractérisée en ce qu'elle est constituée par une émulsion aqueuse injectable, intra-articulaire, topique ou ingérable d'un mélange lipidique polaire riche en phospholipides, en glycolipides et en céramides, ayant une composition essentiellement identique à celle des constituants lipidiques polaires des cytomembranes lipidiques des cellules et obtenu à partir d'un composé végétal tel que de la farine de céréales ou un extrait tel que du son ou des lipides extraits de céréales par des solvants chlorés.

Cette composition, qui peut être pharmaceutique, cosmétique ou encore diététique peut revêtir

des formes variées sans pour cela sortir du cadre de l'invention et, dans certains cas, la composition peut même constituer l'agent actif proprement dit.

5 A titre d'exemple, il est connu qu'un excès de cholestérol peut provoquer le dépôt, sur la paroi interne des artères, d'une plaque d'athérome constituée par un mélange de cellules chargées de graisse et de cristaux de cholestérol. La réaction de la paroi en regard de la plaque d'athérome est
10 variable : elle commence par une sclérose (athérosclérose) et est suivie de calcifications (médiacalcose). Il peut s'ensuivre des thromboses (coagulation du sang dans l'artère) et des anévrismes (distention de la paroi).

15 Or, on a déjà pu mettre en évidence que les mélanges lipidiques polaires conformes à l'invention et en particulier les céramides sont des émulsifiants du cholestérol : l'injection dans le circuit sanguin d'un patient dont les artères sont porteuses de
20 nombreuses plaques d'athérome d'une composition conforme à l'invention peut permettre de faciliter l'élimination de ces dépôts ; ce mélange lipidique va en effet extraire le cholestérol puis faciliter son évacuation dans le circuit sanguin.

25 Plus précisément, pour obtenir la composition réellement mise en oeuvre conformément à l'invention, on utilise la notion de HLB ou "Hyrophile-Lipophile Balance" qui correspond à un classement des émulsifiants selon leur hydrophilie ou
30 leur lipophilie. Une HLB faible (3 à 5) caractérise une émulsion à phase continue huileuse, une HLB plus élevée (10 à 12) une émulsion à phase continue aqueuse et au-delà une solubilisation.

35 Or, à partir de cette notion, on a développé de nombreuses méthodes tant théoriques qu'expérimenta-

les pour déterminer dans chaque cas particulier la composition d'un système de tensio-actifs donnant l'émulsion la plus fine et donc le couplage optimum de plusieurs tensio-actifs.

5 Selon l'invention, pour déterminer in vitro la composition optimale pour l'émulsification du cholestérol, on a utilisé un processus expérimental basé sur la recherche par mesure de la conductivité de la quantité d'eau provoquant l'inversion de phase
10 d'une émulsion.

On a ainsi obtenu un HLB de 8 à 10.

Conformément à une variante particulièrement avantageuse de l'invention, l'émulsion a une composition essentiellement identique à celle des
15 cytomembranes lipidiques d'une cellule cible et renferme un agent actif enrobé dans une gaine du mélange lipidique.

Une telle composition peut, à titre d'exemple, renfermer un agent d'hydratation associé,
20 le cas échéant, à des additifs tels que des vitamines A ou E et enrobé dans une gaine ayant une composition identique à celle des cytomembranes lipidiques des cellules de l'épiderme et en particulier du stratum corneum ; les agents d'hydratation présents dans ces
25 compositions peuvent être des agents humectants ou hygroscopiques liposolubles tels que par exemple la lanoline, des acides gras polyinsaturés notamment la vitamine F, l'acide linoléique, l'acide gammalinoléique ou l'acide eicosapentaénoïque ou encore des agents
30 hydrosolubles tels que la glycérine, les mucopolysaccharides, les dérivés d'allantoïne, les acides aminés, l'urée, le sodium, le potassium.

Dans de telles compositions, qui peuvent être utilisées pour la lutte contre le vieillissement
35 ou le traitement des brûlés, le mélange lipidique

polaire agit en fait à deux niveaux : il améliore la perméabilité membranaire vis-à-vis de l'agent actif, mais, parallèlement contribue lui-même à l'hydratation des cellules ; on a, en effet, récemment pu mettre en évidence le rôle dans les mécanismes d'hydratation de la peau des phospholipides et surtout des céramides qui sont susceptibles de contribuer à une meilleure rétention de l'eau, de restructurer l'épiderme et notamment le ciment intercornéocytaire et d'améliorer la résistance de la peau aux agressions extérieures.

La composition conforme à l'invention peut également revêtir la forme d'une composition médicamenteuse destinée à diverses classes thérapeutiques et dont l'agent actif peut revêtir des formes variées et notamment être choisi dans le groupe formé par les antibiotiques, les anti-inflammatoires, les corticoïdes, les antiviraux, les anticancéreux et les médicaments des pathologies cardiovasculaires.

A titre d'exemple, on peut plus précisément citer la possibilité de véhiculer les agents actifs suivants :

25

30

35

	Classe thérapeutique	Agents actifs
	Cardio-angéiologie	Rutine
	Dermatologie	Vitamine A acide
5	Endocrinologie et hormones	Testosterone
	Métabolisme	Huiles riches en acide acide gamma linoléique acide eicosapentaénoïque acide docosahexaénoïque
10	Rhumatologie	Hydrocortisone AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens)
	Immuno allergologie	Allergènes
15		

Grâce au choix d'un mélange lipidique polaire dont la composition correspond à celle des cytomembranes lipidiques des cellules cibles que l'on désire traiter, il est ainsi possible d'injecter l'agent actif directement sur le site voulu où il va "attaquer" sélectivement les cellules cibles permettant ainsi, pour un effet et un rendement améliorés, de diminuer sa concentration et donc d'éviter autant que possible les effets secondaires.

Les exemples susmentionnés ne sont, bien entendu, pas limitatifs et on peut envisager de nombreuses autres applications de l'invention, consistant notamment à faire rentrer un élément tel que du sodium dans une cellule déficiente.

Dans tous les cas, la gaine lipidique polaire constitue, grâce à sa composition sélective, un vecteur permettant d'améliorer la perméabilité de la cellule cible pour le produit actif.

Il est également possible, selon une autre

caractéristique de l'invention, d'incorporer dans la composition, en tant qu'agent actif, non pas un composé à proprement parler "traitant" mais une substance toxique sélective pour un agent pathogène, notamment un virus, une bactérie ou un champignon.

Dans ce cas particulier, la gaine lipidique polaire fait office de "leurre" pour piéger l'agent pathogène et faciliter son élimination.

On peut utiliser cet aspect de l'invention pour la lutte contre le sida en enrobant de l'AZT dans une gaine lipidique polaire dont la composition correspond à celle des cytomembranes lipidiques des leucocytes : le virus du sida peut en effet reconnaître les lipides constitutifs de la gaine qui correspondent à sa voie de pénétration normale dans les cellules et venir ainsi en contact avec l'AZT de façon à favoriser sa destruction.

Le système lipidique polaire du présent brevet peut être également utilisé comme véhicule de composants de vaccins nécessaires au renforcement de l'immunité humorale et cellulaire.

Les caractéristiques de la composition lipidique polaire qui fait l'objet de l'invention seront détaillées dans les exemples ci-dessous :

EXEMPLE 1 :

On a fabriqué une composition cosmétique ayant la formule pondérale suivante :

	Vitamine E acétate	0,5 %
30	Lécithine hydrogénée	0,5 %
	Céramides	0,5 %
	Vitamine A	0,1 %
	(1 000 000 Ui/g)	
	Conservateurs + Eau.	

Cette composition s'est avérée très stable et à un toucher particulier qui plaît aux utilisatrices.

EXEMPLE 2 :

5 Compte rendu d'un test réalisé dans les Laboratoires de la Faculté de Pharmacie de Chatenay Malabry (France) dans le but de vérifier l'activité d'un mélange lipidique polaire conforme à l'invention sur la protection par les corticoïdes contre une
10 attaque radicalaire.

 Le principe de ce test consiste à soumettre des hématies isolées de leur plasma à une agression de type oxydatif dans des conditions contrôlées et standardisées de façon à leur permettre de mettre en
15 jeu tout leur équipement enzymatique et moléculaire pour résister à cette agression jusqu'à modification de la membrane cellulaire et éclatement et lyse de la cellule.

 Plus précisément, différentes préparations
20 contenant des hématies ont été soumises à une attaque par des radicaux libres organiques produits par décomposition thermique d'un composé azoté soluble dans l'eau particulier : le chlorhydrate de 2,2'-azo-bis-2 amidinopropane (100 mM), sous atmosphère d'air à 37°C.
25 On a ainsi pu produire une quantité connue et constante de radicaux peroxydés.

 A intervalle régulier dans le temps, on a prélevé, dans la préparation, un petit volume de surnageant et on a analysé son contenu en hémoglobine
30 par spectrophotométrie ($\lambda = 540 \text{ nm}$ ou 405 nm).

 La résistance de la population d'hématies de chacune des préparations testées a alors été exprimée par le temps de demi-lyse, c'est-à-dire le temps de libération de 50 % du contenu en hémoglobine.

35 Pour réaliser ce test, on a choisi des

hématies humaines isolées préalablement lavées et
remises en suspension dans de l'hématocrite (à 11 %) ;
ces cellules présentent, en effet, l'avantage d'avoir
une demi-vie relativement courte (environ 110 jours)
5 et de posséder tout l'équipement moléculaire et
enzymatique de la protection anti-radicaux libres, ce
qui leur permet d'être représentatives des autres
cellules de l'organisme.

10 Pour réaliser ce test, on a préalablement
préparé les compositions suivantes conformes à
l'invention :

Composition A

	Vitamine E acétate	2	%
15	Lécithine hydrogénée	1	%
	Céramides	1	%
	Vitamine A acide	0,05	%
	Conservateurs + Eau.		

20 Composition B

	Vitamine E acétate	2	%
	Lécithine hydrogénée	1	%
	Céramides	1	%
	Dexamethasone	0,02	%
25	Conservateurs + Eau.		

On a ensuite fabriqué les cinq préparations
tests suivantes :

- 30 1 : Hématies
2 : Hématies + Composition A (1/10)
3 : Hématies + Composition B (1/10)
4 : Hématies + Betneval (marque déposée)
(1/10)
5 : Hématies + Effederm (marque déposée)
35 (1/10).

Le Betneval et l'Effederm correspondent à des médicaments du commerce renfermant respectivement de la dexaméthasone et de la vitamine A acide à des concentrations similaires à celles des compositions A et B conformes à l'invention.

Le tableau ci-dessus donne les temps de demi-lyse T50 exprimés en minute obtenus pour chacune des préparations testées :

Préparation	T50
1 (témoin)	168
2	240
3	258
4	180
5	186

Ces résultats montrent que l'addition des deux produits du commerce ne protège que très faiblement la durée de vie des hématies soumises à un "stress" radicalaire, tandis que les deux compositions conformes à l'invention qui ont été testées ont permis d'obtenir une protection de beaucoup supérieure.

EXEMPLE 3 :

Compte rendu d'un test réalisé au Laboratoire du Tissu Conjonctif du CNRS de Créteil (France) dans le but de vérifier l'activité d'un mélange lipidique polaire conforme à l'invention sur l'inhibition d'une enzyme particulière, l'élastase leucocytaire humaine (ELH) qui présente la propriété de détruire l'élastine et donc de provoquer un vieillissement cellulaire et d'altérer également les parois artérielles.

L'activité du mélange conforme à l'invention a été comparée à celle de l'acide oléique, substance de référence.

Le principe de ce test consiste à mesurer l'inhibition de l'activité enzymatique par différentes préparations testées en suivant la cinétique à 410 nm de la dégradation d'un substrat S correspondant essentiellement à l'élastine le : Me-O-Suc-Ala₂-Pro-Val-pNa (N-Méthoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val-p-Nitro-anilide). Dans ce test, on mesure, dans le temps, l'évolution de la concentration en p-Nitroaniline qui se trouve libérée sous l'effet de l'activité de l'enzyme ELH sur le substrat S.

Pour réaliser ces tests, on a utilisé en tant que tampons de réaction T :

- soit le tris-HCl 0,1 M + 0,01 % de triton X-100 à pH 8,
- soit le tris-HCL 0,1 M à pH 8.

De manière générale, on a pu observer une meilleure inhibition dans le tris-HCL, mais une activité enzymatique plus faible que dans le tampon tris-HCL + 0,01 % de triton X-100.

- Dans le cadre de cet exemple :
- la figure 1 représente l'activité anti-élastasique de l'acide oléique de référence,
 - la figure 2 représente l'activité anti-élastasique de la préparation A,
 - la figure 3 représente l'activité anti-élastasique de la préparation B,
 - la figure 4 représente l'activité anti-élastasique de la préparation C,
 - la figure 5 représente l'activité anti-élastasique

15

de la préparation D.

Plus précisément :

Pour chacune des substances testées, on a préparé les cuves 1 à 5 dont la composition est répertoriées dans le tableau ci-après :

10

15

20

25

30

35

FEUILLE DE REMPLACEMENT

5
10
15
20
25
30
35

TABLEAU A

N° de cuve	1	2	3	4	5	Observations
T (µl)	1955	1965	1965	1945	1945	
ELH (µl)	-	10	10	10	10	à partir d'une solution mère à 100 µg/ml
Préparation testée (µl) diluée au 1/10e	20	-	-	20	20	
Substrat µl	25	25	25	25	25	à partir d'une solution à 2,3 mg/ml

On a ensuite agité chacune des cuves pendant 30 mn à 37°C de manière à laisser à l'enzyme le temps d'agir sur son substrat.

On a ensuite effectué la lecture à 410 nm de la concentration en p-nitro-aniline et reporté les résultats obtenus sur des courbes 1 à 5 qui correspondent aux cuves de même numérotation. Les courbes numérotées 1 correspondent à la référence tandis que les courbes 2 et 3 représentent les cinétiques en l'absence de préparations testées et les courbes 4 et 5 en présence de ces préparations.

Sur chacune de ces courbes, on a reporté, en abscisse, le temps en minutes et, en ordonnée, la déviation optique DO lue à 410 nm.

Les préparations testées ont été les suivantes :

- Préparation A : Céramide 1 % + lécithine hydrogénée 1 %
- 20 - Préparation B : Céramide 1 % + lécithine hydrogénée 1 % + Vitamine E acétate 2 %
- Préparation C : Céramide 1 % + lécithine hydrogénée 1 % + Vitamine E acétate 2 % + Vitamine A acide 0,05 %
- 25 - Préparation D : Céramide 1 % + lécithine hydrogénée 1 % + Vitamine E acétate 2 % + Dexaméthazone 0,02 %.

Pour l'acide oléique de référence, on a procédé de manière quelque peu différente vu que l'on a utilisé sept cuves de mesure à partir desquelles on a établi, à chaque fois, les courbes correspondant au suivi de la cinétique de la libération de p-nitro-aniline. Les courbes 1 à 3 correspondent respectivement, comme pour les préparations conformes à

l'invention, à la courbe de référence et aux cinétiques en l'absence d'acide oléique. Les courbes 4 et 5 correspondent à une concentration en acide oléique égale à 0,1 µg/ml tandis que les courbes 6 et 7 correspondent à une concentration en acide oléique de 1 µg/ml.

Les courbes correspondant à l'acide oléique de référence ainsi qu'aux préparations A à D sont jointes en annexe.

Sur chacune d'entre-elles, on a mesuré le pourcentage d'inhibition de l'activité anti-élastasique de chacune des différentes préparations au bout de 10 mn et on a trouvé les résultats suivants :

15	Acide oléique de référence à 0,1 µg/ml	: 36 %
	Acide oléique de référence à 1 µg/ml	: 84 %
	Préparation A	: 45 %
	Préparation B	: 24 %
	Préparation C	: 29 %
20	Préparation D	: 51 %.

Ces résultats permettent de prouver clairement l'activité anti-élastasique des compositions conformes à l'invention et, en particulier, des céramides.

Cette activité n'avait jusqu'à présent jamais été démontrée.

30

35

RE V E N D I C A T I O N S

1°) Composition lipidique polaire d'origine végétale permettant de véhiculer un agent actif et/ou de le faire pénétrer dans une cellule cible, caractérisée en ce qu'elle est constituée par une émulsion aqueuse injectable, intra-articulaire, topique ou ingérable d'un mélange lipidique polaire riche en phospholipides, en glycolipides et en céramides, ayant une composition essentiellement identique à celle des constituants lipidiques polaires des cytomembranes lipidiques des cellules et obtenu à partir d'un composé végétal tel que de la farine de céréales ou un extrait tel que du son ou des lipides extraits de céréales par des solvants chlorés.

2°) Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le mélange lipidique constitue l'agent actif.

3°) Composition selon la revendication 2, destinée à faciliter l'élimination des plaques d'athérome, caractérisée en ce qu'elle renferme, en tant qu'agent actif, un mélange lipidique dont le HLB est essentiellement compris entre 8 et 10.

4°) Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'émulsion a une composition essentiellement identique à celle des cytomembranes lipidiques d'une cellule cible et renferme un agent actif enrobé dans une gaine du mélange lipidique.

5°) Composition selon la revendication 4, caractérisée en ce que l'agent actif est un agent d'hydratation associé, le cas échéant, à des additifs tels que des vitamines A ou E.

6°) Composition médicamenteuse selon la revendication 4, caractérisée en ce que l'agent actif est choisi dans le groupe formé par les antibiotiques, les anti-inflammatoires, les corticoïdes, les

antiviraux, les anticancéreux et les médicaments des pathologies cardiovasculaires.

5 7°) Composition médicamenteuse selon la revendication 4, caractérisée en ce que l'agent actif est une substance toxique sélective pour un agent pathogène notamment un virus, une bactérie ou un champignon.

10 8°) Composition médicamenteuse selon la revendication 7, caractérisée en ce que l'agent actif est l'AZT.

15 9°) Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, plus spécialement destinée au domaine de l'immuno allergologie, caractérisée en ce que l'allergène est véhiculé par le système glycolipidique pour stimuler la défense immunitaire.

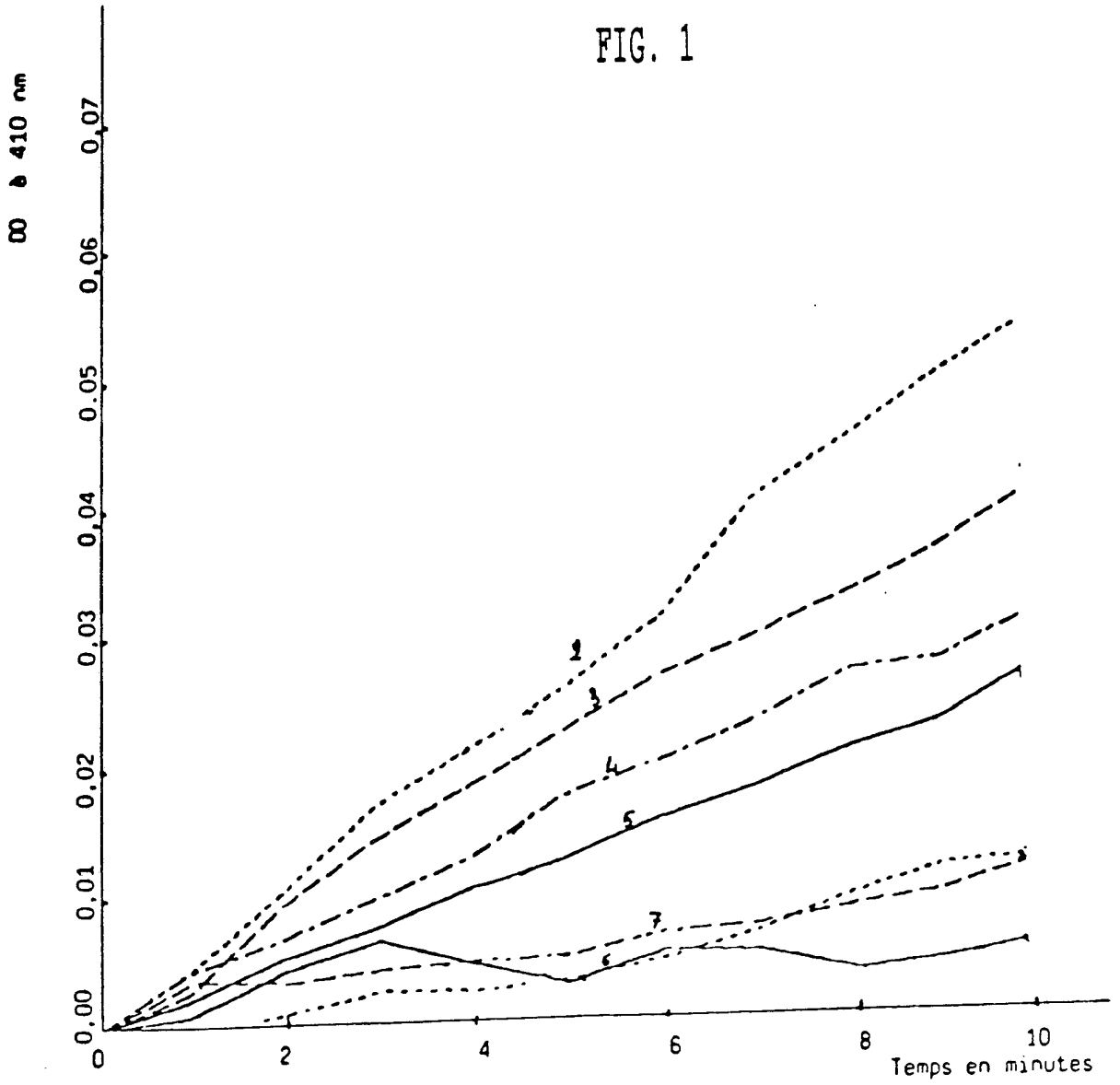
20 10°) Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisée en ce qu'elle constitue un système vecteur de composants de vaccins pour renforcer l'immunité humorale et cellulaire.

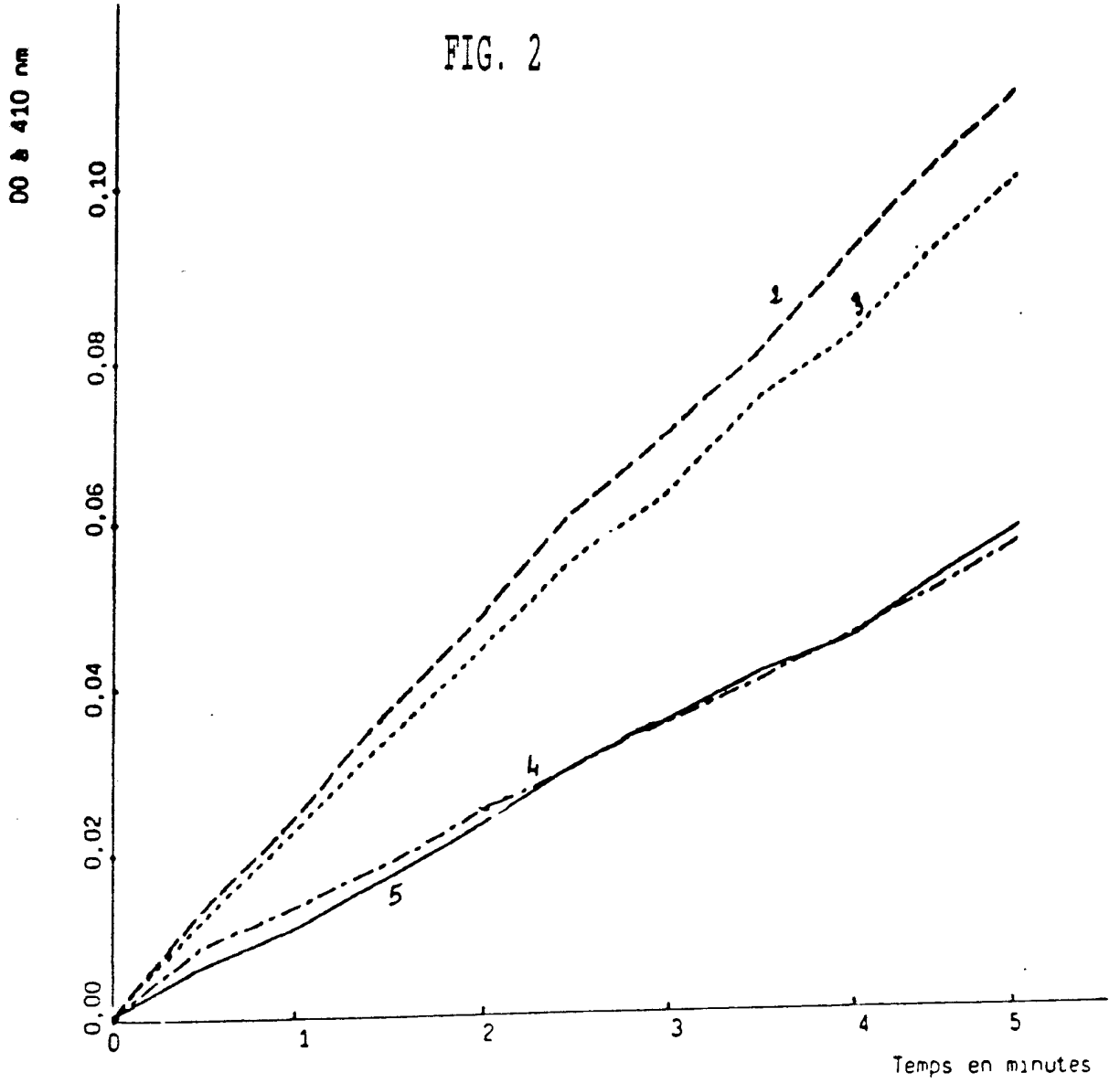
20

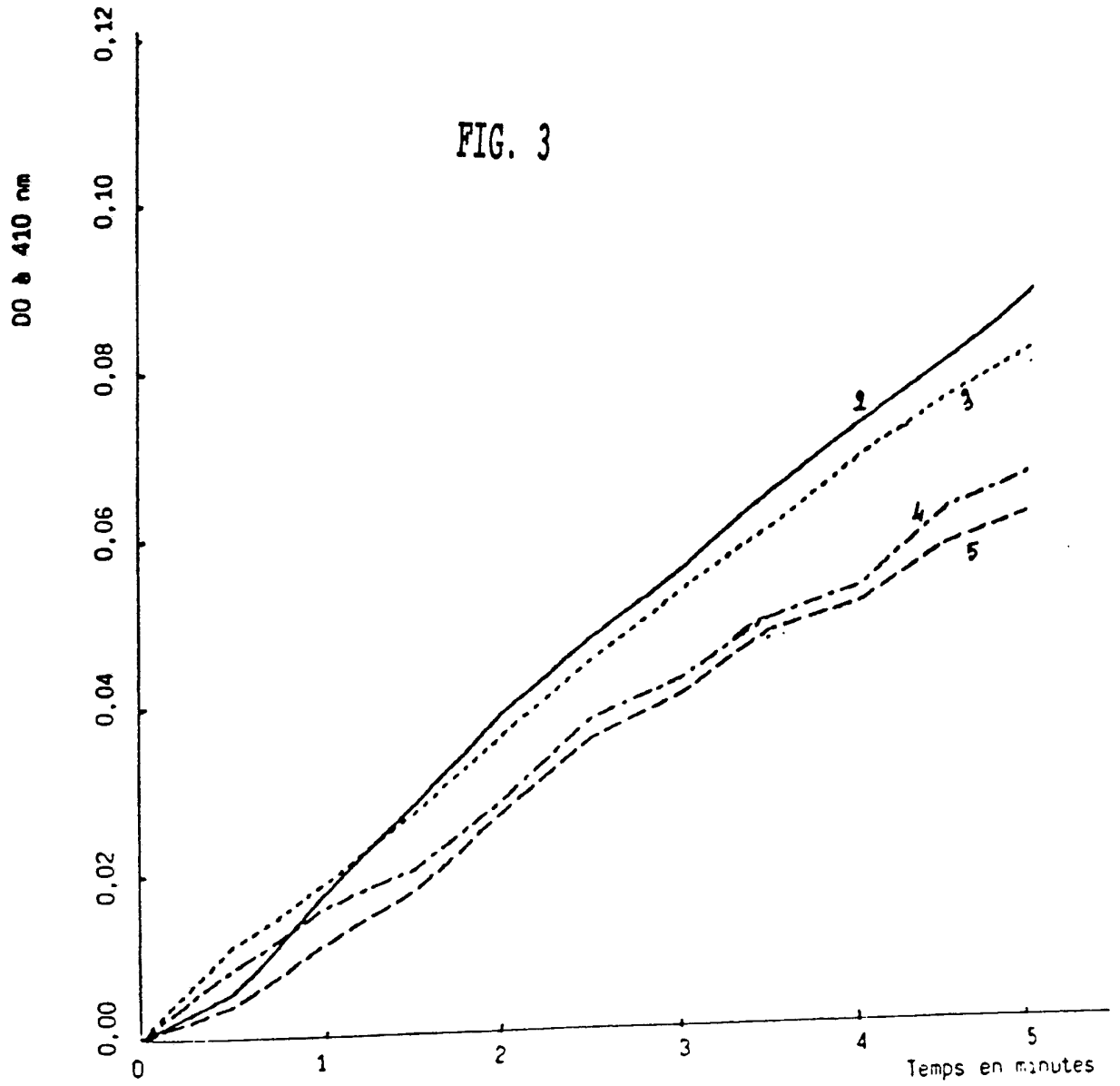
25

30

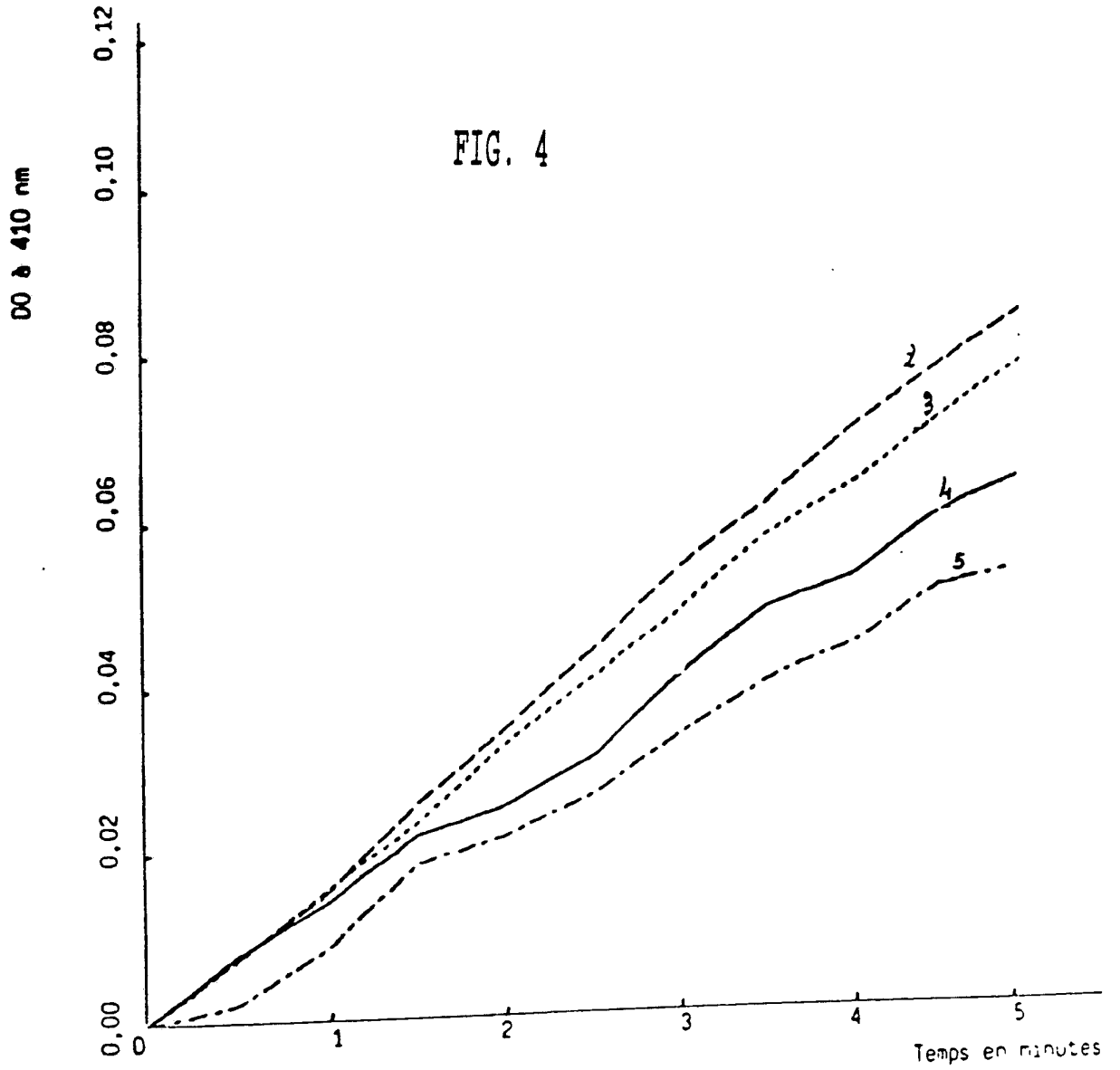
35



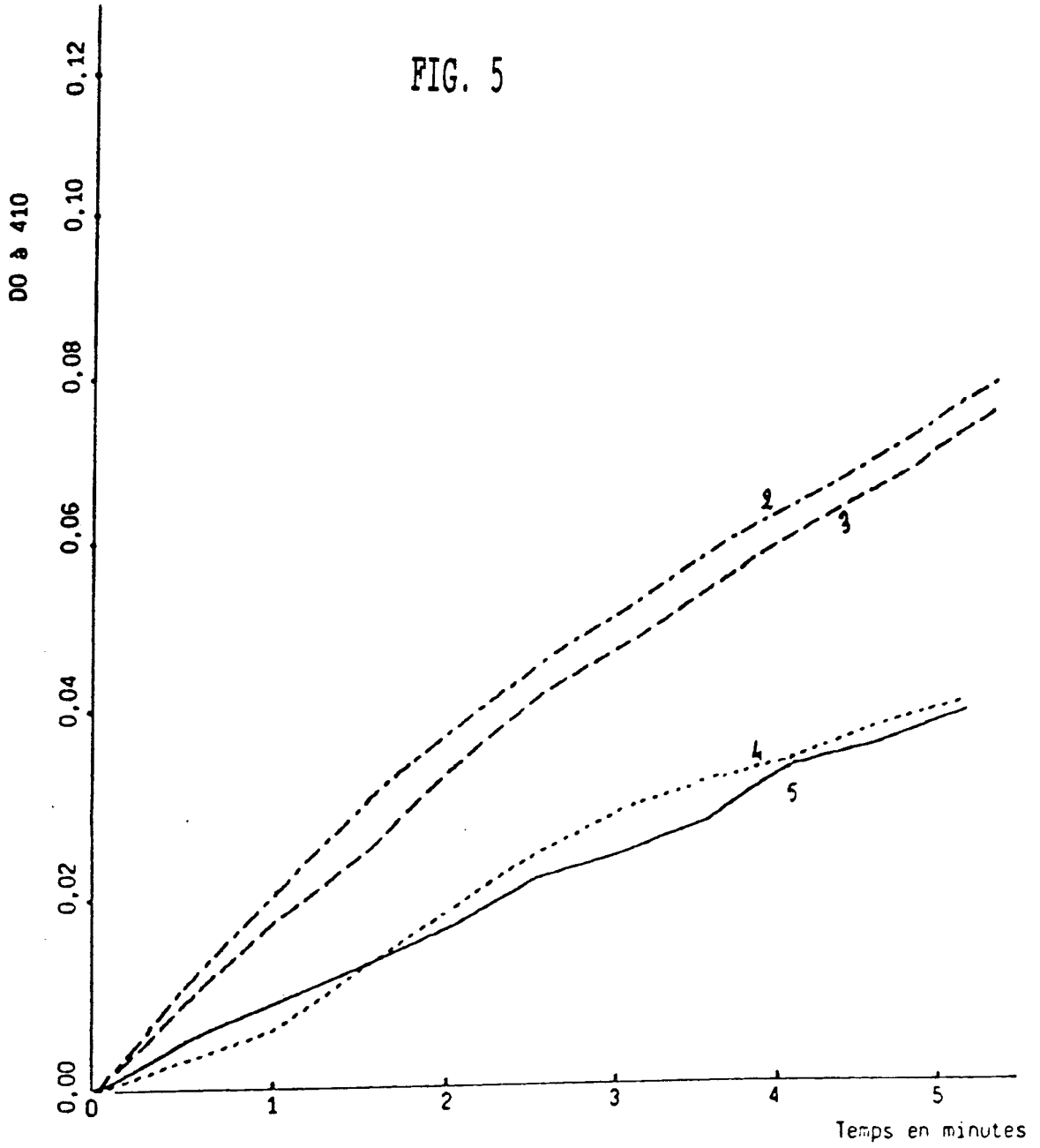




4/5



5/5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 92/01048

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁵ A 61 K 37/22; A 61K 9/107 ; A 61 K 9/127
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁵ A 61 K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO, A, 9 221 321 (LABORATOIRES INOCOSM) 10 December 1992 cited in the application see the whole document	1, 2, 4, 5
X	DE, A, 3 815 473 (SCHMIDT) 16 November 1989 see the whole document see page 2, line 26 - line 40 ---	1-3
X	WO, A, 8 910 753 (COLLINS) 16 November 1989 see the whole document see page 6, line 37 - page 7, line 28 ---	9
	-/--	

 Further documents are listed in the continuation of Box C.

 See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 March 1993 (18.03.93)

Date of mailing of the international search report

6 April 1993 (06.04.93)

Name and mailing address of the ISA
 European Patent Office

Authorized officer:

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 92/01048

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO, A, 8 902 733 (THE REGENT OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 6 April 1989	8
Y	see the whole document see page 9, line 4 - line 10	9,10
Y	EP, A, 0 433 242 (FONDAZIONE ANDREA CESALPINO) 19 June 1991 see the whole document	9,10
X	DATABASE WPIL Week 8551, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 85-320787 & JP, A, 60 224 628 (YAMAZAKI) 9 November 1985 see abstract	1,2
X	DATABASE WPIL Week 8236, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 82-75279 & JP, A, 57 122 018 (YAMAZAKI) 29 July 1982 see abstract	1,2
A	SEIFEN, ÖLE; FETIE, WACHSE volume 116, No 2, 1 February 1990, AUGSBURG (DE) page 51-55, XP000136052 R.A. BRUNKE "SPEZIFISCHE EIGENSCHAFTEN VON SPHINGOSOMEN" see the whole document	1-10
A	EP, A, 0 319 638 (ESTEE LAUDER INC.) 14 June 1989 "the whole"; in particular page 2, lines 44-49; pages 4, lines 39-56*	1-10
X	EP, A, 0 278 505 (ESTEE LAUDER INC.) 17 August 1988 "the whole*"; in particular page 3, line 56-56*	1-2, 4, 5
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN volume 13, No 49 (C-565) 3 February 1989 & JP, A, 63 243 016 (KANEBO LTD) 7 October 1988 see abstract	1-10
A	GB, A, 2 213 723 (KAO CORPORATION) 23 August 1989 see the whole document	1-10
A	DE, A, 3 339 907 (K.E. THEURER) 23 May 1985 see the whole document	1-10

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 9201048
SA 67721

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 18/03/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9221321	10-12-92	FR-A- 2676936	04-12-92
DE-A-3815473	16-11-89	FR-A- 2631236 JP-A- 2014736	17-11-89 18-01-90
WO-A-8910753	16-11-89	US-A- 5013555 AU-A- 3552389 EP-A- 0414757 CA-A- 2007137	07-05-91 29-11-89 06-03-91 09-09-90
WO-A-8902733	06-04-89	AU-A- 2526188 EP-A- 0380558 JP-T- 3501253	18-04-89 08-08-90 22-03-91
EP-A-0433242	19-06-91	None	
EP-A-0319638	14-06-89	JP-A- 1153608	15-06-89
EP-A-0278505	17-08-88	DE-A- 3871974 JP-A- 63270617	23-07-92 08-11-88
GB-A-2213723	23-08-89	JP-A- 62029508 DE-A- 3624389 FR-A- 2585568 GB-A, B 2178312 US-A- 5053229	07-02-87 12-02-87 06-02-87 11-02-87 01-10-91
DE-A-3339907	23-05-85	None	

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB CIB 5 A61K37/22; A61K9/107; A61K9/127		
II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée ⁸		
Système de classification	Symboles de classification	
CIB 5	A61K	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté ⁹		
III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS ¹⁰		
Catégorie ^o	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, ¹² des passages pertinents ¹³	No. des revendications visées ¹⁴
E	WO,A,9 221 321 (LABORATOIRES INOCOSM) 10 Décembre 1992 cité dans la demande voir le document en entier -----	1,2,4,5
X	DE,A,3 815 473 (SCHMIDT) 16 Novembre 1989 voir le document en entier voir page 2, ligne 26 - ligne 40 -----	1-3
X	WO,A,8 910 753 (COLLINS) 16 Novembre 1989 voir le document en entier voir page 6, ligne 37 - page 7, ligne 28 -----	9
-/--		
<p>^o Catégories spéciales de documents cités:¹¹</p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>"T" document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>"&" document qui fait partie de la même famille de brevets</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
18 MARS 1993	06.04.93	
Administration chargée de la recherche internationale	Signature du fonctionnaire autorisé	
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	BENZ K.F.	

III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS ¹⁶		(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR LA DEUXIEME FEUILLE)
Catégorie °	Identification des documents cités, ¹⁶ avec indication, si nécessaire des passages pertinents ¹⁷	No. des revendications visées ¹⁸
X	WO,A,8 902 733 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 6 Avril 1989	8
Y	voir le document en entier voir page 9, ligne 4 - ligne 10 ---	9,10
Y	EP,A,0 433 242 (FONDAZIONE ANDREA CESALPINO) 19 Juin 1991 voir le document en entier ---	9,10
X	DATABASE WPIL Week 8551, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 85-320787 & JP,A,60 224 628 (YAMAZAKI) 9 Novembre 1985 voir abrégé ---	1,2
X	DATABASE WPIL Week 8236, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 82-75279 & JP,A,57 122 018 (YAMAZAKI) 29 Juillet 1982 voir abrégé ---	1,2
A	SEIFEN, öLE, FETTE, WACHSE vol. 116, no. 2, 1 Février 1990, AUGSBURG (DE) pages 51 - 55 , XP000136052 R.A. BRUNKE 'SPEZIFISCHE EIGENSCHAFTEN VON SPHINGOSOMEN' voir le document en entier ---	1-10
A	EP,A,0 319 638 (ESTEE LAUDER INC.) 14 Juin 1989 *en entier; en particulier page 2, lignes 44-49, page 4, lignes 39-56* ---	1-10
X	EP,A,0 278 505 (ESTEE LAUDER INC.) 17 Août 1988 *en entier; en particulier page 3, lignes 56-56* ---	1-2,4,5
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 13, no. 49 (C-565)3 Février 1989 & JP,A,63 243 016 (KANEBO LTD) 7 Octobre 1988 voir abrégé ---	1-10

-/--

III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS ¹⁴		(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR LA DEUXIEME FEUILLE)
Catégorie °	Identification des documents cités, ¹⁶ avec indication, si nécessaire des passages pertinents ¹⁷	No. des revendications visées ¹⁸
A	GB,A,2 213 723 (KAO CORPORATION) 23 Août 1989 voir le document en entier ---	1-10
A	DE,A,3 339 907 (K.E. THEURER) 23 Mai 1985 voir le document en entier -----	1-10

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.

FR 9201048
SA 67721

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

18/03/93

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO-A-9221321	10-12-92	FR-A- 2676936	04-12-92
DE-A-3815473	16-11-89	FR-A- 2631236 JP-A- 2014736	17-11-89 18-01-90
WO-A-8910753	16-11-89	US-A- 5013555 AU-A- 3552389 EP-A- 0414757 CA-A- 2007137	07-05-91 29-11-89 06-03-91 09-09-90
WO-A-8902733	06-04-89	AU-A- 2526188 EP-A- 0380558 JP-T- 3501253	18-04-89 08-08-90 22-03-91
EP-A-0433242	19-06-91	Aucun	
EP-A-0319638	14-06-89	JP-A- 1153608	15-06-89
EP-A-0278505	17-08-88	DE-A- 3871974 JP-A- 63270617	23-07-92 08-11-88
GB-A-2213723	23-08-89	JP-A- 62029508 DE-A- 3624389 FR-A- 2585568 GB-A, B 2178312 US-A- 5053229	07-02-87 12-02-87 06-02-87 11-02-87 01-10-91
DE-A-3339907	23-05-85	Aucun	

EPO FORM P0472

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82