

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
8 décembre 2005 (08.12.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/115613 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : **B01J 31/00**,
37/00, D06P 1/00

(74) Mandataires : **PEAUCELLE, Chantal** etc.; Cabinet Ar-
mengaud Aine, 3, avenue Bugeaud, F-75116 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2005/001216

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,
KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM,
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international : 13 mai 2005 (13.05.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0405305 14 mai 2004 (14.05.2004) FR

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **DOU-
BLET SA** [FR/FR]; 67, rue de Lille, F-59113 Avelin (FR).

(71) Déposant et

(72) Inventeur : **DOUBLET, Luc** [FR/FR]; 80, rue de Bur-
gault, F-59113 Seclin (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **THOMAS,
Daniel** [FR/FR]; 33, allée de l'étang, F-60150
Villers/Coudun (FR). **BEDEL-CLOUTOUR, Catherine**
[FR/FR]; 5, rue Jean Corbon, F-60410 Verberie (FR).
PULVIN-HOUDE, Sylviane [FR/FR]; 22, rue Arona,
F-60200 Compiègne (FR). **BEDOUET, Laurent** [FR/FR];
14, impasse de la Culture, F-72000 Le Mans (FR).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont re-
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: SUPPORT-COLOURING MEANS

(54) Titre : MOYENS POUR LA COLORATION DE SUPPORTS

(57) Abstract: The invention relates to catalytic systems which are used to generate colours on a support. The inventive means are characterised in that they comprise one or more deactivated oxidation catalysts. The invention can be used to colour organic or inorganic supports.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet des systèmes catalytiques pour la génération de couleurs sur un support, caractérisés en ce qu'ils comprennent un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation inactivés. Application pour la coloration de supports organiques ou inorganiques.



WO 2005/115613 A1

Moyens pour la coloration de supports

La présente invention a pour objet des moyens, produits et procédé, pour la coloration de supports, matériaux inorganiques ou organiques, notamment matières vivantes comme la peau.

Il est connu d'imprimer des supports, tels que papiers et tissus, à l'aide d'encre. Ce type de technique est utilisé à l'heure actuelle par la Demanderesse pour effectuer la coloration de supports à partir des trois couleurs primaires (jaune, cyan et magenta) fournies par des encres, le noir étant obtenu en utilisant une encre noire, le blanc étant donné par le support lui-même. Le support à colorer est déroulé par exemple en feuille à travers une imprimante qui distribue, point par point, des gouttes d'encre de quelques nanolitres selon un dessin préfiguré, avantageusement par ordinateur. Le bras distribuant les encres doit passer cependant plusieurs fois au même endroit pour obtenir l'intensité souhaitée, ce qui consomme du temps.

De plus, certaines encres chimiques sont considérées comme polluantes pour l'environnement.

Des techniques basées sur l'utilisation d'enzymes ont été également rapportées. Ainsi, le brevet EP 1 342 831 décrit un procédé de coloration de tissus par voie enzymatique, comprenant le trempage du tissu dans une solution aqueuse comprenant un ou plusieurs composés aromatiques ou hétéroaromatiques, suivi du trempage du matériel trempé dans une solution aqueuse avec une source de peroxyde d'hydrogène et une enzyme présentant une activité peroxydase, ou avec une enzyme présentant une activité oxydase sur, ledit ou lesdits composés aromatiques ou hétéroaromatiques.

Dans ce procédé, il n'existe aucun contrôle des éléments fixés au cours des différents trempages des échantillons, et tout particulièrement du catalyseur d'oxydation. Ce dernier n'est lié que par absorption et peut donc être éliminé au cours des lavages. De plus, les couleurs obtenues ne sont pas les couleurs primaires.

Les inventeurs ont constaté que ces problèmes pouvaient être surmontés en remplaçant ces encres et ces enzymes par des systèmes catalytiques photoactivables et capables de générer les trois couleurs primaires dont l'association peut conduire à des composés colorés.

L'invention a donc pour but de fournir de tels systèmes, ainsi qu'un procédé de génération de couleur sur un support reposant sur leur utilisation, dans lequel les couleurs ne sont révélées sur ledit support qu'au moment souhaité et à l'endroit souhaité.

- 5 Un autre but de la présente invention porte sur un procédé de coloration d'un support dans lequel ledit support puisse être réutilisé plusieurs fois afin de générer d'autres couleurs que celles initialement générées.

Le terme "support", tel qu'utilisé dans la description et les revendications, désigne des matériaux inorganiques ou organiques, notamment des matières vivantes
10 comme la peau.

Les systèmes catalytiques utilisés selon l'invention pour la génération de couleurs sur un support sont caractérisés en ce qu'ils comprennent un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation inactivés.

On citera en particulier des oxydases, telles que les peroxydases, les laccases, et les
15 hydrolases, comme les phosphatases alcalines ou les phosphatases acides.

La peroxydase (EC 1.11.1.7.) se présente comme une enzyme particulièrement intéressante compte tenu de sa très faible spécificité vis-à-vis de substrats

La laccase (EC 1.10.3.2) peut également être utilisée. Comme la peroxydase, elle catalyse des couplages oxydatifs en utilisant les mêmes substrats.

20 La phosphatase alcaline (EC 3.1.3.1) et la phosphatase acide (EC 3.1.3.2) sont parfaitement caractérisées, mais leurs substrats sont plus limités et plus chers que ceux de la peroxydase, l'hémoglobine ou la laccase.

L'hémoglobine, et notamment l'hémoglobine bovine, est capable d'oxyder des substrats de la peroxydase : la réticulation de l'hémoglobine, visant à créer un
25 phénomène d'amplification, permet de se rapprocher des performances de la peroxydase.

De manière avantageuse, les substrats de ces catalyseurs sont nombreux et sont disponibles à des prix peu élevés. Leur oxydation produit de nombreux composés colorés insolubles dans l'eau (Conyers et Kidwell (1991), *Anal. Biochem.*, **192**, 207-
30 211).

D'autres catalyseurs d'oxydation comprennent les hémoglobines.

L'inactivation de ces catalyseurs est obtenue de manière satisfaisante par fixation de groupes photolabiles, de préférence dans leur site actif.

Des groupes appropriés correspondent à des substituants "nitrophényle", et comprennent, par exemple, un groupement -O-nitrobenzyle ou nitrophényle.

On citera par exemple le 4,5-diméthoxy-o-nitrobenzyle, l'o-nitrobenzyle-éthyle ou encore l'o-nitrobenzyle.

- 5 Conformément à l'invention, les catalyseurs d'oxydation sont associés à des substrats chromogènes utilisés en combinaison avec des composés aromatiques.

Par « substrat chromogène », on entend des composés fonctionnant de manière réversible avec les catalyseurs et capables de conduire à un composé coloré après oxydation par le catalyseur et condensation avec les composés aromatiques.

- 10 De manière générale, les systèmes catalytiques de l'invention sont des systèmes capables d'être photoréactivés et de retrouver une activité d'oxydation suffisante pour générer des couleurs.

Pour obtenir les 3 couleurs primaires (cyan, magenta et jaune), les substrats décrits par exemple par Conyers et Kidwell, (1991, précédemment cités) sont

- 15 particulièrement appropriés car ils donnent rapidement des produits bleu et rouge insolubles, précipitant *in situ*.

On citera notamment l'hydrazone de la 3-méthyl-2-benzothiazolinone (MBTH) et des dérivés de la phénylènediamine, comme la diméthyl phénylènediamine et la diéthyl phénylènediamine.

- 20 Comme composés aromatiques utilisables pour réagir avec les substrats chromogènes oxydés et conduire à un précipité coloré, on citera les chloronaphtols, les naphthalènediols, les aminophénols, les catéchois, les chlorophénols, le phénol, le gaïacol ou tout autre molécule appartenant soit à la famille des composés aromatiques mono-, di-, ou poly-cycliques, soit à la famille des dérivés
- 25 hétéroaromatiques.

L'invention vise également un procédé de génération de couleurs sur un support, caractérisé en ce qu'il comprend, la réactivation sous l'effet d'un stimulus lumineux d'un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation inactivés, tels que définis ci-dessus, imprégnant ledit support.

- 30 Les catalyseurs d'oxydation sont donc temporairement inactivés pour permettre la mise en œuvre de l'invention. Leur réactivation va permettre la génération de couleurs à l'endroit voulu, au moment souhaité.

De préférence, ce procédé comprend :

a) une étape d'inhibition photoréversible d'un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation imprégnant un support,

b) une étape d'immobilisation du ou des catalyseurs d'oxydation temporairement inactivé(s) tels qu'obtenus à l'issue de l'étape a) sur un support à colorer, ladite

5 étape d'immobilisation étant notamment effectuée par trempage du support à colorer dans une solution comprenant le ou les catalyseurs d'oxydation inactivés,

c) une étape de stimulation lumineuse du support imprégné tel qu'obtenu à l'issue de l'étape b) permettant de réactiver le ou les catalyseurs d'oxydation temporairement inactivés,

10 d) une étape d'imprégnation du support sur lequel ont été immobilisés le ou les catalyseurs d'oxydation à l'issue de l'étape c), avec une solution comprenant un ou plusieurs substrats chromogène(s) et un ou plusieurs oxydants, permettant ainsi de développer les couleurs sur le support, à l'endroit activé par la stimulation lumineuse.

L'étape a) est avantageusement réalisée en faisant réagir les catalyseurs d'oxydation

15 mis en œuvre avec des composés renfermant des groupements photolabiles comme défini plus haut. Des composés renfermant des groupements -O-nitrobenzyle sont à cet égard particulièrement avantageux. Ces composés peuvent se fixer en effet spontanément, par covalence, sur les acides aminés, en particulier du site actif, par exemple les motifs lysine, asparagine, glutamine ou encore cystéine. Pour la fixation

20 sur des lysines, on utilisera ainsi avec avantage un composé tel que le 3,4-diméthoxy-O-nitrobenzyl- chloroformate. La réaction peut être effectuée en milieu aqueux. Pour la réaction avec des motifs comportant une fonction carboxylique, par exemple aspartique ou glutamique, on prépare un dérivé diazoéthane à partir d'un dérivé hydrazonoéthane.

25 L'étape b) comprend l'imprégnation d'un support avec une le catalyseur en solution dans des conditions permettant d'obtenir l'intensité souhaitée pour une couleur.

Le support est par exemple un tissu formé de fibres naturelles, notamment en coton, et/ou de fibres synthétiques, ou en un matériau polymère, tel qu'un polyester. Il peut s'agir également de papier.

30 La solution de catalyseur est avantageusement une solution aqueuse et renferme des quantités de catalyseur de l'ordre de 5 à 50 µg/mL pour HRP et de 50 à 200 µg/mL pour Hb avec une gamme de pH de 4 à 6 environ.

Avant l'étape b) d'immobilisation, on procède avantageusement à une étape préalable d'imprégnation du support à colorer avec une solution comprenant un ou

plusieurs additifs capables de lier le ou les catalyseurs d'oxydation avec le support à colorer.

Selon un mode de réalisation du procédé de l'invention, lorsque le support à colorer est un tissu synthétique, on procède à une étape d'imprégnation préalable par de l'alginate, notamment de l'alginate de calcium : la présence de ce polysaccharide acide rend possible l'immobilisation d'une quantité importante de catalyseur d'oxydation sur le tissu par liaison covalente après activation des fonctions carboxyliques en fonctions esters NHS par le couple carbodiimide hydrosoluble [EDCI : N-Ethyl-N'-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide, N-Cyclohexyl-N'-(2morpholinoéthyl) carbodiimide métho-p-toluènesulfonate / hydroxysuccinimide (NHS)].

Dans l'étape d'imprégnation préalable, l'alginate présent à la surface du tissu (1 cm²) est activé dans l'eau pendant 5 à 30 min. par le couple EDC/NHS (200 µg/200) dans un volume variant de 2 à 4 mL environ.

Le tissu activé est plongé dans une solution de catalyseur d'oxydation aux concentrations précisées préalablement, maintenue entre un pH de 6 à 7. La durée de couplage varie de 30 à 90 min environ.

Selon une autre disposition préférée de l'invention, à l'issue de l'étape préalable d'activation et d'imprégnation du support à colorer avec une solution comprenant un ou plusieurs additifs, on procède à une étape de séchage. Le séchage est avantageusement réalisé à froid pour ne pas endommager les catalyseurs.

La stimulation lumineuse nécessaire à la réactivation a lieu à 366 nm pendant 5 à 30 min.

Pour l'étape d), on imprègne le support avec une solution renfermant un ou plusieurs substrats chromogènes, qui sont des substrats pour le catalyseur, un ou plusieurs composés aromatiques et un ou plusieurs agents oxydants.

Les concentrations en substrats varient de 1 à 4 mM et les concentrations en oxydants sont fixées à 1 mM ; les concentrations de chacun des membres du couple de substrats varient de 1 à 4 mM environ. Ce mélange est réalisé dans un milieu tamponné de 4,5 à 6 environ, à une température de 20 à 25°C environ, jusqu'au développement de la ou des colorations.

La condensation des substrats oxydés avec les composés aromatiques conduit à la formation de composés colorés qui précipitent *in situ* à l'emplacement même de la transformation des précurseurs (substrats chromogènes).

Pour que le support à colorier reste incolore en présence des substrats chromogènes, il est nécessaire d'obtenir une inhibition totale de l'activité du catalyseur d'oxydation.

- 5 Par inhibition totale, on entend une inhibition variant d'environ 80% à environ 100%, et de préférence d'environ 90% à environ 98%.

La réactivation, même partielle, du catalyseur d'oxydation par photolyse suffit pour déclencher le procédé de génération de couleurs.

- 10 On entend par réactivation partielle une réactivation variant d'environ 10% à environ 30%, et de préférence d'environ 20% à environ 25%. Ainsi, une récupération après irradiation de l'activité du catalyseur de l'ordre d'environ 25% suffit pour déclencher le procédé de génération de couleurs.

- 15 Sous l'effet d'un stimulus lumineux les groupements photolabiles s'éliminent par photolyse en laissant la cible initiale (catalyseur d'oxydation) chimiquement intacte et biologiquement active. Le catalyseur d'oxydation obtenu est partiellement réactivé.

Il se produit ensuite une réaction chimique telle faisant intervenir le substrat aromatique, le catalyseur d'oxydation totalement ou partiellement réactivé, un oxydant et le composé aromatique, ce qui conduit à l'obtention d'un produit coloré.

- 20 Le procédé de l'invention présente plusieurs avantages, notamment par rapport à un procédé de coloration classique utilisant des encres. En effet, selon le procédé de l'invention il est possible d'obtenir une coloration plus rapide des supports qu'avec l'impression point par point, une meilleure résolution, la taille du pixel correspondant à la dimension du catalyseur d'oxydation immobilisé, et les problèmes liés au colmatage des têtes distributrices d'encres.

- 25 L'invention vise également un procédé dans lequel ledit système est un film photoenzymatique souple et transparent pour localiser les "foyers" d'émission *in vivo* de photons gammas en médecine nucléaire. Le développement d'une tâche de couleur sur le film appliqué sur la peau permet par exemple de localiser un point de croissance cellulaire pathologique (par exemple "ganglions sentinelles pour le cancer du sein) avant un acte chirurgical. Ce procédé permet avantageusement de se dégager des contraintes imposées par l'utilisation des caméras à scintigraphie gamma et de réduire considérablement l'implication des spécialistes de médecine nucléaire dans les interventions de routine.
- 30

L'invention vise également un procédé tel que défini ci-dessus dans lequel le support est constitué de macromolécules, par exemple de la cellophane, et porte un système photoenzymatique tel que décrit plus haut. La face du film au contact de la peau est striée pour jouer un rôle de collimateur vis-à-vis des photons gamma.

5 Selon encore un autre aspect de l'invention de grand intérêt l'invention vise l'application du procédé de génération de couleurs sur la peau en cosmétique.

D'autres aspects et avantages de la présente invention apparaîtront dans les exemples qui suivent qui illustrent la génération de couleurs sur un support en coton ou en polyester.

10 EXEMPLE 1 : Utilisation de l'hémoglobine

1) Inhibition photoréversible de l'hémoglobine

L'hémoglobine bovine en solution aqueuse (32 μ M) est traitée par différentes concentrations de 1-(2-nitrophényl)éthyl-diazoéthane (NPE-diazo) en solution dans du DMSO, à 20°C pendant 1 h, à l'obscurité. La concentration finale en
15 DMSO ne doit pas excéder 5%. Les concentrations de NPE-diazo varient de 50 à 100 équivalents par rapport à l'hémoglobine. La réaction de couplage est arrêtée par addition d'une solution de tampon acétate 100 mM à pH 4,4 (1 équivalent par rapport au NPE-diazo). Les temps de contacts varient de 10 à 30 min. Le ménage réactionnel est ensuite dialysé contre de l'eau, entre 4 et 20°C, entre 1 et 16
20 heures contre 1000 volumes d'eau. Le conjugué est stocké à 20°C.

Le pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'ABTS [sel de diammonium de l'acide 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolinone-6-sulfonique), 1mM] est déterminé avant dialyse sur les plaques de microtitration de 96 puits (Costar, Corning Incorporated) dans du tampon acétate de sodium, 50 mM, pH 5 en présence de 1
25 mM de peroxyde d'hydrogène. Le nombre de molécules fixées par molécule d'hémoglobine est déterminé par spectrométrie de masse (électrospray). Les résultats sont rassemblés dans le tableau 1.

TABLEAU 1

Conjugés hémoglobine	NPE- Nombres de fixés/molécule Hb	NPE Activité résiduelle (%)
Hémoglobine native	0	100
Hb-50*	de 0 à 5	12,6
Hb-75*	de 1 à 6	5,4
Hb-100*	de 1 à 6	2,5

* 50, 75 et 100 correspondant au nombre d'équivalents NPE introduits dans le milieu réactionnel.

Le traitement de l'hémoglobine par NPE-diazo, aboutit à une forte inhibition de l'activité d'oxydation (supérieure à 90%)

2) Photoréactivation du catalyseur d'oxydation

Le catalyseur d'oxydation est réactivé par irradiation des solutions des différents conjugués (1 mg/mL) dans du tampon acétate de sodium (25 mM, pH 4,4). La photolyse a lieu à 366 nm (lampe UV de 100 W, 7 mW/cm² à une distance de 30 cm); les temps d'irradiation varient de 5 à 30 min. Cette étape est avantagement réalisée en présence de 5mM de 2-éthanolamine afin de piéger les éventuelles réactions croisées entre produits de photolyse et hémoglobine.

Après 30 minutes d'irradiation, la déprotection de l'hémoglobine est totale.

La restauration de l'activité enzymatique est déterminée dans des plaques de microtitration comme précédemment décrit, en présence d'ABTS (1 mM) et d'H₂O₂ (1mM).

Après 30 min.; d'irradiation, 57% de l'activité est récupérée pour Hb-50, 28% pour Hb-75 et 16% pour Hb -100. Ces pourcentages d'activité sont suffisants pour déclencher par la suite le procédé de génération de la coloration.

3) Accrochage des enzymes sur le support à colorer

Le catalyseur d'oxydation, hémoglobine bovine, se fixe de façon covalente sur les tissus en polyester pré -imprégnés avec l'alginate de calcium.

Les fonctions carboxyliques du polysaccharide sont activées dans l'eau, en présence du couple EDC/NHS, pendant un intervalle de temps variant de 10 à 30

min. Pour le 1 cm² de tissu, les quantités d'activateurs carbodiimide/N-hydroxysuccinimide sont de 200 µg chacune dans des volumes variant de 2 à 4 mL. Le tissu ainsi activé est plongé dans une solution de catalyseur d'oxydation à une concentration de 50 à 200 µg/mL à pH 6. Le temps d'incubation varie de 45 à 90 min.

Dans ces conditions, le tissu est ainsi prêt à être irradié pour réactiver le catalyseur d'oxydation, puis imprégné avec la solution contenant le ou les couples de substrats homogènes.

4) Imprégnation par les couples de substrats chromogènes et l'oxydant

a) Utilisation du couple DMPDA/4-chloronaphthol

Le tissu précédemment réactivé est plongé dans une solution tamponnée entre pH 4,5 et 6, comprenant la diméthyl-phénylènediamine (solution mère préparée dans l'eau, 110 mM), le 4-chloronaphthol (solution mère préparée dans de l'éthanol, 110 mM). Leurs concentrations finales varient de 1 à 4 mM. L'oxydant, le peroxyde d'hydrogène, est additionné ; sa concentration est avantageusement fixée à 1 mM. La réaction est conduite entre 20 et 25°C, jusqu'au développement de la couleur bleue.

b) Utilisation du couple MBTH/4-chloronaphthol

Comme précédemment décrit dans a), le tissu réactivé est plongé dans une solution tamponnée entre pH 4,5 et 6, comprenant la 3-méthyl-benzothiazoline (MBTH, solution mère préparée dans l'eau, 110 mM), le 4-chloronaphthol et l'oxydant. Les concentrations des différentes espèces ainsi que les conditions opératoires sont les mêmes que pour a). Dans ce cas, la couleur rouge est générée.

c) Utilisation du couple MBTH/1,3-naphthalènediol

Comme précédemment décrit dans a), le tissu réactivé est plongé dans une solution tamponnée entre pH 4,5 et 6, comprenant la 3-méthyl-benzothiazoline (MBTH), le 1,3-naphthalènediol (solution mère préparée dans de l'éthanol, 110 mM) et l'oxydant. Les concentrations des différentes espèces ainsi que les conditions opératoires sont les mêmes que pour a). Dans ce cas, la couleur jaune est développée.

REVENDICATIONS

1/ Systèmes catalytiques pour la génération de couleurs sur un support, caractérisés en ce qu'ils comprennent un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation inactivés.

2/ Systèmes catalytiques selon la revendication 1, caractérisés en ce que les catalyseurs d'oxydation sont des oxydases, telles que les peroxydases, les laccases et les hydrolases comme les phosphatases alcalines ou les phosphatases acides.

3/ Systèmes catalytiques selon la revendication 1, caractérisés en ce que les catalyseurs d'oxydation sont des hémoglobines.

4/ Systèmes catalytiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que les catalyseurs d'oxydation sont inactivés par des groupes photolabiles.

5/ Systèmes catalytiques selon la revendication 4, caractérisés en ce que le groupe photolabile est un groupe nitrophényle, comme un groupement – O – nitrobenzyle ou O-nitrophényle.

6/ Systèmes catalytiques selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que les catalyseurs d'oxydation sont associés à des couples de substrats chromogènes.

7/ Systèmes catalytiques selon la revendication 6, caractérisés en ce que le substrat est choisi parmi la 3-méthyl-2-benzothiazolinone (MBTH) et des dérivés de la phénylènediamine, comme la diméthyl phénylènediamine et la diéthyl phénylènediamine.

8/ Systèmes catalytiques selon la revendication 6 ou 7, caractérisés en ce que les composés aromatiques utilisables pour réagir avec les substrats chromogènes

oxydés et conduire à un précipité coloré, sont des composés aromatiques mono-, di-, ou polycycliques, ou des composés aromatiques.

9/ Systèmes catalytiques selon la revendication 8, caractérisés en ce que les composés aromatiques sont choisis parmi les chloronaphtols, les naphthalènediols, les aminophénols, les catéchols, les chlorophénols, le phénol, le gaïacol.

10/ Procédé de génération de couleurs sur un support, caractérisé en ce qu'il comprend, la réactivation sous l'effet d'un stimulus lumineux d'un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation inactivés, tels que définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, imprégnant ledit support.

11/ Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il comprend,

a) une étape d'inhibition photoréversible d'un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation imprégnant un support,

b) une étape d'immobilisation du ou des catalyseurs d'oxydation temporairement inactivé(s) tels qu'obtenus à l'issue de l'étape a) sur un support à colorer, ladite étape d'immobilisation étant notamment effectuée par trempage du support à colorer dans une solution comprenant le ou les catalyseurs d'oxydation inactivés,

c) une étape de stimulation lumineuse du support imprégné tel qu'obtenu à l'issue de l'étape b) permettant de réactiver le ou les catalyseurs d'oxydation temporairement inactivés,

d) une étape d'imprégnation du support sur lequel ont été immobilisés le ou les catalyseurs d'oxydation à l'issue de l'étape c), avec une solution comprenant un ou plusieurs substrats chromogène(s) et un ou plusieurs oxydants, permettant ainsi de développer les couleurs sur le support à l'endroit activé par la stimulation lumineuse.

12/ Procédé selon la revendication 10 ou 11, caractérisé en ce que le support est formé d'un tissu de fibres naturelles, notamment en coton, et/ou de fibres synthétiques, en un matériau polymère, tel qu'un polyester, ou encore par du papier.

13/ Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 ou 12, caractérisé en ce que, avant l'étape b) d'immobilisation, on procède à une étape préalable

d'imprégnation du support à colorer avec une solution comprenant un ou plusieurs additifs capables de lier le ou les catalyseurs d'oxydation avec le support à colorer.

14/ Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 à 13, caractérisé en ce que, lorsque le support à colorer est un tissu synthétique, on procède à une étape d'imprégnation préalable par de l'alginate, notamment de l'alginate de calcium.

15/ Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'il comprend une étape de fixation covalente du catalyseur d'oxydation en procédant à une étape d'activation des fonctions acide carboxylique en esters activés, notamment à l'aide de couples carbodiimide hydrosoluble et N-hydroxysuccinimide.

16/ Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 à 15, caractérisé en ce que, à l'issue de l'étape préalable d'imprégnation du support à colorer avec une solution comprenant un ou plusieurs additifs, on procède à une étape de séchage.

17/ Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 16, caractérisé en ce que le système est un film photo enzymatique souple et transparent.

18/ Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce que le support est constitué de macromolécules et porte un système photoenzymatique.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2005/001216

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01J31/00 B01J37/00 D06P1/00

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)

IPC 7 B01J D06P

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 practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CONYERS S M ET AL: "CHROMOGENIC SUBSTRATES FOR HORSERADISH PEROXIDASE" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 192, 1991, pages 207-211, XP001042397 ISSN: 0003-2697 cited in the application the whole document	1-18
X	EP 1 342 831 A (NOVOZYMES AS ; NOVOZYMES NORTH AMERICA INC (US)) 10 September 2003 (2003-09-10) cited in the application page 8, line 2 - page 9, line 42 ----- -/--	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in 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

21 September 2005

Date of mailing of the international search report

30/09/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bork, A-M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2005/001216

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 504 005 A (PERMA SA) 16 September 1992 (1992-09-16) page 1, line 1 - page 5, line 12; example 3	2,6-9, 11-18
A	US 5 281 523 A (KOVACH ILDIKO M) 25 January 1994 (1994-01-25) page 1, line 1 - line 65 page 3, line 10 - line 52	1,2,5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inte

onal Application No

PCT/FR2005/001216

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1342831	A	10-09-2003	NONE	
EP 0504005	A	16-09-1992	AT 121931 T CA 2061826 A1 DE 69202290 D1 DE 69202290 T2 ES 2072720 T3 FR 2673534 A1 JP 6172145 A	15-05-1995 09-09-1992 08-06-1995 09-11-1995 16-07-1995 11-09-1992 21-06-1994
US 5281523	A	25-01-1994	NONE	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. internationale No
PCT/FR2005/001216

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 B01J31/00 B01J37/00 D06P1/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 B01J D06P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	CONYERS S M ET AL: "CHROMOGENIC SUBSTRATES FOR HORSERADISH PEROXIDASE" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 192, 1991, pages 207-211, XP001042397 ISSN: 0003-2697 cité dans la demande le document en entier	1-18
X	EP 1 342 831 A (NOVOZYMES AS ; NOVOZYMES NORTH AMERICA INC (US)) 10 septembre 2003 (2003-09-10) cité dans la demande page 8, ligne 2 - page 9, ligne 42 ----- -/--	1-16

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "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)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou 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
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "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
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

21 septembre 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

30/09/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Bork, A-M

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No
PCT/FR2005/001216

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 504 005 A (PERMA SA) 16 septembre 1992 (1992-09-16) page 1, ligne 1 - page 5, ligne 12; exemple 3	2,6-9, 11-18
A	----- US 5 281 523 A (KOVACH ILDIKO M) 25 janvier 1994 (1994-01-25) page 1, ligne 1 - ligne 65 page 3, ligne 10 - ligne 52 -----	1,2,5

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre II.2

Revendications nos.: -

Les revendications 1 et 10 présentes ont trait à une très grande variété de composés/méthodes. Un fondement au sens de l'Article 6 et 5 PCT ne peut cependant être trouvé que pour un nombre très restreint de ces composés/méthodes revendiqué(e)s. Dans le cas présent, les revendications manquent à un tel point de fondement et l'exposé de l'invention dans la description est si limité qu'une recherche significative couvrant tout le spectre revendiqué est impossible. Par conséquent, la recherche a été limitée aux parties des revendications qui présentent un fondement et un exposé, c'est à dire les parties ayant trait aux systèmes catalytiques de la revendication 1 caractérisés en ce qu'ils comprennent un ou plusieurs catalyseurs d'oxydation comme décrits dans les revendications 2 et 3 et inactivés selon la revendication 4 et un procédé de coloration utilisant ces catalyseurs.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II. Si la demande devait être poursuivie dans la phase régionale devant l'OEB, il est rappelé au déposant qu'une recherche pourrait être effectuée durant la procédure d'examen devant l'OEB (voir Directive OEB C-VI, 8.5) à condition que les problèmes ayant conduit à la déclaration conformément à l'Article 17(2) PCT aient été résolus.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2005/001216

Cadre II Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 2 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☒ Les revendications n^{os} se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
voir FEUILLE ANNEXÉE PCT/ISA/210

3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre III Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 3 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}

4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os}

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem

Internationale No

PCT/FR2005/001216

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1342831	A	10-09-2003	AUCUN	
EP 0504005	A	16-09-1992	AT 121931 T	15-05-1995
			CA 2061826 A1	09-09-1992
			DE 69202290 D1	08-06-1995
			DE 69202290 T2	09-11-1995
			ES 2072720 T3	16-07-1995
			FR 2673534 A1	11-09-1992
			JP 6172145 A	21-06-1994
US 5281523	A	25-01-1994	AUCUN	