

(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
30 juillet 2009 (30.07.2009)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2009/093207 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 31/00 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61K 31/407 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2009/050271

(22) Date de dépôt international :
23 janvier 2009 (23.01.2009)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
08150554.7 23 janvier 2008 (23.01.2008) EP

(71) Déposant et

(72) Inventeur : SAURAT, Jean, Hilaire [FR/CH]; 2, place
Reverdin, CH-1206 Geneve (CH).

(74) Mandataire : SCHULZ, Jean, Alain; Bugnion Sa, 10,
route de Florissant Case postale 375, CH-1211 Geneve 12
(CH).

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

(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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ,
CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(54) Title: COMPOSITION FOR TOPICAL USE

(54) Titre : COMPOSITION A USAGE TOPIQUE

(57) Abstract: The invention relates to the use, as a dermatological or cosmetic drug, of compounds capable of interacting in a transitional manner with the Ah R receptor (Aryl Hydrocarbon Receptor) as agents for modulating skin functions such as the sebaceous function, skin healing, the so-called dermatoporosis skin atrophy, oestrogenic deprivation, and anti-infectious defence, without inducing other toxic effects of the TCDD type. The compounds interacting with the Ah R receptor are selected so as to have a metabolism promoting the dissociation of these effects, in particular due to in situ production from a promoter and/or the in situ modulated metabolism.

(57) Abrégé : Utilisation, en tant que médicament dermatologique ou cosmétique, de composés susceptibles d'interagir de façon transitoire avec le récepteur Ah R (Aryl Hydrocarbon Receptor) en tant qu'agents modulateurs de fonctions cutanées telles que la fonction sébacée, la cicatrisation de la peau, l'atrophie de la peau dite $\leq$ dermatoporse $\geq$, la déprivation oestrogénique, et la défense anti-infectieuse, sans induire d'autres effets toxiques de type TCDD. Les composés interagissant avec le récepteur Ah R sont choisis en ce qu'ils ont un métabolisme favorable à la dissociation de ces effets, en particulier grâce à la production in situ à partir d'un précurseur et/ou la métabolisation modulée in situ.

WO 2009/093207 A1

COMPOSITION A USAGE TOPIQUE

La présente invention concerne une composition à usage topique, destinée au traitement et/ou à la prévention de dysfonctionnements de fonctions cutanées. La présente invention concerne plus spécifiquement une composition pharmaceutique à usage topique, destinée au traitement et/ou à la prévention de dysfonctionnements de la fonction sébacée, de la cicatrisation, de l'atrophie dite « dermatoporse (Ref Dermatology 2007.215. 284-294) », de la déprivation oestrogénique de la peau et de la défense anti-infectieuse.

Il existe déjà des traitements des dysfonctionnements mentionnés ci-dessus, mais qui ne sont toutefois pas exempts de défauts. Ainsi, à titre d'exemples :

- On sait qu'un dérivé de la vitamine A, l'isotrétinoïne (ou acide rétinoïque 13-cis), est actif dans le traitement de maladies telles que l'hyperséborrhée et l'acné en induisant une atrophie des glandes sébacées. Mais cette substance doit être administrée par voie systémique et non par voie topique, car par voie topique elle n'atrophie pas la glande sébacée.
- Pour faciliter la cicatrisation de plaies cutanées, il est connu de protéger les tissus en cours de reconstruction, notamment au moyen de pansements hydrocolloïdes, mais cette technique assure une protection mécanique superficielle sans stimuler spécifiquement les processus intrinsèques de reconstitution des tissus proprement dits, lorsqu'il existe un défaut de production de facteurs de croissance, notamment vasculaires.
- On a proposé de traiter la dermatoporse au moyen de rétinoïdes et de fragments d'acide hyaluronique, mais les premiers peuvent être irritants et les seconds difficiles à préparer dans leurs taille et viscosité optimale.
- Dans le cas de la déprivation oestrogénique de la peau, qui contribue à sa fragilisation et à la dermatoporse, il est connu d'administrer des oestrogènes par voie systémique, ou topique. Mais cet apport d'hormones exogènes présente l'inconvénient de modifier dans son ensemble l'équilibre hormonal du patient et, selon plusieurs publications, d'augmenter le risque d'apparition de certains cancers.
- Pour renforcer les capacités de défense anti-infectieuse en cas d'exposition ou de susceptibilité aux infections cutanées bactériennes, on a déjà proposé l'utilisation

d'antibiotique au long cours, mais cette méthode présente le défaut de sélectionner des souches résistantes et de ne pas augmenter les défenses intrinsèques du sujet.

Il reste donc un besoin non satisfait de développer de nouveaux médicaments contre les dysfonctionnements mentionnés ci-dessus et en particulier des compositions pharmaceutiques à usage topique permettant d'éviter les inconvénients liés à une administration systémique.

Les composés interagissant avec le récepteur AhR (Aryl Hydrocarbon Receptor), dont le prototype est la 2,3,7,8 tetrachloro-dibenzo-p-dioxine (TCDD) sont pour la plupart des xéno-toxiques, induisant différents types de lésions tissulaires et autres manifestations d'intoxication, dépendantes de la dose et de l'espèce. Parmi ces manifestations de l'intoxication à la dioxine, la peau occupe une place majeure, en partie en raison de l'expression notoire du récepteur AhR par les cellules épithéliales et mésenchymales de la peau. C'est pourquoi l'utilisation thérapeutique et/ou préventive de tels composés en tant qu'agents actifs, modulateurs de fonctions cutanées semble à priori exclue.

Lors de l'intoxication humaine par TCDD, un syndrome complexe est observé au niveau de la peau. L'étude approfondie de ce syndrome chez l'homme et chez l'animal d'expérience a conduit le demandeur à observer les mécanismes cellulaires et moléculaires de constitution de ces lésions toxiques. De façon surprenante, le demandeur a découvert certains effets favorables de l'exposition à ces composés toxiques, décrits ci-dessous, et a trouvé des moyens de les obtenir, en l'absence des effets toxiques mentionnés plus haut, pour moduler des fonctions cutanées, en particulier la fonction sébacée, la défense anti-infectieuse, la cicatrisation, l'atrophie de la peau dite « dermatoporose (Ref Dermatology 2007.215. 284-294) », et la déprivation oestrogénique.

En conséquence, l'invention concerne des composés agonistes du récepteur AhR et/ou les protéines impliquées dans ses voies d'activation cellulaires, ces composés agissant dans le cadre de l'invention en tant qu'agents modulateurs de fonctions cutanées, en particulier de la fonction sébacée, de la défense anti-infectieuse, de la cicatrisation, de l'atrophie dite « dermatoporose », et de la déprivation oestrogénique de la peau.

Selon un premier aspect de l'invention, celle-ci a pour objet une composition pharmaceutique à usage topique, destinée à induire de façon transitoire l'activation de récepteurs AhR des

tissus cutanés, ladite composition comprenant une substance active choisie parmi des ligands agonistes métabolisables de AhR, et parmi les précurseurs in situ des dits ligands.

La toxicité de ligands xéno-toxiques de AhR, tels que la TCDD, apparaît essentiellement due au fait que ces substances sont stockées par l'organisme humain, dans les tissus duquel elles présentent des demi-vies prolongées, parfois de l'ordre de 4-12 ans. De ce fait, les molécules de TCDD libérées en permanence des sites de stockage tels que le tissu graisseux vers les tissus cibles exprimant le récepteur AhR, tels que la peau, viennent de façon continue activer la voie de signalisation AhR, ce qui entraîne des effets pathologiques. Ainsi, au contraire de la TCDD, grâce à l'emploi de ligands métabolisables définis de AhR, dont la durée de demi-vie dans l'organisme s'évalue en heures ou en jours, l'activation des AhR cutanés par voie topique résulte seulement en une activation bénéfique de certaines fonctions cutanées, fonctions que l'intoxication à la TCDD a permis d'identifier pour la première fois chez l'homme.

Dans cette optique, la substance active peut être choisie parmi les ligands endogènes de AhR : le demandeur estime qu'il existe très probablement des ligands endogènes, ou exogènes notamment environnementaux, qui assurent une fonction physiologique de la voie de signalisation AhR. Ces ligands ont par essence une durée de vie courte.

Ainsi, selon un 2^{ème} aspect de l'invention, celle-ci a pour objet une composition à usage topique, destinée à induire de façon transitoire l'activation de récepteurs AhR des tissus cutanés, la dite composition comprenant une substance active choisie parmi les ligands agonistes de AhR à demi-vie courte et les précurseurs in situ des dits ligands.

Les ligands mis en œuvre dans le cadre de la présente invention ont de préférence des durées de demi-vie dans l'organisme humain compris entre 2 et 96 heures et, plus spécifiquement, et selon l'application, entre 6 et 24 heures.

La présente invention est donc totalement distincte, et même antinomique, de certaines inventions de l'art antérieur qui ont proposé l'utilisation de ligands antagonistes du récepteur AhR, en vue d'empêcher une expression génique du type de celles susceptibles d'être induites par une exposition à la TCDD et autres ligands xéno-toxiques de AhR. Ces inventions, décrites notamment dans les documents WO2004/041758, WO2007/060256 et

WO2007/128725, étaient basées sur des extrapolations tirées d'expériences in vitro et sur le postulat que l'activation de la voie AhR serait par définition néfaste. Au contraire, le demandeur a constaté que l'activation chez l'homme et l'animal d'expérience de la voie AhR peut avoir des effets favorables pour le traitement de maladies telles que les anomalies de la fonction sébacée, de la cicatrisation, de l'atrophie dite « dermatoporose », de la défense anti-infectieuse, et de la déprivation oestrogénique de la peau.

Les ligands selon l'invention sont choisis en ce qu'ils remplissent de préférence quatre critères :

1. Une capacité de d'activation du récepteur AhR.
2. Une capacité de modulation d'un gène spécifique régulé par AhR.
3. Une demi-vie dans l'organisme humain courte, comprise de préférence entre 2 heures et 96 h, et, plus spécifiquement, et selon l'application, entre 6 et 24 heures.
4. De préférence, un effet positif mesurable sur un critère reconnu d'hyperactivité sébacée, de cicatrisation des plaies, de dermatoporose, de colonisation bactérienne de la peau, et/ou de déprivation oestrogénique.

Le gène modulé peut notamment être le gène CYP 1A1. Ce gène modulé peut aussi être l'un des nombreux gènes décrits dans la présente demande comme modulés par l'exposition à la TCDD et dont le promoteur exprime un site de liaison à AhR. Le demandeur considère que la modulation du gène de CYP1A1 est proposée comme un paradigme basé sur les observations et connaissances actuelles ; ainsi il n'exclut pas que les effets recherchés soient obtenus par des ligands de AhR n'ayant pas comme effet prédominant d'activer l'expression de CYP1A1. Le demandeur considère d'autre part que la durée de vie devrait être un élément déterminant dans la dissociation effets bénéfiques/effets toxiques en induisant une activation transitoire de AhR. Le demandeur, cependant, n'exclut pas que certains ligands dont la demi-vie s'écarterait des valeurs numériques indiquées ci-dessus puissent être doués de cette propriété de dissociation effets bénéfiques/effets toxiques. En effet la durée d'activation du récepteur AhR

dans la peau pourrait ne pas dépendre exclusivement de la demi-vie du ligand dans l'organisme.

D'une façon générale la dissociation entre effet bénéfique selon l'invention et effets toxiques est obtenue en stimulant le récepteur AhR d'une façon modulée et transitoire, c'est à dire proche de l'action physiologique des ligands endo/exogènes naturels non toxiques. Cette dissociation peut aussi être obtenue par la formation d'un ligand in situ à partir d'un précurseur administré par voie topique. Ladite substance active peut être un précurseur choisi parmi les proligands métaboliques de ligands de AhR. Ladite substance active peut également être un précurseur activable en ligand de AhR sous l'effet soit d'un agent physique, en particulier sous l'effet d'un rayonnement UV, soit de tout autre processus biologique, tel que l'activation métabolique au sein d'un tissu cutané par la flore saprophyte ou pathogène.

L'invention sera mieux comprise de l'homme du métier grâce à la description ci après de plusieurs applications spécifiques, en se référant aux exemples correspondants et aux figures accompagnantes, dans lesquelles

- La figure 1 montre la disparition des glandes sébacées par l'exposition à des doses toxiques de TCDD par voie orale chez l'homme ;
- La figure 2 illustre la reproduction de ce phénomène de disparition des glandes sébacées par l'application topique de TCDD chez la souris : La figure 2 montre la disparition des glandes sébacées de la peau des oreilles de souris C57BL/6 traitées une fois par jour pendant 45j par TCDD 2mcg/ml (photo du bas) comparée au contrôle (photo du haut) .
- La figure 3 illustre la réduction des glandes sébacées par application topique de 4 ligands selon l'invention : La figure 3 montre la réduction de la surface des glandes sébacées dans les oreilles de souris C57BL/6 traitées une fois par jour pendant 45j par différents ligands selon invention.
- La figure 4 montre l'inhibition majeure de l'expression génique des enzymes clés de la lipogenèse sébacée chez l'homme exposé à la TCDD par l'analyse du transcriptome entier (Affymetrix) dans la peau humaine exposée à la TCDD : Des gènes des enzymes de la lipo/sebogénèse sont fortement sous exprimés. L'annexe à la figure 4 est un tableau qui donne les symboles des gènes dont l'expression est fortement réprimée par rapport aux contrôles dans la peau humaine exposée à la TCDD.

- Les figures 5 et 6 montrent les temps de cicatrisation de plaies superficielles en l'absence et en cas d'exposition à la TCDD chez l'homme. La figure 5 montre le pourcentage de surface cicatrisée en fonction du temps de 4 dermabrasions en cas de présence de TCDD dans la peau en comparaison avec 4 contrôles (C1 –C4).
La figure 6 montre les valeurs moyennes calculées à partir des données de la figure 5. Ainsi le temps de cicatrisation complète est ramené de 9.3 (barres grises) à 5 jours (barres noires).
- La figure 7 montre les temps de cicatrisation de plaies expérimentales dans une culture de kératinocytes humains in vitro, traitées par TCDD et par des ligands selon l'invention.
- La figure 8 montre l'expression des ARN messagers de facteurs de croissance et de leurs récepteurs de peau humaine exposée à la TCDD in vivo.
- La figure 9 montre la cicatrisation d'une plaie chronique humaine sur laquelle on a appliqué pendant 10 jours une solution de Trp générant une activation AhR selon l'invention. On note la contraction de la plaie chronique ; les flèches montrent le développement d'une cicatrisation épithéliale avec des languettes de kératinocytes migrant depuis les bords.
- La figure 10a montre l'induction dans la peau d'ARN messagers de récepteurs oestrogéniques et de l'aromatase par l'exposition à la TCDD chez un homme.
La fig 10b montre la forte expression ectopique et focale de la protéine du récepteur ER alpha dans les structures pilosébacées sur un spécimen de la peau d'un sujet exposé à la TCDD.
- La figure 11 montre la concentration de l'oestradiol (E2) dans la peau humaine exposée au TCDD, déterminée par Elisa sur fragments de peau humaine.
- La figure 12 montre la diminution de la colonisation par le staphylocoque sp. de la peau humaine exposée au TCDD (données sur quatre mois).
- La figure 13 montre la diminution de la colonisation de la peau du visage humain par le propionebacterium acnes de la peau exposée au TCDD (données sur quatre mois).
- Les figure 14 et 15 montrent les valeurs d'activation du récepteur AhR dans deux types cellulaires par différents produits dans le but d'identifier des substances actives activant le AhR mais dont la demi-vie est courte. La figure 14 montre la AhR activation des cellules HEP G 2 par différents ligands selon invention. Les valeurs représentent le pourcentage d'activation par rapport à celle obtenue avec la TCDD

0.01 μ M, par la concentration en μ M la plus active dans la gamme testée pour chaque substance. La figure 15 montre l'activation AhR des kératinocytes par différents ligands selon invention. Les valeurs représentent le pourcentage d'activation par rapport à celle obtenue avec la TCDD 0.01 μ M, par la concentration en μ M la plus active dans la gamme testée pour chaque substance.

- La figure 16 montre l'activation de AhR par différents extraits de bactéries communes de la peau humaine en présence de tryptophane.
- La figure 17 montre l'induction d'une activité biologique spécifique, CYP1A1 par des ligands activant le AhR, selon invention. Les tests sont réalisés en utilisant le kit « P450-GLO assay » de Promega.

En ce qui concerne les glandes sébacées, l'effet utile de la TCDD, au sens de la présente invention, est la diminution progressive de la taille des glandes, ainsi que la diminution de l'expression des gènes des enzymes clés de la lipogenèse sébacée.

Cette diminution est observée chez l'homme au plan morphologique (histologie) après un délai de 2 à 4 semaines après exposition et devient complète vers la 8^{ème} semaine (fig 1). Les données comparatives concernant la peau humaine normale présentées sur la figure 1 ont été publiées par Montagna (1963).

On observe une expression forte et focale de l'enzyme CYP1A1 (mRNA et immunohistochimie) au niveau des glandes sébacées, puis de leur métaplasie hamartomateuse en MADISH. Ceci indique une forte activation AhR dépendante au niveau des glandes sébacées et démontre pour la première fois que cet organe est une cible AhR dépendante, donc qui peut être modulée par des agonistes de ce récepteur. Cet effet n'est pas observé sur les autres structures cutanées (poils, glandes sudorales, différenciation de l'épiderme), ce qui a conduit le demandeur à considérer que l'effet sur la glande sébacée résulte d'une inhibition de la différenciation de la cellule souche sébacée par la voie TCDD/AhR. Ainsi notre analyse du transcriptome de la peau humaine exposée à la TCDD indique que la cible moléculaire en aval de la voie TCDD/AhR/ pourrait être analogue humain de blimt, (un facteur de transcription murin qui assure la promotion de la cellule souche sébacée (Cell 126, 597–609, 2006) .

Il en résulte ainsi une diminution très importante des enzymes de la lipogenèse sébacée comme en témoigne l'analyse du transcriptome de la peau humaine exposée à la TCDD (figure 4).

On doit souligner également que l'immunohistochimie peau humaine exposée à la TCDD révèle une expression forte et focale des récepteurs des oestrogènes au niveau des glandes sébacées (fig 10b).

Ces données ont conduit le demandeur à concevoir une nouvelle approche pour la modulation des hypertrophies sébacées. Cette approche comporte l'activation de voies AhR dépendantes au niveau des glandes sébacées par des agonistes de ce récepteur. Elle implique l'inhibition des facteurs de différenciation de la cellule souche sébacée et de la prolifération des sébocytes, l'inhibition des enzymes de la lipogenèse sébacée, ainsi que la stimulation locale des voies de production des oestrogènes et la surexpression locale des récepteurs oestrogéniques.

Cet effet de diminution progressive de la taille des glandes sébacées peut être reproduit chez l'animal par application topique de TCDD. Cet effet est spécifique car il n'y a pas chez l'homme d'atrophie des autres structures annexielles telles que poils et glandes sudorales. Ainsi la présente invention utilise l'effet d'inhibition spécifique de la glande sébacée par un ligand de AhR pour la prévention et le traitement des maladies comportant une hypertrophie de ces glandes, telles que l'hyperséborrhée et l'acné, en induisant une atrophie des glandes sébacées. Cette invention offre pour cette application un spectre d'activité potentiellement identique à celui de l'isotrétinoïne orale, mais par voie topique. L'invention identifie aussi les enzymes clés de la lipogenèse sébacée ainsi que les facteurs qui assurent la promotion de la cellule souche sébacée comme une cible des activateurs de AhR, mais aussi potentiellement d'autres modulateurs chimiques pouvant avoir une application thérapeutique. Il est également envisagé une application thérapeutique contre les tumeurs des glandes sébacées et leurs analogues, tels que les carcinomes à différenciation sébacée du syndrome de Muir-Torre.

Les ligands AhR utilisés pour reproduire cet effet, sont choisis sur la base d'une réduction d'au moins 40% de la taille et du nombre des glandes sébacées, sans induire de signes toxiques ainsi qu'une réduction de l'expression des enzymes clés de la lipogenèse sébacée.

Les moyens pour obtenir l'effet sur les glandes sébacées sans induire d'autres effets toxiques de type TCDD, notamment la formation des structures hamartomateuses (Metabolizing Acquired Dioxin Induced Skin Hamartomas, MADISH), consistent en l'utilisation de composés interagissant transitoirement avec le récepteur AhR, de sorte que la cinétique soit favorable à cette dissociation temporelle entre effet favorable et effets toxiques.

En ce qui concerne la cicatrisation et l'atrophie de la peau dite « dermatoporose (Ref Dermatology 2007.215. 284-294) » l'effet utile de la TCDD constaté par le demandeur se

manifeste par une impressionnante rapidité de cicatrisation des plaies. Ainsi, le demandeur a observé que des plaies épidermo-dermiques dont le temps de cicatrisation moyen est ordinairement de 10 jours, étaient recouvertes en 3 jours. Cet effet est en rapport avec l'induction par la TCDD de plusieurs facteurs de croissance (Vascular Endothelial Growth Factor VEGF, Amphireguline TGF β , PDGF, IGF hepatocyte growth factor heparopoietin A; scatter factor) ainsi que de leurs récepteurs, ainsi que de la thrombospondine 1. Ces données ont été obtenues par l'analyse du transcriptome entier (Affymetrix) dans plusieurs échantillons de peau d'un homme exposé à la TCDD en comparaison de contrôles humains. L'effet de la TCDD est encore caractérisé par une très importante accumulation de hyaluronate dans le derme, parallèle à l'hyper-expression des hyaluronate-synthases.

Un objet de l'invention est donc une composition pharmaceutique administrable par voie topique destinée à traiter et prévenir les troubles et retards de la cicatrisation cutanée notamment liés à la dermatoporse, cette composition comprenant au moins un composé interagissant en tant qu'agoniste avec le récepteur AhR. Les moyens pour obtenir l'effet désiré sans induire d'autres effets toxiques de type TCDD consistent en l'utilisation de composés dont la cinétique d'interaction avec le récepteur AhR soit favorable à cette dissociation: l'invention propose en particulier la production in situ à partir d'un précurseur tel que le tryptophane (Trp) ou un dérivé de Trp, administré dans un véhicule pharmaceutique permettant la biodisponibilité transcutanée, suivi d'une exposition à un rayonnement UV, ou encore l'application dans une plaie chronique de Trp dans un véhicule adéquat, permettant la génération in situ par le milieu de ligand de AhR selon l'exemple montré figures 7,9,14-17, l'interaction avec le récepteur AhR étant limitée par la métabolisation in situ par des enzymes de phase 1.

Un autre objet de l'invention est donc une composition pharmaceutique administrable par voie topique destinée à traiter et prévenir l'atrophie cutanée dite dermatoporse (Ref Dermatology 2007.215. 284-294), qui est caractérisée par une déplétion de hyaluronate conduisant à une perte de la viscoélasticité de la peau, cette composition comprenant au moins un composé interagissant en tant qu'agoniste avec le récepteur AhR, ou d'un précurseur de celui-ci, du type décrit ci-dessus.

En ce qui concerne la déprivation oestrogénique, l'effet utile de la TCDD se manifeste par une activation des voies de production des oestrogènes ainsi que par une surexpression des

récepteurs oestrogéniques. Les oestrogènes sont des hormones endogènes très importantes dans de nombreuses fonctions cutanées; la déprivation oestrogénique entraîne des troubles de chacune de ces fonctions. Elle est notamment un facteur impliqué dans la dermatoporose. On sait d'autre part que l'administration locale d'oestrogènes est un moyen classique, mais non dénué de risques, pour lutter contre les états hyperséborrhéiques et l'alopecie androgénogénétique. L'exposition à la TCDD entraîne dans la peau une forte expression des gènes des récepteurs des oestrogènes et de l'enzyme aromatase (fig 10), ainsi qu'une augmentation de l'estradiol cutané. (fig.11). L'immunohistochimie de ces spécimens révèle une expression forte et très focale des récepteurs au niveau des structures pilosébacées. Ainsi le demandeur a identifié pour la première fois l'induction locale par la TCDD d'un état d'hyperestrogénie focalisé sur une structure cutanée dont on sait qu'elle est hormonodépendante. Il est très probable que ceci contribue à la diminution de la taille des glandes sébacées .

Un objet de l'invention est donc une composition pharmaceutique administrable par voie topique destinée à traiter et prévenir les troubles des fonctions cutanées liés à une déprivation oestrogénique, cette composition comprenant au moins un composé interagissant en tant qu'agoniste avec le récepteur AhR. Les moyens pour obtenir l'effet désiré sur l'expression d'oestrogènes sans induire d'autres effets toxiques de type TCDD consistent en l'utilisation de composés dont la cinétique d'interaction avec le récepteur AhR soit favorable à cette dissociation : L'invention propose en particulier la production in situ à partir d'un précurseur tel que le tryptophane ou un dérivé de Trp, administré dans un véhicule pharmaceutique permettant la pénétration transcutanée, suivi d'une exposition à un rayonnement UV, l'interaction avec le récepteur AhR étant limitée par la métabolisation in situ par des enzymes de phase 1.

En ce qui concerne la défense anti-infectieuse, l'effet utile de la TCDD constaté par le demandeur se manifeste par une résistance marquée aux infections cutanées. Cette résistance coïncide avec une stabilisation permanente de la flore de surface au bénéfice d'espèces saprophytes non pathogènes. Cette résistance se traduit par l'absence de surinfection par des germes pathogènes. Elle est parallèle et probablement liée en partie à une surexpression de défensines, dont la bêta défensine. Elle est aussi parallèle et sans doute liée au moins en partie à une surexpression de filaggrine. Les deux observations ayant une implication thérapeutique

sont d'une part la réduction de la colonisation staphylococcique, et d'autre part la réduction de la colonisation par le *P. acnes*.

Un objet de l'invention est donc une composition pharmaceutique administrable par voie topique destinée à traiter et prévenir les effets de infections cutanées bactériennes notamment chez les sujets porteurs d'une forte susceptibilité, ainsi que d'autres situations de portage chronique, cette composition comprenant au moins un composé interagissant en tant qu'agoniste avec le récepteur AhR. Les moyens pour obtenir l'effet désiré sur les infections cutanées sans induire d'autres effets toxiques de type TCDD consistent en l'utilisation de composés dont la cinétique d'interaction avec le récepteur AhR soit favorable à cette dissociation : l'invention propose en particulier la production in situ à partir d'un précurseur tel que le tryptophane ou un dérivé de Trp, administré dans un véhicule pharmaceutique permettant la pénétration transcutanée, suivi d'une exposition à un rayonnement UV, ou encore la génération in situ par le milieu de ligand de AhR selon l'exemple montré figures 7, 9, 14-17. On notera en particulier que certaines souches saprophytes et pathogènes de la surface cutanée génèrent une activation de AhR qui est potentialisée par la présence de tryptophane (fig.16)

Parmi les composés qui se lient à AhR et sont susceptibles de produire les effets selon l'invention on peut citer, à titre d'exemples non limitatifs :

- Flavonoïdes

- Flavanols avec substituants alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 4 à 6 et 3' à 5'

- Flavanones avec substituants alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 5, 6 et 3' à 5'

- Flavones avec substituants alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 3, 5, 6 et 3' à 5'

- Flavonols avec substituants alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 5, 6 et 3' à 5'

- Isoflavones avec substituants alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 5, 6 et 3' à 5'

- Anthocyanidines avec substituants alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 4 à 6 et 3' à 5'

Gallate d'épigallocatechine; esterification en l'une ou l'autre des positions 5, 7, 3' à 5', 3'' à 5'' avec acides gras ou acide rétinoïque

- Stilbènes

cis-Stilbènes avec substituants hydroxyle, alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 1 à 5 et 1' à 5'

trans-Stilbènes avec substituants hydroxyle, alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle en positions 1 à 5 et 1' à 5'

- Dérivés du tryptophane

Indole-3-carbinol; dérivés alkyle, alkényle, alcoxyle ou carboxyle sur le groupe hydroxyle

Tryptamine

Kynurénine et ester du groupe carboxylique avec rétinol

Acide indole acétique et ester du groupe carboxylique avec rétinol

Acide indole pyruvique et ester du groupe carboxylique avec rétinol

6-Formylindolo[3,2-b]carbazole et dérivés alkyle ou alkényle du groupe formyle

3,3'-diindolylméthane

Trythantrine

Malassézine

Indirubine

Indigo

- Autres ligands

ITE [2-(1'h-indole-3'-carbonyl)-thiazole-4-carboxylate de méthyle] (endogène, voir US 20020183524)

YH439{(Isopropyl-2-(1,3-dithioethane-2-ylidene)-2-[N-(4-methylthiazol-2-yl) carbamoyl] acetate}

a-Naphthoflavone

b-Naphthoflavone

Hispidine

Carvédilol

Rutaecarpine

β -Carboline 3-carboxylate d'éthyle

Esoméprazole

Métabolites d'acides gras, notamment d'arachidonate

Les ligands sont choisis en ce qu'ils remplissent de préférence quatre critères :

1. Une capacité de d'activation du récepteur AhR, comme montré dans les figures 14, 15, et 16 sur deux systèmes cellulaires.
2. Une capacité de modulation d'un gène régulé par AhR, par exemple CYP 1A1 ce qui est montré dans la figure 17.
3. Une demi-vie dans l'organisme humain courte comprise de préférence entre 2 heures et 96 h, et, plus spécifiquement, et selon l'application, entre 6 et 24 heures.
4. Un effet positif mesurable sur un critère reconnu d'hyperactivité sébacée, de cicatrisation des plaies et de dermatoporose, de colonisation bactérienne de la peau, et/ou de déprivation oestrogénique selon, mais non exclusivement, les exemples présentés ici pour chacun de ces effets.

Parmi les ligands de AhR préférés, on peut citer :

- Flavonoïdes
 - a. Catéchine
 - b. Apigénine
 - c. 3-Gallate d'épigallocatechine
 - d. Quercétine
 - e. Silibinine
- Stilbènes et dérivés
 - f. Resvératrol
 - g. Yangonine
- Tryptophane et dérivés du tryptophane
 - h. Indole-3-carbinol
 - i. Tryptamine
 - j. Kynurénine

- k. 6-Formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ) illustrée dans figures 3 14 15 et dérivés alkyle ou alkényle du groupe formyle
- l. 3,3'-diindolylméthane
- m. Trythantrine
- n. Malassézine
- o. Indirubine
- p. Indigo
- Autres ligands
 - q. ITE [2-(1'h-indole-3'-carbonyl)-thiazole-4-carboxylate de méthyle] (endogène, voir US 20020183524)
 - r. YH439{(Isopropyl-2-(1,3-dithioethane-2-ylidene)-2-[N-(4-methylthiazol-2-yl) carbamoyl] acetate)}
 - s. Hispidine, illustrée dans figures 3 14 15
 - t. alpha-Naphthoflavone
 - u. bêta-Naphthoflavone
 - v. Ellipticine
 - w. Carvédilol illustré dans figures 14, 15, 17
 - x. Triclabendazole
 - y. Rutaecarpine illustrée dans figures 3, 14,15,16,17
 - z. β -Carboline 3-carboxylate d'éthyle (B-CCE) illustrée dans figures 3, 14,15,16,17
 - aa. Esoméprazole illustré dans figures 14, 15.

Les méthodes pour délivrer le ligand du récepteur AhR dans les condition optimales pour l'effet désiré comportent

- a. L'application directe du ligand actif dans un véhicule galénique approprié tel que lotion, gel, crème, pommade, mousse, pansement imprégné.
- b. L'application topique, dans un véhicule galénique approprié, d'un proligand, qui sera métabolisé en ligand par les enzymes épidermiques.
- c. L'application d'un proligand à la surface de la peau à traiter, qui sera activé en ligand par l'effet d'un agent physique tel que les UV ; par exemple Tryptophane et UVB ou

UVA éventuellement en association avec de la Riboflavine ; ou encore selon l'indication, par les agents endogènes ou exogènes présents dans la maladie traitée : à titre d'exemple, activation de ligand de AhR dans le fluide d'une plaie chronique traitée par tryptophane, ou par le *Propionibacterium acné* sur le visage séborrhéique/acnéique traité par tryptophane (fig. 7,9, 14 ,15, &16).

Exemple 1 : Glandes sébacées

Les glandes sébacées en grand nombre dans la peau humaine normale disparaissent lors de l'exposition à des doses toxiques de TCDD. La figure 1 montre le nombre de glandes sébacées par centimètre carré sur différentes zones du corps humain, qui se distribue de 50 à 900 selon les zones et les sujets. Ainsi sur le visage d'un adulte, le nombre est compris entre 400 et 900 / cm² .

La figure 1 montre que lors de l'exposition à TCDD les glandes sébacées disparaissent dans toutes les zones étudiées. Pour chaque site, 3 à 10 biopsies de la peau ont été analysées après fixation au formol et coloration par hématoxyline-éosine. Au moins 10 sections par bloc ont été analysées. Sur un total de 62 biopsies, totalisant 620 sections, aucune glande sébacée n'a pu être observée, alors que les glandes sudorales ainsi que les poils étaient en nombre et structure conservée. Ces données ont été obtenues sur des spécimens de peau humaine contenant de 930 à 2900 ppt de TCDD mesurée par chromatographie gazeuse/spectrographie de masse.

L'effet sur les glandes sébacées peut être reproduit chez l'animal par l'application topique de TCDD. On peut observer une réduction de 95 % du nombre des glandes sébacées chez des souris C57BL/6 après 45 jours d'application de TCDD 2 mcg/ml (fig 2).

Pour reproduire l'effet utile du TCDD, dans une approche de réduction thérapeutique on peut étudier la réduction de la surface des glandes sébacées dans les oreilles de souris C57BL/6 traitées une fois par jour pendant 45j par différents ligands selon invention. On mesure la surface des glandes sébacées sur trois coupes sériées par animal. Une réduction supérieure à 40% est recherchée, et obtenue ici avec une concentration, une durée de traitement et une fréquence d'applications considérées comme minimales. L'isotrétinoïne est montrée à titre d'exemple d'un produit utilisé pour le traitement topique et systémique de l'acné.

L'application un ligand de AhR tel que le 6-Formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ) par voie topique à une concentration de 100 mcg/ml permet d'obtenir une diminution significative des

glandes sébacées de l'ordre de 40%. D'autres ligands selon invention (voir fig 14, 15 & 17) entraînent également une diminution de la surface des glandes sébacées dans Les données indiquent que les doses optimales pour une réduction supérieure à 40% peuvent être au delà des concentrations, de la durée et de la fréquence d'application montrées dans la fig 3 et illustrent le concept de l'invention.

La figure 16 montre l'activation de AhR des cellules HEP G 2 par différents extraits de bactéries communes de la peau humaine en présence de tryptophane (trp) F1 : flore G+ F2 : flore G+ PA : P. acnes SE : S. epidermidis. La valeur d'activation 25.00 en ordonnées correspond à 1/6 de la stimulation AhR par TCDD 10nM dans ce même système (157.00). On voit que notamment avec P. acnes on observe une augmentation de l'activation avec l'adjonction de tryptophane (trp). Ces observations illustrent le mode d'activation de AhR par le tryptophane en partie par interaction avec la flore de surface.

L'effet montré figure 16, où l'on voit que le *Propionibacterium Acnes* (PA) génère une activation d'AhR, laquelle est très accentuée par l'addition de tryptophane, peut être mis à profit dans le cadre de cette invention. En effet le PA est l'un des acteurs clé des maladies des glandes sébacées, et il est présent en grandes quantités au niveau de la peau du visage. Il pourrait donc contribuer à produire des quantités thérapeutiques de ligands AhR en présence de tryptophane, ou aussi d'autres acides aminés aromatiques tels que tyrosine et phénylalanine. Pour explorer la pertinence de cette approche, le demandeur a pratiqué un essai en appliquant un gel à 1% de tryptophane sur le visage chez deux hommes hyperséborrhéiques pendant 3 semaines et a observé une diminution de la séborrhée qui a pu être évaluée à 40% de la valeur de départ par sébumétrie « casual level ».

La figure 4 montre la réduction importante des ARN messagers de plusieurs enzymes de la lipogénèse sébacée dans la peau humaine exposée à la TCDD. Cette observation identifie une cible nouvelle des médicaments visant à moduler la fonction sébacée, concept exemplifié ici par l'activation de AhR.

Exemple 2 : Cicatrisation et atrophie cutanée

Le temps de cicatrisation de plaies epidermo-dermiques superficielles (dermabrasion) est considérablement diminué par le TCDD. La figure 5 montre le pourcentage de surface cicatrisée en fonction du temps de 4 dermabrasions en cas de présence de TCDD dans la peau

(TCDD1-4, 930 à 2900 ppt TCDD mesurée par chromatographie gazeuse/spectrographie de masse) en comparaison avec 4 contrôles (C1 –C4). La figure 6 montre les valeurs moyennes calculées à partir des données de la figure 5. Ainsi le temps de cicatrisation complète est ramené de 9.3 à 5 jours.

La figure 7 montre dans un modèle de cicatrisation de plaie in vitro sur culture de kératinocytes humains que la brèche dans la culture est réparée par TCDD et par des substances actives selon l'invention dans des proportions similaires à ce qui est observé après application de facteurs de croissance. La plaie est induite par une incision avec une pointe jaune de micropipette (10-200 µl). Index de migration = valeur obtenue avec le ligand / celle du contrôle sans ligand. Ces résultats indiquent une forte stimulation de la cicatrisation par la TCDD à des concentrations nM, et par FICZ et tryptophane à des concentrations µM. Ceci indique une activité de la voie d'activation AhR sur la migration des kératinocytes qui est retrouvée in vivo chez l'homme (figures.5, 6, 10).

Aux concentrations les plus fortes on observe une diminution de l'effet, voire une inhibition de la cicatrisation avec la TCDD et le FICZ. Le tryptophane (Trp) génère dans les conditions de cette culture une activité de liaison et d'activation d'AhR (voir aussi figures 14 & 15 & 16).

L'expression des ARN messagers des facteurs de croissance endothéliale et vasculaire (VEGF) et de leurs récepteurs est augmentée dans la peau exposée au TCDD. La figure 8 montre le rapport (RT PCR) sur fragments de peau humaine contenant 1800 ppt de TCDD, mesurée par chromatographie gazeuse/spectrographie de masse, en comparaison avec les contrôles.

La contraction de plaies chroniques et le développement d'une cicatrisation épithéliale avec des languettes de kératinocytes a été observée après application d'un gel de tryptophane générant dans la plaie des facteurs susceptibles d'activer AhR (Figs. 15-16). On note aussi l'épaississement de la peau dermatoporotique autour de la plaie qui, de l'avis des spécialistes, revêt un aspect moins atrophique et plus jeune. La figure 9 est représentative d'une série de 10 cas de plaies chroniques sur jambes dermatoporotiques.

Exemple 3: Effet oestrogénique

L'expression des ARN messagers des différents récepteurs oestrogéniques ESRR et ER, de la ligase estrogen responsive finger protein (EFP), et de l'enzyme aromatase productrice

d'oestrogènes sont augmentée dans la peau exposée au TCDD. La figure 10a montre les rapports RT PCR sur fragments de peau humaine contenant 1800 ppt de TCDD mesurée par chromatographie gazeuse/spectrographie de masse) en comparaison avec les contrôles : l'exposition d'un homme à des doses importantes de TCDD augmente significativement dans la peau l'expression d'ARN messagers de récepteurs oestrogéniques et de protéines associées, ainsi que de l'aromatase, correspondant ainsi à un état d'hyperoestrogenie. La figure 10b montre que dans ces fragments de peau se produit une forte expression ectopique et focale de la protéine du récepteur ER alpha dans les structures pilosébacées ce qui indique que l'induction locale par la TCDD d'un état d'hyperestrogénie est focalisé sur une structure cutanée dont on sait qu'elle est hormonodépendante. L'immunohistochimie révèle une expression forte et très focale du récepteur des estrogènes alpha ER α au niveau des structures pilosébacées.

La figure 11 montre l'augmentation de la concentration de l'oestradiol (E2) dans la peau humaine exposée au TCDD, déterminée par Elisa sur fragments de peau humaine contenant 1800 ppt de TCDD, (mesurée par chromatographie gazeuse/spectrographie de masse) en comparaison avec les contrôles (f<40 femmes de moins de 40 ans ; f>40 femmes de plus de 40 ans, Mâles de 50 ans). Ces résultats démontrent pour la première fois chez l'homme l'induction locale par la TCDD d'un état d'hyperestrogénie focalisé sur une structure cutanée dont on sait qu'elle est hormonodépendante.

Exemple 4 : Défense anti-infectieuse

Comme le montre la figure 12, la colonisation de la peau humaine par le staphylocoque sp (nombre de CFU, colony forming units, par cm²) est très fortement diminuée en cas d'exposition à TCDD. Cette figure montre les valeurs obtenues sur 4 prélèvements à 1 mois d'intervalle chez un sujet humain exprimant plus de 900 ppt de TCDD dans la peau, mesurée par chromatographie gazeuse/spectrographie de masse. Le même effet est observé sur la colonisation par p-acnes, et illustré par la figure 13.

Exemple 5 : Méthodes in vitro pour identifier des ligands selon invention :

- Tests d'activation de AhR

Les figures 14,15 & 16 montrent l'activation de AhR dans des cellules HEP G2 et des keratinocytes humains normaux (NHK) stablement transfectés par le lentivecteur plox-XRE TATA-Luc.

Les cellules HepG2 sont cultivées dans du DMEM (Gibco) +10% Fetal Bovine Serum + Pénicilline + Streptomycine, les NHK dans du milieu keratinocytes SFM (Gibco) + Pénicilline + Streptomycine. A J0, les cellules HepG2 sontensemencées dans des plaques de 12 puits à raison d'environ 30 000 cellules/cm². Les NHK sontensemencées dans des plaques de 6 puits à raison d'environ 15 000 cellules/cm². Après 24h le milieu est remplacé par du milieu frais et les cellules sont transduites par le lentivecteur plox-XRE TATA-Luc. Après 48h les cellules sont d'une part repiquées et maintenues en culture et d'autre part testés pour leur réactivité au TCDD.

Les tests sont réalisés en utilisant le kit « luciferase reporter assay system » de Promega. A J0 les cellules sontensemencées à une densité d'environ 60% de confluence, puis traitées à J1 avec la substance à tester diluée à différentes concentrations dans le milieu de culture approprié. A J2 les cellules sont lysées dans le tampon CLB, le lysat est clarifié par une centrifugation de 5' à 10 000 x g. L'activité luciférase est mesurée dans 20 microlitres de lysat comme recommandé par le fournisseur en utilisant le luminomètre luminoskan (Thermo). Après un traitement de 24h avec 10 nM de TCDD il est observé une induction de 100 fois de l'activité luciférase dans les cellules HepG2-plox-XRE TATA-Luc et de 10 fois dans les cellules NHK -plox-XRE TATA-Luc.

La figure 14 montre l'activation AhR des cellules HEP G 2 par différents ligands selon invention. Les valeurs représentent le pourcentage d'activation par rapport à celle obtenue avec la TCDD 0.01μM, par la concentration en μM la plus active dans la gamme testée pour chaque substance. On constate que β-carboline 3-carboxylate d'éthyle (B-CCE), tryptophane, rutaecarpine, hispidine et FICZ présentent les activités les plus importantes.

La figure 15 montre, avec la même représentation, l'activité des mêmes ligands sur des keratinocytes humains normaux. On constate des résultats similaires.

- Test de potentialisation par flore bactérienne

La figure 16 montre l'activation de AhR des cellules HEP G 2 par différents extraits de bactéries communes de la peau humaine en présence de tryptophane (trp) F1 : flore G+ F2 : flore G+ PA : P. acnes SE : S. epidermidis. La valeur d'activation 25.00 en ordonnées correspond à 1/6 de la stimulation AhR par TCDD 10nM dans ce même système (157.00). On voit que notamment avec P. acnes on observe une augmentation de l'activation avec l'adjonction de tryptophane. Ces observations illustrent le concept d'activation de AhR par le tryptophane, en partie par interaction avec la flore de surface.

- Test de l'activité CYP1A1

Les tests sont réalisés en utilisant le kit « P450-GLO assay » de Promega. A J0 les cellules sontensemencées à une densité d'environ 60% de confluence, puis traitées à J1 avec la substance test diluée à différentes concentrations dans le milieu de culture approprié. A J2 l'activité Cyp 1A1 est mesurée comme recommandé par le fournisseur en utilisant le protocole non lytique sur monocouche cellulaire. Après traitement de 24h avec 10 nM de TCDD il a été observé une induction de 250 fois de l'activité Cyp 1A1 dans les cellules HepG2 et de 20 fois dans les cellules NHK, comme le montre la figure 17. La figure 17 montre de même l'induction de cette activité biologique AhR dépendante par des ligands selon invention, carvédilol, B-CCE et rutaecarpine.

Comme le constatera l'homme du métier, les résultats de tests exposés ci-dessus illustrent une méthodologie de sélection de molécules candidates à une utilisation pour la fabrication d'une composition selon l'invention.

REVENDICATIONS

1. Composition à usage topique, destinée à induire de façon transitoire l'activation de récepteurs AhR des tissus cutanés, la dite composition comprenant une substance active choisie parmi les ligands agonistes de AhR à demi-vie courte et les précurseurs in situ des dits ligands.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite substance active est choisie parmi les ligands endogènes de AhR.
3. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite substance active est un précurseur choisi parmi les prolignands métaboliques desdits ligands de AhR.
4. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite substance active est un précurseur activable en ligand de AhR sous l'effet d'un agent physique, en particulier sous l'effet d'un rayonnement UV ou d'un agent endogène ou exogène présent dans la pathologie traitée.
5. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite substance active présente :
 - Une capacité de d'activation du récepteur AhR,
 - Une capacité de modulation d'un gène régulé par AhR,
 - Une demi-vie dans l'organisme humain courte, en particulier comprise entre 2 heures et 96 h, et, plus spécifiquement, entre 6 et 24 heures.
 - Un effet positif mesurable sur un critère reconnu d'hyperactivité sébacée, de cicatrisation des plaies et de dermatoporse, de colonisation bactérienne de la peau, et/ou de déprivation oestrogénique.
6. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que lesdits ligands ont des durées de demi-vie dans l'organisme humain comprises entre 2h et 96h, et, plus particulièrement, entre 6h et 24h.

7. Composition selon l'une des revendications 1-6, pour le traitement et/ou la prévention de maladies comportant une hypertrophie des glandes sébacées.
8. Composition selon l'une des revendications 1-6, pour le traitement et/ou la prévention d'infections cutanées bactériennes.
9. Composition selon l'une des revendications 1-6, pour le traitement et/ou la prévention de maladies comportant une colonisation cutanée par des espèces bactériennes, notamment *Propionibacterium acnes* et *Staphylococcus aureus*.
10. Composition selon l'une des revendications 1-6, pour le traitement et/ou la prévention des troubles des fonctions cutanées liés à une déprivation oestrogénique.
11. Composition selon l'une des revendications 1-6, pour le traitement et la cicatrisation des plaies cutanées.
12. Composition selon l'une des revendications 1-6, pour le traitement et/ou la prévention de l'atrophie cutanée, en particulier dans le contexte d'une dermatoporose.
13. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce que ladite substance active est choisie dans le groupe constitué par :

Catéchine

3-Gallate d'épigallocatechine

Quercétine

Apigénine

Silibinine

Resvératrol

Yangonine

Tryptophane

Indole-3-carbinol

Tryptamine

Kynurénine

6-Formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ) et dérivés alkyle ou alkényle du groupe formyle

3,3'-diindolylméthane

Trythantrine

Malassézine

Indirubine

Indigo

ITE [2-(1'h-indole-3'-carbonyl)-thiazole-4-carboxylate de méthyle]

YH439{ (Isopropyl-2-(1,3-dithioethane-2-ylidene)-2-[N-(4-methylthiazol-2-yl) carbamoyl] acetate }

Hispidine

alpha-Naphthoflavone

bêta-Naphthoflavone

Ellipticine

Carvédilol

Triclabendazole

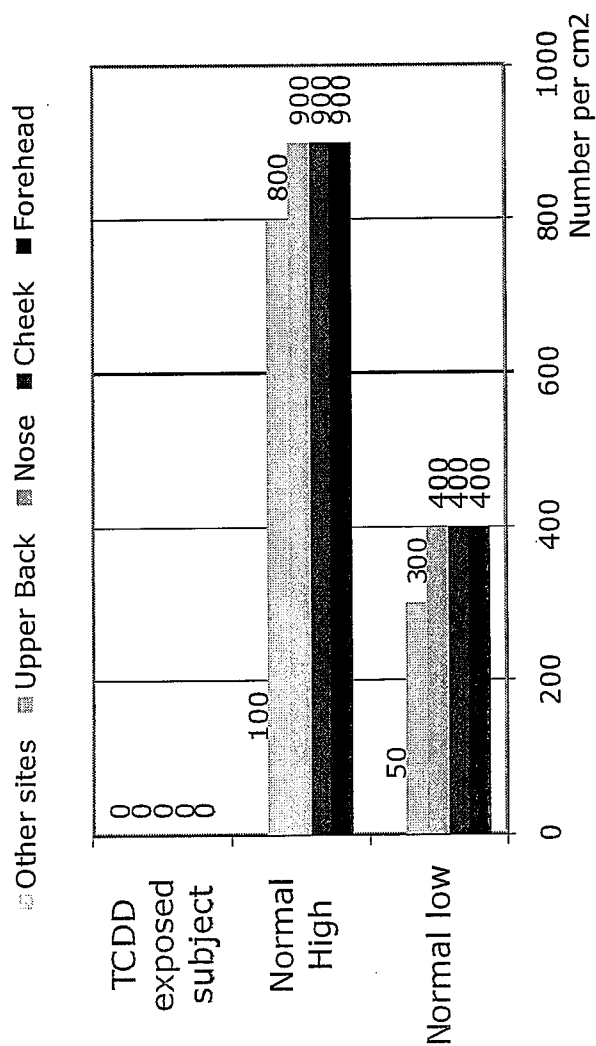
Rutaecarpine

β -Carboline 3-carboxylate d'éthyle

Esoméprazole.

Figure 1

Distribution of sebaceous glands in adult men



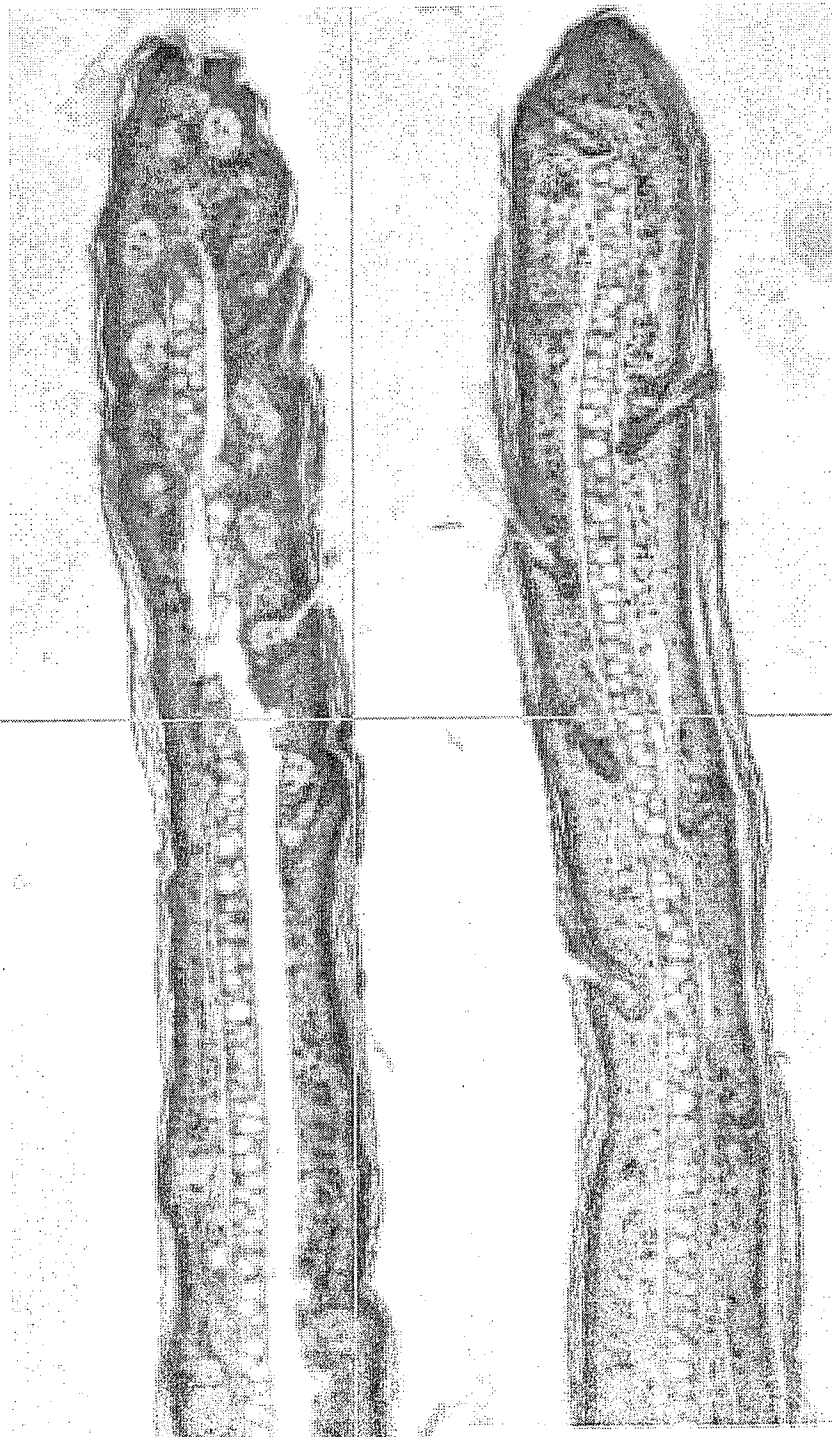


Figure 2

Figure 3

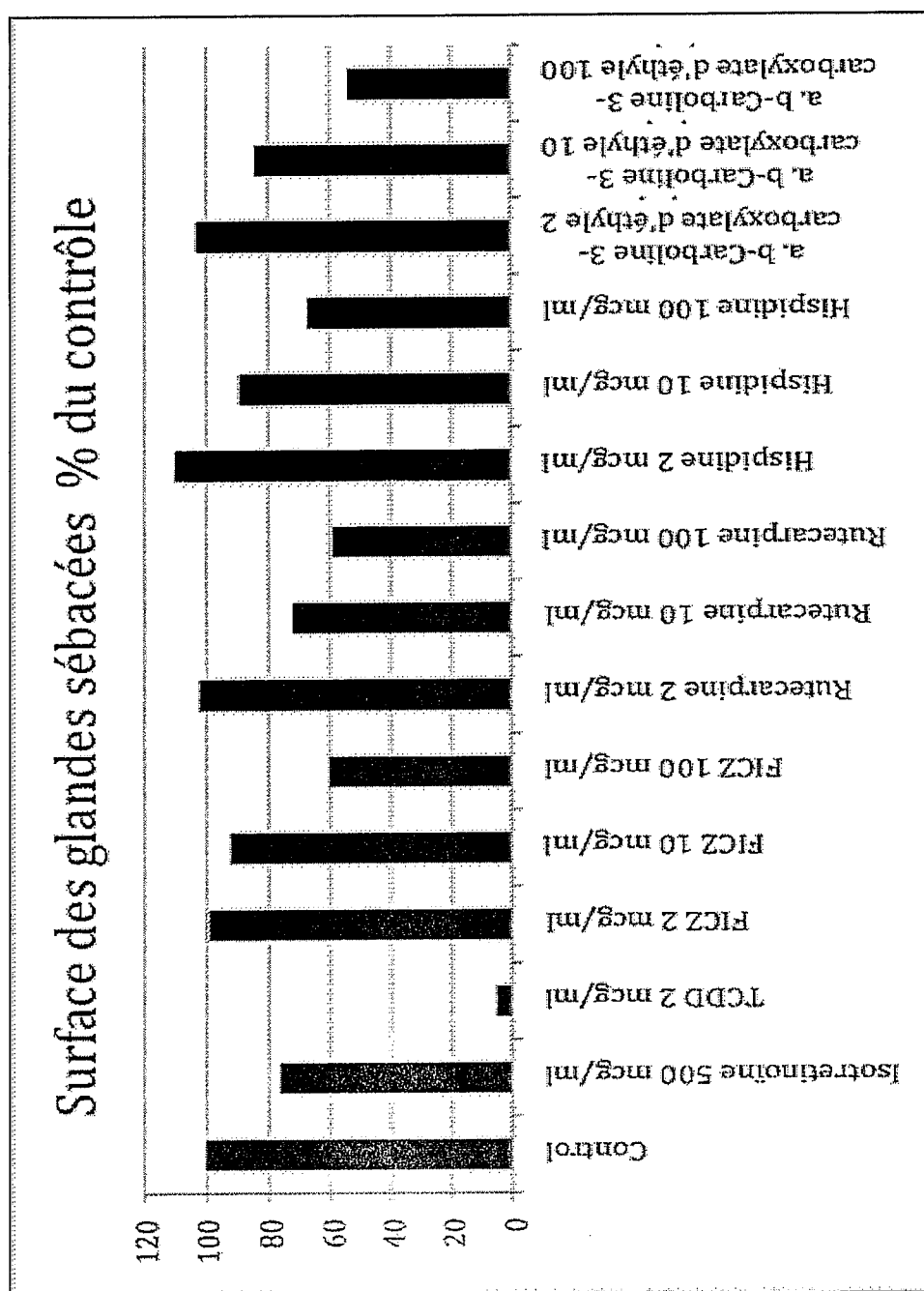
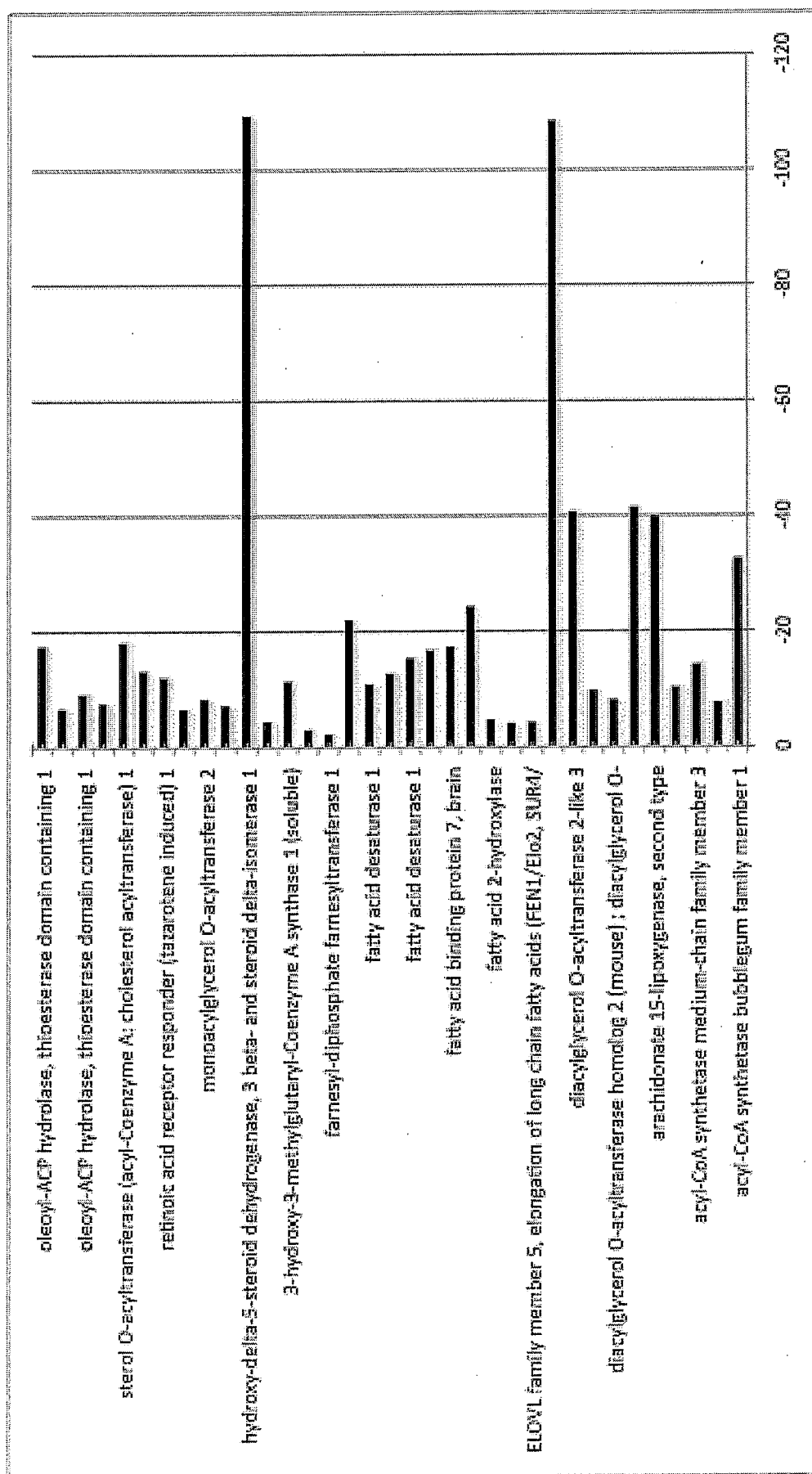


Figure 4



Annexe figure 4

Genbank	Gene Symbol	Description	mean FC
BE856376	ACSBG1	acyl-CoA synthetase bubblegum family member 1	-32.62
AB014531	ACSBG1	acyl-CoA synthetase bubblegum family member 1	-7.68
D16350	ACSM3	acyl-CoA synthetase medium-chain family member 3	-14.29
NM_005622	ACSM3	acyl-CoA synthetase medium-chain family member 3	-10.34
AF468053	ALOX15B	arachidonate 15-lipoxygenase, second type	-39.89
NM_001141	ALOX15B	arachidonate 15-lipoxygenase, second type	-41.53
AB048286	DGAT2	diacylglycerol O-acyltransferase homolog 2 (mouse) ; diacylglycerol O-acyltransferase homolog 2 (mouse)	-8.23
AW469523	DGAT2	diacylglycerol O-acyltransferase homolog 2 (mouse)	-9.73
BC039181	DGAT2L3	diacylglycerol O-acyltransferase 2-like 3	-40.77
AF292387	ELOVL3	elongation of very long chain fatty acids (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, yeast)-like 3	-108.49
AL136939	ELOVL5	ELOVL family member 5, elongation of long chain fatty acids (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3-like, yeast)	-4.29
BF973387	ELOVL5	ELOVL family member 5, elongation of long chain fatty acids (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3-like, yeast)	-4.11
AC004685	FA2H	fatty acid 2-hydroxylase	-4.72
NM_024306	FA2H	fatty acid 2-hydroxylase	-24.38
NM_001446	FABP7	fatty acid binding protein 7, brain	-17.33
NM_001446	FABP7	fatty acid binding protein 7, brain	-16.77
BE540552	FADS1	fatty acid desaturase 1	-15.40
BG165833	FADS1	fatty acid desaturase 1	-12.75
AL512760	FADS1	fatty acid desaturase 1	-10.88
NM_004265	FADS2	fatty acid desaturase 2	-21.97
AA872727	FDFT1	farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1	-2.19
BC003573	FDFT1	farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1	-2.99
NM_002130	HMGCS1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 1 (soluble)	-11.44
BG035985	HMGCS1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 1 (soluble)	-4.44
NM_000862	HSD3B1	hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 1	-109.31
NM_058165	MOGAT1	monoacylglycerol O-acyltransferase 1	-7.18
AK000245	MOGAT2	monoacylglycerol O-acyltransferase 2	-8.34
NM_002888	RARRES1	retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 1	-6.58
AI669229	RARRES1	retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 1	-12.12
NM_002888	RARRES1	retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 1	-13.22
L21934	SOAT1	sterol O-acyltransferase (acyl-Coenzyme A: cholesterol acyltransferase) 1	-18.15

-7.54
-9.19
-6.71
-17.53

AA946876	SOAT1	EN AVAL (3') DE SOAT1
AK001844	OLAH (THEDC1)	oleoyl-ACP hydrolase, thioesterase domain containing 1
AI125696	OLAH (THEDC1)	oleoyl-ACP hydrolase, thioesterase domain containing 1
NM_018324	OLAH (THEDC1)	oleoyl-ACP hydrolase, thioesterase domain containing 1

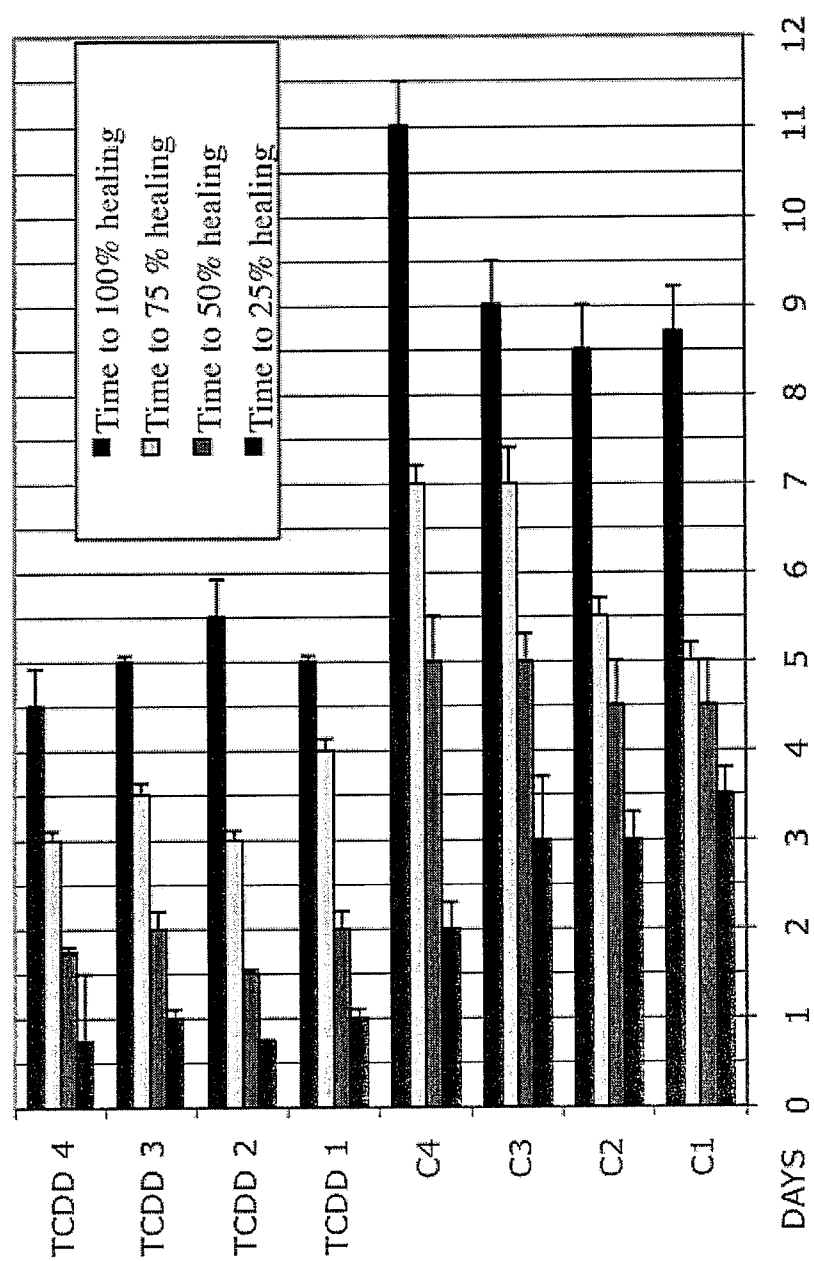


Figure 5

Figure 6

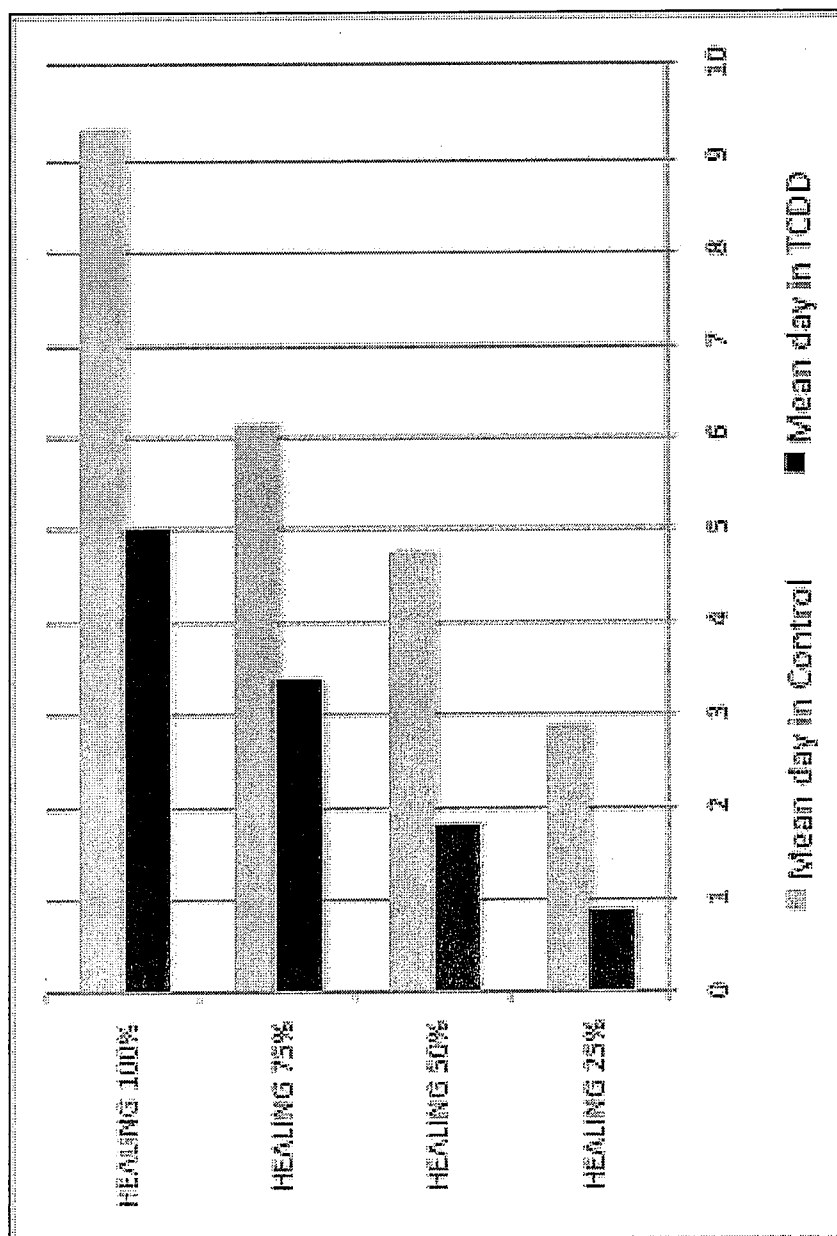


Figure 7

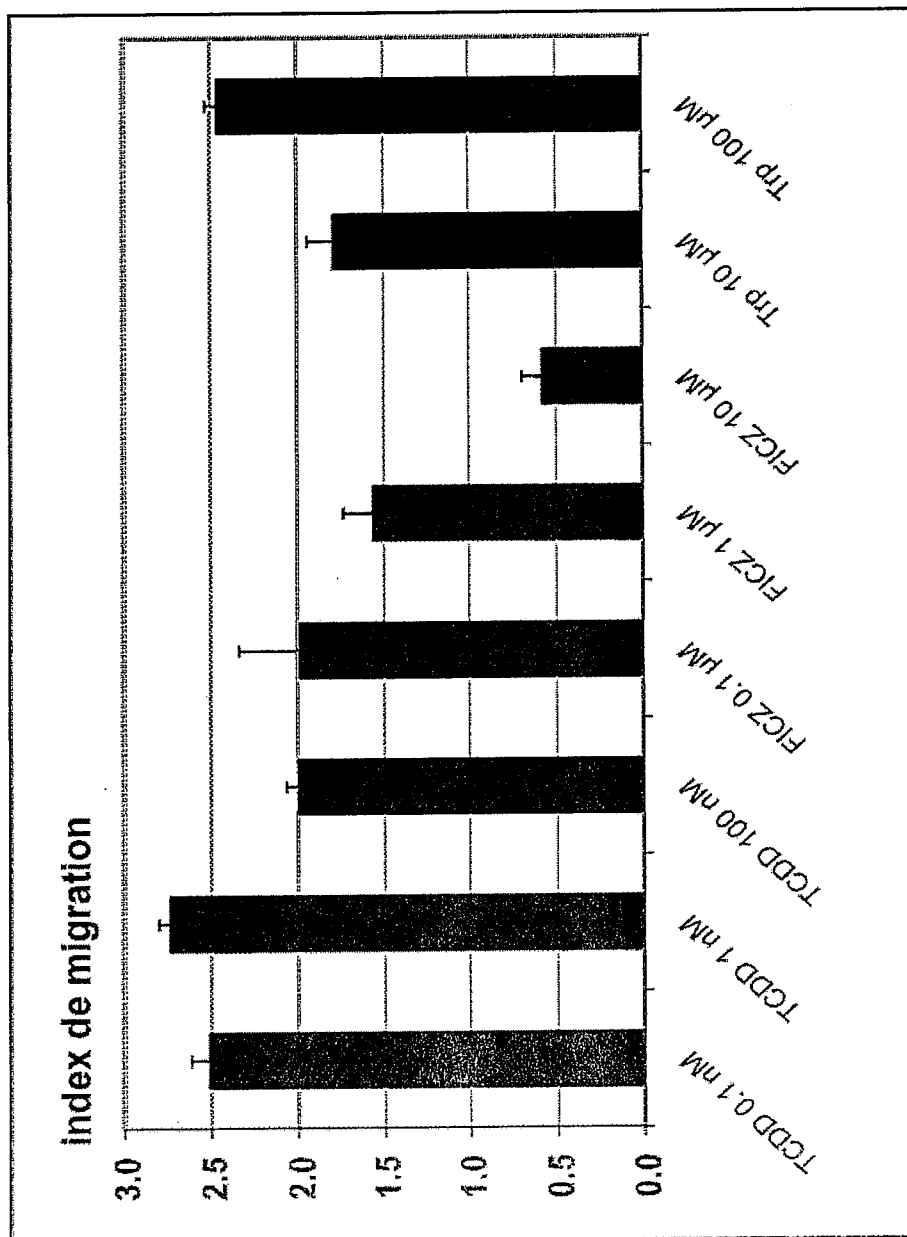
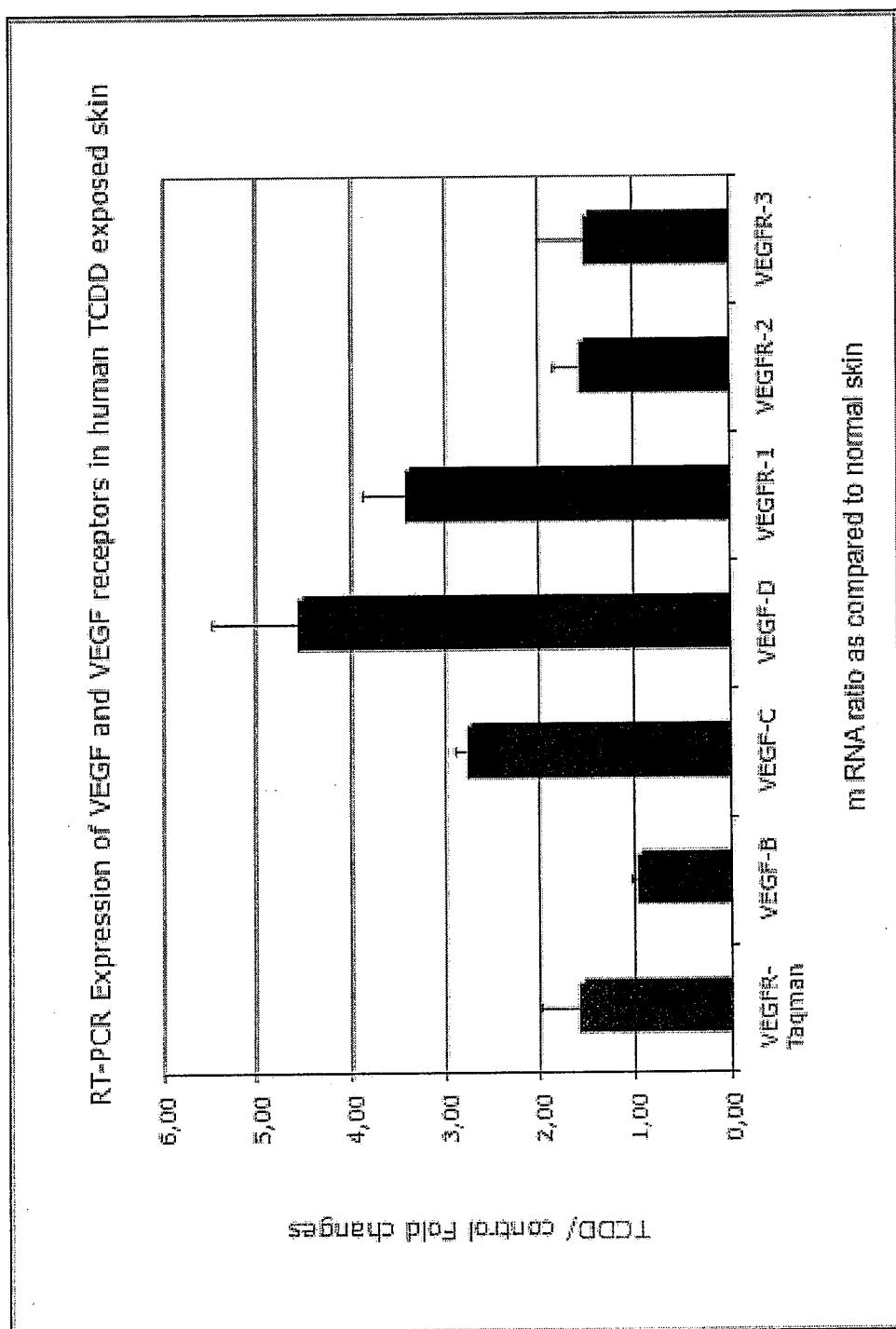


Figure 8



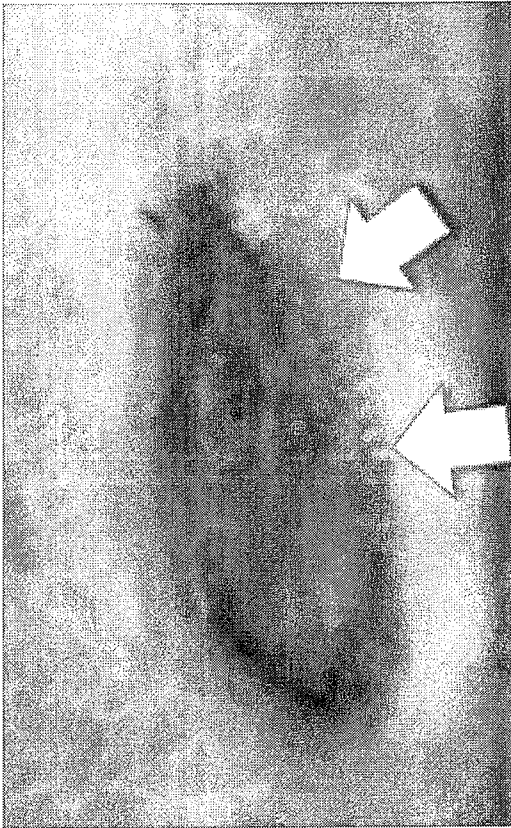
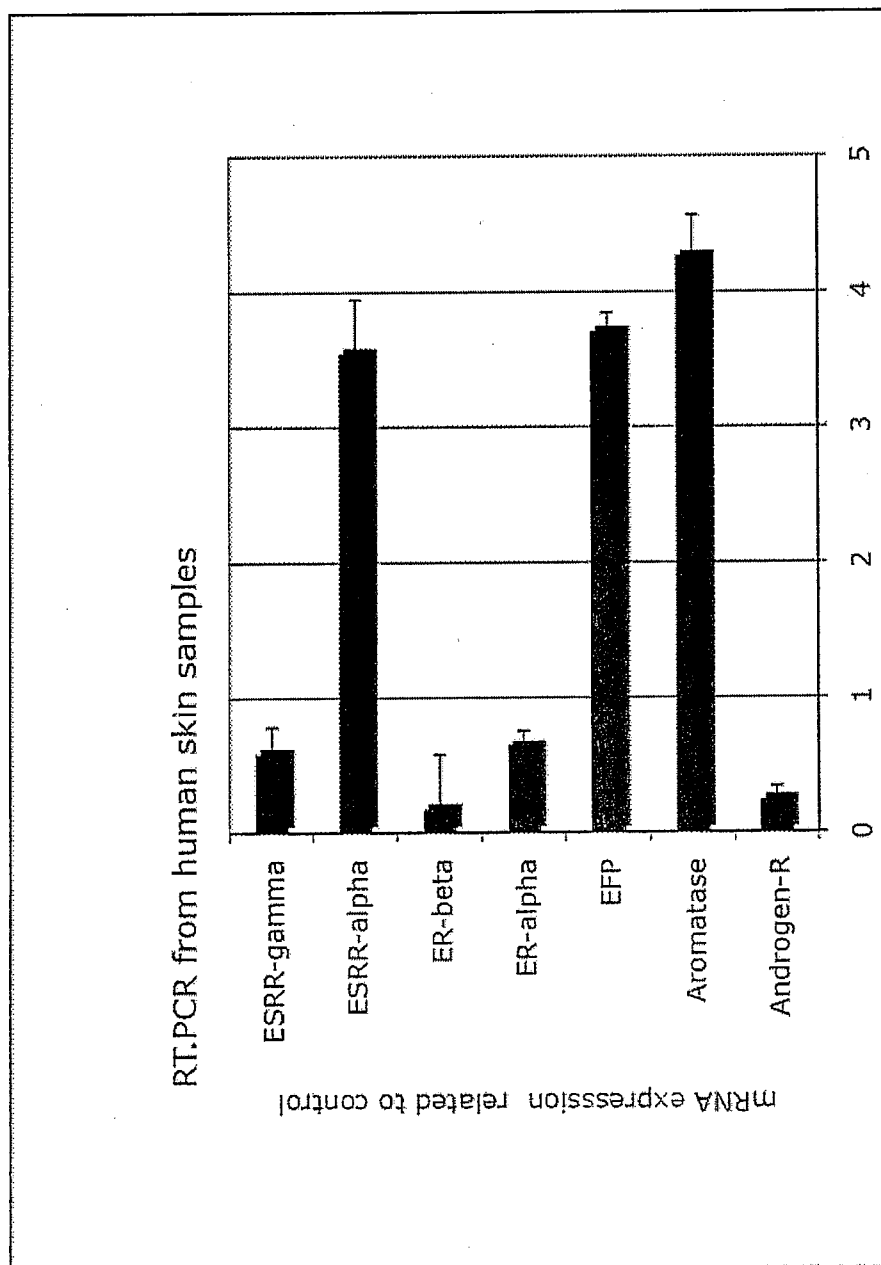


Figure 9

Figure 10 a



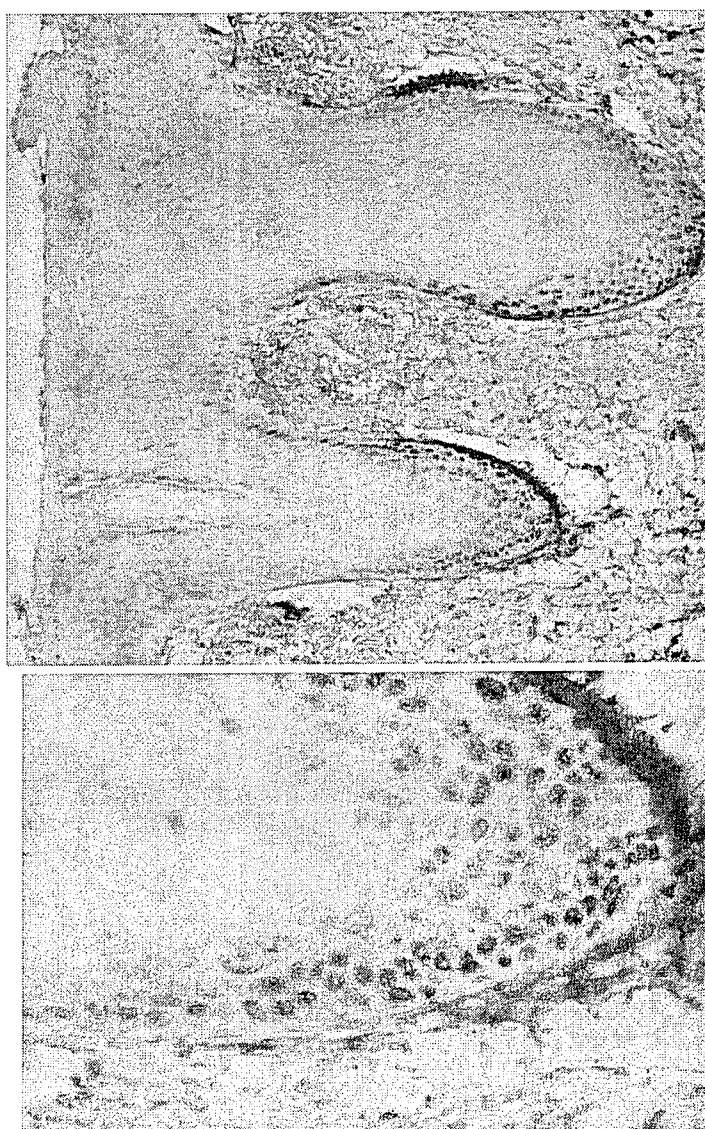


Figure 10b

Figure 11

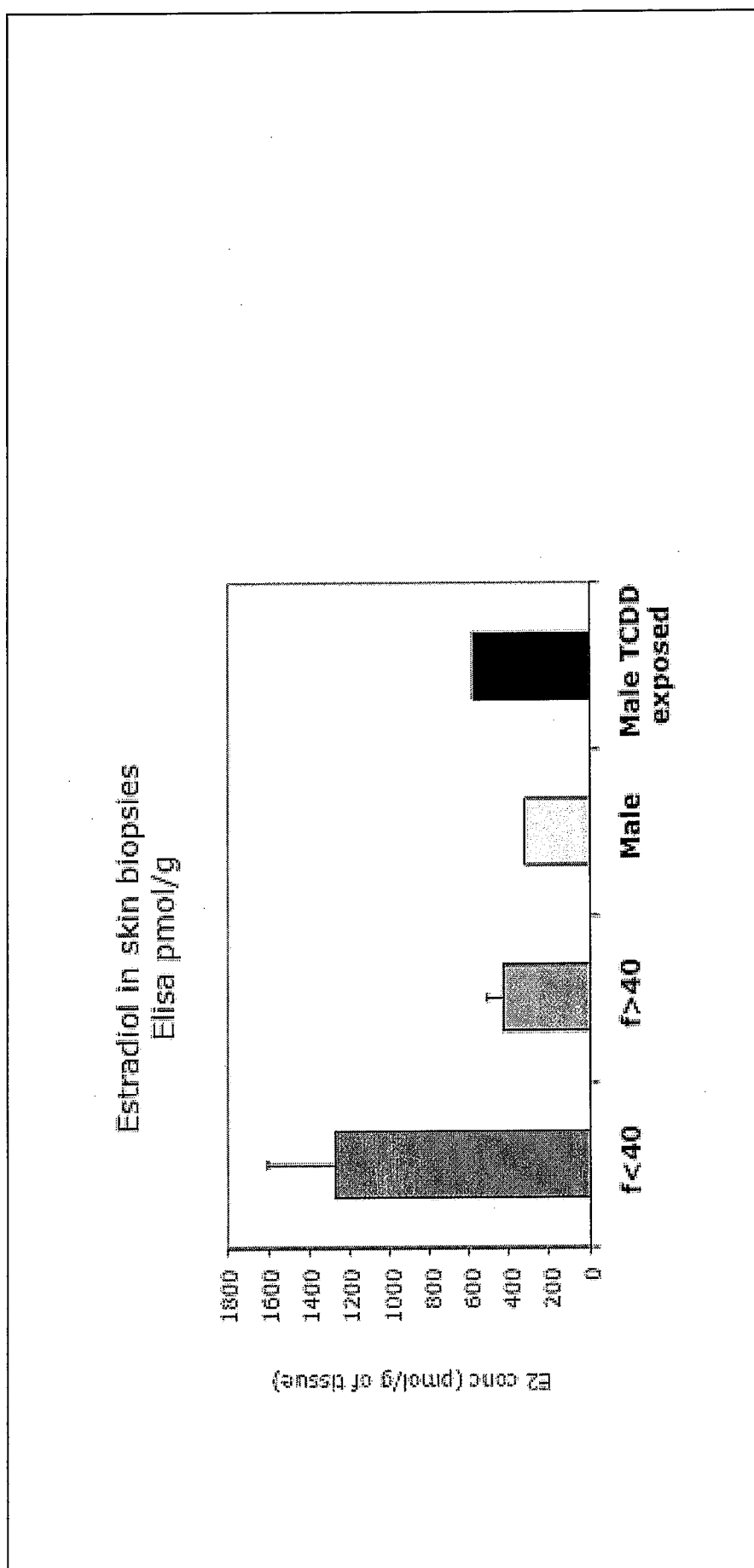


Figure 12



Figure 13

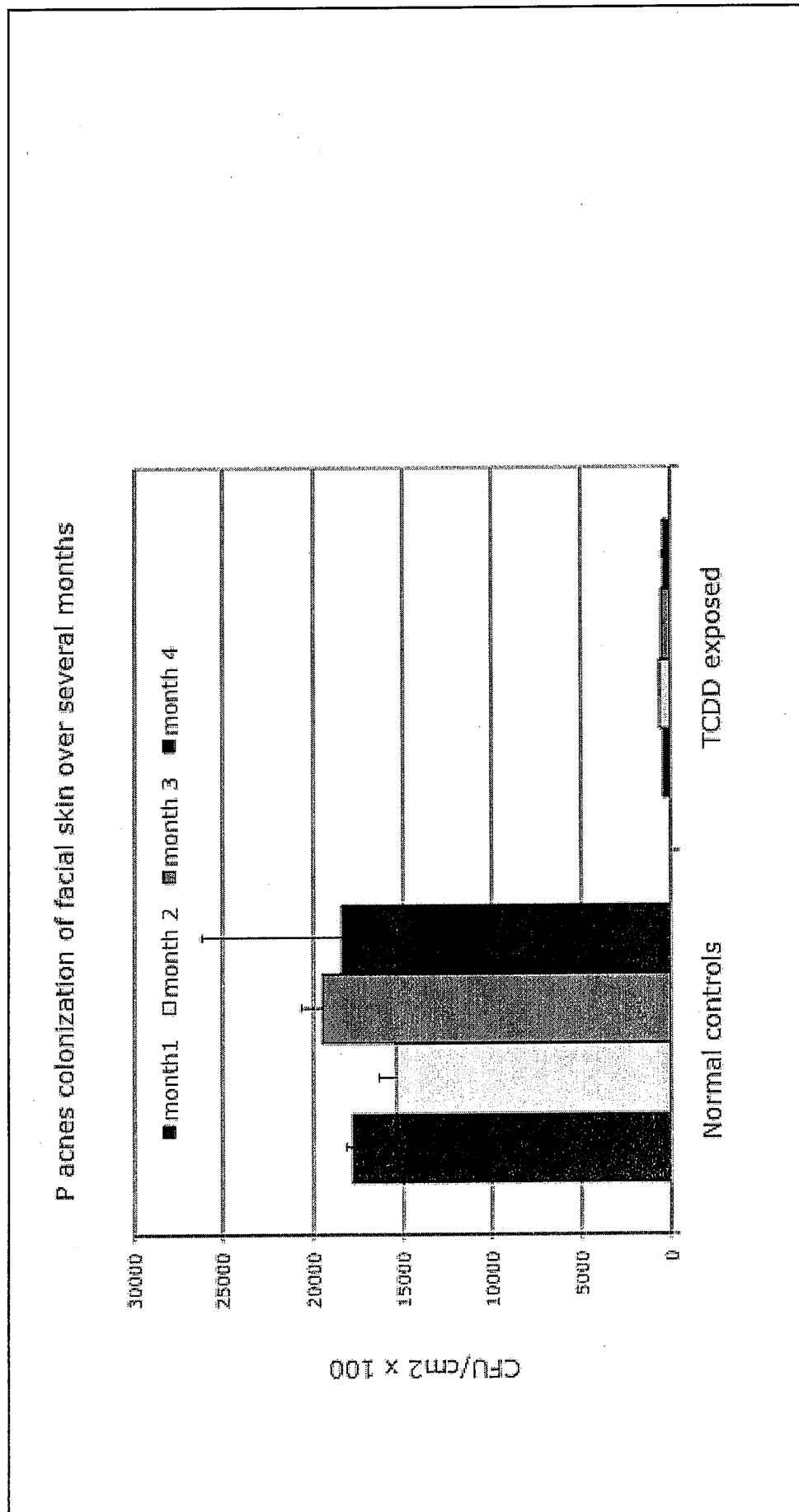


Figure 14

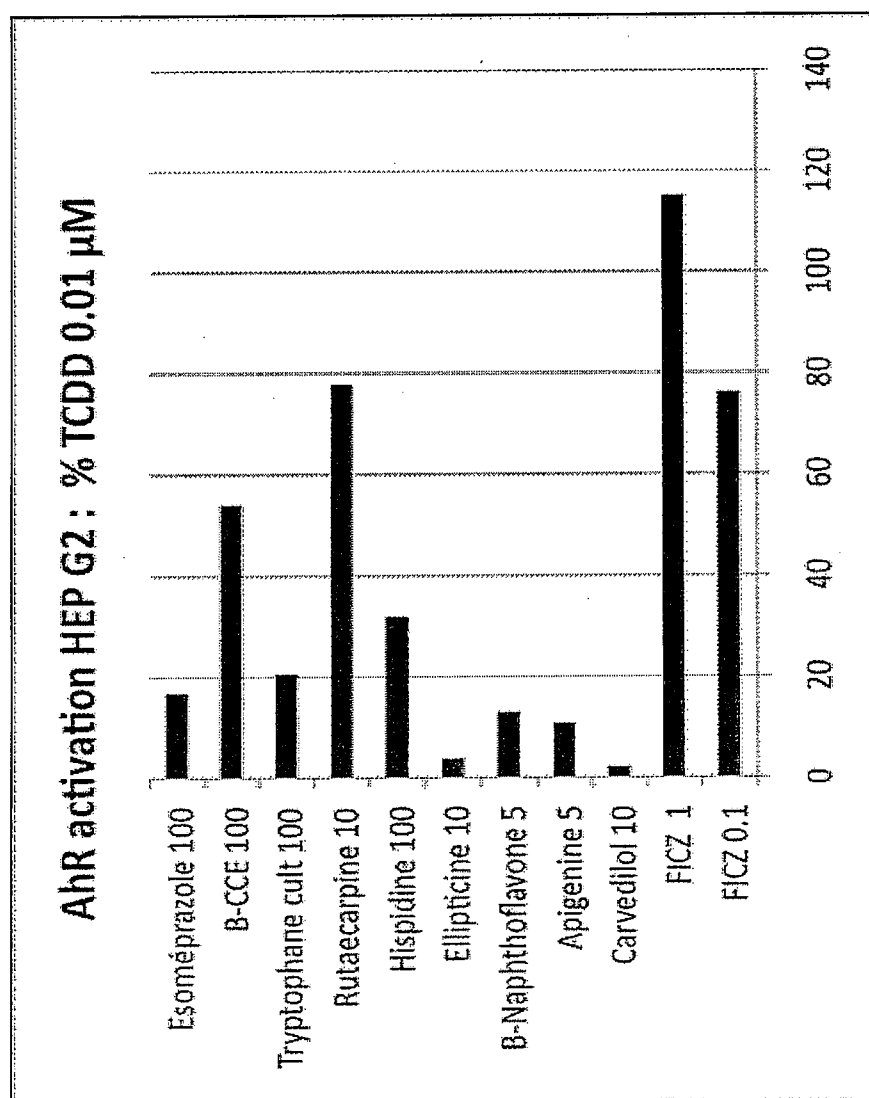
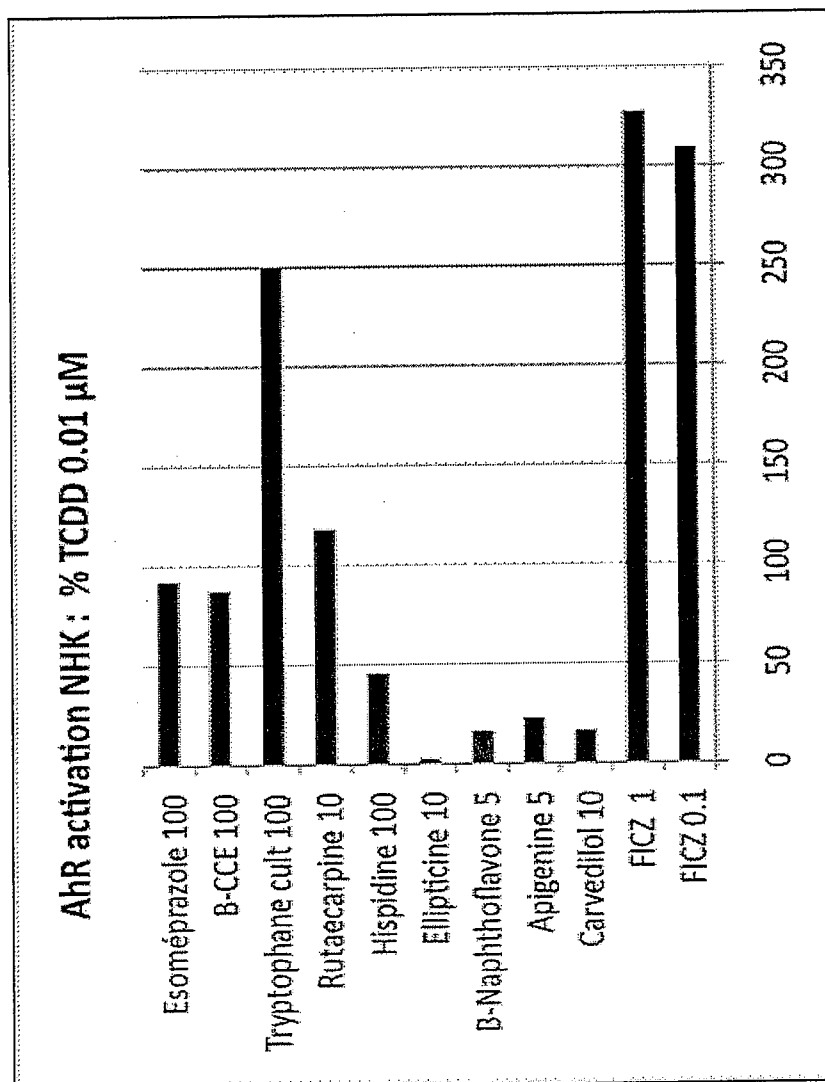


Figure 15



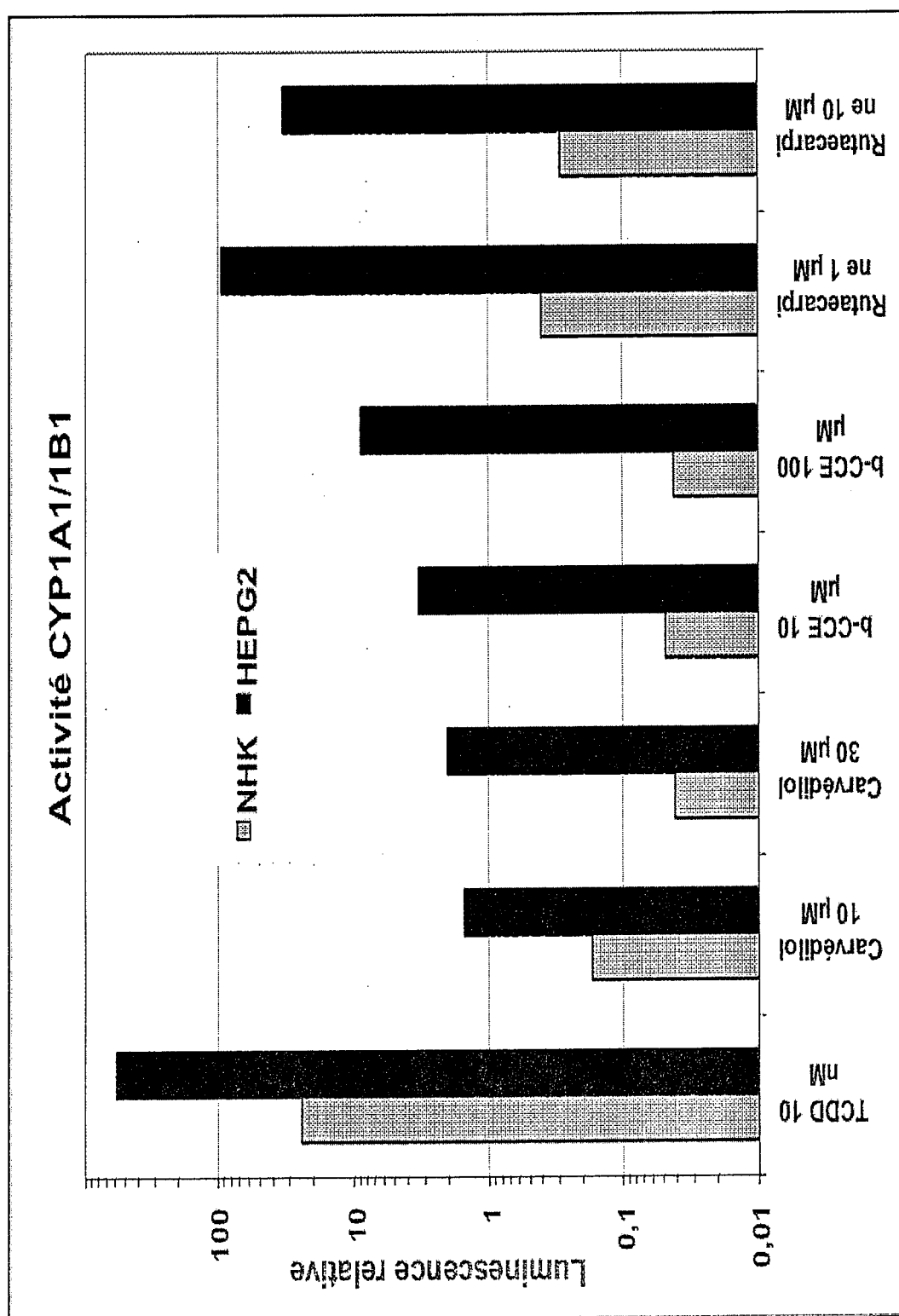


Figure 17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2009/050271

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/00 A61K31/407 A61P17/00

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)

A61K

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, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 138 323 A (D B P DEV BIOTECHNOLOGICAL PRO [IT]; NUOVA ICT S R L [IT]) 4 October 2001 (2001-10-04) abstract	1-9, 13
X	WO 2005/027867 A (ORIGIN BIOMEDICINALS INC [CA]; BUDERER MATHEW [US]; FORD PETER [CA]; R) 31 March 2005 (2005-03-31) table 1 example 1	1-9, 13
X	US 6 555 573 B2 (ROSENBLOOM RICHARD ALLEN [US]) 29 April 2003 (2003-04-29) column 7, line 27 table 1	1-7, 11, 13
	----- -/-	

☒ 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

28 avril 2009

Date of mailing of the international search report

13/05/2009

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Giacobbe, Simone

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2009/050271

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO 2009/017369 A (LIVECHEM INC [KR]; SHIN HYEON-CHEOL [KR]; HWANG HYE-JEONG [KR]) 5 February 2009 (2009-02-05) example 8 claims 1-9	1-9,13
Y	PUHVEL S M ET AL: "EFFECT OF 2 3 7 8 TETRACHLORODIBENZO-P-DIOXIN ON MURINE SKIN" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 90, no. 3, 1988, pages 354-358, XP002484567 ISSN: 0022-202X page 345, column 1, last paragraph - column 2, line 3 figure 2	1-13
Y	MUKAI MOTOKO ET AL: "Effects of tryptophan photoproducts in the circadian timing system: searching for a physiological role for aryl hydrocarbon receptor." TOXICOLOGICAL SCIENCES : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE SOCIETY OF TOXICOLOGY JAN 2007, vol. 95, no. 1, January 2007 (2007-01), pages 172-181, XP002484568 ISSN: 1096-6080 abstract page 172, column 1, last paragraph - column 2, paragraph 2	1-13
Y	WO 2007/128723 A (SYMRISE GMBH & CO KG [DE]; HERRMANN MARTINA [DE]; KOCH OSKAR [DE]; VIE) 15 November 2007 (2007-11-15) page 3, line 19 - page 4, line 32	1-13
Y	WO 03/068742 A (WISCONSIN ALUMNI RES FOUND [US]) 21 August 2003 (2003-08-21) paragraph [0003] paragraph [0007] - paragraph [0008]	1-13
Y	SEIDEL S D ET AL: "AH RECEPTOR-BASED CHEMICAL SCREENING BIOASSAYS: APPLICATION AND LIMITATIONS FOR THE DETECTION OF AH RECEPTOR AGONISTS" TOXICOLOGICAL SCIENCES, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, FL, US, vol. 55, no. 1, 1 May 2000 (2000-05-01), pages 107-115, XP009010645 ISSN: 1096-6080 abstract page 107, column 1, paragraph 1 - column 2, paragraph 1	1-13

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/050271

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WEI YU-DAN ET AL: "Rapid and transient induction of CYP1A1 gene expression in human cells by the tryptophan photoproduct 6-formylindolo(3,2-b)carbazole" CHEMICO-BIOLOGICAL INTERACTIONS, vol. 110, no. 1-2, 12 March 1998 (1998-03-12), pages 39-55, XP002484569 ISSN: 0009-2797 abstract page 40, "Introduction" -----	1-13
Y	WO 2007/060256 A (SYMRISE GMBH & CO KG [DE]; KRUTMANN JEAN [DE]; HERRMANN MARTINA [DE];) 31 May 2007 (2007-05-31) cited in the application the whole document page 21, line 18 -----	1-13
Y	FRITSCH ELLIEN ET AL: "Lightening up the UV response by identification of the arylhydrocarbon receptor as a cytoplasmatic target for ultraviolet B radiation" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 104, no. 21, May 2007 (2007-05), pages 8851-8856, XP002484570 ISSN: 0027-8424 page 8851, column 1, line 1 - column 2, paragraph 3 abstract -----	1-13
P,Y	GAITANIS GEORGE ET AL: "AhR ligands, malassezin, and indolo[3,2-b]carbazole are selectively produced by Malassezia furfur strains isolated from seborrheic dermatitis" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 128, no. 7, July 2008 (2008-07), pages 1620-1625, XP002525663 ISSN: 0022-202X abstract -----	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2009/050271

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1138323	A	04-10-2001	IT MI20000630 A1	24-09-2001
			US 2001056071 A1	27-12-2001
WO 2005027867	A	31-03-2005	AU 2004273552 A1	31-03-2005
			CA 2536609 A1	31-03-2005
			CN 1856293 A	01-11-2006
			EP 1663132 A1	07-06-2006
			JP 2007505838 T	15-03-2007
			KR 20070029623 A	14-03-2007
			US 2009017078 A1	15-01-2009
US 6555573	B2	29-04-2003	US 2003138504 A1	24-07-2003
			US 2002115618 A1	22-08-2002
			ZA 200304247 A	02-06-2004
WO 2009017369	A	05-02-2009	KR 100879558 B1	22-01-2009
WO 2007128723	A	15-11-2007	EP 2023910 A1	18-02-2009
WO 03068742	A	21-08-2003	AT 394373 T	15-05-2008
			AU 2003209130 A1	04-09-2003
			CA 2475331 A1	21-08-2003
			CN 1642910 A	20-07-2005
			EP 1480951 A1	01-12-2004
			JP 2005525340 T	25-08-2005
			MX PA04007767 A	15-10-2004
			US 2004204588 A1	14-10-2004
WO 2007060256	A	31-05-2007	DE 102005056890 A1	31-05-2007
			EP 1954831 A2	13-08-2008
			US 2009028804 A1	29-01-2009

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2009/050271

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

INV. A61K31/00 A61K31/407 A61P17/00

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)

A61K

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 cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 1 138 323 A (D B P DEV BIOTECHNOLOGICAL PRO [IT]; NUOVA ICT S R L [IT]) 4 octobre 2001 (2001-10-04) abrégé	1-9, 13
X	WO 2005/027867 A (ORIGIN BIOMEDICINALS INC [CA]; BUDERER MATHEW [US]; FORD PETER [CA]; R) 31 mars 2005 (2005-03-31) tableau 1 exemple 1	1-9, 13
X	US 6 555 573 B2 (ROSENBLOOM RICHARD ALLEN [US]) 29 avril 2003 (2003-04-29) colonne 7, ligne 27 tableau 1	1-7, 11, 13
	----- -/--	

☒ 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
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

28 avril 2009

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

13/05/2009

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,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Giacobbe, Simone

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
E	WO 2009/017369 A (LIVECHEM INC [KR]; SHIN HYEON-CHEOL [KR]; HWANG HYE-JEONG [KR]) 5 février 2009 (2009-02-05) exemple 8 revendications 1-9	1-9, 13
Y	PUHVEL S M ET AL: "EFFECT OF 2 3 7 8 TETRACHLORODIBENZO-P-DIOXIN ON MURINE SKIN" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 90, no. 3, 1988, pages 354-358, XP002484567 ISSN: 0022-202X page 345, colonne 1, dernier alinéa - colonne 2, ligne 3 figure 2	1-13
Y	MUKAI MOTOKO ET AL: "Effects of tryptophan photoproducts in the circadian timing system: searching for a physiological role for aryl hydrocarbon receptor." TOXICOLOGICAL SCIENCES : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE SOCIETY OF TOXICOLOGY JAN 2007, vol. 95, no. 1, janvier 2007 (2007-01), pages 172-181, XP002484568 ISSN: 1096-6080 abrégé page 172, colonne 1, dernier alinéa - colonne 2, alinéa 2	1-13
Y	WO 2007/128723 A (SYMRISE GMBH & CO KG [DE]; HERRMANN MARTINA [DE]; KOCH OSKAR [DE]; VIE) 15 novembre 2007 (2007-11-15) page 3, ligne 19 - page 4, ligne 32	1-13
Y	WO 03/068742 A (WISCONSIN ALUMNI RES FOUND [US]) 21 août 2003 (2003-08-21) alinéa [0003] alinéa [0007] - alinéa [0008]	1-13
Y	SEIDEL S D ET AL: "AH RECEPTOR-BASED CHEMICAL SCREENING BIOASSAYS: APPLICATION AND LIMITATIONS FOR THE DETECTION OF AH RECEPTOR AGONISTS" TOXICOLOGICAL SCIENCES, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, FL, US, vol. 55, no. 1, 1 mai 2000 (2000-05-01), pages 107-115, XP009010645 ISSN: 1096-6080 abrégé page 107, colonne 1, alinéa 1 - colonne 2, alinéa 1	1-13

-/--

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WEI YU-DAN ET AL: "Rapid and transient induction of CYP1A1 gene expression in human cells by the tryptophan photoproduct 6-formylindolo(3,2-b)carbazole" CHEMICO-BIOLOGICAL INTERACTIONS, vol. 110, no. 1-2, 12 mars 1998 (1998-03-12), pages 39-55, XP002484569 ISSN: 0009-2797 abrégé page 40, "Introduction"	1-13
Y	WO 2007/060256 A (SYMRISE GMBH & CO KG [DE]; KRUTMANN JEAN [DE]; HERRMANN MARTINA [DE];) 31 mai 2007 (2007-05-31) cité dans la demande le document en entier page 21, ligne 18	1-13
Y	FRITSCH ELLIEN ET AL: "Lightening up the UV response by identification of the arylhydrocarbon receptor as a cytoplasmatic target for ultraviolet B radiation" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 104, no. 21, mai 2007 (2007-05), pages 8851-8856, XP002484570 ISSN: 0027-8424 page 8851, colonne 1, ligne 1 - colonne 2, alinéa 3 abrégé	1-13
P,Y	GAITANIS GEORGE ET AL: "AhR ligands, malassezin, and indolo[3,2-b]carbazole are selectively produced by Malassezia furfur strains isolated from seborrheic dermatitis" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 128, no. 7, juillet 2008 (2008-07), pages 1620-1625, XP002525663 ISSN: 0022-202X abrégé	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/IB2009/050271

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1138323	A	04-10-2001	IT MI20000630 A1	24-09-2001
			US 2001056071 A1	27-12-2001
WO 2005027867	A	31-03-2005	AU 2004273552 A1	31-03-2005
			CA 2536609 A1	31-03-2005
			CN 1856293 A	01-11-2006
			EP 1663132 A1	07-06-2006
			JP 2007505838 T	15-03-2007
			KR 20070029623 A	14-03-2007
			US 2009017078 A1	15-01-2009
US 6555573	B2	29-04-2003	US 2003138504 A1	24-07-2003
			US 2002115618 A1	22-08-2002
			ZA 200304247 A	02-06-2004
WO 2009017369	A	05-02-2009	KR 100879558 B1	22-01-2009
WO 2007128723	A	15-11-2007	EP 2023910 A1	18-02-2009
WO 03068742	A	21-08-2003	AT 394373 T	15-05-2008
			AU 2003209130 A1	04-09-2003
			CA 2475331 A1	21-08-2003
			CN 1642910 A	20-07-2005
			EP 1480951 A1	01-12-2004
			JP 2005525340 T	25-08-2005
			MX PA04007767 A	15-10-2004
			US 2004204588 A1	14-10-2004
WO 2007060256	A	31-05-2007	DE 102005056890 A1	31-05-2007
			EP 1954831 A2	13-08-2008
			US 2009028804 A1	29-01-2009