

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 21.09.89.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 22.03.91 Bulletin 91/12.

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

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : *Société en Commandite par Actions
dite: IMMUNOTECH PARTNERS — FR.*

⑦2 Inventeur(s) : Barbet Jacques, Delaage Michel,
Gruaz-Guyon Anne et Le Doussal Jean-Marc.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Rinuy, Santarelli.

⑤4 Nouveaux dérivés hydrophiles, application au diagnostic et à la thérapeutique, kits diagnostiques ou thérapeutiques et réactifs immunologiques.

⑤7 Dérivés comprenant deux haptènes hydrophiles et un groupe effecteur constitué d'un isotope radioactif ou connu pour pouvoir être marqué par un isotope radioactif ou constitué d'un principe actif ou connu pour pouvoir fixer un principe actif, reliés par une chaîne de connexion; application au diagnostic et à la thérapeutique, kits diagnostiques ou thérapeutiques et réactifs immunologiques les renfermant.

FR 2 652 004 - A1



La présente invention concerne des dérivés utiles notamment comme immuno-réactifs destinés en particulier à cibler des cellules animales en vue de leur visualisation ou de leur destruction, les kits de réactifs
5 les renfermant ainsi que leur application à la visualisation et à la destruction des cellules.

La demande de brevet français N° 86.13146 et la demande de brevet européen N° 87.430031.2 ont décrit des immuno-réactifs destinés à cibler les cellules animales
10 pour leur visualisation ou leur destruction in vivo.

Ces immuno-réactifs consistent en deux types de produits à savoir a) un anticorps monoclonal ou un fragment d'anticorps reconnaissant un type cellulaire, un tissu particulier ou un constituant d'un organisme animal
15 conjugué à un second anticorps ou fragment d'anticorps reconnaissant un groupement hapténique déterminé et b) une molécule constituée d'au moins deux haptènes identiques ou différents reconnus par l'un des anticorps et d'un motif constitué d'un élément de visualisation, ou d'un produit
20 actif ou connu pour pouvoir recevoir un élément de visualisation ou un produit actif destiné à la destruction de la cellule-cible.

Dans ce qui suit, on appellera le produit (b) "sonde".

25 Lorsque l'on veut réaliser une bonne visualisation d'une cellule-cible, il est souhaitable de réduire au maximum le bruit de fond. De même, étant donné que les principes actifs cytotoxiques possèdent habituellement une certaine toxicité, il est souhaitable de les retrouver
30 seulement au niveau de la cellule-cible à détruire, le plus rapidement possible après leur administration.

C'est pourquoi la présente demande a pour objet des dérivés caractérisés en ce qu'ils comprennent deux haptènes hydrophiles et un groupe effecteur constitué d'un
35 isotope radioactif ou connu pour pouvoir être marqué par un isotope radioactif ou constitué d'un principe actif ou

connu pour pouvoir fixer un principe actif. Ces dérivés sont analogues à des produits tels que ceux décrits en b) ci-dessus.

5 Par "haptène", l'on entend dans le cadre de la présente invention, une molécule capable de se lier spécifiquement à un anticorps au niveau d'un de ses sites de fixation. C'est une molécule qui n'est pas antigénique par elle-même mais peut le devenir par fixation sur une macromolécule. Sa masse moléculaire est généralement
10 inférieure à 1500 daltons.

Par "hydrophiles", l'on entend que le coefficient de partition entre une phase aqueuse neutre (proche des conditions physiologiques) et un solvant organique non totalement miscible à l'eau comme le N-butanol est
15 supérieur à 1 pour le haptène isolé. Cette mesure peut être effectuée, notamment après 2h d'agitation d'une solution d'haptène dans 10 mM Hepes, 150 mM NaCl, pH 7,4 mélangée à une partie égale de butanol.

Les haptènes préférés selon la présente
20 invention auront une masse moléculaire comprise entre 300 et 1500 daltons et comporteront des groupements chimiques polaires. Ces groupements seront notamment des groupes alcools, amines, acides carboxyliques, sulfoniques et phosphoriques, ainsi que leurs esters et amides.

25 Parmi les dérivés objet de la présente invention, on retient de préférence ceux caractérisés en ce que les haptènes ont une constante de dissociation inférieure ou égale à 10^{-5} M et notamment inférieure ou égale à 10^{-6} M avec un anticorps qui leur est spécifique.
30 Cette constante est mesurée dans les conditions usuelles de pH, température et concentration en sels.

Comme indiqué dans la demande de brevet français précitée, les haptènes peuvent revêtir une grande variété de structures. On retient toutefois plus particu-
35 lièrement les haptènes qui constituent un groupe chélatant.

Par "chélatant", l'on entend une molécule capable de fixer un atome de métal de manière très stable.

Les groupes chélatants particulièrement intéressants convenant comme haptènes hydrophiles selon la
5 présente invention sont constitués par les acides poly-aminocarboxyliques, notamment l'acide diéthylènetriamine-pentaacétique (DTPA) et ses dérivés.

Ces groupes chélatants peuvent contenir ou non un métal, et on retient plus particulièrement ceux
10 contenant de l'indium complexé.

A titre d'haptènes, on retient également les dérivés des aminoacides polaires et particulièrement de l'histidine et les dérivés de l'histamine, tout particulièrement l'histamine-succinyl-glycine. On peut citer
15 également la fluorescéine et ses dérivés, le méthotrexate et les anthracyclines notamment l'adriamycine et la daunomycine.

Dans une sonde, les haptènes et le(s) groupe(s) effecteur(s) sont reliés de manière stable par une chaîne
20 de connexion. Celle-ci permet la fixation simultanée sur une même molécule sonde d'au moins deux anticorps spécifiques sur le ou les haptènes et ainsi la formation des complexes particuliers recherchés.

Un des haptènes peut également jouer le rôle d'effecteur ; en particulier un de ses atomes peut être
25 remplacé dans la sonde par un radio-isotope ou alors un principe actif tel que ceux décrits ci-après ; une partie du principe actif peut également constituer le haptène. On peut citer par exemple le DTPA-indium.

L'on entend par "groupement effecteur", un groupement chimique responsable de l'effet désiré,
30 consécutivement à l'utilisation de la sonde, sur sa cible dans l'organisme. Le groupement effecteur peut réaliser soit le repérage de sites d'accumulation de la sonde, soit
35 par exemple la destruction de cellules au niveau de sites d'accumulation.

Dans le premier type d'application, le groupement effecteur comportera par exemple un ou plusieurs atomes repérables par des moyens physiques appropriés, comme par exemple des atomes radioactifs émetteurs de rayonnement, notamment gamma. On peut citer également les atomes ou groupements chimiques suffisamment para-magnétiques pour perturber les signaux de résonance magnétique nucléaire.

Dans le second type d'applications, le groupement effecteur pourra comporter un ou plusieurs émetteurs de rayonnement ionisant, par exemple β ou α en vue d'une radio-thérapie. Il pourra aussi être constitué d'un ou plusieurs groupes chimiques capables de cytotoxicité par eux-mêmes, comme les agents alkylants, le méthotrexate, les vinca-alcaloïdes, les anthracyclines ou des toxines végétales ou bactériennes comme la ricine ou la toxine diphtérique, ou encore sous l'effet d'un rayonnement extérieur comme les porphyrines.

Des chaînes de connexion préférées sont celles qui permettent une séparation suffisante des haptènes, notamment supérieure à 10 Angströms.

Ces chaînes seront de préférence peu sensibles à l'hydrolyse une fois injectées dans l'organisme. On utilise avantageusement à titre de chaînes de connexion des aminoacides, de préférence de série D, en enchaînement peptidique.

Pour certaines applications particulières, les chaînes de connexion ci-dessus décrites comprennent un groupement phénol et on retient tout particulièrement les chaînes de connexion renfermant de la tyrosine ou constituées de tyrosine.

Parmi les dérivés objets de la présente invention, l'on retient également ceux dont les haptènes sont des glycyl-succinyl-histamine, qui sont couplés à une diamine phénolée, notamment couplés à un peptide renfermant de la tyrosine.

Pour ces applications, on pourra se reporter notamment à la demande de brevet européen N° 87.430031.2 précitée.

En vue de leur utilisation diagnostique, les dérivés selon la présente invention peuvent être par exemple injectés par voie intraveineuse à l'homme ou à l'animal.

5 En même temps ou peu avant l'injection de la sonde (par exemple quelques minutes jusqu'à quelques heures avant (de préférence de 12 à 48 heures), on aura injecté un conjugué anticorps à double spécificité composé d'un anticorps notamment monoclonal ou fragment d'anticorps
10 également de préférence monoclonal spécifique pour une cellule ou un composant normal ou pathologique d'un être vivant en particulier de l'homme, couplé à un anticorps, notamment monoclonal ou fragment d'anticorps de préférence spécifique pour le haptène considéré, tel que décrit ci-
15 dessous en tant que produit a), par exemple à la dose de 0,1 mg à 1 g selon la sonde utilisée et de préférence de 1 à 100 mg chez l'homme adulte.

Le dérivé a) peut être utilisé seul ou en mélange (cocktail), chacun ayant une spécificité particulière pour des cellules ou constituants de l'organisme
20 normaux ou pathologiques différents et une spécificité pour le même haptène.

On procède après l'injection des dérivés selon l'invention à la mesure ou la détection grâce aux appareils
25 bien connus dans l'état de la technique, par exemple pour la scintigraphie ou l'imagerie RMN.

Dans le cas d'un diagnostic isotopique on aura par exemple apporté une activité de 0,1 à 100 mCi et plus particulièrement de 3 à 10 mCi.

30 De même, on peut procéder au traitement localisé d'une affection, par exemple tumorale, en utilisant une sonde selon la présente invention, possédant comme effecteur un principe actif approprié, notamment cytotoxique.

Le taux sera alors limité par la toxicité secondaire du principe actif sur les organes normaux et en particulier sur la moelle osseuse.

5 Pour une application en radio-immunothérapie, une dose préférée sera comprise par exemple entre 50 mCi et 1 Ci.

10 Compte tenu de l'utilisation particulière des dérivés selon la présente invention, la présente demande a également pour objet les kits diagnostiques ou thérapeutiques, caractérisés en ce qu'ils renferment au moins un des dérivés selon la présente invention, tels que définis ci-dessus et un anticorps ou fragment d'anticorps, notamment monoclonal reconnaissant un type cellulaire ou un tissu particulier, conjugué à un deuxième anticorps ou fragment d'anticorps reconnaissant un groupement hapténique dudit dérivé.

20 La présente demande a enfin pour objet les réactifs immunologiques comprenant un conjugué, composé d'un anticorps ou fragment d'anticorps notamment monoclonal ayant une affinité pour un type cellulaire particulier ou un constituant normal ou pathologique de l'organisme particulier, couplé à un anticorps ou fragment d'anticorps notamment monoclonal ayant une affinité pour un haptène donné, et une molécule synthétique, comprenant au moins 25 deux haptènes correspondant au conjugué ci-dessus et au moins un site, apte au marquage radioactif ou à fixer un principe actif, liés de manière covalente, caractérisés en ce que la molécule synthétique est un dérivé ci-dessus défini.

30 Lorsque l'on parle de conjugué d'anticorps, on ne préjuge pas d'une méthode de préparation quelconque en ce sens que l'on vise aussi des anticorps bispécifiques encore appelés recombinants, quadromes ou polydomes, par exemple.

35 Les exemples qui suivent illustrent la présente invention sans toutefois la limiter.

Exemple 1N- α -DTPA-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-lysine

On dissout 45 μ Mole de tyrosyl-lysine dans 600 μ l d'eau ajoutée à 45 μ Mole de triéthylamine et 180 μ Mole de l'anhydride cyclique du DTPA en solution dans 1 ml de DMSO.

On laisse pendant 16 heures à la température ambiante en maintenant le pH à environ 7 à l'aide de triéthylamine. On purifie par filtration sur gel (colonne Biogel P4). On récupère les fractions correspondant au produit attendu et les purifie sur une colonne échangeuse d'ions (mono-Q pharmacia) et chromatographie liquide haute pression en utilisant une colonne C-18.

On a identifié le produit obtenu par spectrométrie UV (max à 277nm) et spectrométrie de masse (pic moléculaire à 1060).

Exemple 2N- α -N- ϵ -di-(DTPA-glycyl)-lysyl-tyrosine

A partir de 1 g de résine de N- α -BOC-O-benzyl-L-tyrosine, on prépare le N- α -N- ϵ -di-(glycyl)-lysyl-tyrosine classiquement par synthèse en phase solide.

On libère à l'aide d'acide fluorhydrique liquide le produit obtenu et on le purifie par filtration sur gel et chromatographie liquide à haute pression. On fait alors réagir ce peptide avec l'anhydride cyclique du DTPA, comme indiqué ci-dessus à l'exemple 1 ; on purifie le produit obtenu par filtration sur gel, chromatographie sur colonne échangeuse d'ions et chromatographie liquide haute pression et on l'identifie comme décrit ci-dessus (max à 277 nm, pic moléculaire à 1174).

Exemple 3N- α -N- ϵ -di-(histamine-succinyl-glycyl)-lysyl-tyrosine

On synthétise la N- α -N- ϵ -di-(glycyl)-lysyl-tyrosine sur résine comme indiqué à l'exemple 2. Après déprotection des groupes amino terminaux, on ajoute à la

résine 2,5 équivalents d'anhydride succinique dans le DMF et 2,5 équivalents de triéthylamine. On laisse pendant 2 heures à la température ambiante, lave et ajoute 2,6 équivalents d'histamine et de BOP en solution dans le DMF et 3,5 équivalents de diisopropyléthylamine.

On laisse encore incuber, lave et libère le produit désiré ; on purifie par filtration sur gel et par chromatographie liquide haute pression et identifie le produit obtenu par spectrométrie UV (max à 220 nm et à 277 nm) et de masse (pic moléculaire à 810).

Exemple 4

Marquage du dérivé de l'exemple 1 à l'indium-111

On prépare une dilution à 0,5 μ M du produit de l'exemple 1 dans un tampon à pH 5, 100 mM d'acétate et 10 mM de citrate. On ajoute 0,5 mCi de trichlorure d'indium-111 (dans 50 μ l d'acide chlorhydrique 50 mM) à 50 μ l de la solution ci-dessus et on laisse incuber pendant 16 heures à 37°C.

On ajoute alors un excès d' InCl_3 non radioactif (10 μ l d'une solution 1 mM dans un tampon pH 5 citrate 100 mM) pour saturer les deux groupes chélatants du dérivé de l'exemple 1.

Le dérivé de l'exemple 1 marqué est dilué à l'activité souhaitée juste avant l'injection à l'aide d'une solution 20 mM Hepes, 150 mM HCl, 10 μ M EDTA pH 7,4.

Exemple 5

Radioimmunosciintigraphie de mélanomes humains greffés sur des souris nudes visualisés par des conjugués à double spécificité anti-mélanome anti-DTPA indium et la N- α -DTPA-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-lysine marquée à l'indium-111.

On injecte par voie sous-cutanée 3.10^6 cellules de mélanome humain (A375) dans l'abdomen de souris nudes. Celles-ci développent 3 à 4 semaines plus tard des tumeurs de 0,5 à 2 g. On injecte alors aux souris 2 à 10 μ g de conjugué à double spécificité préparé par couplage chimique

du fragment $F(ab)'_2$ d'un anticorps anti mélanome humain (anticorps monoclonal de souris IgG_1 , kappa) au fragment $F(ab)'_2$ réduit d'un anticorps anti-DTPA-indium (anticorps monoclonal de souris IgG_1 , lambda) au moyen du réactif hétérobifonctionnel, EMCS.

Vingt quatre heures plus tard on injecte aux souris 10 μCi du dérivé de l'exemple 1 marqué à l'indium-111. On prend alors des images à des intervalles de temps choisis en utilisant une gamma caméra Sopha Medical Gammatome 2 équipée d'un collimateur à haute résolution et moyenne énergie, où alors on tue les animaux et on mesure à l'aide d'un compteur gamma la radioactivité associée à l'indium-111, des principaux organes et de la tumeur.

Quelques minutes après l'injection du dérivé de l'exemple 1 marqué, des tumeurs peuvent déjà être observées sur les images obtenues par gamma caméra. On constate qu'une forte majorité de la radioactivité circulante est éliminée en moins de 24 heures alors que celle fixée sur la tumeur s'établit en quelques heures et reste stable pendant au moins deux jours.

L'accumulation non spécifique de radioactivité a été essentiellement limitée aux reins.

La radioactivité mesurée après 24 heures au niveau des organes et des tumeurs montre un rapport tumeurs/organes élevé ($T/O > 3$) dans tous les organes, à l'exception des reins ($T/O = 0,7$).

La fixation tumorale a été spécifique, étant donné que les tumeurs n'ont pas accumulé de quantités significatives de radio-activité lorsque l'on n'a pas injecté de conjugués anticorps à double spécificité ou lorsque le conjugué était spécifique d'un antigène associé à une autre tumeur. Lorsque du DTPA marqué à l'indium-111 (analogue monovalent du dérivé de l'exemple 1 reconnu par l'anticorps anti-indium-DTPA avec une forte affinité) a été injecté à la place du dérivé de l'exemple 1, la radioactivité est excrétée très rapidement et on a observé peu de

fixation spécifique.

Quand on a injecté le fragment F(ab)'₂ directement marqué de l'anticorps anti-mélanome, on a observé une fixation spécifique sur la tumeur mais la radioactivité
5 circulante s'est éliminée plus lentement et les rapports tumeurs/organes à 24 heures étaient plus faibles (compris entre 0,4 et 7). La fixation non spécifique dans les reins et le foie a été particulièrement élevée (T/O = 0,4 et 1,5 respectivement).

10 En conclusion, les dérivés selon la présente invention présentent de remarquables résultats par rapport aux autres techniques directes et indirectes de visualisation.

Exemple 6

15 Tolérance des sondes chez l'animal

Des doses correspondant à 10 nanomoles, soit environ 10000 fois plus que la dose qui est nécessaire pour une radioimmunoscintigraphie, des composés 1 et 2 préalablement complexés avec de l'indium non radioactif et du
20 composé 3 ont été administrées à des souris BALB/c. Ces souris ont ensuite été observées pendant 16 jours dans des conditions normales d'élevage. On n'a constaté aucun signe de toxicité et la prise de poids de ces animaux n'a pas été significativement différente de celle d'un lot d'animaux
25 témoins.

Exemple 7

Comparaison entre le composé 1 marqué à l'indium-111 et le di-(DNP-lys)-DTPA dans le marquage de tumeurs chez la souris.

30 Les expériences sont conduites comme dans l'exemple 5, mais des souris reçoivent le di-(DNP-lys)-DTPA marqué à l'indium-111 (dérivé 1 de la demande de brevet français 86.13146) à la place du dérivé 1 décrit ci-dessus. Trois heures après injection de la sonde, les souris sont
35 disséquées et on compte la radioactivité gamma des principaux organes et de la tumeur. On observe que la tumeur a

accumulé une dose de radioactivité équivalente à celle obtenue avec les deux composés de l'exemple 1 de la présente invention. En revanche, l'élimination de l'excès de radioactivité est significativement plus rapide avec les composés de la présente invention, comme l'indique le tableau suivant :

Contraste cpm/g dans la tumeur / cpm/g dans l'organe à 3 heures après injection de la sonde radiomarquée			
Organe	: Nouvelle sonde : dérivé de : l'exemple 1	: Ancienne sonde : dérivé de : l'art antérieur	
Plasma	: 1,7	: 0,2	
Reins	: 3,5	: 1,0	
Foie	: 10,8	: 1,3	
Rate	: 12,7	: 1,8	
Poumon	: 8,2	: 0,9	
Coeur	: 14,9	: 2,1	

Le contraste tumeur sur organe est donc bien meilleur avec les dérivés la présente demande vis-à-vis de ceux de l'art antérieur.

REVENDEICATIONS

1. Dérivés caractérisés en ce qu'ils comprennent deux haptènes hydrophiles et un groupe effecteur constitué d'un isotope radioactif ou connu pour pouvoir être marqué par un isotope radioactif ou constitué d'un principe actif ou connu pour pouvoir fixer un principe actif, reliés par une chaîne de connexion.
2. Dérivés selon la revendication 1, caractérisés en ce que les haptènes hydrophiles ont un coefficient de partition eau-butanol supérieur à 1.
3. Dérivés selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce que les haptènes ont une constante de dissociation inférieure ou égale à 10^{-5} M avec un anticorps qui leur est spécifique.
4. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que les haptènes sont des groupes chélatants.
5. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisés en ce que les haptènes sont fixés au groupe effecteur par l'intermédiaire d'une chaîne de connexion qui est un peptide.
6. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 4 ou 5, caractérisés en ce que le groupe chélatant est un dérivé du DTPA.
7. Dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisés en ce que la chaîne de connexion comprend un groupement phénol.
8. Dérivés selon la revendication 7, caractérisés en ce que la chaîne de connexion comprend de la tyrosine ou est constitué de tyrosine.
9. La N- α -DTPA-tyrosyl-N- ϵ -DTPA-lysine.
10. La N- α -N- ϵ -di-(DTPA-glycyl)-lysyl-tyrosine.
11. La N- α -N- ϵ -di-(histamine-succinyl-glycyl)-lysyl-tyrosine.

12. Application des dérivés tels que définis à l'une quelconque des revendications 1 à 11 au diagnostic ou à la thérapeutique.

5 13. Kits diagnostiques ou thérapeutiques, caractérisés en ce qu'ils renferment au moins un des dérivés selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 et un anticorps ou fragment d'anticorps, notamment monoclonal reconnaissant un type cellulaire ou un tissu particulier, conjugué à un deuxième anticorps ou fragment d'anticorps
10 reconnaissant un groupement hapténique dudit dérivé.

 14. Réactifs immunologiques comprenant un conjugué, composé d'un anticorps ou fragment d'anticorps notamment monoclonal ayant une affinité pour un type cellulaire particulier ou un constituant normal ou
15 pathologique de l'organisme particulier, couplé à un anticorps ou fragment d'anticorps notamment monoclonal ayant une affinité pour un haptène donné, et une molécule synthétique comprenant au moins deux haptènes correspondant au conjugué ci-dessus et au moins un site, apte au marquage
20 radioactif ou à fixer un principe actif, liés de manière covalente, caractérisés en ce que la molécule synthétique est un dérivé ci-dessus défini.

INSTITUT NATIONAL

de la

PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FR 8912622

FA 432687

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	WO-A-8 303 679 (HYBRITECH INC.) * Page 27, lignes 27-31; page 32, lignes 9-35; page 33, lignes 1-6 *	1,2,4
X	EP-A-0 217 577 (HYBRITECH INC.) * Colonne 6, lignes 36-57; colonne 9, lignes 46-58; colonne 11, lignes 1-23; colonne 12, lignes 1-23; revendications 10,12,15,16 *	1,2,4, 13
X	EP-A-0 251 494 (THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) * Page 4, lignes 14-28; figure 1 *	1,2,4
X	EP-A-0 006 792 (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE) * Page 3, lignes 21-37; page 4, lignes 34-37; page 5, lignes 1-8 *	1,2,4
A	---	7-8
D,X	EP-A-0 263 046 (IMMUNOTECH) * Page 3, lignes 36-52; revendication 1 *	1,2,4
A	* Page 3, ligne 20 - page 6, ligne 57 *	1-14
A	US-A-4 479 930 (D.J. HNATOWICH) * Colonne 2, ligne 55 - colonne 3, ligne 4; colonne 3, lignes 40-50 *	4,6,9, 10,11
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
04-05-1990		LUZZATTO E.R.P.G.A.
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		