

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Appl. No. : 13/639,752
First-Named Inventor : Frédéric SEDEL
Filed : November 14, 2012
TC/A.U. : 1612
Examiner : Dennis J. PARAD

Docket No. : 4279-102
Customer No. : 06449
Confirmation No. : 9412

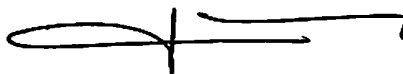
Director of the United States Patent
and Trademark Office
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

CERTIFICATION OF TRANSLATION

I, Bruno Flesselles, of BF IP, 36 rue Jean de la Fontaine, 75016 Paris, France, declare that I am well acquainted with both the French and English languages, and that the document listed below has been accurately translated, to the best of my knowledge and ability.

FR 10/52589, filed 6 April 2010

January 28, 2016
Date



Bruno Flesselles

The invention relates to novel pharmaceutical compositions containing a high dose of biotin, and also
5 to the use thereof in treating visual impairments, which are related in particular to optic atrophy.

Biotin (or vitamin H) is a ubiquitous water-soluble vitamin which is naturally found in many foods,
10 including offal, eggs and certain vegetables. Biotin taken in via food comes from biocytin (biotin-lysine dimer) which is a product of the degradation of proteins by digestive proteases and peptidases. Free biotin is produced in the intestinal lumen through the
15 action of biotinidase. The biotin is then transported by several transporters, in particular the sodium-dependent multivitamin transporter (SMVT). Biotin is eliminated essentially in the urine, in the form of catabolites. Acquired deficiencies can be observed in
20 malnourished individuals, or in the event of poisoning with avidin contained in egg white (avidin binds to biotin in the lumen of the digestive tract and prevents its absorption).

25 In mammals, biotin acts as a cofactor for four metabolism carboxylases involved in several key steps of energy metabolism, including pyruvate carboxylase (neoglucogenesis), 3-methylcrotonyl CoA and propionyl CoA carboxylases (catabolism of certain amino acids
30 which provide the Krebs cycle with intermediate metabolites); and acetyl CoA carboxylase (fatty acid synthesis).

Over the past few years, it has also been shown that
35 biotin can regulate the expression of many genes via a mechanism of biotinylation/debiotinylation of histones, which are protein structures that regulate DNA conformation and, in so doing, the access of certain

regions of the genome to transcription factors. It appears that a large number of genes in which the expression is regulated by biotin encode proteins involved in energy metabolism (Zempleni et al., 2009).

5

In humans, two hereditary metabolic diseases directly affect biotin metabolism: biotinidase deficiency and holocarboxylase synthetase deficiency (Zempleni et al., 2009). Biotinidase is essential for the release of free biotin from the biocytin generated by proteolysis. Holocarboxylase synthetase is, itself, involved in the binding of free biotin to 4 biotin-dependent apocarboxylases (3-methylcrotonyl CoA carboxylase, propionyl CoA carboxylase, pyruvate carboxylase and acetyl CoA carboxylase). These two diseases have polymorphic clinical presentations, but the first signs generally appear in infancy: metabolic acidosis, epileptic fits, hypotonia, consciousness disorders, cerebellar ataxia, perceptive deafness, skin rash, alopecia. These symptoms can be improved spectacularly (in particular in the case of biotinidase deficiency) with small doses of biotin (between 5 and 20 mg/day). Late forms of biotinidase deficiency beginning at adolescence or in adulthood have also been reported, in particular in some patients with medullary involvement or optic atrophy (Ramaekers et al., 1993; Wolf et al., 1998). In certain cases, these neurological problems were reversible with biotin.

Moreover, a genetic disease, of autosomal recessive transmission, not directly related to biotin metabolism, and called "biotin-responsive basal ganglia disease" (BBGD, OMIM # 607483) was described for the first time in 1998 in 10 patients originating from the Middle East (Ozand et al., 1998). The patients suffering from BBGD exhibited subacute episodes of encephalopathy which are often triggered by febrile episodes and were characterized by confusion, epilepsy,

external ophthalmoplegia, dysphagia, and generalized weakness sometimes leading to coma or even to death. The administration of very high doses of biotin (10 mg/kilo/day) during these attacks enabled partial or
5 complete recovery in a few days. In the absence of treatment, the patients exhibited serious neurological after-effects, in particular permanent widespread dystonia in relation to bilateral damage of the central gray nuclei. The gene responsible for this syndrome has
10 recently been identified: it is SLC19A3 encoding the hTHTR2 protein which is a secondary thiamine transporter (Zeng et al., 2005). Since biotin is not a substrate for hTHTR2 (Subramanian et al., 2006), the precise mechanism by which biotin improves the clinical
15 phenotype remains a mystery.

One hypothesis could be that biotin at very high doses activates the expression of the SLC19A3 gene, thus making it possible to restore the function of the
20 defective transporter. This "transcriptional activation therapy" hypothesis is based on the following observations:

- (1) biotin regulates many genes (Zempleni, 2009),
and
- 25 (2) the expression of the SLC19A3 gene decreases in the event of biotin deficiency (Vlasova et al., 2005), indicating that the activity of this gene is regulated (directly or indirectly) by biotin.

30 Another hypothesis would be that the forced activation of biotin-dependent enzymes, by high doses of biotin, results in activation of the Krebs cycle via the provision of anaplerotic substrates generated by these
35 enzymes, which could compensate for the thiamine transport deficit caused by the mutations of SLC19A3.

Biotin is present as an active ingredient in a certain number of medicaments. However, these compounds contain a low amount of biotin per dose.

5 In most cases, these medicaments also contain other active ingredients (in particular other vitamins). These products can be used orally. These products which have several active ingredients contain less than 1 mg of biotin (between 0.15 and 0.2 mg) per unit dose
10 (lozenge or tablet).

A medicament sold in France (Bayer® Biotine) is in the form of tablets or an injectable solution and contains only biotin, as active ingredient, and also excipients.
15 This medicament is used as an adjuvant treatment for diffuse alopecia. Bayer biotin contains 5 mg of biotin per unit dose (tablet or injectable vial).

In the context of the present invention, a novel
20 pharmaceutical form (novel dosage) of biotin has been developed, which allows oral administration of a large amount of biotin for each unit dose. These medicaments can be used for treating diseases which cause visual impairments through optic neuropathy, and in particular
25 certain forms of leukoencephalopathy exhibiting original clinical signs.

The high doses of biotin administered by the compositions according to the invention allow an
30 improvement in the clinical signs, the hypothesis for this improvement being that it is linked to good assimilation of the biotin provided. It should be noted that no toxic effect of the biotin at very high doses has been described in the medical literature or in the
35 patients treated by the inventors.

In a first aspect, the invention relates to a composition for oral administration, containing at

least 20 mg, preferably at least 40 mg, of biotin. This composition is preferentially for pharmaceutical use, and is therefore a medicament. It is understood that each unit dose of the composition according to the invention contains at least 20 mg, preferably at least 40 mg of biotin, as active ingredient.

In one preferred embodiment, said composition contains at least 50 mg of biotin. In another embodiment, said composition contains at least 75 mg of biotin. In the preferred embodiment, said composition contains at least 100 mg of biotin.

In one particular embodiment, the composition according to the invention contains biotin as sole active ingredient, and also excipients, without any other active ingredient.

An excipient should be understood to mean any compound forming part of the formulation which is intended to act as a simple support, i.e. which is not intended to have a biological effect.

The composition according to the invention can be in any form known in the art. In particular, it is in the form of gel capsules, tablets (optionally film-coated), pills or lozenges. In another embodiment, it is in the form of a syrup. Said syrup contains an amount of biotin such that it contains at least 20 mg, preferably at least 40 mg of biotin per unit dose. The biotin concentration in this syrup depends on the unit dose that it is desired to give to the patient.

Excipients that can be used by those skilled in the art are well known in the art. Talc (E553b), microcrystalline cellulose, lactose, starch (in particular corn starch), magnesium stearate (E572) and stearic acid (E570) can thus be chosen.

When the composition according to the invention is prepared in the form of gel capsules, a preferred excipient is microcrystalline cellulose.

5

When the composition is in the form of a film-coated tablet, said film coating can be formed from any substance known in the art, such as hypromellose (E464), ethylcellulose, macrogol, talc (E553b),
10 titanium dioxide (E171) or iron oxide (E172).

The active ingredient may also be colored (with any acceptable coloring, such as cochineal), which makes it possible to verify that the biotin is well dispersed in
15 the excipient.

In another aspect, the invention relates to an injectable composition, containing at least 20 mg, preferably at least 40 mg of biotin per unit dose,
20 preferably at least 50 mg, more preferably at least 75 mg, most preferably at least 100 mg of biotin per unit dose.

This injectable composition can be in the form of a vial containing the biotin, and also acceptable
25 excipients. The biotin concentration is adjusted according to the vial volume envisioned. Certain excipients which improve the solubility of biotin can be used.

30

The excipients that can be used for producing injectable compositions are well known in the art. Mention may particularly be made of sodium dihydrogen phosphate, sodium bicarbonate (E550i), methyl para-
35 hydroxybenzoate (E218) and propyl para-hydroxybenzoate (E216), which can be used together in proportions that those skilled in the art are capable of determining. The water used is water for injection. The injection is

preferably carried out intramuscularly. It can also be carried out intravenously.

5 The compositions containing a high dose of biotin are particularly advantageous and suitable for use in the treatment of a visual impairment or of a visual atrophy. This treatment may be a main treatment or an adjuvant treatment for a main treatment, aimed at attacking the causes of the visual atrophy. The
10 invention also relates to the use of biotin for preparing a medicament intended for treating a visual impairment or atrophy (or any other pathological condition mentioned below), and also to the methods for treating these pathological conditions by administering
15 biotin.

For such a use, it is preferable for the amount of biotin administered to the patient to be at least equal to 1 mg/kg/day, preferably 3 mg/kg/day, more preferably
20 5 mg/kg/day, or at least equal to 7.5 mg/kg/day, or even around 10 mg/kg/day. Between 100 and 700 mg of biotin per day are administered to patients, generally between 200 and 500 mg per day, generally around 300 mg per day.

25 Visual atrophy (or optic atrophy) is generally due to atrophy of the optic nerve, accompanied by a modification of the visual field and a decrease in visual acuity. It can be caused by an inflammatory,
30 tumor, vascular or toxic process.

In one particular embodiment, the visual atrophy is observed in the absence of a clear etiology as mentioned above.

35 In this embodiment, the visual atrophy is a symptom linked to a particular leukoencephalopathy, i.e. involvement of the white matter of the brain.

This leukoencephalopathy can be characterized by the following elements: involvement of the following regions of the white matter of the brain:
5 periventricular white matter, optic radiations, corticospinal tracts, cerebellar peduncles, as can be observed by MRI of the brain, and an elevation in the choline peak in the centrum semiovale, as can be observed by nuclear magnetic resonance spectroscopy
10 (NMRS).

Thus, specific MRI abnormalities are observed which are not found during other leukoencephalopathies of metabolic origin (reviewed in Sedel et al., 2008): (1)
15 corticospinal tract hypersignal; (2) optic radiation hypersignal; (3) cerebellar peduncle hypersignal; (4) moderate hypersignal of the periventricular white matter.

20 From the electrophysiological point of view, the patients exhibit abnormalities evoking unilateral or bilateral involvement of the optic nerves, even in the absence of a decrease in visual acuity.

25 An inflammatory reaction (hypercellularity >4 elements/mm³) is also often observed in patients.

This leukoencephalopathy sensitive to high doses of biotin is thus accompanied by unilateral or bilateral
30 involvement of the optic nerves, which may be symptomatic (decrease in visual acuity) or subclinical (detected only on the visual evoked potentials, without any clinical sign), which improves with treatment. The cerebellar syndrome and the elevation of the choline
35 peak observed by NMRS improve with treatment.

The diagnosis of this "biotin-sensitive leukoencephalopathy" is based on clinical, radiological and neurophysiological criteria:

5 a) Clinical criteria: disease progressing via
attacks which take hold over the course of a few days
and during which the patient can exhibit the following
symptoms: cerebellar syndrome, unilateral decrease in
visual acuity. Between these subacute episodes, the
patients can exhibit headaches, psychiatric problems,
10 and after-effects of the prior attacks: permanent
cerebellar syndrome, permanent unilateral or bilateral
decrease in visual acuity.

b) Radiological criteria: the brain MRI shows a
characteristic leukoencephalopathy which involves the
15 following regions of the white matter of the brain:
periventricular white matter, optic radiations,
corticospinal tracts, cerebellar peduncles. The MRI of
the optic nerves can show unilateral or bilateral optic
atrophy. The nuclear magnetic resonance spectroscopy
20 (NMRS) shows an elevation of the choline peak in the
centrum semiovale.

c) Neurophysiological criteria: the study of the
visual evoked potentials can show a bilateral increase
in the P100 waves, related to involvement of both optic
25 nerves, or an absence of a P100 wave in severe cases.
The visual evoked potential (VEP) is the electrical
response of the cortex which is caused by a visual
stimulation. The VEPs result from the recording of the
variations in potentials generated by the bioionic
30 activity of the occipital cortex subsequent to a visual
stimulus of which a parameter varies over time. The
VEPs study the macular and perimacular function and
also the conduction of the visual pathways.

35 The composition according to the invention is
administered to patients exhibiting the criteria
defined above, at a dose as mentioned above, in
particular 100 mg three times a day for three months.

In the event of a definite improvement in one of the parameters after clinical, radiological (MRI + NMRS) and electrophysiological reevaluation, the treatment
5 can be continued. The biotin dose can be adjusted (increased or decreased).

If none of the parameters has definitely improved, but there is a strong diagnostic suspicion (clinical, MRI,
10 strongly suggestive visually evoked potentials), the therapeutic treatment is continued for a further three months (with the biotin dose optionally being adjusted), at the end of which a further clinical, radiological (MRI + NMRS) and electrophysiological
15 evaluation is carried out.

The compositions according to the invention can also be used for treating patients suffering from other pathological conditions:

20 a) Suspicion of BBGD: episodes of encephalopathy triggered by febrile episodes and during which the brain MRI shows lesions in FLAIR/T2 hypersignal of the central gray nuclei (putamen and caudate nuclei). A dosage of 10 mg/kilo/day should be proposed during the
25 episodes of encephalopathy, in combination with vitamin B1 (500 mg/day) (Debs et al., 2010). This therapeutic test should be accompanied by a genetic study with a search for mutations in the SLC19A3 gene.

b) Suspicion of biotin-sensitive pathological
30 condition: neurological affection "without diagnosis" progressing via subacute episodes and combining diversely the following clinical signs: unilateral or bilateral optic atrophy, subacute cerebellar syndrome, involvement of the central gray nuclei.

35 c) Other neurological pathological condition potentially linked to an energy metabolism disorder: mention may be made of Alzheimer's disease, Huntington's chorea, Parkinson's disease, or certain

symptomatic epilepsies. The high-dose biotin can thus be used as an adjuvant treatment for reducing the symptoms observed for these diseases.

5 Description of the figures

Figure 1: MRI and NMR spectroscopy controls carried out on patient 1 before (figure 1A) and after treatment (figure 1B). On the MRI carried out before treatment, a leukoencephalopathy affecting the cerebellar peduncles (PC), the corticospinal tracts (CS), the optic radiations (RO) and the periventricular white matter (PV) is observed. The NMR spectroscopy shows an increase in the choline peak (Cho, peak furthest to the left), which should be at a height similar to the peak located just to its right. After treatment, the signs of leukoencephalopathy and the choline peak have clearly decreased.

Figure 2: MRI and NMR spectroscopy controls carried out on patient 2 before (figure 2A) and after treatment (figure 2B). On the MRI carried out before treatment, a leukoencephalopathy affecting the cerebellar peduncles (PC), the corticospinal tracts (CS), the optic radiations (RO) and the periventricular white matter (PV) is observed. The NMR spectroscopy shows an increase in the choline peak (Cho). After treatment, the choline peak has decreased.

Figure 3: MRI controls carried out on patient 3 before (figure 3A) and after treatment (figure 3B). On the MRI carried out before treatment, a leukoencephalopathy affecting the cerebellar peduncles (PC), the corticospinal tracts (CS), the optic radiations (RO) and more weakly the periventricular white matter (PV) is observed. After treatment, the signs of leukoencephalopathy have disappeared.

The following examples show the advantage of a treatment with the preparations according to the invention.

5 **Examples**

Preliminary example: preparation of gel capsules containing a high dose of biotin

10 The biotin, the raw material, is obtained from a pharmaceutical wholesale company, LA COOPER (Coopération Pharmaceutique Française) [French Pharmaceutical Cooperation] in Melun. Before mixing with the excipient (microcrystalline cellulose), a
15 pinch of cochineal is added to the active ingredient (tracer for good distribution in the mixture). The mixture is then distributed into No. 1 gel capsules (0.50 ml).

20 For 100 gel capsules containing a dose of 100 mg, the following mixture is prepared:

- biotin: 10 g
- cochineal: a pinch
- microcrystalline cellulose: qs to 50 ml.

25

Example 1

A female patient (54 years old in 2010) presented a decrease in visual acuity of the left eye, followed by
30 a decrease in visual acuity of the right eye 10 days later (May 2002). The decrease in visual acuity is painless, but was preceded by neck pain and headaches. Optical atrophy took hold rapidly. In December 2002, she exhibited, over the course of several days, balance
35 problems, sphincter problems (dysuria) and paresthesia of the four limbs.

The neurological examination demonstrated sharp reflexes in the four limbs with a bilateral Babinski sign, and also a left lower limb kinetic cerebellar syndrome.

5

The MRI carried out at this time shows a leukoencephalopathy affecting the periventricular white matter, the corticospinal tracts at the level of the internal capsules and of the brain stem with a clear hypersignal, the optic radiations and cerebellar peduncles, especially on the right. The NMR spectro on December 6, 2002, does not show any elevation of the choline peak. The medullary MRI is normal. Several MRI controls in July 2003 and May 2004 show a superposable appearance (figure 1A). However, the choline peak is abnormally elevated on the NMR spectro of May 2004.

10
15

In July 2003, she can count fingers at 20 cm on the right and see the hand move on the left.

20

In May 2004, the visual acuity numbers are 1.6/10 on the right and 1/50th on the left. This visual acuity remains stable until April 2006, at which time a treatment with biotin at the dose of 20 mg/day is introduced.

25

After two months of treatment, the patient has the impression of seeing a little better. After three months of treatment (07/2006), the visual acuity numbers are 4/10 on the right and still 1/50 on the left. This initial improvement is maintained at the 7-month control (Nov 2006).

30

In December 2006, the treatment is increased to 100 mg/day.

35

After two weeks, the patient begins to be able to read the headlines of a newspaper.

In July 2007 (after 15 months of treatment), the visual acuity is scored at 6/10 on the right and at 1/20 on the left. The visual VEPs then show a delayed right-side cortical response at +4.5DS (the response being zero before treatment).

The patient also indicates an improvement in her balance problems. The July (2007) MRI shows a normalization of the choline peak, and also a clear decrease in the leukoencephalopathy signal intensity (figure 1B).

Example 2

A treatment based on high-dose biotin was given to a 72-year-old patient (in 2010). This patient had complained of migraines since the age of 20.

In 2004 (66 years old), she exhibited psychiatric problems of persecution delirium type for a year. Manic-depressive psychosis was diagnosed, in the light of the recurrence of problems of manic attack type (two or three episodes in all).

In 2006, 2007 and 2008, she exhibited paroxysmal problems with walking described as balance problems associated with weakness of the lower limbs, which each time lasted less than 24 hours.

The 1st episode in 2006 was accompanied by a fever and the lumbar puncture carried out at the time showed 17 elements (lymphocytes), a CSF protein level of 0.3 g/l. Between these episodes, she continued to experience discrete balance problems.

At the end of 2006 a painless bilateral decrease in visual acuity occurred, predominantly on the right

side, which worsened in stages between 2006 and 2007 (in 2007, she could only count fingers on the right and the left visual acuity was evaluated at 2/10th).

- 5 During the summer of 2008, the balance problems became permanent.

The clinical examination in May 2009 showed a static, but also kinetic, discrete right upper limb cerebellar syndrome. The deep tendon reflexes were sharp in the
10 four limbs, but there was no Babinski sign.

The brain MRI showed a leukoencephalopathy made up of periventricular hypersignals, of pyramidal tracks at
15 the level of the cerebral peduncles and of the diencephalon. This leukoencephalopathy also affected the optic radiations and, to a lesser extent, the cerebellar peduncles (figure 2A).

20 The visual evoked potentials carried out in June 2009 showed no cortical response. The visual acuity numbers were 1 on the right, 2/10 on the left. At the time, the patient also complained of frequent headaches (at least one attack per week). Treatment with biotin (3 x 100
25 mg/day) was begun in June 2009.

In September 2009, the patient noted an improvement in her visual acuity: she could read telephone numbers, she distinguished faces and could read newspaper
30 headlines. She indicated a considerable decrease in the frequency of the headaches: 1 to 2/month. The balance was better, in particular when turning round. She was able to cook alone, which was not the case previously. The MRI was unchanged, as was the brain MRI spectro. On
35 the other hand, the visual evoked potentials showed the reappearance of a P100 wave on the left (no response was noted on the right) with a prolonged latency (126.5 ms).

The treatment was continued at the same dose. In January 2010 (after six months of treatment), the evoked potentials showed the beginnings of a P100 wave on the right and also an improvement in the latency of the left P100 wave (which went from 126.5 to 111.8 ms). The brain MRI spectro showed a clear decrease in the choline peak and in the choline/creatine ratio, whereas the leukoencephalopathy remains unchanged (figure 2B). The biotin treatment was increased to 600 mg/day. This treatment is still ongoing.

Example 3

A 40-year-old patient (born in 1970) experienced several transient episodes of double vision for which he had undergone a consultation in 2004, without it being possible to find an etiology.

In January 2007, he woke up in the morning with dysarthria having the false appearance of inebriation. This dysarthria worsened slightly between January and February 2007. In March 2007, after hospitalization, the clinical examination simply showed ataxic dysarthria and also a slight static cerebellar syndrome. The clinical examination was otherwise normal. The lumbar puncture showed an inflammatory fluid with 7 elements/mm³ (lymphocytes). The brain MRI showed a leukoencephalopathy affecting the corticospinal tracts at the level of the internal capsules and of the brain stem, the optic radiations and, more weakly, the periventricular white matter (figure 3A). Visual acuity was normal.

In March 2007, a biotin treatment (200 mg/day) was begun for a total period of two months. Although no clinical improvement was observed, the control MRI carried out in January 2008 showed a complete

disappearance of the leukoencephalopathy (figure 3B). The visual evoked potentials showed cortical components of normal latency and morphology on the right, but of reduced amplitude. On the left, the cortical response was dispersed. These results were in favor of a subclinical dysfunction of the left visual pathways.

Example 4

10 A 49-year-old patient, born in 1961, had a history of
bilateral posterial uveitis complicated by
chorioretinitis and bilateral cataracts. No etiology
was found despite a very complete work-up. She is
overweight and has type 2 diabetes. She has been
15 monitored in psychiatry since 1998 for psychotic
disorders which appeared following the birth of her
son. Since this time, she has been repeatedly
hospitalized for delirious episodes with dream-like
hallucinations. An MRI was carried out in the context
20 of the work-up for her disease and shows a
leukoencephalopathy affecting the corticospinal tracts,
the cerebellar peduncles, the optic radiations and the
periventricular white substance. The clinical
examination showed very discrete cerebellar ataxia but
25 nothing more.

In September 2008, a biotin treatment (100 mg twice a day) was begun. Three months later (December), the control MRI showed a significant decrease in the
30 choline peak, but with no modification of the
leukoencephalopathy. The patient subsequently no longer
attended for follow-up.

Conclusion

35

The following Table I summarizes the clinical symptoms and radiological and neurophysiological observations in the patients of examples 1 to 4.

Patient	1	2	3	4
Clinical characteristics				
Sex	F	F	M	F
Age at last examination	53	71	38	47
Age at beginning of problems	46	68	34	37
Bilateral visual acuity decrease	+	+	-	+
Cerebellar syndrome	+	+	+	+
Pyramidal syndrome	+	-	-	-
Psychiatric problems	-	+	-	+
Headaches	+	+	-	-
Radiological, electrophysiological and biological characteristics				
Periventricular leukoencephalopathy	+	+	-	+
Optical radiation hypersignal	+	+	+	+
Cerebellar peduncle hypersignal	+	+	-	+
Corticospinal tract hypersignal	+	+	+	+
Choline elevation (NMRS)	+	+	ND	+
VEP: delay of the 100 waves or lack of response	+	+	+	ND
EMG	NI	NI	NI	NI
Elements per mm ³ of cerebrospinal fluid (CSF)	8	17	7	3
Proteins in the CSF	0.72	0.3	0.5	0.34

ND: not done

Table I: characteristics before treatment

5 Thus, all the patients showed a clinical or paraclinical improvement following the introduction of a treatment with biotin at high doses.

10 This improvement related to the clinical manifestations (visual acuity and ataxia) in 2 patients/4 (patients 1 and 2), to the MRI abnormalities (decrease in white matter hypersignal) in 2 patients/4 (patients 1 and 3),

to the magnetic resonance spectroscopy abnormalities (decrease in the choline peak in the centrum semiovale) in 3 patients/3 (1, 2, 4), and to the visual evoked potentials in 2 patients/2 (patients 1 and 2). It should be noted that the two patients who did not experience a clear clinical improvement with treatment (although the MRI or spectroscopy parameters were improved) showed only very few symptoms before the beginning of treatment.

Not all the patients had the same follow-up time under treatment (between 3 months and 1 year). Nevertheless, it appears that the first signs to be improved are:

1) the decrease in visual acuity in the patients showing a reduction before treatment (patients 1 and 2);

2) the decrease in the choline peak evaluated by NMR spectro and the improvement in the visual evoked potentials, then

3) after at least a year, the decrease in the hypersignal of the white matter in MRI (observed in the two patients followed up with MRI for a year after treatment (patients 1 and 3)).

Patient	Improvement visual acuity	Improvement cerebellar syndrome	Improvement leucopathy (MRI)	Improvement choline peak	Improvement VEPs
1	+	+	+	+	+
2	+	+/-	-	+	+
3	-	-	+	ND	ND
4	-	-	-	+	ND

ND: not done

Table II: results after treatment

References

Dabbagh O, Brismar J, Gascon GG, Ozand PT. The clinical spectrum of biotin-treatable encephalopathies in Saudi Arabia. Brain Dev. 1994; 16 Suppl: 72-80.

- Debs R, Depienne C, Rastetter A, Bellanger A, Degos B, Galanaud D, Keren B, Lyon-Caen O, Brice A, Sedel F. Biotin-Responsive Basal Ganglia Disease (BBGD) in Europeans with novel SLC19A3 mutations. Arch Neurol. 2010 Jan; 67(1): 126-30.
- Ozand PT, Gascon GG, Al Essa M, Joshi S, Al Jishi E, Bakheet S, Al Watban J, Al-Kawi MZ, Dabbagh O. Biotin-responsive basal ganglia disease: a novel entity. Brain. 1998 Jul; 121 (Pt 7): 1267-79.
- Ramaekers VT, Brab M, Rau G, Heimann G. (1993) Recovery from neurological deficits following biotin treatment in a biotinidase Km variant. Neuropediatrics 24: 98-102.
- Sedel F, Tourbah A, Fontaine B, Lubetzki C, Baumann N, Saudubray JM, Lyon-Caen O. Leukoencephalopathies associated with Inborn Errors of Metabolism in adults: a diagnostic approach. J Inherit Metab Dis. 2008 Jun; 31(3): 295-307.
- Subramanian VS, Marchant JS, Said HM. Biotin-responsive basal ganglia disease-linked mutations inhibit thiamine transport via hTHTR2: biotin is not a substrate for hTHTR2. Am J Physiol. 2006; 291(5): 851-859.
- Vlasova TI, Stratton SL, Wells AM, Mock NI, Mock DM. Biotin deficiency reduces expression of SLC19A3, a potential biotin transporter, in leukocytes from human blood. J Nutr. 2005; 135(1): 42-47.
- Wolf B, Pomponio RJ, Norrgard KJ, Lott IT, Baumgartner ER, Suormala T, Ramaekers VT, Coskun T, Tokatli A, Ozalp I, Hymes J. J Pediatr. 1998; 132(2): 362-5.
- Zempleni J, Wijeratne SS, Hassan YI. Biotin. Biofactors 2009; 35(1): 36-46.
- Zeng WQ, Al-Yamani E, Acierno JS Jr et al. Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in SCL19A3. Am J Hum Genet. 2005; 77(1): 16-26.

Claims

1. A composition for oral administration, containing more than 20 mg of biotin per unit dose.
5
2. The composition as claimed in claim 1, characterized in that it is in the form of gel capsules, tablets (optionally film-coated), lozenges or pills.
10
3. The composition as claimed in either of claims 1 and 2, characterized in that it contains biotin and excipients, without any other active ingredient.
- 15 4. The composition as claimed in one of claims 1 to 3, characterized in that it contains excipients chosen from talc and microcrystalline cellulose.
- 20 5. The biotin for use thereof in the treatment of a visual impairment or of a visual atrophy.
6. The biotin for use thereof in the treatment of a visual impairment as claimed in claim 5, in which the amount of biotin administered to the patient is at
25 least equal to 1 mg/kg/day.
7. The biotin for use thereof in the treatment of a visual impairment as claimed in claim 5 or 6, in which the visual impairment is related to leukoencephalopathy
30 involving the following regions of the white matter of the brain: periventricular white matter, optic radiations, corticospinal tracts, cerebellar peduncles, as observed by brain MRI, and an elevation of the choline peak in the centrum semiovale, as observed by
35 nuclear magnetic resonance spectroscopy.

8. The biotin for use thereof in the treatment of a neurological pathological condition related to an energy metabolism disorder.

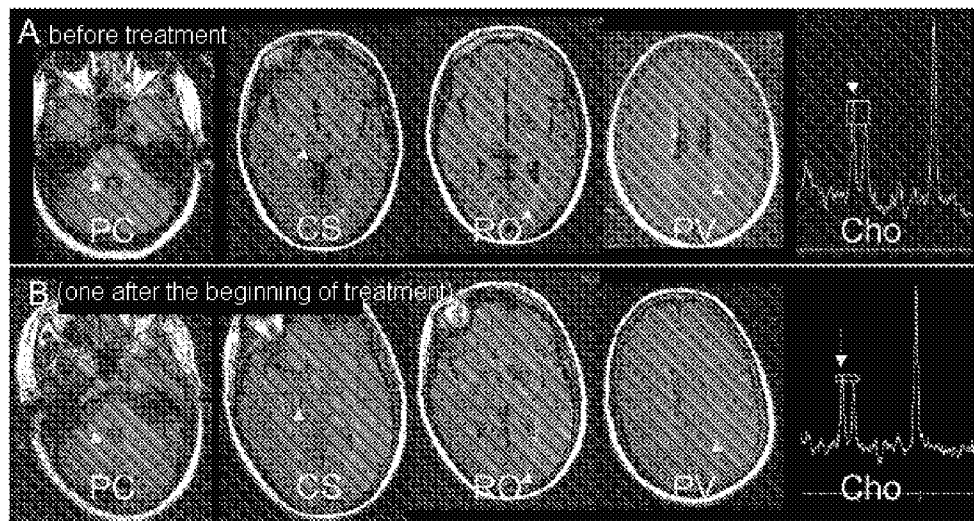


Figure 1

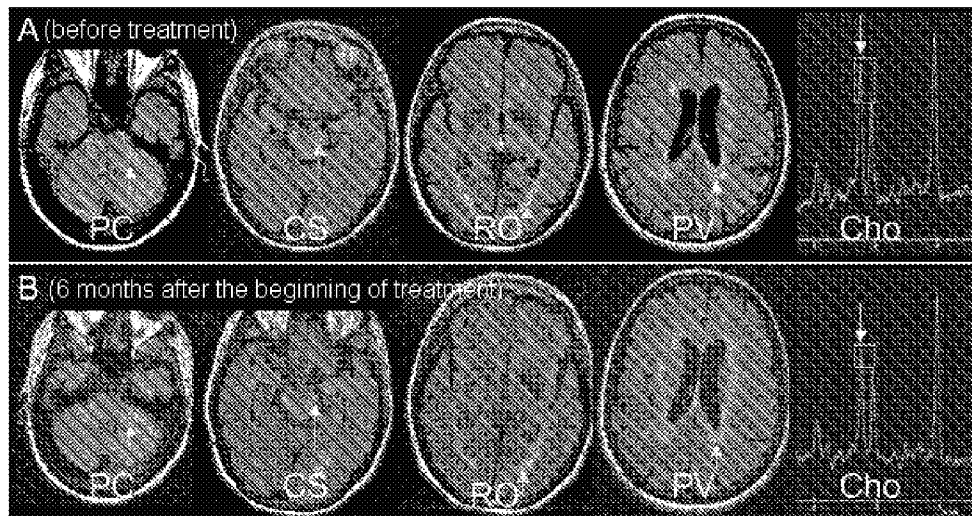


Figure 2

2/2

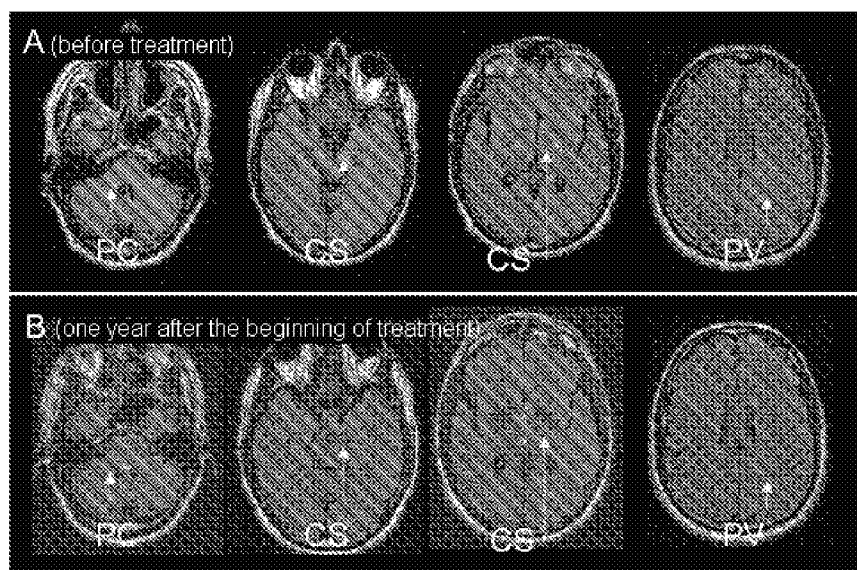


Figure 3



d'invention

Certificat d'utilité

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 13 AVR. 2011

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
La Directrice des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Planche', is written over a horizontal line.

Martine PLANCHE



26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI Direct 0820 210 211

Pour déposer par télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

REMISE DES PIÈCES DATE 06/04/2010 N° D'ENREGISTREMENT 1052589 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE A QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE FLESSELLES Bruno BF IP BF IP 4 rue Ribera 75016 Paris FR
Vos références pour ce dossier BRV 27- FR PRIO		
2 NATURE DE LA DEMANDE		
Nature	Brevet d'invention	
3 TITRE DE L'INVENTION		
Titre	Compositions pharmaceutiques fortement dosées en biotine	
4 PRIORITÉ		
5-1 DEMANDEUR		
Personne morale		
Nom	ASSISTANCE PUBLIQUE - HOPITAUX DE PARIS	
Affaire suivie par		
Rue	3, avenue Victoria	
Code postal et ville	75004 PARIS	
Pays	FR	
Nationalité	FR	
Forme juridique		
N° SIREN		
Code APE-NAF		
N° de téléphone		
N° de télécopie		
Courrier électronique		
6 MANDATAIRE		
Nom	FLESSELLES	
Prénom	Bruno	
Cabinet/Société	BF IP	
Qualité	CPI, pas de pouvoir	
Rue	BF IP 4 rue Ribera	
Code postal et ville	75016 Paris	
Pays	FR	
N° de téléphone	+33951755205	
N° de télécopie	+33956755205	
Courrier électronique	bruno.flesselles@bf-ip.com	

7 RAPPORT DE RECHERCHE																					
Type d'établissement	Établissement immédiat																				
8 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES																					
En qualité de	Organisme à but non lucratif																				
9 DÉPÔT DE MATIÈRE BIOLOGIQUE																					
10 SÉQUENCES DE NUCLÉOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS																					
11 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Fichier électronique</th> <th>Détails</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Inventeur</td> <td>Design.PDF</td> </tr> <tr> <td>Fichier corps du texte</td> <td>textebrevet.pdf page(s) 17, D 15, R 1, AB 1</td> </tr> <tr> <td>Fichier Dessins</td> <td>dessins.pdf</td> </tr> </tbody> </table>	Fichier électronique	Détails	Inventeur	Design.PDF	Fichier corps du texte	textebrevet.pdf page(s) 17, D 15, R 1, AB 1	Fichier Dessins	dessins.pdf												
Fichier électronique	Détails																				
Inventeur	Design.PDF																				
Fichier corps du texte	textebrevet.pdf page(s) 17, D 15, R 1, AB 1																				
Fichier Dessins	dessins.pdf																				
12 MODE DE PAIEMENT																					
Mode de paiement	Prélèvement du compte client																				
Numéro du compte	3942																				
13 REDEVANCES JOINTES	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Devise</th> <th>Taux</th> <th>Quantité</th> <th>Montant à payer</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>062R Dépôt à taux réduit</td> <td>EURO</td> <td>13</td> <td>1</td> <td>13</td> </tr> <tr> <td>063R Rapport de recherche à taux réduit</td> <td>EURO</td> <td>250</td> <td>1</td> <td>250</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>EURO</td> <td></td> <td></td> <td>263</td> </tr> </tbody> </table>		Devise	Taux	Quantité	Montant à payer	062R Dépôt à taux réduit	EURO	13	1	13	063R Rapport de recherche à taux réduit	EURO	250	1	250	Total	EURO			263
	Devise	Taux	Quantité	Montant à payer																	
062R Dépôt à taux réduit	EURO	13	1	13																	
063R Rapport de recherche à taux réduit	EURO	250	1	250																	
Total	EURO			263																	
14 ANNOTATION																					
15 DATE ET SIGNATURE																					
Signé numériquement par	Subject: FR, BF IP, Bruno FLESSELLES; Issuer: FR, INPI, INPI-EN-LIGNE 1.0																				
Date	06 April 2010																				
Signataire	Mandataire																				

Conformément aux dispositions de la loi n° 78-17 du 6.01.1978 modifiée relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, vous bénéficiez d'un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI. Les données à caractère personnel que vous êtes tenu(e) de nous fournir dans ce formulaire sont exclusivement utilisées pour identifier le titulaire de la demande et son éventuel mandataire.

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITE

Réception électronique de la soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou d'un certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été automatiquement attribués.

Numéro de demande	1052589	
Numéro de soumission	1000076140	
Date de réception	06 avril 2010	
Vos références	BRV 27- FR PRIO	
Demandeur	ASSISTANCE PUBLIQUE - HOPITAUX DE PARIS	
Pays	FR	
Titre de l'invention	Compositions pharmaceutiques fortement dosées en biotine	
Documents envoyés	package-data.xml application-body.xml requetefr.pdf (2 p.) comment.pdf (1 p.) design.pdf (1 p.) dessins.pdf (2 p.)	requetefr.xml fr-fee-sheet.xml validation-log.xml indication-bio-deposit.xml fr-office-specific-info.xml textebrevet.pdf (17 p.)
Déposé par	CN=Bruno FLESSELLES,O=BF IP,C=FR	
Méthode de dépôt	Dépôt électronique	
Date et heure de réception électronique	06 avril 2010, 17:52:09 (CEST)	
Empreinte officielle du dépôt	7A:62:FF:88:23:22:86:3F:01:BE:2E:72:5F:46:10:A2:02:2B:AB:B2	

//INPI, section dépôt/



26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI Direct 0820 210 211

Pour déposer par télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)

Vos références pour ce dossier	BRV 27- FR PRIO
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	
TITRE DE L'INVENTION	
Titre	Compositions pharmaceutiques fortement dosées en biotine
LE(S) DEMANDEUR(S)	ASSISTANCE PUBLIQUE - HOPITAUX DE PARIS
DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S)	
INVENTEUR 1	
Nom	SEDEL
Prénom	Frédéric
Rue	17 rue des rigoles
Code postal et ville	75020 PARIS
Pays	FR
INVENTEUR 2	
Nom	BELLANGER
Prénom	Agnès
Rue	73 boulevard de Montparnasse
Code postal et ville	75006 PARIS
Pays	FR
DATE ET SIGNATURE	
Signé numériquement par	Subject: FR, BF IP, Bruno FLESSELLES; Issuer: FR, INPI, INPI-EN-LIGNE 1.0
Date	06 April 2010
Signataire	Mandataire

Conformément aux dispositions de la loi n° 78-17 du 6.01.1978 modifiée relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, vous bénéficiez d'un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI. Les données à caractère personnel que vous êtes tenu(e) de nous fournir dans ce formulaire sont exclusivement utilisées pour identifier le titulaire de la demande et son éventuel mandataire.

L'invention se rapporte à de nouvelles compositions pharmaceutiques fortement dosées en biotine, ainsi qu'à leur utilisation dans le traitement de déficiences visuelles, notamment liées à des atrophies optiques.

5

La biotine (ou vitamine H) est une vitamine hydrosoluble ubiquitaire, naturellement retrouvée dans de nombreux aliments dont les abats, l'œuf et certains légumes. La biotine apportée par l'alimentation provient de la biocytine (dimère biotine-lysine) produit de la dégradation des protéines par les protéases et peptidases digestives. La biotine libre est produite dans la lumière intestinale par action de la biotinidase. La biotine est ensuite transportée par plusieurs transporteurs dont le *sodium-dependent multivitamin transporter* (SMVT). L'élimination de la biotine est essentiellement urinaire sous forme de catabolites. Des carences acquises peuvent s'observer chez les sujets dénutris, ou en cas d'intoxication par l'avidine contenue dans le blanc d'œuf (l'avidine se lie à la biotine dans la lumière du tube digestif et empêche son absorption).

Chez les mammifères, la biotine sert de co-facteur pour quatre carboxylases du métabolisme intervenant dans plusieurs étapes-clé du métabolisme énergétique dont la pyruvate carboxylase (néoglucogénèse), la 3-methylcrotonyl CoA et la propionyl CoA carboxylases (catabolisme de certains acides aminés qui fournissent des métabolites intermédiaires au cycle de Krebs) ; et l'acétyl CoA carboxylase (synthèse des acides gras).

Au cours des dernières années, il a en outre été montré que la biotine pouvait réguler l'expression de nombreux gènes via un mécanisme de biotinylation/dé-biotinylation des histones, édifices protéiques qui régulent la conformation de l'ADN et, par ce biais, l'accès de certaines régions du génome aux facteurs de transcription. Il semble qu'un grand nombre des gènes dont l'expression est régulée par la biotine codent pour des protéines impliquées dans le métabolisme énergétique (Zempleni et al., 2009).

Chez l'homme, deux maladies métaboliques héréditaires touchent directement le métabolisme de la biotine : le déficit en biotinidase et le déficit en holocarboxylase synthétase (Zempleni et al., 2009). La biotinidase est indispensable pour la libération de la biotine libre à partir de la biocytine générée par protéolyse. L'holocarboxylase synthase est, elle, impliquée dans la fixation de la biotine libre aux 4 apocarboxylases biotine dépendantes (3-methylcrotonyl CoA carboxylase, propionyl CoA carboxylase, pyruvate carboxylase et acétyl CoA

carboxylase). Ces deux maladies ont des présentations cliniques polymorphes mais les premiers signes apparaissent en général dans la petite enfance: acidose métabolique, crises d'épilepsie, hypotonie, troubles de conscience, ataxie cérébelleuse, surdité de perception, rash cutané, alopecie. Ces symptômes
 5 peuvent être améliorés de façon spectaculaire (notamment en cas de déficit en biotinidase) par de petites doses de biotine (entre 5 et 20 mg/jour). Des formes tardives de déficit en biotinidase débutant à l'adolescence ou à l'âge adulte ont également été rapportées notamment chez quelques patients présentant des atteintes médullaires ou une atrophie optique (Ramaekers et al., 1993 ; Wolf et al.,
 10 1998). Dans certains cas, ces troubles neurologiques étaient réversibles sous biotine.

Par ailleurs, une maladie génétique, de transmission autosomique récessive, non directement liée au métabolisme de la biotine, et appelée « biotin-responsive basal ganglia disease » (BBGD, OMIM # 607483) a été décrit pour la
 15 première fois en 1998 chez 10 patients originaires du moyen orient (Ozand et al, 1998). Les patients atteints de BBGD présentaient des épisodes subaigus d'encéphalopathie souvent déclenchés par des épisodes fébriles et caractérisés par une confusion, une épilepsie, une ophtalmoplégie externe, une dysphagie, une faiblesse généralisée menant parfois au coma voire au décès. L'administration de
 20 très fortes doses de biotine (10 mg/kilo/jour) pendant ces accès permettait une récupération partielle ou complète en quelques jours. En absence de traitement, les patients présentaient des séquelles neurologiques graves, notamment une dystonie généralisée permanente en rapport avec des lésions bilatérales des noyaux gris centraux. Le gène responsable de ce syndrome a été identifié
 25 récemment: il s'agit de SLC19A3 codant pour la protéine hTHTR2 qui est un transporteur secondaire de la thiamine (Zeng et al, 2005). La biotine n'étant pas un substrat de hTHTR2 (Subramanian et al., 2006), le mécanisme précis par lequel la biotine améliore le phénotype clinique reste mystérieux.

Une hypothèse pourrait être que la biotine à très forte doses active
 30 l'expression du gène SLC19A3, permettant ainsi de restaurer la fonction du transporteur défectueux. Cette hypothèse de « thérapie d'activation transcriptionnelle » repose sur les observations suivantes

- (1) la biotine régule de nombreux gènes (Zempleni, 2009), et
- (2) l'expression du gène SLC19A3 diminue en cas de carence en
 35 biotine (Vlasova et al., 2005), indiquant que l'activité de ce gène est régulée (directement ou indirectement) par la biotine.

Une autre hypothèse serait que l'activation forcée par de fortes doses de biotine des enzymes biotine dépendantes conduise à une activation du cycle de Krebs via l'apport de substrats anaplérotiques générés par ces enzymes, qui pourrait pallier au déficit du transport de la thiamine, causé par les mutations de SLC19A3.

La biotine est présente en tant que principe actif dans un certain nombre de médicaments. Toutefois, ces composés contiennent une faible quantité de biotine par dose.

10 Dans la plupart des cas, ces médicaments contiennent également d'autres principes actifs (notamment d'autres vitamines). Ces produits sont utilisables par voie orale. Ces produits ayant plusieurs principes actifs contiennent moins de 1 mg de biotine (entre 0,15 et 0,2 mg) par dose unitaire (tablette ou comprimé).

15 Un médicament vendu en France (Biotine Bayer®) se présente sous forme de comprimés ou de solution injectable et ne contient que de la biotine, en tant que principe actif, ainsi que des excipients. Ce médicament est utilisé comme traitement d'appoint des alopécies diffuses. La biotine Bayer contient 5 mg de biotine par dose unitaire (comprimé ou ampoule injectable).

20 Dans le cadre de la présente invention, une nouvelle forme pharmaceutique (nouveau dosage) de biotine a été développée, permettant une administration d'une grande quantité de biotine par voie orale pour chaque dose unitaire. Ces médicaments peuvent être utilisés pour le traitement de maladies induisant des déficiences visuelles par neuropathie optique, et notamment certaines formes de leucoencéphalopathies présentant des signes cliniques originaux.

25 Les fortes doses de biotine administrées par les compositions selon l'invention permettent une amélioration des signes cliniques, dont on fait l'hypothèse qu'elle est liée à une bonne assimilation de la biotine apportée. Il est à noter qu'aucun effet toxique de la biotine à très fortes doses n'a été décrit dans la littérature médicale ou chez les patients traités par les inventeurs.

30 Dans un premier aspect, l'invention se rapporte à une composition pour une administration par voie orale, contenant au moins 20mg, de préférence au moins 40 mg de biotine. Cette composition est préférentiellement à usage pharmaceutique, et est donc un médicament. Il est entendu que chaque dose

unitaire de la composition selon l'invention contient au moins 20 mg, de préférence au moins 40 mg de biotine, en tant que principe actif.

Dans un mode de réalisation préféré, ladite composition contient au moins 50 mg de biotine. Dans un autre mode de réalisation, ladite composition contient
5 au moins 75 mg de biotine. Dans le mode de réalisation préféré, ladite composition contient au moins 100 mg de biotine.

Dans un mode de réalisation particulier, la composition selon l'invention contient de la biotine en tant que principe actif unique, ainsi que des excipients, sans autre principe actif.

10 Un excipient doit s'entendre comme tout composé formant partie de la formulation qui est destiné à agir comme simple support, c'est-à-dire qui n'est pas destiné à avoir une activité biologique.

La composition selon l'invention peut se présenter sous toute forme connue dans l'art. En particulier, elle se présente sous la forme de gélules, de comprimés
15 (pelliculés ou non), de pilules ou de tablettes. Dans un autre mode de réalisation, elle se présente sous la forme d'un sirop. Ledit sirop est dosé de telle sorte qu'il contienne au moins 20 mg, de préférence au moins 40 mg de biotine par dose unitaire. La concentration de biotine dans ce sirop est fonction de la dose unitaire que l'on souhaite donner au patient.

20 Des excipients utilisables par l'homme du métier sont bien connus dans l'art. On peut ainsi choisir le talc (E553b), la cellulose microcristalline, le lactose, l'amidon (en particulier de maïs), le stéarate de magnésium (E572), l'acide stéarique (E570).

Lorsque que l'on prépare la composition selon l'invention sous forme de
25 gélules, un excipient préféré est la cellulose microcristalline.

Lorsque la composition se présente sous la forme d'un comprimé pelliculé, ladite pellicule peut être formée de toute substance connue dans l'art, telle que l'hypromellose (E464), l'éthylcellulose, la macrogol, le Talc (E553b), le dioxyde de titane (E171), l'oxyde de fer (E172).

30 On peut également colorer le principe actif (par tout colorant acceptable, tel que le carmin), ce qui permet de vérifier la bonne dispersion de la biotine dans l'excipient.

Dans un autre aspect, l'invention se rapporte à une composition injectable
35 contenant au moins 20 mg, de préférence au moins 40 mg de biotine par dose

unitaire, de préférence au moins 50 mg, de façon plus préférée au moins 75 mg, de façon la plus préférée au moins 100 mg de biotine par dose unitaire.

Cette composition injectable peut se présenter sous la forme d'une ampoule contenant la biotine, ainsi que des excipients acceptables. On ajuste la concentration de biotine selon le volume envisagé de l'ampoule. Certains excipients améliorant la solubilité de la biotine peuvent être utilisés.

Les excipients utilisables pour la fabrication de compositions injectables sont bien connus dans l'art. On peut notamment citer le dihydrogénophosphate de sodium, le bicarbonate de sodium (E550i), le parahydroxybenzoate de méthyle (E218), le parahydroxybenzoate de propyle (E216), qui peuvent être utilisés ensemble dans des proportions que sait déterminer l'homme du métier. L'eau utilisée est destinée aux préparations injectables. L'injection se fait de préférence par voie intramusculaire. Elle peut également être réalisée par voie intraveineuse.

Les compositions fortement dosées en biotine sont particulièrement intéressantes et adaptées pour une utilisation dans le traitement d'une déficience ou d'une atrophie visuelle. Ce traitement peut être un traitement principal ou un traitement d'appoint d'un traitement principal visant à s'attaquer aux causes de l'atrophie visuelle. L'invention se rapporte également à l'utilisation de biotine pour la préparation d'un médicament destiné à traiter une déficience ou une atrophie visuelle (ou tout autre pathologie citée plus bas), ainsi qu'aux méthodes de traitement de ces pathologies par administration de biotine.

Pour une telle utilisation, il est préférable que la quantité de biotine administrée au patient soit au moins égale à 1 mg/kg/jour, de préférence 3 mg/kg/jour, de façon plus préférée 5 mg/kg/jour, ou au moins égale à 7,5 mg/kg/jour, voire autour de 10 mg/kg/jour. On administre entre 100 et 700 mg de biotine par jour aux patients, généralement entre 200 et 500 mg par jour, généralement autour de 300 mg par jour.

L'atrophie visuelle (ou atrophie optique) est généralement due à une atrophie du nerf optique, s'accompagnant d'une modification du champ visuel et d'une baisse de l'acuité visuelle. Elle peut être provoquée par un processus inflammatoire, tumoral, vasculaire ou toxique.

Dans un mode de réalisation particulier, l'atrophie visuelle est observée en l'absence d'une étiologie claire telle que mentionnée ci-dessus.

Dans ce mode de réalisation, l'atrophie visuelle est un symptôme lié à une leuco-encéphalopathie particulière, c'est-à-dire une atteinte de la substance blanche du cerveau.

5 Cette leuco-encéphalopathie peut être caractérisée par les éléments suivants : atteinte des régions suivantes de la substance blanche cérébrale : substance blanche péri-ventriculaire, radiations optiques, faisceaux cortico-spinaux, pédoncules cérébelleux, ainsi que l'on peut l'observer par IRM cérébrale, et une élévation du pic de choline dans le centre semi-ovale, ainsi qu'il peut être observé par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRMN).

10 Ainsi, on observe des anomalies IRM spécifiques et non retrouvées au cours d'autres leucoencéphalopathies d'origine métabolique (revue dans Sedel et al., 2008) : (1) hypersignal des faisceaux cortico-spinaux ; (2) hypersignal des radiations optiques ; (3) hypersignal des pédoncules cérébelleux ; (4) hypersignal modéré de la substance blanche péri-ventriculaire.

15 Sur le plan électrophysiologique, les patients présentent des anomalies évoquant une atteinte uni-ou bi-latérale des nerfs optiques, même en absence de baisse d'acuité visuelle.

Une réaction inflammatoire (hypercellularité >4 éléments/mm³) est également souvent observée chez les patients.

20 Cette leuco-encéphalopathie sensible à de fortes doses de biotine s'accompagne ainsi d'une atteinte uni-ou bilatérale des nerfs optiques qui peut être symptomatique (baisse d'acuité visuelle) ou infra-clinique (détectée uniquement sur les potentiels évoqués visuels, sans signe clinique), qui s'améliore sous traitement. Le syndrome cérébelleux et l'élévation du pic de choline observée par SRMN s'améliorent sous traitement.

Le diagnostic de cette « leuco-encéphalopathie biotine sensible » repose sur des critères cliniques, radiologiques et neurophysiologiques :

30 a) critères cliniques : maladie évoluant par poussées s'installant sur quelques jours et au cours desquels le patient peut présenter les symptômes suivants ; syndrome cérébelleux, baisse de l'acuité visuelle unilatérale. Entre ces épisodes subaigus, les patients peuvent présenter des céphalées, des troubles psychiatriques, et des séquelles des poussées antérieures : syndrome cérébelleux permanent, baisse de l'acuité visuelle uni ou bi latérale permanente.

35 b) critères radiologiques : L'IRM cérébrale montre une leuco-encéphalopathie caractéristique qui intéresse les régions suivantes de la

substance blanche cérébrale : substance blanche péri-ventriculaire, radiations optiques, faisceaux cortico-spinaux, péduncules cérébelleux. L'IRM des nerfs optiques peut montrer une atrophie optique uni- ou bi-latérale. La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRMN) montre une élévation du pic de choline dans le centre semi-ovale.

5 c) critères neurophysiologiques : l'étude des potentiels évoqués visuels peut montrer une augmentation des ondes P100 bilatérale en rapport avec une atteinte des deux nerfs optiques ou une absence d'onde P100 dans les cas sévères. Le potentiel évoqué visuel (PEV) est la réponse électrique du cortex qui est provoquée par une stimulation visuelle. Les PEV résultent de l'enregistrement des variations de potentiels générés par l'activité bio-ionique du cortex occipital consécutif à un stimulus visuel dont un paramètre varie dans le temps. Les PEV étudient le fonctionnement maculaire et périmaculaire ainsi que la conduction des voies visuelles.

15

On administre la composition selon l'invention aux patients présentant les critères sus-définis, à une dose telle que mentionnée ci-dessus, en particulier, 100 mg trois fois par jours pendant 3 mois.

20 En cas d'amélioration certaine d'un des paramètres après réévaluation clinique, radiologique (IRM+SRMN) et électrophysiologique, le traitement peut être poursuivi. La dose de biotine peut être adaptée (augmentée ou diminuée).

Si aucun des paramètres ne s'est amélioré de façon certaine, mais que l'on a une forte suspicion diagnostique (clinique, IRM, potentiels évoqués visuels fortement évocateurs), on poursuit le traitement thérapeutique pendant 3 mois supplémentaires (en adaptant éventuellement la dose de biotine) au terme desquels une nouvelle évaluation clinique, radiologique (IRM+SRMN) et électrophysiologique est effectuée.

30 On peut également utiliser les compositions selon l'invention pour le traitement de patients souffrant d'autres pathologies :

a) suspicion de BBGD : épisodes d'encéphalopathie déclenchées par des épisodes fébriles et au cours desquels l'IRM cérébrale montre des lésions en hypersignal FLAIR/T2 des noyaux gris centraux (putamen et noyaux caudés). Une posologie de 10mg/kilo/jour doit être proposée durant les épisodes d'encéphalopathie, associée à de la vitamine B1 (500 mg/jour) (Debs et al., 2010).

35

Ce test thérapeutique doit être accompagné d'une étude génétique avec recherche de mutations dans le gène SLC19A3.

5 b) suspicion de pathologie biotine sensible : affection neurologique « sans diagnostic » évoluant par épisodes subaigus et associant diversement les signes cliniques suivants : atrophie optique uni-ou bi-latérale, syndrome cérébelleux subaigu, atteinte des noyaux gris centraux.

10 c) autre pathologie neurologique potentiellement liée à un trouble du métabolisme énergétique : on peut citer la maladie d'Alzheimer, la chorée de Huntington, la maladie de Parkinson, ou certaines épilepsies symptomatiques. La biotine fortement dosée peut ainsi être utilisée comme traitement d'appoint pour réduire les symptômes observés pour ces maladies.

Description des figures

15 Figure 1 : Contrôles IRM et spectroscopie RMN réalisés sur la patiente 1 avant (figure 1A) et après traitement (figure 1B). Sur l'IRM réalisée avant traitement, on observe une leucoencéphalopathie touchant les pédoncules cérébelleux (PC), les faisceaux cortico-spinaux (CS), les radiations optiques (RO), et la substance blanche péri-ventriculaire (PV). La spectroscopie par RMN montre une augmentation du pic de choline (Cho, pic le plus à gauche), qui devrait être à une

20 hauteur semblable au pic situé juste à sa droite. Après traitement, les signes de leucoencéphalopathie et le pic de choline ont nettement diminué.

25 Figure 2 : Contrôles IRM et spectroscopie RMN réalisés sur la patiente 2 avant (figure 2A) et après traitement (figure 2B). Sur l'IRM réalisée avant traitement, on observe une leucoencéphalopathie touchant les pédoncules cérébelleux (PC), les faisceaux cortico-spinaux (CS), les radiations optiques (RO), et la substance blanche péri-ventriculaire (PV). La spectroscopie par RMN montre une augmentation du pic de choline (Cho). Après traitement, le pic de choline a diminué.

30 Figure 3 : Contrôles IRM réalisés sur le patient 3 avant (figure 3A) et après traitement (figure 3B). Sur l'IRM réalisée avant traitement, on observe une leucoencéphalopathie touchant les pédoncules cérébelleux (PC), les faisceaux cortico-spinaux (CS), les radiations optiques (RO), et plus faiblement la substance blanche péri-ventriculaire (PV). Après traitement, les signes de leuco-encéphalopathie ont disparu.

35

Les exemples suivants montrent l'intérêt d'un traitement avec les préparations selon l'invention.

Exemples

5 Exemple préliminaire : Préparation de gélules fortement dosée en biotine

La biotine, matière première, est obtenue auprès d'un grossiste établissement pharmaceutique LA COOPER (Coopération Pharmaceutique Française) de MELUN. Avant mélange avec l'excipient (cellulose microcristalline), une pincée de carmin est ajoutée au principe actif (traceur de la bonne répartition dans le mélange). La répartition du mélange est ensuite réalisée dans des gélules n°1 (0,50 ml).

Pour 100 gélules dosées à 100 mg, on effectue le mélange suivant :

- biotine : 10 g
- carmin : une pincée
- 15 - cellulose microcristalline : qsp 50 ml

Exemple 1

Un patient de sexe féminin (54 ans en 2010) a présenté une baisse de l'acuité visuelle de l'oeil gauche suivie d'une baisse d'acuité visuelle de l'oeil droit, 10 jours plus tard (mai 2002). La baisse d'acuité visuelle est indolore mais a été précédée de cervicalgies et de céphalées. Une atrophie optique s'est installée rapidement. En décembre 2002, elle présente sur plusieurs jours des troubles de l'équilibre, des troubles sphinctériens (dysurie) et des paresthésies des 4 membres.

L'examen neurologique met en évidence des Réflexes vifs aux 4 membres avec signe de Babinski bilatéral, ainsi qu'un syndrome cérébelleux cinétique du membre inférieur Gauche.

L'IRM réalisée à cette époque montre une leucoencéphalopathie touchant la substance blanche périventriculaire, les faisceaux cortico-spinaux au niveau des capsules internes et du tronc cérébral avec un hypersignal franc, les radiations optiques et les pédoncules cérébelleux, surtout à droite. La spectro RMN du 6 décembre 2002 ne montre pas d'élévation du pic de choline. L'IRM médullaire est normale. Plusieurs contrôles IRM en juillet 2003 et mai 2004 montrent un aspect superposable (figure 1A). Le pic de choline est cependant élevé de façon anormale sur la spectro RMN de mai 2004.

35 En juillet 2003, elle compte les doigts à 20cm à droite et voit la main bouger à gauche.

En mai 2004, l'acuité visuelle est chiffrée à 1,6/10 à Droite et à 1/50 ème à gauche. Cette acuité visuelle reste stable jusqu'en avril 2006 où un traitement par la biotine à la dose de 20 mg/jour est introduit.

Après deux mois de traitement, la patient a l'impression de voir un peu mieux. Après trois mois de traitement (07/2006), l'acuité visuelle est chiffrée à 4/10 à droite et toujours 1/50 à gauche. Cette amélioration initiale se maintient au contrôle à 7 mois (Nov 2006).

En décembre 2006, le traitement est augmenté à 100 mg/jour.

Après deux semaines, la patiente commence à pouvoir lire les gros titres d'un journal.

En juillet 2007 (après 15 mois de traitement), l'acuité visuelle est notée à 6/10 à droite et à 1/20 à gauche. Les PEVs visuels montrent alors une réponse corticale à droite retardée à +4,5DS (la réponse était nulle avant traitement).

La patiente signale également une amélioration de ses problèmes d'équilibre. L'IRM du mois de Juillet (2007) montre une normalisation du pic de choline, ainsi qu'une diminution nette de l'intensité de signal de la leucoencéphalopathie (figure 1 B).

Exemple 2

Un traitement à base de biotine fortement dosé a été donné à une patient de 72 ans (en 2010). Cette patient se plaignait de migraines depuis l'âge de 20 ans.

En 2004 (66 ans), elle présenta des troubles psychiatriques à type de délire de persécution pendant un an. Une psychose maniaco-dépressive a été diagnostiquée, à la vue de la récurrence des troubles à type d'accès maniaques (2 ou 3 épisodes en tout).

En 2006, 2007 et 2008, elle présenta des troubles de la marche paroxystiques décrits comme des troubles de l'équilibre associés à une faiblesse des membres inférieurs qui duraient à chaque fois, moins de 24 heures.

Le 1er épisode de 2006 a été accompagné d'une fièvre et la ponction lombaire de l'époque montrait 17 éléments (lymphocytes), une protéinorachie à 0,3 g/l. Entre ces épisodes, elle conservait des troubles de l'équilibre discrets.

Fin 2006 est apparue une baisse de l'acuité visuelle bilatérale indolore, prédominant du côté droit, d'aggravation par paliers » entre 2006 et 2007 (en 2007, elle comptait seulement les doigts à droite et l'acuité visuelle à gauche était évaluée à 2/10ème).

Au cours de l'été 2008, les troubles de l'équilibre devinrent permanents.

L'examen clinique en mai 2009 montrait un discret syndrome cérébelleux statique, mais également cinétique du membre supérieur droit. Les réflexes ostéo tendineux étaient vifs aux quatre membres, mais il n'existait pas de signe de Babinski.

L'IRM cérébrale montrait une leucoencéphalopathie faite d'hyper signaux péri-ventriculaires, des faisceaux pyramidaux au niveau des pédoncules cérébraux et du diencéphale. Cette leucoencéphalopathie touchait aussi les radiations optiques et dans une moindre mesure les pédoncules cérébelleux (Figure 2A).

Les potentiels évoqués visuels réalisés en juin 2009 ne montraient aucune réponse corticale. L'acuité visuelle était chiffrée à 1 à droite ; 2/10 à gauche. A l'époque, la patiente se plaignait en outre de céphalées fréquentes (au moins une crise par semaine). Un traitement par biotine (3 x 100 mg/jour) fut débuté en juin 2009.

En Septembre 2009, la patiente notait une amélioration de son acuité visuelle : elle pouvait lire les numéros de téléphone, elle distinguait les visages et pouvait lire les gros titres des journaux. Elle signalait une diminution importante de la fréquence des céphalées : 1 à 2/mois. L'équilibre était plus assuré, notamment lors du demi-tour. Elle pouvait faire la cuisine seule ce qui n'était pas le cas auparavant. L'IRM était inchangée de même que la spectro IRM cérébrale. Par contre les potentiels évoqués visuels montraient la réapparition d'une onde P100 à gauche (aucune réponse n'était notée à droite) de latence allongée (126,5 ms).

Le traitement fut poursuivi à la même dose. En Janvier 2010 (après 6 mois de traitement), les potentiels évoqués montraient une ébauche d'onde P100 à droite ainsi qu'une amélioration de la latence de l'onde P100 gauche (passée de 126,5 à 111,8 ms). La spectro IRM cérébrale montrait une nette diminution du pic de choline et du rapport choline/créatine alors que la leucoencéphalopathie demeurait inchangée (Figure 2B). Le traitement par biotine a été augmenté à 600 mg/jour. Ce traitement est toujours en cours.

Exemple 3

Un patient de 40 ans (né en 1970) présentait plusieurs épisodes de diplopie transitoires pour lesquels il avait consulté en 2004, sans qu'il soit possible de retrouver une étiologie.

En Janvier 2007, il présenta le matin au réveil une dysarthrie pseudo-ébrioise. Cette dysarthrie s'aggrava légèrement entre Janvier et Février 2007. En

5 mars 2007, après hospitalisation, l'examen clinique montrait simplement une dysarthrie ataxique ainsi qu'un léger syndrome cérébelleux statique. L'examen clinique était normal par ailleurs. La ponction lombaire montrait un liquide inflammatoire avec 7 éléments/mm³ (lymphocytes). L'IRM cérébrale montrait une

5 leucoencéphalopathie touchant les faisceaux cortico-spinaux au niveau des capsules internes et du tronc cérébral, les radiations optiques et plus faiblement la substance blanche péri-ventriculaire (Figure 3A). L'acuité visuelle était normale.

En mars 2007, un traitement par biotine (200 mg/jour) fut débuté pour une durée totale de 2 mois. Bien qu'aucune amélioration clinique ne fût constatée,

10 l'IRM de contrôle réalisée en Janvier 2008 montrait une disparition complète de la leuco-encéphalopathie (Figure 3B). Les potentiels évoqués visuels montraient des composantes corticales de latence et morphologie normale à droite mais d'amplitude réduite. A gauche, la réponse corticale était dispersée. Ces résultats étaient en faveur d'un dysfonctionnement infra-clinique des voies visuelles

15 gauches.

Exemple 4

Une patiente de 49 ans, née en 1961, présentait des antécédents d'uvéite postérieure bilatérale compliquée d'une chorioretinite et d'une cataracte bilatérale.

20 Aucune étiologie n'a été retrouvée malgré un bilan très complet. Elle présente un surpoids et un diabète de type 2. Elle est suivie en psychiatrie depuis 1998 pour des troubles psychotiques apparus suite à l'accouchement de son fils. Depuis cette époque, elle a été hospitalisée de façon itérative pour des épisodes délirants avec hallucinations oniroïdes. Une IRM a été réalisée dans le cadre du bilan de sa

25 maladie et montre une leucoencéphalopathie touchant les faisceaux cortico-spinaux, les pédoncules cérébelleux, les radiations optiques et la substance blanche périventriculaire. L'examen clinique montrait une ataxie cérébelleuse très discrète mais rien de plus.

En Septembre 2008, un traitement par biotine (100 mg deux fois par jour)

30 fut débuté. Trois mois plus tard (Décembre), l'IRM de contrôle montrait une diminution significative du pic de choline mais sans modification de la leucoencéphalopathie. La patiente fut ensuite perdue de vue.

Conclusion

35 Le tableau I suivant résume les symptômes cliniques et observations radiologiques et neurophysiologiques chez les patients des exemples 1 à 4.

Patient	1	2	3	4
Caractéristiques cliniques				
Sexe	F	F	M	F
Age dernier examen	53	71	38	47
Age de début des troubles	46	68	34	37
Baisse acuité visuelle bilatérale	+	+	-	+
Syndrome cérébelleux	+	+	+	+
Syndrome pyramidal	+	-	-	-
Troubles psychiatriques	-	+	-	+
céphalées	+	+	-	-
Caractéristiques radiologiques, électrophysiologiques et biologiques				
Leuco-encéphalopathie péri-ventriculaire	+	+	-	+
Hypersignal des radiations optiques	+	+	+	+
Hypersignal des pédoncules cérébelleux	+	+	-	+
Hypersignal des faisceaux cortico-spinaux	+	+	+	+
Élévation de la choline (SRMN)	+	+	NF	+
PEV : retard des ondes 100 ou absence de réponse	+	+	+	NF
EMG	NI	NI	NI	NI
Éléments par mm ³ dans le liquide céphalo-rachidien (LCR)	8	17	7	3
Protéines dans le LCR	0,72	0,3	0,5	0,34

NF : non fait

Tableau I : caractéristiques avant traitement

- Ainsi, tous les patients ont présenté une amélioration clinique ou para-clinique suivant l'introduction d'un traitement par la biotine à fortes doses.

- Cette amélioration a porté sur les manifestations cliniques (acuité visuelle et ataxie) chez 2 patients / 4, (patients 1 et 2) sur les anomalies d'IRM (diminution de l'hypersignal de la substance blanche) chez 2 patients / 4 (patients 1 et 3), sur les anomalies de spectroscopie par résonance magnétique (diminution du pic de choline dans le centre semi-ovale) chez 3 patients / 3 (1, 2, 4) et sur les potentiels évoqués visuels chez 2 patients / 2 (patients 1 et 2). Il faut noter que les deux patients n'ayant pas éprouvé d'amélioration clinique nette sous traitement (alors

que les paramètres IRM ou de spectroscopie étaient améliorés) ne présentaient que très peu de symptômes avant début du traitement.

- Tous les patients n'ont pas eu la même durée de suivi sous traitement (entre 3 mois et 1 an). Il semble néanmoins que les premiers signes à s'améliorer soient :
- 5 1) la baisse de l'acuité visuelle chez les patients présentant une diminution avant traitement (patients 1 et 2);

2) la baisse du pic de choline évaluée en spectro RMN et l'amélioration des potentiels évoqués visuels puis

- 3) après au moins un an, la diminution de l'hypersignal de la substance
- 10 blanche en IRM (observée chez les 2 patients suivis en IRM pendant un an après traitement (patients 1 et 3).

Patient	Amélioration acuité visuelle	Amélioration syndrome cérébelleux	Amélioration leucopathie (IRM)	Amélioration pic de choline	Amélioration des PEVs
1	+	+	+	+	+
2	+	+/-	-	+	+
3	-	-	+	NF	NF
4	-	-	-	+	NF

NF : non fait

Tableau II : résultats après traitement

15

Références

- Dabbagh O, Brismar J, Gascon GG, Ozand PT. The clinical spectrum of biotin-treatable encephalopathies in Saudi Arabia. Brain Dev. 1994;16 Suppl:72-80.
- Debs R, Depienne C, Rastetter A, Bellanger A, Degos B, Galanaud D, Keren B, Lyon-Caen O, Brice A, Sedel F. Biotin-Responsive Basal Ganglia Disease (BBGD) in Europeans with novel SLC19A3 mutations. Arch Neurol. 2010 Jan;67(1):126-30.
- 20 Ozand PT, Gascon GG, Al Essa M, Joshi S, Al Jishi E, Bakheet S, Al Watban J, Al-Kawi MZ, Dabbagh O. Biotin-responsive basal ganglia disease: a novel entity. Brain. 1998 Jul;121 (Pt 7):1267-79.
- 25 Ramaekers VT, Brab M, Rau G, Heimann G. (1993) Recovery from neurological deficits following biotin treatment in a biotinidase Km variant. Neuropediatrics 24:98-102.

- Sedel F, Tourbah A, Fontaine B, Lubetzki C, Baumann N, Saudubray JM, Lyon-Caen O. Leukoencephalopathies associated with Inborn Errors of Metabolism in adults: a diagnostic approach. *J Inherit Metab Dis.* 2008 Jun;31(3):295-307.
- Subramanian VS, Marchant JS, Said HM. Biotin-responsive basal ganglia disease-linked mutations inhibit thiamine transport via hTHTR2 : biotin is not a substrate for hTHTR2. *Am J Physiol.* 2006;291(5):851-859
- Vlasova TI, Stratton SL, Wells AM, Mock NI, Mock DM. Biotin deficiency reduces expression of SLC19A3, a potential biotin transporter, in leukocytes from human blood. *J Nutr.* 2005;135(1): 42–47.
- 10 Wolf B, Pomponio RJ, Norrgard KJ, Lott IT, Baumgartner ER, Suormala T, Ramaekers VT, Coskun T, Tokatli A, Ozalp I, Hymes J. *J Pediatr.* 1998;132(2):362-5.
- Zempleni J, Wijeratne SS, Hassan YI. Biotin. *Biofactors* 2009;35(1):36-46.
- Zeng WQ, Al-Yamani E, Acierno JS Jr et al. Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in SCL19A3. *Am J Hum Genet.* 2005;77(1):16-26.
- 15

Revendications

1. Composition pour une administration par voie orale, contenant plus de 20 mg de biotine par dose unitaire.
- 5 2. Composition selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'elle se présente sous la forme de gélules, de comprimés (pelliculés ou non), de tablettes ou de pilules.
- 10 3. Composition selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce qu'elle contient de la biotine et des excipients, sans autre principe actif.
4. Composition selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'elle contient des excipients choisis parmi le talc, la cellulose microcristalline.
- 15 5. Biotine pour son utilisation dans le traitement d'une déficience ou d'une atrophie visuelle.
- 20 6. Biotine pour son utilisation dans le traitement d'une déficience visuelle selon la revendication 5, dans laquelle la quantité de biotine administrée au patient est au moins égale à 1 mg/kg/jour.
- 25 7. Biotine pour son utilisation dans le traitement d'une déficience visuelle selon la revendication 5 ou 6, dans laquelle la déficience visuelle est liée à leucoencéphalopathie intéressant les régions suivantes de la substance blanche cérébrale : substance blanche péri-ventriculaire, radiations optiques, faisceaux cortico-spinaux, pédoncules cérébelleux, ainsi qu'observé par IRM cérébrale, et une élévation du pic de choline dans le centre semi-ovale, ainsi qu'observé par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire.
- 30 8. Biotine pour son utilisation dans le traitement d'une pathologie neurologique liée à un trouble métabolisme énergétique.

1 / 2

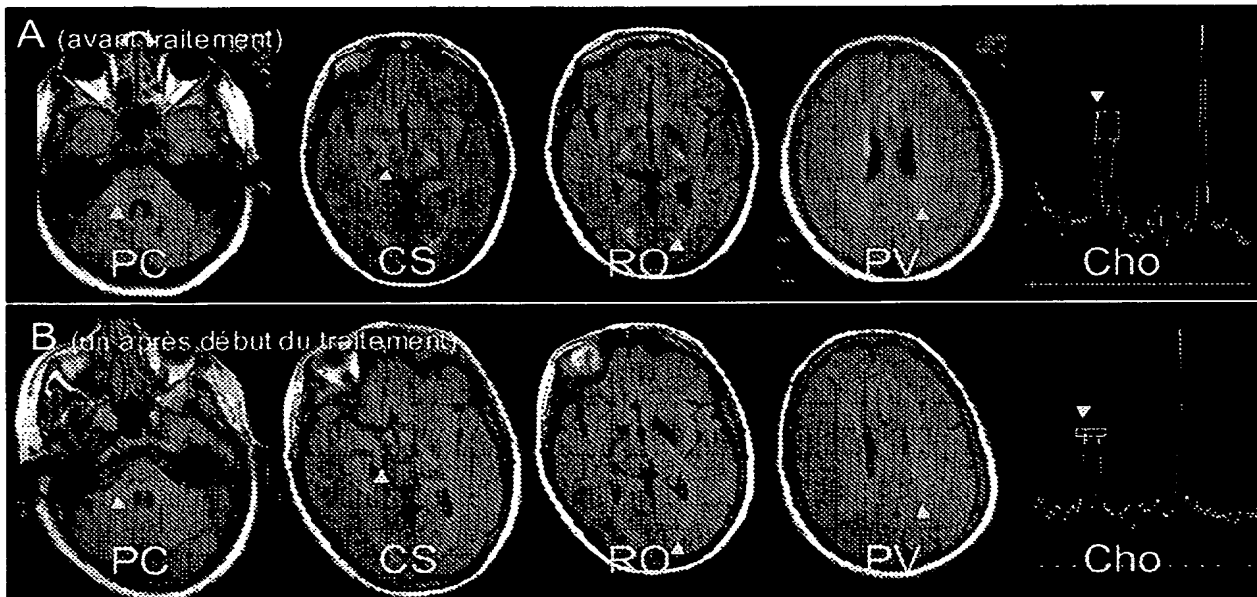


Figure 1

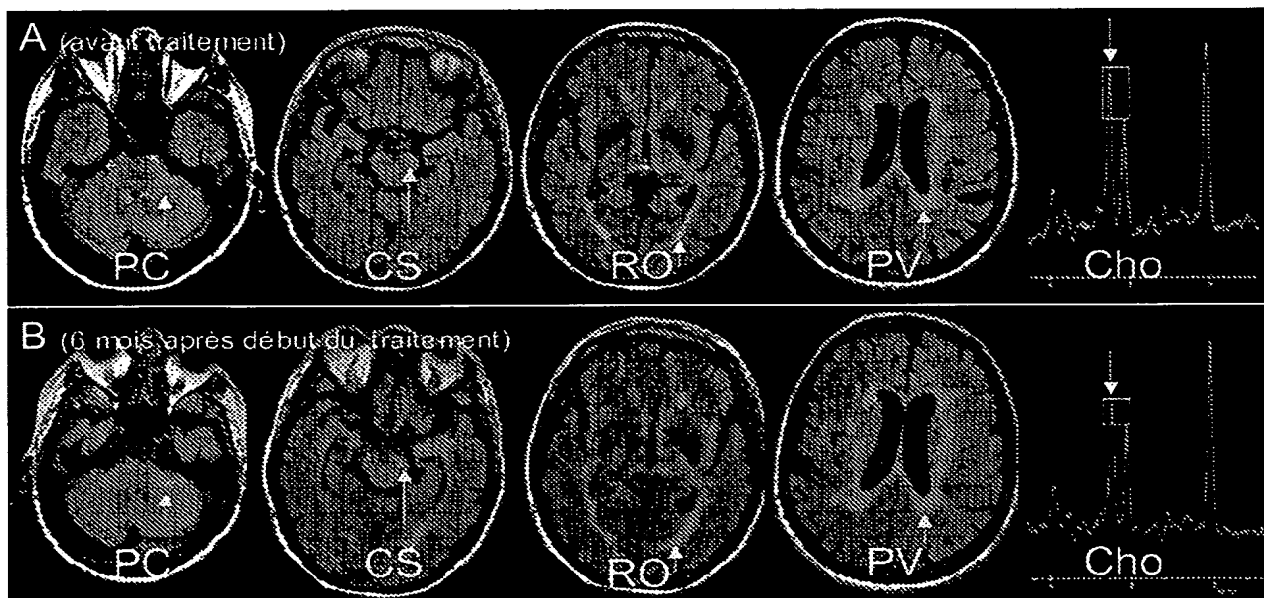


Figure 2

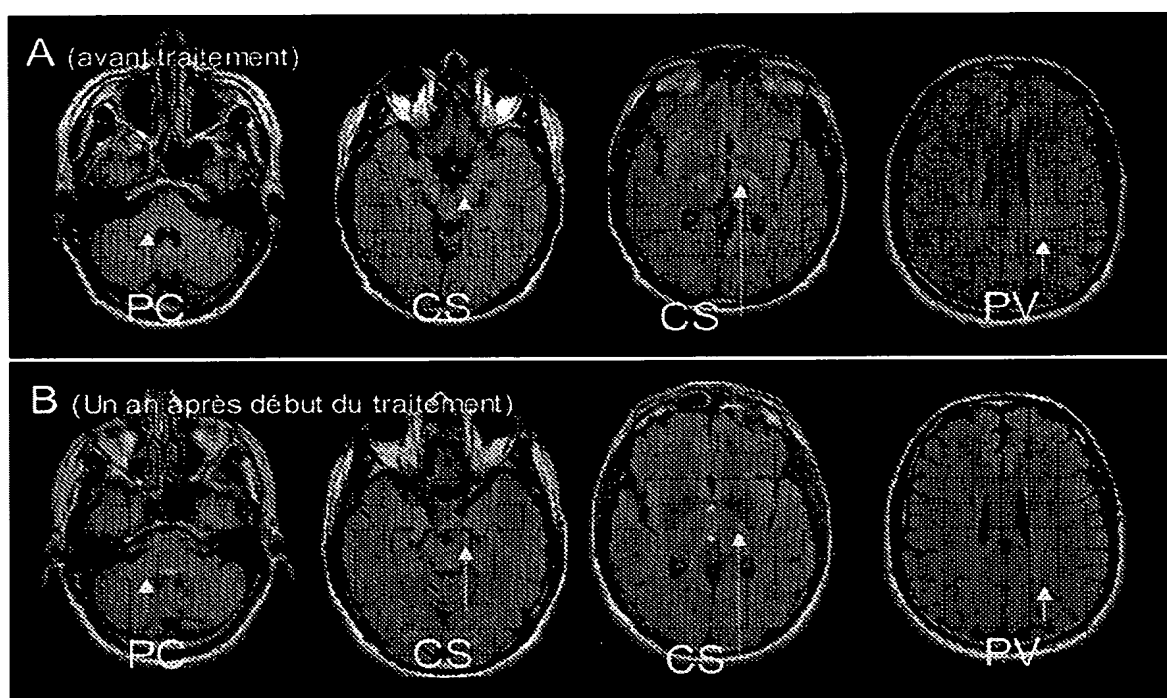


Figure 3



.....



DOCUMENT MADE AVAILABLE UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

International application number:	PCT/EP2011/055273
International filing date:	05 April 2011 (05.04.2011)
Document type:	Certified copy of priority document
Document details:	Country/Office: FR
	Number: FR 10/52589
	Filing date: 06 April 2010 (06.04.2010)
Date of receipt at the International Bureau:	09 May 2011 (09.05.2011)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a),(b) or (b-bis)