(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) **N° de publication :** **2 872 703**

(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **04 07569**

(51) Int Cl[8] : **A 61 K 9/51** (2006.01), A 61 K 31/10, 47/32, A 61 P 35/02, 31/00, C 08 J 3/16

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 07.07.04.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 13.01.06 Bulletin 06/02.

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

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

(71) **Demandeur(s) :** *ETHYPHARM Société anonyme* — FR, *CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE CNRS* — FR et *UNIVERSITE PARIS SUD PARIS XI* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** LAYRE ANNE MAGALI, GREF RUXANDRA, COUVREUR PATRICK et RICHARD JOEL.

(73) **Titulaire(s) :**

(74) **Mandataire(s) :** CABINET PLASSERAUD.

(54) NANOPARTICULES POLYMERIQUES COMPOSITES.

(57) La présente invention se rapporte à des nanoparticules polymériques composites biodégradables, pouvant contenir éventuellement un principe actif, ainsi qu'à des suspensions en milieu aqueux de telles particules, leur préparation et leur utilisation.

FR 2 872 703 - A1

NANOPARTICULES POLYMERIQUES COMPOSITES

La présente invention se rapporte à des nanoparticules polymériques composites biodégradables, pouvant contenir éventuellement un principe actif, ainsi qu'à des suspensions en milieu aqueux de telles particules, leur préparation et leur utilisation.

Par nanoparticules polymériques composites, on entend au sens de la présente invention, des particules d'une taille comprise entre 20 et 500 nm, chargées ou non en principe(s) actif(s) et constituées d'une association d'au moins deux polymères de nature différente.

Par nanoprécipitation, on entend au sens de la présente invention un procédé conduisant à la précipitation sous la forme de nanoparticules, d'un ou plusieurs polymères. La nanoprécipitation est une méthode basée sur la formation de particules polymériques colloïdales par séparation de phases. La nanoprécipitation peut ainsi être engendrée par l'addition d'un non-solvant du polymère à une solution de ce polymère, le non-solvant étant miscible au solvant en large proportion. La séparation de phases conduit alors à une précipitation immédiate du polymère sous la forme de nanoparticules stables. On parlera de co-nanoprécipitation lorsqu'au moins deux polymères précipitent ensemble pour donner des nanoparticules polymériques dites composites.

Les nanoparticules polymériques composites de l'invention sont particulièrement adaptées à l'encapsulation et à la vectorisation de molécules à effet thérapeutique présentant une forte instabilité et/ou une forte toxicité vis à vis du milieu dans lequel elles sont introduites. C'est notamment le cas pour les principes actifs qui ont une forte tendance à la

cristallisation et/ou sont faiblement à très faiblement hydrosolubles et/ou toxiques.

De nombreux agents anticancéreux, de par leur activité cytotoxique importante, doivent dans la plupart des cas être véhiculés au sein d'un vecteur réduisant l'impact et la toxicité de ces agents sur les cellules non cancéreuses.

En outre, certains agents anticancéreux sont non seulement toxiques pour l'organisme humain ou animal, mais présentent également une faible solubilité et une forte tendance à la cristallisation qui limitent l'index thérapeutique, et peuvent conduire à la formation de particules cristallines *in situ* après administration, si la concentration locale approche de la saturation, lesdites particules cristallines étant alors responsables d'une obstruction vasculaire. C'est le cas notamment de molécules utilisées comme agents anticancéreux alkylants tels que le busulfan qui possèdent, du fait de leur structure tridimensionnelle, et de la nature de leurs groupements chimiques, une forte tendance à la cristallisation. En effet, la structure de ces agents est telle qu'ils présentent, à l'état naturel des groupements chimiques qui ont une forte tendance à s'auto-associer, à travers des interactions hydrophobes ou polaires conduisant à la cristallisation spontanée de ces molécules.

Un tel phénomène de cristallisation est bien entendu impropre à une administration parentérale de principes actifs à effet thérapeutique compte tenu d'une part de la taille des cristaux qui risquent de provoquer une obstruction vasculaire partielle ou totale, et d'autre part du ralentissement considérable de la dissolution et de l'absorption de ces actifs.

Il importe donc d'éviter absolument ce phénomène de cristallisation, lors de la vectorisation de tels actifs.

Par ailleurs, la forte réactivité chimique de certains principes actifs tels que par exemple les agents anticancéreux alkylants rend leur encapsulation dans des structures polymériques telles que des nanoparticules, très difficile, voire impossible, lorsque ces particules sont obtenues par un procédé classique de polymérisation en émulsion. En effet, les groupements méthylsulfonates de ces agents anticancéreux sont extrêmement réactifs et interagissent avec les structures monomériques dès leur mise en contact, empêchant ainsi la polymérisation normale du ou des polymères et donc la formation de vecteurs polymériques bien individualisés. De plus, une telle interaction chimique fait perdre son activité biologique au principe actif. Il est donc nécessaire d'éviter de telles interactions lors de l'encapsulation d'agents alkylants.

Par ailleurs, se pose également le problème de l'efficacité thérapeutique des principes actifs encapsulés et administrés par voie parentérale ou par voie intraveineuse.

Dans le cas d'une administration par voie parentérale, la réaction du système immunitaire de l'individu, et en particulier du Système des Phagocytes Mononucléés (SPM), accélère l'élimination de l'objet administré, et ce quel que soit le type de vecteur administré.

Dans le cas d'une administration par voie intraveineuse, les nanoparticules polymériques administrées sont rapidement éliminées par le système immunitaire de l'organisme et ne présentent donc qu'une durée de vie limitée, impliquant une faible efficacité thérapeutique.

Pour pallier le problème de l'élimination rapide de ces vecteurs dans l'organisme, et/ou permettre la vectorisation

de principes actifs instables et/ou toxiques, de nombreux vecteurs dits "furtifs", c'est à dire faiblement reconnus par le système immunitaire, ont été développés.

Afin de vectoriser des principes actifs chimiquement sensibles et/ou instables, tels que des agents anticancéreux comme le busulfan, ont été développés des vecteurs colloïdaux se présentant sous forme de formulations liquides injectables à base de liposomes, notamment chargés en busulfan, comme cela est décrit dans l'article Bone Marrow Transplant. 2002.30 (12) : 833-41. De telles formulations permettent une encapsulation du busulfan à des taux de l'ordre d'environ 0,5 % en poids du poids total de liposomes. Cependant, en plus de leur faible rendement d'encapsulation, de tels vecteurs colloïdaux à base de liposomes ont en outre l'inconvénient de présenter une faible durée de vie dans le milieu plasmatique due à la dissociation spontanée et à la dégradation métabolique rapide de ces structures lipidiques. Ce phénomène implique une faible efficacité à l'encontre des tumeurs engendrant l'administration de volumes importants de dispersions liposomales parfois incompatibles avec les dosages nécessaires au traitement et nécessitant souvent des temps de perfusion longs et inconfortables, de l'ordre de 2h pour les adultes et 3h pour les enfants (M. Hassan, Bone Marrow Transplantation 2002, 30, 833-841).

Pour pallier ce problème de la stabilité intra-plasmatique, des vecteurs colloïdaux solides à base de polymères non hydrosolubles ont été développés. Ces vecteurs colloïdaux se présentent sous la forme de nanoparticules polymériques biodégradables capables de transporter un ou plusieurs principes actifs dissous ou dispersés au sein de leur matrice polymérique. Les principes actifs transportés

sont libérés progressivement, au fur et à mesure de la dégradation métabolique des nanoparticules.

Les polymères de la famille des poly(cyanoacrylates d'alkyle) (ou PACA) sont particulièrement adaptés au transport de principes actifs chimiquement sensibles et/ou instables, car ils présentent une relativement faible toxicité et s'avèrent compatibles avec une administration intravasculaire (Kante et al, 1982; Couvreur et al, 1989). D'une part, les produits de dégradation de ces polymères dans l'organisme sont essentiellement des alcools ou des acides poly(cyanoacryliques) bien tolérés et facilement éliminés par l'organisme, et d'autre part, la cinétique de dégradation de ces polymères rend possible leur administration intravasculaire. En outre, les polymères de la famille des poly (cyanoacrylates d'alkyle) sont également compatibles avec une administration intraveineuse.

Ainsi, des nanoparticules polymériques à base de poly (cyanoacrylates d'alkyle) ont été utilisées pour le transport et la délivrance d'insuline par voie intraveineuse, comme cela est décrit dans le document US 5,641,515 de ELAN Corp.. Dans ces nanoparticules, l'insuline est associée au polymère de poly(cyanoacrylate d'alkyle) sous la forme d'un complexe chimique où l'intégrité moléculaire de l'insuline et donc l'efficacité de cette molécule est préservée : après avoir été administrée, l'insuline est libérée progressivement dans l'organisme.

Cependant, cela n'est possible que dans la mesure où l'insuline ne réagit pas chimiquement avec les unités monomériques du polymère en formation, ce qui n'est pas le cas de molécules très réactives comme le busulfan par exemple.

Par ailleurs, le fait que les vecteurs colloïdaux sous forme de nanoparticules décrits ci-dessus présentent l'avantage de conférer une certaine stabilité aux produits transportés au sein des nanoparticules a conduit à développer des vecteurs colloïdaux constitués de nanoparticules polymériques de poly(cyanoacrylates d'alkyle) chargées en principes actifs toxiques et/ou instables.

Ainsi, le brevet US 4,329,332, décrit des nanoparticules constituées de polymères du cyanoacrylate de méthyle ou de cyanoacrylate d'éthyle utilisables pour le transport et l'administration parentérale de principes actifs anticancéreux comme l'actinomycine ou le métothrexate par exemple. Ces nanoparticules d'un diamètre inférieur à 500 nm, sont fabriquées par polymérisation micellaire spontanée des monomères en milieu acide.

De telles nanoparticules ont cependant l'inconvénient de présenter un faible taux d'encapsulation. En effet, la capacité de charge en principe actif des nanoparticules de poly (cyanoacrylates d'alkyle) exprimée en tant que quantité de principe actif associée à une unité de masse de polymère, encore appelée taux d'encapsulation, est très étroitement liée à la nature du principe actif à encapsuler. Or, ces nanoparticules sont obtenues par un procédé de polymérisation *in situ* en milieu aqueux, qui a tendance à faire reprécipiter et cristalliser rapidement les principes actifs faiblement solubles ou insolubles, rendant ainsi difficile l'encapsulation de ces principes actifs.

Ainsi, se pose le problème de l'encapsulation de principes actifs cristallins, faiblement solubles dans l'eau et/ou hydrophobes, car pour ces molécules, l'incorporation au sein de nanoparticules de poly(cyanoacrylate d'alkyle) se révèle inefficace, avec des taux d'encapsulation de l'ordre

de 0,1 à 1 % en poids de la masse de polymère engagée, le principe actif ayant une forte tendance à précipiter dans la phase aqueuse dispersante.(Brigger et al. *Int. J. Pharm. 2001 (19), 214 (1-2) : 37-42)*

Afin d'augmenter la charge en actif des nanoparticules constituées à partir de poly(cyanoacrylate d'alkyle), qui se révèlent par ailleurs être d'excellents polymères du point de vue de la tolérance et de la toxicité dans l'organisme, une nouvelle forme de vecteurs a été développée.

Ainsi, la demande de brevet WO 99/43359 décrit l'utilisation de vecteurs de principes actifs faiblement hydrosolubles constitués par une association entre un poly(cyanoacrylate d'alkyle) et un composé apte à complexer le principe actif. Ces derniers composés sont par exemple des cyclodextrines pour lesquelles il a été constaté que l'affinité de la cyclodextrine avec certains agents actifs permet d'augmenter sensiblement le taux d'encapsulation.

Cependant, outre la relative complexité d'un tel système, ces vecteurs ne permettent de prévoir l'encapsulation que d'un nombre restreint de principes actifs, pour lesquels d'une part la complexation avec la molécule de cyclodextrine n'entraîne pas de détérioration structurelle ayant des incidences sur l'activité biologique de la molécule et d'autre part pour lesquels la complexation est suffisamment labile pour permettre une libération satisfaisante du principe actif visé.

Toutefois, même si ces vecteurs permettent d'envisager l'encapsulation à des taux améliorés de certains principes actifs hydrophobes ou peu hydrosolubles, de tels vecteurs sont peu adaptés à l'encapsulation de principes actifs très réactifs. En effet, dans la mesure où ces vecteurs sont fabriqués par polymérisation *in situ* en présence du principe

actif, celui-ci risque de réagir avec les unités monomériques, empêchant une polymérisation adéquate nécessaire à la réalisation des nanoparticules.

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont décrit différents systèmes vecteurs furtifs constitués de nanoparticules de polymère de la famille des poly(cyanoacrylate d'alkyle) sur lesquelles sont greffés des groupements de type Poly Ethylène Glycol (PEG). Dans de telles structures, les groupements PEG sont directement associés au poly(cyanoacrylate d'alkyle) formant ainsi des nanoparticules polymériques portant à leur surface une sorte de couronne hydrophile en contact avec le milieu extérieur.

L'utilisation de poly(cyanoacrylates d'alkyle) sur lesquels sont greffés des PEG permet une amélioration certaine de la demi-vie des nanoparticules qui en sont formées. En effet, les groupements hydrophiles PEG diminuent significativement les phénomènes de capture non spécifique par les acteurs du Système des Phagocytes Mononucléés (SPM) et en particulier par les macrophages.

Pour la réalisation de ces vecteurs polymériques furtifs, différents types de poly(cyanoacrylate d'alkyle) ont été employés.

Ainsi, des nanoparticules formées par polymérisation en émulsion à partir des unités monomériques du poly(cyanoacrylate d'isobutyle) (PIBCA) et de groupements PEG dispersés dans la phase aqueuse ont été synthétisées par Perrachia et al. (J. Biomed. Mater. Res. 1997, 34 (3); 317-326). Ces nanoparticules, non chargées en principe actif, présentent une demi-vie améliorée du fait de la présence à leur surface des groupements PEG qui s'orientent spontanément vers l'extérieur des nanoparticules limitant ainsi leur capture par les agents du système immunitaire.

Par ailleurs, des nanoparticules porteuses d'agents anticancéreux ont également été développées. Ainsi, Li et al (*Biol. Pharm. Bull. 24(6) 662-665 (2001*) ont réalisé des nanoparticules constituées d'un autre copolymère de la famille des poly(cyanoacrylate d'alkyle : le poly(methoxyPEG-co- cyanoacrylate de n-hexadécyle) (PEG-PHDCA) et chargées avec un agent anticancéreux tel que le TNF (tumor necrosis factor) -α.

De même, Brigger et al (*Int. J. Pharm. 2001 (19), 214 (1-2) : 37-42*) ont synthétisé des nanoparticules à base du même copolymère de poly(cyanoacrylate de methoxyPEG -co-cyanoacrylate d'hexadécyle) chargées en tamoxifène pour un traitement ciblé de tumeurs, présentant une demi-vie acceptable.

Cependant, les nanoparticules décrites ci-dessus ont l'inconvénient de présenter un très faible taux d'encapsulation en principe actif, de l'ordre de 0,4 % en poids de la masse de polymère engagée.

De ce fait, l'encapsulation de principes actifs hydrophobes et/ou cristallins et /ou réactifs sur le plan chimique n'a jusqu'ici jamais pu être réalisée à partir de poly(cyanoacrylate d'alkyle), à des taux d'encapsulation satisfaisants du point de vue thérapeutique.

La présente invention, se propose donc de pallier ces inconvénients en proposant des nanoparticules polymériques biodégradables composites constituées d'au moins un polymère de la famille des poly(cyanoacrylates d'alkyle), et d'au moins un autre polymère de nature amphiphile, aptes à une administration parentérale chez l'être humain ou animal, et présentant également un taux élevé d'encapsulation de principes actifs et notamment de principes actifs hydrophobes et/ou très réactifs sur le plan chimique, et/ou possédant une

forte propension à la cristallisation. Ces nanoparticules composites présentent également l'avantage de pouvoir être fabriquées selon un procédé relativement simple et rapide.

Les nanoparticules conformes à l'invention sont ainsi utilisables pour la fabrication de médicaments destinés au traitement de maladies auto-immunes ou cancéreuses. En particulier, ces nanoparticules sont utiles dans le traitement des leucémies et tout particulièrement de la leucémie myéloïde chronique.

Ainsi, l'invention a pour objet des nanoparticules polymériques composites biodégradables comprenant :

- un coeur polymérique interne, essentiellement constitué d'au moins un polymère cyanoacrylique choisi dans le groupe des poly(cyanoacrylates d'alkyle),
- une écorce polymérique externe essentiellement constituée d'au moins un polymère amphiphile comportant au moins un groupement hydrophile et au moins un groupement hydrophobe, et
- éventuellement un principe actif.

De préférence, le polymère cyanoacrylique selon l'invention est choisi dans le groupe des poly(cyanoacrylate d'alkyle) (PACA), le groupe alkyle étant un groupe alkyle linéaire ou ramifié, comprenant de préférence 1 à 12 atomes de carbone, et mieux de 3 à 6 atomes de carbone.

Les polymères cyanoacryliques préférés selon l'invention sont choisis dans le groupe comprenant le poly(cyanoacrylate d'éthyle) (PECA), le poly(cyanoacrylate de butyle) (PBCA), le poly(cyanoacrylate d'isobutyle) PIBCA, le poly(cyanoacrylate de propyle) (PPCA) et le poly(cyanoacrylate d'isohexyle) (PIHCA) qui sont particulièrement efficaces pour l'encapsulation de principes actifs hydrophobes et/ou très

réactifs sur le plan chimique et/ou ayant une très forte tendance à la cristallisation.

Les polymères cyanoacryliques davantage préférés selon l'invention sont le poly(cyanoacrylate d'éthyle) (PECA) ou le poly(cyanoacrylate d'isobutyle) (PIBCA).

Le polymère cyanoacrylique encore plus préféré selon l'invention est le poly(cyanoacrylate d'isobutyle) (PIBCA).

Les polymères cyanoacryliques conformes à l'invention ont une masse molaire moyenne en poids déterminée par chromatographie d'exclusion stérique (CES) en équivalent polystyrène comprise entre 2000 et 500 000 g/mole, préférentiellement entre 5000 et 350 000 g/mole.

L'écorce polymérique des nanoparticules conformes à la présente invention est essentiellement constituée par au moins un polymère de nature amphiphile comportant au moins un groupement de nature hydrophobe, et au moins un groupement de nature hydrophile.

Par groupement hydrophile, on entend, au sens de la présente invention, non seulement un groupement fonctionnel hydrophile, en particulier un atome ou groupement d'atomes hydrophile, monovalent ou polyvalent, par exemple bivalent ou trivalent, ledit groupement fonctionnel hydrophile étant porté par le squelette carboné du polymère amphiphile selon l'invention ; mais également une séquence (ou « bloc ») de nature hydrophile, par exemple un monomère ou un enchaînement de monomères identiques ou différents de nature hydrophile, ledit monomère ou enchaînement de monomères de nature hydrophile étant situé dans la chaîne du polymère amphiphile selon l'invention.

Par groupement hydrophobe, on entend, au sens de la présente invention, non seulement un groupement fonctionnel hydrophobe, en particulier un atome ou groupement d'atomes

hydrophobe, monovalent ou polyvalent, par exemple bivalent ou trivalent, ledit groupement fonctionnel hydrophobe étant porté par le squelette carboné du polymère amphiphile selon l'invention ; mais également une séquence (ou « bloc ») de nature hydrophobe, par exemple un monomère ou un enchaînement de monomères identiques ou différents de nature hydrophobe, ledit monomère ou enchaînement de monomères de nature hydrophobe étant situé dans la chaîne du polymère amphiphile selon l'invention.

Les groupements de nature hydrophobe préférés du polymère de nature amphiphile selon l'invention sont choisis dans le groupe comprenant les poly(anhydrides), les polyesters tels que les polymères de l'acide lactique (PLA) les polycaprolactones (PCL) , les copolymères de l'acide lactique et de l'acide glycolique (PLGA), le polyhydroxybutyrate, le polyhydroxyvalérate et leurs copolymères.

Les groupements de nature hydrophile préférés du polymère de nature amphiphile selon l'invention sont choisis dans le groupe comprenant les polysaccharides, les polyvinylpyrrolidones, et de préférence les polyéthylène glycols (PEG).

De préférence, les groupements de nature hydrophile du polymère de nature amphiphile selon l'invention ont une masse molaire moyenne en poids comprise entre 1000 et 20000 g/mole, de préférence entre 2000 et 5000 g/mole.

D'une manière préférée, on utilisera comme polymère amphiphile selon la présente invention des copolymères diséquencés (ou « diblocs ») ou multiséquencés (ou « multiblocs »), dont au moins une séquence est constituée ou porteuse de groupement(s) hydrophile(s) et au moins une séquence est constituée ou est porteuse de groupement(s) hydrophobe(s).

La séquence constituée et/ou porteuse de groupement(s) hydrophobe(s) constitue la partie hydrophobe du polymère amphiphile selon l'invention, et la séquence constituée et/ou porteuse de groupement(s) hydrophile(s) en constitue la partie hydrophile.

Préférentiellement, le polymère amphiphile conforme à la présente invention est constitué d'un copolymère diséquencé de type PECL/PEG, c'est à dire composé d'une séquence de poly ε-caprolactone pur et d'une séquence PEG.

Le polymère amphiphile conforme à l'invention doit être insoluble dans l'eau. De ce fait, il est préférable que le rapport des masses molaires entre la partie hydrophobe et la partie hydrophile de ce polymère soit compris entre 1: 1 et 100:1, de préférence entre 2:1 et 10:1.

Les nanoparticules selon la présente invention sont avantageusement utilisées pour l'encapsulation, le transport et la distribution de principes actifs dans l'organisme humain ou animal.

De ce fait, les nanoparticules selon l'invention peuvent contenir un ou plusieurs principes actifs, qui sont encapsulés au sein du cœur polymérique formé par le poly(cyanoacrylate d'alkyle).

Les principes actifs contenus dans le cœur polymérique des nanoparticules selon l'invention peuvent être des principes actifs faiblement à très faiblement hydrosolubles et /ou hydrophobes et/ou ayant une forte tendance à la cristallisation, et/ou étant très réactifs sur le plan chimique.

Par actif « faiblement à très faiblement hydrosoluble », on entend, au sens de la présente invention, un actif dont l'indice de solubilité est compris entre 100 et 100 000, tel

que décrit dans la pharmacopée américaine n°27(USP 27),page 2747 édition 2004.

A titre de principes actifs pouvant être encapsulés dans le cœur polymérique des nanoparticules selon la présente invention, on peut citer les agents antibactériens systémiques, les agents antifongiques systémiques et les agents antiviraux systémiques , parmi lesquels on peut citer à titre non limitatif les céphalosporines, les beta-lactamines, les cyclines, les aminosides, les quinolones, les macrolides, les dérivés d'imidazole , les dérivés azolés, les sulfamides, l'aciclovir, et les inhibiteurs de la transcriptase inverse.

A titre de principes actifs pouvant également être encapsulés dans le cœur polymérique des nanoparticules selon l'invention, on peut également citer les principes actifs à forte tendance à la cristallisation, et notamment prévoir ceux présentant une certaine toxicité pour l'organisme tels que les anticancéreux de nature hydrophobe comme le tamoxifène, les taxanes comme le paclitaxel ou le docétaxel ; mais également la vinblastine, l'actinomycine, le methotrexate, le carboplatine, l'étoposide et les camptothécines comme le CPT11 et son métabolite le SN 38 par exemple et enfin les principes actifs anticancéreux présentant ou capables de libérer un dérivé sulfonate tel que le busulfan notamment.

Le busulfan dont la formule chimique est le 1,4-bis(méthanesulfonyloxy)butane, appartient à la classe thérapeutique des agents antinéoplasiques et des agents alkylants.

Au niveau biologique, le mécanisme d'action du busulfan consiste à établir au niveau des nucléoprotéines, des ponts stables empêchant la réplication de l'ADN, d'où son effet

cytostatique entraînant le blocage de la mitose dans les cellules en division. Le busulfan est ensuite éliminé dans l'organisme principalement sous la forme d'acide méthanesulfonique.

Le bulsulfan, qui est porteur de deux groupements méthyl-sulfonates de type $CH_3SO_3^-$, est amené à s'autoassocier à travers des interactions moléculaires, d'où ses propriétés cristallines, qui en font une molécule particulièrement difficile à encapsuler. En outre, ces groupements sulfonates sont également responsables d'interactions avec d'autres groupements chimiques comme les unités monomériques ou les chaînes polymériques en cours de formation des poly(cyanoacrylates) par exemple. Une telle interaction est à l'origine de liaisons covalentes ou "pontages" bloquant de façon irréversible le processus de polymérisation, ce qui en fait un composé difficile à encapsuler par polymérisation *in situ*.

La molécule de busulfan est capable de former après libération d'un méthyl-sulfonate, un dérivé réactif pouvant se combiner avec des groupements nucléophiles de type SH, NH_2, COOH, OH, ou phosphates par exemple.

Le busulfan est un agent anticancéreux employé dans le traitement des leucémies et en particulier de la leucémie myéloïde chronique et de certaines maladies auto-imunes pour son effet immunosupresseur sélectif sur la moelle épinière.

Le busulfan est cependant un agent répertorié comme carcinogène (Merck index 11ème édition) dont la toxicité à l'égard des cellules saines de l'organisme auquel il est administré reste un problème majeur dans le cadre d'un traitement thérapeutique.

L'encapsulation du busulfan au sein de structures polymériques bioérodables et présentant en outre une certaine

furtivité et des moyens de ciblage cellulaire ou tissulaire doit permettre de réduire sensiblement ces problèmes de cytotoxicité non spécifique. De tels vecteurs, qui font l'objet de la présente invention offrent ainsi une nouvelle voie possible pour les traitements anticancéreux par le busulfan.

Outre les groupements hydrophiles de surface chargés d'assurer la furtivité du système vecteur objet de la présente invention en réduisant l'opsonisation des nanoparticules, celles-ci peuvent avantageusement comporter à leur surface des molécules de reconnaissance cellulaire ou tissulaire. De telles molécules permettent en effet d'assurer un véritable ciblage spécifique des nanoparticules administrées dans la circulation sanguine.

De cette façon, on augmente de façon certaine l'efficacité de l'agent actif encapsulé en concentrant sa localisation sur sa cible cellulaire ou tissulaire.

Ainsi, les nanoparticules selon l'invention comportent avantageusement à leur surface une ou plusieurs molécules de reconnaissance cellulaire comme des anticorps mono ou polyclonaux dirigés par exemple contre certaines protéines cellulaires de surface, des fragments d'immunoglobulines, des ligands spécifiques de récepteurs de surface cellulaire ou encore des molécules agonistes ou antagonistes capables de se lier et/ou de reconnaître tout ou partie des cellules ou tissus visés, tels que l'acide folique ou ses dérivés, ou encore les résidus biotine, avidine ou streptavidine par exemple.

Ces molécules de surface peuvent comme les groupements PEG précédemment cités, faire partie intégrante du polymère amphiphile sous la forme d'un copolymère bloc, ou encore être

insérées par l'intermédiaire d'un bras espaceur, au sein du polymère cyanoacrylique.

Les nanoparticules composites selon l'invention ont de préférence un diamètre moyen compris entre 50 et 500 nm, et mieux entre 60 et 200 nm.

Les quantités des différents constituants des nanoparticules selon l'invention sont avantageusement les suivantes :

- le polymère de nature amphiphile peut représenter entre 10 et 60%, de préférence entre 20 et 50% du poids total des nanoparticules, à l'exclusion du poids du ou des principes actifs éventuellement présents dans le cœur polymérique des nanoparticules selon l'invention,
- le polymère cyanocarylique représente entre 40 et 90 %, de préférence entre 50 et 80 % du poids total des nanoparticules à l'exclusion du poids du principe actif à l'exclusion du poids du ou des principes actifs éventuellement présents dans le cœur polymérique des nanoparticules selon l'invention
- le ou les principe(s) actif(s) est (ou sont) présent(s) à raison de 0,5 à 20% et mieux de 1 à 10% en poids par rapport au poids du polymère cyanoacrylique engagé dans les nanoparticules selon l'invention.

La présente invention a encore pour objet un procédé de fabrication des nanoparticules polymériques telles que définies ci-dessus, qui comprend :

A- une étape de dissolution comprenant :

- a)la dissolution dudit polymère cyanoacrylique dans un premier solvant ou mélange de solvants organiques miscibles en toute proportion dans une phase aqueuse dispersante, pour obtenir une première solution à base de polymère cyanoacrylique,

- b) la dissolution simultanée ou successive dudit polymère amphiphile dans un deuxième solvant organique ou mélange de solvants organiques, ledit polymère amphiphile étant insoluble dans la phase aqueuse dispersante, pour obtenir une deuxième solution à base de polymère amphiphile et

- c) le cas échéant, la dissolution simultanée ou successive dans un troisième solvant organique ou mélange de solvants organiques du ou des principes actifs à encapsuler, pour obtenir une troisième solution à base de principe actif, les premier, deuxième et troisième solvants ou mélange de solvants organiques étant identiques ou différents, et dans le cas où ils sont différents, ils présentent également chacun une miscibilité en toute proportion dans chacun des des premier et/ou deuxième et/ou troisième solvants ou mélange de solvants organiques ;

B- le mélange de la première solution à base de polymère cyanoacrylique avec la deuxième solution à base de polymère amphiphile, et le cas échéant, avec la solution à base de principe actif, de préférence sous agitation, jusqu'à l'obtention d'une phase organique homogène ;

C- une étape de co-nanoprécipitation dudit polymère cyanoacrylique et dudit polymère amphiphile comprenant l'ajout de la phase organique obtenue à l'étape B ci-dessus, de préférence de façon progressive, dans un volume de phase dispersante en quantité suffisante pour permettre la dispersion de la phase organique dans la phase aqueuse dispersante, et la co-précipitation des polymères amphiphile et polycyanoacrylique, pour obtenir une suspension de nanoparticules polymériques composites telles que définies précédemment ;

D- éventuellement la purification de la suspension desdites nanoparticules par filtration, et

E- une étape d'élimination du solvant par évaporation.

Les nanoparticules polymériques composites obtenues selon le procédé de l'invention présentent ainsi la particularité d'être constituées à partir d'au moins deux polymères préformés de nature différente, c'est à dire pour lesquels l'étape de polymérisation a eu lieu avant la formation des nanoparticules proprement dites. Au cours de ce procédé, la réactivité et/ou l'instabilité chimique des principes actifs à encapsuler (le cas échéant) n'interfère pas avec la polymérisation et donc la formation des nanoparticules et l'activité biologique de l'agent à encapsuler est préservée.

Le procédé de l'invention permet une formation spontanée des nanoparticules composites selon l'invention, le polymère de nature amphiphile se positionnant, de façon spontanée à la périphérie desdites nanoparticules, formant ainsi l'écorce polymérique extérieure de ces dernières.

Pour des raisons d'affinités chimiques avec la phase aqueuse employée comme phase dispersante, les groupements hydrophiles contenus dans le polymère amphiphile selon l'invention, vont se positionner au moment de la coprécipitation vers l'extérieur des nanoparticules, de façon à former une sorte de couronne hydrophile au contact direct de la phase aqueuse.

Le polymère cyanoacrylique selon l'invention se positionne en revanche spontanément au centre des nanoparticules lors de la co-nanoprécipitation, de façon à former ledit cœur des nanoparticules polymériques selon l'invention. Cela est dû notamment à sa très faible affinité pour la phase aqueuse dispersante.

Le ou les principes actifs utilisés dans le cadre de la présente invention sont préférentiellement des principes actifs faiblement à très faiblement hydrosolubles. Ainsi, lors de la co-nanoprécipitation, ces molécules vont spontanément être enfermées dans le compartiment délimité par le cœur polymérique desdites nanoparticules.

La phase dispersée est de préférence introduite de façon progressive dans la phase dispersante, l'introduction pouvant par exemple se faire par injection lente à l'aide d'une seringue de précision de type seringue Hamilton par exemple. La co-nanoprécipitation des polymères démarre alors immédiatement et conduit à l'obtention d'une solution opalescente témoin de la formation des nanoparticules composites conformes à l'invention.

Avantageusement, le procédé de fabrication de nanoparticules selon l'invention comprend une étape finale de lyophilisation de la suspension obtenue à l'issue de l'étape E.

Une étape ultérieure d'analyse des nanoparticules composites formées peut avoir lieu afin de caractériser sur le plan structurel (taille, forme, homogénéité) et sur le plan fonctionnel (mesure du taux d'incorporation en principe actif) les vecteurs polymériques colloïdaux ainsi formés. Les dispersions de nanoparticules composites obtenues peuvent être facilement lyophilisées pour assurer une bonne conservation et redispersées de façon ex-temporanée juste avant utilisation.

La présente invention a également pour objet une suspension dans un milieu aqueux de nanoparticules polymériques composites selon l'invention. Une telle suspension peut avantageusement être lyophilisée de façon à

être stockée facilement puis reconstituée par addition d'eau extemporanément.

La présente invention a encore pour objet l'utilisation de la suspension selon l'invention pour la fabrication de médicaments destinés au traitement de maladies auto-immunes ou cancéreuses. En particulier, ces suspensions de nanoparticules sont utiles dans le traitement des leucémies et tout particulièrement de la leucémie myéloïde chronique.

La suspension selon l'invention peut être administrée, seule ou en association avec d'autres médicaments, par voie parentérale et en particulier par voie intravasculaire, et encore plus préférentiellement par voie intraveineuse ou intra-artérielle.

Les exemples suivants illustrent l'invention, sans toutefois en limiter la portée.

Exemples

Exemple 1 : Préparation de nanoparticules composites de poly (cyanoacrylate d'isobutyle)/poly (ε-caprolactone) -co-poly (éthylène glycol).

Le copolymère dibloc amphiphile de poly (ε-caprolactone) -co-poly (éthylène glycol) (PECL - PEG) constitué d'un bloc de poly (ε-caprolactone) de masse molaire 10000 g/mole et d'un bloc de poly (éthylène glycol) de masse molaire 2000 g/mole a été synthétisé selon Gref R., Lück M., Quellec P., Marchand M., Dellacherie E., Harnisch S., Blunk T., Müller R.H.; 'Stealth' corona-core nanoparticles surface modified by polyethylene glycol (PEG): influence of the corona (PEG chain length and surface density) and of the core composition on phagocytic uptake and plasma protein adsorption; Coll.Surf.B; 2000; 18; 301-313.

La phase dispersée (1 ml) est composée du mélange en proportion 80/20 (v/v), d'une solution acétonique de poly (cyanoacrylate d'isobutyle) (0,8 ml) et d'une solution acétonique de copolymère amphiphile dibloc de PECL-PEG (0,2 ml) concentrées à 10 mg/ml. La phase dispersée (1 ml) est injectée lentement (environ 10 secondes) dans une phase dispersante aqueuse (2 ml) à l'aide d'une seringue Hamilton (capacité 1ml) et en prenant soin de plonger l'aiguille de la seringue dans la phase dispersante aqueuse. Cette dernière est soumise à une agitation magnétique (1250 t/min) durant l'injection. Les nanoparticules composites se forment immédiatement, ce qui rend la solution opalescente. L'acétone est ensuite éliminée par évaporation sous vide à température ambiante, à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'évaporation totale de l'acétone est vérifiée par pesée.

Le diamètre moyen des nanoparticules composites mesuré par diffusion quasi élastique de la lumière est égal à 140 ± 40 nm. Le potentiel de surface des nanoparticules mesuré à l'aide d'un zétamètre est d'environ - 41 mV.

Exemple 2

Les nanoparticules composites sont obtenues suivant le procédé décrit dans l'exemple 1, mais les deux solutions de polymères sont mélangées en proportion 70/30 (v/v). La phase dispersée (1ml) est obtenue en mélangeant 0,7 ml de la solution de poly (cyanoacrylate d'isobutyle) et 0,3 ml de la solution de copolymère dibloc amphiphile PECL-PEG décrit à l'exemple 1, concentrées à 10 mg/ml.

Le diamètre moyen des nanoparticules composites mesuré par diffusion quasi élastique de la lumière est égal à 125 ± 35 nm. Le potentiel de surface des nanoparticules mesuré à l'aide d'un zétamètre est d'environ -26 mV.

Exemple 3

Les nanoparticules composites sont obtenues suivant le procédé décrit dans l'exemple 1, mais les deux solutions de polymères sont mélangées en proportion 60/40 (v/v). La phase dispersée (1ml) est obtenue en mélangeant 0,6 ml de la solution de poly (cyanoacrylate d'isobutyle) et 0,4 ml de la solution de copolymère dibloc amphiphile PECL-PEG décrit à l'exemple 1, concentrées à 10 mg/ml.

Le diamètre moyen des nanoparticules composites mesuré par diffusion quasi élastique de la lumière est égal à 120 ± 40 nm. Le potentiel de surface des nanoparticules mesuré à l'aide d'un zétamètre est d'environ - 28 mV.

Exemple 4

Les nanoparticules composites sont obtenues suivant le procédé décrit dans l'exemple 1, mais les deux solutions de polymères sont mélangées en proportion 50/50 (v/v). La phase dispersée (1ml) est obtenue en mélangeant 0,5 ml de la solution de poly (cyanoacrylate d'isobutyle) et 0,5 ml de la solution de copolymère dibloc amphiphile PECL-PEG décrit à l'exemple 1, concentrées à 10 mg/ml.

Le diamètre moyen des nanoparticules composites mesuré par diffusion quasi élastique de la lumière est égal à 105 ± 35 nm. Le potentiel de surface des nanoparticules mesuré à l'aide d'un zétamètre est d'environ - 22 mV.

Exemple 5 : Préparation de nanoparticules composites de poly (cyanoacrylate d'isobutyle)/ poly (ε-caprolactone) -co-poly (éthylène glycol).chargées en busulfan.

On prépare une première solution de poly(cyanoacrylate d'isobutyle dans de l'acétone, concentrée à 40 mg/ml.

On prépare une deuxième solution acétonique de copolymère dibloc amphiphile PECL-PEG tel que décrit à l'exemple 1, concentrée à 40 mg/ml.

On prépare une troisième solution acétonique de busulfan concentrée à 4 mg/ml. Le busulfan présent au sein des nanoparticules composites est dosé par comptage en scintillation liquide de la radioactivité. Le marqueur radioactif utilisé est le busulfan tritié (busulfan-^{3}H). Pour le dosage celui-ci est mélangé au busulfan froid dans la phase dispersée (1,25 µCi pour 2 mg de busulfan froid).

La phase organique est obtenue par le mélange de ces trois solutions de la manière suivante :

- les deux premières solutions de polymères sont mélangées en proportion 50/50 (v/v), et
- la phase organique (1ml) est alors obtenue en mélangeant 0,250 ml de la solution de poly (cyanoacrylate d'isobutyle), 0,250 ml de la solution de PECL - PEG et 0,500 ml de la solution de busulfan froid + busulfan-^{3}H.

La phase organique (1 ml) est injectée lentement (environ 10 secondes) dans une phase dispersante aqueuse (2 ml) à l'aide d'une seringue Hamilton (capacité 1 ml) et en prenant soin de plonger l'aiguille de la seringue dans la phase dispersante aqueuse. Cette dernière est soumise à une agitation magnétique (1250 t/min) durant l'injection. Les nanoparticules composites se forment immédiatement, ce qui rend la solution opalescente. L'acétone est ensuite éliminée par évaporation sous vide à température ambiante, à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'évaporation totale de l'acétone est vérifiée par pesée. Lors de l'évaporation de l'acétone, il y a formation de quelques cristaux de busulfan dans la phase dispersante aqueuse. Ces derniers sont éliminés par

plusieurs étapes de purifications successives (centrifugation à 630 g pendant 5min, pré-filtration sur filtre de porosité 1µm (Glass Fiber membrane ; Gelman Laboratory) et filtration sur filtre de porosité 0,45 µm (Millex HV ; Millipore). Les nanoparticules sont séparées de la phase dispersante par centrifugation (30 min 30000g), puis séchées dans un dessiccateur sous vide pendant 24h. La quantité de busulfan présente dans les nanoparticules est déterminée par comptage de la radioactivité dans le culot des nanoparticules remis en solution dans 1 ml d'acétone. Le taux d'encapsulation du busulfan est de 1,7 ± 0,1 % (mg Bu/mg nanoparticules). Le diamètre moyen des nanoparticules composites avant purification est égal à 165 ± 50 nm et le diamètre moyen des nanoparticules après purification est égal à 160 ± 50 nm.

REVENDICATIONS

1- Nanoparticules polymériques composites biodégradables comprenant :

- un coeur polymérique interne, essentiellement constitué d'au moins un polymère cyanoacrylique choisi dans le groupe des poly(cyanoacrylate d'alkyle),
- une écorce polymérique externe essentiellement constitué d'au moins un polymère amphiphile comportant au moins un groupement hydrophile et au moins un groupement hydrophobe, et
- éventuellement un principe actif.

2- Nanoparticules polymériques composites, caractérisés en ce que le groupe alkyle du polymère cyanoacrylique comprend 1 à 12 atomes de carbone, de préférence 3 à 6 atomes de carbone.

3- Nanoparticules polymériques composite selon la revendication 1 caractérisée en ce que le polymère cyanoacrylique est choisi dans le groupe comprenant le polycyano(acrylate d'éthyle) (PECA), le polycyano(acrylate de butyle (PBCA), le polycyano(acrylate d'isobutyle) (PIBCA), le polycyano(acrylate de propyle) (PPCA) et le polycyano(acrylate d'isohexyle) (PIHCA) de préférence le polycyanoacrylate d'isobutyle et le polycyano(acrylate d'éthyle).

4- Nanoparticules polymériques selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisées en ce que ledit polymère cyanoacrylique a une masse molaire moyenne en poids déterminé par chromatographie d'exclusion stérique en équivalent polystyrène comprise entre 2000 et 500 000 g/mole, préférentiellement entre 5000 et 350 000 g/mole.

5- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que :

- le groupement hydrophobe dudit polymère de nature amphiphile est choisi dans le groupe comprenant les poly(anhydrides), les polyesters tels que les polymères de l'acide lactique (PLA), les copolymères de l'acide lactique et de l'acide glycolique (PLGA), le polyhydroxybutyrate, le polyhydroxyvalérate, leurs copolymères et les polycaprolactones (PCL), et

- le groupement hydrophile dudit polymère de nature amphiphile est choisi dans le groupe comprenant les groupements polysaccharide, polyvinylpyrrolidone, de préférence polyéthylène glycol (PEG).

6- Nanoparticules polymériques composites selon la revendication 5, caractérisées en ce que le groupement hydrophile du polymère amphiphile a une masse molaire moyenne en poids comprise entre 1000 et 20000 g/mole, de préférence entre 2000 et 5000 g/mole.

7- Nanoparticules selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisées en ce que ledit polymère de nature amphiphile est un copolymère di-séquencé ou multi-séquencé.

8- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisées en ce que le rapport de la masse molaire de la partie hydrophobe dudit polymère amphiphile à celle de la partie hydrophile dudit polymère amphiphile et compris entre 1/1 et 100/1, de préférence entre 2/1 et 10/1.

9- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisées en ce que :

ledit polymère de nature amphiphile représente entre 10 et 60%, de préférence entre 20 et 50% du poids total des nanoparticules,à l'exclusion du poids du ou des principes actifs éventuellement présents dans le cœur polymérique des nanoparticules, et

ledit polymère cyanocarylique représente entre 40 et 90 %, de préférence entre 50 et 80 % du poids total des nanoparticules, à l'exclusion du poids du ou des principes actifs éventuellement présents dans le cœur polymérique des nanoparticules.

10- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisées en ce qu'elles ont un diamètre moyen compris entre 50 et 500 nm et plus préférentiellement entre 60 et 200 nm.

11- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisées en ce que ledit cœur polymérique contient au moins un principe actif, ledit principe actif représentant entre 0,5 et 20%, de préférence entre 1 et 10% du poids du polymère cyanoacrylique.

12- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisées en ce que le principe actif est une molécule à forte tendance à la cristallisation et/ou hydrophobes et/ou très faiblement hydrosoluble et/ou chimiquement très réactive.

13- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisées en ce

que ledit principe actif est choisi dans le groupe comprenant les agents antibactériens systémiques, les agents antiviraux systémiques et les agents antifongiques systémiques, de préférence choisi dans le groupe comprenant les céphalosporines, les bétalactamimes, les cyclines, les aminosides, les quinolones, les macrolides, les dérivés d'imidazole, les dérivés azolés, les sulfamides, l'aciclovir, les inhibiteurs de la transcriptase inverse ; et les agents anticancéreux, de préférence les agents anticancéreux de nature hydrophobe tel que le tamoxifène, les taxanes, l'étoposide, les camptothécines, le busulfan, le carboplatine, la vinblastine, l'actinomycine et le méthotrexate.

14- Nanoparticules polymériques composites selon la revendication 13, caractérisées en ce que ledit principe actif est un agent anticancéreux, présentant ou étant capable de libérer un dérivé de sulfonate, de préférence le busulfan.

15- Nanoparticules polymériques composites selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisées en ce qu'elles comportent une ou plusieurs molécules de reconnaissance cellulaire ou tissulaire à la surface de ladite écorce polymérique, qui sont de préférence choisies parmi les immunoglobulines, les ligands, les agonistes et antagonistes de récepteurs cellulaires.

16- Procédé de fabrication de nanoparticules polymériques composites telles que définies selon l'une des revendications 1 à 15 comprenant :

A- une étape de dissolution comprenant :

- a)la dissolution dudit polymère cyanoacrylique dans un premier solvant au mélange de solvants organiques

miscibles en toute proportion dans une phase aqueuse dispersante, pour obtenir une première solution à base de polymère cyanoacrylique,

- b) la dissolution simultanée ou successive dudit polymère amphiphile dans un deuxième solvant organique ou mélange de solvants organiques, ledit polymère amphiphile étant insoluble dans la phase aqueuse dispersante, pour obtenir une deuxième solution à base de polymère amphiphile, et

- c) le cas échéant, la dissolution simultanée ou successive dans un troisième solvant organique ou mélange de solvants organique du ou des principes actifs à encapsuler, pour obtenir une troisième solution à base de principe actif,

les premier, deuxième et troisième solvants ou mélange de solvants organiques étant identiques ou différents, et dans le cas où ils sont différents, ils présentent également chacun une miscibilité en toute proportion dans chacun des des premier et/ou deuxième et/ou troisième solvants ou mélange de solvants organiques ;

B- le mélange de la première solution à base de polymère cyanoacrylique avec la deuxième solution à base de polymère amphiphile, et le cas échéant, avec la solution à base de principe actif, de préférence sous agitation, jusqu'à l'obtention d'une phase organique homogène ;

C- une étape de co-nanoprécipitation dudit polymère cyanoacrylique et dudit polymère amphiphile comprenant l'ajout de la phase organique, de préférence de façon progressive, dans un volume de phase dispersante en quantité suffisante pour permettre la dispersion de la phase organique dans la phase aqueuse dispersante, et la co-précipitation des polymères amphiphiles et polycyanoacrylique, pour obtenir une suspension de nanoparticules polymériques composites;

D- éventuellement la purification de la suspension desdites nanoparticules par filtration ; et

E- une étape d'élimination du solvant par évaporation.

17- Procédé de fabrication de nanoparticules polymériques composites selon la revendication 16, caractérisé en ce qu'il comporte en outre une étape finale F de lyophilisation de ladite suspension.

18- Suspension dans un milieu aqueux de nanoparticules polymériques composites telles que définies selon l'une des revendications 1 à 15 ou telles que préparées selon le procédé de la revendication 16 ou 17.

19- Suspension selon la revendication 18 caractérisée en ce qu'elle est lyophilisée.

20- Utilisation de la suspension de nanoparticules telle que définie selon la revendication 18 ou 19, pour une administration parentérale et en particulier intravasculaire.

21- Utilisation de la suspension de nanoparticules selon la revendication 20, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement du cancer, et notamment de la leucémie myéloïde chronique.

22- Utilisation de la suspension de nanoparticules selon la revendication 21 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des infections systémiques bactériales ou virales.

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

2872703

INPI
INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

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

N° d'enregistrement national

FA 651213
FR 0407569

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 200370 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A14, AN 2003-732339 XP002317291 & CN 1 417 242 A (UNIV TIANJIN) 14 mai 2003 (2003-05-14) * abrégé * -----	1-22	
A	EP 0 447 318 A (L'OREAL) 18 septembre 1991 (1991-09-18) * revendications * -----	1-22	
A	WO 96/31231 A (ELAN) 10 octobre 1996 (1996-10-10) * revendications * -----	1-22	
A	WO 99/43359 A (BIOALLIANCE PHARMA) 2 septembre 1999 (1999-09-02) * revendications * -----	1-22	
A	EP 0 007 895 A (P.COUVREUR) 6 février 1980 (1980-02-06) * revendications * -----	1-22	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7) A61K

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
11 février 2005	Scarponi, U

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
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

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0407569 FA 651213

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 11-02-2005
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
CN 1417242	A	14-05-2003	AUCUN		
EP 0447318	A	18-09-1991	FR	2659554 A1	20-09-1991
			AT	123219 T	15-06-1995
			CA	2038331 A1	17-09-1991
			DE	69110070 D1	06-07-1995
			DE	69110070 T2	12-10-1995
			DK	447318 T3	02-10-1995
			EP	0447318 A1	18-09-1991
			ES	2072563 T3	16-07-1995
			JP	2676281 B2	12-11-1997
			JP	5148129 A	15-06-1993
			US	6203802 B1	20-03-2001
			US	2001010824 A1	02-08-2001
			ZA	9101933 A	24-12-1991
WO 9631231	A	10-10-1996	IE	950237 A1	16-10-1996
			AT	261311 T	15-03-2004
			AU	704875 B2	06-05-1999
			AU	5286796 A	23-10-1996
			CA	2217485 A1	10-10-1996
			DE	69631824 D1	15-04-2004
			DE	69631824 T2	27-01-2005
			DK	820300 T3	26-04-2004
			EP	0820300 A1	28-01-1998
			ES	2213770 T3	01-09-2004
			WO	9631231 A1	10-10-1996
			JP	11503148 T	23-03-1999
			NZ	304976 A	29-04-1999
			PT	820300 T	30-07-2004
			US	5641515 A	24-06-1997
			ZA	9602671 A	09-10-1996
WO 9943359	A	02-09-1999	FR	2775435 A1	03-09-1999
			AU	753573 B2	24-10-2002
			AU	2628799 A	15-09-1999
			CA	2320928 A1	02-09-1999
			EP	1056477 A1	06-12-2000
			WO	9943359 A1	02-09-1999
			JP	2002504526 T	12-02-2002
EP 0007895	A	06-02-1980	BE	869107 A1	19-01-1979
			AT	370427 B	25-03-1983
			AT	496279 A	15-08-1982
			CA	1132069 A1	21-09-1982
			DE	2965725 D1	28-07-1983

EPO FORM P0465

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

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0407569 FA 651213

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 11-02-2005
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0007895 A		EP 0007895 A1	06-02-1980
		US 4329332 A	11-05-1982
		US 4489055 A	18-12-1984

EPO FORM P0465

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