

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

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



PCT



(43) Date de la publication internationale
3 mai 2007 (03.05.2007)

(10) Numéro de publication internationale
WO 2007/048820 A2

(51) **Classification internationale des brevets :**
A61K9/14 (2006.01) **A61P 31/12** (2006.01)
A61K 31/655 (2006.01)

(21) **Numéro de la demande internationale :**
PCT/EP2006/067805

(22) **Date de dépôt international :**
26 octobre 2006 (26.10.2006)

(25) **Langue de dépôt :** français

(26) **Langue de publication :** français

(30) **Données relatives à la priorité :**
051 10022.0 26 octobre 2005 (26.10.2005) EP

(71) **Déposant** (pour tous les États désignés sauf US) :
H-PHAR [BE/BE]; Bâtiment TELECOM II, Rue Clément
Ader 12, B-6041 Gosselies (BE).

(72) **Inventeurs; et**

(75) **Inventeurs/Déposants** (pour US seulement) : **VANDE-
VELDE, Michel** [BE/BE]; Avenue des Bouvreuils 14,
B-1301 Bierges (BE). **MARGERIE, Hélène** [BE/BE];
Avenue des Bouvreuils 14, B-1301 Bierges (BE).

(74) **Mandataires :** **CLAEYS, Pierre** etc.; Holidaystraat 5,
B-1831 Diegem (BE).

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

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

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

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

(54) **Title:** MICRONISED AZODICARBONAMIDE, THE PREPARATION AND USE THEREOF

(54) **Titre :** AZODICARBONAMIDE MICRONISE, SA PREPARATION ET SON UTILISATION

(57) **Abstract:** Azodicarbonamide (ADA) in the form of a dry micronised powder is characterised in that the particle size distribution of said powder consists of particles whose mean diameter (d_{50}) is equal to or less than 2 μ m and of particles whose diameter in 90 % (d_{90}) is equal to or less than 4 μ m. A method for the preparation and use of agent is also disclosed.

(57) **Abrégé :** Azodicarbonamide (ADA) sous forme d'une poudre sèche micronisée, caractérisé en ce que ladite poudre présente une distribution granulométrique de particules où les particules de la poudre présentent un diamètre moyen (d_{50}) égal ou inférieur à 2 μ m, et un diamètre à 90 % (d_{90}) égal ou inférieur à 4 μ m, son procédé de préparation et son utilisation.



WO 2007/048820 A2

"Azodicarbonamide micronisé, sa préparation et son utilisation"

La présente invention est relative à de l'azodicarbonamide (ADA) sous forme d'une poudre sèche micronisée, à sa préparation et à son utilisation.

5 On connaît l'azodicarbonamide (ADA) depuis fort longtemps (1892) sous la forme d'une substance chimique cristalline (The Merck Index, 11ème éd., 1989, p. 938). Cette substance est peu soluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques, à l'exception du N,N-diméthylformamide et du diméthylsulfoxyde.

10 L'ADA présente la formule chimique générale $\text{NH}_2\text{-CO-N=N-CO-NH}_2$.

Par ADA, il faut entendre aussi, au sens de la présente invention, chacun des isomères cis et trans de cette substance ainsi que leur mélange racémique.

15 On a utilisé cette substance comme agent gonflant dans l'industrie du caoutchouc et des matières plastiques. A une température d'environ 190-230°C l'azodicarbonamide se décompose en gaz (azote, monoxyde de carbone, dioxyde de carbone et ammoniac), en résidus solides et en substances sublimées.

20 On l'a également utilisé pour améliorer les farines en boulangerie.

Depuis quelques temps, on a découvert que l'ADA avait aussi un effet thérapeutique contre diverses affections, en particulier des infections virales, certaines affections cancéreuses et des troubles
25 résultant d'une production pathologique de cytokines (voir EP-B-0524961, EP-B-0941 098, EP-B-1 032401 et US-A-5.585.367).

- 2 -

Pour réaliser des essais sur animaux et sur êtres humains, il s'est avéré nécessaire d'améliorer la vitesse de dissolution de l'ADA et sa biodisponibilité dans le sang et on a donc essayé de procéder à une micronisation de cette substance.

5 On connaît un produit Celogen® AZ-2990 qui est mis sur le marché par la firme Uniroyal. Ce produit est formé d'un mélange d'ADA micronisé et d'un agent de conditionnement d'écoulement inerte, qui rend ce produit contre-indiqué dans un usage pharmaceutique. Si la taille nominale des particules de ce mélange est indiquée à 2-2,4 microns, la
10 distribution granulométrique des particules du produit présenté n'est pas connue.

Dans le US-2005/0222281A1, on évoque la possibilité de produire de l'ADA micronisé à l'aide d'un désintégrateur à jet d'air. Ce document déconseille un tel procédé car il constate que, d'une part, si on
15 devait le mettre en œuvre, théoriquement il serait économiquement non rentable parce que demandant une énorme dépense d'énergie et que, d'autre part, les poudres ainsi obtenues présenteraient une large distribution de tailles de particules, en entraînant de grands problèmes d'écoulement pour la poudre ainsi obtenue.

20 On connaît depuis longtemps des procédés de fabrication d'ADA, très pur, et même des procédés permettant d'atteindre des tailles de particules situées à l'échelle des microns (voir par exemple GB-118 1729).

Toutefois, la micronisation obtenue est insuffisante car la
25 distribution granulométrique des particules est très large ce qui nuit à la reproductibilité des résultats que l'on pourrait obtenir avec ce produit, si on l'appliquait par exemple en pharmacie.

Une micronisation homogène de l'ADA s'est avérée très difficile à réaliser, car il s'agit d'une substance extrêmement dure.

30 Plusieurs essais ont été tentés dans ce but. Selon la WO-01/03670 une micronisation d'ADA en milieu de dispersion aqueux s'est

- 3 -

révéléθ peu avantageuse car elle donne lieu à une mousse qui reste stable pendant plusieurs semaines. Aussi, recommande-t-on dans ce document de procéder plutôt à une micronisation dans un milieu liquide non aqueux, sous pression élevée (500-700 bars). Par non aqueux on entend dans la WO-01/03670 un liquide organique, par exemple du polyéthylèneglycol 400, auquel est ajouté, pour améliorer la dispersion, un agent tensioactif tel que du Tween 80.

Selon l'enseignement de ce document, on peut ainsi obtenir de l'ADA ayant un d_{50} de 3,0 μm à 5,5 μm , dont certaines particules peuvent atteindre jusqu'à plus de 7,0 μm . Ce produit contient bien sûr encore des traces du milieu de dispersion. Le polyéthylèneglycol est une substance pharmaceutiquement toxique qu'il faut éliminer par dégazage à température élevée.

Ce processus est donc complexe et coûteux. Il n'améliore guère la micronisation obtenue par ajustement des conditions chimiques réactionnelles décrites dans GB-1 181 729 et en général il risque d'altérer l'ADA par l'usage de pressions et températures élevées. Par ailleurs, le produit final obtenu ne peut présenter un degré de pureté pharmaceutique et, étant donné sa large distribution granulométrique, il risque de ne pas répondre aux exigences de reproductibilité en matière de substance active pharmaceutique.

En résumé, l'ADA produit selon l'état de la technique se présente sous la forme de cristaux très durs qu'il est difficile de microniser, tout en évitant pendant la micronisation une dégradation de l'ADA et après micronisation une réagglomération des particules fines micronisées. Jusqu'à présent, on a prévu pour obvier à ces inconvénients une micronisation peu satisfaisante en milieu humide ou encore un ajout à l'ADA micronisé d'agents tensio-actifs ou un enrobage des particules d'ADA, ce qui rend le produit inutilisable en pharmacie.

La présente invention a pour but de résoudre les problèmes posés en proposant un azodicarbonamide présentant de bonnes

- A -

propriétés de biodisponibilité, qui, à des dosages thérapeutiquement actifs, présente une toxicité drastiquement réduite, sinon nulle. De plus, il est important et souhaitable de disposer d'un ADA dont la taille des particules autorise la reproductibilité des caractéristiques de la substance active, comme cela est exigé par les administrations qui autorisent la mise sur le marché de substances pharmaceutiques. Enfin, avantageusement la taille des particules de l'ADA doit être aussi peu variable que possible, pendant l'entreposage.

On résout ces problèmes, suivant l'invention, par de l'azodicarbonamide (ADA) sous forme d'une poudre sèche micronisée, qui est caractérisé par le fait que ladite poudre présente une distribution granulométrique de particules où les particules de la poudre présentent un diamètre moyen (d_{50}) égal ou inférieur à $2\text{ }\mu\text{m}$, de préférence égal ou inférieur à $1,8\text{ }\mu\text{m}$, avantageusement de l'ordre de $1,5\text{--}1,6\text{ }\mu\text{m}$. Les particules de la poudre présentent aussi un diamètre à 90 % (d_{90}) égal ou inférieur à $4\text{ }\mu\text{m}$, avantageusement de l'ordre de $3,4\text{ à }3,9\text{ }\mu\text{m}$. D'une manière particulièrement préférable, l'ADA présente un degré de pureté pharmaceutique, en particulier supérieur à 98 %, notamment supérieur à 98,4 %. Il est avantageusement exempt d'adjuvant tensio-actif ou de tout autre additif destiné à empêcher une agglomération des particules fines. Les particules d'ADA ne sont pas enrobées d'un revêtement. De préférence, les particules d'ADA micronisé suivant l'invention présentent un diamètre à 10% (d_{10}) égal ou inférieur à $0,6\text{ }\mu\text{m}$.

Pour obtenir un ADA présentant une telle finesse de taille et simultanément une telle distribution granulométrique étroite, jusqu'à présent impossibles à atteindre, on a prévu, suivant l'invention, un procédé comprenant

- une oxydation de biurée en suspension dans l'eau par du gaz chlore ou de l'eau oxygénée, à pression et température ambiantes,
- une séparation par filtration d'azodicarbonamide,
- un lavage de celui-ci, puis son séchage,

- 5 -

- une désintégration par jet d'air de l'azodicarbonamide à l'état sec, sous une pression inférieure à 100 bars, avec formation de particules micronisées, et
- une sélection de particules micronisées présentant une taille inférieure à une valeur de 5 μm .

5 Un tel procédé offre l'avantage de ne pas diluer ou contaminer l'ADA dans d'autres substances par la suite indésirables et de procéder à des pressions et températures modérées qui ne risquent pas d'altérer l'ADA. De préférence, l'étape de production de l'azodicarbonamide s'effectue dans des conditions de pression et de température ambiantes ou proches de celles-ci. De même, le séchage de l'ADA produit a lieu dans des conditions de pression et de température modérées par exemple ambiante. L'application des conditions modérées précitées pendant la préparation d'ADA a également pour résultat inattendu que les cristaux d'ADA à désintégrer sont nettement moins durs que ceux obtenus selon la technique antérieure, ce qui autorise l'utilisation de pressions et de températures modérées pendant la désintégration. Avantageusement la pression dans le désintégrateur à jet d'air est inférieure à 100 bars, de préférence inférieure à 75 bars, en particulier de l'ordre de 60 bars. De préférence, la désintégration dans un jet d'air a lieu à une température inférieure à la température de décomposition de l'ADA (190-2300), avantageusement à la température ambiante. L'ADA micronisé ne subit donc pas ou peu d'altération pendant la désintégration et, comme on le verra par la suite, on a pu observer la formation d'une poudre dont la taille des particules reste stable pendant de très longues périodes de temps, sans additif.

La présente invention est également relative à une composition pharmaceutique contenant, comme substance active, de l'ADA sous forme d'une poudre sèche micronisée suivant l'invention. Ces compositions peuvent contenir un excipient pharmaceutiquement compatible et un ou plusieurs adjuvants courants en pharmacie. On peut

- 6 -

aussi envisager des compositions suivant l'invention contenant de l'ADA et au moins une autre substance thérapeutiquement active en association, comme par exemple de l'AZT, du ritonavir, du T-20, ou analogues.

5 Une telle composition peut par exemple se présenter sous la forme d'une poudre, d'un comprimé, d'une pilule, d'une gélule, d'une capsule, d'une dragée, d'une suspension, d'une crème, d'une pâte, d'un sirop ou de sachets. La composition peut être administrée d'une manière courante, par exemple par voie orale, sublinguale, rectale, vaginale,
10 locale, transcutanée ou transmuqueuse ou encore par injection ou perfusion.

La présente invention concerne également un procédé de préparation d'une composition pharmaceutique telle qu'indiquée ci-dessus, ce procédé comprenant une mise en association d'ADA suivant
15 l'invention et d'un excipient pharmaceutiquement compatible, ainsi que d'éventuels adjuvants courants.

La présente invention concerne aussi une utilisation d'ADA suivant l'invention pour la fabrication d'un médicament à mettre en oeuvre dans le traitement de maladies virales, en particulier des
20 infections par des virus contenant une protéine appelée à "doigt de zinc". On pense en particulier au traitement des infections humaines ou animales par les papillomavirus, les rétrovirus, en particulier le virus d'immunodéficience humaine, les arénavirus, les virus de l'herpès, le virus de l'hépatite C.

25 On envisage également l'utilisation d'ADA suivant l'invention pour la fabrication d'un médicament à mettre en oeuvre dans le traitement d'affections humaines ou animales résultant d'une production pathologique de cytokines ou lymphokines ainsi que pour la fabrication d'un médicament à mettre en oeuvre dans le traitement
30 d'affections humaines ou animales donnant lieu à une production

- 7 -

cellulaire importante et pathologique d'acide désoxyribonucléique, de type cancéreux.

La présente invention concerne également une utilisation d'ADA suivant l'invention ou d'une composition pharmaceutique contenant de l'ADA suivant l'invention pour le traitement de cellules de
5 microorganismes, de cellules isolées, de macroorganismes et de cellules d'un organisme ou tissu cellulaire extrait d'un corps humain ou animal, en particulier d'une greffe.

D'autres particularités de l'invention sont indiquées dans les
10 revendications annexées.

L'invention va à présent être décrite de manière plus détaillée à l'aide d'exemples non limitatifs.

Exemple 1

Procédé de préparation d'ADA

15 D'une manière connue, on fait réagir du sulfate d'hydrazine et de l'urée pour former de la biurée, aussi appelée hydrazodicarbonamide. On utilise de l'eau comme solvant. On fait ensuite précipiter la biurée, on la filtre et on la lave à l'eau.

On met alors la biurée en suspension dans l'eau et on fait
20 barboter dans ce milieu du gaz chlore ou de l'eau oxygénée, éventuellement en présence d'un gaz inerte, tel que de l'air, de l'azote ou du dioxyde de carbone, ce qui provoque une oxydation de la biurée avec formation d'une double liaison entre les azotes centraux, en donnant de l'azodicarbonamide. Ce produit est ensuite filtré, lavé à l'eau jusqu'à des
25 conditions proches de la neutralité et séché à une température proche de la température ambiante, de préférence à cette dernière.

L'azodicarbonamide est sensible à des pressions et températures élevées, car il forme alors des sous-produits tels que du semicarbazide, de l'hydrazine, et/ou de la biurée et les cristaux d'ADA
30 formés sont caractérisés par une dureté exceptionnelle.

- 8 -

A l'aide d'une méthode HPLC il a été possible de déterminer l'obtention d'azodicarbonamide préparé selon le procédé de cet exemple à un degré de pureté supérieur à 98 %, notamment de 98,4 %, c'est-à-dire la qualité pharmaceutique.

5

Exemple 2

Procédé de micronisation d'ADA suivant l'invention

On met en oeuvre 3 lots d'ADA fabriqués selon le procédé de l'exemple 1, chaque lot pesant 15 kg.

On procède à une fragmentation poussée de la poudre sèche formant chacun de ces lots en alimentant ceux-ci à un débit de
10 4 kg/h dans un dispositif de désintégration de poudre sèche connu, par exemple dans un dispositif de modèle Alpine® 100 AFG Jet Mill de Hosokawa Micron Group. Ce dispositif comprend une chambre de broyage cylindrique, à fond conique qui est fait d'acier inoxydable couvert
15 d'un élastomère. Le diamètre de cette chambre est de 100 mm et son volume de 800 cm³. Les particules à désintégrer sont introduites dans la chambre par une vis sans fin. Les particules sont alors projetées l'une contre l'autre par des jets d'air comprimé de 3 lances à air d'un diamètre de 2 mm qui se rencontrent au même point. Le courant d'air formé porte
20 alors les particules désintégrées à 50 bars vers un turbo-sélectionneur qui est intégré dans la chambre de broyage. Ce turbo-sélectionneur a dans cet exemple la forme d'une cage d'écureuil qui a une vitesse de rotation réglable de 5.000 à 16.000 tours par minute.

Ce dispositif permet la sortie des particules plus petites
25 d'une taille déterminée, dans ce cas de <5 µm, et repousse dans la chambre de broyage les particules d'une taille supérieure. Les particules fines (taille recherchée) qui quittent la chambre de broyage sont collectées et rassemblées par exemple à l'aide d'un cyclone. L'air est filtré avant son retour à l'atmosphère. Il est apparu qu'à l'aide d'un tel
30 dispositif il était possible à une pression modérée de l'ordre de 75 bars à

- 9 -

l'entrée et de 50 bars à l'intérieur de microniser l'ADA en un seul cycle de 3 heures.

Les tailles des particules ont ensuite été analysées. Pour analyser les diamètres on a utilisé un dispositif de dispersion de poudre

5 sèche RODOS & RODOS/M (de Sympatec GmbH) et un outil d'alimentation de poudre vibratoire VIBRI (de Sympatec GmbH) avec un système de diffraction à laser HELOS (de Sympatec GmbH). Les poudres analysées ont été alimentées à un débit de 35 % du débit maximum. En passant dans un jet d'air, la poudre est soumise à des forces de

10 cisaillement de l'ordre de 3,0 bars. A l'aide d'un vide (90-1 00 mbar) elles sont ensuite aspirées dans le trajet d'un faisceau laser He-Ne. La diffraction du faisceau laser par les particules crée un modèle qui est mesuré et converti par ordinateur en distribution de tailles de particules à l'aide d'un logiciel associé au système HELOS.

15

- 10 -

Lots	A			B			C		
Pression d'entrée dans le disperseur	8,5 bars			8,5 bars			8,1 bars		
Pression à l'intérieur du disperseur	8,0 bars			7,8-8,1 bars			8,0-8,1 bars		
Débit d'alimentation	25-26 g/min			26-27 g/min			26-27 g/min		
Granulométrie des particules pendant la micronisation (μm)	d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀	d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀	d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀
Début	0,58	1,61	3,78	0,58	1,58	3,71	0,56	1,47	3,43
Milieu	0,56	1,53	3,55	0,58	1,59	3,88	0,57	1,56	3,69
Fin	0,56	1,51	3,50	0,59	1,56	3,68	0,57	1,58	3,85
Rendement de la désintégration [%]	97,8			100,0			98,4		

- 11 -

Exemple 3

Examen comparatif de biodisponibilité

54 souris sont partagées au hasard en 9 groupes de 6 animaux et elles reçoivent par gavage une dose d'ADA.

5 Le groupe A reçoit 10 mg/kg de poids de corps d'ADA micronisé suivant l'invention (en suspension dans de la carboxyméthylcellulose (CMC)).

Le groupe B reçoit 10 mg/kg d'ADA non micronisé (en suspension dans de la CMC).

10 Le groupe C reçoit 10 mg/kg d'ADA en solution dans du diméthylsulfoxyde (DMSO).

Le groupe D reçoit 5 mg/kg d'ADA micronisé suivant l'invention (en suspension dans de la CMC).

15 Le groupe E reçoit 5 mg/kg d'ADA non micronisé (en suspension dans de la CMC).

Le groupe F reçoit 5 mg/kg d'ADA en solution dans du DMSO.

Le groupe G reçoit 1,25 mg/kg d'ADA micronisé suivant l'invention (en suspension dans du CMC).

20 Le groupe H reçoit 1,25 mg/kg d'ADA non micronisé (en suspension dans du CMC).

Le groupe I reçoit 1,25 mg/kg d'ADA en solution dans du DMSO.

25 La concentration en biurée, seul catabolite de l'ADA «In Vivo" (Concise International Chemical Assessment Document 16 ; World Health Organization : Geneva, 1999) dans le sérum sanguin ($\mu\text{g/ml}$) a été déterminée 30 minutes après ingestion à l'aide d'une méthode de chromatographie en phase liquide sous haute pression. Cette concentration représente une mesure de la biodisponibilité de l'ADA dans
30 l'organisme.

- 12 -

L'analyse des échantillons de plasma a été effectuée par chromatographie en phase liquide sous haute pression, suivie d'une spectrométrie de masse, suivant les normes de la «Food and Drug (USA) Administration May 2001 : Guidance for Industry: Bioanalytical method validation» (limite de quantification la plus basse (LOQ) de 0,20 µg/ml et méthode linéaire jusqu'à 20 µg/ml).

Les résultats obtenus sont indiqués dans la figure 1 annexée qui représente un histogramme dans lequel les valeurs en abscisse sont les dosages d'ADA administrés en mg par kg de poids de corps et les valeurs en ordonnée les concentrations de biourée en µg/ml dans le plasma sanguin.

Comme on peut le constater les groupes qui ont reçu de l'ADA micronisé suivant l'invention (groupes A, D et G) présentent à tous les dosages une biodisponibilité de l'ADA dans le sang nettement meilleure que l'ADA non micronisé.

D'une manière surprenante, l'ADA suivant l'invention présente même une meilleure biodisponibilité que l'ADA complètement dissous.

Exemple 4

Examen de toxicité sur animaux

On examine la toxicité d'azodicarbonamide administré par voie orale. Il est connu que, lors de l'administration d'ADA tel que disponible dans le commerce et présentant un d_{50} de 18 µm ainsi qu'un $d_{90} < 35$ µm, on observe rapidement dans les urines la formation de cristaux de biurée.

On a testé des rats auxquels on a administré par voie orale des doses journalières pendant 28 jours de 900, 150 et 25 mg d'ADA suivant l'invention/kg de poids de corps. L'ADA se trouvait sous forme d'une poudre micronisée suivant l'invention en suspension dans de la carboxyméthylcellulose. De même on a effectué un test identique sur des chiens à des doses journalières pendant 28 jours de 400, 100 et 25 mg

- 13 -

d'ADA suivant l'invention/kg dθ poids de corps. Dans aucun des deux tests on n'a pu observer d'effet adverse.

Sur les chiens ayant reçu 400 mg/kg/jour pendant 28 jours on a effectué en outre un examen histologique avec dissection des reins.

5 D'une manière tout à fait surprenante on n'a pas pu observer de cristaux de biurée.

Etant donné la meilleure biodisponibilité obtenue dans le sang on pouvait au contraire s'attendre, à de telles doses, à une formation accrue de cristaux du métabolite de l'ADA, ce qui s'est avéré
10 ne pas être le cas.

Exemple 5

Examen de toxicité sur être humain

Des capsules à revêtement de gélatine «ESB free» contenant une composition telle que décrite dans l'exemple 4 ont été
15 administrées pendant 7 jours à des volontaires mâles sains à un dosage allant jusqu'à 6 g par jour (dose unique de 150 à 6000 mg et doses répétées de 300 à 2400 mg).

Un examen des urines a été effectué en utilisant une cytométrie de flux (limite de détection de 2 μm). On n'a pas pu observer
20 de calculs ou cylindres urinaires.

Exemple 6

Examen de réactivité des voies respiratoires

Au jour 0, des rats Brown Norway (200-250 g) ont été sensibilisés par administration intrapéritonéale (1 ml/rat) d'ovalbumine
25 (1 mg/ml) mélangée à de l'hydroxyde d'aluminium (100 mg/ml).

Dans cette expérience, de l'ADA micronisé suivant l'invention est administré aux rats par gavage sous la forme d'une suspension dans du poloxamer 188. L'administration a lieu deux fois par jour en des dosages de 125 et 250 mg/kg, depuis le jour -1 jusqu'au jour
30 20.

- 14 -

On a pu remarquer que ce traitement à l'ADA donne lieu à une inhibition significative de l'augmentation obtenue pour les animaux témoins de la réactivité des voies respiratoires aux interleukines, à toutes les doses de métacholine induite par attaque antigénique dans des animaux sensibilisés comme décrit ci-dessus.

Exemple 7

Composition de capsule

Dans une capsule de type Ivory n° 2 on introduit la composition suivante :

10	Azodicarbonamide suivant l'invention	150 mg
	Monostéarate de glycérol (géléol)	3 mg
	Silice anhydre colloïdale	3 mg
	Stéarate de magnésium végétal	1 mg
	Alcool isopropylique	15 mg (évaporeré)

Exemple 8

Composition de suspension à introduire dans un flacon en verre brun protecteur vis-à-vis de la lumière

	Azodicarbonamide suivant l'invention	1,00 g
	PVP	0,20 g
20	PF68	0,20 g
	Eau distillée	98,60 g

Cette suspension est utilisable en pédiatrie (1 ml de suspension donne 1 mg d'ADA, le dosage attendu étant de 10 mg/kg de poids de corps, deux fois par jour).

Exemple 9

Composition de crème vaginale

Cette composition contient 50 mg d'azodicarbonamide suivant l'invention ainsi que de la cire d'esters cétyliques, de l'alcool cétylique, de la cire blanche, du monostéarate de glycéryle, du monostéarate de propylèneglycol, du stéarate de méthyle, du

- 15 -

laurylsulfate de sodium, de la glycérine, de l'huile minérale et de l'alcool benzylique comme agent conservateur.

Cette composition microbicide et virucide peut être utile pour un usage local et préventif.

5

Exemple 10

Comme on l'a précédemment indiqué, une des difficultés majeures liées à la micronisation de l'ADA selon l'état antérieur de la technique est constituée par la perte de l'état initial par agrégation des particules micronisées en particules plus grosses.

10

Après fabrication d'ADA micronisé dans les conditions des exemples 1 et 2, on a obtenu une répartition de taille des cristaux d'ADA, comme illustré sur la figure 2 annexée.

15 La substance active a alors été incorporée dans des gélules qui ont été stockés dans un réfrigérateur à 8 °C pendant 11 mois, aux fins de déterminer la stabilité de l'ADA conformément aux normes (International Harmonisation Conférence ; ICH).

La taille des particules d'ADA a de nouveau été déterminée à ce moment ainsi qu'après 3 mois supplémentaires de mise en étuve à 25 °C/60% d'humidité.

- 16 -

Tailles des particules

N° de code du lot	Date du test	D10	D50
K9J K9K K9L	20 juin 2004	0,56 µm 0,59 µm 0,57 µm	1,51 µm 1,56 µm 1,58 µm
K9J K9K K9L	7 mai 2005	0,72 µm 0,69 µm 0,72 µm	1,86 µm 1,74 µm 1,88 µm
K9J K9K K9L	7 août 2005 25°C/60% humidité	0,76 µm 0,74 µm 0,76 µm	2,05 µm 1,93 µm 2,08 µm

Ces résultats sont reportés en figure 3, d'où la stabilité de l'ADA suivant l'invention ressort clairement, alors qu'aucun adjuvant n'a
5 été incorporé dans la substance active.

Il doit être entendu que la présente invention n'est en aucune façon limitée aux formes de réalisation décrites ci-dessus et que bien des modifications peuvent y être apportées sans sortir du cadre des revendications annexées.

- 17 -

REVENDEICATIONS

1. Azodicarbonamid θ (ADA) sous forme d'une poudre sèche micronisée, caractérisé en ce que ladite poudre présente une distribution granulométrique de particules où les particules de la poudre
5 présentent un diamètre moyen (d_{50}) égal ou inférieur à $2\text{ }\mu\text{m}$, et un diamètre à 90 % (d_{90}) égal ou inférieur à $4\text{ }\mu\text{m}$.
2. Azodicarbonamide suivant la revendication 1, dans lequel les particules de la poudre présentent un diamètre à 10% (d_{10}) égal ou inférieur à $0,6\text{ }\mu\text{m}$.
- 10 3. Azodicarbonamide suivant l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il présente un degré de pureté supérieur à 98 %.
4. Composition pharmaceutique contenant, comme substance thérapeutiquement active, de l'azodicarbonamide suivant l'une quelconque des revendications 1 à 4, ainsi qu'éventuellement un
15 excipient pharmaceutiquement compatible et un ou plusieurs adjuvants courants en pharmacie.
5. Composition suivant la revendication 4, contenant, outre l'azodicarbonamide, au moins une autre substance thérapeutiquement active.
- 20 6. Composition suivant l'une des revendications 4 et 5, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'une poudre, d'un comprimé, d'une pilule, d'une gélule, d'une capsule, d'une dragée, d'une suspension, d'une crème, d'une pâte, d'un sirop ou de sachets.
7. Composition suivant l'une quelconque des
25 revendications 4 à 6, à administrer par voie orale, sublinguale, rectale, vaginale, locale, transcutanée ou transmuqueuse ou encore par injection ou perfusion.
8. Procédé de préparation d'azodicarbonamide suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3, comprenant
30 - une oxydation de biurée en suspension dans l'eau par du gaz chlore ou de l'eau oxygénée, à pression et température ambiantes,

- 18 -

- une séparation par filtration d'azodicarbonamide,
- un lavage de celui-ci, puis son séchage,
- une désintégration par jet d'air de l'azodicarbonamide à l'état sec, sous une pression inférieure à 100 bars, avec formation de particules micronisées, et
- une sélection de particules micronisées présentant une taille inférieure à une valeur de 5 µm.

5
10 9. Procédé suivant la revendication 8, caractérisé en ce que le séchage et/ou la désintégration ont lieu à la température ambiante.

10. Procédé de préparation d'une composition pharmaceutique suivant l'une quelconque des revendications 4 à 7, comprenant une mise en association d'azodicarbonamide suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3 et au moins d'un excipient pharmaceutiquement compatible.

15 11. Utilisation d'azodicarbonamide sous forme de poudre micronisée suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour la fabrication d'un médicament à mettre en oeuvre dans le traitement de maladies virales, en particulier des infections par des virus contenant une protéine appelée à "doigt de zinc".

20 12. Utilisation suivant la revendication 11, caractérisée en ce que le médicament est à mettre en oeuvre pour le traitement des infections humaines ou animales par les papillomavirus, les rétrovirus, en particulier le virus d'immunodéficience humaine, les arénavirus, les virus de l'herpès, le virus de l'hépatite C.

25 13. Utilisation d'azodicarbonamide sous forme de poudre micronisée suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour la fabrication d'un médicament à mettre en oeuvre dans le traitement d'affections humaines ou animales résultant d'une production pathologique de cytokines ou lymphokines.

30

- 19 -

14. Utilisation d'azodicarbonamide sous forme de poudre micronisée suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3, pour la fabrication d'un médicament à mettre en oeuvre dans le traitement d'affections humaines ou animales donnant lieu à une production
5 cellulaire importante et pathologique d'acide désoxyribonucléique, de type cancéreux.

15. Utilisation d'azodicarbonamide suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3 ou d'une composition suivant l'une quelconque des revendications 4 à 7, pour le traitement de cellules de micro-
10 organismes, de cellules isolées, de macroorganismes et de cellules d'un organisme ou tissu cellulaire extrait d'un corps humain ou animal, en particulier d'une greffe.

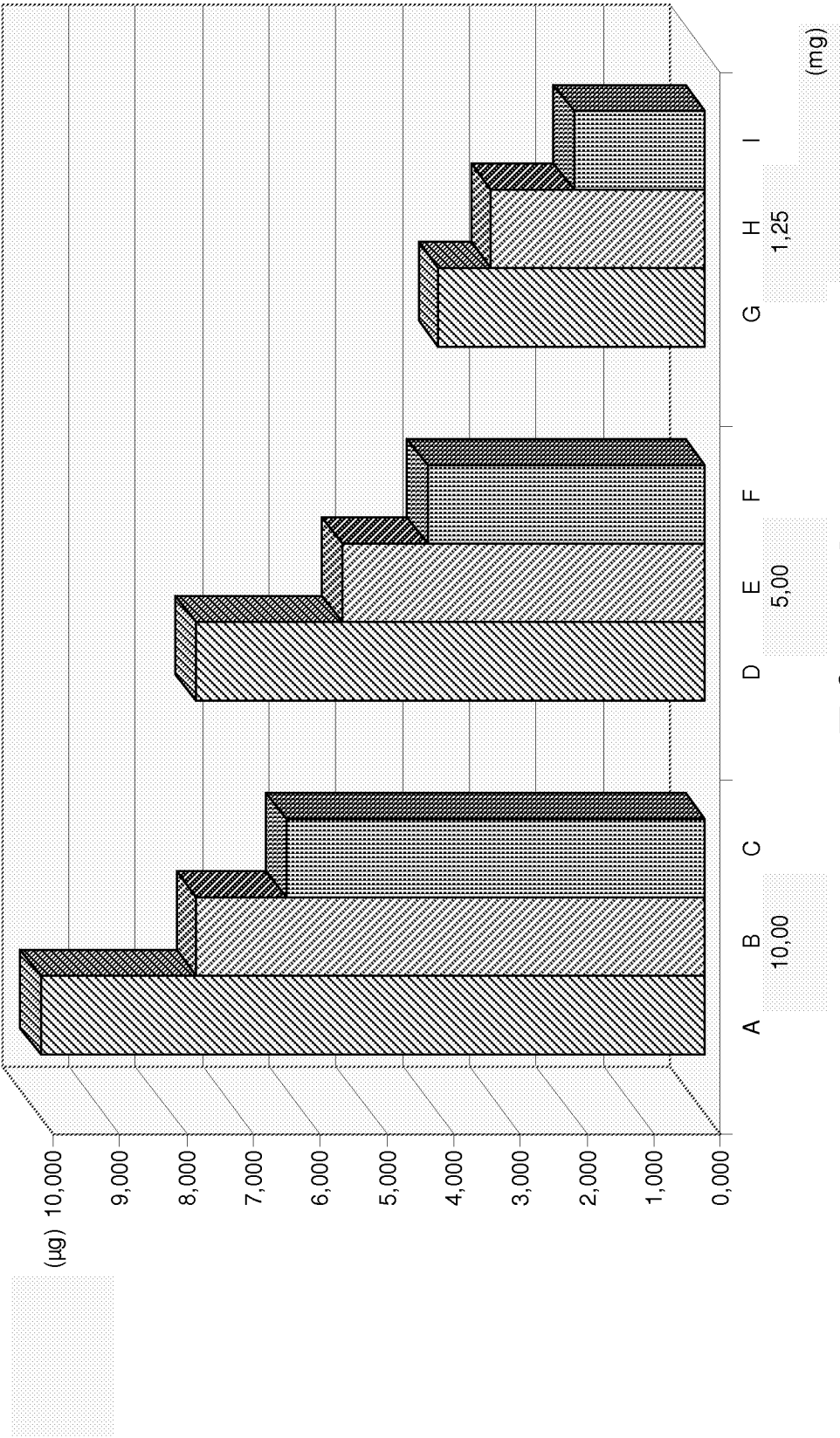
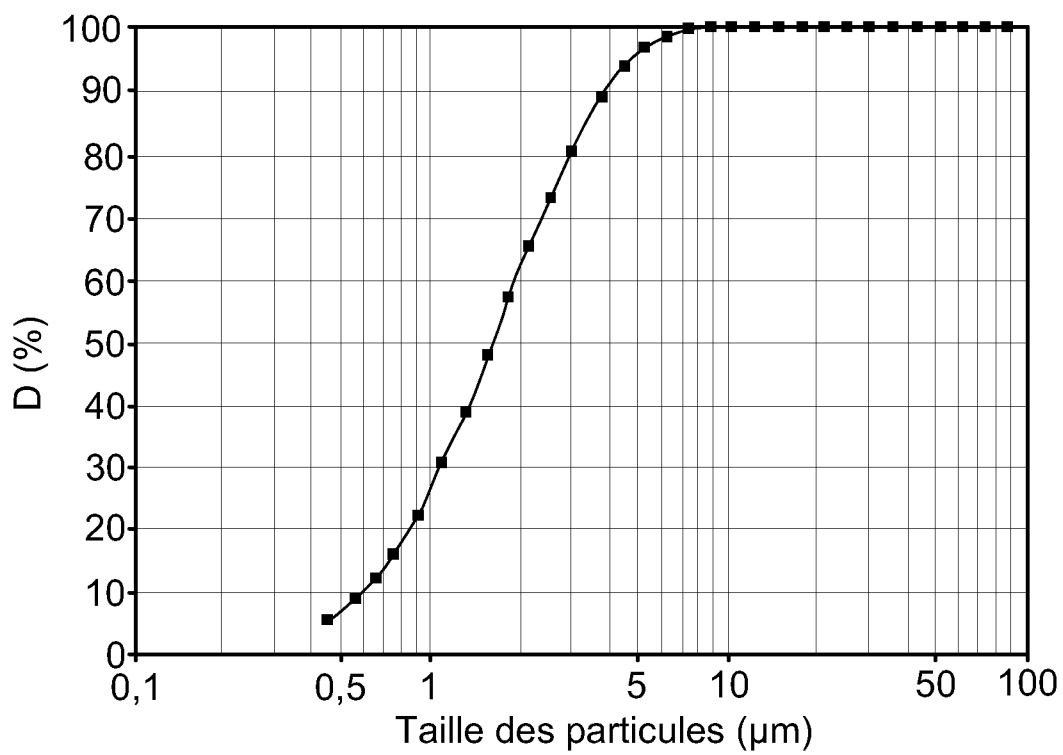
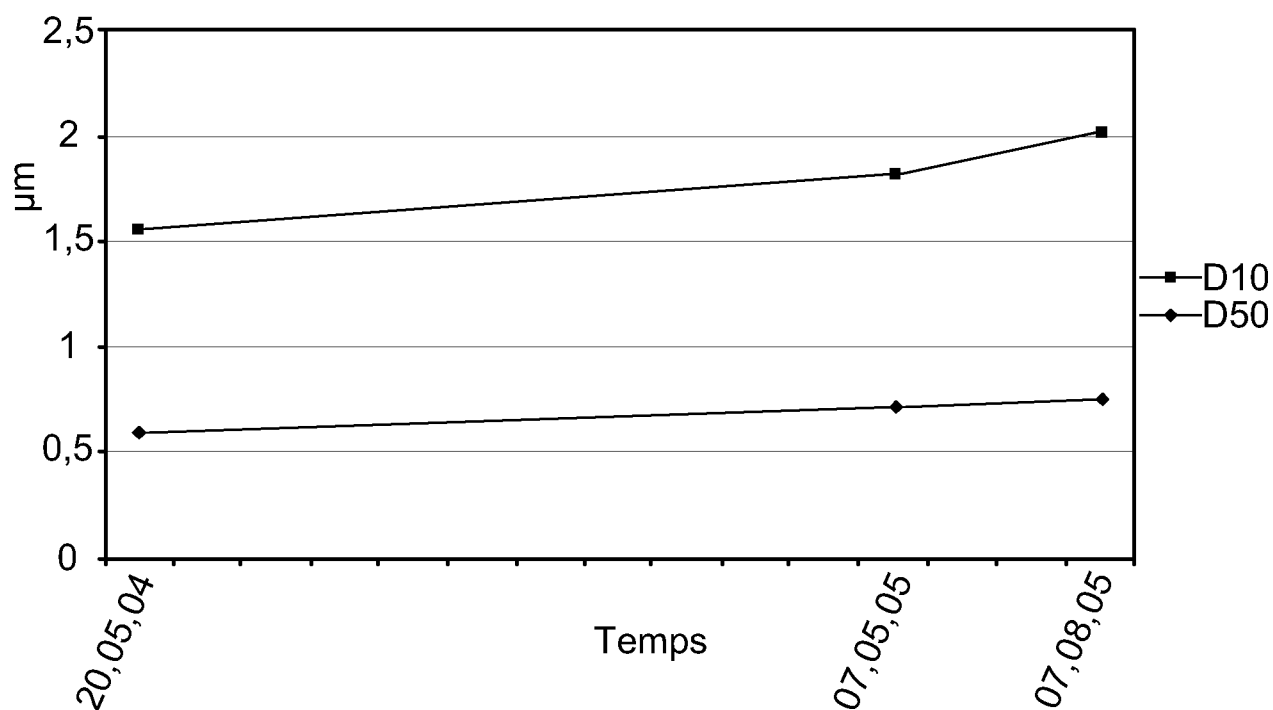


Fig. 1

2/2

**Fig. 2****Fig. 3**