

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

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
6 décembre 2012 (06.12.2012)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2012/164494 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 31/485 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
C08G 69/48 (2006.01) A61P 25/04 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2012/052689

(22) Date de dépôt international :
30 mai 2012 (30.05.2012)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
11 54686 30 mai 2011 (30.05.2011) FR
61/491,614 31 mai 2011 (31.05.2011) US

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **FLA-MEL TECHNOLOGIES** [FR/FR]; 32 Avenue du Docteur Georges Lévy, Parc Club du Moulin à Vent, F-69200 Vénissieux (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **CHAN, You-Ping** [FR/FR]; 12 avenue Haute Combe, F-69360 Ternay (FR). **MOULIN, Aline** [FR/FR]; 32 cours de la Liberté, F-69003 Lyon (FR).

(74) Mandataire : **LE COUPANEC, Pascale**; 3 rue de Penthievre, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : COMPOSITION FOR CONTROLLED RELEASE OF BUPRENORPHINE

(54) Titre : COMPOSITION A LIBERATION CONTROLEE DE LA BUPRENORPHINE

(57) Abstract : The present invention relates to a novel aqueous liquid pharmaceutical composition for controlled release of buprenorphine or of a buprenorphine analogue, comprising at least one low-water-solubility prodrug of said buprenorphine or of a buprenorphine analogue, and at least one polymer which has a linear backbone, chosen from polyglutamates, polyaspartates, poly(meth)acrylates and polysaccharides, onto which one or more hydrophobic groups are grafted.

(57) Abrégé : La présente invention concerne une nouvelle composition pharmaceutique liquide aqueuse, à libération contrôlée de buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine, comprenant au moins un prodrogue de faible solubilité aqueuse de ladite buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine, et au moins un polymère possédant un squelette linéaire choisi parmi les poly glutamates, polyaspartates, poly(méth)acrylates et polysaccharides, auquel sont greffés un ou plusieurs groupements hydrophobes.



WO 2012/164494 A1

Composition à libération contrôlée de buprénorphine

L'invention concerne des compositions pharmaceutiques dédiées à la libération contrôlée de buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine, actif utile dans le traitement de la douleur. Plus particulièrement, elle décrit des compositions comprenant
5 une prodrogue de la buprénorphine ou d'un analogue de la buprénorphine et un polymère spécifique. Ces compositions permettent avantageusement de prolonger la durée d'action de la buprénorphine tout en ayant une action rapide juste après administration.

La buprénorphine est un médicament utilisé comme analgésique et dans le traitement substitutif de la dépendance aux opiacés. Elle est un agoniste partiel et un
10 antagoniste des récepteurs des opioïdes. Elle est aujourd'hui commercialisée sous diverses formes, en patch transdermique, en pastille sublinguale ou pour une administration injectable par voie intramusculaire ou intraveineuse.

L'utilisation des patchs ou pastilles est généralement privilégiée dans le traitement de la douleur chronique. Ainsi, certains patchs ont la capacité de procurer une
15 libération sur une semaine. Cependant, ces présentations ne s'avèrent pas adéquates pour une utilisation chez les animaux. En outre, en ce qui concerne plus particulièrement les patchs, ils ne sont pas appropriés pour procurer un effet analgésique rapide après application. Enfin, les présentations pour l'administration orale ou transdermique nécessitent des doses plus élevées pour compenser la perte de biodisponibilité. Par
20 exemple, on note, dans le cas de l'application d'un patch transdermique, que la libération de buprénorphine atteint l'état stationnaire au bout de trois jours et que la biodisponibilité est de l'ordre de 15 % seulement. Par voie orale, la biodisponibilité n'est que de 10 %.

La forme injectable, utilisée notamment par voie intramusculaire ou intraveineuse chez l'homme et chez les animaux, est généralement privilégiée dans le
25 cadre du traitement de la douleur en chirurgie pré- ou post-opérative. A titre illustratif de ces formes injectables peut notamment être citée celle commercialisée sous le nom de marque Buprenex[®] ou Buprecare[®], qui est une solution aqueuse de buprénorphine sous sa forme sel de chlorhydrate à 0,3 mg/mL. La dose à administrer chez le chien est de 0,1 à 0,2 mg toutes les 8 heures et chez l'homme de 0,2 à 0,6 mg toutes les 8 heures. Elle est très
30 utilisée dans le domaine vétérinaire pour le traitement de la douleur. Toutefois, pour une efficacité sur plusieurs jours, les administrations doivent être fréquentes et peuvent conduire à des effets secondaires liés aux pics de concentration trop fréquents.

Une formulation pour une administration par voie parentérale, offrant à la fois un début d'action rapide et une durée d'action de plusieurs jours, serait intéressante à plusieurs titres. Elle permettrait de réduire le nombre de prises, de limiter voire s'affranchir des effets secondaires, et ainsi de mieux traiter la douleur.

5

Les formulations à libération lente de buprénorphine actuellement proposées comprennent des polymères hydrophobes ou des émulsions huile dans eau.

Ainsi, la demande de brevet US 2008/0227805 décrit des émulsions huile dans eau de buprénorphine à différents pH. Ce type de formulation permet effectivement de
10 réguler la vitesse de libération mais la durée totale d'action demeure limitée et ne dépasse pas, par exemple, 30 heures chez le rat.

Une formulation micro-particulaire de buprénorphine, à base de copolymère de lactide et de glycolide (PLGA) a également été développée puis testée chez l'homme (Sigmon *et al.* Addiction 2006, 101, 420-432) dans le cadre du traitement de la
15 dépendance. Toutefois cette approche n'est également pas totalement satisfaisante. L'étude clinique révèle un profil pharmacocinétique étendu jusqu'à 5 semaines mais la concentration plasmatique maximale (C_{max}) n'est atteinte qu'après 2 ou 3 jours, et la variabilité est relativement importante.

Pour sa part, la demande de brevet WO 2010/009451 décrit des microparticules
20 à base de poly-ortho ester et de buprénorphine ayant une durée d'action chez le chien de 3 à 8 jours et la concentration plasmatique maximale (C_{max}) est obtenue après au moins 10 heures.

Une autre approche consiste à mettre en œuvre la buprénorphine sous la forme
25 d'une prodrogue. La buprénorphine est alors générée *in situ* en particulier *via* l'hydrolyse d'une liaison hydrolysable. Cette approche a plusieurs avantages.

Ainsi, Stinchcomb *et al.* (Pharm. Res. 1996, 13, 1519-1523) et Imoto *et al.* (Biol. Pharm. Bull. 1996, 263-267) décrivent des esters d'alkyle en C_1 à C_4 de buprénorphine et étudient leur absorption par la voie transcutanée. Il y est constaté une
30 diminution du point de fusion et une augmentation de la solubilité dans une phase huileuse. Le passage transcutané en est amélioré.

Le brevet US 7,084,150 décrit des prodrogues de la buprénorphine dérivant de la fonctionnalisation de la buprénorphine avec divers groupements esters hydrophiles ou hydrophobes pour une utilisation notamment par voie transdermale. Aucun exemple d'application n'est donné.

5 La demande de brevet US 2008/0076789 décrit des prodrogues de la buprénorphine dérivant de la fonctionnalisation de la buprénorphine avec des groupements hydrophiles permettant de faciliter le passage transdermal.

 La demande de brevet WO 2007/110636 décrit des dérivés succinate et adipate de la buprénorphine, intéressants au regard de leur biodisponibilité améliorée par voie
10 orale.

 Quant à la demande de brevet US 2005/0075361 de Wang *et al.*, elle décrit des compositions injectables à base de prodrogue de buprénorphine (ester mono- ou dicarboxylique) solubilisée dans une phase huileuse. Ces compositions, toutes injectées par voie intramusculaire, permettent d'obtenir des durées d'action chez le rat comprises entre
15 50 et 96 heures.

 Parallèlement et dans un souci notamment d'améliorer la biodisponibilité par voie orale ou le passage transdermal de la buprénorphine, de ralentir sa libération ou encore de prévenir son mésusage, il a été proposé de formuler des prodrogues de la
20 buprénorphine à l'état de nano- ou microparticules.

 Ainsi, Wang *et al.* (Eur. J. Pharm Sci. 2009, 38, 138-146) décrivent des formulations dédiées à une administration par voie intraveineuse et comprenant des nanoparticules lipidiques incorporant respectivement des prodrogues de type ester en C₃ à C₇ de la buprénorphine. L'effet analgésique associé a été observé chez le rat jusqu'à
25 10 heures. Ce système a également été évalué en perméation transcutanée chez la souris (Wang *et al.*, J. Microencapsulation 2009, 26, 734-747). Les résultats montrent une cinétique de transport très faible par rapport aux formules utilisant la buprénorphine non modifiée.

 En conséquence, il ressort de ce qui précède que l'utilisation d'une prodrogue
30 hydrophobe de la buprénorphine solubilisée dans une huile ou véhiculée dans des nanoparticules lipidiques est la formulation pharmaceutique conventionnellement proposée

pour obtenir une libération lente de la buprénorphine *via* une administration par voie intramusculaire.

Toutefois, l'injection de ce type de formulations nécessite des aiguilles relativement larges, de 18 à 21 gauges pour des raisons de viscosité élevée. Or, il est bien
5 connu que l'injection par voie intramusculaire entraîne souvent une douleur forte et persistante et nécessite l'intervention de professionnels de santé. Des injections multiples en intramusculaire peuvent également induire des abcès ou fibroses (Gribaldi's Drug Delivery Systems in pharmaceutical care Desai et Lee, 2007).

La présente invention vise notamment à pallier ces inconvénients.

10 Plus précisément, les inventeurs ont constaté, contre toute attente, qu'une composition liquide de faible viscosité, comprenant une prodrogue de la buprénorphine ou de l'un de ses analogues et un polymère spécifique, permet d'obtenir une durée d'action de plusieurs jours et s'avère compatible avec une administration par voie sous-cutanée.

15 Ainsi selon un de ses aspects, la présente invention concerne une composition pharmaceutique liquide aqueuse, à libération contrôlée de buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine, comprenant au moins une prodrogue de faible solubilité aqueuse de ladite buprénorphine ou d'un analogue de ladite buprénorphine et au moins un polymère possédant un squelette linéaire choisi parmi les polyglutamates, polyaspartates,
20 poly(méth)acrylates et polysaccharides, auquel sont greffés un ou plusieurs groupements hydrophobes.

Selon l'invention, le polymère et la prodrogue de buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine sont associés de manière non-covalente.

25 Par « pharmaceutique », on entend désigner une composition destinée au traitement de l'homme ou de l'animal.

Dans le cadre de la présente invention, la prodrogue de faible solubilité aqueuse de la buprénorphine ou de l'un de ses analogues possède une solubilité, mesurée
30 à température ambiante, inférieure à 1 mg/ml dans de l'eau à pH 7.

Il est à noter qu'une composition liquide aqueuse selon l'invention peut être obtenue par ajout d'un liquide aqueux, en particulier d'eau, à une composition solide, en

particulier sous la forme d'une poudre. ladite composition solide comprenant au moins une prodrogue de faible solubilité aqueuse de ladite buprénorphine ou d'un analogue de ladite buprénorphine et au moins un polymère possédant un squelette linéaire choisi parmi les polyglutamates, polyaspartates, poly(méth)acrylates et polysaccharides, auquel sont greffés
5 un ou plusieurs groupements hydrophobes. Cette composition solide constitue un autre aspect de l'invention.

Une telle composition solide peut être elle-même formée au préalable par déshydratation, par exemple par lyophilisation, d'une composition liquide aqueuse conforme à l'invention.

10 Selon un autre de ses aspects, la présente invention comprend une méthode de traitement de l'homme ou d'un animal, comprenant l'administration par voie sous cutanée d'une composition conforme à l'invention telle que définie précédemment.

D'autres caractéristiques, avantages et modes d'application des compositions
15 selon l'invention ressortiront mieux à la lecture de la description qui va suivre.

Dans la suite du texte, les expressions « compris entre ... et ... », « allant de ... à ... » et « variant de ... à ... » sont équivalentes et entendent signifier que les bornes sont incluses, sauf mention contraire.

Sauf indication contraire, les expressions « comportant un(e) » et « comprenant
20 un(e) » doivent être comprises comme « comportant au moins un(e) » et « comprenant au moins un(e) ».

Au sens de l'invention, le terme « environ » entend signifier que la valeur qui suit ce terme est vérifiée en tenant compte des limites d'erreur expérimentale acceptables pour l'homme du métier.

COMPOSITION SELON L'INVENTION

De préférence, une composition liquide aqueuse selon l'invention possède une viscosité, mesurée à 20 °C et à une vitesse de cisaillement de 10 s⁻¹, inférieure à 200 mPa.s, de préférence comprise entre 2 et 100 mPa.s.

30 La viscosité peut être mesurée à 20 °C, à l'aide d'un appareillage classique, tel que par exemple un rhéomètre à contrainte imposée (Gemini, Bohlin) sur lequel a été installée une géométrie de type cône-plan (4 cm de diamètre et 1° d'angle).

Par ailleurs, les compositions de l'invention sont avantageusement stériles.

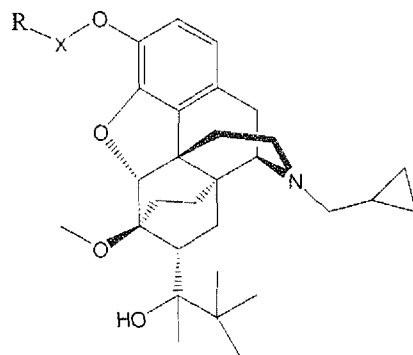
Par « stérile » on entend qualifier un environnement apte à garantir au composé ou à la composition qui le contient l'innocuité requise pour une administration sous-cutanée. En particulier, il est essentiel que la composition formée d'un liquide aqueux, de la prodrogue peu soluble de la buprénorphine ou d'un analogue de la buprénorphine et dudit polymère de l'invention, et devant être administrée selon une technique d'injection, soit dénuée de tout corps contaminant susceptible d'initier une réaction secondaire indésirable au niveau de l'organisme hôte.

Une composition selon l'invention peut être aisément rendue stérile lors de sa préparation par filtration à travers un filtre de 0,2 µm.

Prodrogue de la buprénorphine ou d'un analogue de la buprénorphine

Selon un de ses aspects, une composition de l'invention comprend au moins une prodrogue de faible solubilité aqueuse de la buprénorphine (Bu) ou de l'un de ses analogues.

Au sens de l'invention, une prodrogue de la buprénorphine possède avantageusement la structure (I) ci-dessous :



(I)

dans laquelle, R est choisi parmi les groupements :

- alkyles linéaires en C₂ à C₂₀, alkyles ramifiés en C₃ à C₂₀, comportant éventuellement au moins une insaturation ;
- alkyles cycliques en C₃ à C₆ ; et
- phényle et phénalkyles substitués ;

et X est un groupement C=O, O-C=O ou NH-C=O, formant ainsi une liaison ester, carbonate ou carbamate, respectivement.

De préférence, le groupement R est choisi parmi les groupements éthyle, propyle, iso-propyle, butyle, iso-butyle, sec-butyle, hexyle, 2-éthylhexyle, cyclohexyle, heptyle, octyle, dodécyle, tridécyle, tétradécyle, pentadécyle, hexadécyle, heptadécyle, octadécyle, phényle et benzyle.

Comme précisé ci-dessus, une composition selon l'invention peut également comprendre à titre d'actif, une prodrogue d'un analogue de la buprénorphine.

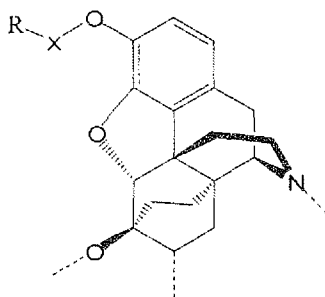
Au sens de la présente invention, on entend désigner par « analogues » de la buprénorphine, les formes substituées de la buprénorphine, sous réserve que ces substitutions ne soient pas préjudiciables à son activité thérapeutique et étant entendu que le groupement phénolique de la buprénorphine demeure accessible pour former une prodrogue.

Plus particulièrement, une prodrogue d'un analogue de la buprénorphine possède par analogie aux prodrogues de la buprénorphine couvertes par la formule (I) présentée ci-dessus, le motif R-X-O-phényle.

S'avèrent en particulier envisageables selon la présente invention, les analogues de la buprénorphine décrits dans le brevet US 5,849,915, la demande de brevet WO 2010/014229 et dans l'article de Taline *et al.* (Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics (2011), 336(3), 952-961).

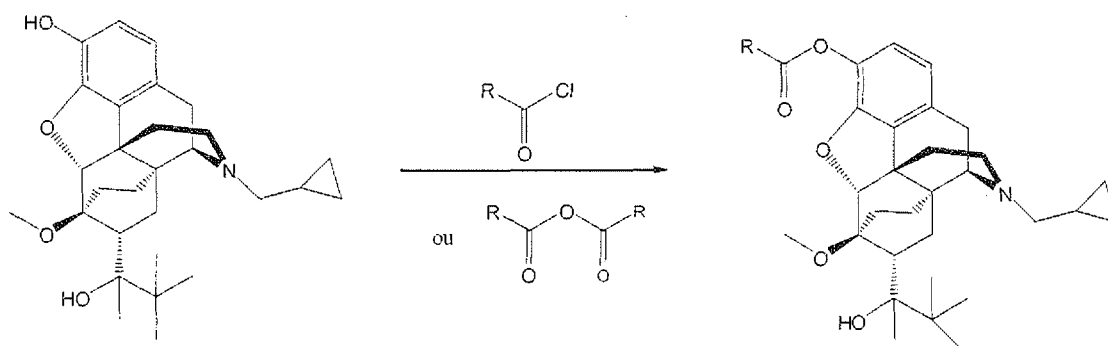
Les prodrogues d'analogues de la buprénorphine peuvent ainsi être des formes substituées de la structure (I) ci-dessus.

Plus généralement, peuvent être citées les prodrogues de la buprénorphine et prodrogues d'analogues de la buprénorphine dont la formule générale chimique comprend au moins le motif structurel suivant :



avec R et X étant tels que définis précédemment et les liaisons en pointillés figurant les sites de substitution potentiels.

Les prodrogues considérées selon l'invention peuvent être synthétisées aisément selon des modes opératoires adaptés de la littérature. Par exemple, les dérivés de type ester peuvent être obtenus selon des modes opératoires décrits dans la littérature : Stinchcomb *et al.* (Pharmaceutical Res. 1995, 12, 1526-1529), Que *et al.* (Acta. Anaes. Taiwanica. 2005, 43, 11-16), en mettant en œuvre, par exemple, la réaction schématisée ci-dessous.



Les dérivés de type carbonate ou carbamate peuvent être obtenus selon des modes opératoires décrits par exemple dans la demande de brevet US 2008/0076789.

De préférence, la prodrogue est une prodrogue de type ester de la buprénorphine, et en particulier répond à la formule (I) précédente dans laquelle le groupement X est un groupement C=O.

En particulier, la prodrogue de buprénorphine peut être de structure (I) précédente, dans laquelle R est choisi parmi les alkyles linéaires en C₂ à C₂₀ et les alkyles ramifiés en C₃ à C₂₀ et X est un groupement C=O.

Selon un mode de réalisation particulier, une composition de l'invention met en œuvre une prodrogue de buprénorphine choisie parmi le 6-isobutyrate de buprénorphine (BuC4), le 6-éthanate de buprénorphine (BuC7) et le 6-myristate de buprénorphine (BuC14), et notamment le 6-isobutyrate de buprénorphine ou le 6-éthanate de buprénorphine.

Selon un mode de réalisation particulier, une composition liquide aqueuse selon l'invention comprend une teneur en prodrogue(s) de buprénorphine ou en prodrogue(s) d'analogue de buprénorphine, allant de 0,5 à 10 mg/mL, de préférence de 1 à 5 mg/mL.

5

Polymère selon l'invention

Selon un autre de ses aspects, une composition de l'invention comprend, outre la prodrogue de buprénorphine ou d'un analogue de la buprénorphine, au moins un polymère spécifique.

10

- Squelette linéaire

Le polymère considéré selon l'invention possède un squelette linéaire choisi parmi :

- les poly(acide glutamique) (de type alpha ou gamma), les poly(acide aspartique) (de type alpha ou alpha/beta),
- les poly(acide acrylique) ou poly(acide méthacrylique), et
- les polysaccharides, tels que par exemple le dextrane ou l'un de ses dérivés tels qu'en particulier le carboxyméthyl dextrane ou l'hydroxyéthyl dextrane ou des pullulanes.

20

Selon un mode de réalisation particulier, le squelette linéaire du polymère de l'invention est choisi parmi les poly(acide glutamique) ou les poly(acide aspartique).

Il est entendu que les fonctions résiduelles carboxyliques des poly(acide glutamique), poly(acide aspartique) et poly(acide acrylique) greffés selon l'invention, peuvent se présenter sous une forme soit neutre (forme COOH) soit ionisée (anion COO⁻), selon le pH et la composition. La neutralité du polymère est assurée par un contre-cation qui peut être un cation métallique monovalent, de préférence un ion sodium ou potassium.

25

On parlera donc indifféremment i) de polyglutamate ou poly(acide glutamique), ii) de polyaspartate ou poly(acide aspartique) et iii) de polyacrylate ou poly(acide acrylique).

30

- Groupements hydrophobes

Le polymère de l'invention est greffé par un ou plusieurs groupements hydrophobes.

Les groupements hydrophobes pendants peuvent être plus particulièrement choisis parmi les alkyles linéaires en C₂ à C₂₀, les alkyles ramifiés en C₃ à C₂₀, les acides aminés hydrophobes liés par leur atome d'azote, le cholestérol et le tocophérol.

Les groupements hydrophobes qui conviennent tout particulièrement peuvent être choisis parmi les radicaux : octyloxy-, dodécyloxy-, tétradécyloxy-, hexadécyloxy-, octadécyloxy-, 9-octadécényloxy-, tocophéryl- et cholestéryl-, de préférence alpha-tocophéryl- ; les acides aminés hydrophobes tels que la leucine, la valine, la phénylalanine, le tryptophane ou la tyrosine ou un de leurs dérivés ; octylamino-, dodécylamino-, tétradécylamino-, hexadécylamino- et octadécylamino.

Selon une variante avantageuse de l'invention, le polymère de l'invention est choisi parmi des polyaspartates ou polyglutamates comportant des greffons hydrophobes pendants. A titre de références, des polymères connus et utilisables selon l'invention sont décrits. En particulier, on pourra se référer aux documents WO 03/104303, WO 2006/079614, WO 2008/135563 et WO 2010/076519 de la demanderesse. Aussi, Akagi *et al.* (Biomacromolecules 2006, 7, 297-303) décrit des acides gamma-polyglutamiques comportant un groupement phénylalanine ou Kang *et al.* (Langmuir 2001, 17, 7501-7506) décrit des acides polyaspartiques comportant des groupements hydrophobes alkyles linéaires de C₁₂ à C₁₈.

Selon une variante de réalisation préférée, le squelette linéaire est constitué d'un homopolymère d'alpha-L-glutamate ou d'acide alpha-L-glutamique ou gamma-L-glutamique.

Selon une autre variante de réalisation, le squelette linéaire est constitué d'un homopolymère d'alpha-L-aspartate ou d'acide alpha-D,L-alpha-beta aspartique.

De tels polyaminoacides sont notamment décrits dans les documents WO 03/104303, WO 2006/079614 et WO 2008/135563 dont le contenu est incorporé par référence. Ces polyaminoacides peuvent également être du type de ceux décrits dans la demande de brevet WO 00/30618.

Un certain nombre de polymères considérés à titre de squelette pour former les polymères greffés selon l'invention, par exemple, de type poly(acide alpha-L-glutamique),

poly(acide alpha-D-glutamique), poly(alpha-D,L-glutamate) et poly(acide gamma-L-glutamique) de masses variables sont disponibles commercialement. Ils sont ensuite fonctionnalisés par réaction avec un groupement hydrophobe ayant une fonction alcool ou amine pour former le polymère de l'invention *via* une liaison ester ou amide.

5 Dans la famille des polysaccharides, un polymère de type dextrane greffé par un groupement lauroyle est obtenu en faisant réagir le polymère dextrane avec le chlorure d'acide de l'acide laurique et le chlorure d'acide de la N-acétyl-méthionine dans la N-méthylpyrrolidone. Le mode opératoire pour l'obtention de dextrane greffé par le groupement lauroyle est décrit dans le brevet US 5,750,678 (exemple 1). Des
10 polysaccharides contenant des greffons hydrophobes de C₁₂ à C₅₀, en particulier un pullulane contenant le cholestérol comme greffon peut être obtenu selon le mode opératoire décrit dans US 6,566,516.

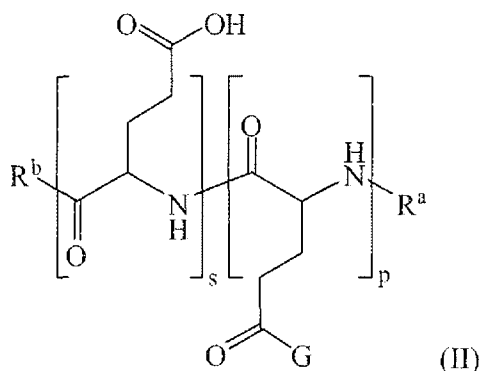
Selon un mode de réalisation particulièrement préféré, le polymère selon l'invention présente un taux de greffage molaire en groupements hydrophobes pendants
15 allant de 2 à 30 %.

Par « taux de greffage molaire » en groupements hydrophobes, on entend désigner le rapport du nombre moyen de monomères porteurs de groupements hydrophobes pendants sur le nombre total de monomères constituant le squelette linéaire du polymère considéré.

20 De préférence, les groupements hydrophobes pendants sont choisis parmi les alkyles linéaires en C₂ à C₂₀, les alkyles ramifiés en C₃ à C₂₀, les acides aminés hydrophobes, le cholestérol et le tocophérol.

Selon un mode de réalisation particulièrement préféré, le polymère selon l'invention est choisi parmi les polyglutamates de sodium et les polyaspartates de sodium
25 présentant un taux de greffage molaire en groupements hydrophobes pendants allant de 2 à 30 %, les groupements hydrophobes pendants étant choisis parmi les alkyles linéaires en C₂ à C₂₀, les alkyles ramifiés en C₃ à C₂₀, les acides aminés hydrophobes, le cholestérol et le tocophérol.

30 Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, le polymère selon l'invention possède la structure générale suivante ou l'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables :



dans laquelle :

- R^a représente un atome d'hydrogène, un groupe acyle linéaire en C_2 à C_{10} , un groupe acyle ramifié en C_3 à C_{10} , ou un groupe pyroglutamate.

5 - R^b représente un groupe $-NHR^5$ ou un acide aminé lié par l'atome d'azote et dont le carboxyle est éventuellement substitué par un radical alkylamino $-NHR^5$ ou un alcoxy $-OR^6$, dans lesquels :

• R^5 représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle linéaire en C_1 à C_{10} , un groupe alkyle ramifié en C_3 à C_{10} , ou un groupe benzyle ;

10 • R^6 représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle linéaire en C_1 à C_{10} , un groupe alkyle ramifié en C_3 à C_{10} , un groupe benzyle ou un groupement G ;

- G représente un groupement hydrophobe choisi parmi les radicaux octyloxy-, dodécyloxy-, tétradécyloxy-, hexadécyloxy-, octadécyloxy-, 9-octadécényloxy-,
15 tocophéryl- et cholestéryl-, de préférence alpha-tocophéryl-; un acide aminé hydrophobe lié par l'atome d'azote tel que la leucine, la valine, la phénylalanine, le tryptophane ou la tyrosine ou un de leurs dérivés ; octylamino-, dodécylamino-, tétradécylamino-, hexadécylamino-, et octadécylamino.

- s correspond au nombre moyen de monomères de glutamate non greffés,

20 - p correspond au nombre moyen de monomères de glutamate porteurs d'un groupement hydrophobe G,

- le degré de polymérisation $DP = (s + p)$ est inférieur ou égal à 2 000, en particulier inférieur à 700, plus particulièrement allant de 40 à 450, en particulier de 40 à 250, et notamment de 40 à 150.

Au sens de l'invention, la formule générale (II) décrite ci-dessus couvre des copolymères séquencés (ou blocs), mais également des copolymères aléatoires ou des copolymères multiblocs.

De préférence, l'enchaînement des monomères de ladite formule générale (II)
5 est aléatoire.

Selon un mode de réalisation particulièrement préféré de l'invention, le polymère de formule (II) possède un taux de greffage molaire $x_p = p/(s+p)$ en groupements hydrophobes allant de 2 à 30 %, en particulier de 4 à 15 %.

10

Alternativement, les groupements hydrophobes peuvent être liés au squelette linéaire polymérique *via* un espaceur permettant de les relier à la chaîne de polymère. Cet espaceur est avantageusement divalent et appartient au groupe comportant notamment les unités acide aminé, les dérivés des aminoalcools, les dérivés des diamines, les dérivés diols
15 et les dérivés des hydroxyacides. Il peut s'agir par exemple d'un espaceur alanine.

A titre d'exemples, le polymère mis en œuvre dans une composition de l'invention peut être un polyglutamate de sodium greffé par l'alpha-tocophérol, un polyacrylate de sodium greffé par l'alpha-tocophérol lié *via* un espaceur alanine ou encore
20 un poly(acide aspartique) greffé par la stéarylamine.

Selon un mode de réalisation particulièrement préféré, le polymère mis en œuvre selon l'invention est un polyglutamate greffé par l'alpha-tocophérol, en particulier présentant un degré de polymérisation allant de 25 à 500, notamment de 40 à 150, et plus particulièrement présentant un taux de greffage molaire en alpha-tocophérol allant de 5 à
25 25 %.

Il peut s'agir par exemple d'un polyglutamate de degré de polymérisation d'environ 100 et présentant un taux de greffage molaire de 10 % en alpha-tocophérol.

De préférence, une composition liquide aqueuse de l'invention comprend le ou
30 lesdits polymères conformes à l'invention en une teneur allant de 10 à 150 mg/mL, de préférence de 30 à 70 mg/mL.

Selon une variante de composition de l'invention, elle comprend au moins :

- un polymère polyglutamate de sodium de degré de polymérisation allant de 40 à 150, notamment d'environ 100 et greffé de 5 à 25 % en groupements alpha-tocophérol, de préférence environ 10 % ; et
- 5 - une prodrogue de la buprénorphine ou d'un analogue de la buprénorphine, en particulier une prodrogue de la buprénorphine choisie parmi l'isobutyrate de buprénorphine et l'énanthate de buprénorphine.

Dans le cadre de cette variante de réalisation, la ou lesdites prodrogue(s) de la buprénorphine ou d'un analogue de la buprénorphine et le ou lesdits polyglutamate(s) de sodium peu(ven)t avantageusement être présent(s) dans une composition de l'invention
10 dans un rapport pondéral prodrogue(s)/polymère(s) allant de 0,02 à 0,2.

Selon un mode de réalisation particulier, une composition conforme à l'invention peut comprendre à titre d'actif, outre la prodrogue de buprénorphine, de la buprénorphine ou un analogue de la buprénorphine non modifié(e).
15

Par « non modifié », on entend signifier notamment que la buprénorphine ou l'analogue de buprénorphine n'est pas sous la forme d'une prodrogue.

De préférence, la buprénorphine non modifiée est sous une forme hydrosoluble en particulier sous la forme de son chlorhydrate (BuHCl).

20 Une telle association est avantageuse pour procurer conjointement un effet analgésique immédiat et différé. Cette association est particulièrement appréciable dans le cas d'une administration post chirurgicale, où il est souhaitable d'obtenir l'effet analgésique rapidement et de maintenir cet effet sur une durée de plusieurs jours.

De préférence, le ratio molaire de buprénorphine ou d'analogue de buprénorphine non-modifiée par rapport à la prodrogue de buprénorphine ou d'analogue de buprénorphine est compris entre 0,1 et 2.
25

Avantageusement, les polymères de l'invention sont dispersibles dans l'eau à l'état de nanoparticules ou des nanogels d'une taille inférieure à 200 nm.

30 Les compositions selon l'invention correspondantes sont ainsi stérilisables par filtration, en particulier par filtration sur des membranes d'environ 0,2 µm.

La taille moyenne des nanoparticules ou des nanogels peut être mesurée par diffusion quasi-élastique de la lumière, par des techniques connues de l'homme du métier.

Les formulations de l'invention peuvent être plus particulièrement sélectionnées de telle façon à ce qu'elles se présentent sous la forme d'une dispersion de nanoparticules ou nanogels de taille moyenne inférieure à 200 nm, de préférence inférieure à 100 nm.

Procédé de préparation

D'une manière générale, les compositions selon l'invention sont préparées en solubilisant la prodrogue dans une solution du polymère spécifique considéré.

La solubilisation des prodrogues dans la solution de polymère peut s'effectuer directement en ajoutant les quantités souhaitées et en laissant sous agitation à température ambiante. Des techniques telles que le chauffage, l'utilisation d'ultrasons ou l'utilisation d'un solvant organique peuvent également être employées pour faciliter la solubilisation. Dans le cas de l'utilisation d'un solvant organique, une dialyse permettra de l'éliminer si nécessaire.

Selon une variante de réalisation, on solubilise la prodrogue de buprénorphine dans une solution aqueuse du polymère et on sépare par filtration ou centrifugation la partie insoluble. On obtient une solution aqueuse dont le pH peut être ajusté entre 5 et 8 en ajoutant de l'acide acétique, de la soude ou de l'acide chlorhydrique.

Selon une autre variante de réalisation, le procédé selon l'invention peut comprendre ultérieurement une étape de déshydratation de la suspension des particules obtenues, afin de les obtenir sous forme de poudre sèche.

Comme précisé ci-dessus, la présente invention concerne, selon encore un autre de ses aspects, une composition solide comprenant au moins une prodrogue de faible solubilité aqueuse de ladite buprénorphine ou d'un analogue de la buprénorphine et au moins un polymère à squelette linéaire choisi parmi les polyglutamates, polyaspartates, poly(méth)acrylates et polysaccharides, et auquel sont greffés un ou plusieurs groupements hydrophobes.

Une telle composition solide, généralement sous la forme d'une poudre, peut être en particulier obtenue par déshydratation d'une composition liquide aqueuse telle que décrite précédemment.

La composition liquide aqueuse peut être déshydratée par une méthode classique de déshydratation telle que la lyophilisation, l'atomisation ou l'évaporation, de préférence par lyophilisation.

Dans cette variante de réalisation, la composition liquide aqueuse selon l'invention peut ainsi être reconstituée, préalablement à son utilisation, par simple ajout d'un liquide aqueux, en particulier d'eau, à la poudre de l'invention, et éventuellement par agitation manuelle à l'aide d'un moyen approprié.

Le liquide aqueux peut être plus particulièrement formé d'eau, notamment d'eau pour injection, encore appelée eau « pour préparation injectable » (p.p.i.) ou « sterile water for injection », qui est une eau stérile et exempte de pyrogène.

De manière avantageuse, les étapes de déshydratation et de reconstitution d'une solution liquide aqueuse selon l'invention n'affectent nullement les propriétés pharmacocinétiques de la composition obtenue, en particulier au regard de la libération contrôlée de la buprénorphine ou de l'analogue de buprénorphine.

La composition selon l'invention peut être administrée par voie orale, pulmonaire, parentérale, nasale, vaginale, oculaire, sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, intradermique, intra-péritonéale, intracérébrale ou buccale.

De préférence, la composition est administrée par voie parentérale, notamment par voie sous-cutanée ou intramusculaire.

Selon un autre mode de réalisation, la composition peut éventuellement contenir au moins un excipient connu de l'homme de l'art, en particulier choisi parmi les excipients usuellement utilisés pour ajuster le pH et l'osmolarité, pour améliorer la stabilité (antioxydant), comme agent antimicrobien ou comme lyoprotecteur.

Ces excipients sont bien connus de l'homme de l'art (par exemple décrits dans l'ouvrage : *Injectable Drug Development*, P.K. Gupta *et al.* Interpharm Press, Denver, Colorado 1999). Par exemple, la formulation peut contenir des agents antimicrobiens tels que l'alcool benzylique, le phénol ou le méthacrésol à des concentrations de quelques pourcents, dont l'optimum est déterminé expérimentalement.

L'invention sera mieux expliquée par les exemples ci-après, donnés uniquement à titre d'illustration.

FIGURES

5 Figure 1 : profils de libération *in vitro* de la buprénorphine BuC7 sous sa forme solide (■ BuC7) et sous sa forme solubilisée dans une solution du polymère PGAT-1 (◆ Formule 6.1).

10 Figure 2 : profils de concentration plasmatique moyenne de la buprénorphine après injection d'une formulation selon l'invention (-●- Formulation) et d'une formulation commerciale (-o- Buprecare[®]).

EXEMPLES

Exemple 1

Synthèse du 6-isobutyrate de buprénorphine (BuC4)

15 La synthèse du 6-isobutyrate de buprénorphine se fait par réaction du chlorure d'isobutyle (1,1 éq.) sur la buprénorphine (1,0 éq.) en présence de triéthylamine (3,0 éq.) dans le dichlorométhane (0,07 mmol buprénorphine/mL). La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (plaques de Silice F254, éluant acétate d'éthyle / heptane 2/8 (v/v), révélation acide phosphomolybdique à chaud). La réaction est terminée
20 (conversion totale du produit de départ) au bout de 10 min environ. Le produit est isolé par lavages de la phase organique, séchage et évaporation du solvant sous vide. On obtient 1,0 g de produit synthétisé. La structure du produit est confirmée par RMN ¹H/¹³C 1D et 2D.

Exemple 2

Synthèse du 6-éthanate de buprénorphine (BuC7)

25 La synthèse du 6-éthanate de buprénorphine se fait par réaction du chlorure d'heptanoyle (1,1 éq.) sur la buprénorphine (1,0 éq.) en présence de triéthylamine (3,0 éq.) dans le dichlorométhane (0,09 mmol buprénorphine/mL). La réaction est suivie par
30 chromatographie sur couche mince (plaques de Silice F254, éluant acétate d'éthyle/heptane 5/5 (v/v), révélation acide phosphomolybdique à chaud). La réaction est terminée (conversion totale du produit de départ) au bout de quelques heures. Le produit est isolé

par lavages de la phase organique, séchage et évaporation du solvant sous vide. On obtient 2,6 g de produit synthétisé. La structure du produit est confirmée par RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 1D et 2D.

5 **Exemple 3**

Synthèse du 6-myristate de buprénorphine (BuC14)

La synthèse du 6-myristate de buprénorphine se fait par réaction du chlorure de myristoyle (1,1 équ.) sur la buprénorphine (1,0 équ.) en présence de triéthylamine (3,0 équ.) dans le dichlorométhane (0,04 mmol buprénorphine/mL). La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (plaques de Silice F254, éluant acétate d'éthyle / heptane 2/8 (v/v), révélation acide phosphomolybdique à chaud). La réaction est terminée (conversion totale du produit de départ) au bout de quelques heures. Le produit est isolé par lavages de la phase organique, séchage et évaporation du solvant sous vide. On obtient 1,0 g de produit synthétisé. La structure du produit est confirmée par RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 1D et 2D.

Exemple 4

Synthèse de polymères amphiphiles conformes à l'invention

4.1. *Synthèse de polymères poly(L-glutamate) de sodium de degré de polymérisation d'environ 100 et greffés à 10 % (nommé PGAT-1 par la suite) ou 20 % (PGAT-2) molaire en alpha-tocophérol*

Les polymères poly(L-glutamate) de sodium de degré de polymérisation d'environ 100 et contenant 10 % (PGAT-1, masse molaire 19 KDa) ou 20 % (PGAT-2, masse molaire 23 KDa) molaire d'alpha-tocophérol (tout racémique) sont synthétisés selon le mode opératoire décrit dans WO 03/104303. La taille des particules, mesurée par diffraction de la lumière est comprise entre 10 et 20 nm pour les deux polymères.

4.2. *Synthèse d'un polymère polyacrylate de sodium de masse molaire d'environ 34 KDa (en équivalent PMMA) et greffé à 5 % molaire en alpha-tocophérol lié via un espaceur alanine (PAAT-1)*

Le polymère PAAT-1 est obtenu de façon analogue en faisant réagir un dérivé alanine de tocophérol avec l'acide acrylique.

Étape 1 : purification du poly(acide acrylique) commercial (Degacryl 4779L) :

75 g de solution de DEGACRYL 4779L (vendu par la société Evonik), sont dilués avec 1,425 g d'eau milliQ puis diafiltrés contre 8 volumes d'eau. La solution
5 obtenue est ensuite lyophilisée. La masse moléculaire moyenne M_n mesurée par chromatographie d'exclusion stérique est de 33,6 kDa en équivalent PMMA (poly méthacrylate de méthyle) et l'indice de polydispersité est de 2,4.

Étape 2 : Synthèse de l'alaninate d'alpha-tocophéryle (AlaVE) :

10 À une solution de 21,1 g de N-Boc L-alanine, 40 g d'alpha-tocophérol (tout racémique) et 0,567 g de diméthylaminopyridine (DMAP) dans 400 mL de dichlorométhane, on ajoute 22,08 mL de N,N'-Diisopropylcarbodiimide (DIPC). Après agitation à 20 °C pendant 22 heures, le mélange réactionnel est successivement lavé avec
15 une solution d'HCl 0,1 N, de l'eau, une solution à 5 % de bicarbonate de sodium et enfin de l'eau. La phase organique est évaporée à sec et l'huile obtenue est solubilisée dans 400 mL d'une solution 4 M d'HCl dans le dioxane. Après 4 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est évaporé à sec et cristallisé dans l'éthanol. Le chlorhydrate d'AlaVE (33,8 g d'une poudre blanche) ainsi préparé est analysé par RMN
du proton dans le $CDCl_3$ et il présente un spectre conforme à sa structure chimique.

Étape 3 : Greffage de l'AlaVE sur le poly(acide acrylique) purifié :

3,74 g d'AlaVE sont solubilisés dans 50 mL de DMF et 0,97 mL de triéthylamine. En parallèle, 10 g de Degacryl purifié (étape 1) sont mis en solution dans 250 mL de N,N-diméthylformamide (DMF) et 0,34 g de 4-diméthylamino-pyridine
25 (DMAP). Cette solution est refroidie à 15 °C, et on ajoute successivement la suspension d'AlaVE/triéthylamine puis 1,93 g de N,N'-Diisopropylcarbodiimide (DIPC). Le mélange réactionnel est agité une nuit à 15 °C. Après ajout d'une solution d'HCl 35 % (1,16 mL) dilué dans 3 mL de DMF, le mélange réactionnel est neutralisé avec de la soude 1 N dans 900 mL d'eau. La solution obtenue est diafiltrée contre 8 volumes d'eau salée (0,9 %
30 NaCl), puis 4 volumes d'eau, et concentrée jusqu'à obtenir un volume d'environ 400 mL. 100 mL d'éthanol sont ajoutés et la solution obtenue est agitée une nuit à température

ambiante, puis diafiltrée contre 8 volumes d'eau et concentrée jusqu'à une concentration d'environ 45 g/L.

Le pourcentage d'AlaVE greffée, déterminé par RMN du proton dans du TFA-*d*, est de 5,3 %. La taille moyenne des particules, mesurée par diffraction de la lumière, est de 17 nm. La masse molaire moyenne est de 37 kDa (équivalents PMMA) et l'indice de polydispersité est de 2,6. La viscosité du polymère à 30 mg/mL est de 6 mPa.s à 10 s⁻¹.

4.3. Synthèse d'un polymère poly(acide aspartique) de masse molaire d'environ 9 KDa (en équivalent PMMA) et greffé à 20 % en octadécylamine.

Un polymère poly(acide aspartique) greffé avec 20 % de stéarylamine (PAspC-1) a été préparé selon les deux étapes suivantes.

Etape 1 : synthèse de polysuccinimide par polycondensation d'acide aspartique

Le polysuccinimide a été synthétisé selon un protocole analogue à celui décrit dans Polymer 1997, 38(18), 4733-4736 en utilisant le L-acide aspartique.

50 g d'acide aspartique sont introduits dans 260 mL de mésitylène et 40 mL de sulfolane. 0,1 équivalent d'acide orthophosphorique est ajouté et le mélange ainsi obtenu est chauffé à reflux pendant 8 heures. La suspension est alors filtrée sur fritté ; le solide récupéré est rincé à l'éthanol, à l'eau puis à nouveau à l'éthanol et séché sous vide à 80 °C pendant 1 nuit. L'intermédiaire polysuccinimide est obtenu sous forme d'une poudre beige.

Etape 2 : aminolyse avec de la stéarylamine puis hydrolyse des groupements polysuccinimides résiduels.

Le protocole est analogue à celui décrit dans Langmuir 2001, 17, 7501.

5 g de cet intermédiaire sont introduits dans 30 mL de DMF. 0,2 équivalent (par rapport au motif monomère succinimide) de stéarylamine est ajouté. Le mélange est chauffé à 80 °C pendant une nuit. Le brut réactionnel est versé dans une solution aqueuse de soude 1 N. La suspension laiteuse obtenue est agitée quelques heures à température ambiante, puis versée dans un excès de méthanol. Le polymère attendu précipite. Il est isolé par filtration sur fritté, rinçage et séchage sous vide.

Le produit est remis en solution dans l'eau en chauffant à 80 °C sous agitation magnétique pendant 1h, à la concentration de 10 mg/mL. La purification se fait par diafiltration contre de l'eau. Le polymère est ensuite concentré à environ 60 mg/g et obtenu sous forme de solution limpide.

Le taux de greffage de 20 % est déterminé par RMN ^1H dans TFA-d. Une masse molaire moyenne en poids de 8,900 Da est déterminée par chromatographie d'exclusion stérique en utilisant un étalonnage PMMA. On obtient des objets de diamètre moyen en volume de 10 nm environ (mesuré par DDL). La viscosité d'une solution de ce polymère à la concentration de 58 mg/g est de 10 mPa.s à 10 s $^{-1}$.

Tous ces polymères sont solubles dans l'eau à pH neutre ou proche de la neutralité, forment des nanogels de taille moyenne inférieure à 100 nm et sont filtrables à travers un filtre de 0,22 μm .

Exemple 5

Solubilisation des prodrogues dans un tampon PBS

Le tableau 1 ci-dessous rassemble les solubilités des prodrogues de la buprénorphine et du chlorhydrate de buprénorphine (BuHCl), déterminées dans un tampon PBS (contenant 137 mM de NaCl (8,0 g/L), 2,7 mM de KCl (0,2 g/L), 10 mM de Na₂HPO₄ (1,44 g/L) et 1,76 mM de KH₂PO₄ (0,24 g/L)), par ajouts de poudre dans un volume donné de solution tampon et on observe la limpidité à l'œil.

TABLEAU 1

N°	Formule	pH	Quantité de prodrogue solubilisée
5.1	BuC4	7	< 0,8 mg/mL
5.2	BuC7	7	< 0,6 mg/mL
5.3	BuHCl	7	17 mg/mL *

* AAPS PharmSciTech 2007; 8 (3) Article 62

On observe que les prodrogues ont des solubilités bien inférieures à 1 mg/mL de tampon.

Exemple 6*Solubilisation des prodrogues dans une suspension de polymère amphiphile*

Le tableau 2 ci-dessous rassemble, à titre d'exemples de solubilisation dans des solutions de polymères amphiphiles de l'invention synthétisés en exemple 4 précédent, les prototypes de formulations réalisés.

TABLEAU 2

N°	Prodrogue	Polymère	Concentration en polymère	pH	Quantité de prodrogue solubilisée
6.1	BuC7	PGAT-1	43 mg/mL	6	2,3 mg/mL
6.2	BuC7	PGAT-1	43 mg/mL	7	3,1 mg/mL
6.3	BuC7	PGAT-2	90 mg/mL	7	1,1 mg/mL
6.4	BuC7	PAspC-1	68 mg/g	7	1,0 mg/mL
6.5	BuC4	PAspC-1	68 mg/g	7	2,4 mg/mL

On constate que la solubilité des prodrogues est améliorée par la présence de polymères amphiphiles.

Exemple 7

Comparaison de la solubilisation de la prodrogue BuC14 dans une solution de polyacrylate de sodium greffé à 6 % molaire en alpha-tocophérol lié via un espaceur alanine et dans l'eau

On prépare un échantillon contenant 0,4 mg/mL de BuC14 dans une solution aqueuse de concentration 32,4 mg/mL en polyacrylate de sodium greffé à 6 % molaire en alpha-tocophérol lié via un espaceur alanine.

Après 24h d'agitation à température ambiante, un contrôle visuel montre que l'échantillon de BuC14 dans la solution de polymère est parfaitement limpide. La quantité de prodrogue solubilisée dans la solution de polymère est donc de 0,4 mg/mL.

A titre de référence, on prépare un échantillon contenant 0,2 mg/mL de BuC14 dans l'eau.

Après 24h d'agitation à température ambiante, il reste du produit non-dissous dans l'échantillon de BuC14. La quantité de prodrogue solubilisée dans l'eau est donc inférieure à 0,2 mg/mL.

Ceci montre que la solubilité de la prodrogue est augmentée en présence du polymère amphiphile.

Exemple 8

Libération in vitro des prodrogues

On introduit 2 mL de formulation 6.1 de l'exemple 6 dans un tube de dialyse de 1 kDa fermé aux deux extrémités. On place ensuite le tube dans 500 mL d'eau contenant 0,1 % d'acide acétique maintenu à 37 °C et sous agitation mécanique à 100 tours/minute. A intervalles de temps réguliers, on effectue des prélèvements de la phase aqueuse et on dose la quantité de prodrogue libérée. Ce dosage mesure la quantité de buprénorphine à la fois sous la forme BuC7 et sous la forme Bu.

Pour la prodrogue seule, on mesure la vitesse de solubilisation de 4 mg de poudre dans 500 mL de solution d'acide acétique à 0,1 %.

La Figure 1 montre que la prodrogue BuC7 seule est solubilisée au cours du temps et que pour la formulation 6.1, il n'y a pas ou très peu de libération de la prodrogue.

Ceci montre que la prodrogue BuC7 de la formulation 6.1 est restée largement associée au polymère amphiphile de l'invention, à l'intérieur du tube de dialyse.

Exemple 9

Préparation et caractérisation des formulations utilisables pour le traitement de la douleur

Sans que cela soit limitatif, le tableau 3 ci-dessous décrit des formulations qui peuvent être injectées chez l'homme ou l'animal. On les prépare par solubilisation de la prodrogue dans une solution aqueuse du polymère (PGAT-1 à 45 mg/mL) et on ajuste l'osmolalité à l'aide de sucre et le pH à l'aide d'un tampon acide acétique / acétate de sodium. La formulation obtenue est rendue stérile par filtration sur 0,2 µm. La quantité de prodrogue ou principe actif est mesurée par HPLC.

Les données relatives à ces formulations sont rassemblées dans le tableau 3 ci-dessous.

TABLEAU 3

N°	Concentration (mg/mL)	Aspect	pH	Osmolalité (mOsm/kg)	Diamètre (nm)	Viscosité (mPa.s à 10 s ⁻¹)
9.1	2,4 BuC4	Limpide	6	303	12	5
9.2	2,3 BuC7	Limpide	6	338	12	5
9.3	0,4 BuHCl 1,8 BuC7	Limpide	6	331	11	4

Toutes les formulations sont limpides et on n'observe pas de précipitation ou de décantation après 3 mois à 4 °C. Elles sont facilement injectables à travers une aiguille de 27 G ou 30 G.

A titre de contre-exemple, il a été préparé une formulation témoin à partir du mélange d'actifs considéré en essai 9.3 à savoir BuHCl et BuC7 dans de l'huile de sésame, milieu propice à la solubilisation de BuC7. Il apparaît que ce même mélange d'actifs ne peut pas y être solubilisé et que son injection nécessite des aiguilles de 18 à 21 G au regard de sa viscosité trop élevée.

La solution aqueuse complétée en polymère amphiphile considéré selon l'invention permet donc efficacement de s'affranchir de ce problème et en outre autorise un ajustement du rapport principe actif/prodrogue pour obtenir à la fois un profil de libération rapide et prolongé du principe actif analgésique.

Exemple 10

Pharmacocinétique de la buprénorphine chez le chien après injection sous-cutanée de la formulation 9.2 (exemple 9) de 6-éthanate de buprénorphine dans une solution aqueuse de PGAT-1

La formulation 9.2 de l'exemple 9 de 6-éthanate de buprénorphine (concentration équivalente en buprénorphine base de 2 mg/mL) est injectée par voie sous-cutanée à des chiens Beagle (n=4) à la dose de 0,3 mg/kg (en équivalent buprénorphine base). Des prélèvements sanguins sont effectués juste avant le traitement et ensuite à 0,5, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96, 120 et 144 heures après l'administration. En parallèle la formulation à libération immédiate du commerce (Buprecare®) est administrée à la dose de 0,02 mg/kg à un autre groupe de chiens Beagle (n=4). Des prélèvements sanguins sont

effectués avant le traitement et ensuite à 0,125, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 18 et 24 heures après l'administration.

La concentration plasmatique en buprénorphine est mesurée dans ces prélèvements par LC-MS/MS (HPLC system 1100 Series de Agilent avec une colonne
5 XTerra MS C18, 3,5 μ m; 2,1 x 150 mm de Waters, et un détecteur de spectrométrie de masse API 3000 de Applied Biosystem).

Le profil de concentration plasmatique moyenne présenté sur la Figure 2 met en évidence la libération prolongée de la buprénorphine dans le plasma par rapport à une formulation commerciale (Buprecare[®]) administrée à une dose inférieure. La prolongation
10 de la libération de la buprénorphine est estimée par les paramètres :

- T_{max} : médiane du temps auquel la concentration plasmatique est maximale,
- C_{max}/D : moyenne des concentrations maximales relatives à la dose D,
- $T_{50\%AUC}$: temps au bout duquel sont atteints 50 % de l'AUC calculée sur l'intervalle de mesure des concentrations.

15

Dans cet exemple, les temps T_{max} et $T_{50\%AUC}$ sont de 12 h et 22 h pour la formulation 9.2 contre 0,75 h et 4 h pour la formulation commerciale. Ceci montre la prolongation de la libération dans le cas d'une formulation selon l'invention.

Les paramètres C_{max}/D valent 18 ng/mL/(mg/kg) pour la formulation 9.2 contre
20 114 ng/mL/(mg/kg) pour la formulation commerciale, ce qui montre la diminution de C_{max}/D associée à la prolongation de la libération de la buprénorphine.

TABLEAU 4

Formulation	Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	C_{max}/D (ng/mL/(mg/kg))	$T_{50\%AUC}$ (h)
Buprecare [®]	0.02	2,3 $\pm$ 1.0	0,75 (0,5-1)	114 $\pm$ 48	4 $\pm$ 2
Formulation 8.2	0.3	5,4 $\pm$ 1,1	12 (6-18)	18 $\pm$ 4	22 $\pm$ 8

25

Il est démontré que la formulation de buprénorphine chlorhydrate commerciale a une pharmacocinétique rapide avec un temps de demi-vie de l'ordre de 12 heures alors que la formulation de polymère contenant la prodrogue BuC7 a une demi-vie apparente de l'ordre de 66 heures en buprénorphine libérée. Il est constaté que la concentration en

buprénorphine plasmatique est supérieure à 0,3 ng/mL jusqu'à 120 heures, ce qui devrait permettre de maintenir l'effet analgésique pendant toute cette période. De plus, il est observé que la buprénorphine apparaît rapidement dans le plasma avec une concentration supérieure ou égale à 0,5 ng/mL après seulement une heure.

5

Exemple 11

Préparation d'une formulation de 6-éнанthate de buprénorphine dans une solution aqueuse de PGAT-1 sous forme lyophilisée à reconstituer, étude de stabilité.

La formulation 11 est préparée par solubilisation de la prodrogue BuC7 dans une solution aqueuse du polymère (PGAT-1 à 45 mg/mL) de façon similaire au mode opératoire décrit dans l'exemple 9 (formulation 9.2). La formulation est ensuite lyophilisée et conservée sous forme solide à 4°C ou 25°C. La stabilité de la formulation lyophilisée est mesurée par HPLC (mesure de la quantité de prodrogue BuC7 et de la quantité de buprénorphine), après reconstitution par ajout de la quantité nécessaire d'eau et agitation quelques heures à température ambiante.

10
15

Les données relatives à la stabilité de la formulation lyophilisée après 6 mois à 4°C et 6 mois à 25°C sont présentées dans le tableau 5 ci-dessous.

TABLEAU 5

Temps de conservation	Conditions de conservation	Teneur en prodrogue BuC7 (mg/g de formulation)	Teneur en buprénorphine (mg/g de formulation)
0 mois	-	2,4	0,1
3 mois	4°C	2,3	0,1
	25°C	2,3	0,1
6 mois	4°C	2,3	0,1
	25°C	2,2	0,2

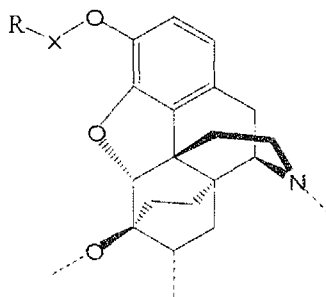
20

La formulation lyophilisée ainsi préparée présente une bonne stabilité à 6 mois.

REVENDICATIONS

1. Composition pharmaceutique liquide aqueuse, à libération contrôlée de buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine, comprenant au moins une prodrogue de faible solubilité aqueuse de ladite buprénorphine ou d'un analogue de ladite buprénorphine et au moins un polymère possédant un squelette linéaire choisi parmi les polyglutamates, polyaspartates, poly(méth)acrylates et polysaccharides, auquel sont greffés un ou plusieurs groupements hydrophobes.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que la formule chimique de ladite prodrogue de buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine comprend au moins le motif structurel suivant :



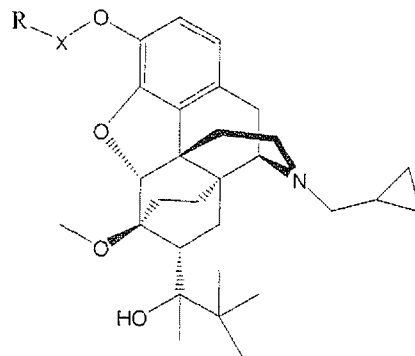
dans lequel R est choisi parmi les groupements :

- alkyles linéaires en C₂ à C₂₀, alkyles ramifiés en C₃ à C₂₀, comportant éventuellement au moins une insaturation ;
- alkyles cycliques de C₃ à C₆ ; et
- phényle et phénalkyles substitués ;

X est un groupement C=O, O-C=O ou NH-C=O ; et

les liaisons en pointillés figurent les sites de substitution potentiels.

3. Composition selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que la prodrogue de buprénorphine répond à la formule générale (I) suivante :



(I)

dans laquelle R et X sont tels que définis en revendication 2.

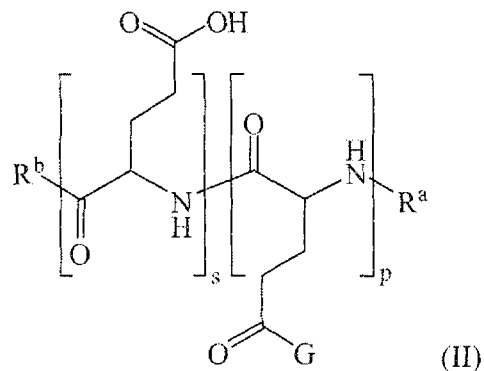
4. Composition selon la revendication 2 ou 3, caractérisée en ce que R est choisi parmi les groupements éthyle, propyle, iso-propyle, butyle, iso-butyle, sec-butyle, 5 hényle, 2-éthylhényle, cyclohexyle, heptyle, octyle, dodécyle, tridécyle, tétradécyle, pentadécyle, hexadécyle, heptadécyle, octadécyle, phényle et benzyle.

5. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la prodrogue est une prodrogue de type ester de ladite buprénorphine, en particulier de formule (I) telle que définie en revendication 3 dans 10 laquelle X est un groupement C=O, et est plus particulièrement choisie parmi le 6-isobutyrate de buprénorphine, le 6-énanthate de buprénorphine et le 6-myristate de buprénorphine.

6. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,5 mg/mL à 10 mg/mL, en particulier de 1 à 15 5 mg/mL, de prodrogue(s) de buprénorphine ou d'un analogue de buprénorphine.

7. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère est choisi parmi les polyglutamates de sodium et les polyaspartates de sodium, en particulier présentant un taux de greffage molaire en groupements hydrophobes pendants allant de 2 à 30 %, lesdits groupements hydrophobes 20 pendants étant choisis dans le groupe comprenant les alkyles linéaires en C₂ à C₂₀, les alkyles ramifiés en C₃ à C₂₀, les acides aminés hydrophobes, le cholestérol et le tocophérol.

8. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère possède la structure générale suivante, ou l'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables :



dans laquelle :

- R^a représente un atome d'hydrogène, un groupe acyle linéaire en C_2 à C_{10} , un groupe acyle ramifié en C_3 à C_{10} , ou un groupe pyroglutamate.

5 - R^b représente un groupe $-NHR^5$ ou un acide aminé lié par l'atome d'azote et dont le carboxyle est éventuellement substitué par un radical alkylamino $-NHR^5$ ou un alcoxy $-OR^6$, dans lesquels :

• R^5 représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle linéaire en C_1 à C_{10} , un groupe alkyle ramifié en C_3 à C_{10} , ou un groupe benzyle ;

10 • R^6 représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle linéaire en C_1 à C_{10} , un groupe alkyle ramifié en C_3 à C_{10} , un groupe benzyle ou un groupement G ;

- G représente un groupement hydrophobe choisi parmi les radicaux octyloxy-, dodécyloxy-, tétradécyloxy-, hexadécyloxy-, octadécyloxy-, 9-octadécényloxy-,
15 tocophéryl- et cholestéryl-, de préférence alpha-tocophéryl-; un acide aminé hydrophobe lié par l'atome d'azote tel que la leucine, la valine, la phénylalanine, le tryptophane ou la tyrosine ou un de leurs dérivés ; octylamino-, dodécylamino-, tétradécylamino-, hexadécylamino-, et octadécylamino ;

- s correspond au nombre moyen de monomères de glutamate non greffés,

20 - p correspond au nombre moyen de monomères de glutamate porteurs d'un groupement hydrophobe G ,

- le degré de polymérisation $DP = (s + p)$ est inférieur ou égal à 2 000, en particulier inférieur à 700, plus particulièrement allant de 40 à 450, en particulier de 40 à 250, et notamment de 40 à 150.

25 9. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que ledit polymère est un polyglutamate greffé par l'alpha-tocophérol,

en particulier présentant un degré de polymérisation allant de 25 à 500 notamment de 40 à 150, et plus particulièrement présentant un taux de greffage molaire en alpha-tocophérol allant de 5 à 25 %.

5 10. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle contient en outre de la buprénorphine ou un analogue de buprénorphine non modifié(e) sous une forme hydrosoluble, en particulier de la buprénorphine sous la forme de son chlorhydrate.

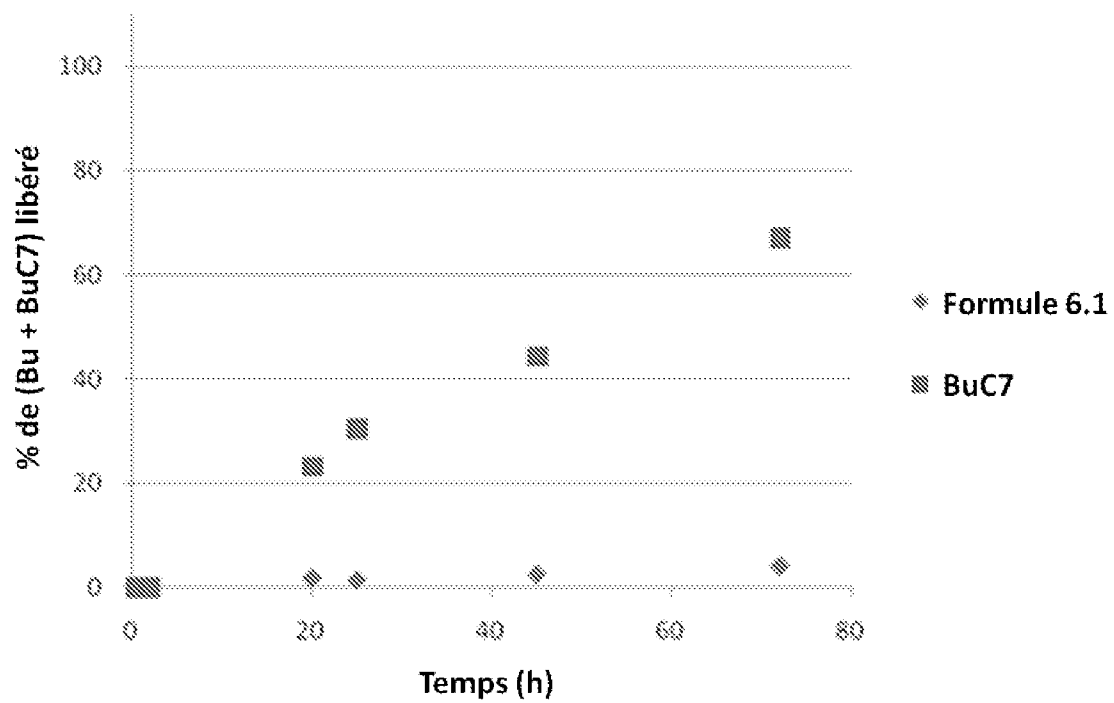
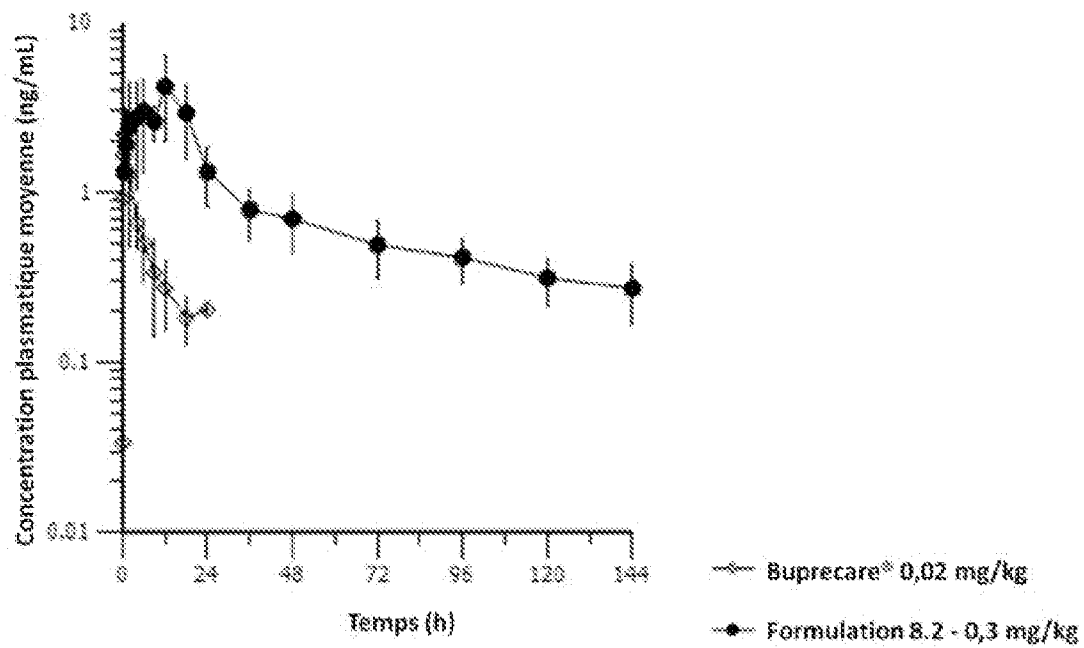
10 11. Composition selon la revendication 10, caractérisée en ce que le ratio molaire de buprénorphine ou d'analogue de buprénorphine non modifié(e) par rapport à la prodrogue de buprénorphine ou d'analogue de buprénorphine est compris entre 0,1 et 2.

12. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'une dispersion de nanoparticules ou nanogels de taille moyenne inférieure à 200 nm, de préférence inférieure à 100 nm.

15 13. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle présente une viscosité, mesurée à 20 °C et à une vitesse de cisaillement de 10 s⁻¹, inférieure à 200 mPa.s, de préférence comprise entre 2 et 100 mPa.s.

20 14. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle est obtenue par ajout d'un liquide aqueux à une composition sous la forme d'une poudre ayant été formée antérieurement par déshydratation d'une composition liquide aqueuse telle que définie selon l'une quelconque des revendications 1 à 13.

15 15. Composition solide sous la forme d'une poudre obtenue par déshydratation d'une composition liquide aqueuse telle que définie selon l'une quelconque des revendications 1 à 14.

**FIGURE 1****FIGURE 2**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/052689

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/485 C08G69/48 A61K9/00 A61P25/04
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/181068 A1 (DUNN RICHARD L [US]) 16 July 2009 (2009-07-16) paragraphs [0008] - [0010] examples 2, 8-11 -----	1-15
X	BAI-FANG X SOBEL ET AL: "Open-label trial of an injection depot formulation of buprenorphine in opioid detoxification", DRUG AND ALCOHOL DEPENDENCE, vol. 73, no. 1, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 11-22, XP055012972, ISSN: 0376-8716, DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2003.08.006 page 13, paragraph 2.6.2 ----- -/--	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 July 2012

Date of mailing of the international search report

06/07/2012

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Renard, Delphine

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/052689

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 1 422 230 A1 (CHI MEI FOUNDATION MEDICAL CT [TW]) 26 May 2004 (2004-05-26) paragraphs [0099] - [0103]; examples 2-5; table 3 paragraph [0064]	1-15
Y	----- FR 2 840 614 A1 (FLAMEL TECH SA [FR]) 12 December 2003 (2003-12-12) the whole document -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2012/052689

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2009181068 A1	16-07-2009	AT 526046 T CA 2714757 A1 EP 2244752 A2 EP 2371400 A2 PT 2244752 E SI 2244752 T1 US 2009181068 A1 US 2011027389 A1 WO 2009091737 A2	15-10-2011 23-07-2009 03-11-2010 05-10-2011 06-12-2011 31-01-2012 16-07-2009 03-02-2011 23-07-2009
EP 1422230 A1	26-05-2004	AT 382050 T DE 60224288 T2 EP 1422230 A1	15-01-2008 16-04-2009 26-05-2004
FR 2840614 A1	12-12-2003	AU 2003274758 A1 BR 0311831 A CA 2486944 A1 CN 1659214 A CN 101386677 A EP 1511790 A1 FR 2840614 A1 HK 1079804 A1 IL 165268 A JP 4522852 B2 JP 2005531652 A MX PA04012300 A US 2006099264 A1 US 2010048735 A1 WO 03104303 A1 ZA 200409892 A	22-12-2003 29-03-2005 18-12-2003 24-08-2005 18-03-2009 09-03-2005 12-12-2003 12-03-2010 30-06-2010 11-08-2010 20-10-2005 26-08-2005 11-05-2006 25-02-2010 18-12-2003 26-07-2006

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/IB2012/052689

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

INV. A61K31/485 C08G69/48 A61K9/00 A61P25/04
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 2009/181068 A1 (DUNN RICHARD L [US]) 16 juillet 2009 (2009-07-16) alinéas [0008] - [0010] exemples 2, 8-11 -----	1-15
X	BAI-FANG X SOBEL ET AL: "Open-label trial of an injection depot formulation of buprenorphine in opioid detoxification", DRUG AND ALCOHOL DEPENDENCE, vol. 73, no. 1, 1 janvier 2004 (2004-01-01), pages 11-22, XP055012972, ISSN: 0376-8716, DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2003.08.006 page 13, alinéa 2.6.2 ----- -/--	1-15



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

2 juillet 2012

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

06/07/2012

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

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

Fonctionnaire autorisé

Renard, Delphine

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2012/052689

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	EP 1 422 230 A1 (CHI MEI FOUNDATION MEDICAL CT [TW]) 26 mai 2004 (2004-05-26) alinéas [0099] - [0103]; exemples 2-5; tableau 3 alinéa [0064]	1-15
Y	FR 2 840 614 A1 (FLAMEL TECH SA [FR]) 12 décembre 2003 (2003-12-12) le document en entier	1-15

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/IB2012/052689

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2009181068 A1	16-07-2009	AT 526046 T CA 2714757 A1 EP 2244752 A2 EP 2371400 A2 PT 2244752 E SI 2244752 T1 US 2009181068 A1 US 2011027389 A1 WO 2009091737 A2	15-10-2011 23-07-2009 03-11-2010 05-10-2011 06-12-2011 31-01-2012 16-07-2009 03-02-2011 23-07-2009
EP 1422230 A1	26-05-2004	AT 382050 T DE 60224288 T2 EP 1422230 A1	15-01-2008 16-04-2009 26-05-2004
FR 2840614 A1	12-12-2003	AU 2003274758 A1 BR 0311831 A CA 2486944 A1 CN 1659214 A CN 101386677 A EP 1511790 A1 FR 2840614 A1 HK 1079804 A1 IL 165268 A JP 4522852 B2 JP 2005531652 A MX PA04012300 A US 2006099264 A1 US 2010048735 A1 WO 03104303 A1 ZA 200409892 A	22-12-2003 29-03-2005 18-12-2003 24-08-2005 18-03-2009 09-03-2005 12-12-2003 12-03-2010 30-06-2010 11-08-2010 20-10-2005 26-08-2005 11-05-2006 25-02-2010 18-12-2003 26-07-2006