

(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  
14 décembre 2017 (14.12.2017)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 2017/211916 A1

(51) Classification internationale des brevets :

A61K 9/08 (2006.01) A61K 38/28 (2006.01)  
A61K 47/34 (2017.01)

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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/EP2017/063886

(22) Date de dépôt international :

07 juin 2017 (07.06.2017)

Publiée:

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

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

1655222 07 juin 2016 (07.06.2016) FR

(71) Déposant : ADOCIA [FR/FR] ; 115 avenue Lacassagne, 69003 LYON (FR).

(72) Inventeurs : GEISSLER, Alexandre ; 28 Rue Camille Roy, 69007 LYON (FR). LAAGE Ségolène ; 41 Cours Gambetta, 69003 LYON (FR). CHARVET Richard ; 19 rue de la Bièvre, 69140 RILLIEUX LA PAPE (FR). SOULA Olivier ; 115 Avenue du Carreau, 69330 MEYZIEU (FR).

(74) Mandataire : TRIPOZ, Inès ; Le Pôle Sud, 22 rue Seguin, 69002 LYON (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM),

(54) Title: INJECTABLE SOLUTION AT PH 7, COMPRISING AT LEAST ONE BASAL INSULIN WHOSE PI IS BETWEEN 5.8 AND 8.5, A PRANDIAL INSULIN AND/OR A GASTROINTESTINAL HORMONE, AND A COPOLYAMINO ACID BEARING CARBOXYLATE CHARGES AND HYDROPHOBIC RADICALS

(54) Titre : SOLUTION INJECTABLE A PH 7 COMPRENANT AU MOINS UNE INSULINE BASALE DONT LE PI EST COMPRIS ENTRE 5,8 ET 8,5, UNE INSULINE PRANDIALE ET/OU UNE HORMONE GASTROINTESTINALE, ET UN COPOLYAMINOACIDE PORTEUR DE CHARGES CARBOXYLATES ET DE RADICAUX HYDROPHOBES

(57) Abstract: The invention relates to stable compositions physically in the form of an injectable aqueous solution whose pH is between 6.0 and 8.0, comprising at least: a) a basal insulin whose isoelectric point (pI) is between 5.8 and 8.5, b) a prandial insulin or a gastrointestinal hormone, and c) a copolyamino acid bearing carboxylate charges and at least one hydrophobic radical.

(57) Abrégé : L'invention concerne des compositions stables physiquement sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins : a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pi) est compris entre 5,8 et 8,5, b) une insuline prandiale ou une hormone gastrointestinale, et c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe.



WO 2017/211916 A1

SOLUTION INJECTABLE A PH 7 COMPRENANT AU MOINS UNE INSULINE BASALE DONT  
LE PI EST COMPRIS ENTRE 5,8 ET 8,5, UNE INSULINE PRANDIALE ET/OU UNE  
HORMONE GASTROINTESTINALE, ET UN CO-POLYAMINOACIDE PORTEUR DE  
5 CHARGES CARBOXYLATES ET DE RADICAUX HYDROPHOBES

[0001] L'invention concerne les thérapies par injection d'insuline(s) pour traiter le diabète.

10 [0002] L'invention concerne des compositions stables physiquement sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 en association avec soit une insuline prandiale soit une hormone gastrointestinale soit une insuline prandiale et une hormone gastrointestinale, et un co-polyaminoacide  
15 porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes.

[0003] L'insulinothérapie, ou thérapie du diabète par injection d'insuline, a connu ces dernières années des progrès remarquables grâce notamment à la mise au point de nouvelles insulines offrant une meilleure correction de la glycémie des patients en  
20 comparaison de l'insuline humaine et qui permettent de mieux simuler l'activité physiologique du pancréas.

[0004] Lorsqu'un diabète de type II est diagnostiqué chez un patient, un traitement graduel est mis en place. Le patient prend en premier lieu des antidiabétiques oraux (OAD) comme la Metformine. Lorsque les OAD seuls ne suffisent plus à réguler le  
25 niveau de glucose dans le sang, un changement dans le traitement doit être fait et, en fonction des spécificités des patients, différentes associations de traitements peuvent être mises en place. Le patient peut par exemple avoir un traitement à base d'une insuline basale de type insuline glargine ou insuline detemir en complément des OAD, puis ensuite en fonction de l'évolution de la pathologie un traitement à base d'insuline  
30 basale et d'insuline prandiale.

[0005] Par ailleurs, aujourd'hui, pour assurer la transition des traitements par les OAD, lorsque ceux-ci ne sont plus en mesure de contrôler le niveau de glucose dans le sang, vers un traitement insuline basale/insuline prandiale, l'injection d'analogues de GLP-1 RA est préconisée.

35 [0006] Les GLP-1 RA pour agonistes du récepteur Glucagon-Like Peptide-1, sont des peptides insulintropiques ou incrétines, et appartiennent à la famille des hormones gastro-intestinales (ou Gut Hormones) qui stimulent la sécrétion d'insuline lorsque la glycémie est trop élevée, par exemple après un repas.

[0007] Les hormones gastro-intestinales (Gut hormones) sont aussi appelées hormones de satiété. Elles comprennent notamment le GLP-1 RA (Glucagon like peptide-1 receptor agonist) et le GIP (Glucose-dependent insulintropic peptide), l'oxyntomoduline (un dérivé du proglucagon), le peptide YY, l'amyline, la cholecystokinine, le polypeptide pancréatique (PP), la ghreline et l'entérostatine qui ont des structures peptidiques ou protéiques. Elles stimulent également la sécrétion d'insuline, en réponse au glucose et aux acides gras et sont donc à ce titre des candidats potentiels pour le traitement du diabète.

[0008] Parmi celles-ci, les GLP-1 RA sont celles qui ont apporté à ce jour les meilleurs résultats dans le développement de médicaments. Elles ont permis à des patients atteints de diabète de type II de perdre du poids tout en ayant un meilleur contrôle de leur glycémie.

[0009] Des analogues ou des dérivés de GLP-1 RA ont ainsi été développés notamment pour améliorer leur stabilité.

[00010] D'autre part, pour couvrir ses besoins journaliers en insuline, un patient diabétique dispose, actuellement, de façon schématisée, de deux types d'insulines ayant des actions complémentaires : les insulines prandiales (ou insulines dites à action rapide) et les insulines basales (ou insulines dites à action lente).

[00011] Les insulines prandiales permettent une prise en charge rapide (métabolisation et/ou stockage) du glucose apporté lors des repas et collations. Le patient doit s'injecter une insuline prandiale avant chaque prise alimentaire, soit environ 2 à 3 injections par jour. Les insulines prandiales les plus utilisées sont : l'insuline humaine recombinante, NovoLog® (insuline aspart de NOVO NORDISK), Humalog® (insuline lispro de ELI LILLY) et Apidra® (insuline glulisine de SANOFI).

[00012] Les insulines basales assurent le maintien de l'homéostasie glycémique du patient, en dehors des périodes de prise alimentaire. Elles agissent essentiellement pour bloquer la production endogène de glucose (glucose hépatique). La dose journalière d'insuline basale correspond généralement à 40-50% des besoins totaux journaliers en insuline. Selon l'insuline basale utilisée, cette dose est dispensée en 1 ou 2 injections, régulièrement réparties au cours de la journée. Les insulines basales les plus utilisées sont Levemir® (insuline detemir de NOVO NORDISK) et Lantus® (insuline glargine de SANOFI).

[00013] On notera pour être exhaustif que la NPH (insuline NPH pour Neutral Protamine Hagedorn ; Humuline NPH®, Insulatard®) est la plus ancienne insuline basale. Cette formulation est le résultat d'une précipitation de l'insuline humaine (anionique à pH neutre) par une protéine cationique, la protamine. Les microcristaux ainsi formés sont dispersés dans une suspension aqueuse et se dissolvent lentement après injection

sous-cutanée. Cette dissolution lente assure une libération prolongée de l'insuline. Cependant cette libération n'assure pas une concentration constante d'insuline au cours du temps. Le profil de libération est en forme de cloche et dure seulement entre 12 et 16 heures. Elle est donc injectée deux fois par jour. Cette insuline basale NPH est bien  
5 moins performante que les insulines basales modernes, Levemir® et Lantus®. La NPH est une insuline basale à action intermédiaire.

[00014] Le principe de la NPH a évolué avec l'apparition des insulines analogues rapides pour donner des produits appelés « Premix » offrant à la fois une action rapide et une action intermédiaire. NovoLog Mix® (NOVO NORDISK) et Humalog Mix® (ELI  
10 LILLY) sont des formulations comprenant une insuline analogue rapide, Novolog® et Humalog®, complexée partiellement par la protamine. Ces formulations contiennent ainsi des microcristaux d'insuline analogue dont l'action est dite intermédiaire et une partie d'insuline restée soluble dont l'action est rapide. Ces formulations offrent bien l'avantage d'une insuline rapide mais elles ont aussi le défaut de la NPH, c.-à-d. une  
15 durée d'action limitée entre 12 et 16 heures et une insuline libérée en « cloche ». Cependant, ces produits permettent au patient de s'injecter en une seule fois une insuline basale à action intermédiaire avec une insuline prandiale à action rapide. Or nombreux sont les patients soucieux de réduire leur nombre d'injections.

[00015] Les insulines basales actuellement commercialisées peuvent être classées  
20 en fonction de la solution technique qui permet d'obtenir l'action prolongée et à ce jour deux approches sont utilisées.

[00016] La première, celle de l'insuline detemir est la liaison à l'albumine *in vivo*. Il s'agit d'un analogue, soluble à pH 7, qui comprend une chaîne latérale d'acide gras (tétradecanoyl) fixée à la position B29 qui, *in vivo*, permet à cette insuline de s'associer  
25 à l'albumine. Son action prolongée est principalement due à cette affinité pour l'albumine après injection sous-cutanée.

[00017] Cependant son profil pharmacocinétique ne permet pas de couvrir une journée, ce qui fait qu'elle est le plus souvent utilisée en deux injections par jour.

[00018] Une autre insuline soluble à pH 7, est l'insuline degludec commercialisée  
30 sous le nom de Tresiba®<sup>d</sup>. Elle comprend également une chaîne latérale d'acide gras fixée sur l'insuline (hexadecandioyl-γ-L-Glu).

[00019] La seconde, celle de l'insuline glargine, est la précipitation à pH physiologique. L'insuline glargine est un analogue de l'insuline humaine obtenu par élongation de la partie C-terminale de la chaîne B de l'insuline humaine par deux résidus  
35 arginine, et par substitution du résidu d'asparagine A21, par un résidu de glycine (US 5,656,722). L'addition de deux résidus d'arginine a été pensée pour ajuster le pI (point isoélectrique) d'insuline glargine au pH physiologique, et ainsi rendre cet analogue de l'insuline humaine insoluble en milieu physiologique.

[00020] Aussi, la substitution de l'A21 a été pensée afin de rendre l'insuline glargine stable à pH acide et pouvoir ainsi la formuler sous forme de solution injectable à pH acide. Lors de l'injection sous-cutanée, le passage de l'insuline glargine d'un pH acide (pH 4-4,5) à un pH physiologique (pH neutre) provoque sa précipitation sous la peau.  
5 La redissolution lente des micro-particules d'insuline glargine assure une action lente et prolongée.

[00021] L'effet hypoglycémiant de l'insuline glargine est quasi-constant sur une durée de 24 heures ce qui permet à la plupart des patients de se limiter à une seule injection par jour.

10 [00022] L'insuline glargine est considérée aujourd'hui comme l'insuline basale la plus utilisée.

[00023] Cependant le pH nécessairement acide des formulations d'insulines basales, dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, de type insuline glargine, peut être un réel inconvénient, car ce pH acide de la formulation d'insuline  
15 glargine entraîne parfois chez les patients des douleurs à l'injection et surtout empêche toute formulation avec d'autres protéines et en particulier avec les insulines prandiales car ces dernières ne sont pas stables à pH acide. L'impossibilité de formuler une insuline prandiale, à pH acide, tient au fait qu'une insuline prandiale subit, dans ces conditions, une réaction secondaire de déamidation en position A21, ce qui ne permet pas de  
20 répondre aux exigences de stabilité applicables aux médicaments injectables.

[00024] A ce jour, dans les demandes WO 2013/021143 A1, WO 2013/104861 A1, WO 2014/124994 A1 et WO 2014/124993 A1 il a été démontré qu'il était possible de solubiliser ces insulines basales, de type insuline glargine dont le point isoélectrique est  
25 compris entre 5,8 et 8,5, à pH neutre, tout en maintenant une différence de solubilité entre le milieu *in-vitro* (le contenant) et le milieu *in-vivo* (sous la peau), indépendamment du pH.

[00025] La demande WO 2013/104861 A1, en particulier, décrit des compositions  
30 sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins (a) une insuline basale dont le point isoélectrique pI est compris entre 5,8 et 8,5 et (b) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates substitué par des radicaux hydrophobes.

[00026] Ces compositions de l'art antérieur ont l'inconvénient majeur de ne pas être  
35 suffisamment stables pour répondre aux cahiers des charges applicables aux formulations pharmaceutiques.

[00027] Dans les exemples de la partie expérimentale de la présente demande de brevet il est démontré que les compositions décrites en particulier dans WO 2013/104861 A1 présentent une stabilité insatisfaisante dans le temps.

[00028] Il existe donc un besoin de trouver une solution qui permet de solubiliser  
5 une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 tout en conservant son profil basal après injection mais qui permettent également de satisfaire à des conditions de stabilité physique standard pour les produits pharmaceutiques à base d'insuline.

[00029] De manière surprenante, la demanderesse a trouvé que les co-  
10 polyaminoacides porteurs de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes selon l'invention permettent d'obtenir des compositions sous forme de solutions qui non seulement répondent aux exigences décrites dans WO 2013/104861 A1 mais qui de plus sont en mesure de conférer une stabilité physique améliorée auxdites compositions sans avoir à augmenter la quantité d'excipients utilisée.

[00030] Ces performances a priori jamais atteintes sont de plus conservées lorsque  
15 l'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 est associée dans la composition avec une insuline prandiale et/ou une hormone gastro-intestinale.

[00031] Ainsi, de façon surprenante, l'affinité des co-polyaminoacides selon  
l'invention pour l'insuline glargine a été augmentée en ce qu'elle permet d'obtenir une  
20 solubilisation et une stabilisation des solutions d'insuline glargine à un ratio [Hy]/[insuline basale] inférieur à celui de l'art antérieur ; ces résultats sont de plus obtenus sans altérer, voire en améliorant, la propension de l'insuline glargine à précipiter comme cela est démontré dans la partie expérimentale.

[00032] Cette amélioration de l'affinité permet en outre dans le cadre de  
25 traitements chroniques de limiter le niveau d'exposition auxdits excipients.

[00033] Les co-polyaminoacides porteur de charges carboxylates et de radicaux  
hydrophobes Hy selon l'invention présentent une excellente résistance à l'hydrolyse. Ceci peut notamment être mis en évidence en conditions accélérées, par exemple par  
des tests d'hydrolyse à pH basique (pH 12).

[00034] En outre des tests d'oxydation forcée, par exemple du type oxydation de  
30 fenton, montrent que les co-polyaminoacides porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes Hy présentent une bonne résistance à l'oxydation.

[00035] L'invention concerne ainsi des compositions stables physiquement sous  
35 forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :

- a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 et

- b) une insuline prandiale et/ou une hormone gastrointestinale, et
- c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe de formule I.

[00036] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne une composition sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :

- a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 et
- b) une insuline prandiale, et
- c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe de formule I.

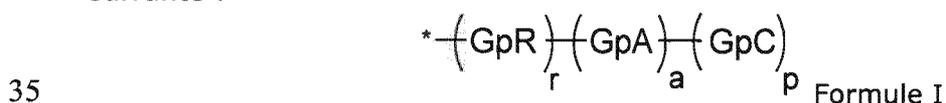
[00037] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne une composition sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :

- a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 et
- b) une hormone gastrointestinale, et
- c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe de formule I.

[00038] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne une composition sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :

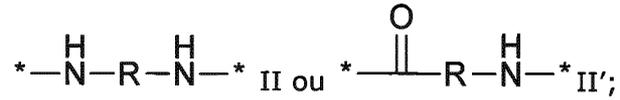
- a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 et
- b) une insuline prandiale et une hormone gastrointestinale, et
- c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe de formule I.

[00039] Dans un mode de réalisation, ledit co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes Hy, est constitué d'unités glutamiques ou aspartiques et lesdits radicaux hydrophobes Hy sont des radicaux de formule I suivante :

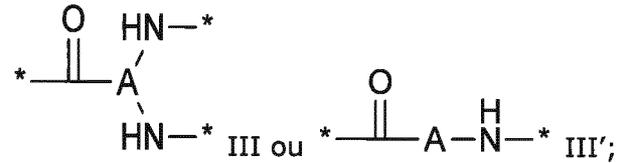


dans laquelle

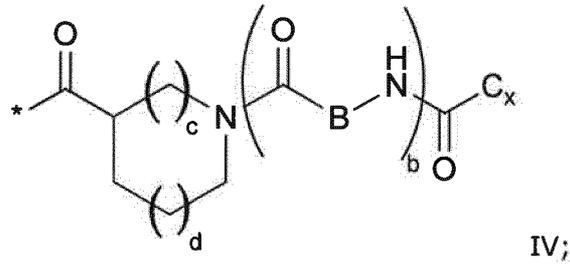
- GpR est un radical de formules II ou II' :



- 5
- GpA est un radical de formules III ou III' :



- GpC est un radical de formule IV :



- 10
- Hy comprend plus de 30 atomes de carbone,
  - les \* indiquent les sites de rattachement des différents groupes liés par des fonctions amides ;
  - a est un entier égal à 0 ou à 1 ;
  - b est un entier égal à 0 ou à 1 ;
- 15
- p est un entier égal à 1 ou à 2 et
    - o si p est égal à 1 alors a est égal à 0 ou à 1 et GpA est un radical de formule III' et,
    - o si p est égal à 2 alors a est égal à 1, et GpA est un radical de formule III ;
- 20
- c est un entier égal à 0 ou à 1, et si c est égal à 0 alors d est égal à 1 ou à 2;
  - d est un entier égal à 0, à 1 ou à 2 ;
  - r est un entier égal à 0 ou à 1, et
    - o si r est égal à 0 alors le radical hydrophobe de formule I est lié au co-polyaminoacide via une liaison covalente entre un carbonyl du radical hydrophobe et un atome d'azote en position N terminale du co-polyaminoacide, formant ainsi une fonction amide issue de la réaction d'une fonction amine en position N terminale du précurseur du co-polyaminoacide
- 25
- o et une fonction acide portée par le précurseur du radical hydrophobe , et

○ si  $r$  est égal à 1 alors le radical hydrophobe de formule I est lié au co-polyaminoacide :

- via une liaison covalente entre un atome d'azote du radical hydrophobe et un carbonyl du co-polyaminoacide, formant ainsi une fonction amide issue de la réaction d'une fonction amine du précurseur du radical hydrophobe et une fonction acide portée par le précurseur du co-polyaminoacide ou
  - via une liaison covalente entre un carbonyl du radical hydrophobe et un atome d'azote en position N-terminale du co-polyaminoacide, formant ainsi une fonction amide issue de la réaction d'une fonction acide du précurseur du radical hydrophobe et une fonction amine en position N-terminale portée par le précurseur du co-polyaminoacide ;
- R est un radical choisi dans le groupe constitué par :
- un radical alkyle divalent, linéaire ou ramifié, comprenant si GpR est un radical de formule II de 2 à 12 atomes de carbone ou si GpR est un radical de formule II' de 1 à 11 atomes de carbone ;
  - un radical alkyle divalent, linéaire ou ramifié, comprenant si GpR est un radical de formule II de 2 à 11 atomes de carbone ou si GpR est un radical de formule II' de 1 à 11 atomes de carbone, ledit radical alkyle portant une ou plusieurs fonctions  $-\text{CONH}_2$ , et
  - un radical éther ou polyéther non substitué comprenant de 4 à 14 atomes de carbone et de 1 à 5 atomes d'oxygène ;
- A est un radical alkyle linéaire ou ramifié comprenant de 1 à 6 atomes de carbone;
- B est un radical alkyle linéaire ou ramifié, éventuellement comprenant un noyau aromatique, comprenant de 1 à 9 atomes de carbone ;
- $C_x$  est un radical alkyl monovalent linéaire ou ramifié, dans lequel  $x$  indique le nombre d'atomes de carbone et :
- si  $p$  est égal à 1,  $x$  est compris entre 11 à 25 ( $11 \leq x \leq 25$ ) ;
  - si  $p$  est égal à 2,  $x$  est compris entre 9 et 15 ( $9 \leq x \leq 15$ ),
- le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques étant compris entre  $0 < i \leq 0,5$  ;
- lorsque plusieurs radicaux hydrophobes sont portés par un co-polyaminoacide alors ils sont identiques ou différents,
- le degré de polymérisation DP en unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 5 et 250 ;

- les fonctions acides libres étant sous forme de sel de cation alkalin choisi dans le groupe constitué par Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>.

[00040] Le pH des compositions selon l'invention est compris entre 6,0 et 8,0, de  
5 préférence compris entre 6,6 et 7,8 ou encore plus préférentiellement entre 6,8 et 7,6.

[00041] Ledit co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux  
hydrophobes Hy est soluble en solution aqueuse à pH compris entre 6 et 8, à une  
10 température de 25°C et à une concentration inférieure à 60 mg/ml.

[00042] On entend par « composition stable physiquement » des compositions qui  
satisfont aux critères de l'inspection visuelle décrite dans la pharmacopée européenne,  
américaine et internationale, c'est-à-dire des compositions qui sont claires et qui ne  
contiennent pas de particules visibles, mais également incolores.

15 [00043] On entend par « solution aqueuse injectable » des solutions dont le solvant  
est l'eau qui répondent aux conditions des pharmacopées EP et US.

[00044] On entend par « co-polyaminoacide étant constitué d'unités glutamiques  
ou aspartiques » des enchainements linéaires non cycliques d'unités acide glutamique  
ou acide aspartique liées entre elles par des liaisons peptidiques, lesdits enchainements  
20 présentant une partie C-terminale, correspondant à l'acide carboxylique d'une  
extrémité, et une partie N-terminale, correspondant à l'amine de l'autre extrémité de  
l'enchainement.

[00045] On entend par « soluble », susceptible de permettre de préparer une  
solution limpide et dépourvue de particules à une concentration inférieure à 60 mg/ml  
25 dans de l'eau distillée à 25°C.

[00046] On entend par « radical alkyl » une chaîne carbonée, linéaire ou ramifiée,  
qui ne comprend pas d'hétéroatome.

[00047] Le co-polyaminoacide est un co-polyaminoacide statistique dans  
30 l'enchainement des unités glutamiques et/ou aspartiques.

[00048] Dans les formules les \* indiquent les sites de rattachements des différents  
éléments représentés.

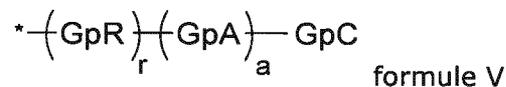
[00049] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
35 caractérisée en ce que Hy comprend plus de 30 atomes de carbone

[00050] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
caractérisée en ce que Hy comprend entre 30 et 70 atomes de carbone.

[00051] Dans un mode de réalisation, lorsque  $p = 1$ ,  $x$  est compris entre 11 et 25 ( $11 \leq x \leq 25$ ). En particulier, lorsque  $x$  est compris entre 15 et 16 ( $x = 15$  ou  $16$ ) alors  $r = 1$  et R est un radical éther ou polyéther et lorsque  $x$  est supérieur à 17 ( $x \geq 17$ )  
5 alors  $r = 1$  et R est un radical éther ou polyéther.

[00052] Dans un mode de réalisation, lorsque  $p = 2$ ,  $x$  est compris entre 9 et 15 ( $9 \leq x \leq 15$ ).

[00053] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
10 caractérisée en ce que lesdits radicaux hydrophobes sont choisis parmi les radicaux hydrophobes de formule I dans laquelle  $p = 1$ , représentée par la formule V suivante :



15 GpR, GpA, GpC, r et a ont les définitions données précédemment.

[00054] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle r est égal à 1 ( $r=1$ ) et a est égal à 0 ( $a = 0$ ).

20 [00055] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle r est égal à 1 ( $r=1$ ) et a est égal à 1 ( $a=1$ ).

[00056] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  
25 GpR est un radical de formule II.

[00057] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 2 à 12 atomes de carbone.

30 [00058] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle divalent comprenant de 2 à 6 atomes de carbone.

[00059] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
35 caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 2 à 6 atomes de carbone.

[00060] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle divalent comprenant de 2 à 4 atomes de carbone.

5 [00061] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 2 à 4 atomes de carbone.

10 [00062] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle divalent comprenant 2 atomes de carbone.

[00063] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  
15 GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle divalent comprenant 6 atomes de carbone.

[00064] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II'.

20 [00065] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II' dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 1 à 11 atomes de carbone.

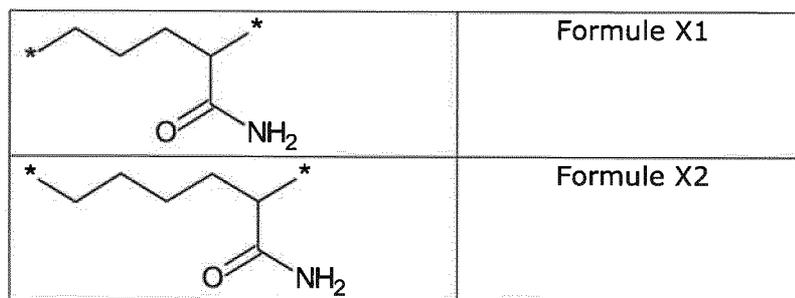
[00066] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  
25 GpR est un radical de formule II' dans laquelle R est un radical alkyle divalent comprenant de 1 à 6 atomes de carbone.

[00067] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  
30 GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical alkyle divalent, comprenant de 2 à 5 atomes de carbone et portant une ou plusieurs fonctions amide (-CONH<sub>2</sub>).

[00068] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  
35 GpR est un radical de formule II' ou II, dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent, comprenant de 2 à 5 atomes de carbone et portant une ou plusieurs fonctions amide (-CONH<sub>2</sub>).

[00069] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est, caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :

5



[00070] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical de formule X1.

10 [00071] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical de formule X2.

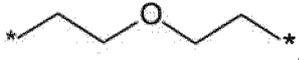
15 [00072] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical R est lié au co-polyaminoacide via une fonction amide portée par le carbone en position delta ou epsilon (ou en position 4 ou 5 par rapport à la fonction amide (-CONH<sub>2</sub>)).

20 [00073] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical linéaire éther ou polyéther non substitué comprenant de 4 à 14 atomes de carbone et de 1 à 5 atomes d'oxygène.

25 [00074] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical éther.

[00075] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical éther comprenant de 4 à 6 atomes de carbone.

30 [00076] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle

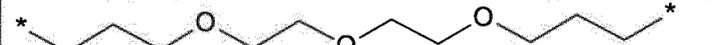
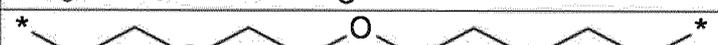
GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical éther représenté par la formule , de formule X7.

[00077] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical polyéther.

[00078] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical linéaire polyéther comprenant de 6 à 10 atomes de carbone et de 2 à 3 atomes d'oxygène.

10

[00079] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical polyéther choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :

	Formule X3
	Formule X4
	Formule X5
	Formule X6

15

[00080] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical de formule X3.

[00081] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical de formule X4.

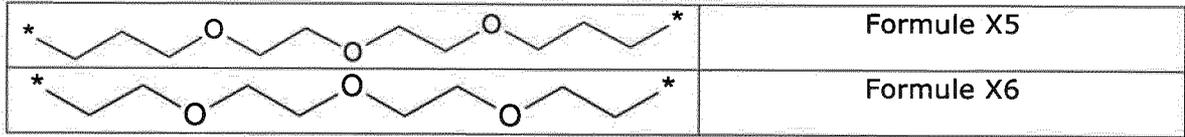
[00082] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical de formule X5.

[00083] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical de formule X6.

[00084]

[00085] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical dans laquelle R est un radical polyéther choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :

30

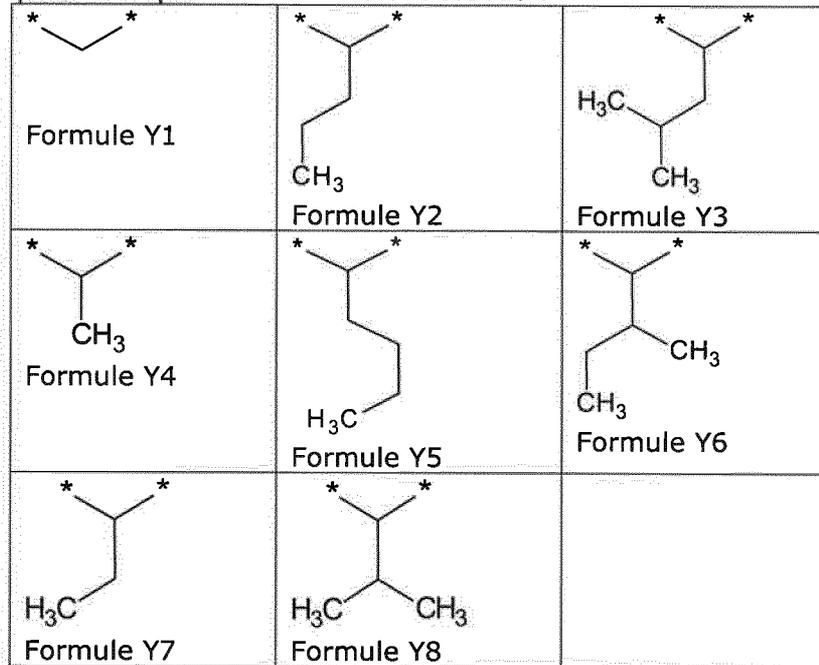


[00086] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical polyéther de formule X5.

5 [00087] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe de formule V dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical polyéther de formule X6.

[00088] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle a est égal à 0 (a=0) et r est égal à 0 (r=0).

[00089] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle a est égal à 1 (a = 1) et le radical GpA de formule III' est choisi dans le groupe constitué des radicaux représentés par les formules ci-dessous :



[00090] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle a est égal à 1 (a = 1) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y1.

20 [00091] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle a est égal à 1 (a = 1) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y2.

[00092] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  $a$  est égal à 1 ( $a = 1$ ) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y3.

5 [00093] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  $a$  est égal à 1 ( $a = 1$ ) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y4.

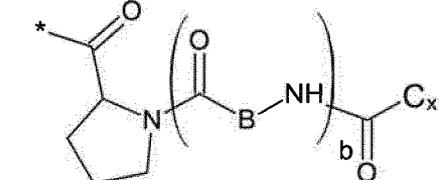
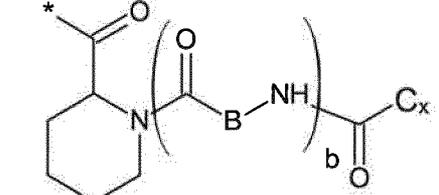
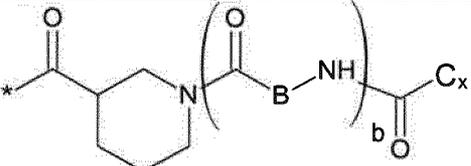
[00094] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  $a$  est égal à 1 ( $a = 1$ ) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y5.

10 [00095] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  $a$  est égal à 1 ( $a = 1$ ) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y6.

15 [00096] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  $a$  est égal à 1 ( $a = 1$ ) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y7.

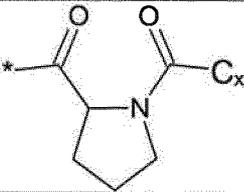
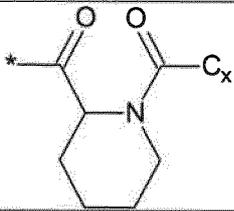
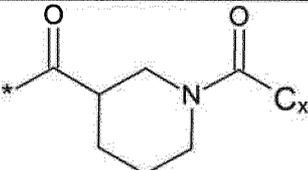
[00097] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle  $a$  est égal à 1 ( $a = 1$ ) et le radical GpA de formule III' est un radical de formule Y8.

20 [00098] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux de formules IVa, IVb ou IVc ci-après représentées :

	Formule IVa
	Formule IVb
	Formule IVc

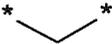
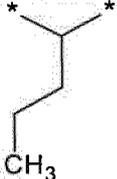
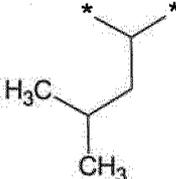
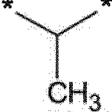
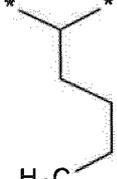
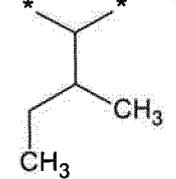
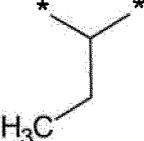
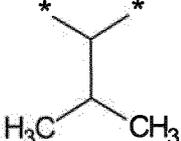
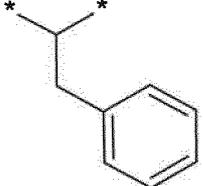
[00099] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC est de formule IVa.

5 [000100] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux de formules IVa, IVb ou IVc dans lesquels b est égal à 0, répondant respectivement aux formules IVd, IVe, et IVf ci-après représentées :

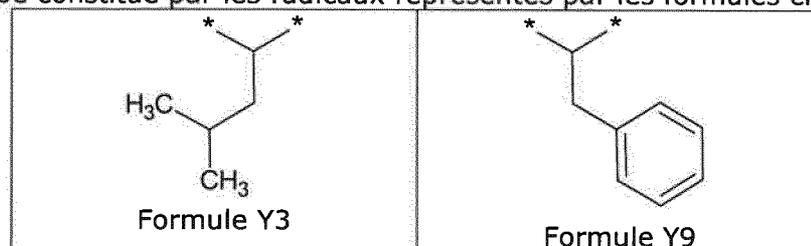
	Formule IVd
	Formule IVe
	Formule IVf

10 [000101] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC répond à la formule IV ou IVa dans lesquelles b = 0, et répond à la formule IVd.

15 [000102] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV dans laquelle b = 1 est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels B est un résidu d'acide aminé choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :

 Formule Y1	 Formule Y2	 Formule Y3
 Formule Y4	 Formule Y5	 Formule Y6
 Formule Y7	 Formule Y8	 Formule Y9

[000103] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule répond à la formule IV ou IVa dans lesquelles  $b = 1$ , est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels B est un résidu d'acide aminé choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :



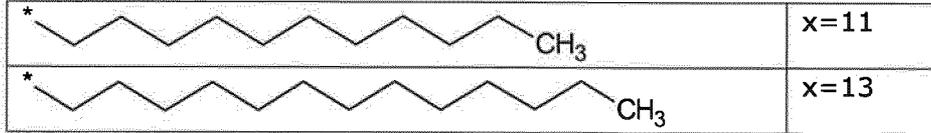
[000104] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles linéaires.

[000105] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles ramifiés.

[000106] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle

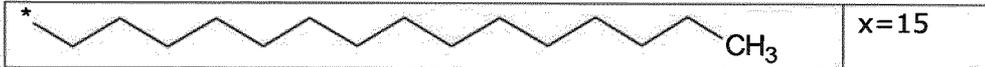
le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 11 et 14 atomes de carbone.

5 [000107] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :

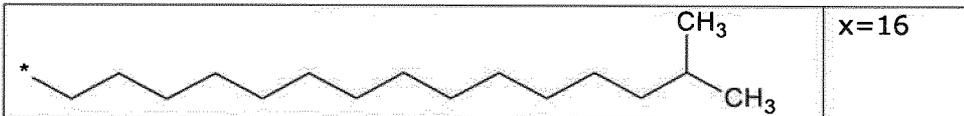


10 [000108] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 15 et 16 atomes de carbone.

15 [000109] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :



20 [000110] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :

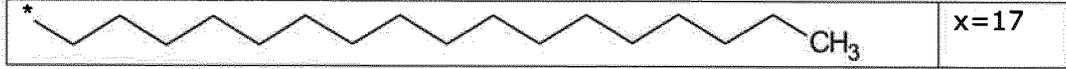


25 [000111] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 17 et 25 atomes de carbone.

30 [000112] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle

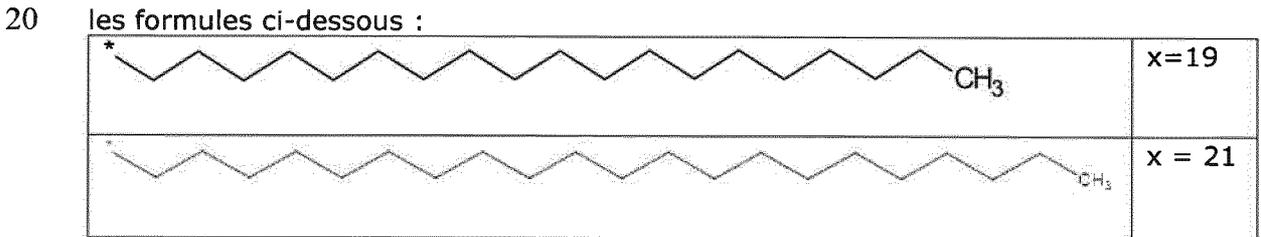
le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 17 et 18 atomes de carbone.

5 [000113] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles représentés par les formules ci-dessous :



10 [000114] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 19 et 25 atomes de carbone.

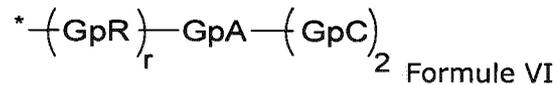
15 [000115] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles représentés par



[000116] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule V dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 18 et 19 atomes de carbone.

25 [000117] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que lesdits radicaux hydrophobes de formule I sont choisis parmi les radicaux hydrophobes de formule I dans laquelle a = 1 et p = 2, représentée par la

formule VI suivante :



dans laquelle

5

GpR, GpA, GpC, r et a ont les définitions données précédemment.

[000118] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle  
10 GpR est un radical de formule II.

[000119] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II dans lequel R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 2 à 12 atomes de carbone.

15 [000120] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle divalent comprenant de 2 à 6 atomes de carbone.

[000121] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
20 caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 2 à 6 atomes de carbone.

[000122] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
25 caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle au moins comprenant de 2 à 4 atomes de carbone.

[000123] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
30 caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 2 à 4 atomes de carbone.

[000124] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant 2 atomes de carbone.

35 [000125] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II'.

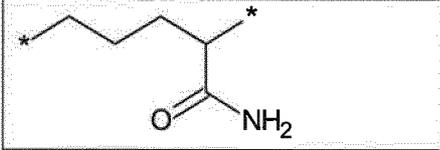
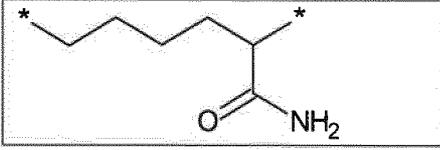
[000126] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II' dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent comprenant de 1 à 11 atomes de carbone.

5 [000127] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II' dans laquelle R est un radical alkyle divalent comprenant de 1 à 6 atomes de carbone.

10 [000128] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical alkyle divalent, comprenant de 2 à 5 atomes de carbone, et portant une ou plusieurs fonctions amide (-CONH<sub>2</sub>).

15 [000129] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical alkyle linéaire divalent, comprenant de 2 à 5 atomes de carbone et portant une ou plusieurs fonctions amide (-CONH<sub>2</sub>).

20 [000130] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :

	Formule X1
	Formule X2

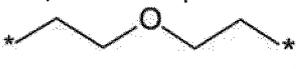
25 [000131] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle la fonction amine du radical GpR engagée dans la formation de la fonction amide qui lie ledit radical GpR au co-polyaminoacide est portée par un carbone en position delta ou epsilon (ou en position 4 ou 5) par rapport à la fonction amide (-CONH<sub>2</sub>).

30 [000132] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical linéaire éther ou

polyéther non substitué comprenant de 4 à 14 atomes de carbone et de 1 à 5 atomes d'oxygène.

[000133] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle  
 5 GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical éther.

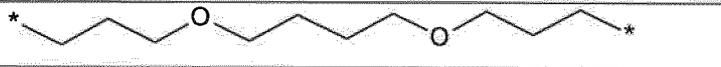
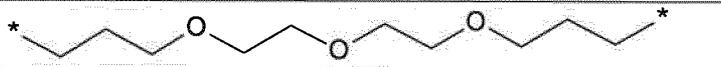
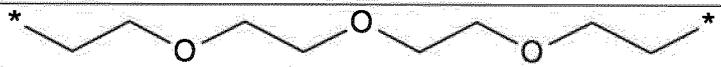
[000134] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical éther R est un radical comprenant de 4 à 6 atomes de carbone.

[000135] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
 10 caractérisée en ce que le radical éther est , formule X7.

[000136] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical polyéther.

[000137] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
 15 caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II', dans laquelle R est un radical linéaire polyéther comprenant de 6 à 10 atomes de carbone et de 2 à 3 atomes d'oxygène.

[000138] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
 20 caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical linéaire polyéther choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous

	Formule X3
	Formule X4
	Formule X5
	Formule X6

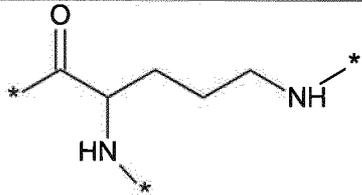
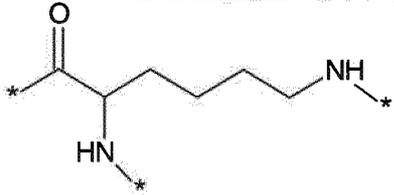
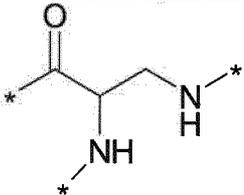
[000139] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le  
 25 radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical linéaire polyéther de formule X3.

[000140] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical linéaire polyéther de formule X4.

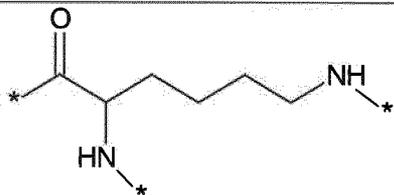
[000141] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical linéaire polyéther de formule X5.

5 [000142] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle GpR est un radical de formule II ou II' dans laquelle R est un radical linéaire polyéther de formule X6.

[000143] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpA de formule III est choisi dans le groupe constitué des radicaux de formules IIIa et IIIb ci-après représentées :

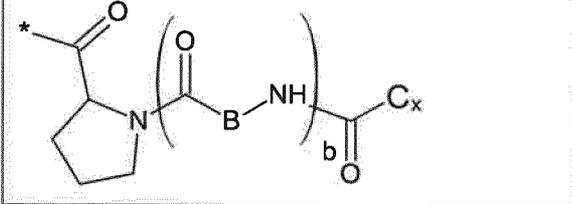
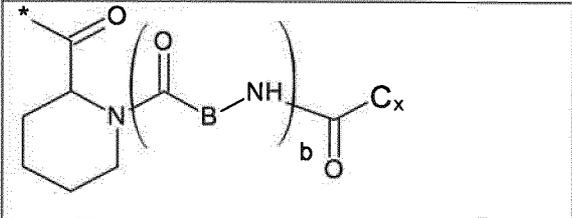
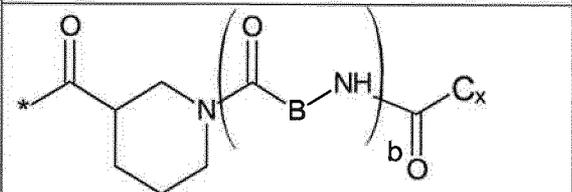
	Formule IIIa
	Formule IIIb
	Formule IIIc

15 [000144] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpA de formule III est un radical de formule IIIb ci-après représentée :

	Formule IIIb
-------------------------------------------------------------------------------------	--------------

[000145] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpA de formule III est un radical de formule IIIc.

[000146] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux de formules IVa, IVb et IVc ci-après représentées :

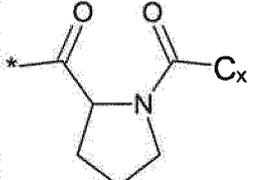
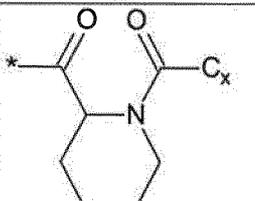
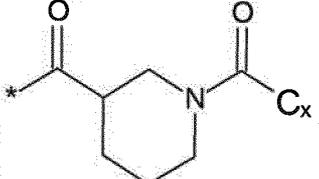
	Formule IV <sub>a</sub>
	Formule IV <sub>b</sub>
	Formule IV <sub>c</sub>

5

[000147] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC est de formule IVa.

[000148] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux de formules IVa, IVb ou IVc dans lesquels b est égal à 0, répondant respectivement aux formules IVd, IVe, et IVf ci-après représentées :

10

	Formule IV <sub>d</sub>
	Formule IV <sub>e</sub>
	Formule IV <sub>f</sub>

[000149] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC répond à la formule IV ou IVa dans lesquelles  $b = 0$ , et répond à la formule IVd.

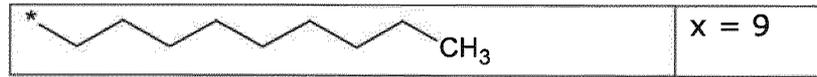
[000150] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels C<sub>x</sub> est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles linéaires comprenant entre 9 et 15 atomes de carbone.

[000151] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels C<sub>x</sub> est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles ramifiés comprenant entre 9 et 15 atomes de carbone.

[000152] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels C<sub>x</sub> est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant 9 ou 10 atomes de carbone.

[000153] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans

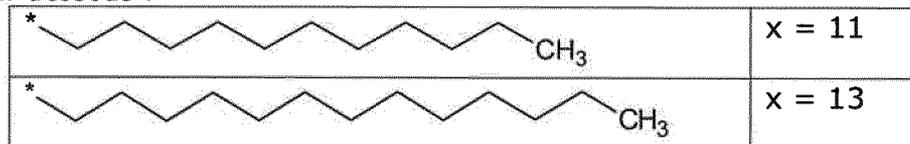
lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :



5 [000154] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 11 et 15 atomes de carbone.

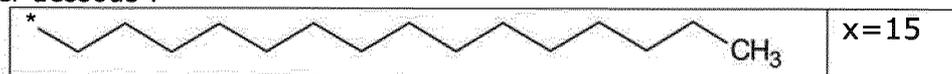
10 [000155] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant entre 11 et 13 atomes de carbone.

15 [000156] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :



20 [000157] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux alkyles comprenant 14 ou 15 atomes de carbone.

25 [000158] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe est un radical de formule VI dans laquelle le radical GpC de formule IV est choisi dans le groupe constitué des radicaux dans lesquels Cx est choisi dans le groupe constitué par les radicaux représentés par les formules ci-dessous :



[000159] Dans les formules I, V et VI, les \* indiquent les sites de rattachement des radicaux hydrophobes au co-polyaminoacide. Les radicaux Hy sont rattachés au co-polyaminoacide via des fonctions amides.

[000160] Dans les formules II et II', les \* indiquent, de gauche à droite respectivement, les sites de rattachement de GpR :

- au co-polyaminoacide et
- à GpA si a = 1 ou à GpC si a = 0.

[000161] Dans les formules III et III', les \* indiquent, de gauche à droite respectivement, les sites de rattachement de GpA :

- à GpR si r = 1 ou au co-polyaminoacide si r = 0 et
- à GpC.

[000162] Dans la formule IV, le \* indique le site de rattachement de GpC :

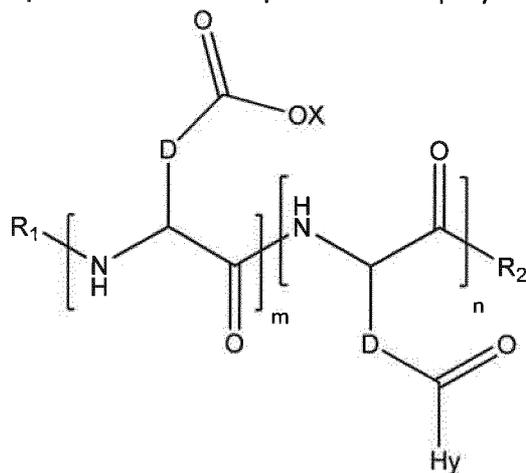
- à GpA si a = 1, GpR si r = 1 et a = 0 ou au co-polyaminoacide si r = 0 et a = 0.

[000163] Tous les rattachements entre les différents groupes GpR, GpA et GpC sont des fonctions amides.

[000164] Les radicaux Hy, GpR, GpA, GpC, et D sont chacun indépendamment identiques ou différents d'un résidu à l'autre.

[000165] Lorsque le co-polyaminoacide comprend une ou plusieurs d'unité(s) aspartique(s), celle(s)-ci peu(ven)t subir des réarrangements structuraux.

[000166] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VII suivante :



25

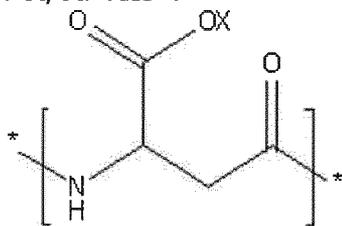
formule VII

dans laquelle,

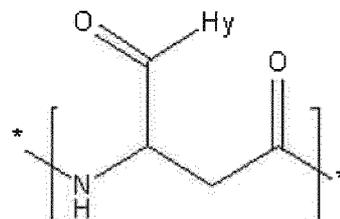
- D représente, indépendamment, soit un groupe -CH<sub>2</sub>- (unité aspartique) soit un groupe -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- (unité glutamique),

- Hy est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de formules I, V ou VI, dans lesquelles  $r = 1$  et GpR est un radical de Formule II,
- $R_1$  est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de formules I, V ou VI dans lesquelles  $r = 0$  ou  $r = 1$  et GpR est un radical de Formule II', ou un radical choisi dans le groupe constitué par un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10, un groupe acyle ramifié en C4 à C10, un benzyle, une unité « acide aminé » terminale et un pyroglutamate,
- $R_2$  est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de formules I, V ou VI dans lesquelles  $r = 1$  et GpR est un radical de Formule II, ou un radical  $-NR'R''$ ,  $R'$  et  $R''$  identiques ou différents étant choisis dans le groupe constitué par H, les alkyles linéaires ou ramifiés ou cycliques en C2 à C10, le benzyle et lesdits  $R'$  et  $R''$  alkyles pouvant former ensemble un ou des cycles carbonés saturés, insaturés et/ou aromatiques et/ou pouvant comporter des hétéroatomes, choisis dans le groupe constitué par O, N et S ;
- X représente une entité cationique choisie dans le groupe comprenant les cations alcalins ;
- $n + m$  représente le degré de polymérisation DP du co-polyaminoacide, c'est-à-dire le nombre moyen d'unités monomériques par chaîne de co-polyaminoacide et  $5 \leq n + m \leq 250$  ;

[000167] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que lorsque le co-polyaminoacide comprend des unités aspartate, alors le co-polyaminoacide peut en outre comprendre des unités monomériques de formule VIII et/ou VIII' :



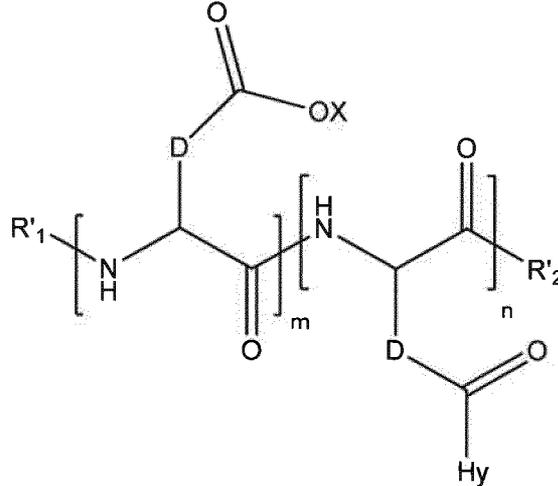
Formule VIII



Formule VIII'

[000168] On appelle « co-polyaminoacide à greffage statistique » un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe, un co-polyaminoacide de formule VIIa.

[000169] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VII, dans laquelle  $R_1 = R'_1$  et  $R_2 = R'_2$ , de formule VIIa suivante :



Formule VIIa

5

dans laquelle,

- m, n, X, D et Hy ont les définitions données précédemment,
- $R'_1$  est un radical choisi dans le groupe constitué par un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10, un groupe acyle ramifié en C4 à C10, un benzyle, une unité « acide aminé » terminale et un pyroglutamate,
- $R'_2$  est un radical -NR'R'', R' et R'' identiques ou différents étant choisis dans le groupe constitué par H, les alkyles linéaires ou ramifiés ou cycliques en C2 à C10, le benzyle et lesdits R' et R'' alkyles pouvant former ensemble un ou des cycles carbonés saturés, insaturés et/ou aromatiques et/ou pouvant comporter des hétéroatomes, choisis dans le groupe constitué par O, N et S.

10

15

[000170] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIa, dans laquelle Hy est un radical de formule V.

20

[000171] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIa, dans laquelle Hy est de formule V et GpC est un radical de formule IVd.

25

[000172] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de

radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIa, dans laquelle Hy est de formule V et GpC est un radical de formule IVd dans lequel  $x = 19$ .

5 [000173] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIa, dans laquelle Hy est un radical de formule VI.

10 [000174] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIa, dans laquelle Hy est un radical de formule VI dans laquelle  $r=1$ .

15 [000175] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIa, dans laquelle Hy est un radical de formule VI dans laquelle  $r=1$ , et pour GpC,  $b=0$ .

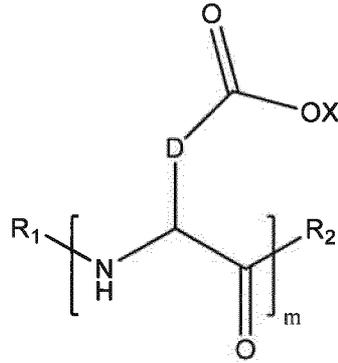
20 [000176] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIa, dans laquelle Hy est de formule VI et GpC est un radical de formule IVd.

25 [000177] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIa, dans laquelle Hy est de formule VI et GpC est un radical de formule IVd et  $r=1$ .

30 [000178] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIa, dans laquelle Hy est de formule VI et GpC est un radical de formule IVd dans lequel  $x$  est compris entre 11 et 15.

35 [000179] On appelle « co-polyaminoacide à greffage défini » un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe, un co-polyaminoacide de formule VIIb.

[000180] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VII dans laquelle  $n = 0$  de formule VIIb suivante :



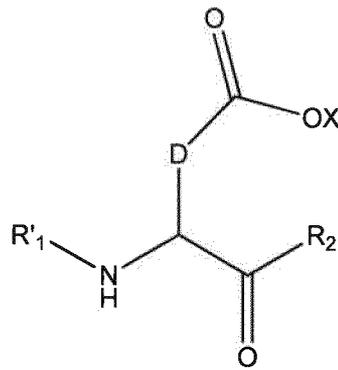
5

Formule VIIb

dans laquelle  $m$ ,  $X$ ,  $D$ ,  $R_1$  et  $R_2$  ont les définitions données précédemment et au moins  $R_1$  ou  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI.

[000181] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb, dans laquelle  $R_1 = R'_1$ , de formule VIIb' :

10

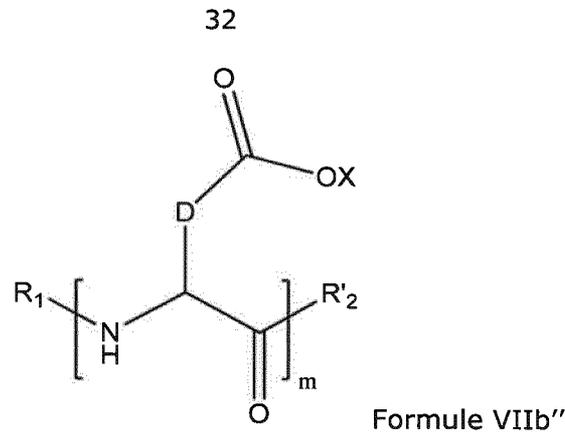


Formule VIIb'

15 dans laquelle  $m$ ,  $X$ ,  $D$ ,  $R'_1$  et  $R_2$  ont les définitions données précédemment et au moins  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI.

[000182] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb, dans laquelle  $R_2 = R'_2$ , de formule VIIb'' :

20



dans laquelle  $m$ ,  $X$ ,  $D$ ,  $R_1$  et  $R'_2$  ont les définitions données précédemment et au moins  $R_1$  est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI.

5 [000183] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VII dans laquelle  $n = 0$  de formule VIIb et  $R_1$  ou  $R'_2$  est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI.

10

[000184] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIb ou VIIb'' dans laquelle  $R_1$  est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI dans lesquelles  $r = 0$  ou  $r = 1$  et GpR est de Formule II'.

15

[000185] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIb ou VIIb'' dans laquelle  $R_1$  est un radical hydrophobe de formule VI et GpR est de formule II'.

20

[000186] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIb ou VIIb'' dans laquelle  $R_1$  est un radical hydrophobe de formule VI et GpR est de formule II' et GpC est de formule IVa.

25

[000187] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VIIb ou VIIb'' dans laquelle  $R_1$  est un radical hydrophobe de formule VI et GpR est de formule II' et GpC est de formule IVd.

30

[000188] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb ou VIIb' dans laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI dans lesquelles r = 1 et GpR est de Formule II.

[000189] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule V dans laquelle r = 1 et GpR est de Formule II et a=0.

[000190] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule V dans laquelle r = 1, GpR est de Formule II et a=0 et GpC est de formule IVa ou IVc.

[000191] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule V dans laquelle r = 1, GpR est de Formule II et a=0 et GpC est de formule IVa.

[000192] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule V dans laquelle r = 1, GpR est de Formule II et a=0 et GpC est de formule IVc.

[000193] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule V dans laquelle r = 1, GpR est de Formule II et a=0 et GpC est de formule IVd ou IVf. Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-

polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule V dans laquelle  $r = 1$ , GpR est de Formule II et  $a=0$  et GpC est de formule IVd.

[000194] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule V dans laquelle  $r = 1$ , GpR est de Formule II et  $a=0$  et GpC est de formule IVf.

[000195] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule VI dans laquelle  $r = 1$  et GpR est de Formule II et  $a=1$ .

[000196] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule VI dans laquelle  $r = 1$ , GpR est de Formule II,  $a=1$  et GpC est de formule IVa ou IVd.

[000197] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule VI dans laquelle  $r = 1$ , GpR est de Formule II,  $a=1$  et GpC est de formule IVd.

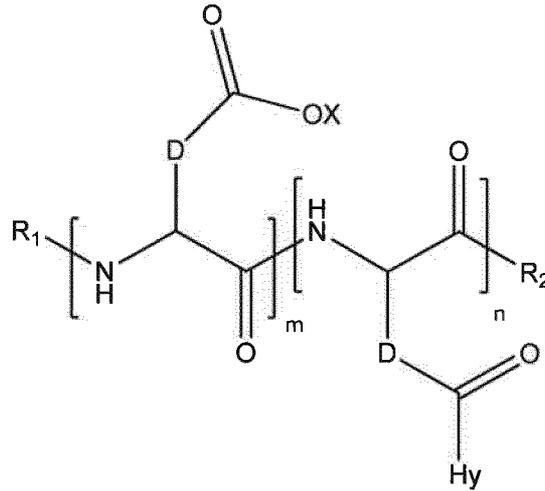
[000198] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule VI dans laquelle  $r = 1$ , GpR est de Formule II,  $a=1$  et GpC est de formule IVd, avec  $x=11$ .

[000199] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans laquelle  $R_2$  est un radical hydrophobe de formule VI dans laquelle  $r = 1$ , GpR est de Formule II,  $a=1$  et GpC est de formule IVd, avec  $x=13$ .

[000200] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb' dans

laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule VI dans laquelle r = 1, GpR est de Formule II , a=1 et GpC est de formule IVd avec x=15.

[000201] Dans un mode de réalisation, la composition est caractérisée en ce que le  
 5 co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule XX suivante :



formule XX

dans laquelle,

- 10 • D représente, indépendamment, soit un groupe -CH<sub>2</sub>- (unité aspartique) soit un groupe -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- (unité glutamique),
- Hy est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de formules I, V ou VI, dans lesquelles r = 1 et GpR est un radical de Formule II,
- 15 • R<sub>1</sub> est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de formules I, V ou VI dans lesquelles r=0 ou r=1 et GpR est un radical de Formule II', ou un radical choisi dans le groupe constitué par un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10, un groupe acyle ramifié en C3 à C10, un benzyle, une unité « acide aminé » terminale et un pyroglutamate,
- 20 • R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de formules I, V ou VI dans lesquelles r = 1 et GpR est un radical de Formule II, ou un radical -NR'R'', R' et R'' identiques ou différents étant choisis dans le groupe constitué par H, les alkyles linéaires ou ramifiés ou cycliques en C2 à C10, le benzyle et lesdits R' et R'' alkyles pouvant former ensemble un ou des cycles carbonés saturés, insaturés et/ou aromatiques
- 25 et/ou pouvant comporter des hétéroatomes, choisis dans le groupe constitué par O, N et S,

- au moins un des  $R_1$  ou  $R_2$  est un radical hydrophobe tel que ci-dessus défini,
- X représente un H ou une entité cationique choisie dans le groupe comprenant les cations métalliques ;

5  $n + m$  représente le degré de polymérisation DP du co-polyaminoacide, c'est-à-dire le nombre moyen d'unités monomériques par chaîne de co-polyaminoacide et  $5 \leq n + m \leq 250$ .

[000202] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $R_1$  est un radical choisi dans le groupe constitué par un groupe acyle linéaire en  $C_2$  à  $C_{10}$ , un groupe acyle ramifié en  $C_4$  à  $C_{10}$ , un benzyle, une unité  
10 « acide aminé » terminale et un pyroglutamate.

[000203] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $R_1$  est un radical choisi dans le groupe constitué par un groupe acyle linéaire en  $C_2$  à  $C_{10}$  ou un groupe acyle ramifié en  $C_4$  à  $C_{10}$ .

15 [000204] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VII, VIIa ou VIIb dans lesquels le co-polyaminoacide est choisi parmi les co-polyaminoacides dans  
20 lesquels le groupe D est un groupe  $-CH_2-$  (unité aspartique).

[000205] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VII, VIIa ou  
25 VIIb dans lesquels le co-polyaminoacide est choisi parmi les co-polyaminoacides dans lesquels le groupe D est un groupe  $-CH_2-CH_2-$  (unité glutamique).

[000206] On définit par le ratio radical hydrophobe par insuline basale comme étant le ratio de leurs concentrations molaires respectives :  $[Hy]/[insuline\ basale]$  (mol/mol)  
30 pour obtenir les performances attendues, à savoir la solubilisation de l'insuline basale à pH compris entre 6,0 et 8,0, la précipitation de l'insuline basale et la stabilité des compositions selon l'invention.

[000207] La valeur minimale du ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale]$ , mesurée est la valeur à laquelle l'insuline basale est solubilisée,  
35 car la solubilisation est l'effet minimum à obtenir ; cette solubilisation conditionne tous les autres effets techniques qui ne peuvent être observés que si l'insuline basale est solubilisée à pH compris entre 6,0 et 8,0.

[000208] Dans les compositions selon l'invention, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale]$  peut être supérieur à la valeur minimale déterminée par la limite de solubilisation.

5 [000209] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 2$ .

[000210] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 1,75$ .

[000211] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 1,5$ .

10 [000212] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 1,25$ .

[000213] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 1,00$ .

15 [000214] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 0,75$ .

[000215] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 0,5$ .

[000216] Dans un mode de réalisation, le ratio radical hydrophobe par insuline basale  $[Hy]/[insuline\ basale] \leq 0,25$ .

20 [000217] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,007 et 0,3.

25 [000218] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,01 et 0,3.

[000219] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,02 et 0,2.

30 [000220] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,007 et 0,15.

35 [000221] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,01 et 0,1.

[000222] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,02 et 0,08.

5 [000223] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI dans laquelle le radical Cx comprend entre 9 et 10 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,03 et 0,15.

10 [000224] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI dans laquelle le radical Cx comprend entre 11 et 12 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,015 et 0,1.

15 [000225] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI dans laquelle le radical Cx comprend entre 11 et 12 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,02 et 0,08.

20 [000226] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI dans laquelle le radical Cx comprend entre 13 et 15 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,01 et 0,1.

25 [000227] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule VI dans laquelle le radical Cx comprend entre 13 et 15 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,01 et 0,06.

30 [000228] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,007 et 0,3.

[000229] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est  
35 caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,01 et 0,3.

[000230] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,015 et 0,2.

5

[000231] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V dans laquelle le radical Cx comprend entre 11 et 14 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris

10

[000232] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V dans laquelle le radical Cx comprend entre 15 et 16 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris

15

[000233] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V dans laquelle le radical Cx comprend entre 17 et 18 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris

20

[000234] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V dans laquelle le radical Cx comprend entre 19 et 25 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris

25

[000235] mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le radical hydrophobe répond à la formule V dans laquelle le radical Cx comprend entre 19 et 25 atomes de carbone et le ratio  $i$  entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 0,01 et 0,05.

30

[000236] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 10 et 200.

[000237] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 15 et 150.

35

[000238] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 15 et 100.

[000239] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 15 et 80.

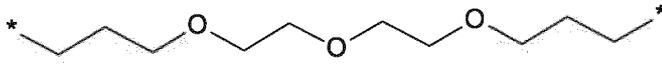
[000240] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 15 et 65.

[000241] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 20 et 60.

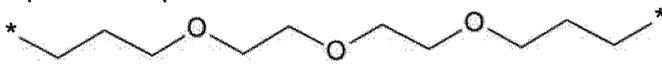
5 [000242] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 20 et 50.

[000243] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que  $n + m$  est compris entre 20 et 40.

10 [000244] Dans un mode de réalisation, le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 0$ ,  $p = 1$ ,

GpR répond à la formule II dans laquelle R est , GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 15$  et Cx est 

15 [000245] Dans un mode de réalisation, le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 0$ ,  $p = 1$ ,

GpR répond à la formule II dans laquelle R est , GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 19$  et Cx est

20 

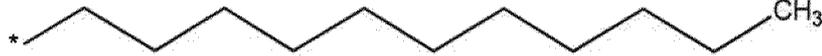
[000246] Dans un mode de réalisation, le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 1$ ,  $p = 2$ ,

25 GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-CH_2-CH_2-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 9$  et Cx est



[000247] Dans un mode de réalisation, le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 1$ ,  $p = 2$ ,

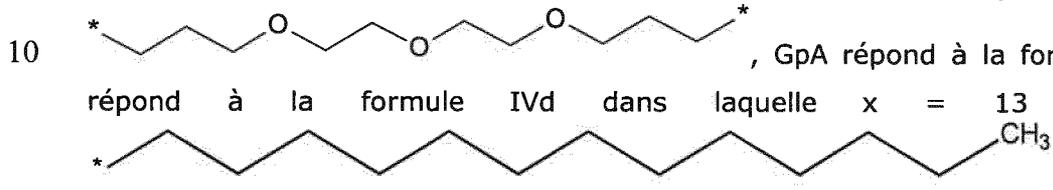
30 GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-CH_2-CH_2-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 11$  et Cx est



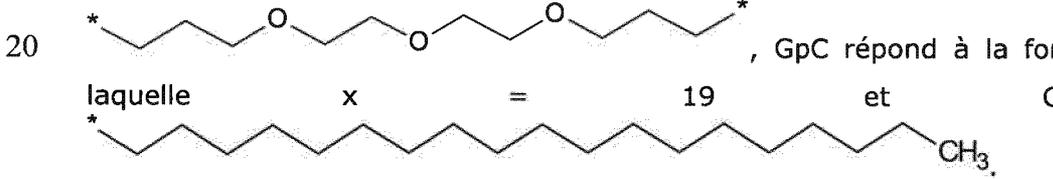
[000248] Dans un mode de réalisation, le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-CH_2-CH_2-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



[000249] Dans un mode de réalisation, le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



[000250] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIa, dans laquelle  $DP = 22 \pm 5$ ,  $i = 0,05 \pm 0,02$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 0$ ,  $p = 1$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-O-$ , GpC répond à la formule IVd dans

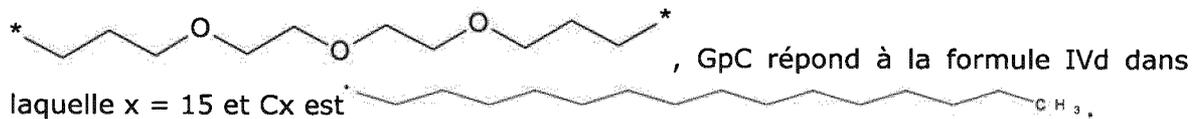


[000251] Les valeurs de degré de polymérisation DP et de ratio  $i$  sont estimées par RMN  $^1H$  dans  $D_2O$  en comparant l'intégration des signaux provenant des groupes hydrophobes à celle des signaux provenant de la chaîne principale du co-polyaminoacide.

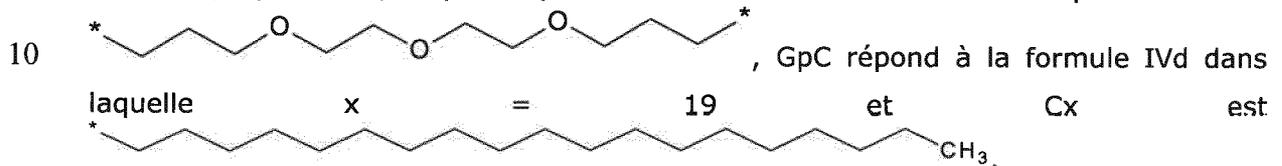
[000252] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIa, dans laquelle  $DP = 25 \pm 5$ ,  $i = 0,07 \pm 0,02$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 0$ ,  $p = 1$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est

30

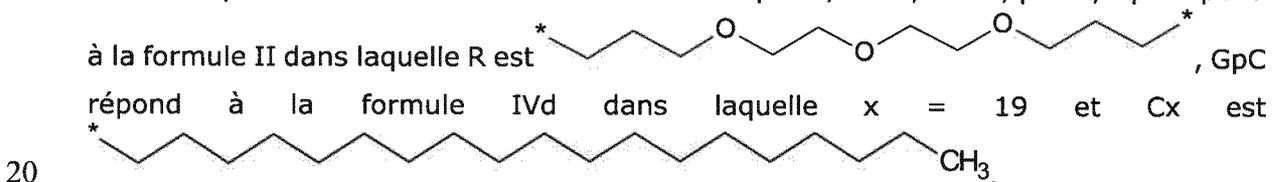
42



5 [000253] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIa, dans laquelle  $DP = 23 \pm 5$ ,  $i = 0,05 \pm 0,02$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 0$ ,  $p = 1$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est



15 [000254] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIb, dans laquelle  $DP = 25 \pm 5$ ,  $0,033 \leq i \leq 0,05$  et le radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 0$ ,  $p = 1$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est

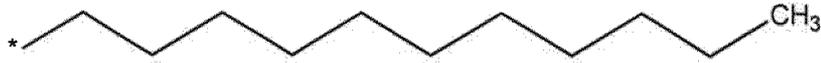


25 [000255] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIa, dans laquelle  $DP = 22 \pm 5$ ,  $i = 0,05 \pm 0,02$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 11$  et Cx est



30 [000256] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIa, dans laquelle  $DP = 35 \pm 5$ ,  $i = 0,05 \pm 0,02$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II et dans laquelle R est -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, GpA répond

à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 11$  et Cx est



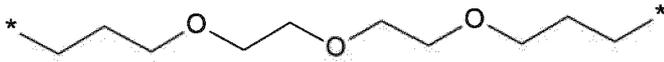
[000257] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges  
 5 carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou  
 VIIa, dans laquelle  $DP = 65 \pm 5$ ,  $i = 0,05 \pm 0,02$  et le au moins un radical  
 hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , GpA répond à  
 la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 11$  et Cx est



10 [000258] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges  
 carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou  
 VIIa, dans laquelle  $DP = 22 \pm 5$ ,  $i = 0,04 \pm 0,02$  et le au moins un radical  
 hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , GpA répond à  
 15 la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



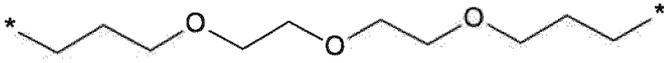
[000259] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges  
 carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou  
 VIIa, dans laquelle  $DP = 22 \pm 5$ ,  $i = 0,03 \pm 0,01$  et le au moins un radical  
 20 hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est



, GpA répond à la formule IIIb, GpC  
 répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



25 [000260] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges  
 carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou  
 VIIa, dans laquelle  $DP = 22 \pm 5$ ,  $i = 0,07 \pm 0,02$  et le au moins un radical  
 hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est



30 , GpA répond à la formule IIIb, GpC  
 répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 9$  et Cx est



[000261] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIb, dans laquelle  $DP = 27 \pm 5$ ,  $0,031 \leq i \leq 0,045$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 5  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 11$  et Cx est



[000262] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIb, dans laquelle  $DP = 22 \pm 5$ ,  $0,037 \leq i \leq 0,055$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 10  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



[000263] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIb, dans laquelle  $DP = 22 \pm 5$ ,  $0,037 \leq i \leq 0,055$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 15  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est

20  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



[000264] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIb, dans laquelle  $DP = 60 \pm 10$ ,  $0,014 \leq i \leq 0,02$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 25  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , GpA répond à la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



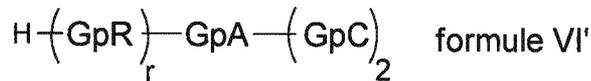
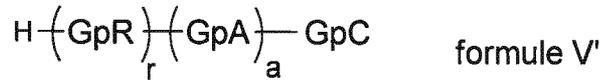
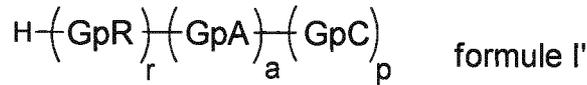
[000265] Dans un mode de réalisation, le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est un co-polyaminoacide de formule VII ou VIIb, dans laquelle  $DP = 40 \pm 5$ ,  $0,022 \leq i \leq 0,029$  et le au moins un radical hydrophobe de formule I est choisi parmi les radicaux de formule I dans laquelle,  $r = 1$ ,  
 30  $a = 1$ ,  $p = 2$ , GpR répond à la formule II dans laquelle R est  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ , GpA répond à

la formule IIIb, GpC répond à la formule IVd dans laquelle  $x = 13$  et Cx est



[000266] L'invention concerne également lesdits co-polyaminoacides porteurs de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes de formule I, V ou VI.

[000267] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne aussi les précurseurs desdits radicaux hydrophobes de formule I', V' et VI' :



10

GpR, GpA, GpC, r, a, p ont les définitions données précédemment.

[000268] L'invention concerne en outre en une méthode de préparation de compositions injectables stables.

15 [000269] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation.

[000270] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation par ouverture de cycle d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique ou d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide aspartique.

[000271] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique ou d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide aspartique comme décrit dans l'article de revue Adv. Polym. Sci. 2006, 202, 1-18 (Deming, T.J.).

25

[000272] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique.

5 [000273] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique choisi dans le groupe constitué par le N-carboxyanhydride poly-glutamate de méthyle (GluOMe-NCA), le N-carboxyanhydride poly-glutamate de benzyle (GluOBzl-NCA) et le N-carboxyanhydride poly glutamate de t-butyle (GluOtBu-NCA).

10 [000274] Dans un mode de réalisation, le dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique est le N-carboxyanhydride poly-L-glutamate de méthyle (L-GluOMe-NCA).

[000275] Dans un mode de réalisation, le dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique est le N-carboxyanhydride poly-L-glutamate de benzyle (L-GluOBzl-NCA).

15 [000276] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique ou d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide aspartique en utilisant comme initiateur un complexe organométallique d'un métal de transition comme décrit dans la publication Nature 1997, 390, 386-389 (Deming, T.J.).

20 [000277] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique ou d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide aspartique en utilisant comme initiateur l'ammoniaque ou une amine primaire comme décrit dans le brevet FR 2,801,226 (Touraud, F. ; et al.) et  
25 les références citées par ce brevet.

[000278] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par polymérisation d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique ou d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide aspartique en utilisant comme initiateur  
30 l'hexaméthylidisilazane comme décrit dans la publication J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 14114-14115 (Lu H. ; et al.) ou une amine silylée comme décrit dans la publication J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 12562-12563 (Lu H. ; et al.).

[000279] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le procédé de synthèse du polyaminoacide obtenu par  
35 polymérisation d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide glutamique ou d'un dérivé de N-carboxyanhydride d'acide aspartique dont est issu le co-polyaminoacide comprend une étape d'hydrolyse de fonctions ester.

[000280] Dans un mode de réalisation, cette étape d'hydrolyse de fonctions ester peut consister en une hydrolyse en milieu acide ou une hydrolyse en milieu basique ou être effectuée par hydrogénation.

5 [000281] Dans un mode de réalisation, cette étape d'hydrolyse de groupements ester est une hydrolyse en milieu acide.

[000282] Dans un mode de réalisation, cette étape d'hydrolyse de groupements ester est effectuée par hydrogénation.

10 [000283] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par dépolymérisation d'un polyaminoacide de plus haut poids moléculaire.

[000284] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par dépolymérisation enzymatique d'un polyaminoacide de plus haut poids moléculaire.

15 [000285] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par dépolymérisation chimique d'un polyaminoacide de plus haut poids moléculaire.

20 [000286] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par dépolymérisation enzymatique et chimique d'un polyaminoacide de plus haut poids moléculaire.

[000287] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par dépolymérisation d'un polyaminoacide de plus haut poids moléculaire choisi dans le groupe constitué par le polyglutamate de sodium et le polyaspartate de sodium.

25 [000288] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par dépolymérisation d'un polyglutamate de sodium de plus haut poids moléculaire.

30 [000289] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est issu d'un polyaminoacide obtenu par dépolymérisation d'un polyaspartate de sodium de plus haut poids moléculaire.

[000290] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est obtenu par greffage d'un groupe hydrophobe sur un poly-L-glutamique acide ou poly-L-aspartique acide en utilisant les procédés de formation de liaison amide bien connus de l'homme de l'art.

35 [000291] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est obtenu par greffage d'un groupe hydrophobe sur un poly-L-glutamique acide ou poly-L-aspartique acide en utilisant les procédés de formation de liaison amide utilisés pour la synthèse peptidique.

[000292] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention est caractérisée en ce que le co-polyaminoacide est obtenu par greffage d'un groupe hydrophobe sur un poly-L-glutamique acide ou poly-L-aspartique acide comme décrit dans le brevet FR 2,840,614 (Chan, Y.P. ; et al.).

5

[000293] Dans la suite, les unités utilisées sont pour les insulines celles recommandées par les pharmacopées dont les correspondances en mg/ml sont données dans le tableau ci-après :

<b>Insuline</b>	<b>Pharmacopée EP 8.0 (2014)</b>	<b>Pharmacopée US - USP38 (2015)</b>
Aspart	1U = 0,0350 mg d'insuline aspart	1 USP = 0,0350 mg d'insuline aspart
Lispro	1U = 0,0347 mg d'insuline lispro	1 USP = 0,0347 mg d'insuline lispro
Humaine	1UI = 0,0347 mg d'insuline humaine	1 USP = 0,0347 mg d'insuline humaine
Glargine	1U = 0,0364 mg d'insuline glargine	1 USP = 0,0364 mg d'insuline glargine
Porcine	1UI = 0,0345 mg d'insuline porcine	1 USP = 0,0345 mg d'insuline porcine
Bovine	1UI = 0,0342 mg d'insuline bovine	1 USP = 0,0342 mg d'insuline bovine

10

[000294] On entend par insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 une insuline insoluble à pH 7 et dont la durée d'action est comprise entre 8 et 24 heures ou supérieure dans les modèles standards de diabète.

[000295] Ces insulines basales dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 sont des insulines recombinantes dont la structure primaire a été modifiée principalement par introduction d'acides aminés basiques comme l'Arginine ou la Lysine. Elles sont décrites par exemple dans les brevets, demandes de brevets ou publications suivants WO 2003/053339, WO 2004/096854, US 5,656,722 et US 6,100,376 dont le contenu est incorporé par référence.

[000296] Dans un mode de réalisation, l'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 est l'insuline glargine. L'insuline glargine est commercialisée sous la marque Lantus® (100 U/ml) ou Toujeo® (300 U/ml) par SANOFI.

[000297] Dans un mode de réalisation, l'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 est une insuline glargine biosimilaire.

[000298] Une insuline glargine biosimilaire est en voie de commercialisation sous la marque Abasaglar® ou Basaglar® par ELI LILLY.

25

- [000299] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent entre 40 et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- 5 [000300] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 40 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000301] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 100 U/mL (soit environ 3,6 mg/mL) d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- 10 [000302] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 150 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000303] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 200 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre
- 15 5,8 et 8,5.
- [000304] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 225 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000305] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 250 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre
- 20 5,8 et 8,5.
- [000306] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 300 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- 25 [000307] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 400 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000308] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre
- 30 5,8 et 8,5.
- [000309] Dans un mode de réalisation, le ratio massique entre l'insuline basale, dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, et le co-polyaminoacide, soit co-polyaminoacide /insuline basale, est compris entre 0,2 et 8.
- [000310] Dans un mode de réalisation, le ratio massique est compris entre 0,2 et 6.
- 35 [000311] Dans un mode de réalisation, le ratio massique est compris entre 0,2 et 5.
- [000312] Dans un mode de réalisation, le ratio massique est compris entre 0,2 et 4.
- [000313] Dans un mode de réalisation, le ratio massique est compris entre 0,2 et 3.
- [000314] Dans un mode de réalisation, le ratio massique est compris entre 0,2 et 2.

- [000315] Dans un mode de réalisation, le ratio massique est compris entre 0,2 et 1.
- [000316] Dans un mode de réalisation, la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 60 mg/mL.
- 5 [000317] Dans un mode de réalisation, la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 40 mg/mL.
- [000318] Dans un mode de réalisation, la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 20 mg/mL.
- [000319] Dans un mode de réalisation, la concentration en co-polyaminoacide  
10 porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 10 mg/mL.
- [000320] Dans un mode de réalisation, la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus 5 mg/ml.
- [000321] Dans un mode de réalisation, la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus 2,5 mg/ml.
- 15 [000322] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent une insuline prandiale. Les insulines prandiales sont solubles à pH 7.
- [000323] On entend par insuline prandiale une insuline dite rapide ou « regular ».
- [000324] Les insulines prandiales dites rapides sont des insulines qui doivent  
20 répondre aux besoins provoqués par l'ingestion des protéines et des glucides durant un repas, elles doivent agir en moins de 30 minutes.
- [000325] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale dite « regular » est de l'insuline humaine.
- [000326] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est une insuline humaine  
25 recombinante telle que décrite dans la Pharmacopée Européenne et la Pharmacopée américaine.
- [000327] L'insuline humaine est par exemple commercialisée sous les marques Humulin® (ELI LILLY) et Novolin® (NOVO NORDISK).
- 30 [000328] Les insulines prandiales dites très rapides (fast acting) sont des insulines qui sont obtenues par recombinaison et dont la structure primaire a été modifiée pour diminuer leur temps d'action.
- [000329] Dans un mode de réalisation, les insulines prandiales dites très rapides (fast acting) sont choisies dans le groupe comprenant l'insuline lispro (Humalog®), l'insuline  
35 glulisine (Apidra®) et l'insuline aspart (NovoLog®).
- [000330] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est l'insuline lispro.
- [000331] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est l'insuline glulisine.
- [000332] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est l'insuline aspart.

- [000333] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent au total entre 60 et 800 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000334] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention  
5 comprennent au total entre 100 et 500 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000335] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent au total 800 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000336] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention  
10 comprennent au total 700 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000337] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent au total 600 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et  
15 d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000338] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent au total 500 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000339] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention  
20 comprennent au total 400 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000340] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent au total 300 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000341] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention  
25 comprennent au total 266 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000342] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent au total 200 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et  
30 d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000343] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent au total 100 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- [000344] Les proportions entre l'insuline basale dont le point isoélectrique est  
35 compris entre 5,8 et 8,5 et l'insuline prandiale sont par exemple en pourcentage de 25/75, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 63/37, 70/30, 75/25, 80/20, 83/17, 90/10 pour

des formulations telles que décrites ci-dessus comprenant de 60 à 800 U/mL. Cependant toute autre proportion peut être réalisée.

5 [000345] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent une hormone gastrointestinale.

[000346] On entend par « hormones gastrointestinales », les hormones choisies dans le groupe constitué par le GLP-1 RA (Glucagon like peptide-1 receptor agonist) et le GIP (Glucose-dependent insulintropic peptide), l'oxyntomoduline (un dérivé du proglucagon), le peptide YY, l'amyline, la cholecystokinine, le polypeptide pancréatique  
10 (PP), la ghreline et l'entérostatine, leurs analogues ou dérivés et/ou leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

[000347] Dans un mode de réalisation, les hormones gastro-intestinales sont des analogues ou dérivés de GLP-1 RA choisis dans le groupe constitué par l'exenatide ou Byetta®(ASTRA-ZENECA) , le liraglutide ou Victoza® (NOVO NORDISK), le lixisenatide  
15 ou Lyxumia® (SANOFI), l'albiglutide ou Tanzeum® (GSK) ou le dulaglutide ou Trulicity® (ELI LILLY & CO), leurs analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

[000348] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastro-intestinale est le pramlintide ou Symlin® ®(ASTRA-ZENECA).

20 [000349] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est l'exenatide ou Byetta®, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

[000350] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est le liraglutide ou Victoza®, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

[000351] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est le lixisenatide  
25 ou Lyxumia®, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

[000352] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est l'albiglutide ou Tanzeum®, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

[000353] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est le dulaglutide ou Trulicity®, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

30 [000354] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est le pramlintide ou Symlin®, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

[000355] On entend par « analogue », lorsqu'il est utilisé par référence à un peptide ou une protéine, un peptide ou une protéine, dans lequel un ou plusieurs résidus d'acides  
35 aminés constitutifs ont été substitués par d'autres résidus d'acides aminés et/ou dans lequel un ou plusieurs résidus d'acides aminés constitutifs ont été supprimés et/ou dans lequel un ou plusieurs résidus d'acides aminés constitutifs ont été ajoutés. Le pourcentage d'homologie admis pour la présente définition d'un analogue est de 50%.

- [000356] On entend par « dérivé », lorsqu'il est utilisé par référence à un peptide ou une protéine, un peptide ou une protéine ou un analogue chimiquement modifié par un substituant qui n'est pas présent dans le peptide ou la protéine ou l'analogue de référence, c'est-à-dire un peptide ou une protéine qui a été modifié par création de liaisons covalentes, pour introduire des substituants.
- [000357] Dans un mode de réalisation, le substituant est choisi dans le groupe constitué des chaînes grasses.
- [000358] Dans un mode de réalisation, la concentration en hormone gastrointestinale est comprise dans un intervalle de 0,01 à 100 mg/mL.
- 10 [000359] Dans un mode de réalisation, la concentration en exenatide, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables est comprise dans un intervalle de 0,04 à 0,5 mg/ml .
- [000360] Dans un mode de réalisation, la concentration en liraglutide, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables est comprise dans un intervalle de 1 à 10 mg/mL.
- 15 [000361] Dans un mode de réalisation, la concentration en lixisenatide, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables est comprise dans un intervalle de 0,01 à 1 mg/mL.
- [000362] Dans un mode de réalisation, la concentration en albiglutide, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables est comprise entre 5 à 100 mg/mL.
- 20 [000363] Dans un mode de réalisation, la concentration en dulaglutide, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables est comprise entre 0,1 à 10 mg/mL.
- 25 [000364] Dans un mode de réalisation, la concentration en pramlintide, ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables est comprise entre 0,1 à 5 mg/mL.
- [000365] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention sont réalisées par mélange de solutions commerciales d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et de solutions commerciales de GLP-1 RA, d'analogue ou de dérivé de GLP-1 RA en ratios volumiques compris dans un intervalle de 10/90 à 90/10.
- 30 [000366] Dans un mode de réalisation, la composition selon l'invention comprend une dose journalière d'insuline basale et une dose journalière d'hormone gastro-intestinale.
- 35

- [000367] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, entre 0,05 et 0,5 mg/mL d'exenatide.
- 5 [000368] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- [000369] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- 10 [000370] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.
- [000371] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10 mg/mL de dulaglutide.
- 15 [000372] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,04 à 0,5 mg/mL d'exenatide.
- [000373] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- 20 [000374] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- 25 [000375] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.
- [000376] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10 mg/mL de dulaglutide.
- 30 [000377] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 400 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,04 à 0,5 mg/mL d'exenatide.
- [000378] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 400 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- 35

- [000379] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 400 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- 5 [000380] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 400 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.
- [000381] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 400 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10 mg/mL de dulaglutide.
- 10 [000382] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 300 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,04 à 0,5 mg/mL d'exenatide.
- [000383] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 300 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre
- 15 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- [000384] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 300 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- [000385] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention
- 20 comprennent 300 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.
- [000386] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 300 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10 mg/mL de dulaglutide.
- 25 [000387] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 225 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,04 à 0,5 mg/mL d'exenatide.
- [000388] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 225 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre
- 30 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- [000389] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 225 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- [000390] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention
- 35 comprennent 225 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.

- [000391] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 225 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10mg/mL de dulaglutide.
- 5 [000392] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 200 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,04 à 0,5 mg/mL d'exenatide.
- [000393] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 200 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- 10 [000394] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 200 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- [000395] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 200 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre
- 15 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.
- [000396] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 200 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10 mg/mL de dulaglutide.
- [000397] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention
- 20 comprennent 100 U/mL (soit environ 3,6 mg/mL) d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,04 à 0,5 mg/mL d'exenatide.
- [000398] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 100 U/mL (soit environ 3,6 mg/mL) d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- 25 [000399] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 100 U/mL (soit environ 3,6 mg/mL) d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- [000400] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 100 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre
- 30 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.
- [000401] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 100 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10 mg/mL de dulaglutide.
- [000402] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention
- 35 comprennent 40 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,04 à 0,5 mg/mL d'exenatide.

[000403] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 40 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.

5 [000404] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 40 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.

[000405] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 40 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 5 à 100 mg/mL d'albiglutide.

10 [000406] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent 40 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et, de 0,1 à 10 mg/mL de dulaglutide.

[000407] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 0 et  
15 5000  $\mu\text{M}$ .

[000408] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 0 et 4000  $\mu\text{M}$ .

[000409] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 0 et  
20 3000  $\mu\text{M}$ .

[000410] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 0 et 2000  $\mu\text{M}$ .

25 [000411] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 0 et 1000  $\mu\text{M}$ .

[000412] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 50 et  
30 600  $\mu\text{M}$ .

[000413] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 100 et 500  $\mu\text{M}$ .

[000414] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des sels de zinc à une concentration comprise entre 200 et  
35 500  $\mu\text{M}$ .

[000415] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des tampons.

- [000416] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent des tampons à des concentrations comprises entre 0 et 100 mM.
- [000417] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent des tampons à des concentrations comprises entre 15 et 50 mM.
- 5 [000418] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent un tampon choisi dans le groupe constitué par un tampon phosphate, le Tris (trishydroxyméthylaminométhane) et le citrate de sodium.
- [000419] Dans un mode de réalisation, le tampon est le phosphate de sodium.
- [000420] Dans un mode de réalisation, le tampon est le Tris
- 10 (trishydroxyméthylaminométhane).
- [000421] Dans un mode de réalisation, le tampon est le citrate de sodium.
- [000422] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre des conservateurs.
- [000423] Dans un mode de réalisation, les conservateurs sont choisis dans le groupe
- 15 constitué par le m-crésol et le phénol, seuls ou en mélange.
- [000424] Dans un mode de réalisation, la concentration des conservateurs est comprise entre 10 et 50 mM.
- [000425] Dans un mode de réalisation, la concentration des conservateurs est comprise entre 10 et 40 mM.
- 20 [000426] Dans un mode de réalisation, les compositions selon l'invention comprennent en outre un tensioactif.
- [000427] Dans un mode de réalisation, le tensioactif est choisi dans le groupe constitué par le propylène glycol et le polysorbate.
- [000428] Les compositions selon l'invention peuvent en outre comprendre des
- 25 additifs tels que des agents de tonicité.
- [000429] Dans un mode de réalisation, les agents de tonicité sont choisis dans le groupe constitué par la glycérine, le chlorure de sodium, le mannitol et la glycine.
- [000430] Les compositions selon l'invention peuvent comprendre en outre tous les excipients conformes aux pharmacopées et compatibles avec les insulines utilisées aux
- 30 concentrations d'usage.
- [000431] L'invention concerne également une formulation pharmaceutique selon l'invention, caractérisée en ce qu'elle est obtenue par séchage et/ou lyophilisation.
- [000432] Dans le cas des libérations locale et systémique, les modes d'administration envisagés sont par voie intraveineuse, sous-cutanée, intradermique ou intramusculaire.
- 35 [000433] Les voies d'administration transdermique, orale, nasale, vaginale, oculaire, buccale, pulmonaire sont également envisagées.

[000434] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,0 et 8,0 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une insuline prandiale.

5 [000435] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,0 et 8,0 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une hormone gastrointestinale, telle que définie précédemment.

[000436] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,0 et 8,0 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 , une insuline prandiale et une hormone gastrointestinale, telle que  
10 définie précédemment.

[000437] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,6 et 7,8 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une insuline prandiale.

15 [000438] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,6 et 7,8 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une hormone gastrointestinale, telle que définie précédemment.

[000439] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,6 et 7,8 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 , une insuline prandiale et une hormone gastrointestinale, telle que  
20 définie précédemment.

[000440] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,6 et 7,6 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une insuline prandiale.

25 [000441] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,6 et 7,6 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une hormone gastrointestinale, telle que définie précédemment.

[000442] L'invention concerne également des formulations unidoses à pH compris entre 6,6 et 7,6 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 , une insuline prandiale et une hormone gastrointestinale, telle que  
30 définie précédemment.

[000443] Dans un mode de réalisation, les formulations unidoses comprennent en outre un co-polyaminoacide tel que défini précédemment.

[000444] Dans un mode de réalisation, les formulations sont sous forme d'une solution injectable.

35 [000445] Dans un mode de réalisation, l'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 est l'insuline glargine.

[000446] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est l'insuline humaine.

- [000447] Dans un mode de réalisation, l'insuline est une insuline humaine recombinante telle que décrite dans la Pharmacopée Européenne et la Pharmacopée américaine.
- 5 [000448] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est choisie dans le groupe comprenant l'insuline lispro (Humalog®), l'insuline glulisine (Apidra®) et l'insuline aspart (NovoLog®).
- [000449] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est l'insuline lispro.
- [000450] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est l'insuline glulisine.
- 10 [000451] Dans un mode de réalisation, l'insuline prandiale est l'insuline aspart.
- [000452] Dans un mode de réalisation, le GLP-1 RA, analogue ou dérivé de GLP-1 RA est choisi dans le groupe comprenant exenatide (Byetta®), liraglutide (Victoza®), lixisenatide (Lyxumia®), albiglutide (Tanzeum®), dulaglutide (Trulicity®) ou l'un de leurs dérivés.
- 15 [000453] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est l'exenatide.
- [000454] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est le liraglutide.
- [000455] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est le lixisenatide.
- [000456] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est l'albiglutide.
- [000457] Dans un mode de réalisation, l'hormone gastrointestinale est le dulaglutide.
- 20 [000458] La solubilisation à pH compris entre 6,0 et 8,0 des insulines basales dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, par les co-polyaminoacides porteurs de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention, peut être constatée et contrôlée de manière simple, à l'œil nu, grâce à un changement d'aspect de la solution.
- 25 [000459] La solubilisation à pH compris entre 6,6 et 7,8 des insulines basales dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, par les co-polyaminoacides porteurs de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention, peut être constatée et contrôlée de manière simple, à l'œil nu, grâce à un changement d'aspect de la solution.
- 30 [000460] Par ailleurs et de façon toute aussi importante, la demanderesse a pu vérifier qu'une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, solubilisée à pH compris entre 6,0 et 8,0 en présence d'un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention conserve son action d'insuline lente que ce soit seule ou en combinaison avec une insuline
- 35 prandiale ou une hormone gastrointestinale.
- [000461] La demanderesse a également pu vérifier qu'une insuline prandiale mélangée à pH compris entre 6,0 et 8,0 en présence d'un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention et d'une

insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, conserve son action d'insuline rapide.

[000462] La préparation d'une composition selon l'invention présente l'avantage de pouvoir être réalisée par simple mélange d'une solution aqueuse d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, et d'un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention, en solution aqueuse ou sous forme lyophilisée. Si nécessaire, le pH de la préparation est ajusté à pH compris entre 6 et 8.

[000463] La préparation d'une composition selon l'invention présente l'avantage de pouvoir être réalisée par simple mélange d'une solution aqueuse d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, d'une solution d'insuline prandiale, et d'un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention, en solution aqueuse ou sous forme lyophilisée. Si nécessaire, le pH de la préparation est ajusté à pH compris entre 6 et 8.

[000464] La préparation d'une composition selon l'invention présente l'avantage de pouvoir être réalisée par simple mélange d'une solution aqueuse d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, d'une solution de GLP-1 RA, un analogue ou un dérivé de GLP-1 RA, et d'un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention, en solution aqueuse ou sous forme lyophilisée. Si nécessaire, le pH de la préparation est ajusté à pH compris entre 6 et 8.

[000465] La préparation d'une composition selon l'invention présente l'avantage de pouvoir être réalisée par simple mélange d'une solution aqueuse d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, d'une solution d'insuline prandiale, d'une solution de GLP-1 RA ou d'un analogue ou dérivé de GLP-1 RA et d'un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe selon l'invention, en solution aqueuse ou sous forme lyophilisée. Si nécessaire, le pH de la préparation est ajusté à pH compris entre 6 et 8.

[000466] Dans un mode de réalisation, le mélange d'insuline basale et de co-polyaminoacide est concentré par ultrafiltration avant le mélange avec l'insuline prandiale en solution aqueuse ou sous forme lyophilisée.

[000467] Si nécessaire, la composition du mélange est ajustée en excipients tels que glycérine, m-crésol, chlorure de zinc, et polysorbate (Tween®) par ajout de solutions concentrées de ces excipients au sein du mélange. Si nécessaire, le pH de la préparation est ajusté à pH compris entre 6 et 8.

[000468] Figure 1 : Courbes moyennes de déviation du niveau basal d'insuline  $\pm$  erreur standard de la moyenne pour les administrations simultanées d'insuline lispro

(Humalog®) (100 U/mL, 0,20 IU/kg) (cercles pleins) et d'insuline glargine (Lantus®) (100 U/mL, 0,60 U/kg) en comparaison avec l'administration d'une composition selon l'invention décrite dans l'exemple CB3j (266 U/mL, 0,8 U/kg) (carrés vides) ; les administrations ayant été réalisées sur le chien (n=10), par injection sous-cutanée. (en abscisses le temps post-injection et en ordonnées la concentration delta en insuline en pmol/l)

[000469] Figure 2 : Courbes moyennes de glycémie  $\pm$  erreur standard de la moyenne pour les administrations simultanées d'insuline lispro (Humalog®) (100 U/mL, 0,20 IU/kg) et d'insuline glargine (Lantus®) (100 U/mL, 0,60 U/kg) (cercles pleins) en comparaison avec l'administration d'une composition selon l'invention décrite dans l'exemple CB3j (266 U/mL, 0,8 U/kg) (carrés vides) ; les administrations ayant été réalisées sur le chien (n=10), par injection sous-cutanée. (en abscisses le temps post-injection et en ordonnées le taux de glucose en pourcentage)

[000470] Figure 3 : Courbes moyennes de déviation du niveau basal d'insuline  $\pm$  erreur standard de la moyenne pour les administrations simultanées d'insuline lispro (Humalog®) (100 U/mL, 0,20 IU/kg) et d'insuline glargine (Lantus®) (100 U/mL, 0,60 U/kg) (cercles pleins) en comparaison avec l'administration d'une composition selon l'invention (carrés vides) décrite dans l'exemple CB3o (266 U/mL, 0,8 U/kg); les administrations ayant été réalisées sur le chien (n=10), par injection sous-cutanée. (en abscisses le temps post-injection et en ordonnées la concentration delta en insuline en pmol/l)

[000471] Figure 4 : Courbes moyennes de glycémie  $\pm$  erreur standard de la moyenne pour les administrations simultanées d'insuline lispro (Humalog®) (100 U/mL, 0,20 IU/kg) et d'insuline glargine (Lantus®) (100 U/mL, 0,60 U/kg) (cercles pleins) en comparaison avec l'administration d'une composition selon l'invention (carrés vides) décrite dans l'exemple CB3o (266 U/mL, 0,8 U/kg); les administrations ayant été réalisées sur le chien (n=10), par injection sous-cutanée. (en abscisses le temps post-injection et en ordonnées le taux de glucose en pourcentage)

[000472] Figure 5 : Courbes moyennes de déviation du niveau basal d'insuline  $\pm$  erreur standard de la moyenne après l'administration de la composition CB2a (266 U/ml, 0,67 U/kg d'insuline) (cercles pleins) et de la composition CB2c (266 U/ml, 0,67 U/kg d'insuline, 0,125  $\mu$ g/kg d'exenatide) (carrés vides); les administrations ayant été

réalisées sur le chien (n=10), par injection sous-cutanée. (en abscisses le temps post-injection et en ordonnées la concentration delta en insuline en pmol/l)

[000473] Figure 6 : Courbes moyennes de glycémie en pourcents de déviation du niveau basal  $\pm$  erreur standard de la moyenne après l'administration de la composition CB2a (266 U/ml, 0,67 U/kg d'insuline) (cercles pleins) et de la composition CB2c (266 U/ml, 0,67 U/kg d'insuline, 0,125  $\mu$ g/kg d'exenatide) (carrés vides); les administrations ayant été réalisées sur le chien (n=10), par injection sous-cutanée. (en abscisses le temps post-injection et en ordonnées le taux de glucose en pourcentage de déviation du niveau basal)

[000474] Figure 7 : Courbes moyennes de glycémie en pourcents de déviation du niveau basal  $\pm$  erreur standard de la moyenne après l'administration de la composition CB2c (266 U/ml, 1 U/kg d'insuline et 0,19  $\mu$ g/kg d'exenatide) (carrés vides) et des administrations séparées et simultanées d'insuline lispro (Humalog®) (100 U/mL, 0,25 U/kg), d'insuline glargine (Lantus®) (100 U/ml, 0,75 U/kg) et d'exenatide (Byetta®) (0,25 mg/ml, 0,19  $\mu$ g/kg) (cercles pleins); les administrations ayant été réalisées sur le chien (n=10), par injection sous-cutanée. (en abscisses le temps post-injection et en ordonnées le taux de glucose en pourcentage de déviation du niveau basal)

20

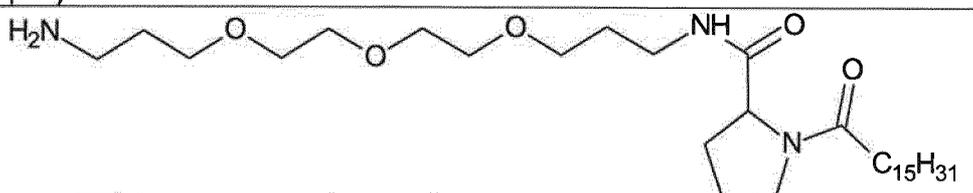
#### Exemples

[000475] L'invention est décrite plus en détails au travers des exemples suivants de manière non-limitative.

#### 25 Partie A

AA : Synthèse des molécules hydrophobes dans lesquelles  $p = 1$

[000476] Les radicaux sont représentés dans le tableau 1a suivant par la molécule hydrophobe correspondante avant greffage sur le co-polyaminoacide.

N°	Structure de la molécule hydrophobe avant greffage sur le co-polyaminoacide
AA4	

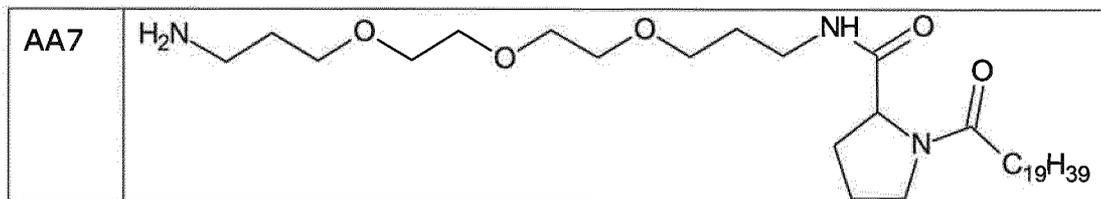


Tableau 1a : liste et structure des molécules hydrophobes synthétisées selon l'invention.

Exemple AA4 : molécule AA4

[000477] Molécule A1: produit obtenu par la réaction entre le chlorure de palmitoyle et la L-proline.

[000478] A une solution de L-proline (10,6 g, 92,1 mmol) dans une solution aqueuse de soude 1 N (230 mL ; 230 mmol) est ajoutée goutte à goutte pendant 90 minutes une solution de chlorure de palmitoyle (23,0 g, 83,7 mmol) dans l'acétone (167 mL). Après 14 h d'agitation à température ambiante, le mélange hétérogène est refroidi à 0°C, puis filtré sur fritté pour donner un solide blanc qui est lavé avec de l'eau (2 x 100 mL) puis du diisopropyléther (100 mL). Le solide est séché sous pression réduite. Le solide est alors dissous à reflux dans 200 mL d'eau puis 8 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 37% sont ajoutés pour obtenir un pH de 1. Le milieu réactionnel opalescent est alors refroidi à 0°C. Le précipité obtenu est filtré sur fritté puis lavé avec de l'eau (5 x 50 mL) jusqu'à obtenir des filtrats de pH neutre puis est ensuite séché à 50°C dans une étuve sous vide pendant une nuit. Le produit est purifié par recristallisation dans le diisopropyléther. Un solide blanc est obtenu.

[000479] Rendement : 22,7 g (77%).

[000480] RMN 1H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (3H) ; 1,19-1,45 (24H) ; 1,58-1,74 (2H) ; 1,88-2,14 (3H) ; 2,15-2,54 (3H) ; 3,47 (1H) ; 3,58 (1H) ; 4,41 (0,1H) ; 4,61 (0,9H) ; 6,60-8,60 (1H).

[000481] Molécule A2: produit obtenu par la réaction entre la molécule A1 et la Boc-1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridécane amine. A une solution de molécule A1 (4,5 g, 12,7 mmol) dans 90 mL de chloroforme sont ajoutés successivement à température ambiante de la N,N-diisopropyléthylamine (DIPEA) (4,1 g, 31,8 mmol), du 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) (2,2 g, 16,4 mmol) puis du N-(3-diméthylaminopropyl)-N'-éthylcarbodiimide (EDC) (3,2 g, 16,6 mmol). Après 15 minutes d'agitation à température ambiante, une solution de Boc-1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridécane amine (4,5 g, 14,0 mmol) dans 5 mL de chloroforme est additionnée. Après 18 h d'agitation à température ambiante, une solution de HCl 0,1 N (100 mL), puis une solution saturée de NaCl (50 mL) sont ajoutées. Les phases sont séparées puis la phase organique est lavée successivement avec une solution de HCl 0,1 N / NaCl saturée (100 mL/50 mL), une solution de NaCl saturée (100 mL), une solution de NaHCO<sub>3</sub> saturée (100 mL), puis une solution de NaCl saturée (100

mL). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Une huile jaune est obtenue après purification par chromatographie flash (méthanol, dichlorométhane).

[000482] Rendement : 7,7 g (92%).

5 [000483] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (3H) ; 1,22-1,37 (24H) ; 1,44 (9H) ; 1,59-1,67 (2H) ; 1,67-2,00 (6H) ; 2,06-2,45 (4H) ; 3,18-3,76 (18H) ; 4,28 (0,2H) ; 4,52 (0,8H) ; 4,69-5,04 (1H) ; 6,77 (0,2H) ; 7,20 (0,8H).

[000484] Molécule AA4

10 [000485] A une solution de molécule A2 (7,7 g, 11,8 mmol) dans 90 mL de dichlorométhane est ajoutée goutte à goutte et à 0°C une solution d'acide chlorhydrique 4 M dans le dioxane (29,5 mL, 118 mmol). Après 3h30 d'agitation à température ambiante, la solution est concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie flash (méthanol, dichlorométhane) pour donner une huile jaune. Une  
15 coévaporation avec du diisopropyléther et un séchage à 50°C sous vide permet d'obtenir la molécule AA4 sous forme de sel de chlorhydrate.

[000486] Rendement : 5,4 g (76%).

[000487] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (3H) ; 1,08-1,40 (24H) ; 1,49-1,65 (2H) ; 1,76-2,39 (10H) ; 3,07-3,28 (3H) ; 3,34-3,80 (15H) ; 4,34 (0,05H) ; 4,64 (0,95H) ;  
20 7,35 (0,05H) ; 7,66-8,58 (3,95H).

[000488] LC/MS (ESI) : 556,7 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 556,5).

Exemple AA7 : molécule AA7

[000489] Molécule A3 : produit obtenu par réaction entre l'acide arachidique et la L-proline.  
25

[000490] A une solution d'acide arachidique (15,51 g, 49,63 mmol) dans le THF (500 mL) à 0°C sont ajoutés successivement du dicyclohexyle carbodiimide (DCC) (10,45 g, 50,6mmol) et du N-hydroxysuccinimide (NHS) (5,83 g, 50,6 mmol). Après 17 h d'agitation à température ambiante, le milieu est refroidi à 0°C pendant 20 min, filtré  
30 sur fritté. De la L-proline (6 g, 52,11 mmol), de la DIPEA (60,5 mL) et de l'eau (50 mL) sont ajoutées au filtrat. Après 48 h d'agitation à température ambiante, le milieu est traité avec une solution aqueuse d'HCl 1N jusqu'à pH 1 et le solide résultant est filtré sur fritté, lavé à l'eau jusqu'à pH neutre des eaux-mères puis séché sous vide pour  
35 donner un solide jaunâtre. Après purification par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane, acétate d'éthyle), un solide blanc est obtenu.

[000491] Rendement : 10,96 g (54%).

[000492] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (3H) ; 1,28 (34H) ; 1,66 (2H) ; 1,95-2,15 (2H) ; 2,34 (2H) ; 2,45 (1H) ; 3,47 (1H) ; 3,56 (1H) ; 4,60 (1H).

[000493] LC/MS (ESI): 410,4 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 410,6).

[000494] Molécule A4 : produit obtenu par la réaction entre la molécule A3 et la Boc-1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridécano.

5 [000495] A une solution de molécule A3 (10,96 g, 26,75 mmol) dans du THF(135 mL) sont ajoutés de la DIPEA (9,32 mL) et du 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium tétrafluoroborate (TBTU) (9,45 g, 29,4 mmol) à température ambiante. Après 30 min d'agitation, de la Boc-1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridécano (10,29 g, 32,11 mmol) est ajoutée. Après agitation à température ambiante pendant  
10 18 h, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dilué avec de l'acétate d'éthyle (400 mL). La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO<sub>3</sub>, une solution aqueuse de HCl 1N, de l'eau, une solution aqueuse saturée en NaCl puis séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée sous vide. Le résidu est purifié par chromatographie flash (cyclohexane, acétate d'éthyle, méthanol) pour donner une huile  
15 incolore qui se solidifie. Un solide est obtenu.

[000496] Rendement : 14,2 g (75%).

[000497] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (3H) ; 1,24 (32H) ; 1,43 (9H) ; 1,57-2,00 (8H) ; 2,10-2,45 (4H) ; 3,20-3,75 (18H) ; 4,30 (0,20H) ; 4,55 (0,80H) ; 5,03 (1H) ; 6,75 (0,20H) ; 7,20 (0,80H).

20 [000498] LC/MS (ESI): 712,8 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 713,1).

#### Molécule AA7

[000499] A une solution de la molécule A4 (14,25 g, 20,01 mmol) dans le dichlorométhane (100 mL) à 0°C est ajoutée une solution de HCl 4N dans le dioxane  
25 (25 mL). Après 20 h d'agitation à 0°C et 4 h d'agitation à 25°C, le milieu est concentré sous vide. Par quatre fois, le résidu est repris dans le méthanol et évaporé sous pression réduite pour donner un solide blanc de molécule AA7 sous forme de sel de chlorhydrate.

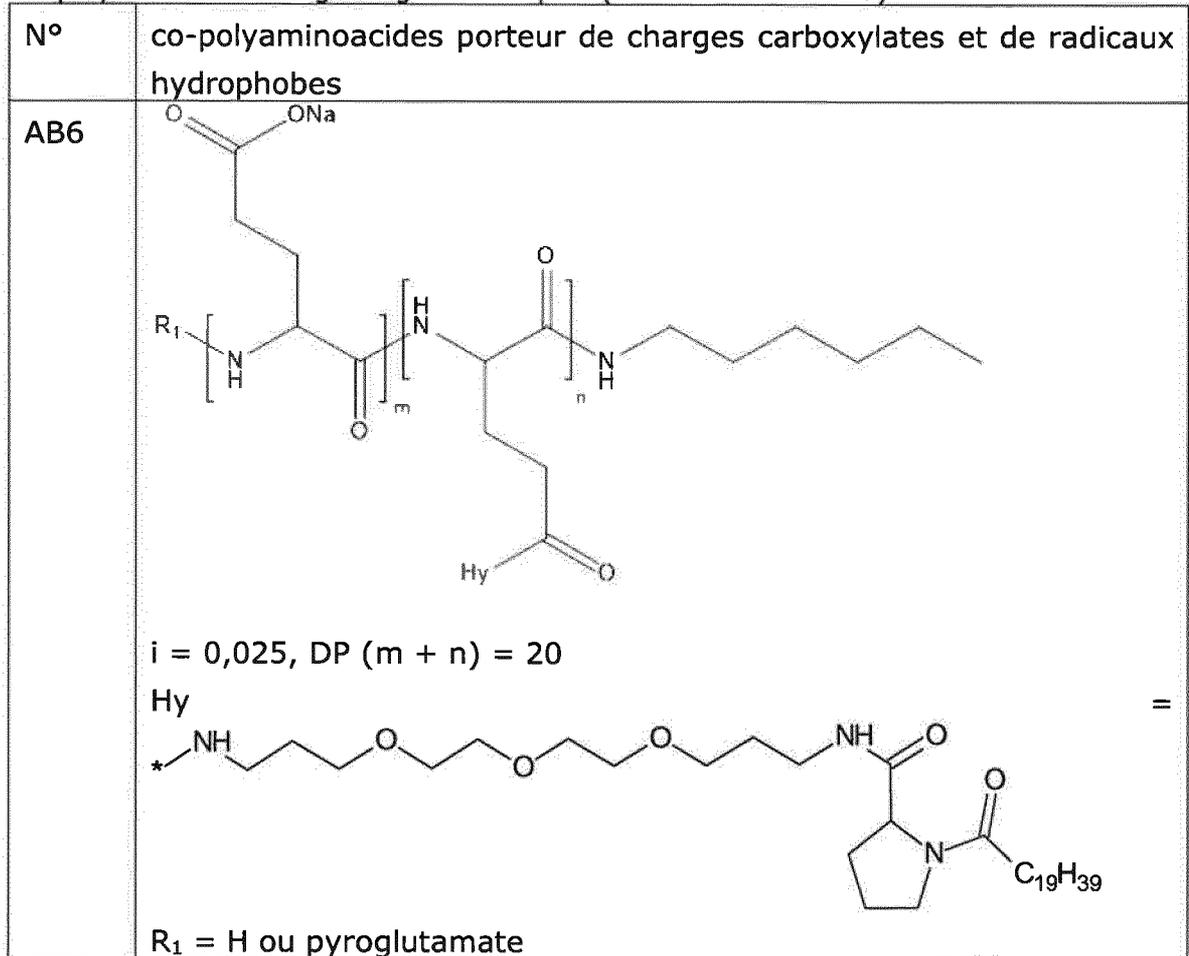
[000500] Rendement : 12,7 g (98%).

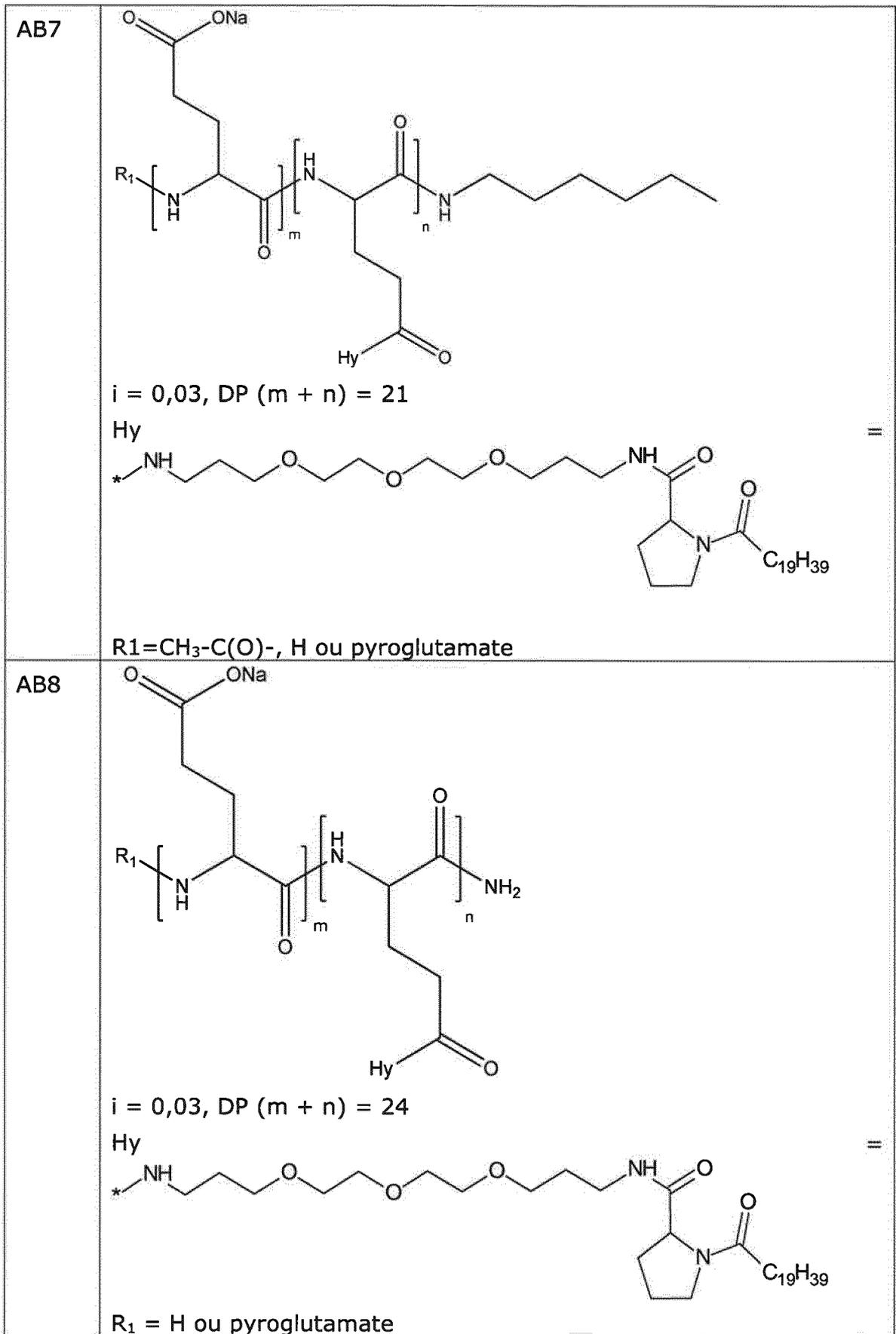
[000501] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (3H) ; 1,23 (32H) ; 1,45 (2H) ; 1,64 (2H)  
30 ; 1,70-2,05 (6H) ; 2,10-2,30 (2H) ; 2,82 (2H) ; 3,08 (2H) ; 3,30-3,60 (14H) ; 4,15-4,30 (1H) ; 7,73-8,13 (4H).

[000502] LC/MS (ESI): 612,7 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 612,9).

AB : Synthèse des co-polyaminoacides

Co-polyaminoacides à greffage statistique (formule VII ou VIIa)





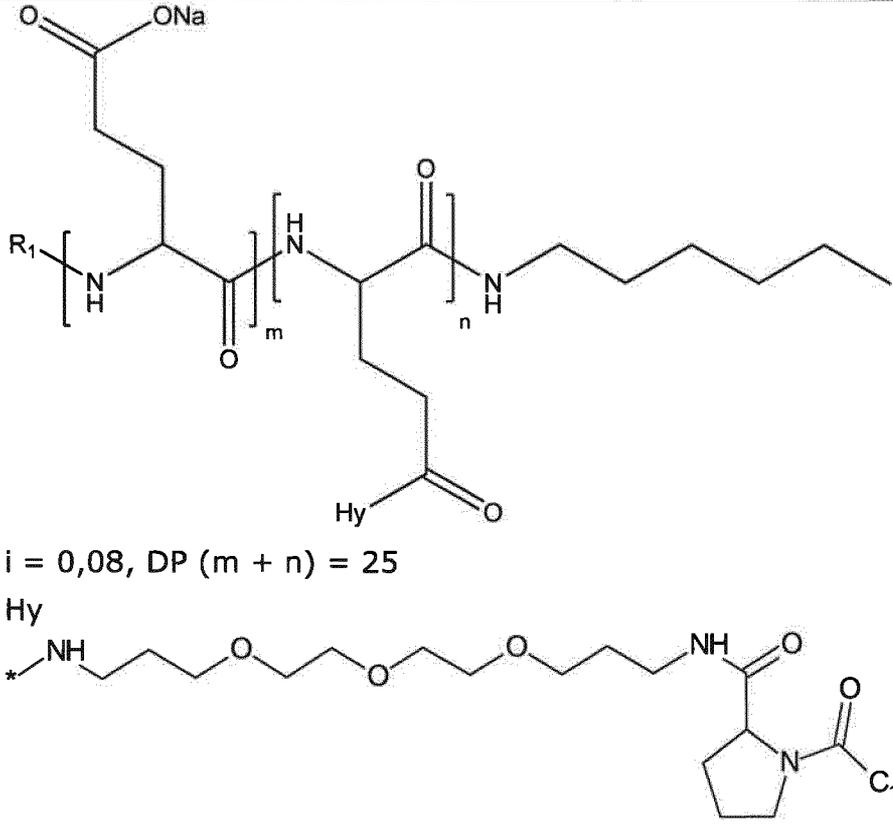
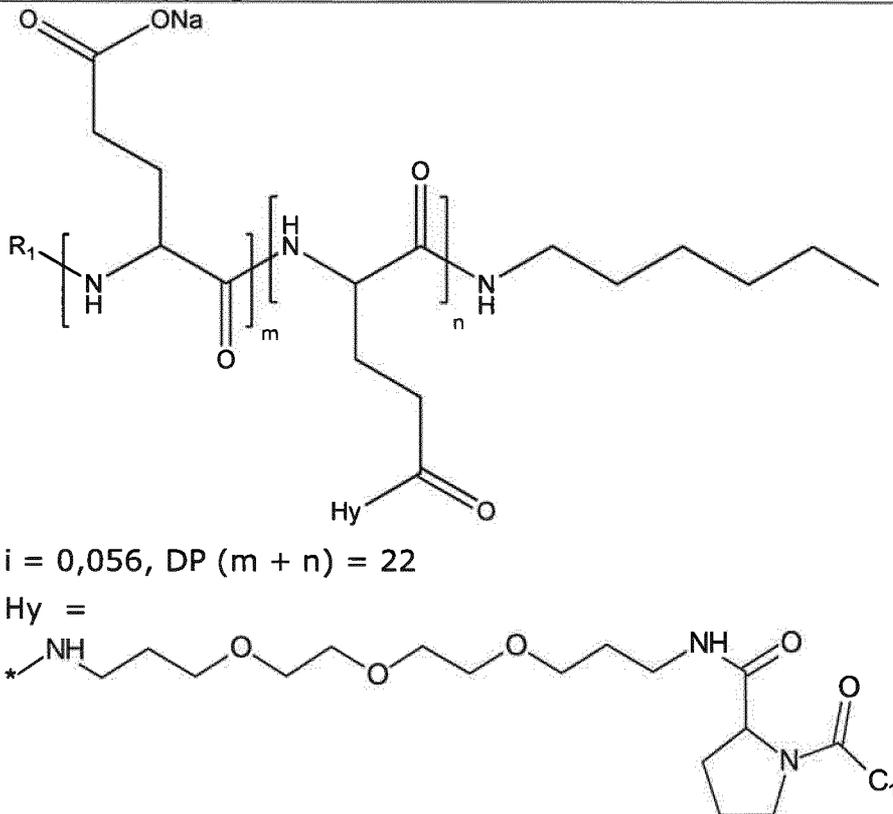
<p>AB10</p>	 <p><math>i = 0,08, DP (m + n) = 25</math></p> <p>Hy =</p> <p><math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>
<p>AB21</p>	 <p><math>i = 0,056, DP (m + n) = 22</math></p> <p>Hy =</p> <p><math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>

Tableau 1b: liste des co-polyaminoacides synthétisés selon l'invention

## Co-polyaminoacides à greffage défini (formule VII ou VIIb)

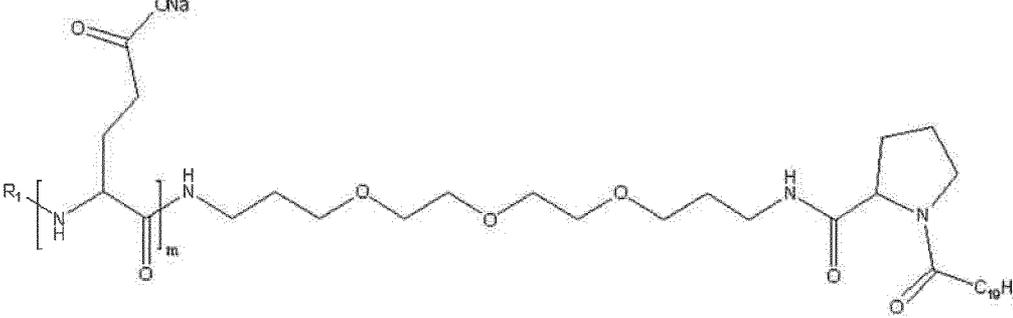
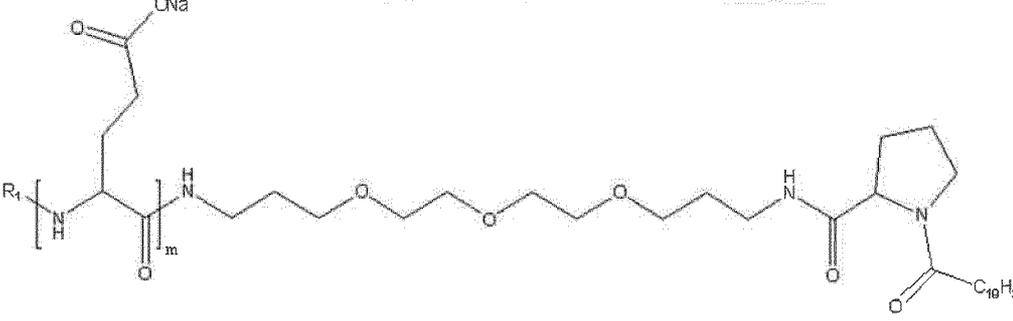
N°	co-polyaminoacides porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes
AB17	 <p data-bbox="391 761 766 840"><math>i = 0,038</math>, DP (m) = 26 <math>R_1 = \text{H}</math> ou pyroglutamate</p>
AB18	 <p data-bbox="391 1198 766 1265"><math>i = 0,045</math>, DP (m) = 22 <math>R_1 = \text{H}</math> ou pyroglutamate</p>

Tableau 1c : liste des co-polyaminoacides synthétisés selon l'invention.

- 5 Exemple AB6 : Co-polyaminoacide AB6 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA7 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 4000 g/mol [000503] Co-polyaminoacide AB6-1 : acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) relative 3500 g/mol issu de la polymérisation du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride initiée par l'hexylamine.
- 10 [000504] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve est placé sous vide du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride (89,9 g, 341 mmol) pendant 30 min, puis du DMF anhydre (200 mL) est introduit. Le mélange est alors agité sous argon jusqu'à complète dissolution, refroidi à 4°C, puis de l'hexylamine (2,05 mL, 15,5 mmol) est introduite rapidement. Le mélange est agité entre 4°C et température ambiante pendant
- 15 2 jours. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 65°C pendant 2 h, refroidi à température ambiante puis coulé goutte à goutte dans du diisopropyléther (3 L) sous agitation. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé avec du diisopropyléther (2

x 200 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamique) (PBLG).

[000505] A une solution de PBLG (74,8 g) dans l'acide trifluoroacétique (TFA, 340 mL) à 4°C est ajoutée goutte à goutte une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans l'acide acétique (240 mL, 1,37 mol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 h, puis coulé goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau sous agitation (4 L). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (340 mL) puis avec de l'eau (340 mL).

[000506] Le solide obtenu est alors solubilisé dans de l'eau (1,5 L) en ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Après solubilisation, la concentration théorique est ajustée à 20 g/L théorique par addition d'eau pour obtenir un volume final de 2,1 L.

[000507] La solution est filtrée sur filtre 0,45  $\mu$ m puis purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9%, puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50  $\mu$ S/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée jusqu'à obtenir un volume final de 1,8 L.

[000508] La solution aqueuse est alors acidifiée par ajout de solution d'acide chlorhydrique 37% jusqu'à atteindre un pH de 2. Après 4 h d'agitation, le précipité obtenu est filtré, lavé avec de l'eau (2 x 340 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) 3500 g/mol par rapport à un standard de polyoxyéthylène (PEG).

#### Co-polyaminoacide AB6

[000509] Le co-polyaminoacide AB6-1 de masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) 3500 g/mol (10,0 g) est solubilisé dans le DMF (420 mL) à 30°C-40°C puis maintenu à cette température. En parallèle, le sel de chlorhydrate de la molécule AA7 (1,47 g, 2,3 mmol) est mis en suspension dans du DMF (12 mL) et de la triéthylamine (0,23 g, 2,3 mmol) est ajoutée, puis le mélange est légèrement chauffé sous agitation jusqu'à complète dissolution. A la solution de co-polyaminoacide dans le DMF, de la NMM (7,6 g, 75 mmol), la solution de AA7 puis de la *N*-oxyde de 2-hydroxypyridine (HOPO, 0,84 g, 7,5 mmol) sont ajoutées successivement. Le milieu réactionnel est alors refroidi à 0°C, puis du EDC (1,44 g, 7,5 mmol) est ajouté et le milieu est remonté à température ambiante durant 2 h. Le milieu réactionnel est filtré sur filtre tissé 0,2 mm et coulé au goutte-à-goutte sur 3,5 L d'eau contenant du NaCl à 15% massique et du HCl (pH 2) sous agitation. A la fin de l'ajout, le pH est réajusté à 2 avec une solution de HCl 37%, et la suspension est laissée reposer une nuit. Le précipité est collecté par filtration, puis rincé par 100 mL d'eau. Le solide blanc obtenu est solubilisé dans 500 mL d'eau par

ajout lent d'une solution aqueuse de NaOH 1 N jusqu'à pH 7 sous agitation, puis la solution est filtrée sur filtre 0,45 µm. La solution limpide obtenue est purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau, jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. La solution est filtrée sur filtre  
5 0,2 µm et stockée à 2-8°C.

[000510] Extrait sec : 21,6 mg/g.

[000511] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 20.

[000512] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,025.

[000513] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide AB6 est de 3369  
10 g/mol.

[000514] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 4000 g/mol.

Exemple AB7 : Co-polyaminoacide AB7 - poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle par la molécule AA7 et ayant une masse  
15 molaire moyenne en nombre (Mn) de 3300 g/mol

[000515] Co-polyaminoacide AB7-1 : acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) relative 3600 g/mol et de DP 21 issu de la polymérisation du γ-benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride initiée par l'hexylamine et cappé à l'une de ses extrémités par un groupement acétyle.

[000516] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve est placé sous vide du γ-benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride (Glu(OBn)-NCA, 100,0 g, 380 mmol) pendant 30 minutes puis du DMF anhydre (225 mL) est introduit. Le mélange est alors agité sous argon jusqu'à complète dissolution, refroidi à 4°C, puis de l'hexylamine (1,78 g, 17 mmol) est introduite rapidement. Le mélange est agité entre 4°C et température  
25 ambiante pendant 2 jours puis précipité dans du diisopropyléther (3,4 L). Le précipité est récupéré par filtration, lavé deux fois avec du diisopropyléther (225 mL) puis séché pour donner un solide blanc qui est dissous dans 450 mL de THF. A cette solution sont ajoutés successivement de la DIPEA (31 mL, 176 mmol), puis de l'anhydride acétique (17 mL, 176 mmol). Après une nuit d'agitation à température ambiante, la solution est  
30 versée lentement dans du diisopropyléther (3 L) sous agitation. Après 1 h d'agitation, le précipité est filtré, lavé deux fois avec du diisopropyléther (250 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide poly(γ-benzyl-L-glutamique) cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle.

[000517] A une solution du co-polyaminoacide ci-dessus (72 g) dans l'acide trifluoroacétique (TFA, 335 mL) à 4°C est ajoutée goutte à goutte une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans l'acide acétique (235 mL). Le mélange est agité à température ambiante pendant 3 h 30, puis coulé goutte à goutte sur un mélange 1:1  
35 (v/v) de diisopropyléther et d'eau sous agitation (4 L). Après 2 h d'agitation, le mélange

hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (340 mL) puis avec de l'eau (340 mL).

[000518] Le solide obtenu est alors solubilisé dans de l'eau (1,5 L) en ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10N puis une solution aqueuse de soude 1N. Après solubilisation, la solution est diluée par addition d'eau pour obtenir un volume final de 2,1 L. La solution est filtrée sur filtre 0,45 µm puis purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9%, puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée jusqu'à obtenir un volume final de 1,8 L.

[000519] La solution aqueuse est alors acidifiée par ajout de solution d'acide chlorhydrique 37% jusqu'à atteindre un pH de 2. Après 4 h d'agitation, le précipité obtenu est filtré, lavé avec de l'eau (330 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 3600 g/mol par rapport à un standard de polyoxyéthylène (PEG), et de degré moyen de polymérisation 21.

[000520] Co-polyaminoacide AB7

[000521] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide AB6 appliqué au sel de chlorhydrate de la molécule AA7 (1,43 g, 2,2 mmol) et au co-polyaminoacide AB7-1 (10,0 g), un acide poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA7 est obtenu.

[000522] Extrait sec : 24,3 mg/g.

[000523] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 21.

25 [000524] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,03.

[000525] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide AB7 est de 3677 g/mol.

[000526] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 3300 g/mol.

30 Exemple AB8 : Co-polyaminoacide AB8 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA7 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 3600 g/mol

[000527] Co-polyaminoacide AB8-1 : acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 3800 g / mol issu de la polymérisation du γ-méthyl-L-glutamate N-carboxyanhydride initiée par l'ammoniac.

35 [000528] Par un procédé similaire à celui décrit dans la demande de brevet FR-A-2 801 226 appliqué au γ-méthyl-L-acide glutamique N-carboxyanhydride (25,0 g, 133,6 mmol) et à une solution d'ammoniaque 0,5 N dans le dioxane (12,1 mL, 6,05 mmol), un acide poly-L-glutamique est obtenu.

[000529] Co-polyaminoacide AB8

[000530] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide AB6 appliqué au sel de chlorhydrate de la molécule AA7 (2,1 g, 3,24 mmol) et au co-polyaminoacide AB8-1 (14,3 g), un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA7 est obtenu.

[000531] Extrait sec : 25,2 mg/g.

[000532] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 24.

[000533] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,03$ .

10 [000534] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide AB8 est de 4099 g/mol.

[000535] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3600$  g/mol.

Exemple AB10 : Co-polyaminoacide AB10 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA4 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 2600 g/mol

15 [000536] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide AB7 appliqué au sel de chlorhydrate de la molécule AA4 et à un acide poly-L-glutamique obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide AB6-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA4 est obtenu.

[000537] Extrait sec : 18,3 mg/g.

[000538] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 25.

[000539] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,08$ .

20 [000540] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide AB10 est de 4870 g/mol.

[000541] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 2600$  g/mol.

Exemple AB21 : Co-polyaminoacide AB21 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA7 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 3400 g/mol

30 [000542] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide AB6 appliqué au sel de chlorhydrate de la molécule AA7 (2,44 g, 2,4 mmol) et à un acide poly-L-glutamique (10 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide AB6-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule AA7 est obtenu.

35 [000543] Extrait sec : 22,7 mg/g.

[000544] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 22.

[000545] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,056$ .

[000546] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide AB21 est de 4090 g/mol.

[000547] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3400$  g/mol.

5 Exemple AB17 : Co-polyaminoacide AB17 - poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule AA7 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 3500 g/mol

[000548] Dans un contenant adapté sont introduits successivement le sel de chlorhydrate de la molécule AA7 (2,80 g, 4,32 mmol), du chloroforme (5 mL), du tamis moléculaire 4Å (1,3 g), ainsi que de la résine échangeuse d'ion Amberlite IRN 150 (1,3 g). Après 1 h d'agitation sur rouleaux, le milieu est filtré et la résine est rincée avec du chloroforme. Le mélange est évaporé puis co-évaporé avec du toluène. Le résidu est solubilisé dans du DMF anhydre (30 mL) pour être utilisé directement dans la réaction de polymérisation.

15 [000549] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve, du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (25,0 g, 94,9 mmol) est placé sous vide pendant 30 min puis du DMF anhydre (140 mL) est introduit. Le mélange est agité sous argon jusqu'à solubilisation complète, refroidi à 4°C, puis la solution de molécule AA7 préparée comme décrit précédemment est introduite rapidement. Le mélange est agité entre 4°C et  
20 température ambiante pendant 2 jours, puis chauffé à 65°C pendant 2 h. Le mélange réactionnel est alors refroidi à température ambiante puis versé goutte à goutte dans du diisopropyléther (1,7 L) sous agitation. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé deux fois avec du diisopropyléther (140 mL) puis séché sous vide à 30°C pour obtenir un solide blanc. Le solide est dilué dans du TFA (160 mL), et une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans de l'acide acétique (62 mL, 354 mmol) est alors  
25 ajoutée goutte à goutte et à 0°C. La solution est agitée pendant 2 h à température ambiante puis est coulée goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther / eau et sous agitation (1,9 L). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé  
30 successivement avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (280 mL) puis avec de l'eau (140 mL). Le solide obtenu est solubilisé dans de l'eau (530 mL) en ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Après solubilisation, la concentration théorique est ajustée à 20 g/L théorique par addition d'eau pour obtenir un volume final de 800 mL. Le mélange  
35 est filtré sur filtre 0,45  $\mu$ m puis est purifié par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50  $\mu$ S/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée à environ 30 g/L

théorique et le pH est ajusté à 7,0. La solution aqueuse est filtrée sur 0,2 µm et conservée à 4°C.

[000550] Extrait sec : 25,2 mg/g.

[000551] DP (estimé par RMN <sup>1</sup>H) = 26 donc  $i = 0,038$ .

5 [000552] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide AB17 est de 4500 g/mol.

[000553] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3500$  g/mol.

10 Exemple AB18 : Co-polyaminoacide AB18 - poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule AA7 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 3700 g/mol

[000554] Un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule AA7 est obtenu par polymérisation du  $\gamma$ -méthyl N-carboxyanhydride d'acide glutamique (25,0 g, 133,6 mmol) en utilisant le sel chlorhydrate de la molécule AA7  
15 (2,80 g, 4,32 mmol) comme initiateur et en effectuant une déprotection des esters méthyliques par utilisation d'une solution d'acide chlorhydrique à 37% selon le procédé décrit dans la demande de brevet FR-A-2 801 226.

[000555] Extrait sec : 44,3 mg/g.

[000556] DP (estimé par RMN <sup>1</sup>H) = 22 donc  $i = 0,045$ .

20 [000557] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide AB18 est de 3896 g/mol.

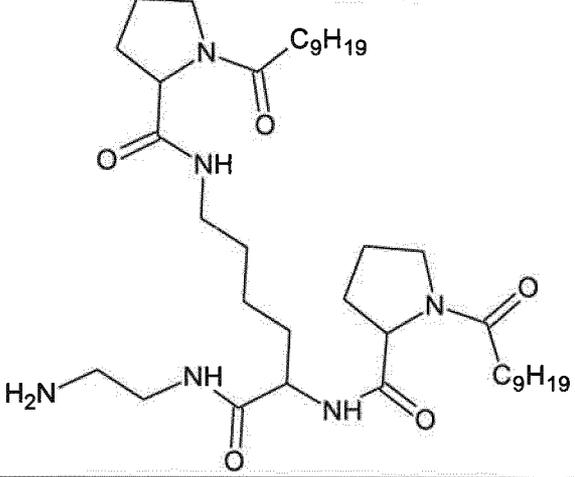
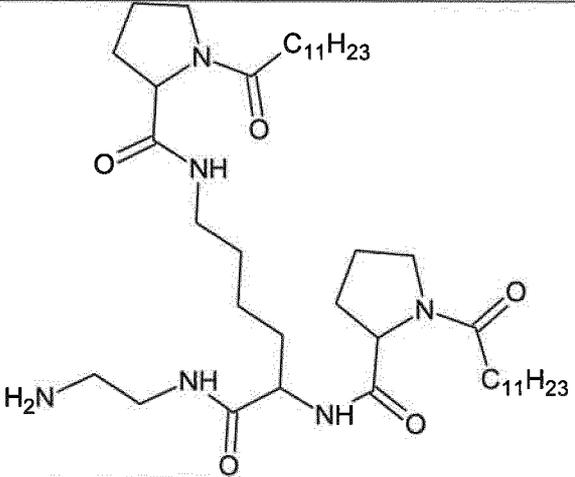
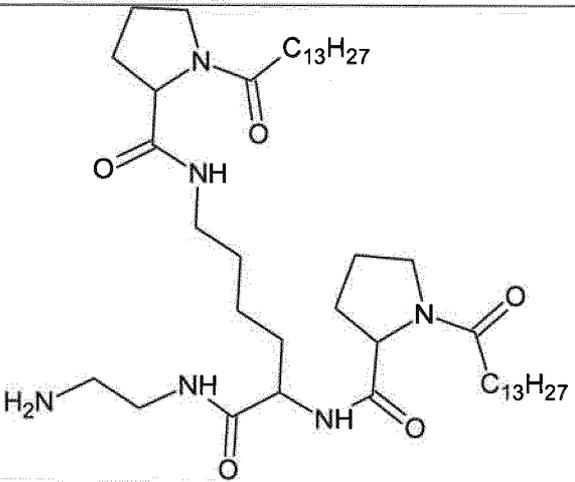
[000558] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3700$  g/mol.

## Partie B: radicaux hydrophobes

BB: Synthèse des molécules hydrophobes dans lesquelles  $p = 2$ 

[000559] Les radicaux sont représentés dans le tableau 1c' suivant par la molécule

5 hydrophobe correspondante avant greffage sur le co-polyaminoacide.

N°	Structure de la molécule hydrophobe avant greffage sur le co-polyaminoacide
BA1	
BA2	
BA3	

<p>BA4</p>	
<p>BA5</p>	
<p>BA6</p>	
<p>BA7</p>	

Tableau 1c' : liste des molécules hydrophobes synthétisées selon l'invention.

Exemple BA1 : molécule BA1

[000560] Molécule B1 : produit obtenu par la réaction entre l'acide décanoïque et la L-proline.

[000561] A une solution d'acide décanoïque (14,28 g, 82,91 mmol) dans le THF (520 mL) à 0°C sont ajoutés successivement du dicyclohexyle carbodiimide (DCC) (16,29 g, 78,96 mmol) et du N-hydroxysuccinimide (NHS) (9,09 g, 78,96 mmol). Après 60 h d'agitation à température ambiante, le milieu est refroidi à 0°C pendant 20 min, filtré sur fritté. De la L-proline (10 g, 86,86 mmol), de la diisopropyléthylamine (DIPEA) (68,8 mL) et de l'eau (60 mL) sont ajoutés au filtrat. Après 24 h d'agitation à température ambiante, le milieu est dilué avec de l'eau (300 mL). La phase aqueuse est lavée avec de l'acétate d'éthyle (2 x 250 mL), acidifiée jusqu'à pH ~1 avec une solution aqueuse d'HCl 1N puis extraite avec du dichlorométhane (3 x 150 mL). Les phases organiques combinées sont séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées, concentrées sous vide et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane, acétate d'éthyle).

[000562] Rendement : 14,6 g (69%).

[000563] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,87 (3H) ; 1,26 (12H) ; 1,65 (2H) ; 2,02 (3H) ; 2,34 (2H) ; 2,41 (1H) ; 3,48 (1H) ; 3,56 (1H) ; 4,58 (1H).

[000564] LC/MS (ESI): 270,2; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 270,4).

[000565] Molécule B2 : produit obtenu par la réaction entre la molécule B1 et la L-lysine.

[000566] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B1 appliqué à la molécule B1 (14,57 g, 54,07 mmol) et à la L-lysine (4,15 g, 28,39 mmol), une huile jaune est obtenue.

[000567] Rendement : 16,4 g (93%).

[000568] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (6H) ; 1,26 (24H) ; 1,35-1,65 (8H) ; 1,85-2,35 (12H) ; 2,53 (0,2H) ; 2,90 (0,8H) ; 3,45-3,75 (5H) ; 4,50-4,70 (3H) ; 7,82 (1H).

[000569] LC/MS (ESI): 649,6; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 649,9).

[000570] Molécule B3 : produit obtenu par réaction entre la molécule B2 et la Boc-éthylènediamine.

[000571] A une solution de molécule B2 (16,4 g, 25,27 mmol) dans le THF (170 mL) sont ajoutés de la DIPEA (8,80 mL) et du 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium tétrafluoroborate (TBTU, 8,52 g, 26,54 mmol) à température ambiante. Après 30 min d'agitation, de la Boc-éthylènediamine (4,45 g, 27,8 mmol) est ajoutée. Après agitation à température ambiante pendant 2 h, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dilué avec de l'acétate d'éthyle (400 mL). La phase organique est lavée avec de l'eau (250 mL), une solution aqueuse saturée de NaHCO<sub>3</sub>

(250 ml), une solution aqueuse de 1 N HCl (250 mL), une solution aqueuse saturée en NaCl (250 mL) et est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après filtration et concentration sous vide, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle, méthanol) pour donner une huile incolore.

5 [000572] Rendement : 12,8 g (64%).

[000573] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,87 (6H) ; 1,25-1,60 (42H) ; 1,80-2,05 (4H) ; 2,15-2,45 (9H) ; 3,10-3,75 (10H) ; 4,30 (1H) ; 4,50 (2H) ; 5,50 (0,6H) ; 5,89 (0,2H) ; 6,15 (0,2H) ; 7,03 (1H) ; 7,47 (1H).

[000574] LC/MS (ESI): 791,8; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 792,1).

10

[000575] Molécule BA1

[000576] A une solution de la molécule B3 (12,78 g, 16,15 mmol) dans le dichlorométhane (110 mL) à 5°C est ajoutée une solution de HCl 4N dans le dioxane (20,2 mL). Après 20 h d'agitation à 5°C, le milieu est concentré sous vide. Le résidu  
15 obtenu est dissous dans le méthanol et évaporé sous vide, cette opération étant répétée 4 fois pour donner un solide blanc de molécule BA1 sous forme de sel de chlorhydrate.

[000577] Rendement : 11,4 g (97%).

[000578] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,25-1,50 (33H) ; 1,57 (1H) ; 1,70-2,40 (12H) ; 2,82 (2H) ; 3,00 (2H) ; 3,25-3,70 (6H) ; 4,05-4,50 (3H) ; 7,75-8,45 (6H).

20 [000579] LC/MS (ESI): 691,6 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 692,0).

Exemple BA2 : molécule BA2

[000580] Molécule B4 : produit obtenu par la réaction entre l'acide laurique et la L-proline.

25 [000581] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B1 appliqué à l'acide laurique (31,83 g, 157,9 mmol) et à la L-proline (20 g, 173,7 mmol), une huile jaune est obtenue.

[000582] Rendement : 34,3 g (73%).

30 [000583] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,87 (3H) ; 1,26 (16H) ; 1,70 (2H) ; 1,90-2,10 (3H) ; 2,35 (2H) ; 2,49 (1H) ; 3,48 (1H) ; 3,56 (1H) ; 4,60 (1H).

[000584] LC/MS (ESI): 298,2 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 298,4).

[000585] Molécule B5 : produit obtenu par la réaction entre la molécule B4 et la L-lysine.

[000586] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule  
35 B1 appliqué à la molécule B4 (33,72 g, 113,36 mmol) et à la L-lysine (8,70 g, 59,51 mmol), un solide blanc est obtenu.

[000587] Rendement : 26,2 g (66%).

[000588] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (6H) ; 1,26 (32H) ; 1,35-1,65 (8H) ; 1,85-2,35 (15H) ; 2,87 (1H) ; 3,40-3,75 (5H) ; 4,50-4,75 (3H) ; 7,87 (1H).

[000589] LC/MS (ESI): 705,6 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 706,0).

5 [000590] Molécule B6 : produit obtenu par réaction entre la Boc-éthylènediamine et la molécule B5.

[000591] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B3 appliqué à la molécule B5 (25,74 g, 36,51 mmol) et à la Boc-éthylènediamine (6,43 g, 40,16 mmol), une huile incolore est obtenue.

10 [000592] Rendement : 30,9 g (quantitatif).

[000593] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (6H) ; 1,35-1,65 (50H) ; 1,85-2,35 (13H) ; 3,05-3,75 (10H) ; 4,25-4,65 (3H) ; 5,50 (0,4H) ; 5,88 (0,2H) ; 6,16 (0,2H) ; 7,08 (1H) ; 7,26 (1H) ; 7,49 (0,2H).

[000594] LC/MS (ESI): 847,8 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 848,2).

15

Molécule BA2

[000595] Après un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule BA1 appliqué à la molécule B6 (30,9 g, 36,47 mmol), le résidu obtenu après concentration sous vide est dissous dans le méthanol et évaporé sous vide, cette opération étant répétée 4 fois pour donner un solide blanc de molécule BA2 sous forme de sel de chlorhydrate après séchage sous pression réduite.

20

[000596] Rendement : 27,65 g (97%).

[000597] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,10-2,40 (54H) ; 2,75-3,15 (4H) ; 3,25-3,60 (6H) ; 4,05-4,50 (3H) ; 7,50-8,50 (6H).

25

[000598] LC/MS (ESI): 747,6 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 748,1).

Exemple BA3 : molécule BA3

[000599] Molécule B7 : produit obtenu par la réaction entre l'acide myristique et la L-proline.

30

[000600] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B1 appliqué à l'acide myristique (18,93 g, 82,91 mmol) et à la L-proline (10 g, 86,86 mmol), une huile jaunâtre est obtenue.

[000601] Rendement : 20 g (78%).

35

[000602] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (3H) ; 1,28 (20H) ; 1,70 (2H) ; 1,90-2,10 (3H) ; 2,36 (2H) ; 2,51 (1H) ; 3,47 (1H) ; 3,56 (1H) ; 4,61 (1H).

[000603] LC/MS (ESI): 326,2 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 326,6).

[000604] Molécule B8 : produit obtenu par la réaction entre la molécule B7 et la L-lysine

[000605] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B1 appliqué à la molécule B7 (20,02 g, 61,5 mmol) et à la L-lysine (4,72 g, 32,29 mmol), un solide blanc est obtenu.

[000606] Rendement : 12,3 g (53%).

[000607] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,26 (40H) ; 1,35-1,50 (6H) ; 1,50-2,10 (10H) ; 2,10-2,25 (4H) ; 3,01 (2H) ; 3,31-3,55 (4H) ; 4,10-4,40 (3H) ; 7,68 (0,6H) ; 7,97 (1H) ; 8,27 (0,4H) ; 12,50 (1H).

10 [000608] LC/MS (ESI): 761,8 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 762,1).

[000609] Molécule B9 : produit obtenu par la réaction entre la Boc-éthylènediamine et la molécule B8.

[000610] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B3 appliqué à la molécule B8 (12 g, 15,77 mmol) et à la Boc-éthylènediamine (3,03 g, 18,92 mmol), une huile incolore est obtenue après purification par colonne chromatographique sur gel de silice (acétate d'éthyle, méthanol).

[000611] Rendement : 12,5 g (88%).

[000612] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,20-1,55 (55H) ; 1,50-2,25 (14H) ; 2,95-3,10 (6H) ; 3,31-3,55 (4H) ; 4,10-4,40 (3H) ; 6,74 (1H) ; 7,60-8,25 (3H).

[000613] LC/MS (ESI): 904,1 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 904,3).

#### Molécule BA3

[000614] Après un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule BA1 appliqué à la molécule B9 (12,5 g, 13,84 mmol), le résidu obtenu après concentration sous vide est dissous dans le méthanol et évaporé sous vide, cette opération étant répétée 4 fois pour donner un solide blanc de molécule BA3 sous forme de sel de chlorhydrate après séchage sous pression réduite.

[000615] Rendement : 9,2 g (79%).

30 [000616] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,10-1,65 (48H) ; 1,70-2,35 (12H) ; 2,85 (2H) ; 3,01 (2H) ; 3,25-3,65 (6H) ; 4,10-4,50 (3H) ; 7,70-8,40 (6H).

[000617] LC/MS (ESI): 803,9 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 804,2).

#### Exemple BA4 : molécule BA4

35 [000618] Molécule B10 : produit obtenu par la réaction entre la molécule B8 et le Boc-1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridécan.

[000619] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B3 appliqué à la molécule B8 (29,80 g, 39,15 mmol) et au Boc-1-amino-4,7,10-trioxa-13-tridécano (15,05 g, 46,96 mmol), une huile épaisse incolore est obtenue.

[000620] Rendement : 25,3 g (61%).

5 [000621] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,25-2,35 (75H) ; 2,85-3,20 (6H) ; 3,25-3,65 (16H) ; 4,10-4,45 (3H) ; 6,38 (0,1H) ; 6,72 (0,9H) ; 7,50-8,25 (3H).

[000622] LC/MS (ESI): 1064,2 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 1064,5).

#### Molécule BA4

10 [000623] Après un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule BA1 appliqué à la molécule B10 (25,3 g, 23,8 mmol), le résidu obtenu après concentration sous vide est dissous dans le méthanol et évaporé sous vide, cette opération étant répétée 4 fois pour donner un solide blanc de molécule BA4 sous forme de sel de chlorhydrate après séchage sous pression réduite.

15 [000624] Rendement : 20,02 g (84%).

[000625] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,15-2,35 (66H) ; 2,80-3,20 (6H) ; 3,30-3,65 (16H) ; 4,10-4,45 (3H) ; 7,55-8,60 (6H).

[000626] LC/MS (ESI): 964,9 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 964,6).

20 Molécule B12 : produit obtenu par réaction entre la molécule A1 et la L-Lysine

[000627] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B1 appliqué à la molécule A1 (19,10 g, 54,02 mmol) et à la L-lysine (4,15 g, 28,36 mmol), un résidu huileux est obtenu après concentration du milieu réactionnel sous pression réduite. Ce résidu est dilué dans de l'eau (150 mL), lavé à l'acétate d'éthyle (2 x 75 mL) puis la phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH 1 par addition lente de HCl 6 N. Le produit est extrait 3 fois au dichlorométhane, la phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis filtrée et concentrée sous pression réduite pour donner 11,2 g de résidu huileux jaune. Parallèlement, la phase organique d'acétate d'éthyle précédente est lavée avec une solution aqueuse de HCl 2 N (2 x 75 mL), une solution aqueuse saturée en NaCl (75 mL), séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée pour donner 10,2 g de résidu huileux jaune. Un solide blanc est obtenu après recristallisation de chacun de ces résidus dans l'acétone.

Rendement : 11,83 g (54%)

35 [000628] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,87 (6H) ; 1,06-2,44 (70H) ; 2,78-2,96 (1H) ; 3,35-3,75 (5H) ; 4,28-4,43 (0,1H) ; 4,43-4,52 (0,2H) ; 4,52-4,61 (1,8H) ; 4,61-4,75 (0,9H) ; 7,74-8,02 (2H).

LC/MS (ESI) : 818,0 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 818,7).

Molécule B13 : produit obtenu par couplage entre la molécule B12 et la Boc-éthylènediamine

[000628] A une solution de molécule B12 (18,00 g, 22,02 mmol) à température ambiante dans le THF (110 mL) est ajoutée de la DIPEA (3,42 g, 26,43 mmol). Le milieu réactionnel est refroidi à 0°C, puis sont ajoutés successivement du HOBt (337 mg, 2,20 mmol), de l'EDC (4,64 g, 24,23 mmol) puis de la Boc-éthylènediamine (4,23 g, 26,43 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h à 0°C puis 24 h à température ambiante et concentré sous pression réduite. Le résidu est repris dans l'acétate d'éthyle (250 mL) et du dichlorométhane (40 mL), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse de HCl 1 N (2 x 125 mL), une solution aqueuse saturée en NaCl (2 x 125 mL), séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et concentrée sous pression réduite. Un solide blanc est obtenu après recristallisation deux fois dans l'acétonitrile.

[000629] Rendement : 17,5 g (83%)

[000630] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,15-2,29 (79H) ; 2,92-3,12 (6H) ; 3,30-3,59 (4H) ; 4,06-4,13 (0,65H) ; 4,16-4,29 (2H) ; 4,38-4,42 (0,35H) ; 6,71-6,76 (1H) ; 7,60-7,69 (1,3H) ; 7,76-7,81 (0,65H) ; 7,93-7,97 (0,35H) ; 8,00-8,04 (0,35H) ; 8,10-8,17 (0,35H).

[000631] LC/MS (ESI) : 960,4 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 960,8).

## 20 **Molécule BA5**

[000632] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule BA1 appliqué à la molécule B13 (24,4 g, 25,43 mmol), le résidu obtenu après concentration sous vide est solubilisé dans du dichlorométhane (150 mL), la phase organique est lavée 2 fois avec une solution aqueuse de soude 2M (90 mL). De l'acétonitrile (120 mL) est ajouté et le dichlorométhane est éliminé par concentration sous pression réduite. Le milieu est ensuite laissé au repos pendant 72 H et un solide blanc est obtenu après filtration et rinçage à l'acétonitrile puis séchage sous pression réduite. Cette opération est répétée 4 fois.

[000633] Rendement : 14,28 g (65%)

[000634] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,06-2,32 (70H) ; 2,53-2,63 (2H) ; 2,89-3,61 (10H) ; 4,04-4,43 (3H) ; 7,55-7,62 (0,65H) ; 7,65-7,72 (0,65H) ; 7,80 (0,65H) ; 7,91 (0,35H) ; 8,03 (0,35H) ; 8,14-8,23 (0,35H).

[000635] LC/MS (ESI) : 860,0 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 860,8).

**Exemple BA6 : molécule BA6**

Molécule B14 : produit obtenu par couplage entre la molécule B7 et l'acide 2,3-diaminopropionique

5 [000636] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B1 appliqué à la molécule B7 (80,00 g, 245,78 mmol) et au dichlorhydrate de l'acide 2,3-diaminopropionique (22,84 g, 129,04 mmol), un solide blanc est obtenu après recristallisation dans l'acétonitrile.

[000637] Rendement : 69 g (78%)

10 [000638] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,86 (6H) ; 1,08-1,38 (40H) ; 1,40-1,55 (4H) ; 1,68-2,30 (12H) ; 3,16-3,66 (6H) ; 4,20-4,39 (3H) ; 7,67-8,31 (2H) ; 12,70 (1H).

[000639] LC/MS (ESI) : 719,4 ; 741,5 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 719,6 ; ([M+Na]<sup>+</sup>) : 741,6).

15 Molécule B15 : produit obtenu par couplage entre la molécule B14 et la Boc-éthylènediamine

[000640] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B13 appliqué à la molécule B14 (32,00 g, 44,50 mmol) en solution dans le dichlorométhane et à la Boc-éthylènediamine (8,56 g, 53,40 mmol), une huile incolore est obtenue après purification par chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle, 20 méthanol).

[000641] Rendement : 24,5 g (64%)

[000642] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,16-2,42 (65H) ; 2,89-3,14 (4H) ; 3,17-3,66 (6H) ; 4,11-4,43 (3H) ; 6,77 (1H) ; 7,38-8,23 (3H).

[000643] LC/MS (ESI) : 861,7 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 861,7).

25

**Molécule BA6**

[000644] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule BA5 appliqué à la molécule B15 (24,50 g, 28,45 mmol), un solide blanc est obtenu après recristallisation dans l'acétonitrile.

30 [000645] Rendement : 19,7 g (91%)

[000646] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 0,85 (6H) ; 1,10-2,40 (58H) ; 2,51-2,62 (2H) ; 2,90-3,16 (2H) ; 3,16-3,67 (6H) ; 4,04-4,47 (3H) ; 7,33-8,27 (3H).

[000647] LC/MS (ESI) : 761,5 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 761,6).

35

**Exemple BA7 : molécule BA7**

Molécule B16 : produit obtenu par la réaction entre le *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,6-diaminohexane et la molécule B8.

[000648] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule  
5 B13 appliqué à la molécule B8 (10 g, 13,14 mmol) et au *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,6-diaminohexane (3,41 g, 15,77 mmol) dans le dichlorométhane, un solide blanc est obtenu après recristallisation dans l'acétonitrile.

[000649] Rendement : 10,7 g (85%)

[000650] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (6H) ; 1,17-2,40 (79H) ; 3,00-3,71 (10H) ;  
10 4,26-4,58 (3H) ; 4,67 (1H) ; 6,74 (1H) ; 7,34-7,49 (2H).

[000651] LC/MS (ESI) : 959,9 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 959,8).

**Molécule BA7**

[000652] Après un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule  
15 BA1 appliqué à la molécule B16 (10,5 g, 10,94 mmol), une solution aqueuse de NaOH 2N est ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel refroidi à 0°C. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane puis la phase organique est lavée 3 fois avec une solution aqueuse de NaCl 5%. Après séchage sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, la phase organique est filtrée, concentrée sous vide et le résidu est recristallisé dans l'acétonitrile.

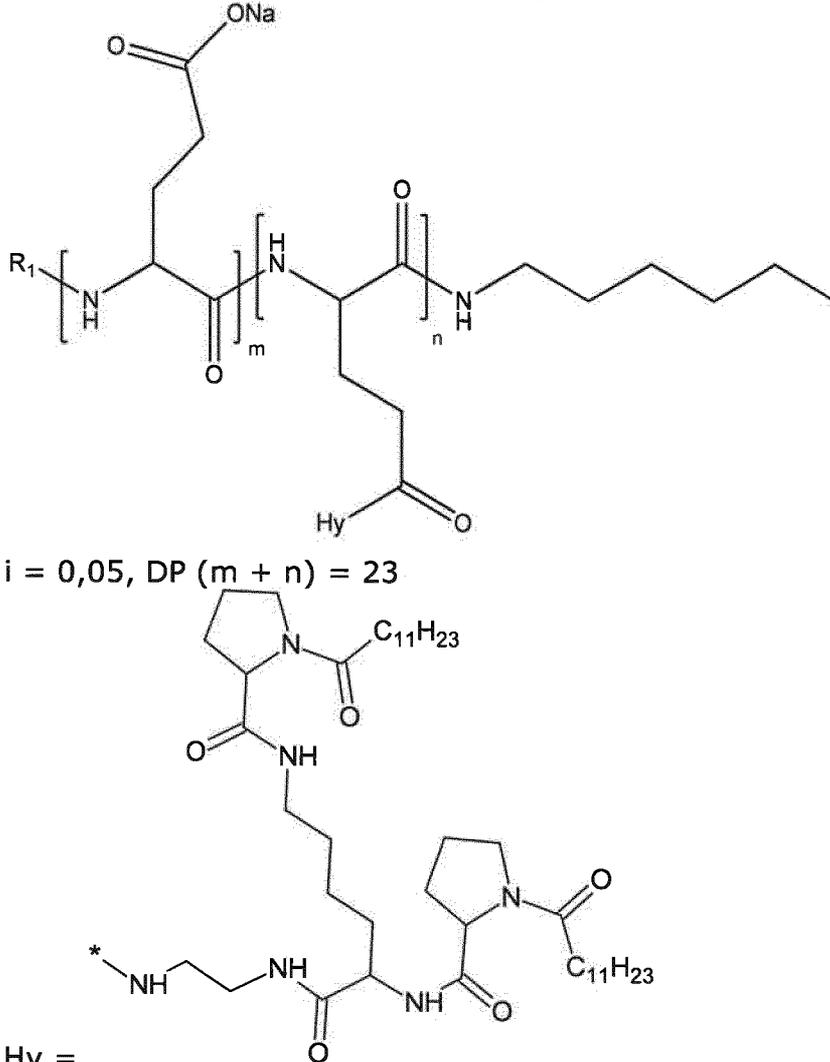
20 [000653] Rendement : 5,4 g (58%)

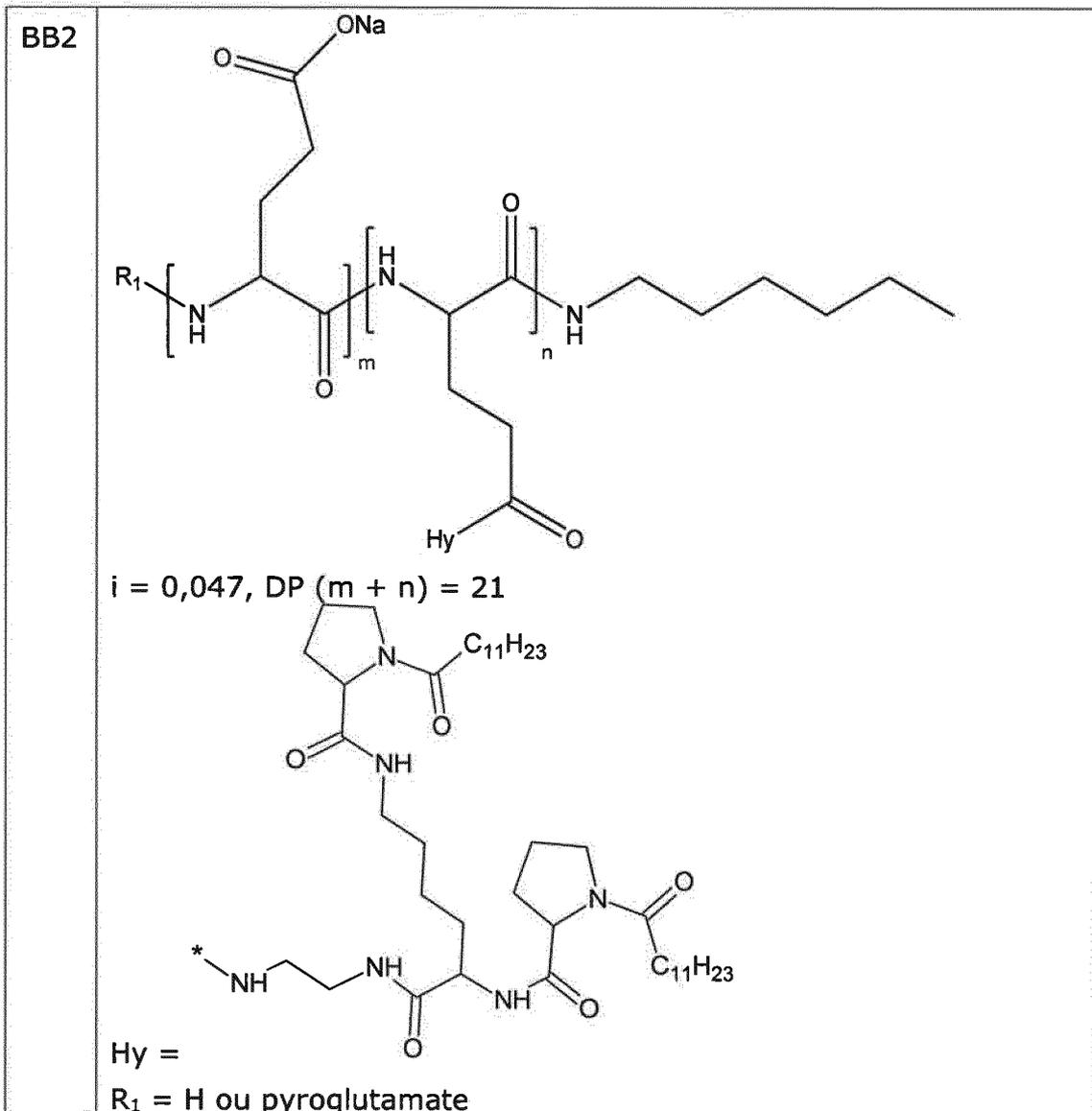
[000654] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,88 (6H) ; 1,19-2,40 (72H) ; 2,67 (2H) ; 3,03-3,70 (8H) ; 4,26-4,57 (3H) ; 6,71 (1H) ; 7,39-7,49 (2H).

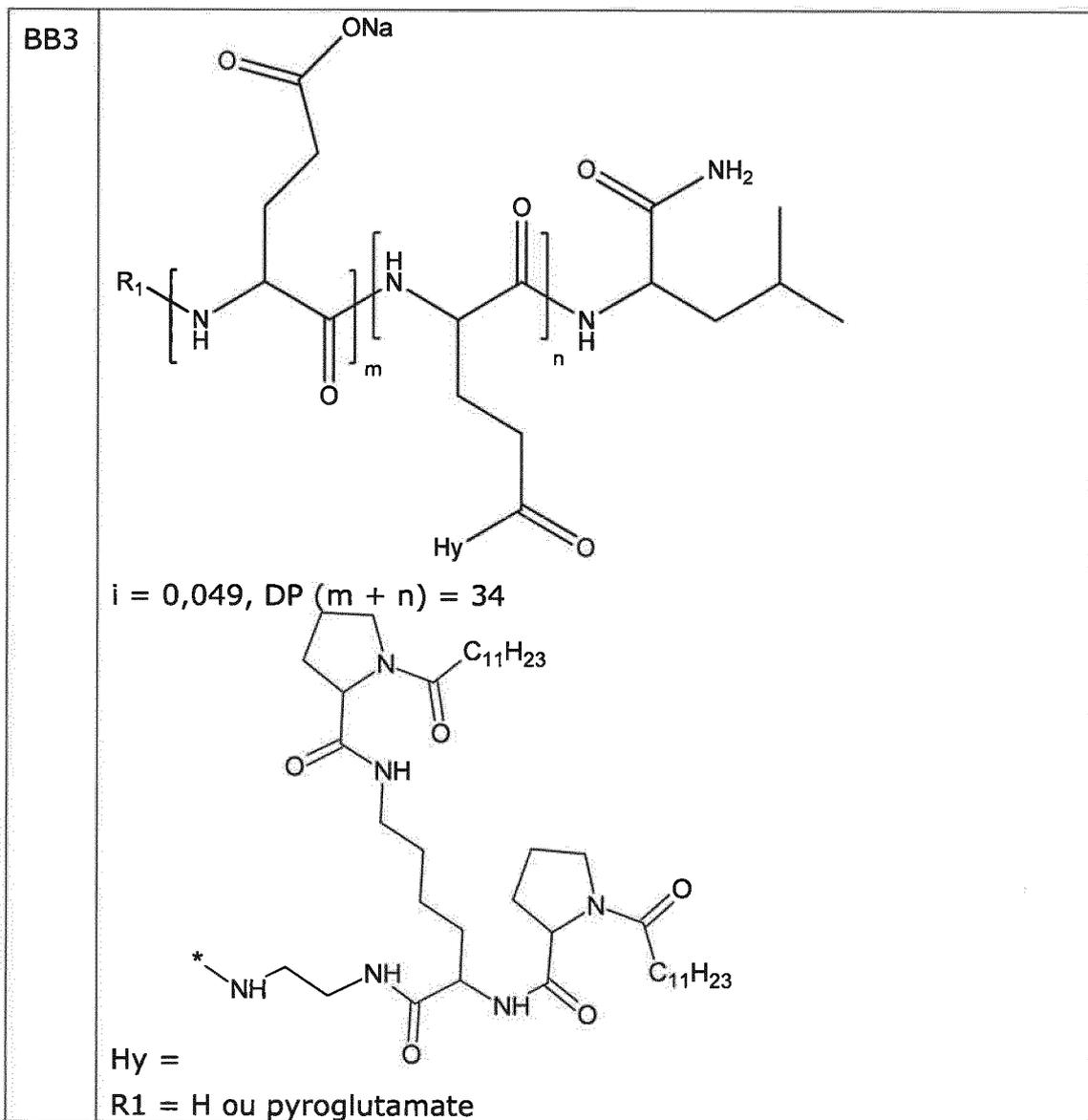
[000655] LC/MS (ESI) : 859,8 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>) : 859,7).

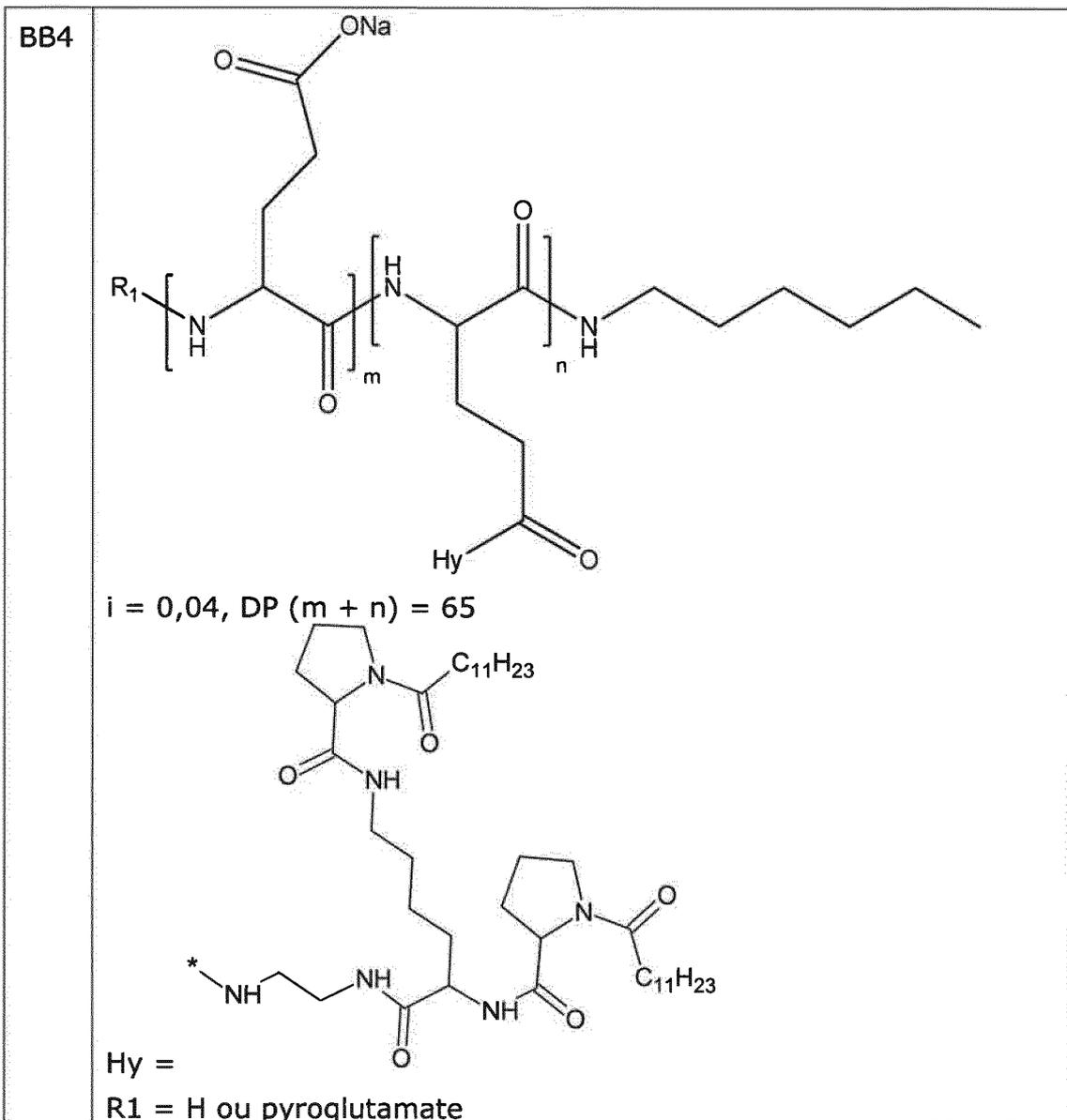
BB : Synthèse des co-polyaminoacides

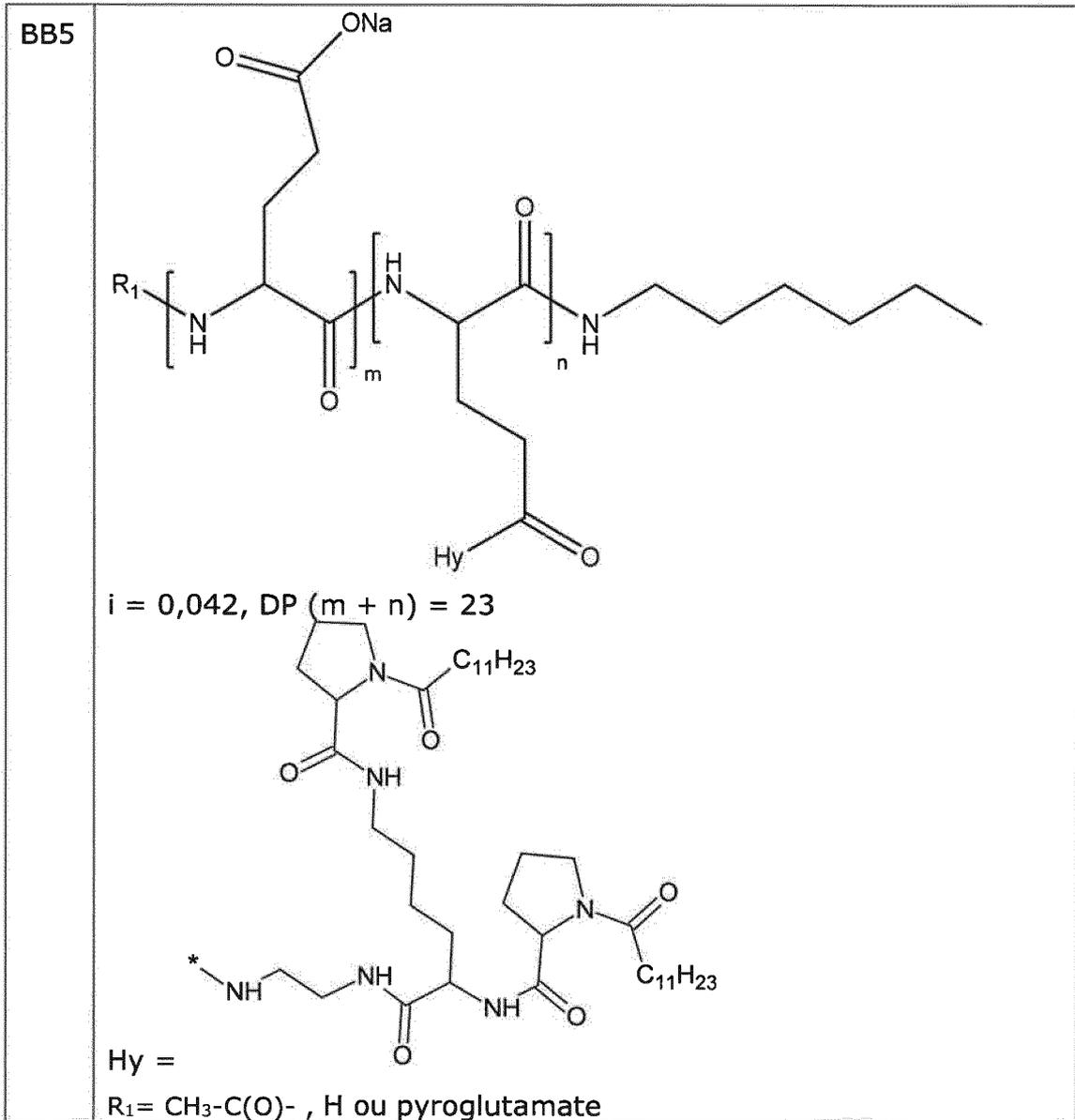
Co-polyaminoacides à greffage statistique (formule VII et VIIa)

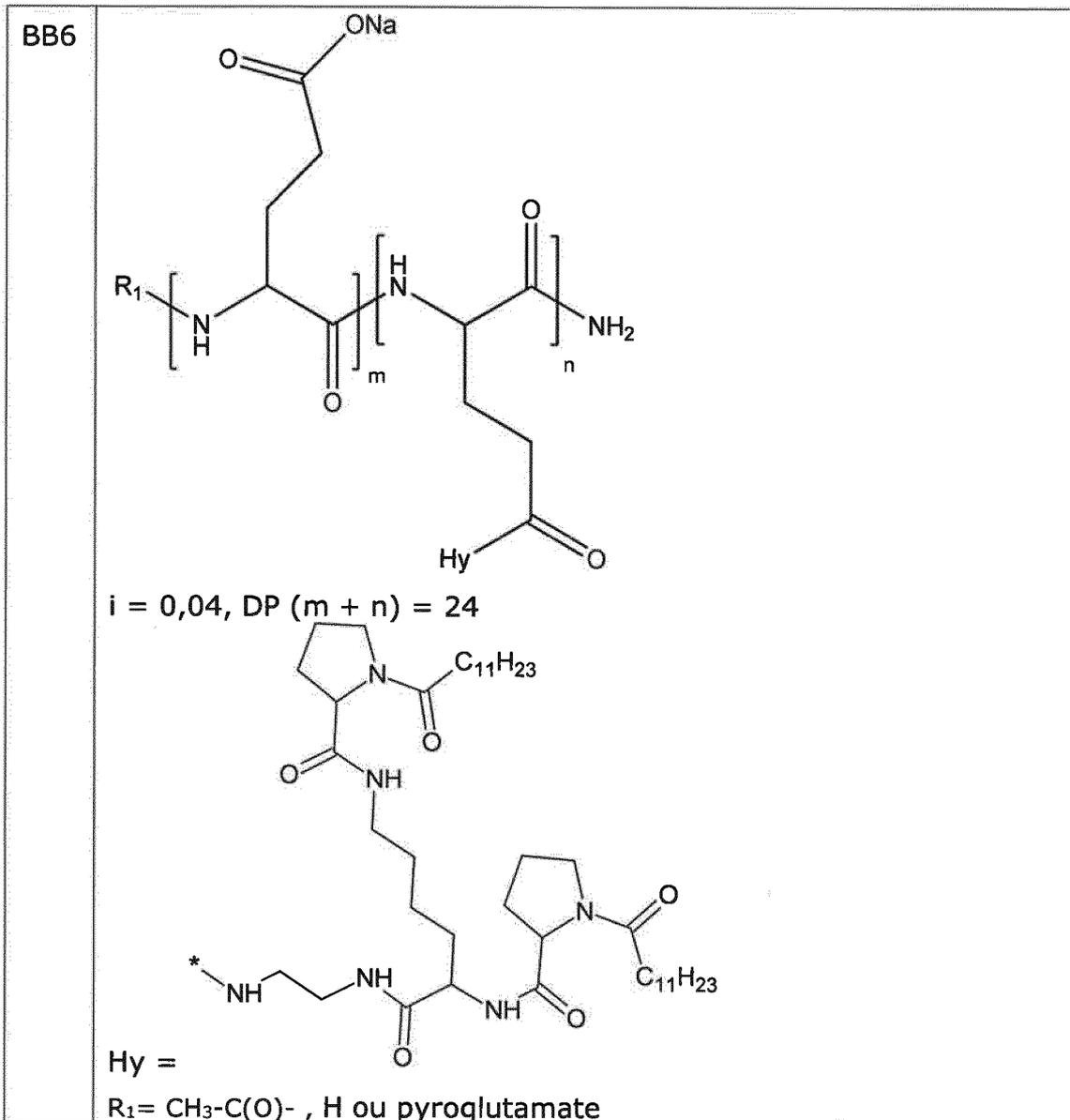
<p>N°</p>	<p>co-polyaminoacides porteurs de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes</p>
<p>BB1</p>	 <p><math>i = 0,05, DP (m + n) = 23</math></p> <p>Hy =</p> <p>R<sub>1</sub> = H ou pyroglutamate</p>

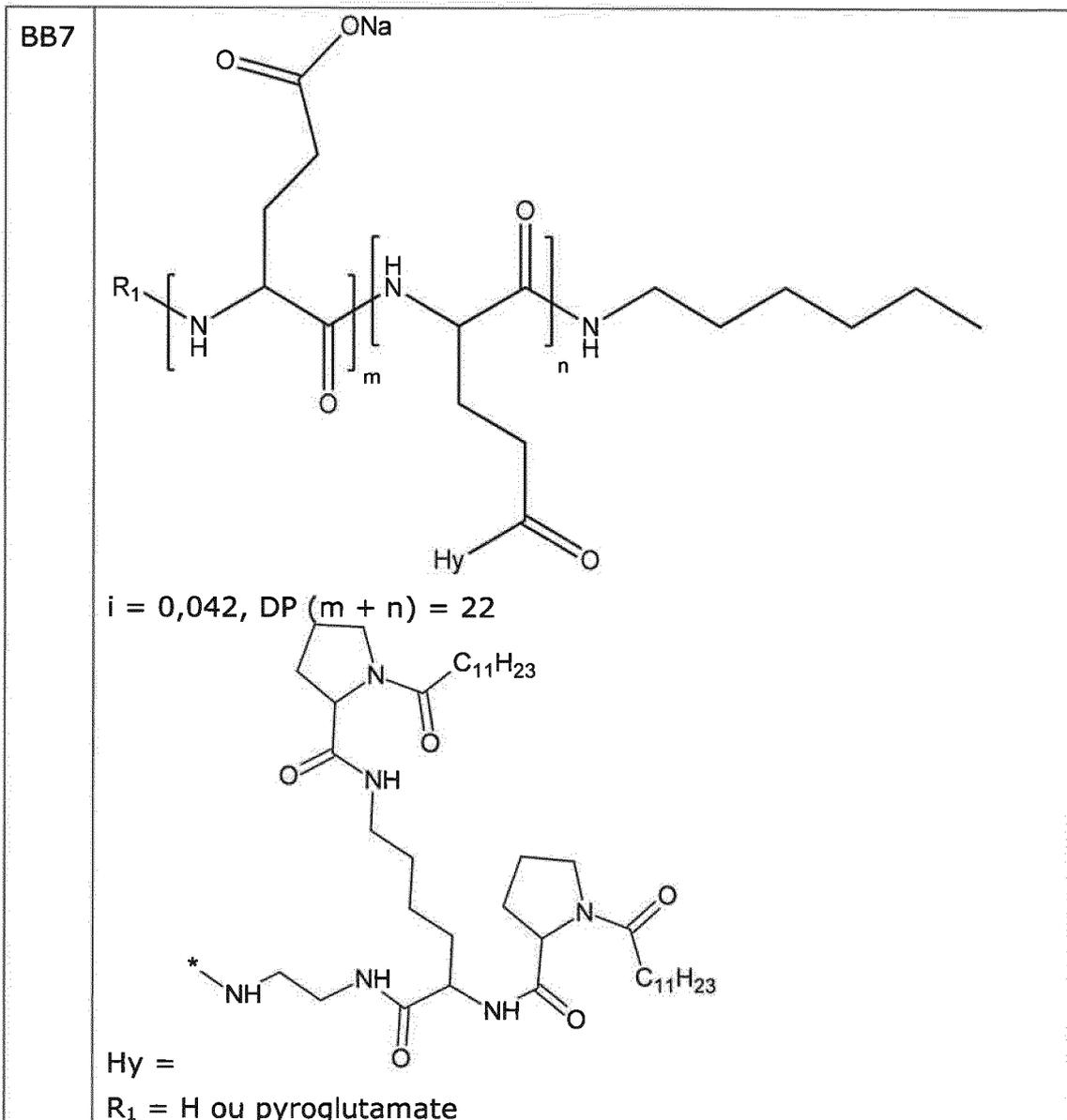


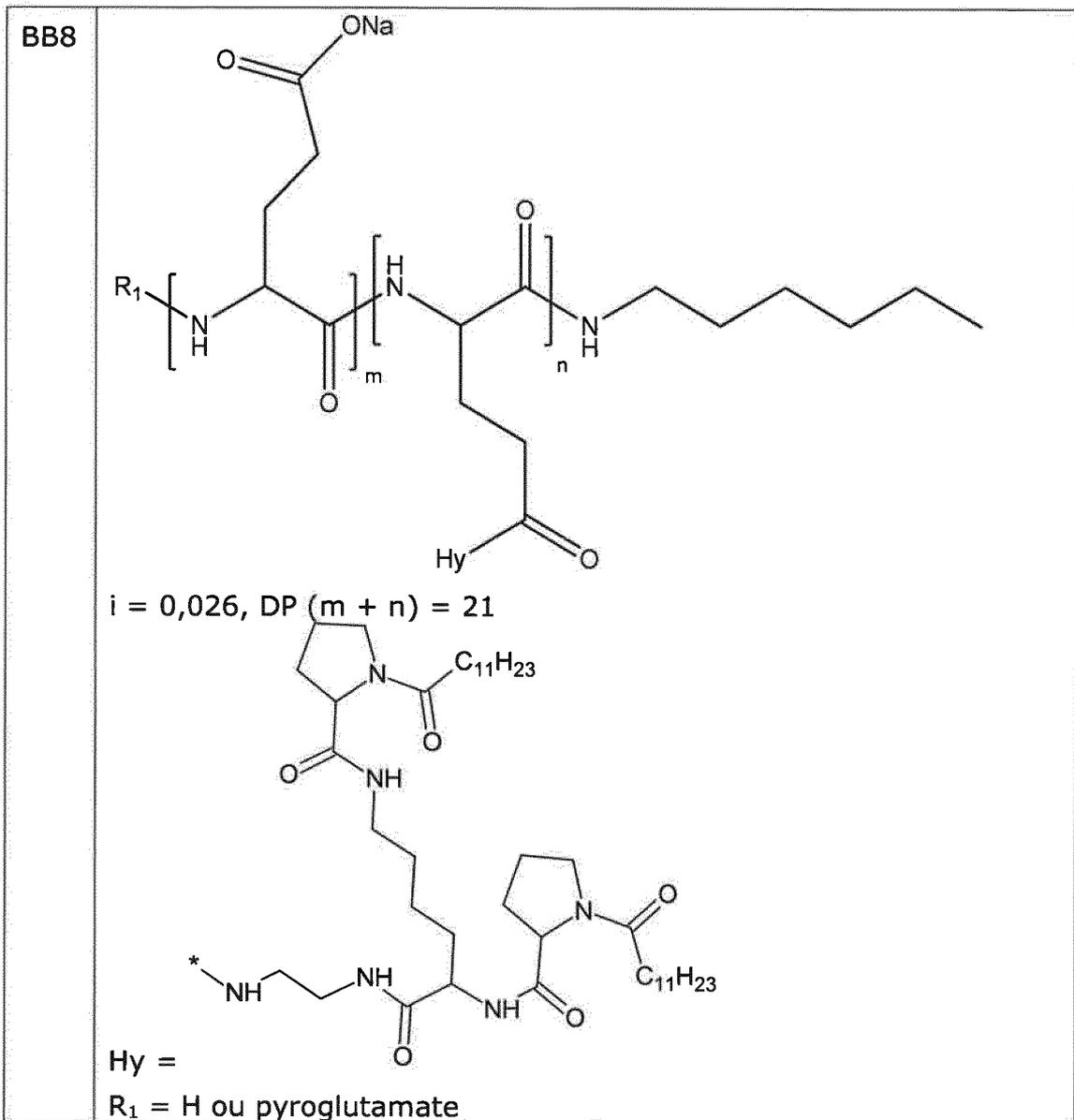


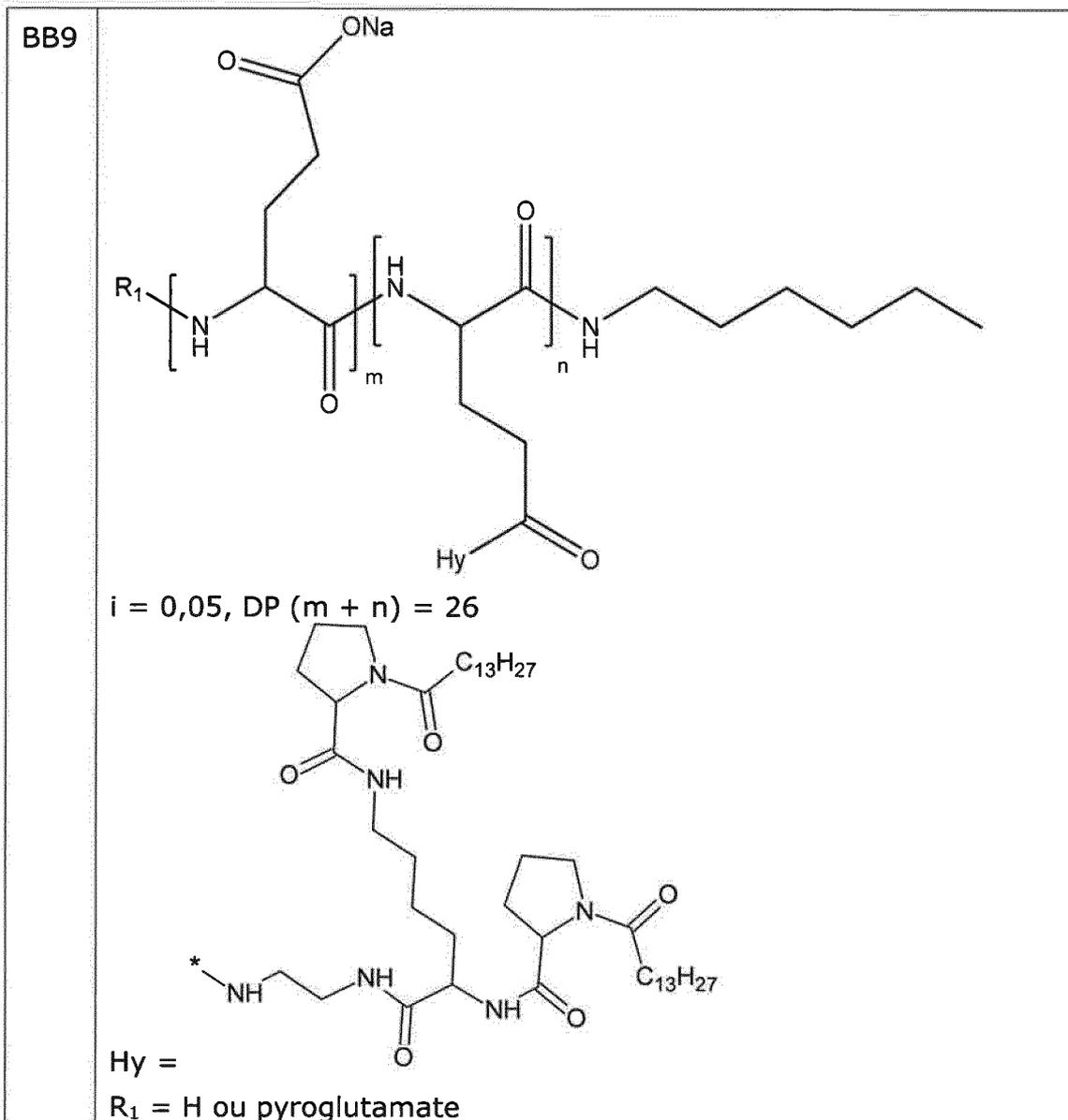


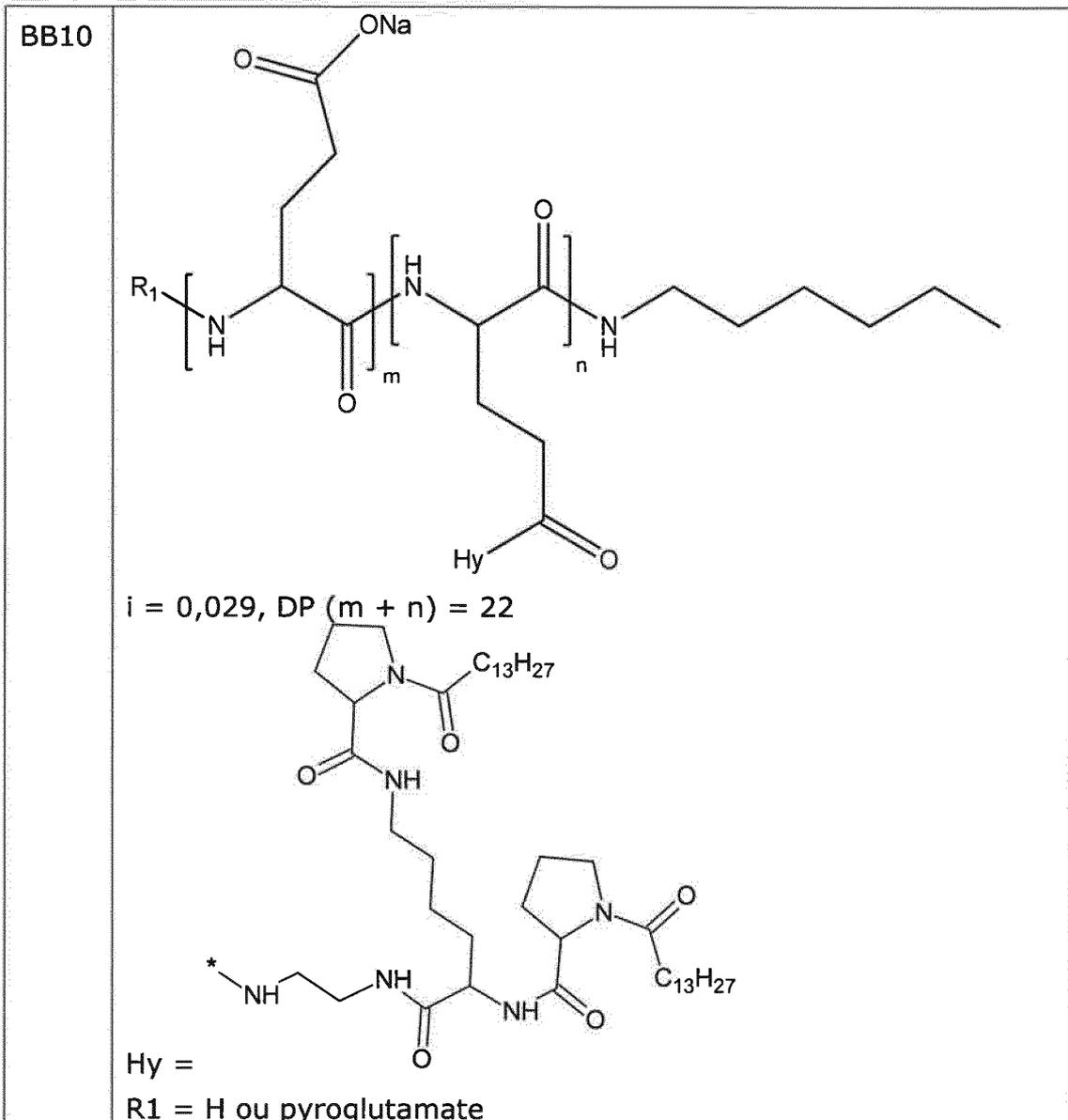


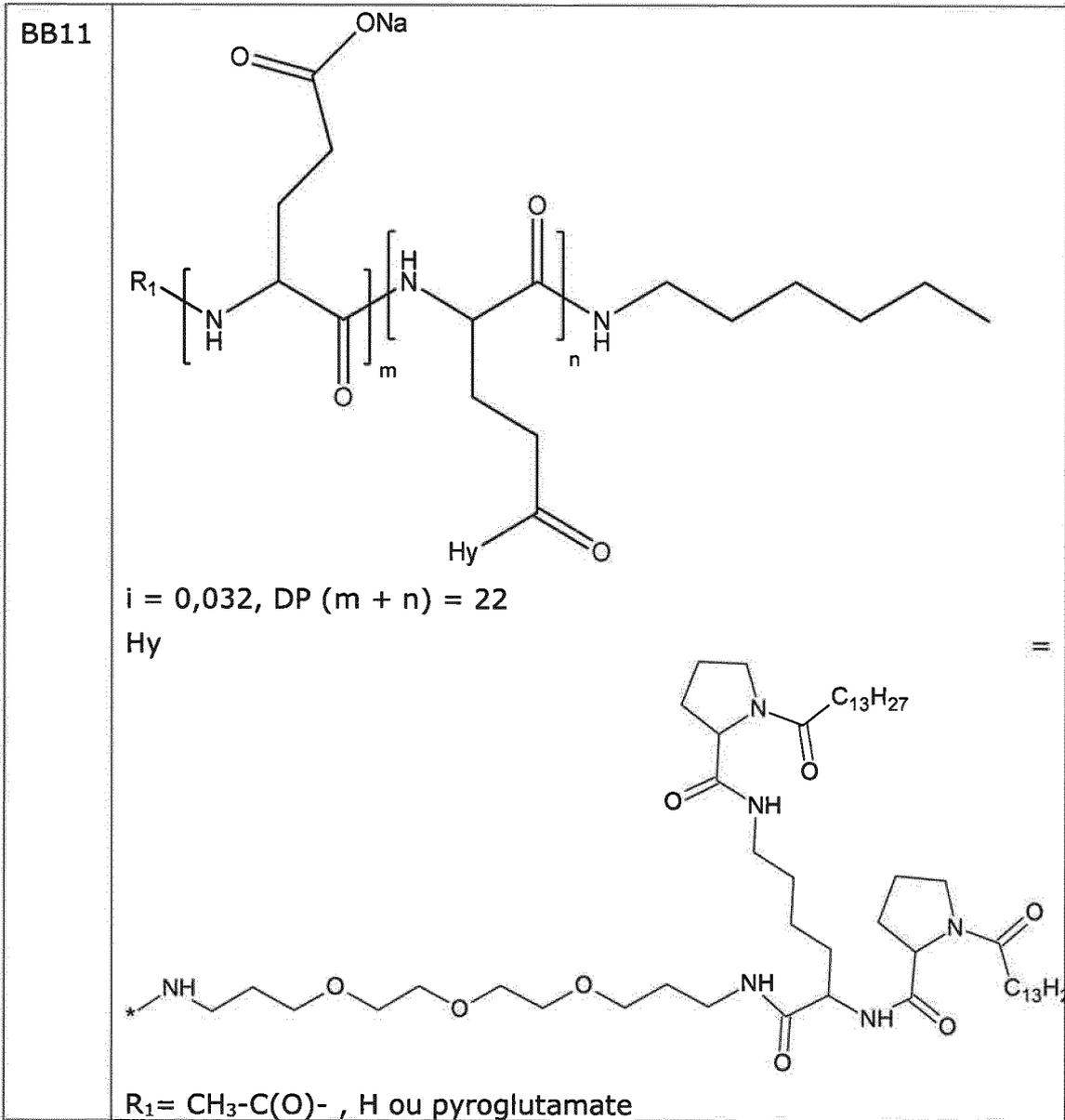


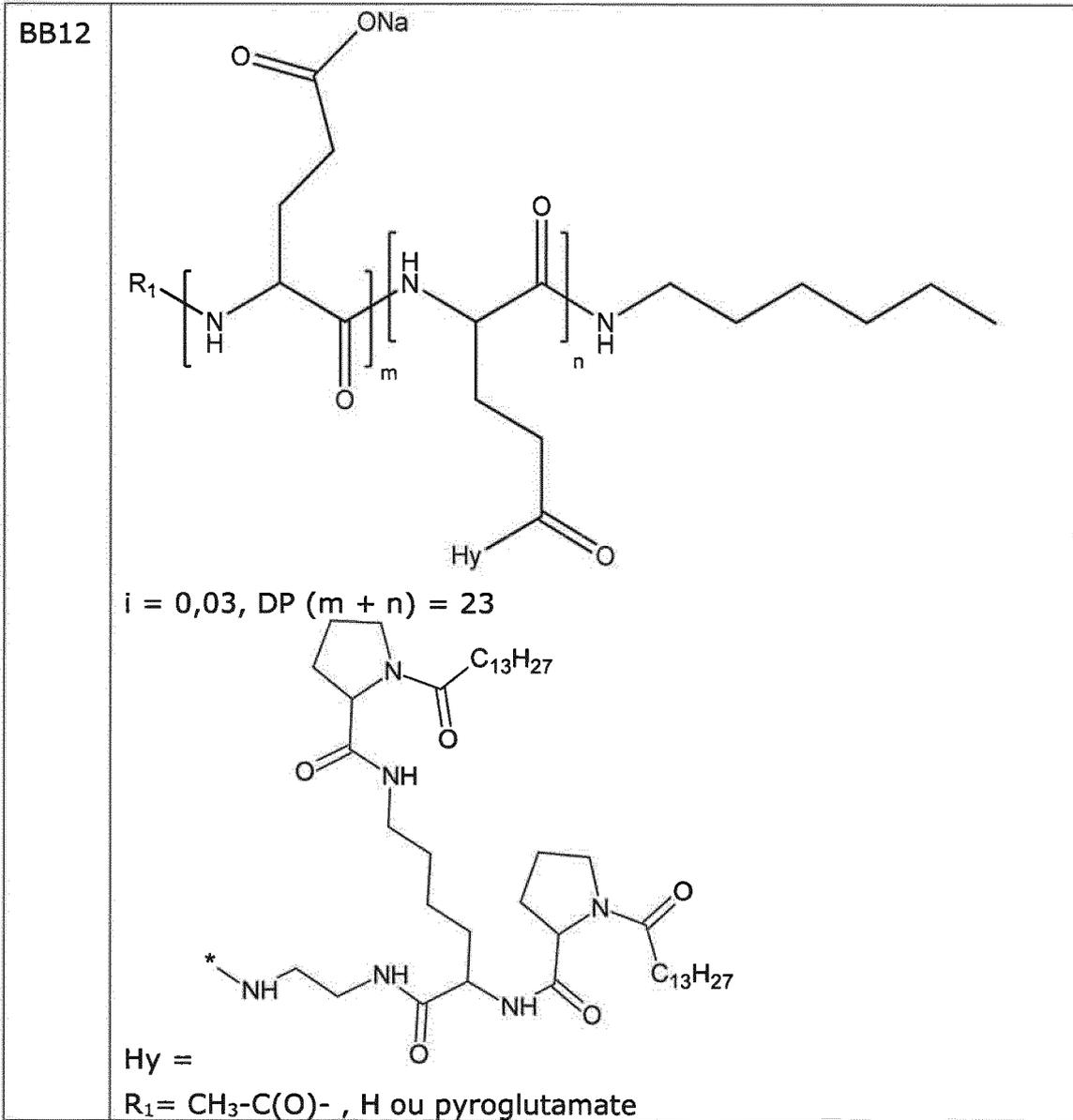












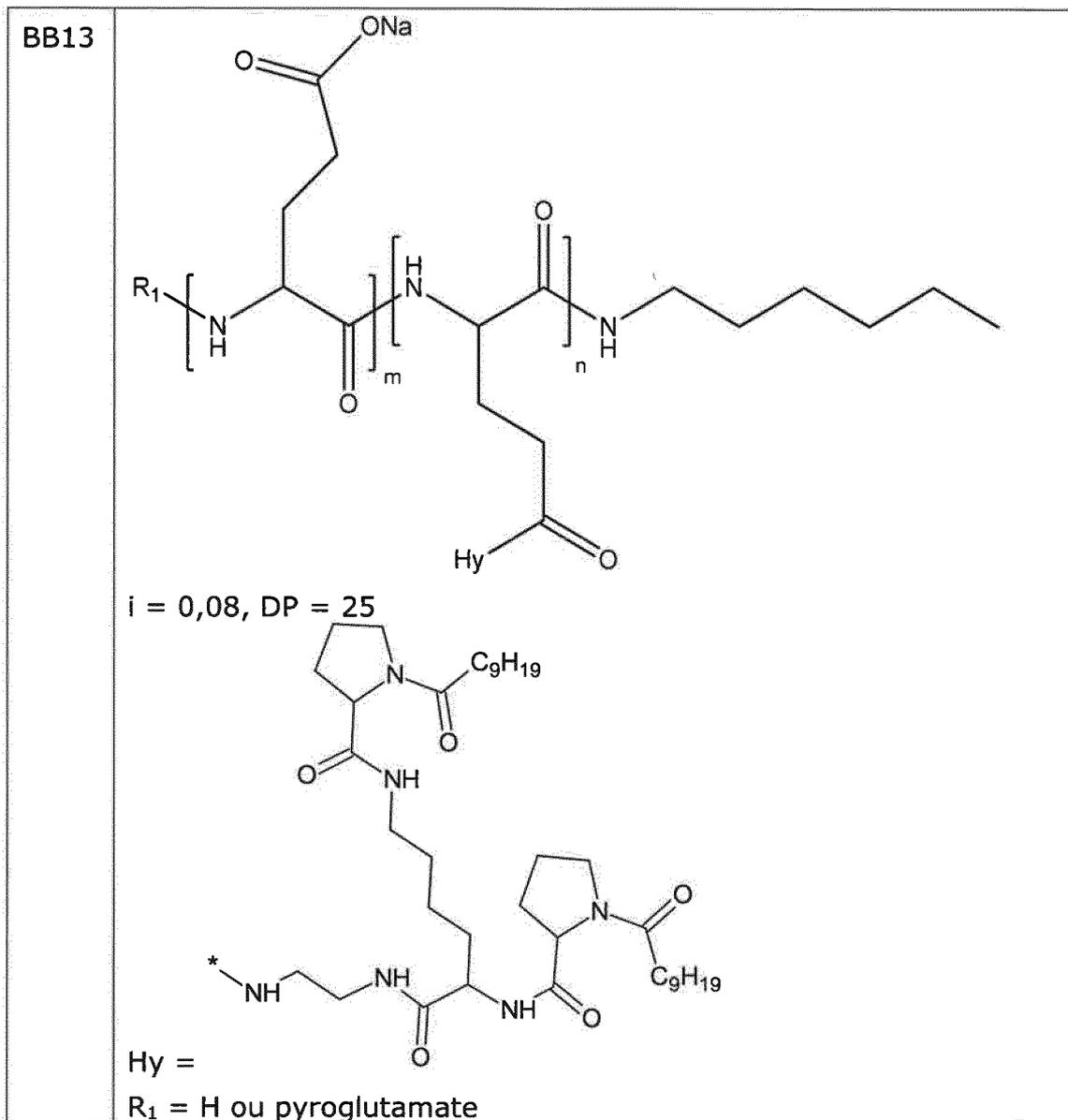
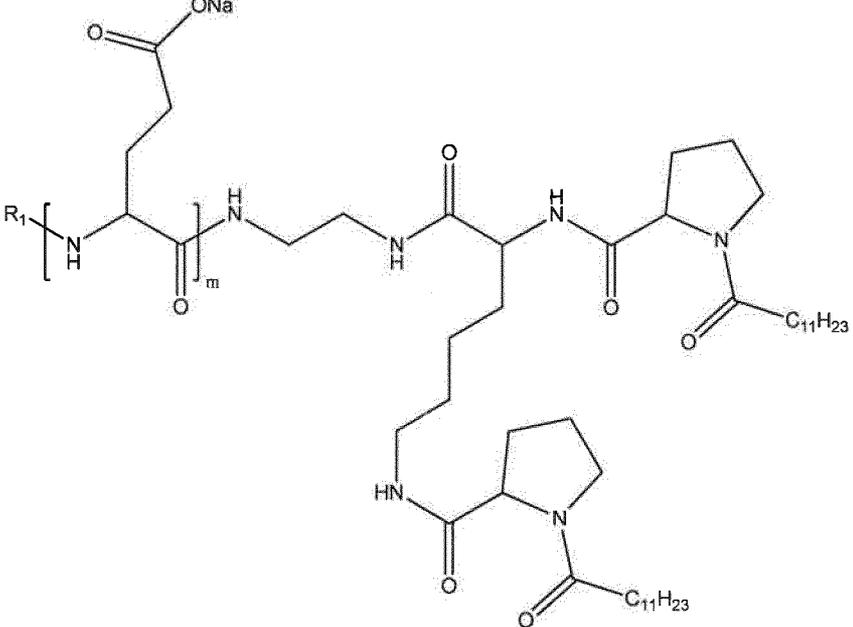
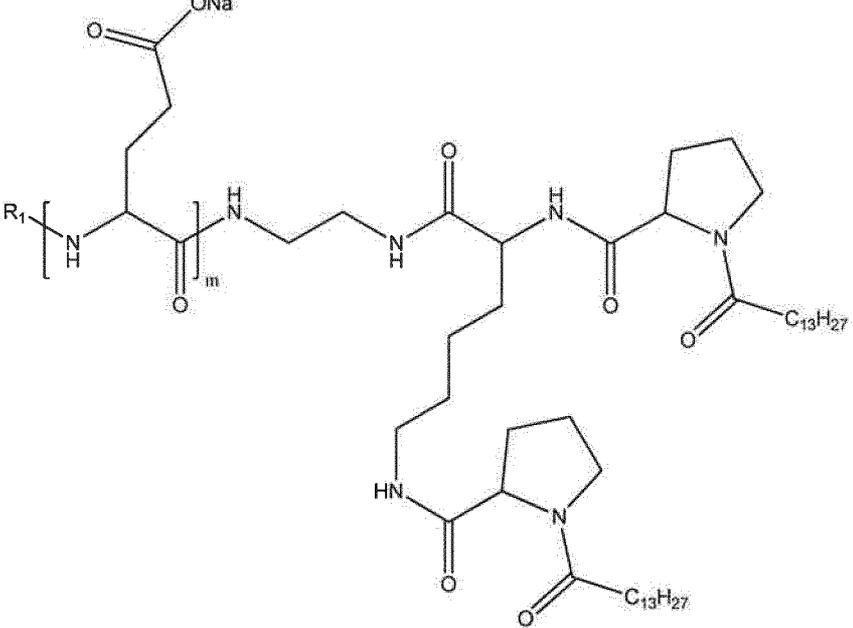
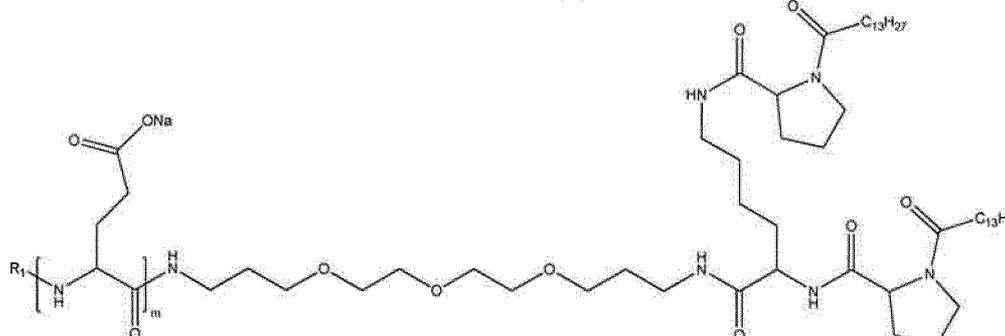
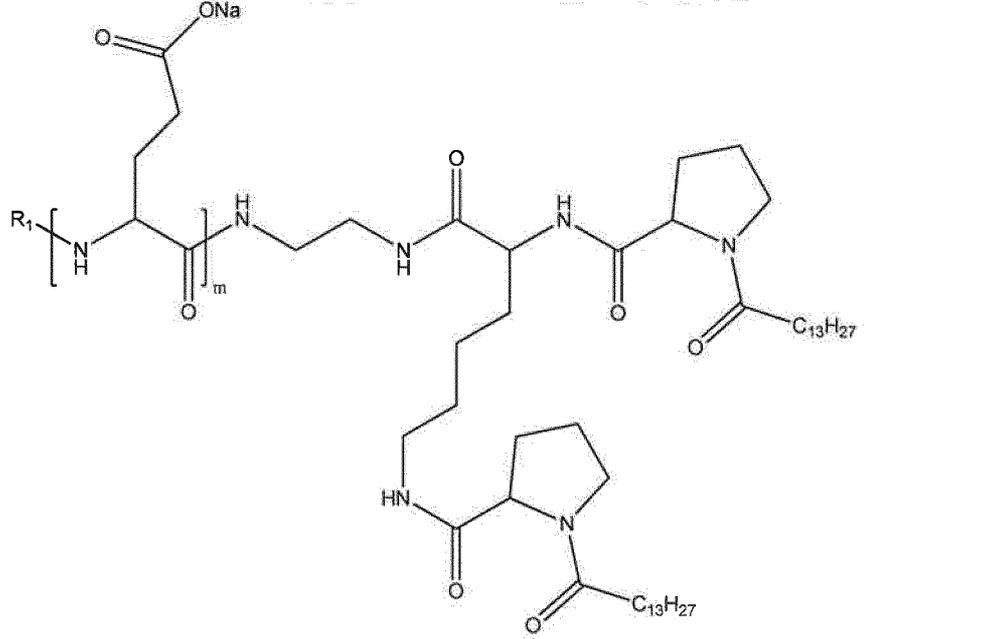
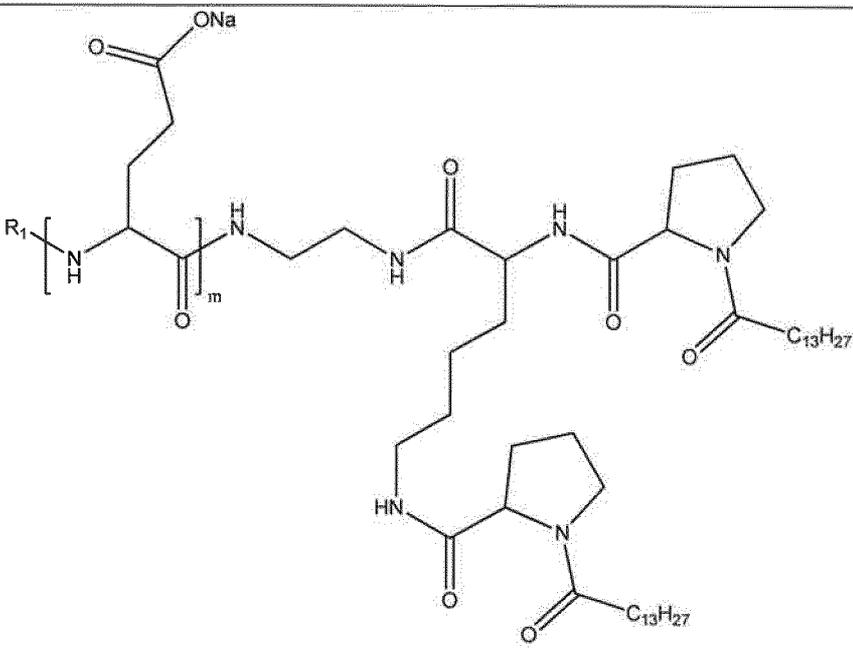
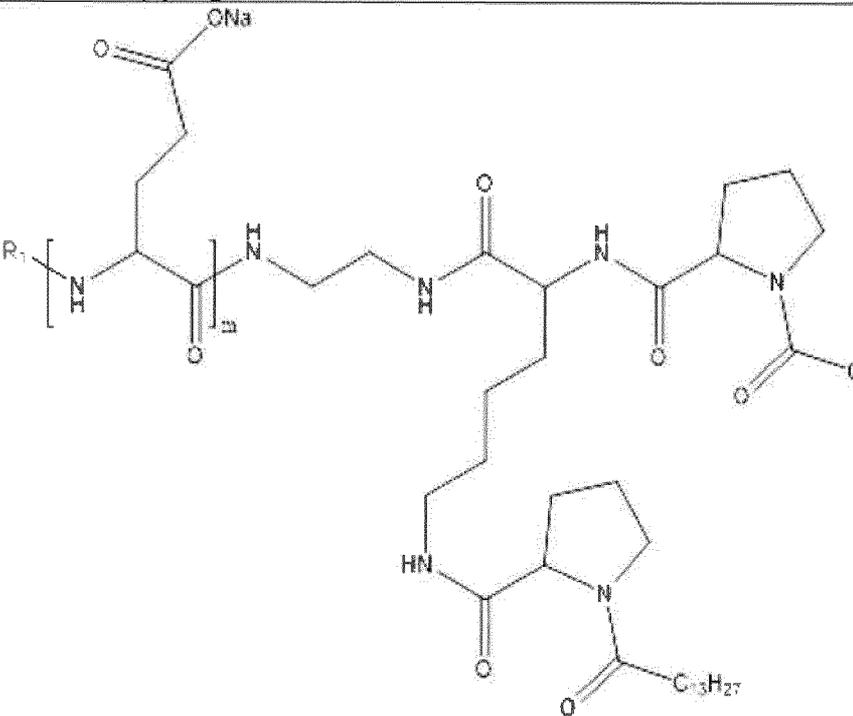


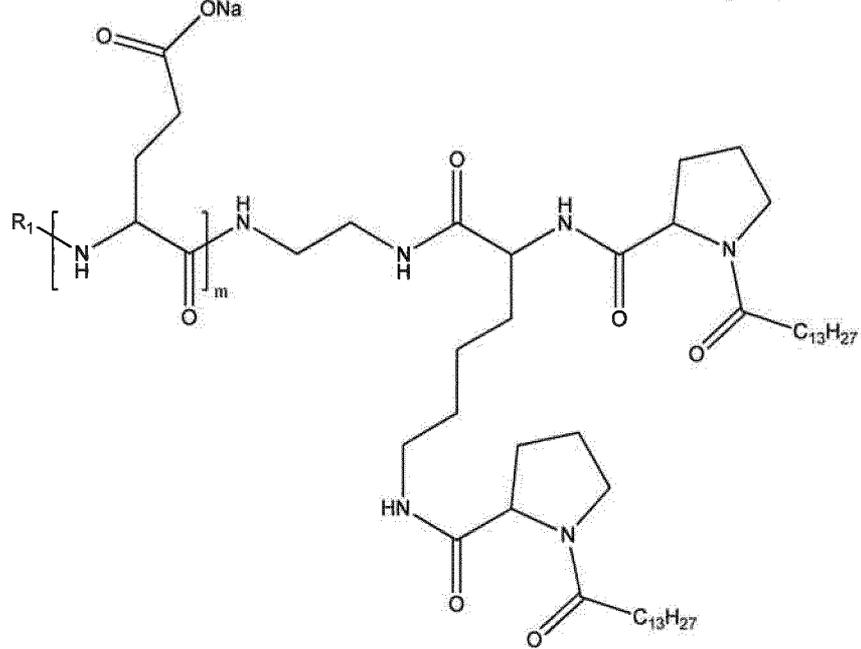
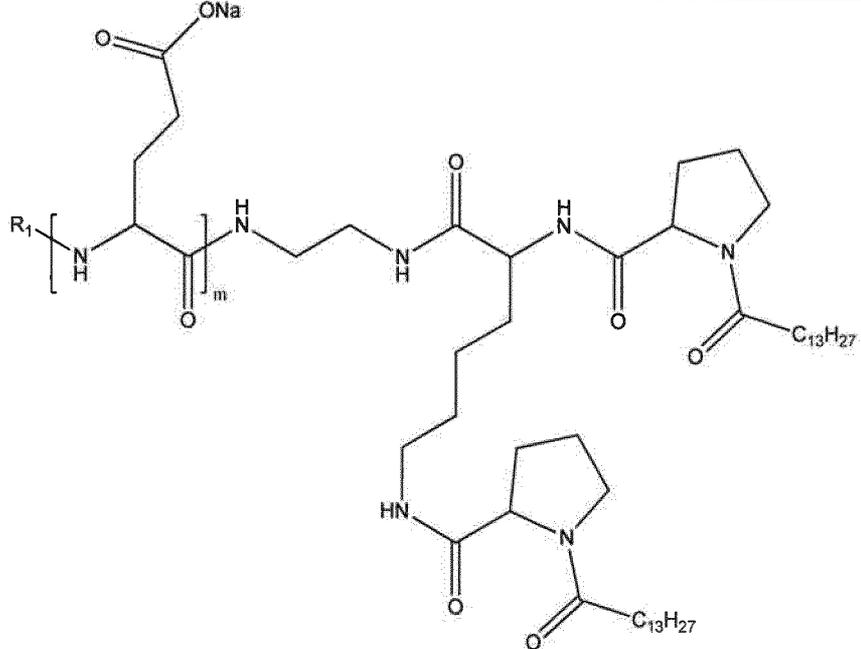
Tableau 1d: liste des co-polyaminoacides synthétisés selon l'invention

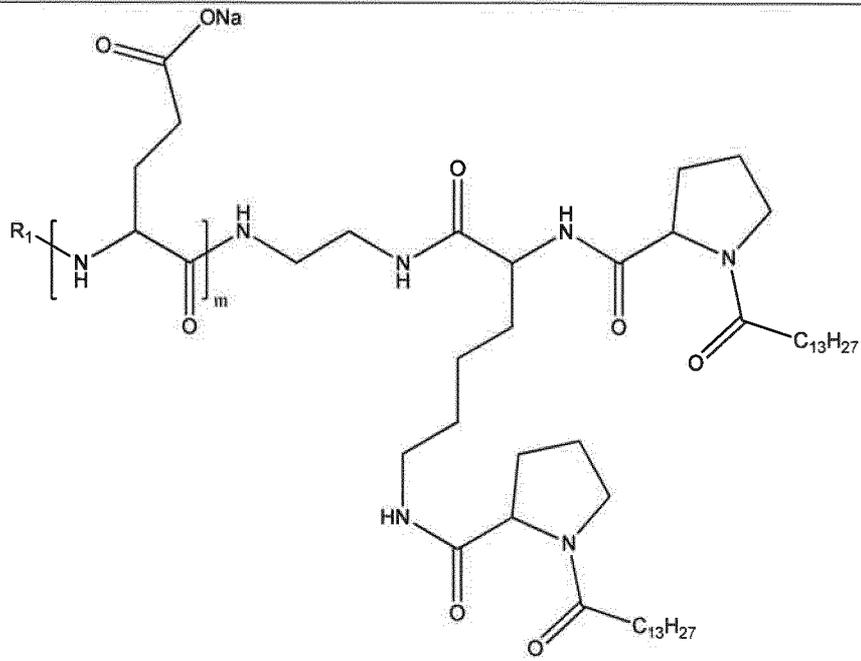
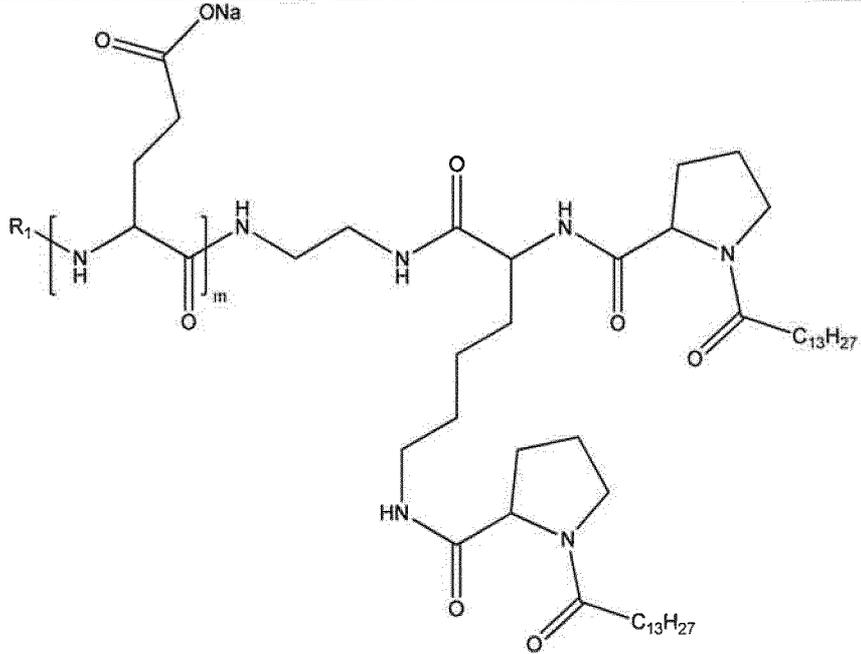
Co-polyaminoacides à greffage défini (formule VII et VIIb)

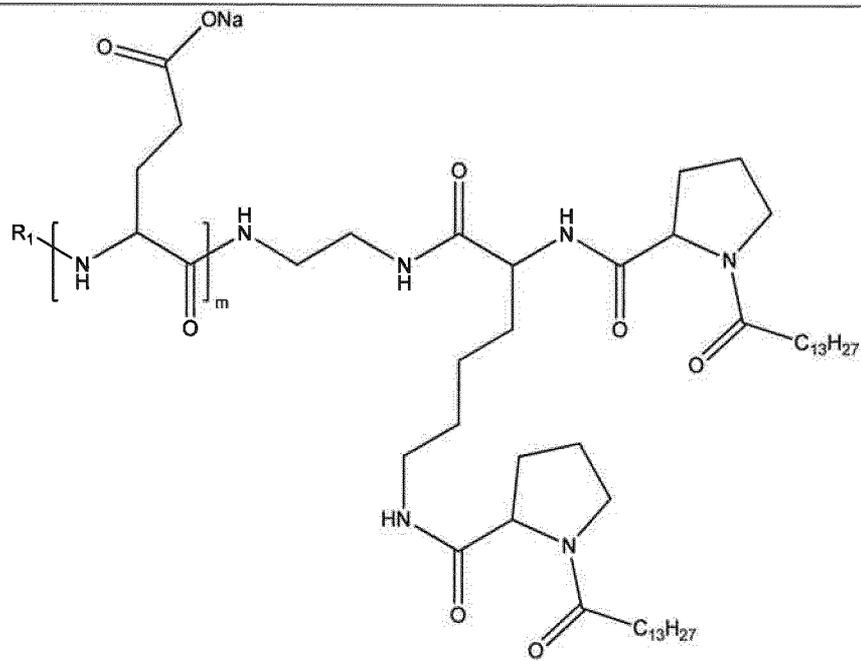
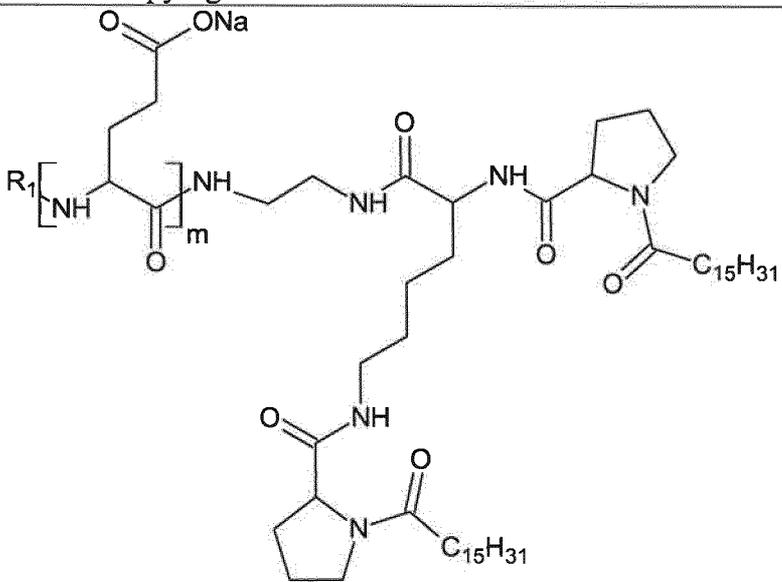
N°	co-polyaminoacides porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes
BB14	 <p><math>i = 0,034, DP(m) = 29</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>
BB15	 <p><math>i = 0,042, DP(m) = 24</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>

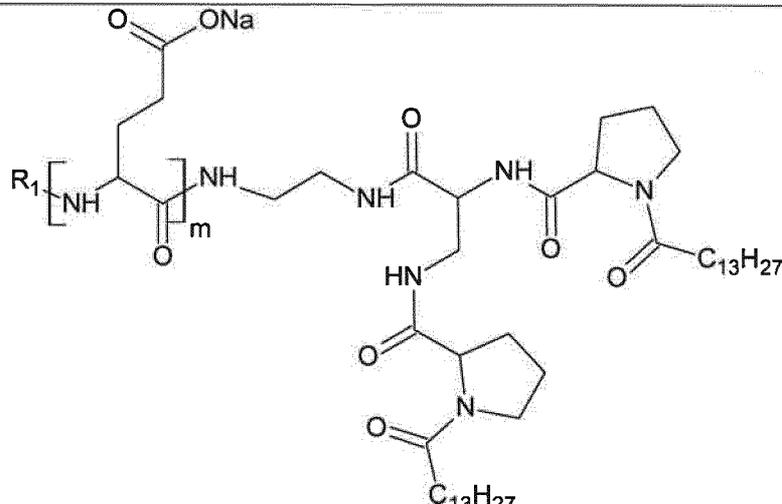
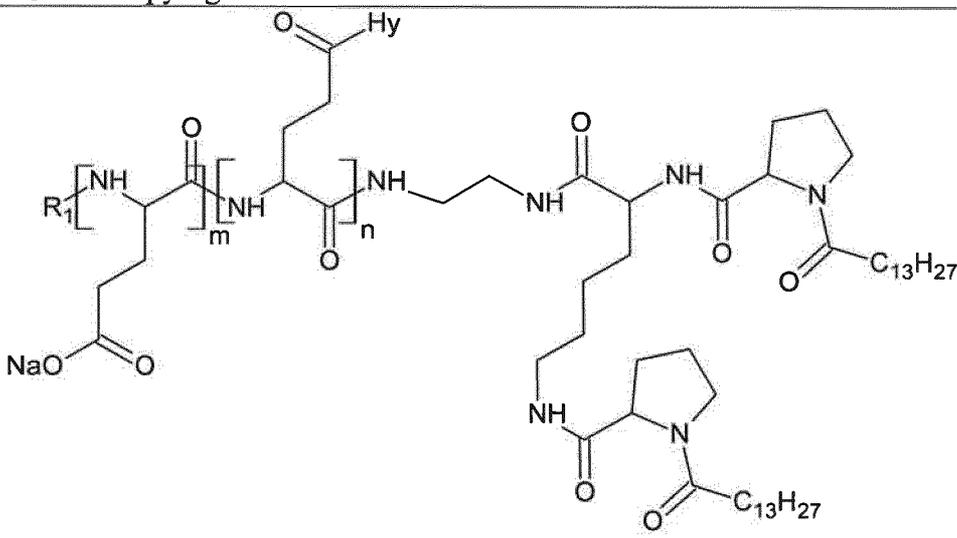
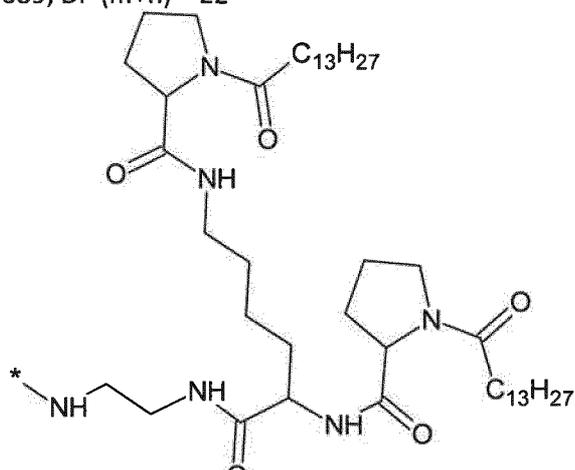
<p><b>BB16</b></p>	 <p><math>i = 0,043, DP (m) = 23</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>
<p><b>BB17</b></p>	 <p><math>i = 0,015, DP (m) = 65</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>

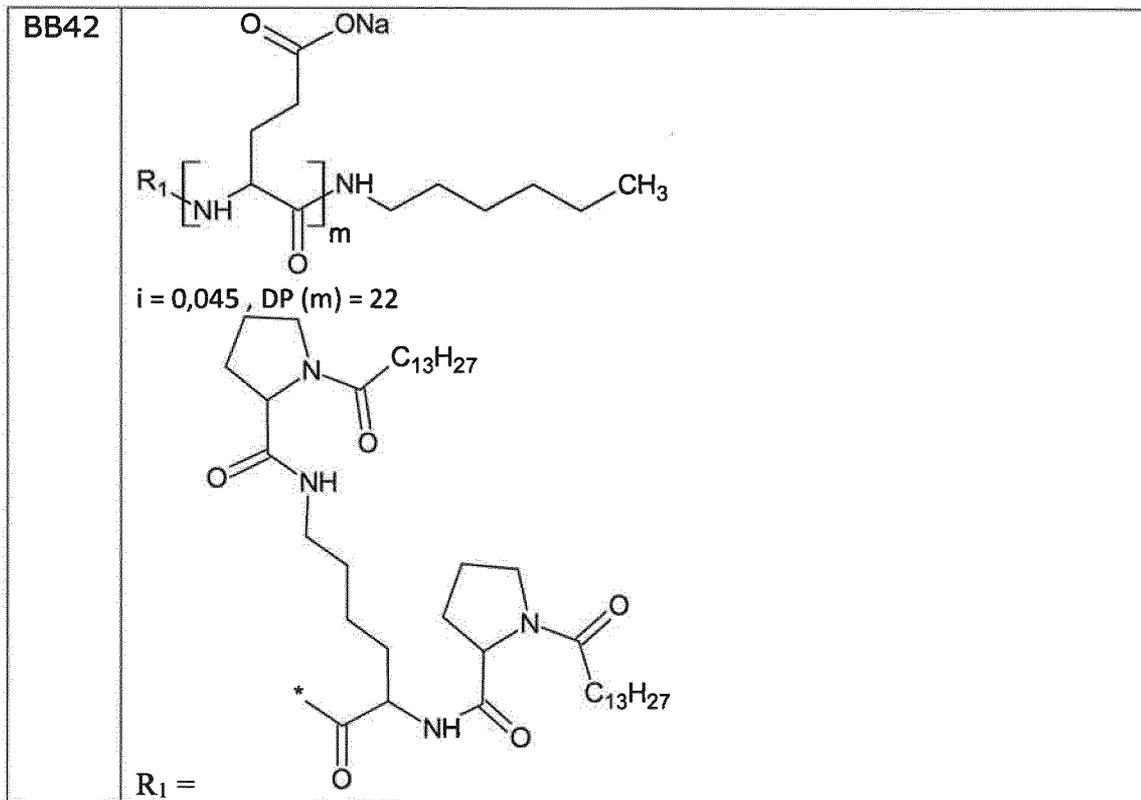
<p><b>BB18</b></p>	 <p><math>i = 0,025, DP (m) = 40</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>
<p><b>BB19</b></p>	 <p><math>i = 0,04, DP (m) = 25</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>

<p>BB20</p>	 <p><math>i = 0,059</math>, DP (m) = 17  <math>R_1 = \text{H}</math> ou pyroglutamate</p>
<p>BB21</p>	 <p><math>i = 0,11</math>, DP (m) = 9  <math>R_1 = \text{H}</math> ou pyroglutamate</p>

<p>BB22</p>	 <p><math>i = 0,048, DP (m) = 21</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>
<p>BB23</p>	 <p><math>i = 0,048, DP (m) = 21</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>

<p>BB24</p>	 <p><math>i = 0,040, DP (m) = 25</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>
<p>BB25</p>	 <p><math>i = 0,043, DP (m) = 23</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>

<p>BB26</p>	 <p><math>i = 0,048, DP(m) = 21</math>  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>
<p>BB27</p>	 <p><math>i = 0,089, DP(m+n) = 22</math></p>  <p>Hy =  <math>R_1 = H</math> ou pyroglutamate</p>



<p>BB43</p>	<p><math>i = 0,09</math> DP (m) = 22</p> <p><math>R_1 =</math></p>
<p>BB44</p>	<p><math>i = 0,04</math>, DP (m) = 25</p> <p><math>R_1 = \text{H ou pyroglutamate}</math></p>

Tableau 1e : liste des co-polyaminoacides synthétisés selon l'invention.

Exemple BB1 : Co-polyaminoacide BB1 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 2400 g/mol

[000656] Co-polyaminoacide BB1-1 : acide poly-L-glutamique de masse molaire  
5 moyenne en nombre (Mn) relative 3860 g/mol issu de la polymérisation du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride initiée par l'hexylamine.

[000657] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve est placé sous vide du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride (90,0 g, 342 mmol) pendant 30 min, puis du DMF anhydre (465 mL) est introduit. Le mélange est alors agité sous argon jusqu'à  
10 complète dissolution, refroidi à 4°C, puis de l'hexylamine (1,8 mL, 14 mmol) est introduite rapidement. Le mélange est agité entre 4°C et température ambiante pendant 2 jours. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 65°C pendant 4 h, refroidi à température ambiante puis coulé goutte à goutte dans du diisopropyléther froid (6 L) sous agitation. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé avec du  
15 diisopropyléther (500 mL puis 250 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamique) (PBLG).

[000658] A une solution de PBLG (42,1 g) dans l'acide trifluoroacétique (TFA, 325 mL) à 4°C est ajoutée goutte à goutte une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans l'acide acétique (135 mL, 0,77 mol). Le mélange est agité à température ambiante  
20 pendant 2 h, puis coulé goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau sous agitation (1,6 L). Après 1 h 30 d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (200 mL).

[000659] Le solide obtenu est alors solubilisé dans de l'eau (1 L) en ajustant le pH à  
25 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Après solubilisation, la concentration théorique est ajustée à 25 g/L théorique par addition d'eau pour obtenir un volume final de 1,5 L.

[000660] La solution est filtrée sur filtre 0,45  $\mu$ m puis purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9%, puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50  $\mu$ S/cm.  
30

[000661] La solution aqueuse est alors acidifiée par ajout de solution d'acide chlorhydrique 37% jusqu'à atteindre un pH de 2. Après 4 h d'agitation, le précipité obtenu est filtré puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 3860 g/mol par rapport à un standard de  
35 polyoxyéthylène (PEG).

## Co-polyaminoacide BB1

[000662] Le co-polyaminoacide BB1-1 (10,0 g) est solubilisé dans le DMF (700 mL) à 30-40°C puis refroidi à 0°C. Le sel de chlorhydrate de la molécule BA2 (2,95 g, 3,8 mmol) est mis en suspension dans du DMF (45 mL) et de la triéthylamine (0,39 g, 3,8 mmol) est ensuite ajoutée à cette suspension puis le mélange est légèrement chauffé sous agitation jusqu'à complète dissolution. A la solution de co-polyaminoacide à 0°C, de la N-méthylmorpholine (NMM, 7,6 g, 75 mmol) dans le DMF (14 mL) et du chloroformate d'éthyle (ECF, 8,1 g, 75 mmol) sont ajoutés. Après 10 min à 0°C, la solution de molécule BA2 est ajoutée et le milieu maintenu à 30°C durant 1 h. Le milieu réactionnel est coulé goutte-à-goutte sur 6 L d'eau contenant du chlorure de sodium à 15% massique et du HCl (pH 2), puis laissé reposer une nuit. Le précipité est collecté par filtration, lavé par la solution de chlorure de sodium à pH 2 (1L) et séché sous vide pendant environ 1 h. Le solide blanc obtenu est repris dans de l'eau (600 mL) et le pH est ajusté à 7 par ajout lent d'une solution aqueuse de NaOH 1 N. Le volume est ajusté à 700 mL par ajout d'eau. Après filtration sur filtre 0,45 µm, la solution limpide obtenue est purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau, jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. Après déchargement, la solution est filtrée sur filtre 0,2 µm et stockée à 2-8°C.

- [000663] Extrait sec : 19,7 mg/g.
- [000664] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 23.
- [000665] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,05.
- [000666] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB1 est de 4350 g/mol.
- [000667] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 2400 g/mol.

25

Exemple BB2 : co-polyaminoacide BB2 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 4900 g/mol

- [000668] Un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 4100 g/mol (5,0 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1 est solubilisé dans le DMF (205 mL) à 30-40°C puis maintenu à cette température. En parallèle, le sel de chlorhydrate de la molécule BA2 (1,44 g, 1,84 mmol) est mis en suspension dans du DMF (10 mL) et de la triéthylamine (0,19 g, 1,84 mmol) est ajoutée, puis le mélange est légèrement chauffé sous agitation jusqu'à complète dissolution. A la solution de co-polyaminoacide dans le DMF, de la NMM (3,7 g, 36,7 mmol), la solution de molécule BA2 puis de la N-oxyde de 2-hydroxypyridine (HOPO, 0,31 g, 2,76 mmol) sont ajoutées successivement. Le milieu réactionnel est alors refroidi à 0°C, puis du EDC (0,53 g, 2,76 mmol) est ajouté et le milieu est remonté à température ambiante durant 3 h. Le milieu réactionnel est coulé

30  
35

au goutte-à-goutte sur 1,55 L d'eau contenant du NaCl à 15% massique et du HCl (pH 2) sous agitation. A la fin de l'ajout, le pH est réajusté à 2 avec une solution de HCl 1 N, et la suspension est laissée reposer une nuit. Le précipité est collecté par filtration, puis rincé par 100 mL d'eau. Le solide blanc obtenu est solubilisé dans 200 mL d'eau  
5 par ajout lent d'une solution aqueuse de NaOH 1 N jusqu'à pH 7 sous agitation, puis la solution est filtrée sur filtre 0,45 µm. La solution limpide obtenue est purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau, jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. La solution obtenue est filtrée sur filtre 0,2 µm et stockée à 2-8°C.

10 [000669] Extrait sec : 16,3 mg/g.

[000670] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 21.

[000671] D'après la RMN <sup>1</sup>H : li = 0,047.

[000672] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB2 est de 3932 g/mol.

15 [000673] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 4900 g/mol.

Exemple BB3 : Co-polyaminoacide BB3 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 6400 g/mol

20 [000674] Co-polyaminoacide BB3-1 : acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 17500 g/mol issu de la polymérisation du γ-méthyl-L-glutamate N-carboxyanhydride initiée par la L-leucinamide.

[000675] Un acide poly-L-glutamique de masse moyenne en nombre (Mn) 17500 g/mol relative à un standard polymétacrylate de méthyle (PMMA) est obtenu par polymérisation du γ-méthyl N-carboxyanhydride d'acide glutamique en utilisant la L-leucinamide comme initiateur et en effectuant une déprotection des esters méthyliques  
25 par utilisation d'une solution d'acide chlorhydrique à 37% selon le procédé décrit dans la demande de brevet FR-A-2 801 226.

[000676] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA2 (3,23 g, 4,1 mmol)  
30 et au co-polyaminoacide BB3-1 (11 g), un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 est obtenu.

[000677] Extrait sec : 27,5 mg/g.

[000678] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 34.

[000679] D'après la RMN <sup>1</sup>H : li = 0,049.

35 [000680] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB3 est de 6405 g/mol.

[000681] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 6400 g/mol.

Exemple BB4 : co-polyaminoacide BB4 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 10500 g/mol [000682] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel de chlorhydrate de la molécule BA2 (5 g, 6,35 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre Mn = 10800 g / mol (21,7 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 est obtenu.

[000683] Extrait sec : 28,2 mg/g.

10 [000684] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 65.

[000685] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,04.

[000686] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB4 est de 11721 g/mol.

[000687] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 10500 g/mol.

15

Exemple BB5 : Co-polyaminoacide BB5 - poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 3600 g/mol

20 [000688] Co-polyaminoacide BB5-1 : acide poly-L-glutamique de Mn 3700 g/mol issu de la polymérisation du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride initiée par l'hexylamine et cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle.

[000689] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve est placé sous vide du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride (100,0 g, 380 mmol) pendant 30 minutes puis du DMF anhydre (250 mL) est introduit. Le mélange est alors agité sous argon jusqu'à 25 complète dissolution, refroidi à 4°C, puis de l'hexylamine (2,3 mL, 17 mmol) est introduite rapidement. Le mélange est agité entre 4°C et température ambiante pendant 2 jours puis précipité dans du diisopropyléther (3,4 L). Le précipité est récupéré par filtration, lavé deux fois avec du diisopropyléther (225 mL) puis séché pour donner un solide blanc qui est dissout dans 450 mL de THF. A cette solution sont ajoutés 30 successivement de la N,N-diisopropyléthylamine (DIPEA, 31 mL, 176 mmol) puis de l'anhydride acétique (17 mL, 176 mmol). Après une nuit d'agitation à température ambiante, la solution est versée lentement dans du diisopropyléther (3 L) sur une durée de 30 min et sous agitation. Après 1 h d'agitation, le précipité est filtré, lavé deux fois avec du diisopropyléther (200 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide 35 poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamique) cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle.

[000690] A une solution du co-polyaminoacide cappé (72 g) dans l'acide trifluoroacétique (TFA, 335 mL) à 4°C est ajoutée goutte à goutte une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans l'acide acétique (235 mL, 1,34 mol). Le mélange est

agité à température ambiante pendant 3 h 30, puis coulé goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau sous agitation (4 L). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (340 mL) puis avec de l'eau (340 mL). Le solide obtenu est alors solubilisé dans de l'eau (1,5 L) en ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Après solubilisation, la concentration théorique est ajustée à 20 g/L théorique par addition d'eau pour obtenir un volume final de 2,1 L. La solution est filtrée sur filtre 0,45 µm puis purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9%, puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée jusqu'à obtenir un volume final de 1,8 L. La solution aqueuse est alors acidifiée par ajout de solution d'acide chlorhydrique 37% jusqu'à atteindre un pH de 2. Après 4 h d'agitation, le précipité obtenu est filtré, lavé avec de l'eau (330 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 3700 g/mol par rapport à un standard de polyoxyéthylène (PEG).

#### Co-polyaminoacide BB5

[000691] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA2 (6,92 g, 8,8 mmol) et au co-polyaminoacide BB5-1 (30,0 g), un poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA2 est obtenu.

[000692] Extrait sec : 29,4 mg/g.

[000693] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 23.

25 [000694] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,042.

[000695] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB5 est de 4302 g/mol.

[000696] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 3600 g/mol.

30 Exemple BB6 : Co-polyaminoacide BB6 - poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 4100 g/mol

[000697] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA2 (5,8 g, 7,4 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre Mn = 3800 g / mol (25 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB5-1 en utilisant l'ammoniac à la place de l'hexylamine, un poly-L-

- glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA2 est obtenu.
- [000698] Extrait sec : 27,6 mg/g.
- [000699] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 24.
- 5 [000700] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,04$ .
- [000701] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB6 est de 4387 g/mol.
- [000702] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 4100$  g/mol.
- 10 Exemple BB7 : Co-polyaminoacide BB7 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 4200 g/mol
- [000703] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA2 (7,07 g, 9,0 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre  $M_n = 3600$  g /
- 15 mol (30,0 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 est obtenu.
- [000704] Extrait sec : 28,3 mg/g.
- [000705] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 22.
- 20 [000706] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,042$ .
- [000707] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB7 est de 4039 g/mol.
- [000708] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 4200$  g/mol.
- 25 Exemple BB8 : co-polyaminoacide BB8 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 5200 g/mol
- [000709] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA2 (0,85 g, 1,1 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre  $M_n = 4100$  g /
- 30 mol (5,0 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA2 est obtenu.
- [000710] Extrait sec : 28,6 mg/g.
- [000711] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 21.
- 35 [000712] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,026$ .
- [000713] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB8 est de 3620 g/mol.
- [000714] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 5200$  g/mol.

Exemple BB9 : co-polyaminoacide BB9 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 4700 g/mol [000715] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA3 (3,05 g, 3,6 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre Mn = 4100 g / mol (10,0 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA3 est obtenu.

- 10 [000716] Extrait sec : 28,6 mg/g.  
[000717] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 26.  
[000718] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,05.  
[000719] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB9 est de 4982 g/mol.
- 15 [000720] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 4700 g/mol.

Exemple BB10 : co-polyaminoacide BB10 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 4200 g/mol [000721] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA3 (1,90 g, 2,3 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre Mn = 3500 g / mol (10,0 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA3 est obtenu.

- 25 [000722] Extrait sec : 25,9 mg/g.  
[000723] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 22.  
[000724] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,029.  
[000725] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB10 est de 3872 g/mol.
- 30 [000726] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 4200 g/mol.

Exemple BB11 : co-polyaminoacide BB11 - poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA4 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 3900 g/mol

- 35 [000727] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA4 (2,21 g, 2,2 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse moyenne en nombre Mn = 3700 g / mol (10 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-

polyaminoacide BB5-1, un poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA4 est obtenu.

[000728] Extrait sec : 28,1 mg/g.

[000729] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 22.

5 [000730] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,032$ .

[000731] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB11 est de 4118 g/mol.

[000732] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3900$  g/mol.

10 Exemple BB12 : co-polyaminoacide BB12 - poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 3900 g/mol

[000733] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA3 (1,9 g, 2,3 mmol)

15 et à un acide poly-L-glutamique de masse moyenne en nombre  $M_n = 3600$  g / mol (10 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB5-1, un poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la molécule BA3 est obtenu.

[000734] Extrait sec : 26,7 mg/g.

20 [000735] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 23.

[000736] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,03$ .

[000737] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB12 est de 4145 g/mol.

[000738] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3900$  g/mol.

25

Exemple BB13 : co-polyaminoacide BB13 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA1 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 2800 g/mol

[000739] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1 appliqué au sel de chlorhydrate de la molécule BA1 (3,65 g, 5

30 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre  $M_n = 3600$  g / mol (10 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par la molécule BA1 est obtenu.

[000740] Extrait sec : 25,6 mg/g.

35 [000741] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 25.

[000742] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,08$ .

[000743] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB13 est de 5253 g/mol.

[000744] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 2800$  g/mol.

[000745] Exemple BB14 : co-polyaminoacide BB14 - poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA2 et ayant une masse molaire  
5 moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 4020 g/mol

[000746] Dans un contenant adapté sont introduits successivement le sel de chlorhydrate de la molécule BA2 (2,12 g, 2,70 mmol), du chloroforme (40 mL), du tamis moléculaire 4Å (1,5 g), ainsi que de la résine échangeuse d'ion Amberlite IRN 150 (1,5 g). Après 1 h d'agitation sur rouleaux, le milieu est filtré et la résine est rincée avec du  
10 chloroforme. Le mélange est évaporé puis co-évaporé avec du toluène. Le résidu est solubilisé dans du DMF anhydre (20 mL) pour être utilisé directement dans la réaction de polymérisation.

[000747] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve, du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (18 g, 68,42 mmol) est placé sous vide pendant 30 min puis du DMF  
15 anhydre (100 mL) est introduit. Le mélange est agité sous argon jusqu'à solubilisation complète, refroidi à 4°C, puis la solution de molécule BA2 préparée comme décrit précédemment est introduite rapidement. Le mélange est agité entre 4°C et température ambiante pendant 2 jours, puis chauffé à 65°C pendant 2 h. Le mélange réactionnel est alors refroidi à température ambiante puis versé goutte à goutte dans  
20 du diisopropyléther (1,2 L) sous agitation. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé deux fois avec du diisopropyléther (100 mL) puis séché sous vide à 30°C pour obtenir un solide blanc. Le solide est dilué dans du TFA (105 mL), et une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans de l'acide acétique (38 mL, 220 mmol) est alors ajoutée goutte à goutte et à 0°C. La solution est agitée pendant 2 h à température  
25 ambiante puis est coulée goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther / eau et sous agitation (600 mL). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé successivement avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (200 mL) puis avec de l'eau (100 mL). Le solide obtenu est solubilisé dans de l'eau (450 mL) en  
30 ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Le mélange est filtré sur filtre 0,45  $\mu$ m puis est purifié par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50  $\mu$ S/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée à environ 30 g/L théorique et le pH est ajusté à 7,0. La solution  
35 aqueuse est filtrée sur 0,2  $\mu$ m et conservée à 4°C.

[000748] Extrait sec : 22,3 mg/g.

[000749] DP (estimé par RMN  $^1$ H) = 29 donc  $i = 0,034$ .

[000750] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB14 est de 5089 g/mol.

[000751] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 4020 g/mol.

5 Exemple BB15 : co-polyaminoacide BB15 - poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 3610 g/mol

[000752] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA3 (3,62 g, 4,32  
10 mmol) et à 25,0 g (94,97 mmol) de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride, un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 est obtenu.

[000753] Extrait sec : 26,5 mg/g.

[000754] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 24 donc  $i = 0,042$ .

[000755] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB15 est de  
15 4390 g/mol.

[000756] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 3610 g/mol.

Exemple BB16 : co-polyaminoacide BB16 - poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA4 et ayant une masse molaire moyenne en nombre  
20 (Mn) de 3300 g/mol

[000757] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA4 (5,70 g, 5,70  
mmol) et à 29,99 g (113,9 mmol) de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride, un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA4 est  
25 obtenu.

[000758] Extrait sec : 32,3 mg/g.

[000759] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 23 donc  $i = 0,043$ .

[000760] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB16 est de  
30 4399 g/mol.

[000761] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 3300 g/mol.

Exemple BB17 : co-polyaminoacide BB17 - poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre de 10700 g/mol

35 [000762] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA3 (2,51 g, 3 mmol) et à 52,7 g (200 mmol) de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride, un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 est obtenu.

[000763] Extrait sec : 24,5 mg/g.

[000764] DP (estimé par RMN <sup>1</sup>H) = 65 donc  $i = 0,015$ .

[000765] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB17 est de 10585 g/mol.

5 [000766] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 10700$  g/mol.

Exemple BB18 : co-polyaminoacide BB18 - poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre de 6600 g/mol

10 [000767] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA3 (2,51 g, 3 mmol) et à 31,6 g (120 mmol) de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride, un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 est obtenu.

[000768] Extrait sec : 27,3 mg/g.

15 [000769] DP (estimé par RMN <sup>1</sup>H) = 40 donc  $i = 0,025$ .

[000770] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB18 est de 6889 g/mol.

[000771] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 6600$  g/mol.

20 **Exemple BB19 : co-polyaminoacide BB19 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 3400 g/mol**

[000772] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule BA3 (36,26 g, 43,2 mmol) et de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride (250,0 g, 949,7 mmol), un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 est obtenu.

25 [000773] Extrait sec : 22,4 mg/g

[000774] DP (estimé par RMN <sup>1</sup>H) = 25 donc  $i = 0,04$

30 [000775] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB19 est de 4540 g/mol.

[000776] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3400$  g/mol.

35 **Exemple BB20 : co-polyaminoacide BB20 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 2500 g/mol**

[000777] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué à la molécule BA3 sous forme d'amine libre (1,017 g,

12,7 mmol) et de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride (5,0 g, 19,0 mmol), un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 est obtenu.

[000778] Extrait sec : 11,2 mg/g

5 [000779] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 17 donc  $i = 0,059$

[000780] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB20 est de 3332 g/mol.

[000781] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 2500$  g/mol.

10 **Exemple BB21 : co-polyaminoacide BB21 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 1100 g/mol**

[000782] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué à la molécule BA3 sous forme d'amine libre (3,814 g, 4,75 mmol) et de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride (10,0 g, 38,0 mmol), un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 est obtenu.

[000783] Extrait sec : 16,1 mg/g

[000784] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 9 donc  $i = 0,11$

20 [000785] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB21 est de 2123 g/mol.

[000786] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 1100$  g/mol.

25 **Exemple BB22 : co-polyaminoacide BB22 - poly-D-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 2900 g/mol**

[000787] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué à la molécule BA3 sous forme d'amine libre (2,77 g, 3,45 mmol) et de  $\gamma$ -benzyl-D-glutamate N-carboxyanhydride (20,0 g, 76,0 mmol), un poly-D-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 est obtenu.

[000788] Extrait sec : 15,2 mg/g

[000789] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 21 donc  $i = 0,048$

[000790] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB22 est de 3936 g/mol.

35 [000791] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 2900$  g/mol.

**Exemple BB23 : co-polyaminoacide BB23 – copolymère aléatoire d'unité D- ou L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 2800 g/mol**

5 [000792] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve, du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (20,0 g, 76,00 mmol) et du  $\gamma$ -benzyl-D-glutamate *N*-carboxyanhydride (20,0 g, 76,00 mmol) sont placés sous vide pendant 30 min puis du DMF anhydre (75 mL) est introduit. Le mélange est agité sous argon jusqu'à solubilisation complète, refroidi à 4°C, puis une solution de molécule BA3 sous forme  
10 d'amine libre (5,55 g, 6,91 mmol) dans le chloroforme (14,5 mL) est introduite rapidement. Le mélange est agité entre 4°C et température ambiante pendant 18 h, puis chauffé à 65°C pendant 2 h. Le mélange réactionnel est alors refroidi à température ambiante puis versé goutte à goutte dans du diisopropyléther (1,2 L) sous agitation. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé trois fois avec du diisopropyléther (80  
15 mL) puis séché sous vide à 30°C pour obtenir un solide blanc. Le solide est dilué dans du TFA (152 mL), et une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans de l'acide acétique (106 mL, 220 mmol) est alors ajoutée goutte à goutte et à 0°C. La solution est agitée pendant 3 h à température ambiante puis est coulée goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther / eau et sous agitation (1,84 L). La phase  
20 aqueuse est séparée dans une ampoule de coulée et le pH est ajusté à 7,2 par ajout d'une solution aqueuse de NaOH 10 N. Après ajout d'eau (250 mL), le mélange est filtré sur filtre 0,45  $\mu$ m puis est purifié par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50  $\mu$ S/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée à environ 25 g/L, filtrée sur  
25 0,2  $\mu$ m et conservée à 4°C.

[000793] Extrait sec : 28,2 mg/g

[000794] DP (estimé par RMN <sup>1</sup>H) = 21 donc  $i = 0,048$

[000795] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB23 est de 3936 g/mol.

30 [000796] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 2800 g/mol.

**Exemple BB24 : co-polyaminoacide BB24 – copolymère à bloc de poly-D-glutamate et poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 2800  
35 g/mol**

[000797] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve, du  $\gamma$ -benzyl-D-glutamate *N*-carboxyanhydride (13,5 g, 51,3 mmol) est placé sous vide pendant 30 min puis du DMF anhydre (52 mL) est introduit. Le mélange est agité sous argon jusqu'à solubilisation

complète, refroidi à 0°C, puis une solution de molécule BA3 sous forme d'amine libre (3,43 g, 4,27 mmol) dans du chloroforme (8,6 mL) est introduite rapidement. Le mélange est agité à 0°C pendant 24 h, puis une solution de  $\gamma$ -*tert*-butyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (13,5 g, 58,9 mmol) dans le DMF (15 mL) est ajoutée. Le mélange  
5 est alors agité entre 0°C et température ambiante pendant 21 h, puis chauffé à 65°C pendant 2 h. Le mélange réactionnel est alors refroidi à température ambiante puis versé goutte à goutte dans du diisopropyléther (0,8 L) sous agitation. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé trois fois avec du diisopropyléther (52 mL) puis séché sous vide à 30°C pour obtenir un solide blanc. Le solide est dilué dans du TFA (96 mL),  
10 et une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans de l'acide acétique (68 mL, 388 mmol) est alors ajoutée goutte à goutte et à 0°C. La solution est agitée pendant 2 h à température ambiante puis est coulée goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther / eau et sous agitation (1,2 L). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par  
15 filtration, lavé successivement avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (100 mL) puis avec de l'eau (100 mL). Le solide obtenu est solubilisé dans de l'eau (900 mL) en ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Le mélange est filtré sur filtre 0,45  $\mu$ m puis est purifié par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau jusqu'à ce que la  
20 conductimétrie du perméat soit inférieure à 50  $\mu$ S/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée à environ 20 g/L théorique et le pH est ajusté à 7,0. La solution aqueuse est filtrée sur 0,2  $\mu$ m et conservée à 4°C.

[000798] Extrait sec : 23,9 mg/g

[000799] DP (estimé par RMN  $^1$ H) = 25 donc  $i = 0,04$

25 [000800] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB24 est de 4541 g/mol.

[000801] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 2800$  g/mol.

**Exemple BB25 : co-polyaminoacide BB25 - poly-L-glutamate de sodium modifié  
30 à l'une de ses extrémités par la molécule BA5 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 2800 g/mol**

[000802] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué à la molécule BA5 sous forme d'amine libre (1,70 g, 1,98 mmol) et de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (11,46 g, 43,5 mmol), un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA5 est obtenu.  
35

[000803] Extrait sec : 19,8 mg/g

[000804] DP (estimé par RMN  $^1$ H) = 23 donc  $i = 0,043$

[000805] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB25 est de 4295 g/mol.

[000806] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 2800 g/mol.

5 **Exemple BB26 : co-polyaminoacide BB26 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA6 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 2900 g/mol**

[000807] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué à la molécule BA6 sous forme d'amine libre (3,05 g, 4,01  
10 mmol) et de  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (22,78 g, 86,5 mmol), un poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA6 est obtenu.

[000808] Extrait sec : 16,9 mg/g

[000809] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 21 donc  $i = 0,048$

[000810] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB26 est de  
15 3894 g/mol.

[000811] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 2900 g/mol.

20 **Exemple BB27 : co-polyaminoacide BB27 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et modifié par la molécule BA3 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 2300 g/mol**

[000812] Co-polyaminoacide BB27-1 : acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 3600 g/mol modifié à une de ses extrémités par la molécule BA3 et cappé à l'autre extrémité par l'acide pidolique.

[000813] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve, du  $\gamma$ -benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (122,58 g, 466 mmol) est placé sous vide pendant 30 min puis du DMF anhydre (220 mL) est introduit. Le mélange est agité sous argon jusqu'à solubilisation complète, refroidi à  $-10^\circ\text{C}$ , puis une solution de molécule BA3 sous forme d'amine libre (17,08 g, 21,3 mmol) dans le chloroforme (40 mL) est introduite  
25 rapidement. Le mélange est agité entre  $0^\circ\text{C}$  et température ambiante pendant 2 jours, puis chauffé à  $65^\circ\text{C}$  pendant 4 h. Le mélange réactionnel est alors refroidi à  $25^\circ\text{C}$  puis  
30 est ajouté de l'acide pidolique (13,66 g, 105,8 mmol), du HOBt (2,35 g, 15,3 mmol) et de l'EDC (20,28 g, 105,8 mmol). Après 24 h d'agitation à  $25^\circ\text{C}$ , la solution est concentrée sous vide pour éliminer le chloroforme et 50% du DMF. Le mélange réactionnel est alors chauffé à  $55^\circ\text{C}$  et 1150 mL de méthanol sont introduit en 1 h. Le  
35 mélange réactionnel est alors refroidi à  $0^\circ\text{C}$ . Après 18 h, le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé trois fois avec 270 mL de diisopropyl éther puis séché sous vide à  $30^\circ\text{C}$  pour obtenir un solide blanc. Le solide est dilué dans du TFA (390 mL), et une solution d'acide bromhydrique (HBr) à 33% dans de l'acide acétique (271 mL, 1547

mmol) est alors ajoutée goutte à goutte et à 0°C. La solution est agitée pendant 2 h à température ambiante puis est coulée goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther / eau et sous agitation (970 mL). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé successivement avec du diisopropyl éther (380 mL) puis deux fois avec de l'eau (380 mL). Le solide obtenu est solubilisé dans de l'eau (3,6 L) en ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Le mélange est filtré sur filtre 0,45 µm puis est purifié par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9%, une solution de NaOH 0,1 N, une solution de NaCl 0,9%, une solution de tampon phosphate (150mM), une solution de NaCl 0,9% puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. La solution de co-polyaminoacide est ensuite concentrée à environ 30 g/L théorique, filtrée sur 0,2 µm puis acidifié à pH 2 sous agitation par addition d'une solution de HCl à 37%. Le précipité est alors récupéré par filtration, lavé deux fois avec de l'eau puis séché sous vide à 30°C pour obtenir un solide blanc.

#### Co-polyaminoacide BB27

[000814] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB2 appliqué à la molécule BA3 sous forme d'amine libre (1,206 g, 1,50 mmol) et au co-polyaminoacide BB27-1 (5,5 g, 33,4 mmol), un poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et modifié par la molécule BA3 est obtenu.

[000815] Extrait sec : 19,0 mg/g

[000816] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 22

25 [000817] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,089

[000818] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB27 est de 4826 g/mol.

[000819] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 2300 g/mol.

#### 30 **Exemple BB42 : co-polyaminoacide BB42 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule B8 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 3200 g/mol**

[000820] A une solution de molécule B8 (2,366 g, 3,11 mmol) dans le DMF (19,5 mL) sont introduits du DCC (0,659 g, 3,19 mmol) et du NHS (0,365 g, 3,17 mmol).  
35 Après 16 h d'agitation à température ambiante, la solution est filtrée pour être utilisée directement dans la réaction suivante.

[000821] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve, du γ-benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (18,0 g, 68,4 mmol) est placé sous vide pendant 30 min puis du DMF

anhydre (40 mL) est introduit. Le mélange est alors agité sous argon jusqu'à complète dissolution, refroidi à 0°C, puis de l'hexylamine (0,411 mL, 3,11 mmol) est introduit rapidement. Après 30 h d'agitation à 0°C, la solution de molécule B8 préparée précédemment est additionnée. La solution est agitée entre 0°C et température ambiante pendant 72 h puis coulée goutte à goutte dans du diisopropyléther (0,9 L) sous agitation. Le précipité est récupéré par filtration, lavé avec du diisopropyléther (5 fois 100 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un solide blanc. Le solide est dilué dans du TFA (69 mL), puis la solution est refroidie à 4°C. Une solution de HBr à 33% dans l'acide acétique (48 mL, 0,274 mol) est alors ajoutée goutte à goutte. Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 h, puis coulé goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau sous agitation (0,8 L). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (70 mL) puis avec de l'eau (70 mL). Le solide obtenu est alors solubilisé dans de l'eau (0,42 L) en ajustant le pH à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Après solubilisation, la concentration théorique est ajustée à 20 g/L théorique par addition d'eau pour obtenir un volume final de 0,63 L. La solution est filtrée sur filtre 0,45 µm puis purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9%, puis de l'eau jusqu'à ce que la conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. La solution obtenue est filtrée sur filtre 0,2 µm et stockée à 2-8°C.

- [000822] Extrait sec : 22,2 mg/g  
[000823] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 22  
[000824] D'après la RMN <sup>1</sup>H : i = 0,045  
25 [000825] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB42 est de 4160 g/mol.  
[000826] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) : Mn = 3200 g/mol.

**Exemple BB43 : co-polyaminoacide BB43 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA3 et à l'autre extrémité par la molécule B8 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 2000 g/mol**

[000827] A une solution de molécule B8 (0,946 g, 1,24 mmol) dans le DMF (8 mL) sont introduits du DCC (0,257 g, 1,24 mmol) et du NHS (0,143 g, 1,24 mmol). Après 16 h d'agitation à température ambiante, la solution est filtrée pour être utilisée directement dans la réaction suivante.

[000828] Dans un ballon préalablement séché à l'étuve, du γ-benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (6,0 g, 22,8 mmol) est placé sous vide pendant 30 min puis du DMF

- anhydre (14 mL) est introduit. Le mélange est alors agité sous argon jusqu'à complète dissolution, refroidi à 0°C, puis une solution de molécule BA3 sous forme d'amine libre (0,832 g, 1,04 mmol) dans le chloroforme (2,0 mL) est introduit rapidement. Après 18 h d'agitation à 0°C, la solution de molécule B8 préparée précédemment est additionnée.
- 5 La solution est agitée entre 0°C et température ambiante pendant 22 h puis coulée goutte à goutte dans du diisopropyléther (0,34 L) sous agitation. Le précipité est récupéré par filtration, lavé avec du diisopropyléther (7 fois 15 mL) puis séché sous vide à 30°C pour donner un solide blanc. Le solide est dilué dans du TFA (23 mL), puis la solution est refroidie à 4°C. Une solution de HBr à 33% dans l'acide acétique (15 mL,
- 10 85,7 mmol) est alors ajoutée goutte à goutte. Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 h, puis coulé goutte à goutte sur un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau sous agitation (0,28 L). Après 2 h d'agitation, le mélange hétérogène est laissé au repos pendant une nuit. Le précipité blanc est récupéré par filtration, lavé deux fois avec un mélange 1:1 (v/v) de diisopropyléther et d'eau (24 mL)
- 15 puis deux fois avec de l'eau (24 mL). Le solide obtenu est alors solubilisé dans de l'eau (0,16 L) en ajustant le pH à 12 par ajout d'une solution aqueuse de soude 10 N puis une solution aqueuse de soude 1 N. Après 30 minutes le pH est ajusté à 7 par ajout lent d'une solution aqueuse de HCl 1 N. La solution est filtrée sur filtre 0,45 µm puis purifiée par ultrafiltration contre une solution de NaCl 0,9%, puis de l'eau jusqu'à ce que la
- 20 conductimétrie du perméat soit inférieure à 50 µS/cm. La solution obtenue est filtrée sur filtre 0,2 µm et stockée à 2-8°C.
- [000829] Extrait sec : 18,9 mg/g
- [000830] DP (estimé d'après la RMN <sup>1</sup>H) : 22
- [000831] D'après la RMN <sup>1</sup>H :  $i_1 = 0,09$
- 25 [000832] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB43 est de 4871 g/mol.
- [000833] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 2000$  g/mol.

30 **Exemple BB44 : co-polyaminoacide BB44 - poly-L-glutamate de sodium modifié à l'une de ses extrémités par la molécule BA7 et ayant une masse molaire moyenne en nombre (Mn) de 3300 g/mol**

- [000834] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB14 appliqué à la molécule BA7 sous forme d'amine libre (4,45 g, 5,18 mmol) et à 30,0 g (113,96 mmol) de γ-benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride, un
- 35 poly-L-glutamate de sodium modifié à une de ses extrémités par la molécule BA7 est obtenu.
- [000835] Extrait sec : 29,0 mg/g
- [000836] DP (estimé par RMN <sup>1</sup>H) = 25 donc  $i = 0,04$

[000837] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide BB44 est de 4597 g/mol.

[000838] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3300$  g/mol.

## 5 Partie CE: co-polyaminoacides contre-exemples

### CEA : Synthèse des molécules hydrophobes contre-exemples

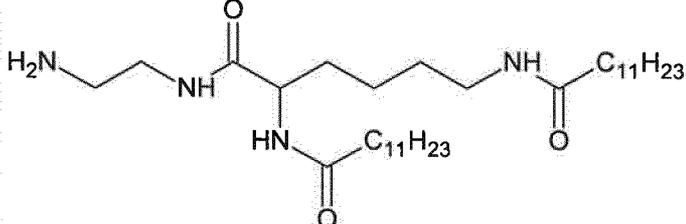
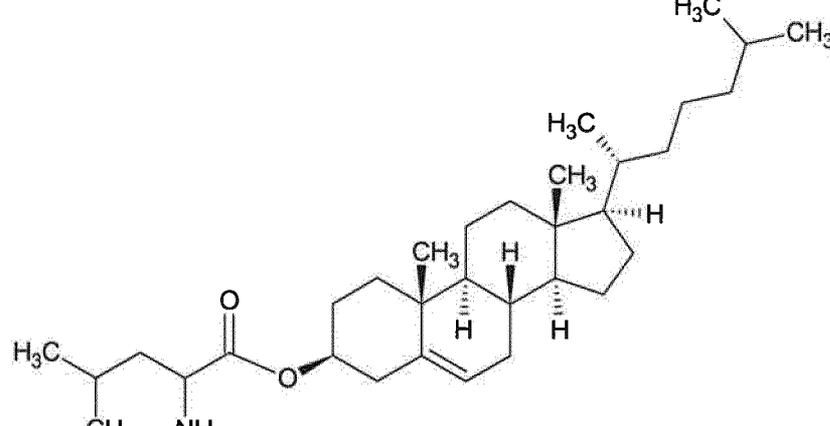
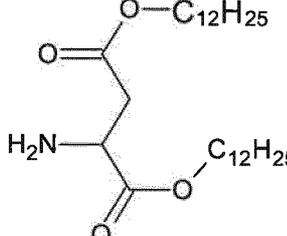
CEA1	
CEA2	
CEA3	

Tableau 1f : molécules hydrophobes contre-exemples

#### Exemple CEA1 : molécule CEA1

10 [000839] Molécule CE1 : produit obtenu par la réaction entre l'acide laurique et la L-lysine.

[000840] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B1 appliqué à l'acide laurique (19,58 g, 97,72 mmol) et à la L-lysine (7,5 g, 51,3 mmol), un solide beige est obtenu.

15 [000841] Rendement : 18,8 g (75%)

[000842] RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , ppm) : 0,85 (6H) ; 1,12-1,78 (42H) ; 1,96-2,16 (4H) ; 2,92-3,07 (2H) ; 4,06-4,20 (1H) ; 7,70 (1H) ; 7,95 (1H) ; 12,40 (1H).

[000843] LC/MS (ESI): 511,5 ; (calculé ( $[M+H]^+$ ): 511,8).

[000844] **Molécule CE2** : produit obtenu par la réaction entre la molécule CE1 et la Boc-éthylènediamine.

5 [000845] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule B3 appliqué à la molécule CE1 (18,70 g, 36,61 mmol), le résidu obtenu après concentration sous pression réduite du milieu réactionnel est trituré dans un mélange acétonitrile/THF (1/1 vol.), filtré et lavé à l'acétonitrile. Après séchage, un solide jaune pâle est obtenu.

[000846] Rendement : 13,7 g (57%)

10 [000847] RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 0,87 (6H) ; 1,09-1,89 (51H) ; 2,08-2,31 (4H) ; 3,13-3,48 (6H) ; 4,35 (1H) ; 5,20 (1H) ; 5,85 (1H) ; 6,46 (1H) ; 6,94 (1H). LC/MS (ESI): 653,5 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 654,0).

Molécule CEA1

15 [000848] Après un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de la molécule BA1 appliqué à la molécule CE2 (22,2 g, 34 mmol), le résidu obtenu après concentration sous vide est recristallisé dans le méthanol à chaud. Après refroidissement à température ambiante, le solide est filtré, lavé avec du méthanol froid puis de l'acétone et séché sous vide pour donner un solide jaune pâle.

20 [000849] Rendement : 16,3 g (81%).

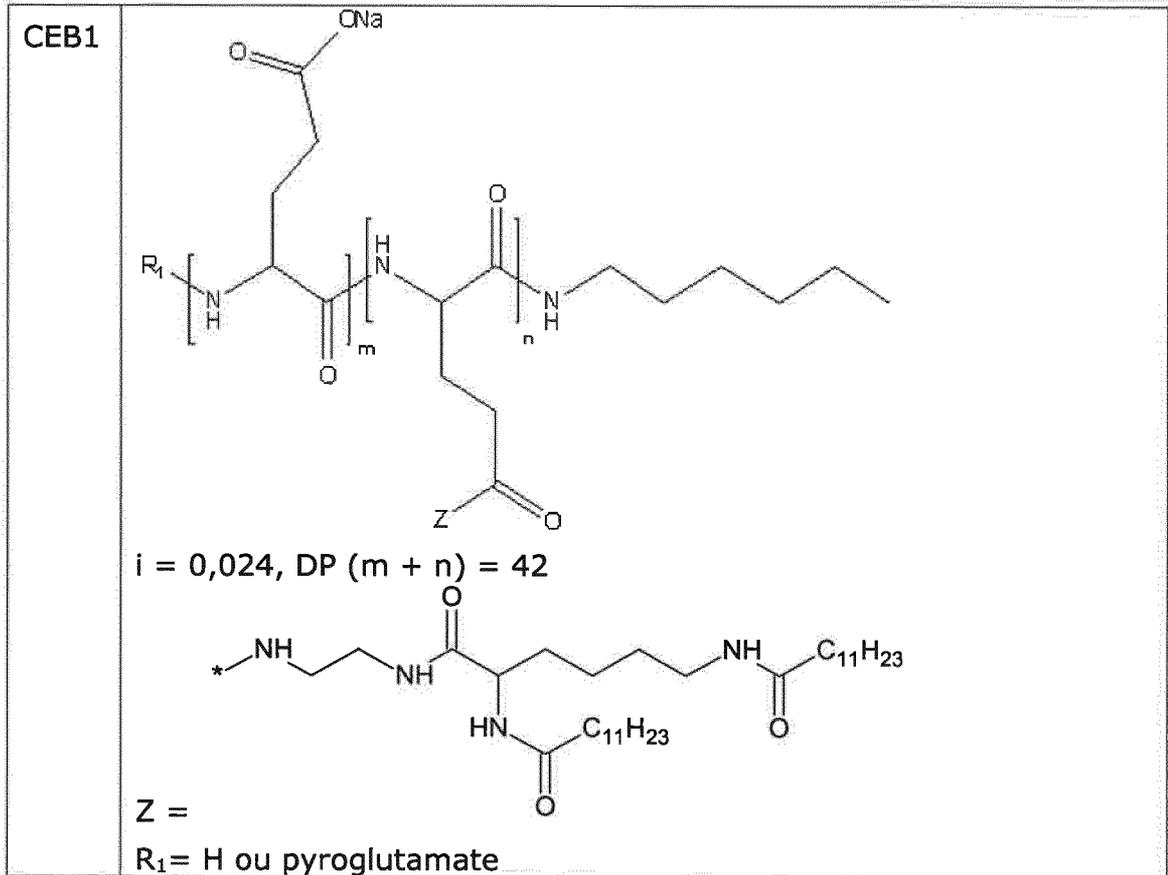
[000850] RMN <sup>1</sup>H (MeOD, ppm) : 0,90 (6H) ; 1,20-1,85 (42H) ; 2,15-2,30 (4H) ; 3,06 (2H) ; 3,19 (2H) ; 3,40 (1H) ; 3,55 (1H) ; 4,13 (1H).

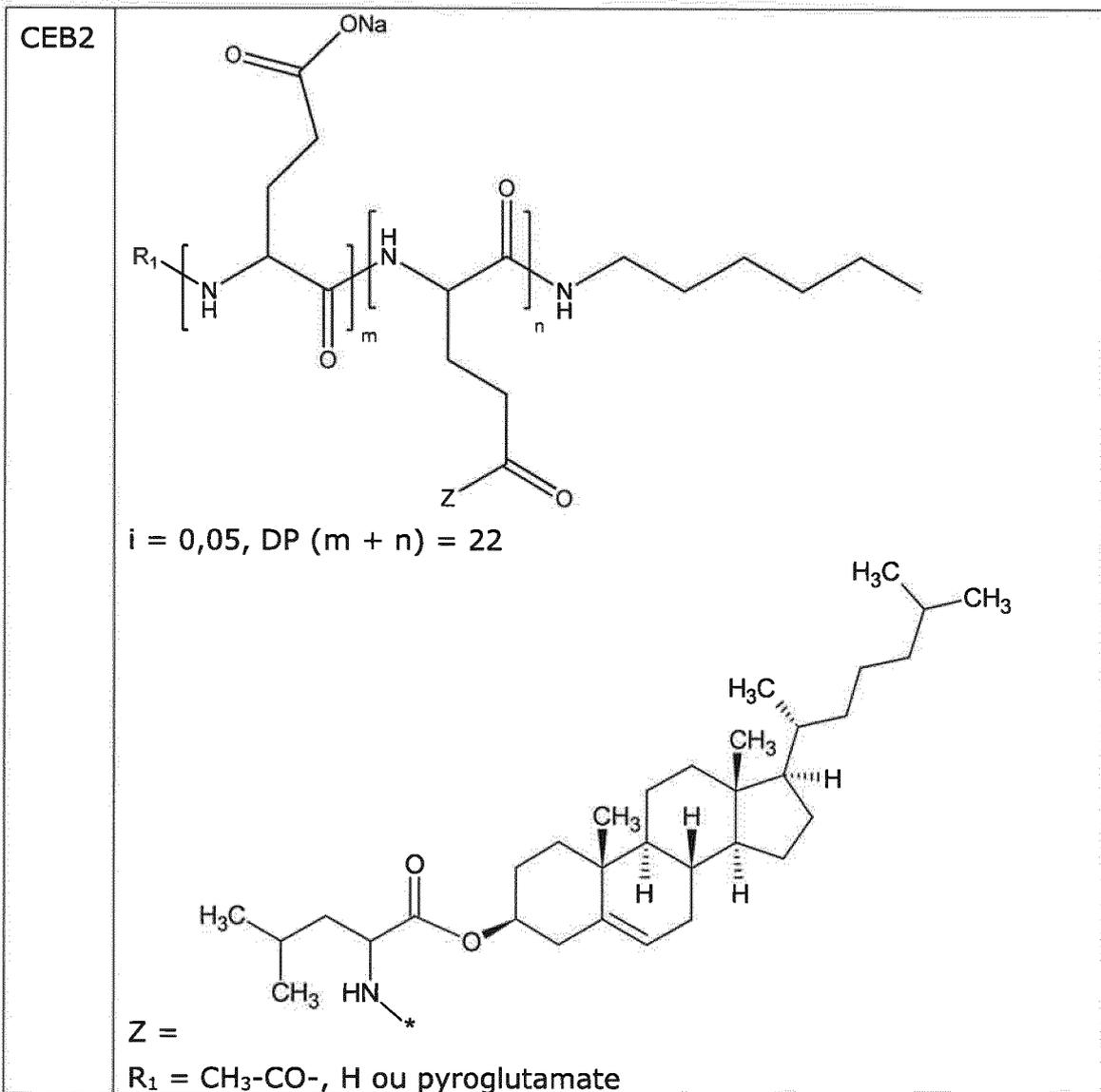
[000851] LC/MS (ESI): 553,5 ; (calculé ([M+H]<sup>+</sup>): 553,9).

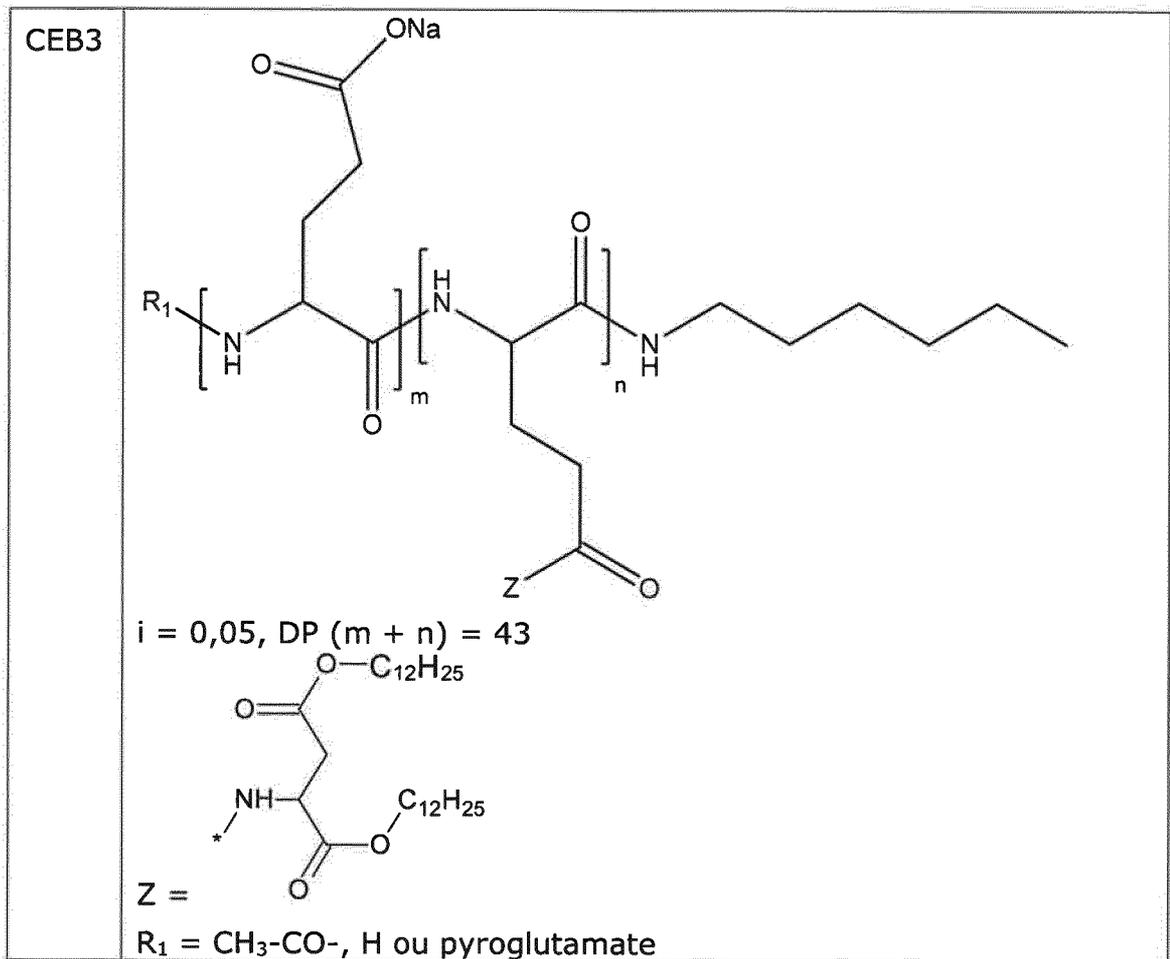
## 25 **Molécule CEA2 et Molécule CEA3**

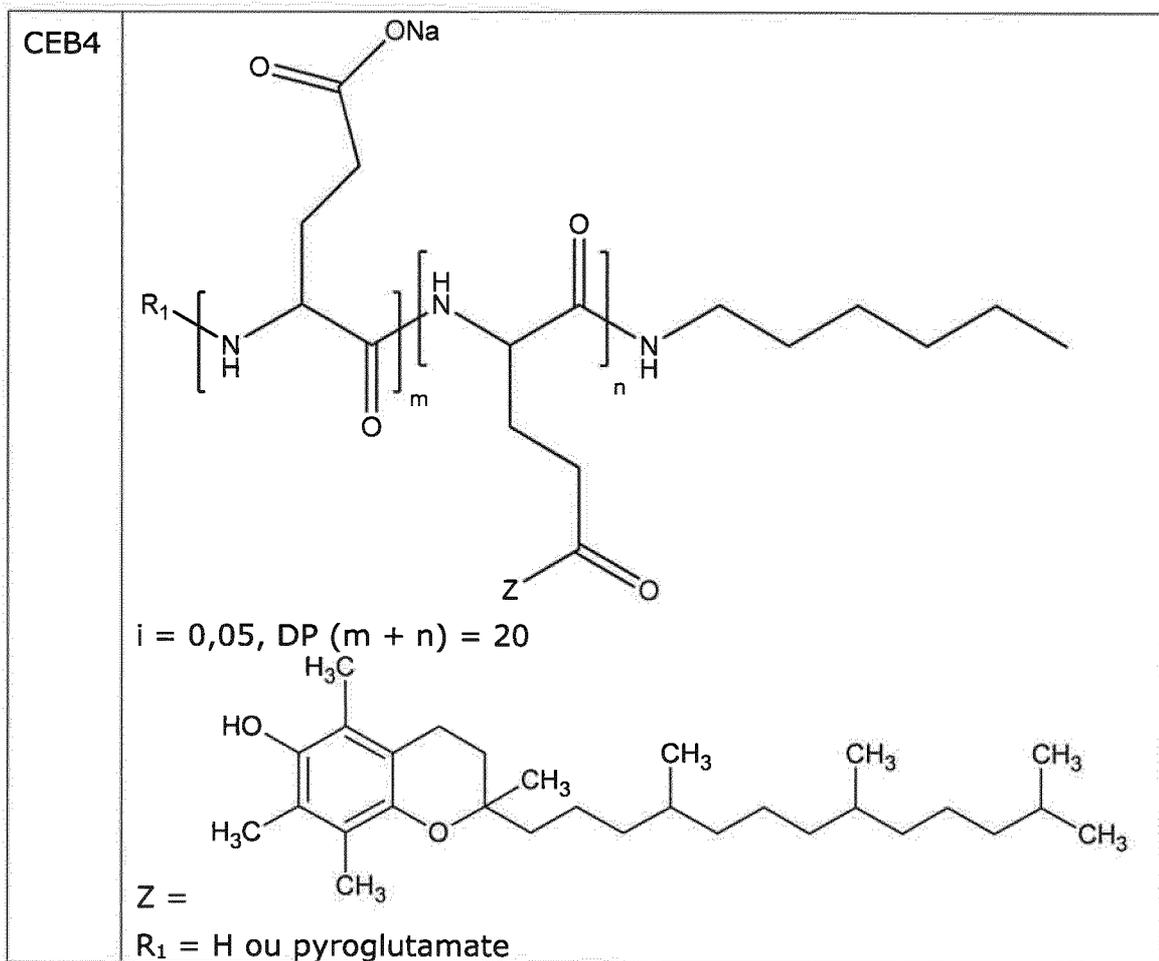
[000852] Les molécules CEA2 et CEA3 ont été synthétisées selon le protocole décrit dans le brevet U.S. Pat. No. 4,826,818 (Kenji M. et Al.).

Partie CEB : synthèse des co-polyaminoacides contre-exemples









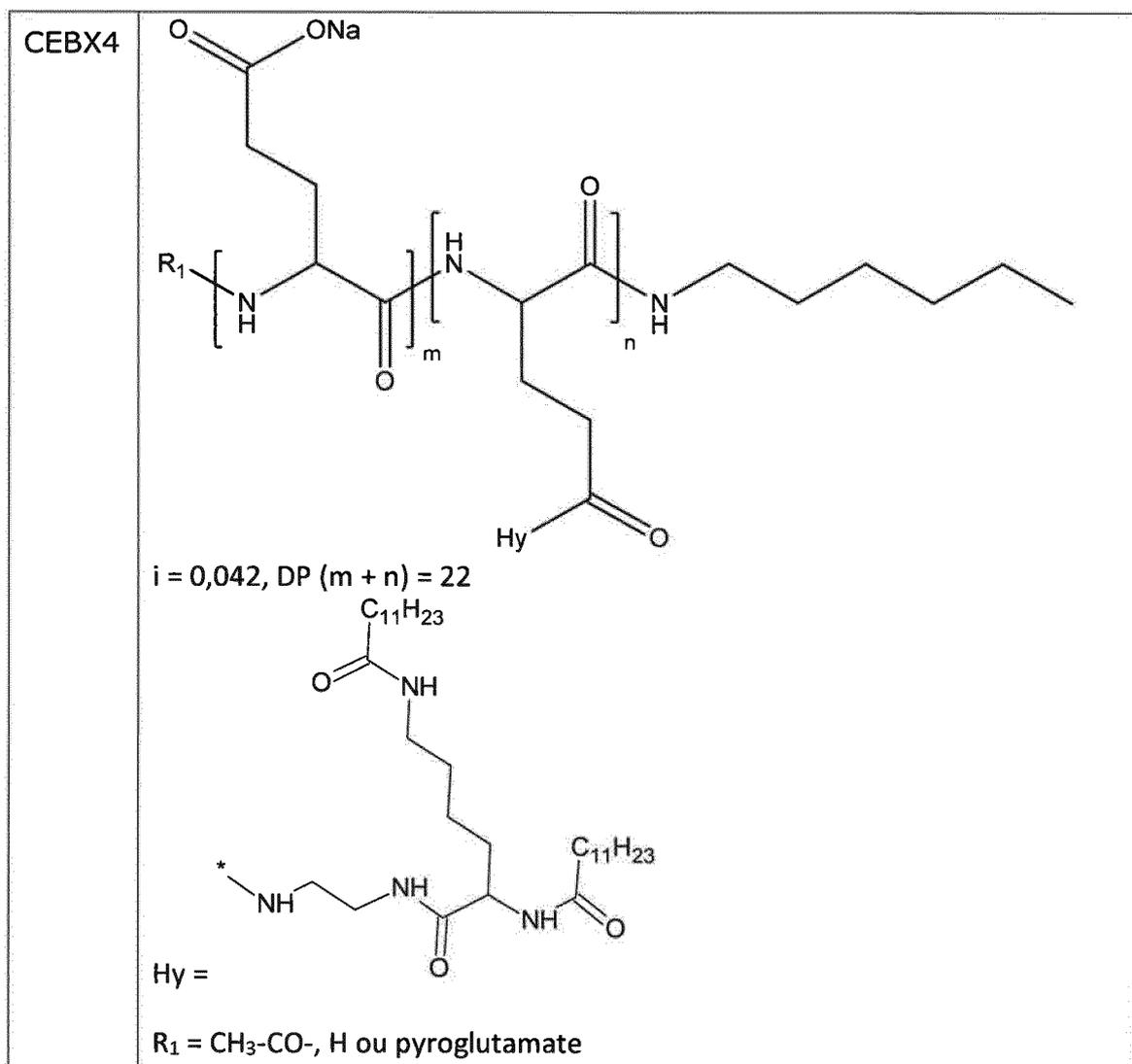


Tableau 1g : contre-exemples co-polyaminoacides

- Exemple CEB1 : co-polyaminoacide CEB1 - poly-L-glutamate de sodium modifié par la
- 5 molécule CEA1 et ayant une masse molaire moyenne en nombre de 3800 g/mol [000853] Un acide poly-L-glutamique de masse molaire moyenne en nombre (Mn) 8500 g/mol (2,0 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-polyaminoacide BB1-1 est solubilisé dans le DMF (27 mL) à 30-40°C puis la solution est refroidie à 0°C. A cette solution, une solution de EDC (0,59 g, 3,06 mmol)
- 10 dans le DMF (6 mL), une solution de HOBt (0,41 g, 3,06 mmol) dans le DMF (1 mL) et de la DIPEA (1,76 mL, 18,3 mmol) sont ajoutées. Une solution de molécule CEA1 (0,21 g, 1,84 mmol) dans le DMF (0,9 mL) est ensuite ajoutée et le mélange est agité à 25°C pendant 3 h. Le milieu réactionnel est dilué avec 11 mL d'eau ajoutée au goutte-à-goutte puis purifié par dialyse contre une solution aqueuse de NaCl à 0,9% puis de l'eau.
- 15 La solution obtenue est filtrée sur filtre 0,2 µm et stockée à 2-8°C.

- [000854] Extrait sec : 16,3 mg/g.  
[000855] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 42.  
[000856] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,024$ .  
[000857] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide CEB1 est de  
5 6924 g/mol.  
[000858] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3800$  g/mol.

Exemple CEB2 : co-polyaminoacide CEB2 - poly-L-glutamate de sodium cappé à une de  
ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par le leucinate de cholestéryle et  
10 ayant une masse molaire moyenne en nombre de 2575 g/mol

- [000859] Le sel d'acide para-toluènesulfonique du leucinate de cholestéryle est  
préparé selon le procédé décrit dans le brevet U.S. Pat. No. 4,826,818 (Kenji, M. et al.).  
[000860] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-  
polyaminoacide BB13 appliqué au sel d'acide para-toluènesulfonique du leucinate de  
15 cholestéryle (1,23 g, 1,8 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse moyenne en  
nombre  $M_n = 3600$  g / mol (5 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la  
préparation du co-polyaminoacide BB5-1, un poly-L-glutamate de sodium cappé à une  
de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par le leucinate de cholestéryle  
est obtenu.

- 20 [000861] Extrait sec : 15,4 mg/g.  
[000862] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 22.  
[000863] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,05$ .  
[000864] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide CEB2 est de  
3973 g/mol.  
25 [000865] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 2575$  g/mol.

Exemple CEB3 : co-polyaminoacide CEB3 - poly-L-glutamate de sodium cappé à une de  
ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par l'aspartate de dilauryle et  
ayant une masse molaire moyenne en nombre de 5820 g/mol

- 30 [000866] Le sel d'acide para-toluènesulfonique du l'aspartate de dilauryle est préparé  
selon le procédé décrit dans le brevet U.S. Pat. No. 4,826,818 (Kenji, M. et al.).  
[000867] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-  
polyaminoacide BB13 appliqué au sel d'acide para-toluènesulfonique du l'aspartate de  
dilauryle (0,89 g, 1,9 mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse moyenne en  
35 nombre  $M_n = 8500$  g / mol (5 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la  
préparation du co-polyaminoacide BB5-1, un poly-L-glutamate de sodium cappé à une  
de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par l'aspartate de dilauryle est  
obtenu.

- [000868] Extrait sec : 19,3 mg/g.  
[000869] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 43.  
[000870] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,05$ .  
[000871] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide CEB3 est de  
5 7565 g/mol.  
[000872] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 5820$  g/mol.

Exemple CEB4 : co-polyaminoacide CEB4 - poly-L-glutamate de sodium modifié par  
l'( $\pm$ )-alpha-tocophérol et ayant une masse molaire moyenne en nombre de 5085 g/mol

- 10 [000873] Par un procédé similaire à celui décrit dans le brevet FR 2,840,614 (Ping,  
C. U. et al.) appliqué à l'( $\pm$ )-alpha-tocophérol (0,5 g, 1,16 mmol) et à un acide poly-L-  
glutamique (3 g) obtenu par un procédé similaire à celui décrit dans le brevet  
FR2985429A1, un poly-L-glutamate de sodium modifié par l'( $\pm$ )-alpha-tocophérol est  
obtenu.  
15 [000874] Extrait sec : 10,9 mg/g.  
[000875] DP (estimé par RMN  $^1\text{H}$ ) = 20.  
[000876] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,05$ .  
[000877] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide CEB4 est de  
3473 g/mol.  
20 [000878] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 5085$  g/mol.

**Exemple CEBX4 : co-polyaminoacide CEBX4 - poly-L-glutamate de sodium  
cappé à une de ses extrémités par un groupement acétyle et modifié par la  
25 molécule CEA1 et ayant une masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) de 3300  
g/mol**

- [000879] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-  
polyaminoacide BB2 appliqué au sel chlorhydrate de la molécule CEA1 (0,918 g, 1,56  
mmol) et à un acide poly-L-glutamique de masse moyenne en nombre  $M_n = 3700$  g /  
30 mol (5,0 g) obtenu par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation du co-  
polyaminoacide BB5-1, un poly-L-glutamate de sodium cappé à une de ses extrémités  
par un groupement acétyle et modifié par la molécule CEA1 est obtenu.  
[000880] Extrait sec : 17,4 mg/g  
[000881] DP (estimé d'après la RMN  $^1\text{H}$ ) : 22  
35 [000882] D'après la RMN  $^1\text{H}$  :  $i = 0,042$   
[000883] La masse molaire moyenne calculée du co-polyaminoacide CEBX4 est de  
3941 g/mol.  
[000884] HPLC-SEC aqueuse (calibrant PEG) :  $M_n = 3300$  g/mol.

**Partie C – Compositions insuline glargine, insuline prandiale ou GLP-1 RA**

Exemple C1 : Solution d'insuline analogue rapide (Humalog®) à 100 U/mL

[000885] Cette solution est une solution commerciale d'insuline lispro commercialisée par la société ELI LILLY sous le nom de Humalog®. Ce produit est une  
5 insuline analogue rapide. Les excipients dans Humalog® sont le méta-crésol (3,15 mg/mL), le glycérol (16 mg/mL), le phosphate de disodium (1,88 mg/mL), l'oxyde de zinc (pour avoir 0,0197 mg d'ion zinc/mL), l'hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique pour l'ajustement du pH (pH 7-7,8) et de l'eau.

10

Exemple C2 : Solution d'insuline analogue rapide (NovoLog®) à 100 U/mL

[000886] Cette solution est une solution commerciale d'insuline aspart commercialisée par la société NOVO NORDISK sous le nom de NovoLog® aux Etats-Unis d'Amérique et Novorapid® en Europe. Ce produit est une insuline analogue rapide. Les  
15 excipients de Novolog® sont la glycérine (16 mg), le phénol (1,50 mg/mL), le méta-crésol (1,72 mg/mL, du zinc (19,6 µg/mL), le phosphate de disodium dihydrate (1,25 mg/mL), le chlorure de sodium (0,5 mg/mL), l'hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique pour l'ajustement du pH (pH 7,2-7,6) et de l'eau.

20 Exemple C3 : Solution d'insuline analogue rapide (Apidra®) à 100 U/mL

[000887] Cette solution est une solution commerciale d'insuline glulisine commercialisée par la société SANOFI sous le nom d'Apidra®. Ce produit est une insuline analogue rapide. Les excipients d'Apidra® sont le méta-crésol (3,15 mg/mL), la trométhamine (6 mg/mL), le chlorure de sodium (5 mg/mL), le polysorbate 20 (0,01  
25 mg/mL), l'hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique pour l'ajustement du pH (pH 7,3) et de l'eau.

Exemple C4 : Solution d'insuline analogue lente (Lantus®) à 100 U/mL

[000888] Cette solution est une solution commerciale d'insuline glargine commercialisée par la société SANOFI sous le nom de Lantus®. Ce produit est une  
30 insuline analogue lente. Les excipients dans Lantus® sont le chlorure de zinc (30 µg/mL), le méta-crésol (2,7 mg/mL), le glycérol (85%) (20 mg/mL), l'hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique pour l'ajustement du pH (pH 4) et de l'eau.

35 Exemple C5 : Solution d'insuline humaine (ActRapid®) à 100 UI/mL

[000889] Cette solution est une solution commerciale d'insuline humaine de NOVO NORDISK vendue sous le nom d'ActRapid®. Ce produit est une insuline humaine. Les

excipients d'ActRapid® sont le chlorure de zinc, le glycérol le méta-crésol, l'hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique pour l'ajustement du pH (pH 6,9-7,8) et de l'eau.

Exemple C6 : Solution d'insuline humaine (Umuline rapide®) à 100 UI/mL

5 [000890] Cette solution est une solution commerciale d'insuline humaine de ELI LILLY vendue sous le nom d'Umuline rapide®. Ce produit est une insuline humaine. Les excipients d'Umuline Rapide® sont le glycérol, le méta-crésol, l'hydroxyde de sodium et l'acide chlorhydrique pour l'ajustement du pH (pH 7,0-7,8) et de l'eau.

10 Exemple D1 : Solution de GLP-1 RA dulaglutide (Trulicity®) à 3 mg/mL

[000891] Cette solution est une solution de dulaglutide commercialisée par la société ELI LILLY sous le nom de Trulicity®. Les excipients dans Trulicity® sont l'acide citrique anhydre (0,14 mg/mL), le mannitol (46,4 mg/mL), le polysorbate 80 (0,20 mg/mL), le citrate trisodique dihydrate (2,74 mg/mL) et l'eau.

15

Exemple D2 : Solution de GLP-1 RA exenatide (Byetta®) à 0,25 mg/mL

[000892] Cette solution est une solution d'exenatide commercialisée par la société ELI LILLY sous le nom de Byetta®. Les excipients dans Byetta® sont le méta-crésol (20 mM), le mannitol, l'acide acétique glacial, l'acétate sodique trihydrate et de l'eau.

20

Exemple D3 : Solution de GLP-1 RA liraglutide (Victoza®) à 6 mg/mL

[000893] Cette solution est une solution de liraglutide commercialisée par la société NOVO NORDISK sous le nom de Victoza®. Les excipients dans Victoza® sont le phosphate disodique dihydrate, le propylène glycol (1,42 mg/mL), le phénol (5,5 mg/mL) et l'eau.

25

Exemple D4 : Solution de GLP-1 RA lixisénatide (Lyxumia®) à 0,1 mg/mL

[000894] Cette solution est une solution de lixisénatide commercialisée par la société SANOFI sous le nom de Lyxumia®. Les excipients dans Lyxumia® sont le glycérol, l'acétate de sodium, la méthionine, le méta-crésol (25 mM), l'acide chlorhydrique et l'hydroxyde de sodium pour l'ajustement du pH et l'eau.

30

Exemple D5 : Solution de GLP-1 RA albiglutide (Tanzeum®) à 60 mg/mL

[000895] Albiglutide est présenté sous une forme solide à reconstituer, commercialisée par la société GSK sous le nom de Tanzeum®. Dans un dispositif d'injection, la poudre et le volume d'eau nécessaire à la solubilisation, initialement dans deux compartiments séparés, sont mélangés en actionnant le stylo par rotation de l'extrémité distale du dispositif jusqu'à l'obtention d'un bruit caractéristique « click ». La

35

solution est prête pour l'injection après une procédure de mélanges et de temps de repos décrite dans la notice d'utilisation du produit. Les excipients dans Tanzeum® sont le mannitol (153 mM), le polysorbate 80 (0,01% w/w), le phosphate de sodium (10 mM), le tréhalose dihydrate (117 mM).

5

### I. Détermination des ratios minimum pour solubiliser l'insuline glargine

#### Exemple G3 : Protocole pour la détermination de la concentration minimale pour solubiliser insuline glargine à 50 U/mL à pH 7.

10 [000896] A une solution mère de co-polyaminoacide à pH 7 sont ajoutées des solutions concentrées de m-crésol et de glycérine de manière à obtenir une solution de co-polyaminoacide de concentration  $C_{\text{mère co-polyaminoacide}} / \text{excipients}$  (mg/mL). La quantité d'excipients ajoutée est ajustée de manière à obtenir une concentration de m-crésol de 35 mM et glycérine de 184 mM dans la composition co-polyaminoacide / insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1.

15 [000897] Dans un vial de 3 mL, 0,5 mL d'une solution commerciale d'insuline glargine commercialisée sous le nom de Lantus® à une concentration de 100 U/mL est ajouté à un volume de 0,5 mL d'une solution de co-polyaminoacide à la concentration  $C_{\text{mère co-polyaminoacide}} / \text{excipients}$  (mg/mL) de manière à obtenir une composition  $C_{\text{co-polyaminoacide}}$  (mg/mL) / insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1. Un trouble apparaît. Le pH est ajusté à pH 7,1 par ajout de NaOH concentrée et la solution est placée en statique dans une étuve à 40°C pendant 1 nuit. Cette opération est réalisée pour différentes concentrations de  $C_{\text{mère co-polyaminoacide}} / \text{excipients}$  (mg/mL) de manière à faire varier la concentration de co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}}$  (mg/mL) par pas de maximum 0,25 mg/mL. Après la nuit à 40°C les échantillons sont inspectés visuellement et soumis à une mesure de diffusion statique de la lumière à un angle de 173° à l'aide d'un zetasiser (Malvern). La concentration minimale de co-polyaminoacide permettant de solubiliser l'insuline glargine est définie comme la concentration la plus basse pour laquelle le mélange co-polyaminoacide / insuline glargine à pH 7 est visuellement limpide et

25

30 présente une intensité diffusée inférieure à 3000 kcps/s.

co-polyaminoacide	Concentration de co-polyaminoacide (mg/mL) au seuil de solubilisation de glargine 50 U/mL à pH 7	Ratio [Hy]/[insuline glargine] (mol/mol) au seuil de solubilisation
BB7	< 1,5	< 1,5
BB5	< 2	< 1,5
BB3	< 2	< 1,5
BB14	< 2	< 1,5
BB10	< 1,5	< 1
BB15	< 1,5	< 1
BB11	< 1,5	< 1
BB16	< 1,5	< 1
AB6	< 2	< 1
AB21	< 1,5	< 1,5
AB17	< 1,5	< 1
AB18	< 1,5	< 1
BB17	< 2	< 1
BB18	< 1,5	< 1
BB20	< 1	< 1
BB21	< 1,5	< 1,5
BB22	< 1	< 1
BB23	< 1	< 1
BB24	< 1	< 1
BB25	< 1	< 1
BB26	< 1	< 1
BB27	< 1,5	< 2
BB42	< 1	< 1
BB43	< 2	< 1

Tableau 2 : ratios minimum pour solubiliser l'insuline glargine.

## II. Solubilisation/précipitation

### a) Compositions comprenant de l'insuline glargine

Procédé de préparation CA1 : Préparation d'une composition diluée co-polyaminoacide / insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1, suivant un procédé utilisant l'insuline glargine sous forme liquide (en solution) et un co-polyaminoacide sous forme liquide (en solution).

5 [000898] A une solution mère de co-polyaminoacide à pH 7,1 sont ajoutées des solutions concentrées de m-crésol et de glycérine de manière à obtenir une solution de co-polyaminoacide de concentration  $C_{\text{mère co-polyaminoacide/excipients}}$  (mg/mL). La quantité  
10 d'excipients ajoutée est ajustée de manière à obtenir une concentration de m-crésol de 35 mM et glycérine de 184 mM dans la composition co-polyaminoacide / insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1.

[000899] Dans un pot stérile, un volume  $V_{\text{insuline glargine}}$  d'une solution commerciale d'insuline glargine commercialisée sous le nom de Lantus® à une concentration de 100  
15 U/mL est ajouté à un volume  $V_{\text{mère co-polyaminoacide /excipients}}$  d'une solution de co-polyaminoacide à la concentration  $C_{\text{mère co-polyaminoacide /excipients}}$  (mg/mL) de manière à obtenir une composition diluée co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide dilué}}$  (mg/mL)/insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1. Un trouble apparaît. Le pH est ajusté à pH 7,1 par ajout de NaOH concentrée et la solution est placée en statique dans une étuve à 40°C pendant  
20 2h jusqu'à solubilisation complète. Cette solution visuellement limpide est placée à +4°C.

Procédé de préparation CA2 : Préparation d'une composition co-polyaminoacide/insuline glargine concentrée à pH 7,1 à l'aide d'un co-polyaminoacide, suivant un procédé de  
25 concentration d'une composition diluée.

[000900] Une composition co-polyaminoacide/insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1 décrite dans l'exemple CA1 est concentrée par ultrafiltration sur une membrane 3 kDa en cellulose régénérée (Amicon® Ultra-15 commercialisée par la société Millipore). A l'issue de cette étape d'ultrafiltration, le rétentat est limpide et la concentration en  
30 insuline glargine dans la composition est déterminée par chromatographie en phase inverse (RP-HPLC). La concentration en insuline glargine dans la composition est ensuite ajustée à la valeur souhaitée par dilution dans une solution d'excipients m-crésol/glycérine de manière à obtenir une concentration finale en m-crésol de 35 mM et une osmolarité de 300 mOsm/kg. Le pH est mesuré et ajusté à pH 7,1 par ajout de  
35 NaOH et HCl concentré. Cette solution à pH 7,1, visuellement limpide, présente une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}}$  (U/mL) et une concentration en co-

polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}}$  (mg/mL) =  $C_{\text{co-polyaminoacide dilué}}$  (mg/mL) x  $C_{\text{insuline glargine}}$  (U/mL) / 50 (U/mL).

[000901] Selon ce procédé de préparation CA2, des compositions co-polyaminoacide/insuline glargine ont été préparées par exemple avec des concentrations en insuline glargine de 200 U/mL et 400 U/mL.

Exemple CA3 : Préparation de compositions co-polyaminoacide/insuline glargine 200 U/mL à pH 7,1.

[000902] Des compositions co-polyaminoacide/insuline glargine 200 U/mL sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CA2 de manière à obtenir une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}} = 200$  U/mL et une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}}$  (mg/mL). Ces compositions sont présentées dans le tableau 3 suivant.

Exemple CA4 : Précipitation de l'insuline glargine dans des compositions co-polyaminoacide / insuline glargine à 200 U/mL

[000903] 1 mL de solution de co-polyaminoacide/insuline glargine préparée à l'exemple CA3 est ajouté dans 2 mL d'une solution de PBS contenant 20 mg/mL de BSA (bovine serum albumin). Le mélange PBS/BSA simule la composition du milieu sous-cutané. Un précipité apparaît.

[000904] Une centrifugation à 4000 trs/min est effectuée pour séparer le précipité du surnageant. Ensuite l'insuline glargine est dosée dans le surnageant par RP-HPLC. Il en résulte que l'insuline glargine se retrouve majoritairement sous une forme précipitée.

[000905] Les résultats sont présentés dans le tableau 3 :

25

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)	Solubilisation de l'insuline glargine	Précipitation de l'insuline glargine
CA3	200	-	-	NON	na
CA3b	200	AB18	6	OUI	OUI
CA3c	200	BB5	9	OUI	OUI
CA3d	200	BB11	6	OUI	OUI
CA3e	200	BB14	10	OUI	OUI
CA3f	200	BB15	6	OUI	OUI
CA3g	200	BB16	6	OUI	OUI
CA3l	200	BB15	5	OUI	OUI
CA3n	200	BB18	6	OUI	OUI
CA3o	200	BB17	9	OUI	OUI
CA3p	200	BB25	4,5	OUI	OUI
CA3q	200	BB26	5	OUI	OUI
CA3r	200	BB43	8	OUI	OUI
CA3s	200	BB27	7	OUI	OUI
CA3t	200	BB20	5	OUI	OUI
CA3u	200	BB21	5	OUI	OUI

Tableau 3 : Compositions co-polyaminoacide /insuline glargine (200 U/mL) préparées avec les co-polyaminoacides de l'invention ; solubilisation/précipitation de l'insuline glargine.

5 b) Compositions comprenant de l'insuline glargine et de l'insuline lispro

Procédé de préparation CB1 : Préparation d'une composition diluée co-polyaminoacide / insuline glargine 43 (U/mL) / insuline lispro 13,5 (U/mL)

10 [000906] A un volume  $V_{\text{co-polyaminoacide / insuline glargine}}$  dilué de la composition diluée co-polyaminoacide / insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1 décrite dans l'exemple CA1 est ajoutée un volume  $V_{\text{insuline lispro}}$  d'une solution commerciale d'insuline lispro Humalog® à 100 U/mL et de l'eau de manière à obtenir une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 43 (U/mL) / insuline lispro 13,5 (U/mL).

15 Procédé de préparation CB2 : Préparation d'une composition co-polyaminoacide / insuline glargine / insuline lispro concentrée à pH 7,1

20 [000907] Une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 43 (U/mL) / insuline lispro 13,5 (U/mL) décrite dans l'exemple CB1 est concentrée par ultrafiltration sur une membrane 3 kDa en cellulose régénérée (Amicon® Ultra-15 commercialisée par la société MILLIPORE). A l'issue de cette étape d'ultrafiltration, le retentât est limpide et la concentration en insuline glargine dans la composition est déterminée par chromatographie en phase inverse (RP-HPLC). Les concentrations en insuline glargine

et insuline lispro dans la composition sont ensuite ajustées à la valeur souhaitée par dilution dans une solution d'excipients m-crésol/glycérine de manière à obtenir une concentration finale en m-crésol de 35 mM et une osmolarité de 300 mOsm/kg. Le pH est mesuré et ajusté si nécessaire à pH 7,1 par ajout de NaOH et HCl concentré. Cette solution à pH 7,1, visuellement limpide, présente une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}}$  (U/mL), une concentration en insuline lispro  $C_{\text{insuline lispro}} = C_{\text{insuline glargine}} \times 0,33$  et une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}} \text{ (mg/mL)} = C_{\text{co-polyaminoacide dilué}} \text{ (mg/mL)} \times C_{\text{insuline glargine}} \text{ (U/mL)} / 50 \text{ (U/mL)}$ .

10 Exemple CB3 : Préparation de compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL / insuline lispro 66 U/mL à pH 7,1  
[000908] Des compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL / insuline lispro 66 U/mL sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CB2 de manière à obtenir une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}} = 200 \text{ U/mL}$ , une concentration en insuline lispro  $C_{\text{insuline lispro}} = 66 \text{ U/mL}$  et une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}} \text{ (mg/mL)}$ . Ces compositions sont présentées dans le tableau 4a.

Exemple CB4: Précipitation de l'insuline glargine dans les compositions co-polyaminoacide / insuline glargine / insuline lispro à 200/66 U/mL

20 [000909] 1 mL de solution de co-polyaminoacide /insuline glargine/insuline lispro préparée à l'exemple CB3 est ajouté dans 2 mL d'une solution de PBS contenant 20 mg/mL de BSA (bovine serum albumin). Le mélange PBS/BSA simule la composition du milieu sous-cutané. Un précipité apparaît.

25 [000910] Une centrifugation à 4000 trs/min est effectuée pour séparer le précipité du surnageant. Ensuite l'insuline glargine est dosée dans le surnageant par RP-HPLC. Il en résulte que l'insuline glargine se retrouve majoritairement sous une forme précipitée. Les résultats sont présentés dans le tableau 4a et 4b :

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Insuline lispro (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)	Solubilisation de l'insuline glargine	Précipitation de l'insuline glargine
CB3	200	66	-	-	NON	na
CB3a	200	66	AB6	7	OUI	OUI
CB3c	200	66	AB21	6	OUI	OUI
CB3f	200	66	BB3	7	OUI	OUI
CB3g	200	66	BB5	9	OUI	OUI
CB3i	200	66	AB18	6	OUI	OUI
CB3j	200	66	BB7	7	OUI	OUI
CB3m	200	66	BB10	6	OUI	OUI
CB3n	200	66	BB11	6	OUI	OUI
CB3o	200	66	BB15	6	OUI	OUI
CB3p	200	66	BB16	6	OUI	OUI
CB3r	200	66	AB17	6	OUI	OUI
CB3s	200	66	BB15	5	OUI	OUI
CB3u	200	66	BB42	5	OUI	OUI
CB3v	200	66	BB18	6	OUI	OUI
CB3w	200	66	BB17	9	OUI	OUI
CB3x	200	66	BB25	4,5	OUI	OUI
CB3y	200	66	BB26	5	OUI	OUI
CB3z	200	66	BB43	8	OUI	OUI
CB3ab	200	66	BB27	7	OUI	OUI
CB3ac	200	66	BB20	5	OUI	OUI
CB3ad	200	66	BB21	5	OUI	OUI

Tableau 4a : Compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (200 U/mL) / insuline lispro (66 U/mL) préparées avec les co-polyaminoacides de l'invention; solubilisation et précipitation d'insuline glargine.

5

Exemple CB5 : Préparation d'une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 225 U/mL /insuline lispro 75 UI/mL à pH 7.

[000911] Des compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 225 U/mL / insuline lispro 75 UI/mL sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CB2 de manière à obtenir une concentration en glargine  $C_{\text{insuline glargine}} = 225 \text{ U/mL}$ , une concentration en insuline lispro  $C_{\text{insuline lispro}} = 75 \text{ UI/mL}$  et une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}}$  (mg/mL). Ces compositions sont présentées dans le tableau 4b.

10

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Insuline lispro (UI/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)
CB5	225	75	-	-
CB5f	225	75	BB14	10

Tableau 4b : Compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (225 U/mL) /insuline lispro (75 UI/mL) préparées avec le co-polyaminoacide BB14.

- 5 Exemple CB6 : Préparation d'une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL /insuline lispro 200 UI/mL à pH 7,1.

Procédé de préparation CB7 : Préparation d'une composition diluée co-polyaminoacide / insuline glargine 33 (U/mL) / insuline lispro 33 (U/mL)

- 10 [000912] A un volume  $V_{\text{co-polyaminoacide}}$  / insuline glargine dilué de la composition diluée co-polyaminoacide / insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1 décrite dans l'exemple CA1 est ajoutée un volume  $V_{\text{insuline lispro}}$  d'une solution commerciale d'insuline lispro Humalog® à 100 U/mL et de l'eau de manière à obtenir une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 33 (U/mL) / insuline lispro 33 (U/mL).

15

Procédé de préparation CB8 : Préparation d'une composition co-polyaminoacide / insuline glargine / insuline lispro concentrée à pH 7,1

- [000913] Une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 33 (U/mL) / insuline lispro 33 (U/mL) décrite dans l'exemple CB7 est concentrée par ultrafiltration sur une  
 20 membrane 3 kDa en cellulose régénérée (Amicon® Ultra-15 commercialisée par la société MILLIPORE). A l'issue de cette étape d'ultrafiltration, le retentât est limpide et la concentration en insuline glargine dans la composition est déterminée par chromatographie en phase inverse (RP-HPLC). Les concentrations en insuline glargine et insuline lispro dans la composition sont ensuite ajustées à la valeur souhaitée par  
 25 dilution dans une solution d'excipients m-crésol/glycérine de manière à obtenir une concentration finale en m-crésol de 35 mM et une osmolarité de 300 mOsm/kg. Le pH est mesuré et ajusté si nécessaire à pH 7,1 par ajout de NaOH et HCl concentré. Cette solution à pH 7,1, visuellement limpide, présente une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}}$  (U/mL), une concentration en insuline lispro  $C_{\text{insuline lispro}} = C_{\text{insuline glargine}}$  et  
 30 une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}} \text{ (mg/mL)} = C_{\text{co-polyaminoacide dilué}} \text{ (mg/mL)} \times C_{\text{insuline glargine}} \text{ (U/mL)} / 50 \text{ (U/mL)}$ .

c) Compositions comprenant de l'insuline glargine et de l'insuline humaine Umuline rapide

Exemple CB9 : Préparation d'une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 200  
5 U/mL / insuline humaine 66 UI/mL à pH 7,1.

Procédé de préparation CB10 : Préparation d'une composition diluée co-polyaminoacide / insuline glargine 43 (U/mL) / insuline humaine 13,5 (U/mL)

[000914] A un volume  $V_{\text{co-polyaminoacide / insuline glargine dilué}}$  de la composition diluée co-  
10 polyaminoacide / insuline glargine 50 U/mL à pH 7,1 décrite dans l'exemple CA1 est ajoutée un volume  $V_{\text{insuline humaine}}$  d'une solution commerciale d'insuline humaine de l'exemple C6 à 100 U/mL et de l'eau de manière à obtenir une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 43 (U/mL) / insuline humaine 13,5 (U/mL).

15 Procédé de préparation CB11 : Préparation d'une composition co-polyaminoacide / insuline glargine / insuline humaine concentrée à pH 7,1

[000915] Une composition co-polyaminoacide / insuline glargine 43 (U/mL) / insuline humaine 13,5 (U/mL) décrite dans l'exemple CB10 est concentrée par ultrafiltration sur une membrane 3 kDa en cellulose régénérée (Amicon® Ultra-15 commercialisée par la  
20 société MILLIPORE). A l'issue de cette étape d'ultrafiltration, le retentât est limpide et la concentration en insuline glargine dans la composition est déterminée par chromatographie en phase inverse (RP-HPLC). Les concentrations en insuline glargine et insuline humaine dans la composition sont ensuite ajustées à la valeur souhaitée par dilution dans une solution d'excipients m-crésol/glycérine de manière à obtenir une  
25 concentration finale en m-crésol de 35 mM et une osmolarité de 300 mOsm/kg. Le pH est mesuré et ajusté si nécessaire à pH 7,1 par ajout de NaOH et HCl concentré. Cette solution à pH 7,1, visuellement limpide, présente une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}}$  (U/mL), une concentration en insuline humaine  $C_{\text{insuline humaine}} = C_{\text{insuline glargine}} \times 0,33$  et une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}} \text{ (mg/mL)} = C_{\text{co-polyaminoacide dilué}} \text{ (mg/mL)} \times C_{\text{insuline glargine}} \text{ (U/mL)} / 50 \text{ (U/mL)}$ .  
30

Exemple CB12 : Préparation de compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL / insuline humaine 66 U/mL à pH 7,1

[000916] Des compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL / insuline  
35 humaine 66 U/mL sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CB11 de manière à obtenir une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}} = 200 \text{ U/mL}$ , une concentration en insuline humaine  $C_{\text{insuline humaine}} = 66 \text{ U/mL}$  et une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}} \text{ (mg/mL)}$ . La composition est présentée dans le

tableau 4c ci-dessous.

	Insuline glargine (U/mL)	Insuline humaine (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)
CB12a	200	66	BB15	6

Tableau 4c : Composition co-polyaminoacide /insuline glargine (200 U/mL) / insuline humaine (66 UI/mL) à pH 7,1.

5

d) Compositions comprenant de l'insuline glargine et dulaglutide

Exemple DB1 : Préparation d'une composition insuline glargine (50 U/mL)/dulaglutide (0,25 mg/mL) à pH 7,1

10 [000917] A 0,167 mL de la solution de dulaglutide de l'exemple D1 sont ajoutés 0,833 mL d'eau et le pH est ajusté à 4. Est ensuite ajouté à cette solution 1 mL de la solution d'insuline glargine de l'exemple C4 pour obtenir 2 mL d'une composition dont le pH est 4 au mélange. La composition contenant 50 U/mL d'insuline glargine et 0,25 mg/mL de dulaglutide est limpide attestant de la bonne solubilité de l'insuline glargine et de  
 15 dulaglutide dans ces conditions de formulation (pH 4). Le pH est ensuite ajusté à 7,1 avec une solution de soude à 0,1 N. La composition devient alors trouble attestant la mauvaise solubilité de la composition insuline glargine/dulaglutide à pH 7,1.

Exemple DB2 : Préparation d'une composition insuline glargine (50 U/mL)/ dulaglutide (0,25 mg/mL) à pH 7,1

20 [000918] A 0,167 mL de la solution de dulaglutide de l'exemple D1 sont ajoutés 0,833 mL d'eau. Est ensuite ajouté à cette solution 1 mL de la solution d'insuline glargine de l'exemple C4 pour obtenir 2 mL d'une composition dont le pH est 5,2 au mélange. La composition contenant 50 U/mL d'insuline glargine et 0,25 mg/mL de dulaglutide est  
 25 trouble attestant la mauvaise solubilité de la composition insuline glargine/dulaglutide à pH 5,2. Le pH est ensuite ajusté à 7,1 avec une solution de soude à 0,1 N. La composition est toujours trouble attestant la mauvaise solubilité de la composition insuline glargine/dulaglutide à pH 7,1.

Exemple DB3 : Préparation de compositions co-polyaminoacide/ insuline glargine/ dulaglutide à pH 7,1

30 [000919] A 3 mL de la solution de co-polyaminoacide / insuline glargine préparée selon le protocole de l'exemple CA2, dont la concentration en insuline glargine est de 400 U/mL, est ajouté 2 mL de la solution de dulaglutide de l'exemple D1 et 1 mL d'eau  
 35 pour obtenir 6 mL d'une composition à pH 7. Le pH est ajusté à 7,1 avec une solution

de soude 0,1 N. La composition contenant 7 mg/mL de co-polyaminoacide AB6, 200 U/mL d'insuline glargine et 1 mg/mL de dulaglutide est limpide attestant de la bonne solubilité de l'insuline glargine et de dulaglutide en présence du co-polyaminoacide à pH 7,1. Cette solution limpide est placée à +4°C.

- 5 Selon le protocole de l'exemple DB3, les compositions avec différents co-polyaminoacides sont réalisées et présentées dans le tableau 5 ci-dessous.

Exemple DB4 : Précipitation de compositions co-polyaminoacide/ insuline glargine/ dulaglutide à pH 7,1

- 10 [000920] 0,045 mL de composition co-polyaminoacide/ insuline glargine/ dulaglutide préparée selon le protocole de l'exemple DB3 est ajouté dans 0,105 mL d'une solution de PBS contenant 20 mg/mL de BSA. Le mélange PBS/BSA simule la composition du milieu sous-cutané. Un précipité apparaît.

- 15 [000921] Une centrifugation à 4000 trs/min est effectuée pour séparer le précipité du surnageant. Ensuite l'insuline glargine est dosée dans le surnageant par RP-HPLC. L'insuline glargine se retrouve majoritairement sous une forme précipitée. Les résultats sont présentés dans le tableau 5 suivant.

Compositio n	Co- polyamino acide	Insuline glargine (U/mL)	Dulaglutid e (mg/mL)	Co- polyamino acide (mg/mL)	Solubilisation de l'insuline glargine	Précipitation de l'insuline glargine
DB1	-	50	0,25	-	NON	na
DB2	-	50	0,25	-	NON	na
DB3a	AB6	200	1	7	OUI	OUI
DB3b	AB17	200	1	6	OUI	OUI
DB3c	BB7	200	1	7	OUI	OUI
DB3d	BB5	200	1	9	OUI	OUI
DB3e	BB10	200	1	6	OUI	OUI
DB3f	BB14	200	1	9	OUI	OUI
DB3g	BB15	200	1	6	OUI	OUI

- 20 Tableau 5 : Compositions co-polyaminoacide /insuline glargine (200 U/mL) / dulaglutide (1 mg/mL) ; solubilisation et précipitation de l'insuline glargine.

Exemple DB5 : Préparation de compositions co-polyaminoacide/ insuline glargine/ dulaglutide à pH 7,2

[000922] Selon le protocole de l'exemple DB3, les compositions avec différents co-polyaminoacides sont réalisées à pH 7,2 et présentées dans le tableau 6 ci-dessous.

5

Composition	Co-polyaminoacide	Insuline glargine (U/mL)	Dulaglutide (mg/mL)	Co-polyaminoacide (mg/mL)
DB3h	BB10	200	1	6
DB3i	BB15	200	1	6

Tableau 6 : Compositions co-polyaminoacide /insuline glargine (200 U/mL) / dulaglutide (1 mg/mL) à pH 7,2.

Exemple DB6 : Préparation de compositions co-polyaminoacide/ insuline glargine à pH 7,2

10

[000923] Selon le protocole de l'exemple DB5 et en partant d'une solution équivalente à D1 contenant les mêmes excipients excepté l'acide citrique anhydre et dépourvue de dulaglutide, la composition suivante est réalisée à pH 7,2 et présentée dans le tableau 7 suivant.

15

Composition	Co-polyaminoacide	Insuline glargine (U/mL)	Dulaglutide (mg/mL)	Co-polyaminoacide (mg/mL)
DB3k	BB15	200	0	5

Tableau 7 : Compositions co-polyaminoacide /insuline glargine (200 U/mL) à pH 7,2.

e) Préparation d'une composition co-polyaminoacide / insuline glargine / insuline lispro /exénatide

20

[000924] Des compositions co-polyaminoacide / insuline glargine / insuline lispro sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CB2 et CB8. A ces solutions sont ajoutées un volume d'une solution d'exénatide à 10 mg/mL préparée par dissolution d'exénatide (Bachem) dans de l'eau pour injections. Les concentrations en insuline glargine, insuline lispro et exénatide dans la composition sont ensuite ajustées à la valeur souhaitée par dilution dans une solution d'excipients m-crésol/glycérine ou m-crésol/glycérine/méthionine de manière à obtenir une concentration finale en m-crésol de 35 mM et une osmolarité de 300 mOsm/kg. Le pH est mesuré et ajusté si nécessaire

25

à pH 7,2 par ajout de NaOH et HCl concentré. Ces compositions sont présentées dans le tableau 8.

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Insuline lispro (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)	Exénatide (µg/mL)	Méthionine (mM)
CB2a	200	67	BB15	5	0	0
CB2b	200	67	BB15	5	50	10
CB2c	200	67	BB15	5	50	0
CB8a	200	200	BB15	5	154	0

5 Tableau 8 : Compositions co-polyaminoacide /insuline glargine (200 U/mL) / lispro (67 UI/mL ou 200 UI/mL)/ avec ou sans exénatide.

### Partie D' – contre-exemples

#### 10 Protocoles de préparation

[000925] Des compositions co-polyaminoacide contre-exemple /insuline glargine 200 U/mL sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CA2 de manière à obtenir une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}} = 200$  U/mL et une concentration en co-polyaminoacide contre-exemple  $C_{\text{co-polyaminoacide contre-exemple}}$  (mg/mL). Ces compositions

15 sont présentées dans le tableau 9 suivant.

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)
CA3h	200	CEB1	13
CA3i	200	CEB2	6
CA3j	200	CEB3	7
CA3k	200	CEB4	10
CA3w	200	CEBX4	5

Tableau 9: Compositions contre-exemple co-polyaminoacide /insuline glargine (200 U/mL).

[000926] Des compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL / insuline lispro 66 U/mL sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CB2 de manière à obtenir une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}} = 200$  U/mL, une concentration en insuline lispro  $C_{\text{insuline lispro}} = 66$  U/mL et une concentration en co-polyaminoacide contre-exemple  $C_{\text{co-polyaminoacide contre-exemple}}$  (mg/mL). Ces compositions

20 sont présentées dans le tableau 10 suivant.

25

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Insuline lispro (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)
CB3s	200	66	CEB2	6
CB3t	200	66	CEB3	7
CB3af	200	66	CEBX4	5

Tableau 10 : Compositions contre-exemples de co-polyaminoacide/insuline glargine (200 U/mL) / insuline lispro (66 U/mL).

- [000927] Selon l'exemple CB12 (Préparation de compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL / insuline humaine 66 U/mL à pH 7,1) des compositions co-polyaminoacide / insuline glargine 200 U/mL / insuline humaine 66 U/mL sont préparées selon le procédé décrit dans l'exemple CB11 de manière à obtenir une concentration en insuline glargine  $C_{\text{insuline glargine}} = 200$  U/mL, une concentration en insuline humaine  $C_{\text{insuline humaine}} = 66$  U/mL et une concentration en co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide}}$  (mg/mL). La composition est présentée dans le tableau 11 suivant.

	Insuline glargine (U/mL)	Insuline humaine (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)
CB12b	200	66	CEB2	6

Tableau 11 : Compositions co-polyaminoacide contre-exemple /insuline glargine (200 U/mL) / insuline humaine (66 U/mL) à pH 7,1.

- [000928] Selon le protocole de l'exemple DB5, les compositions à pH 7,2 avec différents co-polyaminoacides contre-exemples sont réalisées et présentées dans le tableau 12 ci-dessous.

Composition	Co-polyaminoacide	Insuline glargine (U/mL)	Dulaglutide (mg/mL)	Co-polyaminoacide (mg/mL)
DB3x	CEB3	200	1	7
DB3z	CEB2	200	1	6

- Tableau 12 : Compositions co-polyaminoacide contre-exemple/insuline glargine (200 U/mL) / dulaglutide (0,8 ou 1 mg/mL).

### III. Détermination de la quantité d'albumine nécessaire pour obtenir la précipitation

#### Exemple G1 : Préparation d'une composition diluée co-polyaminoacide / 5 insuline glargine 65 U/mL à pH 7,1.

[000929] A une solution mère de co-polyaminoacide à pH 7 sont ajoutées des solutions concentrées de m-crésol et de glycérine de manière à obtenir une solution de co-polyaminoacide de concentration  $C_{\text{mère co-polyaminoacide /excipients}}$  (mg/mL). La quantité  
10 d'excipients ajoutée est ajustée de manière à obtenir une concentration de m-crésol de 35 mM et glycérine de 184 mM dans la composition co-polyaminoacide / insuline glargine 65 U/mL à pH 7,1.

[000930] Dans un pot stérile, un volume  $V_{\text{insuline glargine}}$  d'une solution commerciale d'insuline glargine commercialisée sous le nom de Lantus® à une concentration de 100  
15 U/mL est ajouté à un volume  $V_{\text{mère co-polyaminoacide /excipients}}$  d'une solution de co-polyaminoacide à la concentration  $C_{\text{mère co-polyaminoacide /excipients}}$  (mg/mL) de manière à obtenir une composition diluée co-polyaminoacide  $C_{\text{co-polyaminoacide dilué}}$  (mg/mL) / insuline glargine 65 U/mL à pH 7,1. Un trouble apparaît. Le pH est ajusté à pH 7,1 par ajout de NaOH concentrée et la solution est placée en statique dans une étuve à 40°C pendant  
20 2h jusqu'à solubilisation complète. Cette solution visuellement limpide est placée à +4°C.

#### Exemple G2 : Précipitation d'une composition co-polyaminoacide / insuline 25 glargine 65 U/mL à pH 7,1, en faisant varier la concentration d'albumine

[000931] Dans une cuve UV jetable sont introduits respectivement 0,3 mL d'une solution de BSA (Bovine serum Albumine, sérum albumine bovine) dans un tampon PBS à pH 7,4 (Phosphate Buffer Saline, tampon phosphate salin) et 1 mL de composition diluée co-polyaminoacide / insuline glargine 65 U/mL pH 7,1 de manière à obtenir un  
30 mélange contenant 50 U/mL d'insuline glargine, une concentration d'albumine  $C_{\text{BSA}}$  (mg/mL) dans un tampon PBS. Plusieurs solutions de BSA dans un tampon PBS de concentrations variables sont préparées de manière à faire varier la concentration d'albumine dans le mélange final entre 1 et 12,7 mg/mL (1 ; 2,9 ; 3,9 ; 6,8 ; 9,7 ; 12,7 mg/mL) et une concentration de sel physiologique par l'intermédiaire du tampon  
35 PBS.

[000932] Après ajout de la solution de BSA dans le tampon PBS le mélange est rapidement homogénéisé par quelques allez-retour de pipette. Une heure après le

mélange, une mesure d'absorbance à 500 nm est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible JASCO V-530.

[000933] La mesure d'absorbance à 500 nm permet d'évaluer la turbidité du mélange émanant de la précipitation de l'insuline glargine. La turbidité augmente en fonction de la concentration d'albumine pour atteindre un plateau traduisant la précipitation complète de l'insuline glargine.

[000934] La concentration critique d'albumine permettant une précipitation quantitative est définie comme la concentration d'albumine pour laquelle la valeur d'absorbance à 500 nm atteint 80% de l'absorbance mesurée au plateau.

[000935] On constate que dans les compositions de l'invention, la quantité de BSA critique est inférieure.

[000936] Les résultats sont reportés dans le tableau 13 suivant :

Co-polyaminoacide	Concentration d'albumine critique (mg/ml) pour 80% de précipitation à 1h (insuline glargine à 50 U/ml)	Concentration de co-polyaminoacide dans solution insuline glargine à 50 U/ml
CEB2	≥ 3,9	1,5
CEB3	≥ 3,9	1,8
CEB4	≥ 3,9	1,5
BB7	< 3,9	1,8
BB5	< 3,9	2,2
BB14	< 3,9	2,5
BB10	< 3,9	1,5
BB15	< 3,9	2,0
BB11	< 3,9	1,5
BB16	< 3,9	1,5
AB6	< 3,9	1,8
AB21	< 3,9	1,5
AB17	< 3,9	1,5
AB18	< 3,9	1,5
BB42	< 3,9	1,2
BB18	< 3,9	1,5
BB17	< 3,9	1,75
BB25	< 3,9	1,1
BB43	< 3,9	2
BB20	< 3,9	1,25
BB21	< 3,9	1,25

Tableau 13 : concentration d'albumine critique (mg/ml) pour 80% de précipitation à 1h (insuline glargine à 50 U/ml).

#### IV. Etude de la stabilité des compositions selon l'invention

**Partie E : Mise en évidence de la stabilité physique des compositions selon l'invention par l'étude de compositions co-polyaminoacide/insuline glargine 200 U/mL et de compositions co-polyaminoacide/insuline glargine 200 U/mL / lispro 66 U/mL.**

Exemple E1 : Stabilité accélérée à 25°C en dynamique.

[000937] 3 vials de 3 mL remplis avec 1 mL de composition co-polyaminoacide/insuline glargine sont placés verticalement sur un agitateur orbital. L'agitateur est placé dans une étuve à 25°C et les vials sont soumis à une agitation de 250 rpm. Les vials sont inspectés visuellement de manière quotidienne/hebdomadaire afin de détecter l'apparition de particules visibles ou d'une turbidité. Cette inspection est réalisée selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne (EP 2.9.20) : les vials sont soumis à un éclairage d'au moins 2000 Lux et sont observés face à un fond blanc et un fond noir. Le nombre de jours de stabilité correspond à la durée à partir de laquelle au moins 2 vials présentent des particules visibles ou sont turbides.

[000938] Ces résultats sont en accord avec la pharmacopée US (USP <790>).

[000939] Les résultats de stabilité accélérée (obtenus avec différentes compositions sont présentés dans le tableau 14 ci-après.

Composition	Co-polyaminoacide	Stabilité à 25°C en dynamique (en jours)
CB3	*	*
CB3a	AB6	13
CB3c	AB21	14
CB3r	AB17	8
CB3i	AB18	8
CB3f	BB3	15
CB3g	BB5	>41
CB3j	BB7	29
CB3m	BB10	15
CB3n	BB11	17
CB3o	BB15	14
CB3p	BB16	8

CB3s	CEB2	5
CB3t	CEB3	4
CB3u	BB42	8
CB3v	BB18	69
CB3w	BB17	29
CB3x	BB25	10
CB3y	BB26	> 46 on going
CB3z	BB43	5-7
CB3ac	BB20	32
CB3ad	BB21	30
CB3ae	CEBX3	2
CB3af	CEBX4	2

Tableau 14 : résultats des stabilités des compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (200 U/mL)/insuline lispro (66 U/mL) à 25°C en dynamique (sous agitation à 250 rpm) et contre-exemples. (\*Apparition d'un précipité quand le pH de la solution est ajusté à pH 7).

5

[000940] Les résultats de stabilité accélérée obtenus avec les compositions du tableau de l'exemple CB12 sont présentés dans le tableau 15 ci-après.

Composition	Co-polyaminoacide	Stabilité à 25°C en dynamique (en jours)
CB12a	BB15	>28
CB12b	CEB2	7

10 Tableau 15 : résultats des stabilités d'une composition co-polyaminoacide/insuline glargine (200 U/mL)/insuline humaine (66 U/mL) à 25°C en dynamique (sous agitation à 250 rpm) et contre-exemple.

[000941] Les résultats de stabilité accélérée obtenus avec les compositions du tableau de l'exemple DB5 sont présentés dans le tableau 16 ci-après.

15

Composition	Glargine (U/mL)	Dulaglutide (mg/mL)	Co- polyaminoacide	Concentration en co- polyaminoacide (mg/mL)	Stabilité dynamique à 25°C 250 rpm  En jours
DB3h	200	1	BB10	6	25
DB3i	200	1	BB15	6	>32
DB3x	200	1	CEB3	7	7
DB3z	200	1	CEB2	6	10
C4	100	-	-	-	>32
D1	-	3	-	-	>32

5 Tableau 16 : résultats des stabilités des compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (200 U/mL) / dulaglutide (1 mg/mL) à 25°C en dynamique (sous agitation à 250 rpm).

**Mise en évidence de la stabilité physique des compositions selon l'invention par l'étude de compositions co-polyaminoacide/insuline glargine/insuline Lispro/exénatide**

10

Exemple E1' : Stabilité accélérée à 25°C en dynamique.

[000942] 3 vials de 3 mL remplis avec 1 mL des compositions du tableau 8 sont placés verticalement sur un agitateur orbital. L'agitateur est placé dans une étuve à 25°C et les vials sont soumis à une agitation de 250 rpm. Les vials sont inspectés visuellement de manière hebdomadaire afin de détecter l'apparition de particules visibles ou d'une turbidité. Cette inspection est réalisée selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne (EP 2.9.20) : les vials sont soumis à un éclairage d'au moins 2000 Lux et sont observés face à un fond blanc et un fond noir. Le nombre de semaines de stabilité correspond à la durée à partir de laquelle au moins 2 vials présentent des particules visibles ou sont turbides.

20

[000943] Ces résultats sont en accord avec la pharmacopée US (USP <790>).

[000944] Les résultats de stabilité accélérée obtenus avec les compositions du tableau 8 sont présentés dans le tableau 17 ci-après.

25

Composition	Co-polyaminoacide	Stabilité à 25°C en dynamique (en semaines)
CB2a	BB15	>9
CB2b	BB15	>9
CB2c	BB15	>9

5 Tableau 17 : résultats des stabilités des compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (200 U/mL)/insuline lispro (67 UI/mL) avec ou sans exenatide à 25°C en dynamique (sous agitation à 250 rpm).

Exemple E2 : Stabilité accélérée à 30°C en statique

[000945] 5 vials de 3 mL remplis avec 1 mL de composition sont placés verticalement dans une étuve maintenue à 30°C. Les vials sont inspectés visuellement de manière  
10 quotidienne afin de détecter l'apparition de particules visibles ou d'une turbidité. Cette inspection est réalisée selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne (EP 2.9.20) : les vials sont soumis à un éclairage d'au moins 2000 Lux et sont observés face à un fond blanc et un fond noir. Le nombre de semaines de stabilité correspond à la durée à partir de laquelle au moins la moitié des vials présentent des particules  
15 visibles ou sont turbides.

[000946] Ces résultats sont en accord avec la pharmacopée US (USP <790>).

[000947] Les résultats de stabilité accélérée (obtenus avec différentes compositions sont présentés dans les tableaux 18a et 18b ci-après.

Composition	Co-polyaminoacide	Stabilité à 30°C en statique (en semaine)
CB5	-	*
CB5f	BB14	>9

20 Tableau 18a : résultats des stabilités des compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (225 U/mL)/insuline lispro (75 UI/mL) à 30°C en statique. (\*Apparition d'un précipité quand le pH de la solution est ajusté à pH 7).

Composition	Co-polyaminoacide	Stabilité à 30°C en statique (en semaine)
CB3	-	*
CB3j	BB7	>12
CB3o	BB15	>9

25 Tableau 18b : résultats des stabilités des compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (200 U/mL)/insuline lispro (66 UI/mL) à 30°C en statique. (\*Apparition d'un précipité quand le pH de la solution est ajusté à pH 7).

### V. Exemples de compositions selon l'invention

Exemple H4 : Préparation de compositions de co-polyaminoacide, d'insuline glargine à 200 U/mL et d'insuline lispro à 66 U/mL à pH 7,1

[000948] Des exemples des compositions d'insuline glargine à 200 U/mL, d'insuline  
5 lispro à 66 U/mL et de co-polyaminoacides sont décrits dans l'exemple CB3 et  
présentées dans le tableau 4a.

Exemple H5 : Préparation de compositions de co-polyaminoacide, d'insuline glargine à 150 U/mL, d'insuline lispro à 50U/mL à pH 7,1

10 [000949] De manière analogue à l'exemple H4, des compositions d'insuline glargine  
à 150 U/mL, d'insuline lispro à 50 U/mL et de co-polyaminoacide sont préparées. Elles  
sont présentées dans le tableau 19 :

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Insuline lispro (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)
H5a	150	50	AB6	5,25
H5c	150	50	AB21	4,5
H5f	150	50	BB3	5,25
H5g	150	50	BB5	6,75
H5i	150	50	AB18	4,5
H5j	150	50	BB7	5,25
H5m	150	50	BB10	4,5
H5n	150	50	BB11	4,5
H5o	150	50	BB15	4,5
H5p	150	50	BB16	4,5
H5r	150	50	AB17	4,5

15 Tableau 19 : Compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (150 U/mL) / insuline lispro (50 U/mL).

Exemple H6 : Préparation de compositions de co-polyaminoacide et d'insuline glargine à 300 U/mL, d'insuline lispro à 100 U/mL et à pH 7,1

[000950] De manière analogue à l'exemple H4, des compositions d'insuline glargine  
à 300 U/mL, d'insuline lispro à 100 U/mL et de co-polyaminoacide sont préparées. Elles  
20 sont présentées dans le tableau 20.

Composition	Insuline glargine (U/mL)	Insuline lispro (U/mL)	Co-polyaminoacide	Concentration en co-polyaminoacide (mg/mL)
H6a	300	100	AB6	10,5
H6c	300	100	AB21	9
H65f	300	100	BB3	10,5
H6g	300	100	BB5	13,5

H6i	300	100	AB18	9
H6j	300	100	BB7	10,5
H6m	300	100	BB10	9
H6n	300	100	BB11	9
H6o	300	100	BB15	9
H6p	300	100	BB16	9
H6r	300	100	AB17	9
H6s	300	100	CEB2	9
H6t	300	100	CEB3	10,5

Tableau 20 : Compositions co-polyaminoacide/insuline glargine (300 U/mL) / insuline lispro (100 U/mL).

Exemple H7 : Préparation de compositions de co-polyaminoacide et de dulaglutide à 1 mg/mL à pH 7,1

- 5 [000951] De manière analogue à l'exemple DB3, des compositions d'insuline glargine à 200 U/mL, de dulaglutide à 1 mg/ml et de co-polyaminoacide sont préparées. Elles sont présentées dans le tableau 21.

Composition	Co-polyaminoacide	Insuline glargine (U/mL)	Dulaglutide (mg/mL)	Co-polyaminoacide (mg/mL)
DB1	-	50	0,25	-
DB2	-	50	0,25	-
DB3a	AB6	200	1	7
DB3b	AB17	200	1	6
DB3c	BB7	200	1	7
DB3d	BB5	200	1	9
DB3e	BB10	200	1	6
DB3f	BB14	200	1	9
DB3g	BB15	200	1	6

Tableau 21 : Compositions de co-polyaminoacide et de dulaglutide à 1 mg/mL à pH 7,1

- 10 Exemple H8 : Préparation de compositions de co-polyaminoacide, d'insuline glargine à 150 U/mL, et de dulaglutide à 0,75 mg/ml à pH 7,1

[000952] De manière analogue à l'exemple H7, des compositions d'insuline glargine à 150 U/mL, de dulaglutide à 0,75 mg/ml et de co-polyaminoacide sont préparées. Elles sont présentées dans le tableau 22.

Composi tion	Co- polyaminoacid e	Insuline glargine (U/mL)	Dulaglutide (mg/mL)	Co-polyaminoacide (mg/mL)
H8a	AB6	150	0,75	5,25
H8b	AB17	150	0,75	4,5
H8c	BB7	150	0,75	5,25
H8d	BB5	150	0,75	6,75
H8e	BB10	150	0,75	4,5
H8f	BB14	150	0,75	6,75
H8g	BB15	150	0,75	4,5

Tableau 22 : Compositions co-polyaminoacide /insuline glargine (150 U/mL) / dulaglutide (0,75 mg/ml).

Exemple H9 : Préparation de compositions de co-polyaminoacide, d'insuline glargine à 300 U/mL, et de dulaglutide à 1,5 mg/mL à pH 7,1

- 5 [000953] De manière analogue à l'exemple H7, des compositions d'insuline glargine à 300 U/mL, de dulaglutide à 1,5 mg/ml et de co-polyaminoacide sont préparées. Elles sont présentées dans le tableau 23.

Composi tion	Co- polyaminoac ide	Insuline glargine (U/mL)	Dulaglutide (mg/mL)	Co-polyaminoacide (mg/mL)
H8a	AB6	300	1,5	10,5
H8b	AB17	300	1,5	9
H8c	BB7	300	1,5	10,5
H8d	BB5	300	1,5	13,5
H8e	BB10	300	1,5	9
H8f	BB14	300	1,5	13,5
H8g	BB15	300	1,5	9

10 Tableau 23 : Compositions co-polyaminoacide /insuline glargine (300 U/mL) / dulaglutide (1,5mg/ml).

### Partie F : Etudes de pharmacocinétique et pharmacodynamie chez le chien

- 15 Exemple F1 : Etude de pharmacocinétique et pharmacodynamie chez le chien de la composition co-polyaminoacide BB7 (7 mg/mL) / insuline glargine (200 U/mL) / insuline lispro (66 U/mL)

[000954] Des études chez le chien ont été conduites dans l'objectif d'évaluer la pharmacocinétique et la pharmacodynamie d'une composition de solution d'insuline.

[000955] Les profils pharmacocinétiques et les effets hypoglycémisants de cette composition ont été comparés à ceux d'injections simultanées, mais séparées, d'insuline glargine (Lantus®) (pH 4) (exemple C4) et d'une insuline prandiale lispro (Humalog®) (exemple C1) dans les proportions 75% d'insuline glargine (Lantus®) / 25% d'insuline lispro (Humalog®).

[000956] Dix animaux qui ont été mis à jeun depuis 18 heures environ ont été injectés dans le cou au-dessus de la région interscapulaire à la dose de 0,8 U/kg à l'aide d'un stylo Junior Star. Dans l'heure précédant la ou les injections d'insuline, 2 prélèvements sanguins sont réalisés afin de déterminer le niveau basal de glucose et d'insuline. Des prélèvements sanguins sont ensuite réalisés pendant les 20h suivant la ou les injections. La glycémie est déterminée au moyen d'un glucomètre. Les niveaux d'insuline sont déterminés par un test ELISA.

[000957] Les courbes pharmacocinétiques moyennes de l'insuline exprimées en déviation du niveau basal sont présentées dans la Figure 1.

[000958] Les courbes de pharmacodynamie moyenne du glucose exprimée en pourcents du niveau basal sont représentées dans la Figure 2.

[000959] Les résultats de pharmacocinétique obtenus avec les administrations séparées et simultanées d'insuline lispro (Humalog®) et d'insuline glargine (Lantus®) en comparaison de ceux obtenus avec la composition décrite dans l'exemple CB3j sont présentés sur la figure 1. Les profils sont biphasiques. La première phase correspond à un pic d'insuline qui apparaît très rapidement après l'injection, dans les 30 minutes suivant l'injection. Le pic s'étend jusqu'à environ 3h après l'administration. La seconde phase est observée, elle débute environ 3h après l'administration et se termine à la fin du profil et correspond à une absorption prolongée d'insuline conduisant à un profil plat. Cette seconde phase est la partie basale du profil d'insuline quand la première phase correspond à sa partie prandiale. Ces deux phases sont caractéristiques d'une injection simultanée d'insuline prandiale et d'insuline basale et sont bien reproduites avec la composition de l'invention présentée dans l'exemple CB3j.

[000960] Les résultats de pharmacodynamie obtenus avec les administrations séparées et simultanées d'insuline lispro (Humalog®) et d'insuline glargine (Lantus®) en comparaison de ceux obtenus avec la composition décrite dans l'exemple CB3j sont présentés sur la figure 2. L'activité hypoglycémisante de la composition décrite dans l'exemple CB3j est biphasique. La première phase rapide est définie par une décroissance marquée de la glycémie durant environ 60 minutes caractéristique de

- l'effet rapide de l'insuline lispro. Cette première phase est également visible sur la double injection Lantus® / Humalog®, indiquant que la composition selon l'invention ne modifie pas le caractère rapide d'Humalog®. Après environ 60 minutes, la glycémie remonte jusqu'à 3 heures avant une seconde phase plus lente, caractérisée par une activité hypoglycémiant moins marquée et prolongée jusqu'à 18-20 heures post-injection. Cette seconde phase basale est caractéristique de l'effet basal de l'insuline glargine, également visible sur la double injection, indiquant qu'il est bien conservé avec la composition selon l'invention décrite dans l'exemple CB3j.
- 5
- 10 Exemple F2 : Etude de pharmacocinétique et pharmacodynamie chez le chien de la composition co-polyaminoacide BB15 (6 mg/mL) / insuline glargine (200 U/mL) / insuline lispro (66 U/mL)
- [000961] Les profils pharmacocinétiques et les effets hypoglycémiant de cette composition ont été comparés par rapport à ceux d'injections simultanées, mais séparées, d'insuline glargine (Lantus®) (pH 4) (exemple C4) et d'une insuline prandiale lispro (Humalog®) (exemple C1) dans les proportions 75% d'insuline glargine (Lantus®)/ 25% d'insuline lispro (Humalog®).
- 15
- [000962] Dix animaux qui ont été mis à jeun depuis 18 heures environ ont été injectés dans le cou au-dessus de la région interscapulaire à la dose de 0,8 U/kg à l'aide d'un stylo Junior Star. Dans l'heure précédant la ou les injections d'insuline, 2 prélèvements sanguins sont réalisés afin de déterminer le niveau basal de glucose et d'insuline. Des prélèvements sanguins sont ensuite réalisés pendant les 20h suivant la ou les injections. La glycémie est déterminée au moyen d'un glucomètre. Les niveaux d'insuline sont déterminés par un test ELISA.
- 20
- [000963] Les courbes pharmacocinétiques moyennes de l'insuline exprimées en déviation du niveau basal sont présentées dans la Figure 3.
- 25
- [000964] Les courbes de pharmacodynamie moyenne du glucose exprimée en pourcents du niveau basal sont représentées dans la Figure 4.
- 30
- [000965] Les résultats de pharmacocinétique obtenus avec les administrations simultanées d'insuline lispro (Humalog®) et d'insuline glargine (Lantus®) en comparaison avec la composition décrite dans l'exemple CB3o sont présentés sur la figure 3. Les profils sont biphasiques. La première phase correspond à un pic d'insuline qui apparait très rapidement après l'injection, dans les 30 minutes suivant l'injection. Le pic s'étend jusqu'à environ 3h après l'administration. La seconde phase est observée, elle débute environ 3h après l'administration se termine à la fin du profil et correspond à une absorption prolongée d'insuline conduisant à un profil plat. Cette seconde phase
- 35

est la partie basale du profil d'insuline quand la première phase correspond à sa partie prandiale. Ces deux phases sont caractéristiques d'une injection simultanée d'insuline prandiale et d'insuline basale et sont bien reproduites avec la composition de l'invention présentée dans l'exemple CB3o.

5

[000966] Les résultats de pharmacodynamie obtenus avec les administrations séparées et simultanées d'insuline lispro (Humalog®) et d'insuline glargine (Lantus®) en comparaison de ceux obtenus avec la composition décrite dans l'exemple CB3o sont présentés sur la figure 4. L'activité hypoglycémiant de la composition décrite dans l'exemple CB3o est biphasique. La première phase rapide est définie par une décroissance marquée de la glycémie durant environ 60 minutes caractéristique de l'effet rapide de l'insuline lispro. Cette première phase est également visible sur la double injection insuline glargine (Lantus®) / insuline lispro (Humalog®), indiquant que la composition selon l'invention ne modifie pas le caractère rapide de l'insuline lispro (Humalog®). Après environ 60 minutes, la glycémie remonte jusqu'à 3 heures avant une seconde phase plus lente, caractérisée par une activité hypoglycémiant moins marquée et prolongée jusqu'à 18-20 heures post-injection. Cette seconde phase basale est caractéristique de l'effet basal de l'insuline glargine, également visible sur la double injection, indiquant qu'il est bien conservé avec la composition selon l'invention décrite dans l'exemple CB3o.

Exemple F3 : Etude de pharmacocinétique et pharmacodynamie chez le chien de la composition co-polyaminoacide BB15 (5 mg/mL) / insuline glargine (200 U/mL) / insuline lispro (66 U/mL) / exenatide

25 [000967] Des études chez le chien ont été conduites dans l'objectif d'évaluer la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de l'insuline et après administration de compositions de co-polyaminoacide et d'insulines (composition CB2a) et de co-polyaminoacide, d'insulines et d'exenatide (composition CB2c).

[000968] Les effets hypoglycémiant et les profils pharmacocinétiques des insulines de la composition CB2c ont été comparés à ceux de la composition CB2a de composition identique mais sans exenatide.

[000969] Dix animaux qui ont été mis à jeun depuis 18 heures environ ont été injectés au niveau du cou, au-dessus de la région interscapulaire, à la dose de 0,67 U/kg d'insuline pour la composition CB2a et de 0,67 U/kg d'insuline et 0,125 µg/kg d'exenatide pour la composition CB2c. Dans ces conditions d'administration très espacées du repas l'effet pharmacodynamique peut être attribué aux insulines seules. Dans l'heure précédant l'injection, un prélèvement sanguin est réalisé afin de déterminer le niveau basal d'insuline et 3 prélèvements sont réalisés afin de déterminer

35

le niveau basal de glucose. Des prélèvements sanguins sont ensuite réalisés pendant les 23h suivant l'administration pour décrire la pharmacocinétique des insulines. La glycémie est déterminée pendant 24h au moyen d'un glucomètre. Les niveaux d'insuline sont déterminés par un test ELISA.

5 [000970] Les courbes pharmacocinétiques moyennes de l'insuline exprimées en déviation du niveau basal sont présentées dans la Figure 5.

[000971] Les courbes de pharmacodynamie moyenne du glucose exprimée en pourcents de déviation du niveau basal sont représentées dans la Figure 6.

10 [000972] Les résultats de pharmacocinétique d'insuline obtenus après l'administration de la composition sans exenatide (composition CB2a) en comparaison à ceux de la composition avec exenatide (composition CB2c) sont présentés sur la figure 5. Les profils sont biphasiques. La première phase correspond à un pic d'insuline qui apparaît très rapidement après l'injection, dans les 30 à 45 minutes suivant l'injection.  
15 Le pic s'étend jusqu'à environ 3h après l'administration. La seconde phase est observée d'environ 3h après l'administration jusqu'à la fin du profil et correspond à une absorption prolongée d'insuline conduisant à un profil plat. Cette seconde phase est la partie basale du profil d'insuline quand la première phase correspond à sa partie prandiale. Ces deux phases sont caractéristiques d'injections séparées et simultanées d'insuline prandiale et  
20 insuline basale. Les profils sont similaires pour les deux compositions, ce qui démontre que la présence d'exenatide ne modifie pas la cinétique des insulines de la composition CB2c.

[000973] Les résultats de pharmacodynamie obtenus avec l'administration des  
25 compositions CB2a et composition CB2c sont présentés sur la figure 6. L'activité hypoglycémiant de la composition est biphasique. La première phase rapide est définie par une décroissance marquée de la glycémie durant environ 60 minutes caractéristique de l'effet rapide de l'insuline lispro. Après environ 60 minutes, la glycémie remonte jusqu'à 3 heures avant une seconde phase plus lente, caractérisée par une activité  
30 hypoglycémiant moins marquée et prolongée jusqu'à 18-24 heures post-injection. Cette seconde phase basale est caractéristique de l'effet basal de l'insuline glargine. Le profil est similaire pour les deux compositions (CB2a et CB2c), indiquant que la présence d'exenatide ne modifie pas la bioactivité de la composition CB2c.

Exemple F4 : Etude de pharmacodynamie chez le chien de la composition copolyaminoacide BB15 (5 mg/mL) / insuline glargine (200 U/mL) / insuline lispro (66 U/mL) / exenatide

5 [000974] Des études chez le chien ont été conduites dans l'objectif d'évaluer la pharmacodynamie d'une co-formulation liquide d'insulines et d'exenatide (composition CB2c).

[000975] Les effets hypoglycémisants de la composition CB2c ont été comparés à ceux d'injections séparées et simultanées de l'insuline glargine (Lantus®) (pH 4), de  
10 l'insuline lispro (Humalog®) en présence d'exenatide (Byetta®).

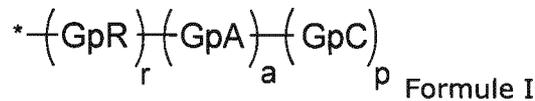
[000976] Dix animaux qui ont été mis à jeun depuis 3 heures ont été injectés dans le cou au-dessus de la région interscapulaire à la dose de 1 U/kg d'insuline et 0,19 µg/kg d'exenatide. Dans ces conditions d'administration juste après un repas, l'effet  
15 pharmacodynamique peut être attribué aux insulines et à l'exenatide. Dans l'heure précédant l'injection, 3 prélèvements sanguins ont été réalisés afin de déterminer le niveau basal de glucose. Des prélèvements sanguins sont ensuite réalisés pendant les 6h suivant l'administration. La glycémie est déterminée au moyen d'un glucomètre.

[000977] Les courbes de pharmacodynamie moyenne du glucose exprimée en pourcents de déviation du niveau basal sont représentées dans la Figure 7.  
20

[000978] Les résultats de pharmacodynamie obtenus après administration de la composition CB2c en comparaison de ceux obtenus après les administrations séparées et simultanées d'insuline lispro (Humalog®), insuline glargine (Lantus®) et exenatide  
25 (Byetta®) (nommées triple injection) sont présentés sur la figure 7. L'activité hypoglycémisante de la composition CB2c est biphasique. La première phase rapide est définie par une décroissance marquée de la glycémie durant environ 60 minutes caractéristique de l'effet rapide de l'exenatide et de l'insuline lispro (Humalog®) comme on peut le voir sur le profil de la triple injection. Après environ 60 minutes, la glycémie remonte jusqu'à 3 heures avant une seconde phase plus lente, caractérisée par une  
30 activité hypoglycémisante moins marquée jusqu'à 6 heures post-injection. Cette seconde phase basale est caractéristique de l'effet basal de l'insuline glargine, et s'observe de façon similaire sur le profil de la triple injection et de la composition CB2c. Ces résultats montrent que les effets de l'exenatide et des insulines sont bien conservés avec la  
35 composition CB2c.

**REVENDICATIONS**

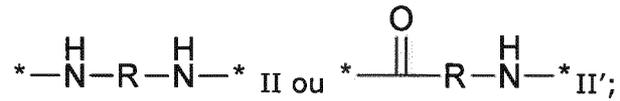
- 5 1. Composition sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :
- a) une insuline basale dont le point isoélectrique pI est compris entre 5,8 et 8,5 ;
- b) une insuline prandiale et/ou une hormone gastrointestinale, et
- 10 c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes Hy, ledit co-polyaminoacide étant constitué d'unités glutamiques ou aspartiques et lesdits radicaux hydrophobes Hy étant de formule I suivante :



15

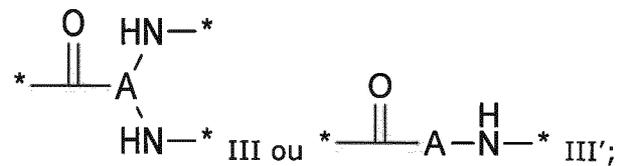
dans laquelle

- GpR est un radical de formules II ou II' :

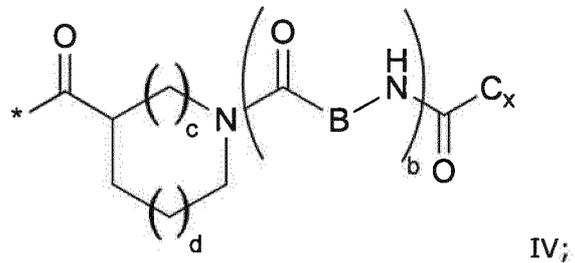


20

- GpA est un radical de formules III ou III' :



- GpC est un radical de formule IV :

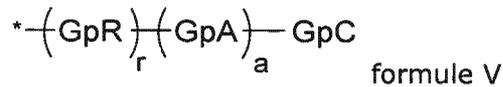


25

- Hy comprend plus de 30 atomes de carbone,

- les \* indiquent les sites de rattachement des différents groupes liés par des fonctions amides ;
- a est un entier égal à 0 ou à 1 ;
- b est un entier égal à 0 ou à 1 ;
- 5 - p est un entier égal à 1 ou à 2 et
  - o si p est égal à 1 alors a est égal à 0 ou à 1 et GpA est un radical de formule III' et,
  - o si p est égal à 2 alors a est égal à 1, et GpA est un radical de formule III;
- 10 - c est un entier égal à 0 ou à 1, et si c est égal à 0 alors d est égal à 1 ou à 2;
- d est un entier égal à 0, à 1 ou à 2;
- r est un entier égal à 0 ou à 1, et
  - o si r est égal à 0 alors le radical hydrophobe de formule I est lié au co-polyaminoacide via une liaison covalente entre un carbonyl du radical hydrophobe et un atome d'azote en position N terminale du co-polyaminoacide, formant ainsi une fonction amide, et
  - 15 o si r est égal à 1 alors le radical hydrophobe de formule I est lié au co-polyaminoacide :
    - via une liaison covalente entre un atome d'azote du radical hydrophobe et un carbonyl du co-polyaminoacide, formant ainsi une fonction amide ou
    - 20 ▪ via une liaison covalente entre un carbonyl du radical hydrophobe et un atome d'azote en position N terminal du co-polyaminoacide, formant ainsi une fonction amide;
- 25 - R est un radical choisi dans le groupe constitué par :
  - o un radical alkyle divalent, linéaire ou ramifié, comprenant si GpR est un radical de formule II de 2 à 12 atomes de carbone ou si GpR est un radical de formule II' de 1 à 11 atomes de carbone ;
  - o un radical alkyle divalent, linéaire ou ramifié, comprenant si GpR est un radical de formule II de 2 à 11 atomes de carbone ou si GpR est un radical de formule II' de 1 à 11 atomes de carbone, ledit radical alkyle portant une ou plusieurs fonctions -CONH<sub>2</sub>, et
  - 30 o un radical éther ou polyéther non substitué comprenant de 4 à 14 atomes de carbone et de 1 à 5 atomes d'oxygène ;
- 35 - A est un radical alkyle linéaire ou ramifié comprenant de 1 à 6 atomes de carbone ;
- B est un radical alkyle linéaire ou ramifié, éventuellement comprenant un noyau aromatique, comprenant de 1 à 9 atomes de carbone ;

- C<sub>x</sub> est un radical alkyl monovalent linéaire ou ramifié, dans lequel x indique le nombre d'atomes de carbone et :
    - o si p est égal à 1, x est compris entre 11 à 25 (11 ≤ x ≤ 25),
    - o si p est égal à 2, x est compris entre 9 et 15 (9 ≤ x ≤ 15),
- 5
- le ratio i entre le nombre de radicaux hydrophobes et le nombre d'unités glutamiques ou aspartiques étant compris entre 0 < i ≤ 0,5 ;
  - lorsque plusieurs radicaux hydrophobes sont portés par un co-polyaminoacide alors ils sont identiques ou différents,
- 10
- le degré de polymérisation DP en unités glutamiques ou aspartiques est compris entre 5 et 250 ;
  - les fonctions acides libres étant sous forme de sel de cation alcalin choisi dans le groupe constitué par Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>.
- 15
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits radicaux hydrophobes sont choisis parmi les radicaux hydrophobes de formule I dans laquelle p = 1, représentée par la formule V suivante :

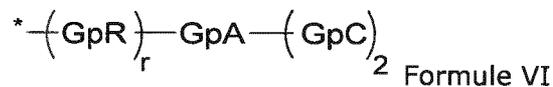


20

GpR, GpA, GpC, r et a ont les définitions données précédemment.

3. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits radicaux hydrophobes sont choisis parmi les radicaux hydrophobes de formule I dans laquelle a = 1 et p = 2, représentée par la formule VI suivante :

25



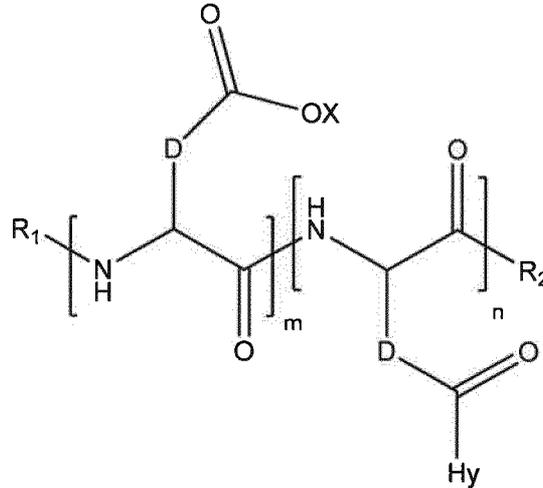
dans laquelle

30

GpR, GpA, GpC, r et a ont les définitions données précédemment.

4. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VII suivante :

35

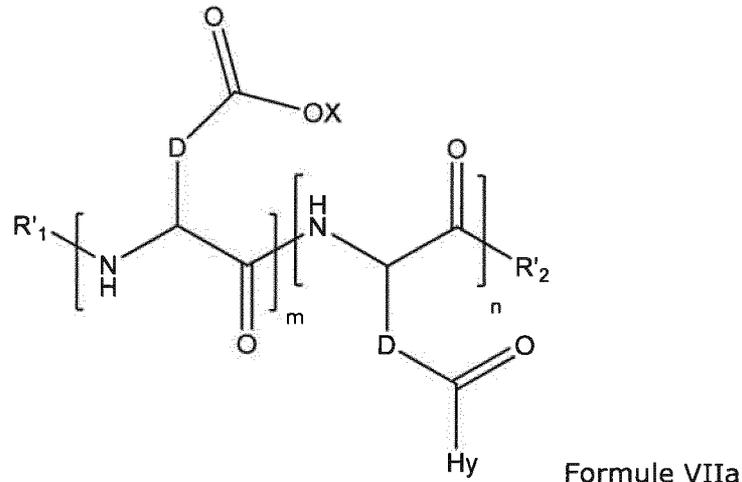


formule VII

dans laquelle,

- 5
  - D représente, indépendamment, soit un groupe -CH<sub>2</sub>- (unité aspartique) soit un groupe -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- (unité glutamique),
  - Hy est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de formules I, V ou VI, dans lesquelles r = 1 et GpR est un radical de Formule II,
  - R<sub>1</sub> est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de 10 formules I, V ou VI dans lesquelles r = 0 ou r = 1 et GpR est un radical de Formule II', ou un radical choisi dans le groupe constitué par un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10, un groupe acyle ramifié en C4 à C10, un benzyle, une unité « acide aminé » terminale et un pyroglutamate,
  - R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe choisi parmi les radicaux hydrophobes de 15 formules I, V ou VI dans lesquelles r = 1 et GpR est un radical de Formule II, ou un radical -NR'R'', R' et R'' identiques ou différents étant choisis dans le groupe constitué par H, les alkyles linéaires ou ramifiés ou cycliques en C2 à C10, le benzyle et lesdits R' et R'' alkyles pouvant former ensemble un ou des cycles carbonés saturés, insaturés et/ou aromatiques et/ou pouvant comporter des hétéroatomes, choisis dans le groupe 20 constitué par O, N et S,
  - X représente une entité cationique choisie dans le groupe comprenant les cations alcalins ;
  - n + m représente le degré de polymérisation DP du co-polyaminoacide, c'est-à-dire le nombre moyen d'unités monomériques par chaîne de co- 25 polyaminoacide et 5 ≤ n + m ≤ 250 ;

5. Composition selon la revendication précédente, caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VII, dans laquelle  $R_1 = R'_1$  et  $R_2 = R'_2$ , de formule VIIa suivante :



5

dans laquelle,

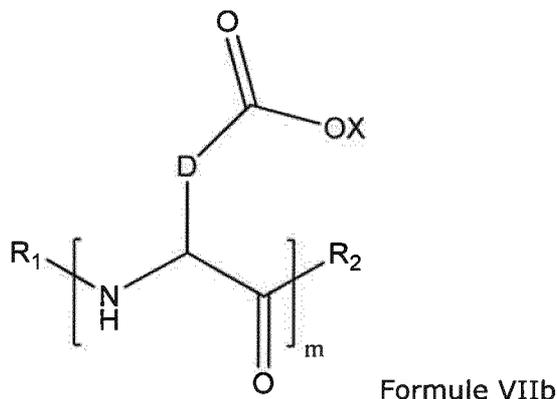
- $m, n, X, D$  et  $Hy$  ont les définitions données précédemment,
- $R'_1$  est un radical choisi dans le groupe constitué par un H, un groupe acyle linéaire en C2 à C10, un groupe acyle ramifié en C4 à C10, un benzyle, une unité « acide aminé » terminale et un pyrroglutamate,
- $R'_2$  est un radical  $-NR'R''$ ,  $R'$  et  $R''$  identiques ou différents étant choisis dans le groupe constitué par H, les alkyles linéaires ou ramifiés ou cycliques en C2 à C10, le benzyle et lesdits  $R'$  et  $R''$  alkyles pouvant former ensemble un ou des cycles carbonés saturés, insaturés et/ou aromatiques et/ou pouvant comporter des hétéroatomes, choisis dans le groupe constitué par O, N et S.

10

15

6. Composition selon la revendication 4, caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formule VII dans laquelle  $n = 0$  de formule VIIb suivante :

20



dans laquelle m, X, D, R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> ont les définitions données précédemment et au moins R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI.

7. Composition selon la revendication 6 caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi  
5 parmi les co-polyaminoacides de formule VII dans laquelle n = 0 de formule VIIb et R<sub>1</sub> ou R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI.

8. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi  
10 parmi les co-polyaminoacides de formules VIIb dans laquelle R<sub>2</sub> est un radical hydrophobe de formule I, V ou VI dans lesquelles r = 1 et GpR est de Formule II.

9. Composition selon l'une quelconque des revendications 4 à 8, caractérisé en ce  
15 que R<sub>1</sub> est un radical choisi dans le groupe constitué par un groupe acyle linéaire en C<sub>2</sub> à C<sub>10</sub>, un groupe acyle ramifié en C<sub>4</sub> à C<sub>10</sub>, un benzyle, une unité « acide aminé » terminale et un pyroglutamate.

10. Composition selon la revendication précédente, caractérisé en ce que R<sub>1</sub> est un  
20 radical choisi dans le groupe constitué par un groupe acyle linéaire en C<sub>2</sub> à C<sub>10</sub> ou un groupe acyle ramifié en C<sub>4</sub> à C<sub>10</sub>.

11. Composition selon l'une quelconque des revendications 4 à 10, caractérisée en  
25 ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VII, VIIa ou VIIb dans lesquels le co-polyaminoacide est choisi parmi les co-polyaminoacides dans lesquels le groupe D est un groupe -CH<sub>2</sub>- (unité aspartique).

12. Composition selon l'une quelconque des revendications 4 à 10, caractérisée en  
30 ce que le co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est choisi parmi les co-polyaminoacides de formules VII, VIIa ou VIIb dans lesquels le co-polyaminoacide est choisi parmi les co-polyaminoacides dans lesquels le groupe D est un groupe -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- (unité glutamique).

35 13. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 est l'insuline glargine

14. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 40 et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- 5
15. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 60 mg/mL.
- 10
16. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 40 mg/mL.
17. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes , caractérisée en ce que la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 20 mg/mL.
- 15
18. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes , caractérisée en ce que la concentration en co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et de radicaux hydrophobes est au plus de 10 mg/mL.
- 20
19. Composition sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :
- 25
- a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 et
  - b) une insuline prandiale, et
  - c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un radical hydrophobe de formule I.
20. Composition selon la revendication précédente, caractérisée en ce que l'insuline prandiale est de l'insuline humaine.
- 30
21. Composition selon l'une quelconque des revendications 19 et 20, caractérisée en ce que au total elle comprend entre 40 et 500 U/mL d'insuline avec une combinaison d'insuline prandiale et d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5.
- 35
22. Composition selon l'une quelconque des revendications 19 à 21, caractérisée en ce que les proportions entre l'insuline basale dont le point isoélectrique est compris

entre 5,8 et 8,5 et l'insuline prandiale sont en pourcentage de 25/75, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20 ou 90/10.

23. Composition sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est  
5 compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :
- a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et 8,5 et
  - b) une hormone gastrointestinale, et
  - c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un  
10 radical hydrophobe de formule I.
24. Composition sous forme d'une solution aqueuse injectable, dont le pH est  
compris entre 6,0 et 8,0, comprenant au moins :
- a) une insuline basale dont le point isoélectrique (pI) est compris entre 5,8 et  
15 8,5 et
  - b) une insuline prandiale et une hormone gastrointestinale, et
  - c) un co-polyaminoacide porteur de charges carboxylates et d'au moins un  
radical hydrophobe de formule I.
- 20 25. Composition selon la revendication précédente, caractérisée en ce que l'hormone  
gastrointestinale est choisie dans le groupe constitué par l'exenatide, le liraglutide, le  
lixisenatide, l'albiglutide et le dulaglutide, leurs analogues ou dérivés et leurs sels  
pharmaceutiquement acceptables.
- 25 26. Composition selon l'une quelconque des revendications 23 à 24, caractérisée en  
ce que l'hormone gastrointestinale est le dulaglutide ses analogues ou dérivés et leurs  
sels pharmaceutiquement acceptables.
27. Composition selon l'une quelconque des revendications 23 à 24, caractérisée en  
30 ce que l'hormone gastrointestinale est l'exenatide ses analogues ou dérivés et leurs sels  
pharmaceutiquement acceptables.
28. Composition selon l'une quelconque des revendications 23 à 24, caractérisée en  
ce que l'hormone gastrointestinale est le liraglutide ses analogues ou dérivés et leurs  
35 sels pharmaceutiquement acceptables.

29. Composition selon l'une quelconque des revendications 23 à 24, caractérisée en ce que l'hormone gastrointestinale est le lixisenatide ses analogues ou dérivés et leurs sels pharmaceutiquement acceptables.
- 5 30. Composition selon l'une quelconque des revendications 23 à 28, caractérisée en ce que la concentration en hormone gastrointestinale est comprise dans un intervalle de 0,01 à 10 mg/mL.
31. Composition selon l'une quelconque des revendications 24 ou 26, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et de 0,05 à 0,5 mg/mL d'exenatide.
- 10 32. Composition selon l'une quelconque des revendications 24 ou 27 caractérisée en ce qu'elle comprend entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et de 1 à 10 mg/mL de liraglutide.
- 15 33. Composition selon l'une quelconque des revendications 24 ou 28, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 40 U/mL et 500 U/mL d'insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et de 0,01 à 1 mg/mL de lixisenatide.
- 20 34. Formulation unidose à pH compris entre 7 et 7,8 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une insuline prandiale.
35. Formulation unidose à pH compris entre 7 et 7,8 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5 et une hormone gastrointestinale.
- 25 36. Formulation unidose à pH compris entre 7 et 7,8 comprenant une insuline basale dont le point isoélectrique est compris entre 5,8 et 8,5, une insuline prandiale et une hormone gastrointestinale.
- 30

1/4

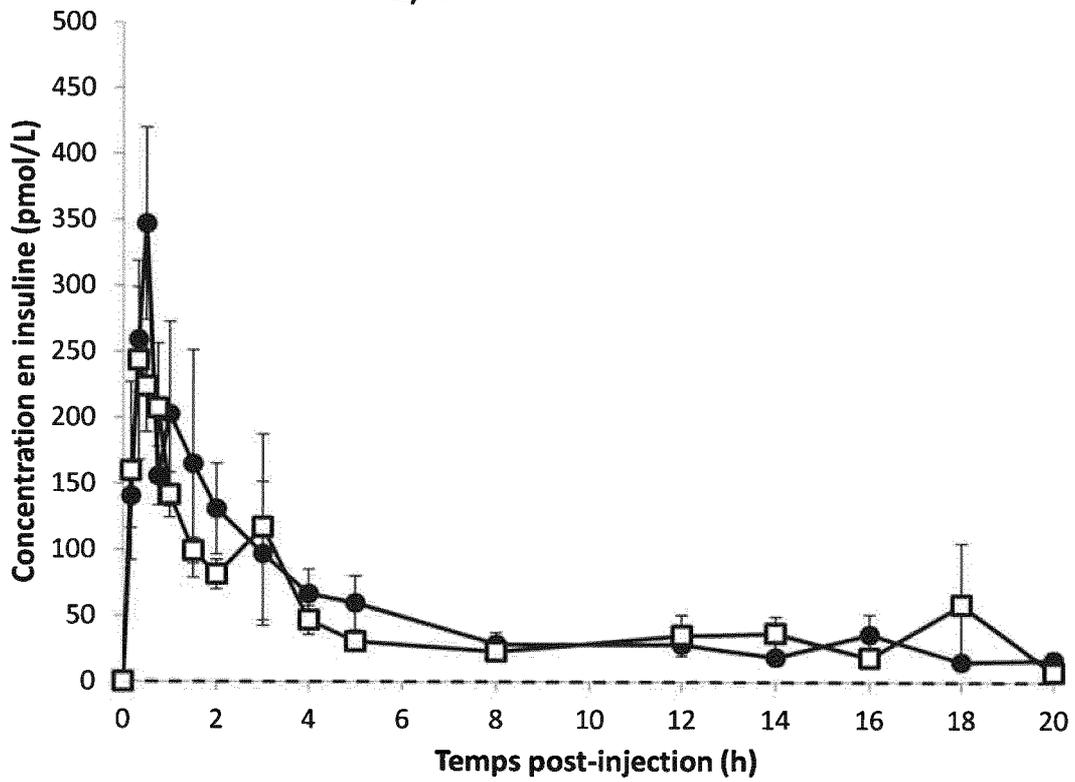


Figure 1

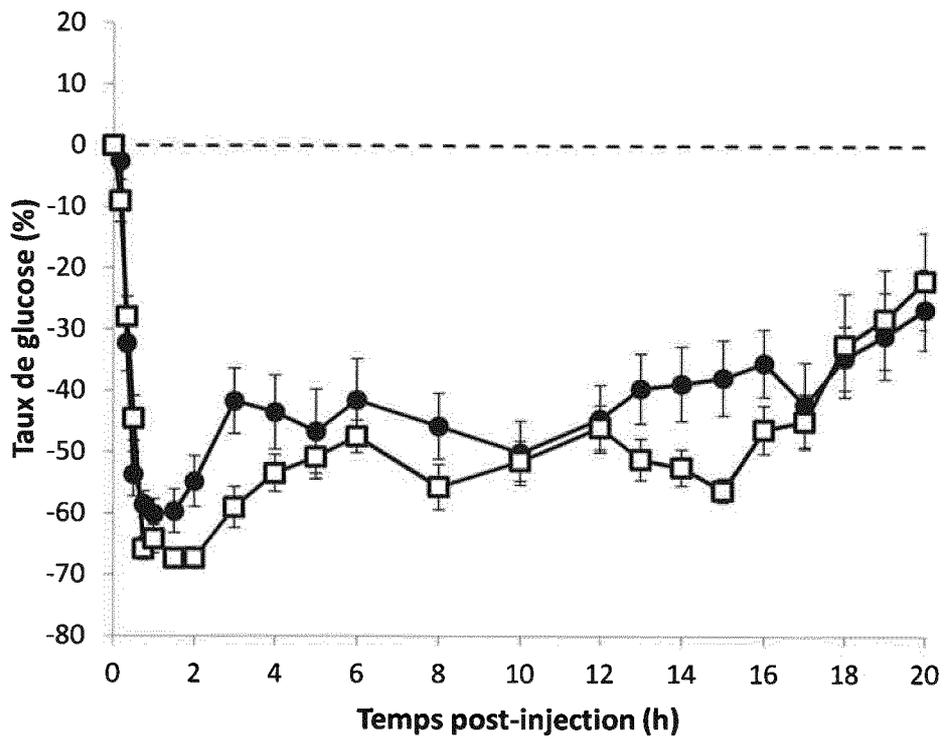


Figure 2

2/4

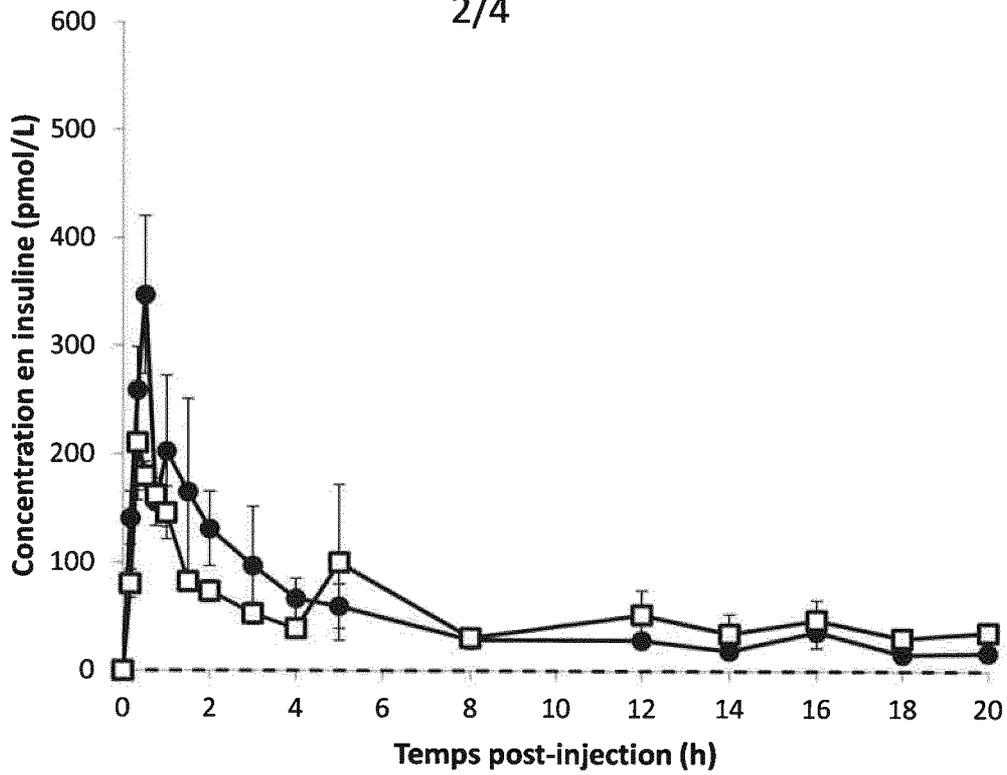


Figure 3

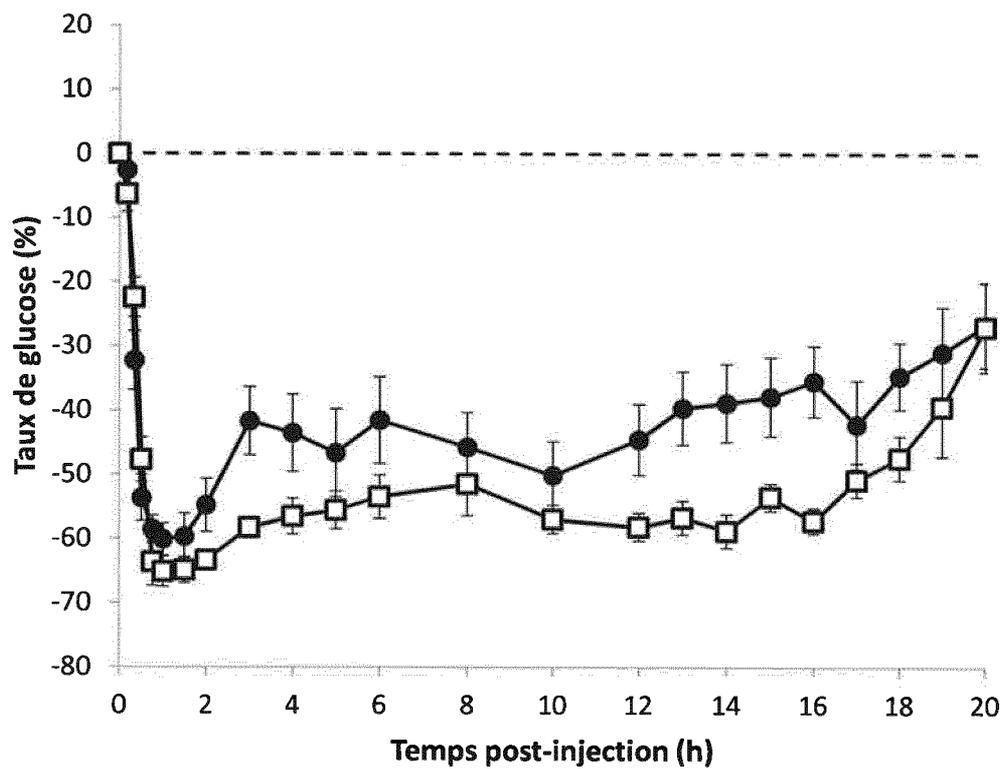


Figure 4

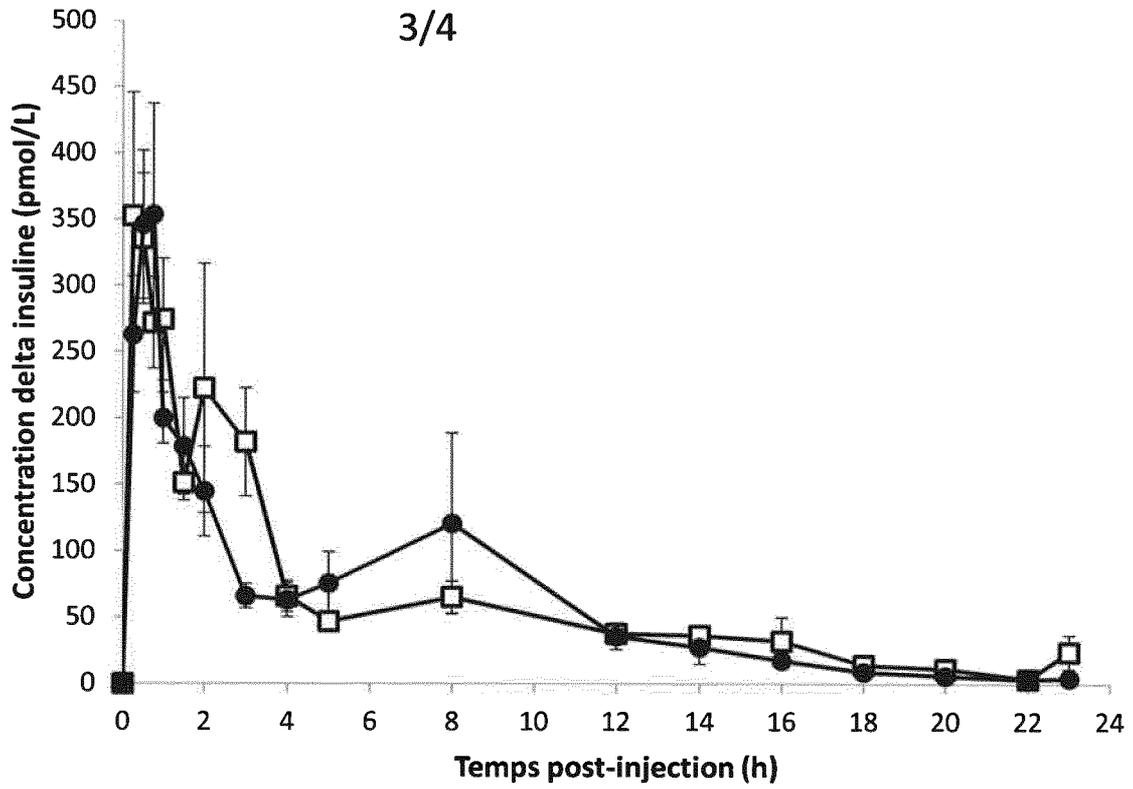


Figure 5

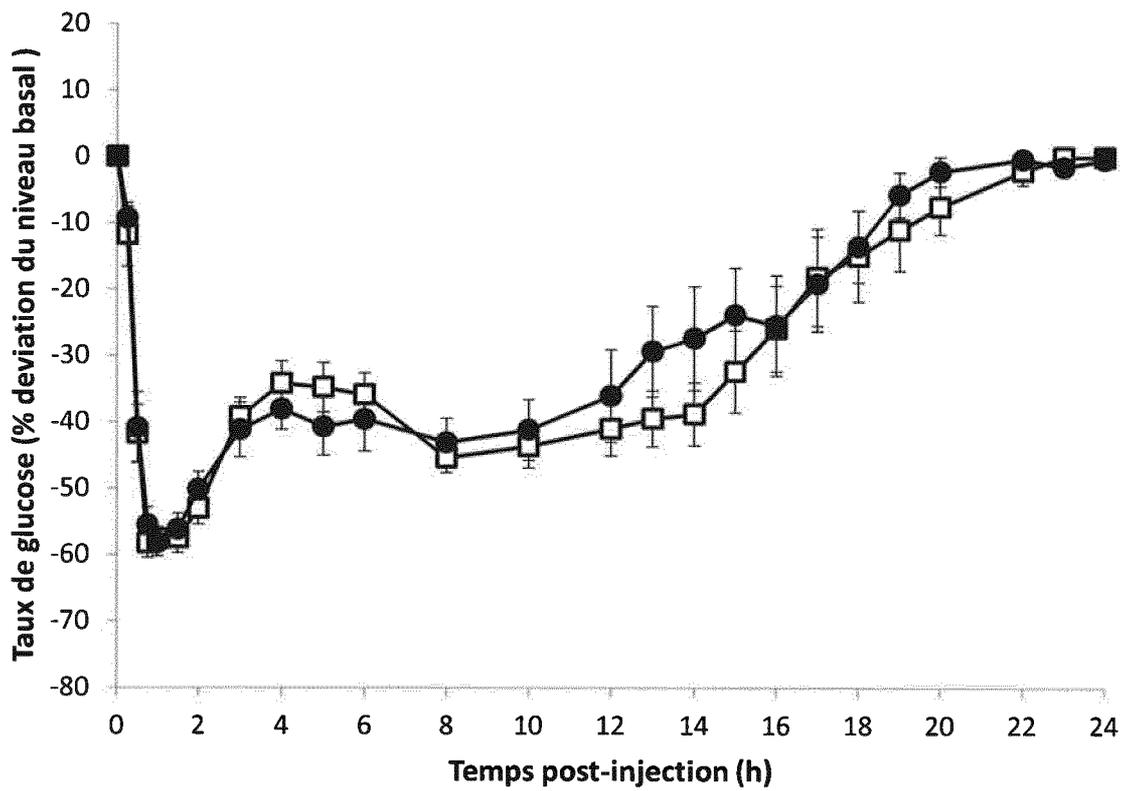


Figure 6

4/4

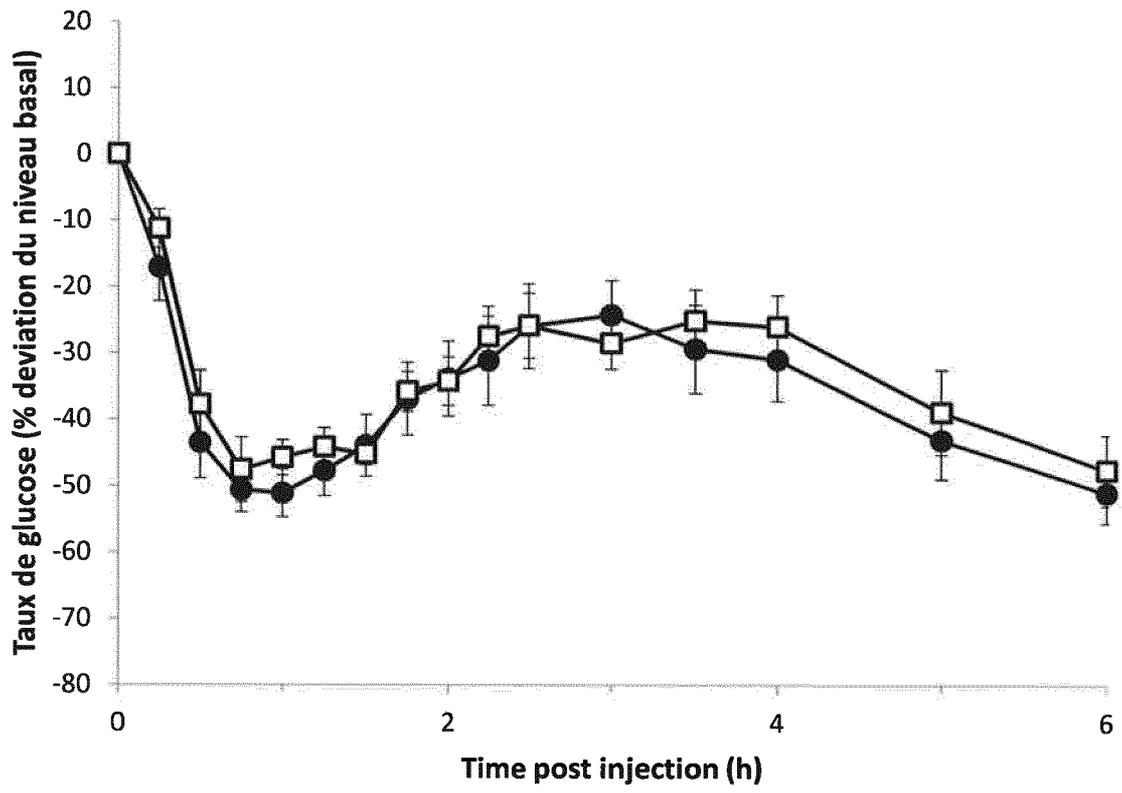


Figure 7

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No  
PCT/EP2017/063886

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. A61K9/08 A61K47/34 A61K38/28  
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, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2013/178415 A1 (SOULA OLIVIER [FR]) 11 July 2013 (2013-07-11) cited in the application paragraph [0046] - paragraph [0064] page 16 - page 18; examples 1-8 page 23; example B37 page 24; table 11 claims -----	1-36

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

1 August 2017

Date of mailing of the international search report

09/08/2017

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

Muller, Sophie

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/063886

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
US 2013178415	A1	11-07-2013	CN 104114155 A	22-10-2014
			EP 2814461 A1	24-12-2014
			US 2013178415 A1	11-07-2013
			US 2016074518 A1	17-03-2016
			WO 2013104861 A1	18-07-2013
-----				

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2017/063886

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61K9/08      A61K47/34      A61K38/28 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, 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
A	US 2013/178415 A1 (SOULA OLIVIER [FR]) 11 juillet 2013 (2013-07-11) cité dans la demande alinéa [0046] - alinéa [0064] page 16 - page 18; exemples 1-8 page 23; exemple B37 page 24; tableau 11 revendications -----	1-36
<input type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		
<input checked="" type="checkbox"/> 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  1 août 2017		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale  09/08/2017
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  Muller, Sophie

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/EP2017/063886

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2013178415 A1	11-07-2013	CN 104114155 A	22-10-2014
		EP 2814461 A1	24-12-2014
		US 2013178415 A1	11-07-2013
		US 2016074518 A1	17-03-2016
		WO 2013104861 A1	18-07-2013
-----			