

(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
28 octobre 2010 (28.10.2010)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2010/122385 A1

(51) Classification internationale des brevets :

A61K 38/28 (2006.01) A61P 5/50 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01) A61K 47/36 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/IB2010/000711

(22) Date de dépôt international :

26 mars 2010 (26.03.2010)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

61/202,692 27 mars 2009 (27.03.2009) US
09/01478 27 mars 2009 (27.03.2009) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :

ADOCIA [FR/FR]; 115, avenue Lacassagne, F-69003
Lyon (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : SOULA,

Gérard [FR/FR]; 33 rue Nungesser, F-69630 MEYZIEU
(FR). SOULA, Olivier [FR/FR]; 115 Avenue du Carreau,
F-69630 MEYZIEU (FR). SOULA, Rémi [FR/FR]; 38
rue du Bon Pasteur, F-69001 LYON (FR).

(74) Mandataire : CABINET INES TRIPOZ; 52, rue du

Colombier, F-69007 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, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, 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, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), européen (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, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

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

(54) Title : FAST-ACTING INSULIN FORMULATION

(54) Titre : FORMULATION A ACTION RAPIDE D'INSULINE

(57) Abstract : The invention relates to a complex of insulin and a polysaccharide comprising carboxylic functional groups, said polysaccharide being selected from among the polysaccharides functionalized by at least one phenylalanine derivative, in particular said phenylalanine derivative being selected from the group consisting of phenylalanine and the alkaline cation salts thereof, phenylalanine, phenylalaninamide, amine ethyl benzyl or from among the esters of phenylalanine and said insulin being either a human insulin or equivalent insulin. The invention also relates to a pharmaceutical composition including at least one complex according to the invention, particularly in the form of an injectable solution.

(57) Abrégé : L'invention concerne un complexe entre une insuline et un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles, ledit polysaccharide étant choisi parmi les polysaccharides fonctionnalisés par au moins un dérive de la phénylalanine, note Phe ledit dérive de la phénylalanine étant choisi dans le groupe constitué par la phénylalanine et ses sels de cation alcalin, le phénylalanine, le phénylalaninamide, l'éthyle benzyle amine ou parmi les esters de la phénylalanine et ladite insuline étant soit une insuline humaine soit une insuline analogue. L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant au moins un complexe selon l'invention, notamment sous forme d'une solution injectable.



WO 2010/122385 A1

Formulation à action rapide d'insuline

[0001] La présente invention concerne une formulation à action rapide d'insuline recombinante humaine.

5 [0002] Depuis la production d'insuline par génie génétique, au début des années 80, les patients diabétiques bénéficient d'insuline humaine pour se traiter. Ce produit a grandement amélioré cette thérapie puisque les risques immunologiques liés à l'utilisation d'insuline non humaine en particulier de porc se trouvent éliminés.

10 [0003] Un des problèmes à résoudre pour améliorer la santé des patients diabétiques est de mettre à leur disposition des formulations d'insuline qui permettent d'apporter une réponse hypoglycémiant s'approchant en terme de cinétique de la réponse physiologique générée par le début d'un repas pour leur permettre de ne pas anticiper leur heure de début de repas et de procéder à l'injection d'insuline au début du repas.

15 [0004] Aujourd'hui, il est admis que la mise à disposition de telles formulations est indispensable pour que la prise en charge de la maladie soit la meilleure possible.

[0005] Le génie génétique a permis d'apporter une réponse avec le développement d'insulines analogues rapides. Ces insulines sont modifiées sur un ou deux acides aminés pour être plus rapidement distribuées dans le compartiment sanguin après une injection sous-cutanée. Ces insulines Lispro (Lilly), Novolog (Novo) et Apidra (Aventis) sont des solutions stables d'insuline avec une réponse hypoglycémiant s'approchant en terme de cinétique de la réponse physiologique générée par le début d'un repas. Dès lors, les patients traités avec ces insulines analogues rapides n'ont plus à anticiper leur heure de repas, mais peuvent procéder à l'injection d'insuline au début du repas.

20 [0006] Le principe des insulines analogues rapides est de former des hexamères à la concentration de 100 UI/mL pour assurer la stabilité de l'insuline dans le produit commercial tout en favorisant la dissociation très rapide de ces hexamères en monomères après injection afin d'obtenir une action rapide.

30 [0007] L'insuline humaine telle que formulée sous sa forme commerciale, ne permet pas d'obtenir une réponse hypoglycémiant proche en terme de cinétique de la réponse physiologique générée par le début

d'un repas, car à la concentration d'usage (100 UI/mL), en présence de zinc et d'autres excipients tel que le phénol ou le crésol, elle s'assemble sous forme d'hexamère alors qu'elle est active sous forme de monomère et de dimère. L'insuline humaine est préparée sous forme d'hexamères pour
5 être stable près de 2 ans à 4°C car sous forme de monomères, elle a une très forte propension à s'agréger puis à fibriller ce qui lui fait perdre son activité. De plus sous cette forme agrégée, elle présente un risque immunologique pour le patient.

[0008] Les dissociations des hexamères en dimères et des dimères en
10 monomères retardent son action de près de 20 minutes comparativement à une insuline analogue rapide (Brange J., et al, Advanced Drug Delivery Review, 35,1999, 307-335).

[0009] L'inconvénient des insulines analogues rapides est la modification de la structure primaire de l'insuline humaine. Cette modification entraîne
15 des variations d'interaction avec les récepteurs de l'insuline présents sur un nombre très important de lignées cellulaires car il est connu que le rôle de l'insuline dans l'organisme n'est pas limité à son activité hypoglycémiante. Bien que de nombreuses recherches aient été effectuées dans ce domaine, on ne sait pas déterminer à ce jour si ces insulines analogues ont toutes les
20 propriétés physiologiques de l'insuline humaine.

[00010] De plus, la cinétique de passage des insulines analogues dans le sang, ainsi que leur cinétique de réduction de la glycémie, ne sont pas optimales et il existe un réel besoin d'une formulation ayant un temps d'action encore plus court afin de s'approcher des cinétiques des patients
25 sains.

[00011] La société Bidel a proposé une solution à ce problème avec une formulation d'insuline humaine comprenant de l'EDTA et de l'acide citrique telle que décrite dans la demande de brevet US200839365. L'EDTA par sa capacité à complexer les atomes de zinc et l'acide citrique par ses
30 interactions avec les parties cationiques sont décrits comme déstabilisant la forme hexamérique de l'insuline et réduisant ainsi son temps d'action.

[00012] Cependant, une telle formulation présente plusieurs inconvénients.

[00013] Premièrement, l'injection d'une solution contenant de l'acide
35 citrique peut provoquer des douleurs au site d'injection ce qui a été en

effet, reporté au cours des différentes études cliniques réalisées par Bidel, Business Wire (Sep 08, 2008).

[00014] D'autre part, l'emploi d'un agent chélatant tel que l'EDTA, qui n'est pas spécifique de l'atome de zinc, peut entraîner des effets
5 secondaires.

[00015] L'utilisation de l'insuline rapide s'effectuant trois fois par jour pour les diabétiques de type I et de type II, les douleurs associées à l'administration du produit ne sont pas acceptables pour les malades et les risques d'effets secondaires possibles dus aux excipients doivent être
10 absolument évités.

[00016] Il existe donc un besoin réel et non satisfait de disposer de formulations permettant de réduire significativement le temps de début d'action (onset of action) de l'insuline injectée que celle-ci soit l'insuline
15 humaine ou un analogue.

[00017] La présente invention permet de résoudre les différents problèmes ci-dessus exposés puisqu'elle permet notamment de réaliser une formulation d'insuline humaine à un pH compris entre 6,0 et 7,8, de
20 préférence entre 6,5 et 7,5 en solution à 100 UI/mL, ladite formulation permettant, après administration, d'accélérer le passage de l'insuline dans le sang et/ou la réduction de la glycémie par rapport aux produits commerciaux d'insuline humaine.

[00018] Elle permet également de réduire significativement le temps de
25 début d'action d'une formulation d'insuline analogue rapide.

[00019] L'invention consiste à former un complexe d'insuline avec un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles partiellement substitués.

30 [00020] La formation de ce complexe peut de plus être réalisée par simple mélange d'une solution aqueuse d'insuline et d'une solution aqueuse de polysaccharide.

[00021] L'invention concerne également le complexe entre une insuline et un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles
35 partiellement substitués.

[00022] Dans un mode de réalisation, l'insuline est l'insuline humaine.

[00023] On entend par insuline humaine une insuline obtenue par synthèse ou recombinaison dont la séquence peptidique est la séquence de l'insuline humaine, incluant les variations alléliques et les homologues.

- 5 [00024] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le complexe entre l'insuline humaine et un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles partiellement substitués.

[00025] Elle concerne également l'utilisation de ce complexe pour préparer des formulations d'insuline humaine permettant, après
10 administration, d'accélérer le passage de l'insuline dans le sang et/ou la réduction de la glycémie par rapport aux produits commerciaux d'insuline humaine.

[00026] Les formulations d'insuline humaine « regular » sur le marché à une concentration de 600 μ M (100 UI/mL) ont un délai d'action compris
15 entre 30 et 60 minutes et un nadir glycémique compris entre 2 et 4 heures.

[00027] Les formulations d'insulines analogues rapides sur le marché à une concentration de 600 μ M (100 UI/mL) ont un délai d'action compris entre 10 et 15 minutes et un nadir glycémique compris entre 60 et 90 minutes.

20 [00028] Elle concerne plus particulièrement l'utilisation d'un complexe selon l'invention pour la préparation d'une formulation d'insuline humaine dite rapide.

[00029] L'invention concerne l'utilisation du complexe selon l'invention pour préparer des formulations d'insuline humaine à une concentration
25 voisine de 600 μ M (100 UI/mL) dont le délai d'action est inférieur à 30 minutes, de préférence inférieur à 20 minutes, et encore de préférence inférieur à 15 minutes.

[00030] L'invention concerne l'utilisation du complexe selon l'invention pour préparer des formulations d'insuline humaine à une concentration
30 voisine de 600 μ M (100 UI/mL) dont le nadir glycémique est inférieur à 120 minutes, de préférence inférieur à 105 minutes, et encore de préférence inférieur à 90 minutes.

[00031] Dans un mode de réalisation, l'insuline est une insuline analogue.
35 On entend par insuline analogue une insuline recombinante dont la

séquence primaire contient au moins une modification par rapport à la séquence primaire de l'insuline humaine.

[00032] Dans un mode de réalisation l'insuline analogue est choisie dans le groupe constitué par l'insuline Lispro (Humalog®), l'insuline Aspart (Novolog®, Novorapid®) et l'insuline glulisine (Apidra®).

[00033] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le complexe entre une insuline analogue et un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles.

10 [00034] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le complexe entre une insuline analogue choisie dans le groupe constitué par l'insuline Lispro (Humalog®), l'insuline Aspart (Novolog®, Novorapid®) et l'insuline glulisine (Apidra®) et un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles.

15

[00035] Elle concerne également l'utilisation de ce complexe pour préparer des formulations d'insulines analogues permettant d'atteindre, après administration, un niveau plasmatique d'insuline et/ou une réduction du glucose plus rapidement que les formulations d'analogues de l'insuline.

20 [00036] Les formulations d'insulines analogues rapides sur le marché à une concentration de 600 μ M (100 UI/mL) ont un délai d'action compris entre 10 et 15 minutes et un nadir glycémique compris entre 60 et 90 minutes.

[00037] Elle concerne plus particulièrement l'utilisation d'un complexe selon l'invention pour la préparation d'une formulation d'insuline analogue rapide.

25 [00038] L'invention concerne l'utilisation du complexe selon l'invention pour préparer des formulations d'insuline analogue à une concentration voisine de 600 μ M (100 UI/mL) dont le délai d'action est inférieur à 15 minutes et de préférence inférieur à 10 minutes.

30 [00039] L'invention concerne l'utilisation du complexe selon l'invention pour préparer des formulations d'insuline analogue à une concentration voisine de 600 μ M (100 UI/mL) dont le nadir glycémique est inférieur à 90 minutes et de préférence inférieur à 80 minutes.

35

[00040] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles est choisi parmi des polysaccharides fonctionnalisés constitués en majorité de liaisons glycosidiques de type (1,6) et dans un mode de réalisation, le polysaccharide constitué en majorité de liaisons glycosidiques de type (1,6) est un dextrane fonctionnalisé comportant des groupes fonctionnels carboxyles.

[00041] Lesdits polysaccharides sont fonctionnalisés par au moins un dérivé de la phénylalanine, noté Phe :

10 - ledit dérivé de la phénylalanine étant greffé ou lié aux polysaccharides par couplage avec une fonction acide, ladite fonction acide étant une fonction acide portée par un bras de liaison R lié au polysaccharide par une fonction F, ladite fonction F résultant du couplage entre le bras de liaison R et une fonction -OH du polysaccharide,

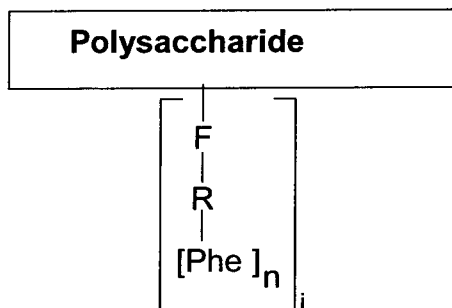
15 - F étant soit une fonction ester, thioester, carbonate, carbamate ou éther,

20 - R étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée, comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et ayant au moins une fonction carboxyle,

25 - Phe étant un reste d'un dérivé de la phénylalanine, L ou D, produit du couplage entre l'amine de la phénylalanine et au moins un acide porté par le groupement R et/ou un acide porté par le polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles.

[00042] Selon l'invention les polysaccharides fonctionnalisés peuvent répondre aux formules générales suivantes :

5



Formule I

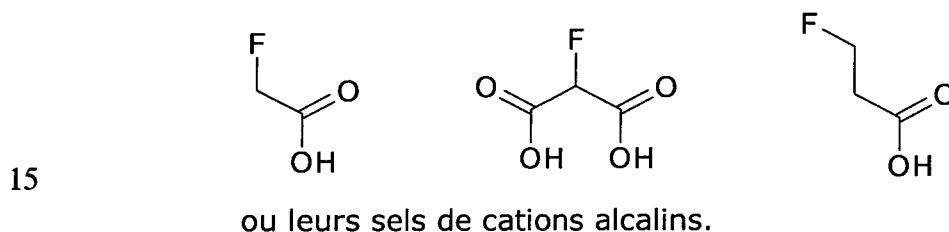
- le polysaccharide étant un dextrane,
- 10 • F résultant du couplage entre le bras de liaison R et une fonction – OH du polysaccharide et étant soit une fonction ester, thioester, carbonate, carbamate ou éther,
- R étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée, comprenant un ou
- 15 plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et ayant au moins une fonction carboxyle,
- Phe étant un reste d'un dérivé de la phénylalanine, L ou D, produit du couplage entre l'amine du dérivé de la phénylalanine et au moins un acide porté par le groupement R et/ou un acide porté par
- 20 le polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles,

n représente la fraction molaire des R substitués par Phe et est comprise entre 0,3 et 0,9, de préférence entre 0,4 et 0,8, encore de préférence entre 0,4 et 0,6,

- i représente la fraction molaire moyenne des groupements F-R-
- 25 $[\text{Phe}]_n$ portés par unité saccharidique et est comprise entre 0,5 et 2,5, de préférence entre 0,8 et 1,6, de préférence entre 1,0 et 1,4, de préférence entre 1,0 et 1,2 ;

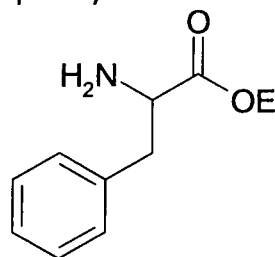
- lorsque R n'est pas substitué par Phe, alors le ou les acides du groupement R sont des carboxylates de cation, alcalin de préférence comme Na^+ ou K^+ .

- 5 [00043] Dans un mode de réalisation, n qui représente la fraction molaire des R substitués par Phe est comprise entre 0,3 et 0,9, de préférence entre 0,4 et 0,8, encore de préférence entre 0,4 et 0,6,
- [00044] Le polysaccharide comprend en moyenne au moins 60 motifs carboxylates substitués ou non substitués pour 100 motifs saccharidiques.
- 10 [00045] Dans un mode de réalisation, F est soit un ester, un carbonate, un carbamate ou un éther.
- [00046] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide selon l'invention est caractérisé en ce que le groupe R est choisi dans les groupes suivants :



- [00047] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide selon l'invention est caractérisé en ce que le dérivé de la phénylalanine est choisi dans le
- 20 groupe constitué par la phénylalanine et ses sels de cation alcalin, le phénylalaninol, le phénylalaninamide, l'éthyle benzyle amine.

- [00048] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide selon l'invention est caractérisé en ce que le dérivé de la phénylalanine est choisi parmi les
- 25 esters de la phénylalanine de formule II



Formule II

E étant un groupement alkyle linéaire ou ramifié en C1 à C6.

[00049] Le polysaccharide peut avoir un degré de polymérisation compris entre 10 et 3000.

[00050] Dans un mode de réalisation, il a un degré de polymérisation compris entre 10 et 400.

5 [00051] Dans un autre mode de réalisation, il a un degré de polymérisation compris entre 10 et 200.

[00052] Dans un autre mode de réalisation, il a un degré de polymérisation compris entre 30 et 50.

10 [00053] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide à une masse comprise entre 9 et 50 kD, de préférence entre 10 et 40 kD.

[00054] Dans un mode de réalisation, l'insuline est une insuline humaine recombinante telle que décrite dans la Pharmacopée Européenne.

[00055] Dans un mode de réalisation, l'insuline est une insuline analogue choisie dans le groupe constitué par l'insuline Lispro (Humalog®), l'insuline
15 Aspart (Novolog®, Novorapid®) et l'insuline glulisine (Apidra®).

[00056] Dans un mode de réalisation, les ratios molaires polymère/insuline sont compris entre 0,2 et 5.

[00057] Dans un mode de réalisation, ils sont compris entre 0,2 et 3.

20 [00058] Dans un mode de réalisation, ils sont compris entre 0,6 et 2,5.

[00059] mode de réalisation Dans un mode de réalisation, ils sont compris entre 0,8 et 2.

[00060] Dans un mode de réalisation, ils sont compris entre 0,8 et 1,4.

[00061] Dans un mode de réalisation, le ratio molaire est égal à 1.

25 [00062] Dans un mode de réalisation, le ratio molaire est égal à 2.

[00063] Dans un mode de réalisation, les ratios massiques polymère/insuline sont compris entre 0,4 et 10.

[00064] Dans un mode de réalisation, ils sont compris entre 0,4 et 6.

[00065] mode de réalisation Dans un mode de réalisation, ils sont compris
30 entre 1,2 et 5.

[00066] Dans un mode de réalisation, ils sont compris entre 1,6 et 4.

[00067] mode de réalisation Dans un mode de réalisation, ils sont compris entre 1,6 et 2,8.

35 [00068] De préférence cette composition est sous forme d'une solution injectable.

[00069] Dans un mode de réalisation, la concentration en insuline des solutions est de 600 μ M soit 100 UI/mL.

[00070] Dans un mode de réalisation, la concentration en insuline de 600 μ M peut être réduite par simple dilution, en particulier pour les applications pédiatriques.

[00071] L'invention concerne également une composition pharmaceutique selon l'invention, caractérisée en ce qu'elle est obtenue par séchage et/ou lyophilisation.

[00072] Dans le cas des libérations locale et systémique, les modes d'administration envisagés sont par voie intraveineuse, sous-cutanée, intradermique ou intramusculaire.

[00073] Les voies d'administration transdermique, orale, nasale, vaginale, oculaire, buccale, pulmonaire sont également envisagées.

[00074] L'invention concerne également l'utilisation d'un complexe selon l'invention pour la formulation d'une solution d'insuline humaine de concentration de 100 UI/mL destinée aux pompes à insuline implantables ou transportables.

Exemple 1 : Solution d'insuline analogue rapide à 100 UI/mL

[00075] Cette solution est une solution commerciale d'insuline Aspart commercialisée par la société Novo sous le nom de Novolog® aux USA et Novorapid® en Europe. Ce produit est une insuline analogue rapide.

Exemple 2 : Solution d'insuline humaine à 100 UI/mL

[00076] Cette solution est une solution commerciale de Novo vendue sous le nom d'Actrapid. Ce produit est une insuline humaine.

Exemple 3 : Préparation d'une solution d'insuline humaine à 200 UI/mL

[00077] 60,4 g d'eau sont ajoutés à 884,7 mg d'insuline humaine comprenant deux Zn^{2+} par hexamère, puis le pH est ajusté de 5,7 à 3 par ajout de 8 mL d'HCl 0,1 N. La solution est neutralisée à pH 7 par ajout de 10 mL de NaOH 0,1 N. La concentration est ensuite ajustée à 200 UI/mL par 43,08 mL d'eau. Le pH final de cette solution est de 7,02. La solution est enfin filtrée sur 0,22 μ m.

Exemple 4 : Préparation des excipientsPréparation du tampon phosphate 200 mM à pH 7

[00078] Une solution A de phosphate monosodique est préparée comme
5 suit : 1,2 g de NaH_2PO_4 (10 mmol) sont solubilisés dans 50 mL d'eau dans une fiole jaugée.

[00079] Une solution B de phosphate disodique est préparée comme suit : 1,42 g de Na_2HPO_4 (10 mmol) sont solubilisés dans 50 mL d'eau dans une fiole jaugée.

10 [00080] Le tampon 200 mM phosphate à pH 7 est obtenu en mélangeant 3 mL de solution A à 7 mL de solution B.

Préparation d'une solution de m-crésol 130 mM

[00081] La solution de m-crésol est obtenue en solubilisant 0,281 g de m-crésol (2,6 mmol) dans 20 mL d'eau dans une fiole jaugée.
15

Préparation d'une solution de Tween 20 à 0,8 mM

[00082] La solution de Tween 20 est obtenue en solubilisant 98 mg de Tween 20 (80 μmol) dans 100 mL d'eau dans une fiole jaugée.
20

Préparation d'une solution de Glycérine à 1,5 M

La solution de Glycérine est obtenue en solubilisant 13,82 g de glycérine (150 mmol) dans 100 mL d'eau dans une fiole jaugée.

Préparation des solutions de polysaccharides

[00083] Deux polysaccharides selon l'invention sont employés.

[00084] Le polymère 1 est un dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le sel de sodium de la L-phénylalanine obtenu à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 10 kg/mol, soit un degré
30 de polymérisation de 39 (Pharmacosmos) selon le procédé décrit dans la demande de brevet FR07.02316. La fraction molaire moyenne de méthylcarboxylates de sodium, modifiés ou non par la phénylalanine, soit i dans la formule I, est de 1,06. La fraction molaire moyenne de méthylcarboxylates de sodium modifiés par la phénylalanine, soit n dans la
35 formule I, est de 0,43.

[00085] La solution de polymère 1 est obtenue en solubilisant 2,79 g de polymère 1 (teneur en eau = 10%) dans 25,3 mL d'eau dans un tube de 50 mL (concentration en polymère 1 de 99,2 mg/mL).

- 5 [00086] Le polymère 2 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium modifié par l'ester éthylique de la L-phénylalanine obtenu à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 40 kg/mol, soit un degré de polymérisation de 154 (Pharmacosmos) selon un procédé similaire à celui décrit pour le polymère 1 dans la demande de brevet FR07.02316 en
- 10 employant le chlorhydrate de l'ester éthylique de la L-phénylalanine. La fraction molaire moyenne de méthylcarboxylates de sodium, modifiés ou non par la phénylalanine, soit i dans la formule I, est de 1,00. La fraction molaire moyenne de méthylcarboxylates de sodium modifiés par l'ester éthylique de la L-phénylalanine, soit n dans la formule I, est de 0,36.
- 15 [00087] La solution de polymère 2 est obtenue en solubilisant 1,33 g de polymère 2 (teneur en eau = 10%) dans 16,83 mL d'eau dans un tube de 50 mL (concentration en polymère 2 de 71,0 mg/mL).

- [00088] Le polymère 3 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium
- 20 modifié par le sel de sodium de la L-phénylalanine obtenu à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 10 kg/mol, soit un degré de polymérisation de 39 (Pharmacosmos) selon le procédé décrit dans la demande de brevet FR07.02316. La fraction molaire moyenne de méthylcarboxylates de sodium, modifiés ou non par la phénylalanine, soit i
- 25 dans la formule I, est de 1,06. La fraction molaire moyenne de méthylcarboxylates de sodium modifiés par la phénylalanine, soit n dans la formule I, est de 0,54.

- [00089] La solution de polymère 3 est obtenue en solubilisant 1,5 g de polymère 3 (teneur en eau = 10%) dans 42,7 mL d'eau dans un tube de
- 30 50 mL (concentration en polymère 3 de 31,6 mg/mL).

- [00090] Le polymère 4 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium modifié par le sel de sodium de la L-phénylalanine obtenu à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 10 kg/mol, soit un degré
- 35 de polymérisation de 39 (Pharmacosmos) selon le procédé décrit dans la demande de brevet FR07.02316. La fraction molaire moyenne de

méthylcarboxylates de sodium, modifiés ou non par la phénylalanine, soit i dans la formule I, est de 1,69. La fraction molaire moyenne de méthylcarboxylates de sodium modifiés par la phénylalanine, soit n dans la formule I, est de 0,64.

- 5 [00091] La solution de polymère 4 est obtenue en solubilisant 2,0 g de polymère 4 (teneur en eau = 10%) dans 56,9 mL d'eau dans un tube de 50 mL (concentration en polymère 3 de 31,6 mg/mL).

Exemple 5 : Préparation d'une solution d'insuline humaine à 100 UI/mL en présence de polymère 1

[00092] Pour un volume final de 50 mL de formulation avec un ratio molaire [polymère 1]/[insuline] de 1,0, les différents réactifs sont mélangés en quantités précisées dans le tableau ci-dessous et dans l'ordre qui suit :

15	Insuline humaine à 200 UI/mL	25 mL
	Polymère 1 à 99,2 mg/mL	3,61 mL
	Tampon phosphate 1 M pH 7	500 μ L
	Tween 20 0,78 mM	516 μ L
	Glycérine 1,5 M	621 μ L
20	m-crésol 130 mM	11,15 mL
	Eau (Volume pour dilution - volume de soude)	8,55 mL

[00093] Le pH final est de $7 \pm 0,3$.

- [00094] Cette solution limpide est filtrée sur 0,22 μ m puis est placée à
25 +4°C.

Exemple 6 : Préparation d'une solution d'insuline humaine à 100 UI/mL en présence de polymère 2

- [00095] Pour un volume final de 50 mL de formulation avec un ratio molaire [polymère 2]/[insuline] de 0,5, les différents réactifs sont mélangés
30 en quantités précisées dans le tableau ci-dessous et dans l'ordre qui suit :

	Insuline humaine à 200 UI/mL	10 mL
	Polymère 2 à 71,0 mg/mL	9,66 mL
	Tampon phosphate 1 M pH 7	500 µL
5	Tween 20 0,78 mM	400 µL
	Glycérine 1,5 M	5,67 µL
	m-crésol 130 mM	11,16 mL
	Eau (Volume pour dilution – volume de soude)	12,6 mL

10 [00096] Le pH final est de $7 \pm 0,3$.

[00097] Cette solution limpide est filtrée sur 0,22 µm puis est placée à +4°C.

Exemple 7 : Préparation d'une solution d'insuline

15 **humaine à 100 UI/mL en présence de polymère 3**

[00098] Pour un volume final de 50 mL de formulation avec un ratio molaire [polymère 3]/[insuline] de 1,0, les différents réactifs sont mélangés en quantités précisées dans le tableau ci-dessous et dans l'ordre qui suit :

20	Insuline humaine à 500 UI/mL	10 mL
	Polymère 3 à 31,6 mg/mL	11,9 mL
	Tampon phosphate 1 M pH 7	500 µL
	Glycérine 1,5 M	5,67 mL
	m-crésol 130 mM	11,16 mL
25	Tween 20 1 mM	0,4 mL
	Eau (Volume pour dilution – volume de soude)	10,4 mL

[00099] Le pH final est de $7 \pm 0,3$.

[000100] Cette solution limpide est filtrée sur 0,22 µm puis est placée à +4°C.

Exemple 8 : Préparation d'une solution d'insuline analogue à 100 UI/mL en présence de polymère 3

[000101] Pour un volume final de 10 mL de formulation avec un ratio molaire [polymère 3]/[insuline analogue] de 1,0, les différents réactifs sont

mélangés en quantités précisées dans le tableau ci-dessous et dans l'ordre qui suit :

	Solution du produit commercial Novolog	10 mL
5	Polymère 3 lyophilisé	376 mg
	Tween 20	98 µg

[000102] Le pH final est de $7 \pm 0,3$.

[000103] Cette solution limpide est filtrée sur 0,22 µm puis est placée à
10 +4°C.

Exemple 9 : Préparation d'une solution d'insuline humaine à 100 UI/mL en présence de polymère 1

[000104] Pour un volume final de 50 mL de formulation avec un ratio
15 molaire [polymère 1]/[insuline] de 2,0, les différents réactifs sont mélangés en quantités précisées dans le tableau ci-dessous et dans l'ordre qui suit :

	Insuline humaine à 200 UI/mL	25 mL
	Polymère 1 à 99,2 mg/mL	7,22 mL
20	Tampon phosphate 1 M pH 7	500 µL
	Tween 20 0,78 mM	516 µL
	Glycérine 1,5 M	621 µL
	m-crésol 130 mM	11,15 mL
	Eau (Volume pour dilution - volume de soude)	4,94 mL

25

[000105] Le pH final est de $7 \pm 0,3$.

[000106] Cette solution limpide est filtrée sur 0,22 µm puis est placée à
+4°C.

30 **Exemple 10 : Préparation d'une solution d'insuline humaine à 100 UI/mL en présence de polymère 3**

[000107] Une variante de la formulation d'insuline humaine avec le polymère 3 décrite à l'exemple 7 est réalisée en absence de phosphate. Cette solution a par ailleurs la même composition et un pH également de
35 $7 \pm 0,3$.

Exemple 11 : Préparation d'une solution d'insuline humaine à 100 UI/mL en présence de polymère 3

[000108] Une variante de la formulation d'insuline humaine avec le polymère 3 décrite à l'exemple 7 est réalisée en absence de phosphate et
5 de Tween. Cette solution a par ailleurs la même composition et un pH également de $7 \pm 0,3$.

Exemple 12 : Préparation d'une solution d'insuline humaine à 100 UI/mL en présence de polymère 4

10 [000109] Une variante de la formulation d'insuline humaine décrite à l'exemple 7 est réalisée en employant une solution du polymère 4 à la place de la solution du polymère 3. Cette solution a par ailleurs la même composition et un pH également de $7 \pm 0,3$.

15 **Exemple 13 : Injectabilité des solutions**

[000110] Toutes ces solutions sont injectables avec les systèmes habituels d'injection d'insuline. Les solutions décrites dans les exemples 1, 2, 5 et 6 sont injectées toutes aussi facilement avec des seringues à insuline avec des aiguilles de 31 Gauge qu'avec des stylos à insuline de Novo,
20 commercialisé sous le nom de Novopen, équipés d'aiguilles de 31 Gauge.

Exemple 14 : Protocole de mesure de la Pharmacodynamie des solutions d'insuline

[000111] 6 cochons domestiques d'environ 50 kg, préalablement
25 cathétérisés au niveau de la jugulaire, sont mis à jeun 2 à 3 heures avant le début de l'expérience. Dans l'heure précédant l'injection d'insuline, 3 prélèvements sanguins sont réalisés afin de déterminer le niveau basal de glucose.

[000112] L'injection d'insuline à la dose de 0,125 UI/kg est réalisée en
30 sous-cutané au niveau du cou, sous l'oreille de l'animal à l'aide du stylo à insuline Novopen équipé d'une aiguille 31 G.

[000113] Des prélèvements sanguins sont ensuite réalisés toutes les 10 minutes sur 3 heures puis toutes les 30 minutes jusqu'à 5 heures. Après chaque prélèvement, le cathéter est rincé avec une solution diluée
35 d'héparine.

[000114] Une goutte de sang est prélevée pour déterminer la glycémie au moyen d'un glucomètre.

[000115] Les courbes de pharmacodynamie du glucose sont ensuite tracées.

5

Exemple 15 : Résultats de Pharmacodynamie des solutions d'insuline

Exemple	Insuline	Polymère	ratio molaire Polymère/insuline	nombre de cochons
1	Analogue	-	-	24
2	Humaine	-	-	31
5	Humaine	1	1,0	24
6	Humaine	2	0,5	21
7	Humaine	3	1,0	9
8	Analogue	3	1,0	11
9	Humaine	1	2,0	5

10

[000116] Les résultats obtenus avec la formulation d'insuline humaine décrite à l'exemple 5 sont représentés par les courbes de la figure 1. Les courbes montrent que la formulation de complexe entre le polymère 1 et l'insuline humaine selon l'invention (courbe avec les carrés correspondant à l'exemple 5) permet d'obtenir un délai d'action (onset of action) inférieur à celui d'une formulation commerciale d'insuline humaine (courbe avec les triangles correspondant à l'exemple 2).

15

[000117] Les résultats obtenus avec la formulation d'insuline humaine décrite à l'exemple 6 sont représentés par les courbes de la figure 2. Les courbes montrent que la formulation du complexe entre le polymère 2 et l'insuline humaine selon l'invention (courbe avec les carrés correspondant à l'exemple 6) permettent d'obtenir un délai d'action (onset of action) inférieur à celui d'une formulation commerciale d'insuline humaine (courbe avec les triangles correspondant à l'exemple 2).

20

[000118] Les résultats obtenus avec la formulation d'insuline humaine décrite à l'exemple 7 sont représentés par les courbes de la figure 3. Les courbes montrent que la formulation du complexe entre le polymère 3 et

25

l'insuline humaine selon l'invention (courbe avec les carrés correspondant à l'exemple 7) permettent d'obtenir un délai d'action (onset of action) inférieur à celui d'une formulation commerciale d'insuline humaine (courbe avec les triangles correspondant à l'exemple 2).

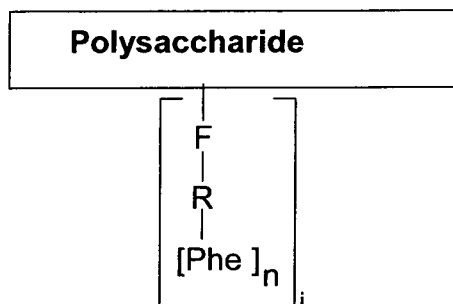
- 5 [000119] Les résultats obtenus avec la formulation d'insuline analogue décrite à l'exemple 8 sont représentés par les courbes de la figure 4. Les courbes montrent que la formulation du complexe entre le polymère 3 et une insuline analogue selon l'invention (courbe avec les carrés correspondant à l'exemple 8) permettent d'obtenir un délai d'action (onset
10 of action) inférieur à celui d'une formulation commerciale de cette insuline analogue (courbe avec les triangles correspondant à l'exemple 1).

- [000120] Les résultats obtenus avec la formulation d'insuline humaine décrite à l'exemple 9 sont représentés par les courbes de la figure 5. Les courbes montrent que la formulation du complexe entre le polymère 1 et
15 l'insuline humaine selon l'invention (courbe avec les carrés correspondant à l'exemple 9) permettent d'obtenir un délai d'action (onset of action) inférieur à celui d'une formulation commerciale d'insuline humaine (courbe avec les triangles correspondant à l'exemple 2).

Revendications

- 5 1. Complexe entre une insuline et un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles, ledit polysaccharide étant choisi parmi les polysaccharides fonctionnalisés par au moins un dérivé de la phénylalanine, noté Phe :
- 10 - ledit dérivé de la phénylalanine étant greffé ou lié aux polysaccharides par couplage avec une fonction acide, ladite fonction acide étant une fonction acide portée par un bras de liaison R lié au polysaccharide par une fonction F, ladite fonction F résultant du couplage entre le bras de liaison R et une fonction -OH du polysaccharide,
- 15 - F étant soit une fonction ester, thioester, carbonate, carbamate ou éther,
- 20 - R étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée, comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et ayant au moins une fonction carboxyle,
- Phe étant un reste d'un dérivé de la phénylalanine, L ou D, produit du couplage entre l'amine de la phénylalanine et au moins un acide porté par le groupement R et/ou un acide porté par le polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles.

2. Complexe selon la revendication 1, caractérisé en ce que le polysaccharide est choisi parmi les polysaccharides de formule I :



5

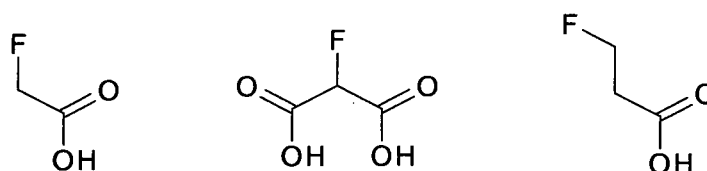
Formule I

- le polysaccharide étant un dextrane,
 - F résultant du couplage entre le bras de liaison R et une fonction – OH du polysaccharide et étant soit une fonction ester, thioester, carbonate, carbamate ou éther,
 - R étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée, comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et ayant au moins une fonction carboxyle,
 - Phe étant un reste d'un dérivé de la phénylalanine, L ou D, produit du couplage entre l'amine du dérivé de la phénylalanine et au moins un acide porté par le groupement R et/ou un acide porté par le polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles,
 - n représente la fraction molaire des R substitués par Phe et est comprise entre 0,3 et 0,9, de préférence entre 0,4 et 0,8, encore de préférence entre 0,4 et 0,6,
 - i représente la fraction molaire moyenne des groupements F-R-[Phe]_n portés par unité saccharidique et est comprise entre 0,5 et 2,5, de préférence entre 0,8 et 1,6, de préférence entre 1,0 et 1,4, de préférence entre 1,0 et 1,2 ; ;
- lorsque R n'est pas substitué par Phe, alors le ou les acides du groupement R sont des carboxylates de cation, alcalin de préférence comme Na⁺ ou K⁺.

25

3. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce que F est soit un ester, un carbonate, un carbamate ou un éther.

5 4. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce que le groupe R est choisi dans les groupes suivants :

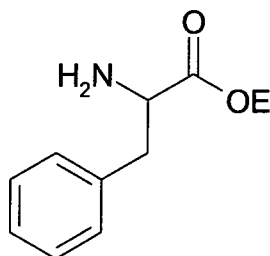


10

ou leurs sels de cations alcalins.

5. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce que le dérivé de la phénylalanine est choisi
15 dans le groupe constitué par la phénylalanine et ses sels de cation alcalin, le phénylalaninol, le phénylalaninamide, l'éthyle benzyle amine.

6. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce que le dérivé de la phénylalanine est choisi
20 parmi les esters de la phénylalanine de formule II



Formule II

E étant un groupement pouvant être un alkyle linéaire ou
25 ramifié en C1 à C6.

7. Complexe selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisé en ce que l'insuline est une insuline humaine recombinante.

8. Complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que l'insuline est insuline analogue.

9. Complexe selon la revendication 8, caractérisé en ce que
5 l'insuline analogue est choisie dans le groupe constitué par l'insuline Lispro (Humalog®), l'insuline Aspart (Novolog®, Novorapid®) et l'insuline glulisine (Apidra®).

10. Complexe selon l'une quelconque des revendications
10 précédentes caractérisé en ce que les ratios molaires polymère/insuline sont compris entre 0,2 et 5.

11. Complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 9
15 caractérisé en ce que les ratios molaires polymère/insuline sont compris entre 0,2 et 3 et de préférence entre 0,6 et 2,5 et encore de préférence entre 0,8 et 2.

12. Complexe selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé
20 en ce que le ratio molaire est égal à 1.

13. Complexe selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé
en ce que le ratio molaire est égal à 2.

14. Complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 9
25 caractérisé en ce que les ratios massiques polymère/insuline sont compris entre 0,4 et 10.

15. Complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 7
30 caractérisé en ce que les ratios massiques polymère/insuline sont compris entre 0,4 et 6 et de préférence entre 1,2 et 5, et encore de préférence entre 1,6 et 2,8.

16. Composition pharmaceutique comprenant au moins un
35 complexe selon l'invention.

17. Composition selon la revendication 16, caractérisée en ce qu'elle est sous forme d'une solution injectable.

18. Composition selon l'une quelconque des revendications 16 à 17 caractérisée en ce que la concentration en insuline des solutions est de 600 $\mu\text{mol/mL}$ soit 100 UI/mL.

19. Utilisation d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 et 10 à 15 pour la préparation d'une formulation d'insuline humaine à une concentration voisine en insuline de 600 μM (100 UI/mL) dont le délai d'action est inférieur à 30 minutes, de préférence inférieur à 20 minutes, et encore de préférence inférieur à 15 minutes.

20. Utilisation d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 et 10 à 15 pour la préparation d'une formulation d'insuline humaine à une concentration en insuline voisine de 600 $\mu\text{mol/L}$ (100 UI/mL) dont le nadir glycémique est inférieur à 120 minutes, de préférence inférieur à 105 minutes, et encore de préférence inférieur à 90 minutes.

21. Utilisation d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 et 8 à 15 pour la préparation d'une formulation d'insuline analogue à une concentration voisine en insuline de 600 μM (100 UI/mL) dont le délai d'action est inférieur à 15 minutes, de préférence inférieur à 10 minutes.

22. Utilisation d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 et 10 à 15 pour la préparation d'une formulation d'insuline analogue à une concentration en insuline voisine de 600 $\mu\text{mol/L}$ (100 UI/mL) dont le nadir glycémique est inférieur à 90 minutes et de préférence inférieur à 80 minutes.

23. Utilisation d'un complexe selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 pour la préparation d'une formulation d'insuline à 100 UI/mL destinée aux pompes à injection.

FIGURE 1

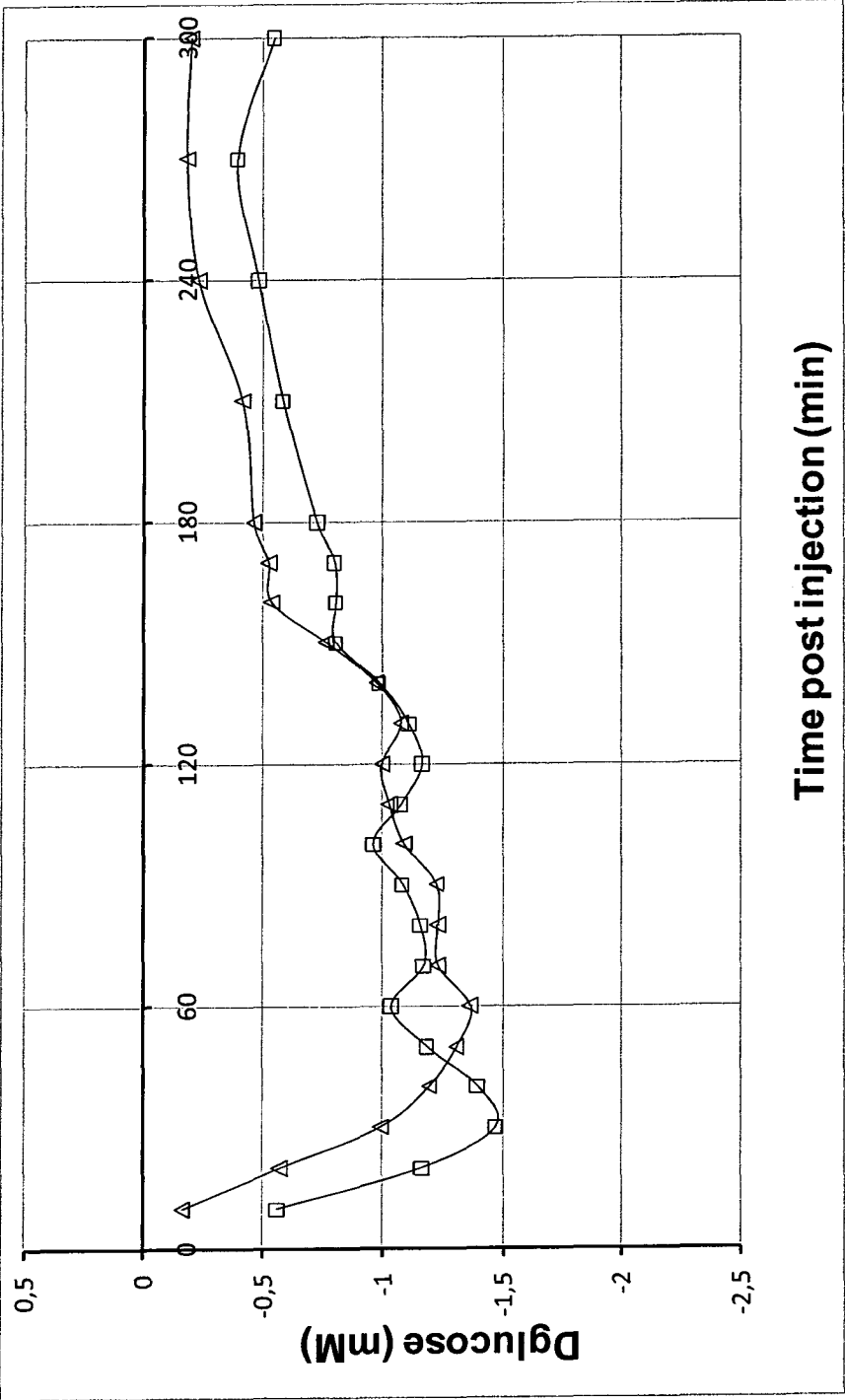


FIGURE 2

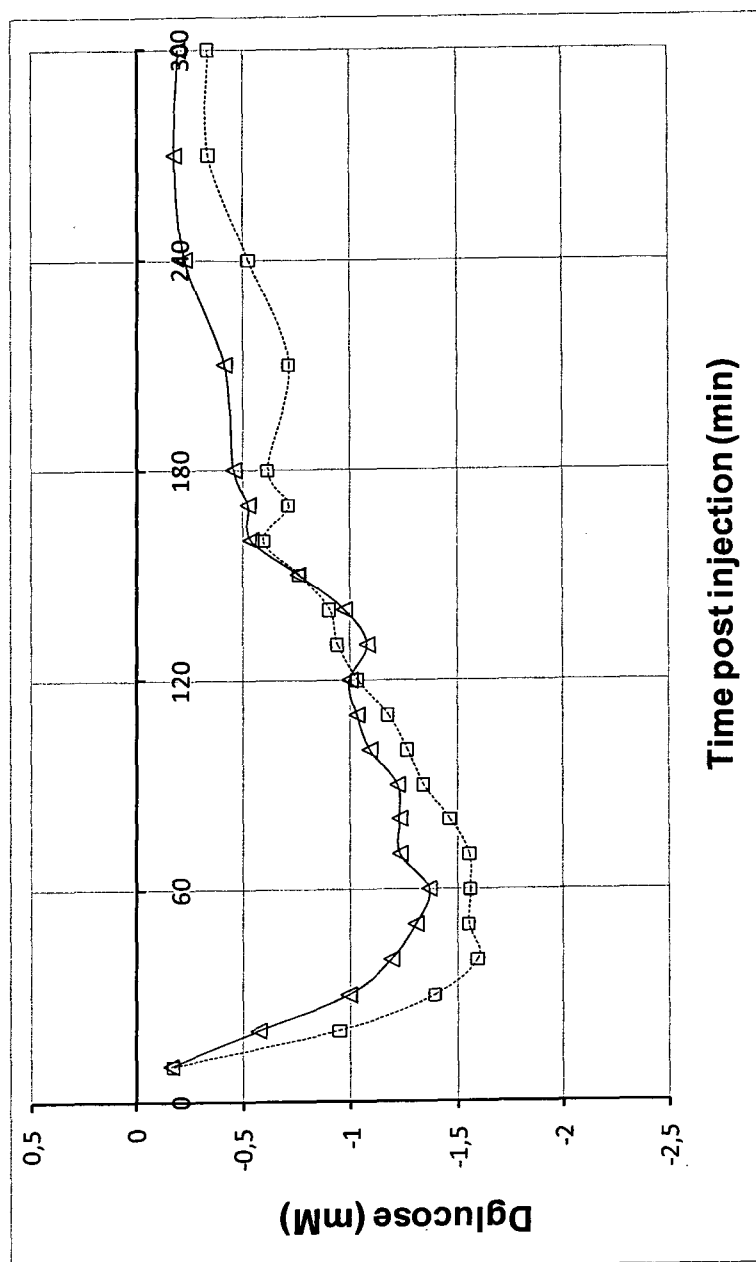


FIGURE 3

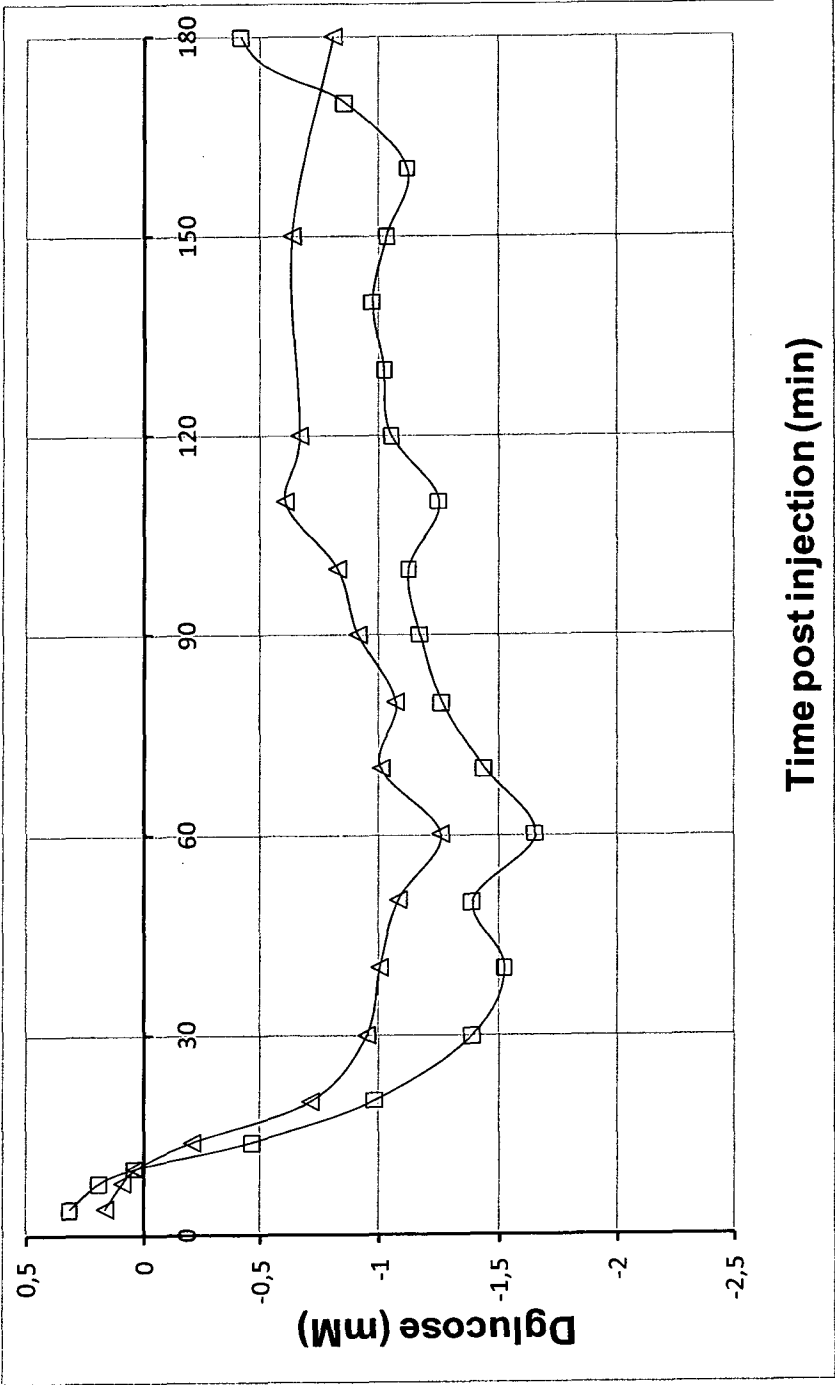


FIGURE 4

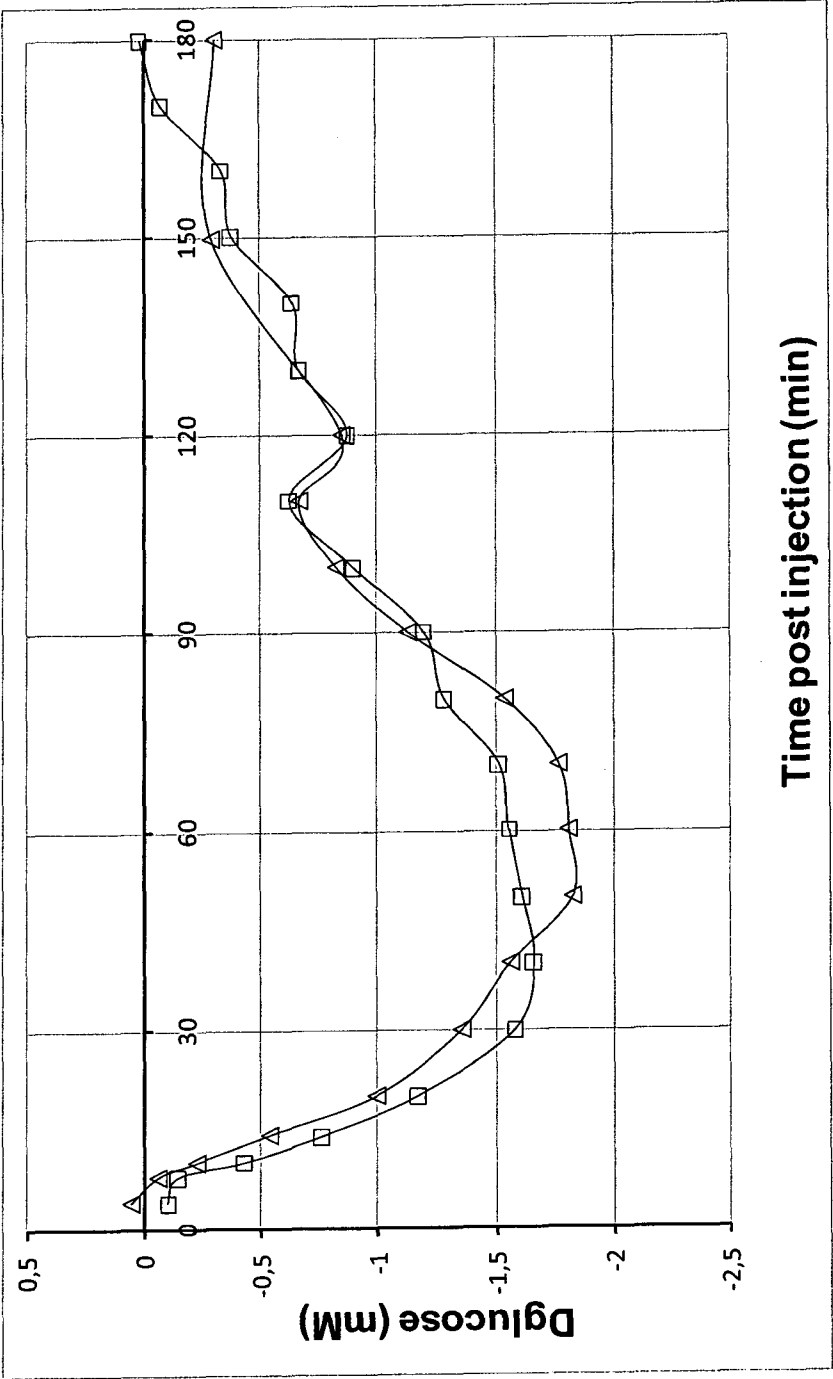
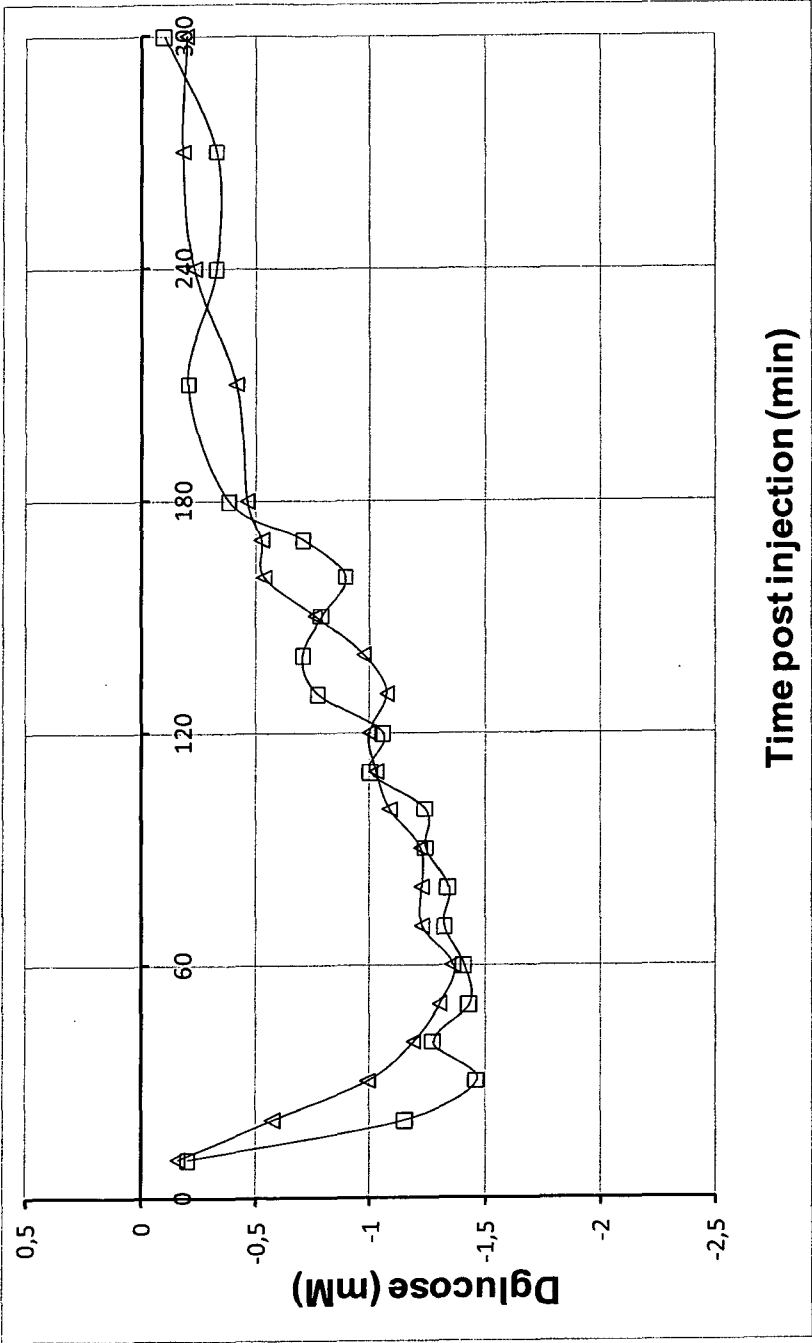


FIGURE 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2010/000711

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K38/28 A61K47/48 A61P5/50 A61K47/36
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 practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS, COMPENDEX

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	BAUDYS M ET AL: "Extending insulin action in vivo by conjugation to carboxymethyl dextran" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, ACS, WASHINGTON, DC, US, vol. 9, no. 2, 5 February 1998 (1998-02-05), pages 176-183, XP002363506 ISSN: 1043-1802 pages 180-181	1-23
Y	FR 2 224 164 A (ZAMBELETTI SPA L [IT]) 31 October 1974 (1974-10-31) example 2	1-23



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 document 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 July 2010

Date of mailing of the international search report

12/07/2010

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

Bochelen, Damien

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2010/000711

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2007/116143 A (PROTEINS PEPTIDES MAN [FR]; SOULA GERARD [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA) 18 October 2007 (2007-10-18) page 14, line 2 page 11, line 21 -----	1-23
Y	WO 2008/038111 A (PROTEINS & PEPTIDES MAN [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA GERARD [FR]) 3 April 2008 (2008-04-03) page 8, lines 11-21; claims 1,10 -----	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2010/000711

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
FR 2224164	A	31-10-1974	BE	813251 A1	31-07-1974
			DE	2413512 A1	24-10-1974
			IT	1053718 B	10-10-1981
			JP	50035316 A	04-04-1975
WO 2007116143	A	18-10-2007	AU	2007235821 A1	18-10-2007
			CA	2648395 A1	18-10-2007
			CN	101460523 A	17-06-2009
			EP	2007816 A1	31-12-2008
			JP	2009532552 T	10-09-2009
			KR	20090013179 A	04-02-2009
			US	2008014250 A1	17-01-2008
WO 2008038111	A	03-04-2008	AU	2007301670 A1	03-04-2008
			CA	2664650 A1	03-04-2008
			EP	2066700 A1	10-06-2009
			FR	2914305 A1	03-10-2008
			JP	2010505008 T	18-02-2010
			KR	20090060419 A	12-06-2009
			US	2008234227 A1	25-09-2008

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2010/000711

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

INV. A61K38/28 A61K47/48 A61P5/50 A61K47/36
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, EMBASE, BIOSIS, COMPENDEX

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	BAUDYS M ET AL: "Extending insulin action in vivo by conjugation to carboxymethyl dextran" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, ACS, WASHINGTON, DC, US, vol. 9, no. 2, 5 février 1998 (1998-02-05) , pages 176-183, XP002363506 ISSN: 1043-1802 pages 180-181	1-23
Y	FR 2 224 164 A (ZAMBELETTI SPA L [IT]) 31 octobre 1974 (1974-10-31) exemple 2 ----- -/--	1-23



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



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

1 juillet 2010

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

12/07/2010

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

Bochelen, Damien

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2010/000711

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 2007/116143 A (PROTEINS PEPTIDES MAN [FR]; SOULA GERARD [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA) 18 octobre 2007 (2007-10-18) page 14, ligne 2 page 11, ligne 21 -----	1-23
Y	WO 2008/038111 A (PROTEINS & PEPTIDES MAN [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA GERARD [FR]) 3 avril 2008 (2008-04-03) page 8, ligne 11-21; revendications 1,10 -----	1-23

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/IB2010/000711

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2224164	A	31-10-1974	BE 813251 A1	31-07-1974
			DE 2413512 A1	24-10-1974
			IT 1053718 B	10-10-1981
			JP 50035316 A	04-04-1975
WO 2007116143	A	18-10-2007	AU 2007235821 A1	18-10-2007
			CA 2648395 A1	18-10-2007
			CN 101460523 A	17-06-2009
			EP 2007816 A1	31-12-2008
			JP 2009532552 T	10-09-2009
			KR 20090013179 A	04-02-2009
			US 2008014250 A1	17-01-2008
WO 2008038111	A	03-04-2008	AU 2007301670 A1	03-04-2008
			CA 2664650 A1	03-04-2008
			EP 2066700 A1	10-06-2009
			FR 2914305 A1	03-10-2008
			JP 2010505008 T	18-02-2010
			KR 20090060419 A	12-06-2009
			US 2008234227 A1	25-09-2008