

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

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale
WO 2020/002851 A1

(43) Date de la publication internationale
02 janvier 2020 (02.01.2020)

WIPO | PCT

(51) Classification internationale des brevets :
C08B 37/16 (2006.01) A61K 47/40 (2006.01)
A61K 31/724 (2006.01)

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/FR2019/051602

Publiée:

(22) Date de dépôt international :
28 juin 2019 (28.06.2019)

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont
reçues (règle 48.2(h))

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
18 55952 29 juin 2018 (29.06.2018) FR
19 02375 08 mars 2019 (08.03.2019) FR

(71) Déposant : ROQUETTE FRERES [FR/FR] ; 1 rue de la
Haute Loge, 62136 LESTREM (FR).

(72) Inventeurs : BUFFE, Clothilde ; 12 rue Pierre Curie - Appt
19, 59160 LOMME (FR). DELATTRE, Joël ; 6 Rue Pierre
Bachelet, 62138 DOUVVIN (FR). WIATZ, Vincent ; 1524
RUE DU RETOUR, 59840 PREMESQUES (FR).

(74) Mandataire : PLASSERAUD IP ; 66 rue de la Chaussée
d'Antin, 75440 PARIS CEDEX 09 (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, JO, 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), eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM),
européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES,

(54) Title: NOVEL HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN AND PROCESS FOR THE PRODUCTION THEREOF

(54) Titre : NOUVELLE HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRINE ET SON PROCÉDÉ DE PRÉPARATION

(57) Abstract: The present invention relates to a novel hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) and also to a novel process that is of use for producing same. The invention also relates to the use of this HP β CD as an excipient. The invention also relates to an HP β CD for use thereof as a medicament, and more particularly for the treatment or prevention of diseases or conditions related to cholesterol overload and/or storage and/or accumulation in the tissues, and also the consequences thereof, such as certain central nervous system or cardiovascular system ailments.

(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à une nouvelle hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD) ainsi qu'à un nouveau procédé utile à sa préparation. L'invention se rapporte également à l'utilisation de cette HP β CD comme excipient. L'invention concerne également une HP β CD pour son utilisation comme médicament, et plus particulièrement pour le traitement ou la prévention de maladies ou conditions liées à une surcharge, et/ou à un stockage, et/ou à l'accumulation de cholestérol dans les tissus, ainsi que leurs conséquences, telles que certaines affections du système nerveux central ou du système cardio-vasculaire.



WO 2020/002851 A1

Nouvelle hydroxypropyl- β -cyclodextrine et son procédé de préparation

La présente invention se rapporte à une nouvelle hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD) ainsi qu'à un nouveau procédé utile à sa préparation. L'invention se rapporte également à l'utilisation de cette HP β CD comme excipient. L'invention concerne également une HP β CD, pour son utilisation comme médicament, et plus particulièrement pour le traitement ou la prévention de maladies ou conditions liées à une surcharge, et/ou à un stockage, et/ou à l'accumulation de cholestérol dans les tissus, ainsi que leurs conséquences, telles que certaines affections du système nerveux central ou du système cardio-vasculaire.

Contexte de l'invention

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques provenant de la dégradation enzymatique de l'amidon. Les trois cyclodextrines naturelles les plus courantes se composent de 6, 7 ou 8 unités α -D-glucopyranose en configuration chaise reliées entre elles par des liaisons α -1,4. On les appelle plus couramment α , β , ou γ cyclodextrine, respectivement. Leur structure en trois dimensions apparaît sous la forme d'un cône tronqué à l'extérieur duquel se trouvent les groupements hydroxyles représentant la partie hautement hydrophile des cyclodextrines. L'intérieur du cône ou la cavité des cyclodextrines est constitué par les atomes d'hydrogène portés par les carbones C₃ et C₅ ainsi que par les atomes d'oxygène participant à la liaison glycosidique, leur conférant ainsi un caractère apolaire.

Les cyclodextrines présentant une partie extérieure hydrophile et une cavité hydrophobe, sont généralement utilisées pour leur capacité à encapsuler les composés ou groupements lipophiles, et donc, pour leur rôle de protecteur et de solubilisant de ces composés lipophiles ou porteurs de groupements lipophiles. On les retrouve ainsi classiquement dans les domaines de l'agroalimentaire, mais aussi en galénique où elles sont utilisées comme excipient dans des formulations pharmaceutiques.

Les unités anhydroglucose des cyclodextrines comprennent chacune 3 groupements hydroxyles réactifs, qui sont portés par les carbones C2, C3 et C6. De nombreux dérivés ont ainsi déjà été synthétisés par greffage de différents groupements sur ces fonctions hydroxyles, parmi lesquels on peut citer les

5 hydroxypropyl-cyclodextrines, les méthyl-cyclodextrines, et les sulfoalkyl-cyclodextrines.

L'hydroxypropyl-beta-cyclodextrine (HP β CD) en particulier est largement utilisée en galénique, pour la délivrance orale ou parentérale de principes actifs.

Classiquement, l'HP β CD est obtenue par réaction d'une β -cyclodextrine avec

10 l'oxyde de propylène en milieu basique, puis la réaction est neutralisée par ajout d'acide chlorhydrique.

Le brut réactionnel est ensuite purifié afin de réduire les impuretés, c'est-à-dire typiquement :

- les réactifs, tels que la β -cyclodextrine résiduelle (non substituée) ;
- 15 -les coproduits de réaction tels que les sels, le propylène glycol (propane 1,2 diol),
-le dipropylène glycol ;
- les produits de dégradation de la β -cyclodextrine ou les formes linéaires de celle-ci ;
- les produits microbiologiques tels que les endotoxines.

20 Cette purification est assurée au moyen d'un ou plusieurs traitements comme la filtration, la décoloration, la déminéralisation, le lavage à l'éthanol, l'extraction à l'acétone, la dialyse.

Du point de vue réglementaire, le niveau de purification requis est élevé, en particulier lorsque l'HP β CD est destinée au marché pharmaceutique. Ces

25 exigences réglementaires sont d'autant plus grandes que la voie d'administration est invasive.

En particulier, il est connu que l'HP β CD pourrait avoir un effet positif sur certaines maladies du système nerveux central (SNC), par exemple sur certaines maladies orphelines telles que la maladie de Niemann-Pick type C. Dans ces pathologies, la

30 voie intrathécale est privilégiée, et les exigences en matière d'innocuité sont très élevées.

Ainsi de préférence, l'HP β CD devrait présenter un degré moyen de substitution molaire (MS) au maximum égal à 0,71, de préférence dans une gamme de 0,50 à 0,71, et présenter le moins d'impuretés possibles. Parmi ces impuretés, la β -cyclodextrine (β -CD) résiduelle a été identifiée comme pouvant revêtir un caractère toxique.

Une difficulté technique notable réside dans la conciliation de cette gamme de MS avec une faible teneur en β -CD résiduelle. En effet cette gamme de MS est particulièrement faible. La préparation d'une HP β CD de faible MS implique classiquement que moins de réactif d'hydroxypropylation est utilisé. Il en découle que le produit réactionnel comporte davantage de β -CD n'ayant pas réagi, i.e. de β -CD résiduelle.

Or cette β -CD est difficile à éliminer. Et lorsqu'on réussit toutefois à diminuer sa teneur, ceci provoque une augmentation du MS, puisque ce dernier est déterminé sur la base de l'ensemble des molécules de cyclodextrine, incluant la β -CD non substituée.

Par ailleurs après l'hydroxypropylation, il est nécessaire de réduire également les coproduits de réaction, comme par exemple le propylène glycol ou le dipropylène glycol. Ceci provoque une ré-augmentation de la proportion en β -CD, puisque l'élimination de ces autres coproduits diminue la masse sèche totale de l'HP β CD. Après hydroxypropylation, la teneur en propylène glycol est par exemple en effet typiquement au moins égale à 5,0 % en poids sec.

Il est ainsi difficile de produire des HP β CD ayant un MS et une teneur en β -CD prédéterminés, en particulier considérant que ce MS devrait être au maximum égal à 0,71, et que la teneur en β -CD devrait être la plus basse possible. Cette difficulté s'accroît lorsque l'on souhaite également réduire au maximum les coproduits de réaction comme le propylène glycol et le dipropylène glycol.

Dans la demande WO 2016/201137 (VTESSE), il a été proposé différentes méthodes de purification de l'HP β CD comprenant la complexation avec des composés organiques, la précipitation, la chromatographie d'absorption sur alumine. Dans cette demande de brevet, des HP β CD présentant des teneurs réduites en β -CD et un MS inférieur à 0,71 ont pu être obtenues. Cependant, tous

les procédés de purification permettant d'y arriver mettaient en œuvre des solvants organiques tels que l'acétone ou le méthanol.

L'utilisation de ces solvants organiques est particulièrement contraignante, dans la mesure où leur mise en œuvre nécessite un encadrement strict afin notamment de
5 veiller à la sécurité des manipulateurs. En outre, ces solvants se retrouvent sous forme d'impureté dans le produit final et représentent un risque de toxicité pour le consommateur.

Il en résulte qu'il existait un besoin non satisfait de mise à disposition d'une HP β CD de faible MS, en particulier inférieur égal à 0,71, présentant une innocuité
10 améliorée, et en particulier lorsque celle-ci est destinée à être injectée, par exemple par voie intraveineuse ou intrathécale.

Objectif de l'invention

La présente invention a pour objectif de fournir une HP β CD présentant une qualité améliorée, en particulier pour son utilisation comme excipient ou comme principe
15 actif pharmaceutique.

La présente invention a également pour objectif de fournir une HP β CD qui soit particulièrement performante, notamment en ce qui concerne la solubilisation ou la stabilisation d'actifs, en particulier de principes actifs pharmaceutiques.

La présente invention a également pour objectif de fournir une HP β CD de MS au
20 maximum égal à 0,71 présentant des teneurs réduites en β -CD résiduelles, qui par opposition à celles de l'art antérieur, peuvent être exemptes de solvants organiques indésirables tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acétonitrile, le chloroforme.

Présentation de l'invention

25 La Demanderesse y est parvenue après de nombreuses études qui se sont conclues par la mise au point d'une HP β CD ayant un MS au maximum égal à 0,71, et une teneur en β -CD au maximum de 0,3 % (sec/sec), de préférence inférieure ou égale à 0,2 % (sec/sec).

De plus, l'HP β CD conforme à l'invention peut présenter des propriétés applicatives remarquables, notamment en ce qui concernant la stabilisation de protéines pharmaceutiquement actives.

Cette HP β CD peut avantageusement être exempte des solvants organiques qui résultent classiquement des procédés de purification de cette dernière, à la différence des HP β CD utilisées dans la demande de brevet WO 2016/201137.

En effet l'HP β CD de l'invention peut être avantageusement obtenue selon un nouveau procédé réalisé en milieu aqueux. De façon originale, la solution réside dans l'étape d'hydroxypropylation davantage que dans les étapes de purification.

10 En particulier, la Demanderesse a montré que le choix judicieux des paramètres d'hydroxypropylation permettait de parvenir à l'HP β CD de l'invention.

Il est ainsi possible de s'affranchir d'étapes de purification mettant en jeu des solvants organiques non désirés, lesquels se retrouvent inévitablement dans le produit final. Des étapes de purification réalisées en milieu aqueux sont

15 suffisantes. L'HP β CD ainsi obtenue présente un MS n'excédant pas 0,71, et en particulier dans une gamme de 0,50 à 0,71. Sa teneur en β -CD est réduite, et n'excède pas les 0,3 %, de préférence les 0,2 %. Les coproduits de réactions non désirables comme le propylène glycol et le dipropylène glycol peuvent également être réduits.

20 **Résumé de l'invention**

La présente invention a ainsi pour premier objet une hydroxypropyl-beta-cyclodextrine (HP β CD) caractérisée :

- en ce qu'elle présente un degré moyen de substitution molaire (MS) inférieur ou égal à 0,71 ; et,
- 25 -en ce qu'elle présente une teneur en β -cyclodextrine (β -CD) inférieure ou égale à 0,3 %, de préférence inférieure ou égale à 0,2% en poids sec.

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation d'HP β CD, particulièrement utile à la préparation d'une HP β CD de l'invention, caractérisé en ce qu'il comprend :

- 30 une étape (a) de préparation d'une solution aqueuse comprenant de la beta-cyclodextrine (β -CD) et de la soude, la quantité de soude mise en oeuvre étant

inférieure à 3,7% en poids sec de soude, par rapport au poids sec de β -CD ;
une étape (b) d'addition d'oxyde de propylène à la solution obtenue à l'étape (a),
caractérisée en ce que :

- la température de la solution obtenue à l'étape (a), avant introduction de l'oxyde
- 5 de propylène, est choisie dans une gamme allant de 80°C à 120°C ;
- le rapport molaire oxyde de propylène : anhydroglucose mis en œuvre est choisi
dans une gamme allant de 0,70:1,00 à 0,86:1,00 ;
- le débit d'ajout de l'oxyde de propylène est choisi dans une gamme allant de 0,15
à 0,30 kg/h/kg de β -CD ;
- 10 une étape (c) de purification, caractérisée en ce qu'elle ne met pas en œuvre de
solvants organiques;
- une étape (d) de récupération de l'HP β CD ainsi obtenue.

La présente invention a également pour objet une HP β CD susceptible d'être
obtenue selon le procédé de préparation d'HP β CD de l'invention.

- 15 La présente invention concerne également l'utilisation d'une HP β CD selon
l'invention comme médicament, et/ou comme excipient, et/ou pour encapsuler une
substance, et/ou solubiliser une substance en milieu aqueux, et/ou pour améliorer
la stabilité chimique d'une substance, et/ou pour améliorer la délivrance d'une
substance au niveau et à travers des membranes biologiques, et/ou pour
- 20 augmenter la stabilité physique d'une substance, et/ou pour formuler une
substance d'une forme liquide vers une forme pulvérulente, et/ou pour prévenir les
interactions d'une substance avec une autre substance, et/ou pour réduire
l'irritation locale après une administration topique ou orale d'une substance, et/ou
pour prévenir l'absorption d'une substance au niveau de certains tissus comme la
- 25 peau, et/ou pour obtenir une libération prolongée d'une substance, et/ou pour
masquer le goût d'une substance, en particulier son amertume, et/ou pour
masquer l'odeur d'une substance, et/ou pour modifier la biodisponibilité d'une
substance.

Brève description des dessins

Fig. 1, 2 et 3

[Fig. 1] présente la Monographie de l'Hydroxypropyl betadex (HP β CD) de l'USP 41 NF 36, et fait partie intégrante de la description de la demande de brevet.

- 5 [Fig. 2] présente la Monographie de l'Hydroxypropyl betadex (HP β CD) de l'USP 41 NF 36, et fait partie intégrante de la description de la demande de brevet.

[Fig. 3] présente la Monographie de l'Hydroxypropyl betadex (HP β CD) de l'USP 41 NF 36, et fait partie intégrante de la description de la demande de brevet.

Description détaillée de l'invention

- 10 Ainsi, la présente invention a pour objet une hydroxypropyl-beta-cyclodextrine (HP β CD) caractérisée en ce qu'elle présente un degré moyen de substitution molaire (MS) inférieur ou égal à 0,71, une teneur en β -cyclodextrine (β -CD) inférieure ou égale à 0,3 % en poids sec.

Il est communément entendu que l'expression « HP β CD », couvre classiquement
15 un mélange de molécules d'HP β CD, ainsi que de substances résultant de son procédé de préparation. En effet, par opposition à une substance chimique de structure bien définie, l'HP β CD correspond généralement à un mélange de molécules d'HP β CD présentant des profils et motifs de substitution différents, et donc qui sont structurellement différentes.

- 20 L'HP β CD de l'invention est premièrement caractérisée par son degré moyen de substitution molaire (MS), lequel est inférieur ou égal à 0,71. De préférence, ce MS est choisi dans une gamme allant de 0,50 à 0,71. Il est de préférence encore inférieur ou égal à 0,70, de préférence inférieur ou égal à 0,69. De préférence, ce MS est au moins égal à 0,58, c'est-à-dire choisi dans une gamme allant de 0,58 à
25 0,71. Ce MS est par ailleurs généralement au moins égal à 0,60, voire au moins égal à 0,65. Il est typiquement égal à 0,66, ou égal à 0,67, ou égal à 0,68 ou égal à 0,69.

On rappelle ici que le « degré moyen de substitution molaire (MS) » correspond au nombre moyen de groupements hydroxypropyle, par unité anhydroglucose. À
30 noter que le MS est différent du degré moyen de substitution moléculaire (DS) qui

correspond au nombre moyen de groupements hydroxypropyle par molécule de cyclodextrine, et qui est donc fonction de nombre d'unités anhydroglucose constituant la cyclodextrine de départ. Ainsi pour l'HP β CD, le DS est égal à 7 fois le MS, les β -cyclodextrines étant constituées de 7 unités anhydroglucose.

- 5 Le MS peut être classiquement déterminé par l'homme du métier par Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN), de préférence selon la méthode « Hydroxypropyl Betadex ; Molar substitution » de l'USP 41 NF 36 reproduite en annexe.

Comme exposé précédemment, ce mélange contient classiquement des
10 molécules de beta-cyclodextrine (β -CD) native résiduelles, c'est-à-dire non hydroxypropylées, mais qui se trouvent avantageusement réduites dans l'HP β CD de l'invention.

Ainsi, l'HP β CD de l'invention présente une teneur en β -CD inférieure ou égale à 0,3 %, de préférence inférieure ou égale à 0,2 %, de préférence inférieure ou
15 égale à 0,1%, ce pourcentage étant exprimé en poids sec de β -CD, par rapport au poids sec total de l'HP β CD.

Cette teneur en β -CD résiduelle peut être classiquement déterminée par l'homme du métier par chromatographie liquide haute performance (HPLC), de préférence selon un mode opératoire conforme à la méthode de l'USP 41 NF 36 («
20 Hydroxypropyl Betadex; limit of betadex, propylene glycol, and other related substances ») reproduite en annexe.

De préférence, les motifs de substitution de l'HP β CD conforme à l'invention sont tels que:

la proportion de non substitués (non-OHP) est :

25 - au minimum égale à : 25,0%, de préférence 30,0%, de préférence 35,0%, de préférence 40,0% ; et/ou,

- au maximum égale à : 55,0%, de préférence 52,0%, de préférence 50,0%, de préférence 49,0%, de préférence 48,0% ; et/ou,

la proportion de substitués en C2 (2 OHP) est :

30 -au minimum égale : à 15,0%, de préférence 20,0%, de préférence 24,0%, de préférence 25,0%, de préférence 26,0%,de préférence 27,0%, de préférence 28,0%, de préférence 28,5% ; et/ou,

- au maximum égale à : 35,0%, de préférence 31,0%, de préférence 30,5% ; et/ou, la proportion de substitués en C3 (3 OHP) est :
- au minimum égale à : 5,0%, de préférence 6,0%, de préférence 7,0% ; et/ou
- au maximum égale à : 10,0%, de préférence 9,0%, de préférence 8,0% ; et/ou,
- 5 la proportion de substitués en C6 (OHP) est :
- au minimum égale à : 1,0%, voire à 2,0% ; et/ou
- au maximum égale à : 10,0%, de préférence 7,0%, de préférence 6,0%, de préférence 5,0%, de préférence 4,0% ; et/ou,
- la proportion de substitués en C2 et C3 (2,3-di-OHP) est :
- 10 -au minimum égale à : 5,0%, de préférence 8,0%, de préférence 9,0% ; et/ou,
- au maximum égale à : 25,0%, de préférence 20,0%, de préférence 15,0%, de préférence 12,0%, de préférence 11,0%, de préférence 10,0% ; et/ou,
- la proportion de substitués en C2 et C6 (2,6-di-OHP) est :
- au minimum égale à : 1,0%, de préférence 2,0% ; et/ou,
- 15 -au maximum égale à : 10,0%, de préférence 6,0%, de préférence 5,0%, de préférence 4,0% ; et/ou,
- la proportion de substitués deux fois en C3 (3,3'-di-OHP) est :
- au minimum égale à : 0,2%, de préférence 0,3%, de préférence 0,5% ; et/ou
- au maximum égale à : 2,0%, de préférence 1,5%, de préférence 1,0%, de
- 20 préférence 0,8% ; et/ou
- la proportion de substitués en C2, C3, et C6 (2,3,6-tri-OHP) est :
- au minimum égale à : 0,5%, de préférence 0,6%, de préférence 0,7%, de préférence 0,8% ; et/ou,
- au maximum égale à : 4,0%, de préférence 3,0%, de préférence de préférence
- 25 2,0%, de préférence 1,5%, de préférence 0,8%.

Ces pourcentages correspondent aux pourcentages d'unités anhydroglucose ayant le type de substitution considéré. Par exemple, pour une valeur de 2 OHP égale à 30,0%, on estime que 30,0% molaire des unités anhydroglucose de l'HP β CD sont substituées par un groupement hydroxypropyle au niveau du

30 carbone C2. Par exemple encore, pour une valeur de 3,3'-di-OHP égale à 0,4% on estime que 0,4% molaire des unités anhydroglucose de l'HP β CD sont substituées deux fois au niveau de du carbone C3 (c'est-à-dire que le carbone C3 porte deux groupements hydroxypropyle). Dernier exemple, pour une valeur de 2,6-di-OHP

égale à 5,0 %, on estime que 5,0 % molaire des unités anhydroglucose de l'HP β CD sont substitués par un groupement hydroxypropyle à la fois au niveau du carbone C2, et à la fois au niveau du carbone C6. Pour le premier exemple, on parlera de mono-substitution, tandis qu'on parlera de di-substitution pour les deux
5 derniers exemples.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention comporte moins de 5,0% de substitutions autres que celles énumérées ci-dessus, par exemple de substitutions 3,6-OHP, de préférence moins de 4,0%, de préférence moins de 3,0%, de préférence moins de 2,0%, de préférence moins de 1,0%, de préférence moins de
10 0,5%. De préférence encore, l'HP β CD de l'invention ne comporte pas d'autres types de substitutions que celles énumérées ci-dessus. Par « pas d'autres types de substitutions », on entend que les unités anhydroglucose comportant de telles substitutions ne sont pas détectables, notamment par la méthode dite « Hakomori », ladite méthode comprenant la soumission de l'HP β CD aux étapes
15 successives suivantes : perméthylation, hydrolyse, réduction, peracétylation.

De préférence, les motifs de substitution de l'HP β CD conforme à l'invention sont tels que :

- la proportion de substitutions correspondant à des mono-substitutions est :
 - au minimum égale à : 60%, de préférence 70%, de préférence 73%,
20 et/ou
 - au maximum égale à : 80%, voire 78%, voire 77%, voire 78% ;
et/ou,
- la proportion de substitutions correspondant à des di-substitutions est :
 - au minimum égale à : 15%, voire 20%, voire 22%, voire 23% ; et/ou,
 - au maximum égale à : 40%, de préférence 35%, de préférence
25 30%, de préférence 28%, de préférence 26%, de préférence 25% ;
et/ou
- la proportion de substitutions correspondant à des tri-substitutions est :
 - au minimum égale à : 1%, voire 2% ; et/ou,

- au maximum égale à : 5%, de préférence 4%, de préférence 3%, voire 2% ; et/ou,
- le rapport substitutions C2/C6 est :
 - au minimum égal à : 2,0, de préférence 3,0, de préférence 4,0, de préférence 5,0 ; et/ou,
 - au maximum égal à : 10,0, voire 8,0, voire 7,5 ; et/ou,
- le rapport substitutions C2/C3 est :
 - au minimum égal à : 1,5, de préférence 2,0, de préférence 2,1, de préférence 2,2 ; et/ou,
 - au maximum égal à : 3,0, voire 2,5.

Ces motifs de substitution peuvent être déterminés par l'homme du métier par exemple selon une méthode analogue à la méthode dite « Hakomori », typiquement en soumettant l'HP β CD au étapes successives suivantes : perméthylation, hydrolyse, réduction, peracétylation.

- 15 On peut par exemple procéder selon la méthode telle que décrite dans le brevet US 5,096,893, colonne 6 exemple 9 à colonne 7 exemple 10 inclus, ladite méthode étant incorporée par référence. Typiquement, la méthode selon le brevet US 5,096,893 est la suivante :

De l'hydruure de sodium (0,07 moles) est ajouté à du diméthylsulfoxyde anhydre (20 mL) sous argon et le mélange est chauffé 1 heure à environ 60°C. Ensuite, l'HP β CD (4 g) séchée (3 heures à 110°C) et dissoute dans le diméthylsulfoxyde (15 mL) est ajoutée et placée sous argon sous agitation à température ambiante pendant 3 heures. Le milieu réactionnel est refroidi dans un bain glacé et de l'iodure de méthyle (10 mL, 0,161 moles) est ajouté goutte à goutte. Après encore une heure en bain glacé, le mélange est laissé sous agitation pour la nuit. Ensuite, de l'eau (24 mL) est ajoutée en refroidissant et le produit est extrait deux fois à l'aide de chloroforme (90 mL au total). L'extrait est lavé avec de l'eau (20 mL) et évaporé. Le résidu est traité avec de l'eau (25 mL) et extrait trois fois avec de l'éther (75 mL au total). L'extrait est lavé avec de l'eau puis évaporé. Le résidu est dissous dans l'éther (100 mL), puis mis sous agitation pendant 30 minutes en présence d'alumine neutre, filtré, puis évaporé, jusqu'à obtenir typiquement 3,7 g

the produit perméthylé. 3 mg the produit perméthylé est dissous dans de l'acide trifluoroacétique aqueux (0,5 mL), puis conservé dans un tube à bouche à vis à 100°C pour la nuit, et concentré par rinçage à l'air. Le résidu et du borohydrure de sodium (100 mg) sont dissouts dans de l'ammoniac aqueux (0,5 mL) et la solution

5 est placée à température ambiante pendant une heure. La solution est acidifiée avec de l'acide acétique à 50% (2 gouttes), puis concentrée. L'acide borique est évaporé par co-distillation, d'abord avec un mélange acide acétique méthanol (1:9, 5 mL), puis avec du méthanol (25 mL). Le résidu est traité à l'anhydride acétique et à la pyridine (2:1, 0,5 mL) à 100°C pendant 30 minute, concentrée, et séparée

10 entre le chloroforme et l'eau (2:1, 6 mL). La phase chloroforme est concentrée et le résidu est analysé par chromatographie gaz et chromatographie gaz-liquide couplée à une spectrométrie de masse (GLC-MS). La chromatographie gaz-liquide est réalisée par exemple sur un équipement du type Hewlett Packard 5830 A équipé avec un détecteur à ionisation de flamme, en utilisant l'hydrogène

15 comme gaz vecteur. La chromatographie gaz-liquide couplée à une spectrométrie de masse est réalisée par exemple sur un système du type Hewlett Packard 5790-5970, en utilisant l'hélium comme gaz vecteur. Une colonne capillaire (longueur 25 m, diamètre interne 0,20 mm) en verre de silice (réticulée 5% methylphenylsilicone) par exemple du type Hewlett Packard Ultra 2 est utilisée. La

20 température est programmée de la façon suivante : 8 minutes à 185°C., -> 250°C. à 5°C par minute, 250°C. pendant 10 minutes.

Les inventeurs ont trouvé que les performances de l'HP β CD étaient augmentées lorsque l'HP β CD présentait des motifs de substitution particuliers. Plus spécifiquement, les inventeurs ont montré que la stabilisation de protéines, en

25 particulier de protéines d'intérêt thérapeutique (hormones, anticorps etc.), était améliorée.

De préférence l'HP β CD conforme à l'invention présente les teneurs en solvants organiques suivantes :

-moins de 2000 ppm de d-limonène, de préférence moins de 1000 ppm, de

30 préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm ;

-moins de 2000 ppm d'éthanol, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm;

5 -moins de 2000 ppm de méthanol, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm;

10 -moins de 2000 ppm de d'acétonitrile, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm;

-moins de 2000 ppm d'acétone, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm;

15 -moins de 2000 ppm de chloroforme, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm;

20 ces teneurs étant exprimées en poids sec desdits solvants organiques par rapport au poids sec total de l'HP β CD.

Ces teneurs en solvants organiques peuvent être classiquement déterminées par l'homme du métier par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC/MS), de préférence en effectuant les analyses par Head-space GC/MS. On peut par exemple procéder selon la méthode telle que
25 décrite dans les Exemples au point A.

Tout préférentiellement, l'HP β CD conforme à l'invention ne contient pas de quantités détectables de d-limonène, et/ou d'éthanol, et/ou de méthanol, et/ou d'acétonitrile, et/ou d'acétone et/ou de chloroforme.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente en outre les teneurs en
30 solvants organiques suivantes :

-moins de 2000 ppm de p-xylène, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence

moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm; et/ou

-moins de 2000 ppm de toluène, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm; et/ou

5 -moins de 2000 ppm de l-menthol, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm; et/ou

10 -moins de 2000 ppm de trichloroéthylène, de préférence moins de 1000 ppm, de préférence moins de 500 ppm, de préférence moins de 200 ppm, de préférence moins de 100 ppm, de préférence moins de 50 ppm, de préférence moins de 10 ppm, de préférence moins de 5 ppm, de préférence moins de 1 ppm;

Tout préférentiellement, l'HP β CD de l'invention ne contient pas de quantités
15 détectables de p-xylène, et/ou de toluène, et/ou de l-menthol, et/ou de trichloroéthylène.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur totale en solvants organiques dits de classe 1 selon la section « <467> Residual solvents » du chapitre général de l'USP 41 NF 36 inférieures à 2000 ppm, de préférence
20 inférieures à 1000 ppm, de préférence inférieures à 500 ppm, de préférence inférieures à 200 ppm, de préférence inférieures à 100 ppm, de préférence inférieures à 50 ppm, de préférence inférieures à 10 ppm.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur totale en solvants organiques dits de classe 2 selon la section « <467> Residual solvents » du chapitre général de l'USP 41 NF 36 inférieures à 2000 ppm, de préférence
25 inférieures à 1000 ppm, de préférence inférieures à 500 ppm, de préférence inférieures à 200 ppm, de préférence inférieures à 100 ppm, de préférence inférieures à 50 ppm, de préférence inférieures à 10 ppm.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur totale en solvants organiques dits de classe 3 selon la section « <467> Residual solvents » du chapitre général de l'USP 41 NF 36 inférieures à 2000 ppm, de préférence
30 inférieures à 1000 ppm, de préférence inférieures à 500 ppm, de préférence

inférieures à 200 ppm, de préférence inférieures à 100 ppm, de préférence inférieures à 50 ppm, de préférence inférieures à 10 ppm.

De manière alternative ou complémentaire à la caractérisation par des teneurs en solvants organiques, l'HP β CD peut être définie par le fait qu'elle est susceptible
5 d'être obtenue, ou obtenue, par un procédé d'hydroxypropylation et de purification excluant la mise en œuvre de solvants organiques, c'est-à-dire entièrement réalisé en milieu aqueux.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente le profil de substitution suivant, tel que déterminé par ionisation par électronébuliseur – Spectrométrie de
10 masse (Electrospray ionization – Mass spectrometry (ESI-MS)) :

- signal correspondant à la β -CD non substituée (HP0) : égal à 0,0 % ; et/ou
- signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 1 (HP1) : inférieur ou égal à 3 %, de préférence inférieur ou égal à 1 %, de préférence égal à 0 % ; et/ou
- 15 -signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 2 (HP2) : inférieur ou égal à 5 %, de préférence dans une gamme de 0 à 4 %, de préférence de 1 à 3 %, et/ou
- signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 3 (HP3) : dans une gamme de 1 à 10 %, de préférence de 2 à 8 %, de
20 préférence de 3 à 7 % ; et/ou
- signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 4 (HP4) : dans une gamme de 5 à 20 %, de préférence de 7 à 17 %, de préférence de 9 à 15 % ; et/ou
- signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal
25 à 5 (HP5) : dans une gamme de 10 à 30 %, de préférence de 15 à 25 %, de préférence de 17 à 25 % ; et/ou
- signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 6 (HP6) : dans une gamme de 15 à 35 %, de préférence de 20 à 30 %, de préférence de 24,0 à 28,0 % ; et/ou
- 30 -signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 7 (HP7) : dans une gamme de 10 à 30 %, de préférence de 15 à 25 %, de préférence de 17 à 25 % ; et/ou

- signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 8 (HP8) : dans une gamme de 5 à 20 %, de préférence de 5 à 15 %, de préférence de 6 à 13 % ; et/ou
 - 5 -signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 9 (HP9) : dans une gamme de 1 à 10 %, de préférence de 2 à 8 %, de préférence de 2 à 6 % ; et/ou
 - signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution égal à 10 (HP10) : inférieur à 5 %, de préférence inférieur à 2 %, de préférence inférieur ou égal à 1 %, de préférence égal à 1 %; et/ou
 - 10 -signal correspondant aux molécules d'HP β CD ayant un degré de substitution supérieur ou égal à 11 (HP \geq 11) : inférieur ou égal à 2 %, de préférence inférieur ou égal à 1 %, de préférence égal à 0 % ;
- ces pourcentages étant exprimés par rapport à la somme des signaux obtenus pour chaque degré de substitution pour lesquels le signal était supérieur à celui du
- 15 bruit de fond.

Il est bien entendu admis qu'on entend par « signal » l'aire sous la courbe du (ou des) ion(s) correspondant à (ou aux) degré(s) de substitution d'intérêt.

Dans la présente description, le profil de substitution est déterminé par ESI-MS, de préférence, en faisant la moyenne des mesures réalisées en triplicat. Pour la

20 détermination de ce profil de substitution, on peut en particulier procéder selon la méthode telle que décrite ci-après dans les Exemples, au point A.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur en propylène glycol inférieure ou égale à 5,00 %, ce pourcentage étant exprimé en poids sec de propylène glycol par rapport au poids sec total de l'HP β CD. Cette teneur en

25 propylène glycol est de préférence inférieure ou égale à 2,50 %, de préférence inférieure ou égale à 1,00 %, de préférence inférieure ou égale à 0,50 %, de préférence inférieure ou égale à 0,10 %, de préférence inférieure ou égale à 0,05 %.

Cette teneur en propylène glycol peut être classiquement déterminée par l'homme

30 du métier par chromatographie liquide haute performance (HPLC), de préférence selon un mode opératoire conforme à la méthode de l'USP 41 NF 36 reproduite en

annexe (« « Hydroxypropyl Betadex monograph; limit of betadex, propylene glycol, and other related substances »).

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur en dipropylène glycol inférieure ou égale à 0,10 %, ce pourcentage étant exprimé en poids sec de dipropylène glycol par rapport au poids sec total de l'HP β CD. Cette teneur en dipropylène glycol est de préférence inférieure ou égale à 0,05 %, de préférence inférieure ou égale à 0,03 %. Elle est par exemple située dans une gamme allant de 0,01 à 0,05 %.

De préférence l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur en sucres réducteurs inférieure ou égale à 1,0 %, ce pourcentage étant exprimé en poids sec de sucres réducteurs par rapport au poids sec total de l'HP β CD. De préférence, cette teneur en sucres réducteurs est inférieure ou égale à 0,5 %, de préférence inférieure ou égale à 0,1 %.

Cette teneur en sucres réducteurs peut être classiquement déterminée par l'homme du métier par la méthode dite de Bertrand, par exemple selon la méthode telle que décrite dans les Exemples, au point A. ci-après.

Généralement et avantageusement, l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur en chlorures inférieure ou égale à 1000 ppm, cette teneur étant exprimée en poids sec d'ions chlorure par rapport au poids sec total de l'HP β CD. De préférence, cette teneur en chlorures est inférieure ou égale à 500 ppm, de préférence inférieure ou égale à 100 ppm, de préférence inférieure ou égale à 50 ppm, de préférence inférieure à 50 ppm.

Cette teneur en chlorures peut être classiquement déterminée par l'homme du métier par titrage potentiométrique d'une solution d'HP β CD au moyen d'une solution de nitrate d'argent de concentration connue.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente une absorbance maximale, de 230 à 400 nm, inférieure ou égale à 1,00; ladite absorbance maximale étant mesurée sur la base d'une solution en eau distillée à 2,50 g sec d'HP β CD par 100 mL de solution, en utilisant une cellule ayant une longueur de trajet optique de 10 mm. De préférence, cette absorbance maximale est inférieure

à 0,50, de préférence inférieure à 0,10, de préférence inférieure à 0,05, par exemple dans une gamme de 0,01 à 0,50.

Dans un mode de réalisation avantageux, l'HP β CD de l'invention se présente sous forme pulvérulente. Dans ce cas, elle présente avantageusement une perte de
5 masse à la dessiccation (ou « taux d'humidité ») inférieure ou égale à 10,0 %, de préférence inférieure ou égale à 5,0 %, par exemple choisie dans une gamme allant de 2,0 à 5,0 %.

Cette teneur en eau peut être classiquement déterminée par l'homme du métier par mesure de la perte de masse à la dessiccation, de préférence selon un mode
10 opératoire conforme à la méthode de l'USP 41 NF 36 reproduite en annexe (« Hydroxypropyl betadex monograph ; loss on drying »).

Cette forme pulvérulente est avantageuse notamment pour ce qui concerne le stockage et le transport de l'HP β CD.

Avantageusement, cette HP β CD pulvérulente se présente sous la forme d'un
15 produit atomisé, c'est-à-dire sous la forme d'une poudre obtenue par séchage par atomisation d'une solution d'HP β CD.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente un pH dans une gamme allant de 5,0 à 7,5 ; ledit pH étant mesuré sur la base d'une solution d'HP β CD constituée de 2 g d'HP β CD sec, 98 g d'eau distillée et de 0,3 mL d'une solution de
20 chlorure de potassium à 225 g/L.

De préférence, l'HP β CD conforme à l'invention présente une conductivité inférieure ou égale à 200 μ S/cm, ladite conductivité étant mesurée sur la base d'une solution en eau distillée à 10 % sec d'HP β CD. De préférence, cette conductivité est inférieure ou égale à 100 μ S/cm, de préférence inférieure ou
25 égale à 50 μ S/cm, de préférence inférieure ou égale à 25 μ S/cm, de préférence inférieure ou égale à 10 μ S/cm. Cette conductivité est par exemple dans une gamme de 1 à 10 μ S/cm, voire de 2 à 5 μ S/cm.

Cette conductivité peut être classiquement déterminée par l'homme du métier selon un mode opératoire conforme à la méthode décrite dans l'USP 41 NF 36
30 reproduite en Annexe (« Hydroxypropyl betadex monograph ; conductivity »). On

peut par exemple procéder selon la méthode décrite dans les exemples au point A. ci-après.

De préférence l'HP β CD conforme à l'invention présente une teneur en impuretés apparentées à l'HP β CD autres que le propylène glycol et que la β -CD inférieure à
5 0,5 %, de préférence inférieure à 0,1 %.

Cette teneur en impuretés apparentées à l'HP β CD autres que le propylène glycol et que la β -CD peut être classiquement déterminée par l'homme du métier par chromatographie liquide haute performance (HPLC), de préférence selon un mode opératoire conforme à la méthode de l'USP 41 NF 36 (« limit of betadex,
10 propylene glycol, and other related substances ») reproduite en Annexe, étant entendu que les impuretés apparentées à l'HP β CD autres que le propylène glycol et que la β -CD correspondent aux « other related substances » dans ladite méthode.

De préférence l'HP β CD conforme à l'invention est en outre conforme à la
15 monographie US telle qu'en vigueur au 1er Juin 2018. De préférence l'HP β CD de l'invention est en outre conforme à la monographie Chinoise telle qu'en vigueur au 1er Juin 2018. De préférence l'HP β CD de l'invention est en outre conforme à la monographie Européenne telle qu'en vigueur au 1er Juin 2018.

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation d'HP β CD,
20 particulièrement utile à la préparation d'une HP β CD telle que décrite précédemment, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une étape (a) de préparation d'une solution aqueuse comprenant de la beta-cyclodextrine (β -CD) et de la soude, la quantité de soude mise en oeuvre étant inférieure à 3,7% en poids sec de soude, par rapport au poids sec de β -CD;
- 25 une étape (b) d'addition d'oxyde de propylène à la solution obtenue à l'étape (a), caractérisée en ce que :
 - la température de la solution obtenue à l'étape (a), avant introduction de l'oxyde de propylène, est choisie dans une gamme allant de 80 °C à 120 °C ;
 - le rapport molaire oxyde de propylène : anhydroglucose mis en oeuvre est choisi
30 dans une gamme allant de 0,70:1,00 à 0,86:1,00 ;
 - le débit d'ajout de l'oxyde de propylène est choisi dans une gamme allant de 0,15 à 0,30 kg/h/kg de β -CD ;

une étape (c) de purification caractérisée en ce qu'elle ne met pas en œuvre de solvants organiques;

une étape (d) de récupération de l'HP β CD ainsi obtenue.

De préférence, la masse sèche de β -CD de la solution de l'étape (a) est choisie dans une gamme allant de 30 à 70 % en poids, ce pourcentage étant exprimé en poids sec de β -CD par rapport au poids total de la solution. De préférence, cette masse sèche de β -CD est choisie dans une gamme allant de 40 à 60 %, de préférence de 45 à 55 %, de préférence de 50 à 55 %.

De préférence, la quantité de soude de la solution de l'étape (a) est choisie dans une gamme allant de 0,5 à 3,6 % en poids sec de soude, par rapport au poids sec de β -CD. De préférence encore, cette quantité de soude est supérieure ou égale à 1,0 %, de préférence supérieure ou égale à 1,2 %, de préférence supérieure ou égale à 1,3 %, de préférence supérieure ou égale à 1,4 %, de préférence supérieure ou égale à 1,5 %, voire supérieure ou égale à 1,6 %, voire supérieure ou égale à 1,7 %, voire supérieure ou égale à 1,8 %, voire supérieure ou égale à 1,9 %, voire supérieure ou égale à 2,0 %, voire supérieure ou égale à 2,1 %, voire supérieure ou égale à 2,2 %, voire supérieure ou égale à 2,3 %, voire supérieur ou égale à 2,4 %, voire supérieure ou égale à 2,5 %, voire ou égale à 2,6 %, voire supérieure ou égale à 2,7 %, voire supérieure ou égale à 2,8 %, voire supérieure ou égale à 2,9 %. De préférence, cette quantité de soude est inférieure ou égale à 3,5 %, de préférence inférieure ou égale à 3,4 %, de préférence inférieure ou égale à 3,3 %, de préférence inférieure ou égale à 3,2 %, de préférence inférieure ou égale à 3,1 %, de préférence inférieure ou égale à 3,0 %, de préférence inférieure ou égale à 2,9 %.

De préférence, à l'étape (b), la température de la solution aqueuse de β -CD, avant introduction de l'oxyde de propylène, est supérieure ou égale à 85°C, de préférence supérieure ou égale à 90°C. Cette température est en outre de préférence inférieure ou égale à 110°C, de préférence inférieure ou égale à 100°C. Elle est par exemple choisie dans une gamme allant de 90 à 100°C, de préférence allant de 94 à 96°C. Elle est par exemple égale à environ 95°C.

De préférence, à l'étape (b), le rapport molaire oxyde de propylène : anhydroglucose mis en œuvre est supérieur ou égal à 0,75:1,00, de préférence

supérieur ou égale à 0,80:1,00, de préférence supérieur ou égal à 0,82:1,00, de préférence supérieur ou égal à 0,84:1,00, de préférence égal à 0,85 :1,00.

De préférence, à l'étape (b), le débit d'ajout de l'oxyde de propylène est choisi dans une gamme allant de 0,20 à 0,30 kg/h/kg de β -CD, de préférence allant de 5 0,20 à 0,25 kg/h/kg de β -CD, de préférence allant de 0,21 à 0,23 kg/h/kg de β -CD, par exemple égal à 0,22 kg/h/kg de β -CD.

La réaction peut ensuite être neutralisée, par exemple au moyen de l'ajout l'acide chlorhydrique.

Pour la réalisation de l'étape (c), l'HP β CD obtenue à l'étape (b) peut subir un ou 10 plusieurs traitements, typiquement choisis parmi la filtration, la nanofiltration, le traitement au charbon actif, la déminéralisation.

De préférence, cette purification comprend les traitements suivants, de préférence réalisés dans cet ordre :

- (b.1) décoloration ;
- 15 (b.2) filtration(s) ;
- (b.3) purification membranaire.

De préférence, l'étape (b.1) de décoloration est réalisée au moyen d'un traitement au charbon actif, typiquement réalisé en batch. De préférence, ce traitement est réalisé pendant au moins 1 heure, à 70°C \pm 5°C.

20 De préférence, l'étape (b.2) comprend au moins une étape de filtration sur filtre à manche. De préférence, l'étape (b.2) comprend au moins une étape de filtration sur filtre à cartouche de 0,22 μ m. De préférence, l'étape (b.2) comprend au moins une étape de filtration sur filtre à cartouche de 0,1 μ m, préférentiellement antérieure à celle éventuellement réalisée sur filtre à cartouche de 0,22 μ m.

25 De préférence, l'étape (b.3) de purification membranaire est réalisée par nanofiltration, de préférence au moyen d'un module de nanofiltration équipé d'une membrane ayant un seuil de coupure inférieur à 800 Da ou un taux de rétention nominal supérieur à 65% CaCl₂, à une pression inférieure à 35 bars et à une température supérieure à 45°C.

30 De préférence, la purification comprend en outre une étape (b.4) de déminéralisation comprenant avantageusement une étape de passage sur

colonne échangeuse de cations, puis sur colonne échangeuse d'anions. De préférence, la déminéralisation comprend en outre un passage sur lit mixte. De préférence, l'étape (b.4) est réalisée de sorte que la résistivité du produit en sortie est supérieure à 500 000 Ω .cm.

- 5 De préférence, les traitements (b.1) et (b.2) sont de nouveau réalisés après la purification membranaire (b.3), ou éventuellement après le traitement de déminéralisation (b.4) lorsque celui-ci est réalisé.

Avantageusement, en particulier lorsqu'on souhaite obtenir une HP β CD pulvérulente, le procédé de l'invention comprend, postérieurement à la purification, 10 une étape de séchage du produit hydroxypropylé et éventuellement purifié. Cette étape de séchage peut être réalisée par toute technique connue de l'homme du métier, typiquement par évaporation ou par atomisation, de préférence par atomisation.

Cette atomisation peut être une atomisation simple-effet ou multiple-effet. Dans le 15 cas d'une atomisation multiple-effet, l'atomiseur est couplé avec un lit fluidisé, éventuellement intégré à la tour d'atomisation, qui permet d'agglomérer les particules formées par atomisation. Ce dernier procédé est particulièrement intéressant si l'on souhaite obtenir des poudres de diamètre moyen supérieur, et en fonction de l'écoulement souhaité pour la poudre résultante.

- 20 L'HP β CD de l'invention peut être utilisée dans différentes applications, parmi lesquelles on distingue ici les applications thérapeutiques des applications non thérapeutiques.

Ainsi l'invention porte premièrement sur une HP β CD conforme à l'invention pour son utilisation comme médicament.

- 25 De préférence, cette utilisation est pour le traitement ou la prévention d'une condition ou d'une maladie liée à une surcharge, et/ou à un stockage, et/ou à l'accumulation de cholestérol dans les tissus, ainsi que leurs conséquences. Cela inclut par exemple les maladies cardiovasculaires, les maladies vasculaires, les maladies artérielles périphériques occlusives telles que l'athérosclérose ou les 30 complications liées à un athérome, les maladies du système nerveux central comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la glomérulosclérose

- segmentaire et focale, et les maladies lysosomale affectant le système nerveux central comme par exemple la maladie de Niemann-Pick, telle que la maladie de Niemann-Pick type A, la maladie de Niemann-Pick type B, ou la maladie de Niemann-Pick type C. Les complications liées à un athérome qui sont traitées
- 5 et/ou prévenues par l'utilisation d'une HP β CD selon l'invention sont de manière non limitative l'ischémie, par exemple l'ischémie du myocarde, les maladies coronariennes, l'angine de poitrine, le syndrome coronarien aigu, l'infarctus du myocarde, l'infarctus mésentérique, l'accident vasculaire-cérébral, l'anévrisme ou l'artériopathie des membres inférieurs.
- 10 Les HP β CD de l'invention sont pour une utilisation dans le traitement de la maladie de Niemann-Pick type C ou dans le traitement de la glomérulosclérose segmentaire et focale.
- De préférence, les HP β CD de l'invention sont destinées à être administrées à l'humain ou à l'animal, de préférence à l'humain.
- 15 Les HP β CD de l'invention sont susceptibles d'être administrées par voie orale, par voie parentérale, ou par voie cutanée ou mucosale. La voie parentérale comprend par exemple l'administration sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire ou intrapéritonéale, bien que cette dernière soit plutôt réservée à l'animal. La voie mucosale comprend par exemple l'administration par voie nasale, par voie
- 20 pulmonaire, par la muqueuse rectale. La voie cutanée comprend par exemple la voie dermique, notamment via un dispositif transdermique, typiquement un patch. Pour le traitement et/ou la prévention des maladies du système nerveux central, la voie intrathécale ou la voie rachidienne sont également susceptibles d'être employées.
- 25 La présente invention concerne également l'utilisation d'une HP β CD selon la présente invention pour la fabrication d'un médicament, notamment destiné au traitement et/ou à la prévention des conditions et pathologies précitées. Elle est également relative à une méthode de traitement et/ou de prévention des conditions et pathologies précitées chez un sujet, comprenant l'administration
- 30 d'une quantité thérapeutiquement efficace d'une HP β CD selon l'invention.

L'HP β CD conforme à l'invention a en outre d'autres applications possibles, notamment choisies parmi celles usuellement rencontrées pour ce type de produits.

Ainsi l'invention concerne également l'utilisation d'une HP β CD selon l'invention
5 comme excipient, et/ou pour encapsuler une substance, et/ou solubiliser une substance en milieu aqueux, et/ou pour améliorer la stabilité chimique d'une substance, et/ou pour améliorer la délivrance d'une substance au niveau et à travers des membranes biologiques, et/ou pour augmenter la stabilité physique
10 d'une substance, et/ou pour formuler une substance d'une forme liquide vers une forme pulvérulente, et/ou pour prévenir les interactions d'une substance avec une autre substance, et/ou pour réduire l'irritation locale après une administration topique ou orale d'une substance, et/ou pour prévenir l'absorption d'une substance au niveau de certains tissus comme la peau, et/ou pour obtenir une libération prolongée d'une substance, et/ou pour masquer le goût d'une substance,
15 en particulier son amertume, et/ou pour masquer l'odeur d'une substance, et/ou pour modifier la biodisponibilité d'une substance.

De préférence, ces substances sont des composés lipophiles ou porteurs d'au moins un groupement lipophile.

Ces composés lipophiles ou porteurs d'au moins un groupement lipophile peuvent
20 par exemple être choisis parmi les composés peu solubles, très peu solubles, voire pratiquement insolubles dans l'eau, à température ambiante (15-25°C). Par « composé peu soluble dans l'eau », on entend classiquement qu'un volume d'eau de 100 à 1 000 mL est nécessaire pour dissoudre 1 gramme dudit composé. Pour un « composé très peu soluble dans l'eau », ce volume d'eau est de plus de 1 000
25 mL et va jusqu'à 10 000 mL. Pour un « composé pratiquement insoluble dans l'eau », ce volume d'eau est de plus de 10 000 mL. À ce sujet, voir [FIG 1, 2, 3], et en particulier la définition donnée dans la Pharmacopée Européenne de référence « 1.4. Monographs, 07/2014 : 10000 ».

La substance à laquelle il est fait référence ici peut classiquement être un actif ou
30 une substance indésirable en fonction de l'utilisation choisie. Par exemple, les HP β CD de l'invention peuvent être utilisées pour masquer les mauvaises odeurs, par exemple sous la forme d'un aérosol désodorisant. Elles peuvent également

être utilisées pour prolonger l'effet d'un arôme dans une composition alimentaire, ou encore pour solubiliser et/ou stabiliser un actif.

On entend classiquement par « actif » toute substance d'intérêt par exemple pharmaceutique, vétérinaire, alimentaire, nutraceutique, cosmétique, ou agro-
5 chimique. Des exemples de tels actifs sont les principes actifs pharmaceutiques, les colorants, les arômes. De préférence, les actifs de l'invention sont des principes actifs pharmaceutiques, de préférence destinés à l'humain.

Les actifs utiles à l'invention, en particulier les principes actifs pharmaceutiques, peuvent être des molécules chimiques, mais également des actifs dits «
10 biologiques », comme c'est le cas par exemple des principes actifs à base de ou dérivés de protéines, d'acides nucléiques – comme ceux dérivés de l'ADN ou de l'ARN –, de cellules ou de virus. Des exemples d'actifs préférés selon l'invention sont les protéines thérapeutiquement actives, par exemple des anticorps ou des hormones.

15 La présente invention a également pour objet une composition comprenant une HP β CD selon l'invention et au moins une autre substance.

De préférence, ladite autre substance est telle que définie précédemment dans la section concernant l'utilisation des HP β CD selon l'invention. Il s'agit par exemple
20 lipophile ou porteur d'au moins un groupement lipophile et/ou d'un composé peu soluble, très peu soluble, ou pratiquement insoluble dans l'eau, à température ambiante (15-25°C).

Ces autres substances peuvent en outre être choisies parmi les composés habituels, en fonction de l'utilisation et/ou de la forme galénique souhaitée, tant
25 que ces derniers ne contreviennent pas aux propriétés recherchées dans la présente invention. Ces autres substances peuvent par exemple être choisies parmi les liants, les (super)désintégrants, les lubrifiants.

Les HP β CD et compositions les comprenant selon l'invention peuvent être sous toute forme galénique que l'homme du métier juge adaptée, notamment en
30 fonction de l'utilisation visée. Elles peuvent par exemple être sous forme liquide, solide, ou semi-solide. Il peut par exemple s'agir de solutions, en particulier de

solutions injectables, de suspensions, de dispersions, d'émulsions, de « pellets », de granules, de films, de poudres, de gels, de crèmes, d'onguents, de pâtes, de sticks, de comprimés, de gélules dures, de capsules molles, de dispositifs osmotiques, de patchs.

- 5 On rappelle dans la présente invention que lorsqu'il est fait mention d'une concentration d'une substance en solution exprimée en pourcentage, et sauf indication contraire, cette dernière correspond classiquement à la quantité en grammes de substance sèche pour 100 mL de solution.

On rappelle également que lorsqu'on fait référence à une masse sèche de
10 substance (« poids sec »), il s'agit effectivement d'une masse de substance anhydre. En d'autres termes, cette masse exclut l'eau éventuellement présente dans la substance de départ sous forme pulvérulente.

L'invention sera mieux comprise à l'aide des exemples qui suivent, lesquels se veulent illustratifs et non limitatifs.

15

Exemples

A. Méthodes utilisées pour caractériser les HP β CD

1. Le taux d'humidité (perte de masse à la dessiccation) a été déterminé conformément à la méthode de l'USP 41 NF 36 reproduite en Annexe («
20 Hydroxypropyl betadex monograph ; loss on drying »).

2. La teneur en sucres réducteurs a été déterminée par la méthode de Bertrand, par précipitation à l'oxyde cuivreux en milieu réducteur, filtration sur verre fritté et pesage du résidu.

3. Le pH en solution a été déterminé par mesure de la différence de potentiel entre
25 deux électrodes immergées, à 20-25 °C. La solution d'HP β CD était constituée de 2 g sec d'HP β CD, 98 g d'eau distillée présentant une résistivité supérieure à 500 000 ohms.cm, et de 0,3 mL d'une solution de chlorure de potassium à 225 g/L.

4. La teneur en chlorures (Cl⁻) a été déterminée par titrage potentiométrique d'une
30 solution d'HP β CD, au moyen d'une solution de nitrate d'argent de concentration connue.

5. L'absorbance maximale de 230 à 400 nm a été déterminée sur la base d'une solution en eau distillée à 2,50 g sec d'HP β CD par 100 mL de solution, en utilisant une cellule ayant une longueur de trajet optique de 10 mm.

6. Les teneurs en substances apparentées dans l'HP β CD (β -CD, propylène glycol, autres impuretés apparentées (incluant le dipropylène glycol)) ont été déterminées selon une méthode conforme à l'USP 41 NF 36 (« Hydroxypropyl betadex monograph ; limit of betadex, propylene glycol, and other related substances »).

7. La conductivité a été déterminée à 25°C selon un mode opératoire conforme à la méthode décrite dans l'USP 41 NF 36 reproduite en Annexe (« Hydroxypropyl betadex monograph ; conductivity », sur la base d'une solution de 100 mL, à 10 % d'HP β CD préparée dans de l'eau distillée présentant une résistivité supérieure à 500 000 ohms.cm. La résistivité R de la solution ainsi obtenue a été mesurée par conductivimètre électronique, et la conductivité calculée à partir de cette dernière (1/R).

8. Le degré moyen de substitution molaire (MS) a été déterminé par RMN, conformément à la méthode de l'USP 41 NF 36 reproduite en Annexe (« Hydroxypropyl betadex monograph ; Molar substitution »).

9. Le profil de substitution a été déterminé par ionisation par électronébuliseur – Spectrométrie de masse (Electrospray ionization – Mass psectrometry (ESI-MS)). Une solution d'HP β CD à 1 g sec/L a été préparée dans un mélange méthanol/eau (50/50, v/v) avec 1 mM d'acétate de sodium. L'infusion de chaque échantillon a été effectuée pendant 1 min à 10 μ L/min et les données MS ont été enregistrées comme décrit ci-dessous. Entre deux injections successives, 500 μ L d'un mélange méthanol/eau (50/50, v/v) ont été injectées pour laver la source ionique. Les paramètres de ionisation par électronébuliseur (ESI) étaient les suivants : tension de pulvérisation : 5 kV ; gaz nébuliseur : 9, gaz auxiliaire : 2 ; gaz de balayage : 0; tension capillaire : 23 V ; température capillaire : 275°C ; lentille de tube : 80 V. Les paramètres de spectrométrie de masse étaient les suivants : balayage complet ; gammes de balayage : 50-200 m/z ; gamme de masse : normale, taux de numérisation : amélioré ; temps d'acquisition : 1 min. Pour chaque molécule d'HP β CD substituée (appelées HPX, X étant le nombre de substitutions, par molécule de β -CD), le courant ionique extrait pour chaque ion (XIC) a été intégré

et comparé à la somme de tous les courants ioniques HPX, pour lesquels les intensités des pics correspondants étaient supérieures aux intensités du bruit de fond. Comme l'adduit de sodium était l'ion d'HP β CD le plus intense, l'aire sous la courbe du pic correspondant pour chaque HPX a été intégrée et rapportée à la

5 somme des aires des ions HPX pris en compte pour la caractérisation (intensité supérieure à celle du bruit de fond), afin de l'exprimer en pourcentage.

10. Les teneurs en solvants organiques ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (GC/MS). Plus précisément, les analyses ont été effectuées par Head-space – GC/MS. Les

10 conditions opératoires étaient les suivantes : GC/MS Bruker équipé d'une colonne Vf-wax 30m * 0,25mm, df 0,25 μ m ; Programme de température : 5 min à 40°C, 5°C/min jusqu'à 230°C ; injecteur 250°C split 1 :10 ; Détecteur MS en EI +. L'échantillon a été préparé de la façon suivante : 0,2 g d'HP β CD sec ont été dissous dans 1 mL d'eau ultra-pure.

15 11. Les motifs de substitutions ont été déterminés selon une méthode dite « HAKOMORI » discutée avant.

B. Art antérieur : valeurs de MS et de teneurs en β -CD d'HP β CD commerciales

20 Dans cette section, des valeurs de MS et de teneurs en β -CD ont été mesurées pour différentes HP β CD commerciales (Mes.). Les spécifications fournisseur ont également été indiquées à titre d'information (Spec.) lorsqu'elles étaient disponibles.

[Tableau 1]

	MS Spec. -> Mes.	β-CD Spec. -> Mes.
KLEPTOSE® HP (ROQUETTE)	0,81-0,99 -> 0,88	$\leq 1,0\%$ -> 0,1%
KLEPTOSE® HPB (ROQUETTE)	0,58-0,68 -> 0,63	$\leq 1,0\%$ -> 0,6%
CAVASOL® W7 HP Pharma (WACKER)	0,59-0,73 -> 0,64	$\leq 1,0\%$ -> 0,5%
CAVITRON® W7 HP5 Pharma (WACKER)	0,59-0,73 -> 0,65	$\leq 1,5\%$ -> 0,5%
CAVITRON® W7 HP7 Pharma (WACKER)	0,86-1,14 -> 1,02	$\leq 1,5\%$ -> 0,1%
TRAPPSOL® Cyclo	Inconnu -> 0,91	Inconnu -> ND
CELLDEX® HPB-EC Pharma grade	Inconnu -> 0,62	Inconnu -> 0,7%
C*CAVITRON® 82005 (CARGILL)	Inconnu -> 0,66	Inconnu -> 0,4%
COMPLEXOL-HP –GANGWAL (CHEMICALS)	Inconnu -> 0,74	Inconnu -> 0,3%

Ces résultats confirment que les HP β CD disponibles dans le commerce ne concilient pas faible MS et faibles teneurs en β -CD résiduelle. Ainsi par exemple, les produits KLEPTOSE® HP, CAVASOL® W7 HP7 et COMPLEXOL-HP, qui 5 présentent des teneurs en β -CD inférieures ou égales à 0,3 %, présentent néanmoins un MS qui excède systématiquement 0,71. A l'inverse, les produits KLEPTOSE® HPB, CAVASOL® W7 HP, CAVASOL® W7 HP5 et C*CAVITRON® présentent un MS inférieur à 0,71, mais leurs teneurs en β -CD résiduelle excède systématiquement les 0,3 %.

10

C. Préparation et caractérisation (MS et β CD) d'HP β CD conformes ou non à l'invention

1. Procédé 1 – avec purification par décoloration, filtrations et purification membranaire

15 Cette section a pour objet de présenter l'influence des paramètres d'hydroxypropylation sur les caractéristiques des HP β CD obtenues.

Une HP β CD selon l'invention (IN-1) a été préparée de la façon suivante : 1313 g de β -cyclodextrine (β -CD) commerciale (correspondant à 1188 g de β -CD anhydre) ont été dissous en milieu alcalin, sous agitation et dans un autoclave 20 sous atmosphère inerte. Une solution comprenant 52 % de β -CD en poids sec par rapport au poids total de solution, et 2,9 % de soude par rapport au poids sec de β CD ([NaOH] dans le tableau ci-après) a ainsi été obtenue. Le milieu réactionnel a

été maintenu 30 minutes à une température [T] de 95 °C, puis 361,6 g d'oxyde de propylène ont été ajoutés à un débit [D] de 0,22kg/h/kg de β -CD sec, soit dans un rapport molaire oxyde de propylène : anhydroglucose [PO:G] de 0,85:1,00. Après la fin de l'introduction de l'oxyde de propylène, le milieu réactionnel a été maintenu
5 4h sous agitation puis neutralisé à l'acide chlorhydrique.

L'HP β CD a ensuite été purifiée et séchée par les techniques suivantes, en milieu aqueux, c'est-à-dire sans mettre en œuvre de solvants organiques :

- Décoloration ;
- Filtrations ;
- 10 -Purification membranaire
- Séchage par évaporation.

L'étape de décoloration au charbon actif a été réalisée en batch, sous agitation pendant un minimum d'1h à 70 °C \pm 5 °C. Le milieu a ensuite été filtré sur filtre cricket puis sur filtre à cartouche de 0,22 μ m. L'étape de purification membranaire
15 a en particulier été réalisée à l'aide d'un module de nanofiltration équipé d'une membrane ayant un seuil de coupure 800 Da, à une pression inférieure à 35 bars et à une température supérieure à 45 °C. La teneur en propylène glycol du retentat a été contrôlée par dosage HPLC. L'opération a été stoppée dès l'atteinte d'une teneur en propylène glycol inférieure à 0,5% en poids sur produit sec. L'HP β CD
20 ainsi obtenue a ensuite été séchée sous pression réduite à l'évaporateur rotatif de manière à présenter une teneur en matières sèches en poids supérieure à 95%.

Une HP β CD comparative (CP-1) a été préparée de la façon suivante : 656 g de β -cyclodextrine (β -CD) commerciale (correspondant à 594,4g de β -CD anhydre) ont été dissous en milieu alcalin, sous agitation et dans un autoclave sous
25 atmosphère inerte. Une solution comprenant 52 % de β -CD en poids sec par rapport au poids total de solution, et 2,9 % de soude par rapport au poids sec de β CD a ainsi été obtenue. Le milieu réactionnel a été maintenu 30 minutes à une température [T] de 75 °C puis 182,6 g d'oxyde de propylène ont été ajoutés à un débit [D] de 0,14kg/h/kg de β -CD sec, soit dans un rapport molaire oxyde de
30 propylène : anhydroglucose [PO:G] de 0,86:1,00. Après la fin de l'introduction de l'oxyde de propylène, le milieu réactionnel a été maintenu 4h sous agitation puis

neutralisé à l'acide chlorhydrique. L'HP β CD ainsi obtenue a été purifiée et séchée de la même manière que l'HP β CD IN-1.

Les HP β CD obtenues ont été caractérisées en ce qui concerne leur MS et leur teneur en β -CD. Les conditions d'hydroxypropylation ainsi que les valeurs de MS et de teneur en β -CD sont présentées dans le tableau suivant :

[Tableau 2]

Essai ref.	Conditions d'hydroxypropylation				Caractéristiques des HP β CD obtenues	
	[T]	[D]	[PO:G]	[NaOH]	MS	β -CD
IN-1	95°C	0,22 kg/h/kg β -CD	0,85:1,00	2,9 %	0,68	0,26 %
CP-1	75°C	0,14 kg/h/kg β -CD	0,86:1,00	2,9 %	0,72	0,24 %

D'autres essais ont ensuite été réalisés de la façon suivante :

Pour chaque essai, la mise en œuvre de β -CD anhydre est d'environ 250 g et les quantités d'eau et d'oxyde de propylène introduites correspondent proportionnellement à celles utilisées pour la préparation de l'HP β CD IN-1. En particulier, cela signifie que le ratio molaire [PO:G] était égal à 0,85:1,00. La température [T] du milieu réactionnel avant introduction de l'oxyde de propylène était de 110°C. Différentes quantités de soude [NaOH] ont été testées, qui sont exprimées en pourcentages sec de soude par rapport au poids sec de β -CD dans le tableau ci-après. L'oxyde de propylène a été ajouté à un débit [D]. Après réaction, le milieu réactionnel a été neutralisé à l'acide chlorhydrique. Pour chaque teneur en soude [NaOH] testée, deux bruts réactionnels ont été réalisés, qui ont ensuite été réunis afin d'avoir assez de matières pour l'étape de nanofiltration de la purification. Les bruts réactionnels d'HP β CD ainsi obtenus ont donc été purifiés et séchés de la même manière que l'HP β CD IN-1.

Les HP β CD obtenues ont été caractérisées en ce qui concerne leur MS et leur teneur en β -CD. Les conditions d'hydroxypropylation ainsi que les valeurs de MS et de teneur en β -CD sont présentées dans le tableau suivant

[Tableau 3]

Essai ref.	Conditions d'hydroxypropylation				Caractéristiques des HP β CD obtenues	
	[T]	[D]*	[NaOH]	[PO:G]	MS	β -CD
IN-1,5% NaOH	110° C	0,19 kg/h/kg β - CD 0,19 kg/h/kg β - CD	1,5%	0,85:1,00	0,66	0,25
IN-2,9% NaOH	110° C	0,17 kg/h/kg β - CD 0,20 kg/h/kg β - CD	2,9 %	0,85:1,00	0,65	0,31
CP-3,7% NaOH	110° C	0,16 kg/h/kg β - CD 0,15 kg/h/kg β - CD	3,7 %	0,85:1,00	0,65	0,38
CP-6,0% NaOH	110° C	0,13 kg/h/kg β - CD 0,14 kg/h/kg β - CD	6,0 %	0,85:1,00	0,62	0,63
CP-9,0% NaOH	110° C	0,09 kg/h/kg β - CD 0,10 kg/h/kg β - CD	9,0 %	0,85:1,00	0,58	1,03

**les deux valeurs correspondent aux deux bruts réactionnels réalisés.*

L'ensemble de ces essais montre que lorsque les conditions d'hydroxypropylation sont judicieusement paramétrées, il est possible d'obtenir une HP β CD ayant le MS et les teneurs en β -CD visées par la présente invention.

De façon très avantageuse pour la purification, il n'est pas nécessaire de faire intervenir des solvants organiques. Ainsi, l'HP β CD selon l'invention peut être exempte de substances organiques autres que celles qui résultent classiquement de l'étape d'hydroxypropylation et des matières premières utilisées pour cette hydroxypropylation.

2. Procédé 2 – avec décoloration et filtrations additionnelles

Cette section a pour objet de présenter un procédé optimisé pour la préparation d'une HP β CD de l'invention.

Une HP β CD selon l'invention (IN-2) a été préparée de la façon suivante : 1305 g de β -cyclodextrine (β -CD) commerciale (correspondant à 1204 g de β -CD anhydre) ont été dissous en milieu alcalin, sous agitation et dans un autoclave sous atmosphère inerte. Une solution comprenant 52 % de β -CD en poids sec par rapport au poids total de solution, et 2,9 % de soude par rapport au poids sec de β CD a ainsi été obtenue. Le milieu réactionnel a été maintenu 30 minutes à une température [T] de 95°C, puis 367g d'oxyde de propylène ont été ajoutés à un débit [D] de 0,22kg/h/kg de β -CD sec, soit dans un rapport molaire oxyde de propylène : anhydroglucose [PO:G] de 0,85:1,00. Après la fin de l'introduction de l'oxyde de propylène, le milieu réactionnel a été maintenu 4h sous agitation puis neutralisé à l'acide chlorhydrique.

L'HP β CD obtenue a ensuite été purifiée et séchée par soumission aux étapes suivantes, en milieu aqueux, c'est-à-dire sans mettre en œuvre de solvants organiques :

- 15 - Décoloration ;
- Filtrations ;
- Purification membranaire ;
- Déminéralisation ;
- Décoloration ;
- 20 -Filtrations ;
- Séchage par atomisation.

L'étape de décoloration a été effectuée par traitement sur charbon actif pendant 1h à 70°C. Le milieu a ensuite été filtré sur filtre à manche puis filtre à cartouche 1 μ m puis 0,22 μ m. L'étape de purification membranaire a été réalisée à l'aide d'un module de nanofiltration équipé d'une membrane ayant un seuil de coupure inférieur à 800 Da, à une pression inférieure à 35 bars et à une température supérieure à 45°C. La teneur en propanediol du retentat a été contrôlée par dosage HPLC. L'opération de nanofiltration a été stoppée dès l'atteinte d'une teneur en propanediol inférieure à 0,1% en poids sur produit sec. L'étape de déminéralisation a en particulier été réalisée par passage sur colonne échangeuses d'ions cationique, puis anionique et enfin sur un lit mixte afin d'obtenir une résistivité en sortie supérieure à 500 000 Ω .cm. La seconde étape

de décoloration a été réalisée en batch par traitement au charbon actif sous agitation à 70°C pendant 1h minimum. La solution d'HPβCD a ensuite été filtrée sur filtre à manches puis filtres à cartouche de 1 μm à 0,22 μm. L'HPβCD a ensuite été obtenue sous forme pulvérulente par séchage par atomisation de la solution d'HPβCD.

Une caractérisation poussée de l'HPβCD de l'invention IN-2 a ensuite été menée. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

[Tableau 4]

	IN-2
MS	0,69
Teneur en β-CD	0,24 %
Teneur en propylène glycol	< 0,05 %
Impuretés apparentées à l'HPβCD autres que la β-CD et le propylène glycol	< 0,1 % dont 0,01 % de dipropylène glycol
Taux d'humidité	3,8 %
Teneur en sucres réducteurs	< 0,1 %
pH à 2%	5,7
Teneur en ions chlorures (Cl ⁻)	<50 ppm
Absorbance maximale	0,01
Conductivité	3 μS/cm
Profil de substitution	
HP0	0,0 %
HP1	0,4 %
HP2	1,6 %
HP3	4,9 %
HP4	11,5 %
HP5	20,6 %
HP6	25,9 %
HP7	20,7 %
HP8	10,2 %
HP9	3,3 %
HP10	0,7 %
HP≥11	HP11 = 0,1 % HP12 = 0,0 % HP13 = 0,0 % HP14 = 0,0 %

10 *Remarque : une valeur précédée du signe « < » indique que la valeur mesurée était inférieure au seuil de détection.*

D. Motifs de substitutions d'HP β CD conformes ou non à l'invention

Dans cette section, les inventeurs ont déterminé les motifs de substitution d'HP β CD conformes à l'invention, d'HP β CD comparatives, ainsi que d'HP β CD du commerce. Pour l'HPBCD IN-2, plusieurs lots ont été testés.

- 5 Les résultats, exprimés en pourcentages, sont présentés dans les tableaux 5 et 6. Les valeurs de MS et de β -CD résiduelle ont également été reportées.

« mono » : proportion de substitutions correspondant à des mono-substitutions (2 OHP, 3 OHP, 6 OHP) « di » : proportion de substitutions correspondant à des di-substitutions (2,3-di-OHP, 2,6-di-OHP, 3,3'-di-OHP) ;

- 10 « tri » : proportion de substitutions correspondant à des tri-substitutions (2,3,6-tri-OHP) ;

« C2/C6 » : rapport substitutions C2/C6 ((2 OHP + 2,3-di-OHP + 2,6-di-OHP + 2,3,6-tri-OHP) / (6 OHP + 2,6-di-OHP + 2,3,6-tri-OHP)) ;

- 15 « C2/C3 » : rapport substitutions C2/C3 ((2 OHP + 2,3-di-OHP + 2,6-di-OHP + 2,3,6-tri-OHP) / (3 OHP + 2,3-di-OHP + 3,3'-di-OHP + 2,3,6-tri-OHP))

[Tableau 5]

	Non OHP	2 OHP	3 OHP	6 OHP	2,3-di-OHP	2,6-di-OHP	3,3'-di-OHP	2,3,6-tri-OHP
IN-2 #lot 1	42,7	30,4	8,0	4,0	10,0	3,1	0,8	1,1
IN-2 #lot 2	43,5	29,7	7,9	3,9	9,7	3,4	0,7	1,1
IN-2 #lot 3	46,2	29,8	7,3	3,6	9,2	2,5	0,6	0,8
IN-2 #lot 4	46,9	30,1	7,1	2,6	9,4	2,6	0,5	0,9
IN-2 #lot 5	47,0	28,7	7,0	3,2	9,4	3,2	0,6	1,0
IN-1,5% NaOH	44,3	29,1	8,3	3,4	10,5	2,8	0,7	0,9
IN-2,9% NaOH	46,3	28,6	7,4	3,8	9,9	2,2	0,8	1,0
CP-3,7% NaOH	46,1	28,0	7,8	4,1	9,5	2,7	0,8	1,1
CP-6,0% NaOH	47,5	26,8	7,2	5,4	8,5	3,1	0,8	0,8
CP-9,0% NaOH	50,9	23,8	6,7	6,1	7,1	3,5	0,9	1,1
CAVASOL® W7 HP Pharma (WACKER)	47,6	26,9	7,7	2,4	11,8	2,2	0,6	0,8
CAVITRON® W7 HP5 Pharma (WACKER)	46,5	27,7	7,7	2,4	12,0	2,3	0,6	0,8
CAVITRON® W7 HP7 Pharma (WACKER)	26,0	30,9	6,9	3,1	23,1	5,1	1,2	3,7

[Tableau 6]

	mono	di	tri	C2/C6	C2/C3	MS	β-CD
IN-2 #lot 1	74%	24%	2%	5,5	2,2	0,69	0,24%
IN-2 #lot 2	74%	25%	2%	5,2	2,3	0,69	0,24%
IN-2 #lot 3	76%	23%	2%	6,1	2,4	0,69	0,1%
IN-2 #lot 4	75%	23%	2%	7,1	2,4	0,69	0,1%
IN-2 #lot 5	73%	25%	2%	5,8	2,3	0,69	0,1%
IN-1,5% NaOH	73%	25%	2%	6,1	2,1	0,66	0,25%
IN-2,9% NaOH	74%	24%	2%	5,9	2,2	0,65	0,31%
CP-3,7% NaOH	74%	24%	2%	5,2	2,2	0,65	0,38%
CP-6,0% NaOH	75%	24%	1%	4,2	2,3	0,62	0,63%
CP-9,0% NaOH	75%	23%	2%	3,3	2,3	0,58	1,03%
CAVASOL® W7 HP Pharma (WACKER)	71%	28%	2%	7,7	2,0	0,64	0,5%
CAVITRON® W7 HP5 Pharma (WACKER)	71%	28%	2%	7,8	2,0	0,65	0,5%
CAVITRON® W7 HP7 Pharma (WACKER)	55%	40%	5%	5,3	1,8	1,02	0,1%

Remarque : sur toutes les HPBCD testées, aucun signal correspondant à d'autres types de substitution (par exemple du type 3,6-di-OHP) n'a été obtenu. Il n'y avait donc pas de quantités détectables d'unités anhydroglucose présentant d'autres types de substitutions que celles présentées dans les tableaux 5 et 6.

Ces résultats montrent que les HPβCD conformes à l'invention présentent des motifs de substitution particuliers, notamment comparativement aux produits CAVASOL® W7 HP Pharma, CAVITRON® W7 HP5 Pharma et CAVITRON® W7 HP7 Pharma, également analysés.

D'après des expérimentations réalisées par les inventeurs (données non présentées ici), des motifs de substitution tels que ceux de l'HPβCD de l'invention semblent conférer des propriétés particulières, notamment une meilleure efficacité dans la stabilisation de substances, en particuliers d'actifs pharmaceutiques, et plus précisément d'actifs biologiques telles que les protéines pharmaceutiquement

actives. En particulier, pour la stabilisation de protéines thérapeutiques, une diminution plus importante de l'aggrégation protéique était obtenue avec une HP β CD qui présentait des motifs de substitution tel que ceux de l'HP β CD de l'invention, comparativement à celle obtenue avec les produits CAVASOL® W7 HP Pharma, CAVITRON® W7 HP5 Pharma et CAVITRON® W7 HP7 Pharma.

Revendications

1. Hydroxypropyl-beta-cyclodextrine (HP β CD), caractérisée :
 - en ce qu'elle présente un degré moyen de substitution molaire (MS) inférieur ou égal à 0,71 ; et,
- 5 -en ce qu'elle présente une teneur en β -cyclodextrine (β -CD) inférieure ou égale à 0,3 % en poids sec.

2. HP β CD selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend les teneurs en solvants organiques suivantes :
 - 10 -moins de 2000 ppm de d-limonène ;
 - moins de 2000 ppm d'éthanol;
 - moins de 2000 ppm de méthanol;
 - moins de 2000 ppm de d'acétonitrile;
 - moins de 2000 ppm d'acétone;
 - 15 -moins de 2000 ppm de chloroforme;ces teneurs étant exprimées en poids sec desdits solvants organiques par rapport au poids sec total de l'HP β CD.

3. HP β CD selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisée en
20 ce que le MS est choisi dans une gamme allant de 0,50 à 0,71.

4. HP β CD selon la revendication 3, caractérisée en ce que le MS est choisi dans une gamme allant de 0,58 à 0,71.

- 25 5. HP β CD selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que sa teneur en β -CD est inférieure ou égale à 0,2 % en poids sec.

6. Procédé de préparation d'HP β CD, caractérisé en ce qu'il comprend :
 - une étape (a) de préparation d'une solution aqueuse comprenant de la beta-
 - 30 cyclodextrine (β -CD) et de la soude, la quantité de soude mise en oeuvre étant

inférieure à 3,7% en poids sec de soude, par rapport au poids sec de β -CD;
une étape (b) d'addition d'oxyde de propylène à la solution obtenue à l'étape (a),
caractérisée en ce que :

- la température de la solution obtenue à l'étape (a), avant introduction de l'oxyde
- 5 de propylène, est choisie dans une gamme allant de 80°C à 120°C ;
- le rapport molaire oxyde de propylène : anhydroglucose mis en œuvre est choisi
dans une gamme allant de 0,70:1,00 à 0,86:1,00 ;
- le débit d'ajout de l'oxyde de propylène est choisi dans une gamme allant de 0,15
à 0,30 kg/h/kg de β -CD ;
- 10 une étape (c) de purification, caractérisée en ce qu'elle ne met pas en œuvre de
solvants organiques;
- une étape (d) de récupération de l'HP β CD ainsi obtenue.

7. HP β CD selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, ou susceptible
15 d'être obtenue selon le procédé de la revendication 5, pour son utilisation comme
médicament.

8. Utilisation d'une HP β CD selon l'une quelconque des revendications 1 à 4,
ou susceptible d'être obtenue selon le procédé de la revendication 5, comme
20 excipient, et/ou pour encapsuler une substance, et/ou solubiliser une substance
en milieu aqueux, et/ou pour améliorer la stabilité chimique d'une substance, et/ou
pour améliorer la délivrance d'une substance au niveau et à travers des
membranes biologiques, et/ou pour augmenter la stabilité physique d'une
substance, et/ou pour formuler une substance d'une forme liquide vers une forme
25 pulvérulente, et/ou pour prévenir les interactions d'une substance avec une autre
substance, et/ou pour réduire l'irritation locale après une administration topique ou
orale d'une substance, et/ou pour prévenir l'absorption d'une substance au niveau
de certains tissus comme la peau, et/ou pour obtenir une libération prolongé d'une
substance, et/ou pour masquer le goût d'une substance, en particulier son
30 amertume, et/ou pour masquer l'odeur d'une substance, et/ou pour modifier la
biodisponibilité d'une substance.

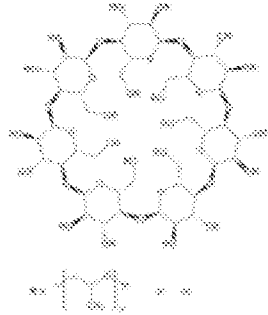
9. Composition comprenant une HP β CD selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, ou susceptible d'être obtenue selon le procédé de la revendication 5, et au moins une autre substance.
- 5 10. Composition selon la revendication 9, caractérisée en ce que cette autre substance est un actif.
11. Composition selon la revendication 10, caractérisée en ce que ledit actif est un principe actif pharmaceutique.

Figure 1

NF 36

Official Monographs / Hydroxypropyl 5385

Hydroxypropyl Betadex



$C_{40}H_{70}O_{32}(C_3H_7O)_x$, where $x = 7 \times MS$, MS being molar substitution
 Beta cyclodextrin, 2-hydroxypropyl ether [94035-02-6].

DEFINITION

Hydroxypropyl Betadex is a partially substituted poly(hydroxypropyl) ether of Betadex. The number of hydroxypropyl groups per anhydroglucose unit expressed as molar substitution (MS) is NLT 0.40 and NMT 1.50 and is within 10% of the value stated on the label.

IDENTIFICATION

- A. INFRARED ABSORPTION (197K):** The spectrum obtained with Hydroxypropyl Betadex shows the same absorption bands as the spectrum acquired with USP Hydroxypropyl Betadex RS. Due to the difference in the substitution of the substance, the intensity of some absorption bands may vary.
- B.** It meets the requirements of the test for Clarity of Solution.

ASSAY

MOLAR SUBSTITUTION

(See Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (761).) The molar substitution (MS) is calculated from the ratio between the signal from the three protons of the methyl group, contained in the hydroxypropyl functional group, and the signal from the proton attached to the carbon C₁ (glycosidic proton) of the anhydroglucose units.

Use a Fourier-transform nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometer having a magnetic field strength of at least 6 Tesla and that is capable of performing quantitative analysis using proton NMR spectroscopy at a temperature of at least 25°.

Sample solution: Mix NLT the equivalent of 10.0 mg of dried Hydroxypropyl Betadex with 0.75 mL of deuterium oxide thoroughly in an NMR tube. Place the tube into an NMR probe.

Analysis: Adjust the spectrometer settings so that a high-resolution proton NMR spectrum can be acquired that will provide quantitative data. Acquire a free induction decay (FID) with at least 8 transients using a spectral window from at least 0–6.2 ppm, with the solvent peak located at 4.8 ppm at 25°. Zero fill the spectrum at least three times, and Fourier transform the FID with no Gaussian line broadening and no more than 0.2 Hz of Lorentzian line broadening.

Determine the peak areas of the doublet from the methyl protons of the hydroxypropyl functional group at 1.2 ppm (A_1) and the peak areas from the glycosidic protons, which are located between 5 and 5.4 ppm (A_2).

Calculate the MS:

$$\text{Result} = A_1/(3A_2)$$

A_1 = area of the methyl group of hydroxypropyl
 A_2 = area of the glycosidic proton

The degree of substitution is the number of hydroxypropyl groups per molecule of betadex and is obtained by multiplying the MS by 7.

Acceptance criteria: 0.40–1.50 and within 10% of the value stated on the label

IMPURITIES

Delete the following:

- HEAVY METALS, Method 1 (231):** NMT 20 µg/g, omni 80-2018

LIMIT OF BETADEX, PROPYLENE GLYCOL, AND OTHER RELATED SUBSTANCES

Mobile phase: Water

Standard solution A: 15 mg/mL of USP Beta Cyclodextrin RS and 25 mg/mL of USP Propylene Glycol RS

Standard solution B: 1.0 mL of Standard solution A diluted with water to 10.0 mL

Sample solution: Dissolve 2.50 g of Hydroxypropyl Betadex, accurately weighed and calculated on the dried basis, in water with the aid of heat. Cool, and dilute with water to 25.0 mL. The resulting solution is 100 mg/mL of Hydroxypropyl Betadex, calculated on the dried basis, in water.

Chromatographic system

(See Chromatography (621), System Suitability.)

Mode: IC

Detector: Differential refractometer

Column:

Guard: Packing 111

Analytical: 3.9 mm × 30 cm; packing 111

Column temperature: 40°

Flow rate: 1.5 mL/min

Injection volume: 20 µL

System suitability

Samples: Standard solution A and Standard solution B

[Note:—The retention time of propylene glycol is about 2.5 min, and the relative retention times with reference to that of propylene glycol for betadex and hydroxypropyl betadex are about 4.2 and about 6, respectively. Hydroxypropyl Betadex elutes as a very wide peak or several peaks.]

Suitability requirements

Resolution: NLT 4 between betadex and propylene glycol, Standard solution A

Relative standard deviation: NMT 2.0%, Standard solution B

Analysis

Samples: Standard solution B and Sample solution

Acceptance criteria: Unresolv any peaks eluting before propylene glycol and after the hydroxypropyl betadex peak.

Betadex: NMT 1.5%; the area of the betadex peak in the sample solution is NMT the area of the corresponding peak from Standard solution B.

Propylene glycol: NMT 2.5%; the area of the propylene glycol peak in the sample solution is NMT the area of the corresponding peak from Standard solution B.

Any other single impurity: NMT 0.25%; the area from any other single impurity peak is NMT 0.1 times the area of propylene glycol in the chromatogram of Standard solution B.

Total impurities excluding betadex and propylene glycol: NMT 1%; the total area from all impurity peaks, excluding betadex and propylene glycol, is NMT 0.4 times the area of propylene glycol from Standard solution B.

NMT 0.25% in

Figure 2

5386 Hydroxypropyl / Official Monographs

NF 36

Disregard limit: 0.1%; disregard any peaks that are less than 0.04 times the area of propylene glycol from *Standard solution B*.

• Limit of Propylene Oxide

Ether stock solution: Add 75 µl of ether to 30 ml of dimethylacetamide in a 50-ml volumetric flask, dilute with dimethylacetamide to volume, and mix. This solution contains 1.0 mg/ml of ether.

Internal standard solution: Add 30 µl of ether stock solution to 70 ml of dimethylacetamide in a 100-ml volumetric flask, dilute with dimethylacetamide to volume, and mix.

Propylene oxide stock solution

[**Caution**—Propylene oxide is toxic and flammable. Prepare this solution in a well-ventilated fume hood.]

Add 30 ml of dimethylacetamide into a 50-ml volumetric flask. Weigh the flask and contents accurately, add 60 µl of propylene oxide (cooled in a refrigerator) into the flask with a 100-µl cooled microsyringe, weigh again, and calculate the weight of propylene oxide added, by difference. Dilute with dimethylacetamide to volume, and mix. This solution contains 1.0 mg/ml of propylene oxide.

[**Note**—Propylene oxide is a gas at room temperature. It is usually stored in a lecture-type gas cylinder or small metal pressure bomb. Chill the cylinder in a refrigerator before use. Transfer 5 ml of the liquid propylene oxide to a 100-ml beaker chilled in wet ice. Use a gas-tight syringe that has been chilled in a refrigerator.]

System suitability solution: Add 30 µl of ether stock solution and 20 µl of propylene oxide stock solution to 70 ml of dimethylacetamide in a 100-ml volumetric flask, dilute with dimethylacetamide to volume, and mix.

Standard stock solutions: Add 7 ml of dimethylacetamide into each of four 10-ml volumetric flasks. Transfer the following amounts of propylene oxide stock solution into each of the four flasks using a microsyringe, with one amount per flask: 40, 100, 200, and 400 µl. Dilute with dimethylacetamide to volume, and mix. The standard stock solutions contain about 4, 10, 20, and 40 µg/ml of propylene oxide, respectively.

Standard solutions: Into each of four 10-ml headspace vials, transfer 200 ± 5 mg of Hydroxypropyl Betadex, calculated on the dried basis. Pipet 1.0 ml of the internal standard solution into each vial, and close the vial with septum and cap. Into each of the vials add 10 µl of each of the standard stock solutions using a 10-µl syringe, respectively. Allow each vial to stand, and gently shake until the sample is dissolved. The standard solutions contain, respectively, about 0.04, 0.1, 0.2, and 0.4 µg/ml of propylene oxide.

Sample solution: Transfer 200 ± 5 mg of Hydroxypropyl Betadex, calculated on the dried basis, into a 10-ml headspace autosampler vial. Pipet 1.0 ml of the internal standard solution into the vial, and close the vial with a septum and cap. Add 10 µl of dimethylacetamide using a 10-µl syringe. Allow the vial to stand, and gently shake until the sample is dissolved.

Chromatographic system

(See Chromatography (621), System Suitability.)

Mode: GC with a balanced pressure automatic headspace sampler

Detector: Flame ionization

Column: 0.32-mm × 10-m fused-silica capillary coated with a 10-µm layer of stationary phase 33

Temperatures

Injection port: 120°

Detector: 250°

Column: See Table 1.

Table 1

Initial Temperature (°C)	Temperature Ramp (°/min)	Final Temperature (°C)	Hold Time at Final Temperature (min)
50	---	50	30
50	30	150	30
180	20	220	4

Transfer line: 120°

Carrier gas: Helium

Flow rate: 2 ml/min, corresponding to the linear velocity of 44 cm/s

Injection volume: 1.0 ml

Injection type: Split injection; the split ratio is 1:1.

System suitability

Sample: System suitability solution

[**Note**—The relative retention times for propylene oxide and ether are about 1.0 and 1.3, respectively.]

Suitability requirements

Resolution: NMT 2.0 between ether and propylene oxide

Analysis

Samplers: Standard solutions and sample solution

Separately place the vials containing the standard solutions and the sample solution in the automated sampler, and start the sequence so that the vial is heated at a temperature of 110° for 30 min before a suitable portion of its headspace is injected into the chromatograph.

Using a 2-ml gas syringe preheated in an oven at 110°, separately inject the headspace from each vial into the chromatograph. Chromatograph the standard solutions and the sample solution, record the chromatograms, and measure the area ratios of the peak responses of propylene oxide and ether.

Determine, based on a retention time comparison, whether propylene oxide is detected in the sample solution. Plot the area ratios of the peak responses of propylene oxide and ether of the sample solution and the standard solutions versus the content, in µg, of propylene oxide in each vial, as furnished by the standard stock solutions, draw the straight line best fitting the five points, and calculate the correlation coefficient for the line. [**Note**—The sample solution should be plotted as if it had a content of added propylene oxide equivalent to 0 µg.]

A suitable system is one that yields a line having a correlation coefficient of NLT 0.99. Extrapolate the line until it meets the content axis on the negative side. The distance between this point and the intersection of the axes represents the total amount, T_{10} , in µg, of propylene oxide in the sample solution.

Calculate the percentage of propylene oxide in the portion of sample taken:

$$\text{Result} = (T_{10}/W) \times 100$$

T_{10} = total amount of propylene oxide from the graph in the sample solution (µg)

W = weight of Hydroxypropyl Betadex taken to prepare the sample solution (mg)

Acceptance criteria: NMT 0.0001%

SPECIFIC TESTS

• Microbial Enumeration Tests (61) and Tests for Specified Microorganisms (62): The total aerobic microbial count does not exceed 10³ cfu/g, and the total combined molds and yeasts count does not exceed 10² cfu/g.



Figure 3

NF 36

Official Monographs / Hydroxypropyl 5387

- **Loss on Drying (731)**
 Sample: 1 g
 Analysis: Dry the Sample at 120° for 2 h.
 Acceptance criteria: NMT 10.0%.
- **Clarity of Solution**
 Sample: 1.0 g
 Analysis: Dissolve the Sample in 2.0 ml. of water, and heat.
 Acceptance criteria: The resulting solution is clear and remains transparent after cooling to room temperature.
- **Bacterial Endotoxins Test (85):** The level of bacterial endotoxins is such that the requirement under the relevant dosage form monograph(s) in which Hydroxypropyl Betadex is used can be met. Where the label states that Hydroxypropyl Betadex must be subjected to further processing during the preparation of injectable dosage forms, the level of bacterial endotoxins is such that the requirement under the relevant dosage form monograph(s) in which Hydroxypropyl Betadex is used can be met.
- **Sterility Tests (71):** Where the label states that Hydroxypropyl Betadex is sterile, it meets the requirements for Sterility tests (71) in the relevant dosage form monograph(s) in which Hydroxypropyl Betadex is used.
- **Conductivity**
 Sample solution: 100 mcg/ml. of Hydroxypropyl Betadex, calculated on the dried basis in previously boiled and cooled to room temperature water
 Apparatus: Use a conductivity meter or resistivity meter that measures the resistance of the column of liquid between the electrodes of the immersed measuring device. The apparatus is supplied with alternating current to avoid the effects of electrode polarization. It is equipped with a temperature compensation device or a precision thermometer.
 Standard solutions: Prepare three standard solutions of potassium chloride containing 0.7455, 0.0746, and 0.0149 g, respectively, of potassium chloride per 1000.0 g of solution. These solutions should be prepared using water, which has been previously boiled and cooled to room temperature and has conductivity that does not exceed 2 µS · cm⁻¹. The conductivity and resistivity of these three Standard solutions at 20° are given in Table 2.

Table 2

Concentration of Solution (g/1000.0 g)	Conductivity (µS · cm ⁻¹)	Resistivity (Ω · cm)
0.7455	1338	752
0.0746	133.0	7519
0.0149	26.6	37,594

Calibration

Samples: Standard solutions
 Choose a conductivity cell that is appropriate for the conductivity of the solution to be examined. The higher the expected conductivity, the higher the cell constant that must be chosen. Commonly used conductivity cells have cell constants on the order of 0.1, 1, and 10 cm⁻¹.
 Use a Standard solution of potassium chloride that is appropriate for the measurement. The conductivity value of the Standard solution of potassium chloride should be near the expected conductivity value of the Sample solution.
 Rinse the cell several times with water, which has been previously boiled and cooled to room temperature, and at least twice with the Standard solution (potassium chloride solution) used for the determination of the cell constant of the conductivity cell.

Measure the resistance of the conductivity cell using the Standard solution (potassium chloride solution) at 20 ± 0.1°.
 Calculate the constant of the conductivity cell, C (in cm⁻¹):

$$C = R_{01} \times K_{01}$$

R₀₁ :: measured resistance, expressed in mega-ohms
 K₀₁ :: conductivity of the Standard solution of potassium chloride used, expressed in µS · cm⁻¹

Calibration acceptance criteria: The measured constant, C, of the conductivity cell must be within 5% of the given value.

Analysis

Sample: Sample solution
 Rinse the conductivity cell several times with water, which has been previously boiled and cooled to room temperature, and at least twice with the Sample solution. Measure the conductivity of the Sample solution, while gently stirring with a magnetic stirrer.
Acceptance criteria: NMT 200 µS · cm⁻¹

ADDITIONAL REQUIREMENTS

- **PACKAGING AND STORAGE:** Preserve in well-closed containers. Store at room temperature.
- **LABELING:** Label it to indicate the molar substitution (MS). Where Hydroxypropyl Betadex is intended for use in the manufacture of injectable dosage forms, it is so labeled. Where Hydroxypropyl Betadex must be subjected to further processing during the preparation of injectable dosage forms to ensure acceptable levels of bacterial endotoxins, it is so labeled. Where Hydroxypropyl Betadex is sterile, it is so labeled.

Change to read:

- **USP REFERENCE STANDARDS (11)**
 USP Beta Cyclodextrin RS
 * as of May 2019
 USP Hydroxypropyl Betadex RS
 USP Propylene Glycol RS

Hydroxypropyl Cellulose

Portions of this monograph that are national USP text, and are not part of the harmonized text, are marked with symbols (•) to specify this fact.

Cellulose, 2-hydroxypropyl ether [9004-64-2].

DEFINITION

Hydroxypropyl Cellulose is partly O-(2-hydroxypropylated) cellulose. It contains NLT 33.4% and NMT 80.5% of hydroxypropoxy groups, calculated on the dried basis. It may contain suitable anti-caking agents, such as silica.

IDENTIFICATION

- **A. INFRARED ABSORPTION (197K):** [Note—Disregard any peak at about 1719 cm⁻¹.]
- **B.**
 Sample: 1 g of Hydroxypropyl Cellulose
 Analysis: Dissolve the Sample in 100-ml. of water. Transfer 1 ml. of this solution to a glass plate, and allow the water to evaporate.
 Acceptance criteria: A thin film is formed.

ASSAY

- **HYDROXYPROPOXY GROUPS**
 Internal standard solution: Methylcyclohexane in n-octylene (1 in 50)

NF Monographs

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR2019/051602

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C08B 37/16</i> (2006.01)i; <i>A61K 31/724</i> (2006.01)i; <i>A61K 47/40</i> (2006.01)i 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) C08B; 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, BIOSIS, CHEM ABS Data, COMPENDEX, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2015087017 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]) 18 June 2015 (2015-06-18) the whole document particularly : abstract ; page 4, line 20 - page 7, line 11 ; page 9, line 11 - page 10, line 2 ; page 21, line 32 - page 19, line 22 ; claims 1-25 ; figures 1-5 ; examples	1-5,7-11 6
X Y	WO 2015087016 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]) 18 June 2015 (2015-06-18) the whole document particularly : abstract ; page 4, line 30 - page 7, line 31 ; page 10, lines 5-30 ; page 19, line 15 - page 20, line 17 ; claims 1-28; figures 1-5 ; examples	1-5,7-11 6
X	WO 9641819 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]) 27 December 1996 (1996-12-27) the whole document particularly : abstract ; page 1, line 1 - page 5, line 13 ; claims 1-8 ; examples	1-11
X	WO 8502767 A1 (JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE]) 04 July 1985 (1985-07-04) particularly : abstract ; page 1, line 1 - page 5, line 25 ; claims 1-15 ; figures 1-4 ; examples	1-11
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 06 December 2019		Date of mailing of the international search report 13 December 2019
Name and mailing address of the ISA/EP European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer Ferreira, Roger Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR2019/051602

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0761217 A1 (CHAUVIN LAB SA [FR]) 12 March 1997 (1997-03-12) the whole document	1-11
A	WO 2006037769 A1 (UNIV LIEGE [BE]; CATALDO DIDIER [BE] ET AL.) 13 April 2006 (2006-04-13) the whole document	1-11
A	WO 2013004462 A1 (FOND ISTITUTO INSUBRICO DI RICERCA PER LA VITA [IT] ET AL.) 10 January 2013 (2013-01-10) the whole document	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/FR2019/051602

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2015087017	A1	18 June 2015	AU	2014363270	A1	19 May 2016
				BR	112016013481	A2	16 January 2018
				CA	2930489	A1	18 June 2015
				CN	105792833	A	20 July 2016
				CN	110123831	A	16 August 2019
				EP	3082831	A1	26 October 2016
				EP	3581188	A1	18 December 2019
				FR	3014694	A1	19 June 2015
				JP	6322289	B2	09 May 2018
				JP	2017500310	A	05 January 2017
				JP	2018123153	A	09 August 2018
				KR	20160088874	A	26 July 2016
				US	2016361344	A1	15 December 2016
				US	2018207198	A1	26 July 2018
				WO	2015087016	A1	18 June 2015
				WO	2015087017	A1	18 June 2015
				WO	2015087016	A1	18 June 2015
BR	112016013481	A2	16 January 2018				
CA	2930489	A1	18 June 2015				
CN	105792833	A	20 July 2016				
CN	110123831	A	16 August 2019				
EP	3082831	A1	26 October 2016				
EP	3581188	A1	18 December 2019				
FR	3014694	A1	19 June 2015				
JP	6322289	B2	09 May 2018				
JP	2017500310	A	05 January 2017				
JP	2018123153	A	09 August 2018				
KR	20160088874	A	26 July 2016				
US	2016361344	A1	15 December 2016				
US	2018207198	A1	26 July 2018				
WO	2015087016	A1	18 June 2015				
WO	2015087017	A1	18 June 2015				
WO	9641819	A1	27 December 1996				
				AU	693376	B2	25 June 1998
				CA	2178668	A1	09 December 1996
				DE	69610462	D1	02 November 2000
				DE	69610462	T2	10 May 2001
				DK	0747398	T3	27 December 2000
				EP	0747398	A1	11 December 1996
				ES	2151135	T3	16 December 2000
				FR	2735136	A1	13 December 1996
				GR	3034997	T3	30 March 2001
				HU	9700375	A2	28 May 1998
				JP	4317591	B2	19 August 2009
				JP	H10504351	A	28 April 1998
				KR	970704787	A	06 September 1997
				NO	310775	B1	27 August 2001
				PT	747398	E	30 March 2001
				US	5756484	A	26 May 1998
				WO	9641819	A1	27 December 1996

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/FR2019/051602

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
-----				ZA	9604612	B	04 June 1997
WO	8502767	A1	04 July 1985	AT	51145	T	15 April 1990
				AU	565966	B2	01 October 1987
				CA	1222697	A	09 June 1987
				CY	1689	A	14 January 1994
				DE	3346123	A1	27 June 1985
				DK	359585	A	07 August 1985
				EP	0149197	A2	24 July 1985
				FI	86140	B	15 April 1992
				HK	131293	A	03 December 1993
				HU	T40561	A	28 January 1987
				JP	H0570612	B2	05 October 1993
				JP	S61500788	A	24 April 1986
				LU	90283	I2	03 November 1998
				NL	980009	I1	06 May 1998
				SG	24893	G	06 August 1993
				WO	8502767	A1	04 July 1985
				ZA	8410042	B	25 September 1985
-----				AT	163851	T	15 March 1998
EP	0761217	A1	12 March 1997	CA	2183367	A1	07 March 1997
				DE	69600185	D1	16 April 1998
				DE	69600185	T2	16 July 1998
				DK	0761217	T3	28 September 1998
				EP	0761217	A1	12 March 1997
				ES	2116811	T3	16 July 1998
				FR	2738149	A1	07 March 1997
				JP	4028009	B2	26 December 2007
				JP	H09165334	A	24 June 1997
-----				AT	456955	T	15 February 2010
WO	2006037769	A1	13 April 2006	EP	1655034	A1	10 May 2006
				EP	1799231	A1	27 June 2007
				ES	2340511	T3	04 June 2010
				JP	4989481	B2	01 August 2012
				JP	2008515847	A	15 May 2008
				US	2009012041	A1	08 January 2009
				US	2011028432	A1	03 February 2011
				US	2012295872	A1	22 November 2012
				WO	2006037769	A1	13 April 2006
-----				CA	2835232	A1	10 January 2013
WO	2013004462	A1	10 January 2013	EP	2726106	A1	07 May 2014
				ES	2547920	T3	09 October 2015
				JP	2014518228	A	28 July 2014
				US	2014128343	A1	08 May 2014
				WO	2013004462	A1	10 January 2013

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2019/051602

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. C08B37/16 A61K31/724 A61K47/40 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) C08B 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, BIOSIS, CHEM ABS Data, COMPENDEX, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 2015/087017 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]) 18 juin 2015 (2015-06-18)	1-5,7-11
Y	le document en entier en particulier : abrégé ; page 4, ligne 20 - page 7, ligne 11 ; page 9, ligne 11 - page 10, ligne 2 ; page 21, ligne 32 - page 19, ligne 22 ; revendications 1-25 ; figures 1-5 ; exemples	6
X	WO 2015/087016 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]) 18 juin 2015 (2015-06-18)	1-5,7-11
Y	le document en entier en particulier : abrégé ; page 4, ligne 30 - page 7, ligne 31 ; page 10, lignes 5-30 ; page 19, ligne 15 - page 20, ligne 17 ; revendications 1-28; figures 1-5 ; exemples	6

-/--		
<input checked="" 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 6 décembre 2019		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 13/12/2019
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 Ferreira, Roger

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>WO 96/41819 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]) 27 décembre 1996 (1996-12-27) le document en entier en particulier : abrégé ; page 1, ligne 1 - page 5, ligne 13 ; revendications 1-8 ; exemples</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-11
X	<p>WO 85/02767 A1 (JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE]) 4 juillet 1985 (1985-07-04) en particulier : abrégé ; page 1, ligne 1 - page 5, ligne 25 ; revendications 1-15 ; figures 1-4 ; exemples</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-11
A	<p>EP 0 761 217 A1 (CHAUVIN LAB SA [FR]) 12 mars 1997 (1997-03-12) le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-11
A	<p>WO 2006/037769 A1 (UNIV LIEGE [BE]; CATALDO DIDIER [BE] ET AL.) 13 avril 2006 (2006-04-13) le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-11
A	<p>WO 2013/004462 A1 (FOND ISTITUTO INSUBRICO DI RICERCA PER LA VITA [IT] ET AL.) 10 janvier 2013 (2013-01-10) le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-11

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2019/051602

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2015087017	A1	18-06-2015	AU 2014363270	A1 19-05-2016
			BR 112016013481	A2 16-01-2018
			CA 2930489	A1 18-06-2015
			CN 105792833	A 20-07-2016
			CN 110123831	A 16-08-2019
			EP 3082831	A1 26-10-2016
			EP 3581188	A1 18-12-2019
			FR 3014694	A1 19-06-2015
			JP 6322289	B2 09-05-2018
			JP 2017500310	A 05-01-2017
			JP 2018123153	A 09-08-2018
			KR 20160088874	A 26-07-2016
			US 2016361344	A1 15-12-2016
			US 2018207198	A1 26-07-2018
			WO 2015087016	A1 18-06-2015
			WO 2015087017	A1 18-06-2015
WO 2015087016	A1	18-06-2015	AU 2014363270	A1 19-05-2016
			BR 112016013481	A2 16-01-2018
			CA 2930489	A1 18-06-2015
			CN 105792833	A 20-07-2016
			CN 110123831	A 16-08-2019
			EP 3082831	A1 26-10-2016
			EP 3581188	A1 18-12-2019
			FR 3014694	A1 19-06-2015
			JP 6322289	B2 09-05-2018
			JP 2017500310	A 05-01-2017
			JP 2018123153	A 09-08-2018
			KR 20160088874	A 26-07-2016
			US 2016361344	A1 15-12-2016
			US 2018207198	A1 26-07-2018
			WO 2015087016	A1 18-06-2015
			WO 2015087017	A1 18-06-2015
WO 9641819	A1	27-12-1996	AT 196639	T 15-10-2000
			AU 693376	B2 25-06-1998
			CA 2178668	A1 09-12-1996
			DE 69610462	D1 02-11-2000
			DE 69610462	T2 10-05-2001
			DK 0747398	T3 27-12-2000
			EP 0747398	A1 11-12-1996
			ES 2151135	T3 16-12-2000
			FR 2735136	A1 13-12-1996
			GR 3034997	T3 30-03-2001
			HU 9700375	A2 28-05-1998
			JP 4317591	B2 19-08-2009
			JP H10504351	A 28-04-1998
			KR 970704787	A 06-09-1997
			NO 310775	B1 27-08-2001
			PT 747398	E 30-03-2001
			US 5756484	A 26-05-1998
			WO 9641819	A1 27-12-1996
			ZA 9604612	B 04-06-1997
WO 8502767	A1	04-07-1985	AT 51145	T 15-04-1990
			AU 565966	B2 01-10-1987
			CA 1222697	A 09-06-1987
			CY 1689	A 14-01-1994

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2019/051602

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
		DE 3346123 A1	27-06-1985
		DK 359585 A	07-08-1985
		EP 0149197 A2	24-07-1985
		FI 86140 B	15-04-1992
		HK 131293 A	03-12-1993
		HU T40561 A	28-01-1987
		JP H0570612 B2	05-10-1993
		JP S61500788 A	24-04-1986
		LU 90283 I2	03-11-1998
		NL 980009 I1	06-05-1998
		SG 24893 G	06-08-1993
		WO 8502767 A1	04-07-1985
		ZA 8410042 B	25-09-1985

EP 0761217	A1	12-03-1997	
		AT 163851 T	15-03-1998
		CA 2183367 A1	07-03-1997
		DE 69600185 D1	16-04-1998
		DE 69600185 T2	16-07-1998
		DK 0761217 T3	28-09-1998
		EP 0761217 A1	12-03-1997
		ES 2116811 T3	16-07-1998
		FR 2738149 A1	07-03-1997
		JP 4028009 B2	26-12-2007
		JP H09165334 A	24-06-1997

WO 2006037769	A1	13-04-2006	
		AT 456955 T	15-02-2010
		EP 1655034 A1	10-05-2006
		EP 1799231 A1	27-06-2007
		ES 2340511 T3	04-06-2010
		JP 4989481 B2	01-08-2012
		JP 2008515847 A	15-05-2008
		US 2009012041 A1	08-01-2009
		US 2011028432 A1	03-02-2011
		US 2012295872 A1	22-11-2012
		WO 2006037769 A1	13-04-2006

WO 2013004462	A1	10-01-2013	
		CA 2835232 A1	10-01-2013
		EP 2726106 A1	07-05-2014
		ES 2547920 T3	09-10-2015
		JP 2014518228 A	28-07-2014
		US 2014128343 A1	08-05-2014
		WO 2013004462 A1	10-01-2013
