

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

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
15 novembre 2012 (15.11.2012)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2012/153070 A1

(51) Classification internationale des brevets :
C08B 37/00 (2006.01) A61K 47/36 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2012/051039

(22) Date de dépôt international :
10 mai 2012 (10.05.2012)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
1154039 10 mai 2011 (10.05.2011) FR
61/484,461 10 mai 2011 (10.05.2011) US
1158885 30 septembre 2011 (30.09.2011) FR
61/541,606 30 septembre 2011 (30.09.2011) US
13/287,793 2 novembre 2011 (02.11.2011) US

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **ADOCIA** [FR/FR]; 115 Avenue Lacassagne, F-69003 Lyon (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **CHARVET, Richard** [FR/FR]; 19 Rue de la Bièvre, F-69140 Rillieux La Pape (FR). **SOULA, Rémi** [FR/FR]; 38 Rue du Bon Pasteur, F-69001 Lyon (FR). **SOULA, Olivier** [FR/FR]; 115 Avenue du Carreau, F-69330 Meyzieu (FR).

(74) Mandataire : **CABINET INES TRIPOS**; 52 Rue du Colombier, F-69007 Lyon (FR).

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

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

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

(54) Title : FUNCTIONALISED OLIGOSACCHARIDES

(54) Titre : OLIGOSACCHARIDES FONCTIONNALISÉS

(57) Abstract : The invention relates to an oligodextran selected from among dextrans having an average degree of polymerisation of less than 10, modified by at least one substituent having general formula (I): $-R_1-[[AA]-[R_2]_n]_m$. The invention also relates to a pharmaceutical composition characterised in that it comprises an oligosaccharide according to the invention and an active principle is selected from the group containing proteins, glycoproteins, peptides and non-peptide therapeutic molecules.

(57) Abrégé : L'invention concerne un Oligodextrane, choisi parmi les dextrans dont le degré de polymérisation moyen est inférieur à 10, modifié par au moins un substituant de formule générale (I) : $-R_1-[[AA]-[R_2]_n]_m$ Elle concerne également une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend un oligosaccharide selon l'invention et un principe actif est choisi dans le groupe constitué par les protéines, les glycoprotéines, les peptides et les molécules thérapeutiques non-peptidiques.



WO 2012/153070 A1

5

Oligosaccharides fonctionnalisés

10 [0001] La présente invention concerne des oligosaccharides anioniques destinés à un usage thérapeutique et/ou prophylactique, pour l'administration de principe(s) actif(s) aux hommes ou aux animaux.

15 [0002] Les oligosaccharides selon l'invention comportant des groupes carboxyles présentent, du fait de leur structure et de leur biocompatibilité, un intérêt certain pour l'industrie pharmaceutique, notamment pour la stabilisation de principes actifs par exemple protéiques.

[0003] De façon surprenante et malgré la réduction de la longueur de la chaîne macromoléculaire les oligosaccharides selon l'invention conservent la propriété de créer des interactions avec des principes actifs, protéiques par exemple.

20 [0004] D'autre part la fonctionnalisation de ces oligosaccharides par des groupements carboxyles permet avantageusement de moduler les forces d'interaction mises en jeu entre l'oligosaccharide et le principe actif.

[0005] La présente invention vise à proposer des oligosaccharides, destinés à la stabilisation, l'administration et la délivrance de principes actifs, pouvant être préparés par des méthodes relativement simples à mettre en œuvre. La présente invention a ainsi vocation à proposer des oligosaccharides aptes à permettre la stabilisation, l'administration et la délivrance de principes actifs d'une grande diversité.

[0006] La présente invention vise également à obtenir des oligosaccharides avec un degré de fonctionnalisation en groupements anioniques pouvant aller au-delà de deux groupements carboxylates par unité saccharidique.

30 [0007] L'invention vise aussi l'obtention d'oligosaccharides pouvant présenter une biodégradabilité suffisamment rapide et appropriée à leur utilisation dans la préparation d'une large catégorie de formulations pharmaceutiques, y compris pour des médicaments destinés à une administration chronique et/ou de fréquence élevée. Outre l'exigence d'une biodégradabilité modulable après administration, l'invention
35 vise à proposer des oligosaccharides répondant aux contraintes établies par l'industrie pharmaceutique, notamment en termes de stabilité dans les conditions normales de conservation et de stockage et notamment en solution.

5

[0008] La présente invention concerne un oligodextrans, choisi parmi les dextrans dont le degré de polymérisation moyen est inférieur à 10, modifiés par :

- au moins un substituant de formule générale I :

10



les substituants étant identiques ou différents lorsqu'il y a au moins deux substituants, dans lequel :

15

- le radical $-[AA]-$ désigne un résidu d'acide aminé fixé sur le squelette du dextrane par l'intermédiaire d'un bras de liaison $-R_1-$, et portant éventuellement un radical $-[R_2]_n$

20

- le bras de liaison $-R_1-$ est une chaîne carbonée en C1 à C15, éventuellement substituée et/ou comportant au moins un hétéroatome (tels que O, N et S) et éventuellement une fonction acide carboxylique; il forme avec le résidu d'acide aminé $[AA]$ une liaison amide, et est directement fixé sur le squelette du dextrane par une liaison de type ester, carbamate ou éther

- le radical $-R_2$ est une chaîne carbonée en C1 à C18, éventuellement substituée,

25

- n étant 0, 1 ou 2,
- m étant 1 ou 2,
- le degré de substitution j, en $-R_1-[[AA]-[R_2]_n]_m$ lorsque $m > 0$ étant compris entre 0,01 et 2,9, et,

30

et, éventuellement,

- un ou plusieurs substituants de même formule générale I, dans laquelle $m = 0$
 - $-R_1$ est une chaîne carbonée en C1 à C15, éventuellement substituée et/ou comportant au moins un hétéroatome (tels que O, N et S) et au moins une fonction acide carboxylique

35

- le degré de substitution i, en $-R_1$ étant compris entre 0,1 et 3.

et,

- lorsque m ou n est égal à 0 alors les fonctions salifiables libres sont sous forme de sels de cations alcalins,

40

- $i+j \leq 3$.

5

[0009] Dans un mode de réalisation, l'oligodextrane est choisi parmi les dextrans modifiés par :

- au moins un substituant de formule générale I :

10



Formule I

les substituants étant identiques ou différents lorsqu'il y a au moins deux substituants, dans lequel :

15

- le radical $-[AA]-$ désigne un résidu d'acide aminé fixé sur le squelette du dextrane par l'intermédiaire d'un bras de liaison $-R_1-$, et portant éventuellement un radical $-[R_2]_n$

20

- le bras de liaison $-R_1-$ est une chaîne carbonée en C1 à C15, éventuellement substituée et/ou comportant au moins un hétéroatome (tels que O, N et S) et éventuellement une fonction acide carboxylique; il forme avec le résidu d'acide aminé [AA] une liaison amide, et est directement fixé sur le squelette du dextrane par une liaison de type ester, carbamate ou éther

- Le radical $-R_2$ est une chaîne carbonée en C1 à C18, éventuellement substituée,

25

- n étant 0, 1 ou 2,

- m étant 1 ou 2,

- le degré de substitution j, en $-R_1-[[AA]-[R_2]_n]_m$ lorsque $m > 0$ étant compris entre 0,01 et 2,9, et,

et, éventuellement,

30

- un ou plusieurs substituants $-R'_1-$ qui est une chaîne carbonée en C1 à C15, éventuellement substituée et/ou comportant au moins un hétéroatome (tels que O, N et S) et au moins une fonction acide sous forme de sel de cations alcalins et est directement fixé sur le squelette du dextrane par une liaison de type ester, carbamate ou éther

35

- le degré de substitution i, en $-R'_1-$, étant compris entre 0,1 et 3, et,

- $-R'_1-$ identique ou différent de $-R_1-$, .

et,

- lorsque n est égal à 0 alors les fonctions salifiables libres sont sous forme de sels de cations alcalins, et

- $i+j \leq 3$.

40

[00010] On entend par hétéroatomes, un atome d'oxygène, d'azote ou de soufre.

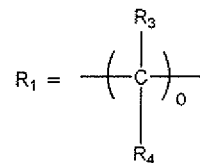
5 [00011] Dans un mode de réalisation, le bras de liaison -R₁-forme avec le résidu d'acide aminé [AA] une liaison amide, et est directement fixé sur le squelette du dextrane par une liaison éther.

[00012] Dans un mode de réalisation, le bras de liaison -R₁-forme avec le résidu d'acide aminé [AA] une liaison amide, et est directement fixé sur le squelette du
10 dextrane par une liaison carbamate.

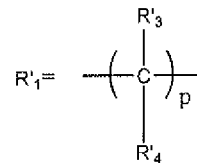
[00013] Dans un mode de réalisation, les bras de liaison -R₁- et -R'₁- sont identiques.

[00014] Dans un mode de réalisation, les bras de liaison -R₁- et -R'₁- sont différents.
15

[00015] Dans un mode de réalisation, les bras de liaison -R₁- et -R'₁- sont choisis parmi les radicaux de formules II et III



Formule II



Formule III,

20

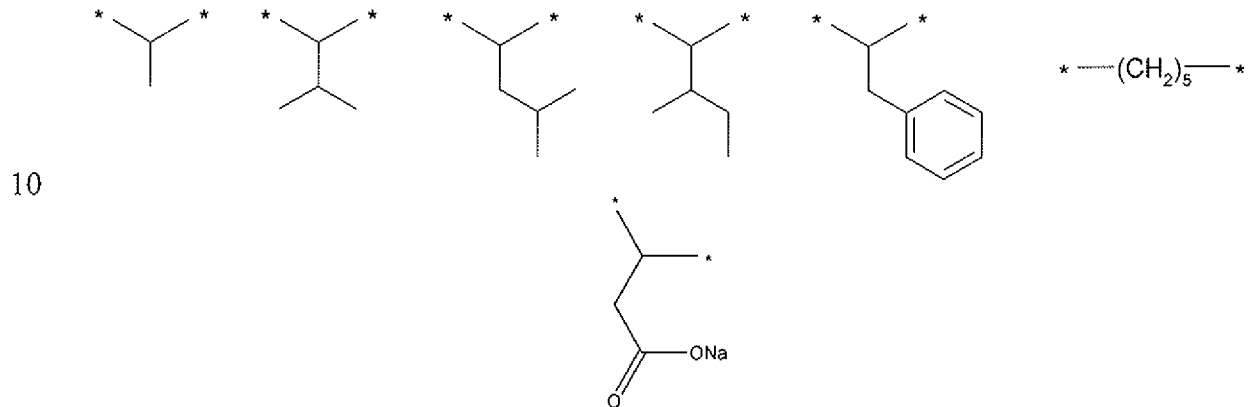
dans lesquelles :

- o et p identiques ou différents, supérieurs ou égaux à 1 et inférieurs ou égaux à 12, et
- R₃ et R₄ identiques ou différents sont choisis dans le groupe constitué par
25 un atome d'hydrogène, un alkyle saturé ou insaturé, linéaire, ramifié ou cyclique en C1 à C6, un benzyle, un alkyle-aryle et comportant éventuellement des hétéroatomes choisis dans le groupe constitué par O, N et/ou S, ou des fonctions choisies dans le groupe constitué par les fonctions acide carboxylique, amine, alcool ou thiol,
- R'₃ et R'₄ identiques ou différents sont choisis dans le groupe constitué
30 par un atome d'hydrogène, un alkyle saturé ou insaturé, linéaire, ramifié ou cyclique en C1 à C6, un benzyle, un alkyle-aryle et comportant éventuellement des hétéroatomes choisis dans le groupe constitué par O, N et/ou S, ou des fonctions choisies dans le groupe
35 constitué par les fonctions acide carboxylique, amine, alcool ou thiol.

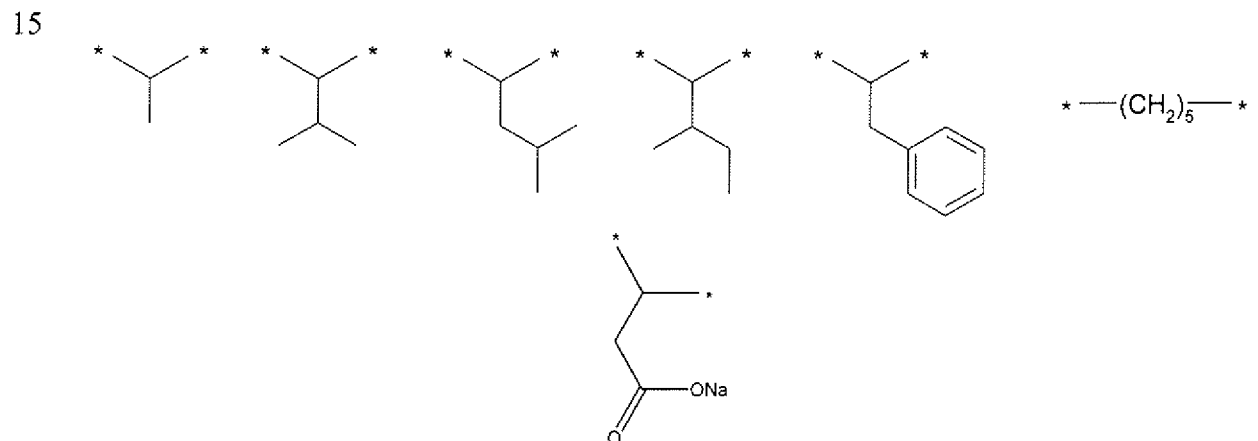
[00016] Dans un mode de réalisation, l'oligosaccharide est caractérisé en ce que le radical -R'₁- est -CH₂-.

5 [00017] Dans un mode de réalisation, l'oligosaccharide est caractérisé en ce que le radical -R1- est -CH2-.

[00018] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est caractérisé en ce que le radical -R'1- est choisi dans le groupe constitué par les radicaux suivants :



[00019] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est caractérisé en ce que le radical -R1- est choisi dans le groupe constitué par les radicaux suivants :



20 [00020] Dans un mode de réalisation, l'oligosaccharide est choisi parmi les oligodextranes.

[00021] Dans un mode de réalisation, l'oligodextrane a une masse molaire moyenne en nombre inférieure à 2000 g/mol.

[00022] Dans un mode de réalisation au moins 50% de la population d'oligosaccharide a un degré de polymérisation inférieur à 10.

25 [00023] Les cations sont choisis parmi les cations alcalins, comme Na⁺ ou K⁺.

[00024] Dans un mode de réalisation, les acides aminés sont choisis parmi les alpha acides aminés.

- 5 [00025] Dans un mode de réalisation, les alpha acides aminés sont choisis parmi les alpha acides aminés naturels.
- [00026] Dans un mode de réalisation, les alpha acides aminés naturels sont choisis parmi les acides aminés hydrophobes choisis dans le groupe comprenant le tryptophane, la leucine, l'alanine, l'iso-leucine, la glycine, la phénylalanine, la valine.
- 10 Dans un mode de réalisation, les alpha acides aminés naturels sont choisis parmi les acides aminés polaires choisis dans le groupe comprenant l'acide aspartique, l'acide glutamique, la lysine, la sérine.
- 15 [00027] Dans un mode de réalisation, l'oligosaccharide est caractérisé en ce que le radical $-R_2$ est un radical benzyle.
- [00028] Dans un mode de réalisation, l'oligosaccharide est caractérisé en ce que le radical $-R_2$ est issu d'un alcool hydrophobe.
- [00029] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools
- 20 constitués d'une chaîne alkyle insaturée et/ou saturée, ramifiée ou non ramifiée, comprenant de 4 à 18 carbones.
- [00030] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools constitués d'une chaîne alkyle insaturée et/ou saturée, ramifiée ou non ramifiée, comprenant de 6 à 18 carbones.
- 25 [00031] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools constitués d'une chaîne alkyle insaturée et/ou saturée, ramifiée ou non ramifiée, comprenant de 8 à 16 carbones.
- [00032] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est l'octanol.
- [00033] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est le 2-éthylbutanol.
- 30 [00034] Dans un mode de réalisation, l'alcool gras est choisi parmi le méristyl, le cétyl, le stéaryl, le cétéaryl, le butyl, l'oléyl, la lanoline.
- [00035] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi dans le groupe constitué par le cholestérol et ses dérivés.
- [00036] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est le cholestérol.
- 35 [00037] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les dérivés du menthol.
- [00038] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est le menthol sous sa forme racémique.
- [00039] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est l'isomère D du menthol.
- 40 [00040] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est l'isomère L du menthol.
- [00041] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les tocophérols.

- 5 [00042] Dans un mode de réalisation, le tocophérol est l'alpha tocophérol.
[00043] Dans un mode de réalisation, l'alpha tocophérol est le racémique de l'alpha tocophérol.
[00044] Dans un mode de réalisation, le tocophérol est l'isomère D de l'alpha tocophérol.
- 10 [00045] Dans un mode de réalisation, le tocophérol est l'isomère L de l'alpha tocophérol.
[00046] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools porteurs de groupe aryle.
[00047] Dans un mode de réalisation, l'alcool porteur de groupe aryle est choisi dans
- 15 le groupe constitué par l'alcool benzylique et l'alcool phenéthylique.
- [00048] Dans un mode de réalisation, l'oligosaccharide est caractérisé en ce que le radical $-R_2$ est issu d'un acide hydrophobe.
- [00049] Dans un mode de réalisation, l'acide hydrophobe est choisi parmi les acides
- 20 gras.
[00050] Dans un mode de réalisation, les acides gras sont choisis dans le groupe constitué par les acides constitués d'une chaîne alkyle insaturée ou saturée, ramifiée ou non ramifiée, comprenant de 6 à 50 carbones.
- [00051] Dans un mode de réalisation, les acides gras sont choisis dans le groupe
- 25 constitué par les acides gras linéaires.
[00052] Dans un mode de réalisation, les acides gras linéaires sont choisis dans le groupe constitué par l'acide caproïque, l'acide oenanthique, l'acide caprylique, l'acide caprique, l'acide nonanoïque, l'acide décanoïque, l'acide undécanoïque, l'acide dodécanoïque, l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide arachidique, l'acide
- 30 béhénique, l'acide tricosanoïque, l'acide lignocérique, l'acide heptacosanoïque, l'acide octacosanoïque et l'acide mélissique.
- [00053] Dans un mode de réalisation, les acides gras sont choisis dans le groupe constitué par les acides gras insaturés.
- [00054] Dans un mode de réalisation, les acides gras insaturés sont choisis dans le
- 35 groupe constitué par l'acide myristoléique, l'acide palmitoléique, l'acide oléique, l'acide élaidique, l'acide linoléique, l'acide alpha-linoléique, l'acide arachidonique, l'acide eicosapentaénoïque, l'acide erucique et l'acide docosahexaénoïque.
- [00055] Dans un mode de réalisation, les acides gras sont choisis dans le groupe constitué par les acides de la bile et leurs dérivés.
- 40 [00056] Dans un mode de réalisation, les acides de la bile et leurs dérivés sont choisis dans le groupe constitué par l'acide cholique, l'acide déhydrocholique, l'acide désoxycholique et l'acide chénodésoxycholique.

5

[00057] Dans un mode de réalisation, $0,1 \leq i \leq 3$

[00058] Dans un mode de réalisation, $0,5 \leq i \leq 2,5$

[00059] Dans un mode de réalisation, $0,7 \leq i \leq 2$

[00060] Dans un mode de réalisation, $0,9 \leq i \leq 1,7$

10

[00061] Dans un mode de réalisation, $0,01 \leq j \leq 2,9$

[00062] Dans un mode de réalisation, $0,02 \leq j \leq 2$

[00063] Dans un mode de réalisation, $0,03 \leq j \leq 1,2$

[00064] Dans un mode de réalisation, $0,04 \leq j \leq 0,7$

15

[00065] L'oligosaccharide selon l'invention, a un degré moyen de polymérisation compris entre 2 et 10.

[00066] Dans un mode de réalisation, il a un degré moyen de polymérisation compris entre 2 et 8.

20 [00067] Dans un autre mode de réalisation, il a un degré moyen de polymérisation compris entre 3 et 6.

[00068] On entend par anionique un oligosaccharide qui contient des fonctions carboxyles non fonctionnalisées et salifiables.

25 [00069] On entend par degré de polymérisation DP le nombre moyen d'unités répétitives (monomères) par chaîne de polymère. Il se calcule en divisant la masse molaire moyenne en nombre par la masse moyenne du motif répété.

[00070] On entend par masse molaire moyenne en nombre (M_n) la moyenne arithmétique des masses de chacune des chaînes de polymère. Ainsi pour un nombre n_i de chaînes i de masse molaire M_i , on a $M_n = (\sum n_i M_i) / (\sum n_i)$.

[00071] La masse molaire moyenne en poids (M_w) est obtenue par $M_w = (\sum n_i M_i^2) / (\sum n_i M_i)$, n_i étant le nombre de chaînes de polymère i de masse molaire M_i .

30 [00072] Les polymères peuvent également être caractérisés par la distribution de longueurs de chaînes, aussi appelée indice de polydispersité (I_p), et est égal au M_w divisé par le M_n .

[00073] Dans un mode de réalisation l'invention concerne un oligosaccharide choisi dans le groupe constitué par les oligosaccharides suivants :

- dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.03)Asp(OC₁₂)₂(0.07)]

40

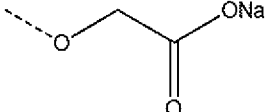
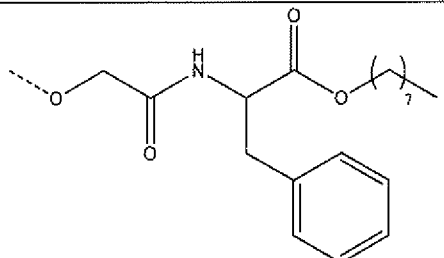
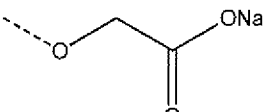
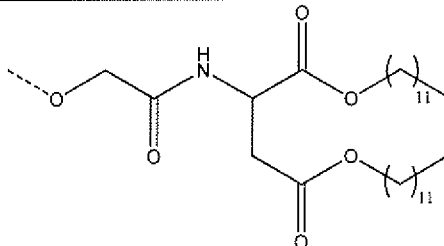
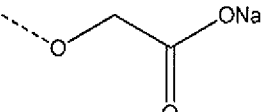
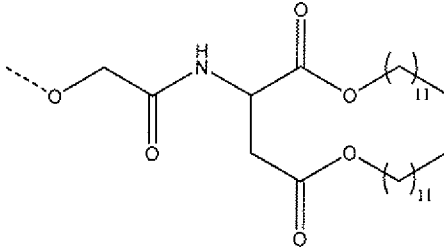
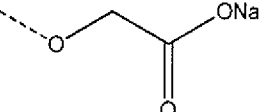
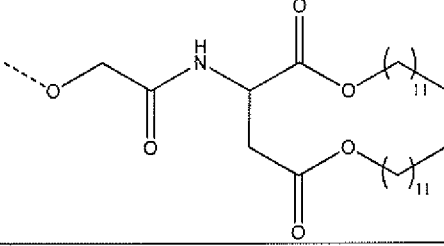
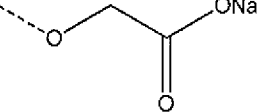
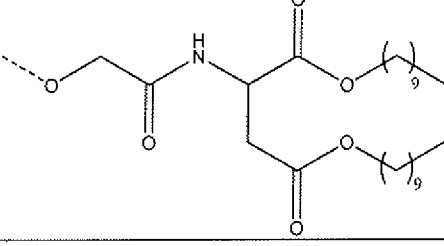
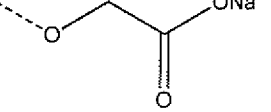
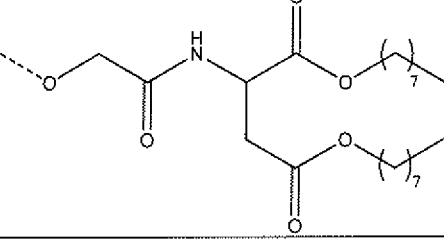
- 5
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.65)Asp(OC₁₂)₂(0.07)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.65)Asp(OC₁₂)₂(0.15)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de didécyle
- 10
 - [1DMC(1.03)Asp(OC₁₀)₂(0.05)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dioctyle [1DMC(1.03)Asp(OC₈)₂(0.07)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de β-benzyle [1DMC(1.65)Asp(OBzl)OH(0.6)]
- 15
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le tryptophane [1DMC(1.65)Trp(1.0)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le phénylalaninate d'octyle [1DMC(1.03)PheOC₈(0.2)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le tryptophane
- 20
 - [1DMC(2.1)Trp(1.3)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par la phénylalanine [1DMC(1.65)Phe(0.65)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par la phénylalanine [1DMC(2.1)Phe(1.0)]
- 25
 - N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate modifié par la L-Phénylalanine [1DUGly(1.65)Phe(0.65)]
 - N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate modifié par le tryptophane [1DUGly(1.65)Trp(1.0)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le leucinate de
- 30
 - cholestéryle [1DMC(1.65)LeuChol(0.05)]
 - dextrane modifié par le L-aspartate de L-phenylalaninate de sodium carbamate [1DUAspPhe(1.0)]

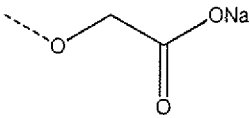
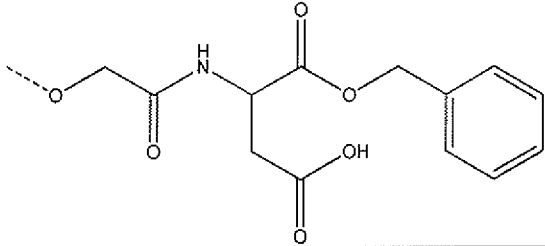
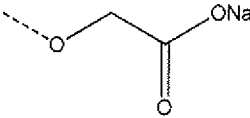
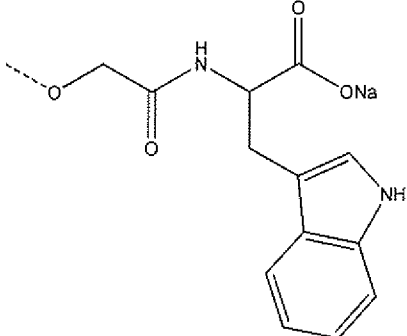
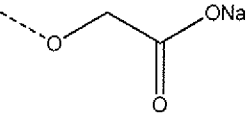
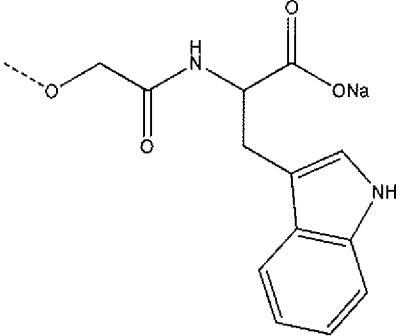
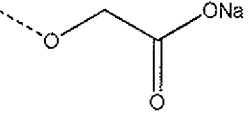
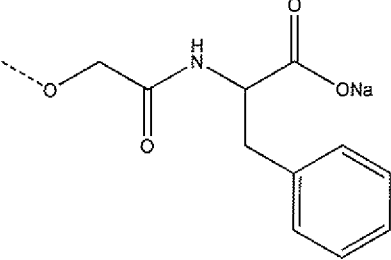
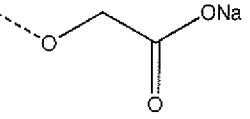
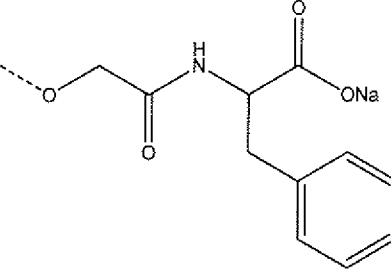
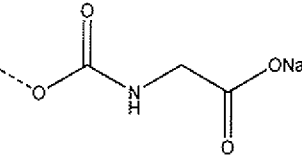
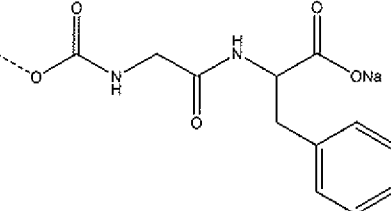
- [00074] L'invention concerne également l'utilisation des oligosaccharides
- 35 fonctionnalisés selon l'invention pour la préparation de compositions pharmaceutiques.
- [00075] L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant l'un des oligosaccharides selon l'invention tel que décrit précédemment et au moins un principe actif.
- [00076] L'invention concerne également une composition pharmaceutique caractérisée
- 40 en ce que le principe actif est choisi dans le groupe constitué par les protéines, les glycoprotéines, les peptides et les molécules thérapeutiques non-peptidiques.

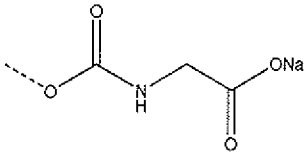
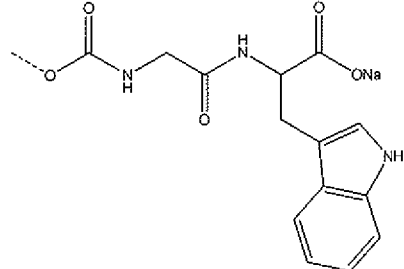
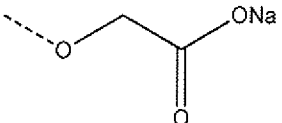
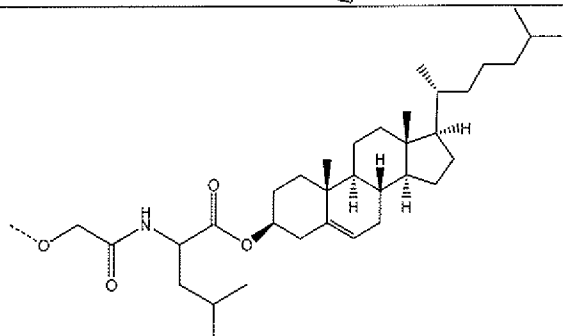
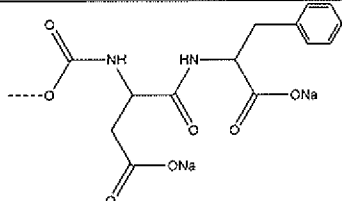
- 5 [00077] On entend par principe actif un produit sous forme d'entité chimique unique et/ou sous forme d'une combinaison ayant une activité physiologique. Ledit principe actif peut être exogène c'est-à-dire qu'il est apporté par la composition selon l'invention. Il peut également être endogène, par exemple les facteurs de croissance qui vont être sécrétés dans une plaie pendant la première phase de cicatrisation et qui
- 10 pourront être retenus sur ladite plaie par la composition selon l'invention.
- [00078] Selon les pathologies visées elle est destinée à un traitement local et/ou systémique.
- [00079] Dans le cas des libérations locale et systémique, les modes d'administration envisagés sont par voie intraveineuse, sous-cutanée, intradermique, transdermique,
- 15 intramusculaire, orale, nasale, vaginale, oculaire, buccale, pulmonaire etc.
- [00080] Les compositions pharmaceutiques selon l'invention sont soit sous forme liquide, en solution aqueuse, soit sous forme de poudre, d'implant ou de film. Elles comportent en outre les excipients pharmaceutiques classiques bien connus de l'homme de l'art.
- 20 [00081] En fonction des pathologies et des modes d'administration les compositions pharmaceutiques pourront avantageusement comporter, en outre, des excipients permettant de les formuler sous forme de gel, d'éponge, de solution injectable, de solution buvable, de lyoc etc.
- [00082] L'invention concerne également une composition pharmaceutique,
- 25 caractérisée en ce qu'elle est administrable sous forme de stent, de film ou « coating » de biomatériaux implantables, d'implant.

5

Exemples

Oligosac- -charide	Substituant -R ₁ -COONa (m = 0)	Substituant -R ₁ -[[AA]-[R ₂] _n] _m
OS1.		
OS2		
OS3		
OS4		
OS5		
OS6		

OS7		
OS8		
OS9		
OS10		
OS11		
OS12		

OS13		
OS14		
OS15		

5

Tableau 1 : Oligosaccharides

Oligosaccharide 1 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le phénylalaninate d'octyle [1DMC(1.03)PheOC₈(0.2)]

10 [00083] Le phénylalaninate d'octyle, sel d'acide paratoluènesulfonique est préparé à partir d'octanol et de phénylalanine selon le procédé décrit dans le brevet US 4,826,818 (Kenji M., et al.).

[00084] 8 g (148 mmol de fonctions hydroxyles) de dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9), sont dissouts dans l'eau (420 g/L). A cette solution sont ajoutés 15 mL de NaOH 10 N (48 mmol). Le mélange est chauffé à 35°C, et 23 g de chloroacétate de sodium (198 mmol) sont ajoutés. Le mélange est progressivement porté à une température de 60°C et est maintenu à cette température pendant 100 minutes supplémentaires. Le mélange est dilué avec de l'eau, neutralisé par l'acide acétique puis purifié par
15
20 ultrafiltration sur membrane PES de 1 kDa contre de l'eau. La concentration en oligosaccharide de la solution finale est déterminée par extrait sec, puis un dosage acide/base dans un mélange eau/acétone 50 / 50 (V/V) est effectué pour déterminer le degré de substitution en méthylcarboxylate.

[00085] D'après l'extrait sec : [oligosaccharide] = 31,5 mg/g

5 [00086] D'après le dosage acide/base, le degré de substitution en méthylcarboxylate est de 1,03 par unité glucosidique. Ce dextraneméthylcarboxylate de sodium est lyophilisé pendant 18 heures.

[00087] La solution de dextraneméthylcarboxylate de sodium est acidifiée sur une résine Purolite (anionique) pour obtenir le dextraneméthylcarboxylique acide qui est
10 ensuite lyophilisé pendant 18 heures.

[00088] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide (46 mmol de fonctions méthylcarboxylique acide) sont solubilisés dans le DMF (23 g/L) puis refroidis à 0°C. Un mélange de phénylalaninate d'octyle, sel d'acide paratoluènesulfonique (4,0 g ; 9 mmol) dans du DMF est préparé (100 g/L). 0,9 g de triéthylamine (9 mmol) sont
15 ajoutés au mélange. Une fois la solution d'oligosaccharide à 0°C, une solution de NMM (5,2 g, 51 mmol) et de EtOCOCl (5,6 g ; 51 mmol) est rajoutée. Après 10 minutes, la solution de phénylalaninate d'octyle est ajoutée et le mélange est agité à 10°C. Le mélange est ensuite chauffé à 50°C. 70 mL d'une solution aqueuse d'imidazole (150 g/L) et 120 mL d'eau sont ajoutés. La solution ainsi obtenue est purifiée par
20 ultrafiltration sur membrane PES de 1 kDa contre NaCl 0,9%, NaOH 0,01N, NaCl 0,9% et de l'eau. La concentration en oligosaccharide de la solution finale est déterminée par extrait sec. Un échantillon de solution est lyophilisé et analysé par RMN ¹H dans D₂O pour déterminer le degré de substitution en méthylcarboxylates greffés par le phénylalaninate d'octyle.

25 [00089] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 1] = 11,1 mg/g

[00090] D'après la RMN ¹H : le degré de substitution en méthylcarboxylates greffés par le phénylalaninate d'octyle est de 0,2.

Oligosaccharide 2 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par
30 l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.03)Asp(OC₁₂)₂(0.07)]

[00091] L'aspartate de dilauryle, sel d'acide paratoluènesulfonique est préparé à partir de dodécanol et d'acide aspartique selon le procédé décrit dans le brevet US 4,826,818 (Kenji M., et al.).

35 [00092] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,03 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9), selon un procédé similaire à celui décrit pour l'oligosaccharide 1, puis lyophilisés.

40 [00093] Par un procédé similaire à celui utilisé pour la préparation de l'oligosaccharide 1, un sodium méthylcarboxylate dextrane fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle est obtenu.

- 5 [00094] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 2] = 12,3 mg/g
[00095] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par l'aspartate de dilauryle est de 0,07.

- Oligosaccharide 3 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par
10 l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.65)Asp(OC₁₂)₂(0.07)]

- [00096] 10 g de dextraneméthylcarboxylate de sodium caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,03 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol
15 (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9), selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 1, puis lyophilisés.

- [00097] 8 g (64 mmol of hydroxyl functions) dextraneméthylcarboxylate de sodium caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,03 par unité glucosidique sont solubilisés dans de l'eau (1000 g/L). 6 mL de NaOH 10 N (64 mmol)
20 sont ajoutés. Le mélange est chauffé à 35°C, et 7,6 g de chloroacétate de sodium (65 mmol) sont ajoutés. Le mélange est progressivement porté à une température de 60°C, et est maintenu à cette température pendant 100 minutes supplémentaires. Le mélange est dilué avec de l'eau, neutralisé par l'acide acétique puis purifié par ultrafiltration sur membrane PES de 1 kDa contre de l'eau. La concentration en
25 oligosaccharide de la solution finale est déterminée par extrait sec, puis un dosage acide/base dans un mélange eau/acétone 50 / 50 (V/V) est effectué pour déterminer le degré de substitution en méthylcarboxylate.

- [00098] D'après l'extrait sec : [oligosaccharide] = 45,8 mg/g
[00099] D'après le dosage acide/base, le degré de substitution en méthylcarboxylate
30 est de 1,65 par unité glucosidique.

- [000100] La solution de dextraneméthylcarboxylate de sodium est passée sur une résine Purolite (anionique) pour obtenir le dextraneméthylcarboxylique acide qui est ensuite lyophilisé pendant 18 heures.

- [000101] L'Oligosaccharide 3 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle préparé selon un procédé similaire à celui
35 décrit pour l'Oligosaccharide 2.

[000102] Extrait sec : [Oligosaccharide 3] = 17,5 mg/g

- [000103] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par l'aspartate de dilauryle est de 0,07.

40

Oligosaccharide 4 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.65)Asp(OC₁₂)₂(0.15)]

5

[000104] 10 g de dextranéméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9), selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 3, puis lyophilisés.

10

[000105] L'Oligosaccharide 4 est un dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle, préparé selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 2. D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 4] = 16,7 mg/g

15

[000106] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par de l'aspartate de dilauryle est de 0,15.

Oligosaccharide 5 : Dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de didécyle [1DMC(1.03)Asp(OC₁₀)₂(0.05)]

20

[000107] L'aspartate de didécyle, sel d'acide paratoluènesulfonique est préparé à partir de décanol et d'acide aspartique selon le procédé décrit dans le brevet US 4,826,818 (Kenji M., et al.).

25

[000108] 10 g de dextranéméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,03 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9) selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 1, puis lyophilisés.

30

[000109] L'Oligosaccharide 5 est un dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de didécyle, préparé selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 2.

[000110] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 5] = 19,4 mg/g

[000111] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par l'aspartate de didécyle est de 0,05.

35

Oligosaccharide 6 : Dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dioctyle [1DMC(1.03)Asp(OC₈)₂(0.07)]

40

[000112] L'aspartate de dioctyle, sel d'acide paratoluènesulfonique est préparé à partir d'octanol et d'acide aspartique selon le procédé décrit dans le brevet US 4,826,818 (Kenji M., et al.).

[000113] 10 g de dextranéméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,03 par unité glucosidique sont synthétisés à

5 partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9) selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 1, puis lyophilisés.

[000114] L'Oligosaccharide 6 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dioctyle, préparé selon un procédé similaire à celui
10 décrit pour l'Oligosaccharide 2.

[000115] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 6] = 9,8 mg/g

[000116] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par l'aspartate de dioctyle est de 0,07.

15 Oligosaccharide 7 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de β -benzyle [1DMC(1.65)Asp(OBzl)OH(0.6)]

[000117] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont synthétisés à
20 partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9) selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 3, puis lyophilisés.

[000118] L'Oligosaccharide 7 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de β -benzyle, préparé selon un procédé similaire à celui
25 décrit pour l'Oligosaccharide 2 en utilisant l'acide aspartique de β -benzyle (Bachem).

[000119] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 7] = 26,0 mg/g

[000120] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par l'aspartate de β -benzyle est de 0,6.

30 Oligosaccharide 8 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le tryptophane [1DMC(1.65)Trp(1.0)]

[000121] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont synthétisés à
35 partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9) selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 3, puis lyophilisés.

[000122] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide (64 mmol de fonctions méthylcarboxylique acide) sont solubilisés dans le DMF (22 g/L) puis refroidis à 0°C.
40 Une fois la solution d'oligosaccharide à 0°C, une solution de NMM (7,1 g ; 70 mmol) et de EtOCOCl (7,6 g ; 70 mmol) est rajoutée. Après 10 minutes, 11,9 g de tryptophane (Ajinomoto) (58 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à 10°C. 26 mL d'une

- 5 solution aqueuse d'imidazole (340 g/L) sont ajoutés. Le mélange est ensuite chauffé à 30°C. Lorsque la température atteint 20°C, 70 mL d'eau sont ajoutés. Quand la température atteint 30°C, le mélange est sorti du réacteur et la solution obtenue est purifiée par ultrafiltration sur membrane PES de 1 kDa contre 6 volumes de NaCl 0,9%, 2 volumes de NaOH 0,01N, 4 volumes de NaCl 0,9% and 3 volumes d'eau. La
- 10 concentration en oligosaccharide de la solution finale est déterminée par extrait sec. Un échantillon de solution est lyophilisé et analysé par RMN ^1H dans D_2O pour déterminer la fraction molaire des méthylcarboxylates greffés par le tryptophane.
- [000123] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 8] = 47,1 mg/g
- [000124] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates
- 15 fonctionnalisés par le tryptophane est de 1.

Oligosaccharide 9 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le tryptophane [1DMC(2.1)Trp(1.3)]

- 20 [000125] 10 g de dextraneméthylcarboxylate de sodium caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9) selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 2, puis lyophilisés.
- 25 [000126] 8 g (37 mmol de fonctions hydroxyles) de dextraneméthylcarboxylate caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont solubilisés dans l'eau (430 g/L). La solution est portée à 65°C et 11,1 g de chloroacétate de sodium sont ajoutés. Le mélange à 65°C est agité pendant 30 minutes. 14 mL de NaOH 10N (136 mmol) sont ajoutés au compte-gouttes. Puis le
- 30 mélange est agité à 65°C. Le mélange est dilué de l'eau, neutralisé par l'acide acétique puis purifié par ultrafiltration sur membrane PES de 1 kDa contre de l'eau. La concentration en oligosaccharides de la solution finale est déterminée par extrait sec, puis un dosage acide/base dans un mélange eau/acétone 50 / 50 (V/V) est effectué pour déterminer le degré de substitution en méthylcarboxylate.
- 35 [000127] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide] = 25,8 mg/g
- [000128] D'après le dosage acide/base, le degré de substitution en méthylcarboxylate est de 2,1 par unité glucosidique.
- [000129] La solution de dextraneméthylcarboxylate de sodium est passée sur une résine Purolite (anionique) pour obtenir le dextraneméthylcarboxylique acide qui est
- 40 ensuite lyophilisé pendant 18 heures.

- 5 [000130] L'Oligosaccharide 9 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le tryptophane, préparé selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 8.
- [000131] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 9] = 31,1 mg/g
- [000132] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates
- 10 fonctionnalisés par le tryptophane est de 1,3.

Oligosaccharide 10 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par la phénylalanine [1DMC(1.65)Phe(0.65)]

- 15 [000133] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacocosmos, degré de polymérisation de 3,9), selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 3, puis lyophilisés.
- 20 [000134] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide (64 mmol de fonctions méthylcarboxylique acide) sont solubilisés dans le DMF (58 g/L) puis refroidis à 0°C. Un mélange de phénylalaninate d'éthyle, sel d'hydrochlorure (6,2 g ; 27 mmol) dans du DMF est préparé (100 g/L). 2,7 g de triéthylamine (27 mmol) sont ajoutés à ce mélange. Une fois la solution d'oligosaccharide à 0°C, une solution de NMM (6,5 g,
- 25 64 mmol) et de EtOCOCl (6,9 g ; 64 mmol) est rajoutée. Après 10 minutes, la solution de phénylalaninate d'éthyle est ajoutée et le mélange est agité à 10°C. Une solution aqueuse d'imidazole (340 g/L) est ajoutée. La solution est alors chauffée jusqu'à 30°C. 70 mL d'eau sont ajoutés et la solution obtenue est purifiée par ultrafiltration sur membrane PES de 1 kDa contre 7 volumes de NaOH 0,1N, 7 volumes de NaCl
- 30 0,9% et 3 volumes d'eau. La concentration en oligosaccharides de la solution finale est déterminée par extrait sec. Un échantillon de solution est lyophilisé et analysé par RMN ^1H dans D_2O pour déterminer la fraction molaire des méthylcarboxylates greffés par la phénylalanine.
- [000135] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 10] = 24,2 mg/g
- 35 [000136] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par la phénylalanine est de 0,65.

Oligosaccharide 11 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par la phénylalanine [1DMC(2.1)Phe(1.0)]

- 40 [000137] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en méthylcarboxylate de 2,1 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol

- 5 (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9), selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 9, puis lyophilisés.
- [000138] L'Oligosaccharide 11 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par la phénylalanine, préparé selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 10.
- 10 [000139] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 11] = 31,8 mg/g
- [000140] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par la phénylalanine est de 1.
- Oligosaccharide 12 : N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate modifié par
- 15 la L-Phénylalanine [1DUGly(1.65)Phe(0.65)]
- [000141] 8 g (soit 148 mmol de fonctions hydroxyles) de dextrane de masse molaire moyenne en poids d'environ 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9) sont solubilisés dans un mélange DMF/DMSO, en présence de NaBH_4 (0,5 g ; 13
- 20 mmol). Après 30 minutes d'agitation DABCO (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane, 2,2 g ; 20 mmol) et 9 mL de toluène sont ajoutés au mélange qui est porté à 120°C sous agitation et distillé hétéroazéotropiquement. Après retour du mélange réactionnel à 80°C, 19,1 g (148 mmol) d'éthyle isocyanatoacétate sont progressivement introduits.
- Après 1,5 heure de réaction, le milieu est dilué en eau et purifié par diafiltration sur
- 25 membrane PES de 1 kDa contre NaOH 0,1N, NaCl 0.9% et de l'eau. La solution finale est dosée par extrait sec pour déterminer la concentration en oligosaccharide, puis dosée par dosage acide/base dans de l'eau/acétone 50 / 50 (V/V) pour déterminer le degré de substitution en charges carboxylates.
- [000142] D'après l'extrait sec : [polymère] = 25,0 mg/g
- 30 [000143] D'après le dosage acide/base, le degré de substitution des fonctions hydroxyles par des fonctions N-méthylcarboxylates carbamate est de 1,65 par motif saccharidique.
- [000144] La solution de N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate est acidifiée sur une résine Purolite (anionique) pour obtenir le dextrane N-
- 35 méthylcarboxylique acide qui est ensuite lyophilisé pendant 18 heures.
- [000145] L'Oligosaccharide 12 est un N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate fonctionnalisé par la phénylalanine, préparé selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 10.
- [000146] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 12] = 23,8 mg/g
- 40 [000147] D'après la RMN ^1H : le degré de substitution en N-méthylcarboxylates fonctionnalisés par la phénylalanine est de 0,65.

- 5 Oligosaccharide 13 : N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate modifié par le tryptophane [1DUGly(1.65)Trp(1.0)]

[000148] 10 g de dextrane N-méthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de substitution en N-méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont synthétisés à
10 partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9), selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 12, puis lyophilisés.

[000149] L'Oligosaccharide 13 est un N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate fonctionnalisé par le tryptophane, préparé selon un procédé similaire à
15 celui décrit pour l'Oligosaccharide 9.

[000150] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 13] = 37,1 mg/g

[000151] D'après la RMN ¹H : le degré de substitution en N-méthylcarboxylates fonctionnalisés par le tryptophane est de 1.

20

Oligosaccharide 14 : Dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le leucinate de cholestéryle [1DMC(1.65)LeuChol(0.05)]

[000152] 10 g de dextraneméthylcarboxylique acide caractérisé par un degré de
25 substitution en méthylcarboxylate de 1,65 par unité glucosidique sont synthétisés à partir d'un dextrane de masse molaire moyenne en poids de 1 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 3,9), selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 3, puis lyophilisés.

[000153] Le leucinate de cholestéryle, sel d'acide paratoluènesulfonique est préparé à
30 partir de cholestérol et de leucine selon le procédé décrit dans le brevet US 4,826,818 (Kenji M., et al.).

[000154] L'Oligosaccharide 14 est un dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le leucinate de cholestéryle, préparé selon un procédé similaire à celui décrit pour l'Oligosaccharide 1.

35 [000155] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 14] = 13,7 mg/g

[000156] D'après la RMN ¹H : le degré de substitution en méthylcarboxylates fonctionnalisés par leucinate de cholestéryle est de 0,05.

Oligosaccharide 15 : dextrane modifié par le L-aspartate de L-phénylalaninate de
40 sodium carbamate [1DUAspPhe(1.0)]

5 [000157] Le chlorhydrate de β -benzyle-L-aspartate de L-phenylalaninate d'éthyle est synthétisé selon un procédé de couplage peptidique décrit dans la publication (Carpino et al. J. Org. Chem. 1995, 60, 3561) à partir de l'acide 2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-4-benzyloxy-4-oxobutanoïque (Boc-Asp(OBzl)-OH, disponible chez Bachem) et du chlorhydrate de L-phenylalaninate d'éthyle HCl-PheOEt suivi d'une
10 déprotection du groupement tert-butoxycarbonyl (Boc) dans l'acide chlorhydrique à 0°C.

[000158] L'isocyanate du dipeptide β -benzyle-L-aspartate de L-phenylalaninate d'éthyle est obtenu selon le procédé décrit dans la publication (Tsai, J.H. et al. Organic Synthesis 2004, 10, 544-545) à partir du chlorhydrate de β -benzyle-L-aspartate de L-phenylalaninate d'éthyle et du triphosgene (Sigma).
15

[000159] Le greffage de l'isocyanate du dipeptide β -benzyle-L-aspartate de L-phenylalaninate d'éthyle sur le dextrane est effectué selon le procédé décrit dans la publication (Arranz, F. et al. Makromol. Chemie 1987, 188, 2831-2838). 4 g (soit 0,07 mol de fonctions hydroxyles) de dextrane de masse molaire moyenne en poids
20 d'environ 1 kg/mol (Pharmacosmos) sont solubilisés dans un mélange DMF/DMSO, en présence de DABCO (1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane). Du toluène est ajouté au mélange et le milieu est déshydraté par distillation hétéroazéotropique. A 80°C, 15,8 g (0,04 mol) d'isocyanate du dipeptide β -benzyle-L-aspartate de L-phenylalaninate d'éthyle sont progressivement introduits. Après 12 heures de réaction, le milieu est
25 dilué en eau et purifié par diafiltration sur membrane PES de 5 kD contre NaOH 0,1N, NaCl 0,9% et de l'eau. La solution finale est dosée par extrait sec pour déterminer la concentration en polymère, dosée par dosage acide/base dans de l'eau/acétone 50 / 50 (V/V) puis analysée par RMN 1H pour déterminer le degré de fonctionnalisation des hydroxyles en carbamate de L-aspartate de L-phenylalaninate
30 de sodium.

[000160] D'après l'extrait sec : [Oligosaccharide 15] = 13,7 mg/g

[000161] D'après le dosage acide/base et la RMN 1H : le degré de substitution en carbamate de L-aspartate de L-phenylalaninate de sodium est de 1,0.

35 Exemple 16 :

Etude des éliminations comparées de l'oligosaccharide 10 1DMC(1.65)Phe(0.65) et de son analogue 10DMC(1,1)Phe(0,45) à travers une membrane de seuil de coupure 30 kDa :

[000162] 10DMC(1.1)Phe(0.45) est synthétisé selon le même procédé que
40 l'oligosaccharide 10 à partir du dextrane de masse molaire moyenne en poids de 10 kg/mol (Pharmacosmos, degré de polymérisation de 19).

- 5 [000163] La littérature établit, sur la base du dextrane, une corrélation entre le poids moléculaire et l'élimination rénale des macromolécules (Caulfield, J. et al. The Journal of Cell biology 1974, 63, 883-903 ; Chang R.L.S. Kidney International 1975, 8, 212-218). Ces résultats établissent que les macromolécules d'un poids moléculaire supérieur à 30 kDa sont difficilement éliminées par le rein.
- 10 [000164] Une solution de 250 mL d'oligosaccharide 10 à 20 g/L est ultrafiltrée sur membrane PES de 30 kDa contre 20 volumes d'eau. La concentration en oligosaccharide de la solution finale est déterminée par extrait sec et indique un recouvrement inférieur à 10%.
- [000165] [Oligosaccharide 10] < 2 mg/g
- 15 [000166] Une solution de 250 mL de 10DMC(1.1)Phe(0.65) à 20 g/L est ultrafiltrée sur membrane PES de 30 kDa contre 20 volumes d'eau. La concentration en polymère de la solution finale est déterminée par extrait sec.
- [000167] [10DMC(1.1)Phe(0.45)] > 12 mg/g. Le polymère a été recouvré après ultrafiltration avec un rendement supérieur à 60%.
- 20 [000168] Ces résultats confirment que ces oligosaccharides peuvent être éliminés par filtration de façon beaucoup plus efficace que des polymères de masse molaire plus élevée.
- 25 Exemple 17 :
- Solubilisation de la BMP-7 à pH neutre à un ratio massique polymère/BMP-7 de 10
- [000169] Un essai de solubilisation de la Bone Morphogenetic Protein 7 (BMP-7) a été développé afin de mettre en évidence le pouvoir solubilisant de différents polymères à pH physiologique. La BMP-7 est soluble à pH acide et possède une limite de solubilité très basse à pH physiologique de l'ordre de quelques microgrammes/mL.
- 30 [000170] Les oligosaccharides décrits dans cette demande sont mis en œuvre dans ce test. Le test consiste à utiliser une solution de BMP-7 à pH acide, par exemple un tampon lactate 10mM à pH 3. La BMP-7 est à une concentration initiale de 2,47mg/mL.
- 35 2,02 mL de cette solution de BMP-7 sont mélangés à 2,7 mL d'une solution de polymère à 18,5 mg/mL contenant 18mM de tampon phosphate à pH 7,4. Après mélange le pH final est ajusté à pH physiologique par ajout d'un mélange de soude 1N et d'eau pour obtenir un volume final de formulation de 5 mL. Les formulations sont analysées par observation visuelle, turbidité et diffusion dynamique de la lumière afin
- 40 de détecter la présence d'agrégats.

Les résultats pour les différentes solutions sont rassemblés dans le tableau suivant.

5

Polymère	[polymère] mg/ml	[BMP-7] mg/ml	solubilité	pH
Aucun		1	Non	7,4
Oligosaccharide 2	10	1	Oui	7,4
Oligosaccharide 3	10	1	Oui	7,4

[000171] A titre de comparaison, un polymère de masse molaire en poids de 10 kDa fonctionnalisé par les mêmes substituants, méthylcarboxylates et aspartate de dilauryle avec des degrés de fonctionnalisation similaires conduit au même résultat.

10

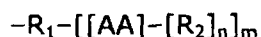
[000172] Les oligosaccharides selon l'invention permettent donc de former des complexes avec une protéine malgré un nombre très réduit d'unités saccharidiques.

15

Revendications

1. Oligodextrane, choisi parmi les dextrans dont le degré de polymérisation
5 moyen est inférieur à 10, modifié par :

- au moins un substituant de formule générale I :



Formule I

- 10 • les substituants étant identiques ou différents lorsqu'il y a au moins deux substituants, dans lequel :
- le radical $-[AA]-$ désigne un résidu d'acide aminé fixé sur le squelette du dextrane par l'intermédiaire d'un bras de liaison $-R_1-$, et portant éventuellement un radical $-[R_2]_n$
 - 15 - le bras de liaison $-R_1-$ est une chaîne carbonée en C1 à C15, éventuellement substituée et/ou comportant au moins un hétéroatome (tels que O, N et S) et éventuellement une fonction acide carboxylique; il forme avec le résidu d'acide aminé $[AA]$ une liaison amide, et est directement fixé sur le squelette du dextrane par une liaison de type ester, carbamate ou éther,
 - 20 - le radical $-[R_2]_n$ est une chaîne carbonée en C1 à C18, éventuellement substituée,
 - n étant 0, 1 ou 2,
 - m étant 1 ou 2, et,
 - le degré de substitution j, en $-R_1-[[AA]-[R_2]_n]_m$ lorsque m > 0 étant
 - 25 compris entre 0,01 et 2,9,
 et, éventuellement
 - un ou plusieurs substituants de même formule générale I, dans laquelle m=0
 - R1 est une chaîne carbonée en C1 à C15, éventuellement substituée et/ou comportant au moins un hétéroatome (tels que O, N et S) et au moins
 - 30 une fonction acide carboxylique,
 - le degré de substitution i, en $-R_1$ étant compris entre 0,1 et 3,
 - et,
 - lorsque m ou n sont égaux à 0 alors les fonctions salifiables libres sont sous forme de cation, et
 - 35 • $i+j \leq 3$.

2. Oligodextrane selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il a une masse molaire moyenne en nombre inférieure à 2000 g/mol.

3. Oligodextrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les acides aminés sont choisis parmi les alpha acides aminés naturels.
- 5
4. Oligodextrane selon la revendication 3, caractérisé en ce les alpha acides aminés naturels sont choisis parmi les acides aminés hydrophobes choisis dans le groupe comprenant le tryptophane, la leucine, l'alanine, l'iso-leucine, la glycine, la phénylalanine, la valine
- 10
5. Oligodextrane selon la revendication 3, caractérisé en ce les alpha acides aminés naturels sont choisis parmi les acides aminés polaires choisis dans le groupe comprenant l'acide aspartique, l'acide glutamique, la lysine, la sérine.
- 15
6. Oligodextrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le radical -R2 est issu d'un alcool hydrophobe.
7. Oligodextrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le radical -R2 est issu d'un acide hydrophobe.
- 20
8. Oligodextrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que $0,1 \leq i \leq 3$ et $0,01 \leq j \leq 2,9$.
9. Oligodextrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué par les oligosaccharides suivants :
- 25
- dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.03)Asp(OC₁₂)₂(0.07)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.65)Asp(OC₁₂)₂(0.07)]
 - 30 • dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dilauryle [1DMC(1.65)Asp(OC₁₂)₂(0.15)]
 - dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de didécyle [1DMC(1.03)Asp(OC₁₀)₂(0.05)]
 - 35 • dextraneméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de dioctyle [1DMC(1.03)Asp(OC₈)₂(0.07)]

- dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par l'aspartate de β -benzyle [1DMC(1.65)Asp(OBzl)OH(0.6)]
 - dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le tryptophane [1DMC(1.65)Trp(1.0)]
 - 5 • dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le phénylalaninate d'octyle [1DMC(1.03)PheOC8(0.2)]
 - dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par le tryptophane [1DMC(2.1)Trp(1.3)]
 - 10 • dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par la phénylalanine [1DMC(1.65)Phe(0.65)]
 - dextranéméthylcarboxylate de sodium fonctionnalisé par la phénylalanine [1DMC(2.1)Phe(1.0)]
 - N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate modifié par la L-Phénylalanine [1DUGly(1.65)Phe(0,65)]
 - 15 • N-méthylcarboxylate de sodium dextrane carbamate modifié par le tryptophane [1DUGly(1,65)Trp(1,0)]
 - dextrane modifié par le L-aspartate de L-phenylalaninate de sodium carbamate [1DUAspPhe(1.0)]
- 20 10. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend un oligosaccharides selon l'une quelconsue des revendications précédentes et un principe actif est choisi dans le groupe constitué par les protéines, les glycoprotéines, les peptides et les molécules thérapeutiques non-peptidiques.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2012/051039

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C08B37/00 A61K47/36
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
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, COMPENDEX, INSPEC, 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	WO 2010/058106 A1 (ADOCIA [FR]; SOULA GERARD [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA OLIVIER [FR]) 27 May 2010 (2010-05-27) examples	1-10
X	WO 2009/127940 A1 (ADOCIA [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA OLIVIER [FR]; SOULA GERARD [FR]) 22 October 2009 (2009-10-22) page 12; examples 1-12	1-10
X	WO 2008/038111 A1 (PROTEINS & PEPTIDES MAN [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA GERARD [FR]) 3 April 2008 (2008-04-03) claims; examples	1-10
	----- -/-	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 August 2012

Date of mailing of the international search report

04/09/2012

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Vaccaro, Eleonora

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2012/051039

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2011/098962 A2 (ADOCIA [FR]; CHARVET RICHARD [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA OLIVIER [FR]) 18 August 2011 (2011-08-18) paragraph [0001] - paragraph [0007]; examples 1-3, 4-6, 8, 11-14 -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2012/051039

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010058106	A1	27-05-2010	
		AU 2009317083 A1	27-05-2010
		CA 2744150 A1	27-05-2010
		CN 102281868 A	14-12-2011
		EP 2376063 A1	19-10-2011
		FR 2948573 A1	04-02-2011
		JP 2012509303 A	19-04-2012
		KR 20110086752 A	29-07-2011
		SG 171388 A1	28-07-2011
		US 2010166867 A1	01-07-2010
		WO 2010058106 A1	27-05-2010
WO 2009127940	A1	22-10-2009	
		AU 2009237414 A1	22-10-2009
		CA 2720203 A1	22-10-2009
		CN 102065882 A	18-05-2011
		EP 2288370 A1	02-03-2011
		JP 2011519292 A	07-07-2011
		KR 20110014588 A	11-02-2011
		US 2009291114 A1	26-11-2009
		US 2011159068 A1	30-06-2011
		WO 2009127940 A1	22-10-2009
WO 2008038111	A1	03-04-2008	
		AU 2007301670 A1	03-04-2008
		CA 2664650 A1	03-04-2008
		EP 2066700 A1	10-06-2009
		FR 2914305 A1	03-10-2008
		JP 2010505008 A	18-02-2010
		KR 20090060419 A	12-06-2009
		RU 2009115681 A	10-11-2010
		SG 177172 A1	30-01-2012
		US 2008234227 A1	25-09-2008
		WO 2008038111 A1	03-04-2008
WO 2011098962	A2	18-08-2011	NONE

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2012/051039

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. C08B37/00 A61K47/36
ADD.

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

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
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, COMPENDEX, INSPEC, 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 2010/058106 A1 (ADOCIA [FR]; SOULA GERARD [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA OLIVIER [FR]) 27 mai 2010 (2010-05-27) exemples -----	1-10
X	WO 2009/127940 A1 (ADOCIA [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA OLIVIER [FR]; SOULA GERARD [FR]) 22 octobre 2009 (2009-10-22) page 12; exemples 1-12 -----	1-10
X	WO 2008/038111 A1 (PROTEINS & PEPTIDES MAN [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA GERARD [FR]) 3 avril 2008 (2008-04-03) revendications; exemples ----- -/-	1-10



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



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

27 août 2012

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

04/09/2012

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

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

Fonctionnaire autorisé

Vaccaro, Eleonora

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2012/051039

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 2011/098962 A2 (ADOCIA [FR]; CHARVET RICHARD [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA OLIVIER [FR]) 18 août 2011 (2011-08-18) alinéa [0001] - alinéa [0007]; exemples 1-3,4-6,8,11-14 -----	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2012/051039

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2010058106 A1	27-05-2010	AU 2009317083 A1 CA 2744150 A1 CN 102281868 A EP 2376063 A1 FR 2948573 A1 JP 2012509303 A KR 20110086752 A SG 171388 A1 US 2010166867 A1 WO 2010058106 A1	27-05-2010 27-05-2010 14-12-2011 19-10-2011 04-02-2011 19-04-2012 29-07-2011 28-07-2011 01-07-2010 27-05-2010
WO 2009127940 A1	22-10-2009	AU 2009237414 A1 CA 2720203 A1 CN 102065882 A EP 2288370 A1 JP 2011519292 A KR 20110014588 A US 2009291114 A1 US 2011159068 A1 WO 2009127940 A1	22-10-2009 22-10-2009 18-05-2011 02-03-2011 07-07-2011 11-02-2011 26-11-2009 30-06-2011 22-10-2009
WO 2008038111 A1	03-04-2008	AU 2007301670 A1 CA 2664650 A1 EP 2066700 A1 FR 2914305 A1 JP 2010505008 A KR 20090060419 A RU 2009115681 A SG 177172 A1 US 2008234227 A1 WO 2008038111 A1	03-04-2008 03-04-2008 10-06-2009 03-10-2008 18-02-2010 12-06-2009 10-11-2010 30-01-2012 25-09-2008 03-04-2008
WO 2011098962 A2	18-08-2011	AUCUN	