

(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 avril 2010 (15.04.2010)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2010/041119 A1

(51) Classification internationale des brevets :
C08B 37/02 (2006.01) A61K 31/721 (2006.01)
C08B 37/00 (2006.01) A61K 47/36 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2009/007054

(22) Date de dépôt international :
6 octobre 2009 (06.10.2009)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
0805506 6 octobre 2008 (06.10.2008) FR
61/136,816 6 octobre 2008 (06.10.2008) 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) : 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). SOULA, Gérard [FR/FR]; 33,
rue de Nungesser, F-69330 Meyzieux (FR). CHARVET,
Richard [FR/FR]; 19 rue de la Bièvre, F-69140 Rillieux
La Pape (FR).

(74) Mandataire : TRIPOZ, Inès; Centre d'Affaires AZ, 15
Boulevard Vivier Merle, F-69003 Lyon (FR).

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

Publiée :

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

(54) Title : POLYSACCHARIDES CONTAINING CARBOXYL FUNCTIONAL GROUPS SUBSTITUTED BY A HYDROPHOBIC ALCOHOL DERIVATIVE

(54) Titre : POLYSACCHARIDES COMPORTANT DES GROUPES FONCTIONNELS CARBOXYLES SUBSTITUES PAR UN DERIVE D'ALCOOL HYDROPHOBE

(57) Abstract : The invention relates to a polysaccharide comprising carboxyl functional groups, at least one of which is substituted by a hydrophobic alcohol derivative. The invention also relates to a pharmaceutical composition containing one of the polysaccharides of the invention and at least one active principal. The invention further relates to a pharmaceutical composition characterised in that the active agent is selected from the group including proteins, glycoproteins, peptides and non-peptide therapeutic molecules. The invention also relates to the use of functionalised polysaccharides of the invention for preparing pharmaceutical compositions such as those described above.

(57) Abrégé : L'invention concerne un polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles dont un au moins est substitué par un dérivé d'alcool hydrophobe. L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant l'un des polysaccharides selon l'invention et au moins un principe actif. Elle concerne également une composition pharmaceutique caractérisée 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. L'invention concerne également l'utilisation des polysaccharides fonctionnalisés selon l'invention pour la préparation de compositions pharmaceutiques telles que décrites précédemment.

WO 2010/041119 A1

**Polysaccharides comportant des groupes fonctionnels
carboxyles substitués par un dérivé d'alcool hydrophobe**

- 5 [0001] La présente invention concerne de nouveaux polymères biocompatibles à base de polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles pouvant être utiles, notamment pour l'administration de principe(s) actif(s) (PA) aux hommes ou aux animaux dans un but thérapeutique et/ou prophylactique.
- 10 [0002] Les alcools hydrophobes présentent un intérêt dans la formulation de principes actifs pharmaceutiques, notamment, en raison de leur biocompatibilité et de leur caractère hydrophobe permettant de moduler l'hydrophobicité des polymères sur lesquels ils peuvent être greffés.
- 15 [0003] Leur biocompatibilité est excellente dans la mesure où ils jouent un rôle dans de nombreux processus biochimiques et sont présents sous forme estérifiée dans la plupart des tissus.
- [0004] Cependant, il est connu de l'homme de l'art qu'il est difficile de greffer un alcool sur un polysaccharide comportant des groupes
- 20 fonctionnels carboxyles puisqu'il est difficile d'être sélectif entre les fonctions hydroxyles du polysaccharide et la fonction hydroxyle de l'alcool hydrophobe. Au moment du greffage, les alcools du polymère peuvent entrer en compétition avec l'alcool du greffon si l'on ne souhaite pas avoir recours à des techniques de protection/déprotection des alcools du
- 25 polymère et cette réaction secondaire conduit à la réticulation des chaînes de polymère. Ainsi, des alcools hydrophobes d'intérêt tel que le cholestérol n'ont pu être greffés à ce jour sur des polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles.
- [0005] Dellacherie et al. ont mis au point des esters de polysaccharides, soit d'alginate, de hyaluronates (Pelletier, S. et al., Carbohydr. Polym. 30 2000, 43, 343-349.) ou de galacturonanes (Dellacherie, Edith et al., Langmuir 2001, 17, 1384-1391.) par une méthode de synthèse employant des alpha halogénures d'alkyle, bromododécane et bromooctadécane. La synthèse des esters consiste à substituer les halogénures par les
- 35 carboxylates de tetrabutylammonium. Cette méthode permet d'accéder à des esters d'alcools hydrophobes mais elle est limitée aux dérivés

halogénés alkyliques pouvant subir une substitution nucléophile. Elle ne peut donc pas être mise en œuvre pour greffer des alcools hydrophobes tels que le cholestérol. De plus, ces dérivés halogénés présentent des risques de toxicité et ne sont donc pas d'une mise en œuvre sûre pour le développement d'un produit pharmaceutique.

[0006] D'autres chercheurs ont contourné cette difficulté en greffant des acides hydrophobes à la place des alcools hydrophobes. Nichifor et al., par exemple, ont employé l'acide cholique, un dérivé stéroïdien, pour le greffer directement sur les alcools du dextrane (Nichifor, Marieta et al., Eur.Polym.J. 1999, 35, 2125-2129.). Cette méthode contourne le problème du cholestérol en employant un dérivé présentant un acide carboxylique capable de réagir avec les alcools du polysaccharide. Cependant, l'acide cholique n'est pas approuvé par la FDA pour des injections contrairement au cholestérol et cette stratégie ne peut pas être mise en œuvre avec des polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles.

[0007] D'autres chercheurs ont employé des polysaccharides non anioniques afin de pouvoir greffer des alcools hydrophobes. Akiyoshi et al., par exemple, ont converti le cholestérol, nucléophile, en un dérivé électrophile (Biomacromolecules 2007, 8, 2366-2373). Ce dérivé électrophile du cholestérol a pu être greffé sur les fonctions alcools du pullulane ou du mannane, polysaccharides neutres. Cette stratégie ne peut également pas être mise en œuvre avec des polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles.

[0008] Une revue récente des polymères fonctionnels à base de dextrane (Heinze, Thomas et al., Adv Polym Sci 2006, 205, 199-291.) fait état de modifications par des acides hydrophobes entre autres mais ne fait pas état de dextrane fonctionnalisé par des alcools hydrophobes.

[0009] La présente invention concerne de nouveaux dérivés de polysaccharides amphiphiles comportant des groupes fonctionnels carboxyles en partie substitués par au moins un dérivé d'alcool hydrophobe. Ces nouveaux dérivés de polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles ont une bonne biocompatibilité et leur hydrophobicité est facilement modulable sans altérer la biocompatibilité.

[00010] Elle concerne également une méthode de synthèse permettant de résoudre les problèmes de synthèse supra cités. Cette méthode a permis d'obtenir des polysaccharides comportant des groupes fonctionnels

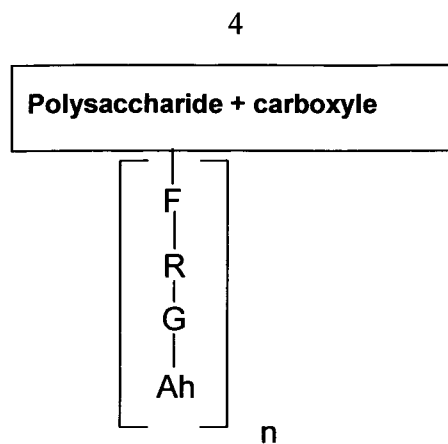
carboxyles en partie substitués par des alcools hydrophobes dont par exemple le cholestérol.

[00011] L'invention concerne donc des polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles dont un au moins est substitué par un dérivé d'alcool hydrophobe, noté Ah :

- ledit alcool hydrophobe (Ah) étant greffé ou lié au polysaccharide anionique par un bras de couplage R, ledit bras de couplage étant lié au polysaccharide anionique par une fonction F ladite fonction F résultant du couplage entre la fonction amine du bras de liaison R et une fonction carboxyle du polysaccharide anionique, et ledit bras de couplage étant lié à l'alcool hydrophobe par une fonction G résultant du couplage entre une fonction carboxyle, isocyanate, thioacide ou alcool du bras de couplage et une fonction de l'alcool hydrophobe, les fonctions carboxyles du polysaccharide anionique non substituées étant sous forme de carboxylate de cation, alcalin de préférence comme Na^+ ou K^+ .
 - F étant une fonction amide,
 - G étant soit une fonction ester, thioester, carbonate, carbamate,
 - R étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée, éventuellement comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et ayant au moins une fonction acide,
- Ah étant un reste d'un alcool hydrophobe, produit du couplage entre la fonction hydroxyle de l'alcool hydrophobe et au moins une fonction électrophile portée par le groupement R,
- ledit polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles étant amphiphile à pH neutre.

[00012] Dans un mode de réalisation, G est une fonction ester.

[00013] Selon l'invention, le polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles en partie substitués par des alcools hydrophobes est choisi parmi les polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles de formule générale I :



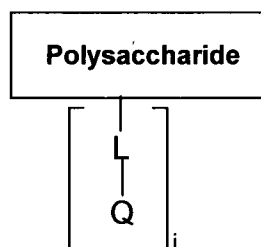
Formule I

- dans laquelle, n représente la fraction molaire des fonctions carboxyles du polysaccharide substituées par F-R-G-Ah et est compris entre 0,01 et 0,7,

- F, R, G et Ah répondant aux définitions données ci-dessus, et lorsque la fonction carboxyle du polysaccharide n'est pas substituée par F-R-G-Ah, alors le ou les groupes fonctionnels carboxyles du polysaccharide sont des carboxylates de cation, alcalin de préférence comme Na⁺ ou K⁺.

[00014] Dans un mode de réalisation, les polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles sont des polysaccharides naturellement porteurs de groupes fonctionnels carboxyles et sont choisis dans le groupe constitué par l'alginate, le hyaluronane, le galacturonane.

[00015] Dans un mode de réalisation, les polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles sont des polysaccharides synthétiques obtenus à partir de polysaccharides comportant naturellement des groupes fonctionnels carboxyles ou à partir de polysaccharides neutres, sur lesquels au moins 15 groupes fonctionnels carboxyles pour 100 unités saccharidiques ont été greffées, de formule générale II.



II

- les polysaccharides naturels étant choisis dans le groupe des polysaccharides constitués en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,6) et/ou (1,4) et/ou (1,3) et/ou (1,2),

- L étant une liaison résultant du couplage entre le bras de liaison Q et une fonction -OH du polysaccharide et étant soit une fonction ester, thionoester, carbonate, carbamate ou éther,

- i représente la fraction molaire des substituants L-Q par unité saccharidique du polysaccharide

- Q étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et comportant au moins un groupe fonctionnel carboxyle, - CO₂H.

15

[00016] Dans un mode de réalisation, n est compris entre 0,05 et 0,5.

[00017] Dans un mode de réalisation le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,6).

[00018] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,6) est le dextrane.

[00019] Dans un mode de réalisation le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4).

[00020] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4) est choisi dans le groupe constitué par le pullulane, l'alginate, le hyaluronane, le xylane, le galacturonane ou une cellulose soluble dans l'eau.

[00021] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est un pullulane.

[00022] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est un alginate.

[00023] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est un hyaluronane.

[00024] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est un xylane.

[00025] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est un galacturonane.

[00026] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide est une cellulose soluble dans l'eau.

- 5 [00027] Dans un mode de réalisation le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,3).

[00028] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,3) est un curdlane.

[00029] Dans un mode de réalisation le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,2).

15 [00030] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,2) est une inuline.

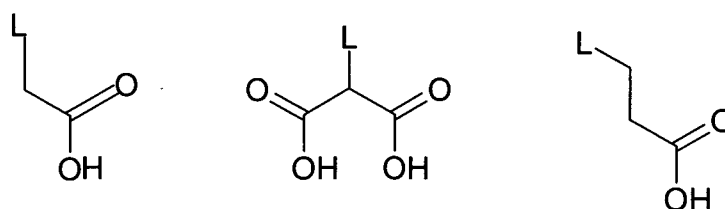
[00031] Dans un mode de réalisation le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4) et (1,3)

20 [00032] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4) et (1,3) est un glucane.

[00033] Dans un mode de réalisation le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4), et (1,3) et (1,2).

[00034] Dans un mode de réalisation le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4), et (1,3) et (1,2) est le mannane.

- 30 [00035] Dans un mode de réalisation, le polysaccharide selon l'invention est caractérisé en ce que le groupe Q est choisi dans les groupes suivants :



- [00036] Dans un mode de réalisation, i est compris entre 0,1 et 2.
- [00037] Dans un mode de réalisation, i est compris entre 0,2 et 1,5.
- [00038] Dans un mode de réalisation, le groupement R selon l'invention
- 5 est caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les acides aminés.
- [00039] Dans un mode de réalisation, les acides aminés sont choisis parmi les alpha acides aminés.
- [00040] Dans un mode de réalisation, les alpha acides aminés sont choisis parmi les alpha acides aminés naturels.
- 10 [00041] Dans un mode de réalisation, les alpha acides aminés naturels sont choisis parmi la leucine, l'alanine, l'iso-leucine, la glycine, la phénylalanine, le tryptophane, la valine.
- [00042] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools gras.
- 15 [00043] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools constitués d'une chaîne alkyle insaturée ou saturée, ramifiée ou non ramifiée, comprenant de 4 à 18 carbones.
- [00044] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools constitués d'une chaîne alkyle insaturée ou saturée, ramifiée ou
- 20 non ramifiée, comprenant de 6 à 18 carbones.
- [00045] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools constitués d'une chaîne alkyle insaturée ou saturée, ramifiée ou non ramifiée, comprenant de 8 à 16 carbones.
- [00046] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est l'octanol.
- 25 [00047] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est le 2-éthylbutanol.
- [00048] 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.
- [00049] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi
- 30 les dérivés du cholestérol.
- [00050] Dans un mode de réalisation, le dérivé du cholestérol est le cholestérol.
- [00051] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les dérivés du menthol.
- 35 [00052] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est le menthol sous sa forme racémique.

[00053] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est l'isomère D du menthol.

[00054] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est l'isomère L du menthol.

5 [00055] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les tocophérols.

[00056] Dans un mode de réalisation, le tocophérol est l'alpha tocophérol.

[00057] Dans un mode de réalisation, l'alpha tocophérol est le racémique de l'alpha tocophérol.

10 [00058] Dans un mode de réalisation, le tocophérol est l'isomère D de l'alpha tocophérol.

[00059] Dans un mode de réalisation, le tocophérol est l'isomère L de l'alpha tocophérol.

15 [00060] Dans un mode de réalisation, l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools porteurs de groupe aryle.

[00061] Dans un mode de réalisation, l'alcool porteur de groupe aryle est choisi parmi l'alcool benzylique, l'alcool phenéthylique.

[00062] Le polysaccharide peut avoir un degré de polymérisation m compris entre 10 et 10000.

20 [00063] Dans un mode de réalisation, il a un degré de polymérisation m compris entre 10 et 1000.

[00064] Dans un autre mode de réalisation, il a un degré de polymérisation m compris entre 10 et 500.

25 [00065] L'invention concerne également la synthèse des polysaccharides comportant des groupes fonctionnels carboxyles en partie substitués selon l'invention.

[00066] Ladite synthèse comprend une étape d'obtention d'un intermédiaire aminé $Ah-G-R-NH_2$ ou d'un sel d'ammonium $Ah-G-R-NH_3^+$ dont le contre-ion est un anion choisi parmi les halogénures, les sulfates, les sulfonates, les carboxylates, et une étape de greffage de cet intermédiaire aminé sur une fonction carboxyle d'un polysaccharide, R, G et Ah répondant aux définitions données ci-dessus.

30 [00067] Dans un mode de réalisation une étape de fonctionnalisation du polysaccharide par au moins 15 groupes fonctionnels carboxyles pour 100 unités saccharidiques est effectuée par greffage de composés de formule Q-L', L' étant une fonction anhydride, halogénure, acide carboxylique,

thioacide ou isocyanate sur au moins 15 fonctions alcool pour 100 unités saccharidiques du polysaccharide, Q et L répondant aux définitions données ci-dessus .

[00068] Dans un mode de réalisation, l'intermédiaire aminé de formule
5 Ah-G-R-NH₂ ou Ah-G-R-NH₃⁺ est obtenu par réaction d'un composé de formule G'-R-NH₂, G' étant une fonction acide carboxylique, isocyanate, thioacide, ou alcool avec la fonction alcool de l'alcool hydrophobe, R, G et Ah répondant aux définitions données ci-dessus.

[00069] Si nécessaire dans cette étape d'obtention de l'intermédiaire aminé, les techniques de protection, déprotection bien connues de l'homme
10 de l'art en synthèse peptidique sont utilisées.

[00070] De préférence, l'étape de greffage de l'intermédiaire aminé sur une fonction acide du polysaccharide est réalisée en milieu organique.

[00071] L'invention concerne également l'utilisation des polysaccharides
15 fonctionnalisés selon l'invention pour la préparation de compositions pharmaceutiques telles que décrites précédemment.

[00072] L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant l'un des polysaccharides selon l'invention tel que décrit précédemment et au moins un principe actif.

[00073] L'invention concerne également une composition pharmaceutique
20 selon l'invention telle que décrite précédemment caractérisée 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.

[00074] On entend par principe actif un produit sous forme d'entité chimique unique 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
25 endogène, par exemple les facteurs de croissance qui vont être sécrétés dans une plaie pendant la première phase de cicatrisation et qui pourront être retenus sur ladite plaie par la composition selon l'invention.

[00075] Selon les pathologies visées elle est destinée à un traitement local ou systémique.

[00076] Dans le cas des libérations locale et systémique, les modes
35 d'administration envisagés sont par voie intraveineuse, sous-cutanée,

intradermique, transdermique, intramusculaire, orale, nasale, vaginale, oculaire, buccale, pulmonaire etc.

[00077] 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.

[00078] 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.

[00079] L'invention concerne également une composition pharmaceutique selon l'invention telle que décrite précédemment, caractérisée en ce qu'elle est administrable sous forme de stent, de film ou « coating » de biomatériaux implantables, d'implant.

15

Exemple 1 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le leucinate de cholestérol

[00080] Le leucinate de cholestérol, sel d'acide paratoluènesulfonique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[00081] 8 g (soit 148 mmol de fonctions hydroxyles) de dextrane de masse molaire moyenne en poids d'environ 40 kg/mol (Fluka) sont solubilisés dans de l'eau à 42 g/L. A cette solution sont ajoutés 15 mL de NaOH 10 N (148 mmol NaOH). Le mélange est porté à 35°C puis 23 g (198 mmol) de chloroacétate de sodium sont ajoutés. La température du milieu réactionnel est portée à 60°C à 0,5°C/min puis maintenue à 60°C pendant 100 minutes. Le milieu réactionnel est dilué avec 200 mL d'eau, neutralisé à l'acide acétique et purifié par ultrafiltration sur membrane PES de 5 kD contre 6 volumes d'eau. La solution finale est dosée par extrait sec pour déterminer la concentration en polymère ; puis dosée par dosage acide/base dans de l'eau/acétone 50 / 50 (V/V) pour déterminer le degré de substitution en méthylcarboxylates.

[00082] D'après l'extrait sec : [polymère] = 31,5 mg/g

[00083] D'après le dosage acide/base : le degré de substitution des fonctions hydroxyles par des fonctions méthylcarboxylates est de 1,04 par motif saccharidique.

35

[00084] 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.

- 5 [00085] 8 g de dextraneméthylcarboxylique acide (37 mmol fonction méthylcarboxylique acide) sont solubilisés dans le DMF à 45 g/L puis refroidis à 0°C. 0,73 g de leucinate de cholestérol, sel d'acide paratoluènesulfonique (1 mmol) est mis en suspension dans du DMF à 100 g/L. 0,11 g de triéthylamine (1 mmol) est ensuite ajouté à cette
10 suspension. Une fois la solution de polymère à 0°C, 0,109 g (1 mmol) de NMM et 0,117 g (1 mmol) de EtOCOCl sont ensuite ajoutés. Après 10 min de réaction, la suspension de leucinate de cholestérol est ajoutée. Le milieu est ensuite maintenu à 4°C durant 15 minutes. Le milieu est ensuite chauffé à 30°C. Une fois à 30°C, le milieu est ensuite coulé dans une
15 solution de 3,76 g de NMM (37 mmol) à 5 g/L sous vive agitation. La solution est ultrafiltrée sur membrane PES 10 kD contre 10 volumes de solution NaCl 0.9% puis 5 volumes d'eau. La concentration de la solution de polymère est déterminée par extrait sec. Une fraction de solution est lyophilisée et analysée par RMN ^1H dans D_2O pour déterminer le le taux de
20 fonctions acides converties en amide de leucinate de cholestérol..

[00086] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 12,9 mg/g

[00087] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par le leucinate de cholesterol par unité saccharidique est de 0,03.

25 **Exemple 2 : Synthèse de dextranesuccinate de sodium modifié par le leucinate de cholestérol**

[00088] Le leucinate de cholestérol, sel d'acide paratoluènesulfonique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

- [00089] Le dextranesuccinate de sodium est obtenu à partir du dextrane
30 40 selon la méthode décrite dans l'article de Sanchez-Chaves et al. (Sanchez-Chaves, Manuel et al., Polymer 1998, 39 (13), 2751-2757.) Le taux de fonctions acides par unité glycosidique (i) est de 1,46 d'après la RMN ^1H dans $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$.

- [00090] La solution de dextranesuccinate de sodium est passée sur une
35 résine Purolite (anionique) pour obtenir le dextranesuccinique acide qui est ensuite lyophilisé pendant 18 heures.

[00091] 7,1 g de dextranesuccinique acide (23 mmol) sont solubilisés dans le DMF à 44 g/L. La solution est refroidie à 0°C. 0,77 g de leucinate de cholestérol, sel d'acide paratoluènesulfonique (1 mmol) est mis en suspension dans du DMF à 100 g/L. 0,12 g de triéthylamine (TEA) (1 mmol) est ensuite ajouté à cette suspension. Une fois la solution de polymère à 0°C, 0,116 g (1 mmol) de NMM et 0,124 g (1 mmol) de EtOCOCl sont ensuite ajoutés. Après 10 min de réaction, la suspension de leucinate de cholestérol est ajoutée. Le milieu est ensuite maintenu à 4°C durant 15 minutes. Le milieu est ensuite chauffé à 30°C. Une fois à 30°C, le milieu est ensuite coulé dans une solution de 3,39 g de NMM (33 mmol) à 5 g/L sous vive agitation. La solution est ultrafiltrée sur membrane PES 10 kD contre 10 volumes de solution NaCl 0,9% puis 5 volumes d'eau. La concentration de la solution de polymère est déterminée par extrait sec. Une fraction de solution est lyophilisée et analysée par RMN ¹H dans D₂O pour déterminer le taux de fonctions acides converties en amide de leucinate de cholestérol.

[00092] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 17,5 mg/g

[00093] D'après la RMN ¹H : la fraction molaire des acides modifiés par le leucinate de cholesterol par unité saccharidique est de 0,05.

Exemple 3 : Synthèse de pullanesucciniquecarboxylate de sodium modifié par le leucinate de cholestérol

[00094] Le leucinate de cholestérol, sel d'acide paratoluènesulfonique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[00095] 10 g de pullulane de masse molaire moyenne en poids d'environ 100 kg/mol (Fluka) est solubilisé dans le DMSO à une concentration de 400 mg/g à 60°C. Cette solution est équilibrée à 40°C puis deux solutions de DMF contenant 9,27 g d'anhydride succinique (371 g/L) et 9,37 g de NMM (375 g/L) sont ajoutées à la solution de pullulane. Le temps de réaction est de 240 min à partir de l'ajout de la solution de NMM. La solution ainsi obtenue est diluée dans 1 L d'eau et ultrafiltrée sur membrane en PES de 10 kD contre de une solution de chlorure de sodium à 0,9% puis contre de l'eau bidistillée. La concentration en pullanesucciniquecarboxylate de sodium dans la solution finale est déterminée par extrait sec et le produit sec est analysé par RMN ¹H dans

D₂O/NaOD pour déterminer le taux de fonctions hydroxyles converties en ester succinique par unité saccharidique.

[00096] D'après l'extrait sec : [pullulanesucciniquecarboxylate] = 15,8 mg/g

- 5 [00097] D'après la RMN ¹H : la fraction molaire des alcools porteurs d'un succinate de sodium par unité saccharidique est de 1,35.

[00098] La solution de pullulanesucciniquecarboxylate de sodium est acidifiée sur une résine Purolite (anionique) puis est ensuite lyophilisée pendant 18 heures.

- 10 [00099] 5 g de pullulanesucciniqueacide sont solubilisés dans le DMF à 51 g/L. La solution est refroidie à 0°C. 0,08 g de NMM et 0,08 g de EtOCOCl sont ensuite ajoutés. Après 10 min de réaction, une suspension contenant 0,51 g de leucinate de cholestérol, sel d'acide paratoluènesulfonique (APTS) et 0,08 g de TEA dans 5,1 mL de DMF est
15 ajoutée. Le temps de greffage est de 20 min après l'introduction du dérivé cholestérol. Le milieu est ensuite chauffé à 30°C puis coulé dans une solution aqueuse de NMM (2,09 g à 5 mg/mL). La solution obtenue est diluée en ajoutant 100 mL d'eau puis diafiltrée sur membrane PES de 10 kD contre de une solution de chlorure de sodium à 0.9% puis contre de l'eau
20 bidistillée. La concentration en pullulanesucciniquecarboxylate de sodium modifié par le leucinate de cholestérol dans la solution finale est déterminée par extrait sec et le produit sec est analysé par RMN ¹H dans D₂O/NaOD pour déterminer le taux de fonctions acides converties en amide de leucinate de cholestérol.

- 25 [000100] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 2,9 mg/g

[000101] D'après la RMN ¹H : la fraction molaire des acides modifiés par le leucinate de cholesterol par unité saccharidique est de 0,04.

Exemple 4 : Synthèse de pullulanesucciniquecarboxylate de sodium modifié par l'alaninate d'alcool cétylique

- 30 [000102] L'alaninate d'alcool cétylique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[000103] Une solution de pullulanesucciniquecarboxylate de sodium obtenue comme décrit à l'exemple 3 est acidifiée sur une résine Purolite

- 35 (anionique) puis est ensuite lyophilisée pendant 18 heures.

[000104] 5 g de pullulanesucciniqueacide sont solubilisés dans le DMF à 51 g/L. La solution est refroidie à 0°C. 0,32 g de NMM (3,2 mmol) et 0,32 g de EtOCOCl (3,2 mmol) sont ensuite ajoutés. Après 10 min de réaction, une suspension contenant 1,55 g d'alaninate d'alcool cétylique, sel d'acide paratoluènesulfonique (3,2 mmol) et 0,32 g de TEA (3,2 mmol) dans 20,4 mL de DMF est ajoutée. Le temps de greffage est de 20 min après l'introduction du dérivé alcool cétylique. Le milieu est ensuite chauffé à 30°C puis coulé dans une solution aqueuse de NMM (8,36 g à 5 mg/mL). La solution obtenue est diluée en ajoutant 100 mL d'eau puis diafiltrée sur membrane PES de 10 kD contre une solution de chlorure de sodium à 0,9% puis contre de l'eau bidistillée. La concentration en pullulanesucciniquedecarboxylate de sodium modifié par l'alaninate d'alcool cétylique dans la solution finale est déterminée par extrait sec et le produit sec est analysé par RMN ^1H dans $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ pour déterminer le taux de fonctions acides converties en amide d'alaninate d'alcool cétylique.

[000105] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 5,2 mg/g

[000106] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par l'alaninate d'alcool cétylique par unité saccharidique est de 0,18.

Exemple 5 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par l'alaninate de dodécanol

[000107] L'alaninate de dodécanol, sel d'acide paratoluènesulfonique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[000108] Une solution de dextranéméthylcarboxylate de sodium obtenue comme décrite à l'exemple 1 est passée sur une résine Purolite (anionique) pour obtenir le dextranéméthylcarboxylique acide qui est ensuite lyophilisé pendant 18 heures.

[000109] 5 g de dextranéméthylcarboxylique acide (23,2 mmol fonction méthylcarboxylique acide) sont solubilisés dans le DMF à 45 g/L puis refroidis à 0°C. 1,99 g d'alaninate de dodécanol, sel d'acide paratoluènesulfonique (4,6 mmol) est mis en suspension dans du DMF à 100 g/L. 0,47 g de triéthylamine (4,6 mmol) est ensuite ajouté à cette suspension. Une fois la solution de polymère à 0°C, 2,35 g (23,2 mmol) de NMM et 2,52 g (23,2 mmol) de EtOCOCl sont ensuite ajoutés. Après 10 min de réaction, la suspension d'alaninate de dodécanol est ajoutée. Le milieu est ensuite maintenu à 4°C durant 15 minutes. Le milieu est ensuite

chauffé à 30°C. Une fois à 30°C, une solution d'imidazole (3,2 g dans 9,3 mL d'eau) est ajoutée dans le milieu réactionnel. La solution de polymère est ultrafiltrée sur membrane PES 10 kD contre 10 volumes de solution NaCl 0,9% puis 5 volumes d'eau. La concentration de la solution

5 de polymère est déterminée par extrait sec. Une fraction de solution est lyophilisée et analysée par RMN ^1H dans D_2O pour déterminer le taux de fonctions acides modifiées par l'alaninate de dodécanol.

[000110] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 22 mg/g

[000111] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par

10 l'alaninate de dodécanol par unité saccharidique est de 0,19.

[000112] **Exemple 6 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le glycinate de L-menthol**

[000113] Le glycinate de L-menthol, sel d'acide paratoluènesulfonique est

15 obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[000114] L'huile obtenue contenant des impuretés, le sel d'amine est neutralisé par un ajout stoechiométrique de soude, et extrait avec du diisopropyle d'éther. La phase organique est alors acidifiée avec une solution d'HCl dans l'éther éthylique et le sel HCl du dérivé mentholé extrait

20 avec de l'eau. Après lyophilisation, le glycinate de L-menthol, sel d'acide chlorhydrique, est obtenu.

[000115] Une solution de dextranéméthylcarboxylate de sodium obtenue comme décrite à l'exemple 1 est passée sur une résine Purolite (anionique) pour obtenir le dextranéméthylcarboxylique acide qui est ensuite lyophilisé

25 pendant 18 heures.

[000116] 12 g de dextranéméthylcarboxylique acide (59,22 mmol fonction méthylcarboxylique acide) sont solubilisés dans le DMF à 60 g/L puis refroidis à 0°C. 1,32 g de glycinate de L-menthol, sel d'acide chlorhydrique (5,29 mmol) est mis en suspension dans du DMF à 100 g/L. 0,54 g de

30 triéthylamine (5,29 mmol) est ensuite ajouté à cette suspension. Une fois la solution de polymère à 0°C, une solution de NMM (6,59 g, 65,1 mmol) dans le DMF (530 g/L) et 7,07 g (65,1 mmol) de EtOCOCl sont ensuite ajoutés. Après 10 minutes de réaction, la suspension de glycinate de L-menthol est ajoutée. Le milieu est ensuite maintenu à 10°C pendant 45

35 minutes. Le milieu est ensuite chauffé à 50°C. Une solution d'imidazole (14,7 g dans 22 mL d'eau) et 65 mL d'eau sont ajoutés dans le milieu

réactionnel. La solution de polymère est ultrafiltrée sur membrane PES 10 kD contre 6 volumes de solution NaCl 0,9 %, 4 volumes de soude 0,01N, 7 volumes de solution NaCl 0,9 % puis 3 volumes d'eau. La concentration de la solution de polymère est déterminée par extrait sec. Une fraction de

[000117] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 25,7 mg/g

[000118] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par le glycinate de L-menthol par unité saccharidique est de 0,09.

Exemple 7 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par l'alaninate de ($\pm$) α -tocophérol

[000119] L'alaninate de ($\pm$) α -tocophérol, sel d'acide chlorhydrique est obtenu selon le procédé décrit dans J. Pharm. Sci. 1995, 84(1), 96-100.

[000120] Par un procédé similaire à celui décrit à l'exemple 6, un dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par l'alaninate de ($\pm$) α -tocophérol est obtenu.

[000121] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 28,1 mg/g

[000122] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par l'alaninate de ($\pm$) α -tocophérol par unité saccharidique est de 0,04.

Exemple 8 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le glycinate d'octanol

[000123] Le glycinate d'octanol, sel d'acide paratoluènesulfonique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[000124] Par un procédé similaire à celui décrit à l'exemple 6, un dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le glycinate d'octanol est obtenu.

[000125] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 34,1 mg/g

[000126] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par le glycinate d'octanol par unité saccharidique est de 0,27.

Exemple 9 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'octanol

[000127] Le phénylalaninate d'octanol, sel d'acide paratoluènesulfonique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[000128] Par un procédé similaire à celui décrit à l'exemple 6, un dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'octanol est obtenu.

[000129] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 30,2 mg/g

- 5 [000130] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par le phénylalaninate d'octanol par unité saccharidique est de 0,09.

Exemple 10 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'alcool benzylique

- 10 [000131] Par un procédé similaire à celui décrit à l'exemple 6, un dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'alcool benzylique est obtenu en utilisant le phénylalaninate d'alcool benzylique, sel d'acide chlorhydrique (Bachem).

[000132] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 47,7 mg/g

- 15 [000133] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par le phénylalaninate d'alcool benzylique par unité saccharidique est de 0,41.

Exemple 11 : Synthèse de dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'isohexanol.

- 20 [000134] Le phénylalaninate d'isohexanol, sel d'acide paratoluène sulfonique est obtenu selon le procédé décrit dans le brevet (Kenji, M et al., US4826818).

[000135] Par un procédé similaire à celui décrit à l'exemple 6, un dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'isohexanol est obtenu.

[000136] D'après l'extrait sec : [polymère modifié] = 29,8 mg/g

[000137] D'après la RMN ^1H : la fraction molaire des acides modifiés par le phénylalaninate d'isohexanol par unité saccharidique est de 0,18.

- 30 **Exemple 12 : Solubilisation d'un lyophilisat de BMP-2.**

[000138] Un essai de solubilisation d'un lyophilisat de Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP-2) a été développé afin de mettre en évidence le pouvoir solubilisant de différents polymères à pH physiologique. La BMP-2 est solubilisée dans un tampon contenant du sucrose (Sigma), de la glycine (Sigma), de l'acide glutamique (Sigma), du chlorure de sodium (Riedel-de-Haën), du polysorbate 80 (Fluka). Le pH de cette solution est ajusté à pH 4,5 par ajout de soude puis est la solution lyophilisée. 283,2 mg de lyophilisat contiennent environ 12 mg de BMP-2.

35

[000139] Les polymères selon l'invention sont mis en œuvre dans ce test. A titre comparatif, un polymère décrit dans la demande de brevet FR0702316 est également mis en œuvre dans ce test, le dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'éthyle.

[000140] Le test consiste à introduire environ exactement 4 mg de lyophilisat contenant 0,168 mg de BMP-2. Le lyophilisat est ensuite repris par 210 µL d'une solution aqueuse pour atteindre une concentration finale en BMP-2 de 0,8 mg/mL à pH physiologique, la concentration finale de polymère étant de 5 mg/ml.

[000141] L'aspect visuel de la solution est noté après 5 minutes d'agitation à vitesse réduite sur rouleau.

[000142] Les résultats pour différentes solutions sont rassemblés dans le tableau suivant.

Solution	Aspect visuel	pH
Eau	limpide	4.3
Exemple 9	limpide	7.4
Exemple 8	limpide	7.5
Exemple 5	limpide	7.4
Contre-exemple FR0702316	trouble	7.5

[000143] L'ajout d'eau conduit à une solution limpide de BMP-2 mais à pH acide.

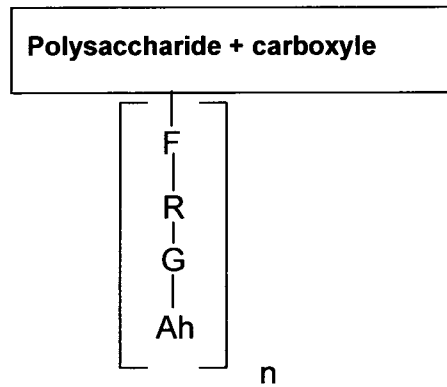
[000144] Ce test permet de mettre en évidence l'amélioration de la solubilisation de la BMP-2 à pH physiologique par les polymères selon l'invention. En revanche, le dextranéméthylcarboxylate de sodium modifié par le phénylalaninate d'éthyle ne permet pas d'obtenir une solution limpide de BMP-2.

REVENDICATIONS

- 5 1. Polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles dont un au moins est substitué par un dérivé d'alcool hydrophobe, noté Ah :
- ledit alcool (Ah) étant greffé ou lié au polysaccharide anionique par un bras de couplage R, ledit bras de couplage étant lié au polysaccharide anionique par une fonction F ladite fonction F résultant du couplage entre la fonction amine du bras de liaison R et une fonction carboxyle du polysaccharide anionique, et ledit bras de couplage étant lié à l'alcool hydrophobe par une fonction G résultant du couplage entre une fonction carboxyle, isocyanate, thioacide ou alcool du bras de couplage et une fonction de l'alcool hydrophobe, les fonctions carboxyles du polysaccharide anionique non substituées étant sous forme de carboxylate de cation, alcalin de préférence comme Na⁺ ou K⁺.
 - F étant une fonction amide,
 - G étant soit une fonction ester, thioester, carbonate, carbamate,
 - R étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée, éventuellement comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et ayant au moins une fonction acide,
 - Ah étant un reste d'un alcool hydrophobe, produit du couplage entre la fonction hydroxyle de l'alcool hydrophobe et au moins une fonction électrophile portée par le groupement R.
- 30 ledit polysaccharide comportant des groupes fonctionnels carboxyles étant amphiphile à pH neutre.
2. Polysaccharide selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les polysaccharides comportant des groupes

20

fonctionnels carboxyles dont un au moins est substitué par un dérivé d'alcool hydrophobe, de formule générale I :



5 Formule I

- dans laquelle, n représente la fraction molaire des fonctions carboxyles du polysaccharide substituées par F-R-G-Ah et est compris entre 0,01 et 0,7,

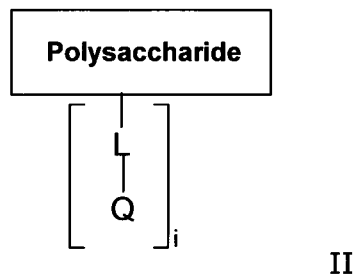
10 - F, R, G et Ah répondant aux définitions données ci-dessus, et lorsqu'une ou des fonctions carboxyles du polysaccharide ne sont pas substituée par F-R-G-Ah, alors la ou les fonctions carboxyles du polysaccharide sont des carboxylates de cation, alcalin de préférence comme Na⁺ ou K⁺.

15

3. Polysaccharide selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le polysaccharide anionique est naturellement porteur de fonctions acides et est choisi dans le groupe constitué par l'alginate, le hyaluronane, le galacturonane.

20

4. Polysaccharide selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le polysaccharide anioniques est un polysaccharide anionique synthétique obtenu à partir d'un polysaccharide naturel anionique ou non anionique (neutre) sur lequel au moins une fonction acide a été greffée de formule générale II.



- 10 - le polysaccharide naturel étant choisi dans le groupe des polysaccharides constitués en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,6) et/ou (1,4) et/ou (1,3) et/ou (1,2),
- L étant une liaison résultant du couplage entre le bras de liaison Q et une fonction -OH du polysaccharide neutre ou anionique, étant
- 15 soit une fonction ester, thionoester, carbonate, carbamate ou éther,
- Q étant une chaîne comprenant entre 1 et 18 carbones, éventuellement branchée et/ou insaturée comprenant un ou plusieurs hétéroatomes, tels que O, N ou/et S, et ayant au moins une fonction acide,
- 20 CO₂H

5. Polysaccharide selon la revendication 4, caractérisé en ce que le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,6).

25

6. Polysaccharide selon la revendication 5, caractérisé en ce que le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,6) est le dextrane.

30

7. Polysaccharide selon la revendication 4, caractérisé en ce que le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4).

5 8. Polysaccharide selon la revendication 7, caractérisé en ce que le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4) est choisi dans le groupe constitué par le pullulane, l'alginate, le hyaluronane, le xylane, le galacturonane ou une cellulose soluble dans l'eau.

10

9. Polysaccharide selon la revendication 4, caractérisé en ce que le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,3).

15

10. Polysaccharide selon la revendication 9, caractérisé en ce que le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,3) est un curdlane.

11. Polysaccharide selon la revendication 4, caractérisé en ce que le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,2).

20

12. Polysaccharide selon la revendication 11, caractérisé en ce que le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,2) est une inuline

25

13. Polysaccharide selon la revendication 4, caractérisé en ce que le polysaccharide est constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4) et (1,3)

30

14. Polysaccharide selon la revendication 13, caractérisé en ce que, le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4) et (1,3) est un glucane.

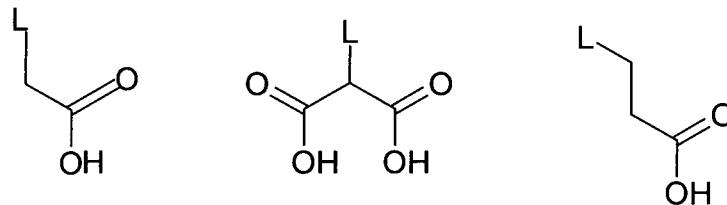
35

15. Polysaccharide selon la revendication 4, caractérisé en ce que le polysaccharide est constitué en majorité de monomères

glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4), et (1,3) et (1,2).

16. Polysaccharide selon la revendication 15, caractérisé en ce que le polysaccharide constitué en majorité de monomères glycosidiques liés par des liaisons glycosidiques de type (1,4), et (1,3) et (1,2) est le mannane.

17. Polysaccharide selon l'une quelconque des revendications 4 à 16, caractérisé en ce que le groupe Q est choisi dans les groupes suivants :



18. Polysaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, caractérisé en ce que le groupement R est choisi parmi les acides aminés.

19. Polysaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, caractérisé en ce que le groupement R est choisi parmi les alpha acides aminés.

20. Polysaccharide selon la revendication 19, caractérisé en ce que les alpha acides aminés sont choisis parmi les alpha acides aminés naturels dont la leucine, l'alanine, l'iso-leucine, la glycine, la phénylalanine, le tryptophane ou la valine.

21. Polysaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, caractérisé en ce que l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools gras.

22. Polysaccharide selon la revendication 21, caractérisé en ce que l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools constitués d'une chaîne alkyle insaturée ou saturée comprenant de 4 à 18 carbones.

5 23. Polysaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 21, caractérisé en ce que l'alcool gras est choisi parmi le méristyl, le cétyl, le stéaryl, le cétéaryl, le butyl, l'oléyl, la lanoline.

10 24. Polysaccharide selon la revendication 21, caractérisé en ce que l'alcool hydrophobe est le cholestérol.

25. Polysaccharide selon la revendication 21, caractérisé en ce que l'alcool hydrophobe est le menthol.

15 26. Polysaccharide selon la revendication 21, caractérisé en ce que l'alcool hydrophobe est choisi parmi les tocophérols, de préférence l'alpha-tocophérol.

20 27. Polysaccharide selon la revendication 21, caractérisé en ce que l'alcool hydrophobe est choisi parmi les alcools porteurs de groupe aryle.

25 28. Polysaccharide selon la revendication 27, caractérisé en ce que l'alcool porteur de groupe aryle est choisi parmi l'alcool benzylique, l'alcool phénéthylque.

29. Utilisation d'un polysaccharide fonctionnalisés selon l'une quelconque des revendications précédentes pour la préparation de compositions pharmaceutiques telles que décrites précédemment

30 30. Composition pharmaceutique comprenant un polysaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 29 et au moins un principe actif.

31. Composition pharmaceutique selon la revendication 30, caractérisée en ce qu'elle est administrable par voie orale, nasale, vaginale, buccale.

5 32. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 30 ou 31, caractérisée 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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2009/007054

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C08B37/02 C08B37/00 A61K31/715 A61K31/721 A61K47/36

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 practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2008/038111 A (PROTEINS & PEPTIDES MAN [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA GERARD [FR]) 3 April 2008 (2008-04-03) claims 1-13; examples 1-6 -----	1-32
Y	US 2002/143160 A1 (SUNAMOTO JUNZO [JP] ET AL) 3 October 2002 (2002-10-03) examples paragraphs [0018] - [0025]; claim 2 -----	1-28
Y	EP 1 222 926 A (POLYGENE LTD [IL]) 17 July 2002 (2002-07-17) example 1 -----	1-32
	----- -/-	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 décembre 2009

Date of mailing of the international search report

18/12/2009

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

Gerber, Myriam

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2009/007054

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MA ET AL: "Evaluation of blood circulation of polysaccharide surface-decorated PLA nanoparticles" CARBOHYDRATE POLYMERS, APPLIED SCIENCE PUBLISHERS, LTD. BARKING, GB, vol. 72, no. 1, 11 January 2008 (2008-01-11), pages 75-81, XP022418394 ISSN: 0144-8617 *2.2. Synthesis of cholesterol hydrophobically modified dextran* *Scheme 1* table 1	1-32
A	DE 41 36 324 A1 (HOECHST AG [DE]) 13 May 1993 (1993-05-13) claim 1; examples 1-6	1-32
Y	EP 0 609 968 A (FIDIA SPA [IT]) 10 August 1994 (1994-08-10) page 7, line 46; claim 5	1-32
A	EP 0 831 143 A (PROCTER & GAMBLE [US]) 25 March 1998 (1998-03-25) page 5, line 35; claim 10 claim 4	1-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2009/007054

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008038111 A	03-04-2008	AU 2007301670 A1 CA 2664650 A1 EP 2066700 A1 FR 2914305 A1 KR 20090060419 A US 2008234227 A1	03-04-2008 03-04-2008 10-06-2009 03-10-2008 12-06-2009 25-09-2008
US 2002143160 A1	03-10-2002	NONE	
EP 1222926 A	17-07-2002	US 2002146826 A1	10-10-2002
DE 4136324 A1	13-05-1993	NONE	
EP 0609968 A	10-08-1994	NONE	
EP 0831143 A	25-03-1998	BR 9712078 A CA 2265902 A1 JP 2000503709 T WO 9812236 A1	24-08-1999 26-03-1998 28-03-2000 26-03-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2009/007054

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

INV. C08B37/02 C08B37/00 A61K31/715 A61K31/721 A61K47/36

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, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 2008/038111 A (PROTEINS & PEPTIDES MAN [FR]; SOULA REMI [FR]; SOULA GERARD [FR]) 3 avril 2008 (2008-04-03) revendications 1-13; exemples 1-6 -----	1-32
Y	US 2002/143160 A1 (SUNAMOTO JUNZO [JP] ET AL) 3 octobre 2002 (2002-10-03) exemples alinéas [0018] - [0025]; revendication 2 -----	1-28
Y	EP 1 222 926 A (POLYGENE LTD [IL]) 17 juillet 2002 (2002-07-17) exemple 1 ----- -/-	1-32



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

10 décembre 2009

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

18/12/2009

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

Gerber, Myriam

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/IB2009/007054

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	MA ET AL: "Evaluation of blood circulation of polysaccharide surface-decorated PLA nanoparticles" CARBOHYDRATE POLYMERS, APPLIED SCIENCE PUBLISHERS, LTD. BARKING, GB, vol. 72, no. 1, 11 janvier 2008 (2008-01-11), pages 75-81, XP022418394 ISSN: 0144-8617 *2.2. Synthesis of cholesterol hydrophobically modified dextran* *Scheme 1* tableau 1	1-32
A	DE 41 36 324 A1 (HOECHST AG [DE]) 13 mai 1993 (1993-05-13) revendication 1; exemples 1-6	1-32
Y	EP 0 609 968 A (FIDIA SPA [IT]) 10 août 1994 (1994-08-10) page 7, ligne 46; revendication 5	1-32
A	EP 0 831 143 A (PROCTER & GAMBLE [US]) 25 mars 1998 (1998-03-25) page 5, ligne 35; revendication 10 revendication 4	1-32

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/IB2009/007054

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2008038111	A	03-04-2008	AU 2007301670 A1	03-04-2008
			CA 2664650 A1	03-04-2008
			EP 2066700 A1	10-06-2009
			FR 2914305 A1	03-10-2008
			KR 20090060419 A	12-06-2009
			US 2008234227 A1	25-09-2008
US 2002143160	A1	03-10-2002	AUCUN	
EP 1222926	A	17-07-2002	US 2002146826 A1	10-10-2002
DE 4136324	A1	13-05-1993	AUCUN	
EP 0609968	A	10-08-1994	AUCUN	
EP 0831143	A	25-03-1998	BR 9712078 A	24-08-1999
			CA 2265902 A1	26-03-1998
			JP 2000503709 T	28-03-2000
			WO 9812236 A1	26-03-1998