

## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets 7 : <b>C08B 37/16</b>		A1	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 00/66635</b>
			(43) Date de publication internationale: 9 novembre 2000 (09.11.00)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR00/01102 (22) Date de dépôt international: 26 avril 2000 (26.04.00)		(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(30) Données relatives à la priorité: 99/05460 29 avril 1999 (29.04.99) FR		Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>	
(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): COMMIS- SARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31-33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).			
(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): AUZELY-VELTY, Rachel [FR/FR]; 8, rue Paul Breton, F-38800 le Pont de Claix (FR). PERLY, Bruno [FR/FR]; 7, rue Auguste Bernard, F-78320 la Verrière (FR). DJEDAINI-PILARD, Florence [FR/FR]; 21, rue du Bas des Fiefs, F-91150 Etampes (FR).			
(74) Mandataire: DES TERMES, Monique; Brevatome, 3, rue du Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).			
(54) Title: AMPHIPHILE CYCLODEXTRINS, PREPARATION AND USE THEREOF FOR SOLUBILISING ORGANISED SYSTEMS AND INCORPORATING HYDROPHOBIC MOLECULES			
(54) Titre: CYCLODEXTRINES AMPHIPHILES, LEUR PREPARATION ET LEUR UTILISATION POUR SOLUBILISER DES SYSTEMES ORGANISES ET INCORPORER DES MOLECULES HYDROPHOBES			
(57) Abstract			
<p>The invention concerns cyclodextrin derivatives of formula (I) wherein: R<sup>1</sup> represents a group derived from a steroid; R<sup>2</sup> represents an alkyl or an aryl group optionally substituted; R<sup>3</sup> represents H or R<sup>2</sup>; all the R<sup>4</sup> represent OR<sup>2</sup>, or one of the R<sup>4</sup> represents -NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CONHR<sup>1</sup>. Said derivatives are useful for transporting hydrophobic molecules for pharmaceutical or cosmetic uses, by forming organised systems in an aqueous medium, independently or associated with phospholipids.</p>			

**(57) Abrégé**

L'invention concerne des dérivés de cyclodextrine de formule (I) dans laquelle: R<sup>1</sup> représente un groupe dérivé d'un stéroïde, R<sup>2</sup> représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué, – R<sup>3</sup> représente H ou R<sup>2</sup>, tous les R<sup>4</sup> représentent OR<sup>2</sup>, ou l'un des R<sup>4</sup> représente –NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CONHR<sup>1</sup>. Ces dérivés permettent d'assurer le transport de molécules hydrophobes pour des applications pharmaceutiques ou cosmétiques, en formant des systèmes organisés en milieu aqueux, seuls ou avec des phospholipides.

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publient des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		

**CYCLODEXTRINES AMPHIPHILES, LEUR PREPARATION ET LEUR UTILISATION POUR SOLUBILISER DES SYSTEMES ORGANISES ET INCORPORER DES MOLECULES HYDROPHOBES.**

**DESCRIPTION**

**5 Domaine technique**

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de cyclodextrines, utilisables en particulier pour l'incorporation en milieu aqueux de composés chimiques hydrophobes tels que des molécules 10 pharmaceutiquement actives, des molécules à applications cosmétiques et des molécules utilisées comme agents de contraste pour l'imagerie médicale.

De façon plus précise, elle concerne des dérivés amphiphiles de cyclodextrines présentant des 15 propriétés d'auto-organisation en milieu aqueux et étant susceptibles de s'incorporer dans des systèmes de tensioactifs organisés conduisant à la formation de systèmes mixtes.

Cette incorporation dans des systèmes de 20 tensioactifs organisés tels que des petites vésicules de phospholipides, est destinée à permettre le transport de molécules hydrophobes incluses dans la cyclodextrine, par exemple d'un principe actif, en particulier par voie transmembranaire, par exemple 25 transdermique.

**Etat de la technique antérieure**

Les cyclodextrines ou cyclomaltooligosaccharides sont des composés d'origine naturelle formés par l'enchaînement de 6, 7 ou 8 unités glucose liées en  $\alpha-1\rightarrow4$ . De nombreux travaux ont montré que ces composés pouvaient former des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes permettant ainsi leur solubilisation dans des milieux aqueux. De nombreuses applications ont été proposées pour tirer profit de ce phénomène, en particulier dans le domaine pharmaceutique, comme il est décrit par D. Duchêne, dans « Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins », paru dans « Cyclodextrins and their industrial uses », Editions de Santé, Paris 1987, pp. 213-257 [1]. Des compositions pharmaceutiques utilisant des cyclodextrines ont déjà été commercialisées au Japon, en Italie et plus récemment en France, par exemple par Pierre Fabre Médicament pour le Brexin® qui est un complexe d'inclusion du Piroxicam dans la  $\beta$ -cyclodextrine.

Parmi les cyclodextrines utilisables, la  $\beta$ -cyclodextrine (comportant 7 unités glucose), est la plus adaptée au niveau de la taille de sa cavité et la moins chère des trois. Des modifications chimiques de la  $\beta$ -cyclodextrine ont été décrites afin de la rendre amphiphile dans le but de l'incorporer à des systèmes organisés.

Ainsi, des cyclodextrines amphiphiles portant de multiples chaînes sur la face primaire ont été étudiées. A. Yabe et coll ont décrit dans « Thin

Solid Films, (1988), 160, pp. 33-41 [2], le dérivé per(6-dodécylamino-6-désoxy)- $\beta$ -cyclodextrine afin de former des couches de Langmuir-Blodgett stables. De même, L. Jullien et coll ont décrit dans J. Chem. Soc. 5 Perkin Trans 2, 1993, pp. 1011-1022 [3], des dérivés de  $\beta$ -cyclodextrine comportant des chaînes aliphatiques situées en positions primaires et secondaires, en vue d'incorporer ces dérivés de cyclodextrines dans des vésicules de phosphatidylcholine. Ces dérivés sont 10 amphiphiles et peuvent être incorporés dans les vésicules, mais la cavité interne de la cyclodextrine n'est plus accessible en raison du fort encombrement stérique des chaînes aliphatiques. Par conséquent, ces dérivés sont incapables d'inclure des molécules 15 hydrophobes, en particulier des molécules de principe actif.

Récemment, il a été montré par A. Gulik et coll dans Langmuir (1998), 14, pp. 1050-1057 [4], que des cyclodextrines dites à « jupes », portant des 20 chaînes d'acides gras greffées sur les hydroxyles secondaires pouvaient former des nanosphères stables. Ces super-assemblages moléculaires semblent présenter des propriétés d'encapsulation et de relargage très 25 prometteuses en raison des effets cumulatifs de la spécificité de taille et de transport des cyclodextrines, d'une part, et d'organisation des nanoparticules, d'autre part. Toutefois, il faut souligner que la synthèse et surtout la purification de telles cyclodextrines restent très difficiles et 30 nécessitent de longues étapes de purification conduisant à de faibles rendements. Il est évident que

les propriétés d'organisation supramoléculaire sont drastiquement liées à la pureté chimique des dérivés de cyclodextrines amphiphiles.

J. Lin et coll ont décrit dans 5 FR-A-2 736 056 [5] et dans J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, (1998), pp. 2638-2646 [6], la synthèse de dérivés de cyclodextrines appelées « Bilboquets » comportant une ou plusieurs chaînes aliphatiques leur conférant des propriétés amphiphiles sans conduire pour autant au 10 phénomène d'auto-inclusion de la ou des chaînes dans la cyclodextrine. De ce fait, on peut obtenir à partir de tels dérivés des complexes d'inclusion contenant une molécule hydrophobe et l'incorporation de ces complexes 15 dans des vésicules phospholipidiques. Toutefois, ces molécules se sont révélées peu stables en milieu physiologique, soit à des pH égaux et supérieurs à 7, et leurs capacités d'incorporation dans des systèmes organisés restent limitées. De plus, ces molécules Bilboquets ne s'auto-organisent pas spontanément en 20 milieu aqueux pour donner des particules de taille et de forme bien définies.

#### **Exposé de l'invention**

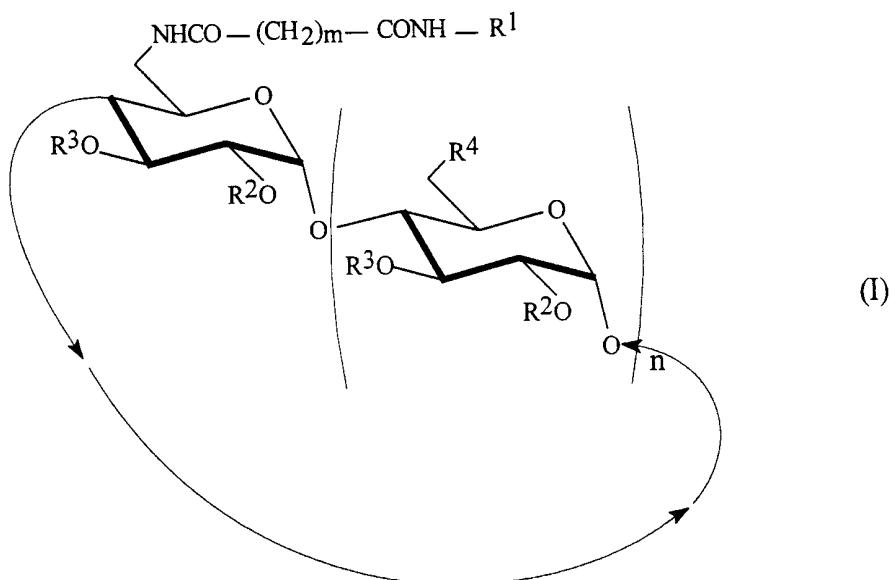
La présente invention a précisément pour objet des dérivés amphiphiles de cyclodextrines, 25 stables en milieu physiologique, susceptibles d'inclure des composés hydrophobes, ayant de bonnes capacités d'incorporation dans des systèmes organisés et présentant de plus des propriétés d'auto-organisation en milieu aqueux.

Selon l'invention, le dérivé amphiphile de cyclodextrine répondant à la formule :

5

10

15

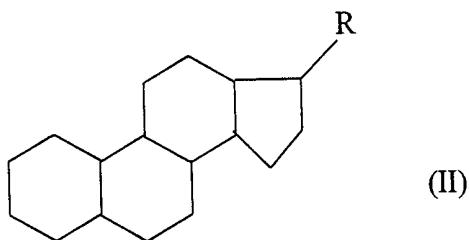


dans laquelle :

- $R^1$  représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
- 20 -  $R^2$  représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,
- $R^3$  représente H ou  $R^2$ ,
- tous les  $R^4$  représentent  $OR^2$ , ou
- l'un des  $R^4$  représente  $-NHCO(CH_2)_mCONHR^1$  et les autres 25  $R^4$  représentent  $OR^2$  à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec  $R^4$  représentant  $OR^2$  entre les deux unités glucose comportant le substituant  $-NHCO-(CH_2)_m-CONH-R^1$ ,
- m est un nombre entier allant de 1 à 8, et
- 30 - n est égal à 5, 6 ou 7.

On rappelle que les stéroïdes sont des composés dérivant d'un noyau polycyclique de formule :

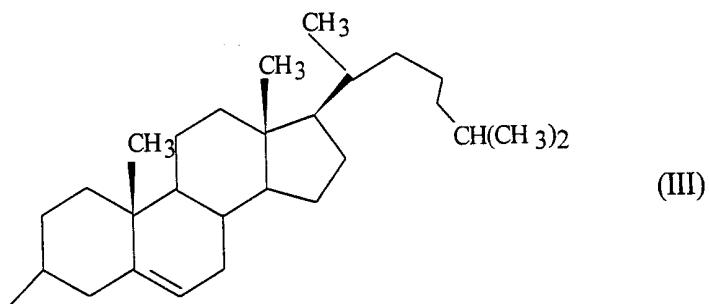
5



10 dans laquelle R représente un groupe hydrocarboné linéaire ou ramifié de 1 à 9 atomes de carbone, et dans lesquels le noyau polycyclique peut comporter une ou plusieurs doubles liaisons, et un ou plusieurs substituants choisis parmi CH<sub>3</sub>, OH et O, sur un ou plusieurs atomes de carbone des cycles

15 Dans le dérivé de cyclodextrine de l'invention, R<sup>1</sup> peut représenter un groupe dérivé des stérols par élimination du groupe hydroxyle du premier cycle, ayant un degré d'insaturation de 0 à 6. Il peut s'agir aussi de groupes dérivés de stérones. Par 20 exemple R<sup>1</sup> peut représenter un groupe dérivé du cholestérol tel que le groupe de formule :

25



30

Dans le dérivé de l'invention, on obtient les propriétés amphiphiles grâce à la présence d'un ou

deux substituants comportant un groupe dérivé d'un stéroïde.

5 Lorsque le dérivé comporte deux substituants de ce type, il est nécessaire qu'ils ne se trouvent pas sur deux unités glucose adjacentes de la cyclodextrine, en raison de leur encombrement.

Aussi, les deux unités glucose comportant ces substituants sont séparées par une ou deux unités glucose ayant un substituant OR<sup>2</sup>.

10 De préférence, le dérivé de cyclodextrine ne comporte qu'un seul substituant de ce type, tous les R<sup>4</sup> représentant OR<sup>2</sup>.

15 Dans le dérivé de cyclodextrine de l'invention, le groupe R<sup>2</sup> représente un groupement alkyle linéaire ou ramifié ou aryle, éventuellement substitué. Lorsque l'on utilise un groupe alkyle, celui-ci a généralement de 1 à 4 atomes de carbone et il est de préférence linéaire. Le groupe aryle peut être par exemple le groupe phényle ou le groupe benzyle. Les substituants éventuels de ces groupes alkyle ou aryle peuvent être par exemple des atomes d'halogènes et des groupes hydroxyle, carboxyle et amine. Avantageusement, R<sup>2</sup> représente le groupe méthyle.

25 R<sup>3</sup> peut représenter un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle identique ou différent de R<sup>2</sup>. De préférence, R<sup>3</sup> représente H.

30 Dans la formule (I) donnée ci-dessus, la chaîne aliphatique reliant le groupe dérivé d'un stéroïde à l'unité glucose peut comporter entre les

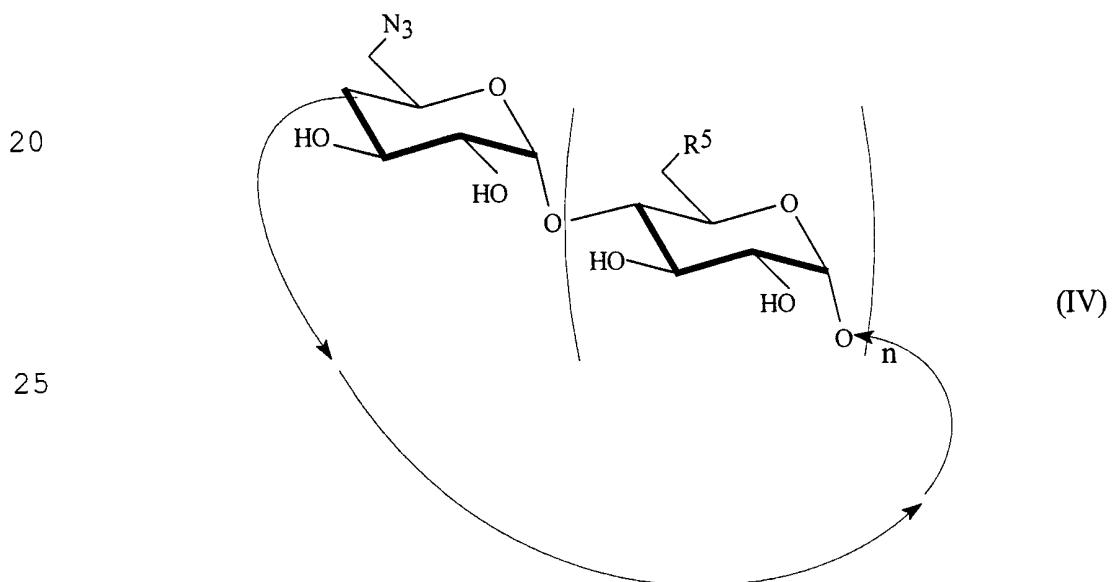
deux groupes amido, de 1 à 8 atomes de carbone. On obtient de bons résultats avec deux atomes de carbone, soit avec  $m$  égal à 2.

Les dérivés de cyclodextrine de l'invention 5 peuvent être des dérivés de l' $\alpha$ -,  $\beta$ - ou  $\gamma$ -CD. De préférence, on utilise les dérivés de la  $\beta$ -CD ce qui correspond dans la formule (I) donnée ci-dessus au cas où  $n$  est égal à 6.

Les dérivés de cyclodextrine de l'invention 10 peuvent être préparés par des procédés classiques à partir des dérivés mono-azido ou diazido de cyclodextrines correspondants.

Dans le cas où l'on veut préparer un dérivé 15 de formule (I) tel que défini ci-dessus avec  $R^3$  représentant un atome d'hydrogène, le procédé comprend les étapes suivantes :

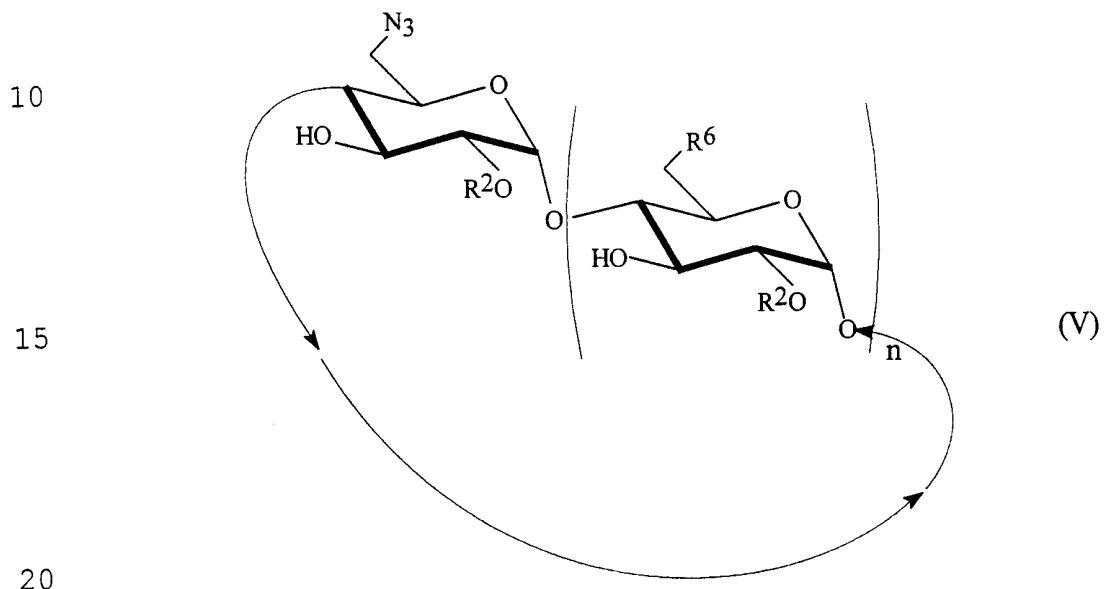
a) faire réagir un dérivé de formule :



dans laquelle tous les  $R^5$  représentent OH, ou l'un des  $R^5$  représente  $-N_3$  et les autres  $R^5$  représentent OH à

condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec  $R^5$  représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant  $N_3$ , et  $n$  est égal à 5, 6 ou 7,

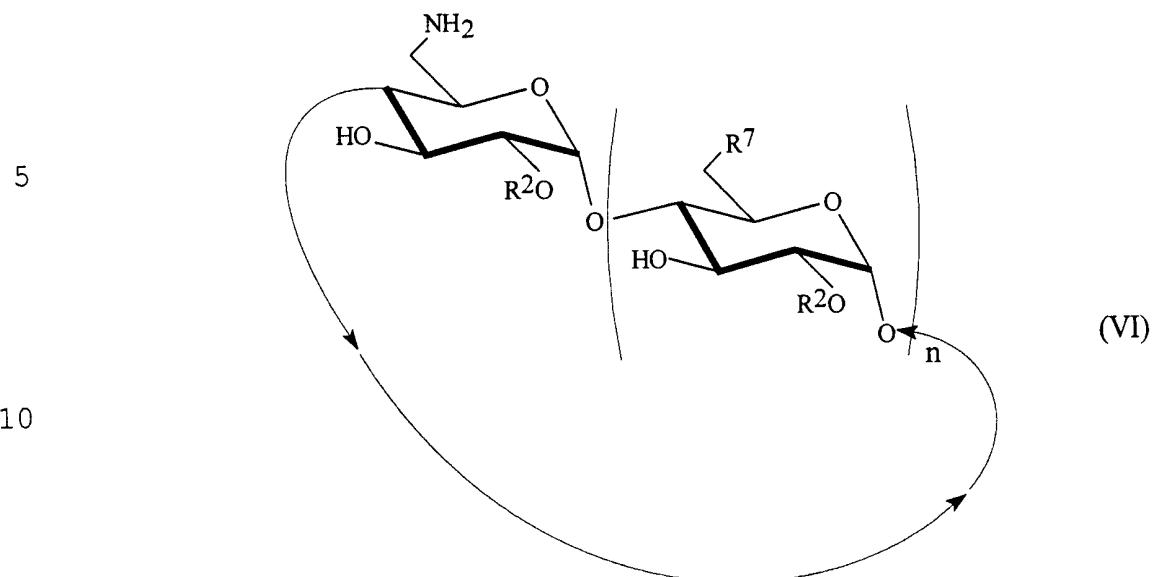
5 avec un sulfate de dialkyle  $SO_4R^2_2$  avec  $R^2$  ayant la signification donnée ci-dessus, en milieu basique pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :



dans laquelle tous les  $R^6$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  $R^6$  représente  $N_3$  et les autres  $R^6$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

25 b) effectuer une réaction de Staudinger sur le dérivé de formule (V) à l'aide de triphénylphosphine et d'ammoniaque pour convertir  $N_3$  en  $NH_2$  et obtenir le dérivé de formule :

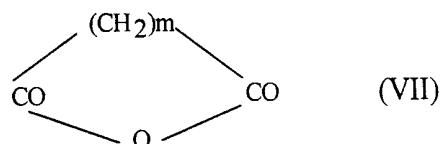
10



15 dans laquelle tous les  $R^7$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  $R^7$  représente  $NH_2$  et les autres  $R^7$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

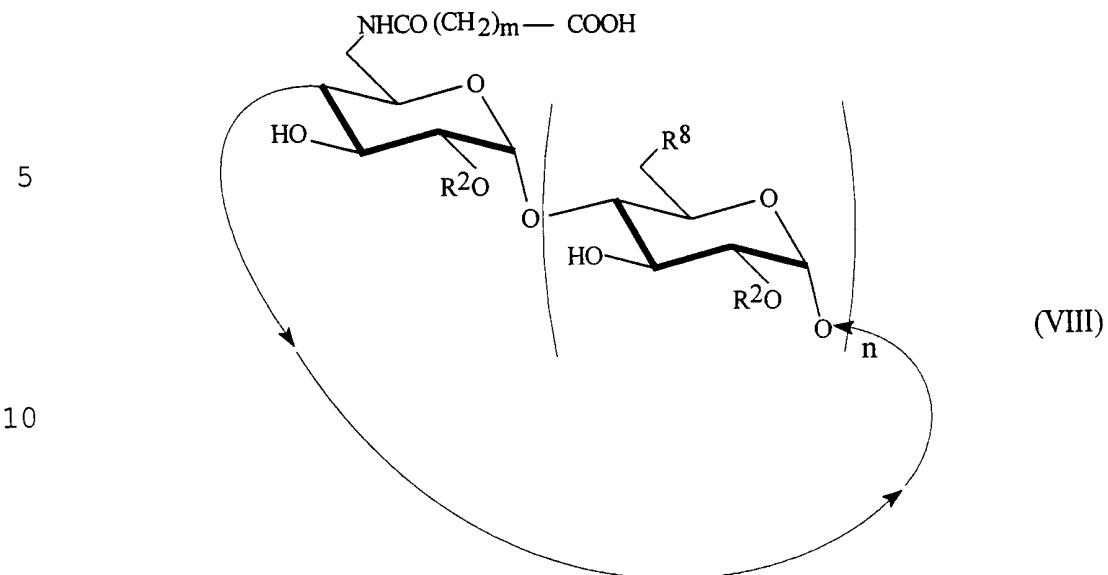
c) faire réagir le dérivé de formule (VI) avec un anhydride d'acide de formule :

20



25 où  $m$  est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le dérivé de formule :

30



15 dans laquelle tous les  $R^8$  représentent  $OR^2$  ou l'un des  $R^8$  représente  $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$  et les autres  $R^8$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$ ,  $m$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus, et

20 d) faire réagir le dérivé de formule (VIII) avec un composé de formule  $NH_2-R^1$  pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

Les dérivés monoazido ou diazido utilisés comme produit de départ dans le procédé peuvent être obtenus à partir du dérivé de cyclodextrine correspondant monotosylé ou ditosylé par action 25 d'azoture de lithium dans l'eau.

Dans l'étape a) du procédé décrit ci-dessus, on fait réagir le dérivé de cyclodextrine de formule (IV) avec un sulfate de dialkyle  $SO_4R^2_2$  dans un 30 mélange de solvants organiques tels que le dimethylformamide (DMF) et le diméthylsulfoxyde (DMSO) dans des proportions 50:50 en volume, en présence d'une

base telle que l'oxyde de baryum et l'hydroxyde de baryum, à 8°C. On peut séparer le dérivé de formule (V) ainsi obtenu en utilisant les procédés décrits en détails dans l'exemple 1.

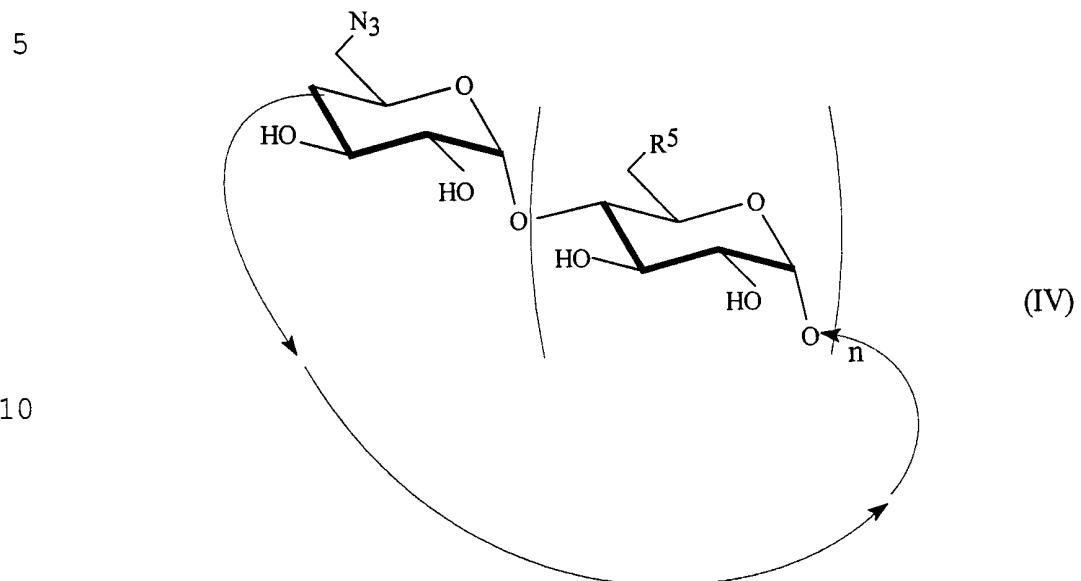
5                    Dans l'étape b), on fait réagir le dérivé de formule (V) avec de la triphénylphosphine dans un solvant organique tel que le DMF puis on additionne de l'ammoniaque à 20%. Le dérivé de formule (VI) ainsi obtenu peut être purifié par évaporation du solvant, 10 élimination par filtration du précipité blanc formé puis séparation par chromatographie échangeuse d'ions. Dans l'étape c), on fait réagir le dérivé de formule (VI) avec l'anhydride d'acide de formule (VII) voulu dans un solvant organique tel que le DMF. Le dérivé de 15 formule (VIII) obtenu n'est pas isolé et l'étape d) suivante se fait directement dans le même milieu réactionnel. On additionne alors des réactifs de couplage peptidique tels que le *N,N'*-diisopropylcarbodiimide et l'hydroxybenzotriazole. Le 20 dérivé de formule (VIII) réagit alors avec le composé de formule  $H_2N-R^1$  tel que la cholest-5-én-3 $\alpha$ -ylamine. On peut séparer le dérivé de formule I ainsi obtenu du milieu réactionnel par évaporation du solvant et purification par chromatographie sur colonne de gel de 25 silice.

Dans le cas où l'on veut préparer un dérivé de formule (I) tel que défini ci-dessus, avec  $R^3$  représentant  $R^2$ , le procédé comprend les mêmes étapes que ci-dessus, mais dans l'étape a), on réalise une

alkylation de tous les groupes OH par un iodoalcané.

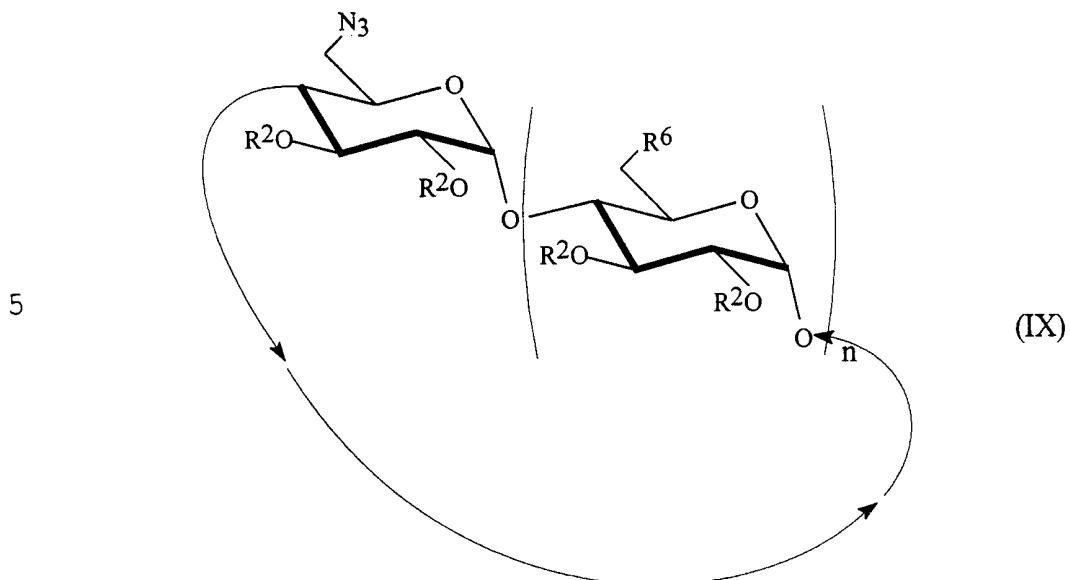
Dans ce cas, on réalise les étapes suivantes :

a) faire réagir un dérivé de formule :



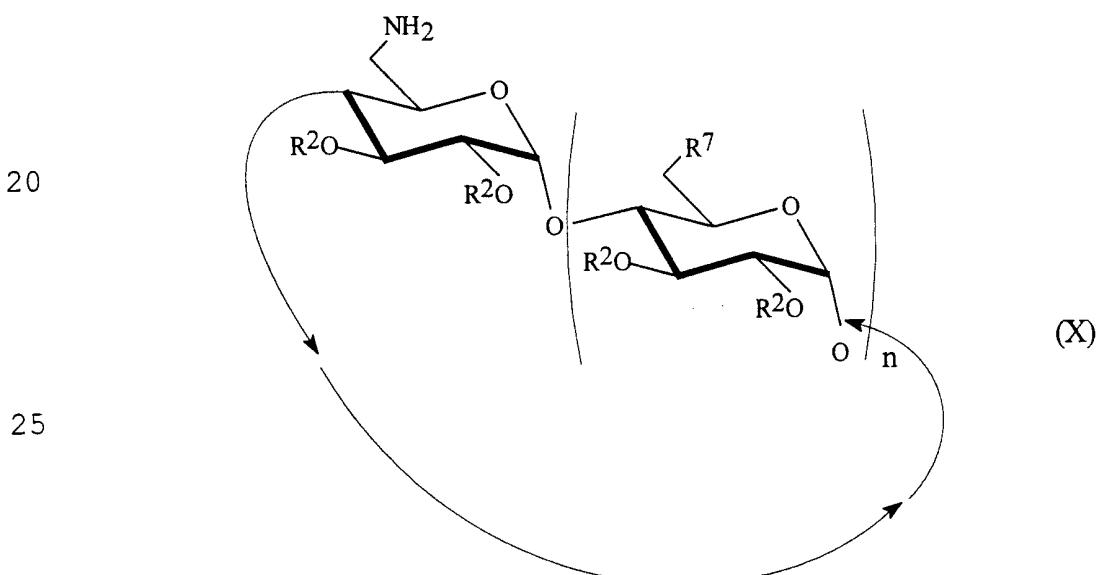
15 dans laquelle tous les  $R^5$  représentent OH, ou l'un des  $R^5$  représente  $-N_3$  et les autres  $R^5$  représentent OH à condition qu'il y ait au moins une unité glucose, avec  $R^5$  représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant  $N_3$ , et  $n$  est égal à 5, 6 ou 7,

20 avec un iodoalcané de formule  $IR^2$  dans laquelle  $R^2$  a la signification donnée ci-dessus, en présence de NaH pour pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :



10 dans laquelle tous les  $R^6$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  $R^6$  représente  $N_3$  et les autres  $R^6$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

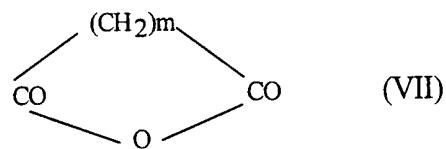
15 b) effectuer une réaction de Staudinger sur le dérivé de formule (IX) à l'aide de triphénylphosphine et d'ammoniaque pour convertir  $N_3$  en  $NH_2$  et obtenir le dérivé de formule :



15

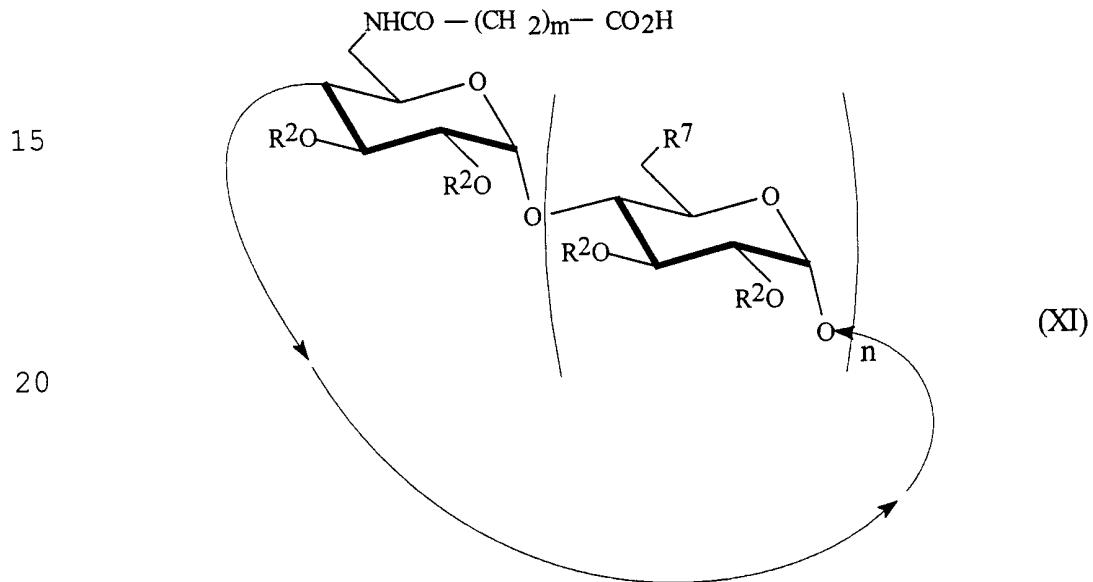
dans laquelle tous les  $R^7$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  $R^7$  représente  $NH_2$  et les autres  $R^7$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

c) faire réagir le dérivé de formule (X) avec 5 un anhydride d'acide de formule :



10

où  $m$  est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le dérivé de formule :



25

dans laquelle tous les  $R^7$  représentent  $OR^2$  ou l'un des  $R^7$  représente  $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$  et les autres  $R^7$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$ ,  $m$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus, et

30 d) faire réagir le dérivé de formule (XI) avec un composé de formule  $NH_2-R^1$  pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

L'invention a encore pour objet les complexes d'inclusion du dérivé de cyclodextrine de formule (I) avec un composé hydrophobe en vue de solubiliser ce composé hydrophobe dans un milieu aqueux. Les composés chimiques hydrophobes susceptibles d'être solubilisés dans des milieux aqueux au moyen de ces dérivés de cyclodextrine (I) peuvent être de différents types. A titre d'exemple de tels composés, on peut citer des produits cosmétiques, des vitamines, des molécules pharmaceutiquement actives et des molécules utilisées comme agents de contraste pour l'imagerie médicale, par exemple, les composés décrits par Uekama et Irie dans Chemical Review (1998), 98, pp. 2045-2076 [7].

De préférence dans l'invention, le composé chimique hydrophobe est une molécule pharmaceutiquement active. A titre d'exemples de telles molécules, on peut citer les stéroïdes, par exemple la prednisolone, les neurotropes comme la dothiépine, les bactériostatiques comme le chloramphénicol, les vitamines comme la vitamine A, des toniques de la paroi vasculaire comme l'esculine, et des agents de contraste pour l'imagerie médicale comme l'acide 16-iodo-3-méthylhexadécanoïque.

Ces complexes d'inclusion peuvent être préparés par des procédés classiques, par exemple en ajoutant à une solution ou à une suspension de la cyclodextrine de formule (I) utilisée, une solution du composé hydrophobe dans un solvant organique approprié, par exemple l'acétone.

Les dérivés de cyclodextrine de formule (I) ont la propriété de s'auto-organiser spontanément en milieu aqueux pour donner des nanoparticules de 25 à 30 Å de rayon moyen et de forme parfaitement sphérique. 5 Le nombre moyen de monomères est de 24 molécules de dérivés de cyclodextrine par nanoparticule. Aussi l'invention a également pour objet une solution aqueuse de nanoparticules d'un dérivé de cyclodextrine de formule (I) seul ou sous forme de complexe d'inclusion 10 avec un composé hydrophobe.

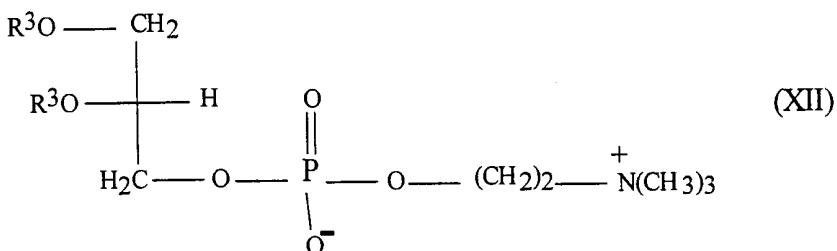
Cette solution de nanoparticules peut être préparée en formant une solution aqueuse du dérivé de cyclodextrine ou d'un complexe d'inclusion de ce dérivé ayant une concentration en dérivé ou complexe 15 supérieure à la concentration micellaire critique du dérivé.

L'auto-organisation des cyclodextrines amphiphiles en nanoparticules dans un milieu aqueux, permet d'assurer le transport d'une molécule 20 hydrophobe, par exemple un principe actif, en particulier par voie transmembranaire ou parentérale.

Les dérivés de cyclodextrines de l'invention sont de plus particulièrement intéressants car ils peuvent être incorporés dans des systèmes 25 organisés de tensioactifs tels que des petites vésicules de phospholipide ou des micelles. Cette incorporation est destinée à permettre la solubilisation de systèmes organisés, en vue d'assurer le transport de principes actifs inclus dans le dérivé 30 de cyclodextrine.

Aussi, l'invention a aussi pour objet un système de tensioactifs organisé comprenant un dérivé de cyclodextrine ou un complexe d'inclusion de ce dérivé conformes à l'invention. Les tensioactifs susceptibles de former de tels systèmes organisés peuvent être de différents types. A titre d'exemple, on peut citer les phospholipides répondant à la formule générale suivante :

10



15 dans laquelle  $\text{R}^3$  représente  $\text{CH}_3\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---CO}$  avec  $p$  étant un nombre entier allant de 6 à 18. Ces phospholipides sont capables de former de petites vésicules unilamellaires. C'est le cas en particulier de la dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) qui répond à la formule ci-dessus avec  $p = 12$ .

20 Pour incorporer le dérivé de cyclodextrine ou un complexe d'inclusion de ce dérivé conformes à l'invention dans le système organisé de tensioactifs, on peut préalablement former des petites vésicules de DMPC par sonication puis ajouter dans la solution aqueuse le dérivé de cyclodextrine ou le complexe 25 d'inclusion. Le système mixte ainsi obtenu devient alors parfaitement soluble dans l'eau conduisant à une solution limpide. Le système mixte obtenu dans ce cas précis est une micelle mixte d'un rayon moyen de 60 Å.

Aussi l'invention a aussi pour objet une solution aqueuse comprenant en solution un système mixte formé à partir de vésicules de phospholipides ou de protéines membranaires, et d'au moins un dérivé de cyclodextrine ou d'au moins un complexe d'inclusion de dérivé de cyclodextrine conformes à l'invention.

De telles solutions sont intéressantes car elles permettent d'assurer le transport de molécules hydrophobes, par exemple d'un principe actif par voie transmembranaire ou parentérale, pour des applications pharmaceutiques et cosmétiques.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples suivants donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux figures 1 à 5 annexées.

#### **Brève description des dessins**

La figure 1 illustre le spectre de diffusion de neutrons expérimental, en échelle logarithmique, d'une solution aqueuse de nanoparticules du dérivé de cyclodextrine obtenu dans l'exemple 1 avec trois courbes théoriques de diffusion de micelles sphériques, de micelles cylindriques et de bicouches.

La figure 2 illustre l'aspect de différents mélanges de cyclodextrine et de phospholipide.

20

Les figures 3, 4 et 5 illustrent respectivement les spectres de résonance magnétique nucléaire du  $^{31}\text{P}$  obtenus à partir de l'échantillon a (figure 3), b (figure 5) et d (figure 4) de l'exemple 3.

5 La figure 6 illustre le spectre de diffusion de neutrons expérimental, en échelle logarithmique, d'un mélange DMPC/dérivé de cyclodextrine (échantillon d) obtenu dans l'exemple 3 avec trois courbes théoriques de diffusion de 10 micelles sphériques, de micelles cylindriques et de bicouches.

La figure 7 illustre les spectres de diffusion de neutrons expérimentaux en échelle logarithmique de mélanges d'acide 16-iodo-3-méthylhexadécanoïque et du dérivé de cyclodextrine de 15 l'exemple 1 (1/1 et 0,5/1 mol) ainsi que le spectre de diffusion de neutron du dérivé de cyclodextrine de l'exemple 1 seul avec la courbe de diffusion théorique de nanoparticules seules.

20 **Exposé détaillé des modes de réalisation.**

**Exemple 1: Synthèse du mono-6-(cholest-5-én-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',6',6'',6''',6'''',6''''',6''''''-**  
**25 tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.**

Ce composé est le dérivé de formule (I) avec  $\text{R}^1$  représentant le groupe de formule (III),  $\text{R}^2$  étant le groupe méthyle,  $\text{R}^3$  représentant H, tous les  $\text{R}^4$  représentant  $\text{OCH}_3$ , m étant égal à 2 et n étant égal à 30 6.

a) Préparation du mono-6-azido-6-désoxy-  
2,2',2'',2'',2'',2'',2'',2'',2'',6',6'',6'',6'',  
6'',6''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

Dans un ballon, on dissout 2 g (1,7 mmol) 5 de mono-6-azido-6-désoxy-cyclomaltoheptaose (obtenu par exemple selon le protocole décrit dans Tetrahedron Lett. (1993), 34, pp. 2457-2460 [8] et J. Chem. Soc. Perkin Trans 2 (1995), pp. 723-730) [9]) dans 15 mL de diméthylsulfoxyde anhydre. Cette solution est 10 additionnée de 15 mL de diméthylformamide (DMF) anhydre. On ajoute ensuite sous atmosphère d'azote et sous vive agitation, 3,8 g (~12 mmol) d'hydroxyde de baryum octahydraté et 3,6 g (~24 mmol) d'oxyde de baryum. Après homogénéisation du milieu, on ajoute 8 mL 15 de sulfate de diméthyle (~84 mmol), et on laisse sous vive agitation, sous atmosphère d'azote, pendant 30 heures à 8 °C. La suspension d'un aspect laiteux est ensuite additionnée de 5 mL d'ammoniaque à 20 % et agitée pendant 3 heures à température ambiante. On 20 laisse décanter au réfrigérateur pendant une nuit. Après concentration du surnageant sous pression réduite, le solide résiduel est repris avec 100 mL de dichlorométhane, et encore deux fois avec 50 mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont 25 rassemblées, lavées 3 fois avec 20 mL d'une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, 2 fois avec 20 mL d'eau, séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous pression réduite. Le produit est précipité par addition de 100 mL de n-hexane, filtré, 30 lavé avec 100 mL de n-hexane et séché sous vide.

On recueille 0,80 g (0,60 mmol) de mono-6-azido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''''',  
2''''''',6',6'',6''',6'''',6''''',6''''''',6''''''''-tridéca-O-  
méthyl-cyclomaltoheptaose qui se présente sous la forme  
5 d'une poudre blanche.

b) Préparation du mono-6-amino-6-désoxy-2,  
2',2'',2''',2'''',2''''',2''''''',6',6'',6''',6'''',  
6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

On dissout 0,75 g (0,56 mmol) du composé  
10 obtenu en a) dans 30 mL de DMF. A cette solution, on  
ajoute goutte à goutte et sous agitation à température  
ambiante 0,75 g (2,86 mmol) de triphénylphosphine dans  
5 mL de DMF. Le milieu réactionnel est maintenu à  
température ambiante pendant 2 heures, refroidi à 0°C  
15 et traité par 14 mL d'ammoniaque à 20 %. On laisse  
18 heures à température ambiante sous agitation, puis  
le solvant est éliminé sous pression réduite et le  
solide résiduel est repris avec 30 mL d'eau. L'abondant  
soluble de triphénylphosphine et de l'oxyde  
20 correspondant est éliminé par filtration. La solution  
est concentrée sous vide et le produit est purifié par  
chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions  
(résine Lewatit SP 1080 sous forme H<sup>+</sup>). On recueille  
0,35 g (0,27 mmol) de mono-6-amino-6-désoxy-  
2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''''',6',6'',6''',6'''',  
25 6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose qui  
se présente sous la forme d'une poudre blanche.

c) Préparation du mono-6-(cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''',6''',6''',6''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

5 A une solution de 0,25 g (0,19 mmol) du composé obtenu en b) dans 6 mL de DMF anhydre, on ajoute sous atmosphère d'azote et sous agitation à température ambiante 0,019 g (0,19 mmol) d'anhydride succinique dans 2 mL de DMF anhydre. Le milieu 10 réactionnel est maintenu à température ambiante pendant 5 heures, puis additionné de 0,11 mL (0,76 mmol) de N,N'-diisopropylcarbodiimide et de 0,028 g (0,19 mmol) d'hydroxybenzotriazole dans 2 mL de DMF anhydre. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, on 15 ajoute 0,089 g (0,23 mmol) de cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamine (obtenu en deux étapes à partir du cholest-5-èn-3 $\beta$ -ol selon les protocoles décrits dans Tetrahedron Lett. (1977), pp. 1977-1980 [10]. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 48 20 heures, hydrolysé par addition de 0,30 mL d'eau et concentré sous pression réduite. Le solide résiduel est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (gel de silice 60 Fluka; éluant : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH 95:5 puis 9:1 (v/v)). On recueille 0,24 g de mono-6- 25 (cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''',2''''',2''''',6',6'',6''',6''',6''',6''',6''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose.

(71 % de rendement en composé pur final à partir du mono-6-amino-6-désoxy-2,2',2'',2''',2''''',

2'', 2''', 6', 6'', 6''', 6'''', 6''''', 6'''''' (tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose).

Les caractéristiques de ce composé sont les suivantes :

- 5 - Chromatographie sur couches minces (Plaques de Silice Merck)  $R_f = 0,50$  dans le mélange  $CH_2Cl_2$ -MeOH 9:1 (v/v), révélation par  $H_2SO_4$  10 %.

- Spectrométrie de masse: ESI-MS :  $m/z = 1805,95$   $[M+Na]^+$  pour  $C_{86} H_{146} N_2O_{36}Na$ .

10 - RMN  $^1H$  (500 MHz, 25°C, solution 7 mM dans  $CDCl_3$ ) : attribution par des expériences COSY et COSY relais :  $\delta = 6,49$  (NH CD), 5,70 (NH Chol), 5,38 (H-6 Chol), 5,28-4,88 (H-1, OH-3 CD), 4,11 (H-3 Chol), 3,99-3,16 (H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', OCH<sub>3</sub> CD), 2,60-2,48 (CH<sub>2</sub> succ, H-4 Chol), 2,04-0,68 (H Chol).

Exemple 2: Préparation de nanoparticules de mono-6-(cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',6',6'',6''',6'''',6''''',6''''''-tridéca-0-méthyl-cyclomaltoheptaose.

On prépare des nanoparticules de mono-6-(cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',6',6'',6''',6''''',6'''''',6''''''-tridéca-0-méthyl-cyclomaltoheptaose simplement en formant une solution aqueuse de cette cholestéryl-cyclodextrine à une concentration supérieure à sa concentration micellaire critique (cmc).

La cmc de la cyclodextrine de l'exemple 1 a été déterminée par des mesures de tension de surface. La valeur de la cmc est de  $9.10^{-6}$  mol/L.

Le diamètre hydrodynamique moyen des 5 nanoparticules a été mesuré par diffusion quasi-élastique de la lumière. La valeur du diamètre moyen (DM) calculée selon l'approximation de Stokes-Einstein basée sur le modèle des sphères parfaites sans interactions est de 0,6 nm (60 Å). L'analyse par 10 diffusion statique de la lumière de solutions aqueuses de nanoparticules à différentes concentrations ( $2,5.10^{-3}$ ,  $5.10^{-3}$  et  $10^{-2}$  mol/L) donne une masse moyenne des agrégats de 43000 g/mol, ce qui correspond à 24 monomères en moyenne par nanoparticule.

15 La forme parfaitement sphérique ainsi que la taille des nanoparticules ont été confirmées par diffusion de neutrons. Le spectre de diffusion obtenu à partir d'une solution  $10^{-2}$  mol/l dans D<sub>2</sub>O du dérivé de cyclodextrine de l'exemple 1 est représenté sur la 20 figure 1 (spectre 1).

Sur la figure 1, on a également représenté les spectres théoriques simulant des sphères (spectre 2), des cylindres (spectre 3) ou des lamelles (spectre 4) formés à partir du dérivé de cyclodextrine de 25 l'exemple 1, à une concentration de  $10^{-2}$  mol/L dans D<sub>2</sub>O. La superposition du spectre 2 simulant les sphères avec le spectre expérimental 1 prouve la forme sphérique des agrégats de cholestéryl-cyclodextrine. Ces agrégats sont tapissés à la surface de cavités de cyclodextrines 30 disponibles pour l'inclusion de molécules actives hydrophobes, le cœur étant constitué des groupements

cholestérol. Le spectre théorique simulant les sphères donne un diamètre moyen de 0,5 nm (50 Å) et un nombre moyen de monomères par nanoparticule de 24.

5 **Exemple 3: Préparation des systèmes mixtes de mono-6-(cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''''',6',6'',6''',6'''',6''''',6''''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose et de Di-Myristoyl-Phosphatidyl-Choline (DMPC).**

10 On prépare une suspension aqueuse à  $15 \cdot 10^{-3}$  mol/L de DMPC soit sous la forme de vésicules multilamellaires de grande taille (MLVs), soit sous la forme de vésicules unilamellaires de petite taille (SUVs), en suivant les protocoles de préparation 15 décrits par exemple dans "Liposomes: a practical approach", R.R.C. New Ed., IRL Press, Oxford University Press, 1990 [11]. On ajoute à la suspension de MLVs ou de SUVs de DMPC la cyclodextrine de l'exemple 1 de façon à ce que la concentration finale de la 20 cyclodextrine dans le mélange aqueux cyclodextrine/DMPC soit de  $0,5 \cdot 10^{-3}$  ou  $2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/L.

La figure 2 illustre l'aspect des différents mélanges après 12 h à 25°C. Dans le tube a, il s'agit d'une suspension aqueuse de vésicules unilamellaires de DMPC 15 mM. Les tubes c et d 25 correspondent aux mélanges DMPC/cyclodextrine :  $15 \cdot 10^{-3}/0,5 \cdot 10^{-3}$  et  $15 \cdot 10^{-3}/2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/L respectivement. Le tube b est un tube "témoin" correspondant au mélange DMPC/heptakis(2,6-di-O-30 méthyl)cyclomaltoheptaose  $15 \cdot 10^{-3}/2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/L, soit

un mélange de DMPC avec une cyclodextrine ne comportant pas de substituant stéroïde.

Les différents mélanges sont examinés par spectroscopie RMN du  $^{31}\text{P}$  à 81 MHz.

5 La figure 3 représente le spectre correspondant au tube a (DMPC seule).

La figure 4 représente le spectre correspondant au tube d (mélange DMPC/cyclodextrine ;  $15 \cdot 10^{-3} / 2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/L).

10 La figure 5 représente le spectre correspondant au tube b (mélange DMPC/cyclodextrine de l'art antérieur).

15 L'existence de petites vésicules unilamellaires de DMPC dans le tube a est confirmée sur le spectre de la figure 3, par la présence des deux 20 pics très fins vers 0 ppm correspondant aux phosphores situés à l'intérieur et à l'extérieur des vésicules.

Le spectre de la figure 4 qui correspond à l'échantillon d, parfaitement transparent, se réduit à 25 une seul pic fin centré à 0 ppm, indiquant la présence d'agrégats plus petits que les vésicules unilamellaires du tube a. Le spectre correspondant au tube "témoin" b indique la formation de vésicules plus grandes que les vésicules de départ. Il n'y a pas de réorganisation du milieu avec cette cyclodextrine.

Dans le tube c, la quantité de cyclodextrine de l'invention est trop faible par rapport à la quantité de DMPC pour conduire à une

solution transparente comme dans le tube d. On obtient un mélange biphasique.

Le diamètre hydrodynamique moyen des agrégats mixtes de l'échantillon d a été mesuré par 5 diffusion quasi-élastique de la lumière. La valeur du diamètre moyen (DM) calculée selon l'approximation de Stokes-Einstein basée sur le modèle des sphères parfaites sans interactions est de 13 nm (130 Å).

On examine ensuite l'échantillon d par 10 diffusion de neutrons.

La figure 6 illustre le spectre de diffusion obtenu (spectre 5). Sur la figure 6, on a également représenté les spectres théoriques simulant des sphères (spectre 6), des cylindres (spectre 7) ou 15 des lamelles (spectre 8) formés à partir du mélange DMPC/cyclodextrine de l'exemple 1 avec le rapport  $15 \cdot 10^{-3} / 2,5 \cdot 10^{-3}$  mol/L dans D<sub>2</sub>O. La superposition du spectre 6 simulant des sphères avec le spectre expérimental 5 prouve la forme sphérique des agrégats mixtes DMPC/cyclodextrine de l'exemple 1. Ces systèmes sphériques mixtes présentent à la surface des cavités de cyclodextrines susceptibles d'inclure des molécules actives hydrophobes. Le spectre théorique simulant les 20 sphères donne un diamètre moyen de 10,8 nm (108 Å).

**Exemple 4: Préparation de complexes d'inclusion du composé mono-6-(cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',6',6'',6''',6'''',6''''',6''''''-5 tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose avec diverses molécules actives hydrophobes.**

A une solution aqueuse de nanoparticules de mono-6-(cholest-5-èn-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',6',6'',6''',6'''',6''''-10 6''''',6''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose obtenue comme dans l'exemple 2, on ajoute simplement le composé hydrophobe soit directement, soit en solution dans un solvant organique approprié, par exemple l'acétone, qu'on laisse évaporer lentement à l'air 15 libre.

Différentes molécules actives hydrophobes ont été testées et se sont révélées capables de former des complexes d'inclusion avec la cyclodextrine de l'exemple 1. Ainsi, on a solubilisé en milieu aqueux 20 par formation d'un complexe d'inclusion l'acide 16-iodo-3-méthylhexadécanoïque, un acide gras utilisé comme agent de contraste pour l'imagerie médicale qui avait déjà pu être solubilisé dans des cyclodextrines, comme il est décrit dans FR-A-2 726 765 [12].

25 La figure 7 représente les spectres de diffusion de neutrons obtenus avec :

- la solution de nanoparticules de cyclodextrine de l'exemple 1 et l'acide gras (1 : 0,5 éq. mol) (spectre 9) ;

- la solution de nanoparticules de cyclodextrine de l'exemple 1 et l'acide gras (1 : 1 éq. mol) (spectre 10) ; et

5 - la solution de nanoparticules de cyclodextrine seule (spectre 11).

Sur cette figure, on a également représenté le spectre théorique (Spectre 12) simulant les sphères.

Sur cette figure, on voit que l'incorporation des molécules d'acide gras dans les 10 nanoparticules de la cyclodextrine de l'exemple 1 entraîne des modifications nettes au niveau des spectres de diffusion. L'intensité  $I(q)$  se trouve augmentée. L'intensité  $I(q)$  est proportionnelle au volume des nanoparticules. La présence de molécules 15 supplémentaires (molécules d'acide gras) dans les nanoparticules a pour effet d'augmenter la valeur du contraste et donc de l'intensité.

L'incorporation dans les nanoparticules de mono-6-(cholest-5-én-3 $\alpha$ -ylamido)succinylamido-6-desoxy-20 2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''''',6',6'',6''',6'''',6''''',6''''''',6''''''''-tridéca-O-méthyl-cyclomaltoheptaose des composés hydrophobes suivants :

- la dothiépine (neurotropé),
  - le chloramphénicol (bactériostatique),
  - 25 - la vitamine A, et
  - l'esculine (tonique de la paroi vasculaire),
- a également été mise en évidence par diffusion de neutrons.

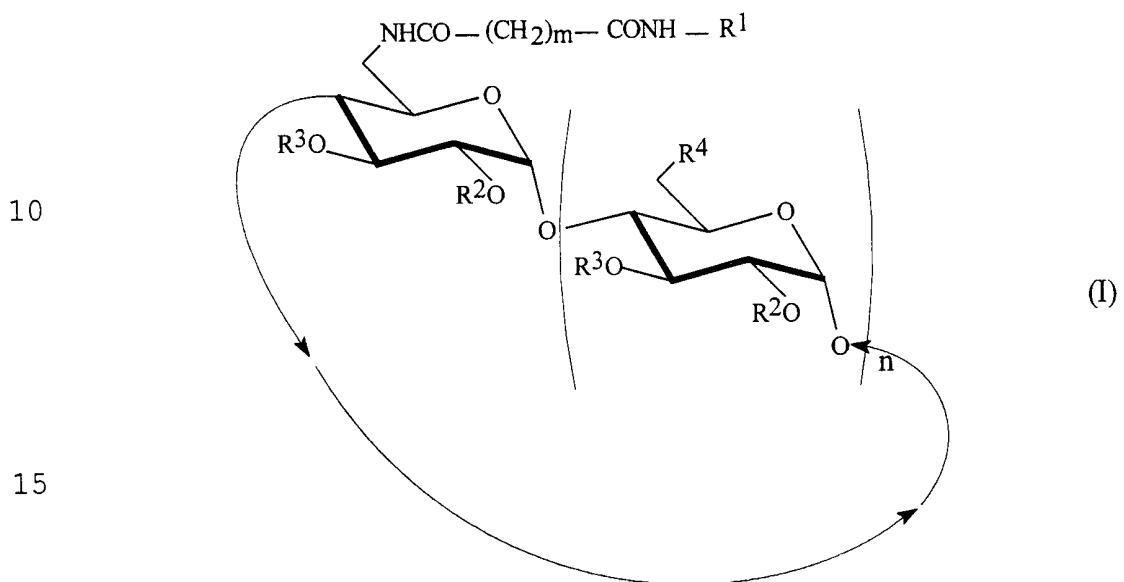
## Références citées.

- 5 [1] : D. Duchêne "Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins" paru dans « Cyclodextrins and their industrial uses», Editions de Santé, Paris 1987, pp. 213-257.
- 10 [2] : A. Yabe et coll, Thin Solid Films, (1988), 160, pp. 33-41.
- 15 [3] : L. Jullien et coll, « J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, 1993, pp. 1011-1022.
- [4] : A. Gulik et coll dans Langmuir (1998), 14, pp. 1050-1057.
- [5] : FR-A-2 736 056.
- 20 [6] : J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, (1998), pp. 2638-2646.
- [7] : Uekama et Irie dans Chemical Review (1998), 98, pp. 2045-2076.
- 25 [8] : Tetrahedron Lett. (1993), 34, pp 2457-2460.
- [9] : J. Chem. Soc. Perkin Trans 2 (1995), pp 723-730.
- 30 [10] : Tetrahedron Lett. (1977), pp. 1977-1980.
- [11] : "Liposomes: a practical approach", R.R.C. New Ed., IRL Press, Oxford University Press, 1990).
- [12] : FR-A-2 726 765.

## REVENDEICATIONS

1. Dérivé amphiphile de cyclodextrine répondant à la formule :

5



dans laquelle :

- 20 - R<sup>1</sup> représente un groupe dérivé d'un stéroïde,

- R<sup>2</sup> représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,

- R<sup>3</sup> représente H ou R<sup>2</sup>,

- tous les R<sup>4</sup> représentent OR<sup>2</sup>, ou

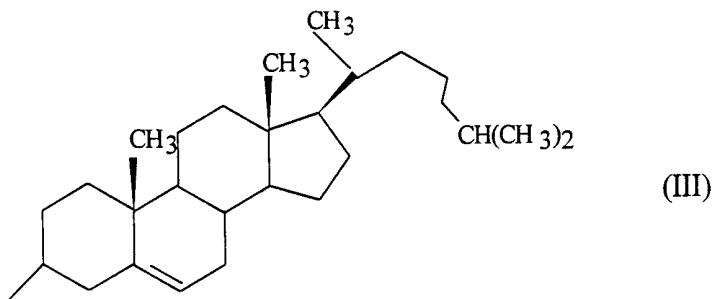
- l'un des R<sup>4</sup> représente -NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CONHR<sup>1</sup> et les autres R<sup>4</sup> représentent OR<sup>2</sup> à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R<sup>4</sup> représentant OR<sup>2</sup> entre les deux unités glucose comportant le substituant —NHCO—(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>—CONH—R<sup>1</sup>,

- m est un nombre entier allant de 1 à 8, et

30 - n est égal à 5, 6 ou 7.

2. Dérivé de cyclodextrine selon la revendication 1 dans lequel R<sup>1</sup> représente le groupe de formule :

5



10

3. Dérivé de cyclodextrine selon la revendication 1 ou 2, dans lequel tous les R<sup>4</sup> représentent OR<sup>2</sup>.

15

4. Dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel R<sup>2</sup> représente le groupe méthyle et R<sup>3</sup> représente un atome d'hydrogène.

20

5. Dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel n est égal à 6.

6. Dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans lequel m est égal 2.

25

7. Mono-6-(cholest-5-èn-3α-ylamido)succinylamido-6-désoxy-2,2',2'',2''',2'''',2''''',2''''''',6',6'',6''',6'''',6''''',6''''''-tridéca-0-méthyl-cyclomaltoheptaose.

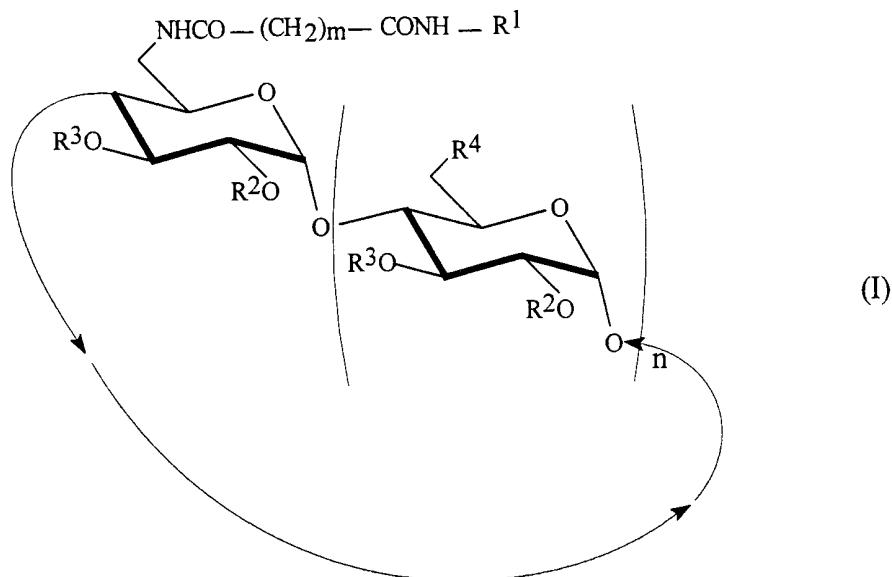
30

8. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclodextrine de formule :

5

10

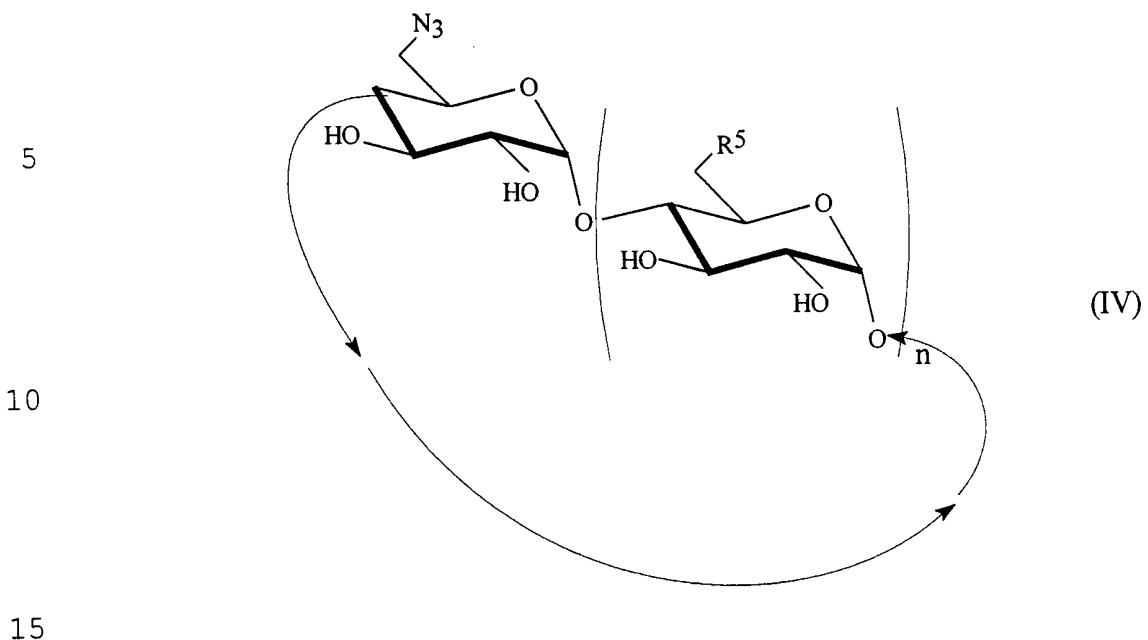
15



dans laquelle :

- $R^1$  représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
  - 20 -  $R^2$  représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,
  - $R^3$  représente H,
  - tous les  $R^4$  représentent  $OR^2$ , ou
  - 25 - l'un des  $R^4$  représente  $-NHCO(CH_2)_mCONHR^1$  et les autres  $R^4$  représentent  $OR^2$  à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec  $R^4$  représentant  $OR^2$  entre les deux unités glucose comportant le substituant  $-NHCO-(CH_2)_m-CONH-R^1$ ,
  - $m$  est un nombre entier allant de 1 à 8, et
  - 30 -  $n$  est égal à 5, 6 ou 7,
- qui comprend les étapes suivantes :

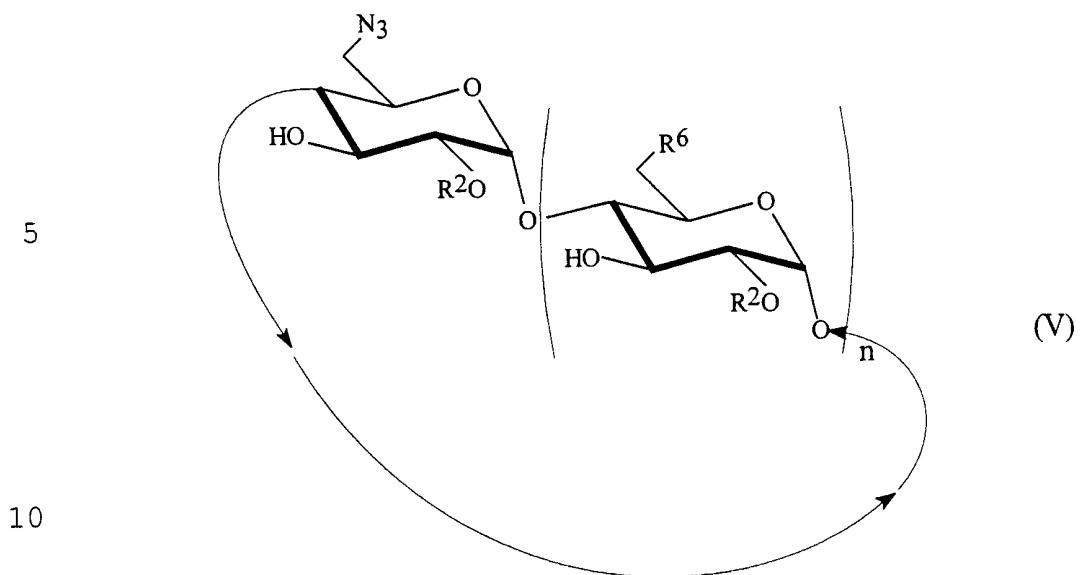
a) faire réagir un dérivé de formule :



20 dans laquelle tous les  $R^5$  représentent OH, ou l'un des  $R^5$  représente  $-N_3$  et les autres  $R^5$  représentent OH à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec  $R^5$  représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant  $N_3$ , et n est égal à 5, 6 ou 7,

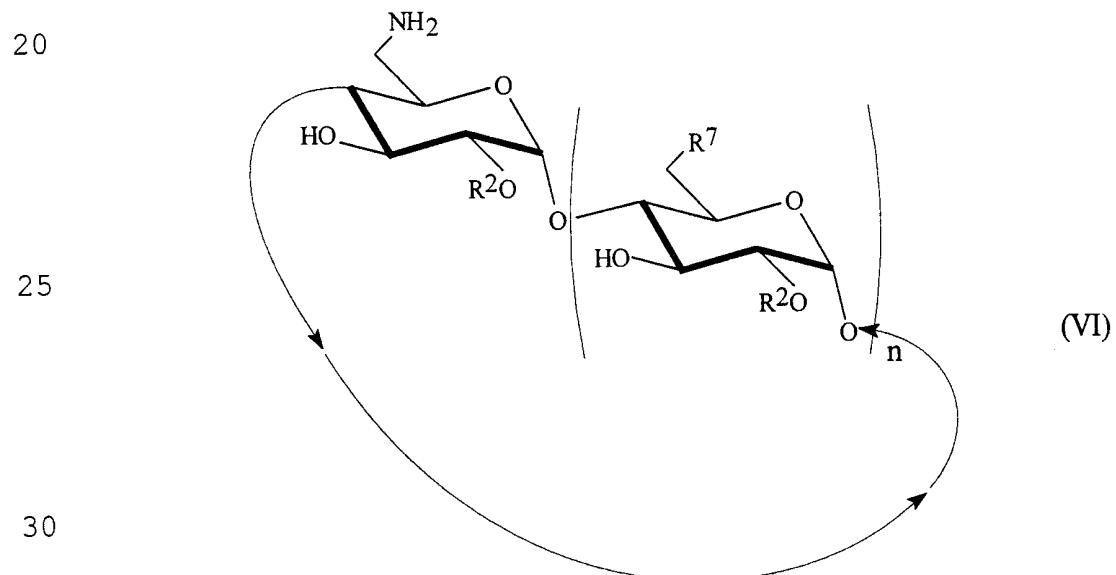
25 avec un sulfate de dialkyle  $SO_4R^2_2$  avec  $R^2$  ayant la signification donnée ci-dessus, en milieu basique pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :

3-6



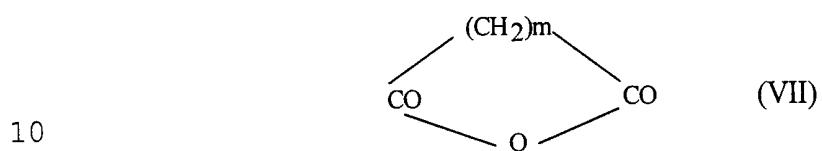
15 dans laquelle tous les  $R^6$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  $R^6$  représente  $N_3$  et les autres  $R^6$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

b) effectuer une réaction de Staudinger sur le dérivé de formule (V) à l'aide de triphénylphosphine et d'ammoniaque pour convertir  $N_3$  en  $NH_2$  et obtenir le dérivé de formule :

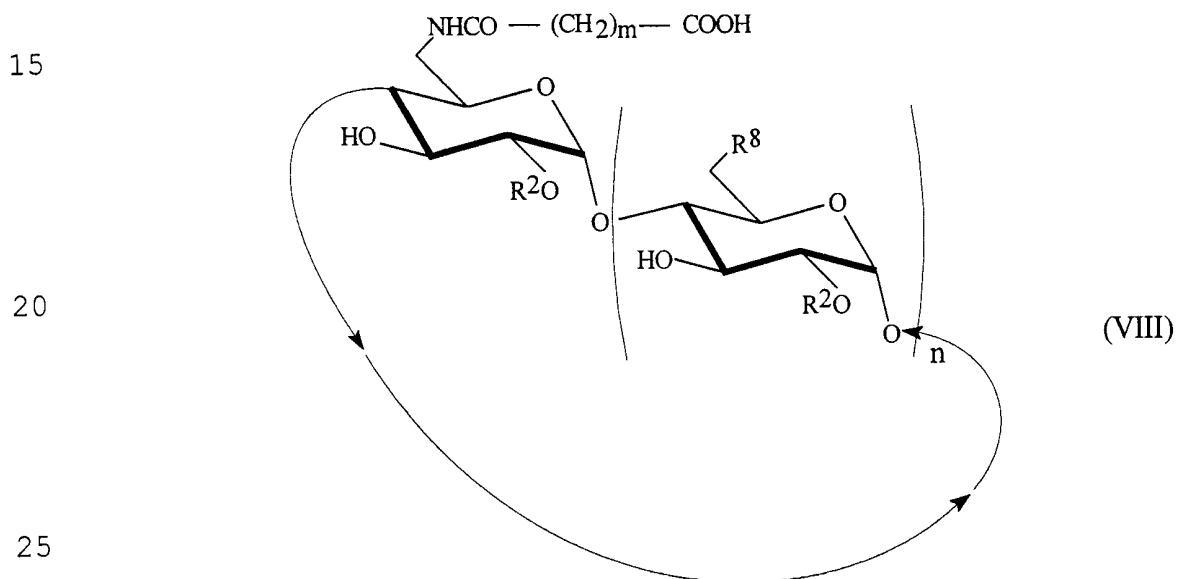


dans laquelle tous les  $R^7$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  $R^7$  représente  $NH_2$  et les autres  $R^7$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

c) faire réagir le dérivé de formule (VI) avec  
5 un anhydride d'acide de formule :



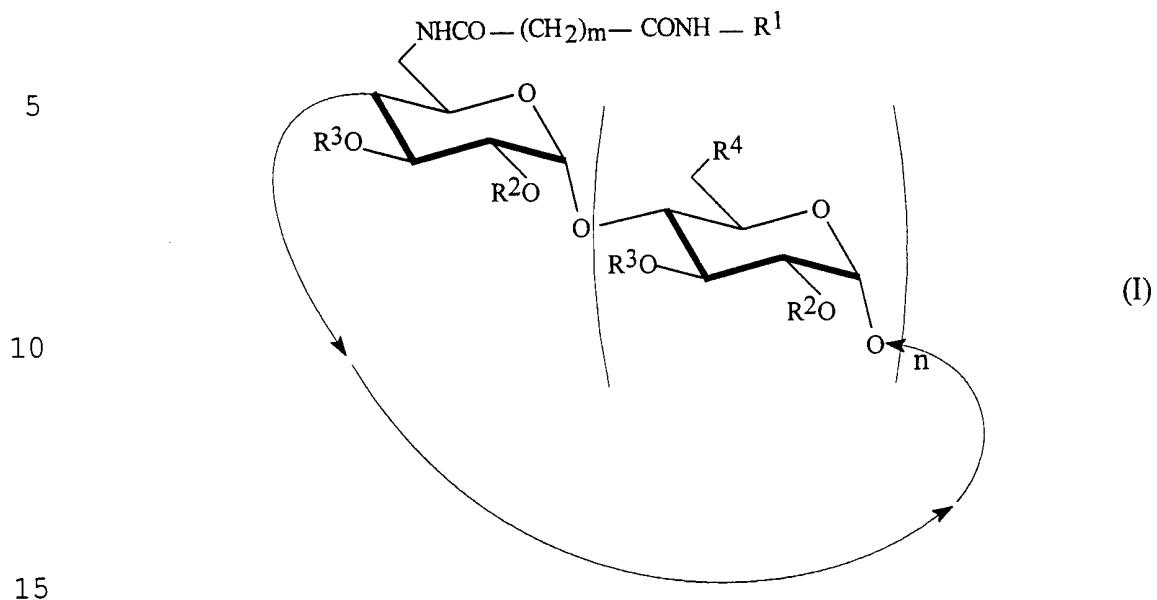
où  $m$  est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le dérivé de formule :



dans laquelle tous les  $R^8$  représentent  $OR^2$  ou l'un des  $R^8$  représente  $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$  et les autres  $R^8$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$ ,  $m$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus, et

d) faire réagir le dérivé de formule (VIII) avec un composé de formule  $\text{NH}_2\text{-R}^1$  pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

## 9. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclodextrine de formule :

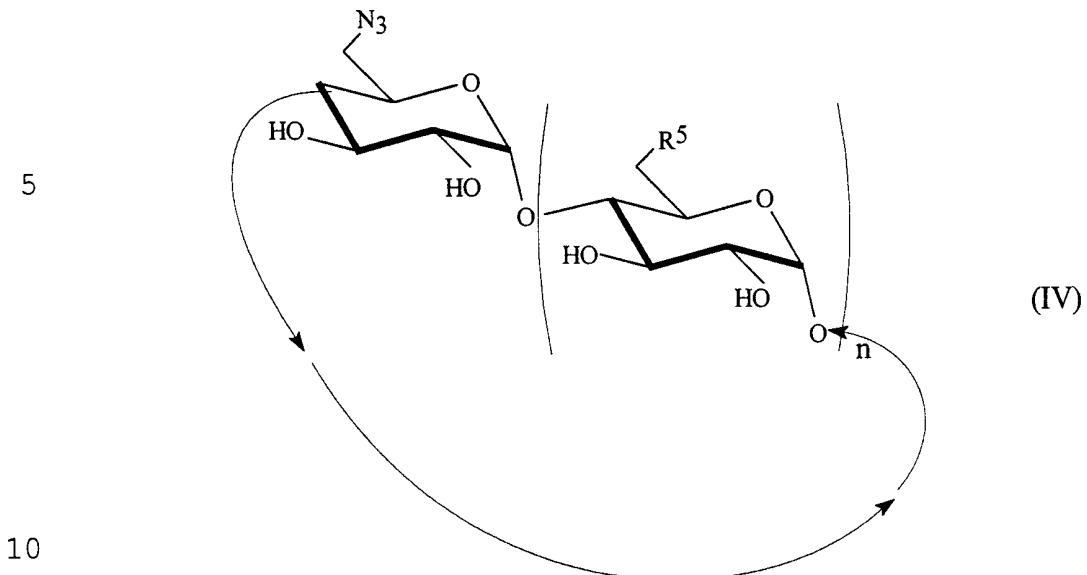


dans laquelle :

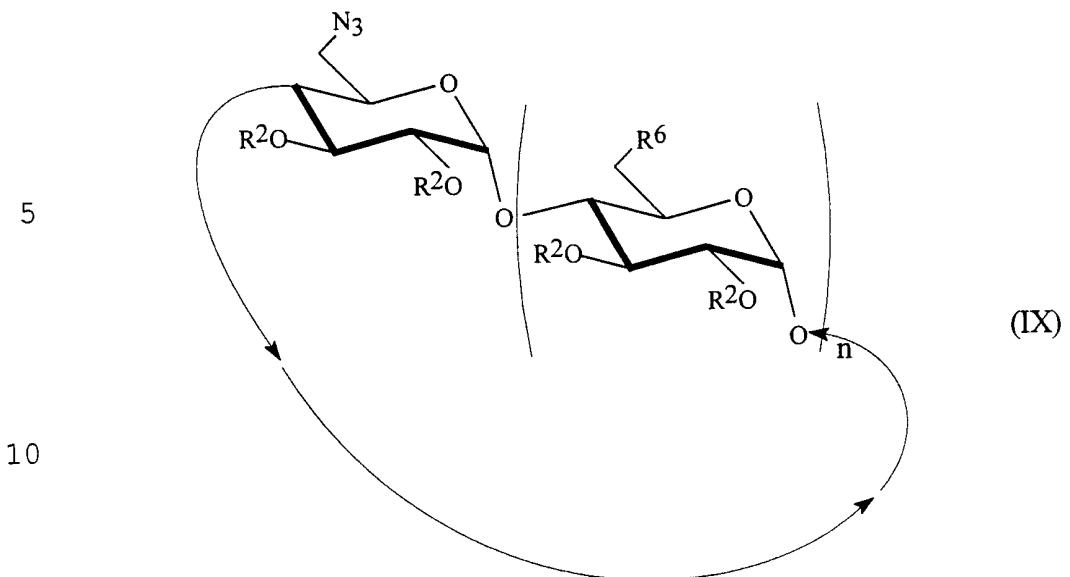
- R<sup>1</sup> représente un groupe dérivé d'un stéroïde,
  - R<sup>2</sup> représente un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué,
  - R<sup>3</sup> représente R<sup>2</sup>,
  - tous les R<sup>4</sup> représentent OR<sup>2</sup>, ou
  - l'un des R<sup>4</sup> représente  $-\text{NHCO}(\text{CH}_2)_m\text{CONHR}^1$  et les autres R<sup>4</sup> représentent OR<sup>2</sup> à condition qu'il y ait au moins une unité glucose avec R<sup>4</sup> représentant OR<sup>2</sup> entre les deux unités glucose comportant le substituant  $-\text{NHCO}-(\text{CH}_2)_m-\text{CONH}-\text{R}^1$ ,
  - m est un nombre entier allant de 1 à 8, et
  - n est égal à 5, 6 ou 7,

39

a) faire réagir un dérivé de formule :

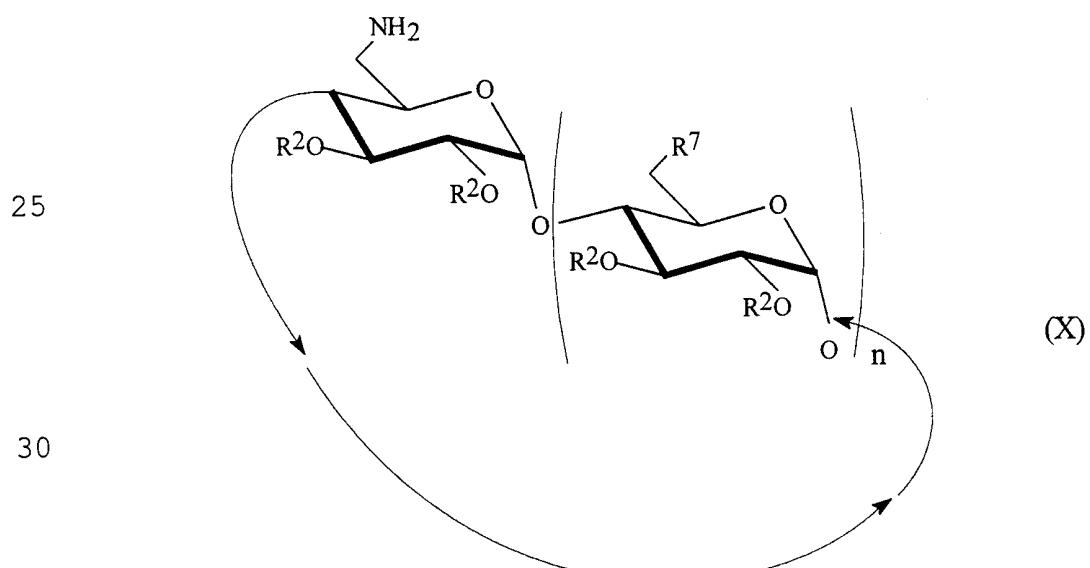


dans laquelle tous les  $R^5$  représentent OH, ou l'un des  $R^5$  représente  $-N_3$  et les autres  $R^5$  représentent OH à condition qu'il y ait au moins une unité glucose, avec  
 15  $R^5$  représentant OH entre les deux unités glucose comportant le substituant  $N_3$ , et  $n$  est égal à 5, 6 ou 7,  
 avec un iodo alcane de formule  $IR^2$  dans laquelle  $R^2$  a la signification donnée ci-dessus, en présence de NaH pour  
 20 pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule :



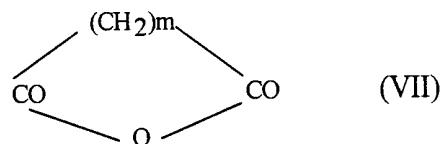
15 dans laquelle tous les  $R^6$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  
 $R^6$  représente  $N_3$  et les autres  $R^6$  représentent  $OR^2$ , et  
 $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

20 b) effectuer une réaction de Staudinger sur le  
dérivé de formule (IX) à l'aide de triphénylphosphine  
et d'ammoniaque pour convertir  $N_3$  en  $NH_2$  et obtenir le  
dérivé de formule :



10 dans laquelle tous les  $R^7$  représentent  $OR^2$ , ou l'un des  $R^7$  représente  $NH_2$  et les autres  $R^7$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus,

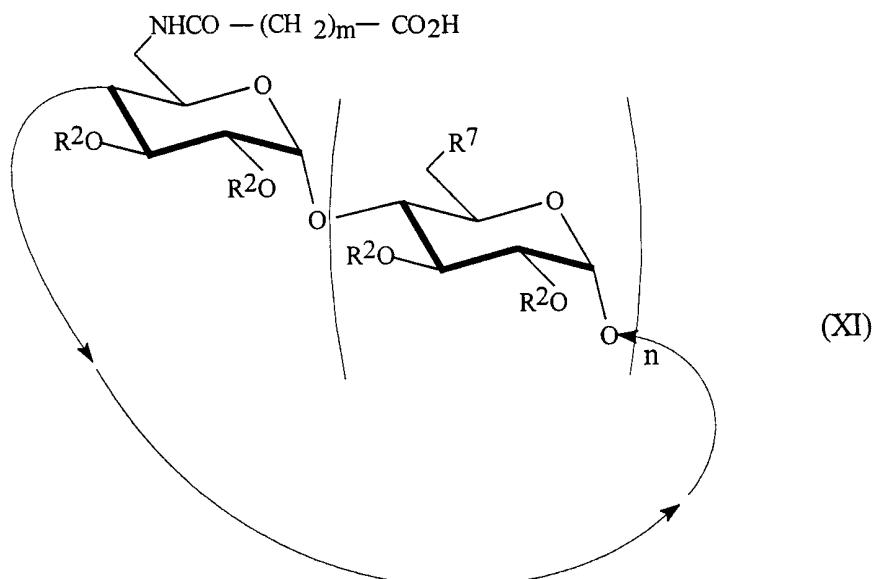
15 c) faire réagir le dérivé de formule (X) avec un anhydride d'acide de formule :



20 où  $m$  est tel que défini ci-dessus, pour obtenir le dérivé de formule :

25

20



25 dans laquelle tous les  $R^7$  représentent  $OR^2$  ou l'un des  $R^7$  représente  $-NHCO-(CH_2)_m-COOH$  et les autres  $R^7$  représentent  $OR^2$ , et  $R^2$ ,  $m$  et  $n$  sont tels que définis ci-dessus, et

30 d) faire réagir le dérivé de formule (XI) avec un composé de formule  $NH_2-R^1$  pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I) défini ci-dessus.

10. Complexe d'inclusion d'un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, et d'un composé hydrophobe.

11. Complexe selon la revendication 10, 5 dans lequel le composé hydrophobe est choisi parmi les stéroïdes, les neurotropes, les bactériostatiques, les vitamines, les toniques de la paroi vasculaire et les agents de contraste.

12. Complexe selon la revendication 10, 10 dans lequel le composé hydrophobe est choisi parmi l'acide 16-iodo-3-méthylhexadécanoïque, la dothiépine, le chloramphénicol, la vitame A et l'esculine.

13. Solution aqueuse de nanoparticules d'un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou d'un complexe d'inclusion selon 15 l'une quelconque des revendications 10 à 12.

14. Système de tensioactifs organisé 20 comprenant un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou un complexe d'inclusion selon l'une quelconque des revendications 10 à 12.

15. Système selon la revendication 14 dans lequel le tensioactif est un phospholipide.

16. Solution aqueuse comprenant en solution 25 un système mixte formé à partir de vésicules de phospholipides ou de protéines membranaires, et d'au moins un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou d'au moins un complexe d'inclusion selon l'une quelconque des revendications 30 10 à 12.

1 / 3

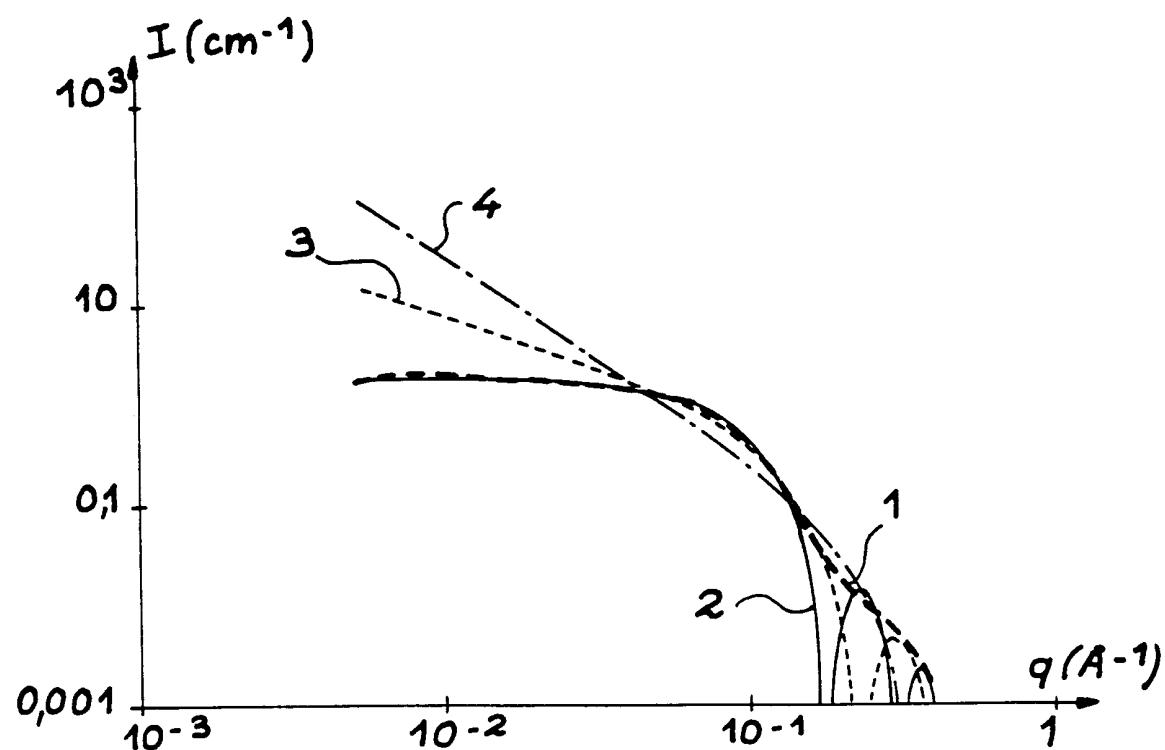


FIG. 1

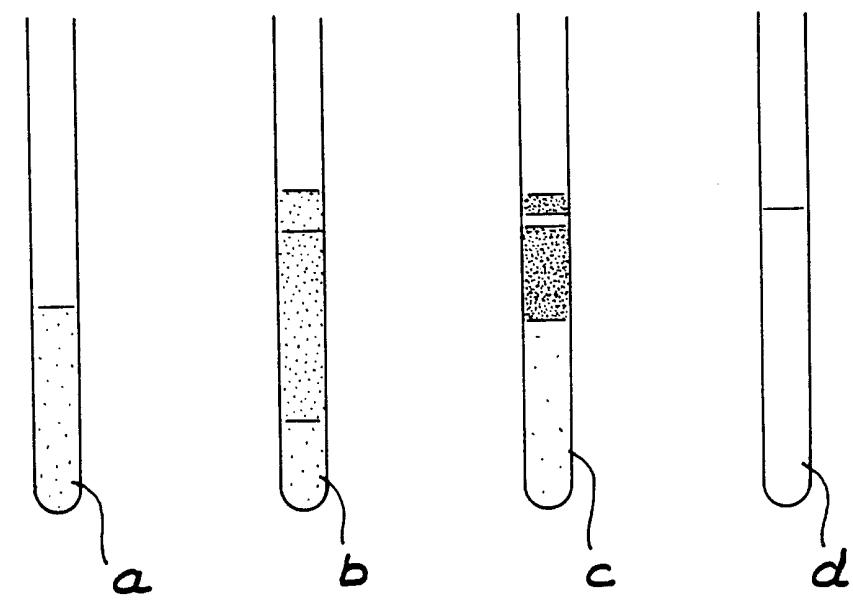


FIG. 2

2 / 3

FIG. 3

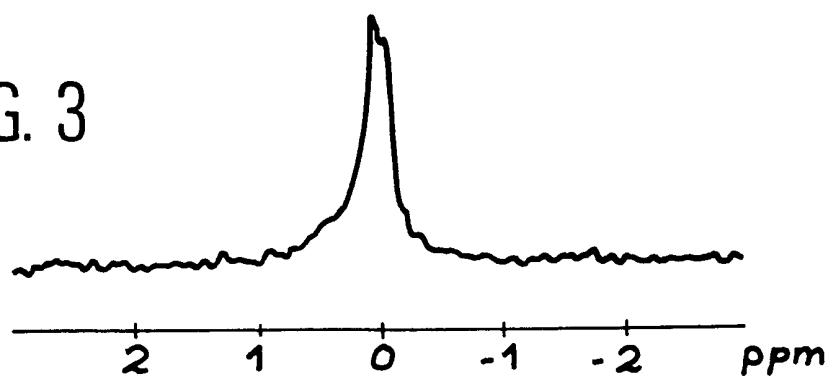


FIG. 4

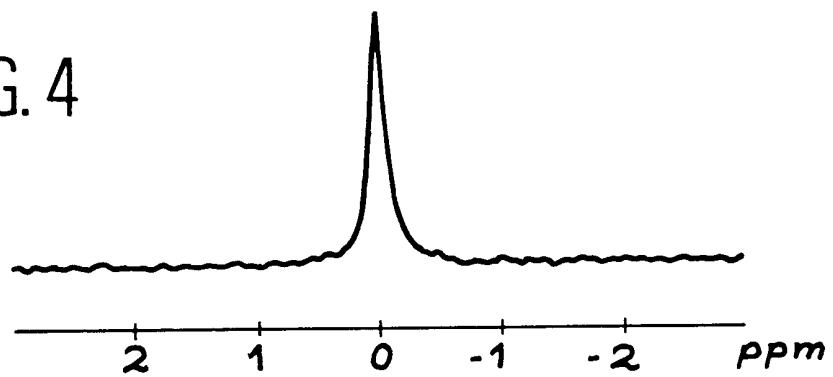
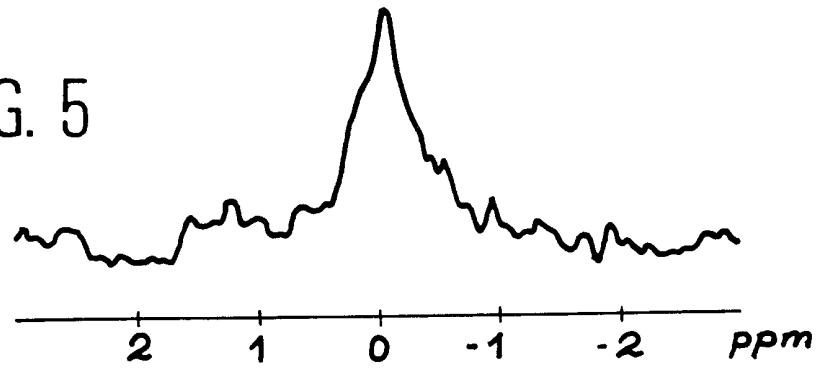


FIG. 5



3 / 3

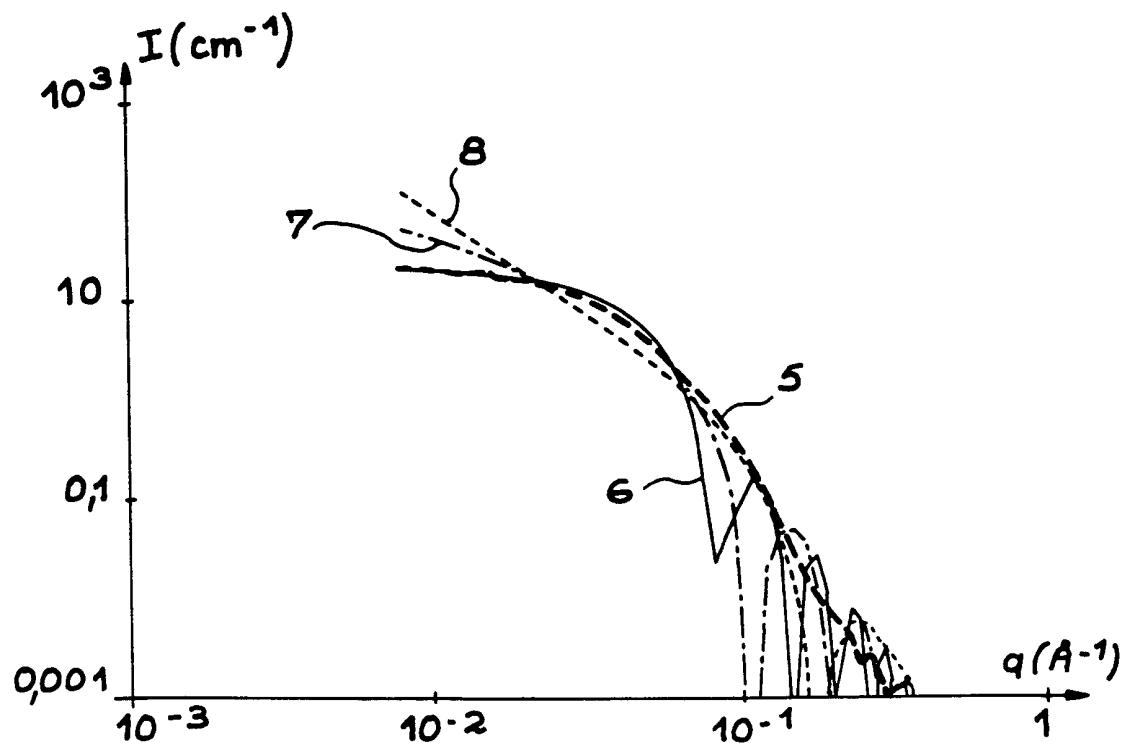


FIG. 6

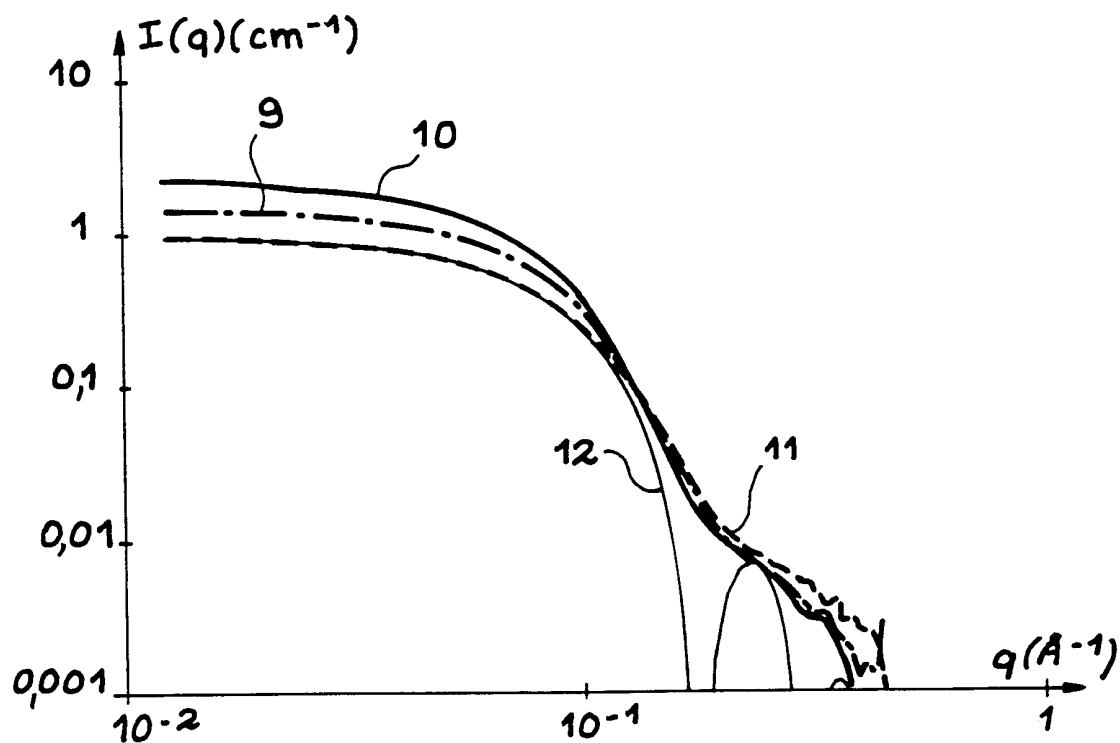


FIG. 7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 00/01102

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 C08B37/16

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)  
IPC 7 C08B

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, WPI Data, PAJ

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 681 868 A (SEDERMA SA) 2 April 1993 (1993-04-02) page 3, line 5 -page 4, line 5 -----	1,8,9
A	EP 0 751 150 A (COMMISARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE) 2 January 1997 (1997-01-02) & FR 2 736 056 A (CEA) 3 January 1997 (1997-01-03) cited in the application -----	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in 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

2 August 2000

Date of mailing of the international search report

09/08/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mazet, J-F

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No
PCT/FR 00/01102

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
FR 2681868	A 02-04-1993	NONE			
EP 751150	A 02-01-1997	FR	2736056 A	03-01-1997	
		AU	699482 B	03-12-1998	
		AU	5616496 A	09-01-1997	
		HU	9601791 A	28-05-1997	
		JP	9012605 A	14-01-1997	
		US	5821349 A	13-10-1998	

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale N°  
PCT/FR 00/01102

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 C08B37/16

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)  
CIB 7 C08B

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 réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FR 2 681 868 A (SEDERMA SA) 2 avril 1993 (1993-04-02) page 3, ligne 5 -page 4, ligne 5 ----	1, 8, 9
A	EP 0 751 150 A (COMMISARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE) 2 janvier 1997 (1997-01-02) & FR 2 736 056 A (CEA) 3 janvier 1997 (1997-01-03) cité dans la demande -----	

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

2 août 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

09/08/2000

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, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mazet, J-F

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs à la famille de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 00/01102

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)			Date de publication
FR 2681868	A 02-04-1993	AUCUN			
EP 751150	A 02-01-1997	FR	2736056 A	03-01-1997	
		AU	699482 B	03-12-1998	
		AU	5616496 A	09-01-1997	
		HU	9601791 A	28-05-1997	
		JP	9012605 A	14-01-1997	
		US	5821349 A	13-10-1998	